

# 国立遺伝学研究所年報

---

第 48 号

---

(平成 9 年)

大学共同利用機関

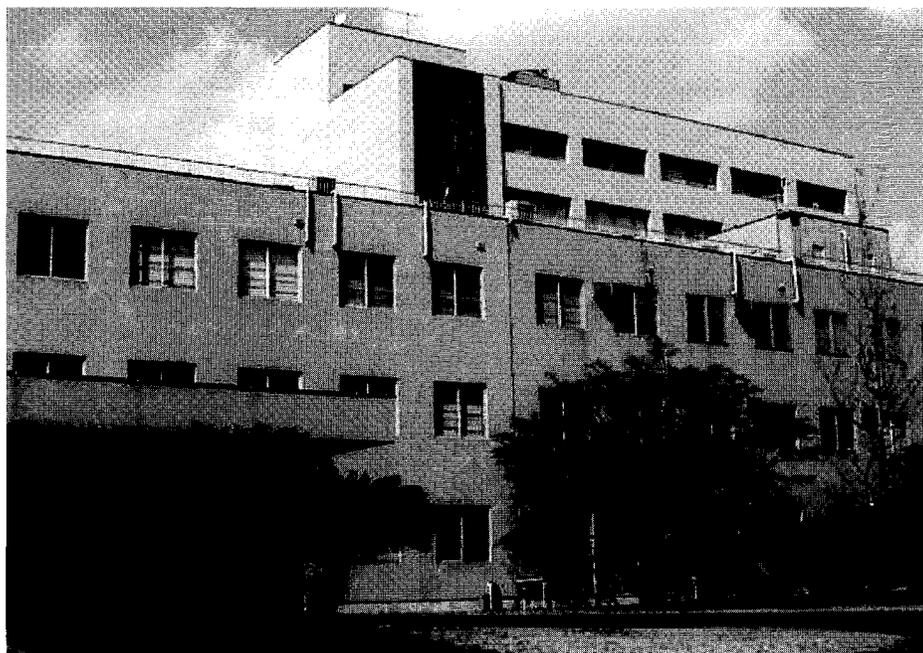
国立遺伝学研究所

# 目 次

I. 卷 頭 言	1
II. 研究室一覽	3
III. 研究の概要	5
A. 分子遺伝研究系	5
A-a. 分子遺伝研究部門	5
A-b. 変異遺伝研究部門	24
A-c. 核酸化学研究部門	28
B. 細胞遺伝研究系	30
B-a. 細胞遺伝研究部門	30
B-b. 微生物遺伝研究部門	35
B-c. 細胞質遺伝研究部門	39
C. 個体遺伝研究系	43
C-a. 発生遺伝研究部門	43
C-b. 形質遺伝研究部門	50
C-c. 生理遺伝研究部門	60
D. 集団遺伝研究系	65
D-a. 集団遺伝研究部門	65
D-b. 進化遺伝研究部門	67
D-c. 理論遺伝研究部門	79
E. 総合遺伝研究系	80
E-a. 人類遺伝研究部門	80
E-b. 育種遺伝研究部門	86
E-c. 応用遺伝研究部門	91
F. 系統生物研究センター	95
F-a. 哺乳動物遺伝研究室	95
F-b. 発生工芸研究室	108
F-c. 植物遺伝研究室	112
F-d. 原核生物遺伝研究室	116
F-e. 無脊椎動物遺伝研究室	118
G. 生物遺伝資源情報総合センター	123
G-a. 系統情報研究室	123
H. 構造遺伝学研究センター	125
H-a. 生体高分子研究室	125
H-b. 超分子機能研究室	129
H-c. 構造制御研究室	132
H-d. 超分子構造研究室	137
H-e. 遺伝子回路研究室	141
I. 生命情報研究センター	148
I-a. 遺伝情報分析研究室	148
I-b. 大量遺伝情報研究室	157
I-c. 遺伝子機能研究室	160
I-d. 分子分類研究室	162
J. 放射線・アイソトープセンター	165
K. 実験園場	167
IV. 海外における活動	169
V. ほかの機関における講義	177
VI. 共同研究事業	179
VII. 研究材料・研究情報の収集と保存	184
VIII. 行 事	205
IX. 庶 務	207
A. 浴 館	207
B. 組織（機構と職員）	208
C. 土地及び建物	233
D. 予 算	234
E. 奨学寄附金・受託研究費	235
F. 日 誌	238
G. 諸 会	241
H. 栄 誉	246
I. 図書及び出版	247
付：財団法人遺伝学普及会	252
X. 総合研究大学院大学生命科学研究科遺伝学専攻の概要	253

# 国立遺伝学研究所年報

第48号 平成9年



研究本館

国立遺伝学研究所

1998年発行

## I. 巻 頭 言

ここに国立遺伝学研究所年報第48号(平成9年)をお届けします。私は任期満了となった富澤純一前所長の後任として平成9年10月1日に着任したので、ここにご報告する研究所の活動や成果の多くは前所長のリーダーシップのもとに行われたものである。8年間の前所長の時代に行われた研究所の改革が実を結び、最先端の研究を推進して世界をリードする研究所への脱皮がようやく現実のものとなり始めた年といっても良いと考えている。とくに事業をもつ研究センターの充実が引続き行われ、共同利用事業の発展と研究活動のレベルアップをはかるために特に若手スタッフの充実が行われたことは今後の研究所のさらなる活性化につながるものと期待される。

平成9年1月から12月の期間における組織の変更としては、遺伝実験生物保存研究センターを廃止して、新たに系統生物研究センターと生物遺伝資源情報総合センターが設置された。教官の人事異動としては、永年研究所の発展に貢献された堀内賢介教授(微生物遺伝研究部門)および原田(太田)朋子教授(集団遺伝研究部門)が停年退官された。また、徳永万喜洋助教授(生体高分子研究室)、岡部正隆助手(発生遺伝研究部門)と斉藤哲一郎助手(発生工芸研究室)が採用されてセンターおよび部門の陣容が充実された。一方、出原賢治助手(人類遺伝研究部門)は九州大学医学部へ、東谷篤志助手(微生物遺伝研究部門)は東北大学遺伝生態研究センター助教授へ、伊奈康夫助手(集団遺伝研究部門)は生物分子工芸研究所へ、後藤英夫助手(細胞遺伝研究部門)は農林水産省家畜衛生試験場主任研究官へ、金丸研吾助手(原核生物遺伝研究室)は東京大学分子細胞生物学研究所助手へ、松本健一助手(進化遺伝研究部門)は北海道大学薬学部助教授にとそれぞれ転出した。管理部では、黒田英雄管理部長が長崎大学に転任となり、かわって砂田 肇氏が着任した。

総合研究大学院大学生命科学研究科遺伝学専攻については後期博士課程学生32名の教育指導を行い、あらたに11名が入学し、10名が理学博士の学位を取得した。その他、COE関係では外国人研究員4名、博士研究員5名が研究と教育とを行った。

本年度の特筆すべき行事としては、国立遺伝学研究所国際シンポジウム“Gene Functions to Cell Differentiation”を開催し、外国人22名とわが国から27名(うち当研究所から12名)の招待講演者を招いて最新の成果を発表する機会を持った。特に当研究所の多くの研究者が参加し、参加した外国人研究者からも評価を受ける貴重な機会となった。

以上述べたように、研究所の改革と拡充発展は順調に推移したと言える。研究所の第2期将来計画の終りに当たり、その計画に盛られた趣旨は不十分ではあるがかなり実現したと言えよう。現在所内では、遺伝学・生命科学の新しい動向をも踏まえて、新たな第3期将来計画が立案されつつある。「遺伝学」という学問は生命科学のあらゆる分野を統一する基礎としての意味をもつために、古い歴史を持ちながら古くならないという可能性を持っている。しかしそれは、意識的に努力を重ねて自己改革を行っていかねば沈滞の恐

れがあるということをも意味する。そのような学問の特徴を生かしつつ次の時代に向けて進むスタートは既に始まっている。現在は遺伝学研究所にとって世代交代の時期ととらえることもでき、21世紀に向けてここで舵取りを誤ってはならない。そのために既にわれわれは自己点検と自己評価、さらに外部からの評価をうけた結果を踏まえてこの第3期将来計画を策定している。本冊子をお読みいただいた方々からもぜひともご批判、ご示唆をお願いしたい。

堀 田 凱 樹

## II. 研究室一覽

(平成9年12月31日現在)

研究系等	研究部門等名	教授	助教授	助手
分子遺伝研究系 研究主幹(併) 石濱 明	分子遺伝研究部門	石濱 明		藤田 信之 光澤 浩 木村 誠
	変異遺伝研究部門		山尾 文明	岸 努 清野 浩明
	核酸化学客員研究部門	富澤純一(非) 水本清久(非)		
細胞遺伝研究系 研究主幹(併) 小川 智子	細胞遺伝研究部門	小川 智子	今井 弘民	田中 茂生 太田 力
	微生物遺伝研究部門		安田 成一	原 弘志
	細胞質遺伝客員研究部門	山村 研一	平岡 泰(非)	
個体遺伝研究系 研究主幹(併) 廣瀬 進	発生遺伝研究部門	廣海 健	藤澤 敏孝	清水 裕 服田 昌之 岡部 正隆
	形質遺伝研究部門	廣瀬 進	村上 昭雄	湊 清 山田 正明 上田 均
	生理遺伝客員研究部門	半田 宏	金谷 重彦	
集団遺伝研究系 研究主幹(併) 池村 淑道	集団遺伝研究部門			高野 敏行
	進化遺伝研究部門	池村 淑道	齊藤 成也	天前 豊明
	理論遺伝客員研究部門	原田朋子(非) (太田) 石川 統		
総合遺伝研究系 研究主幹(併) 今村 孝	人類遺伝研究部門	今村 孝	藤山秋佐夫 寶来 聰	
	育種遺伝研究部門	沖野 啓子 (森島)		才 宏偉
	応用遺伝客員研究部門	島本 義也	佐々木裕之	

研究系等		研究部門等名		教授	助教授	助手
研	系統生物 研究センター センター長(併) 中辻憲夫	マウス系統 研究分野	哺乳動物 遺伝研究室		城石俊彦	小出 剛
			発生工学 研究室	中辻憲夫		白吉安昭 齋藤哲一郎
		イネ系統 研究分野	植物遺伝 研究室		倉田のり	伊藤幸博
		大腸菌系統 研究分野	原核生物 遺伝研究室		西村昭子	
究	生物遺伝資源情報 総合センター センター長(併) 中辻憲夫		無脊椎動物 系統研究分野	無脊椎動物 遺伝研究室	林 茂生	後藤 聡
			系統情報研究室		山崎由紀子	藤田昌也
施	構造遺伝学 研究センター センター長(併) 桂 勲		生物遺伝資源情報 研究室			
			生体高分子研究室		徳永万喜洋	
			超分子機能研究室	嶋本伸雄		永井宏樹
			構造制御研究室	桂 勲		石原 健
	生命情報研究センター センター長(併) 五條堀 孝		超分子構造研究室		白木原康雄	秋葉俊彦
			遺伝子回路研究室	小原雄治		安達佳樹
			遺伝情報分析研究室	五條堀 孝		池尾一穂 今西 規
			大量遺伝情報研究室	西川 建		太田元規
設	放射線・アイソトープセンター センター長(併) 定家義人		遺伝子機能研究室	舘野義男		小林 薫 (深海)
			分子分類研究室	菅原秀明		宮崎 智
					定家義人	
	実験圃場 圃場長(併) 倉田のり					野々村賢一

### III. 研究の概要

#### A. 分子遺伝研究系

##### A-a. 分子遺伝研究部門

分子遺伝研究部門では、本年も3つの課題、「原核生物における転写装置の機能制御と転写の包括制御機構」、「真核生物の転写装置の分子解剖」及び「ウイルスの転写・複製装置の構造-機能相関」に沿った研究を継続した。これらの研究には、教授・石浜 明、助手・藤田信之、光澤 浩、木村 誠の4名のスタッフに加えて、科学技術振興事業団研究員・本田文江、P. R. SUBBARAYAN, T. A. AZAM, 櫻井仁美及び遺伝研COE外国人研究員・Olga N. OZOLINE (ロシア科学アカデミー細胞生物物理学研究所), Slawa A. WLASSOFF (ロシア科学アカデミー細胞遺伝学研究所), 文部省流動研究員・太田千佳子(帯広畜産大学), 前田広人(鹿児島大・水産), 大学院生・安井 潔, 石黒 亮, 片山 映, 小本美和, 三戸部治郎(総研大・生命科学), 渡辺貴斗(東大大学院・農学生命科学), 研究生・寺社下美樹, 野村 扶(遺伝研・研究生), 山口徹也(岐阜大学医学部・研究生), 日中医学交流協会招へい研究員・曲 章義(ハルビン大学医学部), 沼津高専専攻科学生・岡本拓人, 研究補助員・遠藤静子, 荻 久子, 高橋美津恵と秘書・原 雅子が参加した。加えて今年も国内外共同研究グループから, 多くの短期滞在研究者を迎えた。Dipankar CHATTERJI, J. GOWRISHANKAR (細胞分子細胞生物学センター, Centre for Cellular and Molecular Biology, Hyderabad, India), Jung-Shan HWANG, Peixang WANG (メルボルン大学, Univ. Melbourne, Australia), Jeffrey T. OWENS, Reiko MIYAKE (カリフォルニア大学デービス校, UC Davis, USA), Malik TALAT (ノッティンガム大学, Univ. Nottingham, UK), Jon BOWN (バーミンガム大学, Univ. Birmingham, UK), 原田慶恵 (科学技術振興事業団, 柳田敏雄研究室)。

これらの研究には、遺伝研校費、総研大校費に加えて、次の文部省科学研究費補助金の支援を得た。平成9年度文部省科学研究費基盤研究(B)(2)「RNAポリメラーゼの分子解剖:転写因子接点の同定と構造解析」(石浜), 重点領域研究「生体金属」(代表者, 分子科学研究所・北川禎三)(2)「RNAポリメラーゼの金属をとりまく局所の構造と機能」(石浜), 基盤研究(C)(2)「RNAポリメラーゼの $\sigma$ サブユニットのドメイン間相互作用」(藤田), 基盤研究(B)(2)(代表者, 大阪大学・京極好正)「RNAポリメラーゼと転写因子の構造解析」(藤田), 重点領域研究「情報認識蛋白質」(1)「DNA及び転写因子との相互作用に関するRNAポリメラーゼ上の構造」(代表者, 横浜国立大学・西村善文)(藤田), 奨励研究「分裂酵母RNAポリメラーゼIIのサブユニット間及び転写因子との相互作用の解析」(光澤), 奨励研究「分裂酵母RNAポリメラーゼIIサブユニットを中心としたタンパク質相互作用の解析」(木村)。また、石浜は、

文部省創造開発研究「生物ゲノムの全体像の解明」を組織し、また、石浜、藤田は、総合研究大学院大学共同研究「極限環境下の生命—適応の分子機構」(代表者、国立極地研究所・神田啓史)に参加した。遺伝研共同研究については、次の申し込みを受け入れ実施した。「定常期における大腸菌の加齢現象の研究」(大阪医科大学・和田 明)、「増殖定常期大腸菌 RNA ポリメラーゼの主要シグマ因子の研究」(東京大学・田中 寛)、「放線菌プロモーターの構造及び発現機構の解析」(広島大学・新川英典)。科学技術振興事業団・戦略基礎研究「遺伝子発現ヒエラルキー決定機構の解明」(代表者・石浜 明)は、第2年度にはいり、本格的研究の段階に入った。

国際共同研究の推進に、石浜は、引き続き尽力した。日本学術振興会の二国間科学協力事業については、日印自然科学協力事業のモダンバイオロジー領域が、3年目に入り、本年は、「飢餓環境における細菌の適応機構」に関する日印共同研究を継続したのみならず、本年3月、印度ハイデラバード市で、第二回日印分子生物学ワークショップを開催した。このワークショップに参加し、養成された若手研究者が、印度各地で活躍を始めている。また、印度との次の協力事業内容の提案の準備の一環として、分子生物学、バイオテクノロジー分野の同国の現状調査を実施した。一方、新たに開始された、日豪科学協力事業の第一号の共同研究として、A. J. Pittard教授(メルボルン大学)から提案のあった「RNAポリメラーゼと転写因子 TyrR の相互作用の研究」を受けて実施した。

## 1. 原核生物における転写装置の機能制御と転写の包括制御機構

(1) 大腸菌 RNA ポリメラーゼのサブユニット分子間接点の同定：トリプシン切断地図比較法：野村 扶，片山 映，藤田信之，石浜 明

大腸菌 RNA ポリメラーゼは、 $\alpha_2\beta\beta'$  のサブユニット構成で、RNA 合成能をもつコア酵素に、プロモーター認識を担当するシグマサブユニットが会合して、転写能をもつホロ酵素に形成される。サブユニット集合機構に関しては、当研究室の長年の研究でほぼ解明され、 $2\alpha \rightarrow \alpha_2 \rightarrow \alpha_2\beta \rightarrow \alpha_2\beta\beta'$  の経路で、逐次集合することが分かっている。引続き当研究室では、サブユニット間の接点についての研究を行い、先に、 $\alpha$  サブユニット上の、二量体形成の接点、 $\beta\beta'$  サブユニット結合の接点を、各種変異体の作製と、*in vitro* 及び *in vivo* での変異体  $\alpha$  サブユニット会合の過程を具に解析することで明らかにしてきた。しかし、大きな二つのサブユニット上の蛋白分子の間の接点については、これまでは殆ど解かっていなかったが、今回、二種類の方法によるプロテアーゼマッピングを行い、その実体が明らかにできた。

まず、 $\beta$  サブユニット上の  $\alpha$  サブユニットの接点については、 $\alpha_2\beta$  複合体をトリプシンで処理し、 $\beta$  サブユニット単独の切断パターンと比較することによって、 $\alpha$  サブユニットの接点を推定した。その結果、 $\beta$  サブユニット上のアミノ酸残基750付近の領域で結合していることが推定された。その上で、 $\beta$  サブユニットの各種のトリプシン切断断片を単離するか、または相当する断片を大腸菌で発現純化して、 $\alpha$  サブユニットとの結合能を調べると、N端断片は、いずれも結合しなかったが、C端領域を含む断片のいくつかは  $\alpha$  結合能

を示した。最も短いものでは、残基737-936の約200アミノ酸よりなる断片が、C端断片937-1342の存在下に $\alpha$ 結合能を示し、二つの領域の必要性が示唆された。集合状態では、中間部残基750周辺だけが、トリプシンから保護されることと併せて考えて、 $\alpha$ の主要な接点は、アミノ酸残基737-936にあると結論された。C端領域は、集合過程で補助的役割を果たしていると推定される(Nomura et al., 投稿中)。

一方、 $\beta'$ サブユニットは、 $\alpha$ 及び $\beta$ のいずれとも単独では会合しないが、 $\alpha_2\beta$ 複合体には結合できることが示されている。従って、 $\beta'$ サブユニット上の $\alpha_2\beta$ の接点を同定する目的で、 $\beta'$ 単独と、 $\alpha_2\beta\beta'$ 中の $\beta'$ のトリプシン切断パターンの比較を行った。 $\beta'$ 単独では、C端側は急速に消化される、N端断片だけが安定に単離された。 $\alpha_2\beta\beta'$ では、 $\beta'$ の切断パターンが変化した。そのトリプシン切断断片のうち、 $\alpha_2\beta$ 複合体に結合し、コア酵素に集合されるものを多数単離した。現在、それらのN端からのアミノ酸配列を決定することで、接点を推定する試みを行っている。

(2) 大腸菌RNAポリメラーゼのサブユニット分子間接点の同定：化学的切断地図比較：Jeffrey T. OWENS<sup>1</sup>, Reiko MIYAKE<sup>1</sup>, 藤田信之, 村上勝彦, 野村 扶, Olga N. OZOLINE, Claude F. MEARES<sup>1</sup>, 石浜 明 (<sup>1</sup>Univ. Calif., Dept. Chem., Davis, CA, USA)

FeEDTAは、過酸化水素、アスコルビン酸存在下で、核酸や蛋白質の主鎖の切断活性を示す。FeEDTAを蛋白質の特定の部位に結合することが出来れば、その部位周辺に存在する核酸、蛋白質を同定することが出来る。カリフォルニア大学デービス校のMeares教授らは、FeEDTAにリンカーを結合し、蛋白質のCys残基に特異的に結合する試薬FeBABEを開発した(Greiner et al., 1997)。大腸菌RNAポリメラーゼのサブユニット間の接点を同定する目的で、FeBABEをサブユニットの特定部位に結合し、その部位と接するサブユニット蛋白質を同定することとした。大学院生Reiko MIYAKEとJeffrey T. OWENSが当地に来て、それぞれ $\alpha$ サブユニット及び $\sigma$ サブユニットの接点を解析した。MIYAKEは、先にCOE外国人研究員Olga N. OZOLINEが作製したCysをひとつだけもつ、変異体 $\alpha$ サブユニット4種のコレクションを利用し(Ozoline et al., 1997)、 $\alpha$ 二量体を解析した(Miyake et al., 1998)。その結果、分子内切断は、N端ドメイン内、C端ドメイン内でのみ観察され、改めて2ドメイン構造モデル(Jeon et al., 1997)が支持された(Miyake et al., 1998)。一方、 $\alpha$ サブユニット同志の相互切断は、54Cysに結合したFeBABEによる239周辺の切断、176Cys結合FeBABEによる45周辺の切断の、2例に留まった。分子間切断パターンから、N端ドメインは、相互の逆向きの配置が予想された。

一方、OWENSは、Cysをひとつだけもつ $\sigma$ サブユニット変異体を多数作製した。幸い、これらは全て活性を維持していたので、それぞれにFe-BABEを結合し、蛋白切断反応を行うことで、コア酵素上での、 $\sigma$ サブユニットの接点の同定を試みた(Owens et al., 1998b)。その結果、 $\sigma$ サブユニットの接点は、 $\beta$ サブユニット上では2箇所、 $\beta'$ サブユニット上では1箇所が推定された。 $\beta$ サブユニット上の2箇所は、立体構造上では近接していると推定すると、 $\beta$ サブユニット一次配列上では分離して存在している基質ヌクレオシド三リン酸結合部位と、RNA鎖合成触媒部位も、実は、立体構造上では、近接していることとな

り、合理的である。なお、これら分離した機能域の中間に、 $\alpha$ サブユニットの接点が同定されたので、 $\beta$ サブユニットの機能構造形成に $\alpha$ サブユニットの結合が関与していると推定された。また、今回同定した、 $\beta'$ サブユニット上の $\sigma$ サブユニット接点は、さきに断片結合実験から我々が予測した接点と全く一致した(Luo et al., 1996)。

(3) 大腸菌RNAポリメラーゼのDNA認識接点の同定： $\alpha$ サブユニットとDNAエンハンサー(UPエレメント)の相互作用:村上勝彦, Jeffrey T. OWENS<sup>1</sup>, Olga N. OZOLINE, Claude F. MEARES<sup>1</sup>, 石浜 明 (<sup>1</sup>Univ. Calif., Dept. Chem., Davis, CA, USA)

RNAポリメラーゼ $\alpha$ サブユニットのC端ドメインは、クラス1転写因子群との相互作用領域であると同時に、増殖期に高水準で発現される遺伝子に存在する、プロモーター上流域のUPエレメント(原核生物エンハンサー)を認識する領域をも含んでいることが解っている(Ishihama, 1997a)。我々が先に行った変異体を用いた遺伝解析と、NMRによる構造解析から、UPエレメントの認識には、ヘリックス1が関与していることが判明していた(Murakami et al., 1996; Jeon et al., 1995)。これを直接実証する目的で、ヘリックス1の上にあるが、しかしUPエレメントとの結合には直接には関わっていない269Cysに、FeBABEを結合し、還元状態で発生するラジカルによるDNA主鎖の切断点を、配列から分析した(Murakami et al., 1997a)。269CysへのFeBABEの特異的結合には、先にOlga N. OZOLINEが作製した、single Cys変異体を用いた(Ozoline et al., 1998b)。また、この際、二つの $\alpha$ サブユニットの一つにだけFeBABEを導入することにも成功し、それぞれの接点も分析できた。その結果、 $\beta'$ サブユニットに結合した $\alpha$ サブユニットが、UPエレメントの上流域に、 $\beta$ サブユニットに結合した $\alpha$ サブユニットが、その下流域に接触していることが示唆された。物理化学的方法で得た結果は、遺伝学的方法で得た結果を完全に支持した。

(4) 大腸菌RNAポリメラーゼのDNA認識接点の同定： $\sigma$ サブユニットとDNAプロモーターの相互作用:Jeffrey T. OWENS<sup>1</sup>, Jon BOWN<sup>2</sup>, 村上勝彦, Claude F. MEARES<sup>1</sup>, Steve BUSBY<sup>2</sup>, 石浜 明 (<sup>1</sup>Univ. Calif., Dept. Chem., Davis, CA, USA; <sup>2</sup>Univ. Birmingham, Sch. Biochem., Birmingham, UK)

RNAポリメラーゼ $\sigma$ サブユニットは、遺伝子プロモーターの認識に直接関与している。大腸菌では、7種類の $\sigma$ サブユニットの存在が知られ、それぞれは、特定遺伝子集団の転写に関与していると推定されているが、それら $\sigma$ サブユニット間には、保存された共通配列が4箇所存在している。それら各領域の機能は、遺伝解析によって進められてきたが、今回化学的ヌクレアーゼ-プロテアーゼ活性をもつFeBABEが開発されたことで、 $\sigma^{70}$ サブユニット各領域とプロモーター各塩基対との接点を直接同定することを試みた。まず、 $\sigma$ サブユニット各領域にひとつだけCys残基をもつ変異体の作製を行った。カリフォルニア大学から来たJeff OWENSは、保存領域4箇所の全てに満遍なくCysを配置した。一方、バーミンガム大学からきたJon BOWNは、領域2及びその下流に注目してsingle Cys変異体を作製した。それらの変異体にFeBABEを結合し、*lacUV5*プロモーターと結合した後、還元条件にすると、プロモーター領域の切断がみとめられた(Owens et al., 1998a)。プロモーターの-35配列と-10配列が、 $\sigma$ サブユニット保存領域4及び2によって認識されると

の、変異体を用いた結論と一致した。加えて、 $\sigma$ サブユニットは、-35と-10の間および-10シグナルより下流にも結合することが示唆され、これらの結合に関与している蛋白領域が同定された。

(5) 大腸菌RNAポリメラーゼ $\sigma$ サブユニットの機能制御：細胞内環境の変化：草野秀一，寺社下美樹，Tapas K. KUNDU，前田 広人，岩田 晃<sup>1</sup>，上田 進<sup>1</sup>，石浜 明（<sup>1</sup>日本生物科学研究所，青梅，東京）

RNAポリメラーゼ $\sigma$ サブユニットは、プロモーター認識に関与し、大腸菌では、プロモーター認識能の違う7種類の分子種が同定されている。増殖相移行、環境変化の応じた遺伝子転写パターンの変動は、主に、 $\sigma$ サブユニットの交換によっていると考えられている（Ishihama, 1997b）。 $\sigma$ サブユニット交換機構の解明する目的で、まず大腸菌の各種 $\sigma$ サブユニットに対する特異抗体を作製し細胞内濃度を測定した（Jishage and Ishihama, 1995; Jishage et al., 1996; Jishage and Ishihama, 1997）。対数増殖期の主要 $\sigma$ サブユニット成分 $\sigma^{70}$ は、コア酵素の約1/3で、窒素代謝遺伝子転写の $\sigma^{54}$ 及び鞭毛形成遺伝子群転写の $\sigma^{28}$ は、それぞれ $\sigma^{70}$ の1/10及び1/2であった。 $\sigma^{38}$ は増殖期には殆ど存在しないが、増殖停止休止期になると、 $\sigma^{70}$ の約1/3にまで増えた。

大腸菌ゲノムの全DNA塩基配列が、本年1月に米国及び日本のグループで独立に決定された。既に予想されていたように、大腸菌は、約4,000の遺伝子をもっているが、増殖期で発現されているものは凡そ1,000である。休止定常期になるとそれらの発現が止まり、新たに約100種類の遺伝子が発現される。休止状態で生存するのに必要な遺伝子群と推定される。定常期遺伝子群を転写するために、 $\sigma^{38}$ が合成され濃度が上昇するが、しかし、 $\sigma^{70}$ も分解されることなく存在する。 $\sigma^{38}$ の選択的利用の仕組みを解析した。一つの要因は、細胞内部環境の変化であることを発見した。即ち、グルタミン酸、トレハロースなどの濃度上昇や、ゲノムDNAの超ねじれ構造の減少は、いずれも $\sigma^{70}$ の活性発揮には不都合であるが、 $\sigma^{38}$ にとっては、むしろ好都合な条件であった（Ding et al., 1995; Kusano et al., 1996; Kusano and Ishihama, 1997; Mukherjee et al., 1997; Rajkumari et al., 1997）。定常期に蓄積がはじまるポリリン酸は、当初は、RNAポリメラーゼに結合し活性を阻害するが、先に述べたような細胞質組成の変化で、ポリリン酸が解離する（Kusano and Ishihama, 1997）。しかし、こうした状況では $\sigma^{38}$ のみが働けるので、遺伝子発現変化の過渡期の制御にポリリン酸が関与している可能性が示唆された。

(6) 大腸菌RNAポリメラーゼ $\sigma$ サブユニットの機能制御：アンチシグマ因子：寺社下美樹，石浜 明

大腸菌が定常期に入ると、増殖期に発現していた約1,000の遺伝子の発現が停止し、新たに増殖には必要でないが飢餓状況での生存のための約100種類の遺伝子群が、おそらくは、一定の順序で発現されるようである（Ishihama, 1997b）。増殖関連遺伝子群の転写に必要な $\sigma^{70}$ が、存在しながら機能しない理由を探索する中で、さらに、新たなアンチシグマ因子を発見した。各種 $\sigma$ に結合している蛋白質を、様々の生育環境を系統的に調査する目的で、それぞれをGST (glutathione S-transferase)との融合蛋白として発現し、グルタチ

オンカラムを用いて複合体を単離した。 $\sigma^{70}$ には、定常期にのみある、ひとつの蛋白質が結合していた。この蛋白質のN端からのアミノ酸配列を決定し、その配列を基に、大腸菌ゲノム配列を検索した結果、未同定の新規蛋白であることが解った。この遺伝子をクローニングし、蛋白質産物を大量に発現精製し調べた結果、 $\sigma^{70}$ だけとは複合体を形成するが他の $\sigma$ サブユニットとは結合しないこと、ある種のプロモーターからの転写を阻害すること、 $\sigma^{70}$ の保存領域4と相互作用することを観察したので、これを $\sigma^{70}$ の機能制御因子(Regulator of Sigma D=Rsd)と命名した(Jishage and Ishihama, 1998)。

Rsdに対する抗体を作製し、細胞内濃度を測定したところ、Rsdは、定常期にだけ出現していることが判った。従って、Rsdは、 $\sigma^{70}$ に対するアンチシグマ因子で、定常期に不要となった $\sigma^{70}$ を一次不活性化状態で保存して置く制御機構の可能性が示唆される。大腸菌*rsd*遺伝子破壊株の性状については、現在解析中である。

(7) 大腸菌転写因子とRNAポリメラーゼの相互作用： $\alpha$ サブユニットとCRP接触の実証：村上勝彦, Jeffrey T. OWENS<sup>1</sup>, Claude F. MEARES<sup>1</sup>, Steve BUSBY<sup>2</sup>, 石浜 明 (Univ. Calif., Dept. Chem., Davis, CA, USA; <sup>2</sup>Univ. Birmingham, Sch. Biochem., Birmingham, UK)

RNAポリメラーゼ $\alpha$ サブユニットのC端ドメインは、クラス1転写因子群と相互作用し、転写制御を行っていることが、主として遺伝学的解析から主張されてきた(Ishihama, 1997)。cAMP受容蛋白質CRPは、プロモーターによっては、 $\alpha$ サブユニットと相互作用するクラス1の転写因子として振る舞い、また時には、 $\sigma$ サブユニットと相互作用するクラス2の転写因子として機能する、特異な転写因子のひとつである。CRP非感受性となった $\alpha$ サブユニット変異体の変異の位置から、CRPとの接点が推定されていたが、変異に伴う間接作用は否定できない(Murakami et al., 1996)。そこで、先に述べた、FeBABEの化学スクレアゼ活性を利用して、 $\alpha$ サブユニットのDNA上の位置を同定する方法を利用し、CRPとの相互作用に伴う $\alpha$ サブユニットの位置変動を観測することとした。Steve Busbyらに依って作製された、CRP結合サイト二つを様々の位置にもつ、人工プロモーターコレクションを利用し、一つまたは両方の $\alpha$ サブユニットの269CysにFeBABEを結合させたRNAポリメラーゼを再構成して解析を行った(Murakami et al., 1997b)。その結果、二つの $\alpha$ サブユニットCTDが、独立にCRPと相互作用し、CRPの位置の移動につれて、Fe-BABEによるDNA切断点が移動することを実証できた。

(8) 大腸菌転写因子と各転写因子支配下プロモーターの全体像の解明：転写因子とプロモーターの大規模コレクションの作製と解析：石浜 明, 前田広人, 野村 扶, 寺社下美樹, T. A. Azam, P. R. Subbarayan, 藤田信之, 田中 寛<sup>1</sup>, 和田 明<sup>2</sup>(<sup>1</sup>東京大学分子細胞生物学研究所, <sup>2</sup>大阪医科大学物理学教室)

大腸菌RNAポリメラーゼは、 $\sigma$ サブユニットのひとつとの会合による、第一次の機能分化に続いて、転写因子のひとつまたは複数との相互作用で、二段階目の機能分化をする(Ishihama, 1997)。シグマ因子は、既に7種類の全てを単離し、抗体を作製し細胞内濃度の測定や、シグマ因子交換の機構の解析を行ってきた。また、各プロモーターがどの程度特異的に各 $\sigma$ サブユニットで識別されるかを知る目的で、 $\sigma$ サブユニット混合転写系での*in*

*in vitro*転写の解析を開始した。しかし、 $\sigma^{70}$ 以外の、ストレス応答のための $\sigma$ サブユニットの支配下プロモーターは僅かしか同定されていない。各シグマ因子支配下のプロモーターの大規模コレクションの作成を開始した。

一方、第二段階目の転写因子は、大腸菌で凡そ100種類と推定されている(Ishihama, 1997)。その全ての同定、細胞内濃度の測定、支配下遺伝子の同定を終局の目的として、転写因子の大量発現、精製を開始した。今年は、DNA結合蛋白質として知られる、約10種の蛋白質の純化を行い、それらの抗体を作製した。なお、我々は、転写因子を、RNAポリメラーゼ上の接点を基準に、4群に分類することを提唱しているが、転写因子の分類及び接点サブユニットの同定は、世界各国の転写因子研究専門家と引続き共同研究を継続した(Ballesteros et al., 1998; Boucher et al., 1997; Buyukuslu et al., 1997; Chatterji et al., 1998; Chugani et al., 1997; Choy et al., 1997; McFall et al., 1997; McHall et al., 1998; Negre et al., 1997; Negre et al., 1998; Thomas et al., 1998; Yang et al., 1997; Wang et al., 1998)。

## 2. 真核生物の転写装置の分子解剖

### (1) 分裂酵母RNAポリメラーゼIIのサブユニット構成：櫻井仁美，石浜 明

分裂酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)RNAポリメラーゼIIの精製標品に含まれる10種類のサブユニットと推定される蛋白成分全てについて、cDNAと遺伝子を単離し、それらのDNA塩基配列を決定した(Sakurai and Ishihama, 1997)。出芽酵母では、同定されていた、サブユニット4と9が、分裂酵母には欠けていた。これら2種類がなくても、精製酵素は、変性DNAを鋳型にした非特異的なRNA合成活性を示したので、これら二つは、RNA合成には必須ではないと推定された。これまで、サブユニット4は出芽酵母でのみ同定されているが、しかしサブユニット9は、既に、出芽酵母、ヒト及びショウジョウバエで同定されている。そこで、分裂酵母における、サブユニット4と9の遺伝子とその発現を調べた。

サブユニット9の配列の比較から、保存領域を推定し、その情報を基に、PCRプライマーを作製し、5'-RACE及び3'-RACEを行い、ORF(open reading frame)の全塩基配列を決定した。この塩基配列から予想された、113アミノ酸残基からなる蛋白質は、出芽酵母のRpb9と47%の相同性を示したので、これを分裂酵母のRpb9と同定した。Rpb9をコードする遺伝子には、4つのイントロンがあった。cDNAも得られたので、少なくともmRNAには発現されていることが判明した。cDNAを大腸菌で発現し、抗体を作製したので、現在サブユニット9蛋白質の発現と所在の検索を開始した。サブユニット4に関しては、これまで出芽酵母でしか同定されておらず、また出芽酵母でも簡単にRNAポリメラーゼから分離されることも知られているので、サブユニットといえる成分かどうか疑わしい。

### (2) RNAポリメラーゼIIのサブユニット相互作用ネットワーク：石黒 亮，安井 潔，木村 誠，石浜 明

分裂酵母RNAポリメラーゼIIは、10種類のサブユニットから構成されている。各サブユニットの機能を理解し、またサブユニット集合様式を理解する目的で、まずサブユニット

間相互作用ネットワークの解明を目指した研究を行ってきた。これまでに、二分子間相互作用を、ファーウエスタン法、複合体の pull-down 法などを利用して解析してきた。当初は精製 RNA ポリメラーゼ標品を用いて、これらの実験を実施してきたが、サブユニット分解物が多く混在していること、不純混在蛋白が含まれていること、サブユニット間の分子比が一定ではないことなどの難点があった。また、サブユニット 8 と 11 の組み合わせなど、小サブユニット間で、SDS-PAGE では分離が困難な場合があった。全遺伝子がクローニングされ、cDNA を大腸菌で発現できるようになったので、新たに、純化サブユニットの等モル比混合物を利用し、またサブユニット間で分離が困難であった場合には、適当なタグを付加して、サイズの調節を行い、これらの難点をほぼ解消し、より確実な結論に到達できた (Ishiguro et al., 1998)。

しかし、これらの方法では非特異的相互作用を間違えて検出したり、弱い特異的相互作用の検出が困難であるなどの技術的難点が排除できない。そこで、これまでの結果を検証し、また集合状態での隣接関係を知るために、本年は、主として、蛋白間架橋実験を実施した (Ishiguro et al., 1998)。架橋剤としては、架橋活性基間の鎖長の違う二価架橋試薬 5 種類、dimethylsuberimidate (DMS), 2-iminothiolane hydrochloride (ITL), *N,N'*-o-phenylene-dimaleimide (PDM), dimethyl 3, 3'-dithio-bis propionimidate (DTBP), diepoxybutane (DEB) を利用した。精製 RNA ポリメラーゼをこれら試薬で架橋後、SDS-PAGE で分画した。架橋されたサブユニット連結物に含まれる成分は、各サブユニットに対する抗体で同定した。二つの大きなサブユニットは、多くのサブユニットとの架橋が観察された。即ち、Rpb1 は、Rpd2, Rpb3, Rpb5, Rpb6, Rpb8, Rpb11 及び Rpb12 と、Rpb2 は、Rpb1, Rpb3, Rpb5, Rpb6, Rpb7, Rpb10, Rpb11 及び Rpb12 と架橋され、多くの小サブユニット集合の足場となっている可能性が示唆された。小サブユニット間では、Rpb3 が Rpb10 及び Rpb11 と、また Rpb6 が Rpb5, Rpb7, Rpb8 と架橋された。結果は、ファーウエスタン法及び複合体 pull-down 法で同定された二分子間相互作用の結果と大筋で一致した。

### (3) RNA ポリメラーゼ II のサブユニットコア集合体：木村 誠，石浜 明

RNA ポリメラーゼ II 内部のサブユニット配置を解明するために、完全酵素からのサブユニット逐次解離を試みた。酵素の精製を容易にし、またサブユニットの逐次離脱を観察する目的で、RNA ポリメラーゼを樹脂に固定する方法を考案した。即ち、サブユニット 1 (Rpb1) の蛋白本体と C 端繰り返し配列 (CTD=C-terminal domain) の間や、サブユニット 3 (Rpb3) の N 端に、ヒスチジンタグを付加した遺伝子で、分裂酵母染色体上のそれぞれ対応する遺伝子を置換した変異株を作製した。これら変異体酵母から、 $\text{Ni}^{2+}$ -アフィニティクロマトグラフィとイオン交換クロマトグラフィを組合わせて、Rpb1 または Rpb3 にタグをもつ RNA ポリメラーゼ II を高純度に精製した。

$\text{Ni}^{2+}$ 樹脂に固定した RNA ポリメラーゼを、蛋白変性剤で処理すると、結合の弱いサブユニットから順に解離し溶出される。この方法で、サブユニット解離順序を決定した。例えば、尿素処理を行うと、2M では、まだどのサブユニットも解離しないが、4M では、Rpb1 を媒介に樹脂に結合した酵素では、サブユニット 8 を残してほぼ解離し、また、Rpb3 を介し

て樹脂に固定した場合には、サブユニット2, 3, 10, 11が樹脂に結合したまま残った。このRpb3複合体をさらに6M尿素で処理すると、サブユニット10が解離した。これらの結果から、Rpb2-Rpb3-Rpb11複合体が、コアサブユニット集合体と推定した(Kimura and Ishihama, 1997)。大腸菌RNAポリメラーゼ集合機構については、 $\alpha_2\beta$ 複合体が中間体として形成されることが知られている。Rpb2が $\beta$ サブユニットと相同で、Rpb3及びRpb11が共に $\alpha$ サブユニットと相同であることから、今回同定したコアサブユニット集合体は、真核生物RNAポリメラーゼ形成の中間体である可能性がある。

なお、Rpb1及びRpb2-Rpb3-Rpb11の両方に、弱いDNA結合活性が検出された。RNAポリメラーゼIIの強いDNA結合活性には、この両方が寄与していると推定された。

(4) RNAポリメラーゼIIサブユニット上のサブユニット結合部位の同定: 安井 潔, 宮尾 武孝, 曲 章義, 本田文江, 石浜 明

RNAポリメラーゼIIのサブユニット間ネットワークの概要が明らかになったので、次のステップのひとつとして、各サブユニット上の蛋白間相互作用の接点を同定する研究に入った。Rpb2-Rpb3-Rpb11集合体が、サブユニットのコア集合体として同定されたので、先ずこれらのサブユニットの分子解剖を優先させた。

サブユニット2(Rpb2)は、完全長で発現し、可溶性成分として回収することは困難である。そこで、出芽酵母のtwo-hybridスクリーニング法を利用して、サブユニット相互作用域を解析することとした。GAL4のDNA結合ドメインに解析対象のサブユニットを融合した発現ベクターと、GAL4転写活性化ドメインにRpb2の様々の断片を融合した発現ベクター混合物を同時に酵母細胞に導入し、 $\beta$ ガラクトシダーゼ活性が検出されたものを多数単離し、Rpb2断片の配列を決定した。Rpb3の結合域を解析した結果、全てのクローンは、原核生物RNAポリメラーゼ $\beta$ サブユニット及び真核生物RNAポリメラーゼサブユニット2に共通して認められる9保存配列のうち、領域Hを含むことが判明した(Miyao et al., 1998)。この領域は、大腸菌RNAポリメラーゼ $\beta$ サブユニットの場合の $\alpha$ サブユニット結合域に近い(Nomura et al., 投稿中)。なお、同じ方法で、サブユニット1(Rpb1)を調べた処、サブユニット5(Rpb5)が保存領域Hに結合することが示唆された。なお、この方法で、GAL4転写活性化ドメインに細胞cDNAライブラリーを挿入し、各サブユニットと相互作用する蛋白質をランダムにスクリーニングして、サブユニット蛋白以外で、RNAポリメラーゼと相互作用する蛋白質の検索も行っている。

一方、サブユニット3(Rpb3)については、完全長及び各種の欠失変異体を大腸菌で発現精製し、ファーウエスタン法、複合体共沈法(pull-down assay)を用いて解析した。その結果、Rpb5との結合には、アミノ酸残基105-263、Rpb11との結合には、残基105-297までが必要であることが判明した(Yasui et al., 1998)。Rpb5とRpb11の結合域が相当に重複しているが、それぞれの結合に及ぼす、他のサブユニットの影響を調べた結果、Rpb5がRpb11の結合を促進することが観察された。コアサブユニット集合体が、Rpb2-Rpb3-Rpb11から形成されていることと併せて考えると、これにRpb5が結合してサブユニット集合体を安定化している可能性が考えられる。

(5) RNA ポリメラーゼ II のサブユニット機能の遺伝解析：サブユニット3 (Rpb3) 変異株の単離と解析：三戸部治郎，光澤 浩，石浜 明

サブユニット機能の同定とサブユニット相互作用ネットワークの解明のための生化学的解析に平行して，遺伝学的解析を進めた。サブユニット3 (Rpb3) の機能を同定する目的で，*rpb3* 遺伝子に単一のアミノ酸置換変異をもった温度感受性株の単離を試みた。変異の導入は，*rpb3* 遺伝子の5'末端側半分と3'末端側半分のPCR増幅を2回に分けて行い，その間に生じた誤複製を利用した。これらのPCR増幅断片を分裂酵母 *ura4* 遺伝子マーカーにもつプラスミドに挿入し，制限酵素処理で直鎖状にした後に分裂酵母 (JY741 株) に導入し，プラスミド全体を酵母のゲノムに挿入した。選択培地で *Ura*<sup>+</sup> の形質転換体を選択してから YE plate にレプリカし，高温感受性株 (Ts) および低温感受性株 (Cs) を分離した。得られた変異体候補株は遺伝学的にウラシル非要求性と温度感受性の連鎖を観察することで *rpb3* 遺伝子中に変異をもつことを確認した。

変異株のゲノムDNAの *rpb3* 遺伝子をダイレクトシーケンスし，現在までに9個の高温感受性株と5個の低温感受性株を得た。うち13個の変異株は，単一のアミノ酸置換を与える塩基置換を持ち，これらの変異はひとつを除いてすべて，サブユニット3に認められる4個所の保存領域内に認められたので，変異体を変異の部位に応じて4群に分類した。また，これらのTs株のヘテロ二倍体は37°Cで野生株と同程度の増殖を示し，劣性変異をもっていることが分かった。得られた変異株のRNAポリメラーゼの機能を温度感受性，サブユニット集合の温度感受性を調べる作業を開始した。

一方，サブユニット3と相互作用するサブユニットや転写因子を探索する目的で，抑圧変異の単離を開始した。そのために先ず，制限温度条件下 (37°C) で成育可能な復帰変異株を得，その中から20°Cで低温感受性を示すものを捜し，そこにゲノムDNAライブラリーを導入して，低温感受性を相補する遺伝子を単離することで，抑圧変異が起きた遺伝子を同定する方策を選択した。この方法で，系統的な抑圧変異遺伝子の探索を開始した。

(6) RNA ポリメラーゼ II のサブユニット機能の遺伝解析：サブユニット11 (Rpb11) 変異株の単離と解析：小本美和，光澤 浩，石浜 明

RNA ポリメラーゼ II のサブユニット機能の遺伝解析の一環として，サブユニット3とアミノ酸配列で一部相同性をもつサブユニット11 (Rpb11) の解析を開始した。プラスミド上に *rpb11* 遺伝子をもつ分裂酵母の染色体上の *rpb11* 遺伝子を破壊すると，プラスミドで *rpb11* 遺伝子を供給し Rpb11 を発現させた時だけ，生存できることをから，分裂酵母でも，*rpb11* は必須遺伝子と結論した。

変異の導入は，この際も，PCRによる遺伝子増幅の際の誤複製を利用した。*rpb11* のPCR産物を染色体 *rpb11* 遺伝子破壊株に導入し，細胞増殖が高温または低温感受性となった条件致死変異株の単離を試みた。これまでに，5個の高温感受性変異体，3個の低温感受性変異体を単離した。高温感受性変異体については，非許容温度でもプラスミドで正常のRpb11を供給すれば生育でき，相補されることから，*rpb11* 遺伝子上の変異と推定された。変異体の *rpb11* 遺伝子のDNA配列を分析したところ，事実点突然変異が同定され，アミノ酸置

換変異によるものであることが判明した。変異体のRNAポリメラーゼの機能や、サブユニット集合を解析し、Rpb11の生理的役割を同定する計画である。特に、同じように、原核生物RNAポリメラーゼ $\alpha$ サブユニット相同配列をもつサブユニット3 (RBP3)との相互作用に注目したい。

### 3. ウイルスの転写・複製装置の構造—機能相関

(1) インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼの分子解剖：転写素過程機能域のマッピング：本田文江，水本清久<sup>1</sup>，石浜 明<sup>1</sup> (核酸化学研究部門，北里大学薬学部)

インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼは、3種類のウイルス蛋白質PB1, PB2, PAから形成され、ウイルス mRNA 合成の転写と、ウイルスゲノム RNA の複製の両方に関与している。mRNA 合成は、宿主細胞 mRNA を切断して得られるキャップ構造をもつオリゴヌクレオチドをプライマーとして開始するなど、複製とは違った RNA 合成様式を示す。変異体を作製した遺伝解析や、個別蛋白発現細胞での活性測定から、PB1に RNA 合成の活性中心があり、PB2にキャップ RNA 切断エンドヌクレアーゼ活性があると推定されている。

先に我々は、GTPアジド類似体の紫外線による蛋白への結合実験より、RNA 合成基質が、PB1蛋白質の二箇所にも共有結合で固定されることを同定した(Asano and Ishihama, 1997)。本年は、キャップ RNA のキャップ部分の結合部位を同定する目的で、ワクチニアウイルスのキャッピング酵素を利用して、キャップ部分だけをRI標識した基質を作製した。インフルエンザウイルスより調整したRNPコアと混合し、紫外線を照射してクロスリンクさせた。リボヌクレアーゼ消化後、蛋白をSDSゲル電気泳動で分離すると、放射活性はPB2にだけ検出され、キャップ RNA の、少なくともキャップ部分は、PB2によって認識結合されることを検証した。キャップ RNA を結合したPB2を単離し、大腸菌で発現精製したPB2と混合し、V8プロテアーゼで消化した。分解産物を再びSDSゲル電気泳動で分離し、得られたRI標識断片のN端アミノ酸配列の分析を行った結果、キャップ結合部位2箇所を同定した。ひとつは、N端領域で、もうひとつは、アミノ酸残基500-570で、その配列からキャップ結合部位が予測されていた領域に一致した。

(2) インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼの機能制御機構：サブユニットと相互作用をする宿主蛋白の検索：岡本拓人，本田文江，曲 章義，石浜 明

インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼは、ウイルス感染後期には、mRNA を合成する転写酵素としての機能をもつ分子形態から、vRNA複製をする複製酵素の形態に変換される。ウイルス粒子から得られる RNA ポリメラーゼ、再構成 RNA ポリメラーゼは、主として転写酵素としての特性しかもっていないので、感染細胞中で、宿主蛋白質因子の関与で複製装置に変換されると推定されている(Ishihama, 1996; Honda and Ishihama, 1997)。しかし、複製酵素を精製し、そこに結合する宿主蛋白を同定することは、分析に必要な量を確保する点で限界があり、困難であった。我々は本年、出芽酵母の two-hybrid 法により、各 P 蛋白サブユニットに結合する宿主蛋白を探索し、その中から、目的蛋白を同定する系統的、組織的研究を実施した。一方の発現ベクターを利用して、GAL4 の DNA 結合ドメインに融合

したP蛋白を発現した。もうひとつのベクターでは、GAL4の活性化ドメインにHeLa細胞cDNAを結合して融合蛋白を発現させるように細工されたライブラリーを利用した。両プラスミドを混合して、出芽酵母Y190株に導入し、GAL4依存的に発現するβガラクトシダーゼ活性を指標に、各P蛋白と相互作用をする蛋白をコードするcDNAを探した。P蛋白質の発現を確認し、観察されたβガラクトシダーゼ活性が、確かにP蛋白の発現に由来すると確認されたものについて、cDNAの塩基配列を決定した。これまでに、PB1と相互作用する蛋白質30種、PB2と相互作用するもの26種を単離した。

(3) タバコモザイクウイルスRNAポリメラーゼの分子実体の解明：渡辺貴斗，本田文江，岩田 晃<sup>1</sup>，上田 進<sup>1</sup>，日比忠明<sup>2</sup>，石浜 明<sup>1</sup>（<sup>1</sup>日本生物科学研究所，<sup>2</sup>東京大学農学部）

タバコモザイクウイルス(TMV)ゲノムにコードされる130K蛋白及びその通過翻訳産物180K蛋白は、TMVゲノムRNAの転写と複製に関与するRNAポリメラーゼであると考えられてきた。この予測の拠り所は、130K成分にメチルトランスフェラーゼ(M)及びRNAヘリカーゼ(H)と類似配列があり、また、180K成分にウイルスRNAレプリカーゼ(P)特有の配列が存在することであった。我々は、ウイルスRNAの転写、複製に関与するRNAポリメラーゼの分子実体を、実験的に解明する目的で、130K、180K蛋白cDNAをpETベクターに挿入し、大腸菌で発現させ、特異抗体を作製した。また、両蛋白および各ドメインの素活性を試験管内で測定する目的で、各ドメインをMBP(マルトース結合蛋白)との融合蛋白として、大腸菌で発現し精製した。精製各ドメイン蛋白質の素活性同定の手始めに、RNA結合活性を調べた。ウイルスRNAポリメラーゼの認識配列が存在すると推定される、ウイルスRNA(+)<sup>3'</sup>端249ヌクレオチド配列をもつ短鎖RNA及び相補鎖(-)RNAの<sup>3'</sup>端149ヌクレオチド配列の短鎖RNAを、cDNAから合成し、プローブとして用いたゲルシフト法を実施した。その結果、M及びPドメインに、RNA結合活性が検出された。なお、ウイルスRNAの配列をもたないRNAには、結合しない。

一方、感染細胞から、RNAポリメラーゼを単離し、その分子構成を同定する目的で、今回調整した、各ドメインに対する抗体を利用した、アフィニティークロマトグラフィーを行った。TMV感染細胞抽出液をタウロデオキシコール酸(taurodeoxycholate)処理後の、遠心上清から、抗体カラムを用いて、130K/180K複合体を単離した。この複合体は、RNA合成活性を示したが、その特異性については、今後の課題である。

## 研究業績

### (1) 原著論文

1. Asano, Y. and Ishihama, A.: Identification of two nucleotide-binding sites on the PB1 subunit of influenza virus RNA polymerase. *J. Biochem.*, **122**, 627-634, 1997.
2. Ballesteros, M., Kusano, S., Ishihama, A. and Vicente, M.: The *ftsQ1p* gearbox promoter of *Escherichia coli* is a major sigma S-dependent promoter in the *ddlB-ftsA* region. *Mol. Microbiol.*, in press.

3. Boucher, P.E., Murakami, K., Ishihama, A. and Stibitz, S.: The nature of DNA-binding and RNA polymerase interaction of the *Bordetella pertusis* BvgA transcriptional activator at the *fha* promoter. *J. Bacteriol.*, **179**, 1755-1763, 1997.
4. Buyukuslu, N., Trigwell, S., Lin, P. P., Ralphs, N.T., Fujita, N., Ishihama, A. and Glass, R.E.: Physical mapping of a collection of *MaeI*-generaing amber mutations and the functional effect of internal deletions constructed through their manipulation. *Genes and Function*, **1**,119-130, 1997.
5. Chatterji, D., Fujita, N. and Ishihama, A.: The mediator for stringent control, ppGpp, binds to the  $\beta$ -subunit of *Escherichia coli* RNA polymerase. *Genes to Cells*, in press.
6. Chugani, S.A., Parsek, M.R., Douglas, Hershberger, C.D., Murakami, K., Ishihama, A. and Chakrabarty, A.M.: Activation of the *catBCA* promoter: Probing the interaction of CatR and RNA polymerase through *in vitro* transcription. *J. Bacteriol.*, **179**, 2221-2227, 1997.
7. Choy, H.E., Hanger, R.R., Aki, T., Mahoney, M., Murakami, K., Ishihama, A. and Adhya, S.: Repression and activation of promoter-bound RNA polymerase activity by Gal repressor. *J. Mol. Biol.*, **272**, 293-300, 1997.
8. Greiner, D.P., Miyake, R., Moran, J.K., Jones, A.D., Negishi, T., Ishihama, A. and Meares, C.F.: Synthesis of the protein cutting reagent iron (S)-1-(p-bromoacetamidebenzyl) ethylenediaminetetraacetate and conjugation to cysteine side chains. *Bioconjugate Chemistry*, **8**, 44-48, 1997.
9. Honda, A. and Ishihama, A.: The molecular anatomy of influenza virus RNA polymerase. *Biol. Chem.*, **378**, 483-488, 1997.
10. Honda, A., Mizumoto, K. and Ishihama, A.: A simple enzymatic method for analysis of RNA 5'-terminal structures: Quantitative determination of the 5' termini of influenza virus genome RNAs. *Virus Res.*, in press.
11. Inamoto, S., Segil, N., Pan, Z.-Q., Kimura, M. and Roeder, R.G.: The cyclin-dependent kinase-activating kinase (CAK) assembly factor, MAT1, targets and enhances CAK activity on the POU domains of octamer transcription factors. *J. Biol. Chem.*, **272**, 29852-29858, 1997.
12. Ishiguro, A., Kimura, M., Yasui, K., Iwata, A., Ueda, S. and Ishihama, A.: Two large subunits of the fission yeast RNA polymerase II provide a platform for the assembly of small subunits. *J. Mol. Biol.*, **279**, 703-712, 1998.
13. Ishihama, A.: A multi-functional enzyme with RNA polymerase and RNase activities: Molecular anatomy of influenza virus RNA polymerase. *Biochimie*, **78**, 1097-1102, 1996.
14. Ishihama, A.: Promoter selectivity control of *Escherichia coli* RNA polymerase.

- In: *Nucleic Acids & Molecular Biology*, Vol. 11, Mechanism of Transcription, Eds. F. Eckstein and D. Lilley, Springer-Verlag, Heidelberg, pp. 53-70, 1997a.
15. Ishihama, A.: Adaptation of gene expression in stationary phase bacteria. *Curr. Opin. Genet. Devel.*, **7**, 582-588, 1997b.
  16. Ishihama, A., Kimura, M. and Mitsuzawa, H.: Subunits of yeast RNA polymerases in structure and function. *Curr. Opin. Microbiol.*, **1**, 190-196, 1998.
  17. Ishihama, A., Zou, C., Kobayashi, M., Kumar, A., Fujita, N., Sakurai, H. and Hayward, R.S.: Molecular recognition in gene transcription. In: *Biomolecular Interactions in DNA and Proteins*. Eds. V. Buckin and T. Funck, Nova Sci. Publ., 1998.
  18. Jeon, Y.H., Yamazaki, T., Otomo, T., Ishihama, A. and Kyogoku, Y.: Flexible linker in the RNA polymerase  $\alpha$  subunit facilitates the independent motion of the C-terminal activator contact domain. *J. Mol. Biol.*, **267**, 953-962, 1997.
  19. Jishage, M. and Ishihama, A.: Variation in RNA polymerase sigma subunit composition within different stocks of *Escherichia coli* strain W3110. *J. Bacteriol.*, **179**, 959-963, 1997.
  20. Jishage, M. and Ishihama, A.: A stationary phase protein in *Escherichia coli* with binding activity to the major  $\sigma$  subunit of RNA polymerase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, 4953-4958, 1998.
  21. Kang, J.G., Hahn, M.Y., Ishihama, A. and Roe, J.H.: Identification of sigma factors for growth phase-related promoter selectivity of RNA polymerases from *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Nucleic Acids Res.*, **25**, 2566-2573, 1997.
  22. Kimura, M., Ishiguro, A. and Ishihama, A.: RNA polymerase II subunits 2, 3 and 11 form a core subassembly with DNA binding activity. *J. Biol. Chem.*, **272**, 25851-25855, 1997.
  23. Kundu, T.K., Kusano, S. and Ishihama, A.: Promoter selectivity of *Escherichia coli* RNA polymerase  $\sigma^F$  holoenzyme involved in transcription of flagellar and chemotaxis genes. *J. Bacteriol.*, **179**, 4264-4269, 1997.
  24. Kusano, S. and Ishihama, A.: Stimulatory effect of trehalose on the formation and activity of *Escherichia coli* RNA polymerase  $E\sigma^{38}$  holoenzyme. *J. Bacteriol.*, **179**, 3649-3654, 1997.
  25. Kusano, S. and Ishihama, A.: Functional interaction of *Escherichia coli* RNA polymerase with inorganic polyphosphate. *Genes to Cells*, **2**, 433-441, 1997.
  26. Luo, J., Sharif, K.A., Jin, R., Fujita, N., Ishihama, A. and Krakow, J.S.: Molecular anatomy of the  $\beta'$  subunit of the *E. coli* RNA polymerase: identification of regions involved in polymerase assembly. *Genes to Cells*, **1**, 819-827, 1997.
  27. McFall, S.M., Ishihama, A. and Chakrabarty, A.M.: Transcriptional activation of

- the *clcABD* chlorocatechol operon: Interaction between ClcR bound to the promoter proximal site and RNA polymerase. *J. Bacteriol.*, in press.
28. McHall, S.M., Klem, T.J., Fujita, N., Ishihama, A. and Chakrabarty, A.M.: DNase I footprinting, DNA bending and *in vitro* transcription analysis of ClcR and CatR on the *clcABD* promoter: Evidence of a conserved transcriptional activation mechanism. *Mol. Microbiol.*, **24**, 965-976, 1997.
  29. Miyake, R., Murakami, K., Owens, J.T., Greiner, D.P., Ozoline, O.N., Ishihama, A. and Meares, C.F.: The dimeric association of *E. coli* RNA polymerase alpha subunits studied by cleavage of Fe-BABE conjugated single-cysteine alpha subunits. *Biochemistry*, **37**, 1334-1349, 1998.
  30. Miyao, T., Honda, A., Qu, Z. and Ishihama, A.: Mapping of Rpb3 and Rpb5 contact sites on two large subunits, Rpb1 and Rpb2, of the fission yeast RNA polymerase II. *Mol. Gen. Genet.*, in press.
  31. Mukherjee, A., Cui, Y., Ma, W.L., Liu, Y., Ishihama, A., Eisenstark, A. and Chatterjee, A.K.: *rpoS* alleles of *Erwinia* species: evidence for an effect of RpoS (Sigma-S) on the expression of *rmsA*, a global regulator of secondary metabolites and extracellular proteins in *Erwinia carotovora*. *Microbiology*, in press.
  32. Murakami, K., Kimura, M., Owens, J.T., Meares, C.F. and Ishihama, A.: The two alpha subunits of *Escherichia coli* RNA polymerase are asymmetrically arranged and contact different halves of the DNA UP element. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, 1709-1714, 1997a.
  33. Murakami, K., Owens, J.T., Belyaeva, T.A., Meares, C.F., Busby, S.J.W. and Ishihama, A.: Positioning of two alpha subunits carboxy-terminal domains of RNA polymerase at promoters by two transcription factors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, 11274-11278, 1997b.
  34. Nagai, S., Nagasawa, Y., Yagihashi, T. and Ishihama, A.: The cyclic AMP receptor protein (CRP) gene function is required for expression of a (cell-bound)-type hemolysis in an avian pathogenic *Escherichia coli* strain. *Infect. Immun.*, in press.
  35. Negre, D., Bonod-Bidaud, C., Oudor, C., Prost, J.-F., Kolb, A., Ishihama, A., Cozzzone, A.J. and Cortay, J.-C.: DNA flexibility of the UP element is a major determinant for transcriptional activation at the *Escherichia coli* acetate promoter. *Nucleic Acids Res.*, **25**, 713-718, 1997.
  36. Negre, D., Oudot, C., Prost, J.-F., Murakami, K., Ishihama, A., Cozzzone, A.J. and Cortay, J.-C.: FruR-mediated transcriptional activation at the *ppsA* promoter of *Escherichia coli*. *J. Mol. Biol.*, in press.
  37. Owens, J.T., Murakami, K., Chmura, A., Fujita, N., Ishihama, A. and Meares, C. F.: Mapping *lac* UV5 DNA sites proximal to conserved regions of sigma-70 in

- an *Escherichia coli* RNA polymerase-DNA open promoter complex. *Biochemistry*, **37**, 7670-7675, 1998a.
38. Owens, J.T., Miyake, R., Murakami, K., Fujita, N., Chmura, A.J., Ishihama, A. and Meares, C.F.: Mapping the  $\sigma^{70}$  subunit contact sites on *Escherichia coli* RNA polymerase with a  $\sigma^{70}$ -conjugated chemical protease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, 6021-6025, 1998b.
  39. Ozoline, O.N., Masulis, I.S., Chasov, V.V. and Ishihama, A.: Functional topology of the bacterial RNA polymerase. In: *Spectroscopy of Biological Molecules: Modern Trends*. Eds. P. Carmona, R. Navarro and A. Hernanz, Kluwer Academic Publ, Dordrecht, pp. 163-164, 1997.
  40. Ozoline, O.N., Fujita, N., Murakami, K. and Ishihama, A.: Monitoring of RNA polymerase-DNA UP element interaction by a fluorescent probe conjugated to  $\alpha$  subunit. *Eur. J. Biochem.*, **253**, 371-378, 1998a.
  41. Ozoline, O.N., Murakami, K., Negishi, T., Fujita, N. and Ishihama, A.: Specific fluorescent labeling of two functional domains in RNA polymerase alpha subunit. *PROTEINS: Structure, Function, and Genetics*, **30**, 183-192, 1998b.
  42. Rajkumari, K., Ishihama, A. and Gowrishankar, J.: Evidence for transcription attenuation rendering cryptic  $\sigma^S$ -dependent promoter for the osmotically regulated *proU* operon of *Salmonella typhimurium*. *J. Bacteriol.*, **179**, 7169-7173, 1997.
  43. Sakurai, H. and Ishihama, A.: Gene organization and protein sequence of the small subunits of *Schizosaccharomyces pombe* RNA polymerase II. *Gene*, **196**, 165-174, 1997.
  44. Thomas, M.S., Zou, C., Ishihama, A. and Glass, R.E.: The effect of a nested set of C-terminal substituted deletions on the function of the  $\alpha$  subunit of *Escherichia coli* RNA polymerase. *Internatl. J. Biochem. Cell Biol.* **29**, 1475-1483, 1998.
  45. Yang, J., Murakami, K., Camakaris, H., Fujita, N., Ishihama, A. and Pittard, A.J.: Amino acid residues in the  $\alpha$  subunit C-terminal domain of *Escherichia coli* RNA polymerase involved in interactions with an UP-like sequence and the TyrR protein in the control of transcription from the *mtr* promoter. *J. Bacteriol.* **179**, 6187-6191, 1997.
  46. Yasui, K., Ishiguro, A. and Ishihama, A.: Location of subunit-subunit contact sites on RNA polymerase II subunit 3 from the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Biochemistry*, **37**, 5542-5548.
  47. Wang, P., Yang, J., Ishihama, A. and Pittard, A.J.: Demonstration that the TyrR protein and RNA polymerase complex formed at the divergent P3 promoter inhibits the binding of RNA polymerase to the major promoter P1 of the *aroP* gene of *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.*, in press.

## (2) その他

1. Ishihama, A.: Transcription and replication of influenza virus. In: Proc. First Shizuoka Forum on Health and Longevity, pp. 157-166, Shizuoka Pref. Gov., 1997.
2. Ishihama, A.: Shizuoka Forum on Virus Infection and Control. Virus International, Elsevier, 1997.
3. 石浜 明: 生きるための遺伝戦略. ネオ生物学シリーズ「細菌」(吉川 寛編), 35-49頁, 共立出版, 1996.
4. 本田文江, 石浜 明: インフルエンザウイルスの増殖. 日本臨床, 55(10), 特集「インフルエンザ」, 57-63, 1997.
5. 豊田哲也, 石浜 明: インフルエンザウイルス. 「ウイルス学」(畑中正一編), 朝倉書店, 東京, 1997.

## (3) 発表講演

1. Ballesteros, M., Kusano, S., Ishihama, A. and Vicente, M.: Transcription from the *ftsQ* promoters: a comparative analysis. International Workshop "The Bacterial Cell Cycle", Chorin (Germany), September.
2. 藤田信之, 村上勝彦, 野村 扶, OWENS, J. T., MEARES, C. F., 石浜 明: 金属を利用した転写複合体の解析. 第70回日本生化学会大会, 金沢, 9月.
3. Honda, A., Okamoto, T., Kundu, T.K., Qu, Z., Yamaguchi, T., Ohta, C. and Ishihama, A.: Functional conversion of influenza virus RNA polymerase from transcriptase to replicase. 10th International Conference on Negative Strand Viruses, Dublin (Ireland), September.
4. Honda, A., Asano, Y., Mizumoto, K. and Ishihama, A.: Molecular dissection of influenza virus RNA polymerase: Analysis of substrate- and cap RNA-binding site. 10th International Conference on Negative Strand Viruses, Dublin (Ireland), September.
5. 本田文江, 水本清久, 石浜 明: インフルエンザウイルスRNAポリメラーゼの分子解剖: キャップRNA認識サブユニットPB2の機能地図. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.
6. 本田文江, 岡本拓人, Kundu, T., 山口徹也, Qu, Z., 石浜 明: インフルエンザウイルスRNAポリメラーゼの分子解剖: 転写酵素から複製酵素への変換. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.
7. 石黒 亮, 木村 誠, 安井 潔, 櫻井仁美, 萩 久子, 石浜 明: 分裂酵母RNAポリメラーゼIIサブユニット集合機構: 小サブユニットが関与するタンパク質間相互作用. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.
8. 石浜 明: 遺伝子転写ヒエラルキー形成機構. 東京工業大学資源化学研究所講演会,

横浜, 1月.

9. 石浜 明: 細菌における遺伝子発現の戦略戦術." 未来へのバイオ技術" 研究会, 東京, 2月.
10. 石浜 明: 新原理に基づく遺伝情報発現制御技術の研究開発. NEDO 最先端(重点)分野研究開発成果報告会, 2月.
11. Ishihama, A.: The molecular anatomy of prokaryotic and eukaryotic RNA polymerases. KAIST Lecture, Korea Advanced Institute for Science and Technology, Taejon, Korea, February.
12. Ishihama, A.: The molecular anatomy of influenza virus RNA polymerase. Hanhyo Lecture, Hanhyo Institutes of Technology, Taejon, Korea, February.
13. Ishihama, A.: Promoter selectivity control of *Escherichia coli* RNA polymerase. The 9th RNA Polymerase Workshop, Derby (UK), March.
14. Ishihama, A.: Subunit structure of *Schizosaccharomyces pombe* RNA polymerase II. The 9th RNA Polymerase Workshop, Derby (UK), March.
15. Ishihama, A.: Protein-protein and protein-DNA contact networks involved in transcription. Univ. Birmingham Sch. Biochem. Lecture, Birmingham (UK), March.
16. Ishihama, A.: Protein-protein contact networks within the transcription apparatus: Molecular anatomy of prokaryotic and eukaryotic RNA polymerases. Inst. Cell Mol. Biol., Univ. Edinburgh Lecture, Edinburgh (UK), March.
17. Ishihama, A.: Protein-DNA and protein-protein communications in transcription. Centre for Cellular and Molecular Biology (CCMB), Decadic Lecture for the Dedication of CCMB, Hyderabad (India), March.
18. Ishihama, A.: Molecular anatomy of influenza virus RNA polymerase. The Oji International Seminar in Natural Science "Frontiers of RNA Virus Research", Kyoto, May.
19. Ishihama, A.: Control of activity and specificity of RNA polymerase. Biological Sciences Divisional Seminar Series, Univ. of Missouri-Columbia (USA), July.
20. Ishihama, A.: Specificity control of *E. coli* RNA polymerase. The 5th FASEB Conf. on "Transcription Initiation in Prokaryotes", Vermont (USA), July.
21. Ishihama, A.: Protein-protein communications within the transcription apparatus. 17th International Congress of Biochemistry and Molecular Biology, Symposium "Gene Expression", San Francisco (USA), August.
22. Ishihama, A.: Promoter selectivity control of RNA polymerase. NIG Symposium "Gene Functions to Cell Differentiation", Mishima, September.
23. Ishihama, A. and Honda, A.: Functional modulation of influenza virus RNA polymerase. 10th International conference on Negative Strand Viruses, Dublin (Ireland), September.

24. 石浜 明: トレハロースによる遺伝子発現の制御. 第一回トレハロース・シンポジウム, 京都, 12月.
25. 石浜 明: 転写装置の分子解剖. 東京工業大学生命理工学部セミナー, 横浜, 12月.
26. Ishihama, A.: The molecular anatomy of transcription apparatus. Indian Institute of Sciences Seminar, Bangalore (India), December.
27. Ishihama, A.: Molecular dissection of RNA polymerase using chemical probe with nuclease and protease activities. Centre for Cellular and Molecular Biology Seminar, Hyderabad (India), December.
28. Ishihama, A.: Stationary phase response of transcription in *Escherichia coli*. Bose Institute Seminar, Calcutta (India), December.
29. Ishihama, A.: Molecular anatomy of transcription apparatus. Saha Institute of Nuclear Physics, Calcutta (India), December.
30. Ishihama, A.: Structure and function of RNA polymerase. Indian Institute of Chemical Biology, Calcutta (India), December.
31. Ishihama, A., Fujita, N., Murakami, K., Nomura, T., Ozoline, O.N., Owens, J.T., Miyake, R. and Meares, C.F.: Molecular anatomy of transcription apparatus using protein-conjugated metal probes with protease and nuclease activities. 「生体機能における金属イオンの特異的作用の分子科学」第2回ワークショップ, 東京, 12月.
32. Jishage, M. and Ishihama, A.: Regulation of the synthesis and activity of RNA polymerase sigma subunits in *Escherichia coli*. The 5th FASEB Conf. on "Transcription Initiation in Prokaryotes", Vermont (USA), July.
33. Jishage, M., Fujita, N. and Ishihama, A.: Anti-sigma factor cycle for transcription regulation in *Escherichia coli*. National Institute of Genetics International Symposium on "Gene Function to Cell Differentiation", Mishima, September.
34. 寺社下美樹, 藤田信之, 石浜 明: 大腸菌RNAポリメラーゼシグマサブユニットの機能制御機構. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.
35. 木村 誠, 村上勝彦, 安井 潔, 石黒 亮, 宮尾武孝, 櫻井仁美, 藤田信之, 石浜 明: RNAポリメラーゼの蛋白質間相互作用. 第70回日本生化学会大会, 金沢, 9月.
36. Kimura, M., Yasui, K., Ishiguro, A., Miyao, T., Sakurai, H. and Ishihama, A.: Subunit-subunit contact network within *Schizosaccharomyces pombe* RNA polymerase. National Institute of Genetics International Symposium on "Gene Functions to Cell Differentiation", Mishima, September.
37. 木村 誠, 石黒 亮, 石浜 明: RNAポリメラーゼIIのコアサブユニット集合体の単離と分析. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.
38. 升永憲治, 豊田哲也, 石浜 明: インフルエンザウイルスRNAポリメラーゼの分子解剖: 抗ペプチド抗体を用いたマッピング. 第45回日本ウイルス学会総会, 京都, 9

月.

39. 升永憲治, 豊田哲也, 石浜 明: インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼの分子解剖: 抗ペプチド抗体を用いたマッピング. 第20回日本分子生物学会年会, 京都12月.
40. 三戸部治郎, 光澤 浩, 石浜 明: 分裂酵母 *rpb3* 遺伝子の温度感受性変異とその抑圧変異の単離. 第30回酵母遺伝学フォーラム, 幕張, 7月.
41. 三戸部治郎, 光澤 浩, 石浜 明: 分裂酵母 *rpb3* 遺伝子の温度感受性株とその抑圧変異の単離. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.
42. Murakami, K., Owens, J.T., Belyaeva, T.A., Meares, C.F., Busby, S.J.W. and Ishihama, A.: Positioning of two alpha subunit carboxyl-terminal domains of RNA polymerase along promoter DNA by two transcription factors. The 5th FASEB Conf. on "Transcription Initiation in Prokaryotes", Vermont (USA), July.
43. 野村 扶, 藤田信之, 石浜 明: 大腸菌 RNA ポリメラーゼ  $\beta$  サブユニット上のサブユニット間接触部位の同定. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.
44. Ozoline, O.N., Masulis, I.S., Chasov, V.V. and Ishihama, A.: Functional topology of the bacterial RNA polymerase. The 7th Europ. Conf. Spectroscopy, Madrid (Spain), September.
45. 櫻井仁美, 石浜 明: 分裂酵母 RNA ポリメラーゼ II サブユニット遺伝子の単離と構造決定. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.
46. 安井 潔, 石黒 亮, 石浜 明: 分裂酵母 RNA ポリメラーゼ II のサブユニット集合機構: Rpb3 と相互作用するサブユニットの同定およびそれらの結合部位の解析. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.
47. 和田 明, 吉田秀司, 牧 泰史, 石浜 明: 定常期における大腸菌のリボゾーム構造の変動. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.
48. Wood, T.I., Jair, K.-W., Fawcett, W.P., Murakami, K., Ishihama, A. and Wolf, R.E., Jr.: An unusual positional requirement for transcriptional activation by SoxS. 1997 Meeting on "Molecular Genetics of Bacteria and Phages", University of Wisconsin-Madison (USA), August.

#### A-b. 変異遺伝研究部門

酵母, 哺乳動物培養細胞を用い, ユビキチン/プロテアソームによるたんぱく質分解系が細胞の増殖, 周期や染色体の機能構造にいかに関わるかを中心課題として分子生物学的に研究してきた.

研究活動は助教授・山尾文明, 助手・岸 努, 清野浩明が行い, 相磯菜穂子(研究補助員)が参加した.

当部門の関係する研究所共同研究は以下の2件であった.

- 1) DNA複製期細胞核微細構造形成に関与するタンパク質の研究, 矢倉達夫(関西学院大学

理学部)

2) アデノウイルスE1A誘導アポトーシスにおけるトポイソメラーゼII $\alpha$ 特異的分解機構, 中島琢磨(東京理科大基礎工学部)

研究費は、通常経費に加え、文部省科学研究費補助金、重点領域研究(1)「選択的蛋白質分解の分子機構」(代表, 鈴木絃一), 重点領域研究(2)「細胞周期を制御する特異的ユビキチン経路の解析」(代表, 山尾), 基盤研究(B)「ユビキチン系における分子識別と細胞機能制御」(代表, 山尾), によった。

昨今、蛋白質分解の研究が分子生物学や細胞生物学の様々な分野から多大の注目を集めている。これまで蛋白質分解は細胞内の不要物の除去機構として負のイメージで捉えられがちであったが、現在では逆に積極的な細胞機能調節機構として再評価されるに至っている。そして、その中心的な役割を担っているのはユビキチン系による選択的蛋白質分解機構である。ユビキチンシステムが生命科学の表舞台に登場してきたのには以下の様な理由が考えられる。第一に、ユビキチン経路は極めて多様に分岐するカスケードシステムとして生命現象の多様性と特異性に対応して増殖制御系とネットワークを形成していることであり、第二には、その結果としてユビキチンの関わる生命現象が、細胞周期、転写調節、代謝調節、シグナル伝達、アポトーシス、ストレス応答、免疫応答と多岐にわたり、バイオロジー研究のあらゆる分野に及んできた点である。しかし、ユビキチンの意義はまだ発展登場の段階であり、脳記憶や蛋白質の品質管理機構など、意外と思われる関連事実が次々と引き出されている。

このような状況を踏まえ、当研究室では蛋白質分解による細胞周期制御の観点から研究を進めてきた。サイクリンとCdc2がMPF (M期促進因子) を構成するというドグマの確立以後、各種の国際学会においても、数年前にはCDK (サイクリン依存性キナーゼ) の多様性の発見、CDK Inhibitor としのCKIの発見が話題の中心であったのに対し、この1, 2年の間の細胞周期制御における最大の関心事は明らかにProteolysisによる制御である。それは蛋白質分解の選択性、迅速性、不可逆性が順序だった一連の周期機能の制御に必須であることが疑いがない事実として広く認識されるに至ったからである。

研究材料として培養動物細胞と酵母の系を用い、各々の長所である高次の形態学的な表現型の解析、詳細な遺伝学的解析の両方を利用しながら、これらの細胞生物学的手法と遺伝学的技法を駆使して細胞周期制御における選択的蛋白質分解の役割の分子レベルでの解析を進めている。具体的には、細胞増殖、周期を制御するキーとなる蛋白質の選択的分解機構をユビキチン系を中心に同定し、その制御ネットワークを解析している。今年度はおもに酵母を用い、細胞周期の制御に大きく関わる代表的なユビキチン経路の二つについて解析した。いずれも酵母の経路であるが、高等動物細胞でも発現している普遍的な機能を持ったユビキチン経路であり、必要に応じて培養細胞を用いた解析も行った。

#### 1) 分裂酵母のUbcP4経路

分裂酵母から得られたE2遺伝子の一つであるubcP4はこれまでに見つかっていない新奇なもので細胞増殖に必須であった。その発現を抑制すると細胞周期G2期停止と、分裂中期

から後期への進行が止まり染色体分離が抑制されることの2点が最終表現型であることがわかった。特に分裂中期での停止の表現型は、M期Cyclin (cdc13遺伝子産物) 分解のためのE3複合体 (APC:Anaphase Promoting Complex) の構成分子の一つをコードするcut9遺伝子の変異株と非常に酷似した表現型を示し、ubcP4の過剰生産によりcut9変異を抑制した。またUbcP4を枯渇させた細胞中では分裂酵母のM期サイクリンであるCdc13蛋白質が分解されずに安定化することも確かめた。ubcP4の機能を繊細に解析する目的でubcP4に変異を持つ温度感受性株を作成した。この株を用いた同調実験、および遺伝解析の結果から、分裂期の終了時に分解されることが必要な2種の蛋白質、分裂酵母の分裂期サイクリンであるCdc13p、染色体の分配の制御をしているCut2pがubcP4の関わるユビキチン経路によってユビキチン化されることが示唆された。また、S期サイクリンであるCig2pも標的であることが示唆されたが、Cig2pを安定化させてもG2期停止を起こさないことから、G2期にユビキチン化される標的が存在する。(投稿準備中)

ubvP4の関わるユビキチン経路の制御機構を理解する目的でubcP4温度感受性株の多コピー抑圧遺伝子を単離した。そのなかの1つは核膜を介した高分子の輸送に関わる核膜孔の子構成因子のひとつであるNUP2と相同性のある蛋白質をコードする遺伝子であった。このことは、ubcP4の関わるユビキチン経路と核膜を介した高分子の輸送に関連があることを示唆する。現在、分子レベルでどのように関連しているのかを解析中である。

## 2) cdc34-1 sic1 $\Delta$ 株のサプレッサー遺伝子GRR1の細胞周期制御における役割

出芽酵母 CDC34/UBC3 は G1 後期の進行に必須なユビキチン結合酵素 E2 をコードする。Cdc34/Ubc3によってユビキチン化される蛋白質の一つがS期サイクリン依存キナーゼのインヒビター Sic1 であり、cdc34-1 sic1 二重変異株は制限温度においてDNA複製は可能になるが、2NのDNA含量の状態では細胞周期を停止する。われわれは既に、cdc34-1 sic1 二重変異のサプレッサー株を分離しサプレッサー原因遺伝子としてGRR1 (Glucose Repressionの調節およびG1サイクリンの分解にかかわるものとしてすでに同定されている) をクローン化している。

本年度、GRR1が、SKP1とともにユビキチン系で細胞周期進行を調節する機能を持つことを実証した。その根拠は以下の通りである。(1)GRR1をcdc34-1株に過剰発現すると25℃においてもコロニー形成能を失なうが、この増殖阻害を多コピーで抑圧する遺伝子をスクリーニングしたところSKP1を取得した (SKP1はSic1やCln2, Clb5の分解に関与することが報告されている)。(2)次に、Grr1とSkp1とがin vivo およびin vitroで結合することを明らかにした。(3)この結合はGrr1に存在するF-boxモチーフに依存した。(4)F-box内にアミノ酸置換を持つ変異grr1遺伝子と野生型GRR1とを置き換えた変異株は、grr1のnull alleleと同様のフェノタイプを示した。詳細は文献(X)に発表した。

次にGrr1に依存して分解される細胞周期制御蛋白質は何であるかという点である。われわれは、(5)Grr1とG1サイクリンCln2が結合することを見いだした。(6)この結合はGrr1に存在するロイシンリッチモチーフに依存した。(7)F-boxあるいはロイシンリッチモチーフにアミノ酸置換を持つ変異grr1遺伝子をそれぞれ野生型GRR1と置き換えた変異株ではG1

サイクリンCln2は安定化されていた。以上のことから、Grr1はCln2のユビキチン化においてCln2をロイシンリッチモチーフを用いて認識し、F-boxを用いてSkp1 (あるいはSkp1を含むユビキチン化マシナリー)へターゲットする働きをしていると考えられる(投稿準備中)。

## 研究業績

### (1) 原著論文

1. Ikehata, H., Kaneda, S., Yamao, F., Seno, T., Ono, T., and Hanaoka, F. (1997). Incubation at the nonpermissive temperature induces deficiencies in UV resistance and mutagenesis in mouse mutant cells expressing a temperature-sensitive ubiquitin-activating enzyme (E1). *Molecular & Cellular Biology* **17**, 1484-1489.
2. Osaka, F., Seino, H., Seno, T., and Yamao, F. (1997). A ubiquitin-conjugating enzyme in fission yeast, that is essential for the onset of anaphase in mitosis. *Molecular & Cellular Biology* **17**, 3388-3397.
3. Nakajima, T., Kimura, M., Kuroda, K., Tanaka, M., Kikuchi, A., Seino, H., Yamao, F., and Oda, K. (1997). Introduction of Ubiquitin-Conjugating Enzyme Activity for Degradation of Topoisomerase IIa during Adenovirus E1A-Induced Apoptosis. *Biophys. Biochem. Res. Commun.* **239**, 823-829
4. Kishi, T., Seno, T., and Yamao, F. (1998). Grr1 functions in the ubiquitin pathway through association with Skp1. *Molecular and General Genetics*, **257**, 143-148

### (2) その他

1. 山尾文明(1997). ユビキチンによる翻訳後修飾. 蛋白質核酸酵素 **42**, 11-18.

### (3) 発表講演

1. 清野浩明, 山尾文明: 分裂酵母ubcP4の温度感受性変異株を用いた周期性御の解析, 酵母遺伝学フォーラム, 7月, 幕張.
2. 岸 努, 山尾文明: cdc34-1sic1変異サブレッサー遺伝子GRR1の細胞周期制御における役割, 酵母遺伝学フォーラム, 7月, 幕張.
3. F. Osaka, H. Seino and F. Yamao: A ubiquitin-conjugating enzyme in fission yeast, that is essential for the onset of anaphase in mitosis. FASEB Summer Conference on ubiquitin and protein Degradation, USA, June, 1997.
4. 西山隆太郎, 居上真由美, 山尾文明, 矢倉達夫: 核再構成におけるheminの効果, 第70回日本生化学会, 10月, 金沢.
5. 岸 努, 山尾文明: Grr1はG1サイクリンCln2とユビキチン化マシナリーをリンクする, 第69回日本遺伝学会, 11月, 横浜.
6. H. Seino and F. Yamao: UbcP4p, an ubiquitin-conjugating enzyme in fission yeast,

mediates pathway for degradation of cyclins and Cut2p. The 3rd UK-Japan Cell Cycle Workshop, Kyoto, November, 1997.

7. Y. M. Yamashita, Y. Nakaseko, H. Tatebe, H. Seino, F. Yamao and Y. Yanagida: Regulation of 20S cyclosome/APC activity through the modification of Cut4 protein. The 3rd UK-Japan Cell Cycle Workshop, Kyoto, November, 1997.
8. 清野浩明, 山尾文明:細胞分裂期の開始と終了の制御に関わるユビキチン転位酵素, 第20回日本分子生物学会, 12月, 京都.
9. 岸 努, 山尾文明:G1サイクリンCLN2のユビキチン化に関わる蛋白質群のあいだの相互作用, 第20回日本分子生物学会, 12月, 京都.
10. 中島琢磨, 黒田和史, 田中真人, 菊地昭彦, 清野浩明, 山尾文明, 小田鈎一郎:アデノウイルスE1A誘導アポトーシスにおいて活性化するトポイソメラーゼII $\alpha$ のユビキチン化因子, 第20回日本分子生物学会, 12月, 京都.
11. 山下由起子, 中世古幸信, 建部 恒, 清野浩明, 山尾文明, 柳田充弘:Cut4たんぱく質の修飾による20Sサイクロソーム/APCの活性調節の可能性, 第20回日本分子生物学会, 12月, 京都.

