

国立遺伝学研究所年報

50周年記念

第 50 号

(平成 11 年)

大学共同利用機関

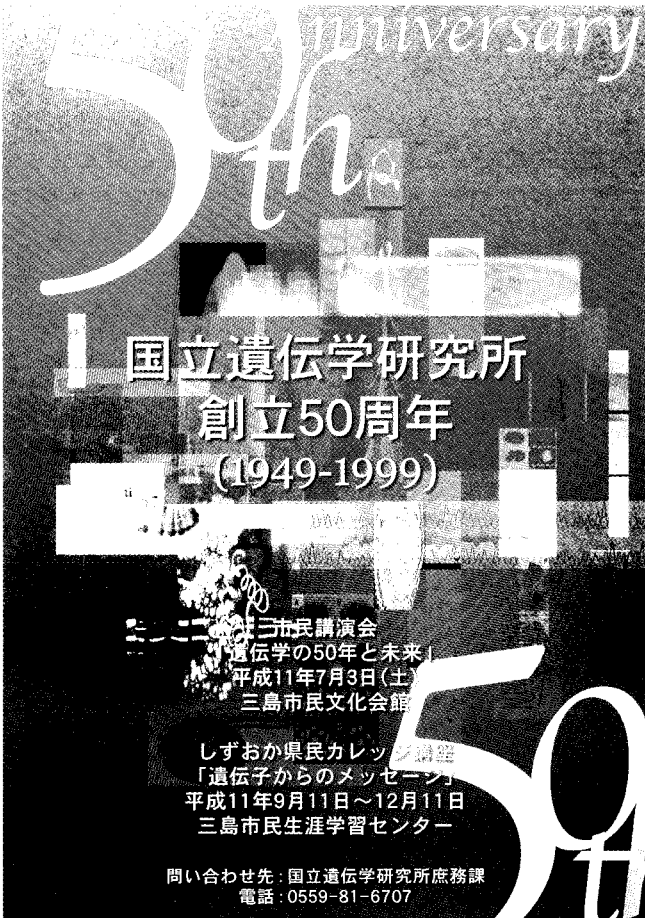
国立遺伝学研究所

目 次

<p>I. 巻 頭 言 1</p> <p>II. 創 立 50 周 年 記 念 3</p> <p style="padding-left: 2em;">国立遺伝学研究所創立50周年 3</p> <p style="padding-left: 2em;">創立50周年記念式典</p> <p style="padding-left: 4em;">式 辞 5</p> <p style="padding-left: 4em;">所 感 10</p> <p style="padding-left: 4em;">記 念 講 演 14</p> <p>III. 研 究 室 一 覧 47</p> <p>IV. 研 究 の 概 要 49</p> <p style="padding-left: 2em;">A. 分子遺伝研究系 49</p> <p style="padding-left: 4em;">A-a. 分子遺伝研究部門 49</p> <p style="padding-left: 4em;">A-b. 変異遺伝研究部門 66</p> <p style="padding-left: 4em;">A-c. 核酸化学客員研究部門 70</p> <p style="padding-left: 2em;">B. 細胞遺伝研究系 74</p> <p style="padding-left: 4em;">B-a. 細胞遺伝研究部門 74</p> <p style="padding-left: 4em;">B-b. 微生物遺伝研究部門 81</p> <p style="padding-left: 4em;">B-c. 細胞質遺伝客員研究部門 86</p> <p style="padding-left: 2em;">C. 個体遺伝研究系 87</p> <p style="padding-left: 4em;">C-a. 発生遺伝研究部門 87</p> <p style="padding-left: 4em;">C-b. 形質遺伝研究部門 100</p> <p style="padding-left: 4em;">C-c. 初期発生研究部門 107</p> <p style="padding-left: 4em;">C-d. 生理遺伝客員研究部門 111</p> <p style="padding-left: 2em;">D. 集団遺伝研究系 114</p> <p style="padding-left: 4em;">D-a. 集団遺伝研究部門 114</p> <p style="padding-left: 4em;">D-b. 進化遺伝研究部門 116</p> <p style="padding-left: 4em;">D-c. 理論遺伝客員研究部門 130</p> <p style="padding-left: 2em;">E. 総合遺伝研究系 131</p> <p style="padding-left: 4em;">E-a. 人類遺伝研究部門 131</p> <p style="padding-left: 4em;">E-b. 脳機能研究部門 138</p> <p style="padding-left: 4em;">E-c. 応用遺伝客員研究部門 140</p> <p style="padding-left: 2em;">F. 系統生物研究センター 145</p> <p style="padding-left: 2em;">マウス系統研究分野</p> <p style="padding-left: 4em;">F-a. 哺乳動物遺伝研究室 145</p> <p style="padding-left: 4em;">F-b. 発生工学研究室 155</p> <p style="padding-left: 2em;">イネ系統研究分野</p> <p style="padding-left: 4em;">F-c. 植物遺伝研究室 160</p> <p style="padding-left: 2em;">大腸菌系統研究分野</p> <p style="padding-left: 4em;">F-d. 原核生物遺伝研究室 168</p> <p style="padding-left: 2em;">無脊椎動物系統研究分野</p> <p style="padding-left: 4em;">F-e. 無脊椎動物遺伝研究室 176</p>	<p>G. 生物遺伝資源情報総合センター 180</p> <p style="padding-left: 2em;">G-a. 系統情報研究室 180</p> <p style="padding-left: 2em;">G-b. 生物遺伝資源情報研究室 183</p> <p>H. 構造遺伝学研究センター 194</p> <p style="padding-left: 2em;">H-a. 生体高分子研究室 194</p> <p style="padding-left: 2em;">H-b. 超分子機能研究室 197</p> <p style="padding-left: 2em;">H-c. 構造制御研究室 202</p> <p style="padding-left: 2em;">H-d. 超分子構造研究室 207</p> <p>I. 生命情報研究センター 210</p> <p style="padding-left: 2em;">I-a. 遺伝情報分析研究室 211</p> <p style="padding-left: 2em;">I-b. 大量遺伝情報研究室 220</p> <p style="padding-left: 2em;">I-c. 遺伝子機能研究室 223</p> <p style="padding-left: 2em;">I-d. 分子分類研究室 225</p> <p>J. 放射線・アイソトープセンター 228</p> <p>K. 実験圃場 230</p> <p>V. 海外における活動 232</p> <p>VI. ほかの機関における講義 242</p> <p>VII. 共同研究事業 244</p> <p>VIII. 生物遺伝資源・DNA 情報 249</p> <p>IX. 行 事 279</p> <p>X. 庶 務 281</p> <p style="padding-left: 2em;">A. 沿 革 281</p> <p style="padding-left: 2em;">B. 組織（機構と職員） 282</p> <p style="padding-left: 2em;">C. 土地及び建物 309</p> <p style="padding-left: 2em;">D. 予 算 310</p> <p style="padding-left: 2em;">E. 奨学寄附金・受託研究費 311</p> <p style="padding-left: 2em;">F. 日 誌 317</p> <p style="padding-left: 2em;">G. 諸 会 319</p> <p style="padding-left: 2em;">H. 栄 誉 325</p> <p style="padding-left: 2em;">I. 図書及び出版 326</p> <p style="padding-left: 2em;">付：財団法人遺伝学普及会 331</p> <p>XI. 総合研究大学院大学生命科学 研究科遺伝学専攻の概要 332</p>
---	---

国立遺伝学研究所年報
50周年記念

第50号 平成11年



50th Anniversary

国立遺伝学研究所
創立50周年
(1949-1999)

三島市民講演会
「遺伝学の50年と未来」
平成11年7月3日(土)
三島市民文化会館

しずおか県民カレッジ講座
「遺伝子からのメッセージ」
平成11年9月11日～12月11日
三島市民生涯学習センター

問い合わせ先：国立遺伝学研究所庶務課
電話：0559-81-6707

国立遺伝学研究所
2000年発行

I. 巻 頭 言

ここに国立遺伝学研究所年報第50号(平成11年度)をお届けします。今年度は政府の行政改革の一環として共同利用研究機関の「独立行政法人化」が求められるなかで、平成11年2月には各所長が行政改革本部のヒアリングをうけるにいたり、切迫した状況の中での一年でした。本来は行政機能のうち企画と執行を分けて、後者を法人化することによって効率的な経営を目指すのが「独立行政法人」の概念であり、それを基盤的な研究に従事する機関に当てはめようとする無理な構想であります。わが国の高等学術研究の将来像を考えて策定されたものではないために、われわれとしては一貫して慎重な検討を要請しました。その後は、国立大学と分離して早急に結論を出すように求められる風潮は弱くなり、文部省は9月20日に、国立大学の独立行政法人化の方向とそれと同一歩調での大学共同利用機関の独立行政法人化を検討する方向を示して、現在に到っております。いわゆる独立行政法人の概念は国立大学に当てはめることにも同様の困難と問題点があることは文部省の「検討の方向」にも述べられているとおりです。今後の事態の推移に十分注意をしつつ、研究所の将来の方向性を誤らぬ舵取りが必要であります。このような時期にこそ研究所のレベルアップをはかり研究成果をあげて、外から見ても明確な研究所の存在意義を確立していくことが必要であります。

本年の特記すべきこととしては、5月31日に天皇皇后両陛下をお迎えして研究所の活動の一端をご覧いただくことができたことがあります。両陛下とも詳しい学問的なご質問をされて、楽しい一時を過ごしていただけたのではないかと思います。つづいて、6月1日には当研究所の創立50周年を祝い、多数のご来賓の皆様方をお迎えして、記念講演会と祝賀会を行ないました。さらにこの機会に、市民講座、遺伝学研究資料の収集展示を行う「遺伝学博物館」、その一部をインターネット上に公開する「遺伝学電子博物館」など、遺伝学研究の成果を市民などにも分かりやすく公開していく活動を開始いたしました。これらはまだ試行段階にありますが、今後一層の充実をはかっていきたいと思っております。

平成11年1月から12月の期間における教官の人事異動としては、武田洋幸教授(初期発生研究部門)及び平田たつみ助教授(脳機能研究部門)が名古屋大学から着任し、また林茂生助教授(無脊椎動物遺伝研究室)が教授に昇任、深川竜郎助手(進化遺伝研究部門)、佐渡敬助手(人類遺伝研究部門)、川崎能彦助手(脳機能研究部門)、前仲勝実助手(超分子構造研究室)がそれぞれ採用されてセンターと研究部門の陣容が充実しました。一方、中辻憲夫教授(発生工学研究室)は京都大学再生医科学研究所教授へ(平成11年度は教授併任)、定家義人助教授(放射線・アイソトープセンター)は埼玉大学理学部教授へとそれぞれ転出いたしました。技術課では三田曼彦課長が定年退官し、後任は当面所長が併任することとなりました。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、博士後期課程学生33名の教育指導を行い、あらたに14名が入学、9名が理学博士の学位を取得しました。その他、COE関係では外国人研究員5名、博士研究員7名が採用されて研究と教育とを行いました。

以上述べたように、研究所での研究の発展と機構の充実とは順調に推移したと言えます。特に新任教官が着任した個体遺伝研究系の初期発生研究部門および総合遺伝研究系の脳機能研究部門は、これまでの分子遺伝学の研究成果やゲノム研究の発展を「脳」や「初期発生」など複雑な生命現象の遺伝子解析に応用していこうとする研究所の新しい方向性を示す重要なものであります。21世紀に向けて「独立行政法人化」などに対する小手先の対応に追われて、ここで舵取りを誤ってはならないと考えます。所内では既に第3期将来計画の具体化に向けて所内の研究機構の再編成を行なうべく検討をすすめています。本冊子をお読みいただいた方々からも研究所の研究成果および今後の研究方向などについて、ぜひともご批判とご教示をお願いしたいと思います。

堀 田 凱 樹

II. 創立 50 周年記念

国立遺伝学研究所創立 50 周年

平成 11 年 6 月 1 日、国立遺伝学研究所は、創立 50 周年を迎えた。遺伝研は、昭和 24 年 6 月 1 日(1949 年)に、遺伝学に関する総合研究を行うわが国の中枢機関として文部省直轄の研究所として設置された。発足当初の第 1、第 2、第 3 研究部は、昭和 28 年(1953 年)拡充に伴い、形質遺伝部、細胞遺伝部、生理遺伝部に再編された。現在では、17 研究部門、5 研究センター(17 研究室)と圃場を含む、遺伝学におけるひとつの国際的な研究拠点に成長した。この間、昭和 59 年(1984 年)には、それまでの文部省所轄機関から大学共同利用機関(当初は国立大学共同利用機関)に改組・転換され、昭和 63 年(1988 年)には、総合研究大学院大学生命科学研究科の基盤研究機関(遺伝学専攻)として、我が国で最初の大学院博士課程後期だけをもつ大学院大学の設立に参加することとなった。

50 周年を記念して、遺伝研では、「50 周年記念事業委員会」を設け、以下の記念事業を実施した。20 世紀後半に始まった生命科学の全盛期から 21 世紀を展望し、しかも改組後の 15 年間で漸く新体制が整いつつある段階で、我が国の学術研究体制を根本から揺り動かす「独立行政法人化」の提案を正面から受けた、転換期の緊張の中での創立 50 周年事業として、50 年を回顧し、遺伝学と遺伝研の将来を展望するための契機をすることを目的と位置付けた。

1. 記念講演会 6 月 1 日(火) 午後 1 時 30 分-3 時 30 分
講師：大澤省三(生命誌研究館顧問)、松原謙一(国際高等研究所副所長)
2. 記念式典 6 月 1 日(火) 午後 4 時-5 時
式辞：遺伝研・所長 堀田凱樹、遺伝研・前所長 富澤純一
来賓祝辞：文部大臣 有馬朗人、評議員会会長 杉村 隆
3. 記念祝賀会 6 月 1 日(火) 午後 5 時 30 分-7 時 30 分
挨拶：遺伝研・所長 堀田凱樹
来賓挨拶：長倉三郎(神奈川大学理事・前総合研究大学院大学学長・前評議員会会長)、岡田節人(生命誌研究館館長・元岡崎共同研究機構長)、田島弥太郎(木原記念財団理事長・元所長)、江橋節郎(元岡崎共同研究機構長)、廣田榮治(総合研究大学院大学学長)、濱 清(前岡崎共同研究機構長)、岡田益吉(筑波大学名誉教授・前運営協議員会副会長)
4. 市民講演会 7 月 3 日(土) 午後 1 時 30 分-3 時 30 分
(三島市教育委員会との共催)

「遺伝学の50年と未来」三島市民文化会館

講師：石浜 明(遺伝研・教授)「遺伝子のはたらきを知る」

堀田凱樹(遺伝研・所長)「遺伝子を“顕微鏡”として使う」

5. 県民講座 9月11日-12月11日(毎回土曜日午後2時間)

(静岡県社会教育課しずおか県民カレッジとの共催)

「遺伝子からのメッセージ」三島市民生涯学習センター

- (1)現代科学における遺伝子(遺伝研・教授・嶋本伸雄)
- (2)遺伝子を受け継ぎ守るしくみ(遺伝研・教授・荒木弘之)
- (3)植物-太陽のめぐみ光合成(県立大・助教授・小林裕和)
- (4)植物-イネのおいたち(静岡大・助教授・佐藤洋一郎)
- (5)体をかたちづくる遺伝子のしくみ(遺伝研・助教授・林 茂生)
- (6)脳をつくる遺伝子(遺伝研・所長・堀田凱樹)
- (7)ヒト疾患モデルとしてのマウス(遺伝研・教授・城石俊彦)
- (8)情報としての遺伝子(遺伝研・教授・菅原秀明)

6. 遺伝研名簿の刊行

創立以来の遺伝研関係者全員の記録を残すことを目標に、正規職員以外の在籍者の調査も行い、創立記念日に名簿初版が出版された。

7. 要覧特別号・年報特別号の刊行

平成11年度(1999年)の国立遺伝学研究所を50周年特別記念号とし、研究所50年の歴史の要約記事を掲載した。また、平成11年の年報には、50周年記念事業関連記事を掲載することとした。

8. 「遺伝学博物館」設立の提案

創立50周年を記念して、遺伝学に関する資料を保存公開し研究者の利用に供し、本研究所が遺伝学研究の国内外の拠点としての役割を果たすことと、遺伝学の成果や情報を、人類共通の財産として広く社会に発信することを目指した“遺伝学博物館”を設立することを決定した。計画は、準備中の第3期将来計画に組み込まれた。その上で、本格的博物館の設立までには、相当の準備と年月が必要であることが予想されたので、当面、遺伝研ホームページ上に「遺伝学電子博物館」を開設することとした。担当者の努力で、6月1日の創立記念日には、電子博物館の開館に漕ぎ着けることが出来た。遺伝学専門の電子博物館は、おそらく世界でも初めての試みである。

なお、50周年記念事業実行委員会が提案し着手した博物館設立へ準備活動は、その後、常設の「遺伝学博物館委員会」に引き継がれ、長期的視野に立った計画で準備が開始されている。

なお、創立記念式典での所長及び前所長の式辞は、最近の遺伝研の抱える諸問題とそれらに対処する姿勢を要約したものである。記録として以下に掲載した。また、記念講演会における大澤省三先生及び松原謙一先生の講演は、遺伝学の転換期を鮮明にした歴史に残るものであった。両先生のご理解を得て、講演録をここに掲載し記録として残すこととした。(遺伝学研究所創立50周年記念事業実行委員会・委員長 石浜 明)

創立50周年記念式典

式 辞

国立遺伝学研究所長 堀田凱樹

私、ただいま国立遺伝学研究所の所長をしております堀田と申します。

本日は、文部省の工藤局長、評議員会の杉村会長および運営協議員会の先生方、国立遺伝学研究所の先輩、総合研究大学院大学の皆様方など、日頃から研究所の運営と研究活動にお世話になっている皆様方にお越しをいただきまして大変ありがとうございます。国立遺伝学研究所創立50周年ということで、この記念の会を催すことができました。ご出席くださった方々に心からお礼を申し上げます。また先ほどは、大澤省三先生、松原謙一先生に、遺伝学研究の将来に関係する大変含蓄のあるご講演をいただきましてありがとうございました。

さらに本日は、三島市の小池政臣市長においでいただいております。大変うれしく思っております。後にも申し上げますが、我々は創立50周年を機に、世界の遺伝学研究の中心としての発展をさらに続けるとともに、その成果を市民に向かって発信するセンターとしてもその機能を担っていくことを考え、いろいろな準備等をしており、静岡県あるいは三島市とも今後いろいろなお相談をして進めてまいりたいと思っておりますので、よろしくお願いをしたいと思います。私は、式辞という堅苦しいお話をするようなことには慣れておりませんので、形式にはとらわれずにお話をさせていただきたいと思っております。

創立50周年ということで、50年前の昭和24年(西暦1949年)というのはどんな時代であったろうかと考えてみました。当時は、もちろんワトソン・クリックのDNAの二重らせん構造、その相補性の発見に先立つこと4年であります。つまり、本研究所の歴史は20世紀後半の革命的な遺伝学研究の時代とピッタリ重なっているわけです。一方当時の日本はまだ戦後の混乱が十分には収まっていない頃であり、そんな時代にこの研究所が設立されたということがどんなに素晴らしいことであったかということをつくづく感ずる次第でございます。

このお話を準備していて、当時小学校5年生であった私が遺伝学に目覚めた強烈な体験を思い出しました。ちょっと私事のお話をさせていただいて申しわけありません。小学生だった私が読んでいた理科の本に血液型の話が出てまいりまして、血液型の遺伝の

ことが書いてありました。それで、私は早速調べてみようと思いついて、クラスの友達にアンケートを出して、家族全員の血液型を調べたのです。当時はプライバシーということはあまりいわれなかったと思いますが、これが少々物議をかもしました。まず第一に、そもそも自分と自分の親と血液型が合わないということに気がつきました(笑)。それから続いて、友達の家族の中にも幾つもそういう例があるということに気がついたわけです。うん、何だこれは。理科の本が間違っているのかなと思っていましたら先生に呼ばれまして、いろいろと言われたのを覚えております。実はそういうことで、遺伝学というものがいかに強力で正確なものであって、実際にいろんなことを予言できる科学であるということ、非常に強く印象づけられたのでした。ちょうどその時期が本研究所の創立と重なっていることに気づいて、大変興味深く思い出したわけです。

その後の学問としての遺伝学の発展は、古典遺伝学で明らかになった数多くの遺伝の現象をDNAという分子の言葉で明らかにする時代となりました。大腸菌ファージのDNAの複製、転写、翻訳等について詳しい事実が明らかになり、そういう背景のもとに古典遺伝学と分子遺伝学とのバランスの中でこの研究所が育ってきたわけです。初代所長は小熊 捍先生で、昭和24年に生理遺伝部、応用遺伝部、変異遺伝部という、3つの部をもとにしてこの研究所がスタートをしたというふうに向っております。その後、木原 均第2代所長の時代、それから第3代森脇大五郎所長、第4代田島弥太郎所長と順調に発展を遂げてまいりました。これはちょうど世界での遺伝学、分子生物学の発展の歴史に重ねてみますと、遺伝子の分子としての実体が詳しくわかるようになって、さらに組換えDNA技術と遺伝子クローニング技術が出てきて、遺伝子を通じて生命現象を見ることによって、生命の普遍性が理解されるようになった時代であります。遺伝子の働きはファージ・細菌からヒトまで全生物の共通の言語であることが分かってきた時代と重なっております。

さらに第5代松永 英所長の時代には、研究所が大学共同利用機関に改組拡充されて新しい時代を迎えました。また、先ほどからいろいろご紹介ありましたようにDNAデータバンクなどが稼働したのも、その時期であります。さらに総合研究大学院大学が新設されて生命科学研究科遺伝学専攻をお引き受けして博士課程の大学院生も受け入れるようになったのが昭和63年(1988年)でした。その後、第6代富澤純一所長が着任されて、遺伝研に新しい時代が訪れたわけです。その時代については富澤前所長から後でお話がお話できると思いますので、私としてはそれにお譲りしたいと思います。

こういう時代の流れの中で、遺伝学というのはさまざまな変貌を遂げてまいりました。私が学生であった時代というのは、まさに分子遺伝学全盛の時代で、分子遺伝学の素晴らしい成果と、全生物に共通な遺伝暗号を教科書で学んだわけです。その当時に感じたことは、ヒトまで共通であるということになりますと、ファージと大腸菌の研究で全てが分かり、その後の遺伝学というものは何をやるのだろうかという疑問でした。そういう中で私自身は脳や神経系を遺伝子で解析するという方向を目指して、ポストドク時代

からショウジョウバエの仕事をはじめたわけです。当時はまだ古典遺伝学の時代でしたから一体それはどんなものになるのか想像もつきませんでしたけど、現代になってみますと、これはまさに分子を利用して神経回路・脳の構築・ニューロンの分化などの複雑な生命メカニズムを遺伝子から逐一明らかにすること、そのような複雑な機構が永い生命進化の過程でどのように発展してきたかをDNAレベルで明らかにする時代に突入したわけです。分子の時代の延長線上に「進化と分化の遺伝学」の時代が訪れたわけです。そういう意味でも大きな時代の変化というものを感じます。

結局、なぜ遺伝学がこんなに成功を遂げたのかということを考えてみますと、それは結局、遺伝子というものがすべての生物の共通言語であるからだと思います。共通言語ですから、どんな生物の研究をしても結局共通の言語で語られる。昔はチョウチョの研究者とクジラの研究者は、恐らく意思疎通はあんまりしなかったろうし、する必要もなかったかもしれません。しかし現代ではチョウチョの羽根の紋様がどういうふうにできるかという問題と、クジラの足がどういうふうにできるかということとは、実は密接につながっているというようなことが、遺伝子の立場から明らかにできるわけです。つまり遺伝子を通して生命現象が統一的に理解できることが大きな発展につながったのだと思います。別の言葉で言いますと、遺伝学は生命科学の基礎であると言うこともできます。その意味で、遺伝学研究所というのは、長い歴史を経ても生命科学がつづくかぎり決して古くならないでいられるという特徴を持っているというところが重要なポイントであります。

遺伝学というと何か古い学問のような響きもありますが、実は遺伝学というのは決して古くありません。メンデルから数えたら130年です。もちろんメンデルの再発見から数えればまだ100年経っていません。DNAから数えれば50年も経っていないんです。それなのに昔からみんなが不思議だ不思議だと思っていた生命の発生の問題、あるいは進化の問題、あるいは細胞の分化の問題、そういうことが非常に詳しく明らかにできるようになったというのは、最近30年ほどの遺伝学の大きな成果であります。例えば発現現象などはギリシャの時代だってみんな不思議だと思っていたはずなわけですね。多分、家畜の腹の中で子供が生まれてくる過程は知っていたに違いないし、大体自分の子供が生まれるわけですから。そういう発現現象の不思議さにみんなが目を奪われていたはずですが、そのメカニズムが明らかになったのはごく最近で、その原動力となったのは、やはり遺伝学からスタートをした研究の成果であるというふうに言えます。

そういう意味で、遺伝学研究所というのは、常に新しい学問を生み出すことが可能な、そうしなければならないという立場にある研究機関であります。しかしそのためには自己改革の努力が日頃から必要であります。下手をすれば、古い研究所になってしまうというおそれを常に抱えています。DNAが出てきたから新しい新しいと思っていたら、実は今DNAを研究していることはちっとも新しいことではありません。むしろ、ちょっと皮肉っぽく言えば、DNAを使って生体分子の博物学をやってしまう危険さえあります。

昔、生物学が博物学から脱皮するためにDNAが必要であったわけですが、現在DNAを使って分子一個一個の博物学をやるということでは、生命科学はやはり衰退してしまうでしょう。そこでもう一度生命科学を統一していくということが必要になりますが、それが何であるかということが将来の重大な問題です。これはもちろんわれわれの研究所だけの問題ではありませんが、われわれがそういう新しい学問の方向を生み出していく中心になっていかなければならないと考えています。研究所の若い方々には、そういう意味でもぜひとも広い視野からいろいろと考えて活躍をしていただきたいと、そういうふうに考えております。

それからもう1つ将来の方向性を先取りするということがありますけれども、お二人の先生のお話にありましたように、ゲノムの時代というのが既に到来しています。これも全く新しい時代であります。正直言って私などはそれには立ち遅れている世代かとも思いますけれども、ゲノムが詳しくわかってきたときに生命科学がどういうものになるのかというイメージが実際はまだよくわかっていない。何となくホモロジーサーチにデータベースを利用したりというようなことはもちろん日頃の仕事としてやっていますけれども、ゲノムの情報がたくさんわかっていながらもっと大胆な形で新しい生命科学の研究のやり方というのがあるんじゃないかという予感があります。これは我々の世代よりもっと若い世代がそういうことを考えて、積極的にいろんなことを実行して下さることがぜひとも必要で、それなしではゲノムの科学というのは、ただデータが蓄積されているというだけになってしまうわけです。それをいかに利用して新しい学問を生み出していかかということも、遺伝学に課された課題であると思います。国立遺伝学研究所のDDBJ事業は世界の三極の一つとして、日本およびアジアの研究から生まれた塩基配列データベースを発表する大役をはたしております。その意味でもゲノム時代の次の新しい生命科学を生み出すのもわれわれに課された役割だと思えます。先ほどインフォメーション・バイオロジーという話がありましたけれども、実際そういうものの一翼を担うとしたらば、遺伝学研究所の存在理由というのはますます高まるのではないのでしょうか。

私が30年以上遺伝学研究に携わってきて、振り返ってみて思うことは、研究とか学問が進展するのは何か新しい技術の進展と関連していることです。先ほどのお話の中にもありましたけれども、私の学生時代のことを考えてみますと、例えばチャンネルと言われても、それはHodgkin, Huxleyのような意味でのチャンネルであって、本当の分子的な実体があるかどうかはわからなかった。あるいはリセプターといっても、それが分子かどうかとも全くわからなかったし、そうじゃないという説を唱える人もたくさんいたわけです。それがクローニングの技術によって実際分子として明らかになった。実際にはひとつひとつ分子として得られる時代が技術の開発によって到来したわけです。その技術に乗り遅れた人は消えていったというのが現実であります。それは他人ごとだと思っただけいけないので、この次の時代のためにどういう技術や考え方が新しく展開してくるかということに常に敏感でなければならぬと思っております。そのためにも、遺

伝学研究所というのがそういう若さを保つということが非常に重要なことで、50年というのはちょうどいい潮時でありますから新たな飛躍の年として、あたらしい技術や学問動向を取り入れ、自分たち自身でそういうものをつくり出していくという、そういう研究所にしていきたい。そのためには、しかし皆さんのご援助が必要なわけで、これからもぜひよろしくお願いをしたいと思います。

あと、私は東京大学からここへ赴任して参りまして感じたことは、遺伝学研究所のこのサイズというのは非常にいいサイズではないかということです。大学というのは非常に巨大な組織ですので、そこで何か変革するとか動かすことは非常に困難です。しかし遺伝学研究所のような組織では、トップダウンとボトムアップとが同時進行的に進むような、そういう運営の仕方というのが実際可能であるというふうに考えています。この頃は所長のリーダーシップを発揮せよとかいうのがはやり言葉です。もちろんそのリーダーシップも発揮したいと思いますが、それはただ所長が何か命令するというのではなくて、やはり下から沸き上がるものがあるのがあってのリーダーシップですので、そういう両方向の流れがうまくかみ合うということが、遺伝研の発展のために非常に重要です。そのことにもぜひ留意をしていきたいというふうに考えています。

50周年記念ということで、何かいろいろなことをしたいということは、所内でたくさん議論をいたしました。しかし、高額の寄附を集めて何か巨大なことをするというようなことは現在のご時世ではなかなか難しいし、それに費やすエネルギーというのは決して軽くありません。そこで我々は、こういう記念式典や祝賀会も非常に質素なものにして、その代わりに幾つかの企画というのを考えました。その1つとして、実は玄関のところにコンピューターのディスプレイがあったのでご覧になった方もあると思いますが、遺伝学博物館というのをつくろうという企画がございます。これはもちろん遺伝学の研究の資料を集めて教育に役立つ展示をするという、本来の意味の博物館的もつくっていききたいのですが、これには場所建物とか専門の陣容が必要ですので、何年かという時間をかけて建設をしていきたいと思います。そのほかに、電子博物館、いわゆるバーチャルなミュージアムというのをつくって、一般市民、あるいは中高の先生とか、さまざまな方々にインターネットのホームページを通していろいろな情報を的確に得ただくという試みをしていきたいと考えました。まだほんの試作品の段階でございますけれども、多分きょうからホームページにリンクして開けるはずだと思いますので、皆さんインターネットからアクセスしていただき、いろいろご意見をお寄せいただきたいと思います。

最後に、研究所を取り巻くいろんな情勢についてお話をしたいと思います。皆様も新聞等でご承知と思いますが、独立行政法人化ということも言われていて、大学共同利用機関が大学に先駆けて独立行政法人化するかもしれないと言われた時期も今年の初め頃ございました。現在そういう議論は一時中断をしておりますけれども終わったわけではなくて、実際いろんな議論を現在我々も続けております。所長会議でも、ワーキンググ

ループをつくって、そういうものができるとしたらどういう条件が満たされなければならないのかということも議論しております。ただ、現在独立行政法人化の大綱とか通則法など新聞等で出ております内容を見ますと、これはやはり学術とか研究、教育というようなことを主眼とした機関の形としては全然考えられていないように見受けられます。単に行政機構改革の立場からではなく、高等教育研究機関のあるべき姿の議論から政策を立てて、本当に良いものになるために機構改革するということではなければならないと思いますので、そういう建設的な方向での議論というのを今後続けていきたいと思っております。また、共同利用機関としては大学との関係も重要です。そういうことも、今後さまざまな展開があると思えますけれども、皆様方からもいろんなご意見を寄せていただいて、より良い研究所にしていくことを心掛けようと決心しておりますので、ぜひご助力をお願いしたいと思います。

これで私の式辞を終わらせていただきます。(拍手)

所 感

前所長 富澤純一

本稿は、研究所50周年記念の式典の折に前所長としてお話しした式辞をもとに記したものである。退任後2年余を経て、在任当時の所感を記すには、いささか違和感を避けられないが、私の所感は現在でも基本的には変わっていない。ここでは、当研究所を越えた問題を論じさせて戴くが、その理由は、国立研究機関が個々に対処できる運営上の処置はかぎられており、国としての対応が不可欠であるからでもある。

在任中は、遺伝学研究的国際的レベルでの推進を基本方針として、研究者相互の交渉と理解を通じて、学問を効果的に推進することを重視した。そのために、諸分野の調和のとれた研究の場をつくることに留意した。その結果、ややもすると、特徴の少ない研究所になったかもしれないが、そのこと自体が、意味のある特徴だと思っている。遺伝学を中心にして、広く生物学を眺めることのできる環境をつくるのが、長期的にみて、国の期待に沿うことになると考える。私は、この主張は意義のあるものと思う故に、短期的に派手に振る舞うことによって、政府等の意図におもねる必要はないと信ずるものである。一度迎合してしまうと、その迎合自体が自己目的化してしまう危険が大きいからでもある。

まず、将来を考えるには現状を知らなければならない。そこで、日本の基礎生物学の現状を考えさせる例として、Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biologyへ招待される研究者の数をみてみよう。基礎生物学で最も権威のあるこの会合の一昨年(1997年)のテーマはRNAへの転写についてのものであった。この生物の営みの基礎についての会合に招待された63名の学者のなかには日本からの研究者は、1名もなかった。昨年の会合は免疫学に関するもので、招待者58名のうち、日本からは1名だけであった。外国で持たれる他の基礎生物学の分野についての学術会合の状況もさし

てこれと違わないと思う。また、基礎生物学についての雑誌で、最も評価の高い Cell の 1998 年の原著論文数をみると、全部で 297 報あるが、日本の研究室を主な研究の場所とした論文の数は、10 報にすぎない。これらのことだけから日本の基礎生物学のレベルを評価するつもりはないが、それが国際的な基準でみて、決して高いものでないことは、残念ながら認めなければならない。

基礎科学のこのような不振の理由として、数年前までは、国の支出する研究費の不足をあげることができた。現在では、とってかわって研究費の配分が問題である。複数の省庁から、評価が不十分なままでも多額の研究費が配分され、評価を通じての研究支援の原則が破られる状況になっているのは、多くの方々が指摘することである。また、必要以上に多額の研究費の配布は、研究主導者を単なるマネージャーにしてしまう危険がある。更に問題となるのは、そのような環境になじんだ研究者は、それを当然としてしまうおそれがある。現在ですら、成果／費用の比の少ないわが国の研究の傾向が、更に助長されることになりかねない。

さらに、基礎科学研究への支持が、計画研究や応用研究の色彩をもつグループ プロジェクトのおこぼれでまかなわれる傾向があるのは問題である。このようなことでは、基礎科学研究者のモラルは低下し、研究の計画性が失われてしまう。すべての分野の研究者に、自立性と責任の自覚を要求できる政策がとられなければならない。わが国の科学研究者、とくに独立した研究者の素質をもつもの数は極めて限られている。したがって、計画研究への多額の研究費の支給は、当然、研究者の偏在をもたらし、総合的にみて、基金の少ない基礎研究を行う人員の不足をもたらす可能性がある。

これとは一見逆説的であるが、若手の研究者への直接の研究費の支給も問題である。若手研究者に、不相応な研究費を与えることは自己満足とひきかえに、教育を受ける精神と機会を奪いかねない。教育をうける謙虚さと努力なくして、ひとかどの研究者になれると思う人がいたら、思い上がりも甚だしいと思う。多額の金銭的投資にもかかわらず、若手の成長が思わしくない大きな原因となっていると思う。ある種のポストドク制度による高額な給与の支給は社会の秩序を乱すものと考えざるをえない。

研究費配分の問題を総括すると、十分な費用を優れた研究者個人に与え、研究の成果と後継者の教育を期待することを中心とするべきである。その上で研究者は流動的なグループをつくるのが望ましい。先にグループをつくり、村祭りのような同じ仲間の会合で貴重な時間を費やすのはさけるべきである。

研究所の組織について直ちに問題となるのは、教官の終身雇用の制度である。私は、就任直後から、教授が研究所にいるのは 20 年そこそこであるが、助手は 40 年いることになるので、その採用は、教授以上に慎重にならねばならないとし、教授の意図は尊重するとしても、助手の採用に教官全体としての責任を負うことにした。さらに、教官の移動が少ないことが、将来問題となることを見越して、新規採用の助手の任期を当該教授の退官までとした。このことは、法律的裏付けがなかったために強行することはでき

なかった。現状を考えるまでもなく、最も残念なことと思っている。在米の折、日本の機構が問題になり、立場上、終身雇用の利点を述べたとき、「それは、研究所の目的とどのように斉合するのか」と問われ、答えに窮したことがあった。研究所の目的は、研究者個人の既得権益を守ることではないのは明らかである。これから益々「研究所の目的」が問われることになるであろう。教官の定員が限られているとき、在職の教官を含む教官の任用期限の設定は必須と考える。また教官の流動化に逆らう処置はとるべきではないのは勿論である。教官の自覚を期待してやまない。

しかし、日本の分子生物学と、それに関連のある学問の貧困の理由には、これに加えて、日本だけの特殊事情も存在する。(日本の分子生物学は他の分野に比して弱体ではないが)それは、生物学研究における放射性同位元素使用の規制である。放射性同位元素を使用する生物学研究法は、最も簡単で、感度が高く、定量性に優れている。その使用の日本独自の規制は、日本の生物学研究者に、大きなハンデキャップを与えるものである。もちろん、日本の為政者や科学者が、放射性同位元素の使用は危険をとまなうとして、独自の規制をするのは自由である。それなら、類似の規制がない外国で、危険を犯して行った研究の成果を受け入れてよいはずがない。規制を外国なみにするか、外国人にその危険を知らせて、使用制限を国際的に主張するか、いずれかが筋のたった行動である。外国人への危険には無関心で、日本人だけが、危険をさせて利益だけを受けようとするのは、非道徳的なことといわざるをえない。勿論、染色法等の非放射性実験で補えることのできる場合が多くなったのは、望ましいことである。しかし、現在の日本の規制は、独自のもので、度を越している。例えば、私がNIHで行ったごく普通の研究も、我が国では効率的に行うことはできない。生物学の基礎的な一分野だけに支障がある場合でも、その影響は総ての分野に及ぶものである。

日本の、この自虐的な政策と、無視することの出来ない非倫理性については、10年以上まえ、米国から帰国した時に、3回、文部省および科学技術庁の課長に、このままでは日本の基礎生物学に大きな被害をもたらすことをのべて、善処をお願いし、10年前に分子生物学会で、8年程前に所長会議で、昨年は日本学士院で発言した。日本人の被爆体験を思うと、この問題の微妙なことは判っている。しかし、非倫理的で、非論理的な、感情的な対応が許されてよい理由はない。日本独自の規制が日本の科学を抑えるものであってはならない。科学および技術に関する規制が、合理性を失ってまで国民感情におもねるようなことがあれば、長期的な国家、国民の利益をそこなうことになるのは明瞭である。このようなことは、放射性同位元素の使用の問題に限らない。今後、社会と科学との関連が深まるとともに益々重要な問題となるであろう。科学技術に関する規制は、十分な科学的な根拠をもつものでなければならない。そして、技術の進歩を考慮して、例えば10年毎に再検討するべきものである。

さて、基礎研究の重視は、しばしば叫ばれることであるが、その実、応用的な成果に直結した科学が重視されているのが現実である。後進国としての日本の過去を考えると

止むをえないこととも思う。しかし、基礎科学の重視は、科学技術の推進に不可欠である。わが国のバイオテクノロジーは、ほとんど壊滅的な状態にある。その理由は、技術の適用と、ベンチャー キャピタル利用のノーハウを欠くこともあるが、最大のものは、基礎科学が軽視されてきたことである。技術が、応用科学より基礎科学により直接的に決定的な基礎をもつのは、企業間の熾烈な先陣争いを考えれば当然のことである。ベンチャー ビジネスは可能性に対するギャンブルに依存するものであるから、基礎研究、それも、その基盤をなす研究こそ、究極的なギャンブルの対象だと思う。そのように考えると、最も基礎となる研究分野をないがしろにしてきたことが、技術の上で、また精神の上で、わが国のバイオの事業に及ぼす影響は少なくないと思う。現在のバイオテクノロジーの基礎をなす遺伝子組み換え、塩基配列の決定、PCR増幅法のもとには、基礎分子生物学の成果であり、そのために放射性同位元素の使用は不可欠であったことは明瞭である。それだけが理由でないにしても、使用規則が強化された1970年代以降、わずかな例外を除いて、わが国の基礎分子生物学に特筆すべき成果のなかったことと、バイオテクノロジーの貧困とは無縁ではない。

さて、実験のあとには、論文発表がある。ここにも、日本独自の問題がある。先に、Cellの論文数の例をあげたが、主要な雑誌に掲載される我が国からの論文数は極めて少数である。その理由の一つは、言うまでもなく、外国語である英語で書かなければならないことである。しかし、どの雑誌も、論文が美しい文章で書かれていることを要求するわけではなく、要求されるのは、「観察または、理論が論理的に表現され、主張が、それを支持するに十分なデータとともに明瞭に記載され、ユニークな結論がみちびかれている」ことである。そもそも、この条件が満たされない場合には、論文を書く価値も必要もない。しかし、ここに述べた、十分とか明瞭とかユニークとかは、客観的基準がなく、著者と編集者との判断で投稿と採用とが決まる。この判断如何が、雑誌の評価を決定し、評価の高い雑誌に掲載できる論文が、高く評価される。それにしても、一流の雑誌に論文が出る人が限られているのは、きわめて不自然な現実である。研究者にそれなりの努力が必要なのは勿論であるが、それ以上に、意気込みのあるなしがこの不自然な状況をつくっている理由だと思う。少しでもより定評のある雑誌に論文を提出するのが望ましい。そのことが、自分の評価と自分の属する組織、ひいては国の科学の評価を高めることになるからである。

研究の成果は国の内外に公開されなければならない。基礎研究の成果は公開されて初めて評価の対象となる。個人について、論文の数を問題にするべきではないが、価値のある成果の公表の極端に少ない研究者が、その地位を保てるのは我が国の特徴である。遺伝研は、決してそのような場所であってはならない。研究者の処遇について、「論文を書かない研究者」と「論文を書けない研究者」を区別する必要はない。

さて、これまで日本の基礎科学の抱える問題を論じてきたが、これが、日本人の性格と日本の社会の構造に深く根差していることは、明瞭である。したがって、われわれが

日本での基礎科学を推進するためには、それぞれの研究者が、問題の所在を理解するとともに、共同して問題を解決することが必要である。そのことなしには、日本の科学は国際水準とはかけ離れた、ぬるま湯の中の科学で終わるのである。

遺伝研は、国内的な評価は、概して悪くないと思う。国際的な評価は、皆様、一人一人が自分の成果に基づいてお考え戴きたい。先に、良い論文を書くのには、「意気込みが必要」などと、古くさいことを記したが、案外皆様が、研究なり事業なりに成功するかどうかは、このことのあるなしが決めているのではないかと思う。そして、研究所員が期待されるだけの気概をもっていることに正直言って疑義を感じないわけではない。

あえて、式辞らしさを無視した話をさせていただいた。それは、われわれが求めるべきものは、バラ色の現実であって、バラ色の幻想ではないと信ずるからである。

昨年春以降、にわか独立法人組織への移行の問題が緊急の問題となった。我が国の研究および研究組織は多くの改変すべき問題を抱えており、その一部はさきに記した。移行の問題とは別にしても、当研究所所員が積極的な対応をするよい機会と理解するべきである。(拍手)

記念講演

「DNA で辿るオサムシの進化」

JT 生命誌研究館顧問
大澤省三博士

まずは、遺伝研の創立 50 周年、おめでとうございます。

これから私がお話ししますのは、「DNA で辿るオサムシの進化」という題ですが、オサムシといっても恐らく、虫好きな方以外はほとんどご存じないと思いますので、持参した標本をご覧になってください。またスライドにもオサムシの写真がたくさん出てきます。カブトムシやクワガタムシなどの甲虫の仲間です。

この研究を始めたのは、私が名古屋大学を定年でやめ、生命誌研究館に入って 1 年後で、これまでに約 5 年が経過しました。開始して間もなく「科学朝日」が紹介記事を書いてくれています。

ほとんどのオサムシは、硬い前翅というか、上のはねはありますが、飛ぶ役割を担う下のはねが退化していますので、歩く以外には移動する方法がないという、非常におもしろいグループの昆虫です。

ユーラシア大陸には、美しいオサムシが多く、歩く宝石などと言われますが、日本のオサムシは割に地味なものが多く、きれいなものはオオルリオサムシとアイヌキンオサムシくらいで、これら 2 種は北海道にしかおりません。

形が変っているという点では日本特産のマイマイカブリをあげることができます。これは非常に首(前胸と頭部)が長く伸長しており、このような特異な形をしたオサムシは

世界中どこを探してもおりません。マイマイカブリは1種からなり、地域的にいくつかの亜種に分かれていると分類学者は見えています。これについては後に詳しくふれます。

オサムシの大部分は北半球に分布しています。オサムシは後ろばねがなくて飛べないと言いましたけれども、カタビロオサムシの類には後ろばねがあり飛ぶことができるため、後翅のないオサムシのグループにくらべて広い分布を示します。カタビロオサムシはそのため地域差が出にくく、種類の数は少なくて世界で約250種。飛べないオサムシは約800種、全体で1,000～1,100種くらいで構成されています。

私たちは、ミトコンドリアのND5 遺伝子の約1kbの配列をきめ、分子系統樹を作り、オサムシの進化の様子(形態多様化の道筋)を探ることにしました。また、補助的に核の遺伝子も使って、ミトコンドリアDNA(mtDNA)のデータとの整合性をチェックしております。

研究の目的は、3つあります。(1)形態を分子系統樹に重ね合わせることで、より客観性の高い分類系統の体系を確立すること。この話は本日はあまりいたしません。(2)オサムシの系統樹を地史と照らし合わせ、オサムシの分布圏成立過程のシナリオを描くこと。(3)分子系統樹に形態を重ね合わせ、オサムシの形態の多様化(進化)の様式を推定することです。

私ども生命誌研究館のオサムシ研究グループでは、中国籍の蘇 智慧君をはじめとする少人数で解析を進めていますが、この研究は生命誌研究館という一研究機関だけではできないのです。オサムシの分布、形態分類、世界のオサムシの材料の蒐集に精通したアマチュアとの共同研究が不可欠です。これまで研究機関でないアカデミックな研究はできないと言われてきましたが、実はこういうアマチュア研究者の協力がなくてはできない研究もあることをお分かりいただければ幸いです。

まず、共同研究者の井村さんですが、本職は婦人科のお医者さんです。しかし、オサムシの分類にかけては、世界のトップ。世界のオサムシのほとんど全種類をカバーした大図鑑をつくっています。次は、富永さんです。この方は、日本のオサムシの生き字引と言われる方で、日本列島の北から南まで、どのオサムシが日本のどこへ行けば採れるということを熟知しています。日本の地史についての知識もプロ並です。岡本さんは、北大の獣医出身で、哺乳類につく寄生虫の専門家ですが、特に北海道のきれいなオサムシに凝り、それらの系統を調べたいということで我々と一緒に研究しております。現在は鳥取大学に在籍しています。

先ほど言いましたように、多くのオサムシは北半球に分布しています。図1は資料の採集地点で、1つの黒丸が、時には10数の近接した地点を示しているところもあります。ですから、ほとんど全世界のオサムシの産地をカバーしているといえます。これだけの資料を集めて解析をするためには、井村さんや富永さんをはじめとする多くの優れたアマチュアの協力があってはじめて可能となった研究だといえます。

本日は分類のことは余りふれないと言いましたが、オサムシの全体像を知っていたくため簡単にお話します。オサムシは分類学的にはオサムシ科(Carabidae)のオサ

ムシ亜科(Carabinae)に属し、セダカオサムシ族(Cydrini)とオサムシ族(Carabini)に分けられ、オサムシ族はさらにカタビロオサムシ亜族(Calosomina)とオサムシ亜族(Carabina)に分割されています。北半球を主な分布圏とするオサムシ以外に、わずかながらチリとオーストラリアにもいますが、そのチリオサムシ(*Ceroglossus*)とオーストラリアオサムシ(*Pamborus*)の分類学的位置については定説がなく、未知です。オーストラリアオサムシについては、私どものND5と核28S rRNA 遺伝子による解析の結果では、オーストラリアオサムシ、チリオサムシ、セダカオサムシ族およびオサムシ族はそれぞれ独立の系統となります。分岐順はセダカオサムシ、オーストラリアオサムシ、チリオサムシ、Carabini オサムシ族(Calosomina + Carabina)となりましたが、ブートストラップ値が低く、ほぼ同時に分岐したと考えられます(図2)。したがって、オーストラリアオサムシとチリオサムシは分類学的にはそれぞれ別族(tribe)を形成していると結論されます。また、オーストラリアオサムシとチリオサムシは系統樹の根元で弱く組み、この2つが祖先を共有していることを示唆しています。オーストラリアオサムシとチリオサムシは南米大陸、南極、オーストラリア大陸が陸続きの時代に共通祖先から大陸移動によって隔離されてそれぞれの分布域が成立したと考えられます。他のオサムシの起源と分布圏の成立に関しても、いろいろ考えていますが、本日はこれ以上この問題には立ち入らないことにします。

さて、分子系統樹からの分岐年代の推定は、化石や地史のデータを必要とするのでかなりの難問です。しかし、年代スケールの設定は系統進化研究の最も重要なポイントの1つで、これがないとデータの解釈が大幅に限定されてしまいます。

まず、分子時計がきちんと動いているかを調べる必要があります。近畿地方、淀川水系一円に分布しているホソアオクロナガオサムシ(*Euleptocarabus porrecticollis kansaiensis*)のmtDNAを調べると、琵琶湖を挟んで系統が明らかに異なります。この2系統が、地理的隔離によって分岐したのであれば、琵琶湖の生い立ちを調べることにより、分岐の時代を推定することができます。琵琶湖から大阪湾につながる淀川水系は、400万年前には存在しませんでした。淀川水系が確立したのは300万年前です。したがって、この時期に、ホソアオクロナガオサムシが2つのグループに分岐したと推定されます。

日本列島に固有のマイマイカブリ(*Damaster blaptoides*)はDNA解析の結果、先の第2グループの代表で、約1,500万年前に沿海州の祖先種から分化したものです。すなわち、日本列島は約1,500万年前に、ユーラシア大陸の東縁部が観音扉が開くように2つの半島状に割れて分離したと考えられています。ちょうど列島の南・北端をちようつがいにして関東地方北部あたりが割れ、東日本は反時計回りに、西日本は時計回りに開きました。このとき祖先種から分化したマイマイカブリには、東日本と西日本の2系列ができました。

もうひとつ、ヨーロッパのクロツヤオサムシ(*Phricocarabus glabratus*)はヨーロッ

パー円に分布していますが、同じ種類でありながら mtDNA でみると、ヨーロッパアルプスの南北で差が生じます。同じような分布を示すヒメダルマオサムシ(*Tomocarabus convexus*)でもこのことは確かめられています。アルプスができたのは、2,000 万年前です。変異差と時間経過をグラフにすると原点を通る直線になることから、オサムシの進化速度はほぼ一定であるといえます(図3)。以上の地史のデータから、オサムシの mtND5 遺伝子の進化距離(D)0.01 ユニットは約 360 万年に当たると推定しました。

世界のオサムシ亜族(*Carabina*)の分子系統樹を構築してみると、ほとんどのオサムシの重要なグループ(群または主要な属)は、今から 5 ~ 4,000 万年前にいつせいに出現したことがわかります。カタピロオサムシでも、ほとんどの種類はいつせいに分岐して出現しました。つまり、オサムシの進化の基本は、短期間のうちに形態の異なるさまざまな種が爆発的に誕生したと考えられるのです。このことをオサムシの一斉放散、ビックバンと呼んでいます。オサムシ亜族の主要群(属)の放散は、インド大陸がユーラシア大陸に衝突し、ヒマラヤが隆起した時期とほぼ一致します。急激な地殻変動に伴う環境変化が、短期間で形態多様化を誘発したとも考えられますが、オサムシ亜族の祖先が古インド大陸の北の一部にのってきてユーラシア大陸に到達し急速に分布を拡大する過程で放散したと考えることもできます。オサムシ亜族の起源に関しては更なる検討が必要だと思います。いずれにせよ、一斉放散後、それぞれの系統内でも、中、小規模の放散が起き、現在のオサムシの種が出揃ったと考えられます。一斉放散に続く、中、小規模の放散はヨロイオサムシ群(*Procrustimorphi*)や骨片オサムシ群(*Digitulati*)をはじめとするほとんどすべての群でみられ、形態変化はヨロイオサムシ群でもっとも顕著、骨片オサムシ群ではそれほどではありません。中国系ヨロイオサムシは特に形態が多様化しているグループなので、この話を少しいたします(図4)。ヨロイオサムシ群は、一斉放散の少し後で、地域に直結した 5 ~ 6 のグループに放散しています。ヨーロッパ系、天山山脈系、コーカサス系、ユーラシア北部系、中国系などです。中国系のヨロイオサムシは、チベットから中国の大部分、沿海州、朝鮮半島、日本に広く分布し、形態が多様化が激しく、この中にオサムシの進化の重要なところのほとんどが集約されています。この中で 3 つの点を挙げておきます。まず第 1 点は、いくつかのグループが短期間に放散していることです。また、大、中、小規模の放散に加えて、ある形態種から、別の形態種への転換もしばしば起きたと推定されます。チベット高原から四川省にかけて分布するチベットオサムシ(*Neoplesius* spp.) (N; 図 4-11) は単系統で、~1,400 万年前に一斉に放散していますが、同所的に分布する頭部が著しく肥大したタカネオオズオサムシ(*Eoecchenus*) (E; 図 4-12) もこの中に入ります。N → E の形態変化が急速に起きたことを示唆しています。このような頭部の肥大化は、日本のサドマイマイカブリ(*Damaster blaptoides capito*)や、韓国のオオズクビナガオサムシ(*Acoptolabrus mirabilissimus*)、その他でもしばしばみられますが、系統樹ではサドマイマイカブリは本土のコアオマイマイカブリ(*D. b. babaianus*)中に埋没し、オオズクビナガ(図 4-2)

は同所的に産するリーチホソクピナガ(*A. leechi*) (図4-3)とmtDNAでは全く区別できません。異様なまで巨大化した頭部を持つマンボウオサムシ(*Acathaicus*) (中国四川省; 図4-16)に最も近縁とされる中国北部のコウガオサムシ(*Cathaicus*) (図4-5)とクギヌキオズオサムシ(*Eupachys*)は、全く形態の違う美麗なカブリモドキ(図4-4)と、クピナガオサムシ(図4-2と3)とそれぞれ姉妹関係にあります。形態変化が非線的であることをこれらの例は強く示唆しています。第2点は、マイマイカブリを例に説明します。マイマイカブリは約1,500万年の歴史をもっていますが、いろいろな産地のものをみても形態はほとんど変わっていません。地理的には8つのグループに隔離されていますから、分子時計は動いているにもかかわらず、形態はほとんど変わっていないということになります。こういうオサムシのグループはほかにもたくさんあります。

先程でできた頭部が異常に発達したマンボウオサムシ、非常にきれいなニシキオサムシなど、隔離によって、かなり古くND5 DNAの分散が始まっていますが、形態はほとんど変化していません。これを私たちは静の進化(silent evolution)と呼んでおります。第3点は平行進化です。第一点のところで説明したことの繰り返しになりますが、マンボウオサムシ、コウガオサムシ、クギヌキオズオサムシの3種は、頭が大きくて首が太く、真っ黒で、素人にはほとんど区別が付きません。分類学的にも3種はごく近縁とされています。これらは中国系のヨロイオサムシの中では、全く別系統に属することがわかりました。同じような形態種が別系統に平行して出現しているのです。

これまで、中国系ヨロイオサムシ群を例にとりて、オサムシの多様性の特長として、(1)大、中、小規模の放散、単独の形態変化が短期間で起きたこと、(2)分子時計の動いているにもかかわらず、長期間、形態変化が起らないことがあること、(3)別系統に酷似した形態種が出現する平行進化がしばしばみられること、の3点をあげました。

以下、中国系ヨロイオサムシ群以外のオサムシについて、これら3点について少しお話ししたいと思います。

第1点の放散～形態変化については、ほとんどのオサムシ亜族内の群のみならず、カタビロオサムシ亜族や、セダカオサムシ族でも広くみられることです。ここでは、日本のオサムシという意味で、形態変化の一例を紹介します。アキタクロナガオサムシ(*Euleptocarabus porrecticollis*)は、本州の特産種ですが、mtDNAの解析によれば、～1,000万年前に本州(多分、中部)で、ヨーロッパから本州にかけて広く分布するマークオサムシ(*Limnocarabus clathratus aquatilis*)から急激な形態変化を伴って分化したと推定されます。このことや中国系ヨロイオサムシ群のところでお話ししたいろいろな例からも明らかなように、オサムシの進化においては、不連続形態変化が、時には大規模に、またある時には小規模に起きたことを示唆しています。不連続な大変化(explosive evolution)は、動物の門の一斉出現(カンブリアの大爆発)やアフリカのビクトリア湖およびその周辺の湖におけるカワスズメ(cichlids)の放散などが有名で、オサムシの一斉放散に限った話ではありません。

次に、マイマイカブリでみられた第2点の「静」の進化について、もう少しお話ししたいと思います。

形態の多様化が急速に(不連続的に)起こるということは、形態変化がほとんど起きない時期があることを意味しています。ザウタートゲオサムシ(*Apotomopterus sauteri*)は、中国と台湾に分布し、ごく軽微な形態差でいくつかの亜種に分けられていますが、その分岐は古く、~2,000 万年前と計算されます。ヨーロッパに広く分布するクロツヤオサムシ(*Phricocarabus glabratus*)は形態的にほとんど区別できませんが、mtDNA でみるとアルプスを境に2系統に分かれ、その分岐はアルプス形成の~2,000 万年前と計算されます。同じことがヒメダルマオサムシ(*Tomocarabus convexus*)、チョウセンヒメダルマオサムシ(*T. fraterculus*)、ヒメクロオサムシ(*T. opaculus*)などでもみられます。ダルマオサムシ属(*Tomocarabus*)の放散は前述した中国系ヨロイオサムシとほぼ同時期(3,000 万年前)ですが、形態はほとんど変化していません。特に放散後、ほとんどの系統内での形態多様化(別の形態種の出現)が全くなかったと言っても過言ではありません。分子時計だけは動いているのです。不連続な形態変化を「動」とすれば、上にあげたものは正に「静」と表現することができましょう。例示した「静」の時期は、実にオサムシ亜族の歴史の1/2~1/3の長期にわたっています。一般には、地理的隔離が種形成の主因と言われますが、上に述べたことは、隔離それ自身は顕著な形態変化の原因とならないことを示唆しています。

このような進化における「静」は、生物界全体をみわたすと、別に新しい事実ではありません。オオムガイ、カブトガニ、シーラカンス、無顎類の魚など、生きた化石といわれるものでみられるように、何億年にわたってほとんど形態をかえないものがいくらかでもいます。例えば、無顎類では、表現型の変化なしに約4億年分の時を分子時計の原理でDNAに刻んでいるのです。

「表現型は便宜的(conventional)、分子進化は保守的(conservative)」というのは、故・木村資生博士の言葉です。形態は表現型の一部ですから、いろいろな要因で時間軸とは無関係に変化するのに対して、例えばmtDNAの分子時計は原則として、ほぼ一定間隔で時を刻みます。形態と時間軸と無関係に変化したのであれば、ある場合には長期にわたってほとんど変化しないこともありますし、ごく短期間で急激に変化することがあってもおかしくありません。

同じような形態変化は時に別系統に並行して起こることがあり、これを平行進化(parallel evolution)と呼ぶことを先にお話ししました。日本特産のオオオサムシ属(*Ohomopterus*)の種は主として♂交尾器の骨片の形態からヒメオサムシ *japonicus* (J)、オオオサムシ *dehaanii* (D)、ヤコンオサムシ *yaconinus* (Y)、アオオサムシ *insulicola* (I)の4タイプ(種群)に分けられ、それぞれの中には多数の種や亜種が設定されています。mtDNAの系統樹では、形態の区分けのようにならず、地域的な8系統が認められ、一つの系統に複数のタイプが混在します。例えば、オオオサムシ(D)とヒ

メオサムシ(J)との関係をみますと、九州、中国、四国のそれぞれの地域で独立にヒメオサムシの系統からオオオサムシが分岐しているとみられます(または、その逆)。私どもはこの結果を *Ohomopterus* の種分化の過程で、各地域で同一タイプが独立に平行的に生じたと推定し、これを平行放散進化、その変化の様式をタイプスイッチングと名付けました。私たちは *Ohomopterus* のミトコンドリア ND5 の系統樹がコンピューターの画面に現れたとき、これまでの形態によるものと余りにも違うことに驚きました。タイプスイッチング以外に、mtDNA の祖先的多型や交雑によるミトコンドリア DNA の水平移動などの可能性も考えられますが、地域的系統が奇麗に形成されていることから、mtDNA の祖先的多型はあり得ないと判断しました。交雑による mtDNA の水平移動については部分的に多少あるかもしれませんが、これだけでは得られたミトコンドリアの系統関係を説明することができません。詳しい議論は省略しますが、タイプスイッチングによる平行進化は、*Ohomopterus* に限った話ではなく、他の分類群でもみられることをお話しします。その1例としてクロナガオサムシ(*Leptocarabus*)をあげます。*Leptocarabus* は日本以外では主としてユーラシア大陸北部に広く分布していますが、その中で朝鮮半島のセイシニコクロナガオサムシ(*L. seishinensis*)とチョウセンコクロナガオサムシ(*L. semiopacus*)は、日本のコクロナガオサムシ(*L. arboreus*)と形態的にみると極めて近縁とされています(Sタイプ)。一方、中国中南部に産するクロナガオサムシ(*L. yokoei*/*L. marciilhaci*)は日本のクロナガオサムシ、特にキュウシュウクロナガオサムシ(*L. kyushuensis*)にもっとも近縁とされています(Pタイプ)。そして、日本のクロナガオサムシは、これら大陸のクロナガをそれぞれ祖先とし、朝鮮半島経由で日本に入ったとされています。しかし、mtDNA と核 28S rDNA の系統解析結果、*Leptocarabus* は3つの独立した系統に分かれることが分かりました：1)中国中南部に産するクロナガオサムシ；2)1以外の大産クロナガオサムシ；3)日本産クロナガオサムシです。この結果は、Sタイプが別のタイプから大陸と日本で多分タイプスイッチングによって独立に、平行して生じたことを示唆しています(図5)。さらに驚いたことには、中国中南部産クロナガオサムシは、形態的に異なるドウガネオサムシ属(*Rhigocarabus*)に近いことがわかり、核 28S rDNA の解析でも全く同様な結果が得られました。中国中南部産のクロナガオサムシ(Pタイプ)は、日本のキュウシュウクロナガオサムシ(P)と瓜二つであるのに、系統的にはドウガネオサムシと祖先を共有しているのです。キュウシュウクロナガと中国中南部のクロナガは多分タイプスイッチングによる平行進化によって生じたと考えられます。ちなみにクロナガオサ(*Leptocarabus*)の多くは、その名のように黒くて細長い甲虫ですが、ドウガネオサ(*Rhigocarabus*)は、クロナガより小さく、ずんぐりしていて、美しい金属光沢があります。ユーラシア大陸北部にいるチビクロナガオサムシ(*L. truncaticollis*)は、およそクロナガらしくない金ピカのクロナガで、中国中南部のクロナガオサムシとドウガネオサムシとの関係に似ているのは非常に面白いことだと思います(図5)。

また、先に紹介しましたコウガオサムシ(*Cathaicus brandti*)とカブリモドキ、クギヌキオオズオサムシ(*Eupachys glyptopterus*)とクビナガオサムシの関係も1種のタイプスイッチングによる平行進化とみてよいと思われます。日本のオオオサムシ属の平行進化に比べると、大陸のオサムシの平行進化は、はるかに顕著でスケールが大きいといえるでしょう。

以上を要約しますと、オサムシの進化の過程で、大きな形態変化をとまなう一斉放散が起きたこと、また系統樹内の分岐点では形態変化を伴ったさまざまな規模の放散が起こっています。時には同じような形態変化が独立の別系統に起こる平行進化がみられます。他方、地理的に隔離されても、長い間ほとんど形態の変化は起こらないことがある点も特長といえます。したがって、進化の過程は小進化が蓄積していく漸進的なものではなく、不連続であって、「動の変化」→「静の変化」→「動の変化」というように二者択一的に起きると私どもは考えています。

最後になりましたが、日本のオサムシ相が、いつ頃どのように形成されたかをお話します。これまで日本のオサムシは、すべて氷期(約200万年前以後)に、陸橋を通して日本列島に進入し、列島内で分岐したと考えられていました。しかし、mtND5 遺伝子による系統解析の結果によれば、列島への進入経路は一様ではなく、大きく2つのグループに分かれることがわかりました。第1グループは、約1,500万年前、日本列島が大陸から分離した際、祖先型が古日本列島に乗って入り、列島内で分化したもので、それぞれの国内での分岐が古いものです。第2グループはユーラシア大陸で分化し、氷期に陸橋によりサハリンまたは千島経由で北海道に入ったものと、朝鮮半島から対馬に入ったものであり、列島内での分岐はごく最近で、大陸のものとの区別がつかないほど近縁です。以上の推定は、日本各地のサンプルと大陸沿海州、サハリン、カムチャツカ半島、朝鮮半島のそれぞれの同種または近似種との進化距離を計算することにより導かれたものです(図6)。

第1グループのマイマイカブリ(*Damaster*)は日本特産の属で、進入経路については(1)氷期に朝鮮半島のカブリモドキ(*Coptolabrus*)から分かれ、北日本に進入した後、南下して分布域を日本列島全域に拡大した。(2)サハリン、或いは沿海州のクビナガオサムシ(*Acoptolabrus*)から分かれ日本列島に入った。(3)北日本に分布するマイマイカブリ亜種はクビナガオサに由来し、西日本のものは朝鮮半島や対馬を含む周辺地域に分布するカブリモドキから由来している、などといわれてきました。mtND5 遺伝子による解析と年代推定の結果は上のいずれの説をも支持しません。マイマイカブリはまず東と西の2系統に分かれ、それぞれが更に3と5亜系統に分岐したことを示唆しています。この系統関係は古日本列島が約1,500万年前に東日本弧と西日本弧に分かれ大陸から分離し始めたことと、それに続く多島海化と陸化による結果を現していると考えられ、日本列島形成史とよく一致しています。マイマイカブリは氷期に陸橋により渡来したのではなく、古日本に乗って進入し、列島の形成と共に分化したのです。

オオオサムシ属 (*Ohomopterus*) も日本特産のオサムシで、15 種に分類されています。この属内の分岐はマイマイカブリより少し新しく、おそらく日本列島が大陸から分離したやや後に分岐を開始したと考えられます。この属の祖先型は最初は古日本全域には分布しておらず、西日本弧に乗って大陸からきた可能性が高いと考えています。この属は前述のように中国大陸、朝鮮半島の北部、済州島に分布するタイリクオオオサムシ属 (*Isiocarabus*) と形態が似ており、それから由来したと考えられていますが、mtND5 系統樹では、両者は全く類縁関係を示さず、直接共通祖先から分かれたもの同志ではありません。

アキタクロナガオサムシ (*Euleptocarabus porrecticollis*) も日本特産属で、本州にのみ分布しています。mtND5 系統樹では、アキタクロナガオサムシは日本のマークオサムシ (*Limnocarabus clathratus aquatilis*) と最も近縁で、ドイツのマークオサムシ (*Limnocarabus clathratus clathratus*) は外群となります。アキタクロナガオサムシの中では、中部・近畿のものは比較的分岐が古く、関東以北のものはごく最近分布を拡大した集団です。これらの系統関係と進化距離から、アキタクロナガオサムシは約 1,100 万年前、日本列島内 (多分、中部地方) でマークオサから分化したと推測されることは先にお話ししました。

日本のクロナガオサ類 (*Leptocarabus*) はクロナガオサムシグループと、コクロナガオサムシグループに分けられています。朝鮮半島にもクロナガオサムシグループとコクロナガオサムシグループが分布しており、クロナガオサムシ同志、コクロナガオサムシ同志がそれぞれ近縁とされています。しかし、既にお話ししたように、mtND5 と核 28S rRNA 遺伝子の系統解析では、日本のクロナガオサムシと日本のコクロナガオサムシ、朝鮮半島のクロナガオサムシと同地域のコクロナガオサムシが、それぞれクラスターを形成し近縁です。チシマオサムシを除く日本のすべての *Leptocarabus* (s. lat.) は単系統で、日本列島内で種分化を起こしたと考えられ、その直接姉妹関係にある種は朝鮮半島を含む大陸からは発見されていません。したがって、これまでのように、日本のクロナガオサムシ類の起源を朝鮮半島に求めるのは、誤りと考えます。日本のクロナガオサムシの祖先型は大陸における古日本域に分布していたものであり、約 1,200 万年前、キュウシュウクロナガオサムシと他のクロナガムシ/コクロナガムシが分岐、600 万年前以降、オオオサムシ亜属に似た経路で日本列島内で分布を拡げ、多様化したと考えられます。

ホソアカガネオサムシ (*Carabus vanvolxemi*)、ヒメクロオサムシ (*Tomocarabus opaculus*)、ホソヒメクロオサムシ (*T. harmandi*) 3 種についてはユーラシア大陸で同種、または近似種を見出すことができません。例えば、ホソアカガネオサムシは、日本国内の中部から東北にかけて分布する固有種ですが、これと近似かもしれないと考えていた中国のアカガネオサムシ類はすべてホソアカガネオサムシとは全く別クラスターに入るし、朝鮮半島にもホソアカガネオサムシの系統に入るものはいません。一つの考え方と

しては、*Carabus* 属の放散の過程で、大陸で約 2,000 万年前、アカガネオサムシと分れたホソアカガネオサムシの祖先型が大陸の東北周辺部に局所的に隔離され、列島形成時に東日本弧に乗ってきた。多島化の時期に残された島に残存していた祖先型が、続いて起きた陸化により、近年その分布を拡大した、というものです。ヒメクロオサムシとホソヒメクロオサムシについても、基本的にはホソアカガネオサムシと同じように考えられます。ヒメクロオサムシの分岐開始は、マイマイカブリよりも古く、約 2,000 万年前、北海道での分岐開始が約 1,300 万年前となります。おそらく大陸の古北海道域で既に 2 系統(A, B)に分かれていたのでしょう。本州のヒメクロオサムシ(チョウカイヒメクロオサムシ)は上の 2 系統の一つ、B に属し、北海道のヒメクロオサムシでは様似町のものだけがこれに含まれますが、B 系統内での分岐開始はごく最近です。北海道の B 系統のヒメクロオサムシが本州に入り、東北地方に分布を急速に広げたが、逆に本州のどこかに局在していた B 系統のヒメクロオサムシが最近急速に分布域を広げ、下北半島経由で北海道に入ったと推定されます。

第 2 グループは氷期に陸橋により日本列島に進入したもので、アカガネオサムシ(*Carabus granulatus*)、コブスジアカガネオサムシ(*C. arvensis*)、チシマオサムシ(*Aulonocarabus kurilensis*)、セアカオサムシ(*Hemicarabus tuberculatus*)、ツシマカブリモドキ(*Coptolabrus fruhstorferi*)などが含まれます。これらのオサムシの特徴としては、日本列島内の各地のサンプル間の mtDNA の差が僅小で、互いに近く、さらに、サハリン(または朝鮮半島; ツシマカブリモドキの場合)の同種または近似種とも mtDNA の差がほとんどないことがあげられます。ツシマカブリモドキは韓国南部のアオカブリモドキと極めて近いので、朝鮮半島から対馬に入ったのでしょう。セアカオサムシは韓国、沿海州、カムチャツカ半島のものどれとも近いので、北から進入したのか、南から入ったのか、またはその両方から入ったと考えられます。他のものはサハリンのものと近く、おそらくサハリン経由で北海道に入ったと思われる。

「オオルリオサムシ(*Acoptolabrus gehinii*)は、北海道にしか生息しておらず、最終氷期にサハリン経由で進入したのであろう」とか、「オオルリオサムシ(オシマルリオサムシを含む)はその形態の類似から大陸のクビナガオサムシに近いのではないか」との説がありますが、客観的な証拠はありません。ND5 遺伝子から推定されたクビナガオサムシの系統関係によれば、クビナガオサムシ亜属(*Acoptolabrus*)は、大陸に分布するクビナガオサムシグループ(シュレンククビナガオサムシ、ホソクビナガオサムシ、リーチホソクビナガオサムシ、オオズクビナガオサムシ)と、カラフトクビナガオサムシ(*A. lopatini*)、オオルリオサムシ(*A. gehinii*)からなるグループの 2 つにはっきりと分けられます。クビナガオサムシが 2 グループに分かれたのは 2,000 万年前です。カラフトクビナガオサムシ、オオルリオサムシのグループの祖先種は日本列島形成に関わる地殻変動のかなり早い時期、おそらくサハリンと北海道の起源となる島が形成されたときに大陸のクビナガオサムシと隔離されたのでしょう。一方これらの両グループ内での

現存種への放散は、両グループへの分化のずっと後になってから起こっており、およそ400万年前以降と考えられます。北海道のオオルリオサムシともっとも近縁な種は、カラフトクビナガオサムシであり、大陸の種はいずれも遠縁です。ただし、その分化の時期は、最終氷期等のごく最近のことではなく、第三期にまでさかのぼるようです。以上の事実からオオルリオサムシは、第1、第2グループとは多少異なるカテゴリーに属するようですが、北方地域の地史には不明な点が多いので今後の課題としておきます。

セスジアカガネオサムシ(*Homoeocarabus maeander*)とアイヌキンオサムシ(*Megodontus kolbei*)については、大陸やサハリンの資料がないか、または不足で、第1グループに属するのか、第2グループに入るのか現在のところ不明です。

まだやり残したことや確かめたいことがかなり残っておりますので、2000年3月までに、本日お話したことに肉付けをし、このプロジェクトを終結しようと考えております。

どうもありがとうございました。(拍手)

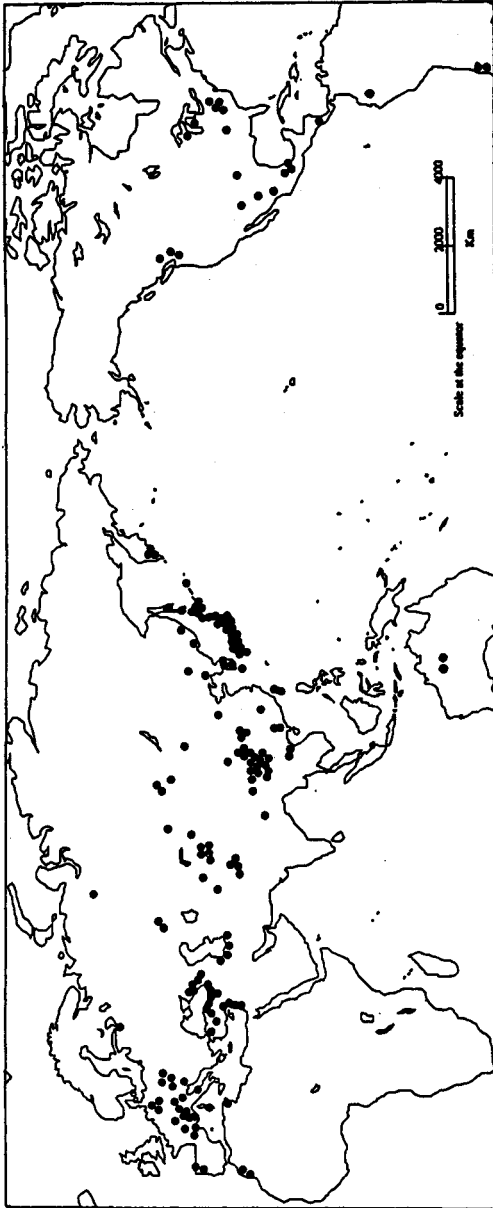


図1 DNA分析用サンプルの採集地点

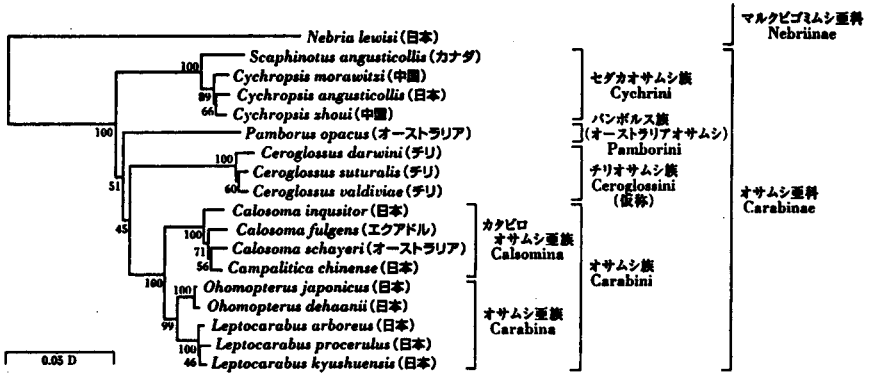


図2 オサムシ亜科(Carabidae)の核28S rRNA遺伝子による系統樹

D = 進化距離. 系統樹はNJ法による. ブートストラップ確率(%)は各枝の分岐点に表示. 外群にはカワチマルクビゴミシ(*Nebria lewisii*)を使用.

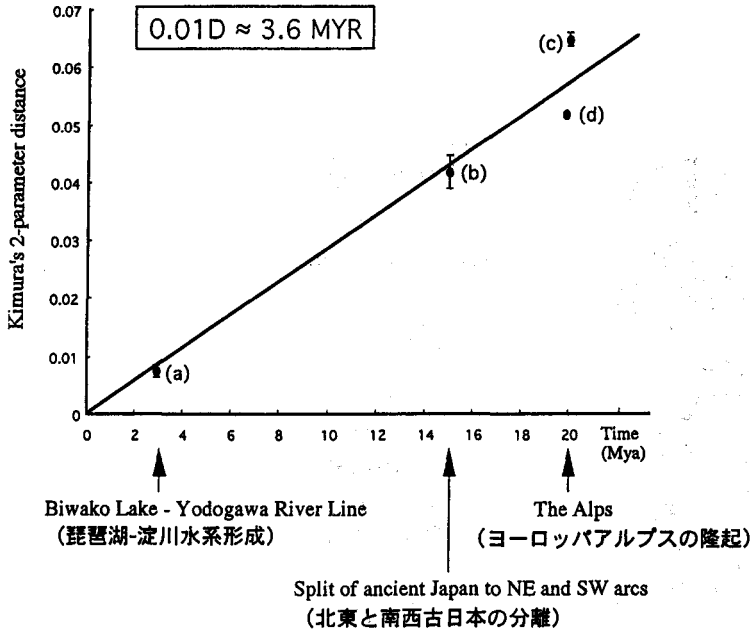


図3 mtND5遺伝子の進化距離と分岐年代の関係

a = ホソアオクロナガオサムシ (*Euleptocarabus porrecticollis kansaiensis*) の関西2系統の進化距離；b = マイマイカブリ東西2系統の進化距離；c = ヨーロッパアルプスに境されたクロツヤオサムシ (*Phricocarabus glabratus*) 2系統の進化距離；d = 同じくヒメダルマオサムシ (*Tomocarabus convexus*) 2系統の進化距離

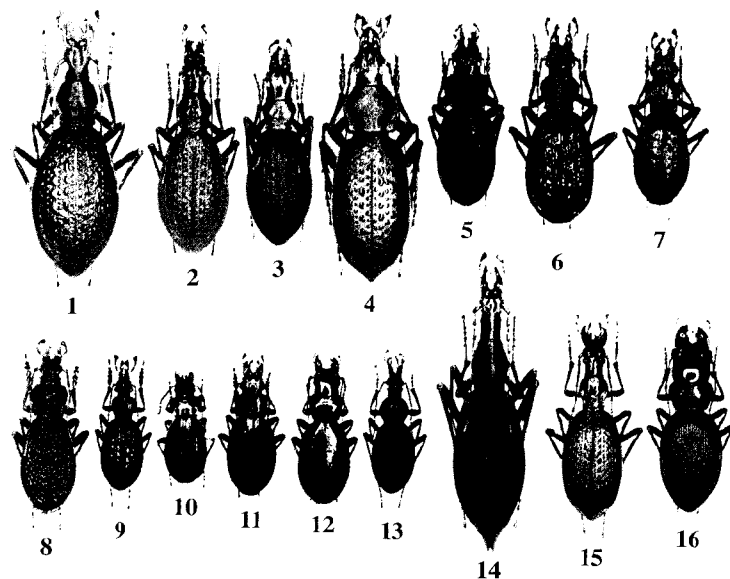


図4 中国系ヨロイオサムシ(Procrustimorphi)

1. *Shenocoptolabrus osawai* クビナガモドキ(Hubei); 2. *Acoptolabrus leechi* リーチクビナガオサムシ(C Korea); 3. *Acoptolabrus mirabilissimus* オオズクビナガオサムシ(C Korea); 4. *Coptolabrus smaragdinus* アオカブリモドキ(Beijing); 5. *Cathaicus brandti* コウガオサムシ(Beijing); 6. *Aristocarabus viridifossulatus* ニシキオサムシ(C Sichuan); 7. *Shunichiocarabus uenoianus* コブキバオサムシ(Hubei); 8. *Pagocarabus crassesculptus* マンダラオサムシ(Gansu); 9. *Eccoptolabrus exiguus* ヒメカブリモドキ(Shaanxi); 10. *Calocarabus aristochroides* ニセキンスジオズオサムシ(NW Sichuan); 11. *Neoplesius wagae* チベットオサムシ(C Xizang); 12. *Eoecchenus leptoplesioides* マルカムタカネオズオサムシ(E Xizang); 13. *Cephalornis potanini* セダカモドキ(S Gansu); 14. *Damaster blaptoides* マイマイカブリ(Hiroshima, Japan); 15. *Coptolabrodes haeckeri* ニセクビナガオサムシ(S Shaanxi); 16. *Acathaicus alexandrae* マンボウオサムシ(S Gansu)

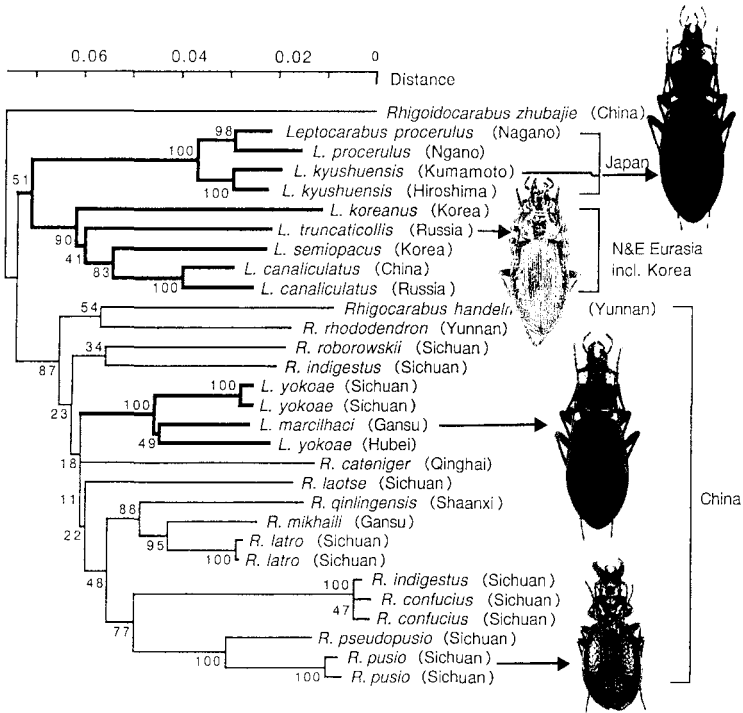


図5 中国産クロナガオサムシ(*Leptocarabus marcilhaci*と*L.yokoae*)の系統的位
置
ミトコンドリアND5遺伝子のNJ法による系統樹

「ゲノム生物学とこれからの生命研究」

(財)国際高等研究所副所長
奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科教授
松原謙一博士

はじめに

過分な、然し誤解も含んだご紹介をいただきまして(笑)ありがとうございます。

遺伝研という、日本で最も重要な遺伝学研究の中心でゲノムについて話す機会を与えていただいて光栄です。今日は、ゲノム研究の生まれた背景、その現状、さらにこれからのことなどについて私なりの話をさせていただきたいと思います。

今さら申し上げるまでもないことですが、20世紀に入って、素粒子、宇宙、地球等に関わる我々の考えはすっかり変わってしまいました。生命についてもそうです。世の中、この頃は科学技術、科学技術、ともにはやしていますが、20世紀は本当は、夢をかきたてる「科学」の時代だったと思います。

20世紀の生命の研究は、生命の仕組みの理解を中心に展開して来ました。中でも生化学、このおかげで我々は、生体を構成するさまざまな成分を化学的に理解できるようになり、発酵などの生命現象が酵素によって起こる化学反応であるということを知り、更に代謝の動的な様子、生体物質の高次構造などについて思い描くことができるようになりました。生化学より遅れて生まれてきた分子生物学は、今度は、生命を指令している情報を対象として研究を進め、重要なことを次々と発見しました(情報の研究が分子生物学の全てではありませんが)。分子生物学はこのほかに、生命の歴史にかかわる研究にも重要な方法論としてその役割を果たしています。

分子生物学の発展

そこでまず、分子生物学の流れを簡単に振り返ってみたいと思います。

1960年代までは、Molecular Biology of the Geneの時代でした。この間にいろいろなキー・コンセプトが生まれたのですが、1965年のワトソンのテキストをみると、〈クロモソーム上の遺伝子の並び、遺伝子の構造と機能、DNAの複製、転写、タンパク合成、遺伝暗号、タンパク合成の調節やその機能〉というような項目が並んでいます。

これらの研究から、いろいろな生命は「多様だが共通な基本的特性をもっているのだ」ということがはっきりとわかってきました。然し1960年代には、原核生物を対象とした研究しかできなかったのもっと複雑な体をもった高等生物については、それから類推するだけでした。Monodの有名なChance and Necessityの考えもこうした流れの上に築かれたものです。60年代も終わりに近づくと、今度は真核生物、多細胞生物のことをもっと知りたい、例えば脳神経や発生分化の研究をやりたいと、皆がそれぞれに工夫し始めました。特に、50～60年代の大腸菌のように優れたモデル生物を確立し

ようということを皆が考えたと思います。然し、これは必ずしも成功したとはいえませんでした。

この困難を乗り越えさせたのは、1972年にあらわれたPaul Bergたちの組換えDNA実験です。Molecular Biology of the Cellの時代が開けてきたのはそのおかげです。これを扱うテキストブックとして有名な1994年のAlbertsをみますと〈細胞の核、細胞膜の構造、細胞の内部の区画、ミトコンドリアとクロロプラスト、小胞による物質輸送、分泌とEndocytosis、細胞間のシグナル伝達、細胞骨格、細胞の分裂サイクル、分裂の機構〉、更には、〈junction, adhesion, 細胞外マトリックス〉等が扱われています。更に、細胞よりも高次の生命現象として〈発生、細胞分化、組織の維持、免疫系、がん、神経〉等に関する話題が、テキストブックに載るくらいのレベルまで解析されるようになったことを告げています。

Molecular Biology of the Gene, Molecular Biology of the Cellという流れを思うと、次にくるのはMolecular Biology of the Bodyということになるでしょう。Bodyが済めばその次はMolecular Biology of the Lifeでしょうか。そこでは多彩多様な生物、時間的な、あるいは空間的な存在としての生命とそれらの相互関係、あるいはそこに働くメカニズムを分子生物学の手法によって調べていこうということになるのかなと思います。

しかしこれまでを振り返るとき、新しい展開には、必ずそれを可能にする研究手法の開発があり、それまでに無かった研究のシステムが作られていたことを忘れてはなりません。例えばDNAの発見(1869年)、ファージ・グループによる大腸菌ファージの研究、DNAによる形質転換の証明(1944年)、ポリペプチドやポリヌクレオチドの化学合成、DNAの二重らせんモデル(1953年)、DNAポリメラーゼの発見など。どれ一つ欠けても、Molecular Biology of the Geneの発展は不十分だったでしょう。

1950年代の終わりぐらいからは、今でも盛んに使われている技術がつつぎに開発されたのが一つの特徴です。例えば、ポリアクリルアミドゲル電気泳動、メリクローンの培養、高分子DNAの調整法、条件致死変異の取り方、胚細胞の操作、動物細胞のトランスフォーメーション、遺伝子ライブラリーの作成等々、枚挙にいとまがありません。こういう技術開発が新しいコンセプト作りに不可欠だったのです。私が何をここで言いたいかというと、第1期の分子生物とそれから第2期の分子生物の発展をうながしたのは基本的に、新しい技術と新しいシステムの開発だったということです。これを逆に言うと、技術やシステムの生まれた時にはブレークスルーを期待できるということです。それでは、現在はどのようなのでしょうか。

ゲノム解析計画の提唱

とにかく、こういう道をたどりながら、遺伝子研究のデータが大量に蓄積する時代になってきました。これは21世紀にかけても衰えずに、更に盛んになるだろうと誰もが

思っています。知識が多くなり過ぎて見通せなくなりつつあるとか、やっている人も自分が全体の山の中のどこにいるのか分からなくなっているのではないか、というようなことを言われますが、幸い、生命現象にはおもしろい問題があまりにもたくさんあります。でも、このやり方でパラダイムの転換に通じるような生命研究が、できるのだろうか。我々は勝木元也さんの言葉を借りると、「わかっていることをもっと細かく調べている」だけではないだろうか、そういう不安があることも確かです。

がん研究を例に取ってみましょう。ご存じのように、ニクソン以来、がん撲滅というスローガンの下に、大量の資金を投じて、がんに対する分子生物学的なアプローチが図られました。そして次々とがん遺伝子やがん抑制遺伝子が発見されました。さらに、がんの細胞の分裂、増殖にかかわる制御のいろいろな仕組みに関わるものごとや、がんに向かう血管の増殖とか、転移に関わる細胞接着とかいろいろなことが分かってきました。

しかし、一体どこまで行ったらがんの撲滅にたどりつくのか、これまでのやり方には、piecemeal 的なアプローチという言葉があてはまります。がんに対処しようとする時、この piecemeal 的なアプローチで知識をふやしていっても、それだけでは問題の解決はできそうにない。むしろ「もうこれ以上はない」というところから出発するがんの攻略はないだろうか。パラダイムの転換とは言わないが、一つずつ攻めていくよりも、全体はもうこれだけだ、これより先は無いらんだという、そういう攻め方もあるのではないか、現代の科学技術を使えばそれは可能ではないか。そこで、とりえずヒトの遺伝子の全体を調べてしまおう。一般の生命研究の予算とは別に、ゲノムを解析するプロジェクトとして、特別な予算を請求して皆でとりかかろう。これがヒトゲノム解析計画の提案で、1980年代の終わりにまとまりました。有名な Dulbecco の論文もそこに影響を与えたものです。

全部分かっているところから出発する生物学をつくろうと言う提案は、このように、がんの撲滅を意識して提案されたのですが、生物学全体に対しても、同じ姿勢をとるやり方がある訳です。

ゲノム研究の進め方

まず取り掛かるのは、シーケンスなどを中心にしてゲノムの分子構造、つまり DNA の分子構造を全部決めることです。ゲノム DNA は有限ですから、シーケンス決定はプロジェクトとして攻めることができるわけです。アメリカのゲノム計画は出発当初、ワトソンの強い影響力の下に、殆どの資金をヒトゲノムの構造解析に集中しました。このおかげで、ゲノム計画というと、力づくでヒトゲノムのシーケンスをする作業だけだ、と思っている人が今でも少なくありません。この仕事も、10年前には非常に大変なことだと言われましたが、昨今はストリームライン化されて能率が上がり、2000年の半ば頃までにヒトゲノム全体の90%は決められてしまっています。

しかし、ゲノムに書き込まれている情報を読み解くためには、ゲノムの機能を解析す

ることも欠かせません。これがゲノム研究の第二の柱です。ゲノムに指令されて働く遺伝子の種類と量は、発生や組織の状態に対応するように空間的、時間的に決められていますから、メッセンジャーRNAの解析を大量に行うことが当面の仕事になります。

我が国のゲノム研究チームは、ゲノムの機能解析を最初から重視してそれに必要な手法の開発に取り組んできたので、今でも国際的にそれなりのアドバンテージをもっています。しかし、機能解析は一口でいうほど簡単ではありません。どちらかというところ、シーケンス決定のほうがはるかに容易です。シーケンス決定に目処がついたうえに、データマイニングなどと騒がれた影響もあって、昨今の興味は機能解析のほうに移りつつあるように思います。DNAチップ、あるいはDNAマイクロアレイは、機能解析の手法ですが、視覚に訴えるので、一つの流行現象を作り出しているようです。