#### A-c. 核酸化学研究部門

##### (1) センダイウイルス(HVJ)ゲノムの転写・複製機構:水本清久

センダイウイルス(HVJ)はパラミクソウイルス科に属し, そのゲノムは約15kbの非分節マイナス鎖RNAからなる。ウイルスゲノムの転写・複製はウイルスゲノムでコードされるRNA依存RNAポリメラーゼによって触媒される。我々は, HVJゲノムの転写・複製機構を明らかにすることを目的に, ウイルスポリメラーゼが触媒活性を発現するために必須の宿主因子の精製とその機能解析を行っている。これまでに, ウイルス粒子あるいはウイルスRNPを用いた *in vitro* 転写反応系を用いた解析から, HVJ mRNAの生合成には複数の宿主因子が必要であり, そのうちの1つがチューブリンであることを明らかにした。今回は, チューブリンと相補的に作用する宿主因子の精製を試み, それが分子量役20Kと46Kのタンパク質成分からなることを見出した(発表講演2, 6)。これら因子の機能について解析した結果, チューブリンはHVJの転写開始複合体形成に関与する(Takagi *et al.*, J. Biochem. 118, 390, 1995)のに対して, 20Kと46K成分はRNA鎖伸長段階に作用することが明らかとなった(発表講演10)。

HVJ感染細胞では, ゲノム3'-末端リーダー配列から約50ヌクレオチドの(+)リーダーRNAが合成されるが, その生合成機構と意義については不明な点が多い。我々は, ウイルス粒子を用いた *in vitro* (+)リーダーRNA合成系を構築し, この系を用いて, (+)リーダーRNA合成にはmRNA合成に必要な因子とは異なる宿主因子が関与すること, さらに, この因子の分画にはウイルスゲノム3'-末端配列に特異的に結合する因子(LBP)が含まれることを見出した(発表講演3, 5, 9)。

## (2) mRNA キャップ構造形成の分子機構：水本清久

真核細胞mRNAキャップ構造は、RNAポリメラーゼII (pol II) による転写の極めて初期に形成され、その後のmRNA代謝において重要なシグナルとして機能する。我々は、種々の生物のmRNAキャッピング酵素の反応機構について、酵素化学的ならびに分子遺伝学的手法を用いて解析している。すでに我々は、酵母 *S. cerevisiae* のキャッピング酵素  $\alpha$  サブユニット (RNAグアニル酸転移酵素) 遺伝子 (*CEG1*) のクローニングを行い、その活性部位を同定した (Shibagaki *et al.*, J. Biochem. 118, 1033, 1995)。今回は、同酵素の  $\beta$  サブユニット (RNA 5'-トリホスファターゼ) 遺伝子 (*CET1*) の単離を行い、それが酵母の生育に必須の遺伝子であることを示した (論文1)。さらに、ヒトキャッピング酵素遺伝子 (*hCAP1*) のクローニングにも成功し、同酵素分子のN末端側にRNA 5'-トリホスファターゼドメインが、C末端側にRNAグアニル酸転移酵素ドメインが存在することを明らかにした (論文4)。

キャップ形成が pol II 転写産物特異的に起こる機構を理解することを目的に、転写開始複合体 (論文2) を活性状態で分離して解析した。その結果、この pol II 転写開始複合体にはキャッピングに関与する一連の酵素系が特異的に組み込まれて機能していることが明らかとなった (発表講演4, 7)。

## 研究業績

## (1) 原著論文

1. Tsukamoto, T., Shibagaki, Y., Imajo-Ohmi, S., Murakoshi, T., Suzuki, M., Nakamura, A., Gotoh, H., and Mizumoto, K.: Isolation and characterization of the yeast mRNA capping enzyme  $\beta$  subunit gene encoding RNA 5'-triphosphatase, which is essential for cell viability. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **239**, 116-122, 1997.
2. Serizawa, H., Tsuchihashi, Z., and Mizumoto, K.: The RNA polymerase II preinitiation complex formed in the presence of ATP. *Nucleic Acids Res.*, **25**, 4079-4084, 1997.
3. Murakami, M., Watanabe, H., Niikura, Y., Kameda, T., Saitoh, K., Yamamoto, M., Yokouchi, Y., Kuroiwa, A., Mizumoto, K., Iba, H.: High-level expression of exogenous genes by replication-competent retrovirus vectors with an internal ribosomal entry site. *Gene*, **202**, 23-29, 1997.
4. Tsukamoto, T., Shibagaki, Y., Murakoshi, T., Suzuki, M., Nakamura, A., Gotoh, H., and Mizumoto, K.: Cloning and characterization of two human cDNAs encoding them RNA capping enzyme. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, in press.
5. Kurotani, A., Kiyotani, K., Kato, A., Shioda, T., Sakai, Y., Mizumoto, K., Yoshida, T., and Nagai, Y.: The paramyxovirus, Sendai virus, C proteins are categorically nonessential gene products but silencing their expression critically impairs viral replication and pathogenicity. *Genes to Cells*, in press.

## (2) 発表講演

1. Mizumoto, K.: Protein factors required for *in vitro* transcription of Sendai virus genome. *Frontiers of RNA virus Research, The Oji International Seminar in Natural Science, Kyoto, May, 1997.*
2. 荻野朝朗, 岩間美奈子, 木ノ内順子, 水本清久: センダイウイルスの転写機構—ウシ脳抽出液よりチューブリンと相補的に作用する宿主因子の精製とその性質. 第70回日本生化学会大会, 金沢, 9月.
3. 岩間美奈子, 新城ひろみ, 荻野朝朗, 水本清久: センダイウイルスゲノムリーダー配列結合因子の精製とその性質. 第70回日本生化学会大会, 金沢, 9月.
4. 深町伸子, 水本清久: mRNA キャッピング酵素系の pol II 転写開始複合体への特異的組込み. 第70回日本生化学会大会, 金沢, 9月.
5. 岩間美奈子, 新城ひろみ, 荻野朝朗, 水本清久: センダイウイルスゲノム上のシグナル配列に結合する因子の解析. 第45回日本ウイルス学会総会, ワークショップ, 京都, 9月.
6. 荻野朝朗, 岩間美奈子, 木ノ内順子, 水本清久: センダイウイルスの転写機構—チューブリンと相補的に作用する宿主因子の解析. 第45回日本ウイルス学会総会, 京都, 9月.
7. 深町伸子, 水本清久: pol II 転写開始複合体への mRNA キャッピング酵素の特異的組込み: pol II と pol III 転写開始複体の比較. 第20会日本分子生物学会年会, 京都, 12月.
8. 後藤英夫, 柴垣芳夫, 塚本俊彦: 酵母RNAポリメラーゼII転写系におけるmRNAキャッピング酵素の関与. 第20会日本分子生物学会年会, 京都, 12月.
9. 岩間美奈子, 新城ひろみ, 荻野朝朗, 水本清久: センダイウイルスゲノムリーダー配列に結合する因子の解析. 第20会日本分子生物学会年会, 京都, 12月.
10. 荻野朝朗, 岩間美奈子, 木ノ内順子, 水本清久: チューブリンと相補的にセンダイウイルス転写反応を促進する宿主因子の機能. 第20会日本分子生物学会年会, 京都, 12月.

## B. 細胞遺伝研究系

## B-a. 細胞遺伝研究部門

遺伝的組換えは相同な2分子の二重鎖DNAの切断と再結合により, 正確に遺伝子を入れ換える反応である. 遺伝子の子に伝える減数分裂期やDNA傷害の修復時に活発に働き, 生物の多様性を生みだし, 種の安定保持に役立っている. そのために組換えは巧妙に制御さ

れている。また、減数分裂期に、その頻度が高いのは、この時期に形成される特徴的な染色体構造と、特異的に発現する組換え遺伝子機能が関係している。今年度はDNAの損傷の修復と組換えに伴う蛋白質の機能解析を生化学的手法による蛋白質複合体形成過程を中心に行った。また、*RAD51* 遺伝子発現に関与する因子の同定をクロマチン構造の解析と *in vivo* footprinting法を用いて解析した。さらに、組換え開始やテロメアの伸長に関与する組換え蛋白質の機能解析をおこなった。

当部門の本年度のスタッフは、教授；小川智子，助教授；今井弘民，助手；田中茂生，太田 力，学術振興会特別研究員(PD)；松田(高橋)志摩子，学術振興会外国人特別研究員；Andrei Alexeev，総合研究大学院大学学生；渡部光一，COE 研究促進技術補佐員；青木文子，ヒューマンフロンティア・サイエンスプログラム技術補佐員；古山嘉美，池谷優子であった。

本年度の研究費は、文部省科学研究費補助金、特別推進研究(1)「真核生物の遺伝的組換えシステムの研究」(代表：小川英行)(小川)，ヒューマンフロンティア・サイエンスプログラム研究助成「組換え，複製，修復反応で働く DNA-蛋白質複合体の研究」(小川)，公益信託林女性自然科学者研究助成基金「遺伝的組換え機構の解析」(小川)，文部省科研費補助金、重点領域研究(2)，「生殖細胞の特質」(代表：山本)，「減数分裂期組換えに関与するクロマチン構造」(田中)，国際学術研究「減数分裂期組換えと機能する染色体構造の解析」(田中)，重点領域研究(2)「細胞核の機能構造」(代表：水野)，「クロマチンの構造を介した組換え反応の機能解析」(太田)，重点領域研究(2)「転写調節機構」(代表：藤井)，「クロマチン構造変化を介した転写調節機構の解明」(太田)，ヒューマンフロンティア・サイエンスプログラム研究助成「真核生物におけるDNA傷害の組換え修復の研究」(太田)，日産科学助成金「組換え蛋白質複合体の精製と機能解析についての研究」(太田)，特別研究員奨励費「組換え体形成に働く複合体とその構成蛋白質の機能解析」(松田)，特別研究員奨励費「真核生物のSOS応答反応機構の解析」(Andrei Alexeev)などの支援を受けた。

研究所の共同研究としては「真核生物の組換え反応に関与する蛋白質と蛋白質複合体の生化学的、構造学的解析」(阪大・理学部・篠原 彰)と、「P53蛋白質の組換え修復に及ぼす作用」(慶大・医学部・瀬川 薫)を行った。

酵母の組換え過程に関与する遺伝子群は、その働く過程によって、3つのグループに分けられている。グループ(1)は、組換えを制御する遺伝子で、組換え蛋白質の修飾と組換えに関与する遺伝子の転写の制御である。(2)は、組換えの開始である二本鎖DNA切断の導入に関与するもの、(3)は、相同DNAの検索、対合と交叉に働くものである。これら3つのグループの遺伝子産物は、それぞれのグループに属する蛋白質間で、複合体を形成して機能することが、Two-Hybrid法、免疫沈降法、あるいは、生化学的解析から示されている。

#### (1) 組換え遺伝子発現の制御：A. Alexeev, 小川智子

組換えに関与する大腸菌のRecA蛋白質は、組換え反応の他にDNA傷害時に誘導される20数個のSOS遺伝子(recA遺伝子も含まれる)のリプレッサー蛋白質の不活化を行う。RecA蛋白質はリプレッサーと結合して、リプレッサーの構造を変え、リプレッサーの持っている

プロテアーゼ活性を活性化し、リプレッサー自身を2本のペプチドに切断して不活化する。真核生物でも、DNA傷害時に誘導される遺伝子が知られている。特に *RAD51* 遺伝子や *RAD52* 遺伝子の上流には、DNA傷害時の誘導に関与する配列(DRE)や細胞周期G1/Sでの誘導に関与する配列(MCB)と、減数分裂期での誘導に関与する配列が存在する。

我々は、*RAD51* 遺伝子の誘導に関与する蛋白質の同定と、誘導時に生じるクロマチン構造の変化を解析した。未処理の細胞では、ヌクレオソームが減数分裂の導入に関与する配列と Rad51 蛋白質の開始コドン ATG を覆うように存在し、その中間に存在する DRE 配列と MCB 配列はヌクレアーゼに感受性であるが、DNAに傷害を与えると、その感受性領域に蛋白質が結合し、ATG上のヌクレオソームが消失した。現在、*RAD51* 遺伝子の発現を誘導した細胞の粗抽出液を用いて、*RAD51* と *RAD52* 遺伝子の上流領域にある共通な塩基配列に結合する蛋白質を同定している。蛋白質の一部のアミノ酸配列を利用して、遺伝子の単離を進め、機能解析をする計画である。

(2) 二重鎖 DNA の切断に働く Mre11 蛋白質の機能：太田 力，小川智子

組換えの開始反応である二重鎖切断に働く遺伝子として、*MRE11*、*RAD50*、*XRS2* 遺伝子が知られている。Mre11 蛋白質は大腸菌 SbcD と同じとホスホエステラーゼ配列を持つ。また、Rad50 蛋白質は SbcC 蛋白質と同じ様にコイルド-コイル構造を取り、SMC ファミリーに属する蛋白質である。SbcD 蛋白質は単独で ssDNA エンドヌクレアーゼ活性を示し、SbcC と複合体を作って、ATP 依存の dsDNA エキソヌクレアーゼ活性と ATP 非依存の ssDNA エンドヌクレアーゼ活性を示す。一方、*mre11*、*rad50*、*xrs2* 欠失変異株は減数分裂期に特異的な組換えのホットスポットに2重鎖切断を導入できない。また、*mre11* と *rad50* の点変異株のある種のもは、2重鎖切断を形成するが、その後続く、DNA鎖の5'-3'の消化ができない。これらの結果から、Mre11/Rad50複合体がSbcD/SbcC複合体と同じような活性を持つと考えた。そこで、Mre11 蛋白質を精製して、ヌクレアーゼ活性を調べたところ、ATP 非依存の ssDNA エンドヌクレアーゼ活性が検出された。この活性はホスホエステラーゼ配列に変異を持った Mre11-58 蛋白質では検出できなかった。

(3) Mre11/Rad50 蛋白質複合体の機能：太田 力，川根健司，小川智子

Mre11 と Rad50 蛋白質を酵母で大量生産させたところ、Mre11 と Rad50 蛋白質はモル比 1:1 で同時に精製された。その活性を調べたところ、ssDNA エンドヌクレアーゼの他に線状 dsDNA を多量体にする活性が検出された。この多量体形成活性は Mre11、或いは Rad50 蛋白質単独では検出できなかった。そこで、精製した Mre11 と Rad50 蛋白質を 1:1 のモル比で混合して活性を調べたところ、複合体と同じ効率で活性が観察できた。多量体形成反応には基質線状 DNA の末端の相同性が必須である。また、Mre11-58 蛋白質と Rad50 蛋白質の複合体は野性型蛋白質複合体より、高い多量体形成活性を有した。これは、エキソヌクレアーゼ活性の消失によると考えられる。この線状 DNA の末端の結合は特殊な組換え反応に働く活性であると考えられる。

(4) テロメア配列の維持に働く Mre11, Rad50, Xrs2 蛋白質機能：田中茂生，小川智子

*mre11*、*rad50*、*xrs2* 変異株では80世代の分裂を繰り返すとテロメアが短くなり、細胞が

致死になる。テロメア配列の短縮はエンドヌクレアーゼ活性によるDNA切断の修復欠損によると考えられる。この修復に上記の多量体形成活性が関与する可能性がある。また、rRNAの繰り返し配列の短縮、伸長にも同じ遺伝子の関与が考えられるので、その検証を進めている。

(5) DNA鎖の交換に働くRad52蛋白質の機能解析: 松田志摩子, 篠原 彰, 小川智子

出芽酵母のRAD52遺伝子は、遺伝学的解析から、種々の組換え反応に必要なことが示されている。蛋白質の活性としては相補な単鎖DNAをアニールする活性がある。我々はこのアニーリング活性は繰り返し配列の間にある塩基配列の欠失を作る過程で働き、さらに、その過程で繰り返し配列間で組換えを行うことを示唆した。一方、Rad52はRad51が組換えに必要なヌクレオプロテイン・フィラメント構造を形成するために、Rad51蛋白質をDNAに呼び込む役割を担っている。これは、Rad52がssDNA上に結合しているRPA蛋白質と結合してDNAに結合し、このようにしてDNAに結合したRad52がRad51と結合してRad51のフィラメントを形成する。Rad52が各種組換え経路で働くためには、蛋白質-蛋白質間の相互作用が重要な役割を担っていると考えられる。

(6) Rad51蛋白質と共同してDNA鎖交換反応を行うRad55-57蛋白質の解析: 渡部光一, 太田 力, 小川智子

相同組換えのDNA鎖交換活性を持つ蛋白質複合体を精製し、その機能解析を行うことを目的として、相同DNAの検索、対合と交叉に働くRad51, およびRad52蛋白質を含む複合体の精製を試みた。Rad52複合体中にRad51, Rad52の他に、RPAとRad55, Rad57が検出された。現在、これらの蛋白質がDNA鎖交換反応で果たす役割を解析している。

## 研究業績

### (1) 原著論文

1. Shinohara A., Gaisor S., Ogawa T., Kleckner N. and Bishop D. K.: *S.cerevisiae* recA homologues RAD51 and DMC1 have both distinct and overlapping roles in meiotic recombination. *Genes to Cells*, **2**, 615-629 (1997).
2. Wakasugi, T., Nagai, T., Kapoor, M., Ohta, T., Yoshinaga, K. and Sugiura, M. Complete nucleotide sequence of the chloroplast genome from the green alga *Chlorella vulgaris*; The existence of genes possibly involved in chloroplast division. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **94**: 5967-5972 (1997).
3. Alexeev A., Baitin D.M., Kuramitsu S., Ogawa T., Ogawa H., Lanzov V.A.: A recombinational defect in the C-terminal domain of *Escherichia coli* RecA2278-5 protein is compensated by protein binding to ATP. *Mol Microbiol.* **23**, 255-265.
4. Shinohara A. and Ogawa T.: Stimulation by Rad52 of yeast Rad51-mediated Recombination. *Nature*, **391**, 404-407 (1998).
5. Shinohara A., Shinohara M., Ohta T., Matsuda, S. and Ogawa T.: Rad51-independent Homologous Recombination Mediated by Rad52. *Genes to Cells* **3** (1998).

6. Okamoto, T., Yamamoto, S., Watanabe, Y., Ohta, T., Roeder, R. and Ohkuma, Y.: Analysis of the Role of TFIIIE in Transcriptional Regulation through Structure-Function Studies of TFIIIEb. *Mol. Cell. Biol.* (1998 ).

(2) その他

1. 小川智子 : DNA とその結合タンパク質複合対の観察法. *細胞工学*, **16**, No. 7, 1054-1069 (1997). 秀潤社.
2. 小川智子 : 組換え機構, シリーズ・ニューバイオフィジックス(日本生物物理学会編), 第2巻 遺伝子の構造生物学, 嶋本伸雄, 郷 通子編集, pp61-76(1997). 共立出版.

(3) 発表講演

1. Ogawa T. and Shinohara A.: Stimulation of Rad51-mediated Recombination by Rad52 in *Saccharomyces cerevisiae*. Third European Conference on "Meiosis" The Netherland, Wageningen, 4月.
2. Ogawa T., Alexeev A., Watanabe K., Ohta T. and Nabetani A.: Control of RAD51 gene expression in the cells with DNA damage and those in meiosis. Third European Conference on "Meiosis" The Netherland, Wageningen, 4月.
3. 川根健司, 太田 力, 臼井雄彦, 小川英行, 小川智子 : 出芽酵母 Rad50, Mre11 蛋白質のヌクレアーゼ活性の解析. 第12回組換えワークショップ「遺伝的組換えとその制御」葉山, 7月.
4. Ohta T., Kawane K., Usui T., Ogawa H. and Ogawa T.: Mre11 has a single-strand DNA endonuclease activity. FASEB Meeting on "Genetic Recombination and Gene Rearrangement", USA, Aug.
5. Shinohara A. and Ogawa T.: Stimulation of Rad51-mediated Recombination by Rad52 in *Saccharomyces cerevisiae*. FASEB Meeting on "Genetic Recombination and gene rearrangement", USA, Aug.
6. Ogawa T. and Shinohara A.: Stimulation of Rad51-mediated Recombination by Rad52 in *Saccharomyces cerevisiae*. International Symposium on "Gene Functions and Cell Differentiation", 三島, 9月
7. Ohta T., Kawane K., Usui T., Ogawa H. and Ogawa T.: Mre11 has a single-strand DNA endonuclease activity. International Symposium on "Gene Functions and Cell Differentiation", 三島, 9月.
8. 小川智子 : 遺伝的組換え機構 ; Rad51 蛋白質の組換え反応に於ける Rad52 の役割, 第70回日本生化学会大会, アフタヌーンレクチャー, 金沢, 9月.
9. Ogawa T., Ohta T. and Shinohara A.: Stimulation by Rad52 of yeast Rad51-mediated Recombination. International Symposium on "Replication, recombination

- and repair"(3R), 三木市, 10月.
10. Ohta T., Kawane K., Usui T., Ogawa H. and Ogawa T.: Characterization of Mre11 Protein of *S. cerevisiae*. International Symposium on "3R", 三木市, 10月.
  11. Ogawa T.: Stimulation by Rad52 of yeast Rad51-mediated recombination, International Symposium on "Germ Cell Development and Meiotic Regulation", 箱根, 11月.
  12. Ohta T., Kawane K., Usui T., Ogawa H. and Ogawa T.: Characterization of Mre11 Protein of *S. cerevisiae*. 第20回日本分子生物学会年会, ワークショップ「組換えにおけるDNAトランスアクション」, 京都, 12月
  13. 篠原 彰, 小川智子, 遺伝的組換え機構: Rad51蛋白質の組換え反応に於けるRad52の役割, 第20回日本分子生物学会年会, ワークショップ「組換えにおけるDNAトランスアクション」, 京都, 12月.
  14. 田中茂生, 小川智子: 組換え遺伝子のテロメア維持に関する働き. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.
  15. 太田 力, 川根健司, 臼井雄彦, 小川英行, 小川智子: 出芽酵母のMre11蛋白質の機能解析. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.
  16. 渡辺光一, 松田志麻子, 太田 力, 小川智子: 出芽酵母の体細胞期にRad51組換え系の蛋白質の機能解析. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.
  17. 松田志麻子, 渡辺光一, 太田 力, 小川智子: 出芽酵母Rad52蛋白質の機能解析. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.
  18. 川根健司, 太田 力, 臼井雄彦, 小川英行, 小川智子: 出芽酵母Mre11とRad50蛋白質の活性解析. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.
  19. Alexeev A. and Ogawa T.: Chromatin structure of the operator-promoter region of the *RAD51* gene. The 20th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan. December, Kyoto.

### B-b. 微生物遺伝研究部門

#### (1) 大腸菌のDNA複製に関する研究

微生物遺伝研究部門では, 本年は大腸菌のDNA複製に関する研究, および大腸菌の細胞分裂に関する研究を行った. 二月に助手東谷篤志が東北大学に転任し, 3月には堀内賢介教授が定年退官したので, 本年の研究は助教授安田成一と助手原弘志が行った.

研究所の共同研究制度による研究としては, 「DNA複製開始におけるDNAルーピングおよびDNAベンディングの機能」(代表者 福井医科大・犬塚 學), および「大腸菌のホスミドマイシン耐性に関与する遺伝子の同定」(代表者 東邦大・藤崎真吾)を行った.

#### (1) 大腸菌のDNA複製に関する研究

(1-i) 大腸菌イニシエーターDnaA蛋白質の熱安定化機構: 安田成一

われわれは大腸菌の染色体複製開始をつかさどる DnaA 蛋白が、熱ショック蛋白 DnaK と結合することで熱による不活性化に対して非常に抵抗性になることを見いだした。本年は昨年を引き続き、DnaA のどの領域が DnaK 蛋白との結合にあずかっているのかを明らかにする目的で DnaA の種々の欠失変異の単離を行った。DnaA 遺伝子内の 8 種類の制限酵素切断部位を利用してとれた種々の変異株からその変異蛋白を調製することを試みた。

DnaA 蛋白の C 末端側 91 アミノ酸の欠失したものは大量発現が可能で、可溶性であるために精製が可能であるが C 末端 16 アミノ酸の欠失したものおよび N 末端の欠失も含めて他の欠失変異蛋白はすべて、大量発現させても、可溶性画分への回収率が非常に低く、精製も困難であった。

そのため、可溶性画分に来るわずかな変異蛋白を効率よく精製するために酵母インテン蛋白との融合蛋白を作成し、インテンとキチンカラムとのアフィニティによる精製を試みた。その結果、今までにすくなくとも C 末端 18 アミノ酸の欠失蛋白は可溶性画分に精製して回収されることが分かった。残りのものについても順次アフィニティカラムでの精製を行う予定である。今までの欠失変異蛋白の挙動から、たとえ小さい欠失でも、それによって DnaA 蛋白全体が大きい構造変化を起こしている可能性が想像される。DnaA 蛋白は現在、4 つの機能ドメインからなると考えられており、そのうちのもっとも C 末端側の 4 分の 1 ほどは oriC への結合に関与しており、中央のあたりには ATP 結合部位があることが知られているが、その他の領域の機能に関してはよく分かっていない。DnaA 蛋白はこのほかに、DnaB 蛋白、DnaX たんぱく、それにフォスホリピドと結合する事が知られており、遺伝学的な研究から、RNA ポリメラーゼと相互作用している可能性もある。精製した変異 DnaA 蛋白は DnaK との結合領域の特定だけでなく、各領域の機能や、このような種々の因子との結合の解析にも用いる予定である。

## (2) 大腸菌の細胞分裂に関する研究

### (2-i) ペニシリン結合蛋白 3 の新しいクラスの変異：原 弘志

大腸菌のペニシリン結合蛋白 (penicillin-binding protein, PBP) 3 は、分裂隔壁部分の細胞壁ペプチドグリカンのペプチド側鎖架橋を行なう細胞分裂に必須の酵素である。N 末端近くにある短い疎水性領域で細胞質膜を貫通しており、大部分はペリプラズム内にある。C 末端側およそ半分にある架橋酵素ドメインの活性中心残基を置換した変異 PBP3 は野生型に対して優性負効果を示す。そこで、N 末端側およそ半分の部分に変異を誘起してこの優性負効果を打ち消すようになったものを分離する試みを行なっている。そのような N 末端側の遺伝子内サプレッサー変異を野生型の C 末端側架橋活性ドメインと組み合わせると、架橋酵素活性の指標であるペニシリン結合能は保持しているのに隔壁形成が行なえない不活性 PBP3 となるものが、少数ではあるが、見いだされる。これらは、ペニシリン結合能を指標に分離されてきた既存の架橋活性欠損変異と異なる新しいクラスの変異であり、PBP3 同士あるいは他の細胞分裂に働く蛋白質と複合体を形成する活性に欠損が生じているのだろうと期待している。そのような変異を幾つか得て、解析を続けているが、いずれも細胞質膜外の部分に生じた変異であった。次に、N 末端側およそ半分の広い範囲ではなく

N末端から細胞質膜貫通領域までの部分に限定して変異誘起処理を施して、同様の実験をしたところ、細胞質膜貫通領域内に幾つかの新規クラス変異を得ることができた。そのうちの一つは高温感受性で、今後の解析に有用と思われる。

(2-ii) 細胞表層生合成・細胞分裂遺伝子クラスターの最初にあるプロモーター：原弘志

PBP3の遺伝子 *ftsI*は、染色体地図上2分にあって、細胞表層のペプチドグリカン・リポ多糖の生合成や細胞分裂に働く必須の遺伝子がすべて同じ向きに殆ど隙間なく並んでいる大きな *mra* クラスターに含まれており、クラスターの最初にあるプロモーターが *ftsI* の発現に必要である。染色体上のこの *Pmra* を破壊してかわりに *lac* プロモーターを挿入した *Pmra::Plac* 株は *lac* 誘導物質 IPTG がないと生育できないが、*Pmra* から *ftsI* を含み *fts#* までの染色体断片をクローン化したプラスミドを持っていれば IPTG なしで生育できるので、*Pmra* は *fts#* までの9つの遺伝子の発現に働いていると考えられる(文献1)。クラスターのそれより下流部分の発現には *Pmra* は必ずしも要らないということになり、おそらく *fts#* 遺伝子内に下流のためのプロモーターがあるのだろう。但し、*fts#* の後に転写終結に働くような配列は見出せない。*Pmra* から *fts#* の一つ上流の *murD* 遺伝子内部・一つ下流の *murG* 遺伝子内部までをそれぞれ、単一コピーベクターの上でプロモーターのない *lacZ* 遺伝子につなげたもの (*Pmra* → *murD'* - *lacZ*, *Pmra* → *murG'* - *lacZ*) を作成し、その *Pmra* を -10 配列と -35 配列の間の4塩基対挿入で破壊したり、*Pmra::Plac* に差し替えて、*lacZ* 発現量を調べた。*Pmra* の破壊・*Pmra::Plac* の抑制によって、*Pmra* → *murG'* - *lacZ* では残存発現量は *Pmra* → *murD'* - *lacZ* よりも大きかったものの、同様の減少を見せた。*Pmra* は、*murG* より下流の遺伝子の発現に絶対不可欠ではないが、相当の寄与をしていると考えられる。*Pmra* から *fts#* までをプラスミド上にもつ *Pmra::Plac* 株は、IPTG なしでも生育できるが、増殖速度はかなり低くなった。*Pmra::Plac* 株を供与した研究者が、*murG* とさらに下流の *murC*・*ddl* の遺伝子産物の酵素活性や *ftsZ* 遺伝子産物量を測定し、*Pmra* は少なくとも *mra* クラスターの最後から二番目の *ftsZ* までの発現にある程度寄与しているとの結果を得ている。

(2-iii) *envC* 遺伝子：原弘志

*envC* 変異は、分裂隔壁形成と形成後の細胞分離がうまくいかなくなつてさまざまな長さの細胞が鎖状につながる細胞形態異常をひきおこし、クリスタルバイオレット高感受性・ペリプラズム蛋白質の漏出など表層構造の欠損によると思われる表現型も示す。*envC* 遺伝子をクローン化し、唯一知られる *envC* 変異株 PM61 の変異遺伝子の塩基配列を調べて、1 残基置換 His366 → Tyr を見出している。*envC* 遺伝子産物は、シグナル配列切断後、おもにペリプラズムに局在化する約 43kDa の蛋白質と同定された。EnvC 蛋白質は、N 末端 42 残基のシグナルペプチドに続く成熟体の N 末端側約 1/2 がコイルドコイル構造に典型的な 7 残基ごとの疎水性/親水性の繰返しパターンを持つ  $\alpha$ -ヘリックスに富み、成熟体の C 末端側約 1/3 はペプチドグリカンサキュルスのリモデリングに関与すると示唆されている N1pD 蛋白質の C 末端側約 1/3 の領域やスタフィロコッカスのペプチドグリカン分解酵素 リゾスタフィンと高いホモロジーを示す。*envC61* 変異 (H366Y) は C 末端側のホモロジー領域内にあ

る。envC遺伝子内に薬剤耐性遺伝子を挿入してN末端側約1/3だけの不完全な産物をコードするようになったものを、染色体の野性型遺伝子のかわりに導入することはできたが、envC61変異株と同じ欠損をすべて示した。envC遺伝子は、増殖に不可欠ではないが、正常な隔壁形成・娘細胞分離と表層構造の維持に必要であり、H366Y変異もそのための活性を失わせると考えられる。envC遺伝子を過剰発現させると、宿主細胞の増殖を阻害した。細胞の長さは少し不揃いになるが、envC61変異株と異なり、鎖状にはつながらず、膨らんだ細胞や溶菌したゴーストも観察された。envC61変異(H366Y)遺伝子の過剰発現も野生型の場合と同様の阻害効果を示した。コイルドコイル構造をもつN末端領域が過剰になると、阻害効果を現すのかもしれない。

(2-iv) spr遺伝子：原 弘志，中沢康郎<sup>1</sup>，大淵裕子<sup>1</sup>，竹之内健<sup>1</sup>，酒井良子<sup>1</sup>，藤崎真吾<sup>1</sup>，西村行進<sup>1</sup>(<sup>1</sup>東邦大学理学部)

spr遺伝子は、Prcプロテアーゼの遺伝子prcの欠失による低浸透圧条件下での高温感受性のサブレッサーとして同定された。Prcは、ペリプラズム内でPBP3のC末端11残基のプロセッシングを行なうものとして発見され、その後、3'末端側の欠損したmRNAの産物に10Sa RNAの働きでC末端タグ配列を付けられたもののうちペリプラズムに輸送されたものを分解すると報告されている。Spr蛋白質もPrcプロテアーゼによって分解されて量を調節されている。Δprcのサブレッサーとして独立に分離した22のspr変異のうち4つの塩基配列を調べると、すべてnull変異(5'末端近辺のISの挿入・ナンセンス変異・フレームシフト変異)であった。Prcプロテアーゼがなくなっても標的であるSprが同時になくなれば高温感受性を示さなくなるわけだが、spr null変異もprc<sup>+</sup>の背景では低浸透圧で高温感受性を現わし、適正な量のSpr蛋白質が生育に重要であるらしい。Spr蛋白質のアミノ酸配列は*Bacillus sphaericus*のペプチドグリカンのペプチド側鎖分解酵素と高いホモロジーを示す。Spr蛋白質を過剰生産させると、宿主細胞は溶菌し、溶菌直前の細胞表層画分にペプチドグリカン分解活性が検出された。spr変異株を低浸透圧で高温の条件に移したときに増殖を停止することなどから、Spr蛋白質がペプチドグリカンに切り目を入れるような働きをして細胞壁形成に関与している可能性があると考えている。アミノ酸配列からSpr蛋白質は成熟体のN末端が脂質で修飾されて外膜リポ蛋白質になっていることが予想され、実際、放射性パルミチン酸で強く標識された。修飾されるCys27残基をSerに置換すると、野生型Spr蛋白質よりもさらに顕著に、過剰生産による溶菌をひきおこした。リポ蛋白質化やそれによる細胞表層内での極性変化が、Prcプロテアーゼによる分解またはSprの活性の調節に関与しているのかもしれない。大腸菌は、Sprに加えて、それにたいへんよく似たり蛋白質NlpCを持つ。そこで染色体上のnlpC遺伝子を薬剤耐性遺伝子の挿入によって破壊してみたが、spr null変異と違って明らかな表現型は検出できず、spr変異との二重変異にしても付加的な効果は示さなかった。

## 研究業績

### (1) 原著論文

1. Hara H., Yasuda S., Horiuchi K., and Park J. T.: A promoter for the first nine genes of the *Escherichia coli mra* cluster of cell division and cell envelope biosynthesis genes, including *ftsI* and *ftsW*. *J. Bacteriol.* 179, 5802-5811, 1997.

## (2) 発表講演

1. Hara H.: Targets of tail specific protease Tsp (Prc) of *Escherichia coli*. Centro de Biología Molecular «Severo Ochoa» Seminario, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, May.
2. Hara H., Ohfuchi H., Nakakohji M., Ishihara M., Nakazawa Y., and Nishimura Y.: *Escheirchia coli* PBP 7 is a multicopy suppressor of a defect due to the lack of Spr which is likely to be also a peptidoglycan hydrolyzing enzyme. Table Ronde Roussel Uclaf N° 86 on Peptidoglycan Assembly and the Bacterial Cell Cycle, Versailles, France, May.
3. Hara H.: A new class of mutations of penicillin-binding protein 3 of *Escheirchia coli*. International Symposium "From Peptidoglycan Bio synthesis to Antibiotic Resistance. Present and Future" dedicated to Professor Jean-Marie Ghuysen, Liège, Belgium, August.
4. 中沢康郎, 大淵裕子, 竹之内健, 酒井良子, 藤崎真吾, 原 弘志, 西村行進: 大腸菌のPrc/Tspプロテアーゼ欠失に因る温度感受性をサプレスする遺伝子 *spr* の解析. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.
5. 原 弘志, 成田節子, 山本義弘, 西村行進: 分裂隔壁形成と形成後の娘細胞分離に異常を生じる大腸菌 *envC* 変異の解析. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.

## B-c. 細胞質遺伝客員研究部門

## (1) Cre-loxP システムによる遺伝子導入: 山村研一

Cre-loxP システムは本来遺伝子の挿入と削除を行なうが、哺乳類細胞内ではもっぱら削除することしか行なわれていない。その理由は、切り出された loxP を含む断片が核内で拡散してしまい、実際の反応を行えないからである。そこで、loxP 配列に変異を導入し、いったん組込まれれば Cre によって削除されなくすれば、挿入に傾いた反応を起こさせうと考へ、実験を行なった。その結果、事実 ES 細胞中で 10% 程度の効率で遺伝子を導入できることを明らかにした。詳細は文献 1 に発表した。

また、相同遺伝子組換え時に、ネオ耐性遺伝子が残存するとその影響を無視できないことがあるので、Cre-loxP を利用して相同組換え後にネオ耐性遺伝子を除去する試みがあるが、このような実験では Cre の発現効率が問題になる。そのため、どのようなプロモーターを用いれば一番効率よく除去できるかどうかを検討した。その結果、サイトメガロウイルス/ニワトリ  $\beta$ -アクトニンが最も強いプロモーターであること、以下、ポリペプチド伸

長因子1 $\alpha$ , グリセロリン酸キナーゼ, ポリオーマエンハンサー/ヘルペスウイルスチミジンキナーゼの順であることが分かった。詳細は文献2に発表した。

(2) 遺伝子トラップによる未知遺伝子の単離：山村 研一

遺伝子トラップ法は、内在性遺伝子の下流に組み込まれたときに発現するようデザインしたトラップベクターを、ES細胞に導入し未知遺伝子を単離する方法である。この方法で効率よく未知遺伝子をトラップするためには、スクリーニングシステムの開発が必須である。昨年度までに、胚様体を利用したシステムを構築したが、これを用いてどの程度に効率よく未知遺伝子を単離できるかどうかを検討した。その結果、約4割は既に発表されている既知遺伝子であること、約4割はESTとして登録されていること、約2割は全く未知のものであることが分かった。したがって、効率よくトラップできることが明らかとなった(投稿準備中)。

(3) 三次元蛍光顕微鏡システムの開発：平岡 泰

蛍光顕微鏡を基盤としてコンピューター制御の三次元光学顕微鏡システムを開発した。このシステムは、蛍光顕微鏡・冷却CCD・コンピューターから成り、単一のワークステーションで三次元画像化・画像処理・画像解析をすべて行うことができる。これを用いれば、解像度の高い三次元画像が得られ、細胞内の微細な構造を解析することができる。

さらに、生細胞で特定分子を蛍光画像化する技術の開発を行った。生細胞で特定の分子を蛍光染色する方法として我々は次の3つの方法を組み合わせて用いている。(1)DNA 特異的蛍光色素(2)タンパク質への化学的蛍光標識(3)光クラゲの蛍光タンパク質 green fluorescent protein (GFP)との融合遺伝子。

(4) 減数分裂における染色体構築の解析：平岡 泰

分裂酵母の減数分裂における染色体運動の様子を生細胞で観察した。2つの核が融合した後、染色体が細胞内を動き回るのが観察された。この動き回る染色体に対し、セントロメアとテロメアの位置を決定したところ、驚いたことに、動きの先端にはテロメアが位置していた。増殖時の分裂運動では、セントロメアが引っ張られるのはよく知られている。しかし、テロメアが運動の先端にあるという構造は今まで全く知られていなかった。この様な特殊な構造が、減数分裂の初期にのみ現れることから、テロメアが減数分裂に重要な役割を果たしていると考えられる。運動の先導部位がセントロメアからテロメアに変わる過程を突然変異株を用いて詳細に解析した。(Chikashige et al., EMBO J., 1997) 加えて、分裂酵母減数分裂の制御機構の解析も行った。(Watanabe et al., Nature, 1997/Shimanuki et al., Mol. Gen. Genet., 1997)

(5) ヒト培養細胞の有糸分裂における染色体構築の解析：平岡 泰

ヒト培養細胞において染色体構築と動態の解析を行った。まず、固定試料で、高解像三次元解析を行った。焦点面を段階的に移動させて得た3次元画像からコンピューター画像処理で非焦点情報を除去することにより、解像度の大幅な改良がなされた。また、蛍光色素を共有結合させたタンパク質を細胞に導入することで、生きたままの細胞で特定の細胞構造を蛍光染色することができる。この方法を用いて細胞分裂時の染色体と微

小管のダイナミックな変化を生きた細胞で調べた。(Haraguchi et al., Genes to Cells, 1997). さらに, 抗癌剤などの薬理効果を直接観察することも可能になった. この方法は, 染色体だけでなく, 広範な細胞生物の研究に応用できる。(Kinoshita et al., Genes & Development, 1997)

#### (6) 分裂酵母ゲノムGFPライブラリーの構築と解析: 平岡 泰

分裂酵母のゲノムに由来するランダムなDNA断片にGFPを融合させ, GFP融合ゲノムライブラリーを作製した. このライブラリーで分裂酵母細胞を形質転換し, 得られた転換体を蛍光顕微鏡で観察し, 個々のGFP融合遺伝子産物の細胞内局在を調べた. ライブラリーの構築に用いたベクターは, 全長のGFP遺伝子の5'端にクローニング部位を持ち, 外来のプロモーターは持たない. 従って, 導入されたゲノムDNA断片が, 生来のプロモーターを含み, 遺伝子断片が読み枠を合わせてGFPとつながった場合のみ蛍光タンパク質を生ずる. 約50000株の転換体を蛍光顕微鏡でスクリーンしたうち, 約7000株に蛍光が認められた. このうちの多くは細胞質に均一な蛍光が見られたが, 約800株で, 細胞内の特異的な構造が染色された. これら約800株についてDNA塩基配列を部分的に決定し, DNA配列データベースとの照合を行っている. これにより, 分裂酵母ゲノム中の約800個の遺伝子の部分塩基配列とその細胞内局在との対応が明らかになった. いわば, 分裂酵母遺伝子産物の細胞内局在の画像カタログである. 分裂酵母ゲノムの全塩基配列が決定されたあかつきには, このカタログと照合することによって, 個々の遺伝子産物の局在を知ることができる.

### 研究業績

#### (1) 原著論文

1. Araki, K., Araki, M. and Yamamura, K.: Targeted integration of DNA using mutant lox sites in embryonic stem cells. *Nucleic Acid Res.* **25**, 868-872, 1997.
2. Araki, K., Imaizumi, T., Okuyama, K., Oike, Y. and Yamamura, K.: Efficiency of recombination by Cre transient expression in embryonic stem cells: comparison of various promoters. *J. Biochem.* **122**, 977-982, 1997.
3. Kikuchi, S., Sonobe, K., Mashiko, S., Hiraoka, Y. and Ohya, N.: Three-dimensional image reconstruction for biological micro-specimens using a double-axis fluorescence microscope. *Optics Comm.*, **138**, 21-26, 1997.
4. Chikashige, Y., Ding, D. Q., Imai, Y., Yamamoto, M., Haraguchi, T. and Hiraoka, Y.: Meiotic nuclear reorganization: switching the position of centromeres and telomeres in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *EMBO J.*, **16**, 193-202, 1997.
5. Watanabe, Y., Shinozaki-Yabana, S., Chikashige, Y., Hiraoka, Y. and Yamamoto, M.: Phosphorylation of RNA-binding protein controls cell cycle switch from mitotic to meiotic in fission yeast. *Nature*, **386**, 187-190, 1997.
6. Shimanuki, M., Miki, F., Ding, D. Q., Chikashige, Y., Hiraoka, Y., Horio, T. and

- Niwa, O.: A novel fission yeast gene, *kms1+*, is required for the formation of meiotic prophase-specific nuclear architecture. *Mol. Gen. Genet.*, **254**, 238-249, 1997.
7. Kinoshita, M., Kumar, S., Mizoguchi, A., Ide, C., Kinoshita, A., Haraguchi, T., Hiraoka, Y. and Noda, M.: *Nedd5*, a mammalian septin, is a novel cytoskeletal component interacting with actin-based structures. *Genes & Development*, **11**, 1533-1547, 1997.
  8. Haraguchi, T., Kaneda, T. and Hiraoka, Y.: Dynamics of chromosomes and microtubules visualized by multiple-wavelength fluorescence imaging in living mammalian cells: effects of mitotic inhibitors on cell cycle progression. *Genes to Cells*, **2**, 369-380, 1997.
  9. Hiraoka, Y., Agard, D. A. and Sedat, J. W.: Spatial arrangement of homologous chromosomes during anaphase in early embryos of *Drosophila melanogaster* studied by three-dimensional fluorescence microscopy. *Bioimaging*, **5**, 183-193, 1997.
  10. Tange, Y., Horio, T., Shimanuki, M., Ding, D.-Q., Hiraoka, Y. and Niwa, O.: A novel fission yeast gene *tht1+* is required for the fusion of nuclear envelopes during karyogamy. *J. Cell Biol.*, **140**, (in press).
  11. Ding, D.-Q., Chikashige, Y., Haraguchi, T. and Hiraoka, Y.: Oscillatory nuclear movement in fission yeast meiotic prophase is driven by astral microtubules as revealed by continuous observation of chromosomes and microtubules in living cells. *J. Cell Sci.*, (in press).
  12. Aki Hayashi, Hideyuki Ogawa, Kenji Kohno, Susan M. Gasser, and Yasushi Hiraoka.: Dynamics of centromeres and telomeres during meiosis in budding yeast *Saccharomyces cerevisiae*. (Submitted to *J. Cell Biol.*)

(2) その他

1. 山村研一：遺伝子改変動物－現状と将来，学術月報 **50**, 56-61, 1997
2. 山村研一：標的組換えマウス (gene targeted mouse), 医学のあゆみ **181**, 827, 1997
3. 山村研一：糖代謝：糖尿病の発症，病理と臨床 **15**, 793-799, 1997
4. 山村研一：Cre-loxPシステムによる遺伝子機能の解析，医学のあゆみ **182**, 401-405, 1997
5. 近重裕次，平岡泰：減数分裂期の染色体構造とテロメア。実験医学，**15**, 1806-1811, 1997.

(3) 発表講演

1. 山村研一：標的組換えマウス。第27回新潟神経学夏期セミナー，新潟，7月。
2. 山村研一：DNAから墓場まで，第1回遺伝子・染色体研究班研修会－臨床検査を遺伝子の世界から－，松本，8月。

3. 山村研一：トランスジェニックマウスとターゲッティングマウスの方法論的戦略，第5回血液アゴラ，滋賀，8月。
4. 山村研一：発生工学の新展開，第5回日本血管細胞生物学研究会大会特別講演，熊本，11月

## C. 個体遺伝研究系

### C-a. 発生遺伝研究部門

当研究部門は、ショウジョウバエを用い神経系の発生機構を研究しているショウジョウバエグループと、ヒドラを使って形態形成機構を研究しているヒドラグループからなる。

#### 1. ショウジョウバエグループ

本年度の教官メンバーは、教授；広海 健，助手；岡部正隆(8月1日着任)の2名である。その他，科学技術振興事業団ポスドクの山田琢磨，リサーチアソシエートの小瀬博之(8月1日着任)が研究に参加し，研究補佐員・鈴木恵美子，研究補助員・増島育子が協力した。当グループの研究は，遺伝研校費・総研大校費，文部省科学研究費補助金・基盤研究「神経細胞運命決定の核内機構」，重点領域研究「RAS/MAPKシグナル伝達経路の新しい転写調節機構」，学術振興会未来開拓事業「発生におけるパターン形成機構」(プロジェクトリーダー・林 茂生)，学術振興会日欧共同研究「ショウジョウバエ *eyeless* 遺伝子による器官決定の発生遺伝学的研究」の支援を受けた。

ショウジョウバエグループは胚中樞・末梢神経系及び成虫複眼をモデル系として用いて，神経系発生過程におけるニューロン運命決定機構・神経回路形成機構の研究を行っている。ニューロンの個性を制御する遺伝子を同定することを目的として，胚中樞神経系及び成虫複眼の特定のニューロン或いはその前駆細胞でのみ発現している遺伝子を多数同定した。現在，これらの遺伝子の遺伝学的・分子生物学的解析を行っている。

(1) 複眼光受容ニューロンの運命を決定する遺伝子 *seven-up*: 小瀬博之，鈴木恵美子，広海 健

ショウジョウバエ個眼には，R1, R2, . . . , R8 と呼ばれる8個の光受容ニューロンがあり，光波長感受性・シナプス標的等から5種のニューロンに分類できる。*seven-up* 遺伝子はこのうちR1, R3, R4, R6ニューロンでのみ発現している。*seven-up* 遺伝子の突然変異ではR1, R3, R4, R6がR7と呼ばれる別の種類の光受容ニューロンに運命転換する。このことは *seven-up* が2種のニューロン間の遺伝的スイッチとして働くことを示している。*seven-up* 遺伝子は進化的に極めてよく保存された核リセプターをコードしており，そのリガンド結合領域と結合する分子もショウジョウバエとヒトの間で保存されていると考えられる。我々は*Seven-up*のリガンド結合領域だけを強制発現しても各種の細胞で細胞種特異的な運命変換が起こることを見いだした。これは強制発現された*Seven-up*のリガンド結

合領域によって別の蛋白が吸収されてしまったためであると考え、酵母2ハイブリッド法を用いてSeven-upのリガンド結合領域と結合する蛋白を検索した。

(2) RAS/MAPKシグナル伝達経路の新しい抑制因子, Sprouty と EDL: 山田琢磨, 岡部正隆, 広海 健

多くのパターン形成や細胞運命決定過程においては、リセプターによって活性化されるシグナル伝達経路が外界からのシグナル受容を細胞特異的の反応に結びつけている。例えば、ショウジョウバエ複眼の光受容細胞のニューロン分化過程では、EGFリセプターDERとSevenlessという2つの受容体型チロシンキナーゼによってRAS/MAPKシグナル伝達経路が活性化される。我々はショウジョウバエのRAS/MAPKシグナル伝達経路の2つの新しい抑制因子, EDLとSprouty (SPRY)を同定し、パターン形成過程における役割を解析している。

SPRYはCysteinに富む領域を持つ新たな分泌性因子である。SPRYは進化的によく保存された蛋白であり、マウスやヒトからもホモログが見つまっている。ショウジョウバエ胚発生過程でspryは気管の先端細胞で発現しており、FGFリセプターBreathlessによって制御されている気管の分岐を抑制する(文献4)。我々は、SPRYはEGFリセプターによって制御されているパターン形成過程においても空間的・時間的に限られた発現パターンを呈すことを見いだした。例えば、複眼光受容細胞のニューロン分化過程では、SPRYはR2, R5, R7の3つのニューロンでおもに発現しており、*spry*突然変異個体では本来ニューロンに分化しない細胞が光受容ニューロンとして分化する。*spry*の強制発現は、光受容細胞のニューロン分化抑制、羽翅脈の欠失、卵巣濾胞細胞の複方化など、EGFリセプターの機能欠失とよく似た症状を示す。このことは、SPRYがFGFリセプターだけでなく、EGFリセプターの抑制因子としても働いていることを示唆している。

EDLは新しいクラスのETS蛋白であり、蛋白間相互作用により、RAS/MAPKシグナル伝達経路の下流で働くETS転写因子PNT P2蛋白の作用を阻害する。*edl*は胚伸展受容器、複眼の光受容ニューロン、卵巣濾胞細胞など、RAS/MAPKシグナル伝達経路によってパターン形成が制御される多くの組織で発現している。EDLのパターン形成過程での機能を調べるため、*edl*遺伝子の欠失系統を作成した。この系統は劣性致死であり、胚伸展受容器の数が減少している。現在、*edl*がいかにして胚伸展受容器感覚母細胞の誘導に寄与しているかを解析している。

(3) 器官形成と位置情報の関係: 岡部正隆, 広海 健

近年、神経系のパターン形成を司る遺伝子の同定が進み、神経系形成の分子的基础が急速に解明されている。一方、特定の体節にのみ生じる末梢神経系の感覚器(鼻, 目, 耳など)の発生に関しては、それぞれの器官形成に必要な遺伝子はいくつか同定されたものの、「どの体節にどのような感覚器を作るか」といった感覚器の選択と体節間・体節内の位置情報の関係はほとんど解明されていない。最近、複眼形成に必要なことが知られていた*eyeless*遺伝子を異所的に発現することにより、他の体節にも複眼を形成することができることが明らかにされた。このことは*eyeless*遺伝子が器官形成遺伝子として複眼形成に十分な機能を持つことを示している。しかしながら、*eyeless*遺伝子は必ずしも発現さ

せたすべての細胞で複眼形成を開始させないことから、*eyeless*遺伝子に反応して複眼を形成するためには、細胞側になんらかの必要条件が存在すると考えられた。この細胞側の必要条件が何であるか、細胞の持つ位置情報を中心に解析している。

## 2. ヒドラグループ

(1) ヒドラの神経分化を制御するペプチドの解析：藤沢敏孝，清水 裕，服田昌之，高橋俊雄，藤勝植，杉山 勉<sup>1</sup>，宗岡洋二郎<sup>2</sup>，小泉 修<sup>3</sup>(<sup>1</sup>石巻専修大学理工学部，<sup>2</sup>広島大学総合科学部，<sup>3</sup>福岡女子大学人間環境学部)

我々はヒドラからペプチド性のシグナル分子を大規模に分離し、その構造と機能を解析するプロジェクトを推進している(Takahashi et al, 1997)。これまで同定したペプチドのうち神経細胞の分化制御に関わる以下の2ペプチドグループについて解析をおこなった。

### 1) PWファミリー

PWファミリーはC-末端にPro-Trpを持つ4種のペプチド(アミノ酸5-8残基)からなる。いずれのPWペプチドも外からヒドラに短期間(2日)与えると神経細胞の分化を抑制する。PWペプチドは神経分化過程の最初期、即ち、多能性間幹細胞が神経への分化決定を行う点を阻止していると考えられる結果を得ている。一方、長期(1週間)処理を続けると、分化抑制効果が消失する。ヒドラの神経分化にはフィードバック機構が働くことを示唆する報告があり、PWペプチドは負のフィードバック因子の可能性が高い。

### 2) Hym-355

Hym-355は9アミノ酸残基からなり、C-末端がアミド化されている。Hym-355に対する抗体を作成し、免疫組織染色を行った。神経細胞が特異的に染まることから、Hym-355は神経ペプチドである。Hym-355処理ヒドラでは神経細胞の分化が促進され、PWペプチドと逆の効果を示した。Hym-355とPWペプチド同時に処理すると、お互いの効果を相殺した。このことから2グループのペプチドは神経分化過程の同じ時期に働き、それらの濃度比が神経の分化運命を決めていると考えられた。従って、これらのペプチドは神経分化のフィードバックに関わる調節分子であると考えられる。

### (2) ミドリイシサンゴの進化遺伝学的解析：服田昌之

造礁サンゴの多くは多数の種が一斉に産卵することから雑種形成が予想されてきた。そこで主要な属であるミドリイシ属について、まず実験的に交配を行なった。その結果、1) 形態分類では種内多型とされてきたものが生殖遺伝的に別種と判ったもの、2) 種間で交配する複数の組み合わせ、が見つかった。次いで核にコードされているミニコラゲン遺伝子の塩基配列に基づく分子系統解析を行なった。形態がいかに類似していても交配しないものの間の遺伝的距離が有意であり、形態類似性と遺伝的近縁性ととのあいだに相関が無いことが明らかになった。その反面、種間で交配したものの間では遺伝子移入が起こっていることが示唆された。このことはヒストン遺伝子でも同様であった。これは、雑種化による種の融合を繰り返す網目状進化の仮説を支持する。また、形態が大きく異なる種間で雑種化が進行することによって形態の多様化がもたらされた可能性、遺伝的な交流が無いのによく似た形態の種が独立に生じた可能性が考えられる。

この研究は阿嘉島臨海研究所と東京水産大学と共同で行った。

(3) ヒドラ細胞外マトリックスと細胞増殖, 形態形成: 清水 裕

細胞外マトリックスは, 上皮細胞の基底膜として細胞増殖や細胞分化において重要な役割を果たすと考えられている。しかし, それを検証する試みはほとんどが培養細胞系を用いて行われており, 生体系での研究例は少ない。その理由は, 生体系では細胞外マトリックスは組織内に入り組んで存在し, その構造や組成を自在にコントロールする事が非常に困難であるためと考えられる。腔腸動物ヒドラでは, 細胞外マトリックス(メソグリア)は一層の外胚葉上皮と一層の内胚葉上皮の間に存在する。両胚葉の上皮はすべてメソグリアと密接に接着している。我々は, ヒドラ個体にメスで傷を付けたり頭部切除などを行うと, 傷口付近でメソグリアの収縮が起り, 収縮した範囲内ではメソグリアが欠失した状態になること, この状態が12時間ほど持続することを明らかにした。そこで, このメソグリア欠失がその領域の上皮細胞の増殖等に及ぼす影響を調べた。2つの傾向が認められた。第一は, 細胞増殖がメソグリア接着非依存的に起きる点である。これは, 従来の培養系, 生体系では認められていない新しい事実である。第二は, 頭部再生がメソグリア非接着状態にあった組織からだけ認められるという傾向である。これは, 細胞外マトリックスと形態形成の関連に関する新たな知見である。以上の結果は, ヒドラが細胞外マトリックスの機能を調べるのに格好の材料であることを示している。筆者は, カンサス大学サラス教授らとの共同研究により, 細胞外マトリックスの諸機能をさらに解明する試みを続けている。

## 研究業績

### (1) 原著論文

1. Ito, K., Awano, W., Suzuki, K., Hiromi, Y., and Yamamoto, D.: The *Drosophila* mushroom body is a quadruple structure of clonal units each of which contains almost identical set of neurons and glial cells. *Development* **124**, 761-771, 1997.
2. Butler, S. J., Ray, S. and Hiromi, Y.: Klingon, a novel member of the *Drosophila* Immunoglobulin superfamily, is required for the development of the R7 neuron. *Development* **124**, 781-792, 1997.
3. Okabe, M. and Okano, H.: Two-step induction of chordotonal organ precursors in *Drosophila* embryogenesis. *Development* **124**, 1045-1053, 1997.
4. Hacohen, N., Kramer, S., Sutherland, D., Hiromi, Y. and Krasnow, M. A.: *sprouty* encodes a novel antagonist of FGF signaling that patterns apical branching of the *Drosophila* airways. *Cell* **92**, 253-263, 1998.
5. Murate, M., Kishimoto, Y., Sugiyama, T., Fujisawa, T., Takahashi- Iwanaga, H., & Iwanaga, T.: Hydra regeneration from recombined ectodermal and endodermal tissue. II. Transient loss of the endodermal epithelial tissue organization. *J. Cell Sci.* **110**, 1919-1934 (1997).
6. Takahashi, T., Ohtani, M., Muneoka, Y., Arimoto, S., Hatta, M., Shimizu, H.,

- Fujisawa, T., Sugiyama, T. & Koizumi, O.: Structure-activity relation of LWamidepeptides synthesized with a multipetide synthesizer. *Peptide Chemistry* **1996**, 193-196, 1997.
7. Takahashi, T., Muneoka, Y., Lohmann, J., Lopez de Haro, Bosch, T.C.G., David, C.N., Bode, H.R., Koizumi, O., Shimizu, H., Hatta, M., Fujisawa, T. & Sugiyama, T.: Systematic isolation of peptide signal molecules regulating development in Hydra: I. LWamide and PW families. *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.* **94**, 1241-1246, 1997.
- (2) その他
1. Okabe, M., Sawamoto, K., Imai, T., Sakakibara, S., Yoshikawa, S. and Okano, H.: Intrinsic and extrinsic determinants regulating cell fate decision in developing nervous system. *Dev. Neurosci.*, **19**, 9-16, 1997
  2. 岡部正隆, 岡野栄之: ショウジョウバエが語る神経発生分子メカニズム-末梢神経系と複眼の初期発生-細胞工学, Vo. 16 No. 8 pp1097-1106, 1997
  3. Okano, H., Okabe, M., Taguchi, A. and Sawamoto, K.: Evolutionarily conserved mechanisms of the regulation of neural development: lessons from the development of *Drosophila* peripheral nervous system. *Human Cell*, **10**, 139-150, 1997
- (3) 発表講演
1. Okabe, M. and Okano, H.: Two-step induction of chordotonal organ precursors in *Drosophila* embryogenesis. 38th Annual *Drosophila* Research Conference. Chicago, 4月.
  2. 山田琢磨, 広海 健: ショウジョウバエの新しい因子EDLはETS蛋白(PNT P2)との相互作用により視覚系におけるニューロンの分化を抑制する. 第30回日本発生物学会年会. 筑波, 5月.
  3. 岡部正隆, 来栖光彦, 今井貴雄, 中村 真, 岡野栄之: ショウジョウバエ *musashi* 遺伝子の機能解析. 第30回日本発生物学会年会. 筑波, 5月.
  4. 広海健, West, S. R.: 複眼光受容ニューロンの運命決定における核内過程. 日本ショウジョウバエ研究会第3回研究集会. 福岡, 8月.
  5. 岡部正隆, 今井貴雄, 来栖光彦, 中村 真, 岡野栄之: ショウジョウバエ *musashi* 遺伝子の機能解析. 第3回日本ショウジョウバエ研究集会. 福岡, 8月.
  6. 湯浅喜博, 吉川真悟, 岡部正隆, 岡野栄之: グリア細胞の発生における *repo* 遺伝子産物の役割. 第3回日本ショウジョウバエ研究集会. 福岡, 8月.
  7. 田渕克彦, 吉川真悟, 岡部正隆, 岡野栄之: 中枢神経系の一部のニューロンで発現するショウジョウバエの新規ホメオボックス遺伝子. 第3回日本ショウジョウバエ研究集会. 福岡, 8月.

8. Yasushi Hiromi: Nuclear Events during neuronal determination in the *Drosophila* Retina. National Institute of Genetics International Symposium on Gene Function to Cell Differentiation. Mishima, 9月.
9. Kramer, S., Yamada, T., Hakohen, N., Krasnow, M. A., Hiromi, Y.: Sprouty and Edl, two novel negative regulators of neuronal development. 1997 Meeting on Neurobiology of *Drosophila*. Cold Sprong Harbor, 9月.
10. 広海 健: ショウジョウバエ神経細胞運命決定の核内過程. 京都大学ウイルス研究所セミナー. 京都, 10月.
11. 田淵克彦, 吉川真悟, 岡部正隆, 岡野栄之: ショウジョウバエ *unc-4* ホモログの発現パターン解析. 第40回日本神経化学会. 松山, 10月.
12. Kramer, S., 山田琢磨., Hakohen, N., Krasnow, M. A., 広海 健: ショウジョウバエ光受容ニューロンの新しいニューロン分化抑制因子, SproutyとEDL. 第20回日本分子生物学会年会. 京都, 12月.
13. 山田琢磨, 岡部正隆, 広海 健: ショウジョウバエの新しいEts因子EDLによるRas/MAPK情報伝達系の制御. 第20回日本分子生物学会年会. 京都, 12月.
14. 田淵克彦, 吉川真悟, 岡部正隆, 岡野栄之: 表皮と中枢神経系で発現するショウジョウバエの新規Paired-like homeobox 遺伝子の解析. 第20回日本分子生物学会年会. 京都, 12月.
15. 藤沢敏孝, 服田昌之, 高橋俊雄, 宗岡洋二郎, 岩尾研二, 渡邊朋子, 石井春人, 小早川義尚, 小泉 修, D. ホフマン, 杉山 勉: ヒドラ・シグナルペプチドの解析 I. 腔腸動物の幼生変態を誘起するペプチドファミリー 日本発生生物学会第30回大会, 筑波, 5月.
16. 高橋俊雄, 服田昌之, 宗岡洋二郎, 小泉 修, 小早川義尚, 藤沢敏孝: ヒドラ・シグナルペプチドの解析 II. ヒドラの神経分化を促進するペプチド, Hym-355の単離, 構造そして機能解析 日本発生生物学会第30回大会, 筑波, 5月.
17. 清水 裕, 服田昌之, 藤勝植, 高橋俊雄, 宗岡洋二郎, 杉山 勉, 藤沢敏孝: ヒドラ・シグナルペプチドの解析 III. ヒドラ足部形成活性化ペプチド 日本発生生物学会第30回大会, 筑波, 5月.
18. 藤沢千笑, 藤沢敏孝: チクビヒドラの雄性化現象における生殖幹細胞相互作用 日本発生生物学会第30回大会, 筑波, 5月.
19. Fujisawa, T.: Peptides involved in regulation of neuron differentiation. 7th International Workshop on Hydroid Development, Tutzing, Germany September, 1997.
20. Koizumi, O., Baba, K., Uehara, N. & Fujisawa, T.: Characterization of a non-feeding mutant, *nf-11*, of hydra. 7th International Workshop on Hydroid Development, Tutzing, Germany September, 1997.
21. Nishimiya-Fujisawa, C & Fujisawa, T.: Interaction of germline stem cells during a masculinization process in *Hydra magnipapillata*. 7th International Work-

- shop on Hydroid Development, Tutzing, Germany September, 1997.
22. Nishimiya-Fujisawa, C & Fujisawa, T.: Control of germ-line stem cell differentiation from multipotent interstitial stem cells in Hydra. 7th International Workshop on Hydroid Development, Tutzing, Germany September, 1997.
  23. Takahashi, T., Muneoka, Y., Shimizu, H., Hatta, M., Fujisawa, T., Koizumi, O., Bosch, T. Solleder, G., David, C. Bode, H. & Sugiyama, T.: The hydra peptide project: Peptide isolation, structure determination and chemical synthesis. 7th International Workshop on Hydroid Development, Tutzing, Germany September, 1997.
  24. Yum, S., Hatta, M. & Fujisawa, T.: Multi-primer PCR as a new assay for peptide signal molecules. 7th International Workshop on Hydroid Development, Tutzing, Germany September, 1997.
  25. Yum, S., Takahashi, T. & Fujisawa, T.: A novel myopactive peptide, Hym-176. 7th International Workshop on Hydroid Development, Tutzing, Germany September, 1997.
  26. Koizumi, O., Takahara, Y., Kobayakawa, Y., Takahashi, T., Muneoka, Y., Sugiyama, T. & Fujisawa, T.: Systematic production of polyclonal antibodies for individual peptides. 7th International Workshop on Hydroid Development, Tutzing, Germany September, 1997.
  27. Hoffman, D., Dareshori, F., Fujisawa, T., Takahashi, T., Hatta, M., & Sugiyama, T.: Hydra peptides of the LPW family induce metamorphosis in propagules of the scyphozoan *Cassiopea andromeda*. 7th International Workshop on Hydroid Development, Tutzing, Germany September, 1997.
  28. 藤沢敏孝：腔腸動物の変態を制御するペプチドファミリーー日本農芸化学会西日本・関西支部合同大会シンポジウム，佐賀，10月。
  29. Fujisawa, T.: Peptides regulating developmental processes in hydra. International Symposium for Peace and Biology "Evolutionary Aspects of Chemical Messengers and Their Receptors". Hiroshima, November, 1997.
  30. Hatta, M.: Cloning of peptide coding genes / Hydra Peptide Project 7th International workshop on hydroid development, Tutzing, Germany September, 1997
  31. Hatta, M., Fukami, H., Wang, W., Shimoike, K., Hayashibara, T., Omori, M. & Sugiyama, T.: Reticulate evolution of corals. 7th International workshop on hydroid development, Tutzing, Germany September, 1997
  32. 深見裕伸，服田昌之，林原 毅，下池和幸，杉山 勉，大森 信：ミドリイシ属サンゴの一斉産卵による雑種形成と形態の多様化。日本動物学会第68回大会，奈良，10月。
  33. 深見裕伸，服田昌之，下池和幸，林原 毅，杉山 勉，大森 信：ミドリイシ属サンゴの網目状進化；一斉産卵を通じた種の融合。日本サンゴ礁学会第1回大会，那覇，

11月.

## C-b. 形質遺伝研究部門

当研究部門では、主としてショウジョウバエとカイコを用いて遺伝子発現制御と発生および发育遺伝学の研究を行っている。本年度の研究には、教授・広瀬 進、助教授・村上昭雄、助手・上田 均、山田正明、湊 清、日本学術振興会特別研究員・影山裕二、岡田聖裕、COE外国人研究員Marek Jindra、総合研究大学院大学生命科学研究科遺伝学専攻大学院生・竹丸憲一、劉 慶信、相田紀子、増田祥子、国立遺伝学研究所研究生・高橋良知、国立遺伝学研究所特別研究生(岩手大学大学院)川崎陽久、チェコ共和国サウスボヘミア大学大学院生・朝比奈雅子、東京工業大学生命理工学部教授・半田 宏(国立遺伝学研究所生理遺伝研究部門客員教授)、同大学院生・後藤正英、大阪大学工学部教授・原島 俊、奈良先端科学技術大学院大学助教授・白川昌宏、同大学院生・尾崎 淳、韓国蚕糸昆虫研究所研究員・Hyun-Ah Kang、名古屋大学医学部教授・菊池韶彦、広島大学理学部助教授・赤坂甲治が参加した。また、技術課職員深瀬与惣治および研究補佐員として高田佑子、植松こづえ、渡辺たつのが研究を支援した。

広瀬は「インスレーターの構造と機能の解析」(代表者:広島大学理学部・赤坂甲治)、「リガンドおよびターゲット特異的なNotchシグナル伝達機構の解析」(代表者:理化学研究所・村田武英)、「クロマチン構造と遺伝子発現調節」(代表者:久留米大学医学部・豊田哲也)、「in vivoを反映したクロマチン再構築系における転写のメカニズムの解明」(代表者:慶應義塾大学医学部・梅澤明弘)「LCR結合因子BACHファミリーの試験管内転写系を用いた機能解析」(代表者:筑波大学基礎医学系・五十嵐和彦)、「カイコの転写因子FTZ-F1とそのメディエーターMBF1との相互作用についての構造生物学的研究」(代表者:奈良先端科学技術大学院大学・白川昌宏)、「核に局在する新規アクチンファミリーAct3pと再構成クロマチンとの相互作用の解析」(代表者:東北大学農学部・原田昌彦)を、村上は「昆虫の個体と細胞の寿命に関する遺伝学的・細胞学的解析」(代表者:東京農工大学・岩淵喜久男)、「家蚕突然変異の可視形質と機能に関する研究」(代表者:九州大学農学部・藤井 博)を組織し、共同研究を行った。

本年度の研究は、文部省科学研究費重点領域研究“細胞核の機能構造”(1)「核機能発現の場の構築」(広瀬)、同重点領域研究“転写調節機構から挑む高次生命現象の解析”(1)「転写因子間の相互作用と機能発現の分子機構」(上田)、同重点領域研究“昆虫の変態・休眠の分子機構”(2)「脱皮・変態の分子機構の解析」(上田)、国立遺伝学研究所特定研究“遺伝学への生物物理学的方法の導入”(広瀬、上田)の支援を受けた。

上田は第38回 *Drosophila* Research Conference(4月、アメリカ合衆国シカゴ)に、広瀬と岡田は Cold Spring Harbor Meeting “Mechanisms of Eukaryotic Transcription”(8月、アメリカ合衆国ニューヨーク)に参加し、発表した。

(1) DNAの高次構造と真核生物の遺伝子発現制御

(1-a) DNA 超らせん化因子に関する研究：相田紀子，菊池韶彦<sup>1</sup>，広瀬 進<sup>1</sup>（名古屋大学医学部）

超らせん化因子はDNAトポイソメラーゼIIと協調してDNAに負の超らせんを導入するタンパク質である。超らせん化因子に対する抗体を用いてショウジョウバエ幼虫の組織染色を行ったところ、唾腺のposterior側や、脂肪体、気管で核が染色された。そこで、唾腺染色体上での因子の分布を調べた。heterochromatinは全く染色されず、euchromatin上の特定の領域がバンド状に染色されることが判明した。強く染色された領域はパフに相当したので、パフへの超らせん化因子の局在を確かめる目的で、熱ショック処理した幼虫から唾腺染色体を調製して調べた。その結果、熱ショック前に観察されたバンドの染色が消え、新たに熱ショックパフが染色された。これらの結果は、超らせん化因子が転写活性クロマチンの形成に関わることを示唆している（発表講演7, 23, その他論文2）。一方、トポイソメラーゼII分子上で超らせん化因子が結合する領域をファーウェスタン法を用いて調べたところ、ATPaseドメインの後半からB'ヒンジの前半に至る領域で結合することが判った。この結果は、B'ヒンジの前半にエピトープをもつ抗トポイソメラーゼIIモノクローン抗体が、超らせん化因子のトポイソメラーゼIIへの結合を特異的に阻害することからも支持された（発表講演10）。

(1-b) クロマチン構造を介した遺伝子発現調節：岡田聖裕，Hyun-Ah Kang<sup>1</sup>，上田 均，赤坂甲治<sup>2</sup>，広瀬 進<sup>1</sup>（<sup>1</sup>韓国蚕糸昆虫研究所，<sup>2</sup>広島大学理学部）

*fushi tarazu* 遺伝子のプロモーター領域(zebra element)を含むプラスミドDNA上にsalt dialysis法でクロマチンを再構成していったん転写不活性な状態にした後、ショウジョウバエの胚抽出液とGAGA因子を作用させることにより、クロマチンをリモデリングして転写を活性化することができる。この系に、ISWIの抗体を加えたところ、クロマチンのリモデリングと転写活性化が共に阻害された。この結果は、抽出液中にふくまれるISWIがクロマチンのリモデリングと転写活性化に重要な役割を果たすことを示している（発表講演3, 5, 16）。現在、実際にクロマチンのリモデリングに関わるGAGA因子とISWIを含むタンパク質複合体をショウジョウバエの胚抽出液から分離することを試みている。また、ウニのアリルスルファターゼ遺伝子上流に見出されたインスレーター活性をもつDNA領域がショウジョウバエの胚でもエンハンサーの効果を遮断することをtransgenic flyを用いた解析により見出した。

(2) 転写コアクチベーターMBF1に関する研究：竹丸憲一，Marek Jindra，朝比奈雅子，劉慶信，上田 均，原島 俊<sup>1</sup>，後藤正英<sup>2</sup>，半田 宏<sup>2</sup>，尾崎 淳<sup>3</sup>，白川昌宏<sup>3</sup>，広瀬 進<sup>1</sup>（<sup>1</sup>大阪大学工学部，<sup>2</sup>東京工業大学生命理工学部，<sup>3</sup>奈良先端科学技術大学院大学）

ショウジョウバエの転写制御因子FTZ-F1による*fushi tarazu*遺伝子の転写活性化には、FTZ-F1と基本転写因子の間を仲介する2つのコアクチベーターMBF1とMBF2が必要である（その他論文1）。MBF2は糖タンパクで、TFIIAのβサブユニットに直接結合し、転写を活性化するpositive cofactorである（原著論文1）。クワコとヒマサンからそのhomologのcDNAをクローニングして解析したところ、MBF2は絹糸腺で強く発現していることが判った（発

表講演 15). 一方, MBF1 は FTZ-F1 と TBP の間を橋渡しするタンパク質で, データーベースの検索により, この因子は酵母からヒトまで保存されていることが判明した(原著論文2). これまで MBF1 について *in vitro* の系を用いて解析してきたが, 出芽酵母を用いた遺伝学的解析により, *in vivo* で MBF1 が転写制御因子 GCN4 による転写活性化を仲介することを示した(発表講演 2, 4, 8, 13). また, ショウジョウバエと線虫 *C. elegans* の MBF1 に関して遺伝学的解析を開始した(発表講演 11, 12). さらに, NMR による解析から, MBF1 の C 末端側半分が 4 本の  $\alpha$ -ヘリックス構造と安定なループから成ることを明らかにした(発表講演 9).

(3) ショウジョウバエ *FTZ-F1* 遺伝子の時期特異的発現制御機構の解析 I: 影山裕二, 増田祥子, 広瀬 進, 上田 均

FTZ-F1 は, エクジソンのパルスによって誘導され, 孵化直前の後期胚, 幼虫脱皮, 蛹化の直前に一過的に発現する転写因子である. 前年度までの解析により, 核内レセプタースーパーファミリーに属する因子である DHR3 が FTZ-F1 の時期特異的発現に関わる転写制御領域に結合することを見出した. そこで, DHR3 結合部位に塩基置換を導入した *FTZ-F1* 遺伝子転写制御領域を *LacZ* 遺伝子に結合した融合遺伝子を持つ transgenic fly 系統を作成し, レポーター遺伝子の発現パターンを観察した. その結果, DHR3 結合部位変異融合遺伝子は, 野生型制御領域を持つ融合遺伝子と比べ, 発現時期の違いは観察されなかったが, 発現レベルが著しく低下した. このことから, DHR3 は, *FTZ-F1* 遺伝子の発現にポジティブに働く因子のひとつであると考えられた(原著論文3).

(4) ショウジョウバエ *FTZ-F1* 遺伝子の時期特異的発現制御機構の解析 II: 増田祥子, 影山裕二, 広瀬 進, 上田 均

FTZ-F1 の発現制御にかかわる新たな因子を検索するため, *FTZ-F1* 遺伝子の転写制御領域の様々な断片を *LacZ* 遺伝子に結合した融合遺伝子を持つ transgenic fly 系統を作成し, レポーター遺伝子の発現パターンを観察した. その結果, -2.4kb から -0.7kb までの領域を *LacZ* 遺伝子に結合した融合遺伝子では, エクジソンの濃度が高い時期からの発現が観察され, -2.4kb から -0.7kb までの領域は, エクジソンでの誘導にポジティブに働く因子が作用することが示唆された. また, -3.7kb ~ 0kb の領域を有する融合遺伝子は, 正常な発現パターンを示すことから, -0.7 ~ 0kb あるいは -3.7 ~ -2.4kb の領域にエクジソン高濃度下で発現を抑制する因子が作用すると考えられた(発表講演 18, 24, 26).

(5) FTZ-F1 の変異株の解析: 山田正明, 広瀬 進, 上田 均

FTZ-F1 の機能を探るため, FTZ-F1 変異株の解析を進めた. まず, FTZ-F1 遺伝子領域に P 因子が挿入した *FTZ-F1<sup>209</sup>* 系統より P 因子を飛ばした *FTZ-F1<sup>17</sup>* 系統の FTZ-F1 遺伝子領域を調べたところ, FTZ-F1 遺伝子転写開始点付近から DNA 結合領域を含む広い領域の欠失があり, null 変異株であると考えられた. *FTZ-F1<sup>17</sup>* は, 胚致死であったので, 熱ショックで FTZ-F1 を発現できる *hsL332* 系統と交配し, 熱ショックで rescue を試みた. *FTZ-F1<sup>17</sup> hsL332* 系統は, 胚後期における熱ショックで 1 齢幼虫に成ることができたが, 2 齢幼虫には成らなかった. そこで, 1 齢幼虫の後期に FTZ-F1 を発現させたところ, 2 齢幼虫にまで生育した

が、3 齢幼虫には成らなかつた。2 齢後期に FTZ-F1 を発現させると、前蛹まで生育したが、蛹には成らなかつた。以上の結果、FTZ-F1 は、胚発生、幼虫脱皮、および、変態初期に必要であると考えられた(発表講演 19, 21, 22, 25, 26)。

(6) FTZ-F1 の標的遺伝子 *EDG84A* の発現制御機構の解析：上田 均，高橋良知，山田正明，広瀬 進

ショウジョウバエの *EDG84A* 遺伝子は、クチクラタンパクをコードすると考えられ、前蛹期の中期から後期にかけて成虫原基で特異的に発現することが知られている。前年度までの解析により、*EDG84A* 遺伝子転写開始点の上流100bpのところに存在する FTZ-F1 結合部位に変異を生ずると発現がなくなること、また、熱ショックで FTZ-F1 を発現する *hsL332* 系統では、熱ショックで *EDG84A* mRNA が本来発現する時期より早く発現することを明らかにし、FTZ-F1 は、*EDG84A* 遺伝子の発現にポジティブに働く因子であると考えた。しかし、前蛹期の核抽出液を作成し、FTZ-F1 結合部位をプローブにゲルシフトアッセイを行ったところ、FTZ-F1 以外に2つの因子が FTZ-F1 結合部位と同じ領域に結合することが明らかになった。そこで、この2つの因子の *EDG84A* 遺伝子の発現に対する機能を調べることにした。まず、前蛹期の様々なステージの核抽出液を作成し、ゲルシフトアッセイを行ったところ、ひとつの因子は、前蛹期初期にのみ存在し、もうひとつの因子は、前蛹期初期から中期に存在する因子であることが判明した。また、それぞれ DHR39 と DHR3 抗体でゲルシフトアッセイでのバンドがスーパーシフトすることから、前蛹期初期にのみ存在する因子は DHR39 で、前蛹期初期から中期に存在する因子は DHR3 であるとあると判断した。これらの因子と FTZ-F1 が *EDG84A* 遺伝子の発現におよぼす影響を調べるため、熱ショックで DHR39 が発現する transgenic fly 系統を作成し、*EDG84A* 遺伝子転写制御領域に *LacZ* 遺伝子を結合した融合遺伝子の発現パターンを調べた。熱ショックで DHR39 を発現させると、レポーター遺伝子の発現がほとんど無くなり、DHR39 は、前蛹期初期で *EDG84A* 遺伝子の発現を抑制するはたらきをすと考えられた。次に、site directed mutagenesis によって、FTZ-F1 あるいは DHR3 のどちらか一方のみが結合できる *EDG84A* 遺伝子制御領域を有する融合遺伝子を作成し、レポーター遺伝子の発現パターンを解析した。その結果、いずれの融合遺伝子も、野性型遺伝子同様の発現を示した。また、FTZ-F1 変異株でこれらの融合遺伝子の発現を調べたところ、野性型融合遺伝子は正常に発現したが、DHR3 のみが結合できない制御領域を有する融合遺伝子での発現は無くなった。以上のことから、FTZ-F1 と DHR3 は、*EDG84A* 遺伝子の発現に対し redundant にポジティブにはたらく因子であると考えられた(発表講演1, 6)。

(7) FTZ-F1 の標的遺伝子 *EDG78E* の発現制御機構の解析：川崎陽久，広瀬 進，上田 均

ショウジョウバエの *EDG78E* 遺伝子は、クチクラタンパクをコードし、前蛹期の中期から後期にかけて体全体の表皮細胞で特異的に発現することが知られている。また、この遺伝子は、転写開始点の上流100bpと500bpに FTZ-F1 結合部位を持っており、熱ショックで FTZ-F1 を発現する *hsL332* 系統では、熱ショックで *EDG78E* mRNA が本来発現する時期より早く発現する。この遺伝子の発現制御機構を調べるため、転写開始点を含む1.1kbの領域を *LacZ*

遺伝子に結合した融合遺伝子を有するtransgenic fly系統を作成し発現パターンを解析した。その結果、この融合遺伝子は、本来の遺伝子同様、前蛹期中期から体全体の表皮細胞で発現した。次に、転写開始点上流100bpに存在するFTZ-F1結合部位に変異を導入した融合遺伝子を有するtransgenic fly系統を作成し、レポーター遺伝子の発現パターンを解析したところ、発現レベルが著しく低下していた。以上の結果から、*EDG78E*遺伝子は、FTZ-F1の標的遺伝子のひとつであると考えられた(発表講演17)。

(8) カイコの産下行動は生体時計に制御される：村上昭雄

カイコの産下行動は交尾の有無によって顕著に異なる。一般に交尾した場合には、交尾当日の夕刻から夜半にかけて体内の卵(第一卵母細胞)の大半を産下完了する。一方、未交尾の場合、羽化直後に僅かに未受性卵を産下するにとどまるが日時の経過に伴って産卵数は増加し、羽化後ほぼ6日目前後まで産下が継続する。したがって、この期間の産下行動を継続的に観察可能である。ところで、自然光の条件下の未交尾個体の産下リズムを計測器を用いた観察では、いずれの系統においても季節にかかわらず、産下行動は年間を通じて、日没下から日の出前後にかけて、大略24時間の周期で観察される。昼間には産下行動は認められない。これらの観察からカイコがの産下リズムは日周期リズムに依存して、大略24時間周期の生体時計は介在していないとみなされるほどである。一般に全暗条件下の未交尾個体の産下行動には、産下開始頭初の産下数は少ないものの、詳細に分析すると、実験に用いたいずれの系統においても羽化後、直ちに暗黒条件下に移すと、2日間位は産卵数が少ないながらほぼ日周期リズムに同調するように、産下行動が認められる。当初この現象は羽化以前の自然日周期の記憶に依存した現象と考察したが、いずれのテストした系統では自然条件下にみられたような明確な大略24時間周期ではないものの、ある程度の周期性のあることが観察された。このグループに属する系統は例外なく実(商)業用であった。ところが、かつて実用に利用したことがなかった3回脱皮(trimolter)系統同志のF1交雑系統では、暗黒条件下において大略24時間周期の産下行動を示す事例が認められた。この事実はカイコが元来、大略24時間周期の産下行動の習性を保有していたが、人間による飼養(家畜化)においてかかる周期性を消失してしまったと考察された。いずれにせよ、この観察からカイコの生命現象は、大略24時間リズムが存在することを物語るのである。しかし、産下行動の自然日周期との一致性は元来生物の有する大略24時間リズムが地球の自転による日周期によって毎日補正されている事実を考慮すれば理解できる。要するに、カイコ(*B. mori* L.)は他の生物種と同様に、細胞内に大略24時間周期のリズムを制御する遺伝的因子の存在すると考察された。

(9) カイコ(*B. mori* L.)における加齢に伴う産下行動リズムの消失：村上昭雄

寿命を異にする系統は当然のことながら一生涯の産下行動の周期性の回数に差異がみられるが、概して産下終了後数日経過した時点で一生を終了する。しかし、体内に産下可能な卵(母細胞)が存在する限り産下行動は観察されるが、一部の系統(個体)においては極わずかな卵をだらだらと長期間にわたって産下する傾向も見られる。勿論、長命な系統の雌成虫は7回前後以上のリズムが観察された。一般には明確な周期性を4~5回繰り返し、産

下完了後、2~3日後には寿命を全うする。ところが自然条件下において稀ではあるが系統特異(遺伝)的に2回程の産下行動周期が観察されたが、以後周期性を急激に消失してしまう例が認められる。この現象はすでに記したように、産下行動が生体時計と日周期に依存すると考察されるが、生物時計の異常によるのか加齢に伴う日周期の反応を感知する視覚神経系の虚弱化に起因するいずれかの原因と推定された。しかし、これらの問題となる個体(系統)においては概して成虫の生存期間が短く、主に中枢神経系細胞の生物時計の何らかの異常に原因するものと推定され、ヒトの加齢に伴う知覚神経系における機能低下とそれに関連する行動異常に類似すると考察された。カイコ成虫にみられる加齢に伴う産下行動の規則性の消失は中枢神経系の機能低下の実験生物学的モデル(あるいは指標)になると考えた。

(10) カイコの産下行動に関与する神経系の分析：村上昭雄，普後 一<sup>1</sup>，島田 順<sup>1</sup>(<sup>1</sup>東京農工大学農学部)

カイコの神経系は、周知のように、各体節ごとに神経細胞の集合体である神経節を有し、それが脳を基点として食道下神経節、胸部・腹部・尾部神経節へと神経索が直列につながった“はしご型”神経系から構成されている。しかも各体節からは横に神経が伸び、体壁の筋肉や感覚器を連結している。したがって、周知のように、産下行動は主に腹部神経節によって支配されている点は自明である。蛹化の初期に除脳手術を施した40匹の雌個体の成虫生存期間は無処理の個体群に比較して20~30%(2~3日間)に短縮し、しかも産(造)卵数も30%前後に減少し、卵の形態にも多少の不均一性が観察された。これらの結果は除脳手術による卵形成(形態・数)への生理学的影響のあることが推察されるが、除脳された雌体内の卵(第一母細胞)はほぼ100%産下を完了できうる事実は産下行動には除脳手術が顕著な影響を及ぼしていないことを物語る。ところで羽化後3日程の成虫生存期間であっても、また、自然日長条件下においても、羽化直後より産下を開始したが、産下数の少ないことから概日周期性は観察されなかった。これらの事実からして、無処理の成虫がの概日性の産下行動周期は複眼を介した外界の日周期を感知する知覚・神経系を介する脳(中枢)神経系細胞の生物時計によって制御されていることを示唆する。したがって、カイコ成虫の産下行動は脳(中枢)神経と腹部の産卵神経節の両者によって支配されていることが理解された。さらに、交尾(あるいは未交尾)成虫を狭い空間に多数入れると単一の雌個体の場合とは異なって産下行動が顕著に促進される。この行動は個体間の接触に起因する触覚が産卵行動に関与していることも明らかとなった。要するにカイコがの産下行動は光などの種々の外界の環境要因による変化が脳(中枢)神経を介した情報によって微妙に変動する複雑な生命現象であることがわかった。

(11) カイコにおける3回脱皮型系統のMethoprene処理による生物学的反応：村上昭雄，島田 順<sup>1</sup>(<sup>1</sup>東京農工大学農学部)

カイコにおいて幼若ホルモン(JH)の類似体(Methoprene)は顕著な幼虫過剰脱皮を誘導して、4回脱皮性(tetramolter)を5回脱皮性(pentamolter)へと変換されることは周知の通りである。しかもこの現象は脳神経細胞より分泌される物質によって幼若ホルモン(JH)受容

体が活性化されて始めて Methoprene の効果が発現されることを明らかにした (Shimada・Murakami, 1998)。今回は安定した3回脱皮性系統 (*M*) を対象に Methoprene の作用を分析した。Methoprene 処理は前回の4回脱皮性系統 (J106と大造のF<sub>2</sub>交雑種) について行った実験方法と同一であった。なお、過剰脱皮幼虫は幼虫が5回目の外皮を有する場合と定義して実験を進めた。勿論、最終齢の幼虫期間は延長した。しかし、Methoprene 処理された個体の約半数は過剰脱皮はせずに単に最終齢の幼虫期間が過剰脱皮した場合と同程度に延長することが観察された。概して前者は終齢幼虫期の後半に Methoprene 処理した場合に多発し、一方、後者は前半に処理した場合に主に誘導された。これは終齢の後半に DNA 合成期に相当することと一致し、当 JH 類似体は個々の細胞に作用すると考えるより脱皮関連組織全般に一括して働くと考えられた。ここに観察された終齢幼虫期の延長に関する2つのタイプは Methoprene の処理時期に起因する事象であって、ここに DNA の合成期の近傍であるか否かに依存すると考えられた。ところが4回脱皮性系統を用いた前回の実験ではほとんどの幼虫期の延長は過剰脱皮性型で、最終齢の幼虫期の単なる延長型は観察できなかった。この差異は実験に用いた幼虫の脱皮回数の相違による終齢幼虫期間の長短が過剰脱皮の臨界期と DNA 合成期とほぼ重複することによると考察できる。カイコ幼虫の4回脱皮型の最終齢の開始が吐糸(成熟)開始時間まで大略120時間前後を要するが、3回脱皮性型(山東三眠系統)では約90時間であった。ところが、前者の Methoprene 処理によって誘導される過剰幼虫脱皮の臨界時期は12~24時間であるのに対し、終齢幼虫期間の短い3回脱皮性系統では逆に48時間以上という長期間に及ぶことに差異があることが分った。すなわち、4回性脱皮系統 (J106と大造とのF<sub>2</sub>交雑種) の過剰脱皮と幼虫期間の延長を誘発する臨界期が終齢幼虫期間の20%程であるが、3回脱皮性系統では終齢幼虫期間の50%以上に達し、その臨界期の幅の広さから過剰脱皮事象を伴わない単なる幼虫期間の延長を誘導する事象と解釈される。なお、4回脱皮型の終齢幼虫の JH の血中の濃度は吐糸行動が開始期頃から上昇を (Niimi・Sakurai, 1997) し、3回脱皮型の終齢幼虫はこの時期に Methoprene 処理によっても幼虫型のクチクラが分泌されるので、JH 分泌形態は4回脱皮型系統とは異なる可能もあると推察された。

これら一連の実験から、3回脱皮型のカイコ幼虫は4回型のそれに比して幼虫形態維持機能が強(広)いことが認められ、両型のカイコの進化の段階の差異を考察する上で示唆に富むものがあつた。

#### (12) 昆虫における完全変態機構の進化：湊 清

昆虫綱が動物界の中で圧倒的な種類数を誇っている大きな理由の一つである「完全変態機構」が、進化の過程でどのように生まれて来たかについて前年度に引き続き考察を加えた。完全変態類昆虫(内翅類)の特徴は、不完全変態類昆虫(外翅類)のそれと異なり、親に似ない比較的単純な幼虫型(内部に潜在化した翅原基、複眼の欠如、比較的未発達な胸肢、多くの場合比較的柔軟なクチクル)と、蛹期という特殊な令期の存在にある。完全変態類昆虫の繁栄の大きな要因は、これらの幼虫型をとることによって可能となる「新しい餌と棲息場所の利用」、すなわち、「新しい生態的地位(Niche)の獲得」にあると思われる。例えば、

多くの完全変態類昆虫の幼虫の生活型を調査した時、それらが、不完全変態類昆虫の幼虫が利用出来なかったような対象、コウチュウ目の場合ならば、地面・材木・茎・葉肉・果実等々のような三次元的な構造—多くの場合、進化の過程で新しく出現して来たような—の内部を、餌や棲息場所として非常にしばしば利用していることが分かる。

完全変態類昆虫で見られる比較的単純な幼虫型の諸形質の内、特に、上記のような生活型にとって邪魔になる「外部翅芽の内部への潜在化」が最も重要な変化であろうと思われる。そして、蛹期は、始め、「その結果生れる、幼虫体内での翅芽の最終的な発達の難しさを解消するものとして(Hinton, 1963)」出来てきたものと思われる(しかし、一旦その特殊な令期が出来る時、幼虫と成虫間のその他の多くの形態的ギャップの解消も可能になるので、さらに特殊な幼虫型の進化が容易になる筈である)。

進化の過程で、このような変化がどのように生まれて来たかについては、まだ、よく分かっていない。しかし、恐らく、完全変態類昆虫が始めて出来て来たと思われる、古生代末のペルム期のきびしい環境の下で、完全変態類の中ではより始原的な目である、アミメカゲロウ目やシリアゲムシ目で見られる様な生活型、すなわち、水中での石の下や、陸上での地中へ潜るような生活型を採らざるを得ない様な自然選択圧の下に徐々に生まれて来たものと思われる。しかし、外翅型と内翅型の間型というものは考えにくいので、すべての幼虫令期でそういう変化が全体として徐々に進行したとは考えにくい。内翅型への転換は、多分、幼虫令期の内、早い令期から順に徐々に起き、同時に、蛹期も、不完全変態類ではあるがアザミウマ目に見られる様なやや不完全な状態のそれから、より完全なそれへと変化して来たものと思われる。

しかし、翅芽を内在化させる機構については未知であり、その仕組みについて分子的基础を含めて調査・考察中である。

## 研究業績

### (1) 原著論文

1. Li F.-Q., Takemaru K., Goto M., Ueda H., Handa H. and Hirose S.: Transcriptional activation through interaction of MBF2 with TFIIA. *Genes Cells*, 2, 143-153, 1997.
2. Takemaru K., Li F.-Q., Ueda H. and Hirose S.: Multiprotein bridging factor 1 (MBF1) is an evolutionarily conserved transcriptional coactivator that connects a regulatory factor and TATA element binding protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94, 7251-7256, 1997.
3. Kageyama Y., Masuda S., Hirose S. and Ueda H.: Temporal regulation of the mid-prepupal gene FTZ-F1: DHR3 early late gene product is one of the plural positive regulators. *Genes Cells*, 2, 559-569, 1997.
4. Wada T., Takagi T., Yamaguchi Y., Ferdous A., Imai T., Hirose S., Sugimoto S., Yano K., Hartzog G.A., Winston F., Buratowsky S. and Handa H.: DISF, a novel transcription elongation factor that regulates RNA polymerase II processivity, is com-

posed of human Spt 4 and Spt5 homologs. *Genes Dev.*, in press.