もう一つ、異なる生物についてゲノム解析の成果を比較しよう、それを通して、より本質的な問題に早く迫れるはずだ、というのがゲノム研究を進める第三の柱となっています。ゲノム研究の手法を使って異なる生物について比較研究を行い、成果が出始めたのは1995～96年頃からです。セル・サイクルのコントロールを例にとるならば、DNAの複製のメカニズム、DNA障害の修復、*ras*という遺伝子の働きにいたるまで、ヒト、マウス、線虫、酵母菌が殆ど共通ということが分かって、こうした比較研究が重要なものになりました。HedgehogやWntやNotch遺伝子などについても、脊椎動物で研究するだけでなく、ショウジョウバエや線虫にまで還元して調べることの有利さはおおきなものです。

こうした仕事の成果はそれぞれのところでデータベース化されて、できるだけ多くの研究に役立つようにと配慮されています。それぞれの仕事は労力もコストもかなりかかるものですから、データベースを皆で使い有効活用しようというわけです。

第三の技術革新

ゲノム研究が始まって10年、その中から今までの生命研究とは異質の研究思想や研究姿勢が出てきたのに皆さん気付いておられるのではないかと思います。世の中にシーケンス主義という人たちがいて、大量のシーケンスデータをつくらせている。DNAチップを使って、たくさんの遺伝子の発現プロフィールデータを集めている。こういうのは目に付く例でしょう。生命研究の中で、これまでに考えられなかったような大量のデータ生産が行われつつあるのは特筆すべきことです。

今までの生命研究に中心的役割を果たしてきた“私の顕微鏡”、“私の得意な手技”、“私の試薬”...などは違う技術システムが必要になってきました。データベースを相手にし、コンピューターの前に座らないとできない仕事です。これに対して私は、生命研究においてDNA組換え実験の出現につぐ新しい技術革新の台頭だと受け止めています。

既に述べたように、新しい技術革新のある所には新しい学問のブレークスルーの誕生が期待されます。

生命研究者の一部には、こういうやり方に違和感を持つ人々があるかもしれません。あるいは、それは少しのさばり過ぎていると考える方もあるかもしれません。しかし、ゲノムの研究者ともいえども、それを通して我々が知りたいことはやはり生命に対する興味であって、この基本態度は、これまでの生命の研究と同じです。今のところ、ゲノム研究においては個人個人で成果を追求するよりも、組織的な共同作業に加わって、有用で大きなデータベースをつくれば、一見回り道のように見えても、問題をより早く、より正確に解くアプローチなのだ... そういう姿勢が貫かれているのだと理解してもらえれば良いのではないのでしょうか。

どんなことがわかったか

ゲノムプロジェクトがスタートして10年。この間にどんな事が分かったか？ 次にその話をしましょう。とりあえず、ヒト、マウス、線虫、酵母、それから微生物へと話を進めたいと思います。

<ヒト>

まず、ヒト遺伝子発現プロファイルの話から入ります。ヒトの遺伝子は10万ぐらいあると考えられていますが、現在データベース化されているのはその中の8,000ほどに過ぎません。大部分の遺伝子は、たとえばゲノムDNA シークエンスで発見されても、その機能を知ることは容易ではありません。

既知、未知を問わず、一つの組織、例えば肝臓の細胞の中で何種類ぐらいの遺伝子がどのくらい発現しているかを調べる例を見ることにしましょう。これを遺伝子の発現プロファイルと呼び、その例を表1に示します。このプロファイルを見ると、我々は、ヒトの肝臓の細胞は、意外とたくさん分泌タンパクを作っている、つまり、肝臓は、血液の中に分泌されるタンパク質を作ることに大きなエネルギーを使っている、ということを知ります。次に、ヒトとマウスの両方の発現プロファイルを比べると、肝臓はどう似ているか、どういうふうに違うかということもよく分かります。また、発現プロファイルをいろいろな臓器や組織について比べてみると、それぞれの組織の機能の特徴を明らかにすることができます。

発現プロファイルを、このような空間的比較だけでなく、例えば発生のステージを追った時間軸で収集すると、またいろいろな知見を得ることができます。私たちは今、マウスの小脳の発生過程で刻々と変化する遺伝子発現プロファイルを調べています。遺伝研では小原さんが線虫についてこのやり方で仕事を進めて居られます。

こういう具合にして、遺伝子が何時、何処で、どれだけ働いているかを見たり、薬の投与や病気によってどう変化するかを調べるなど、発現プロファイル収集の仕事が盛んになりつつあります。

たくさんのcDNAや合成オリゴヌクレオチドを、基盤の上に微量ずつスポットしておい

て、そこにハイブリッド形成する mRNA を調べるのが DNA チップあるいは DNA マイクロアレイです。これも遺伝子発現プロファイル収集法のひとつです。ゲノムの機能解析は薬作りや、がんなどの医学的検査あるいは疾病診断の分野で特に期待されています。

ヒトゲノムの構造解析は早くから推進されて来たプロジェクトです。先に述べたように、その大規模な研究成果をまとめると、cDNA の全体像、つまりヒトゲノムのなかで転写される遺伝子を全部知ることができるのではないかと、あるいは、モチーフを使うと、有用な新規遺伝子を探し出すことができるのではないかと、という期待が強くありました。然し、今の情報科学的解析技術には限界があるので遺伝子を知るために全長 cDNA のクローンをたくさん集めて、それをシーケンシングする仕事が精力的におこなわれています。全長 cDNA プロジェクトや EST プロジェクトは cDNA を扱っているとは言え、構造解析の一部と考えるべきでしょう。

人間の集団の中で個々人のゲノムは非常にバラエティーに富んでいます。個々のゲノムを比べるとほぼ 300 ヌクレオチドに 1 回くらいの割合で違いが見つかりますが、それを一塩基多型 (SNP, Single Nucleotide Polymorphism) と呼んでいます。任意の二人のゲノムを比べると、全部で 1000 万個所くらい違いがある、という計算になります。昨年頃からこの SNP を大量にあつめて、これまで難しかった病因遺伝子の発見に役立てよう、あるいは個人個人に適した治療を行えるような診断データ作りに結び付けよう、という国際協力事業が浮上していることもお聞き及びのことと思います。

日本でも、これに呼応して、SNP 収集が計画されています。しかし、私が見るところ、収集してからどうやってゆくのか、十分に議論されていないことに不安があります。

ところで去年突然、アメリカの Craig Venter が、ヒトゲノム構造解析なら一企業でもできる、という提案をしました。300 台のシーケンサーを置いて毎日作業をすれば、数年で全部やりあげてしまうことができる、何だったら私たちにまかせなさい、と言わんばかりの論文をだしたわけです。もちろん、旨味のある遺伝子や、ゲノムの情報はパテントにとるという前提です。

世界中のヒトゲノム解析チームがこれを認める訳はありません。やはり自分達の方でやりあげようということで、作業のスピードをあげています。それで、計画を前倒しして、2000 年の春には、ヒトゲノムの 95% のシーケンシングを終えようという目途をたてたわけです。日本は其中で何%の貢献ができるか、という問題がありますが、これは国や民間のサポート次第です。今後これに対処するのは理化学研究所の榊/服部グループですが、過去何年かの間は、榊チームの他に、中村(東大、がん研)、清水(慶應大)、猪子(東海大)グループが、ゲノムシーケンシングのデータ生産に携わって来ました。

以上、ヒトゲノムに関することを駆け足で紹介しました。DNA チップというのをこのごろよく耳にする、シーケンシングが進んでいるようだ、EST、SNP という言葉を耳にする、ゲノムが薬とか、検査とか、病気の原因の追求に役に立ち始めたようだ、遺伝子発現プロファイルという言葉も聞く。そういうような方に概略をお話しようとした次第

です。

人間を対象とする研究は、役に立つということにどうしても力が入ります。これに対して、すぐ実用になるというわけではないが、ゲノム研究そのものが、あるいはその手法が、基礎生物学の発展に役に立っている現状について、次に話を進めたいと思います。

表1 ヒトおよびマウスの肝臓の遺伝子発現のプロフィール

GS, MUSGS は、各々ヒト、マウスの遺伝子に付された整理番号。遺伝子名はDefinitionに示す。無記入は新規遺伝子。HepG2はヒト肝癌由来培養細胞。数字は肝または培養細胞から抽出したmRNA 1000分子中に当該メッセンジャーRNAが何分子含まれているかを示す。

(Kawamotoら, Gene 174 (1996) p151による)

(A) ヒト肝における上位 29 遺伝子の発現プロフィール

GS#	GenBank		頻度		
	Accession No.	Definition	ヒト 肝	HepG2 細胞	マウス 肝
00364	L00133	serum albumin	140	17	35
02085	X00637	haptoglobin α 1S	34	-	2
02174	M13692	α 1 acid glycoprotein	16	-	1
00476	J02775	apolipoprotein B	13	2	-
02155	M17614	transferrin	10	-	-
02202	J00132	fibrinogen β	9	-	2
00277	X04898	apolipoprotein AII	9	3	-
00196	M10617	liver fatty acid binding protein	8	1	-
02176	X05151	apolipoprotein C-II	7	-	-
02541	M21941	cytochrome P-450mp	7	-	-
00111	X02920	α 1-antitrypsin	6	6	20
02093	D00183	aldolase B	6	-	3
02047	K02569	fibrinogen γ	5	-	4
02148	M36501	α 2-macroglobulin	5	-	3
02092	X00129	retinol binding protein	5	-	2
02116	M24316	alcohol dehydrogenase (ADH2)	5	-	-
02525	M17262	prothrombin	5	-	-
00732	Z26876	ribosomal protein L38	4	-	4
01766	V00594	metallothionein	4	-	1

02075	X07173	inter- α -trypsin inhibitor H	3	-	1
00285	X89401	ribosomal protein L21	3	5	-
02105	K00799	fibronectin	3	-	-
00934	X58139	coxVIb	3	-	-
02152	M59815	complement component C4A	3	-	-
01305	M62762	vacuolar H ⁺ ATPase subunit	3	-	-
00689	X59277	<i>rat ribosomal protein S28</i>	3	-	-
00380	M13934	ribosomal protein S14	3	1	-
02564			3	-	NT
02423			3	-	NT

(B) マウス肝における上位30遺伝子の発現プロフィール

MUSGS#	GenBank	Accession No.	Definition	頻度	
				マウス	ヒト
00258	M16356		major urinary protein II	43	NT
00006	J00698		serum albumin	35	140
00385	M75721		α 1 protease inhibitor/antitrypsin	20	6
00332	K02782		complement component C3	16	-
00397	L04151		apolipoprotein A-I	16	-
00150	M12414		apolipoprotein E	15	-
00476	L04150		apolipoprotein CIII	14	-
00212	M14369		<i>rat kininogen analog</i>	12	-
00033	S96534		α 2 HS-glycoprotein	9	1
00414	M55413		vitamin D-binding protein	7	1
00037	J04716		ferritin light chain	7	2
00003	D45850		estradiol 17- β -dehydrogenase	7	-
00348	X03351		prealbumin/transthyretin	7	-
00041	J03752		glutathione S-transferase	6	1
00449	M57960		carboxylesterase	6	-
00169	D17962			5	NT
00104	X61381		interferon induced mRNA	5	-

00471	X51942	phenylalanine hydroxylase	5	-
00418	J00735	fibrinogen γ	4	5
00235	M13149	human histidine-rich glycoprotein	4	1
00495	D28812	inter- α -trypsin inhibitor L chain	4	-
00248	M16357	major urinary protein III	4	-
00430	M19689	MHC class I H-2(q-haplotype)	4	-
00523	M21285	stearoyl-CoA desaturase	4	-
00249	X56786	SPI-2(serine protease inhibitor)	4	-
00467	X57007	ribosomal protein L38	4	4
00506	X01838	β 2-microglobulin	4	1
00071	J05185	protein disulfide isomerase(ERp59)	4	-
00229	D18014		4	NT
00308	D18078		4	NT

<酵母菌と線虫>

線虫 (*C. elegans*) は1000 個足らずの細胞から成るモデル的多細胞動物, 酵母菌 (*S. cerevisiae*) は単細胞ながら真核生物です. 酵母菌は96年, 線虫は98年に, 全ゲノムのシーケンス決定が完成しました.

酵母菌のゲノムは12メガベース, その中に5,885のORF(open reading frame)が見つかりました(不確かなORFを含めると6034になります). これは後で述べる大腸菌の遺伝子の総数に比べて約3割方多いことになります. そのうちの25%は新規の遺伝子です. 遺伝学的に詳細な研究が行われて来たことと遺伝子の発見とは必ずしも一致しておらず, 約4分の1が未知の遺伝子でした.

1個のORFの大きさは大体2キロベース, ゲノムDNAの約70%はORFで占められています. 全遺伝子の31%はmammalianのホモログです. *ras*等はゲノムプロジェクトが始まる前から知られていた有名な例で, 2個あるホモログを両方とも失った酵母菌は生育できないが, ヒトの*ras*を与えると能力を回復する, つまりヒトと酵母菌は離れていても遺伝子の働きは保存されていることが知られていました. こうしたホモログ遺伝子の知見は, 酵母菌がヒト遺伝子機能解析の有用なモデルシステムになることを示しています.

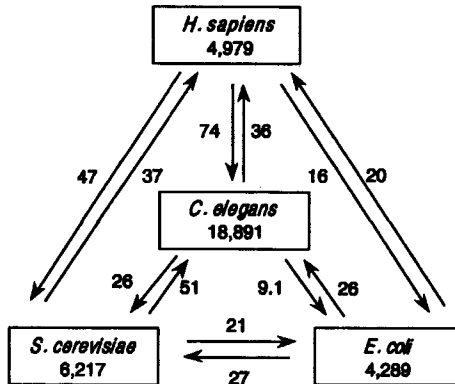
酵母菌の中で遺伝子発現を支配する転写因子の種類は多分200ぐらいで, それ以上ではない, ということが分かったのも重要なことです. 高等生物では転写の調節は最も重要な機能の一つですから, その問題を考える手掛かりがここにある訳です.

酵母菌ゲノムにはトランスポゾンがたくさんあります. 進化に大きく関与してきたことを示唆しておりますし, また, ゲノム構造には局所的に重複したレコードがみごとに読み取れます.

対応するデータを線虫でみるとどうなるか。線虫ゲノムの全長は97メガベース。1万9,099個のORFをもっており、そのうちの1万2,000は機能未知です。もちろんこの機能を決めるプロジェクトが大きな関心を呼んでいます。1個のORFは平均5キロベース。全部まとめても、ゲノムDNAの27%しか遺伝子領域になりません。酵母菌ゲノムの70%という数字に比べると大分割率が低いわけです。1個の遺伝子当たりのイントロンは約5となっております。

線虫遺伝子の32%はヒト遺伝子のホモログであり、逆にヒトの既知遺伝子を見ると、そのほとんど全部に対応するものが線虫の中にあります。このような訳で、線虫はヒト遺伝子研究のモデルとして大いに期待されています。線虫には細胞間のシグナル伝達や、遺伝子の転写に関する仕掛けの遺伝子が酵母菌に比べて非常にたくさん認められます。単細胞の酵母菌には要らないシステムがあり、また、多細胞系であるために、遺伝子の転写制御が非常に複雑になっていることがみごとに表れています。逆に、ホモログを見ると、酵母菌と線虫の遺伝子の20%ぐらいいは対応しており、しかもその大部分は細胞にとってのコア機能、つまり基礎的な代謝とか、DNA、RNAの複製、あるいはタンパク合成というようなものであることが読み取れます。

こんな具合で、構造の解析だけからではありませんが、生物の全体像の理解にだんだん迫りつつあり、また、異なる生物間の進化上の関係を論ずることも、一層やりやすくなってきたということは特筆すべきだと思います。ついでに、Science誌の98年12月号に紹介された大腸菌/酵母菌/線虫/ヒトの間でどのくらい対応する遺伝子が見つまっているかというデータを紹介しておきます(図1)。



(図の説明)

図1 ヒト/線虫/酵母/大腸菌の既知遺伝子の間で対応することの明らかなものの割合。□中の数字は比較に用いた遺伝子の数。矢印は比較を行った方向を示す。その脇に記した数字は対応が見つかったものの割合。(Science 282 (1998) p2012より転用)

線虫のゲノム構造にも、くり返しや重複、あるいは逆位の記録が読み取れますが、興味深いのは、染色体上に分布している遺伝子の密度が均一でないということがはっきりして来たことです。これに対して、逆位とか、タンデムなくいかえしなどは染色体の端のほうにたくさんあります。ゲノムの設計原理が垣間見られるようになって来た訳です。

<バクテリア>

もっとゲノムの単純なバクテリアに目を移しましょう。すでに、20種近いバクテリアについて全ゲノムシーケンスが決められています。その主なものについてゲノムサイズ、同定された遺伝子の数、その内の既知遺伝子数をまとめたのが表2です。この表には、分子生物学の優等生であった大腸菌(*E. coli*)、枯草菌(*B. subtilis*)、かずさDNA研究所で解析されたらんそう(*Synechocystis sp.*)などが並んでいます。これを見ると、分子生物学や微生物遺伝学で深く解析した生物でも、ゲノムを調べると、未知の遺伝子がたくさん見つかるということがよく分かります。

表2 全シーケンスの決められたバクテリアのゲノムサイズと予測されるORF数、そのうちの既知遺伝子数(比較のために酵母菌を含む)

バクテリア	ゲノムサイズ (10 ⁶ ヌクレオチド)	ORF 数	既知遺伝子数	(%)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	12.1	6034	3089	63
<i>Escherichia coli</i>	4.6	4288	2656	62
<i>Bacillus subtilis</i>	4.2	~4000	~2320	~58
<i>Synechocystis sp.</i>	3.6	3168	1402	48
<i>Archaeoglobus fulgidus</i>	2.2	2471	1193	44
<i>Haemophilus influenzae</i>	1.8	1740	1015	58
<i>Methanobacterium thermoautotrophicum</i>	1.8	1855	816	44
<i>Helicobacter pylori</i>	1.7	1590	907	57
<i>Methanococcus jannaschii</i>	1.7	1692	776	46
<i>Borrelia burgdorferi</i>	1.3	863	499	58
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	0.8	677	333	49
<i>Mycoplasma genitalium</i>	0.6	470	324	69

この表以外にもある、既にシークエンスされたバクテリアをならべて見ると、天然にある分布状態よりも人間の病気に関わる種、例えば、スピロヘータ、ピロリ菌、結核菌、発疹チフスなどが目に付きます。役にたつものごとの研究を優先するというのは避けがたいことです。しかし表中には古細菌(*Methanococcus*や*Archaeoglobus*)など、進化の上で興味のあるものも含まれており、これから共通性や多様性を議論する上で、非常に面白い時代になってきました。

もちろん、全ゲノム構造データベースには、微生物の種ごとに、どんな種類の遺伝子がどう配置されているか、というデータが表現されているので、各遺伝子の共通性だけでなく、代謝システムの進化を考えるのにも、絶好の手掛かりです。細胞内寄生性でゲノムサイズの小さいマイコプラズマ(*Mycoplasma*)から始めて、インフルエンザ菌(*Haemophilus influenzae*)、らんそう、大腸菌、酵母菌とゲノムのサイズ順に一つの軸に並べ、別の軸に、それぞれのゲノムにあるトランスポーター遺伝子(アミノ酸とペプチド、アミン、糖類、有機アルコール、カチオン、アニオン、ABCなどに対するトランスポーター)を全部並べてみます。そうすると、ゲノムが小さくて簡単なものほど、各トランスポーター遺伝子の数が少なく、大きいものでは重複して多様化しているのがよく分かります。酵母菌では如何に重複と多様化が進んでいるか一目瞭然です。

バクテリアゲノムのデータを眺めていると、いくつか興味あるポイントが浮かんできます。私なりにまとめたのが表3です。

表3 バクテリアのゲノム構造比較により得られる興味深い知見

-
- 1) Rickettsia, Mycobacterium, Helicobacter, Spirochete:
 - Defining genes that control virulence; Origin of such gene clusters
 - Repetitive sequences for antigenic variation
 - Unique properties for survival, adhesion, invasion
 - 2) The larger the genome, the more paralogs
 - 3) Evolutional relations:
 - M. genitalium* (0.5 Mb, 470 ORF): 300 genes are orthologs in *B. subtilis*
 - E. coli*, *B. subtilis* share 1000 genes
 - Rickettsia is an ancestor to mitochondria?
 - Genome duplication and local duplication, horizontal gene transfer
 - 4) About 1/4 of the genes are unique to each species
 - E. coli*, *H. influenzae* share conserved operons
-

第一にリケッチア、マイコバクテリア、ヘリコバクター、スピロヘータなどのゲノムには、いわゆるヴィルレンシーを支配する遺伝子のクラスターが見つかります。病原菌には宿主の免疫機構による攻撃をかかわす表面の変化、例えばピロリ菌が強酸性の胃の中で生き続けるためのユニークな性質や、菌の腸内への侵入、あるいは淋菌の接着と細胞内侵入などに関する特有な配列などがあります。これらは、ゲノム全体を見るとき、特殊な遺伝子クラスターとして比較的容易にみつけれられます。また、そういう仕組みはこの菌にはこれ以上はない、ということも分かります。そして、それらの起源を考えたり、有害な性質に対処する方法を開発する手掛かりになります。

二番目はゲノムが大きいほど遺伝子のパラログが多いという特徴です。オルソログが種を越えて共通のものであるのに対して、パラログは種内にたくさんあって互いに似た遺伝子のことですが、一つの遺伝子がその生物種のなかで増幅して、少しずつ機能の違う遺伝子になってきた記録、と読み取れます。

三番目は遺伝子構成そのものを比較すると見えてくる知見です。ゲノムが小さくて、0.5メガベースしかないようなマイコプラズマ(*Mycoplasma genitalium*)をみると、ORFが470しか無いのに、そのうち300は枯草菌と共通な遺伝子です。また、大腸菌と枯草菌を比べると、ずいぶん遠い昔に別れたのに、4,000余ある遺伝子のうち、少なくとも1,000ぐらいは共通。大腸菌とインフルエンザ菌の間には、オペロンとしても共通構造を持っているものも少なくありません。リケッチアのゲノムはほとんどそのままミトコンドリア、あるいはミトコンドリアの先祖と考えたくなるような構造です。また、ゲノム全体の重複のほか、局所的な複製の跡や、種を越えて遺伝子の移動が起きた、とさえざるをえないような例もあります。

四番目に、それぞれのバクテリアのゲノムの4分の1ほどは、種に固有の遺伝子であることも目につきます。

こういう知見に裏打ちされつつ、遺伝子をノックアウトしたりあるいは過剰発現するバクテリアを作ったり、たくさんの遺伝子の発現プロファイルの動的様態を調べたり、細胞内部でのメッセンジャーRNAやタンパクの局在を調べたりといろいろなテーマが準備を進めており、ゲノムの構造解析が進むほどに、活性化してくるだろう、と思います。

Information Biology

こうして、ゲノムを扱う中から、今までとは違った生命研究のやりかたが生まれつつあります。

まず、インフォメーションを大量に生産する科学の誕生。そこでは今までに無かった様式のデータ生産が行われます。

そして大量の情報を活用しながら進める生命の研究。

さらに、これまでとは違った問いの立て方、問題へのアプローチ。

これらに基づいて展開される生命科学における新しい研究分野。

こうして生まれつつある新しい研究分野を Information Biology と呼んで良いのではないかと思います。Information Biology は Informatics とは違います。それは情報処理ではなく、バイオロジー、つまり生命科学の研究だということに注意して下さい。これは非常に重要です。私は、全ての人がゲノム研究をする必要は無い、しかしゲノム研究はこれからの研究に影響をあたえる... と考えています。

ところで、ゲノム研究者はこれまでの生命研究のスタンダード、特に生化学的アプローチとは違う方法論、違うコンセプトを使うのだと言っても、その研究の動機は、やはり生命の現象に対する興味と、知りたいということにある筈です。それが生命の理解のためであろうと、あるいは病気の克服や良い稲の開発のためであろうと...

ゲノムに関わる研究には集団で取り組む作業が多く、また、たくさんの資金に支えられて大量のデータ生産をしている人が目立ちがちです。然し、私は、データを大量に生産すること、良い Information Biology を発展させることは必ずしも一体ではない、と考えています。昨今ゲノムを中心にして、<大きいことは良いことだ>というような風潮が横行して、いささか冷めた気分です。データを大量に生産する立場に立った人々は、それを通して社会に貢献しているのだという具合に自らを位置づけなければなりません。そうでないと研究のロマンと現実がどんどん乖離してしまいます。

21 世紀初頭に向けて生命科学の研究は？

最後に、21 世紀初頭に向けて、ゲノム研究を抱えた生命の研究はどう進んでゆくのだろうか？という問題について考えてみたいと思います。もちろん十分に見通せるわけではありませんが、これまでの話にお付き合い頂いたついでに...

先日、私的に何人かの方々と話をする機会がありました。そのときに谷口維紹さんは、免疫の専門家として、これから先のことを考えると、問題の展開は Burnet のように 1 つの強烈的な指導原理になるようなモデルを提出できるかどうか、ということにかかって来ざるをえない。その手掛かりの 1 つは、たくさんある細胞のそれぞれが、みんな平均的な振る舞いをしているわけではない、と考えることではないか。種類は同じでも、一つずつの細胞を仔細に調べると、それぞれは単なる揺らぎ以上に異なる振る舞いをする可能性がある。ゲノムの働きも同様に、平均的ではないのではないだろうか。我々の目に見えているのはそうした細胞の平均にすぎないのではないか。そういうことが見えてくると、どう働き方を変えるかというような問題の重要性が改めて認識されるのではないか、と言われました。なかなか含蓄のある言葉だと思います。

ゲノムに担われた情報の解読は相互作用やコミュニケーションを理解する新しいブレークスルーにつながるものですから、遺伝子発現プロファイルをはじめとする色々なデータ収集はここ当分のあいだ盛んに行われることになるでしょう。これを通して遺伝子発現制御や反応のカスケードを理解するほか、細胞内にある蛋白質の全体像の調査、それらの相互作用の調査、細胞内における局在の調査など、容易に思いつく仕事がたく

さんあります。そうした仕事の上に、やがて細胞の再構築、あるいはコンピュータ内の「細胞の働きの模倣」が現実味を増してくるのではないのでしょうか。

この地上にある歴史的な存在としての生命、その生命にゲノムの構造解析から迫って相互の関係を知らんとする研究のやりかたは、今日大変ポピュラーです。ところで、私は、進化の問題に単に遺伝子や遺伝子系の構造比較を手法として使うだけではなく、遺伝子の発現プロフィールを比較するというアプローチを以て迫る、というやり方は更に爽りのある成果をもたらすのではないかと考えています。ゲノムの全構造解析が終わったらポスト・ゲノム時代になって何をするのか、というような単純な発想とは違う進み方が待っているわけです。

遺伝子の発現プロフィールのデータベースを充実させるという流れは、ゲノムの働きを調節するたくさんの遺伝子のネットワーク解析に有効です。ところで、そのネットワークは生命の長い歴史の中で生物の種ごとにさまざまな変異を受け、その働きを変化させてきたわけです。ゲノムの働き方を調べ、その変化を進化と結び付けて考えることのできる時代に入りつつあるのではないのでしょうか。

例として多細胞生物、特に動物を見てみましょう。動物は5、6億年くらい前に出現したのですが、脊椎動物に限っても、そのボディプランは、まことに多彩です。しかし、そのプランの中には、fundamental strategyとでも言えるような、原始的な基本を決めるきわめてrobustな、つまり変化しないシステムが保たれています。体の軸をつくる、あるいは各種の臓器をつくる基になる<芽>の形成などはその例で、生物種が異っても殆ど同じ基本を持ち、なおかつ微妙に違っているようです。

neural crestに由来する組織を考えてみましょう。この細胞は発生の早い時期に、神経板の辺縁から出て、いろいろなところに移動し、やがてそれぞれ決まった場所で特定の時期に、特異的な組織、あるいは特定のタイプの細胞に分化してゆきます。あるものはperipheral神経に、あるものはendocrineの腺に、あるものは色素を持った細胞に、あるものは頭蓋の軟骨と、一部の骨に...と多様です。さらに顎、あるいは咀嚼器、例えば歯、牙、鳥のくちばしなどをつくる基になるものもあります。

移動して行って、どこでどういうものになるかというのは、移動した先の細胞と移動した細胞との相互作用を通して決められてゆく筈です。その内容は未だ良く分かりませんが、両者の遺伝子群の発現プロフィールが互いにコミュニケーションし合いながら、デリケートな調節を行うしくみを理解するうちに次第に明らかになって来る筈です。一個一個の遺伝子を調べてはとでもできないような研究が、発生の研究では必要になってきました。

生き物の中で働く仕組みを調べる仕事が、生き物がその働きをどう変化させてきたか、という研究に直接つながる訳です。例えば、ダーウィンフィンチの中で、堅い実を食べるものはくちばしが大きく、柔らかい餌をつつくものはくちばしが長い、というような現象は、neural crest cellがどこで、何と、どう相互作用するかということを知る

中から理解できる筈だと思います。繰り返しになりますが、そういうソフトな関係、あるいはneural crest cellの行う相互作用の変化は、遺伝子の発現プロフィールが反映している筈ですから、それを生物種間で比較して進化の話に直接つなげることができる訳です。体の働きのメカニズムを調べる、それも1個の遺伝子ではなくて、たくさんの遺伝子システムの働きとしてとらえていく、ゲノム解析のやり方が、発生という時間軸に沿って起こる変化に適用され、さらにより長大な進化の時間軸についても考えさせる、そういうやり方で仕事を進めてゆく.... これから実り多い研究が待っているだろうと思うわけです。

ゲノム研究で大量のデータに対処しなければならなくなるだろう、と言いました。それは、生命の研究そのものが、これからMolecular Biology of the Body, Molecular Biology of the Lifeという方向に進んでいくときに必要な、統合的なアプローチに対応します。昨今を見ると、実際にそういう時代に入りはじめた、あるいは少なくともその入り口に至ったように私には思えるのです。

今日は日本の中心的研究所で、私の思い入れを十分に話させていただきました。ご静聴ありがとうございました。(拍手)

III. 研究室一覽

(平成11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 澤村 浩誠 木村 努 岸野 浩明
	変異遺伝研究部門		山尾 文明	
	核酸化学客員研究部門	水本清久(非)	和田 明(非)	
細胞遺伝研究系 研究主幹(併) 荒木 弘之	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	荒木 弘之	安田 成一	上村 陽一郎
	細胞質遺伝客員研究部門	富澤純一(非) 二木宏明(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 裕之 服田 昌正 岡部 隆彦 細谷 俊彦
	形質遺伝研究部門	廣瀬 進	村上 昭雄	湊山 正明 上田 均
	初期発生研究部門	武田 洋幸		
	生理遺伝客員研究部門		白川 昌宏 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 天前 豊明 深川 竜郎
	進化遺伝研究部門	池村 淑道	齊藤 成也	
	理論遺伝客員研究部門	原田朋子(非) (太田) 北野宏明(非)		
総合遺伝研究系 研究主幹(併) 佐々木 裕之	人類遺伝研究部門	佐々木 裕之	藤山 秋佐夫	佐渡 敬
	育種遺伝研究部門			
	脳機能研究部門		平田 たつみ	川崎 能彦
	応用遺伝客員研究部門	長門 康郎 寶 来 聰		

研究系等		研究部門等名		教授	助教授	助手
研 究	系統生物 研究センター センター長(併) 城石俊彦	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	(併) 中辻憲夫		齋藤哲一郎 多田高
		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	
		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
施 設	生物遺伝資源情報 総合センター センター長(併) 小原雄治	系統情報研究室			山崎由紀子	藤田昌也
		生物遺伝資源情報 研究室		小原雄治		安達佳樹
	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			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
設	生命情報研究センター センター長(併) 五條堀孝	超分子機能研究室			徳永万喜洋	
		超分子構造研究室			白木原康雄	
		遺伝子回路研究室				
		遺伝情報分析研究室		五條堀孝		池尾一穂 今西規規
設	放射線・アイソプ センター長(併) 石濱明 実験圃場 圃場長(併) 倉田のり	大量遺伝情報研究室		西川建		太田元規
		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
						野々村賢一

※(永井宏樹)は、研究休職中

IV. 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、TALUKDER T. Azam、櫻井仁美、Sujatha SITARAMON、同技術員・寺社下美樹、鈴木久子、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)、Dipak DASGUPTA (インド・サハ核物理学研究所)、日本学術振興会外国人特別研究員・Jung-Shan HWANG、大学院生・石黒 亮、片山 映、小本美和、三戸部治郎、野村 扶(総研大・生命科学)、岡本拓人(静岡県立大・薬学)、COE研究補佐員・遠藤静子、研究補助員・神田えみ、高橋美津恵と、秘書・原 雅子が参加した。加えて、今年も、日印科学協力事業によるDipanakr CHATTERJI (Indian Institute of Science, Bangalore, India)、J. GOWRISHANKAR (Centre for Cellular and Molecular Biology, Hyderabad, India)、日豪科学協力事業によるJi YANG (University of Melbourne, Melbourne, Australia)、日英科学協力事業によるRamesh WIGNESHWERARAJ (Imperial College of Science, Technology and Medicine, London, UK) など、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。

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10年度文部省科学研究費 重点領域研究「生体金属」(代表者・分子科学研究所・北川禎三) (1)「金属を利用した転写装置の分子解剖」(石浜)、特定領域研究「転写調節機構」(代表者・東北大学・藤井義明) (A)「RNAポリメラーゼIIを中心とした蛋白質相互作用による転写調節機構の解析」(木村)、基盤研究(C)「転写開始過程における σ 因子の動態」(藤田)奨励研究(A)「分裂酵母RNAポリメラーゼIIのサブユニット間及び他の転写因子との相互作用、奨励研究(A)「分裂酵母RNAポリメラーゼIIの遺伝子組換え蛋白質による再構成」(木村)。また、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)(石浜、藤田)、「人工DNA:情報転写、自己複製、遺伝子発現制御機能の創製」(代表者、分子化学研究所・塩谷光彦)(石浜)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。共同研究(B)「微生物の環境適応の分子機構」(鹿児島大学・前田広人)、共同研究(A)「大腸菌に

おける2種の類似の特異性をもつRNAポリメラーゼ(E-sigma70とE-sigma38)による転写調節の研究」(東京大学・田中 寛),「細菌の環境適応と遺伝子発現」(近畿大学・内海龍太郎),「インフルエンザウイルスRNAポリメラーゼの構造と機能の研究」(横浜国立大学・片山正人).

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3/4年度の研究を実施した.

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で,本年は,D. Chatterji博士(印度科学研究所)らと「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,一方,日豪科学協力事業についても,A.J. Pittard教授(メルボルン大学)らとの共同研究「RNAポリメラーゼと転写因子の相互作用の研究」を実施した.

1. 原核生物における転写装置の分子解剖と機能制御

(1)大腸菌RNAポリメラーゼ β サブユニットと相互作用する新規因子の探索:野村 扶,藤田信之,石浜 明(遺伝研・分子遺伝)

大腸菌における転写活性化のひとつとして,転写因子とRNAポリメラーゼとの相互作用が知られている. RNAポリメラーゼ上における各種転写因子の作用接点として, α サブユニットや σ サブユニットが同定されてきたが, β , β' サブユニットもいくつかの転写因子のターゲットとなることが報告され始めた. β , β' サブユニットは,RNA合成活性中心を形成することから, β , β' サブユニット結合因子が,転写開始のみならず,伸長過程や転写終結にも影響を及ぼすことが考えられる.そこで,我々は, β サブユニットを軸としたサブユニット間の接点のマッピングの成果(Nomura *et al.*, 1999)と研究素材を基盤として, β サブユニット結合因子の組織的探索とその機能解析を目的として本研究を始めた.

β サブユニットにグルタチオンSH基転移酵素(GST)を融合させた蛋白を,大腸菌内で非誘導条件下で低レベルに発現させ,GST結合支持体を用いてGST- β 融合蛋白を含む複合体を回収する,いわゆるGST pull-down assayを行った.その結果, RNAポリメラーゼのコア酵素サブユニット(α , β')及び σ^{70} に加え,HepA/RapA蛋白質,グリセリンキナーゼ(GK),メチオニアダノシル転移酵素(MAT),yfh0遺伝子産物,リボゾーム蛋白質L1,L13,S6などが複合体として同定された.この内,HepA/RapAについては,精製RNAポリメラーゼ結合蛋白質のひとつとして以前から当研究室で同定されていた.これらの蛋白因子をコードする遺伝子をクローニングし,各々のGST融合蛋白について,同様のGST pull-down assayを行ない, RNAポリメラーゼとの複合体形成を調べた.その結果,GST-HepAとGST-GKでRNAポリメラーゼとの結合が見られた.また,GST-HepAとGST-S6でGKとの結合が見られた.これらのことは,菌体内では,HepA/RapA,GK,S6などがRNAポリメラーゼと巨大な複合体を形成している可能性を示唆して

いる。さらに、これらの因子による複合体形成を確かめるために、精製した組換え体蛋白質を用いた *in vitro* 結合実験を行った。HepA/RapA については近年報告があるようにコア酵素への強い結合が見られたが、しかし、報告とは異なり、ホロ酵素へはほとんど結合しなかった。またこの結合は、 σ^70 と競合した。しかし、他の因子については、これまでには、RNA ポリメラーゼとの強い直接的結合は認められなかった。

(2)大腸菌 RNA ポリメラーゼ β' サブユニットと相互作用する新規因子の探索：片山 映、藤田信之、石浜 明(遺伝研・分子遺伝)

大腸菌 RNA ポリメラーゼは、基本的な RNA 合成活性をもつがプロモーター認識能のない、 $\alpha_2\beta\beta'$ 構造のコア酵素に、7 種類の σ サブユニットのひとつが結合することで、プロモーターからの転写を行うことのできるホロ酵素となる。7 種類の σ サブユニットは、それぞれ異なる遺伝子グループのプロモーターを認識するので、コア酵素は 7 種類のホロ酵素に機能的に分化する。ホロ酵素は更に、様々な転写因子と相互作用することで機能がより細分化し、同じ σ サブユニットで認識される遺伝子群のなかでも、特定の遺伝子または遺伝子集団の転写を優先的に行ったり、停止したりする複雑な遺伝子発現制御を行っている。大腸菌の数百種類の転写因子は、RNA ポリメラーゼの接触サブユニットを基準に、4 群に分類されている。これまでに α サブユニットの C 末端ドメイン、 σ サブユニット C 末端ドメインに相互作用する、クラス I 及びクラス II 転写因子が良く解析されている。近年、幾つかの転写因子が転写活性中心を形成しているとされる $\beta\beta'$ サブユニットに直接相互作用することが報告されている。RNA ポリメラーゼの機能分化のメカニズムの解析の為、 β' サブユニットと相互作用するクラス IV 転写因子群を同定し、相互作用部位を決定することを目的として研究を行った。

β' サブユニット相互作用転写因子の探索については、先にサブユニット間相互作用部位のマッピングを行った際に構築した(Katayama *et al.*, 2000)、グルタチオン S トラנסフェラーゼ(GST)との融合タンパクによる実験系を利用した。GST- β' サブユニット融合タンパクを非誘導条件下で低レベルで発現させ、GST- β' サブユニット融合蛋白を含む蛋白集合体を、GST を結合するアフィニティーカラムにより温和な条件で単離した。GST- β' サブユニットに結合して同時に精製された蛋白成分を SDS-PAGE により分離し、N 末端アミノ酸シーケンシングにより同定した。現在までに、HepA、グリセリンキナーゼ(GK)、リボゾームタンパク L6, S2, 転写終結因子 ρ など、10 種類を越えるクラス IV 転写因子候補が同定された。同定された蛋白のそれぞれを、GST との融合体として発現し、RNA ポリメラーゼまたは β' サブユニットを特異的に結合するかどうかの解析を行っている。

(3)DNA と相互作用をする RNA ポリメラーゼ α サブユニット上の新規部位の同定：OlgaN, OZOLINE, 藤田信之、石浜 明(遺伝研・分子遺伝)

大腸菌 RNA ポリメラーゼ α サブユニットは、CRP などのクラス I 転写因子やリボゾーム遺伝子プロモーターに存在する UP エLEMENT と相互作用する転写制御ドメインである。各

種クラス I 転写因子や *rrnB* 遺伝子 UP エLEMENT との接点については、接触不良となる変異の位置から推定され、更に接触依存的に接触部位の DNA や蛋白質を切断する新規人工スクレアーズ・プロテアーゼ FeBABE (iron-p-bromoacetamidobenzyl EDTA) を利用して検証して来た。変異による解析は、間接的影響を除外できないので、FeBABE 法をより組織的に導入する目的で、 α サブユニット C 端の各領域に Cys 残基を 1ヶ所にもつ変異体 α サブユニットコレクションを構築した。蛍光プローブ FMMA (fluoresceine monomercurey acetate) をこれら single Cys 変異体 α サブユニットに結合し、各種変異体 RNA ポリメラーゼを再構成した。塩基配列の異なる各種の DNA 断片と混合した時の、蛍光強度、スペクトラム、偏光解消の変化を測定した。その結果、遺伝解析で同定されていた、ヘリックス I が UP エLEMENT と特異的相互作用をする確証が得られた。加えて、遺伝解析では DNA との相互作用が検出されていなかったヘリックス III 領域でも、*uxuAB* プロモーターや T7 D プロモーター DNA を用いた時に、プロモーター上流域と相互作用をすることが示唆された (Ozoline *et al.*, 1999)。同じ変異体 α サブユニットコレクションの Cys 部位に FeBABE を導入し、DNA 切断部位を分析した結果、この接触が実証された。

(4) 大腸菌各種シグマ因子の RNA ポリメラーゼコア酵素への結合活性と結合部位の比較：前田 広人¹、Ramesh WIGNESHWERARAJ²、藤田 信之、寺社下美樹、野村 扶、石浜 明 (遺伝研・分子遺伝、¹鹿児島大・水産、²Imp. Coll. Sci. Tech. Med., London, UK)

大腸菌では、7種類の σ 因子が同定されているが、実験室培養の増殖期には、 σ^{70} 、 σ^N 、 σ^F の3種類だけが存在しているが、増殖を停止し定常期に入ると、加えて σ^S が出現し、また熱ショックなどのストレスが加わると、 σ^H 、 σ^E 、 σ^{FecI} も出現する。従って、細菌成育の環境に応じて、7種類の σ 因子が、さまざまな組み合わせで存在し、約2000分子と推定される RNA ポリメラーゼコア酵素への結合で競争し拮抗していると推定される。その実態を知る手掛かりとして、試験管内で、純化した σ 因子7種類を混合し、コア酵素への結合力の差を比較した。 σ^E と σ^{FecI} は、今回初めてプロモーター特異性が分析されたが、いずれもストレス応答 σ 因子特有の、強いプロモーター選択特性を示した (Maeda *et al.*, 2000)。7種類の σ 因子を等量ずつ混合し、コア酵素との混合比を変えながら、7種類のホロ酵素の形成量を実測したところ、どの条件でも、 σ^{70} が最も強くコア酵素に結合することが判明した。 σ^N -コア酵素複合体の解離定数は、約0.2nMであった。各種シグマサブユニットの細胞内濃度測定結果によれば、どんな条件でも σ^{70} が最大濃度を示したので、 σ 因子の効率良い交換には、補助因子や特殊な条件が必要となる可能性が示唆された。例えば、増殖期から定常期への移行過程での、 σ^{70} から σ^S への切換えには、我々が発見した Rsd による活性 σ^{70} 成分の減少が関与している (Jishage and Ishihama, 1999)。

σ 因子間の拮抗は、各種 σ 因子がコア酵素への結合部位を共有することで成立する。 σ 因子のコア酵素結合部位を同定する目的で、FeBABE を利用した接触依存切断法 (Ishihama, 2000) を利用した。Cys 残基をひとつだけでも σ 因子変異体コレクション

を作製し、CysにFeBABEを結合した後ホロ酵素を形成し、還元条件下で起きる接触蛋白のペプチド鎖切断箇所を分析した。先に行った σ^{70} に引き続き、 σ^S (Colland *et al.*, 2000)と σ^N (Wigneshweraraj *et al.*, 2000)についても同様な解析を行った結果、いずれも β , β' サブユニットの同じ領域に結合することが示唆された。

(5)大腸菌ヌクレオイド結合蛋白質のDNA結合活性、細胞内濃度、細胞内分布の解析：TALUKDER, A. Azam, 平賀壮太¹, 石浜 明(遺伝研・分子遺伝,¹熊本大・医)

大腸菌ゲノム全体を対象として転写包括制御では、ゲノムDNAに結合し、ヌクレオイド構造形成に関与している、いわゆるDNA結合蛋白質も一群の遺伝子の転写の活性化や抑制に関与する。その為に、ゲノムDNA構造体(核様体またはヌクレオイドNucleoid)の実体解析を開始した。12種類のヌクレオイド蛋白質[CbpA(Curved DNA-Binding Protein A), CbpB(Curved DNA-Binding Protein B), DnaA(DNA-binding protein A), Dps(DNA-binding Protein from Starved cells), Fis(Factor for Inversion Stimulation), Hfq(Host Factor for phage Q _{β}), H-NS(Histone-like Nucleoid Structuring protein), HU (Heat-Unstable nucleoid protein), IciA (Inhibitor of Chromosome Initiation A), IHF(Integration Host Factor), Lrp(Leucine-Responsive regulatory Protein) 及び StpA(Suppressor of td-Phenotype A)]を精製し、そのDNA結合配列認識特性と結合力を比較した(Talukder and Ishihama, 1999)。また、これら全ての蛋白について、抗体を準備し、細胞内濃度を測定し、その結果から、ヌクレオイドの構造を推定した(Talukder *et al.*, 1999)。しかし、この段階では、存在するDNA結合蛋白が全てゲノムDNAに結合して存在する実証はなかった。そこで、特異抗体を利用し、蛍光標識二次抗体を利用した間接蛍光染色法で、これら蛋白質の細胞内局在を観察した。その結果、核様体全体に分布する一群と、核様体の限られた部位に局在する成分の、2群があることが判明した。局在する蛋白質が結合するゲノム部位の同定が次の研究課題である。

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の全サブユニット遺伝子の同定：櫻井仁美, 光澤 浩, 木村 誠, 岩田 晃¹, 石浜 明(遺伝研・分子遺伝,¹日本生物科学研究所)

分裂酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)RNAポリメラーゼIIについても、出芽酵母と同様に、12種類のサブユニットと推定される蛋白成分の存在を確認した。最後に残されたRpb4については、出芽酵母、ヒト及びシロイヌナズナのRpb4相同蛋白のアミノ酸配列の情報を根拠に、分裂酵母のDNAデータベース(PomBase)で相同配列の検索を行った結果、コスミドc337にRpb4遺伝子が存在することが示唆された。その配列をもとに*rpb4*遺伝子およびcDNAをPCR法を用いて単離した。いずれのDNA配列もコスミドの配列と一致した。この配列から予想した135アミノ酸残基からなる蛋白質は出芽酵母のRPB4とは26%の相同性しか示さなかったが、ヒトとは36%、シロイヌナズナとは31%の

相同性があったので、これを分裂酵母の Rpb4 と同定した。分裂酵母、ヒトおよび植物の Rpb4 相同蛋白には、出芽酵母の RPB4 の中央部分の電荷アミノ酸に富んだ約 60 アミノ酸の領域がなく、分裂酵母の Rpb4 の構造は出芽酵母より遙かに小さく、高等真核生物に似ていた。cDNA を用いて、大腸菌で Rpb4 を発現し抗体を作製して、精製 RNA ポリメラーゼを SDS-PAGE で展開し調べたところ、配列から予想されるように、Rpb8、Rpb9、Rpb12 と同じ位置に Rpb4 が同定された。これが、Rpb4 の検出を困難にした原因のひとつであった (Sakurai *et al.*, 1999)。

分裂酵母 *rpb4* 遺伝子が、必須かどうかを調べるため遺伝子破壊実験をおこなった。*rpb4::ura4* 断片を PCR で増幅し、二倍体株を形質転換し、安定な Ura⁺ 形質転換体を得た。これらが染色体上の片方の *rpb4* 遺伝子が破壊された *rpb4⁺/rpb4::ura4* のヘテロ接合体であることを、ゲノム DNA を用いた PCR により確認した後、胞子形成させ四分子分析をおこなった。その結果、*rpb4* 遺伝子が破壊された胞子は発芽した後、数回分裂した後に増殖を停止し、コロニーを形成することができなかった。これにより分裂酵母の *rpb4* は必須遺伝子であることが明らかになった。この事実は、出芽酵母のホモログである RPB4 遺伝子が増殖に必須ではないことと対照的である。このことは、これまで出芽酵母を用いた実験の結果から推測されていたヒトを含めた高等動物の RPB4 遺伝子の機能に関して再考する必要があることを示しており、分裂酵母を用いた RNA ポリメラーゼ II の研究の意義を例示していると思われる。

(2) 分裂酵母 RNA ポリメラーゼ II サブユニット蛋白の細胞内分子数の定量：櫻井仁美，岩田 晃¹，石浜 明(遺伝研・分子遺伝，¹日本生物科学研究所)

分裂酵母 RNA ポリメラーゼ II の 12 個のサブユニットの抗体が揃ったので、それぞれの蛋白の発現および存在様式を調べる目的で、細胞内分子数を定量的ウェスタン法で解析した。完全培地で対数増殖期まで培養した分裂酵母 JY741 株をガラスビーズで破碎し、2% SDS および 3.6M 尿素で可溶化した溶菌液を調製した。1.5x10⁶ 個の細胞から調製した溶菌液は約 20 μg の総蛋白を含むので、細胞当たりの総蛋白は約 13pg であった。精製 RNA ポリメラーゼ II または組換え体サブユニット蛋白を標準蛋白として溶菌液中の各サブユニット蛋白の定量を行い、細胞当たりの分子数に換算した。その結果、Rpb3 は 1.0x10⁴ 分子/細胞と最も少なく、RNA ポリメラーゼ II に特異的なサブユニットの Rpb1、Rpb2 および Rpb7 はその約 1.5 倍、Rpb9 と Rpb11 は約 4 倍存在した。また、Rpb7 と複合体を形成する Rpb4 は、Rpb3 の約 10 倍過剰に存在することが分かった。大腸菌の RNA ポリメラーゼのサブユニット α、β および β' に相当する Rpb3、Rpb2 および Rpb1 の分子数を基準にすると、分裂酵母の RNA ポリメラーゼ II は細胞内に約 1 万分子存在すると考えられる。因みに、大腸菌の RNA ポリメラーゼコア酵素の分子数は、ゲノム当たり約 2 千分子である。

真核生物では、3 種 RNA ポリメラーゼで共有する 5 種類の蛋白質がある。RNA ポリメラーゼ I、II 及び III の共通サブユニット (Rpb5、Rpb6、Rpb8、Rpb10 および Rpb12) は、

分裂酵母では細胞当たり約 10×10^4 分子存在した。即ち、RNA ポリメラーゼ II 特有のコアサブユニットの約 10 倍存在していた。これら共有サブユニット 10 万分子のうち 1 万分子だけが RNA ポリメラーゼ II の形成に利用されているとすると、残りの 9 万分子が他の RNA ポリメラーゼにどのように分配され、またどの程度が遊離分子として存在するのであろうか。次の課題である。

(3) 分裂酵母 RNA ポリメラーゼ II サブユニットの細胞内存在様式：木村 誠，石浜 明(遺伝研・分子遺伝)

分裂酵母細胞内での実際のサブユニットの集合状態を解析するため、酵母細胞抽出液をグリセリン密度勾配遠心で展開し、分子量により分離された各分画中のサブユニット蛋白質を、各抗サブユニット抗体を用いたウエスタン法で解析した。殆どのサブユニットは、RNA ポリメラーゼ I, II, III に相当する高分子量分画と、遊離の単量体サブユニットに相当する低分子量分画の両方に検出されたが、Rpb1 と Rpb3 は、高分子量分画のみに検出され、また、Rpb2 も殆どが高分子量分画に検出され、低分子量分画には僅かに検出されたのみであった。多くのサブユニットと相互作用し、集合の中心になると予想されるこれら 3 種のサブユニットは、他のサブユニットと比較して酵母細胞内での発現量が少なく、殆どが RNA ポリメラーゼ II に組み込まれているのに対し、その他のサブユニットは発現量が多く、過剰分は、遊離状態で存在していると考えられる。Rpb3 を過剰発現する酵母細胞株で同様の実験を行うと、単量体 Rpb3 が蓄積し、Rpb2-Rpb3, Rpb3-Rpb11 複合体が僅かに形成されるが、Rpb3 とその他の過剰サブユニットとの複合体は観察されない。したがって、細胞内では、部分的な複合体の構成を最小限に抑え、完全な RNA ポリメラーゼ II を効率良く構成するための何らかの機構が働くと予想される。

(4) 組換え体バキュロウイルスを利用した分裂酵母 RNA ポリメラーゼサブユニット集合機構の解析：木村 誠，石浜 明(遺伝研・分子遺伝)

RNA ポリメラーゼ II のサブユニット集合機構について解析するため、分裂酵母 RNA ポリメラーゼ II を構成する Rpb1 - Rpb12 の 12 種のサブユニット蛋白質のうち、Rpb4 を除く 11 種のサブユニットをコードする cDNA を用い、各サブユニット蛋白質を培養昆虫細胞内で発現する組換えバキュロウイルスを作製した。各組換えウイルスは、11 種のサブユニットのうちの 1 種類または 2 種類を発現し、これらのウイルスの共感染により、任意の組合わせのサブユニットを同一細胞内に発現させることに成功した (Kimura and Ishihama, 2000)。その際、細胞内で構成されたサブユニット複合体を単離するため、Rpb1 にヒスチジン (His) タグを挿入し、Rpb3 は、グルタチオン S トランスフェラーゼ (GST) との融合蛋白質とした。11 種のサブユニットを共発現させた細胞の抽出液からは、 Ni^{2+} アフィニティまたはグルタチオンアフィニティ・クロマトグラフィーのどちらの方法でも、Rpb1, 2, 3, 5, 7, 8, 11 の 7 種のサブユニットによる複合体が単離された。また、Rpb3 のみを除外した共発現の後の Ni^{2+} アフィニティによる精製では、Rpb3 と Rpb11 を欠く、5 種のサブユニットによる複合体が単離され、Rpb11 は、Rpb3 を介して

複合体に組み込まれることが明らかとなった。2種のサブユニットの共発現による同様の実験により、Rpb3は、Rpb1, 2, 5, 8, 11とそれぞれ直接相互作用することが示された。数種類のサブユニットの共発現実験からは、Rpb3-Rpb8の結合がRpb11により強化され、また、Rpb1-Rpb3の結合がRpb8により強化されることが明らかとなった。以上の結果から、RNAポリメラーゼIIのサブユニット集合においては、Rpb3が、多くのサブユニットと相互作用し、集合の中心の一つになっていること、また、多サブユニット間の多重相互作用によりサブユニット集合が協同的に進むことが推察される。

(5) 分裂酵母RNAポリメラーゼIIのRpb3サブユニットの温度感受性変異株の分離と解析：三戸部治郎，光澤 浩，石浜 明(遺伝研・分子遺伝)

分裂酵母RNAポリメラーゼIIの構造と機能の解明を目的として、大腸菌RNAポリメラーゼのサブユニット集合で中心的役割を果たす α サブユニットに相同のRpb3サブユニットの温度感受性変異株の単離と解析を行なった。rpb3遺伝子にPCR法で変異を導入し、約 1×10^5 個のコロニーをスクリーニングして単一の塩基置換をもつ9株の高温感受性株と3株の低温感受性株を分離した。これらの変異は全て男性変異で、塩基置換は全て、Rpb3蛋白質群に認められる4つの保存領域内に認められた。これら保存領域のうち、中間の2領域は真核生物に固有の配列であるが、得られた突然変異のうちの2株は、この領域に変異が確認された。

Rpb3サブユニットと相互作用する転写因子を遺伝学的に単離する目的で、高温感受性株から制限温度条件下(37°C)で育成可能な復帰変異株を単離した。Tetrad analysisによって復帰変異株はrpb3遺伝子以外の単一の遺伝子に変異を持つことを確認した後、これらの復帰変異株にゲノムDNAライブラリーを導入し、表現型の相補を利用して変異を抑圧した遺伝子を探索したところ、数種類のプロテアーゼならびにプロテアゾーム成分が単離された。これらの抑圧変異因子は、変異した結果代謝的に不安定になったRpb3蛋白の分解系の活性が低下した、間接的な復帰変異が分離された可能性が高いように思われたため、Rpb3の細胞内濃度を比較した。全ての変異株で非許容温度下でRpb3蛋白の細胞内濃度が減少しているのが認められた。また変異株のRNAポリメラーゼIIを大量精製し*in vitro*での安定性を調べたところ、Rpb2並びにRpb11サブユニットとの結合の安定性が減少していることが認められた。さらにRpb11を*in vivo*で大量発現すると高温感受性の表現型が相補されることが分かり、Rpb3に相同性のある大腸菌RNAポリメラーゼの α サブユニットの機能地図からもこれらの変異は、多サブユニット酵素であるRNAポリメラーゼIIのサブユニット集合機能が障害されていることが予想された(Mitobe *et al.*, 1999)。

Rpb3には、大腸菌の α サブユニットには存在しない真核生物に共通な酸性のループ構造が存在する。この領域の役割を知る目的で、その一部を欠失した変異株を作製したところ、弱い低温感受性を示した。この変異は、Rpb11を大量発現しても抑制されないの、サブユニット集合不全だけとは考えにくい。細胞全蛋白の二次元電気泳動の比較で、

数カ所の蛋白量の変化するスポットが認められたため、この酸性のループ構造は何らかの機構で、転写制御に関わっている可能性が示唆された。

Rpb3 変異に伴う、RNA ポリメラーゼ II の機能異常を知る目的で、分裂酵母での *in vitro* 転写系を構築した。今後は、確立した転写系を利用して、これまでに得られた変異による転写調節への影響を解析する予定である。

(6) 分裂酵母 RNA ポリメラーゼ II の Rpb6 サブユニットの温度感受性変異株の分離と解析：石黒 亮，禾 泰壽¹，石浜 明(遺伝研・分子遺伝，¹埼玉医大・生化学)

分裂酵母 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 6 (Rpb6) の温度感受性変異体の単離と解析を行った。Rpb6 は、先のサブユニット間ネットワークの生化学的解析の結果、Rpb1, Rpb2, Rpb3, Rpb5, Rpb7, Rpb8 のいずれとの相互作用が示唆され (Ishiguro *et al.*, 1998), また 3 種類の RNA ポリメラーゼ (Pol I, Pol II, Pol III) のいずれにも含まれる共通サブユニットであるので、その生理機能に興味がある。Rpb6 蛋白質 (142 アミノ酸残基) の N 端, C 端それぞれから欠失変異を作製し、*rpb6* 完全欠失株の相補活性をしらべたところ、C 端側約半分でも活性をもつことが判明した。そこで、*rpb6* に点突然変異をもち、そのために温度感受性となった分裂酵母変異体の単離を試みた。分裂酵母の野生型 *rpb6* 遺伝子を、PCR 法で変異を導入した *rpb6* 遺伝子と置換した後、増殖が温度感受性となった変異体を多数単離した。DNA シークエンスを分析した結果、単一変異をもつもの 11 株、複数の変異をもつもの 3 株が得られた。この内、C 端側必須領域に単一変異をもつ 4 株は、転写伸長阻害剤である 6 アザウラシル (6AU) に感受性を示した。温度感受性及び 6AU 感受性共に、転写伸長因子 TF-IIS の過剰発現で抑圧されたことから、TF-IIS の RNA ポリメラーゼ II 上の結合部位のひとつが、Rpb6 であることが示唆された (Ishiguro *et al.*, 2000)。GST-TFIIS 融合蛋白を利用した試験管内複合体形成反応でも、Rpb6 変異体から調整した RNA ポリメラーゼの TF-IIS への結合は、野生株酵素に比べて弱いことが判明した。

(7) 分裂酵母の TAF 遺伝子の解析：光澤 浩，石浜 明(遺伝研・分子遺伝)

分裂酵母のユビキチン結合酵素遺伝子 *ubcP4* の温度感受性変異の多コピー抑圧遺伝子として単離された 2 つの遺伝子 *taf72* および *taf73* は、その産物が基本転写因子 TFIID の構成要素である TAF と高い相同性を示した。これらが細胞内で TBP および他の TAF と複合体を形成していることが、抗 TBP 抗体を用いた免疫沈降実験で実証された。結論は更に、TAF72 及び TAF73 にそれぞれ HA 及び FLAG タグを付加して発現した細胞抽出液を、抗 HA 抗体或いは抗 FLAG 抗体を用いて同様な実験を行って検証した。これらの実験から、TAF72 蛋白質と TAF73 蛋白質は同じ複合体中に含まれており、TAF73 蛋白質はこの複合体中には 1 分子しか含まれていないことが明らかになった。したがって、分裂酵母の TFIID 中には TAF72 と TAF73 が含まれ、出芽酵母の場合は TAF72 と TAF73 のホモログである γ TAF90 が少なくとも 2 分子含まれている可能性が示唆された。

3. ウイルスの転写・複製装置の構造—機能相関

(1)バキュロウイルス発現系を用いたインフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼの発現と精製：本田文江，遠藤 淳¹，石浜 明(遺伝研・分子遺伝，¹第一製薬・創薬研究所)

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 P 蛋白質サブユニット (PB1, PB2, PA) から構成されている。RNA ポリメラーゼの特異的活性として、ウイルス RNA を鋳型とした RNA 合成活性，cap-1 RNA を認識し cap 位から 10-12 塩基の U あるいは A を認識し切断するエンドヌクレアーゼ活性，切断 cap-1 RNA 断片をプライマーとした RNA 合成開始活性が知られている。これまでウイルス粒子からの精製や，大腸菌での大量発現精製蛋白を用いた再構成が試みられたが，酵素活性のあるものを大量に得ることは出来ていなかった。従って，3種サブユニット蛋白質の機能地図の作成は，主としてウイルスより単離した RNP (ウイルス RNA-NP-RNA ポリメラーゼ集合体) を用いて行える，基質 NTP やプライマー cap1 RNA のクロスリンク法などを採用して実施した (Honda *et al.*, 1999)。今回私達のグループでは，バキュロウイルスに各サブユニット cDNA を挿入した組換え体ウイルス 3種を昆虫細胞に共感染し，感染細胞抽出液から，金属アフィニティーカラムクロマトグラフィーを用いて，3種 P 蛋白質を含む複合体の精製に成功した。精製 P 蛋白複合体が実際インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼ特異的活性を有しているかどうかを，試験管内での ApG やグロビン mRNA をプライマーとした RNA 合成活性，RNA キャップ結合活性，ポリ A 合成，ウイルス RNA 結合などの活性などを調べたところ，いずれの活性も検出された。従って，機能形態のインフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼが昆虫細胞内で形成されたと結論した。この系は今後，まだ完全には明らかになっていない各サブユニットの機能や活性部位同定の研究や，宿主因子の RNA ポリメラーゼへの影響を調べていく上でも重要な素材である。

(2)メタノール異化機能をもつピキア酵母 (*Pichia pastoris*) でのインフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼの形成：Jung-Shan HWANG, 山田和穂¹，本田文江，中出浩司¹，石浜 明(遺伝研・分子遺伝，¹三菱化学総合研究所)

ピキア酵母は，メタノールを唯一の栄養源としても増殖できるが，アルコール酸化酵素 (alcohol oxidase=AOX) の活性が弱いので，メタノール培地では，多量の AOX を発現する。この性質を利用し，AOX 遺伝子プロモーター支配下に外来遺伝子を高発現する実験系が確立されている。インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼの大量調製を目的として，3種類の P 蛋白質サブユニット (PB1, PB2, PA) cDNA を AOX プロモーターをもつプラスミドベクターに挿入し，ピキア酵母を形質転換した。2段階の形質転換で，PB1, PB2, PA 蛋白 cDNA を全て，酵母染色体に組み込んだ組換え体酵母を構築した。メタノールで誘導すると，確かに抗 PB1, PB2, PA 抗体と反応する蛋白質の発現が認められた。P 蛋白集合体を単離する目的で，予め PB2 の N 端側に，His 残基を多数含む *Klebsiella* 菌のニトリル水添加酵素 (nitrile hydratase) の N 端リーダー配列を付加し融合蛋白として発現したので，3種 P 蛋白が集合した RNA ポリメラーゼを，Ni²⁺-NTP カラムクロマトグ

ラフィーで単離できた。得られたP蛋白質集合体を、インフルエンザウイルスゲノムRNAの両末端保存配列をもつ短鎖のモデルRNA鋳型を利用して調べると、ApGまたはグロビンRNAに依存したRNA合成活性が検出された。従って、ピキア酵母で、活性をもつインフルエンザウイルスRNAポリメラーゼが形成されたと結論した。現在、この形質転換ピキア酵母での、インフルエンザウイルスRNAの発現や複製の可能性を検討している。

(3)インフルエンザウイルスRNAポリメラーゼの機能変換に関与する感染宿主因子の同定：岡本拓人¹、本田文江、岩田 晃²、石浜 明(遺伝研・分子遺伝、¹静岡県立大・薬、²日本生物科学研究所)

インフルエンザウイルスRNAポリメラーゼは、ウイルス遺伝子(マイナス鎖vRNA)を鋳型としたmRNAやcRNA(ウイルスRNAに相補的なプラス鎖RNA)合成と、cRNAを鋳型としvRNA合成のいずれにも関与すると考えられている。mRNA合成は、宿主細胞のcap-1構造をもつmRNAを認識し切断後cap-RNA断片をプライマーとして開始され、ゲノムRNA上のポリAシグナルで終結しポリAが付加される。一方、cRNAとvRNA合成は、ゲノムRNAを鋳型とし、プライマーを使わない、*de novo*合成として開始される。従って、ウイルス粒子中のvRNAの5'端には、三リン酸が残っている(Honda *et al.*, 1999)。このRNA合成は、ゲノムRNA上のポリAシグナルを通過し遺伝子末端まで継続し終結する。即ちインフルエンザRNAポリメラーゼは、mRNA合成に際してはプライマー依存的に、cRNA及びvRNA合成ではプライマー非依存的に開始することが出来る。この機能変換には、ウイルス感染細胞宿主因子が関わっていることが、3種P蛋白サブユニットだけを発現した形質転換細胞でもウイルスモデルRNAの複製が認められることから示唆された。そこで私達は酵母細胞のtwo-hybridスクリーニングを用いて、各P蛋白と相互作用をする宿主細胞因子を検索してきた。得られたP蛋白結合宿主因子cDNAを、大腸菌で発現させ、得られた蛋白を試験管内ウイルスRNA合成系に入れRNA合成への影響をみた。現在までに、ウイルスRNA合成に影響する因子がいくつかみつつかつてきている。また大腸菌で発現させた蛋白を用いて抗体を作製し、ウイルス感染細胞抽出液を共免疫沈降法で調べると、PB1結合活性をもつ宿主因子として単離されたPB1c54は、PB1サブユニットと共沈した。またウイルス感染細胞を、ウイルスP蛋白抗体、宿主因子抗体を用いた間接蛍光抗体染色で観察すると、ウイルス感染細胞では、PB1c54蛋白は、ウイルスRNAポリメラーゼPB1サブユニットと同じ場所に局在することがわかった。現在、純化ウイルスRNAポリメラーゼを用いて、宿主因子の影響の解析を進めている。また、これ以外にも、two-hybridスクリーニングで、いくつかの宿主因子候補蛋白が得られているので、同様の解析を進めていく計画である。

研究業績

(1) 原著論文

1. Apirakaramwong, A., Kashiwagi, K., Raj, V.S., Sakata, K., Kakinuma, Y., Ishihama, A. and Igarashi, K.: Involvement of ppGpp, ribosome modulation factor, and stationary phase-specific sigma factor σ^S in the decrease in cell viability caused by spermidine. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **264**, 643-647 (1999).
2. Bown, J.A., Kolb, A., Meares, C.F., Ishihama, A., Minchin, S.D. and Busby, S.J.W.: Positioning of region 4 of the *Escherichia coli* RNA polymerase σ^{70} subunit by a transcription activator. *J. Bacteriol.*, in press.
3. Bown, J.A., Owens, J.T., Meares, C.F., Fujita, N., Ishihama, A., Busby, S.J. and Minchin, S.D.: Organisation of open complexes at *Escherichia coli* promoters: mapping the promoter DNA sites close to region 2.5 of the σ^{70} subunit of RNA polymerase. *J. Biol. Chem.* **274**, 2263-2270 (1999).
4. Burns, H.D., Ishihama, A. and Minchin, S.D.: Open complex formation during transcription initiation at the *Escherichia coli galP1* promoter: the role of the RNA polymerase α subunit at promoters lacking an UP-element. *Nucleic Acids Res.* **27**, 2051-2056 (1999).
5. Colland, F., Fujita, N., Kotlarz, D., Bown, J.A., Meares, C.F., Ishihama, A. and Kolb, A.: Positioning of σ^S , the stationary phase σ factor, in *Escherichia coli* RNA polymerase-promoter open complexes. *EMBO J.* **18**, 4049-4059 (1999).
6. Harada, Y., Funatsu, T., Murakami, K., Nonoyama, Y., Ishihama, A. and Yanagida, T.: Single molecule imaging of RNA polymerase-DNA interactions in real time. *Biophys. J.* **76**, 709-715 (1999).
7. Honda, A., Mizumoto, K. and Ishihama, A.: Two separate sequences of PB2 subunit constitute the RNA cap-binding site of influenza virus RNA polymerase. *Genes Cells* **4**, 475-485 (1999).
8. Hwang, J.-S., Yamada, K., Honda, A., Nakade, K. and Ishihama, A.: Expression of functional influenza viral RNA polymerase in the methylotrophic yeast *Pichia pastoris*. *J. Virol.*, in press.
9. Ishiguro, A., Nogi, Y., Hisatake, K., Muramatsu, M. and Ishihama, A.: Ppb6 subunit of the fission yeast RNA polymerase II is a contact target of the transcription elongation factor TFIIS. *Mol. Cell. Biol.* **20**, 1263-1270 (2000).
10. Ishihama, A.: Molecular anatomy of RNA polymerase using protein-conjugated metal probes with nuclease and protease activities. *Chem. Commun.*, in press.
11. Ishihama, A.: Modulation of the nucleoid, the transcription apparatus, and the translation machinery in bacteria for stationary phase survival. *Genes Cells* **4**,

- 135-143 (1999).
12. 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*. (Buckin, V. and Funck, T., eds.), Nova Sci. Publ., in press.
 13. Jishage, M. and Ishihama, A.: Transcriptional organization and *in vivo* role of the *Escherichia coli* *rsd* gene, encoding the regulator of RNA polymerase sigma D. *J. Bacteriol.* **181**: 3768-3776 (1999).
 14. Katayama, A., Fujita, N. and Ishihama, A.: Mapping of subunit-subunit contact surfaces on the β' subunit of *Escherichia coli* RNA polymerase. *J. Biol. Chem.* **275**, 3583-3592 (2000).
 15. Kimura, M. and Ishihama, A.: Involvement of multiple subunit-subunit contacts in the assembly of RNA polymerase II. *Nucleic Acids Res.* **28**, 952-959 (2000).
 16. Maeda, H., Jishage, M., Nomura, T., Fujita, N. and Ishihama, A.: Promoter selectivity of the RNA polymerase holoenzyme containing the extracytoplasmic function (ECF) sigma subunit σ^E or σ^{FecI} . *J. Bacteriol.* **182**, 1181-1184 (2000).
 17. Masuda, H., Suzuki, T., Sugiyama, Y., Murakami, K., Miyamoto, D., Jwa Hidari, K.I., Ito, T., Kida, M., Fukunaga, K., Obuchi, M., Toyoda, T., Ishihama, A., Kawaoka, Y. and Suzuki, Y.: Substitution of amino acid residue in influenza A virus hemagglutinin affects recognition of sialyl-glycosaccharides containing N-glycolylneuraminic acid. *FEBS Lett.* **464**, 71-74 (1999).
 18. Masunaga, K., Mizumoto, K., Kato, H., Ishihama, A. and Toyoda, T.: Molecular mapping of influenza virus RNA polymerase by site-specific antibodies. *Virology* **256**, 130-141 (1999).
 19. Mitobe, J., Mitsuzawa, H. and Ishihama, A.: Isolation and characterization of temperature-sensitive mutations in the subunit 3 gene (*rpb3*) for subunit 3 of RNA polymerase II of the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Mol. Gen. Genet.* **262**, 73-84 (1999).
 20. Nomura, T., Fujita, N. and Ishihama, A.: Mapping of subunit-subunit contact surfaces on the β subunit of *Escherichia coli* RNA polymerase. *Biochemistry* **38**, 1346-1355 (1999).
 21. Ozoline, O.N., Fujita, N. and Ishihama, A.: Functional topology of the bacterial RNA polymerase. Multipoint monitoring by a fluorescent probe. In: *Spectroscopy of Biological Molecules: New Directions* (eds. J. Greve, G.J. Puppels, C. Otto), Kluwer Academic Publ., Dordrecht, Netherland. pp. 87-89, 1999.
 22. Ozoline, O.N., Fujita, N. and Ishihama, A.: Transcription activation mediated by the carboxy-terminal domain of RNA polymerase alpha-subunit: Multipoint monitoring using fluorescent probe. *J. Biol. Chem.* **275**, 1119-1127 (2000).

23. Prost, J.-F., Negre, D., Oudot, C., Murakami, K., Ishihama, A., Cozzone, A.J. and Cortay, J.-C.: Cra-dependent transcriptional activation of the *icd* gene of *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* **181**, 893-898 (1999).
24. Sakurai, H., Mitsuzawa, H., Kimura, M. and Ishihama, A.: Rpb4 subunit of the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe* RNA polymerase II is essential for cell viability and similar in structure to the corresponding subunits of higher eukaryotes. *Mol. Cell. Biol.* **19**, 7511-7518 (1999).
25. Schpakovski, G.V., Gadal, O., Lararre-Mariotte, S., Lebedenko, E.N., Miklos, I., Proshkin, S.A., van Mullem, V., Sakurai, H., Ishihama, A. and Thuriaux, P.: Functional conservation of RNA polymerase II subunits between the fission and budding yeasts. *J. Mol. Biol.*, in press.
26. Stevens, A.M., Fujita, N., Ishihama, A. and Greenberg, E.P.: Involvement of the RNA polymerase α subunit C-terminal domain in LuxR-dependent activation of the *Vibrio fischeri* luminescence genes. *J. Bacteriol.* **181**, 4704-4707 (1999).
27. Talukder, A.Z. and Ishihama, A.: Twelve species of DNA-binding protein from *Escherichia coli*: Sequence recognition specificity and DNA binding affinity. *J. Biol. Chem.* **274**, 33105-33113 (1999).
28. Talukder, A.Z., Iwata, A., Ueda, A. and Ishihama, A.: Growth phase-dependent variation in the protein composition of *Escherichia coli* nucleoid. *J. Bacteriol.* **181**, 6361-6370 (1999).
29. Traviglia, S.L., Datwyler, S.A., Yan, D., Ishihama, A. and Meares, C.F.: Targeted protein footprinting: Where different transcription factors bind to RNA polymerase. *Biochemistry* **38**, 15774-15778 (1999).
30. Wada, A., Mikkola, R., Kurland, C.G. and Ishihama, A.: Growth phase-coupled changes of the ribosome pattern in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.*, in press.
31. Watanabe, T., Honda, A., Iwata, A., Ueda, S., Hibi, T. and Ishihama, A.: Isolation from tobacco mosaic virus-infected tobacco of a solubilized template-specific RNA-dependent RNA polymerase containing a 125k/183k protein heterodimer. *J. Virol.* **73**, 2633-2640 (1999).
32. Wlassoff, W.A., Kimura, M. and Ishihama, A.: Functional organization of two large subunits of the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe* RNA polymerase II: Location of the catalytic sites. *J. Biol. Chem.* **274**, 5104-5113 (1999).

(2) その他

1. Ishihama, A.: Stringent control. In: *Encyclopedia of Molecular Biology*, T.E. Creighton, Ed., John Wiley & Sons, Inc., New York, pp. 2451-2455, 1999.
2. 石浜 明: 動物ウイルス. 蛋白質核酸酵素「ライフサイエンスのための系統保存

とデータバンク」, 44, 1419-1422 (1999).

(3) 発表講演

1. Culham, D.E., Jishage, M., Ishihama, A. and Wood, J.M.: Betaine accumulation and osmoadaptation by *Escherichia coli*: Basis for an alternative approach to the treatment of urinary tract infections? The 99th General Meeting, ASM (American Society for Microbiology), Chicago (USA), May, 1999.
2. Finney, A.H., Blick, R.J., Murakami, K., Ishihama, A. and Stevens, A.M.: Involvement of residues in the C-terminal domain of the α subunit of RNA polymerase in transcriptional activation of the *lux* operon during quorum sensing. Bacterial Genetics and Phages Meeting, Madison, WI, USA, August, 1999.
3. Fujita, N., Nomura, T., Katayama, A. and Ishihama, A.: Structural and functional maps of the core enzyme subunits of *E. coli* RNA polymerase. The 11th RNA Polymerase Workshop, Nottingham, UK, March, 1999.
4. Fujita, N.: Probing protein-DNA and protein-protein interactions in transcription by protein-conjugated Fe-EDTA. The 4th International Engelhardt Conference on Molecular Biology, Moscow-St. Petersburg, Russia, July, 1999.
5. Honda, A.: Molecular dissection of influenza virus RNA polymerase. The 4th International Engelhardt Conference on Molecular Biology, Moscow-St. Petersburg, Russia, July, 1999.
6. 本田文江, 岡本拓人, 鈴木康夫, 石浜 明: インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼの機能に影響する細胞因子の検索と解析. 日本ウイルス学会第47回学術集会, 横浜, 11月.
7. 本田文江, 水本清久, 石浜 明: インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼサブユニットPB2上でのRNA キャップ構造結合部位の同定. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
8. Hwang, J.-S., 山田和徳, 中出浩司, 石浜 明: *Pichia* 酵母中でのインフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼ機能形態分子の発現. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
9. 石黒 亮, 禾 泰寿, 久武孝司, 石浜 明: 分裂酵母 RNA ポリメラーゼ I, II, III 共通サブユニット Rpb6 の遺伝解析. 第32回酵母遺伝学フォーラム, 岡崎, 7月.
10. Ishiguro, A., Nogi, H. and Ishihama, A.: Molecular assembly and mutation analysis of RPB6, shared by RNA polymerase I, II and III in the fission yeast. The 11th RNA Polymerase Workshop, Nottingham, UK, March, 1999.
11. Ishihama, A.: The hierarchy of gene transcription. JSPS Symposium "The Frontier for the Genome Research on Microorganisms - 1999", Osaka, February, 1999.

12. Ishihama, A.: Many roles of the RNA polymerase in *Escherichia coli*. Symposium "Prokaryotic Molecular Biology: Approaching the New Millennium", Melbourne, Australia, February, 1999.
13. Ishihama, A.: Molecular anatomy of transcription apparatus. Institute of Molecular Biology Seminar, Academia Sinica, Taipei, Taiwan, April, 1999.
14. Ishihama, A.: Viral RNA polymerases: Multi-functional enzymes and roles of host factors. National Health Research Institutes Seminar, Taipei, Taiwan, April, 1999.
15. 石浜 明: 転写装置の分子解剖, 構造分子生物学国際シンポジウム, 大阪, 5月.
16. Ishihama, A.: Molecular architecture of transcription apparatus. International Symposium on "Transcription Assembly & Nucleic Acid-Protein Interactions", Bangalore, India, June, 1999.
17. Ishihama, A.: Regulations of sigma subunits: Sigma-core and sigma-antisigma interactions. Federation of American Societies for Experimental Biology (FASEB) Summer Research Conference, Vermont, USA, July, 1999.
18. Ishihama, A.: Molecular anatomy of transcription and replication apparatus of influenza virus. The 1999 meeting of the American Society of Virologists, Minisymposium "Mechanisms of Viral RNA Synthesis", Amherst, UK, July, 1999.
19. 石浜 明: 転写因子のネットワーク - 部分から全体への回帰 -. 日本生物物理学会第37回年会, 和光市, 10月.
20. 石浜 明: RNA ウイルスの転写装置・複製装置. 日本ウイルス学会第47回学術集会シンポジウム, 横浜, 11月.
21. 石浜 明: 大腸菌の転写の調節機構. 第82回日本細菌学会関東支部総会シンポジウム, 土浦, 11月.
22. Ishihama, A.: Functional differentiation of RNA polymerase. 第22回日本分子生物学会年会ワークショップ, 福岡, 12月.
23. Ishihama, A., Fujita, N., Dasgupta, D., Nomura, T., Katayama, A., Ozoline, O.N., Murakami, K., Colland, F., Bown, J., Kolb, A., Busby, S. and Meares, C.F.: Analysis of protein-DNA and protein-protein contact networks involved in transcription regulation. 生体機能における金属の特異的作用の分子科学第4回ワークショップ, 岡崎, 11月.
24. Ishihama, A., Fujita, N., Nomura, T., Katayama, A., Ozoline, O., Jishage, M., Dasgupta, D., Murakami, K. and Meares, C.F.: Protein-protein contact network within the *Escherichia coli* transcription apparatus. The 1999 Molecular Genetics of Bacteria and Phages Meeting, Madison, WI, USA, August, 1999.
25. 石浜 明, 藤田信之, Ozoline, O.N., 野村 扶, 片山 映, 村上勝彦, Meares, C. F. : 転写装置の分子解剖: 蛋白質相互作用ネットワークの解析. 第72回日本

- 生化学会大会, 横浜, 10月.
26. Ishihama, A., Jishage, M., Maeda, H. and Fujita, N.: Level and activity control of seven sigma subunits in *Escherichia coli*. The 11th RNA Polymerase Workshop, Nottingham, UK, March, 1999.
 27. Ishihama, A., Kimura, M., Sakurai, H., Mitsuzawa, H., Ishiguro, A., Mitobe, J., Yasui, K., Miyao, T., Komoto, M., Suzuki, H., Nogi, Y. and Thuriaux, P.: Synthesis and assembly of the fission yeast RNA polymerase II. Amer. Soc. Biochem. Mol. Biol. Fall Symp. "Mechanism and Regulation of Transcription by RNA polymerase II", Granlibakken, Calif, USA, October, 1999.
 28. Ishihama, A., Wada, A., Tanaka, K., Shimamoto, N. and Fujita, N.: The hierarchy of gene expression in *Escherichia coli*. International Proteome & Proteomics Conference, Kisarazu, August, 1999.
 29. Katayama, A., Nomura, T., Fujita, N. and Ishihama, A.: Mapping of subunit-subunit contact surfaces on the β and β' subunits of *E. coli* RNA polymerase. Federation of American Societies for Experimental Biology (FASEB) Summer Research Conference, Vermont, USA, July.
 30. 増田裕幸, 鈴木 隆, 宮本大誠, 伊藤壽啓, 喜田 宏, 大内正信, 豊田哲也, 石浜明, 河岡義裕, 鈴木康夫: インフルエンザA型ウイルスのシアル酸分子種認識機構の解析. 日本ウイルス学会第47回学術集会, 横浜, 11月.
 31. Matsunaga, K., Toyoda, T., Mizumoto, K., Kato, H. and Ishihama, A.: Molecular mapping of influenza virus RNA polymerase by site-specific antibodies. The 11th International Congress of Virology, Sydney, Australia, August, 1999.
 32. Mitobe, J., Mitsuzawa, H., Yasui, K. and Ishihama, A.: Isolation and characterization of temperature-sensitive mutations in the subunit 3 gene (*rpb3*) of RNA polymerase II of the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. Amer. Soc. Biochem. Mol. Biol. Fall Symp. "Mechanism and Regulation of Transcription by RNA polymerase II", Granlibakken, Calif., USA, October, 1999.
 33. 光澤 浩, 清野浩明, 山尾文明, 石浜 明: 分裂酵母のM期での細胞周期停止を回復させる基本転写因子. 第32回酵母遺伝学フォーラム, 岡崎, 7月.
 34. 光澤 浩, 清野浩明, 山尾文明, 石浜 明: 分裂酵母のM期での細胞周期停止を回復させるTAF遺伝子. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
 35. 野村 扶, 藤田信之, 石浜 明: 大腸菌RNAポリメラーゼ β サブユニットと相互作用する新規因子の探索. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
 36. Ozoline, O.N., Fujita, N. and Ishihama, A.: Functional topology of the bacterial RNA polymerase. Multipoint monitoring by a fluorescent probe. The 8th European Conference on the Spectroscopy of Biological Molecules, Enschede, The Netherlands, August-September, 1999.

37. 櫻井仁美, 光澤 浩, 木村 誠, 石浜 明: 分裂酵母 RNA ポリメラーゼ II サブユニット Rpb4 の同定と解析. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
38. Talukder, A.A. and Ishihama, A.: Twelve molecular species of the nucleoid-associated protein in *Escherichia coli*: Molecular properties, intracellular levels and localizations. The 1999 Molecular Genetics of Bacteria and Phages Meeting, Madison, WI, USA, August, 1999.
39. Talukder, A.A., 平賀壮太, 石浜 明: 大腸菌核様体中での DNA 結合蛋白質のふたつの存在様式. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
40. 和田 明, 牧 泰史, 吉田秀司, 石浜 明: RFHR-2D PAGEによる大腸菌定常期のプロテオーム解析. 第72回日本生化学会大会, 横浜, 10月.
41. 和田 明, 牧 泰史, 吉田秀司, 石浜 明: プロテオームの新しい解析手段としての RFHR-2D PAGE. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
42. 吉田 円, 柏木敬子, 石浜 明, 五十嵐一衛: ポリアミンによる σ^F の合成促進機構と鞭毛発現量の解析. 第72回日本生化学会大会, 横浜, 10月.

A-b. 変異遺伝研究部門

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, とくに酵母を用いた分子生物学的研究を行っている.

研究活動は助教授・山尾文明, 助手・岸 努, 清野浩明, 総合研究大学院大学院生・只木敏雅, 外国人研究者・Park Joon-Hyun(韓国, 大象中央研究所)が行い, 研究補助員として小田川恵美, 北浦良子が参加した.

当部門の関係する研究所共同研究は, 「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)であった.

研究費は, 通常経費に加え, 文部省科学研究費補助金, 特定領域研究(1)「選択的蛋白分解の分子機構」(代表, 鈴木絃一)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興味を集めている. そ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見直されている. とりわけ蛋白質の選択的な分解を介した機能調節の機構は最近とみに注目されており, 特定の機能蛋白質をターゲットとした特異的な蛋白質分解系の発現を分子レベルで同定し, それが他の増殖調節系といかに相互に関連しあっているかを解析することは焦眉の課題となっている.

核や染色体は細胞周期の進行にともなって幾多の劇的な動態変化を繰り返すが, そこで種々のキーとなる蛋白質の消長が観察されることは蛋白質の機能修飾や量的調節の制

御機構が核や染色体の動態にとっても重要な役割を担っていることを示している。細胞周期制御の観点からみると、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、CDK (サイクリン依存性キナーゼ) の多様性の発見、CDK 阻害因子 (CKI) の発見、と蛋白質のリン酸化による機能の制御が周期制御の基盤をなす一方、この数年の細胞周期制御における蛋白質分解の役割もそれに匹敵するだけのものを形成してきた。それは選択性、迅速性、不可逆性という蛋白質分解の持つ特性が一連の順序だった周期機能の制御に合致するものとして個々の細胞周期の現象の中で理解され証明されてきたからである。

真核生物において特異的な蛋白質分解系として中心的な役割を担っているものの一つはユビキチン系による選択的蛋白分解機構である。ユビキチン系における蛋白分解の選択性は、ファミリーを形成し、それぞれに異なる基質(ユビキチン化の標的蛋白質) 特異性を持つユビキチン結合酵素(E2)とユビキチンリガーゼ(E3) 酵素群の分子的多様性に依拠すると考えられる。細胞周期の進行とその間の細胞核での機能の制御に着目し、そこで働くキーとなっている蛋白質の分解とそのためのユビキチン経路を同定し、この経路に働く酵素、因子群を細胞周期制御のネットワークの中に位置付けるのを目的とした。

(1) 分裂酵母の E2 経路の全体像の把握

分裂酵母において DNA 複製の開始の制御およびライセンシング、減数分裂など多岐にわたる生命現象にユビキチン経路が関与することを示唆する報告が蓄積しているが、その分子レベルでの作用機作については明らかになっていない。また、DNA 複製制御に関わる Cdc18, Cdk inhibitor の Rum1, DNA 複製を負に制御する Sdi1 など分解により蛋白質量が細胞周期で厳密に制御される必要のある蛋白質の存在が多数知られているが、その分解制御についても十分な理解が得られているとは言い難い。これらの蛋白質分解による制御機構を明らかにするうえで分裂酵母において全てのユビキチン転移酵素について機能を明らかにすることは重要である。我々は分裂酵母のゲノム配列データベースを検索し、新規に 8 つのユビキチン転移酵素に特徴的なアミノ酸配列を持つ ORF をコードする遺伝子をみだし、UbcP5 ~ UbcP12 と命名した。試験管内での酵素活性によって単離した UbcP1 ~ UbcP4 のうち未解析のものと同ゲノム配列データベースにおいて検索されたこれらの新規のユビキチン転移酵素についてその機能解析を目的とし、破壊株の表現型、蛋白質の生化学的な性質などについて解析を進めている。現在までに UbcP1, UbcP4 は細胞の増殖に必須であり(次項参照)、変異株は細胞周期特異的な表現型を示すことが明らかになった。このことは出芽酵母においてその相同遺伝子破壊株が特徴的な表現型を示さず致死ではなかったことと対照的であり、分裂酵母における機能解析の有効性を示している。

(2) 分裂酵母 M 期サイクリンのユビキチン化経路

アフリカツメガエルおよびハマグリ卵抽出液で解析された M 期サイクリンをユビキチン化するユビキチン経路において、出芽酵母での変性蛋白質等を分解する古典的な経路

のユビキチン転移酵素として報告されている Ubc4/5 と同様な Ubc4 と新規の転移酵素 Ucb-x/c の両者が関わることが報告されている。しかし、この両者の機能的な差異、関係は明らかにされていない。我々は分裂酵母において各々の相同遺伝子である UbcP1/Ubc4 および UbcP4 の両者が細胞の増殖に必須であることを見出した。また、欠失株において分裂期の進行に異常をきたし、M 期サイクリンである Cdc13 の蓄積がみられた。このことは UbcP1/Ubc4 と UbcP4 の両者が M 期サイクリンの分解に関わっており、しかも、機能的な差異があることを示唆する。UbcP1/Ubc4 欠失株のなかではポリユビキチン化蛋白質の蓄積が見られることから Cdc13 のユビキチン化においても UbcP4 が特異的なユビキチン化の開始に関わり UbcP1/Ubc4 がその後のポリユビキチン化に関わっているのではないかという作業仮説を立てて解析を進めている。

(3) 分裂酵母 S 期サイクリン分解制御の機構

ubcP4 は分裂期に機能するユビキチンリガーゼである APC (anaphase promoting complex) と同一経路で機能し M 期サイクリン Cdc13 をユビキチン化するだけでなく、S 期サイクリン Cig2 もまた標的蛋白質とすることを明らかにした (一部未発表データ)。両者のサイクリンは機能上の類似性もあるが、機能的、特異性においては分化しており、また分解時期特異性の差があることから、S 期サイクリン Cig2 の機能および分解制御について調べたところ、C 末側にあるサイクリンボックスについては M 期サイクリン Cdc13 とその機能は類似しており、N 末側に位置する分解シグナルの近傍に時期特異的な分解制御の相違に重要な役割を果たす領域が存在することが示唆された。このことについての分子レベルの解析を進めている。

(4) ユビキチンリガーゼ SCF 複合体の解析

細胞周期 G1/S 期では、S 期サイクリン依存キナーゼインヒビター Sic1 や G1 サイクリン、Cdc6 など複数の制御蛋白質がユビキチン化される。これらの蛋白質のユビキチン化を行うユビキチンリガーゼが SCF 複合体である。この SCF 複合体は、Skp1, Cdc53, F-box 蛋白などからなることが我々を含むいくつかのグループによって明らかにされた。

この SCF 複合体のユビキチンリガーゼとしての活性が、複合体形成の過程で制御されていることを示唆するデータをこれまでで得ているが、具体的なメカニズムについては不明である。その理由の一つに SCF を構成する蛋白質で未同定のものが存在することによる。

そこで本年度は、SCF を構成する蛋白質を遺伝学的に明らかにするために、G1 サイクリンを安定化する変異株を複数スクリーニングした。この中で *dog1* (Degradation Of G1 cyclin) 株は、制限温度において G2/M 期での細胞周期の停止、および、許容温度においても S 期の進行の遅延が観察された。現在、この *DOG1* のクローニングを行っており、Dog1 が SCF ユビキチンリガーゼを構成しているか、また、SCF ユビキチンリガーゼの活性にどのように関わっているかについて、明らかにして行く予定である。

研究業績

(1) 原著論文

1. Yamao, F.: JB Review: Ubiquitin System - Selectivity and Timing of Protein Destruction. *J. Biochemistry* **125**, 223-229 (1999).