5. Murakami, A.: Biology of Moltinism in *Bombyx mulberry* Silkworm. *Sericologie* **37**: 110-119, 1997

(2) その他

1. 広瀬 進: 転写コアクチベーターMBFの作用機構. 実験医学, 増刊「転写因子研究の最前線 '97」, **15**(4), 320-325, 1997.
2. 広瀬 進: ショウジョウバエのスーパーコイル因子. 細胞工学, **16**(11), 1592-1596, 1997.
3. 上田 均: エンハンサー因子と転写コアクチベーター: 転写のメカニズムと疾患(編集: 田村隆明, 村松正実), 羊土社, 52-59, 1997
4. 上田 均: 転写因子FTZ-F1の作用機構, 生化学, **69**, 244-247.
5. 上田 均: ゲルシフトアッセイ: 臨床免疫, **29**(Suppl. 17), 497-505, 1997
6. 上田 均: DNase Iフットプリント法: 臨床免疫, **29**(Suppl. 17, 29), 506-511, 1997
7. 村上昭雄: カイコの起源と絹の分化, 文明と遺伝(福田一郎・劉 剛編) 勉誠社 pp. 199-238, 1997

(3) 発表講演

1. Ueda H., Takahashi Y., Murata T., Kageyama Y. and Hirose S.: Temporal and spacial regulation of the EDG84A gene during metamorphosis. The 38th Annual *Drosophila* Research Conference, Chicago, April, 1997.
2. Hirose S., Takamaru K., Li F.-Q. and Ueda H.: MBF1 is a new type of conserved coactivator that tethers TBP to a DNA-binding domain of certain regulators. Cold Spring Harbor Meeting on "Mechanisms of Eukaryotic Transcription", Cold Spring Harbor, August, 1997.
3. Okada M. and Hirose S.: Chromatin remodeling mediated by *Drosophila* GAGA factor activates *fushi tarazu* gene transcription *in vitro*. Cold Spring Harbor Meeting on "Mechanisms of Eukaryotic Transcription", Cold Spring Harbor August, 1997.
4. Hirose S.: MBF1 is a new type of conserved coactivator that forms a bridge between TBP and a DNA-binding domain of certain regulators. National Institute of Genetics International Symposium on "Gene Functions to Cell Differentiation", Mishima, September, 1997.
5. Okada M. and Hirose S.: Chromatin remodeling mediated by *Drosophila* GAGA factor activates *fushi tarazu* gene transcription *in vitro*. National Institute of Genetics International Symposium on "Gene Functions to Cell Differentiation", Mishima, September, 1997.
6. Ueda H., Yamada M., Takahashi Y., Kageyama Y., Murata T. and Hirose S.: Function

of temporal regulator FTZ-F1 during larval molting and metamorphosis. National Institute of Genetics International Symposium on "Gene Functions to Cell Differentiation", Mishima, September, 1997.

7. Aita N., Kobayashi M. and Hirose S.: DNA supercoiling factor localizes to puffs of polytene chromosomes in *Drosophila*. The 3rd UK-Japan Cell Cycle Workshop on "The Cell Cycle: Regulation and Mechanism", Kyoto, November, 1997.
8. 広瀬 進, 竹丸憲一, Jindra M., 朝比奈雅子, 上田 均: 転写制御におけるコアクチベーター-MBF1の役割. 第20回日本分子生物学会年会ワークショップ, 京都, 12月.
9. 尾崎 淳, 三島正規, 池上貴久, 竹丸憲一, 上田 均, 広瀬 進, 後藤正英, 半田 宏, 白川昌宏: 転写コアクチベーター-MBF1 コアドメイン立体構造解析とTBPとの相互作用. 第20回日本分子生物学会年会ワークショップ, 京都, 12月.
10. 相田紀子, 小林正友, 菊池韶彦, 広瀬 進: 超らせん化因子は, DNAトポイソメラーゼ II の B' ヒンジ領域に結合する. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.
11. Asahina M., Takemaru K. and Hirose S.: Analysis of MBF1 homologue in nematode *C. elegans*. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.
12. Jindra M., Takemaru K. and Hirose S.: Multiprotein bridging factor MBF1 of the fruitfly *Drosophila melanogaster*. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.
13. 竹丸憲一, 原島 俊, 上田 均, 広瀬 進: GCN4 と TBP をつなぐ転写コアクチベーター出芽酵母 MBF1 の機能解析. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.
14. 鈴木博之, 伊藤嘉信, 西 則雄, 竹丸憲一, 広瀬 進, 山崎健一: 植物の TBP, CTD, MBF1 に結合する因子群. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.
15. 劉 慶信, 上田 均, 広瀬 進: 転写コアクチベーター MBF2 の発現パターンの解析. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.
16. 岡田聖裕, 広瀬 進: クロマチン構造変化による転写制御とそのメカニズム. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.
17. 川崎陽久, 高橋良知, 広瀬 進, 上田 均: Late FTZ-F1 の標的遺伝子候補, *EDG84A* と *EDG78E* の転写制御機構. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.
18. 増田祥子, 影山裕二, 広瀬 進, 上田 均: ショウジョウバエ FTZ-F1 遺伝子の転写制御機構の解析. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.
19. 山田正明, 上田 均, 広瀬 進: エクダイソンで誘導される転写因子 FTZ-F1 の機能. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.
20. 瓜谷真裕, 北川博子, 村松高道, 上田 均, 広瀬 進: 糸素源飢餓で合成量が上昇する分裂酵母のタンパク質 p24. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.
21. Ueda H., Yamada M., Murata T., Hirose S.: Function of FTZ-F1 during larval molting (analysis of FTZ-F1 mutant and its rescue by transgene). The 1997 ecdysone workshop, Chicago, April.
22. 川崎陽久, 上田 均, 広瀬 進: 脱皮・変態を司る転写因子 late FTZ-F1 ターゲット

- 遺伝子検索, 第41回日本応用動物昆虫学会大会, 東京, 4月.
23. 相田紀子, 広瀬 進: ショウジョウバエ超らせん化因子の唾腺染色体上の分析, 第3回ショウジョウバエ研究集会, 福岡, 8月.
  24. 増田祥子, 影山裕二, 広瀬 進, 上田 均: ショウジョウバエFTZ-F1遺伝子の転写因子の同定, 第3回ショウジョウバエ研究集会, 福岡, 8月.
  25. 上田 均, 山田正明, 広瀬 進: 転写因子FTZ-F1の機能, 第3回ショウジョウバエ研究集会, 福岡, 8月.
  26. 上田 均: 転写因子FTZ-F1の変態と脱皮における役割, 重点領域研究「昆虫の変態・休眠の分子機構」公開シンポジウム, 東京, 11月.

### C-c. 生理遺伝客員研究部門

#### (1) 動物細胞遺伝子の発現制御機構

RNAポリメラーゼIIによる転写反応阻害剤DRBの作用機構: 半田 宏, 和田忠士, 高木敏行, 山口雄輝

動物細胞遺伝子の発現には数多くの制御因子が関与する。それら制御因子による機能的な相互作用を解析するために、DNAアフィニティーラテックス粒子を開発した。それを用いて、粒子表面に固定化された特異塩基配列に結合する転写因子ATF/CREBファミリーをHeLa細胞核粗抽出液から直に分離・精製するシステムを開発した。面白いことに、DNA結合性転写因子に加えて、タンパク質リン酸化酵素であるカゼインキナーゼII (CKII) が共精製されることを見出し、CKIIのN末端がATFのbZipに特異的に結合することを明らかにした。このことから、CKII活性がATF/CREBファミリーを介して、プロモーター上にリクルートされるというモデルを考え出した。そこで、CKIIの転写に及ぼす影響を検討するために、CKII活性の阻害剤であるDRB (5,6-dichloro-1- $\beta$ -D-ribofuranosyl-benzimidazole) の転写阻害機構を解析するためのcell free転写系およびその再構成系を確立した。それらの系を用いて、DRBが転写伸長反応を阻害するのに必要な転写制御因子DSIFを同定した。そのDSIFを単一品まで精製するとDSIFは分子量160kDaと14kDaの二つのサブユニットから成ることを明らかにした。それらcDNAをクローン化すると、DSIFの二つのサブユニットは酵母の転写制御遺伝子であるSpt5およびSpt4のヒトホモログであることがわかった。DSIFは転写伸長反応を抑制的に制御するが、特殊な環境では転写伸長反応を促進的にも調節することができる極めて興味ある転写制御因子であることを見出した。近年、エイズの原因ウイルスであるHIVのtat遺伝子産物による転写促進反応がDRBに感受性であることが報告され、DSIFはtat依存的転写促進反応にも関与していることが示唆されている。

アクチベーターのbZip構造に相互作用するコアクチベーターhMBF1の解析: fushi tarazu遺伝子の転写活性化に関与するメディエーターとして広瀬 (遺伝研) らにより発見されたMBF1のヒトホモログをHeLa細胞cDNAライブラリーから遺伝子クローニングを行い、選択性スプライシングによりC末端の異なる二つのcDNA (hMBF1  $\alpha$  & hMBF1  $\beta$ ) を単離した。そ

これらのcDNA産物の構造・機能解析を行った。その結果、両者共に、MBF1と構造的に極めて相同性が高く、bZip構造およびTBPとの結合能やbZip構造を有するアクチベーター依存的転写反応の活性化能を有することを確認した。今後、コアクチベーターCBPとの相互作用などを含んで、hMBF1の転写制御機構をより詳細に解析する予定である。

(2) 種固有のコードン利用多様性：金谷重彦<sup>1</sup>，池村淑道<sup>2</sup>(<sup>1</sup>山形大学工学電子情報工学科，国立遺伝学研究所，<sup>2</sup>国立遺伝学研究所)

ゲノムの全配列が決定されたバクテリア種(*Escherichiacoli*, *Bacillus subtilis*, *Haemophilus influenzae*, *Methanococcusjanaschii*, *Synechocystis* sp.)を中心にバクテリア種内のタンパク質コード遺伝子のコードン利用の種固有の潜在構造を主成分分析法を用いてモデル化した。主成分モデルの構造は、池村らによる細胞内のtRNA量から推定された最適コードンと一致することが得られた。また、遺伝子において主成分モデルから算出されるZ1値は、細胞内のタンパク質量と関連したコードン利用の最適性を示す指標であることも確認された。クロロプラスト遺伝子と対応する*Synechocystis* sp. 遺伝子のほとんどがZ1の値が正であり、藻類と高等植物のクロロプラストの遺伝子の比較において、高等植物で欠失した遺伝子と対応した*Synechocystis* sp. 遺伝子ほどZ1値は小さい傾向にあり、このことは、発現量の低い遺伝子ほど初期に欠失し現在の高等植物のクロロプラストには存在しない傾向にあることを示している。*E. coli*と*B. subtilis*における種固有のコードン利用特性については原著論文1に発表した。また、ゲノムにおける塩基組成の解析をその他1に発表した。さらに、コードン構造を考慮したエキソン-イントロンの識別法についても検討し、発表講演2で発表した。

## 研究業績

### (1) 原著論文

1. Wada, T., Takagi, T., Yamaguchi, Y., Kawase, H., Hiramoto, M., Ferdous, A., Takayama, M., Lee, K.A.W., Hurst, H.C. and Handa, H.: Copurification of casein kinase II with transcription factor ATF/E4TF3. *Nucleic Acids Res.*, **24**, 876-884, 1996.
2. Yajima, H., Kosukegawa, A., Hoque, M.M., Shimojima, T., Takayama, M., Sasaki, Y., Sakai, H., Otsuka, M., Inokuchi, S. and Handa, H.: Construction and characterization of a recombinant adenovirus vector carrying the human preproinsulin gene under the control of the methallothionein gene promoter. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **229**, 778-787, 1996.
3. Sawa, C., Sawada, J-I., Goto, M., Suzuki, F. and Handa, H.: Functional domains of transcription factor hGABP  $\beta$  1/E4TF1-53 required for nuclear localization and transcription activation; *Nucleic Acids Res.*, **24**, 4954-4961, 1996.
4. Komai, T., Yagi, R., Suzuki-Sunagawa, H., Ishikawa, Y., Kasuya, A., Miyamoto, S., Handa, H. and T.Nishigaki: Inhibition of HIV-1 protease by oxim derivatives.

- Biochem. Biophys. Res. Commun., **230**, 557-561, 1997.
5. Kawase, H., Okuwaki, M., Miyaji, M., Ohba, R., Handa, H., Ishimi, Y., Fujii-Nakata, T., Kikuchi, A. and Nakata, K.: NAP-1 is a functional homologue of TAF-1 that is required for replication and transcription of the adenovirus genome in chromatin like structure. *Genes Cells*, **1**, 1045-1056, 1997.
  6. Kamura, T., Handa, H., Hamasaki, N. and Kitajima, S.: Characterization of the human thrombopoietin gene promoter. *J. Biol. Chem.*, **272**, 11361-11368, 1997.
  7. Imai, T., Matsuda, K., Shimojima, T., Hashimoto, T., Masuhiro, Y., Kitamoto, T., Sugita, A., Suzuki, K., Matsumoto, H., Masushige, S., Nogi, Y., Muramatsu, M., Handa, H. and Kato, S.: ERC-55, a binding for the papilloma virus E6 oncoprotein, specifically interacts with vitamin D receptor among nuclear receptors. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **233**, 765-769, 1997.
  8. Murakami, M., Sonobe, M.H., Ui, M., Kabuyama, Y., Watanabe, H., Wada, T., Handa, H. and Iba, H.: Phosphorylation and high level expression of Fra-2 in v-src transformed cells: a pathway of activation of endogenous AP-1. *Oncogene*, **14**, 2435-2444, 1997.
  9. Nabeshima, R., Aizawa, S., Nakano, M., Toyama, K., Sugimoto, K., Kaidoh, A., Imai, T., and Handa, H.: Effects of vesnarinone on the bone marrow stromal cell-dependent proliferation and differentiation of HL60 cells in vitro. *Exp. Hematol.*, **25**, 509-515, 1997.
  10. Aoki, H., Seki, T., Sawada, J-I., Handa, H. and Adachi, K.: The promoter of the androgen dependent gene in the flank organ of hamsters. *J. Dermatol. Sci.*, **15**, 36-43, 1997.
  11. Aizawa, S., Nakano, M., Yaguchi, M., Kuriyama, Y., Iwase, O., Toyama, K., Tanaka, K., Hoshi, H., Sugimoto, K., Kaido, A., Imai, T., Nabeshima, R. and Handa, H.: Possible involvement of bone marrow stromal cells in agranulocytosis caused by vesnarinone treatment. *Acta Hematologica.*, **98**, 140-146, 1997.
  12. Li, F.Q., Takemoto, K-I., Goto, M., Ueda, H., Handa, H. and Hirose, S.: Molecular cloning of MBF2 reveals its contact with TFIIA that leads to transcriptional activation. *Genes Cells*, **2**, 143-153, 1997.
  13. Yamaguchi, Y., Sawada, J-I., Yamada, M., Handa, H. and Azuma, N.: Autoregulation of Pax6 transcriptional activation by two distinct DNA-binding subdomains of the paired domain. *Genes Cells*, **2**, 255-261, 1997.
  14. Sowa, Y., Shiiio, Y., Fujita, T., Matsumoto, T., Okuyama, Y., Kato, D., Inoue, J-I., Sawada, J-I., Goto, M., Watanabe, H., Handa, H. and Sakai, T.: Retinoblastoma binding factor 1 site in the core promoter region of the human RB gene is activated by hGABP/E4TF1. *Cancer Res.* **57**, 3145-3148, 1997.

15. Hiramoto, M., Shimizu, N., Sugimoto, K., Tang, J., Kawakami, Y., Ito, M., Aizawa, S., Tanaka, H., Makino, I. and Handa, H.: Nuclear targeted suppression of NF- $\kappa$ B activity by the novel quinone derivative E3330; *J. Immunol.* in press.
16. Wada, T., Takagi, T., Yamaguchi, Y., Ferdous, A., Imai, T., Hirose, S., Sugimoto, S., Yano, K., Hartzog, G.A., Winston, F., Buratowski, S. and Handa, H.: DSIF, a novel transcription elongation factor that regulates RNA polymerase II processivity, is composed of human Spt4 and Spt5 homologs. *Genes Dev.*, in press.
17. Hartzog, G.A., Wada, T., Handa, H. and Winston, F.: Evidence that Spt4, Spt5, and Spt6 control transcription elongation by RNA polymerase II in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genes Dev.*, in press.
18. Hirano, F., Tanaka, H., Hirano, Y., Hiramoto, M., Handa, H., Makino, I. and Scheidereit, C.: Functional interference of Sp1 and NF $\kappa$ B through the same DNA binding site. *Mol. Cell. Biol.*, in press.
19. Hiramoto, M., Aizawa, S., Iwase, O., Nakano, M., Toyama, K., Hoque, M., Nabeshima, R., Kaidow, A., Imai, T., Hoshi, H. and Handa, H.: Stimulatory effects of substance P on CD34 positive cell proliferation and differentiation in vitro are mediated by the modulation of stromal cell function. *Int. J. Mol. Med.*, in press.
20. Kanaya S., Okumura T, Miyauchi M, Fukasawa H, and Kudo Y: Assessment of protein coding sequences in *Bacillus subtilis* genome using species-specific diversity of genes in codon usage based on multivariate analysis, *Res. Comm. in Biochemistry and Cell & Mol. Biol.*, 1, 82-92, 1997.

(2) その他

1. Handa, H., Yamaguchi, Y. and Wada, T.: DNA binding proteins. In *High resolution chromatography* (P.A. Millner ed.) Oxford University Press, Oxford, UK, in press.
2. 和田忠士, 高木敏行, 山口雄輝, 半田 宏: DRBによる転写抑制機構—カゼインキナーゼ II による転写制御の可能性—. *転写因子研究の最前線. 実験医学*. 15(4), 44-51, 1997.
3. 半田 宏: やさしい遺伝子工学(半田 宏 編集執筆)昭晃堂. 1997.
4. 山口雄輝, 富田弘道, 清水宣明, 高木敏行, 澤 智華, 鈴木文彦, 鍋島竜介, 平本正樹, 澤田潤一, 今井 剛, 和田忠士, 半田 宏: *分子細胞生物学辞典*(分担執筆)東京化学同人. 1997.
5. 和田忠士, 今井 剛, 半田 宏: 基本転写装置の活性制御. *転写のメカニズムと疾患*. (田村隆明, 村松正実 編集)羊土社. P30-35, 1997.
6. 山口雄輝, 半田 宏: 転写因子とウイルス. *転写因子とその異常*. 中外医学社. 23(5), 101-104, 1997.

7. 半田 宏, 清水宣明, 唐 建偉, 杉本光太郎, 平本正樹: 細胞内薬剤レセプター解析システムの開発. 遺伝子診療'97. 医学書院. P26-28, 1997.
8. 金谷重彦, 池村淑道: ゲノムと塩基組成. ネオ生物学シリーズ2(ゲノム情報を読む), 共立出版, 18-37, (1997).

(3) 発表講演

1. Suzuki, F., Sawada, J.-I. and Handa, H.: Characterization of DNA-protein and protein-protein interaction of transcription factor hGABP. Biacore Kinetic Seminar, Pharmacia Biotech Co., Tokyo, Japan, February 18, 1997.
2. O. Iwase, K. Toyama, R. Nabeshima, H. Handa, M. Hiramoto and S. Aizawa: Stimulatory effects of substance P on hemopoiesis in vitro. 26<sup>th</sup> Annual Meeting of the International Society for Experimental Hematology, Cannes, France, August 24-28, 1997.
3. Handa, H., Takagi, T., Yamaguchi, Y., Winston, F., Buratowski, S. and Wada, T.: DSIF, a novel negative transcription factor that regulates RNA polymerase II processivity, is composed of human Spt4 and Spt5 homologs. Mechanism of Eukaryotic Transcription, Cold Spring Harbor Laboratory, USA, August 27-31, 1997.
4. Handa, H.: DSIF, a novel transcription factor that regulates RNA polymerase II processivity comprises human Spt4 and Spt5 homologs. Gene Functions to Cell Differentiation, Toray Human Resources Development Center, Mishima, Shizuoka, Japan, September 16-19, 1997.
5. 和田忠士, 高木敏行, 山口雄輝, 渡辺大祐, 半田 宏: RNAポリメラーゼIIの伸長活性を制御新規転写因子DSIF. 第70回日本生化学会大会シンポジウム, 9月23-25日, 金沢, 1997.
6. 半田 宏: 転写因子ネットワークと構造解析. 細胞情報認識から創薬へ. 第34回ヒューマンサイエンス基礎研究セミナー. 野口英世記念会館, 11月18日, 東京, 1997.
7. 半田 宏: 遺伝子DNAからRNA合成する転写マシンの活性制御. シンポジウム遺伝子研究の最前線-生物学とマイクロマシンの接点を求めて-, 第6回分子エレクトロニクス研究会, 12月1日, 東京, 1997.
8. 金谷重彦: ネットワーク "種固有のコン多様性", 第20回情報化学討論会(1997).
9. Fukasawa H, Kanaya S, Kudo Y.: Detection of intron, exon, and intergenic DNA in human genome on the basis of quantification method II, Genome Informatics 1997, 262-263.

## D. 集団遺伝研究系

## D-a. 集団遺伝研究部門

集団遺伝研究部門では、生物集団の遺伝的構造とその進化的変化を支配する法則の理解を目指して研究を行っている。当部門の本年度の研究は助手高野敏行によって行われ、技術課職員石井百合子が一部これを支援した。

## (1) 剛毛形成を指標とした遺伝子機能進化の解析：高野敏行

ショウジョウバエの剛毛形成を指標として近縁種間で進む遺伝子変化を種間雑種の形態異常として検出する系を用いて解析を行った。モデル生物であるキイロショウジョウバエとその近縁3種では全く同じパターンで胸部の剛毛(Macrochaetae)が観察される。ところが、キイロショウジョウバエと*D. simulans*との雑種ではこれらの胸部剛毛が失われる傾向がある。一方で、*D. simulans*により近縁な*D. mauritiana*や*D. sechellia*とキイロショウジョウバエとの雑種では剛毛は失われない。また、*D. simulans*の系統によってもほとんど剛毛を失わないものから多くの剛毛を失うものまで、大きな変異が存在することを明らかにしてきた。また、種間雑種での感覚母細胞の出現パターンには異常は観察されず、剛毛の消失がシャフトになるべき細胞がソケットやニューロンに分化するといった細胞分裂の際の運命決定の誤りによるものでもないことも明らかにした。本年度は剛毛形成の障害時期をより詳細に特定するため、パンニューラル遺伝子である*ase*遺伝子とセクター遺伝子の*cut*遺伝子の翅成虫原基上での発現パターンを抗体を用いて調べた。ASEの発現には異常は見られなかったが、剛毛の消失数と一致して剛毛を生ずべき多くのサイトでCUTの発現が全く見られないことが明らかとなった。これは、種間雑種の異常は感覚母細胞が現われた後の神経細胞としての運命の維持ないしは細胞分化の初期に障害が生じたためであることを示唆する。

遺伝学的解析から、*D. simulans*のX染色体上に剛毛消失を起こす因子が存在することを明らかにし、欠失染色体系統によるスクリーニングと*D. simulans*の種内変異を利用したQTLマッピングを行ってきた。QTLマッピングの結果から*forked*遺伝子近傍に用いた2系統間の差の約3/4の相加的効果をもった有意な領域を見いだした。一方で、欠失染色体によるスクリーニングからは、これと異なる2つの原因遺伝子の候補となる領域を検出していた。今年度は新たに*D. simulans*の付着X染色体系統を用いた解析から、同じ遺伝的構成においても雑種雄の方が雑種雌よりも有意に失う剛毛数が多いことを示した。このことは、遺伝的効果に性特異性があることを意味する。したがって、F1雑種雌による欠失染色体によるスクリーニングと雑種雄によるQTLマッピングとの結果の違いはこの性差によることも考えられる。そこで、*forked*近傍の領域について、欠失染色体だけでなく、重複染色体による雑種雄での詳細なスクリーニングを行った。その結果、*scalloped*遺伝子の近傍約60kb領域の重複によって顕著に剛毛形成が回復されることを見い出した。現在、原因

遺伝子単離のため $\gamma$ 線によるこの重複染色体の欠失突然変異のスクリーニングを行っている。

(2) 進化速度の揺れによる自然淘汰圧の変化の検出：高野敏行

複数の生物系統を用いた進化速度の一定性のテストは自然淘汰の働きを検出する上で、幾つかの利点をもった方法である。ショウジョウバエ3種(*D. melanogaster*; *D. simulans*; *D. yakuba*)のデータをもとに、特に祖先集団の変異を考慮に入れて解析を行った。その結果、祖先集団の変異の効果ができるだけ小さい条件においても、同義座位における置換数に系統と遺伝子との相互作用の効果、エピソード的な進化パターン、が観察された。これは特に、X染色体の末端に位置する遺伝子でコドン使用頻度の歪みに変化が生じたためであること、すなわち*D. yakuba*に比べキイロショウジョウバエではコドン使用頻度の歪みが小さいためであることを明らかにした。また、この2種とほぼ同時期に分岐したと考えられる*D. erecta*の塩基配列から、共通祖先から分岐後、キイロショウジョウバエではこの領域にかかる自然淘汰の弛緩が、*D. yakuba*と*D. erecta*の系統では逆にコドン使用の歪みが強くなるのがそれぞれ独立に起こったことが明らかとなった。自然淘汰の強さは突然変異にかかる選択係数と集団の有効な大きさとの積に依存する。近傍での有害突然変異の効果(background selection)によって、他の条件が同じであれば組み換え率と集団の大きさとの間には正の相関があることが理論的に証明されている。実際、キイロショウジョウバエのX染色体の末端では動原体の近傍と同様、組み換え率が極端に低くなることが知られている。以上の結果は、少なくとも*D. yakuba*と*D. erecta*においてはX染色体の末端領域の組み換え率はそれほど低くなく、キイロショウジョウバエの系統で特異的に組み換え率の低下による自然淘汰の弛緩が起こったことを示唆する。現在*D. yakuba*でのこの領域の組み換え率を直接推定することで、この仮説の検証を行っている。本研究の一部は、現在印刷中の論文“Rate variation of DNA sequence evolution in the *Drosophila* lineages” (Genetics)でその詳細を報告している。

## 研究業績

(1) 原著論文

1. Otsuka Y., Takano T, S, and Yamazaki Y.: Genetic variation in the expression of the six *hsp* genes in the presence of heat shock in *Drosophila melanogaster*. *Genes Genet. Syst.* 72, 19-24, 1997.

(2) 発表講演

1. Takano T.: Developmental anomaly in bristle formation in interspecific hybrid of *Drosophila*. Annual Meeting of American Society of Naturalists, Society of Systematic Biologists and Society for the Study of Evolution, Boulder, Colorado, June.
2. 高野敏行：剛毛形成を指標とした遺伝子機能進化の解析。日本ショウジョウバエ研究会第3回研究集会，福岡，8月。

3. 高野敏行：ショウジョウバエ遺伝子の進化速度一定性のテスト．日本遺伝学会第69回大会，横浜，11月．

#### D-b. 進化遺伝研究部門

異なる視点から研究される傾向にあった進化の諸分野を，総合的視点で研究することをめざしている．実験的研究と理論的研究を並行させ，遺伝子塩基配列レベルの進化と染色体レベルの進化を関係づけ，分子進化と表現型や機能の進化とを総合的に理解することを目標にしている．これらの研究には，教授・池村淑道，助教授・斎藤成也，助手・松本健一，天前豊明が携わり，これに総研大の大学院生の浜田 玲，山形哲司，太田聡史，野上正弘，北野 誉，野田令子，金子美華が加わった．なお松本健一は12月1日付で北海道大学薬学部助教授として転出した．また日本学術振興会特別研究員(PD)の隅山健太が在籍し，総研大の研究生・Petur H. Petersenも研究に加わった．渡辺良久，宮内洋子，北きよみ，川本たつ子，市川恵子が研究の補助業務を行い，鈴木和子，寺田燕子は生命情報センター・分析研究室との共同研究に関する実験補助を行った．教授・池村はコスタリカ(ガナカステ)で開催された分子進化学国際研究集会に出席し発表を行うため1月5日から1月13日までコスタリカへ渡航した．助教授・斎藤は，3月にドイツ(ベルリン)の日独センターで開催された国際シンポジウム，4月に台湾(台北)の中央研究院で開催された遺伝学国際シンポジウム，6月にドイツ(ガームッシュ・バルテンキルヒェン)で開催された第5回分子生物学と進化学会にそれぞれ出席し発表した．

本年度の研究は，文部省科学研究費補助金基盤研究(A)(1)「高等動物染色体の遺伝子発現期における核内配置と構造の高精度解析技術開発」(代表者池村)，基盤研究(C)(2)「哺乳動物染色体のバンド境界部位の機能構造について」(代表者池村)，重点領域研究(2)「核の機能構造：高等動物の染色体バンド境界領域の核内配置とその動態」(代表者池村)，重点領域研究(2)「ヒトゲノムGC含量ドメイン構造の解析と遺伝子高密度領域の探索」(代表者池村)，研究成果公開促進費「遺伝暗号(コドン)データベース」(代表者池村)，基盤研究(C)「細胞外マトリックス蛋白質テネインファミリーの総合的解析」(代表者松本)，基盤研究(A)(1)「遺伝子系統樹・種系統樹データベースの開発」(代表者斎藤)，基盤研究(C)(2)「直列重複遺伝子間の遺伝子変換に関する解析」(代表者斎藤)，国際学術研究(学術調査)「中国漢民族における遺伝的・文化的多様性の研究」(代表者斎藤)等の援助を受けた．

共同研究としては，安藤麻子・東海大学医学部講師を代表に「ヒトMHC領域と相同性を示す第1・第9・第19染色体領域のゲノム解析によるMHC進化の解明」に関して，菅谷公彦・放射線医学総合研究所研究員を代表に「高等動物クロマチン構造と染色体GC含量分布との関係の解析」に関して，工藤喜弘・山形大学工学部教授を代表に「自己組織的方法に基づいた連続コドン構造による遺伝子機能の推定」に関して，吉川研一・名古屋大学大学院人間情報学研究科教授を代表に「DNAにおける一次構造と高次の折り畳み構造の相関に関する研究」に関して，奥村克純・三重大学生物資源学部助教授を代表に「動物細胞ゲノムの複製ス

イッチ部位の解析」に関して、実験的ならびに理論的研究を行った。また助教授・斎藤は、植田信太郎・東京大学大学院理学系研究科助教授および成松 久・創価大学生命科学研究所教授との共同研究を行った。

(1) ヒトゲノムを構成するMb レベルでのGC含量の区分的構造の解析：MHCとその近傍領域のGC含量区分境界の構造解析：山形哲司，野上正弘，安藤麻子<sup>1</sup>，猪子英俊<sup>1</sup>，池村淑道<sup>1</sup>（東海大医学部）

高等脊椎動物のゲノムDNAはGC含量のMb(メガベース)レベルでの巨大な区分的構造よりなり、その構造が染色体バンド領域と関係することを明らかにしてきた。バンド領域はS期内の複製時期にも関係しており、遺伝子密度・組換え頻度・放射線感受性等を異にしている。構造上のみならず、機能上のドメインとして理解されるようになってきた。複製タイミングのスイッチ点やGC含量のモザイク境界については、塩基配列レベルで特定できる可能性が高く、境界を特徴づけるシグナル群が存在する可能性も考えられる。この視点に立って、ヒトMHC(HLA)領域とその周辺の非MHC領域を具体例に研究を続けてきた。ヒトMHC(HLA)領域は4Mbであり、高精度分染バンドの平均的なサイズを超えている。

ヒト染色体6p21.3領域に位置するMHC(HLA)クラスIIとIIIの境界領域にシャープなGC含量の変移点を見いだしていたが、S期内の複製タイミングを測定したところ、GC含量変移点と複製タイミングの転換点が一致することが明らかになり、この変移領域がバンド境界の要件を満たすことが判明した(Tenzen et al., 1997)。この現象の一般性を検証する目的で、MHCクラスIからそのテロメア側の非MHC領域について、複数のYACをコスミドにサブクローニングし、約1.5Mbのゲノム歩行を行い、生化学的な方法でGC含量分布の測定を行った。テロメア側の非MHC領域が顕著にATに富むことが示され、新たなGC含量の境界が明らかになった。プロメタフェーズ様染色体を用いたFISHを行ったところ、クラスIに隣接する非MHCマーカーD6S131は、6p21.3とp22.1の境界領域に同定され、バンド境界の存在ならびにGC含量の変移点との相関が確認された。ゲノム歩行を行った非MHC領域内にRFP(ret finger protein)遺伝子が含まれており、従来から6p21.3-p22.1にマップされていることも、バンド境界の存在を支持する。複製タイミングの測定を開始しているが、着目のAT-rich側の非MHC領域がS期の遅い時期に複製をすることを確認している。これらのゲノム領域のGC含量の変化部位には、大型のポリプリン/ポリピリミジン配列が存在しており、複製の休止や減速機構に関係している可能性が考えられる。他の特徴配列類の存在も判明してきている。

(2) DNA複製タイミングの転換機構に関する研究：天前豊明，渡辺良久，池村淑道

ヒトを含む高等温血脊椎動物のDNA複製は、大別してS期前半(SE)と後半(SL)の2期に行われる。染色体構造で見た場合、Gバンド領域はSLに、Rバンド領域はSEに複製される。バンド境界領域は染色体構造が大きく変化する領域と考えられ、DNA複製タイミングは境界を示すよい指標となっている。バンド境界の構造はDNA複製の制御機構から見た場合にも興味深い。Rバンド側で開始したDNA複製は、隣のGバンドとの境界で休止し、Gバンド側の複製フォークの到着を待つと考えられる。このことは、染色体上にはバンド境界とほ

ば同数の複製終結点が存在することを意味する。大腸菌や酵母では *ter* や *sog* と呼ばれる複製終結部位の塩基配列が同定されているが、高等温血脊椎動物では、まだ同定されていない。以上の点をふまえ、ヒトMHC領域について、特にクラスIIとIIIの境界に存在したGC含量変移点(バンド境界の候補)近傍の複製タイミングを塩基配列レベルで詳細に解析した。同調したヒト培養細胞HL60が合成する新生鎖を、S期開始後、1時間ごとに回収、精製し、クラスIIとIIIに位置する15箇所について新生鎖のモル数を定量し、複製タイミングを測定した。その結果、HLA-DRA遺伝子からPABLを含む低GC含量のクラスII領域側は、S期開始後3-4時間目に複製されるのに対し、AGER遺伝子からTNX遺伝子を含む高GC含量のクラスIII領域側は1-2時間目に複製され、両者の間には2時間の複製タイミングの明瞭な差があることが明らかになった。複製タイミングの転換点が1コスミドの範囲内に限定でき、GC含量変移点と一致していた(Tenzen et al., 1997)。特に、Alu配列が高密度に存在する16kbの領域において、約1時間の差がみられ、複製フォークの進行が停止している可能性が考えられる。興味深いことに、この複製タイミングの大きく変わる中心にGGAAの繰り返しを基本とする210塩基からなるpolypurine/polypyrimidine配列が存在していた。同配列は三重鎖DNAを形成し、複製フォークを停止する可能性が考えられた。実際に *in vitro* において生理的条件下で三重鎖形成能がみられ、cccのほうがlinearの時より安定に三重鎖を形成することが明らかになった。現在、同配列が複製フォークを止めるかどうか、二次元ゲル電気泳動により調べている。

MHC領域で見いだした現象の一般性を検証することは、バンド境界の構造と機能を知る上で重要な課題といえる。複合バンド領域からなることが知られており、かつ塩基配列の知見の多いX染色体のXIC(X inactivation center)とその近傍のXq13.1-q13.3領域について、複製タイミングの測定を行った。各領域の複製タイミングを調べるため、brdUで細胞を標識し、セルソーターでS期を4期に分画した細胞からDNAを回収し、複製によりBrdUを取り込んだ新生鎖を免疫沈降法により精製した。XICとその近傍について各領域を増幅するPCRを行ったところ、270kbにおよぶ大規模な逆位配列を含むPHKA1とDXS227部位間、ならびにXIST遺伝子近傍のGC含量の変化する部位にて、複製タイミングが大きく変化することが明らかとなった。これらは、MHC領域で見出したGC含量と複製タイミングの関係を支持しており、複製タイミングがバンド境界においてシャープに転換することを示している。

(3) ヒトMHC領域に存在する新遺伝子の探索と構造解析：ヒトGABA受容体B遺伝子の構造解析：山形哲司，安藤麻子<sup>1</sup>，猪子英俊<sup>1</sup>，池村淑道<sup>1</sup>(<sup>1</sup>東海大医学部)

MHCクラスI領域のテロメア側末端と非MHC領域についての上記の解析を行う過程で、9個の新規遺伝子を見出した。その内のGABA( $\gamma$ -アミノ酪酸)受容体B遺伝子については、完全構造の決定と転写開始点ならびに転写制御領域の解析を行った。GABAは抑制性の神経伝達物質であり、GABA受容体には、イオンチャンネルを形成するタイプとGTP結合蛋白質と共役して機能するタイプが存在している。後者のGTP結合蛋白質共役型の受容体遺伝子(GABA受容体B)は、組織部位ごとに異なるサブタイプの存在が示唆されており、分子レベ

ルでの情報伝達機構などについて、イオンチャンネル型(GABA受容体A)に比べ未知に残された点が多い。グルタミン酸受容体やCa<sup>2+</sup>受容体遺伝子に対して相同性を示すことが、ラットcDNAクローンの解析より明らかにされているが、遺伝子座やゲノム遺伝子構造は不明に残されていた。我々の見出したヒトのGABA受容体B遺伝子について、完全ゲノム構造と転写開始点の決定を行った結果、約5kb離れて存在する2箇所のプロモーターより2種の転写産物が発現していることが判明した。第2プロモーターは長い方の転写産物のエクソン4と5の間に位置しており、第1プロモーターには無い特徴として、CRE(cAMP response element)を持っていた。CRE/CREBによる発現調節機構により、GABA受容体B遺伝子が自己調節を行う可能性が考えられる。GABAによる受容体刺激に応じて、プロモーターが使い分けられ、2種の受容体の数と比率を調節することが出来る。これは、シナプス伝達の効率と性質を変化させる可塑性と関係すると考えられる。

(4) ヒト染色体DNAの間期核内配置を決めるシグナルの探索：大野みずき<sup>1</sup>， 天前豊明， 佐々木裕之<sup>1</sup>， 池村淑道<sup>(<sup>1</sup>九大医学部)</sup>

高等動物染色体の核内配置において、セントロメアおよびテロメアが重要な役割をはたすことは明らかであるが、複製タイミングのスイッチ点であるバンド境界も重要なランドマークをなす部位と想定して研究を進めてきた。ヒトMHC領域内に、複製タイミングのスイッチ点としてバンド境界を正確に特定でき、SARの存在および特徴配列類を見いだした(Tenzen et al., 1997)。特徴配列の一つは、大型のポリプリン/ポリピリミジン配列であり、三重鎖を形成することが明らかになった。偽常染色体境界の近傍にも同様な大型のポリプリン/ポリピリミジン配列が存在していた。三重鎖ならびにこの形成に伴って生じる単鎖は、生理条件下で他のDNA配列やRNAと配列特異的な対合を起こすことが可能であり、核内配置を決める分子機構として重要と考えられている。上記のポリプリン/ポリピリミジン配列、ならびに三重鎖形成能を持つtriやtetraヌクレオチドの反復配列、ならびに(CTG)*n*等の他のnon-B型構造を形成する反復配列(Sugaya et al., 1997)を蛍光プローブとして、ヒトの培養生細胞への導入実験と、未変性間期核に対するin situ結合実験を行ったところ、配列特異的に特徴的なfoci状の結合像が得られた。間期核内でのセントロメア部位との相対配置を解析したところ、プローブの配列に依存して、異なったセントロメアの近傍部位に結合していることが判明した。間期核内において、各染色体のセントロメア占有域の近傍には三重鎖を含むnon-B型構造DNAに高親和性を示す超分子構造体が存在しており、染色体上で離れた位置にあるDNA間での特異的な結合を起こさせることで、DNAの核内配置を決める機構を担っているとのモデルを発表した(Ohno et al., submitted)。

(5) ゲノム広範囲領域の重複過程の分子進化学的研究：山形哲司，菅谷公彦<sup>1</sup>，安藤麻子<sup>2</sup>，猪子英俊<sup>2</sup>，池村淑道<sup>(<sup>1</sup>放医研ゲノム, <sup>2</sup>東海大医学部)</sup>

ヒトMHCのクラスIII領域はヒトゲノム上で最もGC塩基に富む部位であり、遺伝子密度が高い代表例として知られている。GC塩基モザイク構造の解析を行う過程で、NOTCH4・PBX2・TNX等の新遺伝子の存在を明らかにしたが、興味深いことに、これらと配列相同性の高い遺伝子類であるNOTCH1・NOTCH2・NOTCH3やPBX1・PBX3、及びHXB(TN-Cの遺伝子)・TNR等が、

第1・第9・第19染色体上の比較的限定された領域に存在することが判明した。このような現象は、MHCを含む6p21.3領域に位置する他の15種類以上の遺伝子についても成立しており、ゲノムの広範囲領域(数Mbかそれ以上)の重複の進化過程を解析することを可能にする。これらの結果はSugaya *et al.* (1997)に発表した。この視点に立った解析を、上述のMHCクラスIからテロメア側の非MHC領域の遺伝子類についても行ったところ、この領域に位置する8個の遺伝子類と配列相同性の高い遺伝子類が、第7・第11・第17染色体上の比較的限定された領域に存在することが判明した。MHCのクラスII-III-I領域で相同性を見出ししていた第1・第9・第19染色体とは完全に異なっており、ゲノムの広範囲領域での重複、ないしはその後のゲノムの再編成過程における境界が存在すると考えられる。

(6) マウス主要組織適合抗原複合体(MHC)クラスIII領域における遺伝子重複機構: 松本健一、生田智樹<sup>1</sup>、十川紀夫<sup>2</sup>、池村淑道(<sup>1</sup>島根大・理・生物、<sup>2</sup>岡山大・歯・薬理)

哺乳類の主要組織適合抗原複合体(MHC)クラスIII領域は約1000kbに及んでおり、免疫現象に関与する遺伝子以外に、多様な生物現象に関与する多くの遺伝子が同定されている。クラスIII領域の中でも最もセントロメア側に位置し、ステロイドホルモン合成系遺伝子であるCYP21や補体反応に関与するC4遺伝子がマップされている領域は、遺伝的に不安定な領域で、遺伝子の重複・欠損が頻繁に起こることが知られている。ヒトにおいては遺伝病との関連でも注目を浴びている。我々は数年前にこの遺伝的に不安定な領域内に新規の細胞外マトリックスであるテネイシンX(TNX)遺伝子をヒトとマウスにおいて同定し、TNXの生体内機能の解析と分子進化学的研究を行ってきた。ヒトにおいては、TNXの遺伝子重複により生じた偽遺伝子であるXA遺伝子が報告されているが、マウスにおいてはTNX、CYP21、C4遺伝子を含む領域の遺伝子重複機構の解析はまだなされていない。マウスのTNX、CYP21、C4遺伝子領域の遺伝子重複の機構を明らかにする目的で、この領域の塩基配列の決定を行った。マウスにおいても、TNXの偽遺伝子であるXA遺伝子が遺伝子重複により生じており、XA遺伝子内にはTNXと比べ約560bpのdeletionが存在することが明らかとなった。また遺伝子重複の境界領域は、ヒトの場合XA遺伝子の上流約200bpに位置するのに対し、マウスの場合XA遺伝子の上流約2.5kb以上のところに位置し、ヒトとマウスで遺伝子重複の境界領域が異なることが明らかとなった。このこと及び哺乳類のある動物種(ブタ、モルモット、クジラなど)において、この領域には遺伝子重複は生じていない事実より、哺乳類の種分化以降に各々の種において独立にこの領域の遺伝子重複が生じたことが明らかとなった。

(7) マウステネイシンX遺伝子座の解析: 生田智樹<sup>1</sup>、十川紀夫<sup>2</sup>、小野田哲夫<sup>1</sup>、池村淑道、松本健一(<sup>1</sup>島根大・理・生物、<sup>2</sup>岡山大・歯・薬理)

MHCクラスIII領域に新規の細胞外マトリックスであるテネイシンX(TNX)遺伝子をヒトとマウスにおいて同定して以来、TNXの生体内機能の解析と分子進化学的研究を行ってきた。新規の細胞外マトリックスであるTNXは、全長約70kbの遺伝子にコードされ分子量約450kDaの巨大な多機能型タンパク質である。TNXの機能解析を行うにあたりTNX遺伝子の構造上の全情報を得ること、ならびにマウスとヒト間の広範囲の連続したゲノム構造の差

異を明らかにするため、全長67,977bpに及ぶマウスTNX遺伝子の全塩基配列の決定を行い(DDBJ/EMBL/GenBankの登録Accession No. AB010266)、分子進化的解析を行った。ヒトにおいてTNX遺伝子の5'上流には転写調節因子であるcAMP反応性エレメント結合タンパク質関連タンパク質(CREB-RP)遺伝子が、3'下流にはステロイド21-ヒドロキシラーゼ(CYP21)遺伝子が存在することが知られているが、今回の解析によりマウスにおいてもこの領域が同じ遺伝子構成を持つことが明らかとなった。cDNAライブラリーのスクリーニングやRT-PCR法よりマウスTNX遺伝子の全領域をカバーするcDNAクローンを得、塩基配列の決定を行った。RT-PCR法を行った際に、数種のオルタナティブスプライシング産物を検出した。そのPCR産物の解析により第3番目及び15から22番目のフィブロネクチンタイプIII(FNIII)リピートをコードする領域が、正確にオルタナティブスプライシングを受けることが明らかとなった。これらのcDNAやゲノムの解析により4,114aaのアミノ酸配列を決定し、マウスTNXはN末端側から、4個のヘプタッドリピート、18.5個のEGF様リピート、31個のフィブロネクチンタイプIII(FNIII)のリピート、フィブリノゲン様ドメインより構成されていることが明らかとなった。推定される糖鎖付加部位を6箇所同定した。

マウスとヒトのTNX遺伝子の構造を比較した結果、イントロン1, 4, 6内にマウスとヒト間で高く保存されている領域が見つかった(100-500bpで70-90%の相同性)。発生分化などの複雑な生物現象に関与する多くの遺伝子は、多様な発現制御を受けていることが考えられ、そのような遺伝子では非コーディング領域内に転写や複製の調節、核内配置などの重要な機能を司っている部位の存在が指摘されている。TNX遺伝子においてもヒトとマウス間で保存されている非コーディング領域は、TNX遺伝子の複雑な発現調節を担っている可能性が考えられる。

(8) Rh式血液型遺伝子の進化：北野 誉， 隅山健太， 斎藤成也， 城石俊彦<sup>1</sup>， 嵯峨井知子<sup>1</sup>(<sup>1</sup>哺乳動物遺伝研究室)

Rh式血液型は輸血不適合や溶血性貧血などに関与する医学的にも重要な血液型の1つである。その遺伝子はヒトではD遺伝子座とCE遺伝子座の2つが連鎖して存在している。一方、チンパンジーおよびゴリラにおいても同様に2~3の遺伝子座が存在するとされている。これらのRh式血液型遺伝子の塩基配列からネットワークを作成したところ、多くの遺伝子変換の可能性が示唆された。そのためさらに、各サイト比較法によって遺伝子変換を起こした領域を推定し、それらの領域を修正して系統樹を作成した。その結果、多くの枝で塩基の同義置換よりもアミノ酸を変化させる置換の方がより高い値を示した。このことは、これらの遺伝子が細胞表面に存在しているため、生物間・細胞間相互作用による正の自然淘汰を受けている可能性を示唆している。また、Rh式血液型遺伝子とホモロジーがあり、細胞膜上でRh式血液型物質とともに4量体構造を取るとされている50kDの糖タンパク遺伝子を含めて系統樹を作成した。その結果、これらの遺伝子族は、少なくとも1億5千万年前に分岐したと概算された。Rh式血液型遺伝子の進化パターンをさらに探るため、マウス骨髓細胞からcDNAを調製し、そこからRh式血液型遺伝子と相同であると思われる配列を得た。これらの研究成果を、The Fifth Annual Meeting of the Society for Mo-

lecular Biology and Evolution, 第13回日本霊長類学会大会, 第69回日本遺伝学会大会および第20回日本分子生物学会年会で発表した。

(9) 霊長類の免疫グロブリンIgAヒンジ領域における正の淘汰：隅山健太，河村正二<sup>1</sup>，斎藤成也，植田信太郎<sup>1</sup>(<sup>1</sup>東大・理・生物学)

免疫グロブリンC $\alpha$ 遺伝子は免疫グロブリンIgAの重鎖定常領域をコードする。従来定常領域の変異は多くないと考えられてきたが，実際には特にヒンジ領域において霊長類種間および種内の変異性が著しく高いことがわかった。この結果に基づき，今回われわれはより多くの霊長類種の配列を決定し，系統樹および系統ネットワークを作成してその解析をおこなった。その結果，ヒンジ領域におけるサイトあたりの非同義置換と同義置換の割合は中立説から予想される値よりはるかに大きいことが明らかになった。この現象は，ヒト上科，旧世界猿，新世界猿のいずれでも観察され，統計的にも有意であることが示された。また系統樹からは，旧世界猿類において同一種の対立遺伝子の合体時間が，他の種との合体時間より過去にさかのぼることが示された。これは旧世界猿の祖先種の多型性が現生種に引き継がれていることを示す。これらの結果はMHC遺伝子にみられる現象と非常に似通っており，何らかの正の自然淘汰がはたらいている可能性を強く示唆する。免疫グロブリンIgAのヒンジ領域は病原性の感染性細菌がもつIgAプロテアーゼの標的になることが古くから知られており，われわれはこれが正の淘汰をもたらした要因ではないかと考えている。これらの研究成果を，The Fifth Annual Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution, 第69回日本遺伝学会大会および第20回日本分子生物学会年会で発表した。

(10) 霊長類におけるABO式血液型遺伝子の進化：野田令子，北野 誉，隅山健太，竹中修<sup>1</sup>，斎藤成也(<sup>1</sup>京大・霊長類研)

ABO式血液型を決定しているのは血球表面のタンパク質に付着した糖鎖の変異であり，遺伝子は糖転移酵素をコードしている。ABO式血液型抗原である糖鎖は体内に侵入したバクテリアやウィルスの足がかりとして用いられたりすることなどによって他の生物と相互作用し，その結果独特の進化パターンを示している可能性がある。われわれは，この遺伝子に正の自然淘汰が働いており，また霊長類のいくつかの系統において独立にA型からB型が進化しているという可能性を指摘した(文献8)。もしこの遺伝子座に正の自然淘汰が働いているのならば，その傾向は他の生物種でも観察されると予想される。このために，ヒト・ゴリラ・チンパンジーに近縁でかつA, B, Oのすべての型の存在が報告されているオランウータンとテナガザル，およびいくつかの旧世界猿の種におけるこの遺伝子の塩基配列を決定し，比較解析した。その結果，テナガザル2種のA対立遺伝子とB対立遺伝子が，種分化以前にすでに分かれていた，つまり種を越えた多型が維持されている可能性が示唆された。この研究成果を，第69回日本遺伝学会大会および第20回日本分子生物学会年会で発表した。

(11) 遺伝子系統樹の重層による筋肉組織の進化的な関係の推定：太田聡史，斎藤成也

動物の筋肉組織は，少なくとも6つのクラスに分けることができる。脊椎動物では，平

滑筋, 速筋, 遅筋, 心筋であり, 無脊椎動物では, 横紋筋と平滑筋である。われわれは, 筋肉組織に発現する6つのタンパク質の遺伝子の系統樹を推定し, これらを重ね合わせることで, 組織の系統樹を推定した。用いたタンパク質は, ミオシン重鎖, ミオシン必須軽鎖, ミオシン調節軽鎖, トロポニンC, 筋発生調節因子, アクチンである。分析の結果, 脊椎動物の平滑筋と他の筋肉組織の分化は脊椎/無脊椎動物の分岐の下限よりも前に起きたことが示唆される。遺伝子重複の時期の観点から, 6つの遺伝子は早期と後期に分けることができる。脊椎動物の系統で見ると, ミオシン重鎖とミオシン調節軽鎖遺伝子は, 主に脊椎/無脊椎動物の分岐の下限より前に重複し, 他の4つの遺伝子は, 主にそれより後に起きている。より詳細な情報を得るため, 得られた系統樹の内部節を整理し, 系統樹の重ね合わせを行った。この結果から, 脊椎動物の筋肉組織の進化的な関係は, (平滑筋, ((心筋, 遅筋), 速筋))と推定された。この研究成果を, 第69回日本遺伝学会大会で発表した。

(12) ABO式血液型遺伝子の進化: 斎藤成也, 山本文一郎<sup>1)</sup>(The Burnham Institute, USA)

細胞表面の分子は, タンパク質であれ糖鎖であれ, 他の生物・細胞との相互作用を引き起こしやすいので, 細胞内の分子よりも生物間・細胞間相互作用による自然淘汰を受けやすいと想像される。血液型は赤血球細胞表面の分子構造の違いを抗原抗体反応などで識別したもので, 血液型遺伝子には正の自然淘汰を受けているものの割合が高いことが期待される。そこで, 霊長類のABO式血液型遺伝子の塩基配列を比較し, 遺伝子の系統ネットワークを作成した。その結果A対立遺伝子とB対立遺伝子の違いは通常対立遺伝子の違いよりはるかに大きく, その分岐年代は数百万年前にさかのぼる可能性が大きいこと, 遺伝子内組み換えによって新しい対立遺伝子が生じている可能性が見いだされた。また, 祖先型であるA対立遺伝子から, ヒト・ゴリラ・ヒヒの系統でB対立遺伝子が独立に進化してきたことが見いだされた。これらは, 霊長類のABO式血液型遺伝子に正の自然淘汰が生じている可能性を示唆する。一方, ABO式血液型偽遺伝子hgt4及び $\alpha$ -1, 3-ガラクトース転移酵素遺伝子等を比較して遺伝子の系統樹を作成したところ, ABO式血液型遺伝子とその偽遺伝子hgt4の分岐年代は1億年以上前であること, ABO式血液型遺伝子と $\alpha$ -1, 3-ガラクトース転移酵素遺伝子の分岐は脊椎動物の出現前後であることが推定された。詳細は文献8を参照されたい。

## 研究業績

### (1) 原著論文

1. Tenzen, T., Yamagata, T., Fukagawa, T., Sugaya, K., Ando, A., Inoko, H., Gojobori, T., Fujiyama, A., Okumura, K., and Ikemura, T. (1997). Precise switching of DNA replication timing in the GC content transition area in the human major histocompatibility complex. *Mol. Cell. Biol.*, **17**, 4043-4050.
2. Sugaya, K., Sasanuma, S., Nohata, J., Kimura, T., Fukagawa, T., Nakamura, Y., Ando, A., Inoko, H., Ikemura, T., and Mita, K. (1997). Gene organization of human NOTCH4 and (CTG)<sub>n</sub> polymorphism in this human counterpart gene of mouse

- proto-oncogene *Int3*. *Gene* **189**, 235-244.
3. Shiina, T., Tamiya, G., Oka, A., Yamagata, T., Yamagata, N., Kikkawa, E., Goto, K., Mizuki, N., Watanabe, K., Fukuzumi, Y., Taguchi, S., Sugawara, C., Ono, A., Chen, L., Yamazaki, M., Tashiro, H., Ando, A., Ikemura, T., Kimura, M., and Inoko, H. (1998). Nucleotide sequencing analysis of the 146 kb segment around the *IKBL* and *MICA* genes at the centromeric end of the HLA class I region. *Genomics* (in press).
  4. Ando, A., Shigenari, A., Naruse, T. K., Sugaya, K., Juji, T., Honda, Y., Ikemura, T., and Inoko, H. (1997). Triplet repeat polymorphism within the *NOTCH4* gene located near the junction of the HLA class II and class III regions in narcolepsy. *Tissue Antigens* **50**, 646-649.
  5. Ando, A., Sugaya, K., Shigenari, A., Naruse, T. K., Horiuchi, M., Shiina, T., Kawata, H., Chen, L., Ikemura, T., and Inoko, H. (1997). Triplet repeat polymorphism in the *NOTCH4* gene within the human major histocompatibility complex in a healthy population and patients with a salivary gland tumor in Japan. *Tissue Antigens* **50**, 66-70.
  6. Nakamura, Y., Gojobori, T., and Ikemura, T. (1997). Codon usage tabulated from the international DNA sequence databases. *Nucl. Acids Res.* **25**, 244-245.
  7. Hasegawa, K., Yoshida, Matsumoto, K. Katsuta, K., Waga, S., and Sakakura, T. (1997). Differential expression of tenascin-C and tenascin-X in human astrocytomas. *Acta Neuropathol.* **93**: 431-437.
  8. Saitou N. and Yamamoto F.: Evolution of primate ABO blood group genes and their homologous genes. *Molecular Biology and Evolution*, Vol. **14**, No. **4**, pp. 399-411, 1997.
  9. Kitano T., Matsuoka N., and Saitou N.: The phylogenetic relationship of the genus *Oncorhynchus* species inferred from nuclear and mitochondrial markers. *Genes and Genetic Systems*, Vol. **72**, No. **1**, pp. 25-34, 1997.
  10. Omoto K. and Saitou N.: F Genetic origins of the Japanese: A partial support for the "dual structure hypothesis". *American Journal of Physical Anthropology*, Vol. **102**, No. **4**, pp. 437-446, 1997.
  11. Sumiyama K., Washio-Watanabe K., Ono T., Yoshida M.C., Hayakawa T., and Ueda S.: Human class III POU genes, *POU3F1* and *POU3F3*, map to chromosomes 1p34.1 and 3p14.2. *Mammalian Genome* (in press).
- (2) その他
1. 斎藤成也: 遺伝子は35億年の夢を見るーバクテリアから人間の進化までー. 大和書房, 東京, 1997.

2. 斎藤成也：環太平洋人類集団の過去と未来．福田一郎・劉剛編著，『文明と遺伝』，84-104頁，勉誠社，東京，1997．
3. 斎藤成也：遺伝子からたどった日本人の祖先．歴史街道，10月号，130-131頁，1997．
4. 斎藤成也：遺伝子の進化とは～ABO式血液型を中心に～．*BIO Clinica*，12巻，11号，830-834頁，1997．
5. 太田聡史・國藤進・斎藤成也：DeepForest：並列論理型言語を用いた分子進化的解析プログラム．第29回人工知能基礎論研究会資料，69-74頁，1997．

### (3) 発表講演

1. Tenzen T., Ohno M., Yamagata T., Fukagawa T., Sugaya K., and Ikemura T.: Borders of isochores and of chromosome bands; precise switching of DNA replication timing during Sphase in GC% transition region of human MHC. International Society of Molecular Evolution, "Junk DNA; The role and the evolution of non-coding sequences" Costa Rica, January.
2. 大野みずぎ，天前豊明，佐々木裕之，池村淑道：ヒト染色体DNAの間期核内での配置を決める分子機構；三重鎖DNAの関与について．日本遺伝学会第69回大会，横浜，11月．
3. 天前豊明，山形哲司，安藤麻子，猪子英俊，池村淑道：ヒトMHC class II，III境界領域における複製タイミング転換機構に関する解析．日本遺伝学会第69回大会，横浜，11月．
4. 大野みずぎ，天前豊明，山形哲司，佐々木裕之，池村淑道：ヒト間期核内での染色体DNAの核内配置を決める分子機構；三重鎖を含む特殊DNA構造の関与について．第20回日本分子生物学会年会，12月，京都．
5. 天前豊明，山形哲司，安藤麻子，猪子英俊，池村淑道：ヒト染色体バンド境界領域における複製タイミング転換機構に関する解析．第20回日本分子生物学会年会，12月，京都．
6. 山形哲司，安藤麻子，猪子英俊，五條堀孝，池村淑道：ヒトGTP結合蛋白質共役型γ-アミノ酪酸(GABA)受容体遺伝子の構造解析と多型マーカーの探索．第20回日本分子生物学会年会，12月，京都．
7. T. Tenzen, T. Yamagata, and T. Ikemura: Precise switching of DNA replication timing in the GC content transition area in the human MHC. *Genes Functions to Cell Differentiation*. Sept. Mishima.
8. 松本健一，生田智樹，十川紀夫，池村淑道：マウステネインX遺伝子領域における遺伝子重複機構の解析．日本遺伝学会第69回大会，横浜，11月．
9. 生田智樹，十川紀夫，小野田哲夫，池村淑道，松本健一：テネインX遺伝子座におけるマウスとヒト間のゲノム進化．第20回日本分子生物学会．12月，京都．
10. 松本健一，生田智樹，十川紀夫，池村淑道：マウス主要組織適合抗原複合体(MHC)ク

ラスⅢ領域における遺伝子重複機構. 第20回日本分子生物学会12月, 京都.

11. 生田智樹, 十川紀夫, 小野田哲夫, 池村淑道, 松本健一: 広領域シーケンスの解析によるマウスとヒト間のゲノム進化: テネインX遺伝子座の解析を例として. 第20回日本分子生物学会12月, 京都.
12. 斎藤成也: 新しい系統樹作成法の開発とその応用. 重点領域班会議「分子進化学の新展開」, 統計数理研究所, 東京, 1月.
13. 斎藤成也: 並列論理型言語を用いた最尤法による分子進化系統樹作成プログラムに関する研究. 日本情報処理開発協会先端情報技術研究所 平成8年度委託研究報告会, 東京, 3月.
14. Saitou N.: Genetic relationship of human populations. Symposium on Ibero-America. Japan-Germany Society Hall, Berlin, Germany, March.
15. Saitou N. and Kitano T.: Evolution of blood group genes with special reference to the ABO and Rh blood groups: a review. International Symposium on Genetics. Institute of Zoology, Academia Sinica, Taipei, April.
16. Saitou N.: Evolution of ABO blood group genes. Networks and Evolution of Molecular Information Seminar Series, National Institute of Genetics, Mishima, May.
17. 斎藤成也他: 霊長類のABO式血液型遺伝子およびその相同遺伝子の分子進化的研究. 第13回日本霊長類学会大会一般講演, 北海道大学学术交流会館, 7月.
18. 斎藤成也: DNAから日本人の祖先をたどる. 重点領域「日本人と日本文化の起源」第1回シンポジウム, 国際日本文化研究センター, 7月.
19. Saitou N.: Evolution of ABO and Rh blood group genes. The Human Genetics Center, School of Public Health, University of Texas Health Science Center at Houston, August.
20. 斎藤成也: 遺伝子系統樹—進化の基本記述子. MEセミナー, 九州大学理学部生物学科理論生態学研究室, 9月.
21. 斎藤成也: 人類集団の遺伝的近縁関係. 生命の多様性研究会, 国際高等研究所, 10月.
22. 斎藤成也: 新しい系統樹作成法で解析した日本人およびその周辺集団の遺伝的近縁性. シンポジウム「遺伝子から見た日本人」. 人類学会第51回大会, 筑波大学, 11月.
23. 斎藤成也: 遺伝学からみた東アジア集団の形成. 北アジア研究会, 立教大学, 12月.
24. Sumiyama K.: Positive selection in the primate IgA hinge region. Networks and Evolution of Molecular Information Seminar Series, National Institute of Genetics, Mishima, May.
25. Sumiyama K., Kawamura S., Saitou N., and Ueda S.: Positive selection in the primate IgA hinge region. The Fifth Annual Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution. Garmisch-Partenkirchen, Germany, June.
26. Sumiyama K., Kawamura S., Saitou N., and Ueda S.: An adaptive evolution of

- the Immunoglobulin C $\alpha$  gene in hominoids and other primates. The Tri-National Meeting on Molecular Evolution. Munich, Germany, June.
27. 隅山健太, 川村正二, 斎藤成也, 植田信太郎: 霊長類の免疫グロブリン IgA ヒンジ領域における正淘汰進化の解析. 日本遺伝学会第69回大会, 横浜市立大学, 11月.
  28. 隅山健太, 川村正二, 斎藤成也, 植田信太郎: 霊長類の免疫グロブリン IgA ヒンジ領域における正の淘汰. 第20回日本分子生物学会年会, 国立京都国際会館, 12月.
  29. Oota S.: Phylogenetic relationship of muscle tissues. Networks and Evolution of Molecular Information Seminar Series, National Institute of Genetics, Mishima, May.
  30. 太田聡史, 國藤 進, 斎藤成也: DeepForest: 並列論理型言語を用いた分子進化的解析プログラム. 第29回人工知能基礎論研究会, 広島市立大学, 6月.
  31. 太田聡史, 斎藤成也: ミオシンの多重整列と系統樹の作成. 日本遺伝学会第69回大会, 横浜市立大学, 11月.
  32. 太田聡史, 斎藤成也: 並列環境での最尤系統樹の推定. ゲノム情報第8回ワークショップ, 東京, 12月.
  33. Kitano T.: Evolution of Rh blood group genes. Networks and Evolution of Molecular Information Seminar Series, National Institute of Genetics, Mishima, May.
  34. Kitano T, Sumiyama K., and Saitou N.: Evolution of Rh blood group genes and their homologous genes. The Fifth Annual Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution. Garmisch-Partenkirchen, Germany, June.
  35. 北野 誉, 隅山健太, 斎藤成也: 霊長類における Rh 式血液型遺伝子およびその相同遺伝子の分子進化的研究. 第13回日本霊長類学会大会, 北海道大学, 7月.
  36. 北野 誉, 隅山健太, 斎藤成也, 城石俊彦, 嵯峨井知子: Rh 式血液型遺伝子およびその相同遺伝子の分子進化的研究. 日本遺伝学会第69回大会, 横浜市立大学, 11月.
  37. 北野 誉, 隅山健太, 斎藤成也, 城石俊彦, 嵯峨井知子: Rh 式血液型遺伝子およびその相同遺伝子の分子進化的研究. 第20回日本分子生物学会年会, 国立京都国際会館, 12月.
  38. Noda R.: A great diversity of *Drosophila* in the Madagascar Island. Networks and Evolution of Molecular Information Seminar Series, National Institute of Genetics, Mishima, May.
  39. 野田令子, 北野 誉, 隅山健太, 竹中 修, 斎藤成也: 霊長類における ABO 式血液型遺伝子の進化. 日本遺伝学会第69回大会, 横浜市立大学, 11月.
  40. 野田令子, 北野 誉, 隅山健太, 竹中 修, 斎藤成也: 霊長類における ABO 式血液型遺伝子の進化. 第20回日本分子生物学会年会, 国立京都国際会館, 12月.
  41. Kaneko M.: Sequence comparison of mutant human H blood group genes. Networks and Evolution of Molecular Information Seminar Series, National Insti-

tute of Genetics, Mishima, May.

42. 金子美華, 西原祥子, 新屋直子, 岩崎裕子, 瀬尾たい子, 田中光信, 大久保康人, 成松 久: ボンベイ, パラボンベイ個体のH, Se, Le 遺伝子の解析. 第70回日本生化学会大会, 金沢大学, 9月.
43. Petersen P.: Phylogenetic relationship of some red fish around Iceland. Networks and Evolution of Molecular Information Seminar Series, National Institute of Genetics, Mishima, May.

#### D-c. 理論遺伝研究部門

(1) 相互依存系の進化における遺伝的浮動の役割: 太田朋子

蛋白質のコーディング領域で同義置換と非同義置換のパターンを調べると, ほぼ中立なアミノ酸置換が重要であることが示唆される. 一方蛋白質の高次構造を決める遺伝情報は, 相互作用をもつ系としてとらえることができる. 一つのアプローチとしてカウフマンのNKモデルを用い解析した. このモデルは蛋白質の各々のアミノ酸の適応度への貢献が, そのアミノ酸自体とK個の他のアミノ酸に依存するものとする. すなわち(K+1)個のアミノ酸のエピスタシスを仮定する.  $K \geq 2$ で適応度地型はでこぼこになることが知られている. シミュレーションの結果, このモデルのもとでは, 多くのほぼ中立な突然変異が生ずることがわかった. したがって突然変異の置換速度は小さい集団の方が大きい集団より高い. また置換速度の分散は, 実際のアミノ酸置換のパターンから推定される程大きくはならないことがわかった. 実際のパターンを説明するには, 適応度のゆらぎや, 集団の大きさが変化する過程を組み入れる必要がある. 詳細は文献1と2に発表した.

(2) 組織適合抗原の多型生成における遺伝子変換の役割: 太田朋子

多重遺伝子族では不等交叉や遺伝子変換が常に生じていて, 相同な遺伝子メンバーは独立には進化しないことが知られている. 組織適合抗原の遺伝子族も例外ではない. 集団遺伝学的にこの遺伝子族の進化と変異について解析した. 多様化選択, 遺伝的浮動および点突然変異は一遺伝子座の場合と同じであるが, さらに遺伝子変換を取り入れてシミュレーションを行った. 遺伝子変換には二種類あり, 一遺伝子座内の対立遺伝子間遺伝子変換と, 異なる遺伝子座間で起る遺伝子変換とがある. シミュレーションの結果, 対立遺伝子間遺伝子変換は, 対立遺伝子数を増大する効果があり, 遺伝子座間遺伝子変換は対立遺伝子数を増大するのみでなく, 対立遺伝子間の分化の程度を高めることがわかった. またアミノ酸座位あたり弱い淘汰でも遺伝子座間遺伝子変換があれば高度な多型となることもわかった. 詳細は文献3に発表した.

#### 研究業績

(1) 原著論文

1. Ohta T.: Role of random genetic drift in the evolution of interactive systems. Jour-

nal of Molecular Evolution 44(Suppl 1), S9-S14, 1997.

2. Ohta T.: The meaning of near-neutrality at coding and non-coding regions. *Gene* 205, 261-267, 1997.
3. Ohta T.: Role of gene conversion in generating polymorphisms at major histocompatibility complex loci. *Hereditas* 127, 97-103, 1997.

(2) 発表講演

1. Ohta T.: The meaning of near-neutrality at coding and noncoding regions. 1月9日, コスタリカ, グアナカステ
2. Ohta T.: Role of gene conversion in generating polymorphisms at major histocompatibility complex loci. 5月25日, スウェーデン, ビスビー
3. Ohta T.: Evolution by nearly neutral mutations. 6月16日, アメリカ, ボルター

## E. 総合遺伝研究系

### E-a. 人類遺伝研究部門

この部門では、ヒトの正常ならびに異常形質にかかわる遺伝現象を、分子・細胞・個体・集団の各レベルで研究し、それらを総合的に理解することを目指している。とくに、ヘモグロビン、酵素、シグナル伝達系などのタンパク質分子の構造と合成の変異をアミノ酸配列およびDNA塩基配列の変化として明らかにし、分子病の観点から先天性代謝異常症の遺伝要因と病態発現の機序を研究している。また、遺伝子変異や染色体改変に基づくがん遺伝子活性化の機序、細胞増殖・分化と腫瘍発生の分子遺伝機構などについて研究を進めている。さらに、人類進化の立場から日本人種の遺伝的特徴はなにかを、ミトコンドリアDNAの塩基配列多型の上から研究している。

当研究所が実施している共同研究事業の一環として、3月には研究集会「自己免疫疾患の発症に関する遺伝素因の解析」を開き、九大医学部の大塚講師らが来所し、今村教授を交えて自由な意見交換を行った。公募による共同研究「造血幹細胞の増殖および単球系細胞への分化における遺伝子発現」では、九大医学部の大塚講師らが来所し、今村教授と共同研究を行った。また、九大医学部の中島 衡博士らの「自己免疫疾患におけるサイトカインレセプターの構造異常の解析」等の合せて3研究を受入れ、それぞれのメンバーが来所し、当研究部門スタッフとの共同研究を行なった。

本年度の研究は、基盤研究「ミトコンドリアDNAからみた現生人類の起源」(宝来)、総合研究大学院大学共同研究「精神活動・行動に関する遺伝子の関与」(今村)、同「高次脳機能に対する学際的アプローチ」(今村)、同グループ研究「生命体科学」(宝来)などの文部省科学研究費補助金、神経疾患研究依託費「ミトコンドリア脳筋症におけるDNA変異の解析」(宝来)などの厚生省科学研究費の援助を仰いだ。

(1) 脳の高次機能ならびにゲノム刷り込みの機構に関する分子遺伝学的研究：今村 孝，境 雅子，稲葉利恵，長谷川知子<sup>1</sup>（県立静岡こども病院）

ブラダ・ウイリ症候群（PWS）は、心身の発達障害、筋繊維の低緊張などと共に、摂食行動の異常とそれに基づく肥満、高脂血症などをおもな徴候とする先天性異常症であり、15番染色体の特定の領域（15q11-q13）に部分的欠損が認められる例が多いことから、ヒトの摂食や生殖行動、内分泌系、代謝、血圧調節など、生命の恒常性維持に関わる脳神経制御系遺伝子がこの領域に存在すると考えられる。また、PWS領域では父親に由来する染色体上の対立遺伝子のみが選択的に発現し、母親に由来する遺伝子はゲノム・インプリント（刷り込み）の機構によって生理的に不活化されていることが、本症候群の発現にとって重要な要因とされている。

この研究は、PWS症候群の原因遺伝子を取り出し、それらの構造と機能を解析することにより、ヒトの高次脳機能にかかわる遺伝子系とゲノムインプリントの機構の解明に資することを目的としている。そこで、健常者と患者のリンパ球細胞株からcDNAライブラリーを作成し、クローン・サブトラクション法を用い、患者細胞で“down regulate”されている遺伝子を解析した結果、リボソームタンパク質、転写調節因子、カゼインキナーゼII β鎖、タンパク質合成調節因子、細胞接着分子レセプター（インテグリン遺伝子族）、などのcDNA断片を多数、選択した。これらのうち、小核リボ核酸タンパク質（SNRPN）遺伝子は、ヒト胎児・脳組織細胞で強く発現し、患者の細胞では発現がみられない。また、SNRPN遺伝子はマウスの7番染色体にマップされていることから、同染色体領域と高い相同性を示すヒトの15番染色体領域に存在することが確認された。患者の細胞を調べた結果、ヒトのSNRPN遺伝子はマウスと同様、母由来の遺伝子がインプリントのしくみにより生理的に不活化されていることを明らかにした。そこで、脳高次機能にかかわる遺伝子の多くがインプリント遺伝子（SNRPN）の支配下にあり、PWS患者細胞ではmRNAのスプライス異常により、脳神経細胞の発生過程、シナプス形成、記憶、学習などに関わる遺伝子（群）の機能欠損が考えられる。

(2) ヒト18番染色体・発現遺伝子地図の解析：今村 孝，境 雅子，稲葉利恵，中島 衛<sup>1</sup>，長谷川知子<sup>2</sup>（<sup>1</sup>九州大学医学部第一内科，<sup>2</sup>県立静岡こども病院）

18番染色体の異常は過剰染色体症候群としては21番染色体（Down症）に続いて多く見られる。われわれはテトラソミー18p症候群に関わる遺伝子の解析を目的として、ヒト18番染色体の高分解能・連鎖遺伝子地図の解析を計画した。基礎的研究として、ヒト染色体としては、18番染色体のみをもつヒト・マウス雑種細胞（126-15，など）、また、長腕が欠失した染色体（18q-）のみを保有している細胞株（126-2，など）を作成した。これらの細胞から、ヒト18番染色体（または18p）に固有の遺伝子ライブラリーを作成し、多数のクローンを選択した。18番染色体に由来するコスミドクローン（60）をFISH法により染色体領域上（18p，18qの各バンド上）にそれぞれ位置付けた。ヒト18番染色体は、ゲノムDNAの3%を占めるので、全長100センチモルガン（cM）と考えられる。われわれが作成した18pのみをもつ雑種細胞株から、ヒトに特異的なmRNA・cDNAを取り出し、脳組織で発現する18番染色体短

腕(18p)上の遺伝子を分離することによって、過剰染色体(トリソミー, テトラソミー-18p, など)症候群に関する病因遺伝子群を明らかにすることを目指している。

(3) 重篤な乳酸血症と新生児死亡のピアソン病の症例: 村木可枝<sup>1</sup>, 後藤雄一<sup>1</sup>, 西野一三<sup>1</sup>, 宝来 聡(<sup>1</sup>国立精神神経センター・神経研究所)

Peason marrow-pancreas症候群(ピアソン病)は, ミトコンドリアDNAの再編成に関連した致命的疾患で, 乳児期において治療不応性のシデレプラスト貧血を特徴としている。ピアソン病を発症した新生児の数例のみが, 代謝性酸性症を呈することが報告されている。生時下に重篤な代謝性酸性症と貧血を呈した新生女児のピアソン病の患者に関して報告する。患児の病態は進行性に悪化し, 汎血球減少症や制御不能の代謝性酸性症を呈し生後14日にして死亡した。患者の白血球, 肝臓, 筋肉には4988塩基対のミトコンドリアDNAの欠失が認められた。もし新生児が原因不明の重篤な代謝性酸性症を呈した時には, ピアソン病の可能性を考慮する必要がある。詳細は, 文献3に発表した。

(4) MERRF型ミトコンドリア脳筋症における新たな点変異: 小沢真津子<sup>1</sup>, 後藤雄一<sup>1</sup>, 西野一三<sup>1</sup>, 埜中征哉<sup>1</sup>, 宝来 聡(<sup>1</sup>国立精神神経センター・神経研究所)

MERRF型ミトコンドリア脳筋症(myoclonus epilepsy associated with ragged-red fibers)の患者では, ミトコンドリアDNAのリジンtRNA遺伝子上の塩基番号8344および8356の点変異と関連することが知られている。本研究では, 日本人の2家系においてリジンtRNA遺伝子上の塩基番号8363にGからAへの点変異を見い出した。発端者はいずれもMERRF型ミトコンドリア脳筋症に典型的な臨床像を示していた。この8363変異はヘテロプラスミーとして存在し, かつ92例の他のミトコンドリア脳筋症患者や50例の正常対照には認められないことから, MERRF型ミトコンドリア脳筋症に特異的な変異と考えられる。これらの患者の筋生検の分析では, 既に報告のある2種類の点変異の筋生検の所見と同様に, cytochrome c oxidase(COO)の局所的な欠損を主要な特徴としていた。単一筋繊維の分析では, COO陰性の筋繊維はより多く割合の変異型mtDNA(88.4%)を含み, 一方COO陽性の筋繊維ではその割合は65.1%であった。これらの所見はリジンtRNA遺伝子の変異はMERRF型ミトコンドリア脳筋症の病型と関連し, またCOO活性の低下を引き起こしていることを示唆している。詳細は, 文献4に発表した。

(5) ヒトY染色体DNA変異の地理的分布: Hammer, M. F.<sup>1</sup>, Spurdle, A. B.<sup>2</sup>, Jenkins, T.<sup>2</sup>, Zegura, S. L.<sup>1</sup>, 宝来 聡(<sup>1</sup>アリゾナ大学, <sup>2</sup>ウィトウォータースランド大学)

われわれは過去20万年の渡る人類進化を研究するため, ヒトY染色体の非組み換え領域のDNA変異を検索した。それらはY染色体に特異的な多型座位で, Alu配列挿入多型あるいは“YAP”要素(DYS287), “YAP”要素に関連したポリAテール, YAPの挿入部位に緊密な連関のある3種類の点変異, AG多型変異(DYS271), および4塩基反復のマイクロサテライト多型(DYS19)である。5種類のパイアレリック座位(DYS271, DYS287, および3種類の点変異)における地球的規模での多型分析の結果, アフリカ, ヨーロッパ, アジア, オーストラリアおよび新世界からの60の人類集団(総個体数1500人)において, 5種類の“YAPハプロタイプ”を構築することができた。マイクロサテライト座位(ポリAテールとDYS19)のマルチ

アレリックな変異とYAPハプロタイプの組合せでは、全体として27種類のコンビネーションハプロタイプに分類することができた。YAPハプロタイプの5種類すべてと27種類のコンビネーションハプロタイプのうち21種類は、アフリカの人類集団で観察され、他の地理的な場所に由来する集団に比べて、より大きなハプロタイプの多様性をもっていた。5種類のハプロタイプの特定の組合せ(サブセット)のみがアフリカ以外の集団では観察された。今回観察された地球規模でのY染色体DNA変異のパターンは、現代人の複数回に渡る脱アフリカと地域拡散の仮説を支持するものである。詳細は、文献5に発表した。

(6) コロンビア, エクアドル, チリのアメリカ先住民におけるHLA-DRB1座の多型解析: Blagito, N. I., O' hUigin, C. I., Klein, J. I., 宝来 聡 (マックスプランク研究所)

われわれは、コロンビア, エクアドル, チリの集団より収集したアメリカ先住民のサンプルに関してHLA-DRB1座の遺伝子型を検索した。全体で17種類の対立遺伝子が観察されたが、新規のDRB1遺伝子は見られなかった。このことは、HLA-B座で見られるのとは対照的に、DRB1座では急速な対立遺伝子の生成が起こらなかったこと示唆している。南アメリカの南部のチリの集団と北部のコロンビア, エクアドルの集団の比較では、対立遺伝子の頻度には顕著な差は観察されなかった。アメリカ先住民の全サンプルでは、HLA-DRB1\*0407 (38%), HLA-DRB1\*1402 (22%) と最も高い頻度で観察された。今回のサンプルでのHLA-DRB1の頻度より算出した遺伝距離は、他のアメリカ先住民での知見にほぼ一致するものであった。HLA-DRB1\*0407とHLA-DRB1\*1402がアメリカ先住民で高頻度であること、またそれらはシベリアのサンプルでは観察されないことから、現在シベリアにいる人類集団ではないグループが、アメリカ大陸への移住に関与したことが示唆された。詳細は、文献6に発表した。

(7) 分裂酵母の遺伝子機能ネットワークに関する研究: 檀上稲穂<sup>1</sup>, 藤山秋佐夫<sup>1</sup> (東京大学医科学研究所)

ゲノムの構造情報が指数関数的勢いで蓄積されつつあるが、それがゲノム研究の本来的な目的ではない。現在、力が注がれているmapping & sequencingは、80年代の分子生物学が遺伝子の構造情報をもとにして発展したように、ゲノムの構造情報に基づいた遺伝子群(遺伝子ネットワーク)の機能研究(Functional Genomics)を行うための基盤作りである。我々は、既にゲノム構造が決められた出芽酵母と近縁の分裂酵母(これもゲノムの配列決定が進められている)を用い、従来から進めてきた細胞内情報伝達研究の経験を生かした、新しい研究プロジェクトを開始した。

代表的なGTP結合蛋白質(G蛋白質)は、3分子のサブユニット( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ )で構成されており、膜を介するシグナル伝達において中心的な機能を果たしている。近年になり、これ以外に、*ras*スーパーファミリーを代表とする低分子量GTP結合蛋白質が数多く存在する。これらのGTP結合蛋白質は、細胞内で行われる各種のシグナル伝達(質膜シグナル伝達や分泌、細胞内輸送に関するシグナル伝達など)に関与し、細胞の増殖・機能制御に重要な役割を果たしている。今年度の研究では、まず低分子量G蛋白質の下流で発現を制御されている全遺伝子をカタログ化する事を目的とし、解析システムの開発を進めた。文献7

(8) 染色体特異的ライブラリの作成とセントロメア, テロメア領域の構造解析: 藤山秋

佐夫, 檀上稲穂, 朴 洪石, 増島 恵, 遠藤光子

ソーティングにより純化したヒト染色体をDNA材料とし, #9~#12を除くヒトの染色体特異的ライブラリの作成を世界で初めて完成させた. 今後10年のヒトゲノム解析およびその後に行われるであろう機能解析のための研究資材として重要なものである. この材料を用い, ヒト21番染色体のセントロメア, テロメア領域の構造解析を開始した. 文献8

(9) 単離染色体を用いる2次元マッピング法の開発: 藤山秋佐夫, 浅川順一<sup>1</sup>, 瀧本光弘<sup>2</sup>(<sup>1</sup>放射線影響研究所, <sup>2</sup>新潟大学医学部)

染色体ソーターの改良により, かなりの程度に純粋なヒト染色体を大量に得ることが可能になった. 現在, 文献1. で報告した *NotI* 部位の染色体ごとの2次元スポットマップの情報量を拡充しつつあり, #1, X, #11染色体についてのマッピング作業と遺伝子機能との関連を中心とした研究を進めている. 文献9

(10) ヒトゲノム画像データベースの構築に関する研究: 藤山秋佐夫, 檀上稲穂<sup>1</sup>, 大山彰<sup>2</sup>, 阿久津達也<sup>1</sup>(<sup>1</sup>東京大学医科学研究所, <sup>2</sup>三井情報開発)

上記研究課題(3)の画像データベース化を進めている. 第一段階のソフトウェアは, 1996年3月に完成しており, 現在は改良作業を進めている.

## 研究業績

### (1) 原著論文

1. 今村 孝: 現代内科学(分担), 黒川 清, 斎藤英彦, 矢崎義雄, 編, 金芳堂, 1997.
2. 今村 孝: 21世紀の遺伝学, V. 人類遺伝学, 今村 孝, 編, 裳華房, 1997.
3. Muraki K., Goto Y., Nishino I., Hayashidani M., Takeuchi S., Horai S., Sakura N. and Ueda K.: Severe lactic acidosis and neonatal death in Pearson syndrome. *J. Inher. Metab. Dis.* 20: 43-48, 1997.
4. Ozawa M., Nishino I., Horai S., Nonaka I and Goto Y.: Mutations in mitochondrial tRNA<sup>Lys</sup> are responsible for myoclonus epilepsy associated with ragged-red fibers (MERRF) and cytochrome c oxidase deficiency: an additional novel G-to-A mutation at nucleotide pair 8363 in tRNA<sup>Lys</sup> in two families. *Muscle & Nerve* 20: 271-278, 1997.
5. Hammer M. F., Jenkins T., Bonner M. R., Spudis A. B., Wood E. T., Mitchell R. J., Novelletto A., Horai S. and Zegura S. L.: The geographic distribution of human Y chromosome variation. *Genetics* 145: 787-805, 1997.
6. Blagitko N., O'hUigin C., Figueroa F., Horai S., Sonoda S., Tajima K., Watkins D. and Klein J.: Polymorphism of the HLA-DRB1 locus in Colombian, Ecuadorian, and Chilean Amerinds. *Human Immunology* 54 (1): 74-81, 1997.
7. Iha, H., Takimoto, M., Danjoh, I., and Fujiyama, A.: Identification and characterization of a novel trans-membrane protein gene, *pdh1*, from *Schizosaccharomyces pombe*. (1997) *DNA Research*, 4, 393-396.