(2) その他

1. 山尾文明: 「ユビキチンシステムはどうやって標的蛋白質を識別するのか?」 *細胞工学* **18**(5), 616-621, (1999).
2. 山尾文明: 「細胞周期を制御するユビキチン経路」 *蛋白質核酸酵素* **44**(増刊 細胞核研究の最先端), 1717-1724, (1999).
3. 岸 努: SCF ユビキチンリガーゼ *Bio Science 新用語ライブラリー「細胞周期」* 羊土社, 44-45, (1999).
4. 山尾文明: 「蛋白質分解と細胞周期・細胞分裂」 *蛋白質分解-分子機構と細胞機能* (鈴木紘一, 木南英紀, 田中啓二編集) シュプリンガー・フェアラーク東京(2000: 印刷中)

(3) 発表講演

1. 岸 努, 山尾文明: 「SCFGrr1によるG1サイクリンCln2のユビキチン化」 *染色体ワークショップ* 1999年1月(葉山)
2. 清野浩明: 「細胞周期を制御するユビキチン経路」 *遺伝研研究集会*, 1999年3月(三島)
3. 山尾文明: 「ユビキチンバイオロジー」 *医学会総会シンポジウム*, 1999年4月(東京)
4. 山尾文明: 「ユビキチン: 新しいタンパク修飾システム」 *千里ライフサイエンスシンポジウム「細胞内シグナルの制御-ユビキチンとプロテアソーム」* 1999年5月(大阪)
5. Kishi, T.: An essential function of Grr1 for the degradation of Cln2 is to act as a binding core that links Cln2 to Skp1. *Cold Spring Harbor Laboratory Meeting "Biology of Proteolysis"* Cold Spring Harbor, USA, May 1999.
6. 光澤 浩, 清野浩明, 山尾文明, 石浜 明: 「分裂酵母のM期での細胞周期停止を回復させる基本転写因子」 *酵母遺伝学フォーラム*, 1999年7月(岡崎)
7. 清野浩明, 山尾文明: 「分裂酵母ユビキチン転移酵素UbcP1/Ubc4の細胞周期における機能」 *第22回日本分子生物学会*, 1999年12月(福岡)
8. 光澤 浩, 清野浩明, 山尾文明, 石浜 明: 「分裂酵母のM期での細胞周期停止を回復させる基本転写因子」 *分子生物学会*, 1999年12月(福岡)
9. 河野享子, 岸 努, 伊原尚也, 加納康正: 「出芽酵母スタスミン様遺伝子破壊株の解析」 *第22回日本分子生物学会*, 1999年12月(福岡)

A-c. 核酸化学客員研究部門

(1) マイナス鎖 RNA ウイルスゲノムの転写・複製機構：水本清久

1) センダイウイルス(SeV)

センダイウイルス(SeV)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(L, Pタンパク質)によって触媒される。我々は、SeV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の活性発現に必要な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、SeV 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(Mizumoto *et al.*, *J. Biochem.* **117**, 527, 1995)。本研究では、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、それが分子量約20Kと46Kのタンパク質成分からなること、さらに、p46は解糖系酵素の1つであるホスホグリセリン酸キナーゼ(PGK)であることを明らかにした(Ogino *et al.*, *J. Biol. Chem.* **274**, 35999, 1999)。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SeV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(PGK)はRNA鎖伸長段階で作用することを示した(Ogino *et al.*, *J. Biol. Chem.* **274**, 35999, 1999)。

2) インフルエンザウイルス

インフルエンザウイルスゲノムは8本の分節マイナス鎖RNAからなり、その転写・複製はウイルスのRNA依存RNAポリメラーゼ(PB1, PB2, PAサブユニット)によって触媒される。インフルエンザウイルスmRNAはキャップされているが、上述のSeVと異なり、ウイルスポリメラーゼはキャッピング酵素活性をもたない。インフルエンザポリメラーゼは、宿主mRNAのメチル化キャップ構造を特異的に認識して宿主mRNAからキャップを含む約10ヌクレオチドのRNAフラグメントを切り出し(キャップ-1依存エンドヌクレアーゼ活性)、それをプライマーに用いて自身のmRNA鎖を合成する。しかし、そのメカニズムの詳細についてはまだ明らかにされていない。われわれは、キャップ-1依存エンドヌクレアーゼの反応機構とその活性中心を明らかにすることを目的に研究を行っている。今回は、キャップ-1構造認識部位がウイルスポリメラーゼのどのサブユニットに存在するかを明らかにするために、ウイルスリボヌクレオプロテイン(RNP)と³²P標識キャップ-1構造をもつRNAとのUV-クロスリンク法により解析した。その結果、サブユニットPB2が宿主mRNAのキャップ-1構造(*m*⁷GpppNm)を特異的に認識すること、また、クロスリンク後のペプチドマッピングからPB2分子上の異なる2カ所にキャップ-1構造認識部位が存在することを明らかにした(Honda *et al.*, *Genes to Cells* **4**, 475, 1999)。

(2) RFHR 二次元電気泳動法による大腸菌定常期のプロテオーム解析：和田 明

ゲノム解析の爆発的な進展を追いながら、ポストゲノムの最も重要な課題としてのプロテオーム研究もまた急速に展開しつつある。遺伝子の持つ情報は転写と翻訳を経て蛋白質という形で機能化される。従って、細胞の生き様を理解するには、細胞が持つ蛋白質の種類と数、その機能、その相互作用、さらには他の生体分子との関係等を解明しなければならない。プロテオームとは全蛋白質を対象にした、こうした包括的な解析を指している。

プロテオームの主要な方法的段階は、一つは蛋白質の分離であり、もう一つは分離された蛋白質の同定である。この内蛋白質の分離には 0' Farrell の等電点二次元電気泳動法があたかも定番のように広く用いられている。しかしながら一つの操作段階を単一の方法に依存するとき、しばしばその方法の弱点をも不可避にする。0' Farrell 法も例外でなく、一次元で形成できる pH 勾配の範囲が、適用しうる蛋白質の範囲を限定し、塩基性蛋白質を十分に分離できない。その結果、現在のプロテオームで細胞の持つ蛋白質を数えるとき、事実上塩基性蛋白質の多くが無視されている。したがって塩基性蛋白質を含む包括的な解析のためには等電点法に代わる新しい方法が必要である。我々が開発した radical-free and highly reducing (RFHR) 二次元電気泳動法の一次元ゲルは pH 勾配ではなく固定した pH8.2 で構成されているため強い塩基性蛋白質をも容易に分離することができる。

今回我々はこの RFHR 法を用いて大腸菌の増殖段階に依存して変動する蛋白質を分析した。その結果対数期に特異的に存在する蛋白質 6 種と定常期特異的蛋白質 59 種を検出した。この定常期特異的蛋白質の中 23 種は、約 7 日間の定常期のほぼ全域に亘って存在したが、残り 36 種はそれぞれ定常期のある限られた時期にのみ存在した。このことは大腸菌が細胞中に存在する蛋白質の構成を絶えず変動させながら長い定常期を生き延びていくことを示している。

現在までに、これら蛋白質の中 31 種の遺伝子を同定した。その内訳は carbohydrate metabolism に関与するもの 1, amino acid metabolism 1, nitrate metabolism 1, protein folding 1, DNA binding 4, membrane transport 5, translation 4, および hypothetical ORF 14 であり、この中に 4 種の塩基性蛋白質が含まれている。

研究業績

(1) 原著論文

1. Ogino, T., Iwama, M., Kinouchi, J., Shibagaki, Y., Tsukamoto, T. and Mizumoto, K.: Involvement of a cellular glycolytic enzyme, phosphoglycerate kinase, in Sendai virus transcription. *J. Biol. Chem.* **274**, 35999-36008 (1999).
2. Masunaga, K., Mizumoto, K., Kato, H., Ishihama, A. and Toyoda, T.: Molecular mapping of influenza virus RNA polymerase by site-specific antibodies. *Virology*

ogy 256, 130-141 (1999).

3. Honda, A., Mizumoto, K. and Ishihama, A.: Two separate sequences of PB2 subunit constitute the RNA cap-binding site of influenza virus RNA polymerase. *Genes to Cells* 4, 475-485 (1999).
4. Maki, Y., Tanaka, A. and Wada, A.: Stoichiometric analysis of barley plastid ribosomal proteins. *Plant Cell Physiol.* (in press).

(2) 発表講演

1. 荻野朝朗, 山寺忠之, 岩間美奈子, 水本清久: 解糖系酵素, ホスホグリセリン酸キナーゼのセンダイウイルスゲノムの転写への関与. 日本薬学会第119年会, 徳島, 3月.
2. 岩間美奈子, 新城ひろみ, 荻野朝朗, 山寺忠之, 水本清久: センダイウイルスゲノムのシスエレメントに結合する宿主因子(LBP)の解析. 日本薬学会第119年会, 徳島, 3月.
3. 山寺忠之, 荻野朝朗, 岩間美奈子, 水本清久: センダイウイルスのmRNA合成に関与する宿主因子の精製. 日本薬学会第119年会, 徳島, 3月.
4. Ogino, T., Yamadera, T., Iwama, M., Aizawa, C. and Mizumoto, K.: Involvement of a cellular glycolytic enzyme, phosphoglycerate kinase in Sendai virus transcription. XIth International Congress of Virology. Sydney, Australia, August.
5. 荻野朝朗, 山寺忠之, 岩間美奈子, 水本清久: センダイウイルスの転写反応に関与する宿主因子, p52およびp28, の精製とその機能. 第72回日本生化学会大会, 横浜, 10月.
6. 山寺忠之, 荻野朝朗, 岩間美奈子, 水本清久: センダイウイルスの転写反応に関与する宿主因子, p52およびp28, の精製と機能解析. ワークショップ「ウイルスゲノムの転写と複製」日本ウイルス学会, 第47回学術集会, 横浜, 11月.
7. 岩間美奈子, 水本清久: センダイウイルスゲノムリーダーおよびトレーラー配列を含むdsRNAに結合する宿主因子: 部分精製と結合特異性の解析. 日本ウイルス学会, 第47回学術集会, 横浜, 11月.
8. 荻野朝朗, 山寺忠之, 水本清久: センダイウイルス (+) 鎖リーダーRNA合成を阻害する宿主因子, LIF-1の精製と機能解析. 日本ウイルス学会, 第47回学術集会, 横浜, 11月.
9. 山寺忠之, 荻野朝朗, 水本清久: センダイウイルスのmRNA合成を促進する宿主因子, p28およびp52, の精製と機能解析. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
10. 荻野朝朗, 山寺忠之, 大澤優紀, 岩間美奈子, 水本清久: センダイウイルスゲノムの転写に関与する宿主因子群. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.

11. 岩間美奈子, 水本清久: センダイウイルスゲノムリーダー配列を含む2本鎖RNAに結合する宿主因子の解析. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
12. 本田文江, 水本清久, 石浜 明: インフルエンザウイルスRNAポリメラーゼサブユニットPB2上でのRNAキャップ構造結合部位の同定. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
13. Yoshida, H., Maki, Y. and Wada, A.: Structural analysis of the *Escherichia coli* 100S ribosomes by protein-protein cross linking. Helsingor Conference "The Ribosome-Structure, Function, Antibiotics and Cellular Interaction", Helsingor, Denmark, June, 1999.
14. 和田 明: RFHR-2D PAGEによる大腸菌定常期のプロテオーム解析. 第72回日本生化学会大会, 横浜, 10月.
15. 吉田秀司, 牧 泰史, 和田 明: 蛋白間架橋によるRMF結合部位の決定. 第72回日本生化学会大会, 横浜, 10月.
16. 和田 明, 牧 泰史, 吉田秀司, 石浜 明: プロテオームの新しい解析手段としてのRFHR-2D PAGE. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
17. 吉田秀司, 牧 泰史, 和田 明: 大腸菌リボソーム蛋白S22の結合部位. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
18. 牧 泰史, 鈴木 勉, 吉田秀司, 和田 明: 大腸菌リボソームに結合する酸性タンパクF, Gの性質. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
19. 前田真希, 和田 明, 森 浩禎, 和田千恵子: 大腸菌ゲノムのRFHR二次元電気泳動法によるプロテオーム解析. 1. 熱ショックによって変動する大腸菌蛋白質の同定. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
20. 井筒香織, 和田 明, 和田千恵子: 大腸菌の定常期遺伝子発現に関与する因子の解析. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
21. 有末伸子, 牧 泰史, 吉田秀司, 和田 明, 橋本哲男: ミトコンドリアをもたない真核生物 *Trichomonas vaginalis* の70S型リボソームの性質とその構成蛋白の解析. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
22. 寺崎真樹, 鈴木 勉, 竹本千重, 花田孝雄, 和田 明, 上田卓也, 渡辺公綱: 哺乳動物ミトコンドリアリボソームにおけるストークタンパク質の同定と機能解析. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.

B. 細胞遺伝研究系

B-a. 細胞遺伝研究部門

生物は配偶子を形成する際に、両親由来のゲノムを混ぜ合わせて新しいゲノムを創り出して、多様性を生み出す。一方、DNAが電離放射線の照射や薬剤によって受ける傷害に対応して、様々な修復機能を備えて、遺伝情報の安定な維持を行う。組換え反応はこの対照的な二つの機能の中心を担っている。

出芽酵母では、減数分裂期に起こる相同組換えと、体細胞分裂のG1期に、母細胞で起こる接合型変換の際の組換えが、決まった時期に染色体の決まった位置に、二重鎖切断を入れることによって始まる。その後、その切断末端の片方の鎖が削られて、できた一本鎖DNAの塩基配列と相補的な配列を持つ分子を探し、対合する。その後、削られたDNA部分は修復合成され、組換え中間体であるホリデー構造を形成する。この中間体は二通りの方法で解離し、その解離の仕方によって、組換え体が、交叉型になるか、非交叉型(遺伝子変換型)になるかが決まる。一方、DNA傷害で生じた、二重鎖切断も同じ相同組換え反応で修復されるが、中には末端同士の間で再結合反応で行われる場合がある。その結合が別の二重鎖切断の末端との間で行なわれたものを非相同組換え反応、あるいは、末端再結合反応と呼ぶ。

組換え反応は、さらに、染色体の広範な領域の変化にも関わっている。例えば、染色体の末端にあって、細胞の寿命の維持に関与しているテロメアや、蛋白質合成を行うライソソームに含まれるRNAを合成するrDNA遺伝子のように、多くの繰り返し配列で構成されている遺伝子の、その適正な数の維持に関与している。また、多種多様な抗原に対する抗体を作る遺伝子を作り出す過程でも働き、生体機能の維持にとって重要な役割を担った反応である。

我々の遺伝的組換え機構の研究は、組換えの中間体の構造解析から始まった。そして、組換えの最初の反応である相同分子の検索と対合に関与する蛋白質の同定へと進み、組換え反応で中心的な働きをする大腸菌の*recA*遺伝子、真核生物のそのホモログ*RAD51*遺伝子、そして、さらに組換え開始でその主役を担う*MRE11*遺伝子の発見へと繋がった。これら二つの遺伝子が、酵母からマウス、ヒト、ユリなど生物全般に共通に存在することを示したことで、組換え反応の過程が、殆どの生物に共通であることがわかった。しかし、一方で、これら同じ遺伝子の活性を調べてみると、同じ遺伝子の機能が種や細胞によって、その働き方を変えていることがわかってきた。そればかりでなく、同じ組換え過程の中でも、これらの遺伝子機能は、他の蛋白質との共同作業によって働き方を変えていた。これらの結果は、組換え蛋白質の機能が、そこで働く他の蛋白質との共同作業によって、厳密に制御されていることを示唆した。

このような観点から、本年度はRad51の組換え反応と、Mre11による組換え開始反応とDNA傷害で生じる二重鎖切断の修復反応機構を、そこで共同で働く蛋白質との作用機構との関連で研究を行った。

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)志麻子, COE外国人特別研究員:Andrei Alexeev, 非常勤研究員:渡辺光一, 総合研究大学院大学:立田大輔, 遺伝研特別研究生:押海裕之, 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, 高杉知子, 片野博一と, 研究補佐員:高田恭子であった。

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)「蛋白質の共同作業による多様な遺伝情報創出の仕組みとその制御」(代表・小川智子)と、その分担課題研究「組換え蛋白質複合体の機能解析と相互作用による機能制御」(太田), 「DNA修復反応とテロメア長維持に関与する組換え機能」(田中), 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), 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), 日本学術振興会未来開拓学術研究「遺伝子複合体の高次構造と転写因子」(代表:萩原)「クロマチン構造を介した転写-組換え制御機構の解明」(太田), 財団法人日本宇宙フォーラム「組換え修復蛋白質の機能解析」(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), などの支援を受けた。

研究所の共同研究と特別推進研究の分担研究として、「出芽酵母組換え開始遺伝子MRE11の機能解析」と「組換え反応で誘導される細胞周期チェック・ポイント機構の解析」を岩手女子看護短大・小川英行と行った。

減数分裂期組換えは、遺伝子のプロモーター領域にある組換えのホット・スポットにMre11蛋白質が結合して開始する。これは、Mre11と転写開始に関与する蛋白質や、染色体構造構成蛋白質との相互作用が、組換え開始に必要な役割を果たしていることを示唆している。次に、Mre11は組換えの開始に必要な二重鎖切断を行い、引き続き起こるRad51の相同検索に必要なssDNAを、その切断末端に形成する。この2つの反応で、Mre11は別の蛋白質と複合体を形成する。また、体細胞で電離放射線などで生じた二重鎖切断の修復時に起こる末端の消化や、消化を伴わない末端の結合にもMre11の機能が必要である。

相同染色体の対合からその解離の一連の反応では、Rad51が主役を担うが、これもまた、RPA, Rad52, Rad55, Rad57の蛋白質との共同作業で組換え反応を進行する。本年度は、これらの機構について研究を進めた。

(1) Mre11 蛋白質複合体と蛋白質の多機能性：太田 力，押海裕之，富澤純一，小川英行，小川智子

出芽酵母の減数分裂期の遺伝的組換えの開始反応は，二重鎖DNAの切断(double-strand breaks ;DSBs)と，そのDNAの末端の消化である．DSBsには少なくとも10個，消化には4個の遺伝子が関与する．そのうちの3個の遺伝子，*MRE11*，*RAD50*，*XRS2*は共通である．切断と消化は異なる蛋白質複合体(Pre-DSB- or Post-DSB complex)によって行われる．精製したMre11蛋白質の解析はMre11の機能がドメインにより分けられることを示した．すなわち，ヌクレアーゼを支配するN末，二重鎖切断に必要なC末，切断と消化反応で働く異なるDNA結合部位，二箇所のRad50との結合部位等である．上記の二つの反応は複合体を通じて行われるが，その複合体の形成と反応を支配しているのは二箇所のDNA結合部位である．Mre11は，MMS処理で生じたDSBsを少なくとも二つの反応で修復する．Mre11ヌクレアーゼ依存の相同組換えと，非依存の末端結合反応(非相同組換え)である．ヌクレアーゼ依存の修復は，減数分裂期のDSBsの修復に関与するものと同じか，または，類似の複合体により行われると考えられる．

(2) Mre11 変異株の単離：押海裕之，小川智子

MRE11 遺伝子の変異株を多数単離した．三種のグループに分けられる変異株が得られた．グループAに属する変異株は，二重鎖切断の導入ができないが，メチルメタンсульホン酸(MMS)処理で作られるDSBsの修復能は野生型と同じであった．この変異はMre11蛋白質のC-末端にアンバー変異が起きたもので，結果としてC-末端の欠失変異である．グループBに属する変異は，Mre11蛋白質の中央に起きた変異で，二重鎖切断はできるが，その後の末端の消化に欠損があった．MMSで誘導されたDSBsは部分的に修復される．グループCに属する変異は，Mre11蛋白質のN末から中央に変異を持ち，DSBは形成できるが，その末端の消化に欠損を持っている．

これら変異蛋白質の解析は，Mre11ヌクレアーゼがDSB形成には関係なく，末端の消化に必要であることを示した．また，第三のグループの変異株はMMS処理により生じたDSBsを修復できなかった．このように，機能に特異的な変異株が分離できたことは，Mre11蛋白質が，異なった活性を持ち，それぞれの活性に対応した反応を行うことを示している．さらに興味深いことに，これらのグループの変異株をそれぞれの組みあわせで作った二倍体は野生型の表現型を示した．これは，それぞれの反応が独立した複合体により行われていることを示唆している．実際に，ヘテロ二倍体での複合体形成を調べると，それぞれの蛋白質が別の複合体の中に検出できた．

(3) Mre11/Rad50 蛋白質複合体の機能：立田大輔，太田 力，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できた．この多量体形成活性はMre11蛋白質のみでも検出され，その活性はRad50蛋白質により促進された．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 Mre11 の活性を促進した。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 に DNA を巻き戻す活性(ヘリケース様活性)と、アニール活性が検出され、これらの活性が、この多量体形成に必要な活性であることを示した。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、現在その解析が進められている。

また、同じ反応系に、リガーゼを加えると、リガーゼの末端結合反応を促進した。この末端結合反応には線状 DNA の末端の相同性は必要ないが、末端の構造に依存していた。再結合を Mre11 ヌクレアーゼ活性を持たない Mre11 変異蛋白質で行ったところ、その結合は正確な末端の結合で、ヌクレオチドの欠失や添加は観察できなかった。

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

mre11, *rad50*, *xrs2* 変異株と *ku* 変異株ではテロメアの短小化が生じる。我々は Mre11 蛋白質がテロメア領域に結合していることを見出した。また、野生株のテロメアの末端に、S 期の後期に、ssDNA 領域が合成された。この ssDNA の創出は、*mre11* 変異株では殆ど観察されなくなり、一方、*ku* 変異株では細胞周期に関係なく検出できた。これらの結果は *mre11* と *ku* 変異株で生じるテロメアの短縮の仕方に違いがあることを示している。これらの変異株に於けるテロメア構造の詳細を比較して、これら遺伝子機能の役割を明らかにする。

(5) Rad51 が行う DNA 鎖の交換に働く Rad52 蛋白質の機能解析：松田志麻子，太田 力，小川智子

Rad52 蛋白質は相同組換えと非相同組換えなど各種の DNA 構造に特異的な組換え反応に関与するにも関わらず、その作用機構は Rad51 のフィラメント形成に関する役割を除いて不明である。それは、*RAD52* 遺伝子機能の解析が *rad52* 欠失株を使用してのみ行われてきたからと考えられた。そこで、*rad52* 欠失株と同じ性質を示す *RAD52* の古典的変異株 *rad52-1* に注目して解析を進めた。その結果、*rad52-1* 変異株が殆どすべての組換え機能を欠失しているにも関わらず、Rad52-1 変異蛋白質は Rad51 や RPA との相互作用が正常であり、アニーリング活性も持っていた。唯一活性が弱くなっていたのは ssDNA 結合能であった。それにも関わらず、Rad51 の DNA 鎖移行反応を完全に阻害したことは注目すべき結果である。これは、Rad52 蛋白質の活性の中で、ssDNA 結合能が、Rad51 蛋白質の移行鎖反応の過程で、最も重要な役割を担っていることを示している。さらに、非相同組換えでの役割がアニーリング活性のみではないことを示唆している。

(6) Rad51 蛋白質と共同で DNA 鎖交換反応を行う Rad55-57 蛋白質の解析：渡辺光一，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。Rad55 と Rad57 の機能を解析するために、これらの蛋白質の大量生産系を確立した。また、Rad55 と Rad57 の機能ドメインの解析を行った結果、Rad55 の N-末端が Rad57 の N-末端との相互作用と、Rad51 の相互作用に必要なこと。また、Rad55 と Rad57 には DNA 結合部位が 1 個ずつあるが、Rad57 の DNA 結合部位を欠失させた変異株は MMS 感受性にならなかったため、DNA 修復反応での Rad57 の DNA への結合は Rad55 を介して行われることを示唆した。また、Rad57 の DNA 結合活性の役割を知るために、減数分裂期組換えに於ける、これら欠損株の解析を行っている。

(7) 組換え遺伝子発現の制御 : A. Alexeev, 小川智子

生物は DNA に傷害が起きたとき、その修復を行う SOS 遺伝子群の誘導を行うことが大腸菌で詳細に解析されている。我々は、真核生物における DNA 傷害の修復時における関連遺伝子群の発現を調べるために、*RAD51* 遺伝子の誘導に必要な因子の同定を行った。その結果下記のことが明らかになった。

1) *RAD51* 遺伝子の 5' 側に存在する数種類の塩基配列が、*RAD51* 遺伝子の発現と抑制に働く MMS で処理した細胞で、*RAD51* 遺伝子 5' 側に結合する蛋白質について、時間を追って DNase I による *in vivo* footprinting 法を用いて解析したところ、5' 領域約 1kb に渡って 4 箇所に footprint が観察された。その中の三つの配列は遺伝子の発現に従って蛋白質が結合し、他の一つは結合していた蛋白質が除去された。

2) *RAD51* 5' 領域のヌクレオソーム構造

5' 領域 1kb に 3 箇所のヌクレオソームが観察され、上記の調節因子はヌクレオソーム構造のつなぎの領域に存在した。DNA 傷害剤の処理による新たな蛋白質因子の結合が TATAbox 上のヌクレオソームを移動することがわかった。

3) プロモーター領域の一番 5' 側に存在する塩基配列に特異的に結合する蛋白質の同定

40K の蛋白質が同定された。その蛋白質を精製し、そのアミノ酸組成を決めたところ Cbf-1 蛋白質(セントロメア結合蛋白質)であることがわかった。そこで *cbf-1* 変異株を作り、*RAD51* 遺伝子の 5' 領域のヌクレオソームの位置と footprinting を調べたところ、*cbf-1* 変異株ではヌクレオソームの配置に変化はなく、Cbf-1 の結合する領域に footprint は観察されなかった。*cbf-1* 変異株に於ける *RAD51* 遺伝子の転写開始は MMS 処理時に、野生型と同じ様に誘導され、プロモーター領域のヌクレオソームの配置とその変化は、野生株を MMS 処理、非処理に観察されるそれと同じであった。しかし、誘導合成された mRNA の細胞周期後期でのシャットダウンに違いが観察された。つまり、*cbf-1* 変異株では、*RAD51 mRNA* の誘導合成のシャットダウンができなかった。また、そのような細胞は G2 期の形態を示し、細胞の M 期への移行が阻害されていた。これは、G2 期に *RAD51* 遺伝子の 5' 領域に Cbf-1 蛋白質の結合が、M 期への移行に必須であることを示している。現在、G2 期チェックポイント制御にどのように Cbf-1 が関与しているかを解析している。

(8) クロマチン構造を介した転写調節機構の解明：太田 力

真核生物のゲノムDNAは生体内では、ヒストンと結合しクロマチン構造をとっている。従ってクロマチンDNAを用いた転写調節の研究が重要であると思われる。本研究は、ヒトSWI蛋白質複合体の精製とその生化学的機能をクロマチンDNAを用いた *in vitro* 再構成転写系で解明することを目的としている。ヒトSWI蛋白質は複数のサブユニットから構成されていることがわかってきた。現在、このうちの1つのサブユニット(SWI2)の抗体を作成した。この抗体を用いたwestern法をアッセイ系に用いてHeLa細胞及び牛肝臓の核抽出液から種々のイオン交換カラムを用いてヒトSWI蛋白質の大量精製を試みている。*in vitro* で再構成したクロマチンDNAを基質に、SWI蛋白質 depletion 核抽出液を *in vitro* 転写系として用い、精製したヒトSWI蛋白質複合体がクロマチン構造にもたらず転写抑制効果を解除する機能を解析した結果、ヒトSWI蛋白質の転写活性化には核内に存在するコファクターが必要であることが分かった。

(9) ヒト HIV・インテグレースを補助する宿主核内因子SWI蛋白質の機能解析：太田 力

AIDS ウイルスのヒト染色体DNAへの侵入活性酵素である Integrase の作用機構が解明できれば AIDS ウイルスの爆発的増殖阻止が可能になると思われる。最近、ヒト AIDS ウイルス(HIV)-Integrase が宿主因子(ヒトの細胞核中の蛋白質)を利用してヒトの染色体DNAに侵入していることが示唆された。本研究は、ヒト AIDS ウイルス(HIV)-Integrase が宿主因子 SWI 蛋白質を用いてどのようなメカニズムで染色体DNAに自らのDNAを挿入するのかを解明することを目的としている。現在、大腸菌から精製したヒト AIDS ウイルス(HIV)-Integrase の活性がヒト SWI 蛋白質によりどのように制御されているのか検討している。

研究業績

(1) 原著論文

1. Shinohara, A. and Ogawa, T.: Rad51/RecA protein families and the associated proteins in eukaryotes. *Mutation Res.*, **435**, 13-21, (1999).
2. Usui, T., Ohta, T., Oshiumi, H., Tomizawa, J., Ogawa, H. and Ogawa, T.: Complex formation and functional versatility of Mre11 of budding yeast in recombination. *Cell* **95**, 705-716, (1998).
3. Shinohara, A., Shinohara, M., Ohta, T., Matsuda, S. and Ogawa, T.: Rad51 independent Homologous Recombination Mediated by Rad52. *Genes to Cells*, **3**, 145-156, (1998).

(2) その他

1. 押海裕之, 小川智子, 組換えに関与する Mre11 機能の多様性の出現のしくみ, 実験医学「トピックス」(羊土社), **17**, No6, 757-760, (1999).

2. 坪内英生, 小川智子, 切断された DNA 二重鎖の修復反応の分子機構, 細胞工学(秀潤社)特集ゲノム・オペレーティングシステム: 核内生命現象を操る原理, 18, No. 7, 976-983, (1999).
3. 太田 力, 小川智子, 真核生物の組換え反応の多様性, 核酸 蛋白質 酵素(共立出版), 44, No. 2, 1830-1837, (1999).

(3) 招待講演

1. Ogawa, T., Ohta, T., Oshiumi, H., Usui, T. and Ogawa, H.: Versatility of function of yeast Mre11 in Recombination and Repair. Keystone Symposia on Molecular & Cellular Biology Taos, USA February.
2. Ogawa, T., Tatsuda, D., Oshiumi, H., Kawane, K., Ogawa, H. and Ohta, T.: Homology-dependent and -independent end-joining reactions by Mre11. FASEB Summer Conference Snowmass, USA August.
3. 小川智子: 個性を生み出す遺伝的組換えの仕組み - 特に真核細胞の特性と機能について. 日本遺伝学会第 71 回大会, 木原賞受賞講演, 広島, 9 月.
4. 小川智子: 個性を生み出す遺伝的組換えの仕組み. 大阪大学理学部生物学教室創立 50 周年記念事業・記念講演会, 豊中, 11 月.
5. 小川智子: 遺伝的組換えの分子機構の解析 - 真核生物のその特徴と機能について. 第 160 回酵母研究会例会, 東京, 11 月.
6. 小川智子: 個性を生み出す遺伝的組換えの仕組み. 第 14 回「大学と科学」公開シンポジウム「生殖細胞」, 東京, 11 月.
7. Ohta, T., Tatsuda, D., Oshiumi, H., Tanaka, S. and Ogawa, T.: Roles of Mre11 protein in yeast recombination and repair. The 16th Radiation Biology Center International Symposium Bioregulation of Radiation Response: Evolutional Dynamism of Damage Tolerance 京都, 12 月.

(4) 発表講演

1. Ohta, T., Oshiumi, H. and Ogawa, T.: Roles of Mre11 protein in yeast recombination and repair. FASEB Summer Conference Snowmass, USA August.
2. Oshiumi, H., Ogawa, H. and Ogawa, T.: Functional domaine of Mre11. FASEB Summer Conference Snowmass, USA August.
3. Ohta, T., Tanaka, S. and Ogawa, T.: Roles of *MRE11* protein in yeast recombination and repair. 3R Symposium, 三木, 11 月.
4. Tanaka, S. and Ogawa, T.: Functional analysis of *MRE11* on the telomere maintenance. 3R Symposium, 三木, 11 月.
5. Watanabe, K., Matsuda, S. and Ogawa, T.: Biochemical characterization of Rad55-57 complex. 3R Symposium, 三木, 11 月.

6. Tatsuda, D., Kawane, K., Oshiumi, H., Matsuda, S., Ohta, T., Ogawa, H. and Ogawa, T.: Homology-dependent and independent end-joining reaction by *MRE11*. 3R Symposium, 三木, 11月.
7. Oshiumi, H., Tsubouchi, H., Ogawa, H. and Ogawa, T.: Functional domains of *Mre11*. 3R Symposium, 三木, 11月.
8. Alexeev, A. and Ogawa, T.: Role of the CBF1 protein in *RAD51* transcriptional regulation in response to the DNA damage. 3R Symposium, 三木, 11月.
9. 太田 力, 田中茂生, 小川智子: 出芽酵母 *Mre11* 蛋白質の機能解析. 第22回分子生物学会年会, 福岡, 12月.
10. 田中茂生, 小川智子: 組換え遺伝子 *Mre11* のテロメア維持に関する働き. 第22回分子生物学会年会, 福岡, 12月.
11. 渡辺光一, 松田志麻子, 太田 力, 小川智子: 出芽酵母の相同組換えに働く Rad55-57 蛋白質複合体の機能解析. 第22回分子生物学会年会, 福岡, 12月.
12. 立田大輔, 川根健司, 押海裕之, 太田 力, 小川英行, 小川智子: 体細胞分裂の非同相組換え修復における *Mre11* の役割. 第22回分子生物学会年会, 福岡, 12月.
13. 押海裕之, 坪内英生, 太田 力, 小川英行, 小川智子: DNA 修復に欠損を示す *mre11* 変異株の解析. 第22回分子生物学会年会, 福岡, 12月.

B-b. 微生物遺伝研究部門

微生物遺伝研究部門では、本年は酵母をモデルとした真核生物染色体複製機構の研究、染色体複製の細胞周期による制御及びチェックポイントの研究、大腸菌のDNA複製に関する研究を行った。

本年の研究は、教授荒木弘之、助教授安田成一、助手上村陽一郎、特別共同研究員増本博司(大阪大学大学院生)、総研大大学院生高山優子・飯田哲史と技術課職員村松佐知子が行った。

本年度の研究は、文部省科学研究費特定領域研究A“細胞複製装置”「出芽酵母 *Dpb11* のDNA複製とS期チェックポイントに於ける機能」(荒木)、同“DNA修復欠損の分子病態”「出芽酵母DNAポリメラーゼεとその補助因子のDNA修復における役割」(荒木)、特定領域研究B“染色体複製をモニターする分子機構”(荒木)、基盤研究“真核生物DNAポリメラーゼの複製開始領域へのローディング機構の研究”(荒木)の支援を受けた。また、荒木は科学技術振興事業団個人研究振興事業の研究員としての支援も受けている。

本研究の共同研究としては、昨年に引き続き「染色体DNA複製開始に関与する *Cdc45* の出芽酵母、分裂酵母、アフリカツメガエルにおける機能の比較解析」(代表:大阪大学、升方久夫)を行った。

(1) 出芽酵母 Dpb11 の DNA 複製と S 期チェックポイントにおける機能の解析: 増本博司, 荒木弘之

染色体 DNA 複製の中心的な役割を果たしているのは, DNA ポリメラーゼである. 出芽酵母では, 染色体 DNA 複製に三つの異なる DNA ポリメラーゼ α , ϵ , δ (Pol α , Pol ϵ , Pol δ) が必要である. *DPB11* 遺伝子は, DNA ポリメラーゼ ϵ のサブユニットをコードする *POL2*, *DPB2* の変異を多コピーで抑圧する遺伝子として分離された. また, 温度感受性 *dpb11-1* 変異の解析から, Dpb11 が DNA 複製と S 期のチェックポイントに関与していることが示されている. また, Dpb11 と Pol2 が物理的に相互作用していること, また CHIP (chromatin immunoprecipitation) 法により Dpb11 は Pol ϵ の複製開始領域へのローディングに必要であることもわかっている. 本年度は, CHIP 法によりさらに詳しく調べた. *dpb11* 変異では Pol α の複製開始領域へのローディングが起らないが Pol α の変異では Dpb11 は複製開始領域にローディングされる. 一方, *dpb2* の変異では Dpb11 の複製開始領域へのローディングが起らない. これらのことは, Dpb11 と Pol ϵ が複合体を作り, 複製開始領域に結合した後, Pol α がローディングされることを示唆している. Pol α は, DNA 合成の開始に必要なプライマー RNA を合成する DNA プライマーゼと複合体を形成しており, 複製の開始に際してまず最初に複製開始領域に結合するものと考えられていた. 我々の結果は, Pol α に先んじて Pol ϵ が複製開始領域に結合することを示しており, Pol ϵ の複製開始における機能を示唆するものである.

染色体上の複数の複製開始点はそれぞれ S 期の異なる時期に使われるが, ヒドロキシ尿素で複製を阻害すると S 期初期に使われる開始領域のみに複製酵素は結合する. しかし, S 期チェックポイントに欠損を持つ *rad53* 変異では, S 期後期に使われる開始点にも初期のもの同様に複製酵素が結合するため, この複製開始点活性化の制御が, S 期チェックポイントコントロールの 1 つであると考えられている. *dpb11-1* 変異でも増殖可能な条件下で Pol ϵ , プライマーゼはヒドロキシ尿素存在下で初期及び後期の複製開始点に結合することがわかった. これらのことは, Dpb11 が複製開始領域への DNA ポリメラーゼ結合を制御し, この制御を介して S 期チェックポイントに関与していることを示唆するものである. 詳細は原著論文 2 に報告した.

(2) 出芽酵母 Dpb11 と相互作用する Sld3, 4 の解析: 上村陽一郎, 荒木弘之

Dpb11 の機能をより詳細に解析するため, Dpb11 と相互作用する因子を遺伝学的に同定し, その機能の解明を試みた. Dpb11 と相互作用する因子は, *sld* 変異 (synthetic lethality with *dpb11-1*) として分離した. 現在までに, *sld1* ~ *6* を分離し, その変異を相補する遺伝子をクローニングした. *SLD1* は DNA ポリメラーゼ ϵ の三番目のサブユニットをコードする *DPB3* と, *SLD4* は染色体 DNA 複製の開始に関与する *CDC45* と同一であった. また, *SLD6* は細胞周期チェックポイントに関する *RAD53* であった. *SLD2*, *3*, *4*, *5* は全て細胞増殖に必須な新規の遺伝子であった. このうち *SLD2* は *DPB11* と遺伝学的にもっとも強く相互作用した. そして, Dpb11 と Sld2 は細胞内で複合体を形成し,

Dpb11-Sld2 複合体形成が染色体 DNA 複製の初期に必須の機能を果たしていることが明らかになっている。

本年度は、Sld3 と Cdc45 の機能解析を行った。CDC45 は SLD3 の温度感受性を多コピーで抑圧した。また、2-ハイブリッド法から両者が細胞内で物理的に相互作用している可能性が示唆された。SLD3 の温度感受性変異を用いた解析から、この因子も Dpb11 や他の Sld 同様染色体 DNA 複製の初期に機能していることを示した。更に、Sld3 の複製開始点におけるダイナミクスを CHIP 法により調べた結果、Cdc45 と同様に S 期初期に使用される複製開始領域には G1 期に結合しているが、S 期後期に使用される複製開始領域には G1 期には結合せず S 期に入って結合していることが分かった。これらのことから、Sld3 と Cdc45 は細胞内で相互作用し、染色体 DNA 複製に関与していることが示唆された。現在、Sld3 と Cdc45 の相互作用が染色体 DNA 複製にどのように関与するのかについて、分子レベルでの解析を進めている。

(3) 出芽酵母 Dpb11 と相互作用する Sld5, Psf1 の解析：高山優子，荒木弘之

Dpb11 と相互作用する因子として単離された SLD5 遺伝子は約 34kDa の蛋白質をコードしており、細胞増殖に必須である。SLD5 の温度感受性株 *sld5-12* の多コピーサプレッサーとして単離された新規の遺伝子 PSF (partner of SLD five) 1 遺伝子も細胞増殖に必須な約 24kDa の蛋白質をコードし、Two-hybrid 法において Psf1 は Sld5, Dpb11, Dpb2, Sld3 と相互作用することが示されている。

psf1 温度感受性株は多コピーの SLD5, DPB11 によって温度感受性が抑圧される。*sld5* と *psf1* 温度感受性株は、制限温度下において dumbbell 型を示し DNA 含量が 1C で細胞周期を停止することから、DPB11 と同様に染色体 DNA 複製に関与していることが示唆された。染色体上の PSF1 遺伝子を破壊し低コピープラスミド上に Tag をつけた Psf1 を持たせた株を用いて免疫沈降を行った。その結果、Sld5 および Psf1 の抗体で Sld5 と Psf1 は共沈降してきた。さらに、 α -factor, ヒドロキシ尿素, Nocodazole で G1, S, M 期に細胞を同調し、同様に免疫沈降を行ったところ各細胞周期において共沈降が見られることから、細胞周期を通じて Sld5 と Psf1 が複合体を形成していることが明らかとなった。また、大腸菌の大量発現系によって得た Sld5 と His6-Psf1 蛋白質を Ni agarose と混ぜ合わせると His-Psf1 と共に Sld5 が Ni agarose より溶出されてくることから、酵母細胞内で Sld5 と Psf1 が直接結合することが示唆された。

(4) Dpb11 の新規変異の取得による機能解析：村松佐知子，荒木弘之

Dpb11 は 764 アミノ酸からなる塩基性タンパク質であるが、BRCT (BRCA1 C-terminus) ドメインと呼ばれる構造の 4 回の繰り返しによってその 2/3 を占められている。この BRCT は多くの細胞周期チェックポイントに関連するタンパク質に存在し、タンパク質間の相互作用に関与していると考えられている。我々が分離した *dpb11-1* 変異は、4 つめの BRCT リピートの末端に起こったナンセンス変異であった。この変異では、DNA 複製と細胞周期チェックポイントに欠損を持つため、各 BRCT リピートの機能を知ることはで

きない。そこで、PCRを用いてランダムにDpb11内に変異を導入し、その性質を調べている。その結果、温度感受性変異を10個、薬剤感受性変異を3個分離した。温度感受性変異はHU(ハイドロキシウレア)、MMSに対してはすべて感受性を示したが、UVに関しては感受性を示すものとそうでないものがあった。薬剤感受性変異はMMSにのみ感受性を示した変異が2つ、HU、MMSの両方に感受性を示す変異が1つ分離された。DPB11と遺伝的に相互作用する因子として分離されたSLD遺伝子との関連を調べたところ、SLD2は多コピーでC末の温度感受性株を強く抑圧するが、N末の温度感受性株ではこの抑圧が見られなかった。これは、Dpb11のC末側のBRCTリピートがSld2との結合に必要であることを意味する。また、SLD3、SLD5により抑圧されるものもあることがわかり、現在解析中である。

(5) 大腸菌イニシエーターDnaA 蛋白の機能：安田成一

大腸菌のDnaA蛋白は、染色体複製開始点(oriC)に結合してその二本鎖DNAを開裂し、それ以後の一連の開始反応の引き金となるが、この蛋白は適正な複製開始頻度の調節のために何らかの機構による制御を受けていると考えられる。事実最近DnaAがDNAポリメラーゼIIIのサブユニットの一つ、 β によって阻害されることが見い出され、それは活性のあるATP型のDnaAを不活性なADP型に変えることによることが明らかにされている。しかしこの阻害は複製開始後同じoriCからすぐに次の開始反応が起こるのを防ぐ機構であろうと考えられ、細胞周期に同調した複製開始にはまた別の調節機構が存在すると想像される。これを明らかにするための方法の一つとして、DnaAと相互作用をする蛋白などの因子があるかどうかを調べることが考えられる。そのような因子の検出には高い比活性でラベルされたDnaA蛋白が必要であるが、DnaAが本来持つATP結合活性は共有結合で結合するのではないのではずれやすく、DnaAのラベルには使えない。そこで安定なラベルをDnaAに導入するためにDnaAのC末端にプロテインカイネーシスの基質のアミノ酸配列を融合させたものを作成した。これを用いて放射性リン酸でラベルしたDnaAを調製し、これと結合する蛋白や他の因子を調べる予定である。また、既知のdnaA変異株からdnaA遺伝子を容易にクローン化し変異DnaA蛋白質を調製するための系を作ったので今まで調製したDnaAの欠失変異蛋白に加えて種々のミスセンス変異蛋白を調製し、DnaA蛋白の機能の詳細を調べる予定である。

研究業績

(1) 原著論文

1. Kamimura, Y., Kawasaki, Y., Ohara, T. and Sugino, A.: DNA helicase III of *Saccharomyces cerevisiae*, encoded by YER176w (*HELI*), highly unwinds covalently closed, circular DNA in the presence of a DNA topoisomerase and yRF-A. *J. Biochem.*, **25**, 236-244, (1999).
2. Masumoto, H., Sugino, A. and Araki, H.: Dpb11 controls the association be-

tween DNA polymerases α and ϵ and the autonomously replicating sequence region of budding yeast. *Mol. Cell. Biol.* in press.

(2) その他

1. 荒木弘之：染色体DNA複製をモニターする分子機構．蛋白質核酸酵素，**44**，1822-1829 (1999)．共立出版．

(3) 発表講演

1. 高山優子，上村陽一郎，荒木弘之：出芽酵母 DNA ポリメラーゼ II (ϵ)，Dpb11 と相互作用する Sld5/Psf1 複合体の染色体DNA複製における機能．第32回酵母遺伝学フォーラム，岡崎，8月．
2. Araki, H., Masumoto, H., Takayama, Y., Sugino, A. and Kamimura, Y.: The Dpb11 protein, together with the Sld proteins, participates in association of DNA polymerases with replication origins in *Saccharomyces cerevisiae*. Cold Spring Harbor Eukaryotic DNA Replication Meeting, Cold Spring Harbor, NY, USA, September.
3. Kamimura, Y., Takayama, Y., Okawa, M., Sugino, A. and Araki, H.: Functional characterization of Slds which genetically interact with Dpb11. Cold Spring Harbor Eukaryotic DNA Replication Meeting, Cold Spring Harbor, NY, USA, September.
4. Masumoto, H., Sugino, A. and Araki, H.: Dpb11 controls association of DNA polymerases with replication origins in budding yeast. Cold Spring Harbor Eukaryotic DNA Replication Meeting, Cold Spring Harbor, NY, USA, September.
5. Araki, H., Masumoto, H., Takayama, Y., Sugino, A. and Kamimura, Y.: The Dpb11 protein, together with the Sld proteins, is required for association of DNA polymerases with replication origins in *Saccharomyces cerevisiae*. 2nd 3R Symposium, Miki, November.
6. Kamimura, Y., Takayama, Y., Okawa, M., Sugino, A. and Araki, H.: Functional characterization of Slds which genetically interact with Dpb11. 2nd 3R Symposium, Miki, November.
7. 荒木弘之，上村陽一郎，増本博司，高山優子，村松佐知子：出芽酵母 Dpb11 の複製モニタリング機能．第22回日本分子生物学会，福岡，12月．
8. 上村陽一郎，荒木弘之：出芽酵母 *SLD3* 遺伝子の機能解析．第22回日本分子生物学会，福岡，12月．
9. 増本博司，飯田哲史，杉野明雄，荒木弘之：出芽酵母 Dpb11 は複製開始領域への DNA ポリメラーゼのローディングを制御している．第22回日本分子生物学会，福

岡, 12月.

10. 高山優子, 上村陽一郎, 荒木弘之: 出芽酵母 DNA ポリメラーゼ ϵ , Dpb11 と相互作用する Sld5/Psf1 複合体の染色体 DNA 複製における機能. 第 22 回日本分子生物学会, 福岡, 12月.
11. 村松佐知子, 荒木弘之: 出芽酵母 *DPB11* の新規変異の分離と解析. 第 22 回日本分子生物学会, 福岡, 12月.
12. 中島玲子, 荒木弘之, 升方久夫: 分裂酵母 Sld3 ホモログの機能解析. 第 22 回日本分子生物学会, 福岡, 12月.
13. Sugino, A., Araki, H., Kamimura, Y., Kawasaki, Y., Hiraga, S., Nakashima, N. and Masumoto, H.: Loading mechanism of chromosomal DNA replication apparatus onto replication origins in *Saccharomyces cerevisiae*. 第 22 回日本分子生物学会, 福岡, 12月.

B-c. 細胞質遺伝客員研究部門

(1) Mre11 蛋白質複合体と蛋白質の多機能性: 富澤純一

本研究は, 当研究所細胞遺伝研究部門との共同研究である. 詳細は細胞遺伝研究部門の報告を参照されたい.

(2) 遺伝子欠損マウスの行動異常の解析: 二木宏明

Fyn 欠失マウスの行動異常に関しては, 一連の研究から, Fyn 欠失マウスでは種々なテストで恐怖反応が亢進していることと, 聴覚性痙攣や種々な痙攣剤による痙攣の感受性の亢進を明らかにしてきた. さらに, Fyn 欠失マウスはエタノールにたいする感受性が高く, このようなエタノール感受性の亢進には NMDA 受容体機能の異常が関与していることなども生化学的実験と生理学的実験で明らかにした.

1998-99 年度は, 恐怖以外の情動, 怒り(攻撃行動)についても調べた. Fyn 欠失マウスでは offensive aggression (侵入者にたいする攻撃)は低下しているが, defensive aggression (拘束ストレスによって誘発されるかみつき反応)は亢進していることを見出した. さらに, Fyn は嗅球にも発現しているので, Fyn 欠失マウスを用いて, 嗅球での長期増強を調べるスライス実験を自治医大生理の川合述史教授と行い, Fyn 欠失マウスでは嗅球での長期増強が阻害されていることを見出した.

マウスでは強い照明下では大きな音に対する驚愕反応が亢進するという現象が知られているが, この現象を利用して, 1999 年度は Fyn 欠失マウスの行動異常を調べた. Fyn 欠失マウスでは強い照明下での驚愕反応の亢進が対照群の野生型マウスよりもより強いことが明らかになった. この結果は, Fyn 欠失マウスが明るいところを嫌う傾向が大であるという以前の我々の知見とも一致する結果であり, Fyn 欠失による恐怖反応の異常の新たな証拠を提供したことになる(発表講演 1).

Fyn 欠失マウスにおける恐怖反応の亢進と関連する薬理学的基盤を調べるため、中枢型のベンゾジアゼピン受容体の結合活性を調べる共同実験を、東京都精神科学総合研究所の吉井光信博士と行った。Fyn 欠失マウスでは、中枢型のベンゾジアゼピン受容体の数が少ないことを示唆する結果が得られた(発表講演1)。

研究業績

(1) その他

1. 二木宏明：遺伝子欠損マウスの学習行動解析の現状とコメント 細胞工学, 18, 272-273 (1999).

(2) 発表講演

1. 二木宏明：記憶と情動 - 遺伝子欠損マウス研究からの挑戦 日本臨床麻酔学会第19回大会特別講演, 東京, 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が二つと、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1

本年度の教官メンバーは、教授；広海 健, 助手；岡部正隆の2名である。その他, リサーチアソシエートの丹羽 尚, 総合研究大学院大学学生：松野元美, 特別共同利用研究員：岩波将輝が研究に参加し, 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・総研大校費に加えて, 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」, 特定領域研究「EDLとSPRYによるEGF・FGFシグナル伝達経路の制御」, 特定領域研究「*cut* 遺伝子の発現制御に関わる転写因子の同定と感覚器特異化の遺伝解析」, 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」, 奨励研究「神経前駆細胞の運命決定におけるシグナル伝達系間の相互作用の役割に関する研究」, の支援を受けた。

ショウジョウバエグループ1は胚中枢・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。

(1) ショウジョウバエ ras/MAPK 伝達系の抑制因子による神経誘導の制御：岩波将輝，岡部正隆，広海 健

誘導は発生過程において細胞運命決定の主要な機構の一つであり，多くの場合，細胞種多様性の生成に用いられている．これに対し，神経系発生過程では，神経細胞やその前駆細胞が，周りの細胞を自分と「同じ」運命へと誘導することがある．この現象は，homeogenetic induction と呼ばれ，ショウジョウバエでは複眼のニューロン分化と胚伸展受容器前駆細胞の運命決定の際に起こる．誘導因子は EGF 様分子 Spitz であり，ras/MAPK シグナル伝達経路を介して ets 型転写因子 PointedP2 を活性化し，神経分化を引き起こす．homeogenetic induction の系で誘導が際限なく起こるのを防ぐためには誘導現象が負に制御されていなければならない．我々は複眼と伸展受容器の系で，3つの誘導抑制システムが同時に働いていることを見いだした．2つは，誘導シグナルに応じて細胞非自立的抑制因子あるいは細胞自立的抑制因子を生産することによって誘導に対する反応を制御する機構である．非自立的抑制因子としては EGF アンタゴニスト Argos が知られていたが，我々は，新規蛋白 Sprouty が細胞自立的に働くことにより誘導に対する反応性を押さえていることを示した(文献1)．さらに，第3の抑制機構として，誘導能そのものが，誘導シグナルによって活性化される PointedP2 によって抑制されており，誘導によって生じた細胞は新たな誘導源にはならないことを見いだした．これら3種の抑制機構はどれも必要ではあるが十分ではない．従って，一定の誘導結果を得るためにはこれら3種の抑制機構の間に相互作用があるはずである．実際，Argos と Sprouty は相乗効果を示すことを見いだした．現在，3種の抑制機構の相互作用について遺伝学的及び細胞学的手法を用いて解析を行っている．

(2) 体節内のボディプラン-感覚器の個性獲得を司る位置情報の解析-：岡部正隆，広海 健
ショウジョウバエ胚の末梢神経系の感覚器には機械刺激受容器と伸展受容器があり，それぞれ各体節の特定の場所に形成される．これまでの分子遺伝学的解析によって，機械刺激受容器前駆細胞は，3つの bHLH 型転写因子をコードする *achaete-scute(AS-C)* 遺伝子群によって，伸展受容器の前駆細胞は別のタイプの bHLH 型転写因子 Atonal によってそれぞれ運命決定されることが知られている．2つの異なる感覚器の前駆細胞の発生が異なる bHLH 型転写因子により運命決定されるために，従来，この感覚器の特異化はこれら bHLH 型転写因子を頂点とする遺伝子カスケードによって達成されていると解釈されてきた．

このモデルに対し，以下のような理由で我々は，感覚器の特異化には体節内の位置情報が重要な働きをしていると考えている．まず，bHLH 型転写因子を異所性発現した場合に生じる感覚器の種類は，bHLH 型転写因子の種類だけでなく，発現させた位置によって異なる．さらに，我々は，感覚器前駆細胞に bHLH 型転写因子 *Asense* を発現させれば，*AS-C* あるいは *atonal* の活性がなくても正しい位置に正しい種類の感覚器が生じることを見い出した．このことから感覚器の特異化は，異なる bHLH 型転写因子により達成さ

れているというよりも、むしろこれら転写因子を発現する体節内の位置によって制御されていると考えられた。感覚器特異化の最も早い指標となるのはhomeobox型転写因子をコードする*cut*遺伝子の発現である。*Cut*は、*AS-C*遺伝子群の下流因子として機械刺激受容器前駆細胞に特異的に発現しており、その機能欠失変異体では、機械刺激受容器が伸展受容器に、また異所性発現では伸展受容器が機械刺激受容器に形質転換する。従って、*cut*遺伝子の発現制御はbHLH型転写因子のみでなく体節内の位置情報に依存することが予想される。現在、*cut*遺伝子がどのような体節内の位置情報に従い発現調節を受けているかを明らかにすることによって、体節内位置情報と感覚器の特異化の関係、つまり体節内ボディープランの実体を解明しようとしている。

(3) 器官形成と位置情報の関係：丹羽 尚，岡部正隆，広海 健

近年、モデル生物を用いて様々な器官の形成機構が明らかにされつつある。しかし「体の特定の位置に特定の器官を形成する」ために必要な分子的基盤、さらに器官特異化の分子機構との関係については未だ解明されていない。そこで我々は、まず*eyeless* (*ey*) 遺伝子による異所性複眼形成をモデルとして、異所性形成に参加する細胞群のもつ位置情報を明らかにし、さらに他の感覚器官形成の分子的基盤との比較によって、器官形成誘導・特異化の分子機構の解明を行っている。

これまで幼虫期のすべての成虫原基を対象として、原基全域あるいは部位特異的に*ey*の強制発現を行った結果、異所性複眼形成が可能であるのは「産卵後78-85時間に、成虫原基における*decapentaplegic* (*dpp*) 遺伝子発現領域で、かつ*wingless* (*wg*) 遺伝子の非発現領域に*ey*が発現した場合」という、時期・部位特異性があることを見出した。そこで、異所性複眼形成における*dpp*発現の要求性を明らかにするため、*ey*と*dpp*または*Dpp*に対するtypeI受容体(*thick vein* 遺伝子)の活性型との共発現細胞群を各成虫原基に無作為に作成したところ、いずれの場合も本来の*dpp*発現領域以外でも複眼形成が可能となることが明らかとなった。一方、*wg*と*ey*の共発現では成虫原基のいかなる場所においても複眼形成はみられなかった。これらのことから*ey*による異所性複眼形成において*dpp*、*wg*が各成虫原基の複眼形成領域を規定する因子であると考えられた。また、複眼形成が可能な産卵後78-85時間の各成虫原基にはすでに*dpp*、*wg*が発現し続けており、さらにこの時期特異性が複眼原基のみでなく脚、触角、翅のすべての成虫原基に共通することから、*dpp*、*wg*以外で、かつすべての成虫原基に共通に影響し得る要因によって時期特異性もたらされていると考えられた。現在、この時期特異性をもたらし要因の解明、および部位特異性をもたらし*dpp*、*wg*が、複眼以外の感覚器官形成においても同様な特異性を担っているかどうかを明らかにするため、単眼や伸展受容器形成における両遺伝子の要求性について比較解析している。

(4) 核内レセプターSeven-upのリガンド結合領域と結合する分子の解析：松野元美，小瀬博之¹，広海 健¹(徳島大学医学部動物実験施設)

シヨウジョウバエSeven-upは核内孤児レセプターのひとつであり、個眼の光受容

ニューロンのうち特定の細胞でのみ発現してその細胞運命の決定に機能する。このことからSeven-upはリガンド非依存的に機能することが示唆される。一方、seven-up発現細胞以外の細胞でSeven-upのリガンド結合領域のみを異所的に強制発現させると、それらの細胞は細胞種によって異なる細胞運命へと転換した。このことから我々はSeven-upのリガンド結合領域は他の蛋白質の活性に関わっており、強制発現症状はSeven-upリガンド結合領域がこの蛋白質を吸着、阻害することで生じたと考え、リガンド結合領域と結合する蛋白質の探索を行った。酵母2ハイブリッド法によるスクリーニングの結果、TFIIHサブユニットのひとつとPolyhomeotic類似の蛋白相互作用ドメインを持つ蛋白を同定した。現在、これらの遺伝子の機能欠失系統及び機能亢進系統を作成し、seven-upとの遺伝学的相互作用について解析すると共に、両者の結合を生化学的手法を用いて確認している。

2. ショウジョウバエグループ2

当グループでは、ショウジョウバエをモデル実験系として、神経細胞とグリア細胞の分化機構と軸索走行のガイド機構を中心とした神経系形成の分子機構の研究を行なっている。

本年度の教官メンバーは、所長；堀田凱樹，助手；細谷俊彦の2名である。その他科学技術振興事業団ポスドク；梅園良彦，科学技術振興事業団研究員；平本正輝，滝沢一永，東京大学大学院生(広海 健教授に委託)；笹村 剛が参加した。さらに技術職職員；境 雅子，研究補佐員；浅賀千枝子が研究を支援した。

本年度の研究は、国立遺伝学研究所校費，科学技術振興事業団戦略的基礎研究「脳を知る」，科学技術振興事業団さきがけ研究21「遺伝と変化」，科学研究費補助金奨励A，特定研究の支援を受けた。

(1) 神経細胞とグリア細胞の分化機構：梅園良彦，笹村 剛，堀田凱樹

ショウジョウバエの神経系は、細胞系譜が遺伝的にほぼ決まっっていてよく記述されており、神経系の細胞分化機構解析のモデル系として優れている。当研究室で同定されたショウジョウバエのglial cells missing(gcm)遺伝子は、神経細胞とグリア細胞という神経系の細胞の基本的な2種類の細胞種の分化決定に関与する。gcmは中枢神経系の大部分のグリア前駆細胞と末梢神経系の一部のグリア前駆細胞で発現する。gcm遺伝子が欠失するとグリア前駆細胞のグリア分化に異常が生じ神経細胞様の形質を見えるようになり、逆に強制的なgcm発現の下では神経細胞の前駆細胞がグリア細胞様に分化する。従ってgcmは神経細胞への分化を抑えグリア細胞への分化を促進することにより、神経細胞とグリア細胞との間の分化決定において主要な役割を担っていると考えられる。

神経細胞・グリア細胞の分化決定機構をさらに調べるために、gcmの発現調節機構を解析した。末梢神経系のdorsal bipolar dendritic(dbd)の細胞系譜では1個の前駆細胞が分裂して1個の神経細胞と1個のグリアを生じることが知られている。この系譜における細胞運命の決定は、gcm遺伝子に依存しており、gcm遺伝子はグリア前駆細胞

で一過的に発現し、グリア運命決定を行ない、gcmを発現しなかった細胞は神経細胞となる。gcm遺伝子の発現は転写レベルで調節されており、Notchシグナルによって正に制御されていることが明らかとなった。また、この系譜におけるニューロン・グリアの細胞運命は、神経前駆細胞ではNumbがNotchに対して阻害的に働くことによって、非対称的なNotchシグナルの活性化がおこることによって決定されていることが明らかとなった。(梅園良彦, 堀田凱樹)。

細胞分化に関与する新たな遺伝子の同定を目的として、軸索の染色されるtau-lacZを用いたエンハンサートラップシステムのスクリーニングを行った。約3000系統を作製し、そのなかから軸索の異常が観察される系統を選び、solo(snapped outer longitudinals)と命名した。soloタンパクはBTB/POZドメインおよびzinc fingerを持ち、ショウジョウバエtramtrackともっとも相同性が高く、転写因子として機能することが強く示唆された。soloはほとんどすべての神経細胞で発現が観察されるが、グリア細胞に発現していないことがわかった。soloの突然変異体の胚では、CNSの外側の縦の軸索束が正常に形成されず、軸索正常に異常があることがわかった。また、PNSにおいては、dbd neuronの軸索走行に異常がみられた。以上のことからsoloは神経細胞が正常に分化し軸索が形成されるために必須であることが明らかになった(笹村 剛, 堀田凱樹)。

(2) 軸索走行の制御機構：滝沢一永, 平本正輝, 堀田凱樹

軸索走行の制御機構の解析を行った。ショウジョウバエ胚の腹部神経節では、グリア細胞は幹細胞から分裂し移動して最終的に軸索束上に位置し、軸索束を覆う。グリア細胞は神経細胞が軸索を伸長する時期に移動し、軸索と接していることからグリア細胞と神経軸索とのクロストークが、神経回路形成に重要であることが考えられる。我々は、グリア細胞の分化と軸索走行の関係を探るため、グリア細胞の分化に異常を持つgcm突然変異体を用いて、はじめにグリア細胞の形態を観察した。これらの突然変異体では、幹細胞の分裂は正常だが、その後の移動や、軸索束を覆う過程が異常であることがわかった。そこでつぎに、グリア細胞と軸索伸長との関係を調べた。その結果、グリア細胞の分化に異常を持つ突然変異体では軸索とグリア細胞との会合が異常となり、軸索走行に異常が生じることが明らかとなった。また、逆に神経軸索の走行に異常を持つ突然変異体では、グリア細胞の移動に異常を持つことも明らかとなった。これらのことから、グリア細胞と神経軸索は相互依存的に神経系を形成することが推論される(滝沢一永, 堀田凱樹)。

軸索ガイダンス分子ネトリンおよびその受容体フラッツルドの作用機構を解析した。これまでの培養系における実験結果から、ネトリン受容体であるDCC/Frazzledファミリーはネトリンシグナルを受容する受容体と考えられていた。我々は培養系の実験結果を元にして立てられたモデルが生体内における機能メカニズムに当てはまるかという事に疑問を持ち、ショウジョウバエ胚を用いて解析を行った。その結果、ショウジョウバエ胚においてFrazzledはネトリンを捕捉すること・Frazzledには軸索の特定の領域に

局在する性質があり、ネトリンを特定のパターンで再配列させる機能を持つこと・腹部神経節の前後方向のパイオニアニューロン dMP2 はこの再配列されたネトリンを位置情報として用いることを発見した。またこれらの結果は、受容体が分泌性リガンドを再配置させ、別の受容体に対する位置情報を形成するという新たなパターンングメカニズムが存在する事を示している。(平本正輝, 堀田凱樹)。

(3) gcm 型転写調節因子: 細谷俊彦, 堀田凱樹

gcm はアミノ末端に gcm モチーフという新規の DNA 結合部位を持つ転写調節因子である。様々な動物でこれまでに gcm モチーフを持つ分子が単離されている。ショウジョウバエには gcm 以外にもう一つ gcm モチーフを持つ gcm2 が存在する。gcm2 は一部のグリア細胞で gcm 依存的に発現する他、末梢神経系でも発現し、これらの細胞の分化に関与している可能性が考えられる。gcm は中胚葉の血球系細胞で一過的に発現し血球の分化に必要であることがわかっているが、gcm2 もこの領域で一過的に発現する。gcm と gcm2 の両方を欠失する系統では gcm 単独の欠失に比べて血球の異常が重くなる傾向がみられ、これら2つの遺伝子の両方が血球の分化に関与している可能性があることがわかった。哺乳類の gcm も高い臓器特異性をもって発現しており、これらの器官において遺伝子発現調節に関与している可能性が高い。変異体の作成がほぼ完了し、解析を行う予定である。

3. ヒドラグループ

(1) ヒドラのペプチド性シグナル分子の組織的同定: 藤澤敏孝, 服田昌之, 清水 裕, 廉勝植, 服藤尚恵, 小泉 修¹, 小早川義尚², 森下文浩³, 松島 治³ (福岡女子大学人間環境学部, ²九州大学理学部, ³広島大学理学部)

我々はヒドラからペプチド性のシグナル分子を組織的に分離し、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。本年度は新たに60のペプチドを単離し、40種についてアミノ酸配列を決定した。これまで同定したペプチドのうち以下の2ペプチドグループについて詳細な解析をおこなった。

1) ヒドラの神経分化を正に制御する新規の神経ペプチド Hym-355 (高橋俊雄, 廉勝植, 服田昌之, 小泉 修, 藤澤敏孝)

ヒドラからペプチド性のシグナル分子を組織的に分離・同定する過程で、神経分化を制御する新規のペプチド Hym-355 (FPQSFLPRG-NH₂) を見いだしたことは既に報告した。Hym-355 をコードする遺伝子を単離し、その発現パターンを調べたところ、主として頭部と足部の神経の部分集団で発現していた。この発現パターンは抗 Hym-355 抗体による組織染色のパターンとほぼ一致しており、これにより Hym-355 は神経ペプチドであることが確定した。既報の様に神経分化を負に制御する PW ペプチドと正に制御する Hym-355 の濃度比が神経集団を一定に保つ機構であると考えている。しかし、本年度 PW ペプチドが上皮由来のペプチドであることが分かったので、神経分化を制御するには上皮細胞が神経細胞数を認識する、言い換えれば、上皮細胞が PW ペプチドを放出するのを調

節する機構が更に必要であることが示唆された。

2) 足部神経特異的ペプチドHym-176を発現する神経部分集団の分布パターン形成機構(藤勝植, 藤澤敏孝)

Hym-176を発現する神経は足部下半域に局在し, 最先端の足盤部にはない。どのようにしてこのような分布パターンが出来るのかを解析した。その結果, 以下のことが分かった。(1) 足部下半域にHym-176+神経の分化を誘導する位置情報が存在する。(2) Hym-176+神経は既存の異なった神経型からの分化転換ではなく, 神経前駆体細胞からの新たな分化で生じる。(3) Hym-176+神経が存在すると近傍には同種神経を作らせない抑制機構がある。従って新たな分化はHym-176+神経集団の直上部で起こり, 上皮層の移動とともに下部へ運ばれる。(4) 神経前駆体細胞はHym-176+神経の存在には影響を受けず, 足部のどの位置にも移動できる。

3) ヒドラの*NANOS*ホモログの発現解析(望月一史, 藤澤千笑, 藤澤敏孝)

ヒドラ成体中には, 多能性間幹細胞が存在し, 数種の体細胞と生殖幹細胞を産生する。生殖幹細胞はさらに雄では精子へ雌では卵へと分化する。われわれは生殖細胞の分化を解析する上で生殖細胞特異的な分子マーカーが必須であると考え, その分離を行った。そのひとつがショウジョウバエの生殖細胞形成に必須な*NANOS*のホモログである。ヒドラには2種の*NANOS*関連遺伝子が存在しそれぞれ*CnNOS1*と*CnNOS2*(以前*hynos*としたがCnidarian *NANOS*=*CnNOS*に変更)と呼ぶ。両者ともダブルzinc fingerモチーフの構造部分のみ他の*NANOS*関連遺伝子と高い保存性が見られた。*CnNOS1*は多能性幹細胞で弱く, 生殖細胞で強く発現し, それ以外の細胞での発現は認められない。従って,*CnNOS1*はこれらの細胞の特異的マーカーとして有効である。更に,*CnNOS1*は構造だけでなく, ショウジョウバエの生殖幹細胞の維持が出来ない突然変異体のレスキューが出来ることから(佐野, 小林, 私信), 機能的にも保存性が高いと考えられる。一方,*CnNOS2*は生殖細胞で発現してはいるが, 発現の程度が非常に弱く生殖細胞のマーカーとしては現時点では不適である。ところが,*CnNOS2*は頭部内胚葉上皮で非常に特異的に発現し, しかも頭部形成に関わるということが示唆された。*NANOS*関連遺伝子が形態形成に関わるのはショウジョウバエの*NANOS*以外では初めてのケースであり, その進化的な意義は興味深い。

4) ヒドラ給餌応答, 加傷応答: ヒドラは散在神経系のモデル動物か?(清水)

ヒドラは網目状の神経系をもっており, 散在神経系のモデル動物とみなされている。散在神経系では, 外部刺激の伝達が刺激箇所から全方向へ起こると考えられ, これがこの神経系の機能的な特徴とされている。本研究では, ヒドラ触手の一箇所に給餌刺激, 加傷刺激を加えて, それに対する応答を広範囲に調べた。応答は, いずれの刺激に対しても刺激箇所から基部方向の触手組織でのみ認められ, 顕著な方向性を示した。また, 神経細胞を除いた上皮ヒドラを用いた同様の実験では方向性が認められないことからもっぱら神経細胞がこの応答に関与すると考えられた。一方, 刺激した触手以外の触手

の応答は、刺激箇所からの距離に応じて低下するが、神経環と呼ぶリング状の構造を頭部に持つ系統のヒドラではこの低下が認められなかった。以上の結果は、触手の神経系には刺激応答に方向性を生じるような構造的極性が存在する。その応答伝達が、神経環という集中神経系的な構造によって活性化されるなどの可能性を示している。この結果は、散在神経系から予測される結果とは正反対であり、従来の常識を根本からくつがえすものである。担当者は、ヒドラの神経系が、高等動物で独自に進化したと考えられている中枢神経系の進化的起源と呼べるような特徴的構造をもつ可能性を考えている。

5) 造礁サンゴの進化(服田)

太平洋のサンゴ礁に優占するミドリイシ属サンゴが、一斉産卵によって交雑と遺伝子移入を繰り返していることを、体系的な交配実験と分子系統解析によって示した。これにより、種の分岐と融合を繰り返す網目状進化の仮説を支持し、また、既存の種概念を覆す「種複合体」の存在を示唆した。また、ミトコンドリア遺伝子を指標にした分子系統解析から、ミドリイシ科各属の遺伝的系統関係を明らかにすると共に、地史的気候変動に伴って絶滅と放散を繰り返した歴史を海洋生物では初めて遺伝的な側面から推定した。

研究業績

(1) 原著論文

1. Kramer, S., Okabe, M., Hacohen, N., Krasnow, M.A. and Hiromi, Y.: Sprouty: a common antagonist of FGF and EGF signaling pathways in *Drosophila*. *Development* **126**, 2515-2525 (1999).
2. Hirota, Y., Okabe, M., Imai, T., Kurusu, K., Yamamoto, A., Miyao, S., Nakamura, M., Sawamoto, K. and Okano, H.: Musashi and Seven in absentia downregulate Tramtrack through distinct mechanisms in *Drosophila* eye development. *Mech. Dev.* **87**, 93-101 (1999).
3. Fujimoto, J., Sawamoto, K., Okabe, M., Takagi, Y., Tezuka, T., Yoshikawa, S., Ryo, H., Okano, H. and Yamamoto, T.: Cloning and characterization of Dfak56, a homolog of focal adhesion kinase, in *Drosophila melanogaster*. *J. Biol. Chem.* **274**, 29196-29201 (1999).
4. Higashijima, S., Hotta, Y. and Okamoto, H.: Visualization of cranial motor neurons in live transgenic zebrafish expressing green fluorescent protein under the control of the *Islet-1* promoter/enhancer. *J. Neuroscience* **20**, 206-218 (1999).
5. Asymmetric cell division of thoracic neuroblast 6-4 to bifurcate glial and neuronal lineage in *Drosophila*. Akiyama-Oda Y, Hosoya T, Hotta. *Development* 1999 May; **126**(9): 1967-74.
6. 笹村剛司：ショウジョウバエ神経系の形成にかかわる遺伝子 solo の同定と機能解

析, 東京大学理学系研究科生物化学専攻博士論文(1999年12月)

7. Kobayashi, M., Takezawa, S., Hara, K., Yu, R.T., Umesono, Y., Agata, K., Taniwaki, M., Yasuda, K. and Umesono, K.: Identification of a photoreceptor cell-specific nuclear receptor. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* **96**, 4814-9 (1999).
8. Takahashi, T., Koizumi, O., Ariura, Y., Romanovitch, A., Bosch, T., Kobayakawa, Y., Mohri, S., Bode, H., Yum, S., Hatta, M. and Fujisawa, T.: A novel neuropeptide, Hym-355, positively regulates neuron differentiation in Hydra. *Development* (in press), 2000.
9. Fukami, H., Omori, M. and Hatta, M.: Phylogenetic relationships within the coral family Acroporidae inferred from mitochondrial genes. *Zool. Sci.* (in press), 2000.
10. Hatta, M., Sakaguchi, M., Kobayakawa, Y., Kishimoto, Y. and Koizumi, O.: Identification of a homolog of actin-binding protein, ABP-280, localized at epithelial cell-cell boundaries in hydra. *Zool. Sci.* **16**: 439-443, 1999.
11. Hatta, M., Fukami, H., Wang, W., Omori, M., Shimoike, K., Hayashibara, T., Ina, Y. and Sugiyama, T.: Reproductive and genetic evidence for a reticulate evolutionary history of mass-spawning corals. *Mol. Biol. Evol.* **16**: 1607-1613, 1999.
12. Kumpfmüller, G., Rybakine, V., Takahashi, T., Fujisawa, T. and Bosch, T.: Identification of an astacin matrix metalloprotease as target gene for Hydra foot activator peptides. *Dev. Genes. Evol.* **209**: 601-607, 1999.

(2) その他

1. 藤澤敏孝: 研究室の小さな生きものたち「なにがオモシロイってヒドラはオモシロイ!」, *実験医学*, **17**: 1681, 羊土社 (1999).
2. 高橋俊雄, 藤澤敏孝: ヒドラの神経ペプチド, *遺伝* **53**(7): 65-70, 裳華房 (1999).
3. 服田昌之: 進化の瞬間, *アエラムック「生物学がわかる」*, 46-49頁. 朝日新聞社, 東京 (1999).

(3) 発表講演

1. Okabe, M., Yamada, T. and Hiromi, Y.: The inhibition of Ras signaling pathway by *edl* is required for the neural inducing ability of founder cells. 40th Annual Drosophila Research Conference, Seattle, 3月.
2. Yuasa, Y., Okabe, M., Yoshikawa, S., Sawamoto, K., Xiong, W.C., Hiromi, Y. and Okano, H.: Molecular dissection of the homeodomain protein REPO. 40th Annual Drosophila Research Conference, Seattle, 3月.
3. Jindra, M., Okabe, M., Hiromi, Y. and Hirose, S.: Mutant analysis of a tran-

- scriptional coactivator MBF1. 40th Annual Drosophila Research Conference, Seattle, 3月.
4. Kose, H., West, S., Suzuki, E. and Hiromi, Y.: Molecular dissection of conserved orphan receptor, Seven-up, in compound eye formation. 40th Annual Drosophila Research Conference, Seattle, 3月.
 5. 岡部正隆, 今井貴雄, 来栖光彦, 岡野栄之: 細胞の運命決定における転写後調節の役割-RNA 結合タンパク Musashi の機能解析-. 日本発牛生物学会第32回大会, 神戸, 5月.
 6. 廣田ゆき, 岡部正隆, 中村 真, 今井貴雄, 澤本和延, 岡野栄之: ショウジョウバエ光受容細胞の分化に必要なTTKの発現制御において, Msi と Sina は重複した機能を果たしている. 日本発牛生物学会第32回大会, 神戸, 5月.
 7. 丹羽 尚, 岡部正隆, 広海 健: 成虫原基における異所性感覚器官形成と位置情報の関係. 日本発牛生物学会第32回大会, 神戸, 5月.
 8. 湯浅喜博, 岡部正隆, 吉川真悟, 広海 健, 岡野栄之: ショウジョウバエ repo 遺伝子を介するグリア細胞の分化機構. 日本発牛生物学会第32回大会, 神戸, 5月.
 9. 山田琢磨, 岡部正隆, 広海 健: 細胞の誘導能獲得に関与するショウジョウバエ遺伝子 trv. 日本発牛生物学会第32回大会, 神戸, 5月.
 10. 山田琢磨, 岡部正隆, 広海 健: 新規 Ets 蛋白 EDL による homeogenetic induction の制御. 第4回日本ショウジョウバエ研究集会, 名古屋, 8月.
 11. 丹羽 尚, 岡部正隆, 広海 健: ショウジョウバエ成虫原基における異所性感覚器官形成と位置情報の関係. 第4回日本ショウジョウバエ研究会, 名古屋, 8月.
 12. 廣田ゆき, 岡部正隆, 来栖光彦, 澤本和延, 岡野栄之: 光受容細胞の分化における MSI および SINA の機能. 第4回日本ショウジョウバエ研究会, 名古屋, 8月.
 13. 山田琢磨, 岡部正隆, 三田和英, 広海 健: 細胞の神経誘導能獲得に関与するショウジョウバエの遺伝子 ed1. 第4回日本ショウジョウバエ研究会, 名古屋, 8月.
 14. 岩波将輝, 広海 健: 複眼光受容細胞のニューロン分化におけるネガティブレギュレーター的作用. 第4回日本ショウジョウバエ研究会, 名古屋, 8月.
 15. Hirota, Y., Okabe, M., Imai, T., Kurusu, M., Sawamoto, K. and Okano, H.: MSI and SINA downregulate TTK in the differentiation of photoreceptor cells. 16th European Drosophila Research Conference, Zurich, 9月.
 16. Yamada, T., Okabe, M. and Hiromi, Y.: Regulation of homeogenetic induction by a novel ets-related factor EDL. 8th Meeting on Neurobiology of Drosophila, Cold Spring Harbor, 9月.
 17. 丹羽 尚, 岡部正隆, 広海 健: ショウジョウバエにおける複眼形成の分子的基盤. 第72回日本生化学会大会, 横浜, 10月.
 18. 丹羽 尚, 岡部正隆, 広海 健: ショウジョウバエ成虫原基における異所性感覚器

- 官形成と位置情報の関係. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
19. 松野元美, 小瀬博之, Steve West, 広海 健: 核内レセプターによる転写抑制機能の新しいモデル-オーファンレセプターSeven-upの機能解析-. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
 20. 岩波将輝, 広海 健: ショウジョウバエRas/MAPK伝達系路においてネガティブレギュレーターが神経分化に果たす役割. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
 21. Hotta, Y.: Monitoring Cell Fate Decision at a Stem Cell Division: Glia vs. Neuronal Pathway in *Drosophila*, The 8th International Conference "Peace through Mind/Brain Science & Photonics in the Imaging of Gene Expression", Hamamatsu, February 2 - February 4, 1999.
 22. 堀田凱樹: 神経の発生と分化 - ショウジョウバエをモデルとして -, 第25回日本医学会総会レクチャー 1-L-1, 東京, 4月.
 23. 堀田凱樹: 細胞運命と不等分裂 - ショウジョウバエのグリア運命決定遺伝子 *gcm* -, 東京大学大学院医学研究科免疫学講座セミナー, 東京, 5月.
 24. 梅園和彦, 細谷俊彦, 堀田凱樹: ショウジョウバエ末梢神経系における Notch シグナルを介した *gcm* 遺伝子の発現調節. 日本発生生物学会第32回大会, 神戸, 5月.
 25. 平本正輝, 堀田凱樹: フラッツルド依存的なネトリンの局在変化による軸索ガイダンス機構. 日本発生生物学会第32回大会, 神戸, 5月.
 26. 堀田凱樹: 神経幹細胞からのグリア・ニューロン分化の分子機構 - ショウジョウバエ *gcm* 遺伝子 -, 大阪大学蛋白質研究所セミナー「脳神経細胞工学的研究の新展開」, 大阪, 6月.
 27. 堀田凱樹: ショウジョウバエ glial cells missing 遺伝子の発現とグリア細胞の運命決定, 東北大学医学部加齢医学研究所シンポジウム「幹細胞と形態形成」, 仙台, 6月.
 28. 堀田凱樹: 遺伝子を顕微鏡として使う, 国立遺伝学研究所創立50周年記念市民講演会「遺伝学の50年と未来」, 三島, 7月.
 29. 梅園和彦, 細谷俊彦, 堀田凱樹: ショウジョウバエ末梢神経系における Notch シグナルを介した *gcm* 遺伝子の発現調節. 日本ショウジョウバエ研究会第4回研究会集會, 名古屋, 8月.
 30. 平本正輝, 堀田凱樹: ネトリン受容体フラッツルドはネトリンの局在パターンを決定し, 細胞非自律的に軸索ガイダンスを行う. 日本ショウジョウバエ研究会第4回集會, 名古屋, 8月.
 31. 堀田凱樹: ショウジョウバエ神経幹細胞の分化と遺伝子, 第42回日本神経化学会シンポジウム4「神経分化と発達のメカニズム」基調講演, 広島, 9月.
 32. Takizawa, K. and Hotta, Y.: Glial differentiation proceeds in multipule pathways, 16th European *Drosophila* Research Conference, Universitaet Zurich,

September 29 - October 2, 1999.

33. Umesono, Y., Hosoya, T. and Hotta, Y.: Notch is a positive regulator of the glial cells missing gene in *Drosophila* PNS. Cold Spring Harbor Laboratory Meeting on Neurobiology of *Drosophila*, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York, October 6 - October 10, 1999.
34. 堀田凱樹：脳をつくる遺伝子，しずおか県民カレッジ講座「遺伝子からのメッセージ」第7回講演，三島，11月．
35. 細谷俊彦，東千絵子，小田(秋山)康子，堀田凱樹：gcm ファミリーのグリア・マクロファージ分化への関与． JST 戦略基礎研究「脳を知る」シンポジウム，名古屋，12月．
36. 梅園和彦，細谷俊彦，堀田凱樹：ショウジョウバエ末梢神経系における Notch シグナルを介した gcm 遺伝子の発現調節． JST 戦略基礎研究「脳を知る」シンポジウム，名古屋，12月．
37. 滝沢一永，堀田凱樹：グリア細胞の分化と軸索走行の関係． 第22回日本分子生物学会，福岡，12月．
38. Fukami, H., Shimoike, K., Hayashibara, T., Omori, M. and Hatta, M.: Reticulate evolution of mass spawning corals. The International Symposium "Plant Population Biology and Evolution: New Perspectives toward a New Century", Kyoto, April.
39. 高橋俊雄，清水 裕，服田昌之，Kumpfmüller, G., Rybakine, V., Bosch, T., 藤澤敏孝：ヒドラ足部活性化ペプチド，Hym-346，の遺伝子とその標的遺伝子の解析． 第32回日本発生物学会，神戸，5月．
40. 服田昌之，高橋俊雄，廉勝植，藤澤敏孝：Hym-330 はヒドラの出芽を促進させる内胚葉上皮由来のペプチドである． 第32回日本発生物学会，神戸，5月．
41. 廉勝植，美濃部純子，小泉 修，高橋俊雄，藤澤敏孝：神経ペプチド，Hym-176 或いは Hym-355 を発現するニューロンのヒドラ足部における分化様式． 第32回日本発生物学会，神戸，5月．
42. 望月一史，藤澤千笑，藤澤敏孝：腔腸動物の nanos ホモログのクローニング． 第32回日本発生物学会，神戸，5月．
43. Hobmayer, B., Kuhn, K., Snyder, P., Hatta, M. and Holstein, T.: Hydra cadherin and p120/d-catenin are expressed in the ectodermal cell layer and upregulated during tentacle morphogenesis. 8th International Workshop on Hydroid Development, Tutzing, Germany, September.
44. Mochizuki, K., Nishimiya-Fujisawa, C. and Fujisawa, T.: Cnns1, a Cnidarian nanos homologue, is a marker for multipotent stem cells and germ cells in Hydra. 8th International Workshop on Hydroid Development, Tutzing, Germany, September.

45. Fujisawa, T.: The Hydra peptide Project: An overview. 8th International Workshop on Hydroid Development, Tutzing, Germany, September.
46. Harafuji, N., Takahashi, T., Hatta, M. and Fujisawa, T.: A novel peptide, Hym-323 enhances foot formation in Hydra. 8th International Workshop on Hydroid Development, Tutzing, Germany, September.
47. Hatta, M., Yum, S., Takahashi, T., Kobayakawa, Y., Koizumi, O. and Fujisawa, T.: Hym-301, a C-terminally amidated peptide is localized in ectodermal epithelial cells in the head of Hydra. 8th International Workshop on Hydroid Development, Tutzing, Germany, September.
48. Yum, S., Takahashi, T., Hatta, M., Minobe, S., Koizumi, O. and Fujisawa, T.: Differentiation patterning of subsets of neurons which express a neuropeptide Hym-176 or Hym-355 in the foot region of Hydra. 8th International Workshop on Hydroid Development, Tutzing, Germany, September.
49. Takahashi, T., Koizumi, O., Ariura, Y., Romanovitch, A., Bosch, T., Kobayakawa, Y., Mohri S., Bode H., Yum S., Hatta M and Fujisawa T.: A novel neuropeptide, Hym-355, positively regulates neuron differentiation in Hydra. 8th International Workshop on Hydroid Development, Tutzing, Germany, September.
50. Mochizuki, K., Nishimiya-Fujisawa, C. and Fujisawa, T.: vasa homologue in Hydra. 8th International Workshop on Hydroid Development, Tutzing, Germany, September.
51. Shimizu, H. and Fujisawa, T.: Peristalsis occurs in nerve free hydra. 8th International Workshop on Hydroid Development, Tutzing, Germany, September.
52. Yum, S., Takahashi, T., Hatta, M., Morishita, F., Matsushima, O., Koizumi, O. and Fujisawa, T.: Hym-367, a novel neuropeptide that blocks Hym-176 action in muscle contraction. 8th International Workshop on Hydroid Development, Tutzing, Germany, September.
53. Nitagai, Y., Morishita, F., Koizumi, O., Hatta, M., Matsushima, O. and Fujisawa, T.: Is Hym-355 an entity for vasopressin-like immunoreactivity in hydra? 8th International Workshop on Hydroid Development, Tutzing, Germany, September.
54. Hatta, M., Takahashi, T., Yum, S., Hoffmeister, S. and Fujisawa, T.: Hym330 enhances bud formation in Hydra. 8th International Workshop on Hydroid Development, Tutzing, Germany, September.
55. Shimizu, H.: Evidence that hydra's nervous system is more advanced than a diffuse system. 8th International Workshop on Hydroid Development, Tutzing, Germany, September.
56. 服田昌之, 岩尾研二, 藤澤敏孝: 神経ペプチドによるミドリイシサンゴ幼生の変態

制御, 第70回日本動物学会, 山形, 9月.

57. 深見裕伸, 服田昌之, 下池和幸, 林原 毅, 大森 信:一斉産卵からの産卵タイミングのずれによるミドリイシの進化, 第70回日本動物学会, 山形, 9月.
58. 深見裕伸, 服田昌之, 下池和幸, 林原 毅, 大森 信:ミトコンドリア遺伝子から推定されたミドリイシ科サンゴの系統関係, 第2回日本サンゴ礁学会, 那覇, 10月.
59. Fujisawa, T., Takahashi, T., Yum, S., Hatta, M., Shimizu, H. and Koizumi, O.: Systematic identification of neuropeptides in *Hydra*. Second BRI Symposium "Neuropeptides at the Millenium", Miami, U.S.A., October.
60. Hatta, M. and Fukami, H.: Mass spawning facilitates reticulate evolution in reef-building corals. International Symposium on Alternative Reproduction Strategies, Hayama, Japan, November.

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を用いて発生における遺伝子発現制御に関する研究を行っている. 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, COE外国人研究員・Marek Jindra, 日本学術振興会外国人特別研究員・劉 慶信, COE非常勤研究員・藤田雅丈, 中島尚美, 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・相田紀子, 中山貴博, 阿川泰夫, 萱嶋泰成, 岩手大学大学院生・川崎陽久, 神戸大学大学院生・Elitza Markova, 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, 同大学院生・霜島 司, 可部泰明, 奈良先端科学技術大学院大学助教授(国立遺伝学研究所生理遺伝研究部門客員助教授)・白川昌宏, 同大学院生・尾崎 淳が参加した. 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「初期卵割期の染色体DNA高速複製機構に関する研究」(代表者: 広島大学理学部・赤坂甲治), 「真核細胞におけるクロマチンレベルでの遺伝子発現制御」(代表者: 東京工業大学生命理工学部・半田 宏), 「扁平上皮癌組織特異的転写因子の同定」(代表者: 愛媛大学医学部・濱田雄行), 「遺伝情報発現におけるRNAヘリケースA活性の意義—クロマチン構造変化因子としての可能性の追求」(代表者: 筑波大学応用生物化学系・中島利博)を, 村上は「カイコ卵形成に関与する突然変異遺伝子の形質発現と形態形成」(代表者: 九州大学大学院生物資源環境科学研究科・河口 豊)を, 上田は「カイコ *Bombyx mori* の概日時計, 光周性に関与する遺伝子のクローニング」(代表者: 神戸大学大学院自然科学研究科・竹田真木生)を組織し, 共同研究を行った.