8. Tenzen T, Yamagata T, Fukagawa T, Sugaya K, Ando A, Inoko H, Gojobori T, Fujiyama A, Okumura K, Ikemura T: Precise switching of DNA replication timing in the GC content transition area in the human major histocompatibility complex. (1997) *Mol. Cell. Biol.*, **17**, 4043-4050.
9. Yoshikawa, H., Nagai, H., Oh K.S., Tamai, S., Fujiyama, A., Nakanishi, T., Kajiyama, G., and Matsubara, K.: Chromosome Assignment of Aberrant *NotI* Restriction DNA Fragments in Primary Hepatocellular Carcinoma. (1997) *Gene*, **197**, 129-135.

## (2) その他

1. 宝来 聡: ミトコンドリアDNAからみた日本人, SUT BULLETIN 14(4), 27-30 東京理科大学出版会, 1997
2. 宝来 聡: ミトコンドリアの遺伝学, ミトコンドリア病 (塾中征哉・後藤雄一 編) pp. 52-73, 医学書院, 1997
3. 宝来 聡: DNA人類進化学, 岩波科学ライブラリー(52)120頁, 岩波書店, 1997
4. 檀上稲穂, 藤山秋佐夫 分担執筆: 病理と臨床(1997), 15, pp3.
5. 藤山秋佐夫 分担執筆: 二次元電気泳動によるゲノムスキニング法, シリーズ・ニューバイオフィジックス「ヒューマンゲノム計画」(金久 實編), 1997, 共立出版
6. 藤山秋佐夫: 第2回ヒトゲノムシークエンシングストラテジー国際会議, (1997) 蛋白質核酸酵素, **42**, 1896-1898.
7. 藤山秋佐夫: ゲノムリソースの作成とゲノム生物学への適用, (1997) 蛋白質核酸酵素, **42**, 2742-2747.

## (3) 発表講演

1. Imamura, T.: Efficient selection of cDNA fragments encoded in human chromosome 18 DNA. The Fifth International Workshop on Human Chromosome 18. Johns Hopkins University, Baltimore, November, 1997.
2. 宝来 聡: ミトコンドリアDNAからみた日本人の成立. 第3回地域医療研究センターセミナー「沖縄とは, その起源と成立-歴史学, 民族学医学, 人類学の視点から-」琉球大学医学部公開講座, 那覇, 3月.
3. 宝来 聡: 遺伝子からみた日本人の起源. インターカレッジ文化講座「ユーラシアンフォーラム」, 東京, 4月.
4. Horai S.: Mitochondrial DNA and human evolution. Lecture series on network and evolution of molecular information. Mishima, May.
5. 宝来 聡, 藤田裕治, G. Fucharoen, S. Fucharoen, S. Maruzuki, 十字猛夫, 徳永勝士: 東南アジア集団におけるミトコンドリアDNAの多型解析. 日本人類遺伝学会第42回大会, 神戸, 10月.

6. 宝来 聰: DNAからみた人類進化. 総合研究大学院大学先端科学研究科生命体科学専攻オープンカレッジ, 葉山, 10月.
7. 宝来 聰: ミトコンドリアDNA多型からみた日本人およびアジア諸集団の遺伝的關係. シンポジウム「遺伝子から見た日本人」, 第51回日本人類学会大会, つくば, 11月.
8. 宝来 聰: ミトコンドリアDNAを指標とした人類の分子進化解析. 第3回動物遺伝育種シンポジウム「動物ゲノム解析と新たな家畜育種戦略」, 宇都宮, 11月.
9. Horai S.: Mitochondrial DNA polymorphism in East Asian populations. Seminar at Institute of Medical Biology, Chinese Academy of Medical Sciences, Kunming, China, November.
10. Danjoh, I. and Fujiyama, A.: Human Genome Resource at National Institute of Genetics. Cold Spring Harbor Meeting on genome sequencing and mapping, Cold Spring Harbor, May.
11. 檀上稲穂, 榊 佳之, 藤山秋佐夫: rasシグナル伝達経路の下流に位置する遺伝子発現ネットワークの解析. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.
12. 檀上稲穂, 朴 洪石, 増島 恵, 遠藤光子, 藤山秋佐夫: 染色体特異的ゲノムリソースの整備とそれを用いたゲノムの構造解析. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.
13. Akutsu, T., Ohyama, A., Kanaya, K., and Fujiyama, A.: Development of a Spot Matching Module in Image Analysis System DDGEL for 2D Gel Electrophoresis. Genome Informatics 1997, Tokyo, December.

#### E-b. 育種遺伝研究部門

育種遺伝研究部門の課題は植物育種の基礎的研究であるが、育種とは人間の管理下における小進化であるとの認識から、長年イネを用いて進化の遺伝的機構の解明にとり組んできた。本年も昨年に引続き、教授森島(沖野)啓子と助手才 宏偉が中心になり、特別共同利用研究員秋本正博(北大大学院)が加わって、研究を進めてきた。また中国安徽省農科院研究員張培江がUNDPの奨学金を得て来日し、7月から6カ月間研究に参加し、ハイブリッドライスに関する研究を行った。また従来通り、妹尾治子技官をはじめ多数の人達の支援を得た。

本年、経常研究費以外に補助を受けた主な研究費は、文部省科研費の基盤研究B「イネの進化・適応に関わる遺伝子ネットワークの解析」(代表・森島)、基盤研究A「科学研究者の環境に関する調査研究—男女比較を中心に」(代表・原ひろ子, 分担・森島)、総研大グループ研究「生命体の科学」(代表・高畑尚之, 分担・森島)などである。

当研究所の共同研究としては以下の5件を実施した。「*Oryza*属におけるトウモロコシ Mutator トランスポゼース相同性領域の進化的研究(弘前大・石川隆二)」、「イネの形態形成を制御する遺伝子の単離とその解析(東大・平野博之)」、「イネ属植物の種分化に関す

る研究(北大・阿部 純)、「野生イネ集団の遺伝構造の解析(京産大・米澤勝衛)」。また2件の研究集会「危機環境下における育種と遺伝資源(静大・佐藤洋一郎)」、「多様な環境における植物の遺伝的適応：植物生態遺伝学の展望(岐阜大・古田喜彦)」を当部門がお世話した。

国外における活動としては、1月に米国サンディエゴで開催された植物・動物ゲノム会議にオが出席し発表した。また4月～5月に森島は秋本と共にパラガイ・アルゼンチンの野生イネの生態遺伝学的調査を行った。これは石田科学財団の援助による「アルゼンチンを国際的拠点とする環境配慮型持続的農業の調査研究」の一環である。9月にオ・秋本は韓国で開催された第8回SABRAO国際会議に参加しそれぞれ発表を行った。さらに10月に中国南昌で開かれた第2回国際農業考古シンポジウムに、森島・オ・秋本が出席し、それぞれ発表を行った。

本年進展のあった主な研究は以下の通りである。

(1) イネの栽培化に関わる量的形質遺伝子座とそのネットワーク：オ 宏偉・森島啓子  
イネの栽培化に伴って変化した形質の大部分は量的形質であって、それらを支配する遺伝子の同定は従来の方法では不可能であった。私達はイネゲノムプロジェクトで開発された多数のRFLPマーカーとの連鎖解析からイネの進化・適応に関わる量的形質遺伝子座(QTL)をマッピングすることを計画した。昨年に引続き栽培イネ×野生イネの交雑に由来するRecombinant Inbred(RI)集団を調査し、118系統の32形質、140マーカーのデータに基づいてQTL解析を行った。得られた主な結果は次の通りである。

1) 140ヶのRFLPとアイソザイムマーカーを12本の染色体上に位置づけマップを作成した。RI系統では、大部分のマーカーにおいてインド型栽培イネ由来の遺伝子が過剰に分離していたが、野生イネ由来の遺伝子が多い領域も存在した。

2) 解析ソフトqGENEを用いて連鎖分析をしたところ、LOD 2.4以上の信頼性を示すQTLは20形質の計129個が見出された。それらの一つづつは効果は小さく、特定の形質に関与する複数のQTLは異なる染色体に広く分布しており、栽培化は小さい突然変異が徐々に累積して進行したゆるやかな過程と考えられた。

3) しかし染色体上のQTLの分布は一様ではなく、異なる形質のQTLが第1, 3, 6, 9, 11染色体上の特定の領域に集中して存在する傾向が認められた。それらは共通適応的な遺伝子作用を示すセット(脱粒性と休眠性が強く、芒が長い、など)であった。この遺伝子群形成の機構は明らかでないが、“Adaptive gene block”とも呼べる遺伝子クラスターの存在が示唆された。

4) 野生型と栽培型の最も本質的な差である脱粒性および種子休眠性に関してQTLが検出できた。脱粒性は2年間のデータを対数変換して解析したところ、両年共通して第4と第8染色体上に検出され、その他3ヶが1年だけに見出された。休眠性に関しては6つの異なる条件で発芽試験を行った結果を解析したところ、強い効果を持つ3つの遺伝子座が第5, 6, 11染色体上に見出された。その他初に原因する休眠、内在的な休眠など異なる要因に関係すると思われるQTLも見出された。それらの間には相互作用も検出できた。

5) 植物の生存にとって重要な性質である開花期の決定因子を探るために、同じRI系統を自然日長(長日)と短日処理条件下で栽培したときの出穂日を調査した。出穂日に関しては4ヶ、基本栄養成長性に関しては7ヶ、感光性に関しては1ヶのQTLが検出できた。交配親の野生イネは高緯度原産で感光性は野生イネとしては弱く、この材料での早晩性の主な原因は基本栄養成長相の差と思われた。

6) 交配親の野生イネは日本型栽培イネと似た形質や遺伝子を持っているため、RI系統の間ではインド型/日本型の判別形質も分離していた。従来、栽培イネのインド型・日本型判別に用いられてきたKClO<sub>3</sub>抵抗性、桴毛長、発芽速度、低温抵抗性、穂首と最下段枝梗までの距離のうち、前3者はそれぞれ15ヶ以上のQTLが検出され、その多くは3形質のQTLが染色体の同じ場所に位置づけられた。それらの遺伝子作用の方向はいずれも日本型/インド型の特徴的形質組合せと一致しており、多面的な効果を持つ基本的な遺伝子が多数存在することが示唆された。

(2) *Oryza* 属 AA ゲノム野生種の種間、種内変異性：秋本正博・島本義也・森島啓子

世界の熱帯、亜熱帯地方にはAAゲノムを共有する2倍体野生イネ5種が分布している。アジアの*Oryza rufipogon*、オーストラリアの*O. meridionalis*、アメリカの*O. glumaepatula*、そしてアフリカの*O. longistaminata*と*O. barthii*である。このうち*O. rufipogon*と*O. barthii*は、それぞれ栽培イネ*O. sativa*と*O. glaberrima*の祖先種として位置づけられている。これら近縁野生種は、育種上有用な遺伝資源として広く用いられているが、その種内変異性、および種間の系統分化関係については不明な点が多い。また5種が単系発生的なものなのか、多系発生的なものなのかについても定かではない。本研究ではこれらの種内、種間の分化の様相の解明を目的とし、合計160のAAゲノム野生イネ系統について、表現型、アイソザイム、mtDNA多型の調査を行った。

20形質の調査結果を解析したところ、全系統は大きく、他殖多年生型、自殖一年生型およびその中間型の3つのグループに分類された。*O. longistaminata*の系統は他殖多年生型に、*O. meridionalis*と*O. barthii*の系統は自殖一年生型にそれぞれ属した。*O. rufipogon*と*O. glumaepatula*では種内分化が生じており、他殖多年生型、自殖一年生型、中間型のすべての型が認められた。

アイソザイム分析の結果では、各種は各々固有の遺伝子型を分化していることがわかった。5種の間には生殖的隔離があり、どの組合せの雑種後代も高い雄性不稔を示す。種間の遺伝子流動の程度は低いものと考えられる。

mtDNAのRFLP分析の結果、表現型で他殖多年生型を示した系統は種とは無関係に一つのグループに、自殖一年生型を示した系統は種ごとに独立したグループに、それぞれ分類された。

AAゲノム野生イネは大きく他殖多年生型と自殖一年生型に、自殖一年生型はさらに小さいグループに分類することができると考えられる。*O. rufipogon*と*O. glumaepatula*は他殖多年生型から自殖一年生型にいたる広い種内分化を示した。またmtDNAについても同様に種内分化を示した。この2種の系統はそれぞれ複数の祖先種型から多系的に分化した可能

性が示唆される。結果の一部を文献6に発表した。

(3) 酸性PAGEによって検出されたイネ貯蔵蛋白の遺伝子座：才 宏偉・森島啓子

イネでは4種の貯蔵蛋白質のうち、グルテリン・プロラミンについては詳しく研究されているが、残りの2つアルブミン・グロブリンについてはあまり研究が進んでいない。私達は酸性PAGEの方法で効率的にイネのアルブミン・グロブリンの変異が検出できることを見出し、遺伝子座の同定を行った。

0.05MのNaClと20%のサッカロースから成る抽出液を使って検出できるバンドは十数本あったが、このうちはっきりした遺伝子座が確認できたのは3つ(APAGE1, 2, 3)であった。最も多型的なAPAGE1では4つの対立遺伝子が見出され、アレル1は日本型イネに、アレル2はインド型イネに高頻度で存在した。アレル3は多年生野生イネに多く、栽培イネではごく稀であった。一年生野生イネはすべてインド型イネと同じ、アレル2を持っていた。2つのRI集団でAPAGE1のアレルの1:1の分離を確認した。さらに、110ヶのRFLP マーカーとの共分離を分析したところ、この遺伝子座は第5染色体上にあることがわかった。

従来イネの変異研究でよく用いられてきた遺伝子マーカーは、日本型・インド型を区別できるマーカーは多数あるが、野生イネと栽培イネ、あるいは野生イネの一年生型と多年生型の間で差を示すマーカーほとんどなかった。今回見出されたAPAGE1はイネの系統分化の研究に有用なマーカーとなろう。詳細は文献5に発表した。

## 研究業績

(1) 原著論文

1. Suh H.S., Sato Y.I. and Morishima H.: Genetic characterization of weedy rice (*Oryza sativa* L.) based on morpho-physiology, isozymes and RAPD markers. *Theor Appl Genet*, **94**, 316-321, 1997.
2. 湯 陵華, 森島啓子: 雑草イネの遺伝的特性とその起源に関する考察. *育雑*, **47**, 153-160, 1997.
3. Kohn J.R., Leyva N., Dossey R., Paredes O., Sobral B. and Morishima H.: Quantitative trait locus analysis of trait variation among annual and perennial ecotypes of *Oryza rufipogon*. *Int. Rice Res. Notes*, **22**(2), 4-5, 1997.
4. Cai H.W. and Morishima H.: Indica-Japonica differentiation of Bangladesh rice cultivars detected by isozyme analysis. *Rice Genet. Newsletter* **14**, 29-30, 1997.
5. Cai H.W. and Morishima H.: New storage protein genes detected by Acidic Formate-PAGE method. *Rice Genet. Newsletter* **14**, 76-78, 1997.
6. Akimoto M., Shimamoto Y. and Morishima H.: Genetic differentiation in *Oryza glumaepatula* and its phylogenetic relationship with other AA genome species. *Rice Genet. Newsletter* **14**, 37-39, 1997.

(2) その他

1. 森島啓子:イネ科植物の種生物学研究をふりかえる. 種生物学研究, **20**, 33-40, 1996.
2. 森島啓子:生物多様性が人類にもたらすもの. 林木の育種, **184**, 22-25, 1997.
3. 森島啓子:フィールドと実験室の間—アフリカ・イネの旅—. 交流, **45**, 22-25, 1997.

## (3) 発表講演

1. Cai H.W. and Morishima H.: Analysis of quantitative trait loci (QTL) underlying rice domestication. The Int. Conf. on the Status of Plant & Animal Genome Res., San Diego, USA, January.
2. 才 宏偉, 森島啓子:アジア一年生型野生イネの地理的分化. 日本育種学会第91回講演会, 東京, 3月.
3. 秋本正博, 島本義也, 森島啓子:中南米に分布する野生イネ (*Oryza glumaepatula*) の生態型分化とその分布. 日本育種学会第91回講演会, 東京, 3月.
4. 森島啓子:交配様式と自殖弱勢・他殖弱勢. 日本育種学会第91回講演会, 東京, 3月.
5. 森島啓子:生物多様性は人類に何をもちたらすか. 林木育種40年記念, 「みどり豊かな地球環境の創造」シンポジウム, —21世紀の森づくりに向けて—, 東京, 7月.
6. Cai H.W. and Morishima H.: Analysis of quantitative trait loci (QTL) underlying rice domestication. The 8th SABRAO General Congress, Seoul, Korea, September.
7. Akimoto M., Shimamoto Y. and Morishima H.: Extinction of wild-rice genetic resources: a case study in Thailand. The 8th SABRAO General Congress, Seoul, Korea, September.
8. Morishima H.: Genetic difference between wild and cultivated rice. 2nd Int. Conf. Agr. Archaeology, Nanchang, China, October.
9. Cai H.W., Wang X. and Morishima H.: Genetic diversity of Asian common wild rice *Oryza rufipogon*. 2nd Int. Conf. Agr. Archaeology, Nanchang, China, October.
10. Akimoto M.: Genetic erosion of wild rice caused by introgression with cultivated rice and destruction of habitats. 2nd Int. Conf. Agr. Archaeology, Nanchang, China, October.
11. 才 宏偉, 森島啓子:酸性PAGEによって検出された蛋白質遺伝子座の同定. 日本種学会第92回講演会, 鳥取, 10月.
12. 森島啓子, 才 宏偉:栽培イネのインド型・日本型判別形質のQTL解析. 日本育種学会第92回講演会, 鳥取, 10月.
13. 秋本正博, 島本義也, Ando A., 森島啓子:新大陸における *Oryza* 属の分布と変異性. 日本育種学会第92回講演会, 鳥取, 10月.
14. 森島啓子:野生イネにおける自殖弱勢・他殖弱勢. 日本遺伝学会第69回大会, 横浜, 11月.

## E-c. 応用遺伝研究部門

1. ミトコンドリアDNAのRFLPにより示された日本に自生する野生ダイズの遺伝構造と地理的クライン：島本義也

日本に自生する野生ダイズ(*Glycine soja*, 栽培ダイズの祖先種と考えられている)の集団の遺伝構造と地理的分化を明らかにするために、各地から収集した1097個体を供試し、ミトコンドリアDNAのRFLPを調査した。多型が検出された2種類の制限酵素と2種類の遺伝子プローブのRFLPから、18種類の型が識別されたが、主な5種類で全体の94%を占めた。各地域で観察される日本の優占型I-cは、南部の地域で優占し、北部の地域では低頻度であった。次に多く観察される型IV-aは、北海道で優占し、南部の地域では低頻度であった。IV-aは中国北部と韓国で優占する型で、中国北部に起源したと思われる。I-cは中国では全く観察されず、韓国で若干観察されるのみであり、日本の南部で分化した型と思われる。野生ダイズの集団はいくつかの型の混合であり、時には、採取地点内でも多型が示され、各地域のミトコンドリアゲノムの多様性は東北と本州中央部が高かった。また、栽培ダイズで高頻度で観察される型IV-bを持つ個体が北海道以外の地域において低頻度で観察され、栽培ダイズと野生ダイズの浸透交雑が示唆される。詳細は文献3に示した。

2. 中国に自生する野生ダイズの細胞質ゲノムにおける遺伝的多様性、地理的分化および進化：島本義也

中国に自生する野生ダイズ(*Glycine soja*)の細胞質ゲノムを評価するために葉緑体とミトコンドリアDNAのRFLPを調査した。中国における野生ダイズの分布が知られている全域から収集した753個体のRFLP像から、葉緑体において2種類の型(cpII, cpIII)が、ミトコンドリアにおいて14種類の型(mtI-e, mtII-g, mtII-m, mtII-n, mtII-c, mtIV-a, mtIV-b, mtIV-c, mtIV-d, mtIV-h, mtV-a, mtV-b, mtV-e, mtV-f)が識別された。葉緑体の両型は中国全域に分布するが、cpIIIが、全体の70%以上を占め、南部以外の地域で優占し、cpIIが南部地域で優占した。ミトコンドリアにおける優占型mtIV-aは、東北地域と黄河流域で優占し、葉緑体の優占型cpIIIと結びついており、また、mtIV-aに次いで多く観察されるmtIV-bは、南部地域で優占し、cpIIと結びついていた。同様に、mtV-a/cpIIIが南部以外の地域で、mtV-b/cpIIが長江流域と南部地域で観察されるが、-a/cpII, または、-b/cpIIIは観察されなかった。このことは、ミトコンドリアゲノムの-aと-bの分化は、葉緑体ゲノムの分化と同時に、または、分化後に確立したことを示唆している。長江流域は、稀な型であるmtII-gとmtIV-hを除いて、全ての型が観察され、葉緑体およびミトコンドリアの両ゲノムとも最も多様性が高く、中国の野生ダイズの細胞質ゲノムの変異の中心であった。詳細は文献4に示した。

3. ゲノムインプリンティングに関する分子遺伝学的研究：佐々木裕之<sup>1</sup>(<sup>1</sup>九州大学遺伝情報実験施設)

当部門では哺乳類の父・母由来対立遺伝子に発現レベルの差異を与えるゲノムインプリンティングの機構と進化の理由を分子遺伝学的に研究している。インプリンティングは哺乳

乳類の発生に重要で、種々の癌や遺伝病の原因と関連している。本年度にはおもに、配偶子形成過程におけるインプリント賦与機構、およびインプリントに基づく遺伝子発現調節機構について研究し、以下の成果をあげた。

マウス第7染色体上にある5つのインプリンティング遺伝子を含むドメインについて、(1) このドメインを含む1MbをカバーするYACコンティグを作成し、これからコスミドのサブライブラリーを作成した。現在物理地図とコスミドコンティグの作成を進めている。(2) H19遺伝子下流約40kbに位置するL23mrp遺伝子を単離し、この遺伝子がインプリンティングを受けないこと、上流の3つの遺伝子(Ins2/Igf2/H19)のインプリンティングに関わるエンハンサーの制御を受けないことを示し、これからドメインの境界がある可能性を指摘した(原著論文1)。(3) この境界を含むと考えられるH19/L23mrp領域約40kbの完全な塩基配列を決定した(投稿準備中)。(4) Igf2の3つのプロモーターがエンハンサー依存的に一括して制御されることを示し、ここでもドメインレベルの調節が作用する点を指摘した(原著論文4)。(5) Igf2領域にインプリンティングを受ける新たなセンス・アンチセンス転写物を発見した(原著論文3)。(6) H19の上流で父・母由来対立遺伝子を区別するマーク(インプリント)として働くDNAメチル化の違いが、雌雄の配偶子形成過程のどの時期に成立するのか明らかにした。また前の世代のインプリントを消去する時期も特定した(投稿中)。(7) 多くのインプリンティング遺伝子に共通な性質として、培養線維芽細胞における静止期特異的発現上昇を発見した(原著論文2)。これはインプリンティングの進化・機構を探る手がかりとなる可能性がある。(8) 遺伝子のマーカーとなるCpGアイランドを同定する簡便な方法を開発し、実際にこの方法で新規の遺伝子を発見できることを示した(投稿準備中)。この方法を新たなインプリンティング遺伝子同定に応用する予定である。

## 研究業績

### (1) 原著論文

1. Abe J., Guan G. and Shimamoto Y.: A gene complex for annual habit in sugarbeet (*Beta vulgaris* L.). *Euphytica*, **94**, 129-135, 1997.
2. Abe J., Guan G. and Shimamoto Y.: A marker-assisted analysis of bolting tendency in sugarbeet (*Beta vulgaris* L.). *Euphytica*, **94**, 137-144, 1997.
3. Tozuka A., Fukushi H., Hirata T., Ohara M., Kanazawa K., Mikami T., Abe J. and Shimamoto Y.: Composite and clinal distribution of *Glycine soja* in Japan revealed by RFLP analysis of mitochondrial DNA. *Theor Appl Genet*, **96** (in press), (1998).
4. Shimamoto Y., Fukushi H., Abe J., Kanazawa A., Gao Z., Xu D. and Gai J.: Genetic diversity, geographical differentiation and evolution in the cytoplasmic genome of the wild soybean, *Glycine soja*, growing in China. *Genetic Resources and Crop Evolution*, **45** (in press), (1998).
5. Zubair, M., Hilton, K., Saam, J.R., Surani, M.A., Tilghman, S.M. & Sasaki, H.: Structure and expression of the mouse L23mrp gene downstream of the imprinted

H19 gene: biallelic expression and lack of interaction with the H19 enhancers. *Genomics* **45**, 290-296, 1997.

6. Hayashida, T., Eversole-Cire, P., Jones, P.A. & Sasaki, H.: Imprinted genes are up-regulated by growth arrest in embryonic fibroblasts. *J. Biochem.* **122**, 901-903, 1997.
7. Moore, T., Constanica, M., Zubair, M., Bailleul, B., Feil, R., Sasaki, H. & Reik, W.: Multiple imprinted sense and antisense transcripts, differential methylation and tandem repeats in a putative imprinting control region upstream of mouse *Igf2*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **94**, 12509-12514, 1997.
8. Hatano, N., Eversole-Cire, P., Ferguson-Smith, A.C., Jones, P.A., Surani, M.A. & Sasaki, H.: Enhancer-dependent, locus-wide regulation of the imprinted mouse insulin-like growth factor II gene. *J. Biochem.* (in press).

(2) その他

1. 加藤玲子, 佐々木裕之: DNA(cytosine-5)-methyltransferase. *Molecular Medicine*34(臨時増刊号)ノックアウトマウス・データブック, 141-142(1997)
2. 波多野直哉, 佐々木裕之: ゲノム刷込みと哺乳類の胚発生. 蛋白質・核酸・酵素(印刷中)

(3) 発表講演

1. 島本義也, 高 忠, 阿部 純: ダイズ中国在来種のオルガネラゲノムの多型とその特徴. 日本育種学会第91回講演会発表, 東京, 3月.
2. Shimamoto Y., Tominaga Y., Sato M. and Mikami T.: Mitochondrial genome polymorphism in *Lolium perenne*. XVIII International Grassland Congress. Winnipeg and Saskatoon, Canada, June.
3. Shimamoto Y., Tozuka A., Yamamoto M., Ohara M. and Abe J.: Polymorphism and differentiations of cytoplasmic genome in wild soybean growing in Korea. The 8th SABRAO General Congress, Seoul, Korea, September.
4. 島本義也, 福士泰史, 阿部 純: 飼料用ダイズ(オオバツルマメ)の細胞質ゲノムの特徴. 日本育種学会第92回講演会発表. 鳥取, 10月.
5. 植田孝之, Mohamad Zubair, 丹羽勝利, 野口基子, 河野友宏, 高木信夫, 松田洋一, 藤本弘一, 城石俊彦, 森脇和郎, 芝田英生, 林崎良英, 佐々木裕之: H19遺伝子の生殖細胞におけるメチル化インプリント機構. 第14回染色体ワークショップ, 神戸, 2月, 1997.
6. 大野みずき, 天前豊明, 佐々木裕之, 池村淑道: ヒト染色体DNAの核内配置を決めるシグナルの探索: セントロメア・テロメアならびにバンド境界領域に存在する構造を中心にして. 第14回染色体ワークショップ, 神戸, 2月.
7. 加藤玲子, 佐々木裕之: ゲノムDNAおよびクローン化DNA中のCpGアイランドの簡便

- な検出法. 第14回染色体ワークショップ, 神戸, 2月, 1997.
8. Mohamad Zubair, M. Azim Surani, Shirley M. Tilghman, 佐々木裕之: マウスL23mrp 遺伝子とエンハンサーとの相互作用の欠如: インプリンティングを受けない理由か? 第14回染色体ワークショップ, 神戸, 2月, 1997.
  9. 佐々木裕之: ゲノムインプリンティングの機構と関連疾患. 第4回血液の分子病態研究会, 京都, 3月, 1997.
  10. 武田裕彦, 巖佐 庸, 佐々木裕之: ゲノムインプリンティングの数理モデル: 差次的増殖因子発現の論理. 日本発生生物学会第30回大会, 筑波, 5月, 1997.
  11. Ueda, T., Zubair M., Niwa, K., Noguchi, M., Kawase, Y., Kono, T., Matsuda, Y., Fujimoto, H., Shibata, H., Hayashizaki, Y. & Sasaki, H.: A paternal-specific methylation imprint of the mouse H19 gene is established prior to meiosis. BSDB Autumn Symposium on Genomic Imprinting-Its Role in Development and Disease, Cambridge, September, 1997.
  12. Zubair, M., Hilton, K., Saam, J.R., Surani, M.A., Tilghman, S.M. & Sasaki, H.: Structure and expression of the mouse L23mrp gene downstream of the imprinted H19 gene: biallelic expression and lack of interaction with the H19 enhancers. BSDB Autumn Symposium on Genomic Imprinting-Its Role in Development and Disease, Cambridge, September, 1997.
  13. Hatano, N., Eversole-Cire, P., Saam, J.R., Ferguson-Smith, A.C., Jones, P.A., Tilghman, S.M., Surani, M.A. & Sasaki, H.: Enhancer-dependent, locus-wide play a major role in the regulation of the mouse insulin-like growth factor II gene. BSDB Autumn Symposium on Genomic Imprinting-Its Role in Development and Disease, Cambridge, September, 1997.
  14. Moore, T., Constanica, M., Zubair, M., Bailleul, B., Feil, R., Sasaki, H. & Reik, W.: A tissue-specific imprinting control region upstream of mouse Igf2. BSDB Autumn Symposium on Genomic Imprinting-Its Role in Development and Disease, Cambridge, September, 1997.
  15. 佐々木裕之: ゲノムインプリンティング機構に関する分子遺伝学的研究. 日本人類遺伝学会第42回大会(人類遺伝学会奨励賞受賞講演), 神戸, 10月, 1997.
  16. 佐々木裕之: ゲノムインプリンティングの機構と胚発生. 第15回絨毛疾患研究会(特別講演), 熊本, 11月, 1997.
  17. 加藤玲子, Mohamad Zubair, 水野晋一, 石原 宏, 小出 剛, 筒井 研, 佐々木裕之: マウス第7染色体F4/F5領域のインプリンティングドメインのゲノム構造. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月, 1997.
  18. 波多野直哉, Pamela Eversole-Cire, Jennifer R. Saam, Anne C. Ferguson-Smith, Peter A. Jones, Shirley M. Tilghman, M. Azim Surani, 佐々木裕之: マウスインスリン様成長因子 II 遺伝子座全体に働くエンハンサー依存的な発現制御機構. 第20回日本

分子生物学会年会, 京都, 12月, 1997.

19. 石原 宏, 加藤玲子, 古海弘康, Mohamad Zubair, 陣野吉広, 佐々木裕之: インプリンティングを受けるマウスH19遺伝子領域約40kbの構造と新しい転写単位の同定. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月, 1997.
20. 芝田英雄, 植田孝之, 神谷 守, 依田賀香, 吉木 淳, 日下部守昭, 加藤玲子, 佐々木裕之, 砂原昭一, 勝木元也, C. Plass, W. A. Held, 村松正実, 林崎良英: マウスインプリント遺伝子U2afp-rs/U2af1-rslの遺伝的に制御されたメチル化変化. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月, 1997.
21. 大野みずき, 天前豊明, 山形哲司, 佐々木裕之, 池村淑道: ヒト間期核内での染色体DNAの配置を決める分子機構; 三重鎖を含む特殊DNA構造の関与について. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月, 1997.
22. 植田孝之, Mohamad Zubair, 丹羽勝利, 野口基子, 川瀬洋介, 河野友宏, 松田洋一, 藤本弘一, 高木信夫, 芝田英生, 林崎良英, 佐々木裕之: マウスH19遺伝子の父親特異的メチル化インプリンティングは減数分裂以前に確立する. 第20回日本分子生物学会年会(ワークショップ: ゲノムインプリンティング研究の最近の進歩), 京都, 12月, 1997.

## F. 系統生物研究センター

(旧) 遺伝実験生物保存研究センターは改組されて平成9年4月から系統生物研究センターと生物遺伝資源情報総合センターとなり, 系統生物研究センターは動植物・微生物の遺伝学的系統を用いた活発な研究と系統の開発・保存事業を行うセンターとしての新たな発展を目指している. また系統生物研究センター棟の増築と大幅改修が行われてセンター所属の研究室が一箇所に集まり研究室間の交流を促進することになった. 新しい研究室名と各研究グループを構成する教官名は次のようである. 哺乳動物遺伝研究室(城石俊彦助教授, 小出 剛助手), 発生工学研究室(中辻憲夫教授, 白吉安昭助手, 9月に着任した斎藤哲一郎助手), 植物遺伝研究室(倉田のり助教授, 伊藤幸博助手, 実験園場所属の野々村賢一助手), 原核生物遺伝研究室(西村昭子助教授), 無脊椎動物遺伝研究室(林 茂生助教授, 後藤 聡助手).

### F-a. 哺乳動物遺伝研究室

平成9年4月から研究室名が哺乳動物遺伝研究室に改称された. この研究室では, 野生マウス集団を含む様々な遺伝子資源から生物機能に関する特色ある遺伝子を導入して新しい実験系を開発し, 独自の研究を展開した. 「相同染色体間組換え機構の研究」, 「マウスゲノム解析」, 「形態形成機構の遺伝学的研究」については, 昨年度に引き続き研究を継続して行った. 今年度は, 新たに「マウス行動遺伝学」の研究を開始した. これらの研究で

は、いずれも野生マウス由来の遺伝子の特性が有効に利用された。

平成9年4月から、榊屋啓志氏が、日本学術振興会特別研究員として研究に参加した。また、中外製薬(株)創薬開発研究所の福田達也氏が受託研究員として研究に参加した。昨年に引き続き総合大学院大学遺伝学専攻としての教育・研究活動も進められ、石島淳子、磯部 拓、牧野 茂の3名が大学院に在籍し、佐藤 肇(東北大学大学院医学研究科)、清水邦彦(日本大学大学院歯学研究科)が特別研究生として研究に参加した。本研究室の本年度の共同研究には、米川博通(東京都臨床研)、山口泰典(福山大学)、宮下信泉(香川医大)、若菜茂晴(実中研)、前田正人(三島社会保険病院)、河野友宏(東京農大)、野口基子(静岡大学)、津金瑞代(札幌医科大学解剖)の8名が参加した。また、嵯峨井知子、内田紀久枝、浜田 俊(沼津学園)が外部から研究に参加した。

本研究室の海外における研究活動は次の通りである。城石助教授、佐藤 肇、嵯峨井知子の3名は、10月12日から10月16日まで合衆国セントピーターバーグ市で開催された第11回国際マウス・ゲノム・カンファレンスに参加し研究発表を行うと共に各国の研究者との情報交換を行った。

マウス系統の維持分譲事業としては、「系統保存事業費」及び文部省が重点研究「実験動物委員会」(山村研一委員長)の援助を受けた。平成9年12月現在、88系統のマウスを当センターの第1ネズミ飼育舎において維持・保存している。これらの系統については、実験動物中央研究所モニタリングセンターに依頼して、定期的に遺伝学および微生物学的モニタリングを行っている。また、「系統保存事業費」により、薩川美代子と水品洋一の二名が日本クレア株式会社から派遣され、主にマウス受精卵の凍結保存を担当した。現在、合計220系統、51704個の2細胞期胚が凍結保存によって維持されている。この内、昨年度は、67系統、11714個の受精卵の凍結保存を行った。上記の系統は、国内外の大学・研究機関からの依頼に対応して分譲供与を行った。平成9年3月に、ネズミ付属棟のマウス系統の一部に *Pasteurella pneumotropica* の感染が認められた。このため全系統を第1ネズミ飼育舎に移し、凍結胚を使った清浄化を開始した。

#### (1) マウス減数分裂期相同染色体間組換え機構

(a) MHCクラスII領域における *Pb* ホットスポットの構造解析：磯部 拓、吉野正康<sup>1</sup>、K. Fischer Lindawl<sup>1</sup>、小出 剛、水野健一<sup>2</sup>、森脇和郎<sup>3</sup>、城石俊彦(<sup>1</sup>Univ. Texas, <sup>2</sup>理化学研究所, <sup>3</sup>総研大)

マウス主要組織適合抗原複合体(MHC)のクラスII領域では、減数分裂期における相同染色体組換えの切断点が、塩基配列レベルで組織的に調べられている。そこでは組換えは任意に起こるのではなく、特定のホットスポットと呼ばれる部位で高頻度に組換えを起こすことが知られている。クラスII領域においては、4つのホットスポットの報告がある。その中の *Pb* 遺伝子近傍にあるホットスポットの領域は、15KbpのDNA断片に含まれることが分かっている。その15KbpのDNA断片に関して、制限酵素地図を詳細に作製した。この地図を基に、この領域での組換え体6個体を解析したところ、5個体の組換え体の組換え切断点が、2.4KbpのDNA断片に含まれていることが分かった。その領域の塩基配列を決定し、

他の塩基配列との相同性を検索したところ、ホットスポット領域のテロメア側の約400bpは、ラットのトランスメンブレンを含む*Pb*遺伝子領域と強い相同性を示した。したがって、このホットスポット領域は*Pb*遺伝子の中、あるいは3'側に存在することが示唆された。組換えのホットスポットとその近傍の遺伝子の相対的位置関係を調べたとき、出芽酵母においては、そのほとんどが遺伝子の5'側に位置する事が知られている。それに対して、マウスMHCクラスIIにおける4つのホットスポットは、出芽酵母の場合と異なり、遺伝子の中か、もしくは3'側に存在することが明らかとなった。

## (2) マウスゲノム解析

(a) 発毛異常および角膜混濁を示すマウス突然変異体*Rim3*の責任遺伝子の探索: 佐藤 肇, 小出 剛, 榊屋啓志, 若菜茂晴<sup>1</sup>, 嵯峨井知子, 梅澤明弘<sup>2</sup>, 城石俊彦<sup>1</sup> (実験動物中央研究所 DNA 解析室, <sup>2</sup>慶應大学医学部病理学教室)

*Rim3*は、RIM系統由来の突然変異体であり発毛異常、角膜混濁を示す。この変異遺伝子(*Rim3*)は、以下の二種類の交配に基づく大規模な連鎖解析により第11番染色体上にマップされた。(C57BL/10-*Rim3* x MSM) x C57BL/10の交配では、cen ... *Mit145*-0.22cM -*Rim3*-0.07cM -*Mit14*, 124, 197となり、また、(C57BL/10-*Rim3* x JF1) x C57BL/10の交配ではcen ... *Mit145*-0.30cM -*Rim3*, *Mit14*, 197-0.15cM -*Mit124*という遺伝子地図が得られた。また、第11番染色体上のこの領域には*Rim3*と似た表現型を示す突然変異体 *Bsk* (bare skin), *Re<sup>den</sup>* (Rex denuded) が報告されている。*Rim3*と*Re<sup>den</sup>*に対して組織学的解析を施行したところ角膜においてはケラチン様物質の過形成、上皮の過重層、実質の肥厚および実質への炎症性細胞の浸潤と新生血管の進入、皮膚においては表皮の過重層、毛包数の減少が両変異体ともに認められ、*Rim3*と*Re<sup>den</sup>*は対立遺伝子である可能性が示唆された。また、変異した*Rim3*遺伝子の影響がいつ頃どのような細胞に現れるか発育段階を追って光顕的に観察したところ、角膜中央部の角膜上皮基底細胞が生後3カ月頃から正常では立方体型であるのに変異体では扁平化し、その後上皮細胞が過重層するよりも早く角膜実質層の肥厚が始まるのが認められた。また、皮膚では生後1週で表皮の過重層が認められ始め、この変化は生後1カ月でより明瞭となるが、この時期では毛包数の明らかな減少は認められなかった。このような組織学的解析の結果、*Rim3*遺伝子は上皮細胞の分化および増殖を制御する遺伝子であろうと示唆された。

*Rim3*の遺伝子座近傍にマップされている遺伝子のうち、*Krt1-10*, *Krt1-12*, *Grn*, *Jup*, *Rara*, *Grb7*を*Rim3*の候補遺伝子と考えた。*Krt1-10*, *Krt1-12*は上皮細胞の細胞骨格を形成するkeratinをコードしていて*Krt1-10*は表皮で*Krt1-12*は角膜上皮で発現している。*Grn*はのちにepithelin1とepithelin2にプロセスされるacrograninをコードしていて、epithelin 1はmurine keratinocytesの増殖を刺激し、epithelin 2はepithelin 1によって促進される細胞増殖を抑制する作用がある。*Jup*は上皮細胞における接着装置の細胞内蛋白をコードしていて、細胞接着装置の減少の反応で表皮細胞の過増殖がおこるとも考えられているので候補遺伝子とした。*Rara*はretinoic acid receptor alphaをコードしている。ビタミンAの欠損した状態で表皮細胞を培養した結果、最終分化は示すが上皮細胞の移動が減

少し上皮の表面から剥離する傾向が認められなかったという報告にもとづくと、ビタミンAの作用機構の破綻でも*Rim3*の表現型も起こり得ると考え候補遺伝子とした。*Grb7*はepidermal growth factor receptor に結合する細胞内アダプターであるgrowth factor receptor bound protein7をコードしている。

連鎖解析の結果、これら6つの候補遺伝子と*Rim3*遺伝子との間でいずれも組換え体が存在し、これらの遺伝子が責任遺伝子である可能性は低いことが示された(H. Sato et al, Mammal. Genome9, 20-25, 1998)。一方、*Rim3*遺伝子のフランキングマーカーである*D11Mit145, 14, 124, 197*を使用してResearch Genetics社のYAC(yeast artificial chromosome) genomic libraryをスクリーニングした結果、*Rim3*遺伝子を含むインサートサイズ約550kbのYACクローンを同定できた。今後は候補遺伝子アプローチとともに上記のYACクローンをを用いてcDNA selection法などによって*Rim3*の責任遺伝子を単離し、機能解析を行いたいと考えている。

(b) マウスケラチンtype1遺伝子(*Krt1*)のゲノム解析: 佐藤 肇, 小出 剛, 城石俊彦

ケラチンは中間径フィラメントに属し、上皮細胞における主な構造蛋白である。酸性のタイプIケラチンと中性および塩基性のタイプIIケラチンからなる異型二量体が基本単位となってフィラメントが形成される。マウスにおいて酸性のタイプIケラチンをコードしているマウスケラチンtype1遺伝子(*Krt1*)は、第11番染色体のセントロメアから58.0cMの位置に存在し、これはヒトのケラチンtype1遺伝子(*KRT1*)が存在する17q12-q21のシンテニク領域に相当する。ケラチンtype1遺伝子(*Krt1*)は少なくとも*Krt1-9*から*Krt1-19*まで存在することが予想されている。それらの遺伝子の発現は、組織特異的および分化特異的である。これらの遺伝子の転写活性機構および遺伝子間での相同性から予想されるケラチンtype1遺伝子(*Krt1*)の進化という点に興味を持ち、マウスケラチンtype1遺伝子のゲノム構成を解析した。ヒトの場合、*KRT15, 19*と*KRT14, 16, 17*のクラスターが5'-*KRT19-15-17-16-14-3'*の順番で、しかもヒトゲノムの55kbの領域に構成していることが報告されている(Milisavljevic et al. Genomics 34, 134-138, 1996)。一方、マウスの場合、5'-*Krt1-19-Krt1-15-Krt1-13-3'*の順番でその遺伝子間距離が約5-7kbであることが報告されている。今回、我々はC57BL/10Jマウスの背側皮膚の表皮から構築したcDNAライブラリーから2つの新規ケラチンcDNA(*Krt1-17, C29*)をクローニングし、既にクローニングされている他のマウスケラチンtype1遺伝子とともに*Rim3*遺伝子のマッピングに使用したDNAパネルを用いて*Krt1*の連鎖解析を行い、さらに*Krt1*を含むYAC(yeast artificial chromosome)のtruncationを用いてそれら遺伝子のおおよその物理的距離を解析した。その結果、マウスケラチンtype1遺伝子は、11番染色体上にcentromere-*C29-Krt1-10-Krt1-12-Krt1-13-Krt1-15-Krt1-19-Krt1-14-Krt1-17*-telomereの順番で位置し、*C29-Krt1-10-Krt1-12*はゲノムの約120kb以内、*Krt1-13-Krt1-15-Krt1-19-Krt1-14-Krt1-17*はゲノムの約250kb以内に構成されていることが明らかとなった。今後はさらに詳細な物理地図の作成、転写活性機構の解析、ケラチンtype1遺伝子(*Krt1*)の進化の解析と研究を進展させたいと考えている。

(c) NODマウスにおける糖尿病感受性遺伝子に関する研究 V: 若菜茂晴<sup>1</sup>, 伊藤 守<sup>1</sup>, 野

村達次<sup>1</sup>, 森脇和郎<sup>2</sup>, 城石俊彦<sup>1</sup>(<sup>1</sup>実験動物中央研究所, <sup>2</sup>総合研究大学院)

多因子疾患であるI型糖尿病(インシュリン依存糖尿病, IDDM)は、遺伝的要因と環境要因が複雑に絡んだ難病疾患であり、その原因遺伝子についての解析はヒトでは困難である。このモデル動物であるNOD系統においては糖尿病感受性遺伝子の研究が進んでおり、Major geneであるMHCについては分子レベルで構造が明らかにされている。しかし、糖尿病の様々な病態を解明して行くには、minor geneいわゆるmodifier geneを明らかにしていくことが重要であり、このためには個々の遺伝子についてコンジェニックマウス系統を作製して解析して行く方法が有効である。これまでNOD/Shiにおいては、各種系統との交配実験の結果からIdd1からIdd16までの糖尿病感受性遺伝子がマウスのゲノム上にマップされている。このうちIdd4は、NODとC57BL/6J-H-2g7との交配実験からマウス第11染色体上にマップされ発症時期をコントロールすると報告されている。我々はIdd4について詳細に解析を進めるため、日本産野生マウスMSM由来のIdd4染色体領域を導入したコンジェニックマウスNOD/Shi-Idd4<sup>nod/MSM</sup>を作出した(20)。その結果、コンジェニックマウスNOD/Shi-Idd4<sup>nod/MSM</sup>は、NOD/Shiに比べ尿糖およびInsulinitisは抑制されなかったが、インタークロスしてMSM由来のIdd4をホモにもつNOD/Shi-Idd4<sup>MSM/MSM</sup>を作出し糖尿病発症を観察したところ、NOD/Shiに比べ早期(15Wks~20Wks)に発症した。すなわちMSM系統はNODに比して早期に糖尿病発症させるrecessiveなIdd4遺伝子座のアレルを持つことを明らかにした。そこで、さらにIdd4を詳細にマッピングするためIdd4領域(Acrb-Mpo間)にリコンビナント個体を得てMSM由来の異なる染色体領域が導入された6系統のコンジェニックマウス系統を作製した。これらのコンジェニックマウスにおける糖尿病発症日齢を指標としてマッピングを行ったところ約1.1cM以内の領域に存在することが明らかになった。現在、この領域にあるマイクロサテライトマーカーからYACの単離を行い、物理地図を作製中である。

### (3) マウス形態形成の遺伝的解析

(a) マウス四肢前後軸形成異常遺伝子, *Rim4*の高密度マッピング: 樹屋啓志, 嵯峨井知子, 若菜茂晴<sup>1</sup>, 森脇和郎<sup>1</sup>, 城石俊彦<sup>1</sup>(<sup>1</sup>実中研・DNA解析, <sup>2</sup>総研大)

脊椎動物四肢の前後軸形成は肢芽後端部局性領域(ZPA)に発現するSonic Hedgehog (*Shh*) 遺伝子によりmediateされる。マウス自然突然変異体である*Rim4*ではSonic Hedgehogが肢芽の前側でも発現しており、この遺伝子が四肢でのSonic Hedgehogの発現調節に機能していることを示唆している。我々は、この遺伝子のポジショナルクローニングに向けて、B10-*Rim4*系統とのF1で表現型の発現頻度が比較的高いDBA系統とNZB系統を交配相手に用いて、*Rim4*遺伝子の高密度マッピングを行っている。現在のところ、合計484の戻し交配個体を得ており、*Rim4*を第6染色体上腕のD6Mit97, 279とD6Mit320との間にマッピングした。MSM系統を用いた1056個体の戻し交配パネルを用いてこの領域の詳細な遺伝地図を作製したところ、この二つのマーカーの遺伝学的距離は0.9cMであり、この領域に16個のマイクロサテライトマーカーをマッピングすることができた。これらのマーカーをプローブとして、YACのデータベースによる検索を行い、それらのYACを用いてこの領域の解析を行ったところ、この領域にIgVκファミリー、CD8の遺伝子が含まれており、セントロメ

ア側から, [IgVκ24]-[IgVκ10]-[IgVκ23, 12, 28]-[IgVκ19, 21]-[IgJκ-Cκ]-[CD8b]-[CD8a]の順で並んでいることが推測された. この結果は以前に他グループによりこの領域について行われた解析の結果とほぼ一致している. また, IgVκ19, 21, Jκ-Cκと, CD8b, CD8aが同一のYACコンティグ内に位置していることからIgVκ領域とCD8領域がかなり近傍に位置していることが判明した. 現在, *Rim4*がマップされている領域には, YACによってカバーされていない領域が3個ある. 今後はこの領域を完全にカバーするYACコンティグの作製, 物理的距離の決定を行い, その中で得られた遺伝的マーカーを用いて*Rim4*をより詳細にマップしていく予定である.

(b) *Hx* およびその周辺に位置する四肢形態形成遺伝子の探索: 嵯峨井知子, 榎屋啓志, 城石俊彦

Hemimelic extra toes (*Hx*) 変異マウスは, 軸前側多指症に加え, 後肢脛骨, 前肢橈骨の形成異常を示す. *Hx* 遺伝子は第5染色体上にマップされており, アポトーシスの異常による合指症を示すHammer-toe (*Hm*) 遺伝子や脊椎動物の発生分化に重要なsonic hedgehog (*shh*) 遺伝子と極めて近接することが知られている. *Hx* の変異と *shh* の翻訳領域は連鎖解析により得られた組み換え体によって遺伝的に分離されており, *shh* の翻訳領域をノックアウトしたマウスの表現型との比較などからも *Hx* の変異は *shh* 自身の変異によるものではないことが予想される. しかし, *Hx* を含む複数の軸前側多肢症マウスの芽芽前端部で *shh* が異所的に発現していることが明らかにされ, *shh* 遺伝子上流の調節領域の変異が *Hx* の表現型を引き起こしている可能性も否定できない. *Hx* 遺伝子の解明は *shh* 遺伝子との関連性に加え, ヒトの *Hx* 遺伝子相同領域7q36領域にマップされている Nicolai-Hamel Polysyndactyly の原因遺伝子を明らかにすることにもつながると考えられる. さらにこの領域を探索することで *Hx* のセントロメア側に近接するとされている *Hm* 遺伝子の単離も期待できるため *Hx* 遺伝子周辺領域の物理的地図の作成を行っている.

以上の目的で最初にMSM系統との戻し交雑個体1500頭を用い詳細な連鎖解析を行った. この結果, *Hx* 遺伝子は第5染色体上の0.6cMの距離にある二つのマイクロサテライトマーカーの間にあること, *shh* の翻訳領域からは約0.07cMテロメア側に位置することがわかった. 次に *Hx* に近接するマイクロサテライトマーカーと新たに分離したYACの末端フラグメントを用いてYACライブラリーのスクリーニングを行い, *shh* 遺伝子を含めた *Hx* 領域のYAC contigを作成した. その結果, *shh* 遺伝子の翻訳領域と *Hx* 領域は1.5Mbの同一YACクローンに含まれることがわかった. また *Hx* の変異領域は600Kbの一本のYACでカバーされることが明らかにされた. しかし, この領域は実験用近交系との交配から新たに得られた組み換え体によりさらに限定できる可能性がある. 現在, これらのYACクローン上にマップした多数のマーカーを用いてBACライブラリーのスクリーニングを行い, 約1.5MbのBAC contigの作成をすすめている.

(c) Tail-short (*Ts*) の優性致死を制御する遺伝子(群)の探索: 石島淳子, 三田旻彦, 内田紀久枝, 城石俊彦

マウス突然変異体Tail-short (*Ts*) のヘテロ表現型は, その遺伝的背景により大きく変化

する。多数のマウス系統との交雑実験の結果、*Ts*ヘテロ個体の生存度はその交配相手の系統に依存することが判明した。*Ts*ヘテロF1の生存度に従い、標準的な実験用近交系マウスは大きく2つに分けられる。C57BL/6J, SJL/J, 129/SvJ, BALB/cAnN, MSM等の系統と交配した場合、表現型に差はあるものの、*Ts*ヘテロF1は生存する。その一方で、A/J, CBA/J, C3H. SW/SnJ, AKR/J等と交配した場合は、胎生期の早い段階で致死となる。このことは、*Ts*変異遺伝子と相互作用する遺伝子が、これら2つのグループ間で機能的に多型であり、*Ts*ヘテロ個体の生存度の差を作り出しているためと考えられる。*Ts*変異遺伝子の表現型を修飾している遺伝子を探すため、C57BL/6JとA/JとのF1を*Ts*ヘテロ個体に交配し、マイクロサテライトマーカーを用いた連鎖解析を行った。その結果、*Ts*ヘテロ個体の生存度を優性的に支配する遺伝子は、*Ts*遺伝子座と遺伝的に不分離な単一の染色体領域に存在する事が解った。更に他系統のCBA/J, C3H. SW/SnJ, AKR/Jとの連鎖解析からも同様の結果が得られている。これらのことは、目的遺伝子が*Ts*遺伝子自身の対立遺伝子であり、近交系間で多型性が保持されている可能性を示している。*Ts*変異遺伝子と交配相手の対立遺伝子の組み合わせが、*Ts*ヘテロの表現型に変化をもたらし、生存度の差として表れていると考えられる。機能的な面でどのように*Ts*変異遺伝子と相互作用しているかについては今後の研究課題である。

(d) Tail-short (*Ts*)を用いたマウス形態形成の遺伝学的解析：石島淳子，三田旻彦，内田紀久枝，城石俊彦

*Ts*ヘテロ個体に特徴的な表現型としては、約24時間の発生遅延、骨形成異常(多指症を含む)、頭部神経管形成異常(脳脱，二分脊椎，口蓋裂)等を起こし、まれに膈ヘルニアを伴う。これらのうち重篤なものについては、出生後致死になると考えられる。*Ts*ヘテロの表現型が、他の多くの突然変異マウス同様、その遺伝的背景により変化することは確認されているが、今回我々は*Ts*変異体の表現型が顕著になる発生段階がその対立遺伝子の型によって変化することを利用して、各発生段階で特徴的に表れる*Ts*遺伝子の機能解析を行った。

A/J系統由来の対立遺伝子を持つ場合、*Ts*ヘテロ胚体は囊胚形成初期より形態的な異常を示す。神経板形成期には原状より過剰な胚体外中胚葉の形成が観察され、同時に胚体は貧形成となる。神経管の全域に形成異常が生じ、それは特に後脳領域の分節形態に顕著に現れる。また体節や尾部脊索，心臓，静脈系の異常を伴い、12.5dpc前後で致死となる。一方で、C57BL/6J系統由来の対立遺伝子を持つ場合、*Ts*ヘテロ個体は生存する。得られた*Ts*ヘテロ個体に対して解剖学的な観察を行った結果、特定の型のホメオティック変異が生じていた。第一に、第7頸椎に肋骨様の構造ができ、胸椎化することである。これは典型的な“後方化”現象と考えることができる。さらに、第10胸椎が*Ts*ヘテロ個体については11番目となり、それに伴い胸椎数が1つ増加する。胸椎数の増加についてはHoxc6の発現領域の変化を伴っている事が解った。以上のことより、*Ts*遺伝子は、マウスの初期発生の異なった発生段階において体軸形成にかかわる幾つかの多面的な役割を持つ遺伝子であると考えられる。現在、各発生段階での*Ts*遺伝子の形態形成に果たす機能を解析すると共

に、それぞれの関連性を明確にするための研究を行っている。

(e) マウス中軸骨格異常を示すTail-short (*Ts*) 遺伝子の探索: 清水邦彦, 小出 剛, 三田 旻彦, 内田紀久枝, 若菜茂晴<sup>1</sup>, 吉川欣亮<sup>2</sup>, 米川博道<sup>2</sup>, 佐々木博己<sup>3</sup>, 城石俊彦<sup>1</sup>(実験動物中央研究所DNA解析室, <sup>2</sup>東京都臨床医学総合研究所実験動物研究所, <sup>3</sup>国立がんセンター分子腫瘍)

*Tail-short (Ts)* は約半世紀前に見つかった骨格形成異常を示す優性突然変異である。そのヘテロ個体は骨格形成異常に加えて頭部神経管形成異常, 多指等が高い頻度で観察される。*Ts* 遺伝子は第11番染色体の末端側にマップされ, この領域はマウス-ヒト染色体の相同性(synten)からみると, ヒト第17番染色体短腕(17q21-24)にあり, この領域には骨形成に関わるヒトの遺伝性疾患であるCampomelic Dysplasia (CMPD1) および Meckel syndrome (OMIM2400) (MES) がマップされている。これらの遺伝性疾患のうち CMPD1 は, 性決定遺伝子である *Sry* 遺伝子と共通の DNA ドメインを有する *Sox9* が原因遺伝子であることが報告されていたが, 本研究において *Ts* と *Sox9* の間に複数の組み換えが見られたことから, *Sox9* が *Ts* の原因遺伝子でないことが示されている。MES は, 多指や頭部神経管形成異常, 嚢胞腎などが主な症状であり, その原因遺伝子を含めその発症の機構については不明であるが *Ts* マウスと類似した骨格異常を示すことにより MES がヒトの *Ts* 相同遺伝子の異常によって生ずる疾患である可能性が示唆されている。我々は, MES の病因理解と骨形成を含む形態形成のメカニズムの解明を目的として *Ts* 遺伝子の単離を進めている。これまでに高密度連鎖解析を行い *Ts* 遺伝子はマウス第11番染色体遠位部位に位置する2つのマイクロサテライトマーカー, *D11Mit128* と *D11Mit256* に挟まれた 0.16cM の領域内に存在することを明らかにしてきた。この高密度連鎖地図の情報を基に *Ts* 遺伝子座に連鎖するマイクロサテライトマーカーを用いて YAC 及び BAC のゲノムライブラリーをスクリーニングしてこの領域に位置するクローンを単離した。それらのクローンを基にして末端マーカーの作成及びゲノムライブラリーのスクリーニングを繰り返し染色体歩行を進めた結果, 6つの YAC クローンと12の BAC クローンによって *D11Mit128* と *D11Mit256* に挟まれた領域の contig が完成した。さらに, *Ts* 遺伝子は6つの重複する BAC DNA 上に存在し, 250-300kbp の領域内に限定されている。現在, *Ts* 遺伝子を単離するためマウス胎児期の cDNA library を作成し, cDNA selection 法を用いて上記 BAC DNA 上に存在する遺伝子を特異的に探索した結果, この領域にマップされる候補遺伝子が多数得られた。さらに, Zoo blot 解析及び Whole mount in situ hybridization の手法を用いて, これらの候補遺伝子の中から *Ts* 原因遺伝子の同定を進めている。

(f) 軸前側多指症を起こす mesenchymal dysplasia (*mes*) の解析: 牧野 茂, 榎屋啓志, 津金瑞代<sup>1</sup>, 城石俊彦<sup>1</sup>(札幌医大解剖)

現在, 軸前側多指症を示すマウスが複数知られているが, それらは肢芽前端部での異所的な Sonic hedgehog (*Shh*) 遺伝子の発現に帰因する肢芽前後軸形成異常であることが解っている。mesenchymal dysplasia (*mes*) は, CBA 系統に生じ B6C3H で維持されてきた劣性変異で, 軸前側多指症に加え, 顔や頭部の形態異常, 尾の縮れ等の異常を示す。また, 皮膚や

筋肉の過形成も観察されている。*mes*の表現型について詳細に調べたところ、中手骨、中足骨から重複指が伸びているが、それらは関節が二つの第1指様の重複指であり、*Rim4*で見られるような鏡像対称を示す重複指ではなかった。また、指や腕が全体として太くなっていた事より、*mes*の軸前側多指症は肢芽形成期において細胞の過増殖が起こった事による肢芽領域の拡大が原因なのではないかと考えられた。さらに、胸骨や剣状突起の形の異常も見られたが、胸骨や筋肉、四肢は中胚葉由来の組織であることから、*mes*は中胚葉の増殖に関わる遺伝子の突然変異なのではないかと考えられた。

また、現在MSM系統を用いた*mes*のマッピングも行っているが、その領域には*Gas1*などの細胞の増殖調節因子や、*Ptc*のような中胚葉の形成に関わる遺伝子も含まれている。さらに、*mes*の原因遺伝子を明らかにするための解析を進めていく予定である。

#### (4) 新しい実験用マウス系統の開発と特性研究

(a) マウスマウス・コンソミック系統の作成：城石俊彦，三田旻彦，高田京子，内田紀久枝，若菜茂晴<sup>1</sup>，米川博通<sup>2</sup> (<sup>1</sup>実験動物中央研究所DNA解析室，<sup>2</sup>東京都臨床医学総合研究所実験動物研究室)

個体レベルでの、さまざまな生物機能を遺伝学的に解析する実験システムとして、これまで多数のコンジェニック系統や、Recombinant Inbred (RI) 系統が作製されてきた。我々は、これらに加えてコンジェニック系統とRI系統の長所を合わせ持つような新しいタイプの実験動物系統を開発することを目指している。二つの系統が一つの染色体全域について異なった由来を持ち他の遺伝的背景が共通である場合、これらの二つの系統を互いにコンソミック (Consomic) な状態にあると言いこれらの系統を、コンソミック系統と呼ぶ。コンソミック系統の作成は、供与 (ドナー) 系統の特定の染色体に注目して計画的に染色体受容 (レシーピエント) 系統に戻し交配を繰り返して導入する。マウスは、合計21種類の異なった染色体 (19本の常染色体 + X, Y) を持っているからコンソミック系統1セットは、最低でも合計21のマウス系統で構成される。この21種類の系統によって供与系統の染色体は完全にカバーされている。供与系統と受容系統間で異なった表現型を示す遺伝形質について、この21種類の系統についてタイピングすれば瞬時に問題の形質を支配する染色体を特定することが可能である。コンソミック系統を作成する際には供与系統と受容系統間の遺伝的多型性が可能な限り大きいことが望ましい。そうすることでコンソミック系統を用いて解析できる遺伝形質の範囲が拡大される。また、コンソミック系統を基にした連鎖解析においてより詳細な遺伝子地図の作成も可能となる。この点を考慮して受容系統としては、標準的な近交系マウスであるC57BL/6を、供与系統としては日本産野生マウス系統由来の近交系マウスであるMSM系統を用いて新しいコンソミック系統の作成を平成8年度から開始した。これまで、各染色体毎に最低5つのマイクロサテライト遺伝子座について各世代においてタイピングすることによってMSM系統の染色体をC57BL/6J系統の遺伝的背景に導入している。現在までのところ、多くの系統が戻し交配の第7世代まで到達している。8世代に達した段階でホモ個体を作製しコンソミック系統を完成する計画である。

#### (5) マウス行動遺伝学

(a) 野生由来マウス系統を用いた行動解析：小出 剛，森脇和郎<sup>1</sup>，城石俊彦<sup>1</sup>（総研大）

マウスを用いた高次脳機能の解析は、様々なアプローチで精力的に進んできている。そうした中であって研究材料としているマウス系統が問題としている高次脳機能においてどのような特徴を有しているのかといった吟味はあまりなされていない。遺伝的に異なったマウスが示す行動の多様性を明らかにすることは、高次脳機能解析の新たな研究材料を探索すると同時に、行動がいかに遺伝的に制御されているか知る上で重要である。しかし、一般的に利用されている実験用近交系統は、そのほとんどが世界に広く分布する野生マウス亜種の一つ *Mus musculus domesticus* に由来しておりその中で多様な行動は期待できない。一方で、哺乳動物遺伝研究室では世界各地から捕獲したマウスを基に、数多くの野生マウス由来近交系統を樹立し維持している。その中でも特に、日本産野生マウス (*M. m. molossinus*) 由来の近交系統である MSM と日本産愛玩用マウスに由来する JF1 は同じ日本産マウスに由来しているにも関わらず、見かけ上顕著に異なった行動パターンを示す。そこで多くの野生由来マウス近交系統の中に存在する、自発運動性、学習能力、情動性、本能行動といった脳の高次機能に結び付く行動の多様性を明らかにし、その多様性の原因となる遺伝子とその作用機構を解明していくことを目的として研究を開始した。

マウスの活動量が系統間で異なっているか調べるために、それぞれのマウス系統について自発運動性を測定し、近交系統間で比較した。活動量は、ニューロサイエンス社製の動物体温の赤外線を検出する実験動物用自発運動センサー (NS-AS01) と実験動物自発運動観察装置 (AB system-24A) を用いて測定し解析した。実験中は食餌飲水とも自由摂取とし、動物室は暗期、明期それぞれ 12 時間ずつとした。測定は、マウスを測定用のマウスケージに移した後、連続して 4 日間測定し最初の 1 日目は馴化期間としてデータからは除外した。この結果、日本産野生マウスに由来する MSM 系統は高い自発運動性を示すのに対し、JF1 は低運動性を示すことが判明した。これら二つの系統が見せる自発運動量の違いは有意な差があり、MSM と JF1 を交配して得た F1 雑種は、MSM と同じレベルの運動性を示すことが既に明らかとなっている。現在 F1 雑種同士を交配して得られた F2 個体群を用いて、この自発運動性の差に関わる遺伝子のマッピングを試みている。また、MSM と JF1 は活動量には大きな差がみられるものの、共に消灯と同時に活動を開始し明期においてはほとんど活動を示さないという点で一致している。しかし、東南アジアの野生マウス (*M. m. castaneus*) に由来する CAST/Ei は消灯よりも数時間前に活動を開始することが判明した。現在のところこの活動時間帯の系統間での違いが生じる理由は明らかでないが、遺伝的に決定されている可能性が高い。この点に関しても現在遺伝的解析を行っている。

このように、野生由来のマウス近交系統を用いることで、現在まで見出だされなかったマウスの行動パターンが検出できることがわかった。今後、更に自発運動性以外の行動についても解析系の確立を進め、学習能力、情動性、本能行動といった問題についても実験用系統や野生由来マウス系統を用いて解析を行い、比較検討していく予定である。このような研究を礎にして、マウスを用いた高次脳機能解析に向かって新たな研究分野を開拓したい。

## 研究業績

## (1) 原著論文

1. Masuya, H., Sagai, T., Moriwaki, K. and Shiroishi, T.: Multigene control of the localization of zone of polarizing activity in mouse limb morphogenesis. *Dev. Biol.*, **182**, 42-51, 1997.
2. Wakana, S., Shiroishi, T., Puschel, A. W. and Imai, K.: The mouse sepaphorin F (SemaF) maps to chromosome 15. *Mammal. Genome*, **8**, 698-699, 1997.
3. Tanaka, Y., Naruse, I., Maekawa, T., Masuya, H. and Shiroishi, T. and Ishii, S.: Abnormal skeletal patterning in embryos lacking a single Cbp allele : A partial similarity with Rubinstein-Tabybi syndrome. *Prac. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, 10215-10220, 1997.
4. Kagitani, F., Kuroiwa, Y., Wakana, S., Shiroishi, T., Miyoshi, N., Kobayashi, S., Nishida, M., Kohda, T., Kaneko-Ishino, T. and Ishino, F.: Peg5/Neuronatin is an imprinted gene located on sub-distal chromosome 2 in the mouse. *Nucl. Acids Res.*, **25**, 3428-3432, 1997.
5. Oyake, M., Onodera, O., Shiroishi, T., Takano, H., Takahashi, Y., Kominami, R., Moriwaki, K., Ikeuchi, T., Igarashi, S., Tanaka, H. and Tsuji, S.: Molecular cloning of murine homologue Dentatoubtral Pallindoluyasian Atrophy (DRPLA) cDNA: Strong conservation of a polymorphic CAG repeat in the murine gene. *Genomics* **40**, 205-207, 1997.
6. Tani, M., Shindo-Okada, N., Hashimoto, Y., Shiroishi, T., Takenoshita, S., Nagamachi, Y. and Yokota, J.: Isolation of a novel Sry-related gene that is expressed in high-metastatic K-1735 murine melanoma cells. *Genomics* **39**, 30-37, 1997.
7. Ainscough J. F-X., Koide T., Tada M., Barton S., and Surani M. A.: Imprinting of *Igf2* and *H19* from a 130kb YAC transgene. *Development*, **124**, 3621-3632, 1997.
8. Sato, S., Masuya, H., Numakunai, T., Satoh, N., Ikeo, K., Gojobori, T., Tamura, T., Ide, H., Takeuchi, T., and Yamamoto, H.: Ascidian tyrosinase gene: Its unique structure and expression in the deivering brain. *Developmental Genetics* **208**, 368-374, 1997.
9. Koide T., Moriwaki K., Uchida K., Mita A., Sagai T., Yonekawa H., Katoh H., Miyashita N., Tsuchiya K., Nielsen T. J. and Shiroishi T.: A new inbred strain JF1 established from Japanese fancy mouse carrying the classic piebald allele. *Mammalian Genome*, **9**, 15-19, 1998.
10. Sato H., Koide T., Masuya H., Wakana S., Sagai T., Ishiguro S., Tamai M. and Shiroishi T.: A new mutation *Rim3* resembling *Reden* is mapped close to retinoic

acid receptor alpha (*Rara*) gene on mouse Chromosome 11. *Mammalian Genome*, **9**, 20-25, 1998.

11. Sagai T., Koide T., Endo M., Tanoue K., Kikkawa H., Yonekawa H., Ishiguro S., Tamai S., Matsuda Y., Wakana S. and Shiroishi T.: *rim2* (recombination induced mutation 2) is a new allele of pearl and a mouse model of human Hermansky-Pudlak Syndrome (HPS): genetic and physical mapping. *Mammalian Genome*, **9**, 2-7, 1998.
12. Tani, M., Shimura, K., Kohno, T., Shiroishi, T., Wakana, S., Kim, S.-R., Nohmi, T., Kasai, H., Takenoshita, S., Nagamachi, Y. and Yokota, J.: Genomic structure and chromosomal localization of the mouse *Ogg1* gene that is involved in the repair of 8-hydroxyguanine in DNA damage. *Mammal. Genome*, **9**, 32-37, 1998.

(2) その他

1. 石島淳子, 城石俊彦: 骨形成異常突然変異マウス Tail short, 小児外科 vol. **29**, 337-343, 1997
2. Shiroishi, T., Ueda, Y., Ball, S., Nagamine, C. M., Sagai, T and Moriwaki, K.: Genetic differentiation of mouse Y chromosome. *J. Repro. Dev.*, **43** supplement, 17-18, 1997.

(3) 発表講演

1. Shiroishi, T.: Multigenic control of the anteroposterior axis formation in mouse limb development, Taniguchi Symposium on Developmental Biology VIII, Hong Kong, January.
2. 榎屋啓志, 嵯峨井知子, 城石俊彦: 肢芽前端部における ZPA 形成抑制に関わる遺伝子のマッピング, 日本発生生物学会第 30 回大会, 筑波, 5 月.
3. 石島淳子, 内田紀久枝, 三田旻彦, 城石俊彦: マウス突然変異体 *Tail-Short (Ts)* にみられる形態形成異常の遺伝的背景効果, 日本発生生物学会第 30 回大会, 筑波大学大学会館, 5 月.
4. 津金瑞代, 日向野桂一, 榎屋啓志, 城石俊彦, 高田慎治, 安田峯生: 四肢腹側構造の背側化を示す突然変異マウス meromelia(mem) 肢芽における遺伝子発現, 日本発生生物学会第 30 回大会, 筑波大学大学会館, 5 月.
5. 若菜茂晴, 河野厚子, 伊藤 守, 佐藤健人, 垣生園子, 森脇和郎, 城石俊彦, 野村達次: NOD マウスにおける Non-MHC 糖尿病感受性遺伝子の解析, 第 40 回日本糖尿病学会年次学術総会, 東京, 5 月.
6. 若菜茂晴, 河野厚子, 丸山千佳, 前野哲輝, 城石俊彦, 森脇和郎, 野村達次: MSM 系統由来の糖尿病感受性遺伝子 *Idd4* の早期糖尿病感受性, 第 44 回日本実験動物学会総会, 大宮, 5 月.

7. 磯部 拓, 吉野正康, K.Fischer Lindaw, 小出 剛, 水野健一, 森脇和郎, 城石俊彦: MHCクラスII領域内における*Pb*遺伝子近傍の組換えホットスポットの構造解析. 組換えワークショップ, 葉山, 7月.
8. Shiroishi, T.: Genetic control of anteroposterior axis formation in mouse embryogenesis. NIG International Symposium on "Gene Functions to Cell Differentiation", Mishima, September.
9. 磯部 拓, 吉野正康, 水野健一, 森脇和郎, Kirsten Fischer Lindahl, 小出 剛, 城石俊彦: The construction analysis of *Pb* hotspot in the class II of MHC. 3R Symposium Replication, Recombination and Repair. 兵庫県三木市, 10月.
10. Sagai T., Koide T., Endo M., Tanoue K., Kikkawa Y., Yonekawa H., Ishiguro S., Tamai M., Matsuda Y., Wakana S. and Shiroishi T.: *Rim2* (Recombination induced mutation 2) is a new allele of pearl and a mouse model of human Hermansky-Pudlak Syndrome (HPS): genetic and physical mapping. 11th International Mouse Genome Conference, Florida, October.
11. Sato H., Koide T., Masuya H., Wakana S., Sagai T., Ishiguro S., Tamai M. and Shiroishi T.: Fine genetic mapping of a new mutation *Rim3* resembling *Reden*. 11th International Mouse Genome Conference, Florida, October.
12. Hattori, M., Senpuku, H., Fujisawa, T., Yoshino, M., Moriwaki, K., Shiroishi, T., Lund, T.: Prevention of autoimmune type I diabetes by homologous recombination of MHC class I K in NOD mice. 11th International Mouse Genome Conference, St. Peterburg, Florida, October.
13. Owa, C., Nakagawa, I., lund, T., Moriwaki, K., Shiroishi, T., Hattori, M.: Genomic DNA sequence of the MHC class I K of *wm7* in the B10.A(R209) mouse. 11th International Mouse Genome Conference, St. Peterburg, Florida, October.
14. Wakana. S., Shiroishi, T., Moriwaki, K., Kono, A., and Nomura. T.: Susceptibility gene *Idd4* controls onset of IDDM: an allele from the non-diabetic MSM strain is associated with early onset of diabetes in the mice. 11th International Mouse Genome Conference, Florida, October.
15. 磯部 拓, 吉野正康, K.Fischer Lindawl, 小出 剛, 水野健一, 森脇和郎, 城石俊彦: マウスMHCクラスIIにおける*Pb*ホットスポットの解析. 第69回日本遺伝学会, 横浜, 11月.
16. 佐藤 肇, 小出 剛, 嵯峨井知子, 榎屋啓志, 若菜茂晴, 森脇和郎, 石黒誠一, 玉井信, 城石俊彦: マウス発毛異常および角膜混濁を示す*Rim3*遺伝子の探索, 日本遺伝学会, 第69回大会, 横浜, 11月.
17. 榎屋啓志, 嵯峨井知子, 若菜茂晴, 森脇和郎, 城石俊彦: マウス四肢前後軸形成異常遺伝子の高密度マッピング, 日本遺伝学会第69回大会, 横浜, 11月.
18. 嵯峨井知子, 榎屋啓志, 城石俊彦: Hxおよびその周辺に位置する四肢形態形成遺伝

- 子の探索. 日本遺伝学会第69回大会, 横浜, 11月.
19. 牧野 茂, 榊屋啓志, 津金瑞代, 城石俊彦: 軸前側多指症を起こす *mesenchymal dysplasia (mes)* の解析, 日本遺伝学会第69回大会, 横浜, 11月.
  20. 小出 剛, 森脇和郎, 城石俊彦: 日本産マウス (JF1) にみられる低行動性の解析, 第69回日本遺伝学会第69回大会, 横浜, 11月.
  21. 城石俊彦: マウス系統の多様性と遺伝子資源としての利用, 日本遺伝学会第68回大会シンポジウム「系統生物に新しい研究を求める」, 横浜, 11月.
  22. 城石俊彦: マウス四肢形態形成の遺伝的制御, 第13回形態科学シンポジウム「形態形成の分子機構」, 東京, 11月.
  23. 小出 剛, 森脇和郎, 城石俊彦: 日本産マウス系統を用いた行動の遺伝学的解析へのアプローチ, 第20回日本分子生物学会, 京都, 12月.
  24. 清水邦彦, 石島淳子, 内田紀久枝, 若菜茂晴, 吉川欣亮, 米川博道, 佐々木博己, 城石俊彦: マウス中軸骨格異常を示す Tail-short (Ts) 遺伝子の探索, 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.
  25. 佐藤 肇, 小出 剛, 石黒誠一, 玉井 信, 城石俊彦: マウスセラチン *type1* 遺伝子 (*Krt1*) のゲノム解析. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.
  26. 若菜茂晴, 河野厚子, 丸山千佳, 前野哲輝, 城石俊彦, 森脇和郎, 野村達次: マウスにおける糖尿病感受性遺伝子 *Idd4* の早期感受性遺伝子座, 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.

#### F-b. 発生工学研究室

当研究室は哺乳類の胚発生機構を細胞・組織から遺伝子に至る様々なレベルから研究することを目指しているが, 特に生殖細胞と脳神経系の発生機構に注目している. 研究室の構成としては中辻憲夫教授, 白吉安昭助手, 9月に着任した斎藤哲一郎助手の教官3名と中村紀美代技官, 総合研究大学院大学遺伝学専攻の大学院生3名と他大学院に所属する特別共同利用研究員3名, そして12月から加わった生物系特別産業技術研究推進機構派遣のポストドク研究員1名, が研究を行った. 研究の遂行に当っては, 文部省科学研究費補助金から中辻憲夫を代表者として基盤研究(B)(2)「マウス始原生殖細胞の発生分化制御機構に関する研究」, 基盤研究(A)(1)「哺乳類胎仔生殖細胞の操作による遺伝子導入技術の開発研究」, 重点領域研究「生殖細胞の特質」の公募研究「マウス胎仔生殖細胞の分化制御機構に関する研究」の交付を受けた. また中辻憲夫は科学技術庁の科学技術振興調整費による総合研究「臓器・組織再生システムのための基盤技術の開発」の中で研究題目「初期胚細胞系列に由来する幹細胞の制御機構の研究」を担当した. さらに生研機構基礎研究推進事業からの委託研究「胎仔生殖細胞と生殖細胞株を使った発生工学技術の開発」を開始した. なお東海大学海洋学部中辻孝子助教授と共同で魚類胚発生(文献4)と造血系幹細胞に関する研究を行った.

(1) マウス生殖細胞の発生分化機構：中辻憲夫，白吉安昭，斎藤哲一郎，田村 勝<sup>1</sup>，中馬新一郎<sup>1</sup>，菅野靖彦<sup>2</sup>，桜井敬之<sup>3</sup>（<sup>1</sup>総合研究大学院大学，<sup>2</sup>特別共同利用研究員（埼玉大学理学部，<sup>3</sup>生研機構）

哺乳類胚の着床から妊娠中期までは、胎児の体の基本的な体制が形成される時期であり、中枢神経系原基の形成、始原生殖細胞の出現と生殖巣原基への移動、生殖巣の形成などの重要な現象が起きる。我々は、いくつかのマウス系統を実験材料として用いて、始原生殖細胞への細胞運命決定と増殖・分化、そして始原生殖細胞から雌雄の配偶子形成への分化機構を解析している。我々の研究室ではこれまでに、始原生殖細胞の体外培養系を確立して培養下における増殖制御因子の研究を行ってきた。そして、生殖細胞や生殖巣の発生分化に関わる遺伝子機構の解析や生殖細胞の遺伝子操作手法の開発にアプローチするために、培養下で増殖させた胎仔生殖細胞に遺伝子導入を行う方法を検討した結果、細胞のアポトーシスを抑制する働きが知られているアデノウイルスE1b19K蛋白遺伝子やbc1-XL, bcl-2遺伝子を強制発現させることによって、培養下での生殖細胞の生存を促進できることが明らかになった（文献1）。引続いて生殖巣の性分化開始時期に特異的に発現する遺伝子の検索を、差次的クローニング法を用いて行い、その結果得られた多数の新規遺伝子の解析を行っている。さらに、これまでは困難であった生殖巣到着後の生殖原細胞時期の培養方法を改良して、雌性生殖細胞が減数分裂を開始する過程を培養下で進行させることに成功しつつある。

(2) 脳神経系の幹細胞と細胞移動：中辻憲夫，白吉安昭，斎藤哲一郎，浜 太郎<sup>1</sup>（総合研究大学院大学）

脳神経系の発生における各種神経・グリア細胞形成の細胞系譜や分化機構については極めて未知の点が多い。中枢神経系が発生する最も初期の原基に存在するはずの初期幹細胞から細胞株を樹立して、培養下での細胞分化を解析すると同時に胎仔脳内へ戻した場合の生体内での発生運命を解析することによって、神経系細胞の増殖分化と脳神経系発生の機構解明を目指した。細胞株樹立には温度感受性のSV40 ウイルスT抗原遺伝子を導入したトランスジェニックマウスを用いた。8日または9日齢胚から取り出した中枢神経系原基の細胞から多数の細胞株を樹立することに成功し、これらの細胞株の培養下での神経やグリアへの分化能を調べるとともにマウス脳内へ移植する実験を行っている。また脳組織の形成過程において中枢神経細胞に特有な直交性コンタクトガイダンスが機能している可能性を探るために、小脳顆粒細胞の外顆粒層から内顆粒層への移動形態を詳細に解析した結果、直交性ガイダンスが働いていることを示唆する結果が得られた（文献2）。

(3) 神経細胞の発生・分化を制御する転写因子：斎藤哲一郎，中辻憲夫

哺乳類の神経系には多種多様な神経細胞が存在し、この多様な神経細胞の活動で脳の高次機能が営まれている。哺乳類の神経細胞の発生は、ショウジョウバエと同様に、ヘリックス・ループ・ヘリックス (HLH) 型転写因子で制御されることが明らかになってきている。我々は、個々の神経細胞の分化において、HLH型転写因子から Paired 様ホメオドメイン (PHD) 転写因子へのカスケードが存在するとともに、HLH型転写因子の Mash1 や neurogenin2

の発現が, BarH ホモログの MBH1 ホメオドメイン転写因子で調節されることを示してきた。神経細胞の多様性が, これらの転写因子のカスケードでどの様に制御されるのかを分子レベルで解明するため, 哺乳動物細胞を用いた遺伝子発現の誘導実験系で, 機能解析を行っている。また, カスケードにおける転写因子間の関係を明らかにするため, PHD 遺伝子の転写制御領域の解析を進めている。

(4) マウス胚細胞分化に関わる遺伝子機構: 白吉安昭, 中辻憲夫, 鈴木貴士<sup>1</sup>, 河村 昭<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup> 慶応義塾大医学部, <sup>2</sup> 特別共同利用研究員(奈良先端技術大学院大学))

マウス着床後胚では血管造血系の発生や中枢神経系原基の形成などの極めて重要な細胞の運命決定と細胞分化が起きている。これらの細胞分化に関係する遺伝子を同定してその機能を解析することにより, ショウジョウバエや線虫などで進展している細胞運命決定と分化の分子遺伝学的研究を, 哺乳類胚を対象として進展させようとしている。これまでショウジョウバエの神経分化に関わる Notch 遺伝子と関連する Notch-4 遺伝子の構造決定と発現様式の解析を行った。その結果cDNAの全構造を明らかにするとともに, その発現がマウス胚の血管系発生の開始時から血管壁に分化する細胞に特異的に見られることを明らかにした(文献3)。中胚葉細胞から血管系が分化する段階で機能している可能性が大きいことから, ES細胞株を用いて強制発現と遺伝子破壊による影響などについて解析を行っている。

## 研究業績

### (1) 原著論文

1. Watanabe M., Shirayoshi Y., Koshimizu U., Hashimoto S., Yonehara S., Eguchi Y., Tsujimoto Y., Nakatsuji N.: Gene transfection of mouse primordial germ cells in vitro and analysis of their survival and growth control. *Exp. Cell Res.*, **230**, 76-83, 1997.
2. Ono K., Shokunbi T., Nagata I., Tokunaga A., Yasui Y., Nakatsuji N.: Filopodia and growth cones in the vertically migrating granule cells of the postnatal mouse cerebellum. *Exp. Brain Res.*, **117**, 17-29, 1997.
3. Shirayoshi Y., Yuasa Y., Suzuki T., Sugaya K., Kawase E., Ikemura T., Nakatsuji N.: Proto-oncogene *int-3*, a mouse *Notch* homologue, is expressed in endothelial cells during early embryogenesis. *Genes to Cells* **2**, 213-224, 1997.
4. Nakatsuji T., Kitano T., Akiyama N., Nakatsuji N.: Ice Goby (*Shiro-uo*), *Leucopsarion petersii*, may be a useful material for studying teleostean embryogenesis. *Zool. Sci.*, **14**, 443-448, 1997.

### (2) その他

1. 永田 功, 小野勝彦, 木村 一, 黒田純子, 中辻憲夫: 軸索末による接触誘導. 生体の科学, **48**, 560-564, 1997.

2. 斎藤哲一郎: Nhlh2 遺伝子. ノックアウトマウス・データブック. Molecular Medicine 臨時増刊号, **34**, 361-362, 1997.
  3. 中辻憲夫: マウス胎仔生殖細胞の増殖分化. 蛋白質核酸酵素 臨時増刊号「生殖細胞の発生と性分化」(編者: 岡田益吉・長浜嘉孝・中辻憲夫), 421-429, 1998.
- (3) 発表講演
1. 田村 勝, 中馬新一郎, 白吉安昭, 中辻憲夫: Differential Display 法および Subtraction 法によるマウス性分化関連遺伝子の探索. 日本発生生物学会第30回大会, 筑波, 5月.
  2. 浜 太郎, 大久保悌, 白吉安昭, 中辻憲夫: 胎仔脳内移植による神経上皮細胞株 NES の分化解析. 日本発生生物学会第30回大会, 筑波, 5月.
  3. 永田 功, 小野勝彦, 中辻憲夫: マウス小脳顆粒細胞の移動・分化とアセチルチュープリンの局在性. 日本発生生物学会第30回大会, 筑波, 5月.
  4. 中辻孝子, 荒川伴子, 秋山信彦, 中辻憲夫: シロウオ (*Leucopsarion petersii*) の胚発生. 日本発生生物学会第30回大会, 筑波, 5月.
  5. Hama T., Ohkubo Y., Shirayoshi Y., Nakatsuji N.: Immortalized mouse cell lines established from the earliest neuroepithelium exhibit differential states of determination and differentiation in vitro and engraft into the cerebral cortex when transplanted into fetal brains. The 13th International Congress of Developmental Biology, Snowbird, Utah, USA, July.
  6. Nakatsuji T, Arakawa T, Kitano T, Akiyama N, Nakatsuji N.: Embryogenesis of ice-goby, *Leucopsarion petersii*, indicates a unique cleavage pattern and usefulness as an experimental material for studying teleostean development. The 13th International Congress of Developmental Biology, Snowbird, Utah, USA, July.
  7. Nakatsuji N.: Mouse primordial germ cells; factors to regulate cell proliferation and differentiation. National Institute of Genetics International Symposium on Gene Functions to Cell Differentiation, Mishima, September.
  8. 中辻憲夫: マウス生殖系列細胞に対する遺伝子導入と発生工学. 日本動物学会第68回大会シンポジウム「哺乳類生殖細胞を対象とした顕微操作技術研究の最近の進歩」, 奈良, 10月.
  9. 荒川伴子, 北野 忠, 秋山信彦, 中辻憲夫, 中辻孝子: シロウオの胚発生—海水魚の発生工学的研究に向けた実験魚としての可能性. 日本動物学会第68回大会, 奈良, 10月.
  10. Nakatsuji N: Cellular and molecular analyses of proliferation and differentiation of mouse fetal germ cells. The International Symposium on "Germ Cell Development and Meiotic Regulation," Hakone, November.
  11. Ono K., Nagata I., Hama T., Nakatsuji N.: Perpendicular contact guidance of

CNS neurons; is it operative in the brain cortex development? Keio University International Symposia for Life Science and Medicine "Neuroscience: Frontiers of Neural Development," Tokyo, December.

12. 田村 勝, 菅野靖彦, 中馬新一郎, 白吉安昭, 中辻憲夫: マウス生殖細胞と体細胞の性分化制御機構: 性分化に関わる新規遺伝子のクローニング. 日本分子生物学会第20回年会, 京都, 12月.
13. 白吉安昭, 鈴木貴士, 中辻憲夫: 血管内皮細胞分化におけるNotch-4の発現と機能解析. 日本分子生物学会第20回年会, 京都, 12月.
14. 中辻孝子, 中村紀美代, 中辻憲夫: マウス10日胚AGM領域から樹立した細胞株の全能性造血系幹細胞としての可能性. 日本分子生物学会第20回年会, 京都, 12月.