本年度の研究は, 文部省科学研究費基盤研究(B)「GAGA因子に依存したクロマチンリモデリングのメカニズム」(広瀬), 同特別研究員奨励費「ショウジョウバエの転写コアクチ

ベーターMBF2」(広瀬), 同特定領域研究 “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), 同特定領域研究 “多元的情報伝達とその制御における蛋白質間相互作用の役割”(2)「転写コアクチベーターMBF1による転写活性」(上田)の支援を受けた。

広瀬はCold Spring Harbor Meeting “1999 Mechanisms of Eukaryotic Transcription” (9月, アメリカ合衆国, ニューヨーク), Jindraは第40回Drosophila Research Conference(3月, アメリカ合衆国, シアトル)に参加し, 発表した。上田は, 第40回Drosophila Research Conferenceおよび付随して行なわれたEcdysone Workshopに参加し, 発表した。

(1)DNA 超らせん化因子に関する研究: 相田紀子, 広瀬 進

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。分子内に4つのEFハンドドメインをもつCa²⁺結合タンパク質で, 2番目と3番目のEFハンドドメインにグルタミン酸からグルタミンへの変異を導入するとCa²⁺結合能がなくなり, 超らせん活性も失活した。一方, C末端のHDEF配列を欠失するとトポイソメラーゼ II と結合できなくなり, 超らせん活性が消失した。また, Ca²⁺は因子のトポイソメラーゼ II への結合には必要ないが, Ca²⁺が結合するとこの因子はよりコンパクトな形に変換されることが判明した。これらの結果から, 超らせん導入に関して以下のスキームを提唱した。超らせん化因子はC末端のHDEF配列を介してトポイソメラーゼ II に結合する。2番目と3番目のEFハンドドメインにCa²⁺が結合すると, コンパクトな形をとり, トポイソメラーゼ II が抱え込んだDNAを因子分子上に巻きつけることが可能となる。その状態のままトポイソメラーゼ II によるDNA二重鎖の切断, 別のDNA鎖の切断点の通過, DNA二重鎖の再結合が起き, 最後に超らせん化因子-トポイソメラーゼ II 複合体からDNAが開放されると, 負の超らせんが生じる(原著論文1, その他論文1, 発表講演13)。

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ATPaseドメインの後半からB'ヒンジの前半に至る領域をもつtransgenic flyを作製し, GAL4支配化に強制発現したところ, 生体内で超らせん化因子をこの領域にトラップできることが判った。こうしてインタクトなトポイソメラーゼ II に超らせん化因子が結合できない状態を作ることにより, この因子の生体内での役割を追求している(発表講演6)。

(2)クロマチン構造を介した遺伝子発現調節: 霜島 司¹, 中山貴博, 上田 均, 半田 宏¹, 赤坂甲治², 広瀬 進¹(東京工業大学生命理工学部, ²広島大学理学部)

*fushi tarazu(ftz)*や*Ultrabithorax*を初めとしてショウジョウバエのいろいろな遺伝子のプロモーター領域にはGAGA因子の結合配列が存在し, GAGA因子とその結合配列はこれら遺伝子の転写に必須である。我々は*ftz*プロモーター領域を含むプラスミドDNA上にクロマチンを再構成して転写不活性な状態にした後, GAGA因子と初期胚抽出液を作用させてクロマチンをリモデリングし, 転写を活性化することに成功した。この系

ではGAGA因子結合配列の近傍で特異的にリモデリングが起きるが、そのメカニズムは不明であった。そこで、Flagタグ付きGAGA因子を発現するtransgenic flyを作製し、その初期胚の核抽出液からFlag抗体ビーズを用いてGAGA因子と相互作用している2つのタンパク質p93とp130を分離した。p93とp130は複合体を形成し、クロマチンのリモデリングを促進した。これらの結果からGAGA因子がp93-p130複合体を介してクロマチンリモデリング因子をGAGA結合配列にリクルートするというモデルを提唱した(その他論文2, 発表講演11, 12, 14)。

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領域をショウジョウバエ*even skipped*遺伝子のストライプ2エンハンサーとストライプ3エンハンサーの間に挿入したトランスジェニックフライを作製し、エンハンサーの働きを解析した。その結果、このDNA領域はショウジョウバエでもインスレーターとして働くことを明らかにした。興味深いことに、このインスレーターはウニでもショウジョウバエでも順方向では働かず、逆方向に挿入したときのみ有効であった。この結果は、このインスレーターがアリルスルファターゼ遺伝子のイントロン内にある強力なエンハンサーの作用が上流にある遺伝子に及ばないように遮断していることを反映しているのかもしれない(原著論文4)。

(3) 転写コアクチベーターMBFに関する研究: Marek Jindra, 藤田雅文, 中島尚美, 劉慶信, 上田 均, 可部泰明¹, 半田 宏¹, 尾崎 淳², 白川昌宏², 岡部正隆³, 広海 健³, 広瀬 進¹(東京工業大学生命理工学部, ²奈良先端科学技術大学院大学, ³国立遺伝学研究所発生遺伝研究部門)

*in vitro*転写系を用いた解析から、ショウジョウバエの転写制御因子FTZ-F1による転写活性化には2つのコアクチベーターMBF1とMBF2が必要であることを見出した。MBF1は転写制御因子とTBPの間を架け橋するタンパク質で、酵母からヒトまで広く真核生物に保存されている。(その他論文3, 発表講演4)。出芽酵母のMBF1はbZIP型転写制御因子GCN4による転写活性化を仲介する。ヒトMBF1にはC末端領域のみ異なる2つのアイソフォーム(α と β)が存在するが、アイソフォーム間の役割分担は不明である。ヒトMBF1は脊椎動物におけるFTZ-F1のホモログであるAd4BP/SF1や、bZIP型転写因子ATF1による転写活性化を仲介する(原著論文2)。NMRを用いた解析により、カイコとヒトのMBF1のN末端側半分は溶液中で定まった分子形態をとっていないが、C末端側半分は4個の両親媒性 α ヘリックスから成る非常にコンパクトな形をとっていることが判明した(原著論文3, 5)。ショウジョウバエ*mbf1*遺伝子の転写開始点のすぐ上流にPエレメントが挿入した系統を分離した。この系統からPエレメントを再びジャンプさせることにより、*mbf1*遺伝子のコード領域を欠くnull変異株を得た。*mbf1*変異株はホモでも生育可能だが、ホモの♀が産んだタマゴの約半分は胚致死となった。しかし、死んだ胚は*ftz*変異株と同じ表現型を示さず、MBF1と相互作用するFTZ-F1以外の転写制御因子の存在が示唆された(発表講演1)。そこでFlagタグ付きMBF1を発現する

transgenic fly を作製し、その初期胚の核抽出液から MBF1 と相互作用している bZIP タンパク質 TDF (trachea defective) を得た。さらに、*mbf1* 変異株の胚では、低い頻度ながら trachea の形成に異常が観察された。これらの結果は、MBF1 が TDF による転写活性化を仲介している可能性を示している (発表講演 5, 16)。

(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 (阿川泰夫, 増田伴子, 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、後期胚、幼虫脱皮と蛹化の直前に一過的に発現することが重要な転写因子である。FTZ-F1 遺伝子の時期特異的な発現制御機構を明らかにするため、FTZ-F1 遺伝子の転写制御にかかわる制御領域の解析および制御領域に作用する転写因子の同定を進めており、本年は、高エクジソン時に発現を抑制する領域の同定を試みた。以前の解析により、上流エンハンサー様領域 (-2.4kb から -1.5kb) に熱ショック遺伝子プロモーターを結合した場合、高エクジソン時からのレポーター遺伝子の発現がみられ、高エクジソン時に発現を抑制する領域は、転写開始点を含む -1.5kb までの領域であると考えられた。そこで、この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、ベーサルプロモーター領域が FTZ-F1 遺伝子由来のものであると、高エクジソン時からのレポーター遺伝子の発現が抑制されるが、この領域を熱ショック遺伝子プロモーターに替えると、高エクジソン時からのレポーター遺伝子の発現がみられた。この結果から、ベーサルプロモーター領域が高エクジソン時に発現を抑制する役割を担っていると考えられた。(発表講演 3, 15)

(5) FTZ-F1 の標的遺伝子 *EDG84A* の発現制御機構の解析 (萱嶋泰成, 広瀬進, 上田均)

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、前蛹期中期から後期にかけて成虫原基由来の細胞で特異的に発現する。この遺伝子の時期特異的発現は約 -100bp (転写開始点を +1 として) に結合する FTZ-F1 によって制御されるが、組織特異的発現を制御する機構は、明らかではない。そこで、*EDG84A* 遺伝子の転写開始点付近の様々な領域を *lacZ* 遺伝子に結合させた融合遺伝子を作成し、その発現パターンを解析した。その結果、-103bp より下流の領域に -175bp から -145bp の領域を結合させると本来の発現パターン (成虫原基由来の細胞での発現) を再現できることが判明し、-175bp から -145bp の間に成虫原基由来の細胞での発現を決める因子が作用することが示唆された。次に、前蛹期後期の核抽出液を作成し、-175bp から -145bp の領域をプローブとしてゲルシフト法を行なったところ、この領域に塩基特異的に結合する因子を同定することができ、組織特異的発現にかかわる因子である可能性があると考えられた。(発表講演 10)

(6) FTZ-F1 による *ftz* 遺伝子発現制御の解析 (川崎陽久, 広瀬進, 上田均)

転写因子 FTZ-F1 は、本来 *ftz* 遺伝子の発現制御にかかわる因子として同定したが、*ftz-fl* 変異株で *ftz* が正常に発現するという報告がなされた。しかし、この報告のひ

とは、*ftz-fl*の hypomorph 変異株を用いており、この結果について再検討をおこなった。FTZ-F1のDNA結合領域を少なくとも欠く *ftz-fl* 変異株での *ftz* の発現を調べたところ、発現レベルが極端に低下しており、FTZ-F1は、*ftz* の高いレベルでの発現に必要であることが判明した。次に、FTZ-F1が *ftz* の制御領域のどの部分に作用しているか調べるため *ftz* 制御領域に *lacZ* レポーター遺伝子を結合した融合遺伝子の発現パターンを観察した。まず、*ftz* 非依存的に7本のストライプ状の発現にかかわる zebra element (転写開始点付近を含む約0.7kbの領域)を結合した *lacZ* 融合遺伝子の場合、*ftz-fl* 変異株では、1, 2, 3, 6番目のストライプの発現が低下した。この発現パターンは、転写開始点上流約290bpに存在するFTZ-F1結合部位に変異を導入した *zebra element-lacZ* 融合遺伝子の発現パターンと一致した。この結果から、FTZ-F1が zebra element に直接作用して転写活性化にかかわることが示唆された。次に *ftz* 依存的に *ftz* の高レベルの発現にかかわる upstream element (転写開始点上流4.5kbから3.3kb)を介した転写制御へのFTZ-F1の関与について検討した。upstream elementに熱ショックプロモーターを結合した *lacZ* 融合遺伝子は、野性株では正常に発現するが、*ftz-fl* 変異株では発現しなかった。したがって、少なくとも upstream element を介した遺伝子発現制御にFTZ-F1が必要であると考えられた。(発表講演7, 8, 17)

(7) FTZ-F1とFTZの相互作用機構(鈴木大河, 梅園和彦, 川崎陽久, 上田 均)

初期胚において、体節形成にかかわるホメオドメインタンパクFTZは、核内レセプターFTZ-F1と相互作用して遺伝子発現制御にかかわると考えられる。この相互作用の様式を探るために、相互作用にかかわる部位を two hybrid法を用いて解析した。その結果、FTZ-F1のC末端に存在するAF-2 core様領域を欠いたFTZ-F1dAF-2、あるいは、FTZの中央部のN末端側に存在するLRALL配列にアミノ酸置換を導入した mutFTZ では、相互作用の能力が消失した。また、ショウジョウバエ初期胚でのFTZのLRALL配列とFTZ-F1のAF-2 core様領域の重要性を検定するために、mutFTZあるいはFTZ-F1dAF-2を初期胚で発現させ、体節形成パターンおよび標的遺伝子である *engrailed* および *wingless* の発現パターンを調べた。その結果、初期胚においてもFTZのLRALL配列とFTZ-F1のAF-2 core様領域は、*ftz*の機能に必要であることが明らかとなり、FTZ-F1のAF-2 core様領域と、FTZのLRALL領域が相互作用に重要であると考えられた。また、核内レセプターのコアクチベーターは、LXXLL配列モチーフを介して、核内レセプターのC末端に存在するAF-2 coreと相互作用することが知られており、FTZ-F1がFTZと相互作用する機構は、核内レセプターがコアクチベーターと相互作用する様式に類似していると考えられた。(発表講演7, 9, 15)

研究業績

(1) 原著論文

1. Kobayashi, M. and Hirose, S.: Functional dissection of DNA supercoiling factor: EF-hand domains and C-terminal HDEF motif are essential for its activity. *Genes Cells* 4:33-40 (1999).
2. Kabe, Y., Goto, M., Shima, D., Imai, T., Wada, T., Morohashi, K., Shirakawa, M., Hirose, S. and Handa, H.: The role of human MBF1 as a transcriptional coactivator. *J. Biol. Chem.* 274:34196-34202 (1999).
3. Ozaki, J., Takemaru, K., Ikegami, T., Mishima, M., Ueda, H., Hirose, S., Kabe, Y., Handa, H. and Shirakawa, M.: Identification of the core domain and the secondary structure of the transcriptional coactivator MBF1. *Genes Cells* 4:415-424 (1999).
4. Akasaka, K., Nishimura, A., Takata, K., Mitsunaga, K., Mibuka, F., Ueda, H., Hirose, S., Tsutsui, K. and Shimada, H.: Upstream element of the sea urchin arylsulfatase gene serves as an insulator. *Cell. Mol. Biol.* 45:555-565 (1999).
5. Mishima, M., Ozaki, J., Ikegami, T., Kabe, Y., Goto, M., Ueda, H., Hirose, S., Handa, H. and Shirakawa, M.: Resonance assignments, secondary structure and 15N relaxation data of the human transcriptional coactivator hMBF1 (57-148). *J. Biomol NMR*, 14: 373-376 (1999).

(2) その他

1. 広瀬 進: 活性クロマチンの構築。蛋白質・核酸・酵素, 増刊「細胞核研究の最先端-核の機能構造とダイナミクス」44, 1764-1770, 1999.
2. 広瀬 進: クロマチンリモデリングによるフシタラズ遺伝子の転写活性化。実験医学 増刊「転写因子研究1999」17, 246-250, 1999.
3. 広瀬 進: MBF. 実験医学 別冊「Bioscience 新用語ライブラリー」転写因子, 第2版(田村隆明, 山本雅之, 安田國雄編)羊土社 pp.101-102, 1999.
4. 広瀬 進: クローン化したDNAの突然変異操作。分子生物プロトコール(小池克郎, 関谷剛男, 近藤寿人編)南江堂 pp.217-224, 1999.
5. 上田 均: 昆虫変態期における遺伝子発現機構, 蛋白質核酸酵素, 14, 2049-2059, 1999.

(3) 発表講演

1. Jindra, M., Okabe, M., Hiromi, Y. and Hirose, S.: Mutant analysis of a transcriptional coactivator MBF1. 40th Annual Drosophila Research Conference, Seattle, Washington, March, 1999.
2. Ueda, H., Yamada, M. and Hirose, S.: Function of FTZ-F1 during metamorpho-

- sis. 40th Annual Drosophila Research Conference, Seattle, Washington, March, 1999.
3. Ueda, H., Masuda, S. & Hirose, S.: Mechanism of transcriptional regulation of the FTZ-F1 gene., The 1999 Ecdysone Workshop, Seattle, Whashington, March.
 4. Hirose, S.: MBF1 is a novel coactivator that bridges between DNA-binding regulators and TBP. "International Symposium on Transcription Regulation in eukaryotes" Yokohama, March, 1999.
 5. Hirose, S., Jindra, M., Liu, Q.-X. and Ueda, H.: Drosophila coactivator MBF1 mediates FTZ-F1-dependent transcriptional activation. Cold Spring Harbor Meeting on "Mechanisms of eukaryotic transcription" Cold Spring Harbor, September, 1999.
 6. 相田紀子, 小林正友, 菊池韶彦, 広瀬 進: ショウジョウバエ超らせん化因子の機能解析. 第16回染色体ワークショップ, 葉山, 2月.
 7. 上田 均: 脱皮ホルモンにより誘導される転写因子FTZ-F1の転写活性化機構. 文部省科学研究費特定領域研究「転写調節機構」公開シンポジウム-細胞内シグナル伝達と転写調節-, 東京, 6月.
 8. 川崎陽久, 広瀬 進, 上田 均: FTZ-F1変異体による *fushi tarazu* 遺伝子転写調節の解析. 第4回日本ショウジョウバエ研究会, 名古屋, 8月.
 9. 鈴木大河, 梅園和彦, 川崎陽久, 上田 均: FTZ-F1とFTZの相互作用機構. 第4回日本ショウジョウバエ研究会, 名古屋, 8月.
 10. 上田 均, 川崎晴久, 増田祥子, 阿川泰夫, 荻嶋泰成, 山田正明, 広瀬 進: 脱皮と変態の分子メカニズムの解明をめざして, ワークショップ「昆虫の変態・休眠の分子機構」, 葉山, 8月.
 11. 広瀬 進: クロマチン・リモデリングと転写. 第58回日本癌学会総会シンポジウム「発生生物学/クロマチン・リモデリングと癌の接点」, 広島, 9月.
 12. 広瀬 進: クロマチンのリモデリングによる転写活性化. 第72回日本生化学会大会シンポジウム「クロマチン機能の制御」, 横浜, 10月.
 13. 広瀬 進: ショウジョウバエ超らせん化因子と活性クロマチンの形成. 国立遺伝学研究所研究会「非B型DNAの生物学-遺伝子の収納と発現の基本メカニズム」, 三島, 10月.
 14. 広瀬 進, 岡田聖裕, 霜島 司, 中山貴博, 上田 均, 半田 宏: クロマチンリモデリング因子を特定の遺伝子にリクルートする機構. 第22回日本分子生物学会年会シンポジウム「クロマチン構造と転写制御」, 福岡, 12月.
 15. 阿川泰夫, 増田祥子, 広瀬 進, 上田 均: ショウジョウバエ転写因子FTZ-F1の転写調節機構の解析. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
 16. 劉慶信, 上田 均, 広瀬 進: ショウジョウバエMBF1とTDF (trachea defective)

の相互作用. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.

17. 川崎陽久, 広瀬 進, 上田 均: FTZ-F1による *fushi tarazu* 遺伝子転写調節の解析. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
18. 鈴木大河, 川崎陽久, 上田 均, 梅園和彦: オーフアンレセプターFTZ-F1と“LXXLL”依存性共役因子Ftzの相互作用. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.

C-c. 初期発生研究部門

初期発生研究部門では, 小型熱魚類ゼブラフィッシュ (*Danio rerio*) 及びメダカ (*Oryzias latipes*) を用いて脊椎動物初期発生過程における体軸形成および器官形成の機構を研究しています. 特にこの実験系の特徴である胚操作技術(細胞移植やマイクロインジェクションによる遺伝子過剰発現)と遺伝学的手法(突然変異体など)を組合わせた実験を行って, 脊椎動物の普遍的な発生機構の解明を目指しています.

当研究部門は, 3月に武田洋幸が教授として着任し研究がスタートし, 4月に特別共同利用研究員として新屋みのり(名古屋大学大学院生), 澤田篤志(名古屋大学大学院生), 坂口拓也(名古屋大学大学院生)が加わった.

本年度の研究は, 文部省科学研究費特定領域研究(B)「脳のパターン形成」(2)「中枢神経系の前後軸・背腹軸の成立機構」, 同基盤研究(C) (2)「ゼブラフィッシュ突然変異体を用いた中枢神経の背腹軸形成機構の解析」, 農林水産省委託研究「魚類中枢神経系の発達における繊維芽細胞増殖因子(FGF)の役割」および養殖研究所委託研究「魚類における中胚葉誘導と体節の形成・分化の分子機構の解明」の支援を受けて実施された.

(1) 中胚葉誘導とその背腹軸の形成機構

脊椎動物の初期発生において, 背腹軸の形成は胞胚期から原腸胚期への移行に不可欠な現象である. 脊椎動物の背腹軸を形成する機構について, 現在最も知見が得られているのは両生類である. 両生類胚では, 1細胞期の植物極付近に蓄積された細胞質成分の再配置が, 将来の背腹軸を予定付けると考えられている. このような背腹軸形成の機構は両生類に独特の機構なのか, あるいは脊椎動物全体に存在するものなのかは, 最近まで議論されることはなかった. 本研究では, 発生過程の詳細な記載がなされているゼブラフィッシュを材料に用いて, 背腹軸形成因子が初期卵に存在する可能性を検証した.

既に我々の研究で, 植物極側に存在する卵黄細胞が魚類における中胚葉誘導とその背腹軸に沿ったパターン形成に重要な役割を担っていることが明らかになっている. そこで我々は卵黄細胞に注目して, 受精直後のゼブラフィッシュ胚の植物極側卵黄半球を除去する手術を行って, その影響を調べた.

卵黄半球の除去を受けた胚では, 高率で形態形成の異常が観察された. 形態の異常は, まず原腸形成期に胚盾(魚類の形成体)の形成不全として観察されはじめた. 覆いかぶせ運動の終了後, 形態の異常はさらにいくつかの型に分類できた. それらの型には, 背部

および頭部構造の形成不全としての連続性が認められた。最も異常の程度が高いものは、まったく背腹の差異がみられず、回転対称形を呈した。これらの形態異常は、紫外線照射によって誘発される両生類の腹側化胚に類似している。異常胚の出現率は、植物半球の卵黄除去を行ったステージが進行するに従って、徐々に減少した。受精後 20 分までの除去では、すべてが異常胚となったが、8 細胞期処理では約 1 割にとどまった。原腸形成直前の異常胚における背腹軸マーカーの発現パターンは、この異常が胚全体の腹側化に伴うことを示唆していた。我々は、さらに卵黄細胞の移植により、植物極側卵黄半球を除去された卵黄細胞が正常の胚盤に対して背側領域の誘導能を持たないこと、また、卵黄除去胚の胚盤は、正常の卵黄細胞と組み合わせると背側領域を形成することを確認した。

以上の結果より、ゼブラフィッシュの卵に背腹軸を形成する細胞質因子が存在することが示唆された。また、この因子は、受精後 20 分までは植物極側の卵黄半球に多く分布するが、8 細胞期までに将来背側の胚盤下へ移動するものと思われる。このような受精直後の細胞質因子の移動は、両生類の表層回転に伴う細胞質因子の再配置を連想させる。また、腹側化胚の胚盤細胞は卵黄細胞からの背側誘導に対する反応能を保持していた。このことは、細胞質因子が胚盤細胞に取り込まれることが背腹軸形成に必ずしも必要ではないことを示唆している (Mizuno et al., 1999)。

現在、卵黄細胞による中胚葉誘導の分子メカニズムを探るため、卵黄細胞に特異的に発現する遺伝子群の単離を進めている。

(2) ゼブラフィッシュ突然変異体を用いた中枢神経の背腹軸形成機構の解析

脊椎動物の中枢神経系には明確な背腹軸が認められる。神経管の最も腹側の組織であるフロアプレート (FP) はオーガナイザー由来の中軸中胚葉からの Sonic hedgehog (Shh) により神経管腹側で誘導されることが示されている。しかし、胚発生においていつ、どこで誘導が起きているのかは明確になっていない。

近年行われたゼブラフィッシュの大規模なスクリーニングにより、EGF-CFC モチーフを持つ新規の膜タンパク質をコードする *one-eyed pinhead* (*oep*) の突然変異体が単離された。*oep*(-/-) 胚は前方中軸中胚葉を欠き、内胚葉にも異常が見られる。また、神経管腹側構造が FP を含め体軸全体にわたって欠損しており、眼が腹側で融合し一つ眼となっている。しかし脊索は存在し、そこでの *shh* の発現が認められる。

本研究では、野生型及び *oep*(-/-) のオーガナイザー (胚盾) の移植によって二次軸を誘導し、二次軸における FP の有無と移植されたドナー細胞の分布とを観察することで、*oep*(-/-) 胚において FP 形成のどの過程に問題があるのかを解明し、FP 形成過程の素過程をとらえることを試みた。*oep*(-/-) の胚盾を野生型胚に移植した場合には野生型細胞が FP に分化したのに対し、野生型の胚盾を移植しても *oep* 細胞は FP に分化しなかった。従って *oep* 遺伝子は、誘導シグナルを受けて FP に分化する細胞において必要であることが明らかとなった。さらに、*oep*(-/-) 胚の胚盾由来の細胞は決して FP 領域に分布する

ことがなかったことから、胚盾で既にFP(前駆)細胞の選別が行われており、FP前駆細胞だけが選択的に神経管腹側に取り込まれることが示唆された。また、実験の過程で神経(前駆)細胞がFP前駆細胞に対しFPへの分化を抑制する新しい相互作用が見つかった(Shinya et al., 1999)。

(3) 体節の形成における *mesp* family 遺伝子の役割

脊椎動物の体節は、体幹部の分節性を規定する点で重要である。また、個々の体節の前半部と後半部では異なった性質を持っている。この体節の前後極性は体節の分節性の維持に重要な役割を担っていると考えられている。しかし、体節に前後の極性を与える分子メカニズムは、現在よく分かっていない。

近年マウスで単離された新規のbHLH遺伝子 *Mesp2* は、ノックアウトにより体節が融合する表現型を示すことから、体節形成に重要な機能を持つことが示された。そこで我々はこの遺伝子に着目し、強制発現やmutantを使った解析が可能なゼブラフィッシュから *Mesp* family の遺伝子、*mesp-a*、*mesp-b* を単離した。まず、発現パターンを詳細に解析した結果、体節期の胚において *mesp-a*、*mesp-b* は共に未分節中胚葉で分節的に発現し、この領域は将来の体節の前半部であることが分かった。次に、*mesp-b* の mRNA injection による異所的強制発現を行い、その機能について解析を行った。*mesp-b* を強制発現させた胚は体節が融合した表現型を示した。また、体節の後半部に発現する遺伝子である *myoD*、*notch5* の発現が消失し、体節の前半部に発現する *papc*、*FGFR1*、*notch6* が沿軸中胚葉で一様に広がって発現した。また、すべての体節が融合した表現型を示す *fused somite (fss) mutant* では *mesp-a*、*mesp-b* の発現が消失し、*myoD* が一様に発現していることが分かった。以上のことから、*mesp-b* は体節内の前後極性の形成に関与し、体節の前半部の性質を与える機能を持つことが示唆された。

現在、体節形成に異常を示す突然変異体と *mesp* 遺伝子との関係を解析中である。

研究業績

(1) 原著論文

1. Shinya, M., Furutani-Seiki, M., Kuroiwa, A. & Takeda, H.: (1999). Mosaic analysis with *oep* mutant reveals a repressive interaction between floor-plate and non-floor plate mutant cells in the zebrafish neural tube. *Dev. Growth & Differ.* 41: 135-142.
2. Mizuno, T., Yamaha, E., Kuroiwa, A. & Takeda, H.: (1999). Removal of vegetal yolk causes dorsal deficiencies and impairs dorsal inducing ability of the yolk cell in zebrafish. *Mech. Dev.* 81: 51-63.
3. Rodaway, A., Takeda, H., Koshida, S., Broadbent, J., Price, B., Smith, J. C., Patient, R. & Holder, N.: (1999). Induction of the mesendoderm in the zebrafish germ rign by yolk cell-driven TGF-b family signals and dicrimination of meso-

derm and endoderm by FGF. *Development* **126**: 3067-3078.

4. Nikaido, M., Tada, M., Takeda, H., Kuroiwa, A. & Ueno, N.: (1999). In vivo analysis using variants of zebrafish BMPR-IA: range of action and involvement of BMP in ectoderm patterning. *Development* **126**: 181-190.

(2) その他

1. Mizuno, T., Shinya, M. & Takeda, H.: (1999). Cell and tissue transplantation in zebrafish embryos. In *Molecular Methods in Developmental Biology - Xenopus and Zebrafish*. Ed. M. Guille, Humana Press Inc. p.15-28.

(3) 発表講演

1. 坂口拓哉, 黒岩 厚, 武田洋幸: zebrafish のオーガナイザー領域で発現する新規 BTG ファミリー遺伝子の単離とその機能解析. 第32回日本発生生物学会大会, 神戸, 5月.
2. 澤田篤志, Andreas Fritz, Yun-Jin Jiang, 山本朗仁, 弥益 恭, 黒岩 厚, 相賀裕美子, 武田洋幸: ゼブラフィッシュ体節形成における *Mesp* family 遺伝子の機能. 第32回日本発生生物学会大会, 神戸, 5月.
3. Koshida, S., Nikaido, M., Ueno, N. and Takeda, H.: Antagonistic interaction between FGF and BMP signaling pathways in zebrafish posterior neural development. AQUARAMA 99, Singapore, June.
4. Koshida, S., Nikaido, M., Ueno, N. and Takeda, H.: Antagonistic interaction between FGF and BMP signaling pathways in zebrafish posterior neural development. European Developmental Biology Organization-99, Oslo, June.
5. Takeda, H.: Importance of non-axial signals in initial anteroposterior patterning of zebrafish central nervous system. 文部省特定領域研究B「脳のパターン形成」公開シンポジウム, 仙台, 11月.
6. 新屋みのり, 越田澄人, 黒岩 厚, 武田洋幸: ゼブラフィッシュ終脳形成における Ras シグナル伝達の役割. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
7. Takeda, H.: Antagonistic interaction between FGF and BMP signaling pathways in zebrafish posterior neural development. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.

C-d. 生理遺伝客員研究部門

(1) 遺伝子転写と修復に関与する蛋白質の立体構造解析：白川昌宏

1) 転写コアクチベーターMBF1の立体構造：白川昌宏，尾崎 淳¹，三島正規¹，池上貴久¹，竹丸健一²，上田 均²，広瀬 進²，半田 宏³，可部泰明³(¹奈良先端科学技術大学院大学，²形質遺伝研究部門，³東京工業大学生命理工学部)

MBF1は酵母からヒトまで真核生物に広く保存されて存在する転写コアクチベーター(メディエーター)で、FTZ-F1、GCN4、CREBなど種々の転写因子と結合し、さらに基本転写因子TBPと結合し転写活性化を行うと考えられている。つまり、MBF1はTBPと転写活性化因子とを橋渡しするメディエーターである。カイコ及びヒトMBF1のTBP結合能を有するC末端側コアドメインの立体構造を多重共鳴多次元NMR法で決定した。両者は共通して4本のヘリックスと特徴的な末端Ωループからなるコンパクトな立体構造を持つ(原著論文3, 4, 5)。点突然変異体の解析などから3番目のヘリックスのTBP結合への関与を示唆するデータが得られた。一方、N末端部分はFTZ-F1、GCN4、CREBなど種々の転写因子との結合活性に必要であるが、溶液中でフレキシブルな立体構造を持つ事が示された。

2) メチル化DNA結合蛋白質MBD1の立体構造：白川昌宏，大木 出¹，下竹教哉¹，中尾光善²，藤田直之²(¹奈良先端科学技術大学院大学，²熊本大学医学部)

脊椎動物で唯一の塩基修飾であるCpGメチル化は、遺伝子長期抑制、クロマチン構造の凝集化を引き起こし、ゲノム・インプリンティング、初期発生の制御、発癌などの高次の生命現象に関与する。また最近、変異率の低減など遺伝子の安定性に関与することが判明した。こういったCpGメチル化信号は多くの場合、メチル化DNA結合ドメインによって解釈される。転写リプレッサーMBD1の持つメチル化DNA結合ドメインの立体構造を決定した(原著論文2, その他1)。メチル化DNA結合ドメインは α/β サンドイッチ構造を持ち、他のDNA結合ドメインの構造とは異なるフォールディングを持つ。化学シフトパータベーション法に続いて、部位特異的変異体作成とDNA結合能の解析を行うことにより、DNA結合部位を特定することが出来た。DNA結合部位中で特に注目すべきはTyr34でメチル化DNA結合能があるすべてのMBDに保存されており、溶媒中に露出している点である。

3) ヌクレオチド除去修復因子XPA中央ドメインの立体構造：白川昌宏，池上貴久¹，田中亀代次²，倉岡 功²，森川耿右³，京極好正⁴(¹奈良先端科学技術大学院大学，²大阪大学細胞生体工学センター，³生物分子工学研究所，⁴大阪大学蛋白質研究所)

XPAは色素性乾皮症細胞株Aを相補する遺伝子の産物で273残基からなるヌクレオチド除去修復蛋白質である。DNA損傷認識とRPA、ERCC1、TFIIH、XAB1,2などといった多数の修復因子と直接相互作用することが確認されており、修復因子複合体を損傷部位に集合させるプラットフォームとしての重要な機能を持つ。その中央ドメインは損傷に

選択的なDNA結合活性とRPAの最大サブユニットであるRPA70との結合活性を持つ。白川は中央ドメインの立体構造決定を行い、XPA中央ドメインは8残基のリンカーで繋がれたN末のZnフィンガー部分のサブドメインとC末端サブドメインの2つのサブドメインからなることを示した。両サブドメインとも既知のDNA結合蛋白質の立体構造に見られない特徴をもつことが判った。また化学シフトパターン法によるXPAとDNA、XPAとRPA70一本鎖DNA結合ドメインの結合実験によって、XPAのC末端側サブドメインの正に荷電したクレフトがDNAとの相互作用部位であり、ZnフィンガーサブドメインがRPA70との相互作用部位の一つであることを示す結果を得た。また主鎖15N核の詳細な緩和パラメーター測定により、蛋白質の運動性を解析し、DNA結合部位近傍は運動性の高い部分を持つことを明らかにした。(原著論文6, その他3)

(2)種固有のコードン使用多様性: 金谷重彦¹, 池村淑道²(¹生理遺伝研究部門 山形大学工学電子情報工学科, ²進化遺伝研究部門)

ゲノムの全配列が決定された17種のバクテリア(*Aquifex aeolicus*, *Archaeoglobus fulgidus*, *B. subtilis*, *Borrelia burgdorferi*, *Chlamydia trachomatis*, *E. coli*, *Haemophilus influenza*, *Helicobacter pylori*, *Methanococcus jannaschii*, *Methanobacterium thermoautotrophicum*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Pyrococcus horikoshii*, *Rickettsia prowazekii*, *Synechocystis sp.*, *Treponema pallidum*)と酵母(*S. cerevisiae*)についてタンパク質コード遺伝子のコードン使用の種固有の潜在構造を多変量解析により検討した。いままでに、酵母および大腸菌について細胞内のtRNA量とコードン使用の関連が明らかにされているが、さらに、*B. subtilis*についてもこの点が明らかとなった。酵母を含む単細胞生物におけるtRNA、コードン使用、ゲノムG+C%の共進化的関係を総括した。クロロプラスト遺伝子に対応する*Synechocystis sp.* 遺伝子のほとんどがこの種の最適なコードンを使用する傾向にあった。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.* 遺伝子ほど最適なコードンを使用していないことも明らかとなった。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。ミトコンドリアに存在する*R. prowazekii* 遺伝子との類縁遺伝子についても同様の傾向が見られた。これらの成果は、原著論文7に報告した。また、本研究で使用した方法に基づいてバクテリオファージ遺伝子の宿主のコードン利用との適合度を検討した。この成果は原著論文8,9にまとめた。さらに、自己組織化法に基づいた複数種の生物における遺伝子のコードン利用による分類法を開発し発表講演1で報告した。

(3)ヒトゲノムにおけるポリプリン/ポリピリミジン配列の分布解析: 金谷重彦¹, 池村淑道²(¹生理遺伝研究部門 山形大学工学電子情報工学科, ²進化遺伝研究部門)

ポリプリン/ポリピリミジン配列は、生理条件下において非B型DNA構造である三重鎖をつくることが知られており、遺伝子発現および複製のタイミングなどと関連してい

る。片側のDNA鎖に100nt以上からなる85A+G%以上のポリプリン/ポリピリミジン配列(A+G tract)の出現頻度を検討したところ、ヒトMHC領域4Mbにおいて33kbあたり1回の出現頻度であり、これは、ヒトゲノム(DDBJ ca 37 Mb)における出現頻度(51kbあたり1回)よりも有意に高いことが判明した。ヒトゲノム上で最長のA+G tract (2798nt)はrDNAの隣接領域に存在している。さらに、遺伝病にかかわる複数の遺伝子の隣接領域にも700nt以上からなるA+G tractがあり、これらのポリプリン/ポリピリミジン配列は組み換えとの関連性が示唆された。この成果は原著論文10にまとめられている。

研究業績

(1)原著論文

1. Ikegami, T., Okada, T., Hashimoto, M., Seino, S., Watanabe, T. and Shirakawa, M.: Solution Structure of the Chitin-Binding Domain of *Bacillus circulans* WL-12 Chitinase A1. *Journal of Biological Chemistry*, in press.
2. Ohki, I., Shimotake, N., Fujita, N., Nakao, M. and Shirakawa, M.: Solution structure of the methyl-CpG-binding domain of the methylation-dependent transcriptional repressor MBD1. *The EMBO Journal* **18**, 6653-6661 (1999).
3. Kabe, Y., Goto, M., Shima, D., Imai, T., Wada, T., Morohashi, K., Shirakawa, M., Hirose, S. and Handa, H.: The Role of Human MBF1 as a Transcriptional Coactivator. *J Biol Chem* **274**, 34196-34202 (1999).
4. Mishima, M., Ozaki, J., Ikegami, T., Kabe, Y., Goto, M., Ueda, H., Hirose, S., Handa, H. and Shirakawa, M.: Resonance assignments, secondary structure and 15N relaxation data of the human transcriptional coactivator hMBF1 (57-148). *Journal of biomolecular NMR* **14**, 373-376 (1999).
5. Ozaki, J., Ikegami, T., Mishima, M., Takemaru, K-i., Kabe, Y., Handa, H., Ueda, H., Hirose, S. and Shirakawa, M.: Identification of the core domain and the secondary structure of the transcriptional coactivator MBF1. *Genes to Cells* **4**, 415-424 (1999).
6. Ikegami, T., Kuraoka, I., Saijo, M., Kodo, N., Kyogoku, Y., Morikawa, K., Tanaka, K. and Shirakawa, M.: Resonance assignments, solution structure, and backbone dynamics of the DNA- and RPA-binding domain of Human repair factor XPA. *Journal of Biochemistry* **125**, 495-506 (1999).
7. Kanaya, S., Yamada, Y., Kudo, Y. and Ikemura, T.: Studies of codon usage and tRNA genes of 18 unicellular organisms and quantification of *Bacillus subtilis* tRNAs: Gene expression level and species-specific diversity of codon usage based on multivariate analysis. *Gene* **238**, 143-155 (1999).
8. Nakayama, K., Kanaya, S., Ohonishi, M., Terawaki, Y. and Hayashi, T.: The

- complete nucleotide sequence of ϕ CTX, a cytotoxin-converting phage of *Pseudomonas aeruginosa*: implications for phage evolution and horizontal gene transfer via bacteriophages. *Mol. Microbiol.*, **31**, 399-419, (1999).
9. Kunisawa, T., Kanaya, S. and Kutter, E.: Comparison of synonymous codon distribution patterns of bacteriophage and host genomes. *DNA Res.*, **5**, 1-8, (1998).
 10. Kanaya, S., Fukagawa, T., Ando, A., Inoko, H., Kudo, Y. and Ikemura, T.: Distribution of polypurine/polypyrimidine tract sequences in the human MHC region and their possible function. *Major Histocompatibility Complex*, Springer-Verlag, 131-145, (2000).
 11. Ohno, M., Tenzen, T., Watanabe, Y., Yamagata, S., Kanaya, S. and Ikemura, T.: Non-B DNA structures spatially and sequence-specifically associated with individual centromeres in the human interphase nucleus. *Chromosome Today*, **13**, (in press).

(2) その他

1. 白川昌宏, クロマチン構造を制御する蛋白質の立体構造. 蛋白質核酸酵素 印刷中.
2. 白川昌宏, TFIID サブユニット TAF は擬態により転写を抑制する. 蛋白質核酸酵素 **44**, 123-129, (1999).
3. 白川昌宏, DNA 修復蛋白質の構造と機能. 蛋白質核酸酵素 **44**, 485-494, (1999).

(3) 発表講演

1. Kanaya, S., Kudo, Y., Abe, T., Okazaki, T., Carpio, C.D. and Ikemura, T.: Gene Classification by self-organization mapping of codon usage on bacteria with complete sequenced genome. '99 Genome Informatics Workshop.

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。本年度の当部門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。研究費は、遺伝研校費、国立学校・校費に加えて文部省科学研究費奨励研究(A)(2)「ショウジョウバエの剛毛形成を指標とした種間変異・形態進化の分子機構」の支援を受けた。

(1) 突然変異と組換えの局所の変動の解析：高野敏行

遺伝子発現をはじめ多くの生命現象には、普遍的あるいは生物種特異的に染色体上の領域にわたる高次の制御機構が存在していることが明らかになりつつある。ヌクレオソームやインシュレーターから、ヒトゲノムのアイソコアのように巨大な染色体のドメイン構造が観察される場合もある。しかし残念ながら、このような巨大なドメイン構造の機能上の意義については今だ不明である。本研究は、モデル生物であるキロショウジョウバエ (*D. melanogaster*) とその近縁種を材料に、局所的で極端な組換え率と突然変異率の変動を検出した。

分子進化パターンへの集団遺伝学的解析から、*D. melanogaster* と *D. yakuba* で X 染色体テロメア末端領域で組換え率に違いがあることを予測し、実際に *D. yakuba* では約 20 倍も組換え率が高いことを明らかにした。X 染色体全体と常染色体領域では両種の組換え率はわずかに 1.5 倍程度の違いしかなく、10 倍以上の極端な組換え率の変化は X 染色体のテロメア末端領域に特異な現象である。また一方で、これは X 染色体全体の約 1/10 の領域に影響を及ぼす変化であり、ごく少数の組換えのホット・スポットに因るのではなく *D. melanogaster* の系統で領域特異的に組換え率が極端に低下したためであることが示唆される。相同染色体の対合やシナプスの形成の開始に関わるような広い領域に影響をもつ配列の有無が 2 種間の組換え率の違いの原因であることが想定される。

また、X 染色体テロメア末端 1A-1B 領域の分子進化的解析から、*D. yakuba*, *D. oreana* において独立に 100kb あるいはそれ以上の領域で極端に GC に偏った塩基置換を観察した。特に、*D. oreana* の 7 つ以上の遺伝子を含む領域では 104 の G/C → A/T に対しわずか 4 つの A/T → G/C 置換しか観察されない。この置換パターンは翻訳領域だけでなく、非翻訳領域でもみられ、自然淘汰によるのではなく突然変異の歪みによるものと考えられる。一方で、この領域を除く近傍領域では、ほぼ等しい GC/AT 置換が観察されていて、明確な領域依存性を示している。このように極端な、領域および種に依存した置換パターンの変化はこれまでに報告されておらず、その原因は進化上だけでなく、突然変異率の制御の観点からも興味深い。

以上、ショウジョウバエ染色体は突然変異と組換えの制御に関して独立なドメイン構造から成っており、領域に依存して進化速度が大きく異なることを示唆する。本研究の一部については、文献(1)を参照。

(2) 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、キロショウジョウバエ (*D. melanogaster*) 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、大きな変異が存在している。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。種間雑種の発生・形態異常は幾つかの異なった遺伝要因によって引き起こされ得ることが考えられる。(1)*D. melanogaster*との雑種で観察される消失剛毛数に関しての*D. simulans*の種内変異の原因遺伝子(変異)、(2)雑種の剛毛消失を引き起こす*D. melanogaster*と*D. simulans*間の固定した変異、(3)遺伝子量効果を、特に雑種バックグラウンドにおいて示す遺伝要因。これまでにを行ったQTLマッピングは(1)の変異を同定する方法であり、欠失染色体系統によるスクリーニングは3つのクラス全てを検出可能な方法である。

QTLマッピングの結果から細胞学的14領域に用いた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。しかし、これまでは消失剛毛数の異なる2系統を用いてしか解析を行っていないため、異なる*D. simulans*の系統での違いが、この同じ因子を原因としているかは不明であった。そこで、本年度は消失剛毛数の異なる系統の独立な3つの組合せについてF2個体の解析を行った。その結果、14B領域のマーカーSTSの由来によって有意に消失剛毛数が異なることが明らかとなった。このことは、*D. simulans*の種内の大きな変異の大部分が一つの原因遺伝子座の多型に依っていることを示唆する。

研究業績

(1) 原著論文

1. Takano-Shimizu, T.: Local recombination and mutation effects on molecular evolution in *Drosophila*. *Genetics* **153**, 1285-1296 (1999).
2. Yamashita, S., Takano-Shimizu, T., Kitamura, K., Mikami, T. and Kishima, Y.: Resistance to gap repair of the transposon Tam3 in *Antirrhinum majus*: A role of the end regions. *Genetics* **153**, 1899-1908 (1999).