### F-c. 植物遺伝研究室

当研究室は、1997年4月に植物遺伝研究室と名称を改め、引き続きイネを用いた分子生物学および分子遺伝学的研究を進めている。スタッフは、助教授倉田のり、助手伊藤幸博とともに、実験農場より助手野々村賢一、および永口 貢 技官が参加し、研究員として加わった春島嘉章も研究の推進を計っている。植物遺伝グループと実験農場とがドッキングしたことにより、97年度は新たな研究内容が動き始め、事業計画の見直しも立ち、研究室の本格的活動を開始した。

今年度は、すでに進められていたイネ初期胚発生過程の分子生物学的研究に加え、再分化過程の遺伝的プログラムの解説、および、植物人工染色体の構築のための素材解析等を開始した。

なお1997(平成9)年度の研究は、文部省科学研究費助成金・重点領域研究「高等植物における雌雄の分化・受粉過程の遺伝解剖学的吟味(伊藤幸博)」, 重点領域研究「植物の可変的な器官プランの分子基礎(倉田のり)」, 基盤研究(B)「イネ人工染色体の構築と導入植物の作出(倉田のり)」, 文部省系統保存事業費の支援を受けた。

当研究室は、従来植物の遺伝特性の開発的研究とイネ、ムギ、サクラ、アサガオ等の系統保存業務を目的としてきたが、97年からはサクラ事業を国立遺伝学研究所環境整備の手に委ねることとし、さらにすべてのアサガオ系統も、アサガオ研究者へ研究素材として委譲し、維持管理をお願いすることを検討中である。

(1) イネ初期胚発生関連遺伝子の構造と機能の解析: 伊藤幸博, 永口 貢, 倉田のり

この課題では、イネの胚発生時に起こる遺伝子発現ネットワークを、複数の転写制御遺伝子群の連鎖的発現により引き起こされると考えられる胚発生過程に絞って、分子細胞生物学の手法を用いて解析し、イネの初期胚における遺伝的制御のプログラムを解き明かすことを目的としている。

96年より受精後3日胚を用いて、微量組織からのcDNAライブラリー作りとホメオボックス関連遺伝子の単離を開始した。その結果、計34個のホメオボックス遺伝子のクローンを

拾い上げ、塩基配列解析の結果9種類のクローンに分類した。今年度は、さらに追加のホメオボックス遺伝子をクローニングし、AGAMOUS-likeクローン(AGR-1)等も得られた。これらの遺伝子の発現時期と場所を特定するため、受精後0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 22日胚, 葉, 根組織を用いたRT-PCR, および受精後3-5日胚を用いた組織切片のin situハイブリダイゼーションを行った。この結果ホメオボックスクローン9種のうちの4種で初期胚の特定時期での発現を検出した(発表講演2および5, 投稿準備中)。これらの遺伝子の一部は、その機能を推定するため、構成的発現ベクターを用いた形質転換実験を開始した。また、これらの遺伝子の発生プログラムの中での位置付けと役割を知るため、2種類についてはホメオボックス遺伝子のゲノミッククローンを単離し、塩基配列解析を行った。これら遺伝子の発現調節領域の検出のため、遺伝子上流域とレポーター遺伝子を結合したコンストラクトの作成を行った。今後形質転換植物の作成によりシスエレメント, トランス因子等の解析を進める。

(2) イネ体細胞カルスからの再分化過程における発生プログラムの解析: 倉田のり, 永口 貢, 伊藤幸博

正常種子胚発生時における遺伝的プログラムと、培養細胞であるカルスからの再生個体発生分化時におけるプログラムの普偏性あるいは特異性を解析することを目的としてこの課題を進めている。種子胚発生時に特異的発現が見られた遺伝子について、培養細胞を用いた再分化個体再生系でのそれらの発現を見るため、再分化1日より8日までのカルスにおいてもRT-PCRおよびin situハイブリダイゼーションを行った。一部の遺伝子については、両発生過程での類似の発現パターンを検出した(発表講演3)。

この系ではまた、初期胚発生に欠損のある突然変異体30系統あまりについて、カルス形成能および再分化能の検定を行い、種子胚からと再分化を経ての発生過程の間で異なる遺伝経路が用いられる可能性があるのかどうかを検討するための実験を開始した。

ついで再分化過程を追跡するのに必須の細胞マーカーを得るため、双子葉植物で得られたマーカーのひとつSERK 遺伝子のイネホモログcDNAを単離し、その発現パターンの解析も開始した。

(3) イネ遠縁交雑後代で遺伝子伝達にゆがみを生じる遺伝子のポジショナルクローニング: 春島嘉章, 倉田のり

この課題については、すでに昨年までに日本型稲(日本晴)xインド型稲(カサラス)のF<sub>2</sub>世代を用いて構築されていた高密度遺伝子連鎖地図の解析で、幾つかの染色体領域に日本型もしくはインド型稲の遺伝子の伝達頻度が大きく低下する領域のあることが明らかとなっていた。そこでこれらの解析をさらに押し進めて、遺伝子分離のゆがみを引き起こす原因遺伝子を分子マーカーを用いてマッピングし、ポジショナルクローニングするための実験を行う。今年度は、F<sub>2</sub>世代の遺伝子分離頻度を一種の量的形質と考え、実験データをもとに分離頻度をゆがませる原因遺伝子の数, 位置, 作用力等を明らかにする数種のモデルを用いた多応答非線形回帰分析のプログラムの開発を行った。クローニングを試みている遺伝子の領域で、F<sub>2</sub>集団の解析結果とその後代を用いた解析で良い一致を示し、イネの

約2300マーカーを用いた連鎖地図上において目的とする遺伝子を挟み込む最近接マーカーを得た(発表講演1, 投稿準備中)。日本晴とkasalathの $F_2$ 世代で生じた分離ゆがみが雌性または雄性いずれの側で生じたのかを確認し, それらの遺伝子の準同質系統の育成により高分解能遺伝解析を行うことを目的として, 日本晴と $F_1$ を相互に交配したバッククロス系統各238個体, 計476個体を作成し, これらの個体よりDNAを調整した。98年は, 目的遺伝子領域の詳細な遺伝および物理地図の作成を行う。

(4) イネ人工染色体構築のためのセントロメア配列のクローニング(核内における染色体動態解析の一環として): 野々村賢一, 倉田のり

この課題については, 本年度よりイネ人工染色体の構築を行うための素材としてセントロメアDNA断片のクローニングを開始した。またこれらの研究のため, すでにクローン化されているイネゲノムの巨大DNA断片などの準備や選定も進めた(参考文献2~6)。

まず穀類ゲノム中で見いだされたヒトCENP-B box様配列をもとにPCRを行い, 得られたイネ由来のDNA断片をクローニングし, この配列を持つゲノムクローンをスクリーニングにより多数得た。そのうちの一つについて塩基配列決定を行い構造を解析した。その結果このゲノム断片は, CENP-B box様配列を含む約2Kbのダイレクトリピート(RCE1)を3コピー含み, コピー間には多くのパリンドロームや逆向き反復配列を含むATリッチな配列が介在していた。これは高等生物の動原体領域に見られる特徴と一致する。RCE1を用いた蛍光 in situハイブリダイゼーションで, これらの配列はイネ染色体の動原体領域に局在することが示された(発表講演4, 投稿準備中)。

これまで本研究室の事業として行われてきた多種の植物保存系統の増殖, 維持についての検討と同時に, 新たな遺伝資源の素材として, 分子生物学的な解析を可能とする有用な植物系統の開発, 利用が望まれる。遺伝研で長年にわたり多くの野生イネ系統が収集, 保存されてきたことを考えると, これらの素材に対する理解を遺伝学的にも, 分子生物学的にも深化させるためにも, イネにおける解析系統の確立を図ることが第一であると考えられる。そこで基本的な栽培イネ系統を用いて外来遺伝子タグを挿入した多数の変異系統を作出し, 各種の解析に用いていくことを計画した。これらの素材からは, 変異を引き起こす原因遺伝子を外来遺伝子タグを目印として比較的簡単にクローニングすることが可能で, 同時に遺伝子機能や発現部位の解析もでき, さらに上記(1)(2)や(4)の研究の素材となる系統をスクリーニングするためにも利用できるようにする。これらの条件を満たす素材として, エンハンサートラップ系統の開発と作出を行うこととした。

(5) イネのエンハンサートラップ系統の作出: 伊藤幸博, 野々村賢一, 永口 貢, 倉田のり

これらの系統作出は, 一方では効率よく多種の遺伝子破壊系統を作り, 維持, 分譲するという事業の側面を持つ。他方ではその遺伝子が挿入破壊された変異系統に見られる変異形質から, その遺伝子機能を推定すると共に, 外来遺伝子をタグとして, 効率よく破壊遺伝子を単離する研究系を構築する。

このため97年には, 2つのベクターを用いてそれぞれのトランスジェニックイネを作成

した。1つはトウモロコシのトランスポゾンDs(Ds内には最小単位プロモーター下にGUSレポーター遺伝子をつないである)をアグロバクテリウムのT-DNA上に持つベクターを導入した約100系統、他の1つはDsの転移に必要なAcトランスポゼース遺伝子をT-DNA上に組み込んだベクターを導入した数系統である。これらのトランスジェニックイネからDNAを抽出し、導入遺伝子のコピー数や挿入位置の解析を進行している。これら2種のベクターを別々に組み込んだ個体を確認後、AcとDsを相互に交配することによりDs側の遺伝要素を染色体上のいろいろな場所へ転移させることができる。よって交配によりGUS遺伝子が種々の場所に組み込まれた多数の系統を効率よく得ることが出来る。今後多数のエンハンサートラップ系統を作出し、研究素材として解析を進めると共に、系統維持および分譲を行う予定である。

## 研究業績

### (1) 原著論文

1. Monna L., Miyao A., Zhong H. S., Yano M., Iwamoto M., Umehara Y., Kurata N., Hayasaka H. and Sasaki T.: Saturation mapping with subclones of YACs: DNA marker production targeting the rice disease resistance gene, *Pi-b*. *Theor. Appl. Genet.* **94**, 170-176, 1997.
2. Shimokawa T., Kurata N., Wu J., Umehara Y. and Sasaki T.: Assignment of YAC clones spanning rice chromosomes 10 and 12. *DNA Research*, **3**, 401-406, 1997.
3. Koike K., Yoshino K., Sue N., Umehara Y., Ashikawa I., Kurata N., and Sasaki T.: Physical mapping of rice chromosomes 4 and 7 using YAC clones. *DNA Research*, **4**, 27-33, 1997.
4. Tanoue H., Shimokawa T., Wu J., Sue N., Umehara Y., Ashikawa I., Kurata N. and Sasaki T.: Ordered YAC clone contigs assigned to rice chromosomes 3 and 11. *DNA Research*, **4**, 133-140, 1997.
5. Umehara Y., Kurata N., Ashikawa I. and Sasaki T.: Yeast artificial chromosome clones of rice chromosome 2 ordered using DNA markers. *DNA Research*, **4**, 127-131, 1997.
6. Kurata N., Umehara Y., Tanoue H. and Sasaki T.: Physical mapping of the rice genome with yeast artificial chromosome clones. Special issue "Oryza: from molecular to plant." *Plant Mol. Biol.*, **35**, 101-113, 1997.
7. Foote T., Roberts M., Kurata N., Sasaki T. and Moore G.: Detailed comparative mapping of cereal chromosome regions corresponding to the *Ph1* locus in wheat. *Genetics*, **147**, 801-807, 1997.
8. Yano M., Harushima Y., Nagamura Y., Kurata N., Minobe Y. and Sasaki T.: Identification of quantitative trait loci conferring heading date of rice using a high-density linkage map. *Theor. Appl. Genet.*, **95**, 1025-1032, 1997.

9. Harushima Y., Yano M., Shomura A., Sato M., Shimano T., Kuboki Y., Yamamoto T., Lin S. Y., Antonio B. A., Parco A., Kajiya H., Huang H., Yamamoto K., Nagamura Y., Kurata N., Khush G. S. and Sasaki T.: A high density rice genetic linkage map with 2275 markers using a single F<sub>2</sub> population. *Genetics*, **148**, 479-494, 1998.
10. Yoshimura S., Yamanouchi U., Katayose Y., Wang Z-X, Toki S., Kono K., Kurata N., Yano M., Iwata N. and Sasaki T.: Expression of *Xa-1*, a novel bacterial blight resistance gene in rice, is induced by bacterial inoculation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, 1663-1668, 1998.

(2) 発表講演

1. Harushima Y., Kurata N., Yano M. and Sasaki T.: A fine mapping of gene responsible for segregation distortion in an indica-japonica rice cross. The 5th International Congress of Plant Molecular Biology. Singapore, Sept. 21~27.
2. 伊藤幸博, 倉田のり: イネ初期胚発生過程でのホメオボックス遺伝子の発現パターン. 第92回日本育種学会, 鳥取, 10月.
3. 永口 貢, 伊藤幸博, 倉田のり: イネ再生植物体形成過程における遺伝子発現の解剖学. 第92回日本育種学会, 鳥取, 10月.
4. 野々村賢一, 倉田のり: 哺乳類CENP-B box様配列を持つイネの繰り返り単位のクロニングと解析. 第69回日本遺伝学会, 横浜, 11月.
5. 伊藤幸博, 永口 貢, 倉田のり: イネ初期胚発生におけるホメオボックス遺伝子の発現パターン. 第20回日本分子生物学会, 京都, 12月.

F-d. 原核生物遺伝研究室

原核生物遺伝研究室では、大腸菌の細胞分裂の遺伝的調節機構、特に分裂時期の決定機構について7テーマの研究を行った。研究室構成員、西村昭子(助教授)、鶴飼英樹(10月総研大卒業/就職)、西森加奈(東邦大M2)、蓼沼磨貴(東邦大M2)、笹沼明美(4月文部技官に着任)、上山清子(研究支援推進員)、佐藤靖子(実験補助員)、植村 薫(パート)により研究の推進を行った。本年度の研究は、文部省科学研究費重点領域研究(1)細胞複製装置(代表者、平賀壮太)“大腸菌の細胞分裂の時間的制御機構(西村)”, 日本学術振興会未来開拓学術研究事業(代表者、小笠原直毅)“大腸菌遺伝子の機能解析(西村)”, 及びリーダーシップ経費の支援を受けた。本研究共同研究として、次の2件を受け入れ実施した:(i)大腸菌の細胞分裂に関与する遺伝子群の解析(東大:松沢 洋, 上原 剛, 藤島博史, 山口大:山田 守, 京都薬科大:加納康正), (ii)大腸菌の細胞分裂におけるGlycyl-tRNA合成酵素の役割(自治医大:山田優子)。

(1) 細胞分裂の時期を決める機構: 西村昭子

昨年度迄に、cfc変異株では核様体分離から分裂に到る時期が短縮しているがそれを相

補するように分裂から次のDNA複製開始に到る時期の延長が起っていることを明らかにした。また Ap4A は細胞分裂を誘導するシグナルであり、変異株では高レベルの Ap4A が合成され、DNA複製の終了とは無関係に細胞分裂を開始することを明らかにした(業績(1)-1, 3, (2)-1, 2)。cfcA11 はグリシル tRNA 合成酵素の  $\alpha$ -サブユニットをコードする *glySa* にミスセンス変異を有しており、高レベル Ap4A は *glySa* 変異によることが解ったので、Ap4A の細胞内合成様式を明らかにする為に、GlyS 蛋白の Ap4A 合成及び分解について *in vitro* での機能解析を行うことにした。本年度は *glySa* と *glySb* の各々に変異をもつ各種 *glyS* 変異遺伝子のクローン化を行うと共に、蛋白分離の為に系の検討を行った。また昨年分離した新規 Ap4A 結合蛋白の機能解析を行う為に、この遺伝子を発現制御の可能なベクターにクローン化すると共に、遺伝子破壊株の作成を行った。引き続き分裂時期の制御への関与について解析中である。

(2) カリウムポンプ蛋白の膜局在に与える *ftsE* 変異の影響：鶴飼英樹，山田 守，西村昭子

大腸菌の *ftsE*<sup>ts</sup> 変異は細胞分裂と細胞増殖に欠損を引き起こす。各々の欠損の原因を解析した。PhoA 融合蛋白のウエスタンブロットング解析から、*ftsE*<sup>ts</sup> 変異株ではカリウムイオンポンプを構成する蛋白の、膜への局在が欠損していることが解った(業績(1)-2, (2)-3)。カリウムイオンは蛋白合成過程に必須なイオンであると共に栄養の取り込みに必要な膜電位を形成している為カリウムイオン濃度が減少すると細胞の増殖が停止する。一方多くの状況証拠から、*ftsE*<sup>ts</sup> 変異株では、FtsQ 蛋白が膜に局在できない為に細胞分裂が欠損している可能性が示唆されたので、引き続き FtsQ について同様の解析を始めた。

(3) リポ多糖合成と細胞分裂の相互認識機構：西森加奈，西村昭子

外膜の主要構成成分であるリポ多糖の合成に関与する *kdsA* 変異株が高温で多核フィラメントとなることから、リポ多糖の合成と細胞分裂の間に相互認識機構が存在するのではないかと予測し、この変異株の詳細な解析を行った。リポ多糖は少糖鎖とリピド A と両者を繋ぐリンカー (KDO) から構成されており、*kdsA* 遺伝子は KDO の前駆物質を合成する酵素をコードしている。*kdsA* 変異株を 41°C で培養すると、KDO の細胞内濃度と、細胞分裂装置の蛋白をコードする *ftsZ* 遺伝子の mRNA 量が、何れも同じ速度で急速に減少した。この減少は、*kdsA* 遺伝子を担うプラスミドで形質転換すると回復した。リポ多糖合成と細胞分裂の相互認識の分子機構を明らかにする為に、*kdsA* 変異を抑制する変異株を分離し *kdsA* 遺伝子領域の塩基配列を解析した処、*kdsA* 遺伝子以外の遺伝子に生じた抑制変異株であることが解ったのでこの抑制遺伝子の解析に着手した。

(4) 大腸菌の細胞分裂及び細胞周期関連遺伝子群の系統的解析：蓼沼磨貴，佐藤靖子，西村昭子

大腸菌の細胞分裂機構を構成する全遺伝子群を系統的に同定し、個々の遺伝子の構造と機能及び遺伝子相互の関連を網羅的に解析することにより、細胞分裂機構の全貌を明らかにしたいと考え、数年前よりこれらの遺伝系統の樹立を開始し、細胞分裂に関する変異遺伝子(430 系統)のマッピングを行ってきた。本年度から、これらの変異遺伝子とゲノム解

析により明らかになったORFとの対応付けを行う為のプロジェクトを開始した。まず各ORFを担うプラスミドを、F-piliを介した遺伝的手法を用いて簡単にしかも一度に種々の変異株に伝達することができるようなベクターと宿主(供与菌)を構築した。既知の変異株を用いて検討した結果、発現量を極端に少なくする必要のある遺伝子以外は、特に問題ないことが解ったので、この系を用いて個々の解析を開始した。

## 研究業績

### (1) 原著論文

1. Nishimura A., Moriya S., Ukai H., Nagai K., Wachi M., and Yamada Y.: Diadenosine 5', 5'''-P1, P4-tetraphosphate (Ap4A) controls the timing of cell division in *Escherichia coli*. *Genes to Cells*, 2, 401-413, 1997.
2. Ukai H, Matsuzawa H, Ito K, Yamada M, and Nishimura A.: *ftsE*<sup>ts</sup> causes defect in cell growth of *Escherichia coli* through affecting translocation of K<sup>+</sup>-pump proteins into the membrane. (submitted)
3. Nishimura A. Timing of cell division: Ap4A as the signal. (TiBS in press)

### (2) 発表講演

1. Nishimura, A.: Diadenosine 5', 5'''-P1, P4-tetraphosphate (Ap4A) controls the timing of cell division in *Escherichia coli*. International Symposium "Gene Functions to Cell Differentiation", Mishima (Japan), September.
2. Nishimura, A., Moriya, S., Ukai, H., & Yamada, Y.: Molecular mechanism that determine the timing of cell division in a cell cycle of *Escherichia coli*. The 5th JST International Symposium "New Frontiers in Microbiology", Tokyo (Japan), January.
3. Ukai, H., Yamada, M., Nishimura, A.: Many of essential processes for cell growth are coupled with cell division. The 5th JST International Symposium "New Frontiers in Microbiology", Tokyo (Japan), January.
4. Sasanuma, A., Kobayasi, Y., Kuratomi, K., & Nishimura, A.: Roles of Ap4A and its binding protein in cell cycle of *E. coli*. The 5th JST International Symposium "New Frontiers in Microbiology", Tokyo (Japan), January.

## F-e. 無脊椎動物遺伝研究室

平成9年度も前年度に引き続き林 茂生, 後藤 聡を中心にキイロシヨウジョウバエの発生遺伝学に関する研究を行った。また池谷智淳(COE非常勤研究員), 高山絵理子(国立遺伝学研究所非常勤研究員), 亦勝実穂(総合研究大学院大学), 亦勝 和(大阪府立大学大学院), 久保田一政(東京医科歯科大学大学院), 田所竜介(北里大学), が研究に参加した。文部技

官谷口美佐子, 実験補助員鈴木恵子, 大藪陽子, 武内裕子が研究と系統保存事業を支援した。

後藤, 亦勝(実)は4月に米国シカゴで行われた米国ショウジョウバエ学会に参加し, 発表を行った。林は5月に米国コールドスプリングハーバー研究所で行われたシンポジウム「Pattern Formation During Development」に参加・発表し, ハーバード大学, MIT, ジョンスホプキンス大学においてセミナーを行った。

本年度の研究は文部省基盤研究(B)「ショウジョウバエ単一細胞破壊システムの開発とその器官形成機構解明への応用」(林), 重点領域研究(2)「Dppシグナルの強度による遺伝子発現制御の解析」「Dpp, Wgによるショウジョウバエ翅・肢形成の解析」(後藤), 日本学術振興会未来開拓学術研究「発生におけるパターン形成」(林)の援助を受けて行われた。

(1) ショウジョウバエの肢翅誘導とパターン形成機構: 後藤 聡, 久保田一政, 高山絵理子, 林 茂生

昨年度までの研究により胚発生において肢・翅の原基が形成されるには分泌蛋白 Wingless (Wg) による誘導作用と Decapentaplegic (Dpp) と Spitz (Spi) による抑制作用が組み合わされる第一のステップとそれに引き続く Dpp による濃度依存的な分化誘導が起きる第二のステップが必要であることを示した(文献1)。

第二のステップにおいては高濃度の Dpp を受け取る細胞は翅へ, 低濃度の Dpp を受け取る細胞は脚近位部の細胞へ分化すると考えられる。リガンド分子 Spi によって活性化される EGF 受容体 (DER) を第二のステップに相当する時期に不活化すると翅原基の細胞数が増大する事を見出した。この結果は DER と Dpp のシグナル伝達系が相互作用する可能性を示唆している(久保田)。

肢翅形成は胚発生における細胞の移動と再配列を伴う。この過程を解析する事を目指して特定の細胞を標識し, 追跡する手法の開発を試みている(高山)。

胚発生において完成した脚原基はホメオボックス遺伝子 *Dll* を発現する遠位部の細胞を Znフィンガー遺伝子 *Escargot* (*esg*) を発現する近位部の細胞が取り囲む同心円状のパターンを示す。この発現パターンは幼虫期を通じて細胞数が約30から2万強へと増大しても維持される。この同心円状の遺伝子発現の意義を調べるため *Dll*, *esg* を各々異所的に, 少数の細胞のクローンで発現させたところ成虫脚のパターンに大幅な異常が生じた。*esg* および *Dll* 発現細胞クローンは周囲の細胞の分化と極性を変化させることがわかった。この結果は脚のパターン形成が近位部の細胞と遠位部の細胞との間の相互作用に依存している事を示唆している(後藤)。

またこれらの研究の過程で組織中の mRNA を *in situ hybridization* で, 蛋白質を抗体で蛍光プローブを用いて検出する方法を開発した。この方法は従来の発色反応による検出方法に比べて解像度の点で優れている。この方法を用いて初期胚の肢・翅原基における細胞移動の様子を明らかにした(文献3)。

(2) 気管形成の細胞生物学: 田中一亦勝実穂, 池谷智淳, 林 茂生

昆虫の気管系は胚発生において外胚葉が上皮性を保ったまま陥入, 分枝, 伸展, 融合し

てつくられる管状上皮のネットワークである。この組織をモデルにして形態形成における細胞の移動、接着の役割を研究している。

気管枝の融合において先導的な役割を果たす先端細胞では転写因子Escargotが細胞間接着分子DE-カドヘリンの発現と、細胞の運動性を制御することで細胞の接着とその後の形態変化を制御していることは昨年報告した(Tanaka-Matakatsu et al, *Development* **122** 3697-3705, 1996)。気管の融合に際して先端細胞同士は接触し、その間にDE-カドヘリンを蓄積させる。更に先端細胞内部に空間(lumen)が生じ、管状の形態に変化する。先端細胞のこのような形態変化は気管の融合において先端細胞のapical-basalの極性が変化していることを示唆している。そこで微小管と、細胞表面、およびapical側へ分泌される分子のマーカを用いて先端細胞での細胞極性の動態を研究している。微小管の一部に局在化するNodと $\beta$ -ガラクトシダーゼの融合蛋白質(NZ)をマーカーにして気管の融合に際しての先端細胞内部での細胞骨格系の変化を追跡した。NZは先端細胞が標的に接触する時期に細胞中心部を気管枝先端部に向かって分布する。このNZの分布に沿ってlumenに分泌される2A12抗原を含んだ小胞体や、細胞接着面に輸送されるDE-カドヘリンを含んだ小胞体が並ぶことが観察された。この段階に引き続きDE-カドヘリンは細胞の接着面に移動し、更にNZの分布に沿ってlumenが形成され、そこに2A12抗原が放出された。この観察結果は先端細胞内部でlumenの形成位置と細胞の接着面とがNZで標識される構造を示標にして決定されているという可能性を示唆する(田中一亦勝)。

細胞膜分子Notchは発生の様々な局面で細胞間のコミュニケーションと遺伝子発現制御とを結びつける重要なシグナル伝達系のレセプター分子である。NotchとそのリガンドであるDelta, Serrateは気管系で発現している。気管形成においては様々な機能を担った細胞種が枝ごとに決まった数だけ選択されてくる。この過程においてNotchが何らかの役割を果たしている可能性を探るための解析を行っている。Notchの温度感受性変異株 $N^{ts1}$ を発生過程で制限温度へ移すと気管形成に様々な異常がみられた。またNotchの活性化型変異遺伝子を気管全体で発現させるとやはり気管形成に異常が生じた。これらの結果はNotchの時間的、細胞特異的な活性化が気管形成に必須であることを示している(池谷)。

### (3) Escargot と Cdc2 による細胞周期チェックポイント機構：林 茂生

細胞周期の調節因子Cdc2カインースはG2期においてサイクリンAと協同してDNA合成を阻害する事を昨年度までの研究によって示した。今年度はG1/S期に活性化される転写因子E2FがCdc2と *in vitro* で結合する結果を得た。また遺伝学的な解析によりCdc2はE2Fの活性を抑制し、同時に蛋白質の安定化が起こることが明らかになった。このメカニズムは真核生物の細胞周期においてS期が連続して起こらないようにする制御機構(チェックポイント)を説明し得るものである。またEscargotはCdc2とサイクリンAの発現を正に制御することでこのチェックポイント機構を制御することも明らかにした。

(4) 成虫翅に異常を来す突然変異 *plexus* : 亦勝 和<sup>1</sup>, 蒲生寿美子<sup>1</sup>, 田所竜介<sup>2</sup>, 林 茂生<sup>1</sup>(大阪府立大学,<sup>2</sup> 北里大学)

成虫翅を前後及び近遠方向に区切る翅脈はパターン形成機構解析の良い指標となる。

我々は過剰な翅脈を生ずる突然変異plexusを手がかりに翅の前後軸のパターン形成機構を追求している。これまでにplexus遺伝子座のゲノム領域をクローン化し、そこに2系統のplexus変異に付随したトランスポゾン挿入部位を同定した。また別のplexus変異系統に付随した逆位の切断点を同定した。これらの結果よりこの領域にplexus遺伝子が存在することが強く示唆された。現在plexus産物の候補となるcDNAを得てその解析を進めている。

(5) 形態形成に関わる新規の遺伝子機能同定のための遺伝子スクリーニング：後藤 聡，武内裕子，谷口美佐子，高山絵理子，林 茂生

肢・翅や気管系のパターン形成に関与する遺伝子を同定するために酵母の転写因子Gal4を染色体上にランダムに挿入したエンハンサートラップ系統約500系統を確立し，挿入染色体を決定した。今後国内の研究グループと協同して系統を交換しながらGal4の発現パターンの検索とトランスポゾン挿入突然変異のスクリーニングを行う予定である。

## 研究業績

### (1) 原著論文

1. Goto S. and Hayashi S.: Specification of the embryonic limb primordium by graded activity of Decapentaplegic. *Development*, **124**, 125-132, 1997.
2. Yagi Y. and Hayashi S.: Role of the *Drosophila* EGF receptor in determination of the dorsoventral domains of *escargot* expression during primary neurogenesis. *Genes to Cells*, **2**, 41-53, 1997.
3. Goto S. and Hayashi S.: Cell migration within the embryonic limb primordium of *Drosophila* as revealed by a novel fluorescence method to visualize mRNA and protein. *Development Genes and Evolution*, **207**, 194-198, 1997.

### (2) その他

1. 後藤 聡，林 茂生：Dpp, Wgによるショウジョウバエの翅・肢誘導と近遠軸形成。実験医学, **15**(4), 60-67, 1997.

### (3) 発表講演

1. Goto S. and Hayashi S.: Specification of *Drosophila* limb in the embryo by Dpp and Wg. 38th Annual *Drosophila* Research Conference, Chicago, U.S.A., April.
2. Tanaka-Matakatsu M., Oda H., Takeichi M., Uemura T., and Hayashi S.: Control of tracheal fusion by the transcription factor Escargot and cell adhesion molecule DE-cadherin. 38th Annual *Drosophila* Research Conference, Chicago, U.S.A., April.
3. 八木克将，林 茂生：ショウジョウバエ神経上皮のD-V軸方向の分化 *escargot* 遺伝子の発現をマーカーとした解析。日本発生物学会第30回大会，筑波，5月。
4. 後藤 聡，林 茂生：ショウジョウバエの肢・翅を用いた器官形成機構の解析。日本発生物学会第30回大会，筑波，5月。

5. 林 茂生, 亦勝実穂, 志賀靖弘, 後藤 聡: 共焦点レーザー顕微鏡の分子・細胞・個体観察への応用. 日本電子顕微鏡学会第53回学術講演会, 尼崎, 5月.
6. Goto S. and Hayashi S.: Specification of the limb primordium and the proximodistal axis by *Decapentaplegic* in the *Drosophila* embryo. LXII Cold Spring Harbor Symposium, Cold Spring Harbor, U.S.A., May.
7. 八木克将, 鈴木利治, 林 茂生: 神経上皮背腹軸方向の分化とDER. 日本ショウジョウバエ研究会第3回研究集会, 福岡, 8月.
8. 林 茂生: 細胞が二倍体を維持する際のCdc2と転写因子との相互作用. 日本ショウジョウバエ研究会第3回研究集会, 福岡, 8月.
9. 亦勝一田中実穂, 林 茂生: ショウジョウバエ気管融合の解析. 日本ショウジョウバエ研究会第3回研究集会, 福岡, 8月.
10. 後藤 聡, 久保田一政, 林 茂生: ショウジョウバエの肢における近遠軸(P-D axis)の形成. 日本ショウジョウバエ研究会第3回研究集会, 福岡, 8月.
11. 亦勝 和, 田所竜介, 蒲生寿美子, 林 茂生: 翅脈のパターンに異常を生じる突然変異plexusの解析. 日本ショウジョウバエ研究会第3回研究集会, 福岡, 8月.
12. Hayashi S.: Induction of the limb in *Drosophila*. National Institute of Genetics International Symposium, Mishima, September.
13. Goto S., Kubota K., and Hayashi S.: Formation of the proximal-distal axis in *Drosophila* limb. National Institute of Genetics International Symposium, Mishima, September.
14. Tanaka-Matakatsu M., Uemura T., Oda H., Takeichi M., and Hayashi S.: Tracheal branch fusion is controlled by the transcription factor Escargot and cell adhesion molecule *DE*-cadherin. National Institute of Genetics International Symposium, Mishima, September.
15. 林 茂生, 後藤 聡: ショウジョウバエ肢翅形成における第三の軸-近遠軸-の誘導機構. 第50回日本細胞生物学会大会シンポジウム, 横浜, 9月.
16. 林 茂生: 発生におけるパターン形成の原理とはなにか?. 第7回数理生物学シンポジウム, 大阪, 10月.
17. 林 茂生: 細胞分化におけるS期とM期のアンカップリングとCdc2. 日本遺伝学会第69回大会シンポジウム, 横浜, 11月.
18. Hayashi S.: Coupling of S phase entry with M phase completion in the cell cycle by Cdc2 and its target E2F. The 3rd UK-Japan Cell Cycle Workshop, Kyoto, November.
19. 後藤 聡, 久保田一政, 林 茂生: ショウジョウバエの肢発生における近遠軸の形成. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.
20. 亦勝 和, 田所竜介, 蒲生寿美子, 林 茂生: ショウジョウバエの翅脈形成に異常を生じる突然変異のplexusの解析. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.

21. 亦勝一田中実穂, 林 茂生: キイロショウジョウバエ気管形成における細胞極性の役割. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.
22. 八木克将, 鈴木利治, 林 茂生: ショウジョウバエ初期神経発生におけるEGFシグナルの役割. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.

## G. 生物遺伝資源情報総合センター

平成9年度に新たに発足した生物遺伝資源情報総合センターは、生命科学の学術研究にとって重要な生物系統と情報に関して、様々な生物種の系統保存事業を有効に進めるためおよび系統情報を統合的に収集整理してデータバンクを構築するためのセンターとして設立された。これらの責務を果たしながら、さらには関連分野の将来を探るセンターとしてのはたらきを目指している。系統情報研究室（山崎由紀子助教授）と生物遺伝資源情報研究室からなる。

### G-a. 系統情報研究室

系統情報研究室では、山崎由紀子が「知識情報の記述法に関する研究」を行った他、山崎由紀子、斉藤真理、土屋里枝、鈴木栄美子(2月より)、矢野澄子(6月より)が、研究事業「系統情報データベースの構築」を推進した。

本年度の研究は、文部省科学研究費補助金から研究成果公開促進費「系統資源情報データベース」(代表者: 山崎由紀子)の支援を受けた。

また遺伝学研究所の共同研究として、「コムギ類遺伝解析系統の保存とそのネットワーク構築に関する共同研究」(木原記念横浜生命科学振興財団・西川浩三)を実施した。

#### (1) 知識情報の記述法に関する研究

##### (1-a) 異種統合機能遺伝子データベースに関する研究: 山崎由紀子

当研究室では、各生物種毎に作成した系統情報データベースを基に、異種統合型データベースの構築を目指している。昨年度はイネ科植物(イネとコムギ)の統合データベースを試作したが、さらに発展させ、イネ、コムギ、ショウジョウバエ、マウスの4生物種について遺伝子の統合データベースの構築を試みた。系統情報データベースに格納されている遺伝子のすべては機能のわかっているものである。一方、配列データベースの遺伝子には機能未知のものが多く収録されている。そこでDNA配列データベースの遺伝子情報と系統情報データベースの遺伝子情報を統合することから始めた。この2つの情報源に、生物種毎の遺伝子カタログの情報を加えて遺伝子テーブルを作成した。遺伝子テーブルは、生物種名、遺伝子名、系統番号、DNA配列番号(アクセッション番号)からなり、遺伝子名による種間検索が可能である。さらに、遺伝子を理想的に分類することができれば、遺伝子名のみならず、機能や現象を表現するキーワードで、関連の遺伝子群を横断的に検索することができるはずである。しかしながら、遺伝子名が同一生物種でさえ統一されていない

こと、完全な遺伝子カタログが存在しないことなどから、信頼度の高い遺伝子テーブルを作成するに至っていない。最終的には人手による査定作業を効率よく行うことによって完成させることができると考えている。遺伝子の分類に関しては、知識情報に関する既存の表現を無視することはできないので、むしろあらゆる表現に対応しつつ、一義的に定義可能な分類法を模索している。

(1-b) 画像検索に関する研究：山崎由紀子，北上 始<sup>1</sup>（広島市立大学情報科学部）

系統生物に関する学術情報は、数値や文字で表記されるテキスト情報の他に、形態の特徴を表す画像情報を多くもつという特徴がある。近年バイオイメージング技術の進歩により、生体の静的動的情報を、定性的のみならず定量的に解析することも可能となってきたものの、コンピューターによる画像認識は未だ不完全である。そこで、北上始教授（広島市立大学）と共同で、コムギの穂の形態に関する1400件の画像を用い、画像検索システムの開発研究を開始した。コンピュータ画像認識の研究と画像に付加したテキスト情報の検索という両面からのアプローチを検討している。

(2) 系統情報データベースの構築：山崎由紀子，斉藤まり，土屋里枝，鈴木栄美子，矢野澄子

コムギ：系統情報データベース--KOMUGI--は、内容の一部を更新したversion 1.1を年度内にリリースする予定である。さらに、version 2.0ではversion 1.0の曖昧な表現や冗長な項目を改善し、画像データを含めた全保存機関の最新情報を提供する計画である。オンライン大量データ更新システムも開発中であり、一部は年度内に実用化する。その他未公開ではあるが、荻原保成助教授（横浜市立大学木原生物学研究所）との共同作業により、コムギDNA レポジトリデータベースを構築している。

イネ：北大・木下名誉教授や当研究所育種遺伝研究部門の森島教授の協力を得て昨年度作成したデータベースを基に、カタログ「Rice Genetic Resources in Japan --1997」を出版し、国内外の研究者約200名に配布した。今年度は、当研究所植物遺伝研究室の倉田のり助教授を中心に、国内のイネ研究者がネットワークを結成し、ゲノム情報を取り入れた次世代データベースの構築に向けて準備を開始した。

オオムギ：岡山大学生物資源科学研究所の佐藤和広助教授の協力を得、オオムギ系統情報データベースを試作した。栽培品種、野生種、突然変異体、連鎖分析用検定系統、トリソミック系統、同質遺伝子系統など、5000系統以上の情報を網羅し、32項目の特性情報も充実している。近い将来公開の予定である。

マウス：当研究所哺乳遺伝研究室城石俊彦助教授と共同で、Mouse Microsatellite Database of Japan (MMDBJ) を構築し、オンライン登録を可能とした。

実験小動物：昨年度理化学研究所から移植した実験動物データベースシステムを更新し、オンライン登録も含めて年度内に実用化する予定である。当研究所哺乳遺伝研究室が維持しているマウスの系統および実験動物協会の情報を収録して第一回のリリースとし、他の保存機関に協力を呼びかけていく予定である。

クローニングベクター：クローン保存管理者がデータベースを完全管理するための「オ

ンラインメンテナンスシステム」を開発した。現在データベースの管理は、当研究所微生物遺伝研究部門の安田助教授によって行われている。

## 研究業績

### (1) その他

1. Yamazaki Y., Tsujimoto H. and Kawahara T.: KOMUGI Database-Wheat Genetic Resources Database. Wheat Information Service, 85, 88-91, 1997.

### (2) 発表講演

1. 山崎由紀子: 系統保存データベース構築とネットワーク。日本遺伝学会第69回大会シンポジウム, 横浜, 11月.
2. 山崎由紀子: 異種統合機能遺伝子データベース. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.

## H. 構造遺伝学研究センター

構造遺伝学研究センターは、広い意味での構造生物学的手法を遺伝学に導入し、新しい分野を切り開くために、旧・遺伝情報研究センターを拡充・改組し、平成8年5月に設立された。このセンターは、超分子機能研究室(教授・嶋本伸雄, 助手・永井宏樹), 構造制御研究室(教授・桂 勲, 助手・石原 健), 超分子構造研究室(助教授・白木原康雄, 助手・秋葉俊彦), 遺伝子回路研究室(教授・小原雄治, 助手・安達佳樹), 生体高分子研究室の5研究室から成る。本年は、空席であった生体高分子研究室の助教授に、7月1日付で科学技術振興事業団・柳田生体運動子プロジェクトより、徳永万喜洋が着任し、本センターの全ての研究室で研究・教育活動が行われることになった。

### H-a. 生体高分子研究室

当研究室では、生体高分子の機能を明らかにする事を目的として、生体分子1分子を観て・操作し・計測する独自技術を用い、生物物理学的研究を行っている。

7月に徳永万喜洋が助教授に着任し、研究活動を行っている。徳永は、着任前に科学技術振興事業団・柳田生体運動子プロジェクトにて新しい1分子技術を開発し、当研究所にてそれをさらに発展させるべく研究活動を展開している。柳田敏雄(大阪大学医学部・基礎工学部), 齋藤 究(柳田プロジェクト, (現)金沢大学理学部), 岩根敦子, 喜多村和郎, 廣島通夫(大阪大学基礎工学部), 青木高明(大阪大学医学部)と共同研究を行った。

(1) 1分子酵素反応のイメージング: 徳永万喜洋, 齋藤 究<sup>1</sup>, 喜多村和郎<sup>2</sup>, 岩根敦子<sup>2</sup>, 柳田敏雄<sup>1,2,3</sup> (<sup>1</sup>科学技術振興事業団・柳田プロジェクト, <sup>2</sup>大阪大学基礎工学部, <sup>3</sup>大阪大学医学部)

水溶液中で、分子1個を蛍光顕微鏡を使って直接観察するために、対物レンズ型全反射照明による蛍光1分子イメージング法を開発した。全反射により生ずるエバネッセント場(表面からの深さ約150nmの局所領域のみを照明する)で蛍光を励起する為、非常に良いコントラストの蛍光像が得られる。当方法は、光学系が比較的簡単である、落射照明との切り替えが極めて簡単である、試料厚みに制限が無い、プローブ顕微鏡で初めて蛍光1分子イメージングが可能となったという特長を持ち、汎用的な方法であり、今後広く使われるようになると考えられている。

上記方法を用いて、1分子の酵素反応を直接観ることができた。ATPに蛍光色素(Cy3)を結合させた蛍光ATPであるCy3-ATPを合成した。Cy3-ATPは酵素(ミオシン)と反応していないときは、ブラウン運動しているので蛍光スポットとして観察されないが、ミオシンと反応中はブラウン運動が止まり輝点として観察できるようになる。加水分解されてCy3-ADPになると、結合が弱くなりすぐに解離して蛍光は再び見えなくなる。このようにして、ATP1分子のターンオーバーを蛍光の点滅としてイメージングすることができた。

ブラウン運動を利用するという全く簡単な原理に基づいた方法であり、生体高分子機能の新しい研究方法として広範な応用が期待されるものである。詳細は文献4に発表した。

(2) 分子間力顕微鏡による分子間相互作用の計測: 徳永万喜洋, 青木高明<sup>1</sup>, 廣島通夫<sup>1</sup>, 柳田敏雄<sup>1,2,3</sup>(<sup>1</sup>大阪大学医学部, <sup>2</sup>大阪大学基礎工学部, <sup>3</sup>科学技術振興事業団・柳田プロジェクト)

生体分子間の相互作用をイメージングする為、サブピコニュートン分解能の力計測と非接触計測を可能にする分子間力顕微鏡を開発した。

サブピコニュートン分解能は、0.1 pN/nmの超高感度カンチレバーを製作する事により実現した。これは、市販のAFM(原子間力顕微鏡)の約100倍以上の高感度である。このように柔らかいカンチレバーは、自身のブラウン運動により大きくゆらぐ。この問題を解決する為、レーザー光の輻射圧を使って揺らぎを止める新しい技術を開発した。この新しい技術は、ゆらぎが制御できるばかりでなく、プローブに力が働いた場合にも、カンチレバーの位置を一定に保つことが出来るという大きな特長をもたらした。力の大きさは制御用レーザーの光強度として求められる。

この分子間力顕微鏡を使って、疎水表面間に働く力を計測した。プローブ(先端の曲率半径約17nm)およびカバーガラス表面を疎水化し、両者の間の引力を距離の関数として求めたところ、純水中では100nmを越えて引力が働くのが観測された。この力のイオン強度依存性は、マクロな現象である表面張力と相関を示した。生体高分子と同程度のサイズでも、疎水表面間に長距離引力が働くという事を示す結果である。詳細は文献2, 5に発表した。

(3) 生体分子の1分子捕捉・操作・力計測: 徳永万喜洋, 喜多村和郎<sup>1</sup>, 岩根敦子<sup>1</sup>, 柳田敏雄<sup>1,2,3</sup>(<sup>1</sup>大阪大学基礎工学部, <sup>2</sup>大阪大学医学部, <sup>3</sup>科学技術振興事業団・柳田プロジェクト)

分子間相互作用の分子レベルでの解明を目的として、生体分子1個を生きたまま捕まえ

操作する技術を開発した。

翻訳後修飾によりビオチン化されるタンパク質との融合タンパク質を用いる方法により、アビジン・ビオチン系を使って、タンパク質を生きたまま表面に固定する方法を確立した。先端の曲率半径が約17nmのZnOウィスカーをプローブとして使い、タンパク質1分子の捕捉を実現した。

この方法で捕捉したミオシン頭部1分子が、ATP存在下でアクチンと相互作用して発生する力を計測する事に成功した。分子サイズ(20nm)を越えるスパイク状の変位が観測された。しかも、この大きな変位は、1個のATP加水分解中に約5.8nmのステップが複数回起こって実現している事が発見された。

この結果は、生物分子モーターであるアクチン・ミオシン系の分子機構の長年の論争に決着をつけ得る重要な意味を持つものである。

#### (4) 動的な分子間相互作用に関する新しいモデル：徳永万喜洋

生物分子モーターのモデルとしては、化学反応(ATP分解)と構造変化が1:1に対応した構造変化説(tight coupling)が主流として考えられてきた。これに対して、ATP1個のエネルギーで複数回の力学的過程が起こるといふタイプの機構をloose coupling機構と呼ぶ。loose coupling機構の新しいモデルとして、確率的で動的な非対称相互作用モデルを考えた。

上記の1分子実験は、このような理論的考察を基に、どのような実験をすればどちらのモデルが正しいと決定できるかを考えて、デザインしたものである。実験結果は、loose coupling機構が正しい事を示している。簡単な計算機シミュレーションにより、非対称相互作用モデルが、1分子計測により得られた結果をよく説明できることがわかった。

## 研究業績

### (1) 原著論文

1. Iwane A. H., Kitamura K., Tokunaga M. and Yanagida T.: Myosin subfragment-1 is fully equipped with factors essential for motor function. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **230**, 76-80, 1997.
2. Tokunaga M., Aoki T., Hiroshima M., Kitamura K. and Yanagida T.: Subpiconewton Intermolecular Force Microscopy. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **231**, 566-569, 1997.
3. Iwane A. H., Funatsu T., Harada Y., Tokunaga M., Ohara O., Morimoto S. and Yanagida T.: Single molecular assay of individual ATP turnover by a myosin-GFP fusion protein expressed *in vitro*. *FEBS Letters*, **407**, 235-238, 1997.
4. Tokunaga M., Kitamura K., Saito K., Iwane A. H. and Yanagida T.: Single Molecule Imaging of Fluorophores and Enzymatic Reactions Achieved by Objective-type Total Internal Reflection Fluorescence Microscopy. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **235**, 47-53, 1997.

5. Aoki T., Hiroshima M., Kitamura K., Tokunaga M. and Yanagida T.: Non-contact scanning probe microscopy with sub-piconewton force sensitivity. *Ultramicroscopy*, **70**, 45-55, 1997.
  6. Saito K., Tokunaga M., Iwane A. H. and Yanagida T.: Dual-colour microscopy of single fluorophores bound to myosin interacting with fluorescently labelled actin using anti-Stokes fluorescence. *J. Microscopy*, **188**, 255-263, 1997.
  7. Harada Y., Funatsu T., Tokunaga M., Saito K., Ishii Y. and Yanagida T.: Single molecule imaging and nano-manipulation of biomolecules. *Methods in Cell Biology*, **55**, 117-128, 1997.
  8. Funatsu T., Harada Y., Higuchi H., Tokunaga M., Saito K., Ishii Y., Vale R. and Yanagida T.: Imaging and nano-manipulation of single bio-molecules. *Biophysical Chemistry*, **68**, 63-72, 1997.
  9. Ishijima A., Kojima H., Funatsu T., Tokunaga M., Higuchi H., Tanaka H. and Yanagida T.: Simultaneous observation of individual ATPase and mechanical events by a single myosin molecule during interaction with actin. *Cell*, in press.
- (2) その他
1. 徳永万喜洋: 分子間相互作用のイメージング-アクチン・ミオシン系を中心として-。見る技術-分子・細胞のバイオイメージング-(石川春律・鈴木和男・中西守・猪飼 篤編), 蛋白質・核酸・酵素(5月号増刊), **42**(7), 1209-1214, 1997.
  2. 徳永万喜洋: ゆらぎで働くメカニズム-生物らしい分子モーター機能とは-。ナノコスパースのイメージング-生物分子モーターのメカニズムを見る-(柳田敏雄・石渡信一編), 130-157, 吉岡書店, 京都, 1997.
- (3) 発表講演
1. Tokunaga M.: Visualization of Intermolecular Interactions with a Scanning Probe at the Single Molecule Level. Symposium on Single Molecular Process in Biosystems, Osaka, August, 1997.
  2. 徳永万喜洋, 喜多村和郎, 齋藤 究, 岩根敦子, 柳田敏雄: 対物レンズ型全反射蛍光照明と1分子ATPaseイメージング. 日本生物物理学会第35回年会, 京都, 10月
  3. 廣島通夫, 青木高明, 喜多村和郎, 徳永万喜洋, 柳田敏雄: 分子間力顕微鏡による疎水表面間引力の測定. 日本生物物理学会第35回年会, 京都, 10月.
  4. 喜多村和郎, 徳永万喜洋, 岩根敦子, 柳田敏雄: 捕捉したミオシン頭部1分子が発生する変位. 日本生物物理学会第35回年会, 京都, 10月.
  5. 齋藤 究, 徳永万喜洋, 岩根敦子, 柳田敏雄: 1分子蛍光偏光で測定したミオシン構造のゆらぎ. 日本生物物理学会第35回年会, 京都, 10月.
  6. 石島秋彦, 小嶋寛明, 船津高志, 樋口秀男, 徳永万喜洋, 柳田敏雄: アクトミオン

ンモーター1個の化学・力学反応の同時計測. 日本生物物理学会第35回年会, 京都, 10月.

7. 徳永万喜洋: 分子操作と分子間力顕微鏡. 日本電子顕微鏡学会関西支部・電子顕微鏡技術研究会, 京都, 11月.

## H-b. 超分子機能研究室

(1) 転写調節機構としてのプロモーターでの不活化複合体形成機構(嶋本伸雄・永井宏樹・Ranjan Sen・久堀智子・竹内 実・Dipankar Chatterji・Kakoli Mukherjee・Richard Hayward・Tatiana Kostioukovitch・V. James Hernandez)

(2) タンパク質のDNA上のスライディングの役割(嶋本伸雄・加畑博幸・杵淵 隆・竹内 実・黒沢 修・鷲津正夫・荒井一郎・荒牧弘範)

(3) 大腸菌一本鎖DNA結合タンパク質(SSB)のDNA結合部位形成とオリゴマー形成(嶋本伸雄・永井宏樹・杵淵 隆・神藤平三郎・清水光弘)

当研究部門では、遺伝子の発現調節メカニズムの解明を、分子生物学と生物物理学の境界領域において、オリジナルな手法をもちいて行なっている。

本年の構造研究室の主な研究活動は、嶋本伸雄教授と、永井宏樹助手、当研究所非常勤研究員 加畑博幸(7月より京大工学研究科助手)、CREST研究員 Ranjan Sen, 同竹内 実, 総合研究員大学大学院生 杵淵 隆, 学術振興会奨励研究員 久堀智子で行なわれた。

遺伝研共同研究として鷲津正夫, 黒沢 修, 山本貴富喜(京都大学工学研究科), 科研費国際共同研究としてDipankar Chatterji・Kakoli Mukherjee・Richard Hayward・Tatiana Kostioukovitch, それ以外の共同研究としてV. James Hernandez, 荒牧弘範・神藤平三郎・清水光弘が参加した。

また前年に引き続いて、外岡恵子(研究支援推進員)と堀内恵美(11月より復帰)が研究を補佐した。

(1) 転写調節機構としてのプロモーターでの不活化複合体形成機構: 嶋本伸雄, 永井宏樹, Ranjan Sen<sup>1</sup>, 久堀智子<sup>2</sup>, 竹内 実<sup>1</sup>, Dipankar Chatterji<sup>3</sup>, Kakoli Mukherjee<sup>3</sup>, Richard Hayward<sup>4</sup>, Tatiana Kostioukovitch<sup>4</sup>, V. James Hernandez<sup>5</sup>(<sup>1</sup>遺伝研CREST研究員, <sup>2</sup>学術振興会奨励研究員, <sup>3</sup>科研費国際共同研究, インドCentre of Cellular and Molecular Biology, <sup>4</sup>科研費国際共同研究・英国エジンバラ大学, <sup>5</sup>米国ニューヨーク州立大バッファロー校)

大腸菌RNAポリメラーゼについて、転写開始からRNA伸長の過程で、長鎖RNA合成にいたる転写複合体と、短鎖RNAを繰り返し解離(abortive initiation)する複合体(moribund複合体と命名された)とが、異なるものであることを明らかにしている。2種とも伸長反応は行なうが、その速度には、100倍近い差があることがわかった。遅い方の複合体は、短鎖RNAを一定の頻度で合成・解離し、また、数分で基質存在下でも伸長反応を行わない不活化複合体に変換する事が判明した。プロモーターによっては、moribund複合体は、pro-

ductive複合体には変化できないことがある。同一DNA上の衝突と思われるポリメラーゼ間の干渉があると、moribund複合体の形成は動きが制限される上流側で促進され、転写が一字ずれることがある(論文2)。

転写開始因子RNAポリメラーゼの $\sigma^{70}$ サブユニットの3.1領域の変異は、abortive initiationを阻害するものがある。ヘパリン競合反応、過マンガン酸カリフットプリンティングを用いて、この阻害は、moribund複合体の蓄積が減少する事によって起こり、その原因はmoribund複合体の関わる反応が早くなることであることが明らかになった(V. James Hernandezとの共同研究)(論文4)。また、不活化複体内では、活性複体とは異なりDNAはほぼclosedでtemplate strandとポリメラーゼの接触が弱くなっている、数塩基上流側に後退しているため、転写が不可能になっていることが明らかになった。

$\sigma^{70}$ サブユニットのコア酵素との結合、DNAとの結合は、転写開始では中心的な役割をもつ。そこで、タンパク質のOHラジカルフットプリンティングを $\sigma^{70}$ に適用して、遊離サブユニット、RNAポリメラーゼホロ酵素、DNA・ポリメラーゼ複合体、moribund/不活性化複合体について、 $\sigma^{70}$ のコンフォーメーション変化を検出した。その結果、通常のタンパク質・タンパク質相互作用と異なって、コア酵素との相互作用部位は異常に広く、多種の $\sigma$ に保存されている領域のほとんど(Regions 1-4)であることが明らかになった(論文3)。moribund/不活性化複合体では、上記変異と一致して、RNA5'-末と接触するといわれる3.1領域に変化がみられた。

機能が不明の $\omega$ サブユニットの機能を、その遺伝子(rpoZ)を欠損させた株から精製したコア酵素・ホロ酵素について調べた。コア酵素がほとんど活性を失っていることを見だし、 $\omega$ が必須ではないが構造形成に関わること、さらにシャペロンの関与があり得ることを明らかにした(Dipankar Chatterji・Kakoli Mukherjeeとの共同研究)。

大腸菌 $\sigma^{70}$ と枯草菌 $\sigma^A$ とを比較すると、大腸菌では245アミノ酸からなる挿入配列を持つ。この部分には15も酸性アミノ酸が含まれているという特徴があるため、必須であるとの考えもあった。そこでこの部分を削除したものを作製した、異常に難溶性であったが、ホロ酵素は遜色のない活性を持っていた。この領域の役割の一つは、 $\sigma$ の溶解度を保証することにあると考えられ、界面活性化ドメインであることが明らかになった(Richard Hayward・Tatiana Kostioukovitchとの共同研究)。

(2) タンパク質のDNA上のスライディングの役割: 嶋本伸雄, 加畑博幸, 竹内 実<sup>1</sup>, 黒沢 修<sup>2</sup>, 鷲津正夫<sup>2</sup>, 山本貴富喜<sup>2</sup>, 荒牧弘範<sup>1</sup>(<sup>1</sup>遺伝研CREST研究員,<sup>2</sup>京都大学工学研究科,<sup>3</sup>アドバンス(株),<sup>4</sup>第一薬科大学)

タンパク質のDNA上のスライディングは、直接DNA結合タンパク質のDNA上の動きを検出する手法で、大腸菌RNAポリメラーゼ、P. Putidaのcamリプレッサー(CamR)について観測され、スライディング運動は複数のDNA結合タンパク質の性質であることが証明された。スライディングの生理的意義を明らかにするために、さらにCamRについて研究した。RNAポリメラーゼと異なりCamRは、特異的部位からの解離時にはスライディングをほとんど起こさない。結合時には、両者ともスライディングするので、CamRの場合には、スライディ

ングできる距離が増加するにつれ、特異的部位への親和性が増加することになり、ゲルシフト法でも確認できた。このように、スライディングは、CamRのようなクラスのタンパク質の特異的結合を増強する働きをしている可能性が得られた。

(3) 大腸菌一本鎖DNA結合タンパク質(SSB)のDNA結合部位形成とオリゴマー形成：杵淵隆，嶋本伸雄，永井宏樹，神藤平三郎<sup>1</sup>，清水光弘<sup>1</sup>(<sup>1</sup>東京薬科大学薬学部)

大腸菌一本鎖DNA結合タンパク質(SSB)ホモ4量体として存在するが、その一本鎖DNA結合ドメインは、同定されていない。各種の欠失変異体を精製し、DNA結合活性とオリゴマー形成を観測した。その結果、DNA結合活性と、テトラマー形成が良い相関を示した。DNA結合部位は、テトラマーで初めて形成されるという、他の多くのDNA結合蛋白質とは異なる構造を持つことが明らかになった(論文1)。

## 研究業績

### (1) 原著論文

1. Kinebuchi, T., Shindo, H., Nagai, H., Shimamoto, N., and Shimizu, M.: Functional domain of Escherichia coli Single-stranded DNA binding protein as assessed by analysis of the deletion mutants. *Biochemistry* **36**, 6732-6738, 1997.
2. Kubori, T., and Shimamoto, N.: Physical interference between Escherichia coli RNA polymerase molecules transcribing in tandem enhances abortive synthesis and misincorporation. *Nuc. Acids Res.*, **25**, 2640-2647, 1997.
3. Nagai, H., and Shimamoto, N.: Most conserved regions of the E. coli primary sigma factor are involved in interaction with RNA polymerase core enzyme. *Gene Cells*, **2**, 725-734, 1997.
4. Sen, R. and Shimamoto, N.: Reduction in abortive transcription from the  $\lambda$  PR promoter by mutations in region 3 of the  $\sigma^{70}$  subunit of E. coli RNA polymerase. *J. Biol. Chem.* **273**, 9872-9877, 1998.

### (2) その他

1. 久堀智子，嶋本伸雄：転写開始とその調節の新モデル。生物物理，**214**，249-253，1997.
2. 加畑博幸，嶋本伸雄：DNA・蛋白質相互作用の可視化とスライディング運動。蛋白質・核酸・酵素増刊，**42**，1181-1186，1997.
3. 永井宏樹：タンパク質フットプリント法。化学と生物**35**，331-332，1997.

### (3) 発表講演

1. Nobuo Shimamoto, Tomoko Kubori, Ranjan Sen and Hiroki Nagai: Branched pathway in transcription initiation by E. coli RNA polymerase. FASEB Meeting " Transcription initiation in prokaryotes". Saxton River, Vermont, U.S.A., July.
2. Hiroki Nagai and Nobuo Shimamoto: Protein footprints of the major sigma

- factor of *E. coli*. revealed structural alterations upon binding to core enzyme and DNA. FASEB Meeting "Transcription initiation in prokaryotes". Saxton River, Vermont, U.S.A., July.
3. Ranjan Sen and Nobuo Shimamoto: How does GreA decrease abortive transcription? FASEB Meeting "Transcription initiation in prokaryotes". Saxton River, Vermont, U.S.A., July.
  4. Nobuo Shimamoto, Hiroyuki Kabata, Osamu Kurosawa, and Masao Washizu: Physiological significance of sliding movement of DNA binding proteins along DNA. Bacteriophage Meeting, Madison, Wisconsin, U.S.A., August.
  5. Nobuo Shimamoto: Physiological significance of sliding movement of proteins along DNA. NIG International Symposium "Gene function to Cell Differentiation". Mishima, Japan, September.
  6. 嶋本伸雄・加畑博幸: DNA上の蛋白質1分子の運動の直視とスライディングの意義. 日本機械学会研究集会「マイクロマシン」京都市, 1月.
  7. 森川耿右・鎌田勝彦・大住克史・嶋本伸雄: DNAの複製はいかに終わるか. 日本生物物理学会年会, 京都市, 10月.
  8. 嶋本伸雄: DNA認識の分子生物学の歴史. 日本生物物理学会年会, 京都市, 10月.
  9. 黒沢 修・鷺津正夫・窪田 秀・山本貴富喜・嶋本伸雄: 薄膜上へのDNA伸張固定. 日本生物物理学会年会, 京都市, 10月.
  10. 山本貴富喜・鷺津正夫・黒沢 修・嶋本伸雄: 制限酵素固定化プローブを用いたDNAの局所的切断. 日本生物物理学会年会, 京都市, 10月.
  11. 永井宏樹, 嶋本伸雄: タンパク質フットプリント法による大腸菌主要転写開始因子 $\sigma^{70}$ の解析: 全ての保存領域がコア酵素との相互作用に関与する. 日本分子生物学会年会, 京都市, 12月.
  12. 加畑博幸, 鷺津正夫, 黒沢 修, 荒牧弘範, 嶋本伸雄: タンパク質とDNAとの非特異的複合体の役割. 日本分子生物学会年会, 京都市, 12月.

#### H-c. 構造制御研究室

構造制御研究室では, 線虫 *C. elegans* を材料として行動と神経機能の分子生物学的研究を行っている. 本年の研究室メンバーは, 教授・桂 勲, 助手・石原 健, 学振PD・菱田 竜一(3月までは京都大学大学院理学研究科大学院生), 大学院生・鈴木教郎(総合研究大学院大学生命科学研究科; 3月まで), 藤原 学(総合研究大学院大学生命科学研究科), 武内昌哉(同), 研究補佐員・杉浦麻理子であった. また, 技術課所属の技官・最美あかねの助けを受けた. 本年度は文部省科学研究費より, 基盤研究(B)(2)「線虫 *C. elegans* の神経機能の分子生物学的解析」(代表者: 桂), 重点領域研究(神経可塑性)(1)「可塑性を制御する遺伝子の探索」(代表者: 野田 亮(京大・医), 班員: 石原), 奨励研究(A)「線虫 *C. elegans* の神

経回路における情報処理機構の逆遺伝学による解析」(代表者:石原)の援助を受けた。

(1) フッ素イオン耐性変異の解析:武内昌哉, 最美あかね, 石原 健, 桂 勲

我々は,新しい生体制御系を発見する目的で*C. elegans*のフッ素イオン耐性変異を分離・解析している(Katsura, I. *et al.*, 1994, *Genetics*, **136**:145-154)。これらは5つの新しい遺伝子*flr-1*~*flr-5*に位置し,強耐性変異(*flr-1*, *flr-3*, *flr-4*)と弱耐性変異(*flr-2*, *flr-5*)に分類されるが,現在までに解析が進んでいるのは,強耐性変異である。

*flr-1*はdegenerin/ENaCスーパーファミリー(線虫の機械受容チャネルと哺乳類上皮のアミロリド感受性Naチャネルを含む)に属するイオンチャネル,*flr-4*はC末端側に疎水性配列を持つ新規のSer/Thrキナーゼをコードする。*flr-3*変異表現型を抑圧するゲノムDNA断片は,キナーゼ様分子と新規のタンパク質をコードするポリシストロニックRNAを生産するすが,どちらのタンパク質がFLR-3遺伝子産物かは,現在実験中である。

*flr-3::lacZ*融合遺伝子は胚発生のコンマ期の少し前からL1幼虫期(希にL2幼虫期)まで,*flr-1::GFP*融合遺伝子は胚発生のコンマ期から成虫期まで,どちらも腸でのみ発現する。また,*flr-4::GFP*融合遺伝子は胚発生の1.5-fold期以降の腸,3-fold期以降の咽頭峡部筋肉,L1幼虫期以降のAUA神経(頭部にある一対の神経細胞)で発現する。このうち*flr-1*と*flr-4*のGFP融合遺伝子は,コード領域の3'端にGFPのcDNAをつないだもので,各変異体の表現型を抑圧する。すなわち,線虫が野生型表現型を示すためには,上記の発現部位・時期で十分であると考えられる。

*flr-1*の変異6個は,いずれもミスセンス変異で,線虫のdegenerinで機能的に重要な残基かその近傍にある。FLR-1タンパク質は,degenerinと同様の機構で働らしい。*flr-4*の変異は,キナーゼドメインの保存されたアミノ酸のミスセンス変異,スプライス・アクセプターの変異,C端側の疎水性領域のミスセンス変異である。キナーゼドメインの他に疎水性領域も機能に重要と思われる。

強耐性変異(*flr-1*, *flr-3*, *flr-4*)はどれも,フッ素イオンの非存在下で,成長遅延,脱糞周期異常,合成dauer構成性(下記(3)参照),高浸透圧に対する超感受性,生殖器官の形態異常という多様な表現型をもつ。これらの表現型の中で,成長遅延と合成dauer構成性は弱耐性変異によって抑圧されるが,フッ素イオン強耐性と脱糞周期異常は抑圧されない。我々は,腸にFLR-1,FLR-3,FLR-4タンパク質を成分とするマスター調節系があり,これがフッ素イオン感受性と直接関係するほかに,多様な遺伝子機能を制御していると考えている。今後は,(a)弱耐性遺伝子の本体は何か,(b)腸で働く遺伝子群がいかんして脱糞周期やdauer幼虫形成制御などの神経機能に影響を与えるか,(c)*fln*遺伝子産物はどのように作用しあって制御系を構成するか,という問題を追及する予定である。

(2) *hch-1*遺伝子の解析:菱田竜一, 石原 健, 桂 勲

*hch-1*遺伝子の変異は,卵殻の蛋白質成分が分解されず孵化が遅れると同時に,孵化後の神経芽細胞であるQL細胞とその子孫が正常とは逆に前方に移動するという表現型を示す(Hedgecock, E. M. *et al.*, 1987, *Development*, **100**:365-382)。その遺伝子はシグナルペプチド,Znプロテアーゼ,EGF,CUBの各ドメインをもち,*Drosophila*のTolloidや哺乳類のBMP-1

と似た分子をコードする。 *in situ* hybridization の結果、 *hch-1* mRNA は胚発生中期に、はじめは体の中～後部の背および体側部で、後に体側部のみで発現する。 GFP 融合遺伝子でも、弱い発現が孵化直後まで認められる他は、同様の結果を得た (Hishida, R. *et al.*, 1996, EMBO J., 15:4111-4122)。

孵化時に卵殻内より放出される孵化液を *hch-1* 変異体の胚に添加し、 *in vitro* で孵化酵素活性を測定した。 孵化液が *hch-1* 変異体由来の場合は活性が検出されず、 *hch-1* 遺伝子を多コピー導入した株由来の場合は野性型の 10 倍程度の活性があった。 したがって、HCH-1 蛋白質は孵化酵素自体か、野性型で孵化酵素の活性量を決定している因子と考えられる。 この活性は、金属プロテアーゼの阻害剤で阻害され、その他のプロテアーゼ (Ser, Cys, あるいは Asp を活性中心とするプロテアーゼ) の阻害剤では阻害されなかった。

null 変異と考えられる、プロテアーゼドメインのナンセンス変異は、劣性であり、QL 細胞移動異常の浸透度が低い。 これに対し、C 末端の Cys-rich 部分のミスセンス変異は、細胞移動異常に関して半優性であり、高い浸透度を示した。 また、トランスポゾン挿入変異は、細胞移動異常の浸透度は低いが、孵化の遅れがきわだって大きかった。 したがって、孵化異常と細胞移動異常が HCH-1 の異なる働きによる可能性も考えられる。

(3) dauer 幼虫形成を指標とした頭部神経回路の解析：桂 勲，鈴木教郎，石原 健

*C. elegans* は、孵化直後に餌が不足し個体密度が高いと、餌やフェロモンの信号を amphid という頭部の感覚器官で感じて、3 令幼虫の代りに口の閉じた耐久型の dauer 幼虫になる。 dauer 幼虫形成は走化性等と比べてアッセイが簡単なので、これを指標として頭部神経系の機能解析を行っている。 我々は、既知の 50 遺伝子以上の変異が特異的な組合せパターンで合成 dauer 構成性表現型、すなわち「それぞれ単一の変異では dauer 幼虫形成制御は正常だが二重変異にすると環境によらず dauer 幼虫になる」という表現型をもつことを発見した。 dauer 幼虫形成制御信号は複数の経路を通るので、単一の変異ではその一部しか遮断できず 2 つの変異ではじめて全部を遮断できる例が多いため、このような現象が生ずると推測される。 この現象の解析により、感覚情報処理回路とそこでの各遺伝子の役割を解明できると考えている。

dauer 幼虫を生ずる組合せパターンは、大雑把には、dauer 幼虫形成制御信号が 3 つの並列な経路を通るモデルで説明できた。 また、合成 dauer 構成性を抑圧する変異を探し、その抑圧パターンから各経路内で遺伝子の働く位置を推定した。

新たな神経機能遺伝子を発見する目的で、「*unc-31* 変異と組み合わせると dauer 幼虫形成が構成性になる変異」を 44 個分離し、マッピングした。 野性型線虫は amphid の感覚神経のうち、ADF, ASI, ASG の 3 種を破壊すると dauer 構成性になるが、*unc-31* 変異体は ASI 神経の破壊のみでそうなるので、これらの変異には ASI 神経の機能異常を起こすものが多数あると予想される。 44 株のうち 8 株は既知の遺伝子 (*tax-2*, *osm-6*, *che-11*, *aex-3*) の変異だが、その他の 36 株 (少なくとも 13 遺伝子) の変異の大部分は未知の遺伝子にあるらしい。 これらの遺伝子を解析し、*C. elegans* の感覚受容・情報処理系を明らかにする計画である。

(4) 神経系遺伝子の逆遺伝学と GFP 融合遺伝子を用いた発現解析：石原 健，藤原 学，

## 桂 勲

*C. elegans*の神経細胞特異的な転写プロモーターをGFP(クラゲ緑色蛍光タンパク質)のcDNAにつないで線虫に導入し、特定の神経細胞のセットが蛍光を発する線虫約20株を作成した。神経特異的なプロモーターは、プロモーター・トラップ法(Hope, I., 1991, Development, 113:399-408)により3種、*C. elegans*のゲノムプロジェクトで得られたDNA塩基配列を見て十数種を得た。各プロモーターについて、発現の見られる細胞の大部分を同定した。プロモータートラップ法で得たプロモーターのうち、H20は全ての神経、H13(Znフィンガー転写因子遺伝子のプロモーター)は一对のAFD神経のみ、I85(コラーゲン遺伝子のプロモーター)は孵化後の芽細胞G2とその子孫(RMF神経など)で転写を活性化した。

塩基配列を見て選んだ遺伝子のうち、主として介在神経でGFP融合遺伝子が発現するグリシン/GABA受容体ホモログ3種および代謝型グルタミン酸受容体ホモログ2種の遺伝子については、RT-PCR、5'-RACE、3'-RACEでcDNAを分離し、プロモーターとコード領域の位置関係を確認した。また、そのトランスポゾン挿入変異体と欠失変異体を分離した。現在その表現型について解析している(下記(5)参照)。また、プロモーター・トラップ法で同定したZnフィンガー転写因子遺伝子(H13)のトランスポゾン挿入変異体と欠失変異体も作成した。この遺伝子が発現しているAFD神経は温度走性に関与しているが、この変異体では、温度走性に異常は見られなかった。

## (5) 二つの行動の選択性を指標にした介在神経機能の解析：石原 健，桂 勲

線虫*C. elegans*は、銅イオンのような重金属イオンや匂い物質等を頭部の別々の感覚神経で感覚し、忌避反応や走化性行動をしめす。これらの行動における介在神経の機能を明らかにするために、銅イオンからの忌避行動と匂い物質への走化性とを組み合わせた行動測定法を開発した。野生株では、各々の濃度に依存して、どちらの行動を優先するかが変化した。このことは、これらの感覚情報の間に相互作用があることを示唆している。また、*C. elegans*の神経回路の構造や匂い物質受容細胞の同定などの知見から、この相互作用の情報処理は約10対の神経細胞からなる回路により行われていると予想される。

次に、この相互作用に関わる神経回路を構成する介在神経の一部で発現しているAMPA型グルタミン酸受容体の変異株(*glr-1*)を、この測定系を用いて解析した。その結果、*glr-1*変異株では、野生型に比べて匂い物質への走化性を優先することがわかった。一方、銅イオンからの忌避行動と匂い物質への走化性をそれぞれ単独で測定したときは、応答の濃度依存性が野生型と同じであった。このことは、*glr-1*遺伝子が発現している介在神経が、二つの行動間の相互作用に関与していることを示唆している。

通常は餌が十分にあるところで育てた虫で測定を行うが、5時間餌がない状態で飼育し飢餓させた虫では、匂い物質への走化性が優先するようになった。そこで、飢餓状態の虫で、各々の行動を単独で測定したところ、銅イオンに対する忌避行動が弱くなっていることがわかった。この変化は、生態系で飢餓状態にあるときに忌避行動が弱くなり、行動範囲が広くなるという現象があることを示唆しているのかも知れない。

また、代謝型グルタミン酸受容体遺伝子(*mg1*)は、この相互作用に関わると予想される介

在神経の一部で発現している。そこで我々が単離した *mg1* 欠変異体を解析したところ、*mg1-1* (Gi 結合型に類似) 変異株は餌が十分にある条件で匂い物質への走化性より銅イオンからの忌避を優先したが各々の行動は正常であった。このことは *mg1-1* 変異株では、これらの行動の相互作用に異常があることを示している。一方、*mg1-2* (Gq 結合型に類似) 変異株では飢餓による行動の変化が見られなかった。この差異が代謝型グルタミン酸受容体遺伝子の破壊によるものか、別の変異によるものかを定めるために、遺伝子導入による変異表現型の抑圧実験を行っている。

また、これらの行動に関係する神経回路の機能を詳細に解析するため、銅イオンからの忌避より匂い物質への走化性を優先する変異体と飢餓による行動の変化が少ない変異体を、EMS 処理した野生型 *C. elegans* または *mut-7* 変異体 (トランスポゾンが動く) からそれぞれ数株単離した。現在、*mut-7* から単離した変異体について、原因遺伝子のトランスポゾンタギング法によるクローニングを試みている。

(6) アンチセンス RNA 生産クローンの導入による神経接着因子機能の解析：藤原 学，石原 健，桂 勲

*C. elegans* では、遺伝子破壊を行うことができるが労力がかかり、多くは遺伝子活性がすべて失われたような変異しかとれない。これに対し、より少ない労力で、特定の遺伝子の活性が特定の細胞でのみ低下した状態をつくることができれば、さまざまな研究に役立つと考えられる。また、線虫では、アンチセンス RNA の生殖細胞への導入により、母性遺伝子の発現を抑制できることが知られていた。そこで、アンチセンス RNA を体細胞で発現させることにより遺伝子機能を低下させる系の確立を試みた。

FNIII ドメインおよび (または) Ig ドメインを持ち細胞接着因子と予想される蛋白質をコードする遺伝子をゲノムプロジェクトの塩基配列データより 10 個選び、神経細胞全部で発現する H2O プロモーター (前出) の支配下に mRNA の一部の配列に対するアンチセンス RNA を生産するようなクローンを作成して、線虫に導入し影響を調べた。L1 ホモログ、TAG1 ホモログ、NCAM ホモログと考えられる 3 つの遺伝子について運動異常などの変化が検出されたので、特に異常の大きい L1 (NgCAM, Neuroglian) ホモログについてさらに検討を進めた。この遺伝子は、遺伝子内の複数の部分のアンチセンス RNA を神経で発現させても同様な運動異常が観察されたのに対し、センス RNA を発現させても影響が少なかった。また、アンチセンス RNA が神経で発現している線虫では、観察される運動異常に対応して、腹側から背側に伸びる運動神経の軸索が迷走するという異常があった。そこで、同じ遺伝子の GFP 融合遺伝子の発現をこのアンチセンス RNA が抑えるかを検討したが、軸索の迷走などのアンチセンス RNA の効果が観察されるにも関わらず GFP 融合遺伝子の発現は抑えられなかったので、どのような機構によりアンチセンス RNA の効果が生じるかは不明である。

## 研究業績

### (1) その他

1. 桂 勲：分子遺伝学からのアプローチ。線虫 [1000 細胞のシンフォニー] (小原雄治・

編), 58-75, 共立出版, 東京, 1997.

(2) 発表講演

1. Hishida, R., Ishihara, T., and Katsura, I.: The C-terminal cysteine-rich region of HCH-1 is important for its function. The 11th International *C. elegans* Meeting, Madison, WI, U.S.A., May.
2. Ishihara, T., Francesconi, A., Duvoisin, R.M., and Katsura, I.: Metabotropic glutamate receptors in *C. elegans*. The 11th International *C. elegans* Meeting, Madison, WI, U.S.A., May.
3. Katsura, I., Ishihara, T., and Suzuki, N.: Synthetic abnormality in dauer formation, neural circuits and gene functions. The 11th International *C. elegans* Meeting, Madison, WI, U.S.A., May.
4. Suzuki, N., Ishihara, T., and Katsura, I.: Synthetic dauer-constitutive mutations on the *unc-31* background. The 11th International *C. elegans* Meeting, Madison, WI, U.S.A., May.
5. Take-uchi, M., Ishihara, T., and Katsura, I.: Genes that affect a biological rhythm in *C. elegans*, *flr-1* and *flr-4*, encode an ion channel and a protein kinase, respectively. The 11th International *C. elegans* Meeting, Madison, WI, U.S.A., May.
6. *C. elegans* FLR-1 ion channel and FLR-4 protein kinase control neural functions by acting in the intestine. National Institute of Genetics International Symposium on Gene Functions to Cell Differentiation, Mishima, September.
7. 桂 勲, 武内昌哉, 石原 健, 最美あかね, 藤原 学: 線虫の多様な神経機能に関わるイオンチャンネルと蛋白質キナーゼ. 日本生物物理学会第35回年会, 京都, 10月.
8. 石原 健, 桂 勲: 線虫 *C. elegans* における二つの行動の相互作用に異常を持つ変異体の単離と解析. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.
9. 桂 勲, 武内昌哉, 石原 健, 川上 穰, 最美あかね: *C. elegans* の感覚情報処理と脱糞行動を制御する *flr* 遺伝子群. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.
10. 武内昌哉, 石原 健, 桂 勲: 線虫 *C. elegans* の生体リズムに関与する遺伝子 *flr-1*, *flr-4* はそれぞれイオンチャンネルとプロテインキナーゼをコードする. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.

#### H-d. 超分子構造研究室

当研究室では、遺伝学を中心とした生物学における様々な機構を分子レベルで解明するために、X線結晶解析法を用いて、蛋白質・核酸などの生体高分子やその集合体(超分子)の立体構造決定を行っている。

超分子構造研究室の研究活動は、助教授・白木原康雄, 助手・秋葉俊彦, COE非常勤研

査員・村上勝彦, 総合研究大学院1年・福司功司のメンバーによって行われた。更に, 遺伝研共同研究として大沢研二(名古屋大学大学院・多元数理科学研究科), 荒巻弘範(第一薬科大学)が参加し, また Leslie, A. G. W., Abrahams, J. P., Walker, J. E. (MRC分子生物学研究所), 吉田賢右, 天野豊己, 宗行英朗, 加藤康之, 角田 聡(東京工業大学・資源化学研究所), 牧野耕三(大阪大学・微生物病研究所), 西村善文(横浜市立大大学院), 石浜 明(分子遺伝研究部門)と協力して研究を行った。

(1) F1-ATPaseのX線結晶解析: 白木原康雄, Leslie, A. G. W., Abrahams, J. P., Walker, J. E., 吉田賢右, 天野豊己, 宗行英朗, 加藤康之, 角田 聡

F1ATPase(F1, サブユニット構成 $\alpha 3 \beta 3 \gamma \delta \epsilon$ )は, 呼吸鎖が形成する膜を隔てた水素イオンの濃度差をATPに変換するATP合成酵素の, 膜から突き出した部分である。超分子構造解析として, F1の5分の1程度のATPase活性を示し, そのコア部分である $\alpha 3 \beta 3$ 複合体(分子量33万)のヌクレオチド非存在下で得られた結晶のX線解析を1989年より行ってきたが, 精密化された構造をProtein Data bankにデポジットして終了した(1SKY)。 $\alpha 3 \beta 3$ 複合体構造を, 先に解かれたヌクレオチドの結合したミトコンドリアF1の構造と比較することにより, 主要サブユニット $\beta$ ,  $\alpha$ が形成する $\alpha 3 \beta 3$ 複合体部分が, (1)小さなサブユニット $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ との相互作用, (2)ヌクレオチド結合, の2つ条件の違いにより大きな構造変化をすることがわかった。即ち, 小さなサブユニットとの相互作用・ヌクレオチド結合により, 3つの $\beta$ サブユニットのうちの2つのみがサブユニット分子の下半分を最大変位量20Å中心軸方向に変位させ, 3つの $\alpha$ サブユニットについてはサブユニット分子の下半分を最大変位量10Å隣接する $\beta$ サブユニットの方向に変位させていた。このような大きな構造変化に上の2つの条件の違いのうちのどちらがより多く寄与するかを調べるために, ニュクレオチド結合型の $\alpha 3 \beta 3$ 複合体構造解析とヌクレオチド非結合型の $\alpha 3 \beta 3 \gamma$ 複合体(F1とほぼ同様な酵素的な性質を示す複合体)の結晶化を行った。

ヌクレオチド結合型の $\alpha 3 \beta 3$ 複合体構造解析は以下のようにして行った。ヌクレオチド非存在下で得られた $\alpha 3 \beta 3$ 複合体結晶を, 種々のヌクレオチドを含む結晶安定化液に2日浸した後, これら結晶からの回折データを放射光で収集した。ヌクレオチド非結合型の結晶からの回折パターンと比較することにより, 試みた12種の内, ATP, MgADPの2種で大きな構造変化が起きている可能性が示唆された。現在この2つについて構造解析を行い構造変化の詳細について検討している。

ヌクレオチド非結合型の $\alpha 3 \beta 3 \gamma$ 複合体の結晶化は, ニュクレオチド非存在型 $\alpha 3 \beta 3$ 複合体の結晶化条件の近傍を捜すことから始まったが, 結晶はそのような条件でできるものの再現性に乏しかったため, 標品の純度の向上, 結合ヌクレオチドの制御, 標品の保存条件の改善, など蛋白がわの検討を大幅に行うと同時に結晶化条件の検討も加えた。結晶は最大辺0.2mm程度の六角形板状のものか, 0.5mm程度の不規則な形をしたものが得られるようになり, 更に検討を行っている。

$\alpha 3 \beta 3$ 複合体構造解析の別の方向の延長として, ニュクレオチド非結合型 $\alpha 3 \beta 3$ 複合体結晶が再現性良くできることを使って, 変異サブユニットの構造をその変異サブユニッ

トを含む $\alpha 3 \beta 3$ 複合体の結晶構造を調べるによって求めることも行った。βサブユニットの触媒残基Glu190をGlnに変えた変異βサブユニットの $\alpha 3 \beta 3$ 複合体結晶からの4 Åデータをを用いて解析した結果、触媒部位近傍の大きな構造変化はなく、グルタミン側鎖はグルタミン酸側鎖と同じ向きを向いていることがわかった。将来興味深い変異サブユニット分子がでてきたときにその構造を簡便に調べる方法が確立したことになる。

(2) 大腸菌転写活性化因子 PhoB 蛋白質の X 線結晶解析：秋葉俊彦，白木原康雄，牧野耕三，西村善文

PhoB蛋白質は、リン酸化による制御を受けるリン酸レギュロン遺伝子群の、正の転写制御因子である。リン酸受容部位はN末側ドメインに、DNA結合と転写活性化の機能はC末側ドメインにある。

DNA結合性C末ドメイン(125番-C末)の構造解析については、昨年度2.1 Å分解能のデータ収集を終え、OmpR蛋白質の構造モデルを用いた分子置換法による解析を進めている。1) 分子が小さい、2) 非対称単位あたり2個の分子を含む、3) アミノ酸配列の同一性が32%と低い、の3点のため、解を見つけるのが非常に困難であったが、現在最初の分子の結晶格子内に位置づけに成功している。2分子めが1番目の分子とは構造がやや異なっているという証拠を得、それに対処した方法で2分子めの探索を行っている。またPhoB蛋白質でのドメイン間の相互作用に基づく制御機構を解明する目的で、PhoB蛋白質全体の大量精製と結晶化実験を開始した。インタクトな蛋白質では毒性が強いらしく、T7プロモータによる大量発現に失敗するが多かったが、むしろleakyな変異株で発現量の多いものを選び出すことで安定した発現が得られた。精製については、ヘパリンカラムによる粗精製に続いて、陽イオン交換カラムを用いたpH勾配による溶出法を使うことで、迅速に適当な純度の標品が得られるようになった。安定した蛋白質標品が得られるようになったので、本格的に結晶条件探索を開始した。

(3) シュードモナス CamR リプレッサの X 線結晶解析：福司功治，白木原康雄，荒巻弘範

CamR タンパク質は樟脳(カンファー)代謝系の酵素群をコードしているシトクロム P-450cam オペロンに対するリプレッサで、分子量2万のサブユニットからなるホモダイマーである。インデューサー・カンファーの結合とDNA結合の相関の詳細が明らかになっている系であり、その構造的基盤を明らかにすることを目指している。

数年にわたる結晶化条件の検討の結果、二つの結晶型が得られていた。一つはリン酸を沈殿剤として用いたときに得られるもので、今年度は条件を検討し0.5mm x 0.4mm x 0.3mm程度の大きさを持ったものを得、2.8 Å分解能回折パターンを記録できたが、温度変化による格子の乱れが生じやすいので、この点の改良を図っている。二つめはポリエチレングリコールを沈殿剤として用いたときに得られるもの(0.5mm x 0.3mm x 0.2 mm)であるが、この数年半分程度の大きさものしか得られなくなり、実験を重ねた結果これはタンパク質標品の純度に敏感な結晶型であることが判明した。そこで、大量発現系を従来のPLプロモータの系から効率の良いT7の系にかえ純度を5倍程度向上させると同時にタンパク質の精製法も見直した結果、従来のものと同程度の大きさの結晶が得られ始めた。

(4) 大腸菌 RNA ポリメラーゼ  $\alpha$  サブユニットの X 線結晶解析: 村上勝彦, 白木原康雄, 石浜 明

大腸菌 RNA ポリメラーゼ  $\alpha$  サブユニットは, N 末端と C 末端の 2 つのドメインにより構成されている分子量 36kDa の蛋白で, 大腸菌 RNA ポリメラーゼ内にダイマーとして含まれている。N 末端ドメインは,  $\beta$  および  $\beta'$  サブユニットと相互作用することで RNA ポリメラーゼの会合に, C 末端ドメインは, 転写制御に重要な役割を果たしている。また C 末端ドメインは, NMR 法によりすでに構造が解析されている。

本研究では, RNA ポリメラーゼの会合機構の理解を目的とし,  $\alpha$  サブユニット全体の X 線結晶解析を開始した。始めに  $\alpha$  サブユニットの精製法の検討を行い, 十分な純度を持つものを得る条件を見いだすことができた。このサンプルを Hampton Research 社の Crystal screening kit などを用いて結晶化条件を系統的に探索したところ, PEG400/CaCl<sub>2</sub> の系と, PEG8k/NaAcetate の系から再現性よく薄い板状の結晶が得られる条件を見いだすことができた。現在, X 線結晶構造解析に十分耐えうる結晶を得るため, 結晶化条件の精密化を行っている。

(5) バクテリアべん毛スイッチ蛋白質の立体構造解析: 大沢研二, 白木原康雄

バクテリアのスイッチ蛋白質は, FliG, FliM, FliN の 3 種類が知られており, べん毛の構築・べん毛の回転および回転方向の制御に関わる多機能な複合体を形成している。それらの立体構造の解明はべん毛モーターにおけるエネルギー変換機構の解明にも繋がるものと期待される。

昨年度に引き続き FliN 蛋白質について, 精製, 結晶化実験を行った。改善点は, 目的蛋白質の封入体が形成される旧来の FliM 蛋白質との同時発現系をやめ, 可溶化状態の蛋白質が得られる FliN 蛋白質単独の発現系を用いたことである。FliN 蛋白質単独の発現系では大量生産性が劣るため, リソース Q・イオン交換カラムと Superdex75pg・ゲル濾過カラムをこの順にかける精製法を採用した。これにより得られた FliN 蛋白質標品から沈殿剤 PEG6000 を用いて微結晶を得ることができた。

## 研究業績

### (1) 原著論文

1. Shirakihara, Y., Leslie, A.G.W., Abrahams, J.P., Walker, J.E., Ueda, T., Sekimoto, Y., Kambara, M.K., Saika, Kagawa, Y. and Yoshida M.: The crystal structure of the nucleotide free  $\alpha 3 \beta 3$  sub-complex of F1-ATPase from the thermophilic *Bacillus* PS3 is a symmetric trimer. *Structure* 5, 825-836, 1997.
2. Shirakihara, Y., Leslie, A.G.W., Abrahams, J.P., Walker, J.E., Ueda, T., Sekimoto, Y., Kambara, M.K., Saika, Kagawa, Y. and Yoshida M.: Crystal structure of the  $\alpha 3\beta 3$  sub-complex of F1-ATPase from thermophilic *Bacillus* PS3. In "Structure and Function of Macromolecular Assembly (Proceeding of The 22nd International Symposium Division of Biophysics The Taniguchi Foundation)" (Namba, K. eds.)

pp 113-120., 1997.

(2) 発表講演

1. 宮下 尚, 白木原康雄, 嶋本伸雄, 小川智子: 単分子超顕微鏡開発のための自己蛍光発生蛋白質 GFP の結晶化. NEDO 成果報告会, 東京, 2月.
2. 白木原康雄, Andrew Leslie, Jan Pieter Abrahams, John Walker, 上田高士, 関本吉則, 神原 稔, 吉田賢右, 雑賀耕司, 尾高雅文, 香川靖雄: 好熱菌 F1-ATPase  $\alpha$  3  $\beta$  3. 複合体構造がしめすもの. 生体エネルギー討論会第23回大会, 横浜, 12月.

### H-e. 遺伝子回路研究室

本研究室では、線虫を用いた動物発生過程の遺伝子発現ネットワークの解明をめざす研究と、並行して遺伝子ライブラリーの構築、管理、配布という研究事業を進めている。

研究室構成としては、小原雄治(教授)、安達佳樹(助手)、田原浩昭、小倉顕一、伊藤将弘(科学技術振興事業団研究員)、大浪修一(総研大大学院生)、新井 理(業務委託)、本橋智子、廣野啓子(科学技術振興事業団技術員)、宮田暁子、大庭登紀江、杉浦郁子、小原真澄、長岡圭美(科学技術振興事業団実験補助員)、渡辺寿子、佐野正子、三谷裕子、上杉裕子(パート実験補助員)、杉本章子(事務補助員)、高橋初江、三田真澄、三田あつみ(補助業務員)であった。なお、田原浩昭は9月より University of Massachusettsへ留学した。

本年度の研究は、文部省科学研究費重点領域研究「ゲノムサイエンス」(小原)、科学技術振興事業団戦略的基礎研究推進事業(CREST)(小原)の支援を受けた。

#### I. 研究事業

昨年にひきつづき大腸菌遺伝子ライブラリー、線虫cDNAライブラリー及びデータベースについて活動した。

##### (1) 大腸菌遺伝子ライブラリー事業

小原が名古屋大学在職中に作成した大腸菌ゲノムの遺伝子ライブラリーの維持、配布、情報収集を続けた。このライブラリーの特色は、個々のクローンについて詳細な制限酵素地図が作成されており、これをもとに、大腸菌全ゲノム4,700キログラム塩基対が、互いに少しずつオーバーラップするクローンでおおわれていることである。総数3,400クローンの中から十分な重なりをもってゲノムをカバーする476クローンを選び出し、これを「ミニセット」としてリクエストに応じてきた。本年は26件、のべ1121クローンを6ヶ国(日本、韓国、アメリカ、ドイツ、フランス、イギリス(件数順))の研究者に送付した。これまでの累計は、25ヶ国797件、のべ96,685クローンにのぼっている。発送先の研究者には、その地域の研究者への二次配布を積極的に求めているので、クローンの利用者はこれらの数字よりはるかに多いことが予想される。

##### (2) 線虫遺伝子ライブラリー事業

次項で述べるcDNAの系統的解析プロジェクトから得られたクローンおよびその情報は、

DNA データバンクに送るとともに逐次線虫統合データベース ACEDB などに送付し公開している。タグ配列のうち約 60,000 本は DDBJ に登録した。利用者の便、アップデートの容易さなどを考慮し、DDBJ スタッフの協力により DDBJ 計算機上での WWW での公開を開始した ([http://www.ddbj.nig.ac.jp/htmls/c-elegans/html/CE\\_INDEX.html](http://www.ddbj.nig.ac.jp/htmls/c-elegans/html/CE_INDEX.html))。

また、発現パターン情報についても、WWW での公開を開始した (<http://watson.genes.nig.ac.jp:8080/db/index.html>)。

cDNA クローンについては、本年は 441 件のべ 1,564 クローンを 20ヶ国(アメリカ, 日本, イギリス, カナダ, ドイツ, スイス, 韓国, フランス, ウガンダ, スウェーデン, オーストラリア, ベルギー, オランダ, 台湾, ポーランド, イスラエル, イタリア, ホンコン, ハンガリー, オーストリア(件数順))の研究者に分与した。これまでの累計は、21ヶ国 900 件のべ 3,030 クローンにのぼっている。これも情報のフィードバックのみを分与の条件にしており、最近われわれの WWW ページ上に feedback 情報用の入力フォームを開設した。

## II. 線虫 *C. elegans* の cDNA 解析

線虫 *C. elegans* は動物発生・行動研究のすぐれたモデル系である。この全遺伝情報は 100Mb のゲノム(染色体 6 本)に書き込まれており、この解読のため、英米 2 グループの共同作業で全ゲノム DNA の塩基配列決定計画が 1998 年月完成をめざして進行中である。

一方われわれは、ゲノムシーケンシンググループと緊密な連絡のもとに、発現遺伝子側の解析のセンターとして活動を進めてきた。すなわち、全遺伝子に対応する cDNA クローンの単離と同定、その構造、発現様式の解析、更には遺伝子破壊実験による生物機能の検定、という cDNA の系統的解析である。これは、単なる EST 配列の集積ではなく、cDNA の塩基配列情報、類似遺伝子情報 (BLAST 検索)、スプライシングの制御に関する情報、発現時期、発現細胞の情報、将来的には遺伝子破壊結果の情報を、ゲノムマップ(究極的には塩基配列)上に統合化し、ゲノムの発現マップを構築するものである。また上述のように、ここで得られたクローンは内外の研究者からの請求に応じ配布をしているので、そこからのフィードバック情報も追加される。このような情報の集積が進むと、ゲノム軸、(発生)時間軸、細胞系譜(空間)軸などのいろいろな軸での検索が縦横にできるようになる。例えば、ある時期のある細胞で発現が始まるあるモチーフをもつ遺伝子群を検索する、といったことも可能になってくるだろうし、逆にそのような発現様式を支配する調節領域をゲノム DNA 配列から推測することも可能になってくる。そして、線虫ではこれらの結果を実験的に検証することが可能である。本研究はこのような目的で *C. elegans* の cDNA 情報の集大成と統合化を行うものである。

(1) cDNA クローンのタグ配列決定、分類、マッピング: 宮田曉子, 渡辺寿子, 佐野正子, 三谷裕子, 上杉裕子, 長岡圭美, 小原雄治

3種のcDNAライブラリーからランダムに10万以上のクローンを取り上げ、グリッド化し保存した。ここから高発現遺伝子クローンをハイブリダイゼーションで同定して除いたあと、各クローンの5'-タグ、3'-タグの両方のシーケンシングをおこない、3'-タグを比較することにより、クローンの分類を行った。これまでに、約52,000クローンを処理した結

果, 36,500 クローンについてクリーンな3'-タグが得られ, 7,694種(遺伝子)に分類した。これは, 15,000 と推定される全遺伝子の約半分にあたる。

整列YACフィルター及びゲノムシーケンシングプロジェクトで公開されているシーケンス済コスミドデータ(70Mb程度)を利用したマッピングを行った。その結果, 5,657種(74%)がコスミドにヒットし, 548種はYACフィルターでのみマップされ, 計81%についてゲノム上の位置が判明した。現在, 5'-タグも用いてエキソン/イントロンの対応付け作業を進めており, 全遺伝子についての様々な発現配列のパターン(differential transcription start site, alternative splicing, differential poly(A) additionなど)の整理をおこなっている。興味深い構造については, cDNAクローンの全長配列決定を進めていく。特に differential exon については後述の発現パターン解析をおこない, 細胞特異的な発現調節機構へのつながりを得る計画である。

(2) 発生各期における発現パターンの解析: 本橋智子, 大庭登紀江, 杉浦郁子, 小原真澄, 田原浩昭, 新井 理, 小原雄治

マルチウェルスライドと96ウェルドットプロットブロックを応用したwhole mount embryoのマルチウェルフォーマット in situハイブリダイゼーション法をすでに開発し, 大量試料への応用を進めてきた。本年は, 昨年より進めてきた孵化後の幼虫期から成虫での in situハイブリダイゼーション法の条件設定をさらに改良して, 分類済のcDNAクローングループでの解析を開始した。胚発生期については, 10ステージ(2細胞期, 4細胞期, 8-12細胞期, 原腸陥入開始期, 同中期, 同後期, コンマ期, 1.5折れ期, 2折れ期, 3折れ期)についてそれぞれ典型的な発現パターンの胚の画像を3つの焦点面でとり, データベース化している。このための自動スクリーニング/画像取込みのシステムも構築した。後胚発生期については, L1-L2, L2-L3, L3-L4, L4-成虫の4ステージに分け, それぞれでの典型的な発現パターンの画像をデータベース化している。画像のアノテーション作業, 特に発現細胞(系譜)の同定は専門知識を必要とする人手のかかる作業であり, プロジェクト全体の律速段階になっている。専門知識をもつテクニシャンの養成を進めているが, この点の克服が次年度の課題である。

発現パターン情報の公開については, NEXTDB(Nematode Expression Pattern Database)を構築し, WWW上で公開を始めた(<http://watson.genes.nig.ac.jp:8080/db/index.html>)。種々の検索が可能であり, また送付クローンと使って得られたfeedback informationを共有する仕組みを作成したので, 発現パターン情報の世界のセンターとしての機能することが予想される。

### III. 線虫 *C. elegans* 発生における遺伝子発現制御の解析

(1) *C. elegans* の生殖系列決定に関わる遺伝子 *pos-1* の解析: 小倉頼一, 田原浩昭, 小原雄治

線虫 *C. elegans* の卵は受精後不等分割をおこない, 体細胞系創始細胞の前割球ABと生殖系列の後割球P1を生じる。これら割球およびその子孫細胞の運命決定には卵割に伴って局在化する母性因子(いわゆるデターミナント)が重要な働きをしていることが示唆されてい

る。昨年までに、mRNAは卵母細胞では一様に分布するが、第一卵割で後割球に局在化し、その後生殖系列細胞にのみ残る遺伝子 *pos-1* を発見し、詳細な解析を進めてきた (Tabara, H., Hill, R., Mello, C., Priess, J. & Kohara, Y. manuscript in preparation). *pos-1* には真核生物の転写因子である Tis11 ファミリーとホモロジーのある zinc finger 領域が見いだされ、似た構造をもつ遺伝子 *pie-1* や *mex-1* との関係が示唆されている。 *pos-1* 変異体では P3 の分裂が不等分裂でなくなり、始原生殖細胞である P4 が姉妹細胞 D と同じ運命 (筋肉細胞) をとることや、 *mex-1* 変異体では POS-1 蛋白の分布あるいは発現量が変化することが示された。

われわれは POS-1 蛋白と相互作用する遺伝子を見いだすために、酵母 two-hybrid 法を用いた探索をおこなった。数種の強い相互作用を示す遺伝子群が得られ、それらについては、in situ ハイブリダイゼーションによる発現細胞の解析、アンチセンス RNA 注入による機能解析、突然変異体との対応付け、などの詳細な解析を進めている。

(2) *C. elegans* 初期胚において時間的、空間的に poly(A) tail の長さが変化する母性 mRNA についての研究：大津修一<sup>1</sup>、小原雄治<sup>1</sup> (総研大・遺伝学)

多くの多細胞生物において、受精直後の初期胚には胚自身の転写活性は存在せず、この間の胚の発生は母性遺伝子に依存する。母性遺伝子は母性 mRNA や蛋白として初期胚に供給され、母性 mRNA の多くは胚発生の特定の時期に特定の細胞で翻訳され、個々の細胞に独自の性質を与える。母性 mRNA が翻訳される時間や場所、母性 mRNA が細胞の運命を決定する機構を解明することは、多細胞生物の胚発生の機構の解明のために重要な課題である。

母性 mRNA の翻訳調節機構として poly(A) tail の長さの変化に依存した翻訳調節、キャップのメチル化に依存した翻訳調節、RNA-蛋白複合体形成によるリボソームからの隔離に依存した翻訳調節が知られている。これらが互いに独立した機構なのか否かは議論が分かれる。 *C. elegans* を用いれば、個々の細胞レベルでの、この機構の解析が期待できる。しかし、 *C. elegans* では発生時期が厳密に同調した初期胚を大量に調製することができないので、特定の時期の胚における mRNA の poly(A) tail の長さを測定する為には、ごく少数の初期胚を試料として測定できる方法が必要であった。そこでこの条件を満たす poly(A) tail の長さを測定する新しい方法を開発した。

本法では、目的の mRNA の 3'-末端領域 (3' UTR の特定の位置から poly(A) tail の末端まで) を増幅する。増幅が正確に行われたなら、その増幅産物の長さ、及びシークエンスから目的の mRNA の poly(A) tail の長さが求められるはずである。このやり方で、数個の初期胚、割球を用いて mRNA の poly(A) tail の長さを測定することを可能にするために、本法では mRNA の 3'-末端に RNA のタグオリゴヌクレオチドを付加し、遺伝子特異的プライマーとタグ特異的プライマーを用いた RT-PCR を行った。

本法をテストする目的で、卵母細胞と 4 細胞期胚に含まれる *fem-3* mRNA の poly(A) tail の長さを測定した。ノーザンブロットングの結果から *fem-3* mRNA の poly(A) tail の長さは卵母細胞では 30-60 塩基、初期胚では 30-150 塩基であると推算されていたからである。測定の結果は、以前の推算値と良く一致した。

母性 *glp-1* mRNA は卵母細胞より初期胚に供給され、2細胞期胚、4細胞期胚の各割球には殆ど等量の *glp-1* mRNA が伝えられる。GLP-1 蛋白質は卵母細胞及び1細胞期胚では検出されず、2細胞期胚では前極側の割球のみで、4細胞期胚では前極側の割球の2つの娘細胞のみで検出される。このため、*glp-1* mRNA の poly(A) tail の長さは以前から非常に興味を持たれていた。卵母細胞、2細胞期胚に含まれる *glp-1* mRNA の poly(A) tail の長さを測定したところ、卵母細胞に含まれる *glp-1* mRNA は短い poly(A) tail (40-70塩基) を持つこと、2細胞期胚には2種類の *glp-1* mRNA (長い poly(A) tail (約160塩基) を持つものと短い poly(A) tail (約40塩基) を持つもの) が含まれることが示された。2細胞期胚より前極側の割球 (AB割球) および後極側の割球 (P1割球) を分離し、各々に含まれる *glp-1* mRNA の poly(A) tail の長さを測定した。長い poly(A) tail (約160塩基) を持つ *glp-1* mRNA は AB割球のみに含まれ、P1割球には短い poly(A) tail (約70塩基) を持つ *glp-1* mRNA のみが含まれた。これらの結果より母性 *glp-1* mRNA の時期特異的、細胞特異的な翻訳調節が poly(A) tail に依存した機構により調節されていることが強く示唆された。

線虫 *C. elegans* の初期胚においては、受精後およそ16細胞期ころまでは胚自身の遺伝子はほとんど転写されず、卵母細胞形成時に細胞質中に蓄積された母性 mRNA に主に依存して胚発生が進行する。したがって時間的、空間的に翻訳制御される母性 mRNA が、この間の胚発生のプログラムにおいて重要な意義を持つことが考えられる。*C. elegans* 初期胚において時間的、空間的に翻訳制御される母性 mRNA を、ポリ A の長さの変化を判断基準にして探索することを進めている。

(3) *C. elegans* 発生・遺伝子発現の4次元データベースの構築：伊藤将弘, O'Connell, K. I., White, J. I., 小原雄治 (University of Wisconsin-Madison)

ゲノムプロジェクトや発現パターン解析プロジェクトの究極の目標のひとつが発生過程のコンピューターシミュレーションである。*C. elegans* はこの目標に最も適した材料であり、世界の各地でこれに向けた試みがおこなわれているが、われわれの発現パターン解析プロジェクトの結果を取り込めるように、胚発生過程のコンピューターグラフィックス (CG) 化、その上に遺伝子発現パターンの重ね合わせの試みをおこなった。発生過程を正確に表現した CG を作るために、いわゆる 4D 画像 (発生の様子を一定の時間間隔でノーマルスキー微分干渉顕微鏡で焦点の段階的变化による光学的切片像を多数とったもの。プレイバックすることにより発生過程を再現できる) の元画像を用いて細胞と核の輪郭をトレースし3次元再構成をおこない、さらに次の像との間で補間をおこない8細胞期までCG化した。現在、この上に母性遺伝子や極初期の接合体型遺伝子の発現パターン (mRNA の分布、蛋白質の分布) を重ね合わせる試みを進めている。この方法で原腸陥入開始期 (28細胞期) までCG化する予定であるが、それ以降は複雑になりすぎるので、DAPI 染色などを用いた共焦点レーザー स्क্যান顕微鏡での3次元再構成像をつなげていく予定である。

(4) 線虫 *C. elegans* *tbx-9* 遺伝子の機能解析：安達佳樹

*tbx-9* は、*C. elegans* cDNA 解析により見いだされた遺伝子の一つ (cDNA group name: CELK02736) であり、DNA 結合モチーフ T-box を持っている。このモチーフを持つ遺伝子ファ

ミリー (T-boxファミリー)には、マウス転写因子 *brachyury* などを含め、多細胞動物の様々な種の30遺伝子以上が属している。これら遺伝子の多くについては、胚発生期に発現することや、形態形成に関与することなどが知られている。*C. elegans*ではT-box 遺伝子の機能は知られていないが、他生物の場合と同様に発生において重要な働きをしていることが考えられる。そこで *tbx-9* に注目し、その機能解析を進めてきた。

*tbx-9* は約1kbのmRNAとなっていることが明らかとなった。northern法により調べたところこのmRNAは胚発生期に発現していることがわかり、更に *in situ* hybridizationでは、比較的初期である80細胞期の胚において、4個の細胞に発現が見られた。次に、*tbx-9* 遺伝子機能を欠損した個体の表現型を調べた。トランスポゾンTc1の挿入および削除を利用した遺伝子破壊法により、*tbx-9* 遺伝子領域の半分以上を欠失した変異を得ることができた。この変異のホモ接合体は、胚発生期に生じる体後半部の形態異常を起こした。いくつかの組織について分化マーカーの発現パターンを調べたところ、体壁筋に異常があることがわかった。*tbx-9* の配列特異的DNA結合活性を調べたところ、既に知られているマウス *brachyury* 結合配列と非常に類似した約20bpの配列であることが明らかとなった。

## 研究業績

### (1) その他

1. 小原雄治・編著「ネオ生物学シリーズ」ーゲノムから見た新しい生物学ー第5巻「線虫」, 共立出版, (1997).
2. 小笠原直毅, 金久 実, 小原雄治, 榊 佳之, 辻 省次, 美濃部侑三, 松原謙一: ゲノムサイエンス, 新しい生命科学をめざして. 蛋白質核酸酵素, **42**, 2684-2703 (1997).
3. 小原雄治: 線虫 *C. elegans* ゲノムの機能解析. 蛋白質核酸酵素, **42**, 2907-2913 (1997).

### (2) 発表講演

1. Kohara, Y., Motohashi, T., Tabara, H., Watanabe, H., Sano, M., Miyata, A., Mitani, Y., Ohba, T., Iida, K. & Uesugi, H.: Expression pattern map of the *C. elegans* genome HGM'97, Toronto, Canada, March.
2. 小原雄治: ポストゲノムシーケンスの課題: ゲノムの発現パターンマップ, 京都大学遺伝子実験施設公開講演会, 京都, 3月
3. Kohara, Y., Motohashi, T., Tabara, H., Watanabe, H., Sano, M., Miyata, A., Mitani, Y., Ohba, T., Iida, K., Uesugi, H., Hirono, K., Shin-i, T. & Obara, M.: Expression pattern map of the *C. elegans* genome. 11th International *C. elegans* Meeting, Madison, USA, June.
4. Tabara, H., Hill, R., Mello, C., Motohashi, T., Priess, J. & Kohara, Y.: A maternal gene, *pos-1*, encodes a cytoplasmic zinc-finger protein and is essential for the fate

- determination of germ line in *C.elegans*. 11th International *C.elegans* Meeting, Madison, USA, June.
5. Onami, S. & Kohara, Y.: Changes in poly (A) tail length of maternal messages. 11th International *C.elegans* Meeting, Madison, USA, June.
  6. Motohashi, T., Tabara, H. & Kohara, Y.: *In situ* hybridization on larvae and adults of *C.elegans*. 11th International *C.elegans* Meeting, Madison, USA, June.
  7. Khan, M., Siddiqui, Z., Ali, M., Miwa, J., Kikuno, R., Kohara, Y. & Siddiqui, S.: Maternal gene *emb-8* is necessary for asymmetric distribution of developmental potentials in early *C.elegans* embryos. 11th International *C.elegans* Meeting, Madison, USA, June.
  8. Hill, R., Tabara, H., Mello, C., Kohara, Y. & Priess, J.: *Pos-1* and development of the germ line blastomeres. 11th International *C.elegans* Meeting, Madison, USA, June.
  9. Gronostajski, R.M., Hirono, K., Kohara, Y., Gigante, W. & Harville, E.: The nuclear factor I (NFI) transcription/replication protein in *C.elegans*. DNA-binding activity is similar but the developmental expression pattern differs from vertebrate NFIs. 11th International *C.elegans* Meeting, Madison, USA, June.
  10. Shin-i, T. & Kohara, Y.: Expression pattern map on the internet. 11th International *C.elegans* Meeting, Madison, USA, June.
  11. Andachi Y.: Targeted inactivation of *tbx-9* causes defects in embryonic body-wall muscles. 11th International *C. elegans* Meeting, Madison, USA, June.
  12. Kohara, Y.: Expression pattern map of the *C.elegans* genome. HUGO Pacific Meeting, Pusan, Korea, August.
  13. Kohara, Y.: Embryonic specification of germ line in *C.elegans* International Symposium "Gene Functions and Cell Differentiation", Mishima, September.
  14. 小原雄治:細胞の運命と遺伝子, かずさDNA研究所公開講演会, 木更津, 11月.
  15. Kohara, Y.: Expression pattern map of the *C.elegans* genome, 7th International Workshop on the Identification of Transcribed Sequence, Moterey, USA, November.
  16. 小原雄治:Expression pattern map of the *C. elegans* genome. 第164回CBI研究会研究講演会, 東京, 11月.
  17. 小原雄治:Towards functional genomics of the nematode *C. elegans*. 日本学術振興会未来開拓研究推進事業国際シンポジウム「微生物ゲノム研究のフロンティア」, 東京, 12月.
  18. Shin-i, T. & Kohara, Y.: NWEXTDB, The expression pattern database for *C.elegans*. 8th Workshop on Genome Informatics, Tokyo, December.
  19. 新井 理, 本橋智子, 田原浩昭, 大庭登紀江, 杉浦郁子, 小原真澄, 加藤暁子, 佐

- 野正子, 上杉裕子, 渡辺寿子, 三谷裕子, 長岡圭美, 小原雄治: NEXTDB: *C. elegans* ゲノムの発現パターンマップデータベース, 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.
20. 大浪修一, 小原雄治: 時間的, 空間的に poly(A) tail の長さが変化する *C. elegans* の母性 mRNA についての研究, 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.
  21. 本橋智子, 田原浩昭, 小原雄治: *C. elegans* における幼虫と成虫の *in situ* hybridization. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.
  22. 伊藤将弘, 小原雄治: 線虫 *C. elegans* の4次元データベースの構築. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.
  23. 安達佳樹: 線虫 *C. elegans* の T-box ファミリー遺伝子 *tbx-9* の機能解析. 第20回日本分子生物学会年会, 京都, 12月.

## I. 生命情報研究センター

当センターは, 生命情報科学に関する研究を行うとともに, DDBJ(日本DNAデータバンク) 研究事業を担当することを目的に, 平成7年4月に新設された. このセンターは, 遺伝情報分析研究室(教授7名, 助手2名), 遺伝子機能研究室(教授1名, 助手1名), 大量遺伝情報研究室(教授1名, 助手1名), 分子分類研究室(教授1名, 助手1名)から成り立っている. 遺伝情報分析研究室は, 五條堀孝教授, 池尾一穂助手, 今西規助手で構成されている. スイスのバーゼル大学の W. Gehring 博士のところへ留学中であった池尾助手は平成9年5月に帰国した. 遺伝子機能研究室は館野義男教授, 深海薫助手が担当している. 大量遺伝情報研究室は西川建教授, 太田元規助手が担当している. 分子分類研究室は菅原秀明教授, 宮崎智助手が担当している. また, これまでのDDBJ研究事業に対して, 本年4月に科学技術振興事業団より, 学術賞がDDBJの代表として五條堀教授に授与された.

DDBJ研究事業としては, 昨年に引き続きDDBJ独自のデータベース管理システムの開発, 各種二次データベースの開発, 提供やWWWによるホームページを用いた各種検索システムの開発公開等を行った. このDDBJ研究事業には, これらの教官以外に市川恵子, 岩瀬正子, 因間美恵, 上田陽子, 内田玲子, 江嶋真由美, 大久保信孝, 岡根谷美英子, 小河美和, 奥田啓子, 河淵晶子, 川本たつ子, 絹川智子, 佐藤由美子, 仕田原容, 下山メアリー, 杉山順子, 鈴木あかね, 鈴木利紀子, 大藤由紀子, 田辺理恵, 筒井波留, 柳楽幸子, 成田智子, 野村貴美子, 長谷川麻子, 浜松千賀, 服部淑恵, 平島美恵子, 堀江元乃, 室谷淳一, 安田徳一, 山本ゆか, 渡辺昭乃という多くの人々が協力して参画した.

### I-a. 遺伝情報分析研究室

当研究室は, 五條堀孝教授, 池尾一穂助手, 今西規助手により構成され, 分子進化学を中心とした遺伝情報の分析を行うとともに, DDBJ研究事業にも中心的に参画している.

当研究室では、角山和久が総合研究大学院大学の博士課程2年生として在籍している。また、秋田大学医学部大学院博士課程3年生の鈴木善幸、奈良先端研究大学院大学2年生の伊藤 剛が特別研究生として、Silvana Gaudierei が平成9年10月より日本学術振興会外国人特別研究員として研究に参加した。また、山口由美は中核的研究機関研究員として活躍した。NEDOの研究員として研究に活躍した渡邊日出海、遠藤俊徳は、それぞれ米国に博士研究員として留学した。また、竹崎直子、高橋一成が技術補佐員となった。新井 理は、継続して帝人システムテクノロジー株式会社からの受託研究員として、研究に協力した。小野浩明、梅原由美、後藤美香、鈴木美奈子が研究に協力した。

DDBJだけではなく、当研究室の活動補助を上田陽子、小河美和、奥田啓子、杉山順子、渡辺昭乃が積極的に行った。

(1) オペロン内部におけるゲノム構造変化の比較研究：伊藤 剛<sup>1</sup>、竹本経緯子<sup>3</sup>、森 浩禎<sup>2</sup>、五條堀孝<sup>1</sup>(<sup>1</sup>遺伝研・生命、<sup>2</sup>奈良先端大・遺伝子、<sup>3</sup>京大ウイルス研)

現在、全ゲノム配列の決定が次々に完了し、進行中の計画は数十にのぼる。こういったDNA配列の爆発的増加は生物学と情報科学の関係強化を促進し、また実験生物学の手法にも大規模なパラダイム転換を迫っている。そして今一つ重要なことは、全ゲノム配列が解明されることによって初めて明らかになる様々の事実が存在することである。例えば、パラログ・オルソログ解析、ゲノム構造の進化、大規模領域での変異率の測定などが挙げられよう。

ゲノム構造の進化的な変化を知るため、*H. influenzae*、*M. genitalium*の全ゲノム配列及び当時未だ全体の決定されていなかった大腸菌と枯草菌のゲノム配列の一部を用いてオルソログを定義し、遺伝子の並びを比較したところ、一部の例外を除いてゲノム構造はほとんど保存されていなかった。つまり、ゲノムの構造は不安定なものであり、遺伝子のゲノム上の位置関係の重要性は非常に低いことが分かっている。そこで更に、遺伝子のクラスターに明らかに意味があると思われるオペロン構造のゲノム間での変化を調べるため、大腸菌と枯草菌の既知のオペロンの情報を収集し、配列が全決定されている11のゲノムでその保存性を調べたところ、全く同一の構造を保持している場合は非常に少なかった。これは、オペロン内部であっても位置関係の重要性はやはり低く、複数の遺伝子を単一の制御下におくことの意味が状況によって容易に変化しうることを意味する。ゲノム間では、大腸菌、枯草菌は構造の保存性が比較的良く、ラン藻では悪かった。これらゲノム構造変化の差に関して、IS因子の量との相関関係が示唆された。

本研究によりバクテリアゲノムは、長期的には大規模なゲノムの再編成を、たとえ転写単位内部であっても頻繁に受けて変化するという進化像を得た。

(2) コドンサイトごとに淘汰圧を検出する方法の開発：鈴木善幸<sup>1</sup>、五條堀孝<sup>1</sup>(秋田大学・医学部)

蛋白質レベルにかかる淘汰圧を検出することは、一般に2つの塩基配列間において同義置換数と非同義置換数を比較することによってなされてきたが、この方法は遺伝子領域全体あるいは遺伝子内部領域といったある程度の長さを持った領域については可能であるも

の、ある特定のアミノ酸サイトについて検出することは不可能である。しかし実際には酵素の活性部位や蛋白質間の相互作用部位など、機能部位が特定のアミノ酸サイトであることがしばしばあり、アミノ酸サイトごとに淘汰圧を検出することは蛋白質の進化機構を解明する上で非常に重要な問題である。そこで、遺伝子の塩基配列データの多重アラインメントと系統樹を用いて選択圧をアミノ酸サイトごとに検出できる方法を新たに開発した。コンピュータシミュレーションやMHC, HIVなどのデータ解析から、この方法の有用性が明らかになった。

(3) ヒト染色体上の相同領域6p21.3と9q33-q34の進化：遠藤俊徳，今西規，五條堀孝，猪子英俊<sup>1</sup>(<sup>1</sup>東海大学医学部分子生命科学)

ヒト6番染色体の6p21.3の領域と、ヒト9番染色体の9q33-q34の領域の間には、配列上の相同性を示す遺伝子が少なくとも11組マップされている。そこで、これらの領域がどのように進化したかを検証するため、6番と9番の染色体上の相同な遺伝子のそれぞれについて分子系統樹を作成し、遺伝子重複の時期を推定した。その結果、*Retinoid X receptor*や補体の遺伝子など多くの遺伝子は、脊椎動物が出現したころに分岐していた。また、*Heat shock protein (HSP70)*の遺伝子など一部の遺伝子は、それより古い時期に重複を起こしていた。さらに、6p21.3と9q33-q34の領域での遺伝子の物理マップを比較したところ、脊椎動物が出現した前後に重複した遺伝子の順序は、比較的よく保存されていることが明らかになった。以上の結果から、これらの染色体領域が、少なくとも2回の重複と多数回の逆位や転座などの再編成(rearrangement)を経験していることが明らかになった。われわれは、これらの染色体領域の詳細な進化モデルを提唱した。詳細は、*Gene*, **205**:19-27に発表した。

(4) 集団間の移住が遺伝距離に与える効果についての考察：今西規

生物集団の進化史を研究するために、遺伝子頻度から集団間の遺伝距離を推定し、さらに集団の進化系統樹を作成することがよく行われる。この方法を適用する前提として、生物集団は分岐進化すること、集団間の移住や集団の融合などは起こらないことなどが仮定されている。しかし、これらの仮定がすべての生物集団で成り立つ保証はない。そこで、集団間の移住が遺伝距離に与える効果を、簡単な集団遺伝学的モデルを使って定量化した。まず、集団のサイズが等しい集団X, Y, Zを仮定する。集団Xと集団Yの間で移住が起こり、 $m$ の割合の個体が両集団間で交換された状況を考える。ただし、 $m$ は十分に小さいと仮定する。すると、移住が起こる前後での遺伝距離(Modified Cavalli-Sforza's Distance:  $DA'$ )の変化は、近似的に次の式で表される。

$$DA' - DA \approx -m \sum_i \frac{(X_i - Y_i)^2}{2\sqrt{X_i Y_i}} \quad (\text{ただし } X_i, Y_i \text{ もともに } 0 \text{ でないとする})$$

したがって、遺伝距離は $m$ に比例した量だけ減少する。さらに、このとき別の集団Zとの間の遺伝距離の変化は、近似的に次の量で表される。

$$D_A' - D_A \approx -\frac{m}{2} \sum_I \sqrt{X_I Z_I} \left(1 - \frac{Y_I}{X_I}\right) \quad (\text{集団 X と Z の間の距離の変化})$$

$$D_A' - D_A \approx -\frac{m}{2} \sum_I \sqrt{Y_I Z_I} \left(1 - \frac{X_I}{Y_I}\right) \quad (\text{集団 Y と Z の間の距離の変化})$$

したがって、 $X_i$  と  $Y_i$  の大小関係によって遺伝距離は増加したり減少したりする。ここで、具体例を検討してみる。HLA-DRB1とDQB1の遺伝子頻度(Bannai et al. 1996)を用いて遺伝距離を計算したところ、アイヌと本土日本人の間の遺伝距離は0.235であった。そこで、もしこれらの集団間で  $m = 1\%$  の移住が起こったとすると、遺伝距離は0.213となり、9.2%も減少する。この例で明らかのように、移住によって集団間の遺伝距離は大きく影響を受け、系統樹作成などの遺伝距離を利用した解析には深刻な問題点となりうる。こうした問題点を回避するためには、集団間の移住率を正確に推定し、それに基づいた集団進化の解析法の開発が必要である。

(5) 「東アジア・ヒト遺伝情報データベース」の構築と公開：今西 規

日本人の起源や東アジアの人類集団の系統関係の研究を進める目的で、東アジアの人類集団の遺伝情報に関する学術論文を収集し、データベース化した。これを「東アジア・ヒト遺伝情報データベース」と名付け、一部公開を始めた。これに入力されている情報は、血液型、血清タンパク、赤血球酵素などの古典的遺伝標識の遺伝子頻度と、マイクロサテライトDNAの多型対立遺伝子頻度である。このうち、古典的遺伝標識の遺伝子頻度に入力されている項目は、集団名、サンプル数、遺伝子座、遺伝子頻度、そして論文の著者名やタイトルなどの文献情報である。1997年12月現在で、遺伝子頻度情報は1848件である。データは希望者にフロッピーディスクで配布する。このデータベースは、インターネット経由で利用可能であり(URL: <http://ima-pm95.genes.nig.ac.jp:591/>)、集団名、遺伝子座名などをキーワードとした検索や、データの表示が可能である。遺伝子頻度情報を含む文献の収集には、国立遺伝学研究所の斎藤成也博士にご協力いただき、データ入力とデータベースのデザインには、鈴木美奈子さんと羽原香織さんにご尽力いただいた。ここに感謝する。

(6) distance matrixによる系統樹作成法でひとつの配列データから複数の系統樹がつけられる条件と頻度：竹崎直子

distance matrix系統樹作成法では通常ひとつの配列データセットからは一つの系統樹が作成されると考えられているが、複数の系統樹(タイ系統樹)が作成されることがある。タイ系統樹が作成される場合にこれらを考慮しないと生物種や遺伝子の進化の過程について間違った結論を導く場合があるかもしれない。また、ブートストラップ法による樹形の信頼性検定の時にタイ系統樹を考慮した方法で行わないとブートストラップ値が配列の入力順序に影響され、高い値を出してしまう可能性がある。私はそこでタイ系統樹は、なぜ作成されるのか、どのような条件でどのような頻度で起るのかを主にコンピュータシミュレーションを用いて研究した。また、シミュレーション中に作成されたタイ系統樹に対しブートストラップ検定を行ない、タイ系統樹間で異なる樹形部分のブートストラップ値に

について調べた。ブートストラップ検定はタイ系統樹を考慮する二つの方法により行った。本研究ではdistance matrix法で一般によく用いられるNeighbor-joining (NJ)法とUPGMA法を対象とした。

タイ系統樹が配列データから作成される場合を考察することによりタイ系統樹は系統樹の interior branchに置換が全く起こらなかった時や、また interior branchに置換が起きた時でも、ある座位で多重置換が起きた場合タイ系統樹が作成される場合があることがわかった。シミュレーションの結果からタイ系統樹は近縁または座位数の少ない配列データから作成されやすいことがわかった。そのような配列データからはUPGMA法ではかなり頻繁にタイ系統樹が作成された。それに対し、NJ法では全般的にタイ系統樹は稀にしか作成されなかった。タイ系統樹間で異なる樹形部分のブートストラップ値はほとんどの場合低かったが(< 60%), 稀に比較的高い値(70%-80%)が観察された。ブートストラップ検定は、各 replicationで(1)全てのタイ系統樹を検索することにより、また(2)系統樹作成の過程で現れる異なるpathをランダムに選ぶことにより行ったが、両者によるブートストラップ値は非常に近かった。後者の方が計算負荷が軽いので、実際の解析ではブートストラップ検定は後者の方法を用いて行なえるだろう。これらの成果を、“Tie trees generated by distance methods of phylogenetic reconstruction”(Mol. Biol. Evol. accepted)に発表の予定である。

(7) ニコチン性アセチルコリンレセプター・サブユニットの進化: 角山和久, 五條堀孝  
アセチルコリンは、左右相称動物の神経・筋肉系で機能する神経伝達物質として長い間認識されており、ニコチン性アセチルコリンレセプター(nAChR)は、最初に同定され、単離・精製されたレセプターであるために、これまでさまざまな研究がおこなわれている。nAChRは、複数のサブユニットから構成され、筋肉系では5タイプ(a1, b1, d, g, e), 神経系で11タイプ(a2-a9, b2-b4)のサブユニットが知られている。これらサブユニットの分子進化過程については、これまで議論があったが、我々は、18の生物種に由来する84の塩基配列を用いて、複数の手法により分子系統樹を作成することによって、サブユニットの進化過程を再検討した。その結果、全てのサブユニットの共通祖先は神経系において出現し、その後、筋肉系のa1サブユニットは、神経系のa2, a3, a4, a5, a6, とb3の共通祖先から分岐し、他の筋肉系のサブユニット(b1, g, d, e)と神経系のb2とb4サブユニットは、同じ共通祖先から分岐してきたであろうことがわかった。さらに、同義置換数と非同義置換数を推定することにより、各サブユニットに働く機能的制約の程度に注目した解析をおこなった。同義置換数に対する非同義置換数の比は、サブユニットの機能の重要性に良い相関性を示し、特に、ウィンドウ解析を用いた場合に、レセプター・チャンネル等の遺伝子内の機能部位に強い機能的制約が働いていることを示した。

これらの結果をThe Fifth Annual Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolutionで発表した。詳細は、Mol. Biol. Evol. に印刷中である。

(8) 経時的にサンプルされた遺伝子の系統関係からみた集団のダイナミクス: 山口由美, 五條堀孝

ウイルスのように進化速度の速い生物では、その遺伝子を経時的にサンプルして、遺伝子の塩基配列の変化を追跡することができる。そのような遺伝子セットから作成された系統樹は、その生物の集団の遺伝的構成の時間的変化の情報をもつので、直接的に分子進化機構の解明に役立つ可能性が存在する。まず理論的準備として、自然淘汰がない場合について、2つの異なる時点に採られた複数の遺伝子のとり得るそれぞれの系統関係を持つ確率を求めた。この確率に基づいて、HIV-1の宿主内進化の塩基配列データ解析を行った。3人の感染者について解析を行ったところ、中立進化の仮定のもとでは、集団の有効数は71~2188と推定され、これは、実際の調査と比べて10万倍小さかった。この違いは、ウイルス粒子によって増殖速度が異なることや、調べた領域に連鎖した部位に働く自然淘汰によって説明できると考えられる。

## 研究業績

### (1) 原著論文

1. Tateno Y. and Gojobori T.: DNA data bank of Japan in the age of information biology. *Nucl. Acids Res.* **25**(1), 14-17, 1997.
2. Perrière G., Moszer I., and Gojobori T.: The NRSub database: update 1997. *Nucl. Acids Res.* **25**(1), 53-56, 1997.
3. Nakamura Y., Gojobori T., and Ikemura T.: Codon usage tabulated from the international DNA sequence databases. *Nucl. Acids Res.* **25**(1), 244-245, 1997.
4. Yamamoto H., Tamura T., Isono K., Gojobori T., Sugawara H., Nishikawa K., Saitou N., Imanishi T., Fukami-Kobayashi K., Ikeo K., and Tateno Y.: SAKURA: A new data submission system of DDBJ to meet user' needs in the age of mass production of DNA sequences. *Proceeding of the seventh workshop on Genome Informatics 1996. Tokyo / Universal Academy Press, Inc.* **7**, 204-205, 1997.
5. Tateno Y., Ikeo K., Imanishi T., Watanabe H., Endo T., Yamaguchi Y., Suzuki Y., Takahashi K., Tsunoyama K., Kawai M., Kawanishi Y., Naitou K., and Gojobori T.: Evolutionary motif and its biological and structural significance. *J. Mol. Evol.* **44**(1), 38-43, 1997.
6. Watanabe H., Mori H., Itoh T., and Gojobori T.: Genome plasticity as a paradigm of eubacteria evolution. *J. Mol. Evol.* **44**(1), 57-64, 1997.
7. Mizokami M., Orito E., Ohba K., Ikeo K., Lau J.Y.N., and Gojobori T.: Constrained evolution of hepatitis B virus with overlapping genes. *J. Mol. Evol.* **44**(1), 83-90, 1997.
8. Yamaguchi Y. and Gojobori T.: Evolutionary mechanisms and population dynamics of the third variable envelope region of HIV within single hosts. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **94**, 1264-1269, 1997.
9. Sato S., Masuya H., Numakunai T., Satoh N., Ikeo K., Gojobori T., Tamura K., Ide

- H., Takeuchi T., and Yamamoto H.: Ascidian tyrosinase gene: Its unique structure and expression in the developing brain. *Developmental Dynamics* **208**, 363-374, 1997.
10. Tanaka H., Ren F., Okayama T., and Gojobori T.: Inference of molecular phylogenetic tree based on minimum model-based complexity method. *Proceedings of Fifth international conference on intelligent systems for molecular biology. Halkidiki, Greece / American Association for Artificial Intelligence*. Pp. 319-328, 1997.
  11. Tenzen T., Yamagata T., Fukagawa T., Sugaya K., Ando A., Inoko H., Gojobori T., Fujiyama A., Okumura K., and Ikemura T.: Precise switching of DNA replication timing in the GC content transition area in the human Major Histocompatibility Complex. *Mol. and Cellular Biology* **17**(7), 4043-4050, 1997.
  12. Suzuki Y., and Gojobori T.: The origin and evolution of ebola and marburg viruses. *Mol. Biol. Evol.* **14**(8), 800-806, 1997.
  13. Kurihara T., Sakuma M., and Gojobori T.: Molecular evolution of myelin proteolipid protein. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. **237**, 559-561, 1997.
  14. Tateno Y., Fukami-Kobayashi K., Miyazaki S., Sugawara H., and Gojobori T.: DNA Data Bank of Japan at work on genome sequence data. *Nucleic Acids Research* **26**(1), 16-20, 1997.
  15. Mizuki N., Ohno S., Ando H., Sato T., Imanishi T., Gojobori T., Ishihara M., Ota M., Geng Z., Geng L., Li G., Kimura M., and Inoko H.: Major histocompatibility complex class II alleles in Kazak and Han populations in the Silk Route of northwestern China. *Tissue Antigens* **50**, 527-534, 1997.
  16. Okamoto Y., Shiosaki K., Eda Y., Tokiyoshi S., Yamaguchi Y., Gojobori T., Hachimori T., Yamazaki S., and Honda M.: Father-to-mother-to-infant transmission of HIV-1: clonally transmitted isolate of infant mutates more rapidly than that of the mother and rapidly loses reactivity with neutralizing antibody. *Microbiol Immunol* **41**(2), 131-138, 1997.
  17. Watanabe H., Gojobori T., and Miura K.: Bacterial features in the genome of methanococcus jannaschii in terms of gene composition and biased base composition in ORFs and their surrounding regions. *GENE* **205**, 7-18, 1997.
  18. Endo T., Imanishi T., Gojobori T., and Inoko H.: Evolutionary significance of intra-genome duplications on human chromosomes. *GENE* **205**, 9-27, 1997.
  19. Yamamoto, Y., Aiba, H., Baba, T., Hayashi, K., Inada, T., Isono, K., Itoh, T. *et al.*: Construction of a contiguous 874-kb sequence of the *Escherichia coli* K-12 genome corresponding to 50.0–68.8 min on the linkage map and analysis of its se-

quence features. *DNA Res.* **4**, 91-113, 1997.

(2) その他

1. 五條堀孝：現代情報革命に伴う生命観の変化の予感。潮新春号，pp140-142，1997。
2. 今西 規，五條堀孝：ヒトはどこから来たか—遺伝子に刻まれた進化の道筋(榊 佳之，村松正實編集)『ネオ生物学シリーズ—ヒト』共立出版社，pp14-26，1997。
3. 五條堀孝，館野義男：生物遺伝情報データベースの構築と国際協力。学術月報特集，**50**(4)，352-357，1997。
4. 五條堀孝：科学技術情報振興賞を受賞して。情報管理 **40**(4)，p279，1997。
5. 「ゲノム情報を読む」(五條堀孝，宮田 隆編集)『ネオ生物学シリーズ②』共立出版社，1997。
6. 渡辺日出海，五條堀孝：ゲノム情報とは何か『ネオ生物学シリーズ②』共立出版社，pp1-17，1997。
7. 館野義男，五條堀孝：ゲノム生物学とデータバンク。蛋白質・核酸・酵素12月増刊号『ゲノムサイエンス』，pp3052-3061，1997。
8. 今西 規(分担執筆)：人類学講座編纂委員会編，「人類学講座別巻2，人類学用語」。雄山閣出版，東京，1997。

(3) 発表講演

1. Gojobori T.: The role and the Evolution of non-coding sequences. ISME International Society of Molecular Evolution, Costa Rica, 1月6-10日。
2. 五條堀孝：今後の分子進化学。第3回公開シンポジウム，統数研，1月13-14日。
3. Imanishi, T., T. Endo, and T. Gojobori: An Exhaustive Search for Extensive Chromosomal Regions Duplicated within the Human Genome. 1997 Keystone Symposium Conference, Santa Fe (USA), 2月16日-2月21日。
4. Imanishi, Tadashi, T. Endo, and T. Gojobori: An Exhaustive Search for Extensive Chromosomal Regions Duplicated within the Human Genome. Human Genome Meeting 1997, Toronto (Canada), 3月6日-3月8日。
5. Sugawara, H., K. Goto, H. Yamamoto, T. Koike, T. Okayama, J. Ishii, T. Mizunuma, T. Tamura, S. Miyazaki, M. Ota, K. Fukami-Kobayashi, T. Imanishi, K. Ikeo, N. Saitou, K. Nishikawa, Y. Tateno, and T. Gojobori: DNA Data Bank of Japan (DDBJ) in the age of mass submission of sequences. Human Genome Meeting 1997, Toronto (Canada), 3月6日-3月8日。
6. Mizokami M. T. Shin-i, and T. Gojobori: HCV Data Base. 4th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Kyoto (Japan), 3月6日-3月10日。
7. Gojobori, T., H. Watanabe, T. Endo and T. Imanishi: Evolutionary implication of genome structures. 11th International Conference on Mathematical and Com-

- puter, Computational Biology Session: "Computing in the Genome Era.", Georgetown University conference Center, Washington, D.C.(USA), 3月31-4月2日.
8. Gojobori T.: Evolution of genome structures. 研究集会『分子進化における新しい展開』, 遺伝研, 5月28-29日.
  9. Imanishi T., Endo T. and Gojobori T.: Discovery of extensive chromosomal regions duplicated within the human genome. International Conference on Molecular Biology and Evolution, Garmisch-Partenkirchen, Germany, June.
  10. Suzuki Y. and Gojobori T.: The origin and evolution of Ebola and Marburg viruses. The Fifth International Annual Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution, Garmisch Partenkirchen, Bavaria, 6月.
  11. Gojobori T.: Genomic Sequence Comparisons and their Evolutionary Implications. Seminar at The University of Washington School of Medicine, Washington, D.C.(USA), 7月15日.
  12. 五條堀孝: ゲノム情報解析(1)(2). 平成9年度湘南レクチャー『遺伝子の系統樹から見た生物進化』, 総研大, 8月25日-8月29日.
  13. Gojobori, T.: Genetic Approaches for Classification HCVmeeting, Santa Fe (USA), 8月25-8月27日.
  14. 山口由美, 五條堀孝: HIV-1の外被糖タンパク質の各アミノ酸サイトにおける変異性と機能との関係. 第45回日本ウイルス学会総会, 京都, 9月20-22日.
  15. Gojobori, T., and T. Imanishi: Phylogeny and Genomic Diversity of Human Populations. A meeting on Human Evolution, Cold Spring Harbor Laboratory, NY (USA), 10月4-10月8日.
  16. 五條堀孝: ゲノム進化学の夜明け. 日本生物物理学会第35回年会, 京都, 10月10-12日.
  17. 五條堀孝: 病原性ウイルスの体内進化と分子疫学—エイズウイルスやC型肝炎ウイルスを中心として—. 平成9年度「馬防疫検討会」馬感染症研究会, 競走馬総合研究所栃木支所, 栃木, 10月24日.
  18. 五條堀孝: HIVの体内進化と未来進化予測. 日本遺伝学会第69回大会, 横浜市立大, 11月1-3日.
  19. 伊藤 剛, 竹本経緯子, 森 浩禎, 五條堀孝: 微生物ゲノムにおけるオペロン構造の保存性の比較. 日本遺伝学会第69回大会, 横浜市立大, 11月1-3日.
  20. 山口由美, 五條堀孝: 経時的にサンプルされた遺伝子の系図を用いた分子進化機構解明の試み. 日本遺伝学会第69回大会, 横浜市立大, 11月1-3日.
  21. 鈴木義孝, 五條堀孝: 正の自然淘汰が働いているアミノ酸サイトの同定法. 日本遺伝学会第69回大会, 横浜市立大, 11月1-3日.
  22. 高橋一成, 五條堀孝: 系統樹解析から推定した, 母子感染におけるHIV-1クローン

- の分子進化的特徴. 日本遺伝学会第69回大会, 横浜市立大, 11月1-3日.
23. 今西 規, 遠藤俊徳, 五條堀孝: ヒトゲノム中の大規模な重複領域の発見. 日本遺伝学会第69回大会, 横浜市立大, 11月1-3日.
  24. 今西 規: ヒトゲノムの重複領域の発見. 第51回日本人類学会大会・遺伝分科会, 筑波, 11月.
  25. 五條堀孝: 木村資生博士と現在分子進化学の発展. 岡崎市第25回教育文化賞記念講演会, 岡崎せきれいホール, 11月15日.
  26. 五條堀孝: 21世紀の進化学の予見する. 生化学若い研究者の会冬のシンポジウム「生命工学最前線～基礎から応用まで～」, 東大(東京), 12月6日.
  27. Goto K., Yamamoto H., Tamura T., Okayama T., Koike T., Miyazaki S., Mori H., Gojobori T., and Sugawara H.: Visualization of sequence and biological data in DNA Data Bank of Japan: Genome Information broker and the enhancement of SAKURA. Genome Informatics 1997, Yebisu Garden Place (Tokyo), 12月12-13日.
  28. 五條堀孝: 大量遺伝情報に基づくゲノム進化の解析. 第20回日本分子生物学会年会, 国立京都国際会館・京都宝ヶ池プリンスホテル, 12月16-19日.
  29. 山口由美, 五條堀孝: RNAウイルスの適応進化に寄与するゲノム領域の同定. 第20回日本分子生物学会年会, 国立京都国際会館・京都宝ヶ池プリンスホテル, 12月16-19日.
  30. 今西 規, 遠藤俊徳, 五條堀孝: ヒトゲノムにある大規模な重複領域の探索. 第20回日本分子生物学会年会, 国立京都国際会館・京都宝ヶ池プリンスホテル, 12月16-19日.
  31. 五條堀孝: ポストゲノムプロジェクトーゲノム工学から生命工学へ. 平成9年度第6回バイオ分野研究委員会, インペリアルタワー(東京), 12月16日.

### I-b. 大量遺伝情報研究室

当研究室は, タンパク質の立体構造に関するコンピュータ解析, アミノ酸配列データからの立体構造予測などを中心に研究している. また, 日本DNAデータバンク(DDBJ)の研究事業に参加するとともに, すべての種類のタンパク質に関する変異体データベース(Protein Mutant Database, 略称PMD)の作成を独自に進めている.

研究室メンバーは, 西川 建(教授), 太田元規(助手), 川端 猛(遺伝研COE博士研究員), および門脇里佳(研究補佐員), 三村公子(研究補佐員), 山本かよ子(研究補佐員), 成田智子(秘書)からなる. また遺伝研共同研究として中島広志(金沢大学), 有坂文雄(東京工業大学), Shahid S. Siddiqui(豊橋技術科学大学)と協力し, その他にも磯貝泰弘(理化学研究所), 須山幹太(生物分子工学研究所)らと協同で研究した.

- (1) グロビン族タンパク質の保存残基部位の解析: 太田元規, 磯貝泰弘<sup>1</sup>, 西川 建<sup>1</sup>(<sup>1</sup>理

化学研究所・生体物理化学研究室)

グロビン族は1つのフォールド(構造型)を保ちつつ配列が発散していることで有名であるが、配列が多様化しているにもかかわらず保守的なサイトがいくつか見受けられる。そのような保存性の高いサイトについて、3D-1D法で使用される擬エネルギー関数を用いて解析を行った。つまり、保存しているアミノ酸と保存サイトの構造環境との適合度を調べた。Leu(B10サイト)、Phe(CD1)、Leu(F4)は、各サイトと疎水性コアとの相互作用に適していること、Pro(C2)はヘリックスのN端に最適であること、Phe(CD4)はPhe(CD1)の主鎖と水素結合をする際に有利であることがわかった。一方、2つのHis(E7, F8)は各サイトの構造環境に適合しなかった。つまり、このサイトの保存は構造からの要請は満たしておらず、ヘムとの関係から来る機能的要請によるものであることが示唆された。Phe(CD1)の保存についてはヘムを支えるのに必要だからと考えられて来たが、CD1の構造環境にも最適であることが明らかにされた。この方法によれば、3Dプロフィールを見てサイト適合性が低い保存サイトがあった場合、それは純粋に機能的要請によるものと考えられる。つまり、この方法で機能部位の予測ができると我々は考えている。詳細は文献1および3に発表した。

(2) タンパク質の新しい二次構造予測法(SSThread)の開発:伊藤将弘<sup>1</sup>, 西川 建<sup>1</sup>(遺伝子回路研究室)

タンパク質の二次構造予測はすでに多くの方法論が開発されているが、これまでにない新しい方法論としてわれわれは3D-1D法を応用することを考えた。アルゴリズムは簡単である。以前に開発した3D-1D法のプログラムであるCOMPASSを標的アミノ酸配列に適用し、スコアの良い上位50番までの立体構造を選別する(スクリーニング)。選別された各々の構造はすでに3D-1D法によって標的配列にアラインされているので、標的配列を基準にすると50個の既知の二次構造をいっぺんに並べて見ることができる。そうしておいて標的配列の各サイトごとに、50個の二次構造(ヘリックス、ベータ構造、コイル)の多数決をとり、最も数の多い二次構造をそのサイトの予測構造とする。実際には重み付けなどのパラメータを加えるので少し複雑になる。この方法の特徴は、3D-1D法の考え方に従い、標的配列の全体を既知タンパク質の構造全体と一挙に比較する点にある。すなわち、標的配列の短い配列を参照する(ウインドウ・サーチ)従来の予測法とはまったく異なり、大域的情報に基づいた予測法だといえる。予測精度は平均で69%であり、従来法の最良の方法と比べても遜色ない結果であった。本二次構造予測プログラムはSSThreadと命名し、WWWで公開サービスを行っている。詳細は文献4に発表した。

(3) DNA配列データのジヌクレオチド分布による解析:中島広志<sup>1</sup>, 西川 建<sup>1</sup>(金沢大学医学部保健学科)

DNA塩基配列の1つの解析法として、GpCなど隣りあう16種類のジヌクレオチド配列の出現頻度をみて、遺伝子やDNA配列全体の特徴を調べる方法を開発した。1つの遺伝子に対して、1つのジヌクレオチド配列の出現頻度(組成パーセント)を求め、同じ遺伝子のA, T, G, C組成から求められるジヌクレオチド組成の期待値で割り、比を求める。さらにその比の常用対数を取り、100倍した値をLOR100(Log-Odds Ratio times 100)として定義した。16

種類のジヌクレオチド配列について各々1つのLOR100値が求まるので、1つの遺伝子(または任意のDNA配列)は16個の成分からなるベクトルとして表現される。それぞれのジヌクレオチド配列を独立だと見なすと、1つのDNA配列は16次元空間の1点としてプロットされる。この方法を、大腸菌、酵母(*S. cerevisiae*)、ヒトのDNA配列データに適用した。最初に3者の遺伝子配列(それぞれ489, 342, 1470本)に適用し、すべてを1度に16次元空間にプロットしたところ、それぞれの生物種の遺伝子は別個のクラスターを形成すること、クラスター間の分離度は非常に良い(重複部分は10%以下)ことがわかった。興味深いのは、アミノ酸配列のホモロジーが高い同族タンパクでも、ジヌクレオチド・レベルでは3つの生物種に応じて明瞭に分離されることである(例外は同じく10%程度のみ)。また、同様の解析を遺伝子領域以外の非コード領域(ヒトの場合はイントロン)のDNAにも適用したところ、同じ生物種であれば遺伝子コード領域、非コード領域の差はほとんど無いことが判った。これらの結果は、生物種に応じてジヌクレオチド配列の出現頻度が、期待値から常に一定の方向と強さをもって偏奇していることを意味する。このような現象がどのような要因によって生じるのかは不明である。また期待値からのずれの程度は、3種の中ではヒトにおいて最も大きいという結果も予想外であった。詳細は文献5によって報告した。

## 研究業績

### (1) 原著論文

1. Ota, M. and Nishikawa, K., "Assessment of the pseudo-energy potential by the best-five test: a new use of the three-dimensional profiles of proteins", *Prot. Eng.* **10**, 339-351, 1997
2. Suyama, M., Matsuo, Y. and Nishikawa, K., "Comparison of protein structures using 3D profile alignment", *J. Mol. Evol.*, **44** (Suppl 1), S163-S173, 1997.
3. Ota, M., Isogai, Y. and Nishikawa, K. "Structural requirement of highly-conserved residues in globins", *FEBS Lett.*, **415**, 129-133, 1997.
4. Ito, M., Matsuo, Y. and Nishikawa, K., "Prediction of protein secondary structure using the 3D-1D compatibility algorithm", *CABIOS*, **13**, 415-423, 1997.
5. Nakashima, H., Nishikawa, K. and Ooi, T., "Differences in dinucleotide frequencies of human, yeast, and *E. coli* genes", *DNA Res.* **4**, 185-192, 1997.
6. Gready, J.E., Ranganathan, S., Schofield, P.R., Matsuo, Y. and Nishikawa, K., "Predicted structure of the extracellular region of ligand-gated ion-channel receptors shows SH2-like and SH3-like domains forming the ligand binding site", *Prot. Sci.*, **6**, 983-998, 1997.
7. Sumikawa, H., Fukuhara, K., Suzuki, E., Matsuo, Y. and Nishikawa, K., "Tertiary structural models for human interleukin-6 and evaluation by a sequence-structure compatibility method and NMR experimental information", *FEBS Lett.* **404**, 234-240, 1997.

8. Khan, M.L.A., Gogonea, C.B., Siddiqui, Z.K., Ali, M.Y., Kikuno, R., Nishikawa, K. and Siddiqui, S.S., "Molecular cloning and expression of the *Caenorhabditis elegans* *klp-3*, an ortholog of C terminus motor kinesins *Kar3* and *ncd*", *J. Mol. Biol.*, **270**, 627-639, 1997.

(2) その他

1. 西川 建: コンピュータによるタンパク質の立体構造予測. 医療情報学, **17**(3), 421-432, 1997.

(3) 発表講演

1. 太田元規: 憂愁の3D-1D法. 第37回生物物理若手の会夏の学校, 瀬戸, 7月.
2. 西川 建: ゲノム情報が語るタンパク質構造の系統関係. 日本生物物理学会第35回年会シンポジウム, 京都, 10月.
3. 太田元規, 磯貝泰弘, 西川 建: グロビン保存残基は構造的(または機能的)要請の結果か? 日本生物物理学会第35回年会ポスター発表, 京都, 10月.
4. 川端 猛, 西川 建: 「タンパク質らしさ」を考慮した ab initio 構造予測の試み. 日本生物物理学会第35回年会ポスター発表, 京都, 10月.
5. 磯貝泰弘, 太田元規, 飯塚哲太郎, 西川 建: De novo design of a globin fold. 文部省科学研究費重点領域研究「タンパク質立体構造の構築原理」第4回ワークショップ(ポスター発表), 三島, 12月.
6. 深海 薫, 須山幹太, 館野義男, 西川 建: Periplasmic binding protein スーパーファミリーにおけるタンパク質立体構造の進化. 日本分子生物学会第20回年会ポスター発表, 京都, 12月.

### I-c. 遺伝子機能研究室

当研究室では、遺伝子やタンパク質が貯蔵している生命情報を抽出し、進化学的に解析することによって、それら生体情報分子の起源と進化を探る研究を進めている。この数年遺伝情報分析研究室と共同で続けているプロジェクトは、遺伝子自身の起源と進化を探ることを目的としている。遺伝子の配列が多くの生物種で明らかになってくるにつれて、遺伝子が複数の異なる機能をもつタンパク質をコードしていることが明らかになってきた。生物学的に異なる複数の機能はそれぞれ別々の祖先から進化してきたと考えるのは自然であり、1つ遺伝子の複数の機能は異なった遺伝子から由来してきたという結論に導かれる。つまり、遺伝子はその進化起源から現在と同じような構造だったのではなく、もっと簡単な構造をもっていたと考えられる。この視点に立って、入手可能な限りの遺伝子の塩基配列を解析することにより、これら祖先遺伝子に迫ることができる。これら祖先遺伝子がコードしたと推定されるタンパク質は具体的には、「進化モチーフ」と私達が呼ぶアミノ

配列単位で求めることができる。進化モチーフは、親水性アミノ酸が主となる親水性モチーフ、疎水性アミノ酸が主となる疎水性モチーフ、そしてその中間型に類別することができる。この中で、親水性モチーフはタンパク質の表面で生物機能に関わり、疎水性モチーフは、タンパク質の内部で構造に結びついていると考えられる。また、現在これらのモチーフを知られているタンパク質の高次構造にあてはめて、モチーフと機能あるいは構造との関係を探っている。

また、明治製菓(株)との共同研究により、*Penicillium decumbens*の抗生物質産生に関与すると考えられる遺伝子の機能推定の研究を進めている。この遺伝子は*P. decumbens*体内でpropenylphosphonic acid(cPA)がエポキシ(酸)化する酵素(EpoA)をコードすると私達は推定している。類似酵素遺伝子は原核生物では数例知られているが、真核生物では*P. decumbens*が初めてのケースとなる。この遺伝子をクローニングして配列を決定したが、類似配列をもつ遺伝子はデータベース検索で見つけることができなかつた。ところがつい最近になって再びデータベース検索を試みたところ、マウスの遺伝子によく類似した配列があることを発見した。配列の類似性からだけでもこの2つの遺伝子の相同性が示唆された。この遺伝子はL-proline 4-hydroxylaseをコードし、この酵素はEpoAと同じ化学的性質をもっていることも相同性を支持する。さらに、この遺伝子を破壊するとエポキシ化活性を失うことも確認している。これらの結果は、真核生物で初めてのエポキシ化酵素遺伝子の発見を強く示唆する。

当研究室ではこの他に、periplasmic binding proteinスーパーファミリーにおけるタンパク質立体構造の進化の解析を進めている。Periplasmic binding proteinとは、真正細菌・古細菌が細胞内へ糖・アミノ酸などの水溶性分子を取り込む際、取り込む分子と結合するタンパク質の総称である。大きくタイプI、タイプIIという2つのスーパーファミリーに分類されているが、これらのスーパーファミリーの間では、立体構造の骨格部分に存在するβシートの形成のされ方が異なっている。立体構造の骨格部分までもが異なるタンパク質が、共通の祖先タンパク質からどのようなイベントを経て進化してきたのか？それを知る手がかりのひとつとして、系統樹の作成を試み、骨格部分の変化はperiplasmic binding proteinの進化の歴史の中で1回だけ起こったイベントであることを明らかにした。

さらに、当研究室では生命情報研究センターの他の3研究室と共同でDNA Data Bank of Japanの事業を推進している。

## 研究業績

### (1) 原著論文

1. 五條堀孝, 館野義男: 国立遺伝学研究所における国際DNAデータバンク活動, 学術月報 **50**, 352-367, 1997.
2. 館野義男, 五條堀孝: ゲノム生物学とDNAデータバンク, 蛋白質・核酸・酵素, **42**, 3052-3061, 1997.

3. Tateno, Y., Ikeo, K., Imanishi, T., Watanabe, H., Endo, T., Yamaguchi, Y., Suzuki, Y., Takahashi, K., Tsunoyama, K., Kawai, M., Kawanishi, Y., Naitou, K., and Gojobori, T. (1997) Evolutionary motif and its biological and structural significance. *J Mol Evol* **44** (Suppl 1) S38-S43.
4. Tateno, Y. and Gojobori, T. (1997) DNA Data Bank of Japan in the age of information biology. *Nucleic Acids Res* **25**:14-17.

(2) 発表講演

1. Tateno, Y.: Evolutionary Motifs and Their Implication for the Origin and Evolution of a Gene, 台北, 台湾, 4月.
2. Tateno, Y.: Current activity of the DNA Data Bank of Japan, NCBI, ベセスダ, 5月.

#### I-d. 分子分類研究室

当研究室は、菅原秀明教授と宮崎 智助手で構成され、いわゆる bioinformatics 分野の研究開発を行っている。ことに、生命情報の高度利用を可能にするデータの獲得・蓄積・評価・分析システムの研究開発を進め、その成果を生かしながら、DNA Data Bank of Japan (DDBJ) ならびに WFCM-MIRCEN World Data Centre for Microorganisms (WDCM) の研究業務ならびに国際的な生物多様性関連プロジェクトに貢献することを目的としている。システム設計にあたっては、互いに独立な機能を自由に組み合わせることによって生命情報研究における多彩な課題に答えられるモジュール構造を目指している。また研究室内のプロトタイプで終わらずに日常的な実務に耐えるシステム構築を目指している。なお、当研究室の活動には田辺理恵も貢献した。

(1) DDBJ におけるデータ処理システムの研究開発：菅原秀明，五條堀孝，宮崎 智，森浩禎<sup>1</sup>，田村 卓<sup>2</sup>，岡山利次<sup>3</sup>，小池智浩<sup>3</sup>，山本 光<sup>3</sup>，後藤康丞<sup>4</sup>（<sup>1</sup>奈良先端大，<sup>2</sup>遺伝学普及会，<sup>3</sup>日立ソフトウェアエンジニアリング，<sup>4</sup>帝人）

ゲノムプロジェクトや生物多様性研究の進展の結果、DDBJ の規模は 10 億塩基対を超え拡大の一途を辿っている。この状況に対応するために、DDBJ におけるデータ処理の中核となるデータの獲得・蓄積・検索システムの機能向上を計った。ことに、DDBJ データベースに 350Kbp 以下のエントリーに分割登録されている微生物ゲノムデータを微生物単位で統一的に閲覧可能なシステム Genome Information Broker (GIB) を開発し一般に提供した。また、大量データに対して正確なアノテーションを付与する作業を補助するために、WWW データ登録システムである SAKURA に配列の生物学的特徴を可視化して利用者に提供するシステムを付加した。これらの成果を、(2)-3 と (3)-2, 3, 4, 8 に発表した。

(2) 生物多様性を対象としたシステムならびに研究手法：菅原秀明，宮崎 智  
2-1. WDCM システム

World Federation for Culture Collections(WFCC)とMicrobial Resources Centers' Network(MIRCEN)のデータセンターであるWDCMのWWWサーバーの運用を1997年4月1日から開始した。このサーバーはAmerican Society of Microbiologyによって微生物分野のサーバーとして高い評価を受け、また、月平均30,000万件のアクセスがあった。今後WDCMが微生物多様性の情報センターの一つとして発展していくことが望まれるため、生物多様性について、(2)-1, (3)-9において考察を加えた。

## 2-2. ネットワークの高度利用

生物多様性の研究においては、地理的には分散しているさまざまな専門センターが互いに情報を共有できる環境が必要である。そこで、日米間の45Mbpsの広帯域ネットワークを利用した仮想研究室ならびに遠隔教育の実験を行い、その成果を(1)-1と(3)-3に発表した。また、アジア太平洋地域におけるbioinformaticsの研究促進のために、APBioNet構想を(3)-7で発表した。特に、微生物学分野を対象として高性能計算機、ソフトウェアならびにネットワークで構成される情報環境について考察を加え(3)-1で発表した。

## 2-3. 微生物の分類と同定

生物多様性の研究基盤として分類学が必須である。現代の分類学においては、多様なデータについて多相な分析(polyphasic analysis)を加えることが求められている。さらに、伝統的な分類手法の再評価が求められるとともに、進化系統分類の手法についても信頼性の高い手法が求められている。そこで、前者については、微生物をモデルとして生物群認識支援システムの試作を進め、後者については、(2)-4と(3)-5で報告したように、進化系統解析の為に新しい測度の提案と大規模データへの対応を試みた。

### (3) 相同性モデリングによる蛋白質の立体構造予測：宮崎 智，菅原秀明

Bioinformaticsの目標の一つは、生体高分子の配列・構造・機能の相関を明らかにすることである。当研究室は、順天堂大学のグループに協力して、自己免疫疾患由来のモノクローナル抗体の親和性データと配列データの相関を明らかにするために、進化系統解析の手法によって各クローンの関係を明らかにするとともに、アミノ酸配列データから相同性モデリングによってその立体構造予測を試みてきた結果に基づき、親和性が特定のアミノ酸に支配されているなどの従来の仮説と異なり、立体構造の動的な振る舞いこそが親和性を支配するという仮説を(1)-2に発表した。

## 研究業績

### (1) 原著論文

1. 愛宕隆治, 菊池俊一, 館山 純, 藤田充苗, 原田広史, 横川忠晴, 菅原秀明, 宮崎智: 超高速ネットワークを利用した日米間の研究協力実験. 情報管理, 40(5), 404-413, 1997.
2. Miyazaki, S., Shimura, J., Hirose, S., Sanokawa, R., Tsurui, H., Wakiya, M., Sugawara, H. and Shirai, T.: Is structural flexibility of antigen-binding loops involved in the affinity maturation of anti-DNA antibodies?. International Immu-

nology, Vol.9, No.5, 771-777, 1997

(2) その他

1. 菅原秀明, 宮崎 智: 生物多様性(序). 情報知識学会ニューズレター, No. 43, 3-12, 1997.
2. 菅原秀明: 遺伝情報解析分野におけるスパコンの利用. Scientific System 研究会 Newsletter, No.86, 295-314, 1997.
3. Goto, K., Yamamoto, H., Tamura, T., Okayama, T., Koike, T., Miyazaki, S., Mori, H., Gojobori, T. and Sugawara, H.: Visualization of Sequence and Biological Data in DNA Data Bank of Japan: Genome Information Broker and the Enhancement of SAKURA. Genome Informatics 1997, Universal Academy Press (Tokyo), 236-237, 1997.
4. Futatsuki, T., Kawanishi, Y., Naito, K., Miyazaki, S. and Sugawara, H.: Efficient Computation of Sequence Analysis in a Vector-Parallel Computer for the Study of Molecular Evolution. Genome Informatics 1997, Universal Academy Press (Tokyo), 264-265, 1997.

(3) 発表講演

1. Sugawara, H. and Miyazaki, S.: Information environment for microbiology in the new age. The 5th JST International Symposium New Frontier in Microbiology, Tokyo, January.
2. Sugawara, H., Goto, K., Tamamoto, H., Koike, T., Okayama, T., Ishii, J., Mizunuma, T., Tamura, T., Miyazaki, S., Ota, M., Fukami-Kobayashi, K., Imanishi, T., Ikeo, T., Saitou, N., Nishikawa, K., Tateno, Y. and Gojobori, T.: DNA Data Bank of Japan (DDBJ) in the age of mass submission of sequences, HGM'97, Toronto, March.
3. Sugawara, H.: Utilization of broad-band networks for bioinformatics, Lecture Series on Network and Evolution of Molecular Information, Mishima, May.
4. Tamura, T., Okayama, T., Goto, K., Koike, T., Miyazaki, S., Gojobori, T. and Sugawara, H.: Genome Information Broker: The JAVA Applet for the Processing and Presentation of Genome Data and the CGI Program for the Retrieval of the Data from the DDBJ Database, Objects in Bioinformatics, Hinxton Cambridge UK, June.
5. 宮崎 智, 二木敬正, 川西祐一, 菅原秀明: 大規模進化系統樹作成の諸問題について. 日本微生物資源学会, 和光, 6月.
6. Satou, K., Miyazaki, S. and Ohya, M.: Analysis of HIV by Entropy evolution rate. 5th International congress on amino acids, Chalkidiki, Greece, August.
7. Sugawara, H. and Miyazaki, S.: A proposal of Asia-Pacific Bioinformatics

Network (APBioNet). The 8th CODATA/DSAO-New Perspectives on S&T Information Processing, Taejon Korea, November.

8. Sugawara, H., Genome Information Broker for Microbes: International Workshop on Genome Project -1997 The Frontier of Genome Research on Microorganisms, Tokyo, December.
9. 菅原秀明, 生物多様性を支える生物研究資源情報, CIB研究会, 東京, 12月.

## J. 放射線・アイソトープセンター

当センターでは放射線施設の管理運営に携わるかたわら, 枯草菌を用いてゲノムサイエンスおよび細胞分化における遺伝子発現制御について研究を行っている. 当センターの研究活動は以下の通り. なお1956年以来稼動してきたCo60ガンマー線源を減衰が著しいために撤去した. この線源は放射線遺伝学の基礎研究における重要な手段であったばかりでなく, 品種改良や発芽抑制などの実学分野の研究にも大きく貢献し, 共同利用研究機関の特殊装置としての役割を果たした.

### (1) 枯草菌ゲノムの機能解析: 定家義人, 谷田勝教, 藤田昌也

枯草菌4.2Mbの全ゲノムシーケンスが完了した. このプロジェクトには当研究室も含む日欧米韓の46研究室151人の研究者が参加した. このバクテリアはグラム陽性菌の中で最も分子遺伝解析の進んだバクテリアであり, 従来個別に研究されてきた様々な遺伝子群の相互作用する複雑な孢子形成過程の解析手段としても, 他のグラム陽性菌, とりわけ医薬, 工業, 食品分野での有用グラム陽性菌, 病原グラム陽性菌を研究する場合の対照としても, その全ゲノムシーケンスの解説が囑望されていた. ゲノムの特徴としては, 遺伝子転写方向と染色体複製方向が非常によく一致すること, リーディングストランドではG>Cであり, GC含量の低い, 遺伝子の水平伝達の痕跡と思われる領域が10箇所散在すること, 遺伝子組成の特徴としては, 77個もの遺伝子重複があること, 転写装置遺伝子の多型が著しくシグマ因子の遺伝子は18個もあり, 25%にも及ぶ遺伝子がシングルコピーで存在し機能未知であり, 単に機能未知と推定された遺伝子は43%にもおよびることなどである. 当研究室が塩基配列を決定したphoB/gutR領域には既知の遺伝子以外に58個の機能未知遺伝子が見い出された. これら遺伝子群の機能を探るプロジェクトが開始されたがその方法はレポーター遺伝子lacZを目的とする遺伝子に挿入し, 遺伝子破壊とプロモーター活性の測定をするものである. 例えば上記の領域には遺伝子の少ない外来性と思われる領域があり, ここに枯草菌唯一の制限修飾系遺伝子群が発見された. 制限酵素遺伝子群は3個の遺伝子よりなり, 破壊すると形質転換活性が昂進した. 修飾酵素遺伝子群は2つの遺伝子よりなり, 制限酵素遺伝子破壊下でのみ破壊が可能であった. 機能未知遺伝子群の解析は引き続き日欧を中心とした国際協力研究として行われている. 機能解析プロジェクトで得られた破壊株はその表現型に関するデータと共に公開される.

### (2) 枯草菌孢子形成遺伝子の発現制御に関する研究

(a) 胞子形成遺伝子の転写制御に関する研究：藤田昌也，定家義人

枯草菌の胞子形成は約100個の遺伝子の逐次的発現によって遂行される。この約100個の胞子形成遺伝子のなかにはRNAポリメラーゼのシグマ因子や転写因子をコードしているものがあり、それらの因子は胞子形成遺伝子の発現を制御していることが明らかになった。本研究では、胞子形成開始にかかわるRNAポリメラーゼシグマ因子、 $\sigma A$ 、 $\sigma H$ 、 $\sigma K$ を精製し、コアRNAポリメラーゼと再構成することによって、各シグマ因子のコアRNAポリメラーゼ上での置換反応機構について解析した。その結果、コア酵素に対する結合親和性は $\sigma K > \sigma A > \sigma H$ の順番であった。三者の細胞内モル比は $\sigma K : \sigma A : \sigma H = 1 : 100 : 1$ なので、胞子形成開始時期の $\sigma H$ -RNAポリメラーゼへの変換は未知の因子により制御されている可能性が示唆された。一方、 $\sigma K$ -RNAポリメラーゼへの変換はコア酵素に対する結合親和性のみで制御されていると推定される。

(b) RNAポリメラーゼと相互作用する因子の検索(藤田，定家)： $\sigma$ 因子の多型性によるRNAポリメラーゼの機能変換は胞子形成に必須である。さらに、時期特異的な転写因子Spo0A, SpoIIIDによる遺伝子発現制御も胞子形成に必須である。最近、Spo0Aが $\sigma H$ と相互作用しているということがC. P. Moran, Jr. のグループによって報告され、この分野の研究は転写因子-RNAポリメラーゼの分子解剖へと展開されようとしている。そこで、RNAポリメラーゼと相互作用している因子を系統的に検索する系の構築を行った。まず、 $\sigma A$ 、 $\sigma E$ 、 $\sigma F$ 、 $\sigma H$ 、 $\sigma K$ 及び $\beta'$ サブユニットのC末端にヒスチジン6残基を導入した遺伝子をそれぞれ単独で枯草菌染色体上に導入した。各株を培養し細胞粗抽出液をニッケルイオンアフィニティ樹脂(Ni<sup>2+</sup>-NTA)と混合、洗浄、イミダゾールを含む緩衝液で溶出することによって各々のサブユニットおよびそれらと一緒に溶出される蛋白質を分離した。この方法により、 $\beta'$ サブユニット株を用いると、転写能を持つホロ酵素を分離することができた。この分離には菌体破砕後4時間で十分であり、既存の方法の所要時間(2日)を大幅に短縮できた。

## 研究業績

### (1) 原著論文

1. Asai K., Kawamura F., Sadaie Y. and Takahashi H. Isolation and characterization of a sporulation initiation mutation in the *Bacillus subtilis secA* gene. *J. Bacteriol.* **179**, 544-547.
2. Sadaie Y., Yata K., Fujita M., Sagai H., Itaya M., Kasahara Y. and Ogasawara N. Nucleotide sequence and analysis of the *phoB-rrnE-groESL* region of the *Bacillus subtilis* chromosome. *Microbiol.* **143**, 1861-1866.
3. Kasahara Y., Nakai S., Ogasawara N., Yata K. and Sadaie Y. Sequence analysis of the *groESL-cotA* region of the *Bacillus subtilis* genome, containing the restriction/modification system genes. *DNA Res.* **4**, 335-339.
4. Kunst F., et al. The complete genome sequence of the Gram-positive bacterium *Bacillus subtilis*. *Nature.* **390**, 249-256.

## (2) その他

1. 定家義人：スポア形成一遺伝情報発現調節のモデル機構—  
J. Antibact. Antifung. Agents, **25**, 145-153

## (3) 発表講演

1. 藤田昌也, 定家義人：枯草菌 RNA ポリメラーゼ迅速精製法の開発と孢子形成研究への応用. 日本農芸化学会 1997 年度大会, 東京, 4 月.
2. 定家義人, 谷田勝教, 藤田昌也, 嵯峨井均, 板谷光泰, 中居純子, 笠原康裕, 小笠原直毅：枯草菌 *phoB/cotA* 領域 70kb のゲノム解析. 日本農芸化学会 1997 年度大会, 東京, 4 月.
3. 定家義人, 藤田昌也：枯草菌ゲノム解析と孢子形成遺伝子機能解析. 日本遺伝学会第 69 回大会, 横浜, 11 月.
4. 藤田昌也, 定家義人：迅速 RNA ポリメラーゼ精製法による枯草菌孢子形成過程におけるシグマカスケードの解析. 第 20 回日本分子生物学会年会, 京都, 12 月.
5. 藤田昌也, 定家義人：枯草菌孢子形成開始を制御するフィードバックループの解析. 第 20 回日本分子生物学会年会, 京都, 12 月.
6. Fujita M. and Sadaie Y.: Feedback loops controlling the initiation of sporulation in *Bacillus subtilis*. 9th international conference on *Bacilli*, Lausanne, Switzerland, July.
7. Fujita M. and Sadaie Y.: Histidine tagged RNA polymerase of *Bacillus subtilis*. Rapid purification and characterization of RNA polymerase during sporulation, Lausanne, Switzerland, July.
8. Sadaie Y., Yata K., Fujita M., Sagai H., Itaya M., Kasahara Y., Nakai J. and Ogasawara N.: Nucleotide sequence and analysis of the *phoB-rrnE-groESL-gutB-cotA* region of the *Bacillus subtilis* chromosome, Lausanne, Switzerland, July.

## K. 実験圃場

実験圃場は、植物関連研究および保存配布事業のための材料の栽培・管理を行い、これに必要な圃場、水田、温室の保守管理に携わる任務およびこれに必要な研究活動の任務を負っている。また、系統保存事業に必要な業務を行い、野生イネ、サクラ、アサガオなどを維持管理している。本年より、実験圃場長は系統生物研究センター助教授・倉田のりが兼任し、野々村賢一助手、芦川祐毅、永口 貢、宮林登志江の各技官が運営に当たった。

96年10月より実験圃場の野々村賢一助手、永口 貢技官は上記業務管理に当たると共に、植物遺伝研究室の研究グループに加わり、植物資源としての新たな研究素材の開発、利用の研究に取り組むこととなった。

植物保存事業のありかたについて、今年度新たに検討を加えた結果、従来植物遺伝(旧称、植物保存)研究室とともに担ってきたサクラ、アサガオ等の系統保存業務のうちサクラについては、97年から国立遺伝学研究所環境整備の手に委ねることとし、芦川祐毅技官がこの任に加わることとなった。

97年も従来同様、野生イネ種子については約120系統の更新増殖と758系統の配布を宮林登志江技官が行った。圃場、水田、温室の利用に関しても、例年と同様幾つかの大学の研究者により共同研究への利用がなされた。

本年度から本格化した研究と新たな事業活動の内容については植物遺伝研究室の報告を参照されたい。

## 研究業績

### (1) 発表講演

1. 野々村賢一，倉田のり：哺乳類CENP-B box 様配列を持つイネの繰り返し単位のクローニングと解析。第69回日本遺伝学会，横浜，11月。  
その他については植物遺伝研究室の項を参照。

## IV. 海外における活動

氏名	内容	渡航先	期間
原田 朋子	分子進化学国際研究集会に出席・発表	コスタリカ	9. 1. 5～ 9. 1. 14
池村 淑道	分子進化学国際研究集会に出席・発表	コスタリカ	9. 1. 5～ 9. 1. 13
五條堀 孝	分子進化学国際研究集会に出席・発表	コスタリカ	9. 1. 5～ 9. 1. 12
才 宏偉	第5回植物・動物ゲノム会議に出席・発表	アメリカ合衆国	9. 1. 11～ 9. 1. 18
菅原 秀明	NCBIにおいて、データベースにおけるWWW利用の実務調査	アメリカ合衆国	9. 1. 12～ 9. 1. 18
城石 俊彦	谷ロシンポジウム(発生物学部門)に出席・発表	香 港	9. 1. 26～ 9. 1. 30
館野 義男	台湾におけるDNAデータベース利用の調査研究	台 湾	9. 1. 27～ 9. 1. 29
斎藤 成也	台湾におけるDNAデータベース利用の調査研究	台 湾	9. 1. 27～ 9. 1. 29
小林 薫	EBI及びパスツール研究所において欧州における大規模なゲノムデータベースの構築と利用に関する調査	連 合 王 国 フ ラ ン ス	9. 2. 9～ 9. 2. 24
太田 元規	EBIにおいて欧州におけるゲノムデータベースの構築と利用に関する調査	連 合 王 国	9. 2. 9～ 9. 2. 16
館野 義男	EBI及びパスツール研究所において欧州における大規模なゲノムデータベースの構築と利用に関する調査	連 合 王 国 フ ラ ン ス	9. 2. 13～ 9. 2. 24
石浜 明	日韓科学協力研究事業共同研究「放射菌RNAポリメラーゼの構造と機能」の実施	大 韓 民 国	9. 2. 15～ 9. 2. 19
宮崎 智	ヨーロッパにおけるゲノムデータベースの構築と利用に関する調査	連 合 王 国	9. 2. 13～ 9. 2. 23

氏名	内容	渡航先	期間
今西 規	NCBIにおいて米国における大規模なゲノムデータベースの構築と利用に関する調査	アメリカ合衆国	9. 2. 16～ 9. 2. 25
菅原 秀明	中国におけるDNAデータベース利用の調査研究	中華人民共和国	9. 2. 20～ 9. 2. 22
斎藤 成也	中国におけるDNAデータベース利用の調査研究	中華人民共和国	9. 2. 20～ 9. 2. 22
藤山秋佐夫	ヒトゲノムシーケンシング会議出席・発表及びバイオチップ技術会議出席	アメリカ合衆国	9. 2. 27～ 9. 3. 8
石浜 明	科学研究費補助金国際学術研究「転写装置の分子解剖」の実施	連 合 王 国	9. 3. 2～ 9. 3. 11
菅原 秀明	HGM' 97 及び BIOINFORMATICS and the Effective Use Of the INTERNET for RAPID DRUG DISCOVERY に出席・発表	カ ナ ダ	9. 3. 2～ 9. 3. 10
今西 規	“HUGO” において全ゲノムの比較解析に基づく分子擬態の検出に関する研究発表及び1997年度 HUMAN GENOME MEETING に出席・発表及び本研究成果についてレビューを受けるため	カ ナ ダ	9. 3. 5～ 9. 3. 13
小原 雄治	1997年 HUMAN GENOME MEETING に出席・発表	カ ナ ダ	9. 3. 5～ 9. 3. 10
斎藤 成也	イペロアメリカシンポジウムに出席・発表及びドイツとオーストリアの人類学の現状視察・調査	ド イ ツ オーストリア	9. 3. 18～ 9. 3. 28
五條堀 孝	DNA塩基配列に基づくタンパク質の機能予測のための総合的方法の研究開発に関する情報交換	アメリカ合衆国	9. 3. 22～ 9. 3. 25
石浜 明	日印科学協力事業による分子生物学ワークショップに出席	イ ン ド	9. 3. 25～ 9. 4. 1
嶋本 伸雄	日印科学協力事業による分子生物学ワークショップに出席	イ ン ド	9. 3. 25～ 9. 4. 1
永井 宏樹	日印科学協力事業による分子生物学ワークショップに出席	イ ン ド	9. 3. 25～ 9. 4. 1

氏名	内容	渡航先	期間
館野 義男	DNA塩基配列に基づくタンパク質の機能予測のための総合的方法の研究開発に関する情報交換	大韓民国	9. 3. 28 ~ 9. 3. 30
宮崎 智	DNA塩基配列に基づくタンパク質の機能予測のための総合的方法の研究開発に関する情報交換	大韓民国	9. 3. 28 ~ 9. 3. 30
五條堀 孝	“11th International conference on Mathematical and Computer” において出席・講演及び情報交換	アメリカ合衆国	9. 3. 30 ~ 9. 4. 4
小川 智子	第3回ヨーロッパ国際会議“減数分裂”に出席・成果発表及びアムステルダム大学において研究交流	オランダ	9. 4. 3 ~ 9. 4. 14
上田 均	第38回ショウジョウバエ研究会に出席・発表	アメリカ合衆国	9. 4. 15 ~ 9. 4. 21
後藤 聡	第38回ショウジョウバエ会議に出席・発表及びフレッドハッチソン研究所にて研究打合せ	アメリカ合衆国	9. 4. 16 ~ 9. 4. 25
沖野 啓子	アルゼンチンを国際的拠点とする環境配慮型持続的農業の調査研究	ブラジル パラグアイ アルゼンチン	9. 4. 18 ~ 9. 5. 5
斎藤 成也	International Symposium on Genetics 1997 において出席・講演及び研究打合せ	台湾	9. 4. 23 ~ 9. 4. 26
館野 義男	International Symposium on Genetics 1997 において出席・講演及び研究打合せ	台湾	9. 4. 23 ~ 9. 4. 27
菅原 秀明	国立オーストラリア大学等において利用及び実務調査並びにNCBIにおいて国際実務者会議・諮問委員会出席	オーストラリア アメリカ合衆国	9. 4. 27 ~ 9. 5. 12
館野 義男	国際実務者会議及び国際諮問委員会に出席	アメリカ合衆国	9. 5. 3 ~ 9. 5. 11
小林 薫	国際実務者会議に出席	アメリカ合衆国	9. 5. 3 ~ 9. 5. 9
宮崎 智	国際実務者会議に出席及びNCBIにおいてデータベース構築ソフトウェアの調査	アメリカ合衆国	9. 5. 3 ~ 9. 5. 9

氏名	内容	渡航先	期間
西川 建	国際諮問委員会に出席	アメリカ合衆国	9. 5. 6 ~ 9. 5. 11
五條堀 幸	国際諮問委員会に出席及びコロンビア大学において米国の DNA データバンクの研究利用活動調査	アメリカ合衆国	9. 5. 7 ~ 9. 5. 14
藤山秋佐夫	GDB-ISAC 会議及びコールドスプリングハーバーミーティングに出席・発表	アメリカ合衆国	9. 5. 11 ~ 9. 5. 19
原 弘志	ルーセルユクラフ・シンポジウム「ヘプチドグリカン形成と細菌の細胞周期」出席・講演及びマドリード自治大学でのセミナー出席等	フ ラ ン ス ス ペ イ ン	9. 5. 25 ~ 9. 6. 4
桂 勲	ウイスコンシン大学において第 11 回国際 C. elegans 学会に出席・発表及び研究連絡	アメリカ合衆国	9. 5. 27 ~ 9. 6. 3
石原 健	ウイスコンシン大学において第 11 回国際 C. elegans 学会に出席・発表及びコーネル大学において研究連絡	アメリカ合衆国	9. 5. 27 ~ 9. 6. 8
林 茂生	コールドスプリングハーバー研究所シンポジウムに出席・発表及びハーバード大学, MIT, ジョンホプキンス大学においてセミナー及び研究討議	アメリカ合衆国	9. 5. 28 ~ 9. 6. 11
安達 佳樹	ウイスコンシン大学において第 11 回国際 C. elegans 学会に出席・発表及び疾患小児病院研究所において研究連絡	アメリカ合衆国 カ ナ ダ	9. 5. 28 ~ 9. 6. 5
小原 雄治	ウイスコンシン大学において第 11 回国際 C. elegans 学会にて出席・発表	アメリカ合衆国	9. 5. 28 ~ 9. 6. 5
斎藤 成也	第 5 回分子生物学と進化学会年会に出席・発表	ド イ ツ	9. 5. 31 ~ 9. 6. 6
今西 規	第 5 回 SMBE MEETING にて出席・講演	ド イ ツ	9. 5. 31 ~ 9. 6. 6
高野 敏行	1997 年度進化学会に出席・発表及びデューク大学, ノースキャロライナ州立大学において研究連絡	アメリカ合衆国	9. 6. 14 ~ 9. 6. 25
広海 健	ショウジョウバエ神経系発生に関する研究打合せ	アメリカ合衆国	9. 6. 19 ~ 9. 6. 27

氏名	内容	渡航先	期間
山尾 文明	FASEB 研究会議に出席・発表	アメリカ合衆国	9. 6. 27 ~ 9. 7. 6
中辻 憲夫	国際発生生物学会議出席・発表及びオレゴン大学・カリフォルニア大学において研究打合せ	アメリカ合衆国	9. 7. 4 ~ 9. 7. 15
五條堀 孝	米国における生命情報データベースの利用調査	アメリカ合衆国	9. 7. 13 ~ 9. 7. 17
定家 義人	ローザンヌ大学において枯草菌国際会議に出席・情報収集及び研究打合せ	スイス	9. 7. 13 ~ 9. 7. 22
藤田 昌也	ローザンヌ大学において枯草菌国際会議に出席・情報収集及び研究打合せ	スイス	9. 7. 13 ~ 9. 7. 22
嶋本 伸雄	FASEB 夏期会議「原核生物における転写開始」出席・発表及びロンドンにおいて研究打合せ	アメリカ合衆国 連合王国	9. 7. 16 ~ 9. 7. 26
永井 宏樹	FASEB 夏期会議「原核生物における転写開始」出席・発表及びハーバード大学において情報収集	アメリカ合衆国	9. 7. 16 ~ 9. 7. 26
石浜 明	文部省創造開発研究「生物ゲノムの全体像の解明」推進のための研究交流及び共同研究打合せ	アメリカ合衆国	9. 7. 16 ~ 9. 8. 4
村上 昭雄	昆虫(カイコ)における神経内分泌系の機能・加齢並びに変異原についての研究連絡会出席及び研究交流	大韓民国	9. 7. 21 ~ 9. 8. 9
賣来 聰	南米先住民の人類遺伝学的研究のためのミイラの調査及び先住民族のフィールド調査	ペルー	9. 7. 25 ~ 9. 8. 12
小川 智子	FASEB 国際会議出席・発表及び研究交流	アメリカ合衆国	9. 7. 30 ~ 9. 8. 11
太田 力	FASEB 国際会議出席・発表及び研究交流	アメリカ合衆国	9. 8. 1 ~ 9. 8. 9
斎藤 成也	米国における進化学関連データベースの調査研究	アメリカ合衆国	9. 8. 1 ~ 9. 8. 11
原 弘志	国際シンポジウム「ヘプチドグリカン生合成から抗生物質耐性まで現状と将来」に出席・発表	ベルギー	9. 8. 2 ~ 9. 8. 9

氏名	内容	渡航先	期間
嶋本 伸雄	ウイスコンシン大学においてリボソームRNAプロモーターの入手及びPhage Meeting「原核生物における分子遺伝学」出席・発表及びユタ大学において情報収集	アメリカ合衆国	9. 8. 4～ 9. 8. 11
藤山秋佐夫	HUGO Pacific Genome Meeting に出席	大韓民国	9. 8. 18～ 9. 8. 21
小原 雄治	HUGO Pacific Genome Meeting に出席・発表	大韓民国	9. 8. 18～ 9. 8. 23
石浜 明	第17回国際生化学分子生物学会議における講演及び研究交流	アメリカ合衆国	9. 8. 24～ 9. 8. 30
五條堀 孝	ロスアラモス研究所及びHCV Conferenceにおいて遺伝情報分析に関する研究打合せ及び情報交換	アメリカ合衆国	9. 8. 24～ 9. 8. 28
宮崎 智	Aristotle大学にて生命情報データベース利用調査及びEBIにおいてDNAデータベースに関する調査	ギリシャ 連合王国	9. 8. 24～ 9. 8. 31
服田 昌之	ミュンヘン大学・フランクフルト大学において共同研究並びにヒドラペプチド研究集会及び国際ヒドロ虫発生学会に出席・発表	ドイツ	9. 8. 26～ 9. 10. 21
廣瀬 進	コールドスプリングハーバー研究所においてMechanism of Eukaryotic Transcriptionに関するシンポジウムに出席・発表	アメリカ合衆国	9. 8. 27～ 9. 9. 2
斎藤 成也	中国漢民族の遺伝的多様性について研究打合せ及び西安近郊において採血調査	中華人民共和国	9. 9. 1～ 9. 9. 12
五條堀 孝	ジャックモンド研究所とIMMSにおいてゲノム構造の分子進化に関する研究打合せ	アメリカ合衆国	9. 9. 12～ 9. 9. 17
藤澤 敏孝	ミュンヘン大学・チューリッヒ大学において共同研究及び第4回ペプチドプロジェクト会議・第7回国際ヒドロゾア会議に出席・発表	ドイツ スイス	9. 9. 14～ 9. 10. 6
清水 裕	第4回ペプチドプロジェクトミーティング及び第7回ヒドロ虫類の発生に関する国際ワークショップ出席・発表並びにゲーテ大学及びミュンヘン大学における研究連絡	ドイツ	9. 9. 14～ 9. 10. 2

氏名	内容	渡航先	期間
倉田 のり	第5回国際植物分子生物学会に出席	シンガポール	9. 9.20 ~ 9. 9.29
石浜 明	第10回ネガティブストランドウイルス国際会議 における出席講演及び研究交流	アイルランド 連 合 王 国	9. 9.20 ~ 9. 9.30
才 宏偉	The 8th SABRAO General Congress に出席	大 韓 民 国	9. 9.24 ~ 9. 9.28
広海 健	Neurobiology of Drosophila 学会に出席・発表 及びプリンストン大学において研究連絡	アメリカ合衆国	9. 9.24 ~ 9.10. 2
五條堀 孝	“Cold Spring Harbor Meeting” に出席・講演	アメリカ合衆国	9.10. 3 ~ 9.10.10
城石 俊彦	第11回マウスゲノム会議に出席・発表	アメリカ合衆国	9.10.11 ~ 9.10.16
森島 啓子	第2回国際農業考古学会議に出席・発表	中華人民共和国	9.10.22 ~ 9.10.30
才 宏偉	第2回国際農業考古学会議に出席・発表	中華人民共和国	9.10.22 ~ 9.10.30
今村 孝	国際神経生物学会議(ニューオリンズ)及び第18 回染色体国際ワークショップに出席・発表及び研 究討議	アメリカ合衆国	9.10.24 ~ 9.11. 6
斎藤 成也	集団遺伝学より見た日本人と韓国人の比較の研究	大 韓 民 国	9.10. 3 ~ 9.10. 7
宮崎 智	大規模進化系統作成に関するワークショップに出 席	アメリカ合衆国	9.10.16 ~ 9.10.21
五條堀 孝	バリ大学及びアンコナ大学において分子進化学に 関する研究打合せ・情報交換	イ タ リ ア	9.11. 5 ~ 9.11.12
館野 義男	バリ大学及びアンコナ大学において分子進化学に 関する研究打合せ・情報交換	イ タ リ ア	9.11. 5 ~ 9.11.12
池尾 一穂	発生と進化に関する研究	ス イ ス	9.11.12 ~ 9.12.25

氏名	内容	渡航先	期間
小原 雄治	7th International Workshop on the Identification of Transcribed Sequences に出席・発表及びStanford 大学にて研究打合せ	アメリカ合衆国	9.11.16～ 9.11.22
斎藤 成也	中国漢民族の遺伝的多様性について研究打合せ及び長沙近郊において採血調査	中華人民共和国	9.11.22～ 9.11.29
寶来 聡	中国漢民族の遺伝的多様性について研究打合せ及び昆明近郊において採血調査	中華人民共和国	9.11.22～ 9.11.29
宮崎 智	生命情報学に関する韓国での動向及び取得可能なデータ等を調査	大韓民国	9.11.24～ 9.11.26
館野 義男	EBIにおけるDNAデータベース構築・運営の調査	連合王国	9.12.6～ 9.12.13
藤山秋佐夫	フランス科学技術研究庁において研究遂行のための会議出席及び日仏科学技術シンポジウムへの出席、研究交流	フランス	9.12.14～ 9.12.22
石浜 明	日印科学協力事業による共同研究の実施及びインド国のモダンバイオロジー現状調査	インド	9.12.23～ 10.1.2

## V. ほかの機関における講義

氏名	機関名	期間	担当科目
小川 智子	東京大学大学院 理学系研究科	9. 4. 1 ~ 9. 3.30	微生物遺伝生化学
小川 智子	東京大学 分子細胞生物学研究所	9. 4. 1 ~ 10. 3.31	ゲノム動態に関する 研究指導
廣海 健	東京大学大学院 理学系研究科	9.10. 1 ~ 10. 3.31	物理学特別講義 A XII
今村 孝	東京医科歯科大学 難治疾患研究所	9. 4. 1 ~ 10. 3.31	人類遺伝学
今村 孝	浜松医科大学	9. 4. 1 ~ 10. 3.31	人類遺伝学
沖野 啓子	岡山大学農学部	9. 4. 1 ~ 10. 3.31	生物資源学特論III
中辻 憲夫	鳥取大学医学部	9. 4.14 ~ 10. 3.31	細胞工学
中辻 憲夫	北海道大学理学部	9. 4. 1 ~ 10. 3.31	特別講義VII
中辻 憲夫	名古屋大学 環境医学研究所	9. 4. 1 ~ 10. 3.31	神経発生生物学
中辻 憲夫	金沢大学理学部	9.10. 1 ~ 10. 3.31	哺乳類胚の発生と発 生工学
小原 雄治	東京大学 分子細胞生物学研究所	9. 4. 1 ~ 10. 3.31	線虫 <i>C. elegans</i> のゲ ノム解析およびこれ を応用した発生遺伝 学に関する研究指導
小原 雄治	東京大学医学部	9. 4. 1 ~ 10. 3.31	医科学特論 I
嶋本 伸雄	東京大学大学院 理学系研究科	9. 4. 1 ~ 9. 9.30	微生物遺伝生化学
嶋本 伸雄	東京大学教養学部	9.10. 1 ~ 10. 3.31	基礎科学特別講義 II
桂 勲	京都大学大学院 理学研究科	9. 4. 1 ~ 9. 9.30	線虫の発生と行動の 分子生物学
桂 勲	京都大学医学部	9. 4. 1 ~ 10. 3.31	C 発生学・遺伝学
桂 勲	東京大学大学院 総合文化研究科	9. 4. 1 ~ 9. 9.30	生命環境科学特別講 義 I
桂 勲	東京大学教養学部	9. 4. 1 ~ 9. 9.30	基礎科学特別講義VII
桂 勲	千葉大学大学院 自然科学研究科	9.10.16 ~ 10. 3.31	生命科学特別講義 II
五條堀 孝	東京医科歯科大学医学部	9. 4. 1 ~ 10. 3.31	臨床遺伝学
五條堀 孝	九州大学医学部	9. 4. 1 ~ 10. 3.31	生命基礎医学群(遺 伝学)

氏名	機関名	期間	担当科目
舘野義男	筑波大学大学院 生物科学研究科	9.10.16～10.3.31	生物科学特講Ⅱ
齊藤成也	九州大学大学院 比較社会文化研究科	9.4.1～10.3.31	進化遺伝学と分子系 統解析
齊藤成也	秋田大学大学院 医学研究科	9.4.1～10.3.31	微生物学
齊藤成也	東京大学理学部	9.10.1～10.3.31	分子進化学
實来 聰	お茶の水女子大学	9.10.1～10.3.31	遺伝学特別講義
城石俊彦	お茶の水女子大学	9.7.1～9.9.30	遺伝学特別講義
林茂生	広島大学総合科学部	9.4.1～10.3.31	生命科学特論B
定家義人	浜松医科大学	9.4.1～10.3.31	放射線医学

## VI. 共同研究事業

### A. 共同研究

- (1) 定常期における大腸菌の加齢現象の研究  
和田 明(大阪医科大学)
- (2) 増殖定常期大腸菌RNAポリメラーゼの主要シグマ因子  $\sigma^{38}$  (rpoS遺伝子産物)の研究  
田中 寛(東京大学分子細胞生物学研究所)
- (3) 放線菌プロモーターの構造及び発現機構の解析  
新川英典(広島大学工学部)
- (4) DNA複製期細胞核微細構造形成に関与するタンパク質の研究  
矢倉達夫(関西学院大学理学部)
- (5) アデノウイルスE1A誘導アポトーシスにおけるトポイソメラーゼII  $\alpha$  特異的分解機構  
中島琢磨(東京理科大学基礎工学部)
- (6) p53蛋白質の組み換え修復に及ぼす作用  
瀬川 薫(慶應義塾大学医学部)
- (7) 相同組換え反応に関わる蛋白質と蛋白質複体の生化学的, 構造学的解析  
篠原 彰(大阪大学大学院理学研究科)
- (8) DNA複製開始におけるDNAルーピング及びDNAベンディングの機能  
犬塚 學(福井医科大学医学部)
- (9) 大腸菌のホスミドマイシン耐性に関与する遺伝子の同定  
藤崎真吾(東邦大学理学部)
- (10) ショウジョウバエ *gcm* 遺伝子の発生遺伝学的解析  
岡野栄之(大阪大学医学部)
- (11) DNAから見たサンゴの系統分類  
大森 信(東京水産大学)
- (12) ヒドラのペプチド性シグナル分子の大規模スクリーニングと機能解析  
宗岡洋二郎(広島大学総合科学部)
- (13) 多細胞動物の産卵・卵成熟を制御するホルモンの構造  
-- 刺胞動物・棘皮動物の生殖巣刺激物質(GSS) --  
白井浩子(岡山大学理学部)
- (14) エピトープセレクション法による, ヒドラの細胞分化マーカー遺伝子と特異的抗体の単離  
小早川義尚(九州大学理学部)
- (15) インスレーターの構造と機能の解析

- 赤坂甲治(広島大学理学部)
- (16) リガンド及びターゲット特異的なNotchシグナル伝達機構の解析  
村田武英(理化学研究所)
- (17) クロマチン構造と遺伝子発現調節  
豊田哲也(久留米大学医学部)
- (18) *in vivo*を反映したクロマチン再構築系における転写のメカニズムの解明  
梅澤明弘(慶應義塾大学医学部)
- (19) LCR結合因子BACHファミリーの試験管内転写系を用いた機能解析  
五十嵐和彦(筑波大学基礎医学系)
- (20) カイコの転写因子FTZ-F1とそのメディエーターMBF1との相互作用についての構造生物学的研究  
白川昌宏(奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科)
- (21) 核に局在する新規アクチンファミリーAct3pと再構成クロマチンとの相互作用の解析  
原田昌彦(東北大学農学部)
- (22) 昆虫の個体と細胞の寿命に関する遺伝学的・細胞学的解析  
岩淵喜久男(東京農工大学農学部)
- (23) 家蚕突然変異の可視形質と機能に関する研究  
藤井 博(九州大学農学部)
- (24) 自己組織的方法に基づいた連続コドン構造による遺伝子機能の推定  
工藤喜弘(山形大学工学部)
- (25) 高等動物クロマチン構造と染色体GC含量分布との関係の解析  
菅谷公彦(放射線医学総合研究所)
- (26) ヒトMHC領域と相同性を示す第1, 第9, 第19染色体領域のゲノム解析によるMHC進化の解明  
安藤麻子(東海大学医学部)
- (27) 動物細胞ゲノムの複製スイッチ部位の解析  
奥村克純(三重大学生物資源学部)
- (28) DNAにおける一次構造と高次の折り畳み構造の相関に関する研究  
吉川研一(名古屋大学大学院人間情報学研究科)
- (29) 種の分化と遺伝子の分化に関する数理的解析  
植田信太郎(東京大学大学院理学系研究科)
- (30) ルイス式血液型を決定するLe遺伝子, Se遺伝子の人類遺伝学的研究  
成松 久(創価大学生命科学研究所)
- (31) 造血幹細胞の増殖及び単球系細胞への分化における遺伝子発現  
仁保喜之(九州大学医学部)
- (32) 自己免疫疾患におけるサイトカインレセプターの構造異常の解析

- 中島 衡(九州大学医学部)
- (33) *Oryza*属におけるトウモロコシMutatorトランスポゼース相同性領域の進化学的研究  
石川隆二(弘前大学農学部)
- (34) イネ雑種不稔性の分子遺伝  
佐野芳雄(北海道大学農学部)
- (35) イネの形態形成を制御する遺伝子の単離とその解析  
平野博之(東京大学大学院農学生命科学研究科)
- (36) 野生イネ集団の遺伝構造の解析  
米澤勝衛(京都産業大学工学部)
- (37) イネ属植物の種分化に関する研究  
—アマゾン河流域に分布する集団の変異について—  
阿部 純(北海道大学農学部)
- (38) 遺伝性四肢奇形マウス“メロメリア(mem)”の染色体マッピング  
津金瑞代(札幌医科大学)
- (39) マウス先天性欠如歯成因に対する遺伝学的アプローチ  
朝田芳信(日本大学松戸歯学部)
- (40) アジア産野生マウス遺伝的分化と地理的分布の解析  
山口泰典(福山大学工学部)
- (41) 化学物質によるマウス突然変異誘発系を用いた発がん関連遺伝子の探索  
宮下信泉(香川医科大学医学部)
- (42) Jackson shaker(js)及びTail short(Ts)遺伝子のポジショナルクローニング  
米川博通((財)東京都臨床医学総合研究所)
- (43) I型糖尿病(IDDM)モデルマウスNOD系統における糖尿病感受性遺伝子の解析  
若菜茂晴((財)実験動物中央研究所)
- (44) マウス卵巣性テラトーマ形成におけるゲノムインプリンティングとメチル化  
野口基子(静岡大学理学部)
- (45) ショウジョウバエの変異系統を用いたミジンコのホメオボックス遺伝子の機能解析  
志賀増弘(東京薬科大学生命科学部)
- (46) 改変型GFPと部位特異的組換え系を利用したイネ発生過程の解析  
丹羽康夫(静岡県立大学)
- (47) 大腸菌の細胞分裂に関与する遺伝子群の解析  
松澤 洋(東京大学大学院農学生命科学研究科)
- (48) 大腸菌の細胞分裂におけるGlycyl-tRNA合成酵素の役割  
山田優子(自治医科大学)
- (49) コムギ類遺伝解析系統の保存とそのネットワーク構築に関する共同研究

- 西川浩三(木原記念横浜生命科学振興財団)
- (50) ヒスタミン合成酵素・L-histidine decarboxylase 欠損マウスの作製  
十川紀夫(岡山大学歯学部)
- (51) マウス造血系初期幹細胞株を使った発生分化機構に関する研究  
中辻孝子(東海大学海洋学部)
- (52) 空間分解能を持った分子マニピュレーションに関する研究  
鷲津正夫(京都大学大学院工学研究科)
- (53) L-ドーパ耐性線虫変異体の分子遺伝学的解析  
五嶋良郎(横浜市立大学医学部)
- (54) シトクロムP-450cam オペロン・リプレッサー(Camリプレッサー)の結晶化及びX線  
解析  
荒牧弘範(第一薬科大学)
- (55) *Caenorhabditis elegans*ミトコンドリア電子伝達系酵素の発現調節機構  
北 潔(東京大学医科学研究所)
- (56) マウス小眼症(microphthalmia)遺伝子の系統解析  
山本博章(東北大学大学院理学研究科)
- (57) 帰納推論法を用いた分子進化系統樹の構築  
田中 博(東京医科歯科大学難治疾患研究所)
- (58) 複数ドメイン構造を持つ遺伝子・蛋白質群の分子進化と超分子集合体形成のメカ  
ニズム：データ解析と可視化画像分析による研究  
高橋 敬(島根医科大学医学部)
- (59) サイトカイン・レセプター・スーパーファミリーの進化  
中村正孝(東京医科歯科大学)
- (60) インターフェロン治療のHCVの変異速度に及ぼす影響  
熊田博光(虎の門病院消化器科)
- (61) 塩基配列より蛋白をコードする遺伝子の生物種間の分類方法の開発  
中島広志(金沢大学医学部)
- (62) 線虫*C.エレガンス*のタンパク質のファミリーの構造分析  
シディキ シャヒード(豊橋技術科学大学エコロジー工学系)
- (63) T4 ファージをモデル系としたゲノム・遺伝子相関関係の解明  
有坂文雄(東京工業大学生命理工学部)
- (64) 生物分類樹データの電子化及びその利用に関する研究  
北上 始(広島市立大学情報科学部)
- (65) スーパーコンピュータを用いた高感度高速ホモロジー検索プログラムの開発  
皿井明倫(理化学研究所)
- (66) インスリン依存性糖尿病(IDDM)の発症に関与する遺伝子の研究  
前田正人(社会保険三島病院)

- (67) 母性ゲノムインプリンティングによるマウス単為発生胚の発生支配  
河野友宏(東京農業大学総合研究所)
- (68) 酵母の総合的分類同定システムの研究  
中瀬 崇(理化学研究所)

## B. 研究会

- (1) ヒドラの発生生物学  
小泉 修(福岡女子大学人間環境学部) 1998. 3.26 ~ 1998. 3.27
- (2) 自己免疫疾患の発症に関わる遺伝的素因の解析  
中島 衡(九州大学医学部) 1998. 3.21
- (3) 危機環境下における育種と遺伝資源  
佐藤洋一郎(静岡大学農学部) 1997. 11. 4 ~ 1997. 11. 5
- (4) 『多様な環境における植物の遺伝的適応：植物生態遺伝学の展望』  
古田喜彦(岐阜大学農学部) 1997. 11. 5 ~ 1997. 11. 6
- (5) 哺乳類遺伝学における新展開:Forward geneticsとreverse geneticsの統合化に向けて  
米川博通((財)東京都臨床医学総合研究所) 1997. 6.12 ~ 1997. 6.13
- (6) イネの遺伝的多様性と遺伝学研究的展開  
島本義也(北海道大学農学部) 1998. 3.26 ~ 1998. 3.27
- (7) イネ発生過程と分子遺伝学  
長戸康郎(東京大学大学院農学生命科学研究科) 1997. 11.14 ~ 1997. 11.15
- (8) 脳神経系幹細胞の発生と細胞移動  
中辻憲夫(国立遺伝学研究所) 1997. 11.20 ~ 1997. 11.21
- (9) 分子進化学における新しい展開  
五條堀孝(国立遺伝学研究所) 1997. 5.28 ~ 1997. 5.29
- (10) 枯草菌の分子遺伝学に関する研究会  
定家義人(国立遺伝学研究所) 1997. 8.23 ~ 1997. 8.24
- (11) 神経回路形成の分子機構  
広海 健(国立遺伝学研究所) 1997. 12. 5 ~ 1997. 12. 6
- (12) イネ遺伝資源の保全, 開発, 利用とデータベース化  
倉田のり(国立遺伝学研究所) 1997. 12.12 ~ 1997. 12.13

## C. 民間等との共同研究

大量 DNA データの分子進化学的解析と遺伝子機能領域同定法の研究開発

五條堀孝, 舘野義男(国立遺伝学研究所), 川西祐一, 二木敬正(富士通株式会社)

## VII. 研究材料・研究情報の収集と保存

## I. 研究材料の収集保存

A. イネ属系統 (*Oryza*) (植物保存研究室)

## (1) 野生種および栽培種

昭和32年ロックフェラー財団の援助の下に開始された「栽培稲の起源の研究」以来、現在まで引き継がれているイネの進化遺伝学的研究の中で積極的に世界各地から収集を続け、野生種については世界でも有数の収集となっている。これらは遺伝資源として保存され、所内のみならず所外の研究者にも別表実績に示すように分譲され、利用されてきた。その一部は多数の遺伝子や形質について調査されている。

種名	分布	系統数
<b>栽培種</b>		
<i>O. sativa</i> L.	全世界	4,664
<i>O. glaberrima</i> STEUD	西アフリカ	301
<b>栽培型近縁野生種</b>		
<i>O. perennis</i> MOENCH( <i>O. rufipogon</i> Griff., <i>O. longistaminata</i> , Chev.et Roehr., <i>O. meridionalis</i> Ng, <i>O. glumaepatula</i> Steud. を含む)	全世界	905
<i>O. breviligulata</i> CHEV.et ROEHR.(= <i>O. barthii</i> A.Chev)	西アフリカ	402
<b>遠縁野生種</b>		
<i>O. officinalis</i> WALL.	南アジア	66
<i>O. minuta</i> PRESL	"	18
<i>O. punctata</i> KOTSCHY	アフリカ	22
<i>O. eichigeri</i> PETER	東アフリカ	12
<i>O. latifolia</i> DESV.	中南米	26
<i>O. alta</i> SWALLEN	南米	8
<i>O. grandiglumis</i> PROD.	"	7
<i>O. australiensis</i> DOMIN	北オーストラリア	37
<i>O. brachyantha</i> CHEV.et ROEHR.	西アフリカ	17
<i>O. ridleyi</i> HOOK.	南アジア	6
<i>O. longiglumis</i> JANSEN	ニューギニア	13
<i>O. meyeriana</i> BAILL	南アジア	26
<i>O. tisseranti</i> CHEV.	西アフリカ	2
<i>O. perrieri</i> CAMUS	マダガスカル	1

## (2) 同遺伝質系統

台中65号の遺伝背景をもち種々の特定遺伝子を含む19系統を保存している。これらは7回以上の戻し交雑ののち選抜されたもので、含まれる遺伝子は次の通りである。標識遺伝子： $wx$ ,  $Rc$ ,  $lg$ ,  $g$ ,  $nl$ ,  $bc$ ,  $gl$ ,  $la$ ,  $Ph$ ,  $d_1$ および $d_2$ , 早生遺伝子： $E^a$ ,  $E^b$ および $m$ , および $F_1$ 不稔性に関する4遺伝子。

## B. アサガオ (*Pharbitis nil*)

アサガオ系統の収集保存は故竹中 要博士によって創設間もなく始められ、昭和41年同博士の没後も引続き保存を継続してきている。現在保存中の系統数は550を超し、その中に含まれる主要な遺伝子は次の通りである。研究用分譲は別表のとおりである。

花型遺伝子型： $fe$ (獅子咲),  $cp^1$ (台咲),  $cd$ (捻梅咲),  $py$ (乱菊咲),  $cs$ (石曇咲),  $wr$ (縮咲),  $s$ (桔梗咲),  $cr$ (渦咲),  $m$ (立田咲),  $pt$ (八重咲),  $dp$ (牡丹咲),  $p$ (孔雀咲)。

葉型遺伝子型： $co$ (丸葉),  $Gb$ (芋葉),  $dl$ (笹葉),  $m$ (立田葉),  $ac$ (南天葉),  $fe$ (獅子葉),  $ct$ (渦葉),  $B$ ,  $b$ (林風葉, (優性, 劣性)),  $py$ (乱菊葉),  $sr$ (鼻葉),  $dg$ (蜻蛉葉),  $cp$ (縮縮葉),  $m'$ (柳葉),  $cd^d$ (ヘデラセア葉),  $p$ (孔雀葉),  $bv$ (はだぬぎ),  $ar$ (錨),  $re$ (洲浜葉)。

花模様遺伝子型： $Sa$ (刷毛目紋),  $sp$ (吹掛紋),  $Mr$ (覆輪),  $Bz$ (吹雪),  $Ry$ (車紋),  $su-Mr$ (覆輪抑圧),  $su-tu$ (花筒色抑圧),  $fd$ (曇),  $dt$ (斑点花),  $Ln$ (立縞),  $st$ (条斑)。

その他の遺伝子型： $du$ (木立),  $dh$ (矮状),  $f$ (帯化),  $v$ (斑入),  $ca \cdot cb$ (白種子),  $br$ (褐色種子),  $ca'$ (象牙色種子),  $y'$ (松島),  $cu$ (夫婦咲き),  $ue$ (枝垂れ),  $Cy$ (黄色地),  $su-Cy$ (黄色地抑圧),  $cm$ (打込み),  $pg$ (小大),  $re+dg+bv$ (蟬葉),  $re+dg+Gb$ (戒葉),  $sr+re+dg$ (寿老葉),  $co+re+dg$ (寿老葉),  $co+re+Gb$ (葵葉),  $re+dg+B$ (雁葉)。

## C. サクラ (*Prunus spp.*)

サクラの品種は故竹中 要博士が「染井吉野」の起源などの研究のため収集したものを中心に現在保存中の系統数は250余である。その内貴重なものは済洲島産のヤマザクラ *P. yedoensis* Matsumura var. *undiflora* Koehne の他、自然変異株である船原吉野、鞍馬桜、八重大島、染井紅などをはじめ、人工交配によって選抜された天城吉野、伊豆吉野などがある。また木の花、気多の白菊桜、仙台屋、千原桜など園芸品種として貴重なものが多数含まれている。「遺伝研の桜(改訂版)」が遺伝学普及会から発行されている。

## D. 淡水ヒドラ (*Hydra*)

A) 野生型	53
(1) <i>Hydra magnipapillata</i> (日本産チクビヒドラ)	14
(2) <i>H. carnea</i> (ヨーロッパ産)	2
(3) <i>H. circumcincta</i> (ヨーロッパ産)	2
(4) <i>H. hymanae</i> (北アメリカ産)	1
(5) <i>H. oligactis</i> (ヨーロッパ産)	8
(6) <i>H. oligactis</i> (北アメリカ産)	2
(7) <i>H. viridissima</i> (北アメリカ産)	8
(8) <i>H. vulgaris</i> (formerly <i>attenuata</i> ) (ヨーロッパ産)	5
(北アメリカ産)	3

- (9) *Pelmatohydra robusta* (日本産) 7
- (10) 種不明(オーストラリア産) 1
- B) 突然変異型(*H. magnipapillata*) 36
- (1) Mini(mini 1,-3,-4). Small body size with high budding rate.
- (2) Maxi(maxi 1,-2,-4). Large body size.
- (3) L4. Large body size with low budding rate.
- (4) Multi head(mh -1,-3). Secondary hypostomes are formed all along the body length (abnormal budding zone?).
- (5) Twisted column(ts). Extended peduncle forms twisted column structure.
- (6) Holotrichous isorhiza minus(nem -3,-10).
- (7) Holotrichous isorhiza deformed(nem -1,-11,-15).
- (8) Male sterile(ms -1,-2). Non motile sperms.
- (9) Female sterile(def 1-12, 1-13). Eggs not fertilized.
- (10) Embryo lethal(def 1-14 ( $\sigma^7$ ), 1-15 ( $\text{♀}$ )). Fertilized eggs produced between them do not hatch.
- (11) Regeneration deficient(reg -4,-16,-19, def -2 3, s9-k, s9-1, sl0-a, sl0-b).
- (12) Non feeding strain(ts)(nf-1). Produced by loss of interstitial cells by high temperature treatment(23 C) of parental strain sf 1.
- (13) Body tentacles(nf -11). Tentacles move down from hypostome to body column during growth. Cannot capture brine shrimp.
- (14) Pinched budding zone(E4). Budding zone becomes very narrow in width when buds are formed.
- (15) Supernumeral tentacles(E6). 10-13 tentacles per hypostome.
- (16) Budding deficient(ts). Very low budding at 23 C.
- (17) 105 Epithelial(105 Ep). Deficient in all the cell types in the interstitial cell lineage. Derived from a wild type strain 105.
- (18) Pseudo epithelials(nem IPs( $\sigma^7$ )3 lines, nem IPs( $\text{♀}$ )3 lines). Epithelial hydra derived from hem-1 containing only germ line cells.
- (19) Others. 13 strains.
- C) 細胞系譜キメラ系統 38

## E. ショウジョウバエ (*Drosophila*)

キイロショウジョウバエ及びその近縁種を収集している。特にキイロショウジョウバエの突然変異系統、分子遺伝学的に適した有用系統に力をおいている。リストの請求及び、詳しい内容については手紙、fax (0559-81-6825), e-mail (shayashi@lab. nig. ac. jp) での問い合わせに必ず。また、ストックリストはWWWで検索可能である (アドレス <http://www.grs.nig.ac.jp>)。

問い合わせ先 〒411-8540 三島市谷田1111

国立遺伝学研究所 系統生物研究センター 無脊椎動物遺伝研究室

林 茂生

1. キイロシヨウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) 27 種, 933 系統

## A) 突然変異系統

## 1) 各染色体をカバーする欠失系統のセット

- a) X染色体 (57)
- b) 第二染色体 (109)
- c) 第三染色体 (82)
- d) 第四染色体 (2)

## 2) その他の変異系統 (約 600)

変異系統は標準的なマーカー系統の他に、ホメオティック遺伝子の変異体を含む。また、FLP, Gal4, lacZ マーカー系統なども維持している。

## B) 野生型系統

- 1) iso-female 系統 (37)
- 2) 標準系統その他 (27)

2. オナジシヨウジョウバエ (*Drosophila simulans*) 287 系統

- 1) iso-female 系統 (90)
- 2) 標準系統その他 (37)

## 3. 他の近縁種 (25 種, 83 系統)

## F. ネズミ

昭和26年に北大理学部より吉田俊秀元細胞遺伝部長によって、ラットおよびマウス約10系統が移され、旧細胞遺伝部におけるネズミの系統保存が始まった。その後、外国より輸入した系統や、海外学術調査で採集した野生ネズミが加わって、規模が大きくなった。昭和50年より遺伝実験生物保存研究施設が発足し、近交系マウス・ラット系統およびテラトーマ高発系マウス系統の維持が始まった。昭和59年に遺伝研が国立大学共同利用機関へ移行されたのに伴い、遺伝実験生物保存研究センターとして改組され、同時に設置された哺乳動物保存研究室において、これらの系統維持業務が行われてきた。基準系、突然変異系およびH2コンジェニックマウスの系統維持は、「がん重点・実験動物委員会」の援助も得て、この研究室で行われてきた。また、昭和60年度から系統保存費として「免疫遺伝学研究用マウス系統維持事業費」が認められた。マウスの野生系統、野生マウス由来のH2遺伝子複合体を導入したコンジェニック系統および染色体組換え系は第1ネズミ飼育舎で維持されてきたが、これらの系統のうちの一部は帝王切開法および受精卵移植法によりSPF化され、センターのネズミ附属棟に移された。昭和57年よりマウス受精卵の凍結保存業務を開始した。また、平成8年度から「マウス胚凍結保存事業費」が認められ、凍結胚によるマウス系統保存事業が本格化した。

平成9年度には、センター名が系統生物研究センター、研究室名が哺乳動物遺伝研究室に改称されたが、引き続きマウス系統維持及び分譲事業を行った。平成9年度に、ネズミ付附属棟のマウス系統の一部に *Pasteurella pneumotropica* の感染が認められたことから、全系統を第1ネズミ飼育舎に移し、凍結胚を使った清浄化を開始した。

## 1. 飼育維持している系統

1) 近交系マウス (*Mus musculus domesticus*) (19 系統)

実験用近交系マウスの基準系統とし維持している。系統名, 由来, 兄妹交配の世代数, 毛色遺伝子および *H2* ハプロタイプは次の通りである。

系統名	由来
129/SvJ	Jax → Ms(1990, F?), F? <sup>+</sup> 20, A <sup>+</sup> A <sup>+</sup> , BB, c <sup>ch</sup> /c or c/c
A/WySnJ	Jax → Ms(1984, F186), F186+55, aa, bb, cc, H-2 <sup>a</sup>
AKR/J	Jax → Ms(1992, F?), F? <sup>+</sup> 24, aa, BB, cc, H-2 <sup>k</sup>
BALB/cAnN	NIH → Ms(1984, F178), F178+58, cc, ミエローマ高発系, H-2 <sup>d</sup>
BALB/cUcsde	Os → Ms(1978, F?), F? <sup>+</sup> 44+34, cc, H-2 <sup>d</sup>
C57BL/10SnJ	Jax → Ms(1985, F26+3), F29+41, aa, BB, CC, H-2 <sup>b</sup>
C57BL/6J	Jax → Ms(1984, F152), F152+52, aa, BB, CC, H-2 <sup>b</sup>
C57BR/cdJ	Jax → Ms(1987, F?), F? <sup>+</sup> 34, aa, bb, CC, H-2 <sup>k</sup>
C57L/J	Jax → Ms(1984, F161), F161+46, aa, bb, In1n, CC, H-2 <sup>b</sup>
C58/J	Jax → Ms(1985, F200), F200+38, aa, BB, CC, H-2 <sup>k</sup>
CBA/J	Jax → Ms(1984, F194), F194+49, AA, BB, CC, H-2 <sup>k</sup>
DBA/1J	Jax → Ms(1982, F112), F112+63, aa, bb, CC, dd, H-2 <sup>a</sup>
JF1/Msf	Ms(1993, F19), F19+14
NZB/BINJ	Jax → Ms(1988, F134), F134+30, aa, BB, CC
P/J	Jax → Ms(1987, F161), F161+34, sese, pp
PL/J	Jax → Ms(1987, F137), F137+42, cc
RIIIS/J	Jax → Ms(1985, F63), F63+42, cc
SJL/J	Jax → Ms(1982, F95), F95+63, AA, BB, cc, pp, H-2 <sup>a</sup>
SWR/J	Jax → Ms(1984, F150), F150+50, AA, BB, cc, H-2 <sup>a</sup>

世代数は1997年12月1日現在のもの。

## 2) H-2コンジェニック系マウス (2 系統)

H-2 <sup>a</sup> ロタイプ	系統名	由来
BALB/c 系 (2 系統)		
H-2 <sup>b</sup>	BALB. B/01a	01a → Ms(1981, F?) → Jic → Ms(1985, F?), F? <sup>+</sup> 49
H-2 <sup>k</sup>	BALB. K/01a	01a → Ms(1982, F?), F? <sup>+</sup> 56

## 3) 野生ハツカネズミの H-2 染色体を導入した B10 コンジェニック系 (2 系統\*)

系統名	H-2 ハブ・ロタイプ*	交配世代数	H-2 遺伝子の由来	育成開始 時 期
B10. MOL-SGR	<i>mm7</i>	F1N10F15+67	Mol. Sgr	1976
戻し交配によって育成中の系統				
B10. Cas-Tch	<i>wc2</i>	N50	Cas. Tch	1979

\* , 研究途上の系統であり, 一般への分譲はまだ行っていない。

4) B10. MOL-H-2コンジェニック系由来のH-2染色体組換え系 (3系統\*)

両親の H-2 ハブ・ロタイプ	系統名 / 旧称	世代数	組換え体 ハブ・ロタイプ	H-2領域の構成と組換え点 K A E S D				
<i>a/mm7</i>	B10. A(R201)/Msf	N4F54+20	<i>aw1</i>	<i>k</i>	<i>w</i>	<i>w</i>	<i>w</i>	<i>w</i>
<i>a/MM7</i>	B10. A(R209)/Msf	N4F42+17	<i>aw9</i>	<i>w</i>	<i>k</i>	<i>k</i>	<i>d</i>	<i>d</i>
<i>b/mm7</i>	B10(R233)/Msf	N4F36+16	<i>bw3</i>	<i>b</i>	<i>w</i>	<i>w</i>	<i>w</i>	<i>w</i>

\* , 研究途上の系統であり, 一般への分譲はまだ行っていない。

5) その他のコンジェニック系マウス (1系統)

系統名	由来
BALB/cMsf-Hbb <sup>P</sup> *	Ms 由来(1993), N5F2N1F2+14, wild-driver <i>Hbb<sup>P</sup></i> haplotype

\* , 研究途上の系統であり, 一般への分譲はまだ行っていない。

6) 染色体変異を持つ系統 (1系統)

系統名	由来
C57BL/10Sn-Y <sup>del</sup> *	Ms(1990, B10. BR-Y <sup>del</sup> より C57BL/10Sn に戻し交配), N25

\* , 研究途上の系統であり, 一般への分譲はまだ行っていない。

## 7) その他の突然変異遺伝子を保有している系統 (12系統)

系統名	由来
B10. D2/nSn-Hx/+	Jax → Ms(1994, F58), F58+13, hemimelic extra tose (Hx)
C3HeB/FeJ-E <sup>∞</sup> /E <sup>∞</sup> Xt'/+	Jax → Ms(1993, N10F12), N10F12+19, Extra toes-J (Xt')
C57BL/6J-1st <sup>J</sup>	Jax → Ms(1994), N8, Strong's luxoid-J (1st <sup>J</sup> ), B6C3Fe-a/a-1st'(N25)より系統作成中
C57BL/6J-1x W <sup>r</sup>	Jax → Ms(1994, N111), N111+N8, luxate (1x)
C57BL/6J-pe/pe	Jax → Ms(1994, F?), F?+9, pearl (pe)
C57BL/6J-Tr <sup>J</sup> Re	Jax → Ms(1991, N42), N40+N18, trembler (Tr), rex (Re)
C57BL/6J- $\chi$ pl	Jax → Ms(1994), N12, X-linked polydactyly ( $\chi$ pl), B6C3Fe-a/a- $\chi$ pl(N83)より系統作成中
C57BL/10Snf-rim2/rim2*	Ms 由来(1994), F24+N1F12
C57BL/10Snf-Rim3/4 *	Ms 由来(1994), N16+N14
C57BL/10Snf-Rim4/4 *	Ms 由来(1994), N8+N11
MWT/Le at/at	Jax → Ms(1993, F98), F98+20
TSJ/Le b/b Ts/4	Jax → Ms(1993, F90), F90+12, Tail-short (Ts)

\* , 研究途上の系統であり, 一般への分譲はまだ行っていない。

## 8) 野生ハツカネズミ由来の系統 (14系統)

種, 亜種名および系統名	採集地, 由来および時期	世代数
<i>Mus musculus domesticus</i>		
M. DOM-PGN2	Pegion(カナダ)1979年9月	F45
<i>Mus musculus bactrianus</i>		
M. Bac-kjo	Kujour(イラン)1990年11月	F11
M. Bac-Avz3	Ahvaz(イラン)1991年4月	F21
<i>Mus musculus subspecies</i>		
M. SUB-CHD	成都(中国)1981年5月	F39
<i>Mus spicilegus</i>		
ZBN	ブルガリア 1984年4月	F20
<i>Mus musculus molossinus</i>		
MSM/Msf	三島(静岡県)1978年4月	F46+16
<i>Mus musculus brevisrostris</i>		

BFM/2Msf	Montpellier(フランス) 1976年	F15F40+18
NJL/Msf	Northern Jutland(デンマーク) 1980年9月	F41+11
<i>Mus musculus musculus</i>		
BLG2/Msf	Toshevo(ブルガリア)1980年	F3+41+18
<i>Mus musculus castaneus</i>		
HMI/Msf	和美(台湾)1986年6月	F21+13
MAL/Msf	マレーシア1987年2月	F13+9
CAST/Ei	Jax → Ms(1989, F43) 1971年	F43+22
<i>Mus musculus subspecies</i>		
KFR/Msf	Kojuri 島(韓国)1984年9月	F31+20
SWN/Msf	水原(韓国)1984年9月	F22+13

9) トランスジェニック系統 (1系統)

系統名	由来
Tg(17MMUCyp21)1Msf* (旧称 1.6-L11)	Ms 由来(1994), F? <sup>+</sup> 2+15

\*、研究途上の系統であり、一般への分譲はまだ行っていない。

2. 凍結胚を保存しているマウス系統 (1991年以降に胚凍結を行った系統)

系統名	由来	凍結胚世代数	('97実績) 凍結胚数
1) 近交系 (31系統)			
I29/J	Jax → Ms(1992, F126)	F126+2 ~ 4	117
I29/SvJ	Jax → Ms(1990, F?)	F? <sup>+</sup> 5 ~ 20	598(113)
A/WySnJ	Jax → Ms(1984, F186)	F186+38 ~ 56	564(102)
A2G/O1a	O1a → Ms(1998, F?)	F? <sup>+</sup> 30 ~ 35	509
AKR/J	Jax → Ms(1992, F?)	F? <sup>+</sup> 6 ~ 19	339
Alt/SsJ	Jax → Ms(1991, F93)	F93+11 ~ 28	510(59)
BALB/cAnN	NH → Ms(1984, F178)	F178+38 ~ 52	524
BALB/cUcsde	Os → Ms(1978, F?)	F? <sup>+</sup> 44+23 ~ 31	561
C57BL/6J	Jax → Ms(1984, F152)	F152+33 ~ 52	548(107)

C57BL/10SnJ	Jax → Ms(1985, F26+3)	F29+27 ~ 42	321 (74)
C57L/J	Jax → Ms(1984, F161)	F161+36 ~ 42, F194+1 ~ 3	624 (68)
C57BR/cdJ	Jax → Ms(1987, F?)	F?+27 ~ 33, F216+2	447 (186)
C58/J	Jax → Ms(1985, F200)	F200+26 ~ 38	484 (317)
CBA/CaHN	NIH → Ms(1984, F65)	F65+39 ~ 41	92
CBA/J	Jax → Ms(1984, F194)	F194+33 ~ 47	509 (159)
CBA/StMse	Ms → Nga(1965, F34) → Ms(1978, F75)	F75+44+16 ~ 18	161
CE/J	Jax → Ms(1987, F102)	F102+21 ~ 34	552 (94)
DBA/1J	Jax → Ms(1982, F112)	F112+48 ~ 57	581
DBA/2J	Jax → Ms(1984, F151)	F151+35 ~ 39	249
DM/Shi	Shi → Ms(1983, F108)	F108+42 ~ 44	142
JF	As → Ms(1987, F?)	F?+14 ~ 19	79
JF1/Msf	Ms(1993, F19)	F19+4 ~ 14	491 (89)
MA/MyJ	Jax → Ms(1983, F?)	F?+36 ~ 39	119
NZB/B1NJ	Jax → Ms(1988, F134)	F134+20 ~ 31	227 (136)
PL/J	Jax → Ms(1987, F167)	F137+27 ~ 39	514
P/J	Jax → Ms(1987, F161)	F161+22 ~ 35	530 (219)
PT/7af	Os → Ms(1986, F26)	F26+34 ~ 43	560
RIIIS/J	Jax → Ms(1985, F63)	F63+37 ~ 40	175 (21)
SJL/J	Jax → Ms(1982, F95)	F95+47 ~ 64	327 (60)
SM/J	Jax → Ms(1982, F106)	F106+36 ~ 43	456
SWR/J	Jax → Ms(1984, F150)	F150+36 ~ 51	218 (34)

## 2) H-2コンジェニック系

### B10系(25系統)

B10. 129(6M)/Snf	Jax → Ms(1977, F52)	F52+54 ~ 56N1(* 1)	157
B10. A/SgSnJ	Jax → Ms(1985, F28)	F28+21 ~ 25N1(* 1)	162
B10. A(2R)/SgSnJ	Jax → Ms(1982, F?)	F?+40 ~ 43N1(* 1) F?+58 ~ 62	121 559 (281)
B10. A(4R)/01a	01a → Ms(1982, F3)	F3+40N1(* 1) F3+59 ~ 62	152 529 (42)
B10. A(5R)/SgSnJ	Jax → Ms(1982, F20)	F20+39 ~ 40N1(* 1) F20+53 ~ 56	126 584 (262)
B10. AKM/01a	01a → Ms(1983, F?)	F?+34 ~ 36N1(* 1)	145
B10. AQR/01a	01a → Ms(1982, F?)	F?+41 ~ 43N1(* 1)	126

		F? <sup>+</sup> 55 ~ 59	524(130)
B10. BR/SgSnJ	Jax → Ms(1984, F26)	F26+33 ~ 34N1 (* 1)	166
B10. D2/nSnJ	Jax → Ms(1983, F22)	F22+31 ~ 33N1 (* 1)	174
B10. DA (80NS)/Sn	Jax → Ms(1987, F?)	F? <sup>+</sup> 17 ~ 18N1 (* 1)	121
B10. G/01a	01a → Ms(1985, F?)	F? <sup>+</sup> 28 ~ 29N1 (* 1)	117
		F? <sup>+</sup> 42 ~ 46	555(301)
B10. GD	C. S. David → Ms(1984, F?)	F? <sup>+</sup> 24 ~ 25N1 (* 1)	96
B10. GD/Ms	Ms(1993, F29)	F? <sup>+</sup> 29+10 ~ 14	518(181)
B10. HTG/2Cy	Jax → Ms(1982, N16F19)	N16F19+34 ~ 35N1 (* 1)	111
		N16F19+49 ~ 54	330(99)
B10. HTT/01a	01a → Ms(1985, F?)	F? <sup>+</sup> 27 ~ 28N1 (* 1)	185
B10. M/Sn	Jax → Ms(1990, F84)	F84+10 ~ 12, F? <sup>+</sup> , F84+24 ~ 28 F84+7N1 (* 1)	693(137)  150
B10. PL(73NS)/Sn	Jax → Ms(1982, F17)	F17+39 ~ 41N1 (* 1)	154
B10. R111(71NS)/01a	01a → Ms(1982, F?)	F? <sup>+</sup> 44 ~ 47N1 (* 1)	139
B10. S/01a	01a → Ms(1985, F?)	F? <sup>+</sup> 21 ~ 22N1 (* 1)	111
		F? <sup>+</sup> 35 ~ 38	409(175)
B10. S(7R)/01a	01a → Ms(1985, F?)	F? <sup>+</sup> 24 ~ 27N1 (* 1)	69
B10. S(9R)/01a	01a → Ms(1985, F?)	F? <sup>+</sup> 28 ~ 30N1 (* 1)	107
B10. SM(70NS)/Sn	Jax → Ms(1983, F22)	F22+32 ~ 33N1 (* 1)	153
B10. T(6R)/01a	01a → Ms(1985, F?)	F? <sup>+</sup> 28 ~ 31N1 (* 1)	119
B10. WB(69NS)/Sn	Jax → Ms(1982, F19)	F19+38 ~ 39N1 (* 1)	161
B10. Y/Sn	Jax → Ms(1987, F?)	F? <sup>+</sup> 19 ~ 20N1 (* 1)	150
A系(3系統)			
A. AL/01a	01a → Ms(1982, F?)	F? <sup>+</sup> 41 ~ 43	156
A. CA/Sn	Jax → Ms(1982, F23)	F23+45 ~ 49	112
A. B(4R)/Ms	Ms	N20F3 ~ 10	510
C3H系(5系統)			
C3H. JK/Sn	Jax → Ms(1982, F22)	F22+51 ~ 52	79
C3H. NB/Sn	Jsx → Ms(1982, F18)	F18+55 ~ 56, F?	157
C3H. OH/N	NIH → Ms(1981, F?) → Jic → Ms(1985, F?)	F? <sup>+</sup> 44 ~ 45	46
C3H. OL/Ne	NIH → Ms(1981, F?)	F? <sup>+</sup> 25+17 ~ 29	385
C3H. SW/SnJ	Jax → Ms(1982, F22)	F22+43 ~ 58	307(15)

3) 野生ハツカネズミの *H-2* 染色体を導入した B10 コンジェニック系 (17 系統)

B10. BAC1	Ms	F?, N8F6N1F2 ~ 4, N8F6N1F2 ~ 4N1 (* 1)	47 68
B10. CAS-QZNe	Ms	N12F30+9 ~ 11N1 (* 1) N12F30+27 ~ 32	108 255 (185)
B10. CAS-TCH/+	Ms	NE37 ~ 48 (* 1)	71 (5)
B10. DOM-PGN	Ms	N12F2 ~ 3N1 (* 1)	101
B10. MOL-ANJe	Ms	N11F41+11N1 (* 1)	174
B10. MOL-MSM	Ms	N12F28 ~ 29, N12F26 ~ 28N1 (* 1)	62 150
B10. MOL-NSB	Ms	N12F13N1F6N1F3N1 (* 1)	1
B10. MOL-OHM	Ms	N12F11+33 ~ 34N1 (* 1)	160
B10. MOL-OKBe	Ms	N12F44+12N1 (* 1)	170
B10. MOL-SGR	Ms	F?, F1N12F15+38 ~ 39N1 (* 1) F1N10F15+60 ~ 62	130  542
B10. MOL-TEN1	Ms	N12F16+37N1 (* 1) N12F16+56 ~ 61	106 525 (167)
B10. MOL-TEN2e	Ms	N10F36+13 ~ 15N1 (* 1) N10F36+33 ~ 37	101 370 (153)
B10. MOL-YNG	Ms	N13F31N1F9, N13F31N1F8 ~ 9N1 (*1)	13 263
B10. SHH2	Ms	N8F10 ~ 12, N8F9 ~ 11N1 (*1)	66 70
B10. SHH3	Ms	N8F11 ~ 14, F?, N8F1013N1 (*1)	43 86
B10. CAS3/Kf1	Kf1 → Ms (1991, F?)	F?N1 (*1)	202
京都 D20+	Ms	(*1)	21

4) B10. MOL-*H-2* コンジェニック由来の *H-2* 染色体組換体 (45 系統)

B10. A (R201)	Ms	N4F47 ~ 48N1 (* 1), N4F55 ~ 56	196 14
B10. A (R201)/Ms <sup>f</sup>	Ms	F54+13 ~ 17	563 (250)
B10. A (R202)	Ms	N4F44 ~ 47N1 (* 1)	267
B10. A (R203)	Ms	N3F36 ~ 38N1 (* 1)	161
B10. A (R204)	Ms	N4F37 ~ 39N1 (* 1)	163

B10. A (R206)	Ms	N4F37 ~ 38N1 (* 1)	261
B10. A (R207)	Ms	N4F43N1 (* 1)	104
B10. A (R208)	Ms	N4F29 ~ 30N1 (* 1)	110
B10. A (R209) Ms		N4F34+1 ~ 2N1, N4F39N1 (* 1)	200
B10. A (R209) /Msf	Ms	F42+11 ~ 14	629
B10. A (R211)	Ms	N4F36 ~ 37N1 (* 1)	67
B10. A (R212)	Ms	N3F2 ~ 3N1 (* 1)	166
B10. A (R213)	Ms	N4F35 ~ 37N1 (* 1)	136
B10. A (R214)	Ms	N3F35N1 (* 1)	102
B10. A (R217)	Ms	N4F38N1 (* 1)	111
B10. A (R221)	Ms	F26 ~ 29N1 (* 1)	133
B10. A (R223)	Ms	F25N1 (* 1) F39 ~ 44	100 132 (132)
B10. A (R224)	Ms	F28 ~ 36N1 (* 1)	136
B10. A (R228)	Ms	F15 ~ 18N1 (* 1)	118
B10. A (R241)	Ms	N4F35N1 (* 1)	221
B10. A (R251)	Ms	N3F37 ~ 42N1 (* 1)	150
B10. A (R261)	Ms	N3F24 ~ 27N1 (* 1)	105
B10. A (R262)	Ms	N3F26 ~ 30N1 (* 1)	116
B10. BR (R220)	Ms	~ 9 (* 1)	95
B10. CAS4 (R28) /Kf1	Kf1 → Ms (1991, F?)	F?+1N1 (* 1) F+6	121 8
B10. SH1 (R17)	Kf1 → Ms (1985, F?)	F?+N7F14 ~ 15, F?+N7F13 ~ 14N (* 1)	35 103
B10 (R226)	Ms	N10 ~ 12 (* 1)	142
B10 (R231)	Ms	N3F32 ~ 36N1 (* 1)	140
B10 (R233)	Ms	N4F32 ~ 33N1 (* 1), N4F37	166 1
B10 (R233) /Msf	Ms	F36+12 ~ 15	563 (383)
B10 (R236)	Ms	N3F34 ~ 41N1 (* 1)	110
B10 (R237)	Ms	N3F31 ~ 32N1 (* 1)	110
B10 (R239)	Ms	N3F31 ~ 32N1 (* 1)	164
B10 (R263)	Ms	N1F1N1F2+18 ~ 19N1 (* 1)	175
B6. CAS3 (R23) /Kf1	Kf1 → Ms (1991, F?)	F?	52
B6. CAS3 (R7) /Kf1	Kf1 → Ms (1991, F?)	F?	92
B10. CAS3 (R8) /Kf1	Kf1 → Ms (1991, F?)	F?	156

C57BL/10SnS1c-H-2aw18/H-2b	Ms	N15+7(*1)	245
as55	Ms	F26 ~ 29	99
as61	Ms	F12 ~ 21	49
AS75	Ms	F12 ~ 28	195(42)
as8	Ms	F25 ~ 32	81
as100	Ms	F26 ~ 44	215(30)
as46	Ms	F27 ~ 30	142
as53	Ms	F25 ~ 26	75

## 5) その他のコンジェニック系 (20系統)

AXBG11/Msf	Ms	N2F25+6 ~ 11	548
B6-Ly-2c, -3a	Ms	N12F13 ~ 14	95
BALB/c-Aph-1b	Nga → Ms(1985, F?)	F?+7 ~ 8,	16
		F?+7N1(*2)	11
BALB/c-Aph-1b, Aph-2b	Nga → Ms(1985, F?)	F?+8 ~ 9,	42
		F?+8 ~ 9N1(*2)	93
BALB/c-Aph-1c	Ms	F?+9 ~ 10,	22
		F?+8 ~ 9N1(*2)	72
BALB/c-Aph-2b	Ms	F?+5 ~ 6	82
BALB/c-Aph-3	Ms	F?+7 ~ 8,	14
		F?+5 ~ 7N1(*2)	86
BALB/cMsf-Hbb <sup>p</sup>	Ms	N5F2N1F2+8 ~ 15	399(238)
BALB/c-H. 2	Ms	F?+8 ~ 10,	87
		F?+8 ~ 9N1(*2)	111
BALB/c-H. 3	Ms	F?+7,	25
		F?+6 ~ 7N1(*2)	117
BALB. B/01a	01a → Ms(1981, F?) → Jic → Ms(1985, F?)	F?+39 ~ 45	529
BALB. K/01a	01a → Ms(1982, F?)	F?+45 ~ 51	425
B6. BFM	Ms	N5(*3)(*1)	69
B6. BCR	Ms	N5(*3)	52
B6. CAST	Ms	N5(*3)(*1)	62
B6. MAL	Ms	N5(*3)(*1)	55
B6. MSM	Ms	N5(*3)(*1)	52
B6. PGN	Ms	N5(*3)(*1)	57
B6. SJL	Ms	N5(*3)(*1)	52
HBBW1/Msf	Ms	N8F2N1F2+6 ~ 10	535

## 6) 染色体変異を持つ系統 (8 系統)

B10. SMY-Ydote	Ms	N10F1+N11 ~ 25(* 1)	243 (128)
B10. SMY-conte	MRC → Ms(1989, N10)	N10F1+N13 ~ 14(* 1)	124
C57BL/10Sn-Ydel	Ms	N8 ~ 24(* 1)	142 (35)
C. URM	Ms	N4+7 ~ 8N1(* 2), NE5+F6 ~ 8	85 245 (245)
Rb(9. 15)/Ms	Ms	N13F21, F?	30
Rb(9. 15)/Mse	Ms	N13F21+N1F1	177 (158)
Rb(10, 11)8Bnr	Jax → Ms(1991, F51)	F51+11 ~ 12	155
Rb(11, 14)1Dn	Jax → Ms(1991, F?)	F?+4 ~ 5	95

## 7) 突然変異遺伝子を保有している系統 (27 系統)

B10. A(4R)/O1a(mut)	Ms	F3+37+M+3N1(* 1)	94
B10. BR(R228) spot	Ms	F?(* 1)	209
B10. D2/nSn-Hx/+	Jax → Ms(1994, F58)	F58+7 ~ 12	488 (376)
B10. PL(73NS)/Sn-s/o	Jax → Ms(1982, F17)	F24+M+NE2F1N1(* 1)	166
B10-ape	Ms	NE6F8+1NE3 ~ 4F1N1(* 1)	42
B10. MOL-SGR-CMs2	Ms	F1N10F64+M+6 ~ 11 F1N10F64+M+10+N1(* 4)	341 (292) 200 (200)
B10-Poe	Ms	F55NE3F12+11 ~ 12N1(* 1)	158
C. OGS-Ap	Ms	N13F3N1F5N10(* 2)	38
C3HeB/FeJ-E <sup>80</sup> /E <sup>80</sup> Xt <sup>l</sup> /+	Jax → Ms(1993, N10F12)	N10F12+18 ~ 19	81 (81)
C3H/HeN-seal/+	Jms → Ms	F?+3 ~ 4	61
C57BL/6By-Ra0sPt/+	Jax → Ms(1997, N27)	N27+2(* 3)	348 (348)
C57BL/6J-js/+	Jax → Ms	F?+1 ~ 2, F?	123
C57BL/6J-1st <sup>l</sup>	Jax → Ms(1994)	N8(* 3) N7F1	51 (51) 35 (35)
C57BL/6J-Lx <sup>W</sup>	Jax → Ms(1994, N111)	N111+8(* 3)	216 (216)
C57BL/6J-pe/pe	Jax → Ms(1994, F?)	F?+3 ~ 8	502 (222)
C57BL/6J-Tr <sup>l</sup> Re	Jax → Ms(1991, N42)	N40+15(* 3)	164 (164)
C57BL/6J- $\lambda$ p1	Jax → Ms(1994)	N8 ~ 11(* 3)	118 (118)
C57BL/10-rim2/rim2	Ms	F20 ~ 26N1(* 1)	146
C57BL/10Snf-rim2/rim2	Ms	F24+N1F6 ~ 10	493 (214)
C57BL/10-Rim3/+	Ms	N15(* 1)	114
C57BL/10Snf-Rim3/+	Ms	N16+N9 ~ 12(* 1)	358 (343)

C57BL/10- <i>Rim1/4</i>	Ms	N7(*1)	91
C57BL/10Snf- <i>Rim1/4</i>	Ms	N8+N5 ~ 10(*1)	478(455)
C57BL/10- <i>Rim5/4</i>	Ms	N8(*1)	145
C57BL/10Snf- <i>Rim5/Rim5</i>	Ms	F17	12(12)
HRS/J	Jax → Ms(1984, F75)	F75+29 ~ 38	617
MWT/ <i>Leat/at</i>	Jax → Ms(1993, F98)	F98+18 ~ 19	34(34)
TSJ/ <i>Leb/bTs/4</i>	ax → Ms(1987, F?)	F90+3 ~ 12	488(257)
WB/ReJ-W	Jax → Ms(1987, F?)	F?+27 ~ 29	145

## 8) 野生ハツカネズミ類 (30系統)

BFM/2Ms	Montpellier → Ms	F15+42 ~ 43	23
BFM/2Msf	Montpellier → Ms	F15+40+12 ~ 18	530(348)
BLG2/Msf	Toshevo → Ms (ブルガリア)	F3+41+13 ~ 18	515(382)
CASA/Rk	Jax → Ms(1989, F12)	F12+7 ~ 8	31
CAST/Ei	Jax → Ms(1989, F43)	F43+9 ~ 22	311(193)
HMI/Msf	和美(台湾)	F21+8 ~ 13	307(184)
KJR/Msf	Kojuri 島(韓国)	F31+13 ~ 18	527(294)
MAL/Msf	マレーシア	F13+6 ~ 9	21(9)
M. Bac-Avz3	Ahvaz(イラン)	F?	87
M. Bac-Gms	Garmsar(イラン)	F?	55
M. Bac-Iran	Mashhad(イラン)	F12 ~ 15	11
M. Bac-Kjo	Kujour(イラン)	F3 ~ 4	73
M. Bac-Nsh2	NowShahr(イラン)	F?	23
M. Cas-Hmi	和美(台湾)	F?	11
M. Cas-Mal	マレーシア	F?+9 ~ 11	74
M. DOM-PGN2	Pegion(カナダ)	F?, F45 ~ 47	661(612)
M. Dom-Pgn3	M. DOM-PGN1 × PGN2	F?	19
M. Mol-Unu	内之浦(鹿児島県)	F?	15
M. MUS-NJL	NorthernJutland (デンマーク)	F?	35
M. SUB-CHD	成都(中国)	F?	5
M. SUB-KJR1	Kojuri 島(韓国)	F33	4
M. SUB-SWN1	水原(韓国)	F18 ~ 22	59
M. SUB-SWN2	水原(韓国)	F?	10
M. SUB-SWN3	水原(韓国)	F?	55
MSM	三島(静岡県)	F38 ~ 41	190

MSM/Msf	三島(静岡県)	F46+8 ~ 15	355(73)
MOM	瑞穂区 (愛知県名古屋)	F29+2+11 ~ 13	120
NJL/Msf	NorthernJutland (デンマーク)	F41+3 ~ 10	531(268)
SWN/Msf	水原(韓国)	F22+7 ~ 13	519(321)
ZBN	ブルガリア	F9	7

## 9) トランスジェニック系統 (9 系統)

Tg(17MMUCyp21)1Ms	Ms	F?+8 ~ 9 (* 1)	40 106
Tg(17MMUCyp21)1Msf	Ms	F?+2+5 ~ 9	548
Tg(0MMUCyp21)2Ms	Ms	(* 1)	109
Tg(0MMUCyp21)3Ms	Ms	G1F2	15
Tg(YHSPCyp21)5Ms	Ms	N12(* 1)	108
Tg(17MMUCyp21)6Ms	Ms	N1F3N2F3 ~ 13 N1F3N1(* 1)	17 14
Tg(0MMUCyp21)7Ms	Ms	(* 1)	50
Tg(0MMUCyp21)8Ms	Ms	(* 1)	1 77
Tg(0MMUCyp21)9Ms	Ms	(* 1)	102

(\* 1) C57BL/10SnS1c または C57BL/10SnJ との heterozygote

(\* 2) BALB/cCrS1c との heterozygote

(\* 3) C57BL/6JJcl との heterozygote

(\* 4) B10. MOL-SGR との heterozygote

## G. 細菌とそのファージ

## 保存株の概要

*Escherichia coli* (大腸菌) : 15,000 株

- (1) 1353 の標識遺伝子を含む各種突然変異株 (栄養要求性, 薬剤抵抗性, ファージ抵抗性, 放射線感受性, その他) : 7,000 株
- (2) トランスポゾン挿入変異株 (染色体地図のほぼ 1 分毎に, Tn10, Tn10 kan, Tn5 で標識されている) : 473 株
  - a) 遺伝的背景の異なる株 (1983-1987 年の Journals に記載された株のコレクション) 203 株
  - b) 遺伝的背景が野性型の株 (Singer *et al.*, 1989. Microbiol. Rev., 53, 1-24 に掲載された kit) : 190 株
  - c) Hfr 株の kit : 80 株

(3) クラーク・カーボンの pLC コレクション\* (合成 ColE1 ハイブリド・プラスミド 2,000 種を含む大腸菌のジーン・バンク. Clarke & Carbon. 1976. Cell, 9, 91-99) : 2,000 株

\* Nishimura, A. Correlation of a subset of the pLC-plasmids to the physical map of *Escherichia coli* K-12. *Microbiol. Rev.*, 56, 137-151, 1992.

(4) 広田の大腸菌温度感受性変異株のコレクション : 約 5,000 株

DNA 複製欠損変異株	115 株
RNA 合成欠損変異株	100 株
ムレイン生合成欠損変異株	55 株
細胞分裂欠損変異株**	353 株
染色体分配欠損変異株**	45 株
膜蛋白欠損変異株	22 株
リボソーム蛋白変異株	79 株
未同定欠損変異株	約 3,800 株

\*\*Nishimura, A. et al., Mapping of a whole set of cell division genes in *Escherichia coli* K-12. In "Control of growth and division" (A. Ishihama, H. Yoshikawa eds.), pp. 205-223, Springer-Verlag/Tokyo, 1991.

(5) *Escherichia coli* のファージ : T2, T3, T4, T4GT7, T5, T6, T7, P1・kc, P1・vir, Mu, λ papa, λ vir, λ gt・λ C, λ cb2, λ ci<sub>857</sub>・S7, λ Tn5, λ Tn10, φ X174wild, φ X174am3, f1, MS2, QB, その他

#### その他

*Bacillus subtilis* (枯草菌) : 200 株

*Salmonella typhimurium* (ネズミチフス菌) : 1370 株

### H. クローニングベクターコレクション

微生物遺伝研究部門では大腸菌を宿主とするクローニングベクターの収集と配布の事業を行っている。現在、約 420 種類のプラスミドベクターを精製した DNA として保存しており、これらは分譲が可能である。内訳は汎用ベクター 90 種、発現ベクター 80 種、遺伝子融合ベクター 26 種、プロモータクローニングベクター 16 種、直接選択用ベクター 13 種、その他、高コピーベクター、低コピーベクター、翻訳シグナル用ベクター、複製 ts ベクター、薬剤耐性遺伝子カセット、塩基配列決定用ベクター、部位特異的変異誘発用ベクター等数種づつである。保有しているすべてのベクターのマップを含めたデータをまとめたカタログを製本して希望者への配布を行っている。同じ内容のデータをインターネット上に公開しており (<http://shigen.lab.nig.ac.jp/cvector.html>)、データベースファイルとして取り出せるようになっている。郵便、ファックス、あるいは電子メールでの問い合わせには応じているが電話での問い合わせには応じていない。

連絡先 : 〒 411-8540 静岡県三島市谷田 1, 111 国立遺伝学研究所微生物遺伝研究部門

クローニングベクターコレクション(担当 安田成一)

FAX : 0559-81-6763

電子メール : cvector@lab.nig.ac.jp

## II. 遺伝情報の収集保存および提供

1997年における DDBJ の活動は以下のとおりである。

## リリース：

リリース 28	(1997年 1月)	1,154,120 件	756,785,219 塩基
リリース 29	(1997年 4月)	1,270,194 件	814,415,232 塩基
リリース 30	(1997年 7月)	1,534,115 件	992,788,339 塩基
リリース 31	(1997年 10月)	1,731,532 件	1,139,869,464 塩基

## サブミッション件数：(件)

	通常	大量	合計
1月	598	48	646
2月	709	151	860
3月	946	630	1,576
4月	1,010	328	1,338
5月	996	538	1,534
6月	865	279	1,144
7月	718	46,966	47,684
8月	797	4,029	4,826
9月	758	5,946	6,704
10月	801	297	1,098
11月	788	452	1,240
12月	683	1,873	2,556
合計	9,669	61,537	71,206

## 登録形式：(件)

	SAKURA	Authorin 等	Sub. form	合計
1月	451	123	24	598
2月	534	147	27	708
3月	674	231	41	946
4月	803	186	21	1,010
5月	709	184	103	996
6月	735	93	37	865
7月	443	253	22	718
8月	667	36	94	797
9月	625	54	79	758
10月	653	141	7	801
11月	653	120	15	788

12月	606	53	24	683
-----	-----	----	----	-----

---

合計	7,553	1,621	494	9,668
----	-------	-------	-----	-------

**磁気媒体を用いた DNA データベース配布 :****DDBJ データベース**

DDBJ リリース	カートリッジ	8mm	DAT	合計
リリース 28 (1997年 1月)	5	14	12	31
リリース 29 (1997年 4月)	4	13	14	31
リリース 30 (1997年 7月)	3	11	12	26
リリース 31 (1997年 10月)	1	10	14	25

---

合計	13	48	52	113
----	----	----	----	-----

**EMBL データベース**

EMBL リリース	カートリッジ	8mm	DAT	合計
リリース 51 (1997年 5月)	2	8	5	15
リリース 52 (1997年 10月)	1	8	7	16
リリース 53 (1997年 12月)	1	8	7	16

---

合計	4	24	19	47
----	---	----	----	----

**発行者 :**

DDBJ News Letter No. 17	1997年 3月発行
DDBJ オフラインニュース 第7号	1997年 6月発行
DDBJ オフラインニュース 第8号	1997年 10月発行
DDBJ 分子生物学会ニュース	1997年 12月発行
DDBJ 所内ニュース No. 51	1997年 1月発行
DDBJ 所内ニュース No. 52	1997年 3月発行
DDBJ 所内ニュース No. 53	1997年 5月発行
DDBJ 所内ニュース No. 54	1997年 7月発行
DDBJ 所内ニュース No. 55	1997年 9月発行
DDBJ 所内ニュース No. 56	1997年 11月発行

**Ⅲ. 系統情報の収集・保存および提供**

生物遺伝資源情報総合センター・系統情報研究室では、主に文部省所轄の大学・研究所などに保存されている様々な生物種の系統について、その所在情報および特性情報をデータベース化し、インターネット上(<http://www.shigen.lab.nig.ac.jp>)で公開している

生物種	収録機関数	件数	公開状況
クローニングベクター	1	270	公開
マウスサテライトDNA	1	900	公開
マウス	1	288	公開
ショウジョウバエ	26	2000	公開
実験動物	52	1634	未公開
コムギ	16	15874	公開
コムギDNAクローン	2	300	未公開
イネ	33	11030	公開
オオムギ	1	4023	未公開

平成 8.9 年度 遺伝実験生物保存系統分譲実績

(別表) 204

分譲機関	年度	マウス	カイコ	ショウジョウバエ	ヒドラ	イネ	大腸菌・枯草菌 その他微生物	サクラ アサガオ	計	備考
国立学校	8	41 (50)		67 (871)		25 (465)	167 (925)		300(2311)	
	9					14 (148)		アサガオ 2 (550) (174)		
国立 研究機関	8	1 (3)		19 (57)		6 (135)	20 (117)		46 (312)	
	9					21 (442)		アサガオ 2 (30)		
公立大学	8	2 (2)		7 (16)	1 (3)		11 (23)		21 (44)	
	9					1 (2)				
公立 研究機関	8	1 (1)		5 (18)	1 (3)		1 (1)		8 (23)	
	9					0				
私立大学	8	17 (32)		5 (7)			26 (42)		48 (81)	
	9					0				
民間 研究機関	8	15 (27)		14 (252)		2 (28)	57 (90)	サクラ 1 (4)	89 (401)	
	9					4 (134)				
高等学校等	8	4 (16)		8 (34)	5 (6)				17 (56)	
	9					0				
国外	8	1 (1)	4 (25)	36 (197)	2 (6)	1 (20)	35 (81)		79 (330)	
	9					3 (26)				
その他	8					3 (11)			3 (11)	
	9					1 (6)		サクラ 1 (3)		
合計	8	82 (132)	4 (25)	161 (1452)	9 (18)	37 (659)	317 (1279)	サクラ 1 (4)	611 (3569)	
	9					44 (758)		アサガオ 4 (754)		

※(1)数字は件数・カッコ内は延べ系統数。(2)その他の微生物にはサルモネラ菌を含む。

## VIII. 行 事

### 研究所の一般公開

毎年科学技術週間における行事の一環として行われる研究所の一般公開は、4月19日(土)に行われた。4つのテーマに沿った研究発表の展示、学術講演、学術映画の上映等を行い、9時30分から16時30分までの間に約2,800人の見学者が来所した。

### 公開講演会の開催

国立科学博物館と共催で、一般を対象とした遺伝学公開講演会を次のとおり開催した。

日 時 平成9年10月18日(土)13:30～16:30

場 所 国立科学博物館新宿分館(新宿区百人町)

共 催 国立科学博物館

後 援 遺伝学普及会

講 演

働くタンパク質の形を見る

構造遺伝学研究センター助教授

理学博士 白木原 康雄

#### 【要旨】

良く知られているように、タンパク質は遺伝子の上のDNAの4種のヌクレオチドの並びの情報に基づいて作られます。タンパク質は、細胞間で起こる情報伝達、肝臓で起こる膨大な数の化学反応、筋肉で起こる化学反応に共役した収縮など、生命の維持に必要な全てのイベントを行います。タンパク質は遺伝子の指令に基づいて作られた、働く分子なのです。

タンパク質は構成分子であるアミノ酸が百個から千個連なった”ひも”状の高分子です。ひもはコンパクトにおりたままて全体の形は球状に近くなります。タンパク質の形はその機能と密接なつながりがあるので、形を調べることは重要な意味を持ちます。

タンパク質の形を調べるのにX線結晶解析法があります。これはタンパク質を結晶にし、その結晶にX線をあてて得られる回折パターンを解析して形の情報を得るやり方です。X線にレンズがないためにこのような迅速な方法をとりますが、得られる情報は大変細かく、タンパク質を構成している原子の位置の情報までも得ることができます。

タンパク質は働く間にその形を変えます。これは動作中の特定の状態にあるタンパク質分子を結晶にしその形を調べる、別の特定の状態にある分子を同じように調べる、それらを比較する、という一連の実験によって調べることができます。私達は生体エネルギー通貨であるATPを合成するATP合成酵素の形を調べて来ました。ATP合成酵素はATP合成の際非常に大きな形の変化があることがわかりました。ATP合成酵素の形を調べる実験の実際、形の変化について述べる。

## ニューロン多様性生成の遺伝解析—ショウジョウバエ複眼を例にして—

個体遺伝研究系教授

理学博士 広海 健

## 【要旨】

神経系発生過程では多くの種類のニューロンやグリアがゲノムの情報に基づいて、正確に生み出されます。複雑な神経回路形成も回路を構成するニューロンが、機能面だけでなく、発生過程でも分子的に多種多様であることに依存しています。

私達はショウジョウバエの胚中脳・末梢神経系及び成虫複眼をモデル系として用いて、神経系発生過程におけるニューロン運命決定機構・神経回路形成機構の研究を行っています。ショウジョウバエでは、古典的遺伝学の技法を分子生物学の新しい技術・材料と組み合わせることにより、効果的に遺伝子の発現・機能の解析が可能です。今回は、特定のニューロン或いはその前駆細胞でのみ発現している遺伝子を同定することを目的として行った遺伝的スクリーンを紹介し、それによって同定された2つの遺伝子、*seven-up*と*edl*について解説します。

*seven-up*遺伝子はショウジョウバエ個眼の特定の光受容ニューロンでのみ発現しており、その突然変異個体では*seven-up*遺伝子を発現するニューロンが別の種類のニューロンに運命転換します。このことは*seven-up*が2種のニューロン間の遺伝的スイッチとして働くことを示唆しています。*seven-up*蛋白は進化的に保存された核内リセプターであり、その転写調節因子としての働きの下流には、軸索走行・標的認識・シナプス形成など、特定のニューロンとして分化するために必要な過程を制御する遺伝子があると予想されます。*edl*遺伝子は1種の光受容ニューロンでのみ発現していますが、他の光受容ニューロンで強制発現させると、それらの細胞のニューロン分化を完全に阻害します。このことは、光受容ニューロンへの分化機構がニューロン種によって異なることを示唆しています。遺伝的・分子生物学的解析から明らかになったこれらの遺伝子産物の分子的作用機構について述べる。

## IX. 庶 務

### A. 沿 革

昭和15年8月、京城で開催された日本遺伝学会第13回大会において、国立遺伝学研究所設立決議案が満場一致で可決された。翌16年4月に日本学術振興会内に設けられた第4特別委員会(遺伝)がこれに協力して、研究所実現の努力を続けた。昭和22年5月、日本遺伝学会は、財団法人遺伝学研究所を設立し、側面的に国立機関設置の促進に努めた。これらの努力が実を結び、昭和24年6月1日、文部省設置法が施行されて、ここに待望10年の国立遺伝学研究所が誕生した。

最初は、第1(形質遺伝)、第2(細胞遺伝)、第3(生理遺伝)の3研究部をもって発足し、事務所を文部省内に置いた。昭和24年9月、敷地として静岡県三島市富士産業株式会社所有の土地77,773平方メートルを買収するとともに、同社の建物4,452平方メートルを借り受け、12月1日研究所を現在の地に移した。昭和35, 37, 38年度には、従前の木造の本館を鉄筋コンクリート3階建に改築する工事が逐次進められ、昭和42年度において全館が完成した。また研究部門の構成も、昭和27年度に形質遺伝部、細胞遺伝部、生理遺伝部と改組され、さらに昭和28年度に生化学遺伝部、29年度に応用遺伝部、30年度に変異遺伝部、35年度に人類遺伝部、37年度に微生物遺伝部、39年度に集団遺伝部及び44年度に分子遺伝部が増設されて10部門となり、また50年度には遺伝実験生物保存研究施設が新設された。

昭和59年4月12日、国立学校設置法の改正により、文部省所轄機関から、大学共同利用機関へ改組・転換された。これに伴って、従来から設置されていた10研究部は、研究対象のレベルに応じて分子・細胞・個体・集団の4研究系およびこれらにまたがる総合遺伝研究系の5つに区分され、昭和59年度はその中の3つの研究系に客員研究部門が設けられ、また、共同利用の核となるべき附属施設として、既存の遺伝実験生物保存研究センターの拡充がはかられ、加えて、遺伝情報研究センターが設置された。

昭和60年度には、2つの研究系の客員研究部門と、遺伝情報研究センターに合成研究室、遺伝情報分析研究室が設置された。

昭和63年度には、放射線・アイソトープセンターと遺伝情報研究センターに遺伝子ライブラリー研究室が設置された。また、7つの大学共同利用機関を母体とする総合研究大学院大学開学に伴い、生命科学研究科の遺伝学専攻を担当することになった。

平成3年度には、寄附研究部門として大量遺伝情報研究部門が設けられた。

平成5年度には、遺伝実験生物保存研究センターに発生工学研究室が、平成6年度には、遺伝情報研究センターに遺伝子機能研究室が設置された。

平成7年度には、生命情報研究センターが設置され、遺伝情報研究センターから遺伝情報分析研究室と遺伝子機能研究室が振替られるとともに、新に大量遺伝情報研究室と分子

分類研究室が設置された。更に、平成8年度は、遺伝情報研究センターが構造遺伝学研究中心として改組され、超分子機能研究室、構造制御研究室、超分子構造研究室及び遺伝子回路研究室の改組に加え、生体高分子研究室が設置された。

また、平成9年度には、遺伝実験生物保存研究センターの改組により、系統生物研究センター(マウス系統研究分野 哺乳動物遺伝研究室・発生工学研究室、イネ系統研究分野 植物遺伝研究室、大腸菌系統研究分野 原核生物遺伝研究室、無脊椎動物系統研究分野 無脊椎動物遺伝研究室の5研究室振替)及び生物遺伝資源情報総合センター(系統情報研究室振替、生物遺伝資源情報研究室設置)が設置された。

## B. 組織（機構と職員）

### ○国立学校設置法(抄)

(昭和24年5月31日法律第150号) 最終改正 平成9年3月31日 法律第14号

#### 国立学校設置法

##### 第1章 総則

(設置及び所轄)

第1条 この法律により、国立学校を設置する。

2 国立学校は、文部大臣の所轄に属する。

(国立学校)

第2条 この法律で、「国立学校」とは、学校教育法(昭和22年法律第26号)第1条に定める学校で国が設置するものをいい、第3章の3から第3章の6までに定める機関を含むものとする。

2 国立の小学校、中学校、高等学校、盲学校、聾学校、養護学校及び幼稚園は、この法律に特別の定めをするもののほか、政令で定めるところにより、国立大学若しくは国立大学の学部又は国立短期大学に附属して設置するものとする。

##### 第3章の3 大学共同利用機関

(大学共同利用機関)

第9条の2 大学における学術研究の発展その他政令で定める目的に資するため、大学の共同利用の機関として、政令で定めるところにより、研究所その他の機関(以下「大学共同利用機関」という。)を置く。

2 大学共同利用機関は、大学の教員その他の者で当該大学共同利用機関の目的たる研究その他の事項と同一の事項に従事するものの利用に供するものとする。

3 大学共同利用機関は、大学の要請に応じ、大学院における教育その他その大学における教育に協力することができる。

##### 第4章 職及び職員

(国立学校の職)

第10条 各国立学校に置かれる職の種類は、文部省令で定める。

(国立学校に置かれる職員の任免等)

第11条 国立学校に置かれる職員の任免、懲戒その他人事管理に関する事項については、国家公務員法(昭和22年法律第120号)及び教育公務員特例法の定めるところによる。

#### 第5章 雑則

(命令への委任)

第13条 この法律又は他の法律に別段の定めのあるものを除くほか、国立学校の位置並びに組織及び運営の細目については、文部省令で定める。

### ○国立学校設置法施行令(抄)

(昭和59年6月28日政令第230号) 最終改正 平成9年4月1日

#### 国立学校設置法施行令

(大学共同利用機関)

第5条 法第9条の2第1項の政令で定める目的は、大学における学術情報の流通の促進、資料の公開等一般公衆に対する教育活動の推進及び大学における教育の発展とする。

第6条 太学における学術研究の発展に資するための法第9条の2に定める大学共同利用機関(以下単に「大学共同利用機関」という.)として、次の表の上欄に掲げる機関を置き、当該機関の目的は、それぞれ同表の下欄に定めるとおりとする。

大学共同利用機関の名称	目的
国文学研究資料館	国文学に関する文献その他の資料の調査研究、収集整理及び保存
国立極地研究所	極地に関する科学の総合研究及び極地観察
宇宙化学研究所	宇宙物理学及び宇宙工学の学理及びその応用の研究
国立遺伝学研究所	遺伝学に関する総合研究
統計数理研究所	統計に関する数理及びその応用の研究
国際日本文化研究センター	日本文化に関する国際的及び学際的な総合研究並びに世界の日本研究者に対する研究協力
国立天文台	天文学及びこれに関連する分野の研究・天象観測並びに暦書編製、中央標準時の決定及び現示並びに時計の検定に関する事務
核融合科学研究所	核融合プラズマに関する学理及びその応用の研究

## ○国立学校設置法施行規則(抄)

(昭和39年4月1日文部省令第11号)最終改正 平成9年9月30日

## 国立学校設置法施行規則

## 第4章 大学共同利用機関

## (位置)

第46条 大学共同利用機関の位置は、次の表に掲げるとおりとする。

大学共同利用機関の名称	位置	大学共同利用機関の名称	位置
国文学研究資料館	東京都	核融合科学研究所	岐阜県
国立極地研究所	東京都	岡崎国立共同研究機構	愛知県
宇宙科学研究所	神奈川県	高エネルギー加速器研究機構	茨城県
国立遺伝学研究所	静岡県	学術情報センター	東京都
統計数理研究所	東京都	国立民族学博物館	大阪府
国際日本文化研究センター	京都府	国立歴史民族博物館	千葉県
国立天文台	東京都	メディア教育開発センター	千葉県

## (組織及び運営等)

第47条 大学共同利用機関に置かれる職の種類並びに大学共同利用機関の組織及び運営の細目については、大学共同利用機関組織運営規則(昭和52年文部省令第12号)の定めるところによる。

## ○大学共同利用機関組織運営規則(抄)

(昭和52年4月18日文部省令第12号)最終改正 平成9年3月31日

## 大学共同利用機関組織運営規則

## 第1章 総則

## (機関の長等)

第1条 大学共同利用機関(以下「機関」という.)に、次の各号に掲げる区分に応じ、それぞれ当該各号に掲げる職員を置く。

- 一 岡崎国立共同研究機構及び高エネルギー加速器研究機構 機構長
- 二 国立極地研究所、宇宙科学研究所、国立遺伝学研究所、統計数理研究所、国際日本文化研究センター、核融合科学研究所、岡崎国立共同研究機構に置かれる分子科学研究所、基礎生物学研究所及び生理学研究所、高エネルギー加速器研究機構に置かれる素粒子原子核研究所及び物質構造科学研究所、学術情報センター並びにメディア教育開発センター 所長

三 国文学研究資料館，国立民族学博物館及び国立歴史民俗博物館

館長

四 国立天文台

台長

2 機構長は，それぞれ岡崎国立共同研究機構又は高エネルギー加速器研究機構の業務を掌理する。

3 所長，館長又は台長は，それぞれ所務，館務又は台務を掌理する。

(職員の種類)

第2条 前条に掲げるもののほか，機関に次の職員を置く。

一 教授

二 助教授

三 助手

四 事務職員

五 技術職員

2 機関に，前項に掲げるもののほか，講師(非常勤の者に限る。以下同じ。)を置くことができる。

3 教授は，研究に従事し，及び国立大学その他の大学の大学院における教育に協力するための学生の研究指導(以下「研究指導」という。)を行う。

4 助教授は，教授の職務を助ける。

5 講師は，教授又は助教授に準ずる職務に従事する。

6 助手は，教授及び助教授の職務を助ける。

7 事務職員は，庶務，会計等の事務に従事する。

8 技術職員は，技術に関する職務に従事する。

(外国人研究員)

第3条 機関の長は，国家公務員法(昭和22年法律第120号)第2条第7項に規定する勤務の契約により，外国人を研究に従事させることができる。

2 前項の規定の実施に関し必要な事項については，別に文部大臣が定める。

(評議員会)

第4条 機関(岡崎国立共同研究機構及び高エネルギー加速器研究機構(以下本章において「機構」という。))に置かれる研究所を含む。以下この条において同じ。)に，それぞれ評議員会を置く。

2 評議員会は，それぞれ当該機関の事業計画その他の管理運営に関する重要事項について，当該機関の長に助言する。

3 評議員会は，評議員20人以内で組織し，評議員は，左の各号に掲げる者(機構にあっては，機構に置かれる各研究所の評議員とする。)のうちから，文部大臣が任命する。

一 国立大学の学長

二 公立又は私立の大学の学長

三 その他学識経験のある者

4 前項の規定にかかわらず，岡崎国立共同研究機構の評議員は，岡崎国立共同研究機構

に置かれる各研究所の評議員のうちから、高エネルギー加速器研究機構の評議員は、高エネルギー加速器研究機構に置かれる各研究所の評議員及び同項各号に掲げる者のうちから、それぞれ文部大臣が任命する。

- 5 評議員の任期は、2年とし、その欠員が生じた場合の補欠の評議員の任期は、前任者の残任期間とする。
- 6 評議員は、非常勤とする。
- 7 評議員会の運営に関し必要な事項は、別に文部大臣が定める。

(運営協議員会)

第5条 機関(岡崎国立共同研究機構にあつては、岡崎国立共同研究機構に置かれる研究所とし、高エネルギー加速器研究機構にあつては、高エネルギー加速器研究機構に置かれる研究所を含む。以下この条において同じ。)に、それぞれ運営協議員会を置く。

- 2 運営協議員会は、それぞれ当該機関の共同研究計画に関する事項(国立極地研究所にあつては、極地観測の実施とする。)その他の機関の運営に関する重要事項で当該機関の長が必要と認めるものについて、当該機関の長の諮問に応じる。
- 3 運営協議員会は、運営協議員21人以内で組織し、運営協議員は、当該機関の職員及び当該機関の目的たる研究と同一の研究に従事する左の各号に掲げる者のうちから、文部大臣が任命する。

- 一 国立大学の教員
- 二 公立又は私立の大学の教員
- 三 前二号に掲げる者以外の者

- 4 前項の規定にかかわらず、高エネルギー加速器研究機構の運営協議員は、高エネルギー加速器研究機構に置かれる各研究所の運営協議員、高エネルギー加速器研究機構の職員及び高エネルギー加速器研究機構の目的たる研究と同一の研究に従事する同項各号に掲げる者のうちから、文部大臣が任命する。
- 5 運営協議員の任期は、2年とし、その欠員が生じた場合の補欠の運営協議員の任期は、前任者の残任期間とする。
- 6 運営協議員は、非常勤とする。
- 7 運営協議員会の運営に関し必要な事項は、別に文部大臣が定める。

(客員教授等)

第6条 機関の長は、常時勤務の者以外の職員で当該機関の研究に従事する者又は第3条第1項の規定により研究に従事する外国人のうち、適当と認められる者に対しては、客員教授又は客員助教授を称せしめることができる。

- 2 前項の規定に関し必要な事項については、別に文部大臣が定める。

(名誉教授)

第7条 機関は、当該機関に機関の長(機構に置かれる研究所の長を含む。)、教授又は助教授として勤務した者であつて、当該機関の目的達成上特に功績のあつた者に対し、当該機関の定めるところにより、名誉教授の称号を授与することができる。

## 第5章 国立遺伝学研究所

### (企画調整主幹)

第28条 国立遺伝学研究所に企画調整主幹1人を置き、教授をもって充てる。

- 2 企画調整主幹は、所長の命を受け、国立遺伝学研究所の行う研究に係る事業の企画及び実施について総合調整する。

### (内部組織)

第29条 国立遺伝学研究所に、管理部及び次の5研究系並びに技術課を置く。

- 一 分子遺伝研究系
- 二 細胞遺伝研究系
- 三 個体遺伝研究系
- 四 集団遺伝研究系
- 五 総合遺伝研究系

- 2 前項に掲げるもののほか、国立遺伝学研究所に研究施設を置く。

### (管理部)

第30条 管理部においては、庶務、会計及び施設等に関する事務を処理する。

- 2 管理部に、その所掌事務を分掌させるため、文部大臣が別に定めるところにより、課を置く。
- 3 管理部及びこれに置かれる課に、それぞれ部長及び課長を置き、事務職員をもって充てる。
- 4 部長は所長の命を受け、部の事務を掌理する。
- 5 課長は、上司の命を受け、課の事務を処理する。

### (研究系及び研究部門)

第31条 別表第6の上欄に掲げる研究系に、それぞれ同表の下欄に掲げる研究部門を置く。

- 2 各研究系に研究主幹を置き、教授をもって充てる。
- 3 研究主幹は、所長の命を受け、当該研究系における研究及び研究指導に関し、総括し、及び調整する。

### (技術課)

第32条 技術課においては、技術に関する専門的業務を処理する。

- 2 技術課に、課長を置き、技術職員をもって充てる。
- 3 課長は、所長の命を受け、課の事務を処理する。

### (研究施設)

第33条 研究施設の名称は、別表第7に掲げるとおりとする。

- 2 研究施設に長を置き、教授又は助教授をもって充てる。
- 3 前項の長は、当該研究施設の業務を処理する。

## 別表第6(第31条関係)

## 国立遺伝学研究所の研究部門

研究系の名称	左欄の研究系に置く研究部門
分子遺伝	分子遺伝 変異遺伝 *核酸化学
細胞遺伝	細胞遺伝 微生物遺伝 *細胞質遺伝
個体遺伝	発生遺伝 形質遺伝 *生理遺伝
集団遺伝	集団遺伝 進化遺伝 *理論遺伝
総合遺伝	人類遺伝 育種遺伝 *応用遺伝

## 別表第7(第32条関係)

## 国立遺伝学研究所の研究施設

名	称
系統生物研究センター	
生物遺伝資源情報総合センター	
構造遺伝学研究センター	
生命情報研究センター	
放射線・アイソトープセンター	
実験農場	

## ○大学共同利用機関の内部組織に関する訓令(抄)

(昭和52年4月18日文部省訓令第8号)最終改正 平成9年3月31日

## 大学共同利用機関の内部組織に関する訓令

(管理部等に置かれる部, 課及び室)

第1条 大学共同利用機関(以下「機関」という.)の管理部等に置かれる部, 課及び室は, 次の表に掲げるとおりとする。

機関の名称	部等の名称	課又は室の名称
国立遺伝学研究所	管理部	庶務課 会計課

2 前項に規定する部(管理局に置かれる部に限る。)課及び室の所掌事務に関しては、その機関の長が定め、文部大臣に報告しなければならない。

### ○大学共同利用機関の評議員会及び運営協議員会の運営に関する規程(抄)

(平成元年6月28日文部大臣裁定)最終改正 平成9年3月31日

(趣旨)

第1 大学共同利用機関(岡崎国立共同研究機構及び高エネルギー加速器研究機構に置かれる研究所を含む。以下「機関」という。)に置かれる評議員会及び運営協議員会(以下「評議員会等」という。)の運営については、この規程の定めるところによる。

(会長及び副会長)

第2 評議員会等に会長及び副会長各1人を置く。

2 評議員会の会長及び副会長は、それぞれ評議員が互選する。

3 運営協議員会の会長は、運営協議員のうち当該機関の職員にある者のうちから、副会長は、運営協議員のうち当該機関の職員以外の者のうちから、それぞれ運営協議員会において選出する。

4 会長は、それぞれ評議員会等の会務を総理する。

5 副会長は、それぞれの会長を補佐し、会長に事故があるときはその職務を代理し、会長が欠けたときはその職務を行う。

(招集)

第3 評議員会等は、当該機関の長の求めに応じ、会長がこれを招集する。

(議事)

第4 評議員会等は、それぞれ評議員及び運営協議員の過半数の出席がなければ、議事を開き議決をすることができない。

2 評議員会等の議事は、それぞれ出席した評議員及び運営協議員の過半数をもって決し、可否同数のときは、会長の決するところによる。

### ○大学共同利用機関の長等の選考基準(抄)

(昭和52年5月2日文部大臣裁定)最終改正 平成9年4月1日

(趣旨)

第1 大学共同利用機関(以下「機関」という。)の長(岡崎国立共同研究機構及び高エネルギー加速器研究機構に置かれる研究所の長を含む。以下同じ。)の採用並びに教授、助教授及び助手の採用及び昇任の選考の基準は、これに定めるところによる。

(機関の長の選考基準)

第2 機関の長となることができる者は、次の各号の一に該当する者で、人格が高潔で学識がすぐれ、かつ、教育行政に関し識見を有する者とする。

- 一 博士の学位(外国において授与されたこれに相当する学位を含む。)を有する者で、研究教育上の指導能力があると認められる者
- 二 研究上の業績が前号の者に準ずると認められるもので、研究教育上の指導能力があると認められる者
- 三 機関又は大学(旧大学令(大正7年勅令第388号)による大学を含む。以下同じ。)において教授の経歴のある者
- 四 学術行政に関し、高い識見を有すると認められる者  
(教授の選考基準)

第3 教授となることができる者は、次の各号の一に該当する者とする。

- 一 博士の学位(外国において授与されたこれに相当する学位を含む。)を有する者
- 二 研究上の業績が前号の者に準ずると認められる者
- 三 機関又は大学において教授の経歴のある者
- 四 機関又は大学において助教授の経歴があり、研究教育上の業績があると認められる者
- 五 研究所、試験所、調査所等に10年以上在職し、研究上の業績があると認められる者
- 六 専攻分野について、特に優れた知識及び経験を有し、研究教育上の能力があると認められる者  
(助教授の選考基準)

第4 助教授となることができる者は、次の各号の一に該当するものとする。

- 一 第3に規定する教授となることができる者
- 二 機関又は大学において助教授又は講師の経歴がある者
- 三 機関又は大学において3年以上助手又はこれに準ずる職員としての経歴があり、研究教育上の能力があると認められる者
- 四 修士の学位(外国において授与されたこれに相当する学位を含む。)を有する者で、研究教育上の能力があると認められる者
- 五 研究所、試験所、調査所等に5年以上在職し、研究上の業績があると認められる者
- 六 専攻分野について、優れた知識及び経験を有し、研究教育上の能力があると認められる者  
(助手の選考基準)

第5 助手となることができる者は、次の各号の一に該当する者とする

- 一 学士の学位(外国において授与されたこれに相当する学位を含む。)を有する者
- 二 前号の者に準ずる能力があると認められる者

## ○人事に関する権限の委任等に関する規程(抄)

(昭和32年7月22日文部省訓令)最終改正 平成9年10月17日

**人事に関する権限の委任等に関する規程**

(趣旨)

第1条 任命権、選考の権限その他人事に関する権限の委任等については、法令又は別に定めるもののほか、この規程の定めるところによる。

(任命権)

**第3条**

5 文部大臣は、次の各号に掲げる官職を除き、大学共同利用機関の長に当該機関に属する官職についての任命権を委任する。

一 大学共同利用機関の長、所長(岡崎国立共同研究機構及び高エネルギー加速器研究機構に置かれる研究所の長に限る。)、企画調整官及び企画調整主幹

二 大学共同利用機関の局長、部長(行政職俸給表(一)適用者に限る。)、次長、課長及び室長(行政職俸給表(一)適用者に限る。)

三 大学共同利用機関の評議員及び運営協議員

四 大学共同利用機関に附属する施設の長(高エネルギー加速器研究機構の加速器研究施設の長に限る。)

五 大学共同利用機関の創設準備室の室長、次長及び主幹

12 前各項各号に掲げる官職と同等以上の官職で文部大臣の指定するものについての任命権は、前各項の規定にかかわらず、委任しない。

13 教育公務員特例法施行令(昭和24年政令第6号)第3条の2第3項第1号の規定中「任命権者」とあるのは、教育公務員特例法(昭和24年法律第1号)第8条を準用する場合にあっては、第5項から第8項までの規定にかかわらず、文部大臣をいうものとする。

## ○教育公務員特例法(抄)

(昭和24年1月12日法律第1号)最終改正 平成9年4月9日

**教育公務員特例法****第1章 総則**

(この法律の趣旨)

第1条 この法律は、教育を通じて国民全体に奉仕する教育公務員の職務とその責任の特殊性に基き、教育公務員の任免、分限、懲戒、服務及び研修について規定する。

**第2章 任免、分限、懲戒及び服務****第1節 大学の学長、教員及び部局長**

(採用及び昇任の方法)

第4条 学長及び部局長の採用並びに教員の採用及び昇任は、選考によるものとし、その選考は、大学管理機関が行う。

2 前項の選考は、学長については、人格が高潔で、学識がすぐれ、且つ、教育行政に関し識見を有する者について、大学管理機関の定める基準により、学部長については、当該学部の教授会の議に基き、教員及び学部長以外の部局長については、大学管理機関の

定める基準により、行わなければならない。

(休職の期間)

第7条 学長、教員及び部局長の休職の期間は、心身の故障のため長期の休養を要する場合の休職においては、個々の場合について、大学管理機関が定める。

(任期及び停年)

第8条 学長及び部局長の任期については、大学管理機関が定める。

2 教員の停年については、大学管理機関が定める。

(服務)

第11条 国立大学の学長、教員及び部局長の服務について、国家公務員法(昭和22年法律第120号)第96条第1項の基本基準の実施に関し必要な事項は、同法第97条から第105条までに定めるものを除いては、大学管理機関が定める。

(勤務成績の評定)

第12条 学長、教員及び部局長の勤務成績の評定及び評定の結果に応じた措置は、大学管理機関が行う。

2 前項の勤務成績の評定は、大学管理機関が定める基準により、行わなければならない。

### 第3章 研修

(研修)

第19条 教育公務員は、その職責を遂行するために、絶えず研究と修養に努めなければならない。

2 教育公務員の任命権者は、教育公務員の研修について、それに要する施設、研修を奨励するための方途その他研修に関する計画を樹立し、その実施に努めなければならない。

(研修の機会)

第20条 教育公務員には、研修を受ける機会が与えられなければならない。

2 教員は、授業に支障のない限り、本属長の承認を受けて、勤務場所を離れて研修を行うことができる。

3 教育公務員は、任命権者の定めるところにより、現職のまま、長期にわたる研修を受けることができる。

### 第4章 雑則

(兼職及び他の事業等の従事)

第21条 教育公務員は、教育に関する他の職を兼ね、又は教育に関する他の事業若しくは事務に従事することが本務の遂行に支障がないと任命権者において認める場合には、給与を受け又は受けなくて、その職を兼ね、又はその事業若しくは事務に従事することができる。

2 前項の場合においては、国家公務員たる教育公務員にあっては国家公務員法第101条第1項の規定に基く命令又は同法第104条の規定による承認又は許可を要せず、地方公務員たる教育公務員にあっては地方公務員法第38条第2項の規程により人事委員会が定める許可の基準によることを要しない。

(教育公務員以外の者に対するこの法律の準用)

第22条 国立又は公立の学校において教員の職務に準ずる職務を行う者、文部省に置かれる研究施設、文化施設及び研修施設で政令で定めるもの並びに国立学校設置法(昭和24年法律第150号)第3章の3から第3章の6までに規定する機関の長(同法第3章の3に規定する機関に置かれる研究所で政令で定めるものの長を含む。)並びにその職員のうち専ら研究又は教育に従事する者、並びに国立又は公立の専修学校又は各種学校の校長及び教員については、政令の定めるところにより、この法律の規定を準用する。

### ○教育公務員特例法施行令(抄)

(昭和24年1月12日政令第6号)最終改正 平成9年9月29日

#### 教育公務員特例法施行令

第3条の2 法第22条の政令で定める研究施設、文化施設及び研修施設は、文部省組織令(昭和59年政令第227号)第71条第1項及び第108条に定める施設等機関並びに国立婦人教育会館とする。

2 法第22条の政令で定める研究所は、国立学校設置法施行令(昭和59年政令第230号)第7条第2項第3項の表に掲げる研究所とする。

3 第1項に規定する機関及び国立学校設置法(昭和24年法律第150号)第3章の3から第3章の6までに規定する機関の長(前項に規定する研究所の長を含む。以下この項において同じ。)並びにその職員のうち専ら研究又は教育に従事する者については、法第4条、第7条、第8条、第11条、第12条、第19条、第20条及び第21条中国立学校の学長及び教員に関する部分の規定を準用する。

この場合において、これらの規定中「大学管理機関」とあるのは次の各号の区別に従って読み替え、これらの機関の長及びその職員をそれぞれ学長及び教員に準ずる者としこれらの規定を準用するものとする。

- 一 法第4条第1項及び第8条については、「文部省令で定めるところにより任命権者」
- 二 法第4条第2項、第7条、第11条及び第12条については、「任命権者」

#### 職員数

(平成9年12月31日現在)

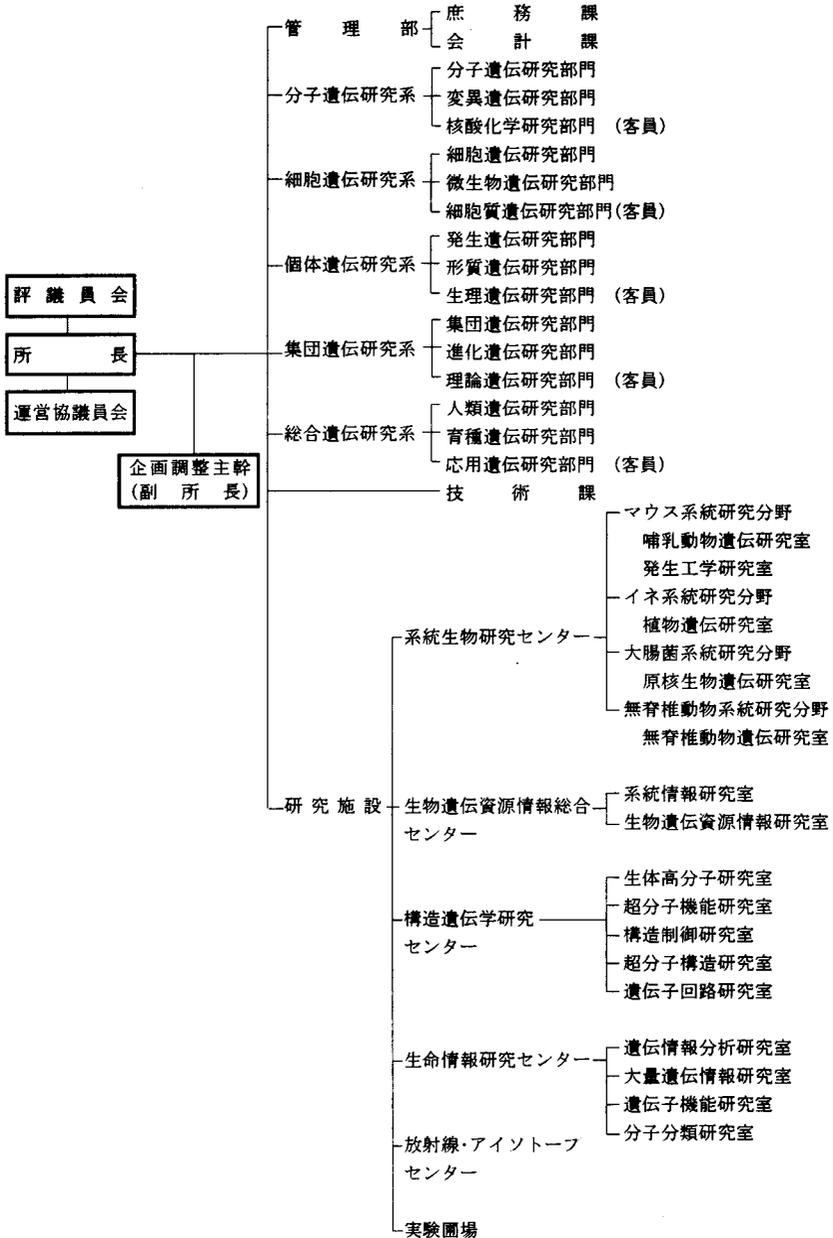
区分	指定職	行政職(一)	教育職(一)	計
定員	1	40	76	117
現在員	1	38(1)	64	103(1)

( )は休職者外数

#### 所長

医学博士 堀田凱樹

機構図 (平成9年12月31日現在)



## 国立遺伝学研究所評議員名簿

(50音順)

(平成9年12月31日現在)

現職	氏名	任年月日	備考
立教大学理学部教授	岩槻邦男	平成8年6月28日	
日本学術振興会理事長	大崎仁	平成8年8月1日	
(株)生命誌研究館顧問	大澤省三	平成8年6月28日	
名古屋大学長	加藤延夫	"	
大阪大学蛋白質研究所教授	京極好正	"	
(財)癌研究会癌研究所長	菅野晴夫	"	
東邦大学長	衫村隆	"	
(財)かずさDNA研究所顧問	高浪満	"	
広島市立大学長	田中隆莊	"	
大阪府立成人病センター総長	豊島久真男	"	
東京大学名誉教授	野島庄七	"	
岡崎国立共同研究機構長	濱清	平成9年4月1日	
お茶の水女子大学ジェンダー研究センター教授	原ひろ子	平成8年6月28日	
前大阪府立大学長	平紗多賀男	"	
総合研究大学院大学長	廣田榮治	"	
(財)国際高等研究所副所長	松原謙一	"	
学習院大学			
生命分子科学研究所長	三浦謹一郎	"	
日本女子大学長	宮本美沙子	"	
岡崎国立共同研究機構基礎生物学研究所長	毛利秀雄	"	
(財)日本生物科学研究所主任研究員	山内一也	"	

## 国立遺伝研究所運営協議員名簿

所外(副会長のほかは50音順)

(平成9年12月31日現在)

官 職 名	氏 名	任命年月日	備 考
筑波大学名誉教授	岡田 益吉	平成8年6月20日	副会長
神戸大学教授(理学部)	磯野 克己	"	
京都大学教授(ウイルス研究所)	伊藤 維昭	"	
東京大学教授(医科学研究所)	勝木 元也	"	
名古屋大学教授(大学院理学研究科)	郷 通子	"	
福岡歯科大学教授(歯学部)	関口 睦夫	"	
東京大学教授(大学院理学系研究科)	田嶋 文生	"	
大阪大学教授(細胞生体工学センター)	花岡 文雄	"	
(株)採種実用技術研究所 常務取締役 研究部長	日向 康吉	"	

所内(会長のほかは省令順)

官 職 名	氏 名	任命年月日	備 考
教授(総合遺伝研究系)	沖野 啓子 (森島)	平成9年4月1日	会 長
教授(分子遺伝研究系)	石濱 明	平成8年6月20日	
教授(細胞遺伝研究系)	小川 智子	"	
教授(個体遺伝研究系)	廣瀬 進	"	
教授(集団遺伝研究系)	池村 淑道	"	
教授(総合遺伝研究系)	今村 孝	平成9年1月16日	
教授(系統生物研究センター)	中辻 憲夫	平成8年6月20日	
教授(構造遺伝学研究センター)	嶋本 伸雄	平成9年4月1日	
教授(構造遺伝学研究センター)	桂 勲	平成8年6月20日	
教授(生命情報研究センター)	五條堀 孝	"	
教授(生命情報研究センター)	舘野 義男	平成9年4月1日	

## 平成9年度 系統保存委員会委員

(所外委員のみ記載)

官 職 名	氏 名
立教大学教授 (理学部)	岩槻 邦 男
筑波大学名誉教授	岡田 益 吉
光塩学園女子短期大学教授	木下 俊 郎
福井県立大学教授 (生物資源学部)	常 脇 恒一郎
福山大学教授 (薬学部)	中田 篤 男
大阪大学教授 (医学部)	野村 大 成
国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター委員遺伝部第三室長	水 沢 博
筑波大学教授 (生物科学系)	山根 國 男
熊本大学教授 (医学部附属遺伝発生医学研究施設)	山村 研 一
京都工芸繊維大学教授 (繊維学部)	渡 邊 隆 夫

## 平成9年度 DNAデータ研究利用委員会委員

(所外委員のみ記載)

官 職 名	氏 名
(財)癌研究会癌研究所物理部長	伊 藤 彬
神戸大学教授 (理学部)	磯野 克 己
農業生物資源研究所遺伝資源第二部DNA管理情報科長	鶴 川 義 弘
京都女子大学教授 (家政学部)	大 井 龍 夫
科学技術振興事業団研究基盤情報部長	小野寺 夏 生
京都大学教授 (化学研究所)	金 久 實
名古屋大学教授 (大学院理学研究科)	郷 通 子
東京大学教授 (医科学研究所)	高 木 利 久
(財)かずさDNA研究所顧問	高 浪 満
国立がんセンター研究所がん情報研究部がん診療支援情報研究室長	水 島 洋
奈良先端科学技術大学	吉 川 寛

## 平成9年度 組換えDNA実験安全委員会委員

(所外委員のみ記載)

官 職 名	氏 名
日本大学教授 (国際関係学部)	青 木 久 尚
日本大学教授 (国際関係学部)	大 泉 光 一

## 研究職員

(平成9年12月31日現在)

部 門 別	官 職 名	学 位	氏 名	任用年月日
所 長	文部教官 所長	医学博士	堀 田 凱 樹	9.10.1
副所長 企画調整主幹(併)	文部教官 教授	農学博士	沖 野 啓 子 (森島)	(8.4.1)

## 分子遺伝研究系 研究主幹(併) 石濱 明

分子遺伝研究部門	文部教官 教授	理学博士	石濱 明	59.4.12
	文部教官 助手	理学博士	藤田 信之	59.8.1
	文部教官 助手	理学博士	光澤 浩	8.2.1
	文部教官 助手	博士(理学)	木村 誠	8.4.1
変異遺伝研究部門	文部教官 助教授	理学博士	山尾 文明	元.9.1
	文部教官 助手	博士(工学)	岸 努	5.4.1
	文部教官 助手	博士(理学)	清野 浩明	6.7.1
核酸化学客員研究部門	非常勤 講師	薬学博士	富澤 純一	9.10.1
	非常勤 講師	理学博士	水本 清久	8.4.1

## 細胞遺伝研究系 研究主幹(併) 小川 智子

細胞遺伝研究部門	文部教官 教授	薬学博士	小川 智子	7.4.1
	文部教官 助教授	理学博士	今井 弘民	42.3.2
	文部教官 助手	医学博士	田中 茂生	7.11.1
	文部教官 助手	博士(医学)	太田 力	8.4.1
微生物遺伝研究部門	文部教官 助教授	理学博士	安田 成一	51.4.1
	文部教官 助手	理学博士	原 弘志	59.4.12
細胞質遺伝客員研究部門	文部教官 教授	医学博士	山村 研一	7.4.1
	非常勤 講師	理学博士	平岡 泰	8.4.1

個体遺伝研究系 研究主幹(併) 廣瀬 進

部 門 別	官 職 名	学 位	氏 名	任用年月日
発生遺伝研究部門	文部教官 教授	理学博士	廣海 健	8.10.1
	文部教官 助教授	Ph. D.	藤澤 敏孝	49.4.1
	文部教官 助手	工学博士	清水 裕	60.6.16
	文部教官 助手	博士(理学)	服田 昌之	4.2.1
	文部教官 助手	博士(医学)	岡部 正隆	9.8.1
形質遺伝研究部門	文部教官 教授	理学博士	廣瀬 進	61.6.1
	文部教官 助教授	農学博士 理学博士	村上 昭雄	40.11.16
	文部教官 助手	理学博士	湊 清	42.5.1
	文部教官 助手	農学博士	山田 正明	40.6.1
	文部教官 助手	農学博士	上田 均	62.10.1
生理遺伝研究部門	文部教官 教授	医学博士	半田 宏	8.4.1
	文部教官 助教授	工学博士	金谷 重彦	9.4.1

集団遺伝研究系 研究主幹(併) 池村 淑道

集団遺伝研究部門	文部教官 助手	理学博士	高野 敏行	5.3.16
進化遺伝研究部門	文部教官 教授	理学博士	池村 淑道	60.4.1
	文部教官 助教授	Ph. D. 博士(理学)	齊藤 成也	3.1.16
	文部教官 助手	博士(農学)	天前 豊明	6.4.1
理論遺伝客員研究部門	非常勤講師	Ph. D. 理学博士	原田 朋子 (太田)	9.4.1
	文部教官 教授	理学博士	石川 統	9.4.1

総合遺伝研究系 研究主幹(併) 今村 孝

人類遺伝研究部門	文部教官 教授	医学博士	今村 孝	61.4.1
	文部教官 助教授	理学博士	藤山秋佐夫	62.12.16
	文部教官 助教授	医学博士	實来 聰	57.9.1
育種遺伝研究部門	文部教官 教授	農学博士	沖野 啓子 (森島)	36.4.1
	文部教官 助手	農学博士	才 宏偉	8.4.1
応用遺伝客員研究部門	文部教官 教授	農学博士	島本 義也	6.4.1
	文部教官 助教授	医学博士	佐々木裕之	7.4.1

## 研究施設

系統生物研究センター センター長(併) 中辻 憲夫

部 門 別	官 職 名	学 位	氏 名	任用年月日
(マウス系統研究分野)				
哺乳動物遺伝研究室	文部教官 助教授	理学博士	城石 俊彦	59. 9. 16
	文部教官 助 手	博士(医学)	小出 剛	7. 4. 1
発生工学研究室	文部教官 教 授	理学博士	中辻 憲夫	3. 9. 1
	文部教官 助 手	理学博士	白吉 安昭	3. 2. 1
	文部教官 助 手	理学博士	齋藤哲一郎	9. 9. 1
(イネ系統研究分野)				
植物遺伝研究室	文部教官 助教授	農学博士	倉田 のり	8. 10. 1
	文部教官 助 手	博士(農学)	伊藤 幸博	7. 4. 1
(大腸菌系統研究分野)				
原核制遺物遺伝研究室	文部教官 助教授	農学博士	西村 昭子	49. 5. 16
(無脊椎動物系統研究分野)				
無脊椎動物遺伝研究室	文部教官 助教授	理学博士	林 茂生	2. 7. 1
	文部教官 助 手	博士(理学)	後藤 聡	7. 4. 1

生物遺伝資源情報総合センター センター長(併) 中辻 憲夫

系統情報研究室	文部教官 助教授	理学博士	山崎由紀子	7. 5. 1
	文部教官 助 手	工学博士	藤田 昌也	6. 4. 1
生物遺伝資源情報研究室				

構造遺伝学研究センター センター長(併) 桂 勲

生体高分子研究室	文部教官 助教授	理学博士	徳永万喜洋	9. 7. 1
超分子機能研究室	文部教官 教 授	理学博士	嶋本 伸雄	63. 7. 16
	文部教官 助 手	理学博士	永井 宏樹	4. 4. 1
	文部教官 教 授	理学博士	桂 勲	3. 12. 1
構造制御研究室	文部教官 助 手	博士(理学)	石原 健	4. 4. 1
	文部教官 助教授	理学博士	白木原康雄	7. 8. 15
超分子構造研究室	文部教官 助 手	理学博士	秋葉 俊彦	8. 9. 16
	文部教官 教 授	理学博士	小原 雄治	元. 3. 1
遺伝子回路研究室	文部教官 教 授	理学博士	小原 雄治	元. 3. 1
	文部教官 助 手	理学博士	安達 佳樹	4. 4. 1

生命情報研究センター センター長(併) 五條堀 孝

部 門 別	官 職 名	学 位	氏 名	任用年月日
遺伝情報分析研究室	文部教官 教授	理学博士	五條堀 孝	58. 9. 1
	文部教官 助手	博士(理学)	池尾 一穂	4. 6. 1
	文部教官 助手	博士(理学)	今西 規	6. 4. 1
大量遺伝情報研究室	文部教官 教授	理学博士	西川 建	7.10. 1
	文部教官 助手	博士(理学)	太田 元規	8. 8. 1
遺伝子機能研究室	文部教官 教授	Ph. D. 理学博士	舘野 義男	63. 4. 1
	文部教官 助手	学術博士	小林 薫 (深海)	8. 4. 1
分子分類研究室	文部教官 教授	工学博士	菅原 秀明	8. 2. 1
	文部教官 助手	博士(理学)	宮崎 智	8. 8. 1

放射線・アイソトープセンター センター長(併) 定家 義人

	文部教官 助教授	理学博士	定家 義人	43. 4. 1
--	----------	------	-------	----------

実験農場 農場長(併) 倉田 のり

	文部教官 助手	博士(農学)	野々村賢一	8.10. 1
--	---------	--------	-------	---------

名誉教授

氏 名	職 名	称号授与年月日
三 浦 謙一郎	学習院大学生命分子科学研究所長	63. 7. 5
松 永 英	元国立遺伝学研究所長	2. 2. 22
黒 田 行 昭	元国立遺伝学研究所教授	2. 7. 9
森 脇 和 郎	総合研究大学院大学副学長	7. 4. 1
杉 山 勉	石巻専修大学理工学部教授	8. 4. 1
瀬 野 悍 二	元国立遺伝学研究所教授	8. 4. 1
堀 内 賢 介	元国立遺伝学研究所教授	9. 4. 1
原 田 朋 子 (太田)	国立遺伝学研究所客員教授	9. 4. 1
富 澤 純 一	国立遺伝学研究所客員教授	9.10. 1

## 名譽所員

氏 名	職 名	称号授与年月日
酒 井 寛 一	元国立遺伝学研究所応用遺伝部長	48. 6. 1
森 脇 大五郎	元国立遺伝学研究所長	50. 3. 13
大 島 長 造	元国立遺伝学研究所生理遺伝部長	54. 4. 1
田 島 彌太郎	元国立遺伝学研究所長	58. 10. 4

## 事務職員（管理部）

職 名	氏 名	任用年月日
管 理 部 長	砂 田 筵	9. 11. 2
庶 務 課 長	當 麻 均	8. 7. 1
会 計 課 長	田 村 光 男	7. 4. 1
庶務課課長補佐	岩 城 英 一	37. 9. 1
会計課課長補佐	佐 藤 隆 司	9. 4. 1
庶 務 係 長	酒 井 清 人	61. 4. 1
人 事 係 長	大 川 淑 子	6. 4. 1
研究協力係長	山 本 勉	45. 4. 1
共同研究係長	村 松 祐	8. 4. 1
情報資料係長	五 条 寿 久	9. 4. 1
總 務 係 長	八 木 悟 司	6. 4. 1
經 理 係 長	引 地 光 夫	7. 4. 1
用 度 係 長	岩 崎 久 治	9. 4. 1
管 財 係 長	滝 田 公 一	7. 4. 1
施 設 係 長	前 田 佳 宏	4. 4. 1
庶 務 主 任	新 田 清 隆	5. 1. 1
庶 務 主 任	長 澤 明 子(休)	50. 3. 15
人 事 主 任	八 木 正 行	8. 4. 1
共同研究主任	岩 田 英 子	48. 3. 1
總 務 主 任	橋 本 登	9. 10. 1
經 理 主 任	松 永 幸 夫	7. 4. 1
用 度 主 任	土 屋 雅 義	7. 4. 1
施 設 係 員	上 田 敏 史	4. 4. 1
共同研究係員(併)	佐 藤 恭 子	7. 4. 1

## 技術職員（技術課）

職名	氏名	任用年月日
技術課長	三田 旻彦	35. 7. 20
動物班長	深瀬 与惣治	32. 8. 1
植物・微生物班長	妹尾 治子	38. 1. 1
機器班長	榊原 勝美	34. 6. 1
動物班第一技術係長		
動物班第二技術係長	境 雅子	47.12. 5
植物・微生物班第一技術係長	永口 貢	63. 4. 1
植物・微生物班第二技術係長	石井 百合子	39. 7. 1
機器班第一技術係長	谷田 勝教	63. 4. 1
機器班第二技術係長	原 登美雄	46. 9. 1
動物班第一技術係員	谷口 美佐子	9. 4. 1
動物班第二技術係員	芦川 東三夫	36. 4. 16
動物班第二技術係員	中村 紀美代	9. 4. 1
植物・微生物班第一技術係員	宮林 登志江	2. 4. 1
植物・微生物班第二技術係員	芦川 祐毅	35. 4. 1
植物・微生物班第二技術係員	笹沼 明美	9. 4. 1
機器班第二技術係員	最 美 あかね	8.11. 1

## 退職者 転出者等

職名	氏名	在職期間	備考
技術課動物班長	原田 和昌	昭34. 4. 1～ 平 8.12.31	退職
総合遺伝研究系助手	出原 賢治	平 6. 7. 1～ 平 8.12.31	九州大学医学部 附属病院検査部助手へ
細胞遺伝研究系助手	東谷 篤志	平 2. 3. 1～ 平 9. 2.28	東北大学 遺伝生態研究センター助教授へ
細胞遺伝研究系教授	堀内 賢介	平 1. 9. 1～ 平 9. 3.31	停年退職
集団遺伝研究系教授	原田 朋子 (太田)	昭44. 4. 1～ 平 9. 3.31	停年退職
技術課機器班長	原 雅子	昭30. 6. 2～ 平 9. 3.31	定年退職
集団遺伝研究系助手	伊奈 康夫	平 6.10. 1～ 平 9. 3.31	退職

職 名	氏 名	在職期間	備 考
動物班第二技術係員	山本 博	平 3. 4. 1 ~ 平 9. 3. 31	辞職
細胞遺伝研究系助手	後藤 英夫	平 1. 7. 1 ~ 平 9. 3. 31	農林水産省家畜衛生試験場 生体防御研究部主任研究官へ
会計課課長補佐	大野 修	平 7. 4. 1 ~ 平 9. 3. 31	名古屋大学学務部 学務課課長補佐へ
庶務課情報資料係長	大沢 正男	平 6. 4. 1 ~ 平 9. 3. 31	東京大学附属図書館 サービス課開架閲覧掛長へ
会計課用度係長	板倉 幸男	昭 6. 4. 1 ~ 平 9. 3. 31	静岡大学理学部会計係長へ
動物班第一技術係長	杉本 典夫	昭 37. 11. 1 ~ 平 9. 8. 22	死亡
所長	富澤 純一	平 1. 10. 1 ~ 平 9. 9. 30	任期満了
系統生物研究センター助手	金丸 研吾	平 5. 9. 1 ~ 平 9. 9. 30	東京大学 分子細胞生物学研究所助手へ
管理部長	黒田 英雄	平 8. 4. 1 ~ 平 9. 11. 1	長崎大学庶務部長へ
集団遺伝研究系助手	松本 健一	昭 63. 4. 1 ~ 平 9. 11. 30	北海道大学薬学部助教授へ

## 平成9年度外国人研究員の受け入れ

氏 名	所 属	研 究 課 題	受入れ研究部門	研究期間
Alexeev Andrei Alexeevich	ロシアセントピーターズブル グ核物理学研究所 研究員	減数分裂期組換え に関する蛋白質 機能の解析	細胞遺伝研究部門	平 8. 5. 30 ~ 平 9. 5. 29
Jindra Marek	チェコ科学アカデミー 昆虫学研究所 博士研究員	転写因子FTZ-F1 に関する研究	形質遺伝研究部門	平 9. 1. 6 ~ 平 9. 12. 29
Wlassoff Wjatschesslaw A.	ロシア科学アカデミー 細胞学遺伝学研究所 上級研究員	転写装置における 分子間コミュニケーション の解明	分子遺伝研究部門	平 9. 9. 10 ~ 平 10. 9. 9
Ozoline Olga N.	ロシア科学アカデミー 細胞生物物理学研究 所上級研究員	転写装置の分子動 態の解明	分子遺伝研究部門	平 9. 9. 16 ~ 平 10. 2. 15

## 大学院学生（特別共同利用研究員）

氏名	研究課題	所属	受入期間
川崎陽久	ショウジョウバエ転写因子FTZF1のターゲット遺伝子に関する研究	岩手大学大学院	1996. 10. 1～
		連合農学研究科 (博士課程)	1997. 6. 30
上田佳宏	野生マウスにおけるSox遺伝子の地理的分布	福山大学大学院	1997. 4. 1～
		工学研究科 (博士課程)	1997. 10. 31
秋本正博	アマゾン河流域に分布する野生イネ ( <i>Oryza glumepetala</i> ) の系統分化に関する研究	北海道大学大学院	1997. 4. 1～
		農学研究科 (博士課程)	1998. 3. 31
清水邦彦	骨形成以上を示すマウス(Ts)のボジショナルクロウニング	日本大学大学院	1997. 4. 1～
		松戸歯学研究科 (博士課程)	1997. 9. 30
菅野靖彦	マウス生殖巣などの発生分化機構に関する研究	埼玉大学大学院	1997. 4. 1～
		理工学研究科 (博士課程)	1998. 3. 31
深見裕伸	ミドリイシ属 (Acropora) サンゴの雑種形成と種分化についての研究	東京水産大学大学院	1997. 4. 1～
		水産学研究科 (博士課程)	1998. 3. 31
久保田一政	ショウジョウバエの形態形成に関する研究	東京医科歯科大学	1997. 4. 1～
		大学院歯学研究科 (博士課程)	1998. 3. 31
岡部恵子	ショウジョウバエ視細胞の運命決定に関わる新規遺伝子の単離	筑波大学大学院	1997. 10. 1～
		医科学研究科 (修士課程)	1998. 3. 31

## 受託研究員

氏名	所属会社名又は機関名	研究題目	受入れ研究部門等	研究期間
石黒 達治	キリンビール株式会社 基盤技術研究所	DNA データベースを 用いた分子進化学的研究	生命情報研究セン ター	1997. 4. 1～ 1997. 9. 30
宮林 朋之	旭化成工業株式会社 ライフサイエンス基礎 研究所	C. elegans を用いた 遺伝子機能解析	構造遺伝子研究セン ター	1997. 4. 1～ 1997. 8. 31
福田 達也	中外製薬株式会社 富士御殿場研究所	マウス個体を用いた 突然変異検出系の開発	系統生物研究セン ター	1997. 5. 1～ 1997. 9. 30 1997. 10. 28～ 1998. 3. 31

## 研究生

氏名	受入研究部門	受入期間
高橋 良知	形質遺伝研究部門	1996. 7. 1～1997. 6. 30
廉 勝 植	発生遺伝研究部門	1997. 4. 1～1997. 6. 30
寺社下 美 樹	分子遺伝研究部門	1997. 4. 1～1998. 3. 31
野村 扶	分子遺伝研究部門	1997. 4. 1～1998. 3. 31

## C. 土地及び建物

(平成9年12月31日現在)

土地総面積	105,312 m <sup>2</sup>
(内訳) 研究所敷地	96,069 m <sup>2</sup>
宿舎敷地	9,243 m <sup>2</sup>
建物総面積(建面積)	12,574 m <sup>2</sup>
(延べ面積)	26,163 m <sup>2</sup>

## 建物内訳

区 分	構 造	面 積	
		建面積 (m <sup>2</sup> )	延べ面積 (m <sup>2</sup> )
本館	鉄筋コンクリート造り3階建	1,602	4,763
自動車車庫	木造かわらぶき平屋建	52	52
公務員宿舎(21棟)	木造かわらぶき平屋建	1,250	1,250
放射線実験室	鉄筋平屋建一部地下室	392	535
特別蚕室	ブロック造り一部地下	194	218
ボイラー室	鉄骨造り平屋建	97	97
研修室・講堂	鉄筋コンクリート造り2階建 屋根鉄板葺	233	465
渡り廊下	鉄骨造り屋根防水モルタル塗	8	8
孵卵育雛舎	鉄筋コンクリート造り平屋建	290	290
ファイロン温室(2棟)	鉄骨造りファイロン張平屋建	284	284
堆肥舎	鉄筋造波型スレート葺平屋建	128	128
鶏糞処理場	ブロック造り平屋建	6	6
表温室	鉄骨一部補強コンクリート ブロック造り平屋建	146	146
図書館	鉄筋コンクリート造り3階建	258	803
ネズミ飼育舎	鉄筋コンクリート造り平屋建	539	557
水源ポンプ小屋	鉄骨造り平屋建	5	5
内部照射実験棟及び附属棟	鉄骨コンクリート造り平屋建	591	645
ペレット温室	鉄骨造り平屋建ガラス張	93	93
系統生物研究センター	鉄筋コンクリート造り2階建	370	739
機械棟	鉄骨造り平屋建	380	380
廃棄物保管庫	鉄筋コンクリート造り平屋建	46	46
ネズミ附属棟	〃	388	388
カイコ附属棟	〃	254	254
微生物附属棟	〃	263	263
廃水処理棟	〃	56	56
組換えDNA実験棟	鉄筋コンクリート造り2階建	79	158
野生イネ温室	鉄骨平屋建一部鉄筋コンクリート	185	185

動物飼育装置上屋	鉄骨平屋建	32	32
実験圃場管理棟	鉄筋コンクリート造り平屋建	407	407
焼却炉上屋	鉄筋造波型スレート葺平屋建	22	22
構造遺伝学研究センター棟	鉄筋コンクリート造り5階建	446	1,855
隔離温室	鉄筋コンクリート造及鉄骨造平屋建	300	300
水田温室	鉄筋コンクリート造及鉄骨造平屋建	183	183
桑温室	鉄骨造及鉄筋コンクリート造平屋建	305	305
R I 実験棟	鉄筋コンクリート造り5階建	563	2,382
中央機械室	鉄筋コンクリート造り平屋建	344	346
R I ポンプ室	〃	30	30
テニスコートシャワー室	鉄筋コンクリート造り平屋建	11	11
屋外便所	ブロック造り平屋建	5	5
研究員宿泊施設	鉄筋コンクリート造り3階建	346	807
廃棄物保管庫	ブロック造り平屋建	58	58
研究実験棟	鉄骨鉄筋コンクリート造り7階建	561	3,907
渡り廊下	鉄骨造り	41	41
電子計算機棟	鉄筋コンクリート造り3階建	347	1,064
系統生物研究センター棟	鉄筋コンクリート造り4階建	384	1,594
計		12,574	26,163

D. 予 算 (平成9年度当初予算(項)研究所)

人件費	871,992(単位:千円)
物件費	2,246,514
合計	3,118,506

E. 奨学寄附金・受託研究費

平成9年度奨学寄附金受入

奨学寄附金 56,854 千円

寄附者の住所、職業及び氏名 (法人の場合は、法人名、主たる 事務所の所在地及び代表者名)	寄 附 金 歳 入 納 付 額	寄 附 の 目 的 及 び 条 件	備 考
東京都江戸川区北葛飾西一丁目16番 13号 第一製薬株式会社創薬第一研究所 所長 早川 勇夫	1,000,000円	インフルエンザウイルス・ RNAポリメラーゼに関する 研究助成のため	
神奈川県横浜市金沢区福浦一丁目13 番5 麒麟ビール株式会社 所長 高 梁 禮 介	1,000,000円	生命情報研究活動支援のた め	
静岡県三島市谷田1111 国立遺伝学研究所 細胞遺伝研究部門 太田 力	1,450,000円	組換え蛋白質複合体の精製 と機能解析についての研究 助成のため	
福島市松川町美郷四丁目1番地の1 株式会社創薬技術研究所 代表取締役 森 岡 茂 夫	1,000,000円	インフルエンザウイルス増 殖機構の研究助成のため	
大阪市淀川区十三本町二丁目17番85号 武田薬品工業株式会社 創薬研究本部 創薬研究本部長 目 黒 寛 司	1,000,000円	発生工学研究室に対する研 究助成	
静岡県三島市谷田1111 国立遺伝学研究所 細胞遺伝研究部門 小川 智子	6,635,378円	組換え、複製、修復反応で働 く、DNA-蛋白質複合体の研 究への研究助成のため	
静岡県三島市谷田1111 国立遺伝学研究所 細胞遺伝研究部門 太田 力	7,868,000円	真核生物におけるDNAダ メージの組換修復の研究	
東京都港区東新橋1-1-19 株式会社ヤクルト本社 代表取締役社長 堀 澄 也	2,000,000円	国際シンポジウム関連経費 の助成金	

静岡県三島市谷田1111 国立遺伝学研究所 所長 富澤 純一	4,250,000円	国際シンポジウム開催に関する補助
神奈川県川崎市中原区上小田中4-1-1 富士通株式会社 代表取締役社長 関澤 義	25,000,000円	生命情報に関する研究の推進及び国際交流、国際シンポジウム等の研究活動助成のため
東京都中央区日本橋室町二丁目2番1号 東レ株式会社 代表取締役社長 平井 克彦	1,000,000円	国際シンポジウム「遺伝子機能から細胞分化へ」協賛金として
静岡県三島市谷田1111 国立遺伝学研究所 発生遺伝研究部門 服田 昌之	450,000円	短期国際共同研究
東京都渋谷区恵比寿四丁目20番1号 財団法人 サッポロ生物科学振興財団 理事長 荒川 和夫	1,000,000円	イネのエンハンサートラップ系統の作出の研究に対する助成
静岡県三島市谷田1111 国立遺伝学研究所 細胞遺伝研究部門 小川 智子	1,500,000円	遺伝子組み換え機構の解析—組換え蛋白質の機能と、組換え遺伝子の発現制御機構—
東京都港区芝大門一丁目12番16号 財団法人 住友財団 理事長 浦上 敏臣	1,200,000円	ヒドラの発生を制御するペプチド性シグナル分子の同定と機能解析の研究
大阪府吹田市古江台六丁目2番3号 株式会社生物分子工学研究所 常務取締役研究所長 志村 令郎	500,000円	細胞同期調節系の分子遺伝学的解析研究に対する助成
合 計	56,853,378円	

## 平成9年受託研究受入

受託研究費 134,504千円

受託研究題目	代表者・所属・氏名	受託研究期間	受託研究 依頼者	当該年度の 受入金額(円)
ゲノム全遺伝子の発 現ヒエラルキー決定 機構の解明	分子遺伝研究部門 教授 石濱 明	自 1997. 4. 1 至 1998. 3. 31	科学技術振興 事業団	8,421,000
神経回路網形成に関 与する新たな遺伝子 の同定	発生遺伝研究部門 教授 広海 健	自 1997. 4. 1 至 1998. 3. 31	科学技術振興 事業団	1,000,000
線虫全発生過程の遺 伝子発現プログラム	構造遺伝学研究中心 教授 小原雄治	自 1997. 4. 1 至 1998. 3. 31	科学技術振興 事業団	15,737,000
発生におけるハター ン形成機構	系統生物研究センター 助教授 林 茂 生	自 1997. 4. 1 至 1998. 3. 31	日本学術振興 会	40,172,000
エイズワクチン及び その評価動物モデル の開発におけるウイル スの遺伝子解析と データベースの構築 に関する研究	生命情報研究センター 教授 五條堀 孝	自 1997. 4. 1 至 1998. 3. 31	医薬品副作用 被害救済・ 研究振興調査 機構	5,000,000
ENU, Chlorambucil- mutagenesis による 高発がん感受性マウ ス系統の開発と未知 のがん感受性遺伝子 の単離, 同定の研究	系統生物研究センター 助教授 城石俊彦	自 1997. 4. 1 至 1998. 3. 31	医薬品副作用 被害救済・ 研究振興調査 機構	10,000,000
初期胚細胞系列に由 来する幹細胞の制御 機構の研究	系統生物研究センター 教授 中辻憲夫	自 1997. 9. 1 至 1998. 3. 31	理化学研究所	4,933,000
転写における生体ナ ノ機構の実験系の開 発	構造遺伝学研究中心 教授 嶋本伸雄	自 1997. 9. 3 至 1998. 3. 19	農業生物資源 研究所	8,678,000
筋ジストロフィー及 び関連疾患の臨床病 態と治療法に関する 研究	人類遺伝研究部門 助教授 寶 来 聡	自 1997. 9. 24 至 1998. 3. 31	国立精神・神 経センター	900,000

受託研究題目	代表者・所属・氏名	受託研究期間	受託研究 依頼者	当該年度の 受入金額(円)
胎子生殖細胞と生殖細胞株を使った発生工学技術の開発	系統生物研究センター 教授 中辻憲夫	自 1997. 10. 20 至 1998. 3. 31	生物系特定産業技術研究推進機構	22, 733, 000
gcnAタンパクの転写調節機能	所長 堀田凱樹	自 1997. 10. 21 至 1998. 3. 31	科学技術振興事業団	5, 000, 000
培養生物を対象とする情報共有・解析システムに関する研究	生命情報研究センター 教授 菅原秀明	自 1998. 1. 5 至 1998. 3. 31	科学技術振興事業団	11, 930, 000
合 計				134, 504, 000

## F. 日 誌

2月26日	第56回運営協議員会
3月25日	第28回評議員会
4月19日	一般公開
6月17日	第57回運営協議員会
6月23日	第29回評議員会
7月29日	第58回運営協議員会
9月15日	国際シンポジウム
～19日	
9月26日	第59回運営協議員会
10月18日	公開講演会
11月26日	第60回運営協議員会

## 教 授 会 議

1月28日	第234回	2月10日	第235回
2月25日	第236回	3月11日	第237回
4月8日	第238回	4月22日	第239回
6月3日	第240回	7月1日	第241回
9月9日	第242回	9月24日	第243回
10月14日	第244回	10月28日	第245回
11月11日	第246回	11月25日	第247回
12月9日	第248回	12月24日	第249回

## 外国からの主な来訪者

1月26日～2月13日	J.Gowrishankar,Center for Cellular Molecular Biology, India
2月14日～22日	Robert Steele,University of California Irvine,U.S.A.
1月27日～29日	Robert P.Gunsalus,University of California,Los-Angeles,U.S.A.
1月28日～29日	A.M.Chakrabarty,University of Illinois, Chicago, Chicago,Illinois,U.S.A.
2月12日～3月7日	Dipankar Chatterji, Centre for cellular and Molecular Biology,India
2月12日～3月31日	Jeffrey T.Owens,University of California, Davis, U.S.A.
2月23日～25日	D.Balasubramanian, Centre for Cellular and Molecular Biology,India
3月10日～4月27日	Talat Malik,University of Nottingham, Nottingham, U.S.A.
3月18日～19日	Kirsten Fischer Lindahl,Howard Hughes Medical Institute U.T.Southwestern Medicine Center,U.S.A.
3月19日～6月1日	Masatoshi Nei,Pennsylvania State University,U.S.A
3月24日	Joseph G.Culotti,Samuel Lunenfeld Research Institute Mt.Sinai Hospital,Canada
3月30日～4月11日	Michael P.Sarras Jr,University of Kansas Medical Center,U.S.A.
4月1日～	曲 章義, 哈爾濱医科大学, 中国
4月4日～5日	Antonio Garcia-Bellido,Universidad Autonoma de Madrid,Spain
4月7日	Gerald Selzer,National Science Foundation, Arlington,U.S.A.
4月7日	Machi F Dilworth,National Science Foundation, Arlington,Virginia,U.S.A.
4月10日～11日	Walter J.Gehring,University of Basel,Switzerland
4月14日～15日	Delill S.Nasser,National Science Foundation Program, U.S.A.
4月24日～5月21日	Goonnapa Fucharoen,Khon Kaen University,Thailand
5月18日～6月13日	J.Bown,University of Birmingham,School of Bio-chemistry,UK
5月20日～21日	Andrew G.W.Leslie,MRC Laboratory of Biology,UK
5月22日～6月15日	Kan Ohno,Beckman Research Institute of the City of

		Hope, U.S.A.
6月18日～	8月14日	Dan Graur, Tel Aviv University, Israel
6月21日～	25日	Matthew Bellgard, Murdoch University, Australia
7月9日～	10日	Alisa S.W.Shum, The Chinese University of Hong Kong, Hong Kong
7月28日～	8月3日	Dipankar Chatterji, Center of Cellular and Molecular Biology, India
7月28日～	9月7日	Kakoli Mukherjee, Center of Cellular and Molecular Biology, India
8月4日～	26日	Giorgio Bernardi, Laboratoire de Genetique Moleculaire Institut Jacques Monod, France
8月18日～	20日	Alberto Bernardi, Laboratoire de Genetique Moleculaire Institut Jacques Monod, France
9月9日～	12月7日	Taciana Kostionkovitch, Edinburg University, UK
9月9日～	10月3日	Richard Hayward, Edinburg University, UK
9月24日～	10月7日	Juncai Ma, Chinese Academy of Sciences, The Institute of Microbiology, China
10月4日～	11月3日	Noboru Sueoka, University of Colorado at Boulder, U.S.A.
10月14日～	15日	Akira Chiba, University of Illinois, U.S.A.
10月27日		Holling Worth, R., University of Wisconsin Madison, Madison, Wisconsin, U.S.A.
11月4日～	5日	Susan Strome, Indiana University, U.S.A.
11月5日～	6日	Lev Kisselev, Laboratory of Molecular Bases of Oncogenesis Engelhardt Institute of Molecular Biology, Moscow
11月12日～	14日	Paul Lasko, McGill University, Canada
11月19日～	20日	Hiroyuki Matsumoto, University of Oklahoma Health Sciences Center, Oklahoma, U.S.A.
11月21日～	22日	Yasuhide Furuta, Vanderbilt University School of Medicine, Nashville, TN, U.S.A.
11月25日～	28日	Lynn M. Riddiford, University of Washington, Seattle, WA, U.S.A.
11月25日～	28日	James W. Truman, University of Washington, Seattle, WA, U.S.A.
12月3日～	4日	Steve D.M. Brown, MRC Mouse Genome Centre, Harwell, OX, ORD, UK
12月8日		Barry Honig, Columbia University, U.S.A.
12月8日～	9日	Tom Blundell, University of Cambridge, U.K

12月10日～	11日	Michael Waterman, University of Southern California, U.S.A.
12月15日		Sherman M. Weissman, Yale University school of medicine, CT, U.S.A.

## G. 諸 会

研究活動を促進するために次の会を行う。

## 内部交流セミナー

研究所内における研究経過を討論する会で、盛夏の時期を除き毎週金曜日に開かれる。

第497回	1月10日	高次脳機能とゲノム刷り込みの機構に関する一考察（今村孝）
第498回	1月17日	転写開始前に調節されるRNAポリメラーゼII伸長活性（半田宏）
第499回	1月24日	1. 同義置換数と非同義置換数の相関（伊奈康夫） 2. 遺伝子転写ヒエラルキー決定機構（石浜明）
第500回	3月7日	小型ファージをめぐって（堀内賢介）
第501回	3月14日	オルガネラゲノムからみたGlycine属Soja亜属植物の系統進化—栽培ダイズの起源を探る—（島本義也）
第502回	3月14日	mRNA キャッピングシステムの機能解析（水本清久）
第503回	3月21日	染色体と細胞核のダイナミクス（平岡泰）
第504回	3月28日	1. 分裂酵母RNAポリメラーゼIIのサブユニット間および他の因子との相互作用：遺伝学的アプローチ（光澤浩） 2. 大腸菌の細胞分裂の時期決定機構（西村昭子）
第505回	4月11日	1. ABO式およびRh式血液型遺伝子の進化（斎藤成也） 2. クロレラ葉緑体遺伝子chl Iの転写産物の解析とシャクジモにおけるchl I遺伝子の存在場所の同定（濱田玲）
第506回	4月18日	パイオインフォマティクス：生物多様性研究の観点から（菅原秀明）
第507回	4月25日	1. 一斉産卵を通じたサンゴの進化（服田昌之） 2. 線虫C. elegansの神経回路における情報処理機構へのアプローチ—リガンド作動性クロライドチャネルの発現様式と遺伝子破壊の解析から—（藤原学）
第508回	5月2日	1. 近縁生物種間の比較からの相互作用の検出（高野敏行） 2. 線虫C. elegansの生体リズムに影響を及ぼすフッ素イオン

## 耐性変異 (武内昌哉)

- 第509回 5月9日 1. 線虫*C. elegans*の介在神経の機能の遺伝学的解析(石原健)  
2. 大腸菌の細胞分裂欠損株 *ftsE(ts)*の増殖停止機構(輪飼英樹)
- 第510回 5月16日 1. ショウジョウバエ気管形成での転写因子と細胞接着分子(亦勝実穂)  
2. 初期胚において poly(A) tail の長さが調節される線虫 *C. elegans* の母性 mRNA についての研究(大浪修一)
- 第511回 5月23日 1. periplasmic binding proteinファミリー間の系統関係(深海薫)  
2. マウス生殖細胞と体細胞の性分化制御機構: 性分化に関わる遺伝子の探索(田村 勝)
- 第512回 5月30日 1. 自殖弱勢と他殖弱勢: 交配システムの進化を考える(森島啓子)  
2. ヒトMHC(HLA)領域におけるG+C%ドメイン構造の解析; GC含量と機能的区分の対応, 並びに新たに見出された代謝型GABA受容体遺伝子について(山形哲司)
- 第513回 6月6日 1. 遺伝子の起源を探る(館野義男)  
2. 分裂酵母RNAポリメラーゼIIのサブユニット3(Rpb3)の構造と機能の解析(安井 深)
- 第514回 6月13日 1. MRE11蛋白質の機能解析(太田 力)  
2. マウスTail-short(Ts)変異にみられる形態形成異常の遺伝的背景効果(石島淳子)
- 第515回 6月20日 1. RNAポリメラーゼIIの部分乖離複合体の単離(木村 誠)  
2. マウス始原生殖細胞の増殖制御から, 雌雄配偶子への分化開始の制御機構(中辻憲夫)
- 第516回 6月27日 1. G1サイクリンのユビキチン化のモデルについての考察(岸努)  
2. カイコにおける幼虫生長期の反復延長現象について(村上昭雄)
- 第517回 7月4日 1. 大腸菌のtail-specific protease Prcの標的となっている細胞壁分解酵素(原 弘志)  
2. 線虫*C. elegans*の神経機能・行動の遺伝学的解析(桂 勲)
- 第518回 7月11日 1. 線虫*C. elegans*のT-boxファミリー遺伝子*tbx-9*の機能解析(安達佳樹)  
2. RNAポリメラーゼの浪費癖: abortive synthesisの機構と

推定される役割 (嶋本伸雄)

- 第 519 回 7 月 18 日 1. イネの進化に関する遺伝子の QTL 解析 (才 宏偉)  
2. マウス Notch-4 の発現と機能 (白吉安昭)
- 第 520 回 7 月 25 日 1. イネ生殖細胞形成から初期胚発生までの遺伝的制御と染色体動態を追う (倉田のり)  
2. Rad51 蛋白質の組換え反応に於ける Rad52 の役割 (小川智子)
- 第 521 回 9 月 5 日 1. 植物人工染色体の構築に向けて (野々村賢一)  
2. 高等動物の染色体 DNA の核内配置を決める分子機構 ; 3 重鎖を含む Non-B 型 DNA 構造の役割を中心として (池村淑道)
- 第 522 回 9 月 12 日 1. Information dynamics の遺伝子解析への適用 (宮崎 智)  
2. 細胞分裂期の開始および終了に関するユビキチン転移酵素 UbcP4 (清野浩明)
- 第 523 回 9 月 26 日 長屋と店子 (富澤純一)
- 第 524 回 10 月 3 日 グロビン保存残基は構造的 (または機能的) 要請の結果か? (太田元規)
- 第 525 回 10 月 17 日 1. マウス MHC クラス III 領域の構造及び細胞外マトリックス・テネイシン X の機能の解析について (松本健一)  
2. 転写コアクチベーター MBF1 の機能ドメイン (広瀬 進)
- 第 526 回 10 月 24 日 1. イネ初期胚発生過程で発現するホメオボックス遺伝子 (伊藤幸博)  
2. ショウジョウバエ肢の近遠軸形成 (後藤 聡)
- 第 527 回 11 月 7 日 1. 脳機能解析への野生由来マウス系統の利用 (小出 剛)  
2. 進化的に保存されたアミノ酸配列の意義について (広海 健)
- 第 528 回 11 月 14 日 1. ポストゲノムシーケンスの総合戦略: 線虫 *C. elegans* ゲノムの機能解析 (小原雄治)  
2. カイコ MBF2 の発現パターン of の解析とクワコ, ヒマ蚕 MBF2 の homolog のクローニング (劉 慶信)
- 第 529 回 11 月 21 日 1. DNA 複製タイミングを指標とした染色体構造の解析 (天前 豊明)  
2. 生命科学用語データベースとレビュー情報データベース (藤田信之)
- 第 530 回 11 月 28 日 1. 進化過程における昆虫の完全変態機構の成立について (湊 清)  
2. 昆虫の変態期における遺伝子の時期特異的な発現制御 (上田 均)
- 第 531 回 12 月 12 日 1. 大腸菌転写活性化因子 PhoB の結晶化実験 (秋葉俊彦)

## 2. 細胞周期制御における蛋白質分解経路 (山尾文明)

**Biological Symposium**

- 第488回 1月29日 Anaerobic and Nirate Control of Respiratory Pathway Gene Expression in *Escherichia coli*(Robert P.Gunsalus)
- 第489回 2月17日 Correct kinetic measurement by surface plasmon resonance:principle and limitation of Biacore(Peter Schuck)
- 第490回 2月21日 "Dissecting Hydra Development Using Molecular Biology"(Robert E.Steele)
- 第491回 2月24日 Molecular Changes in the Eye Lens during Aging and in Cataract(D.Balasbramanian)
- 第492回 3月18日 "Organization and function of MHC class Ib genes"(Kirsten Fischer Lindahl)
- 第493回 3月24日 "Molecular mechanisms of axon guidance and cell migrations in an invertebrate spinal cord- the nematode *C.elegans*"(Joseph G.Culotti)
- 第494回 4月4日 "Drosophila Wing Morphogenesis"(Antonio Garcia- Bellido)
- 第495回 4月9日 "Cell/Extracellular Matrix Interactions in *Hydra vulgaris*"
- 第496回 4月10日 Genetic Control of Morphogenesis and Evolution of the Eye(Walter J.Gehring)
- 第497回 3月21日 The structure and function of bovine mitochondrial F1-ATPase;An example of rotational catalysis(Andrew G.W.Leslie)
- 第498回 6月2日 Role of General and Gene-Specific Co-activators in Transcription Regulation(Robert G.Regulation)
- 第499回 6月27日 "Molecular Insight into Origin and Composition of Microbial Communities"(James M.Tiedje)
- 第500回 7月9日 The Role of Apoptosis in the Pathogenesis of Sacral Agenesis(Alisa S W Shum)
- 第501回 6月22日 Chlorophyll and Bacteriochlorophyll:Theory and Experiment in Unison(Ian Gould)
- 第502回 8月11日 "Mammalian Molecular Phylogeny:Everything you know is wrong"(Dan Graur)
- 第503回 9月12日 Coupling of Local DNA Topology to *tyrR* Promoter Activity (Andrew Travers)
- 第504回 10月8日 Molecular mechanisms involved in specific recognition of pathogens in plants (Fumiaki Katagiri)
- 第505回 10月15日 Molecular mechanisms of synaptic initiation:how postsyn-

- apic cells talk back to presynaptic cells(Akira Chiba)
- 第506回 11月4日 "Maternal Factors That Guide Early Development Of The Germline In C.elegans."(Susan Strome, Ichiro Kawasaki)
- 第507回 11月5日 "Translation termination in higher eukaryotes:news and views"(Lev Kisselev)
- 第508回 11月12日 "Germ Line Establishment in Drosophila melanogaster" (Paul Lasko)
- 第509回 11月19日 Beyond Genomes:Emerging Role of Mass Spectrometry in Proteome Studies(Hiroyuki Matsumoto)
- 第510回 11月21日 "Role of Bone Morphogenetic Proteins (BMPs) in Forebrain and Eye Development"(Yasuhide Furuta)
- 第511回 11月27日 Neurohormone Cascades:A Mechanism for Controlling Behavioral Sequences in Insects(James W.Truman)
- 第512回 11月27日 Orchestration of Insect Molting and Metamorphosis:Hormonal Regulation and Molecular Switches(Lynn M.Riddiford)
- 第513回 12月3日 "The Myosin VIIA Deafness Gene-Genetic and Functional Analysis in Mouse and Human"(Steve D.M.Brown)
- 第514回 12月8日 "Electrostatic Properties of Biological Macromolecules" (Barry Honig)
- 第515回 12月9日 "Structure-based design"(Tom Blundell)
- 第516回 12月10日 "Biological Database Searching and Statistical Significance"(Michael S.Waterman)
- 第517回 12月15日 Transcriptional Behavior of Neutrophil White Blood Cells (Sherman M.Weissman)

### 三島遺伝談話会

- 第501回 1月8日 Department of Biology Massachusetts Institute of technology(Junichiro Horiuchi)
- 第502回 1月16日 New methods for molecular manipulation of DNA「DNA分子マニピュレーションの手法」(鷲津正夫)
- 第503回 2月12日 "HIV-1の遺伝子変異と細胞指向性" (清水宣明)
- 第504回 4月11日 ショウジョウバエ伸張受容器(chordotonal organ)の発生におけるEGF/RASシグナル伝達系の役割 (岡部正隆)
- 第505回 4月16日 動物細胞より単離されたRuvB類似DNA依存ATPase/heli-case TIP49の性質 (田村隆明)
- 第506回 5月14日 哺乳動物神経細胞の多様性を生み出す転写調節因子カスケード (斎藤哲一郎)

- 第507回 5月21日 “ロタウイルスの分子進化—新しいパラダイムの探求—”(中込治)
- 第508回 6月6日 遺伝子資源としての小型魚類(堀 寛)
- 第509回 6月10日 生物情報の解析:大腸菌と出芽酵母を対象として(磯野克己)
- 第510回 6月11日 DNA複製装置とS期チェックポイント機構(荒木弘之)
- 第511回 6月12日 大腸菌のAAAプロテアーゼFtsHの細胞機能(小椋 光)
- 第512回 6月13日 構造形成と遺伝子発現のカップリング—細菌鞭毛は転写制御装置として機能する—(沓掛和弘)
- 第513回 6月17日 酵母リボソームRNA遺伝子の転写制御—分子遺伝学的アプローチ—(禾 泰壽)
- 第514回 6月18日 藍色細菌の生物時計の分子遺伝学(石浦正寛)
- 第515回 6月23日 「オクタマー転写因子Oct-1のCAK(CDK activating kinase)によるリン酸化におけるMAT1の役割」(稲本 進)
- 第516回 7月4日 ヒト染色体セントロメア特異的ヌクレオソーム構造(依田欣哉)
- 第517回 8月18日 進化生物学徒待望の染色体導入(オナジショウジョウバエからキイロショウジョウバエへ)(澤村京一)
- 第518回 10月27日 核輸送および細胞周期制御とSUMO/UBC9蛋白質修飾系(斉藤寿仁)
- 第519回 11月13日 レトロウイルスを用いた挿入変異生成法によるゼブラフィッシュ形態形成遺伝子のクローニング(川上浩一)
- 第520回 11月19日 “Activation Domain”と“Binding Cooperativity”が転写活性化因子のin vivoでのプロモーター結合に与える影響と転写への効果(田中正史)
- 第521回 11月13日 肝炎ウイルスと肝がん(西岡久壽彌)
- 第522回 11月27日 ショウジョウバエ脳回路の後胚発生(伊藤 啓)
- 第523回 12月22日 「発現誘導選択型ジーントラップ法, -BDNF下流遺伝子同定への応用—」(唐沢美香)
- 第524回 12月22日 ショウジョウバエのニューロン・グリア間の分化制御遺伝子 glial cells missing(細谷俊彦)

## H. 栄 誉

生命情報研究センター教授五條堀 孝は、「DNAデータベースの構築とその国際貢献」により、平成9年4月18日、「科学技術情報振興賞」学術賞を受賞した。

## I. 図書及び出版

図書委員会委員長 (1997年度)

西川 建

図書委員会委員 (1997年度)

池村淑道・城石俊彦・藤田信之

太田 力・服田昌之・上田 均

才 宏偉・永井宏樹

## 1) 蔵書数

和書	3,396冊	製本雑誌を含む
洋書	16,602冊	〃
計	19,998冊	

## 2) 1997年度図書増加冊数

和書	146冊	製本雑誌を含む
洋書	210冊	〃
計	356冊	

## 3) 雑誌

	購入	寄贈	計	備考
和文	19種	3種	22種	
欧文	149種	4種	153種	国内欧文誌含む
計	168種	7種	175種	

## 4) 出版

書名	ページ数	発行数	配布先
国立遺伝学研究所 年報第47号	264	700部	国内研究機関, 大学, 試験場ほか
Ann. Rep. Natl. Inst. Genet. No. 47	168	900部	内外研究機関, 大学, 試験場ほか

## 5) 1997年購入外国雑誌リスト

1. Acta Crystallographica D:Biological Crystallograph
2. Agriculture, Ecosystems and Environmente
3. American Journal of Botany
4. American Journal of Human Genetics
5. American Naturalist
6. Analytical Biochemistry
7. Animal Behaviour
8. Annales de Genetique
9. Annals of Human Genetics
10. Archives of Virology
11. Behavior Genetics
12. Biochemical Genetics
13. Biochemical and Biophysical Res.Communication
14. Biochemistry
15. Biochimica et Biophysica Acta:Gene Structure and Expression
16. Biometrika
17. Biophysical Journal
18. Botanical Review
19. Canadian J. of Botany
20. Cancer Genetics & Cytogenetics
21. Cancer Research
22. Caryologia
23. Cell
24. Chromosoma
25. Chromosome Research
26. Clinical Genetics
27. Crop Science
28. Current Advances in Cell & Development Biology
29. Current Biology
30. Current Contents:Life Sciences
31. Current Genetics
32. Current Opinion in Cell Biology
33. Current Opinion in Genetics & Development
34. Current Opinion in Immunology
35. Current Opinion in Neurobiology
36. Current Opinion in Structural Biology

37. Cytogenetics & Cell Genetics
38. Development
39. Development, Genes and Evolution
40. Developmental Biology
41. Developmental Genetics
42. Differentiation
43. EMBO Journal
44. Ecology
45. Environmental & Experimental Botany
46. Environmental & Molecular Mutagenesis
47. Euphytica
48. European J. of Biochemistry
49. European J. of Immunogenetics
50. Evolution
51. Evolutionary Ecology
52. Experientia
53. Experimental Cell Research
54. FEBS Letters
55. FEMS Microbiology Letters
56. Gene
57. Genes & Development
58. Genes to Cells
59. Genetic Counseling
60. Genetica
61. Genetical Research
62. Genetics
63. Genome
64. Genome Research
65. Genomics
66. Hereditas
67. Heredity
68. Human Genetics
69. Human Heredity
70. Human Molecular Genetics
71. Immunogenetics
72. Immunological Reviews
73. Indian journal of Genetics & Plant Breeding

74. **International Journal of Radiation Biology**
75. **Journal of Applied Ecology**
76. **Journal of Bacteriology**
77. **Journal of Biological Chemistry**
78. **Journal of Cell Biology**
79. **Journal of Cell Science**
80. **Journal of Cellular Physiology**
81. **Journal of Computational Biology**
82. **Journal of Ecology**
83. **Journal of Evolutionary Biology**
84. **Journal of Experimental Medicine**
85. **Journal of Experimental Zoology**
86. **Journal of General Virology**
87. **Journal of Genetics**
88. **Journal of Heredity**
89. **Journal of Immunology**
90. **Journal of Medical Genetics**
91. **Journal of Molecular Biology**
92. **Journal of Molecular Evolution**
93. **Journal of Virology**
94. **Korean Journal of Genetics**
95. **Lancet**
96. **Macromolecular Structures**
97. **Mammalian Genome**
98. **Mechanisms of Development**
99. **Microbiological Reviews**
100. **Microbiology**
101. **Molecular & General Genetics**
102. **Molecular Biology and Evolution**
103. **Molecular Biology of the Cell**
104. **Molecular Endocrinology**
105. **Molecular Microbiology**
106. **Molecular and Cellular Biology**
107. **Mutation Research**
108. **Nature Biotechnology**
109. **Nature Genetics**
110. **Nature Structural Biology**

111. Nature
112. Neuron
113. New England Journal of Medicine
114. Nucleic Acids Research
115. Oncogene
116. Plant Breeding
117. Plant Breeding Abstracts
118. Plant Journal
119. Plant Molecular Biology
120. Plant Physiology (with Plant Cell)
121. Plant Science
122. Plasmid
123. Proc. Nat. Acad. Sci.
124. Proc.of the Royal Society:ser.B(Biological Science)
125. Protein Engineering
126. Protein Science
127. Proteins
128. Quarterly Review of Biology
129. Quarterly Reviews of Biophysics
130. RNA
131. Radiation Research
132. Research in Microbiology+Res. in Virology
133. Revista Brasileira de Genetica
134. Science
135. Scientific American
136. Sexual Plant Reproduction
137. Somatic Cell & Molecular Genetics
138. Structute
139. Theoretical & Applied Genetics
140. Theoretical Population Biology
141. Trends in Biochemical Sciences
142. Trends in Cell Biology
143. Trends in Genetics
144. Trends in MicroBIOLOGY
145. Trends in Neurosciences
146. Trends in Plant Science
147. Virology

148. Virus Research

149. Yeast

## 付

## 財団法人遺伝学普及会

## 歴 史

昭和24年6月1日に文部省所轄機関として国立遺伝学研究所が設立されたのを契機に、昭和25年11月、遺伝学に関する知識の普及とその応用を図ることを目的として設立されたが、昭和63年11月1日に主務官庁である文部省の認可を得て寄附行為の一部を改正、その主たる目的を「学術研究の助成及び知識の普及を図る」に改め、学術研究を積極的に助成することになった。

## 事業概況

遺伝学に関する研究、海外渡航費の助成及び遺伝学に関する講演会(セミナー・シンポジウムを含む)・研究会の開催と助成並びに遺伝学に関する雑誌、図書の編集及び会報の発行事業等を行っている。

## 役 員

会 長	森脇和郎
常務理事	五條堀 孝, 中辻憲夫
理 事	富澤純一, 野村達次, 山口彦之, 三浦謹一郎, 黒田行昭, 石浜 明, 重藤學二
評 議 員	田島彌太郎, 大島長造, 齋藤日向, 松永 英, 吉野達治, 高垣善男, 瀬野悍二, 館野義男
監 事	今村 孝, 森島啓子, 桂 勲
顧 問	森脇大五郎, 近藤典生

## X. 総合研究大学院大学生命科学研究科 遺伝学専攻の概要

### A. 目的

総合研究大学院大学は、大学共同利用機関との緊密な連携・協力の下に、その優れた研究機能を活用して、高度の、かつ国際的にも開かれた大学院の教育研究を行い、新しい学問分野を開拓するとともに、それぞれの専門分野において学術研究の新しい流れに先導的に対応できる幅広い視野を持つ、創造性豊かな研究者を養成することを目的とします。

遺伝学専攻は、遺伝学を基礎とする生命科学の研究と教育を通じて大学の活動の一端を担うものです。

### B. 教育研究の概要

遺伝学は、生命現象を遺伝子との関連のもとに解明する学問です。この学問は、従来から生物学の一分野にとどまらず、理学・農学・医学・薬学等の隣接分野とも深い関わりをもってきましたが、近年の分子レベルにおける遺伝学の目覚ましい発展に伴って、今日では広く生命科学の中核として重要な役割を担うようになりました。

本専攻は、母体となる国立遺伝学研究所で進められている分子・細胞・個体・集団の各研究分野及びこれらを基盤とする応用的研究分野において、遺伝学の最先端を学習させるとともに、高度でかつ独創性のある研究題目について、数多くの実験生物系統と、よく整備されたDNAデータベース並びに放射線・アイソトープ装置等をも活用して教育研究を行っています。

### C. 教育研究の特色

遺伝学は、独創的・先端的で高度かつ学際的学問です。特色ある5大講座を設置します。また、各大講座には演習を設け、積極的な受講を促すとともに、研究指導の指針としています。

さらに、母体となる国立遺伝学研究所において実施される研究活動（内部交流セミナー、Biological Symposia 等）の参加を義務づけるとともに、系統生物研究センター、生物遺伝資源情報総合センター、構造遺伝学研究センター、生命情報研究センター、放射線・アイソトープセンター及び実験農場を持つ機能、施設・設備等を十分に活用できるようになっています。

### D. 大講座・教育研究指導分野

大講座	教育研究指導分野	分野の内容
分子遺伝学	分子構造学	遺伝物質の構造を分子生物学的に教育研究する。
	分子機能学	遺伝物質の機能とその制御を分子生物学的に教育研究する。
	分子形成学	遺伝物質の形成原理と形成機構を教育研究する。

大講座	教育研究指導分野	分野の内容
細胞遺伝学	細胞遺伝学	細胞の遺伝・分化及びその遺伝子支配機構を教育研究する。
	哺乳類遺伝学	哺乳動物特有な遺伝機構を教育研究する。
	微生物遺伝学	原核生物の細胞分裂と染色体複製機構及び細胞質遺伝因子の遺伝機構等を教育研究する。
個体遺伝学	発生遺伝学	動物の形態形成機構及びその基盤をなす細胞分裂・分化の機構を教育研究する。
	形質遺伝学	個体発生過程の遺伝的制御について教育研究する。
	行動遺伝学	動物の行動を制御する遺伝機構を教育研究する。
集団遺伝学	集団遺伝学	集団の遺伝的構成変化の法則に関して教育研究する。
	進化遺伝学	生物進化の遺伝的機構を表現型と分子の両レベルで教育研究する。
	分子進化学	遺伝子構造を実験的並びに理論的に解析し、進化の分子レベルでの機構を教育研究する。
応用遺伝学	人類遺伝学	ヒト・生命現象の分子遺伝学的特性と個体差に関して教育研究する。
	植物遺伝学	有用植物の進化・適応・形質発現に関する遺伝学的研究に関して教育研究する。

## E. 年度別入学人数

年度	平成 元年度	平成 2年度	平成 3年度	平成 4年度	平成 5年度	平成 6年度	平成 7年度	平成 8年度	平成 9年度
入学人数	9 (1)	5 (4)	8 (3)	11 (2)	13 (1)	8 (1)	9 (2)	9 (1)	11 (5)

( ) は女子で内数

## F. 修了要件及び学位の種類

### 1. 修了要件

3年以上在学し、本専攻で定めた履修科目について、10単位以上修得し、かつ、必要な研究指導を受けた上、博士論文の審査及び試験に合格することとする。

ただし、在学期間に関しては、特に優れた研究行跡を挙げた者については、短縮することがある。

### 2. 学位

博士（理学）。博士論文の内容によっては博士（学術）が授与される。

## G. 学位授与状況

授与年度	平成 3年度	平成 4年度	平成 5年度	平成 6年度	平成 7年度	平成 8年度
課程博士 (理学)	6	4	9	7	12	6
論文博士 (理学)	0	0	1	0	0	2

## H. 正規生 32名

入学時期	氏名	所属講座	所内所属研究部門等
6年4月	大 浪 修 一	細胞	構造遺伝学研究センター 遺伝子回路研究室
	藤 原 学	個体	構造遺伝学研究センター 構造制御研究室
7年4月	石 島 淳 子	細胞	系統生物研究センター 哺乳動物遺伝研究室
	武 内 昌 哉	個体	構造遺伝学研究センター 構造制御研究室
	亦 勝 実 穂	個体	系統生物研究センター 無脊椎動物遺伝研究室
	田 村 勝	個体	系統生物研究センター 発生工学研究室
	濱 田 玲	集団	集団遺伝研究系 進化遺伝研究部門
	安 井 潔	分子	分子遺伝研究系 分子遺伝研究部門
	山 形 哲 司	集団	集団遺伝研究系 進化遺伝研究部門
7年10月	太 田 聡 史	集団	集団遺伝研究系 進化遺伝研究部門
	刘 庆 信	個体	個体遺伝研究系 形質遺伝研究部門
8年4月	相 田 紀 子	個体	個体遺伝研究系 形質遺伝研究部門
	石 黒 亮	分子	分子遺伝研究系 分子遺伝研究部門
	磯 部 拓	細胞	系統生物研究センター 哺乳動物遺伝研究室

入学時期	氏名	所属講座	所内所属研究部門等
	北野 誉	集団	集団遺伝研究系 進化遺伝研究部門
	中馬 新一郎	個体	系統生物研究センター 発生工学研究室
	角山 和久	集団	生命情報研究センター 遺伝情報分析研究室
	野上 正弘	集団	集団遺伝研究系 進化遺伝研究部門
	浜 太郎	個体	系統生物研究センター 発生工学研究室
	渡辺 光一	細胞	細胞遺伝研究系 細胞遺伝研究部門
8年10月	杵 淵 隆	分子	構造遺伝学研究センター 超分子機能研究室
9年4月	上村 隆俊	応用	系統生物研究センター 植物遺伝研究室
	片山 映	分子	分子遺伝研究系 分子遺伝研究部門
	金子 美華	集団	集団遺伝研究系 進化遺伝研究部門
	青木 美和	分子	分子遺伝研究系 分子遺伝研究部門
	野田 令子	集団	集団遺伝研究系 進化遺伝研究部門
	服藤 尚恵	個体	個体遺伝研究系 発生遺伝研究部門
	福司 功治	分子	構造遺伝学研究センター 超分子構造研究室
	牧野 茂	細胞	系統生物研究センター 哺乳動物遺伝研究室
	増田 祥子	個体	個体遺伝研究系 形質遺伝研究部門
	三戸部 治郎	分子	分子遺伝研究系 分子遺伝研究部門
	望月 一史	個体	個体遺伝研究系 発生遺伝研究部門

## I. 研究生

氏 名	受入研究部門	受入期間
<i>DOLGORMAA SODGEREL</i>	人類遺伝研究部門	8.10.1~10.3.31
<i>PETERSEN, PETUR HENRY</i>	進化遺伝研究部門	9.2.1~10.3.31

---

国立遺伝学研究所年報 第 48 号

平成 10 年 3 月 25 日 印刷

平成 10 年 3 月 27 日 発行

発行者 堀 田 凱 樹

国立遺伝学研究所内

編集者 西川 建・白木原康雄

国立遺伝学研究所内

印刷所 株式会社 豊文堂印刷

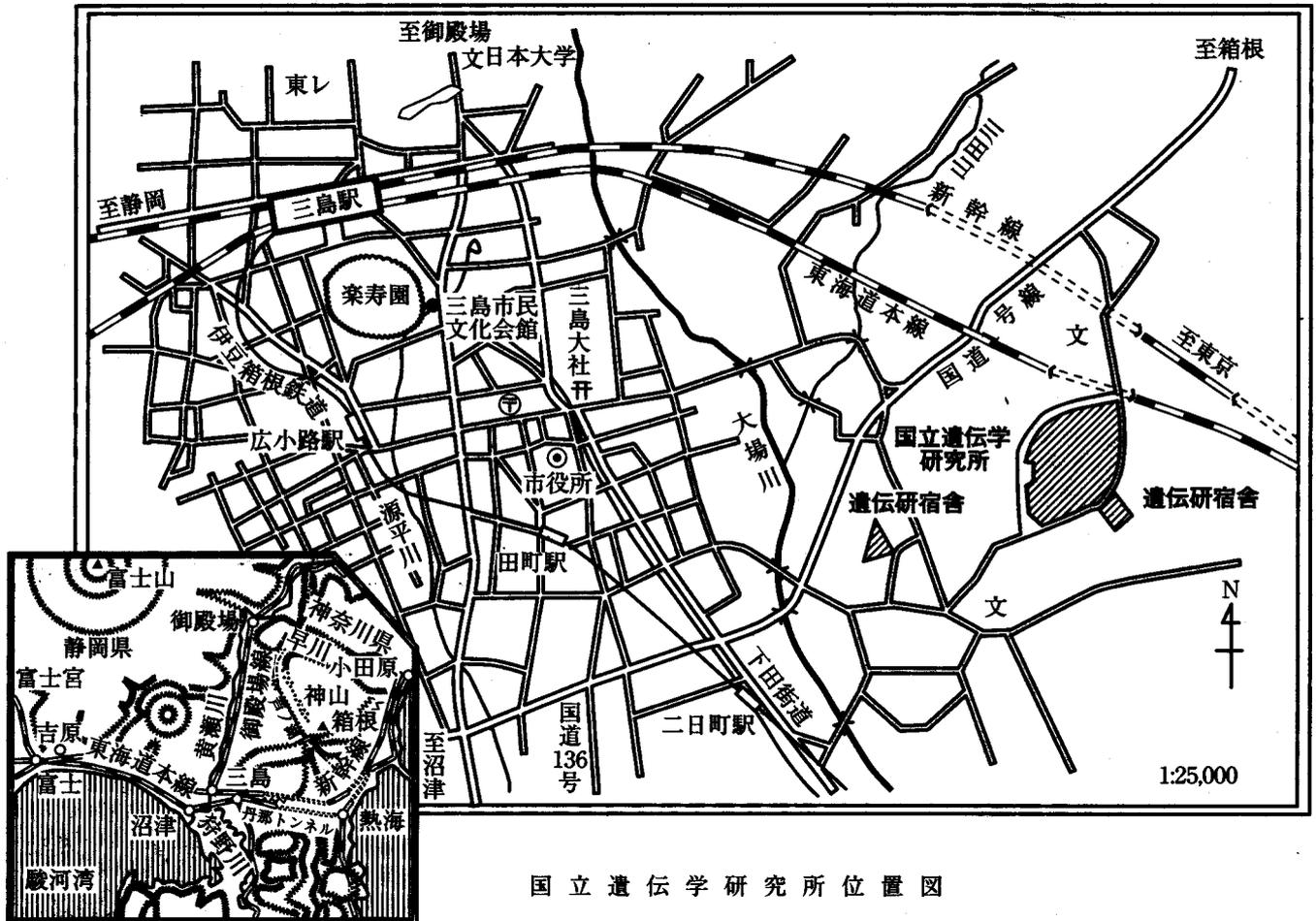
〒 297-0037 千葉県茂原市早野 1143

発行所 国立遺伝学研究所

〒 411-8540 静岡県三島市谷田 1111

電話 0559(81)6718

---



国立遺伝学研究所位置図