(2) 発表講演

1. 高野敏行: ショウジョウバエゲノムにおける突然変異圧と組換え率の局所的変動. 日本遺伝学会第71回大会, 広島, 9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、塩基配列レベルと染色体レベルの進化を関係づけ、分子進化と機能や表現型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・深川竜郎(3月に英国オックスフォード大学から帰国し、着任)、助手・天前豊明(7月にイスラエルのヘブライ大学での留学から一時帰国し、再度同大学へ留学)が携わり、これに総研大の大学院生の北野 誉(3月に理学博士号を取得し、中核的研究機関研究員となる)、野田令子、金子美華、上村隆俊が加わった。劉 玉華が4月から国立遺伝学研究所外国人研究員として、渡辺良久が9月から中核的研究機関研究員として、岡村 淳が10月から進化遺伝研究部門研究員として研究に携わった。宮内洋子(研究支援推進員)、鈴木和子、北きよみ、川本たつ子、小早川英美(10月から研究支援推進員)、小平順子、水口昌子が研究の補助業務を行った。

教授・池村はコスタリカ(プンタレナス)で開催された国際分子進化学会に出席し発表を行うため、1月9日から19日まで渡航した。助教授・斎藤は、6月にアメリカ合衆国ステイトカレッジで開催された国際研究集会に出席し、発表した。

本年度の研究は、文部省科学研究費補助金特定領域研究(A)(2)「ヒトゲノムGC含有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)、特定領域研究(A)(2)「セントロメア機能における特殊DNA高次構造とCENP-Cの役割」(代表者池村)、萌芽的研究「染色体バンド境界の分子レベルでの特定とその機能探索」(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)、特定領域研究(A)(1)「遺伝子系統樹の重層統合によるゲノム進化解析法と生物学的知識自動獲得システムの開発」(代表者斎藤)、基盤研究(A)(1)「ヒト化を特徴づける遺伝子変化探索システムの開発」(代表者斎藤)、萌芽的研究「分岐過程理論を用いた遺伝子と種の進化過程の新しい解析法の開発」(代表者斎藤)等の援助を受けた。

共同研究としては、教授・池村は、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、吉川研一・京都大学理学部物理学第1教室教授を代表に「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」を行った。また、総研大共同研究として「生命超分子構造体の総合的高精度解析」(代表者池村)に関して研究を行った。

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を代表に「古DNA分析に基づく人類集団の拡散と時代的返遷に関する解析」に関して、成松 久・創価大学生命科学研究所教授を代表に「糖転移酵素遺伝子の進化」の共同研究を行った。また、総研大共同研究として「意識の進化に関する学術的研究」(代表者斎藤)に関して研究を行った。

(1) ヒト細胞核に存在する三重鎖DNAの配置とその機能：池村淑道、大野みずき¹、金谷重彦²、北きよみ、深川竜郎(¹九大医学部、²生理遺伝研究部門)

DNA複製と遺伝子発現を活発に行っている分裂間期の核において、染色体DNAが高度に組織化された核内配置をとっており、その配置自体が複製や遺伝子発現に深く関わっていると考えられている。高等動物染色体の高度に組織化された核内配置を決定する情

報は、基本的には塩基配列に担われるが、その配列の実体と配置決定の分子機構は未知に残されてきた。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、核内配置を決める機構として重要と考えられる。ヒトゲノム上には、数百bpの大型ポリプリン/ポリピリミジン配列が、数万コピー程度存在するが、その多くは試験管系では三重鎖を形成する能力を持つと推定されている。ヒトゲノム上に頻度高く存在する $(AG/TC)_n$ や $(GAA/TTC)_n$ や $(GGAA/TTCC)_n$ 等を蛍光プローブとして、ヒトの未変性間期核に対する *in situ* ハイブリダイゼーション実験を行ったところ、配列特異的に特徴的な *foci* 状のハイブリダイゼーション像を得た。複数のRNaseで処理した未変性核も同様なシグナルを与えるのに対して、単鎖特異的なヌクレアーゼ処理核ではシグナルは完全に消失しており、核内に存在する単鎖DNAを検出していることが示された。三重鎖DNAに対する特異的モノクローナル抗体を用いて上記の *foci* 状シグナルとの位置関係を解析したところ、明瞭な *colocalization* が判明した。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、ポリプリン/ポリピリミジン配列と同様に、三重鎖特異抗体もセントロメアの近傍部位に強いシグナルを与え、空間的には、三重鎖構造がセントロメアの近傍に集中して存在することが明らかになった。分裂中期については、未変性ならびに変性条件下での染色体において、大半のFISHシグナルはセントロメアから離れた位置に検出されていた。分裂間期に見られるセントロメアとの近接が、ゲノム配列上の近接ではなく、空間上の接近であることが判明した。ヒトゲノム上に存在する大型のポリプリン/ポリピリミジン配列をプローブとしても同様な結果が得られた。染色体の種類によって、セントロメアに空間に近接する三重鎖の配列が異なっていることも判明している。(Ohno et al, 2000; Kanaya et al, 2000)。

(2) 高等脊椎動物セントロメアの機能解析：深川竜郎，岡村 淳，宮内洋子，鈴木和子，池村淑道

セントロメアは染色体分配に本質的な役割を行うDNA-タンパク質の複合体である。出芽酵母では遺伝学的解析により125bpの特異配列がセントロメアDNAとして同定されている。一方、高等脊椎動物では人工染色体を用いた解析から、 α サテライトを中心とした数百kbにおよぶ高度な反復配列自身がセントロメアDNAとして機能することが複数のグループから報告された。セントロメアDNAの一次配列は著しく異なるが、セントロメアタンパク質がそのDNAの何らかの立体構造を認識することでセントロメアが形成され、全生物に共通の機構で染色体分配がおこると我々は予想している。進化的に保存されたセントロメアタンパク質はこれまで少数しか見つかっていないが、ヒトで同定されたCENP-AとCENP-Cは酵母からヒトにいたるまで保存されており、酵母におけるそれらの対応遺伝子はそれぞれCse4, Mif2と呼ばれている。最近、ネオセントロメアと呼ばれ、本来はセントロメアでない領域が活性化をうけてセントロメアとして機能する現象がヒトやショウジョウバエで観察された。ヒトネオセントロメアには常にCENP-AとCENP-

Cが局在化していることから、これらのタンパク質がセントロメア機能に重要な働きを担うと考えられている。我々は特にCENP-Cに注目しており、ニワトリB細胞由来のDT40細胞を用いてCENP-Cの機能解析を行っている。DT40細胞は、哺乳類細胞に比べて、数十から数百倍の頻度で相同組換えを起こすことが知られている。その特徴を利用しDT40細胞を用いて、CENP-Cの条件的ノックアウト株を作製した。DT40の第1アリのCENP-CをNEO耐性遺伝子で置換した後、第2アリのCENP-Cをマウスエストロゲンレセプター遺伝子とCENP-CのcDNAの融合遺伝子(CENP-C-ER遺伝子)に置換した。このGenotype (Δ /CENP-C-ER)をもつ株をステロイドアゴニストである4-OHT存在下で培養するとCENP-C-ERはCENP-Cとして働くが、4-OHTの非存在下ではCENP-C-ERは細胞全体に拡散していた。このシステムが有効に働いていることが確かめられたので、4-OHTの非存在下で Δ /CENP-C-ER株の表現型を解析した。細胞形態の観察、FACS解析および、CDC2 Kinaseの活性測定の結果、CENP-Cがセントロメアに局在していないと、細胞は細胞分裂中期で進行を停止した後、アポトーシスを起こして死滅することが明らかになった。細胞分裂中期で進行を停止した細胞の染色体は非常にふくれた形態を示した。この条件で、他のセントロメアタンパク質であるZW10はセントロメアに局在していなかった。

次にCENP-Cがネオセントロメア形成を誘導するのかを調べる目的で、テトラサイクリンプロモーターを用いてCENP-Cの条件的大量発現株を作製した。CENP-Cを大量発現させると、細胞分裂に異常が生じるが、 Δ /CENP-C-ER株の表現型とは異なり、細胞は細胞分裂後期には進化して、サイトキネシスが起らず2核を持つ細胞が観察された。また分裂中期の染色体は Δ /CENP-C-ER株のふくれた染色体とは対照的に、細く伸びた形態を示した。大量発現のCENP-Cは間期核では巨大なセントロメアボディーを形成し、分裂中期では、染色体のアームすべてに局在して、分裂後期では染色体からはずれる。この局在の変化はCENP-Cの修飾と関係している可能性が考えられる。ZW10の局在を調べた結果、分裂中期にCENP-Cが染色体のアームすべてに局在している条件下では、本来のセントロメアの位置に局在しており、新しいセントロメアの形成はほとんど観察されなかった。CENP-Cの条件的ノックアウト株と条件的大量発現株の表現型の比較より、CENP-Cは細胞分裂中期から後期の移行に必須で、機能的セントロメアの形成のためには必要なタンパク質であるが、単独でセントロメアの形成を誘導するには十分ではないと結論された。また、直接的には間接的に染色体凝縮に関与することが示唆された。これらについての詳細はEMBO J. (Fukagawa et al., Vol. 18, 4196-4209, 1999)に発表した。現在、セントロメア形成過程におけるCENP-Cの詳細な役割を理解するために、CENP-Cと遺伝学的に相互作用するタンパク質の同定を目指している。具体的には、CENP-Cの酵母ホモログであるMif2の温度感受性変異を指標にして、各種変異を導入した変異CENP-CをDT40細胞に導入した。この方法によって、現在まで4種類のCENP-C温度感受性変異株を単離できた。この株の表現型の解析と、この変異を抑圧する遺伝子のスクリーニングを行っている。さらに、DT40のシステムを用いて、ZW10やMis6や

Metor といった各種セントロメアタンパク質遺伝子のノックアウトを行っている。

(3) 染色体工学を用いた人工染色体の構築：深川竜郎，宮内洋子，鈴木和子，池村淑道

染色体が安定に自律的に複製するためには，複製開始起点とテロメアとセントロメアの3つの要素が必要である。高等脊椎動物ではテロメアの配列は明らかにされているが，複製開始起点とセントロメアの配列の機能単位は明らかでない。高等脊椎動物の中で安定に自律複製する染色体ベクターが作成できれば，生命科学全般に応用されることが期待されるため，内外の研究者が安定に自律複製する小型化染色体の作成に取り組んでいる。方法は2通りある。一つはセントロメアと予想されている配列，複製開始起点と予想される配列，ならびにテロメア配列を試験管で融合させて，培養細胞に導入して，染色体形成の有無を調べる方法である。もう一つはテロメア配列を培養細胞に導入して，染色体を分断化する方法で，深川が滞在したOxford大学のDr. Brownが開発した技術である。我々はDT40細胞中では相同組換えが高頻度に起きる利点を利用して，ヒトY染色体を保有するDT40細胞を樹立し，染色体分断化技術を用いて効率的に小型化染色体を作成してきた。小型化染色体を保持するための宿主細胞として，Hprt⁻/DT40細胞を樹立した。詳細についてはNucl. Acids Res. (Fukagawa et al., Vol. 27, 1966-1969, 1999)に発表した。現在，小型化染色体をベクターとして外来の長大配列をクローン化する技術の開発を試みている。

(4) ヒト11番染色体長腕全域の詳細なS期複製タイミング地図の作成ならびに染色体バンド境界の塩基配列レベルでの特定：渡辺良久，藤山秋佐夫^{1,2}，榊佳之²，池村淑道¹ (人類遺伝研究部門，² 理研・ゲノム科学総合センター)

染色体バンドに代表されるようなヒトゲノム上の大規模な構造の実体やその機能を分子レベルで解明することは，今後のゲノム解析に重要な知見を与える。特に，S期内で前半と後半に区分化される複製タイミングは，染色体の機能構造を知るための重要なパラメーターと考えられている。ヒト11番染色体長腕(11q)の約80Mbの全域を対象に，190箇所(STS)部位の複製タイミングを解析し，11q全域の詳細な複製タイミング地図を塩基配列レベルの精度で作成した。具体的な測定法としては，ヒト培養細胞を60分間ブロモデオキシウリジンで標識した後，セルソーターを用いて，DNA含量を指標に細胞周期により6分画する。免疫沈降法によりブロモデオキシウリジンで標識された新生鎖の精製を行った後，複製タイミングを測定する部位のプライマーを用いた定量的PCRを行い，ゲル電気泳動後に各S期分画のバンドを定量する。解析の結果，ヒト11番染色体長腕(11q)の複製タイミングがS期前半から後半に明瞭に転換している領域を約20箇所特定し，S期前半と後半の複製領域がRとGバンド領域に対応することを明らかにした。また，GC含量の区分的分布と複製タイミングとの間に密接な関係があることも，ゲノム配列レベルで明らかにした。これらの結果に基づいて，染色体バンド境界の機能上ならびに構造上の要件を満たす部位を塩基配列レベルで特定できた。このような解析がヒトゲノムの全体に対しても適用可能であり，またこれからのゲノム研究に必須の基礎知見を

与える解析法であることを実証できた。

(5) 遺伝子コドン選択パターンの研究：中村保一¹，五條堀孝²，池村淑道¹（かずさ DNA 研究所，² 遺伝情報分析研究室）

本年度も継続して，GenBank の全体を解析してコドン使用のデータベースの更新を続けた。生物種ごとに集計したコドンデータベースと併せて，World Wide Web で公開している (<http://www.kazusa.or.jp/codon/>)。現在，約 35 万遺伝子のコドン使用と，1 万生物種（ウイルスを含む）について，生物種別のコドン集計値を収録している。詳細は，Nucl. Acids Res. (Nakamura et al., 1999) に紹介した。

(6) 脊椎動物における Rh 式血液型関連遺伝子の進化：北野 誉，斎藤成也

Rh 式血液型物質は，Rh と Rh50 という相同性のある 2 種類のタンパクが 4 量体構造を形成することによって赤血球表面上に存在している。このうち，Rh タンパクの方に抗原を決定するアミノ酸サイトが存在しており，一方，Rh タンパクと相同性のある Rh50 タンパクは抗原性がなく，進化的により保存的であるということが知られている。我々の以前の研究から，齧歯類（マウスとラット）においては Rh と Rh50 の両方の遺伝子が存在することが示された。さらに霊長類と齧歯類のこれらの遺伝子を比較することによって，齧歯類は霊長類よりもおよそ 3 倍の進化速度で変化しているということが示された。また，マウスとラットの分岐年代はおよそ 3 千万年前と概算された。詳細は文献 12 を参照されたい。また，Rh と Rh50 の遺伝子重複の時期を解明するために，Rh50 遺伝子の全コード領域をアフリカツメガエルとメダカにおいて決定した。これらと報告されている相同遺伝子すべてを含めて系統樹を作成し，Rh 式血液型関連遺伝子の長期間に渡る進化を解析した。その結果，Rh と 50kD のふたつの遺伝子族は，陸上脊椎動物の出現前後に遺伝子重複によって形成されたということが推定された。さらに，これらの遺伝子をもとにホモロジー検索を行なったところ，多数のアンモニウムイオントランスポーターの遺伝子が得られ，これらの遺伝子との関連を考察した。これらの研究成果を，日本遺伝学会第 71 回大会で発表した。

(7) 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，竹中 修¹，斎藤成也¹（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糖鎖であり，その遺伝子は糖転移酵素をコードしている。従来の研究においては，第 7 エキシソンの配列情報から進化が論じられていたが，今回我々は上流のイントロンの塩基配列約 1kb を決定し，解析を行った。我々はテナガザル 3 種の塩基配列を決定し，系統ネットワーク解析を行なったところ，ABO 式血液型遺伝子の糖鎖の変異を規定する第 7 エキシソン領域と，その上流の第 5，第 6 イントロン領域における塩基置換パターンが異なっていることが判明した。この事はテナガザル祖先集団において A 型と B 型遺伝子の多型が長い間種をこえて保存されてきた可能性を示唆し，遺伝子内組み替えによって複雑なネットワークが得られたと考えられる。さらにオランウータンの配列を加えると種系統樹とはまったく異なる関係が得られた。旧

世界猿のマカク類及びヒヒ類においてもABO式血液型遺伝子のイントロンを含む配列を決定し、解析を行った結果、マカクの系統においてはA型とB型の間の型の変換が複数回生じていることが明らかになった。これらのデータもふまえこの遺伝子座における進化の詳細を知るべく考察を行なった。これらの研究成果を、日本遺伝学会第71回大会および葉山で開催されたGordon Research Conferenceで発表した。

(8)新規フコース転移酵素遺伝子のクローニングとその解析：金子美華，西原祥子¹，成松久¹，斎藤成也¹(創価大・生命研)

SSEA-1抗原はII型糖鎖のGal β 1-4GlcNAc β -RのGlcNAc残基に α -1,3結合でフコースを転移することで合成される。我々は発現クローニング法によってマウスのcDNAライブラリーから新規な α -1,3フコース転移酵素遺伝子(mFuc-TIX)をクローニングした(1998年報告)。この配列をもとに、ヒトの胃のcDNAライブラリーよりハイブリダイゼーション法を用いて、ヒトの相同遺伝子を得た(hFuc-TIX)。hFuc-TIXとmFuc-TIXの塩基配列を決定した結果、その相同性は非常に高く、また、非同義置換数の解析から、他のフコース転移酵素と異なり、ヒストンやアクチンなどと同じレベルでアミノ酸が保存される傾向にあることを明らかにした。Fuc-TIXが個体発生に必須であるなどの生物学的制約を受けて、その配列が保存されていることが考えられる。また、 α -1,3フコース転移酵素遺伝子群に着目して系統樹作成を行なった。Fuc-TIXはフコース転移酵素遺伝子群の中で最も初期に分岐した系統の遺伝子であることが示唆された(論文Aで発表した)。PACゲノムライブラリーよりPCR法を用いてスクリーニングし、hFuc-TIX遺伝子を含むクローンを得た。このクローンをを用いてFISH法によりhFuc-TIXの染色体位置を決定した(論文Bで発表した)。また、ヒトの5種類の α -1,3フコース転移酵素遺伝子のポリラクトサミンユニットに対する酵素の基質特異性の違いをin vitroの系で検討した結果、hFucTIXはポリラクトサミンの非還元末端側に、他は内側のポリラクトサミン構造にそれぞれフコースを転移しやすいことが明らかとなった(論文Cで発表した)。これらの研究成果をXVth International Symposium on Glycoconjugatesで発表した。この新規なFuc-TIX遺伝子と、既知のFuc-TIV遺伝子のいずれが初期胚におけるSSEA-1糖鎖合成に関わるか明らかにするため、マウス受精卵における両遺伝子の発現をcompetitive RT-PCR法を用いて確認した。その結果、mFuc-TIX遺伝子が初期胚におけるSSEA-1抗原合成を担っている可能性が示唆された。この結果は、第72回日本生化学大会でポスター発表した。さらに、ニワトリとアフリカツメガエルよりPCR法を用いて α -1,3フコース転移酵素遺伝子のクローニングを行った。それぞれの種より2種類ずつの遺伝子を取得した。解析の結果、両種よりFucTIXに相当する遺伝子(cFucTIX, xFucTIX)と、ニワトリよりFucTVIIに相当する遺伝子(CFTII)、アフリカツメガエルよりFucTIVに相当する遺伝子(XFTI)が得られたことが分かった。これら新規の遺伝子を加えることで α -1,3フコース転移酵素遺伝子の系統樹がより正確になり、進化速度の一定性を仮定して遺伝子の出現年代を推定した。また、 α -1,3フコース転移酵素以外に

も、全部の糖転移酵素遺伝子の進化史を考察する目的で、現在分かっている19種類の糖転移酵素遺伝子ファミリーに関して分子進化学的手法を用いて解析を行った。その結果、糖転移酵素遺伝子群は少なくとも真核・原核生物の分岐時点ですでにいくつかの遺伝子ファミリーに別れて存在し、遺伝子重複や染色体の倍加に伴ってその数を増やしてきたと考えられた。

(9) 多数の遺伝子座の塩基配列データに基づくマウス5亜種間の系統関係の推定：劉玉華，北野 誉，城石俊彦¹，小出 剛¹，斎藤成也¹（系統生物研究センター哺乳動物遺伝研究室）

近縁な生物集団のあいだの系統関係は、集団間の分岐の大きさに対して共通祖先集団ですでに存在していた遺伝子の分化が大きい場合、きわめて錯綜したものとなることが予想される。この場合、強く連鎖しておらず、ほぼ独立に遺伝する遺伝子座では、それぞれの遺伝子系図が大きく異なる可能性がある。したがって、ゲノム全体の趨勢を推定するには、多数の遺伝子座の情報を集める必要がある。そこでわれわれは、多数の遺伝子座からの塩基配列データからそれぞれの遺伝子系図を推定し、それらを総合して集団の系統関係を実際に推定してみることにした。用いた材料は、マウス (*Mus musculus*) の5亜種 (*breviostriis*, *castaneus*, *domesticus*, *molossinus*, *musculus*) である。これらは互いに近縁な集団であり、しかも個体数が大きいため、少数の遺伝子座を調べただけでは、正しい系統関係を推定することができないことが期待される。またこれら5亜種は、国立遺伝学研究所において長い間にわたり純系が保持されてきたので、すべての遺伝子座がホモ接合になっていると期待され、このためハプロタイプを決定するのにクローニングをする必要がないという利点がある。

DDBJ 塩基配列データベースにあるマウスの22遺伝子座(常染色体20座，Y染色体1座，ミトコンドリアDNA1座)の塩基配列データをもとにPCRプライマーを設計した。外群として用いた *Mus spicilegus*1系統(ZBN)と近交系マウス9系統(C57BL/10SnJ [B10], BFM, BLG, CAST, MSM, pgn2, SWN, HMI, NJL)の計10系統の genomic DNA を、各遺伝子座ともほぼ1kb増幅して direct sequencing を行なった。

10系統×22遺伝子座で、合計243kbの塩基配列を決定した。今回調べた常染色体20座のうち、いくつかの遺伝子でもさまざまなタイプの遺伝子交流の痕跡が示唆された。外群として用いたはずの *Mus spicilegus* の遺伝子が、*Mus musculus* の変異の中にはいつてしまうタイプ、*Mus musculus* の配列が大きく二つのグループに分かれてしまい、他の未知の近縁種との遺伝子交流を示唆するタイプなどがあつた。しかし、過半数の遺伝子座は期待されるパターンを示し、これらのみの平均をとると、従来の見解と同一の系統関係が得られた。これらの結果から、近縁な生物集団を比較するときには、多数の遺伝子座を調べるべきであることが明らかになった。また逆に、大多数の遺伝子とはずれたパターンを示す遺伝子には、系統関係を乱すような過去の歴史の痕跡が残されている可能性が示された。これらの研究成果を、日本遺伝学会第71回大会、葉山で開催さ

れた Gordon Research Conference, および日本 DNA 多型学会年次大会で発表した。

(10) 類人猿ゲノム計画 Silver: 北野 誉, 小早川英美, 斎藤成也

ヒトゲノムの塩基配列の中には, ヒト化によって生じた人間の独自性を規定する遺伝子の変化の証拠が残されているはずである。ヒト化を特徴づける遺伝子の変化を, このように他のどの生物とも異なる人間だけの特徴と定義すると, そのような遺伝子の変化を発見するのは, ヒトゲノムだけを調べていたのでは不可能である。必ず他の生物, とりわけ系統的にヒトに近縁なチンパンジー, ボノボ, ゴリラ, オランウータン, テナガザルという類人猿との比較が必須である。そうしてはじめて, もっともヒトに近縁なチンパンジーとの共通祖先から別れた後の, 500 万年余にわたる人類固有の進化系統で蓄積した遺伝子変化を浮かび上がらせることができる。このような認識のもとに, 類人猿ゲノム計画 Silver を立ち上げた。方法は, ヒトゲノムの中で決定された塩基配列の情報をもとに, PCR プライマーを設計し, それらを用いて類人猿ゲノム DNA から種分化相同領域を増幅し, direct sequencing によって塩基配列を決定するというものである。すでに silver 計画の web サイトをたちあげている (URL = <http://sayer.lab.nig.ac.jp/~silver/>)。この計画の主要な成果である「ヒトと類人猿の塩基配列比較」をクリックすると, Silver 計画で調べた DNA 領域のリストが出てくる。すでに DDBJ/EMBL/GenBank 国際塩基配列データベースに登録されている配列を我々がデータ解析した結果もリストしてある。これらのうちのひとつをクリックすると, こんどは塩基配列の多重整列結果と系統樹が表示される。

研究業績

(1) 原著論文

1. Kanaya, S., Fukagawa, T., Ando, A., Inoko, H., Kudo, Y. and Ikemura, T.: Distribution of polypurine/polypyrimidine tract sequences in the human MHC region and their possible functions. In: Major Histocompatibility Complex, Springer-Verlag Berlin/Heidelberg/New York/Tokyo, 131-145, 2000.
2. Kanaya, S., Yamada, Y., Kudo, Y. and Ikemura, T.: Studies of codon usage and tRNA genes of 18 unicellular organisms and quantification of *Bacillus subtilis* tRNAs: gene expression level and species-specific diversity of codon usage based on multivariate analysis. *Gene*, **238**, 143-155, 1999.
3. Nogami, M., Nogami, O., Kagotani, K., Taguchi, H., Ikemura, T. and Okumura, K.: Intranuclear arrangement of human chromosome 12 correlates to large-scale replication domains. *Chromosoma*, in press.
4. Shiina, T., Tamiya, G., Oka, A., Takishima, N., Yamagata, T., Kikkawa, E., Iwata, K., Tomizawa, M., Okuaki, N., Kuwano, Y., Watanabe, K., Fukuzumi, Y., Itakura, S., Sugawara, C., Ono, A., Yamazaki, M., Tashiro, H., Ando, A.,

- Ikemura, T., Soeda, E., Kiura, M., Seiamak, Bahram. and Inoko, H.: Molecular dynamics of MHC genesis unraveled by sequence analysis of the 1.8 Mb HLA class I region. *Proc Natl Acad Sci USA*, **96**, 13282-13287, 1999.
5. Fukagawa, T., Pendon, C., Morris, J., Brown, W.R.A.: CENP-C is necessary but not sufficient to induce formation of a functional centromere. *The EMBO Journal*, **18**, 4196-4209, 1999.
 6. Simon, I., Tenzen, T. and Cedar, H.: Asynchronous replication of imprinted genes is established in the gametes and maintained during development. *Nature*, **401**, 929-932, 1999.
 7. Ohno, M., Tenzen, T., Watanabe, Y., Yamagata, T., Kanaya, S. and Ikemura, T.: Non-B DNA structures spatially and sequence-specifically associated with individual centromeres in the human interphase nucleus. *Chromosomes Today*, Vol. **13**, in press.
 8. Fukagawa, T., Hayward, N., Yang, J., Azzalin, C., Griffin, D., Stewart, A.F. and Brown, B.: The chicken HPRT gene: a counter selectable marker for the DT40 cell line. *Nucleic Acids Research*, **27**, 1966-1969, 1999.
 9. Nakamura, Y., Gojobori, T. and Ikemura, T.: Codon usage from the international DNA sequence database; its status 1999. *Nucleic Acids Research*, **27**, 292, 1999.
 10. Ando, A., Kikuti, Y.Y., Abe, K., Shigenari, A., Kawata, H., Ikemura, T., Kimura, M. and Inoko, H.: cDNA cloning, Northern hybridization and mapping analysis of a putative GDS(guanine nucleotide dissociation stimulator of G proteins)-related protein gene at the centromeric ends of the human and mouse MHC regions. *Immunogenetics* **49**,354-356,1999.
 11. Jin, F., Saitou, N, Ishida, T., Sun, C.-S., Pan, I.-H., Omoto, K. and Horai, S.: Population genetic studies on nine aboriginal ethnic groups of Taiwan. I. Red blood cell enzyme systems. *Anthropological Science*, vol. **108**, no. 3, 229-246, 1999.
 12. Kitano, T. and Saitou, N.: Evolution of Rh blood group genes have experienced gene conversions and positive selection. *Journal of Molecular Evolution*, **49**(5): 615-626, 1999.
 13. Kitano, T., Oota, S. and Saitou, N.: Molecular evolutionary analyses of the Rh blood group genes and Rh50 genes in mammals. *Zoological Studies*, **38**(4): 379-386, 1999.
 14. Kaneko, M., Kudo, T., Iwasaki, H., Ikehara, Y., Nishihara, S., Nakagawa, S., Sasaki, K., Shiina, T., Inoko, H., Saitou, N. and Narimatsu, H.: α 1,3-fucosyltransferase IX (Fuc-TIX) is very highly conserved between human and mouse; Molecular cloning, characterization and tissue distribution of human

- Fuc-TIX. FEBS Letter, vol. 453, pp. 237-242, 1999.
15. Kaneko, M., Kudo T., Iwasaki, H., Shiina, T., Inoko, H., Kozaki, T., Saitou N. and Narimatsu, H.: Assignment of the human α 1,3-fucosyltransferase IX gene (FUT9) to chromosome band 6q16 by in situ hybridization. Cytogenet. Cell Genet., vol. 86, pp. 329-330, 1999.
 16. Kobayashi, K., Iwasaki, M., Suzuki, Y., Suzuki, H. and Saitou, N.: An analysis of polymorphism for the ABO blood group genes in a Japanese population based on polymerase chain reaction. Anthropological Science, vol. 107, no. 2, pp. 109-121, 1999.
 17. Nishihara, S., Iwasaki, H., Kaneko, M., Tawada, A., Ito, M. and Narimatsu, H.: α 1,3-fucosyltransferase 9 (FUT9;Fuc-TIX) preferentially fucosylates the distal GlcNAc residue of polylactosamine chain while the other four α 1,3FUT members preferentially fucosylate the inner GlcNAc residue. FEBS Letter, vol. 462, pp. 289-294, 1999.
 18. Oota, H., Saitou, N., Matsushita, T. and Ueda, S.: Molecular genetic analysis of a 2,000-year old human population in China. American Journal of Human Genetics, vol. 64, No. 1, pp. 250-258.
 19. Oota, S. and Saitou, N.: Phylogenetic relationship of muscle tissues deduced from superimposition of gene trees. Molecular Biology and Evolution, vol. 16, no. 6, pp. 856-867., 1999.
 20. Sato, H., Koide, T., Ishiguro, S-I., Tamai M., Saitou N. and Shiroishi T.: The organization of the type I keratin genes in the mouse Krt1 domain. Genomics, vol. 56, pp. 303-309, 1999.
 21. Sawada, H., Suzuki, F., Matsuda, I. and Saitou, N.: Phylogenetic analysis of Pseudomonas syringae pathovars suggests the horizontal gene transfer of argK and the evolutionary stability of hrp gene cluster. Journal of Molecular Evolution, vol. 49, no. 5, pp. 627-644, 1999.
 22. 北上 始, 森 康真, 太田 聡, 斎藤成也: 異種系統間の調停のためのゼロ交差制約の充足. 情報処理学会論文誌: データベース, 40巻, pp. 1-14, 1999.

(2) その他

1. 北野 誉, 斎藤成也: DDBJのホームページを用いた配列解析. Trends in Glycoscience and Glycotechnology, 11巻59号, 119-127頁, 1999.
2. 斎藤成也: 生命現象の二面性-モノとコト. FINIPED, 91号, 31-34頁, 1999.
3. 斎藤成也: 分子系統樹作成法と統計的評価法. 杉山純多ら編『新版微生物実験法』, 252-255頁, 講談社, 1999.
4. 斎藤成也: 遺伝子系統樹. 遺伝子医学3巻3号, 541-545頁, 1999.

5. 斎藤成也・太田聡史：生命システムの進化—分子進化学におけるシステム思考の試み—。bit, 31巻6号, 24-28頁, 1999.
6. 斎藤成也, 北野 誉：ABO式およびRh式血液型遺伝子の進化。細胞工学, 7月号18巻, 1039-1047頁, 1999.
7. 大野みずき, 池村淑道：間期核の染色体DNA中に存在する三重鎖構造とその機能。蛋白質核酸酵素, Vol. 44, 1757-1763, 1999.

(3) 発表講演

1. Ohno, M., Uemura, T., Tenzen, T., Sasaki, H. and Ikemura, T.: Genome and subnuclear organization of non-B forming DNAs in mammalian chromosomes. The Symposium on "Evolutionary Genomics", Puntarenas, Costa Rica, 1月.
2. 深川竜郎, William Brown, 池村淑道：DT40細胞を用いたCENP-Cの機能解析。日本遺伝学会第71回大会, 広島, 9月.
3. Fukagawa, T., Brown, W. and Ikemura, T.: Functional analyses of centromere and CENP-C in the DT40 cell line. 2nd 3R (Replication, Recombination and Repair) Symposium, Hyogo, 11月.
4. 深川竜郎, William Brown, 池村淑道：DT40細胞を用いたセントロメアタンパク質・CENP-Cの機能解析。第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
5. 山形哲司, 本間賢次郎, 池村淑道, 猪子英俊：代謝型GABA受容体アイソフォームb(R1b)を発現する第2プロモーター領域の解析。第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
6. 重成敦子, 安藤麻子, 池村淑道, 猪子英俊(他18名)：HLA領域と相同性を示す第1染色体1q22-23領域の遺伝子構造解析—CD1遺伝子群周辺の構造解析—。第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
7. 渡辺良久, 藤山秋佐夫, 榎 佳之, 池村淑道：S期複製タイミングを指標にしたヒトゲノムの機能構造の解析。第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
8. 市場勇太, 池村淑道, 吉川研一：長鎖DNA分子のヒストンタンパク質による凝縮転移。第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
9. 重成敦子, 安藤麻子, 池村淑道, 猪子英俊(他7名)：HLA領域と相同性を示す第1染色体1q22-23領域の遺伝子構造解析。第9回組織適合性学会, 7月.
10. Ando, A., Shigenari, A., Suto, Y., Kasai, F., Shina, T., Kawata, H., Kohda, A., Okumura, K., Soeda, E., Ikemura, T. and Inoko, H.: Gene organization of human chromosome 1Q22-Q23 region which is homologous to the HLA region on chromosome 6P21.3. Sixth International Workshop on MHC Evolution, Hayama, 5月.
11. Kanaya, S., Fukagawa, T., Ando, A., Inoko, H., Kudo, Y. and Ikemura, T.:

Distribution of polypurine/polypyrimidine tract sequences in the human MHC region and their possible functions. Sixth International Workshop on MHC Evolution, Hayama, 5月.

12. 北野 誉, 斎藤成也: 脊椎動物における Rh 式血液型関連遺伝子の進化. 日本遺伝学会第71回大会, 広島, 9月.
13. 北野 誉, 野田令子, 劉 玉華, 小早川英美, 斎藤成也: Silver Project-An ape genome (Ag) project. Gordon Research Conference on Molecular Evolution, Japan, October.
14. Noda, R., Kitano, T., Sumiyama, K., Takenaka, O. and Saitou, N.: Evolution of primate ABO blood group genes. Symposium on Genome Diversity and Evolution, Pennsylvania State University, June.
15. 野田令子, 北野 誉, 竹中 修, 斎藤成也: 霊長類の ABO 式血液型遺伝子の進化. 日本遺伝学会第71回大会, 広島, 9月.
16. Noda, R., Kitano, T., Takenaka, O. and Saitou, N.: Evolution of primate ABO blood group genes. Gordon Research Conferences on Molecular Evolution, Hayama, October.
17. Kaneko, M., Kudo, T., Ikehara, Y., Nishihara, S., Nakagawa, S., Sasaki, K., Shiina, T., Inoko, H., Saitou, N., Narimatsu, H.: a1,3-fucosyltransferase IX (Fuc-TIX) is very highly conserved between human and mouse; Molecular cloning, characterization and tissue distribution of human Fuc-TIX. XVth International Symposium on Glycoconjugates (GLYCO XV), Tokyo, August.
18. 金子美華, 西原祥子, 岩崎裕子, 工藤 崇, 赤島智博, 阿部訓也, 斎藤成也, 成松久: 発生初期における *mFuc-TIX* 遺伝子の発現. 第72回 日本生化学大会, 横浜 10月.
19. 斎藤成也: 遺伝子系統樹 - 生物進化の基本記述子 -. 千葉大学真菌医学研究センター, 2月.
20. 斎藤成也: 最尤法を用いた分子進化系統樹作成プログラム DeepForest. 日本情報処理開発協会委託研究成果報告会, 芝パークホテル本館, 東京, 3月.
21. 斎藤成也: 細菌遺伝子の分子進化的解析. 杉山純多教授退官記念シンポジウム, 東京大学山上会館, 3月.
22. 斎藤成也: 系統樹作成の理論とヒト集団での応用例. ヘルペスウイルス研究会シンポジウム「ヒト集団マーカーとしてのウイルス」, 福岡市志賀島, 6月.
23. 斎藤成也: 進化の基本記述子としての遺伝子系統樹を用いた進化研究. 東北大学理学部生物学教室セミナー, 6月.
24. 斎藤成也: エレガンス線虫 (*C. elegans*) ゲノムの非コード領域の解析. 特定研究ゲノムサイエンス班会議, グリーンピア大沼, 函館, 8月.

25. 斎藤成也：集団遺伝学理論から見た SNP。寺子屋「情報生物学」第1回：集団遺伝学理論を用いた SNP の情報解析入門，国立遺伝学研究所，三島，9月。
26. 斎藤成也：生物進化の基本記述子としての遺伝子系統樹。生化学若い研究者の会 京都・大阪支部主催「秋のセミナー」，コミュニティー嵯峨野，京都，9月。
27. 斎藤成也：集団遺伝学の理論と小個体集団における遺伝的管理。特別講演，日本動物園水族館協会種保存委員会，東京，10月。
28. 斎藤成也：全体紹介および中国漢民族の苗字分布。シンポジウム「中国漢民族の文化的・遺伝的多様性」日本人類学会第53回大会，東京都立大学，八王子，11月。
29. 斎藤成也：同種集団間および近縁種間の DNA 多型の解析。特別講演，日本 DNA 多型学会年次大会，千葉，12月。
30. 斎藤成也：遺伝子からみた生命進化。ランチョンセミナー，日本バイオセラピー学会年次大会，横浜，12月。
31. 斎藤成也：人類学からのコメント。言語類型地理論シンポジウム，青山学院大学，東京，12月。
32. Saitou, N.: Evolution of Rh blood group genes and their homologous genes. Special Lecture, Nanjing Normal University Department of Biology, Nanjing, China, January.
33. Saitou, N.: Multiple star-like clusters observed in mtDNA tree of Circum-Pacific human populations. International Symposium "Recent Progress in the Studies of the Origins of the Japanese", International Research Center for Japanese Studies, Kyoto, Japan, February.
34. Saitou, N.: Evolution of blood group genes in vertebrates. Symposium on Genome Diversity and Evolution, The Pennsylvania State University, State College, USA, June.
35. Saitou, N.: Phylogenetic relationship of muscle tissues deduced from superimposition of gene trees. Informal seminar at Frank Ruddle Lab., Yale University, New Haven, USA, June.
36. Saitou, N.: Phylogenetic networks and superimposition of gene trees. Informal seminar at Columbia Genome Center, Columbia University, New York, USA, June.
37. Saitou, N.: Evolution of ABO and Rh blood group genes. Mini-mini symposium on molecular evolution, Department of Ecology and Evolution, University of Chicago, USA, June.
38. Saitou, N.: Evolution of glycosyltransferase genes. XVth International Symposium on Glycoconjugates, Hotel East21, Tokyo, Japan, August.
39. Saitou, N.: ABO blood groups in mammals. Gordon Research Conference on Molecular Evolution, Hayama, Japan, October.

40. 劉 玉華, 北野 蒼, 野田令子, 城石俊彦, 小出 剛, 斎藤成也: 多数の遺伝子座の塩基配列データに基づくマウス5亜種間の系統関係の推定. 一般講演, 日本遺伝学会第71回大会, 広島大学, 広島, 9月.

D-c. 理論遺伝客員研究部門

(1) ほぼ中立理論: 太田朋子

今年度は進化速度のゆらぎと集団サイズの変化との関係を調べた. ゆらぎはある時間あたりのほぼ中立な突然変異遺伝子の置換数の平均と分散の比, Dispersion Index, を用いて測定した. 各種シミュレーションの結果, 集団サイズが変化した場合, Dispersion Indexは1-3倍に増大し, 増大のパターンは, 集団サイズの変化の起こり方に依存し, 小集団である期間が短いと増大効果はないが, 長いと効果が大きいことがわかった.

(2) 組織適合抗原の多型に及ぼす遺伝子変換の効果: 太田朋子

昨年に引き続き, 遺伝子変換が組織適合抗原の多型に及ぼす影響について調べた. 遺伝子変換は遺伝子内における組み換えを起こすので, 遺伝子内における塩基座位間の連鎖不平衡に影響を及ぼす. 座位間のホモザイゴシティーの相関係数を用いて連鎖不平衡を測定した. シミュレーションとDNA塩基配列の解析結果では, 対立遺伝子間の遺伝子変換が毎代相当の率(突然変異率の5倍以上)で生じていると推定することができた.

研究業績

(1) 原著論文

1. Effect of gene conversion on polymorphic patterns at major histocompatibility complex loci. *Immunological Reviews* 167:319-325, 1999.

(2) 発表講演

1. Near neutrality and the molecular clock. アメリカ進化学会シンポジウム, 分子時計, 6月, アメリカ, マジソン.
2. Near neutrality in the interactive systems. ヨーロッパ進化学会シンポジウム, 中立説と淘汰説, 8月, スペイン, バルセロナ, およびウプサラ大学セミナー, 9月, スウェーデン, ウプサラ.
3. Usefulness of identity coefficient for analysing gene diversity. マレコーシンポジウム, 8月, フランス, パリ, およびルンド大学セミナー, 9月, スウェーデン, ルンド.

E. 総合遺伝研究系

E-a. 人類遺伝研究部門

この部門では、ヒトの正常および異常な形質にかかわる遺伝現象を、分子・細胞・個体レベルで研究し、それらを総合的に理解することをめざしている。教授・佐々木裕之の研究グループは哺乳類の発生過程におけるエピジェネティックな遺伝子発現調節の解明をテーマに据え、とくにゲノムインプリンティング(ゲノム刷込み)の分子機構を中心に研究を行っている。インプリンティングは、父・母由来の対立遺伝子間に発現差をもたらす現象、非メンデル遺伝を示す現象、哺乳類の単為生殖を妨げる現象として知られ、種々の先天異常やがんとも関連している。当部門では、個体レベルの実験が可能なマウスをモデルとして、ゲノム解析技術と発生工学技術を駆使してこの現象の解明をめざしている。5月には助手・佐渡 敬が着任し、哺乳類のX染色体不活性化機構についての研究を開始した。長らく謎であったその分子機構は、この数年で飛躍的に解析が進んだもののまだ不明な点が多い。マウス、およびマウス胚性幹(ES)細胞を用いて *in vivo*, *in vitro* の両面からの解析を進めている。当研究グループの本年度の在籍者は、教授・佐々木裕之、助手・佐渡 敬のほか、ヒューマンサイエンス財団リサーチレジデント・千々岩崇仁、理化学研究所リサーチアソシエイト・加藤玲子、総研大大学院生・石原 宏、辻本直美、九州大学大学院生・ワヒューブルボワシト、横峯孝昭、ヒューマンサイエンス財団研究支援者・白水久男、技術課職員・古海弘康、三浦明日香、研究補助員・須田知賀子、事務員・芳賀弘子であった。

助教授・藤山秋佐夫の研究グループは、前年度に引き続き分裂酵母及びヒトを材料に全ゲノムのネットワーク解析研究、染色体テロメア、セントロメア領域の構造解析研究を実施した。

本年度の研究は、遺伝学研究所校費、総研大校費のほか、文部省科学研究費補助金特定領域研究(A)「ゲノムサイエンス」(2)「ゲノム刷り込み領域の構造特性と疾患遺伝子の探索」(佐々木)、基盤研究(C)「刷り込みを受けるゲノムドメインの境界の構造と機能」(佐々木)、特別研究員奨励費「マウス *Igf2/H19* 遺伝子ドメインのインプリンティング制御機構の研究」(石原)、厚生科学研究費補助金(ヒトゲノム・遺伝子治療研究事業)「ゲノムインプリンティングがかかわる疾患およびゲノム解析(代表者・向井常博・佐賀医大教授)」(佐々木)、上原記念生命科学財団研究助成金「哺乳類の新しいDNAメチル化酵素ファミリーの発生と発がんにおける役割」(佐々木)の支援を受けた。また、共同研究として、遺伝学研究所共同研究(B)「哺乳類ポリコム群遺伝子産物による転写制御メカニズムの遺伝学的解析(代表者・古関明彦・千葉大教授)」(佐々木)、遺伝学研究所共同研究(A)「鳥類における性染色体の遺伝子量補償機構に関する分子生物学的研究(代表者・松田洋一・北大教授)」(佐々木)、総研大共同研究「人間理解の科学的基礎：脳活動の物質的および

非物質的側面(代表者・森茂美・生理研教授)「佐々木」に参加した。

(1) マウス 7F4/F5 領域のインプリンティングドメインのゲノム構造解析: 佐々木裕之, 加藤玲子, 須田知賀子, 白水久男, ワヒューブルボワシト, 横峯孝昭¹, 水野晋一¹, 向井常博², 服部正平³, 榊 佳之³(¹ 九大・遺伝情報, ² 佐賀医大・生化, ³ 理研・ゲノム)

インプリンティングを受ける遺伝子の多くはゲノム上でクラスターを形成し, インプリンティングドメインを構成している。その理由は不明だが, インプリンティングの機構や進化を考えるうえで重要なヒントを含んでいると思われる。当部門では, 少なくとも8つのインプリンティング遺伝子を含むマウス第7染色体F4/F5領域の全構造を明らかにすべく, およそ1MbをカバーするYAC, BAC, コスミドコンティグを作成し, その物理地図を完成した。また得られたBACクローンをを用いて, 理化学研究所と共同で塩基配列の決定を行い, これまでに2つのBACの配列をほぼ決定した。また, コスミドクローンをを用いた核マトリクス付着部位のマッピングを開始した。このマウスのインプリンティング領域はヒトの11p15.5領域に相当し, Beckwith-Wiedemann症候群をはじめ小児がんなどインプリンティング関連疾患の責任遺伝子の存在が予想されることから, 以上の成果がこれらの疾患の解明に寄与すると期待される。

(2) マウス *Igf2/H19* サブドメインの制御機構の解析: 佐々木裕之, 石原 宏, 加藤玲子, 古海弘康, 大野みずき¹, 波多野直哉¹, 岩城 徹² (¹ 九大・遺伝情報, ² 九大・脳研病理)

上記のインプリンティングドメインのセントロメア端にある *Igf2/H19* 両遺伝子は, エンハンサー競合により対立遺伝子特異的な発現を示す。マウス *H19* 領域約40kbの完全な塩基配列を決定してヒトの配列と比較したところ, *H19* 下流に合計10箇所の進化的に保存された部分が見つかり, そのうちの2つは既知のエンハンサーと正確に一致していた。そこで, 残りの断片をトランスジェニックマウスに導入して検討したところ, 5つが新しい組織特異的エンハンサーであることが分かった。また, 同じくヒト・マウス間の配列比較により, *H19* 上流のDMR (differentially methylated region) に5回繰り返し出現する保存された配列を見つけた。ゲルシフト法で調べたところ, これらの配列に特異的に結合する蛋白質があり, しかもその1つは標的配列がメチル化されると結合が弱くなることから, インプリンティングにおける重要性が示唆された。また, 父・母由来の対立遺伝子から転写された核内の新生転写物を区別して検出するRNA-FISH法を開発し, マウス初期胚に応用できることを確かめた。

(3) 新規DNAメチル基転移酵素Dnmt3a/Dnmt3bの解析: 佐々木裕之, 千々岩崇仁, 辻本直美, 水野晋一¹, 田嶋正二² (¹ 九大・遺伝情報, ² 阪大・蛋白質研)

ゲノムインプリンティングでは, 両親の配偶子形成過程で生じるDNAメチル化の違いが, 対立遺伝子を区別するマークと考えられている。当部門では, これまで哺乳類で知られていた唯一のDNAメチル基転移酵素Dnmt1の触媒部位のアミノ酸配列をもとに, BLASTを用いてESTデータベースを検索し, 新たなDNAメチル基転移酵素Dnmt3a/Dnmt3bのcDNAを同定した。これらの酵素遺伝子はほかのグループも単離しており, ノックア

ウトするとメチル化が異常となり致死であることが報告された。またヒトの *DNMT3B* は ICF (immunodeficiency-centromeric instability-facial anomalies) 症候群の原因遺伝子であることも分かった。当研究室では、この酵素がインプリンティングと如何にかかわるのか調べる第1段階として、発生中の生殖巣での発現を調べている。また、がん抑制遺伝子 p15 がメチル化により不活性化している急性骨髄性白血病では、これらの酵素の発現が上昇していることを見出した。

(4) ニワトリにおけるゲノムインプリンティングの検討：佐々木裕之，横峯孝昭¹，松田洋一²，都築政起³ (¹九大・遺伝情報，²北大・染色体研，³広大・生物生産)

インプリンティングは哺乳類に特有の現象だと考えられているが、その進化を調べるためにはほかの動物種における検討が必須である。そこで哺乳類にならぶ温血動物である鳥類を選び、多数のニワトリ系統間の DNA 多型を利用して、*IGF2* と *IGF2R/MPR* (ともに哺乳類ではインプリンティングを受ける) のインプリンティングの有無を調べた。その結果、両遺伝子はインプリンティングを受けないことが分かった。今後、ほかの遺伝子にインプリンティングが見られないか検討する予定である。

(5) ポリコーム遺伝子群のインプリンティングへの関与の検討：佐々木裕之，辻本直美，古関明彦¹ (¹千葉大・大学院)

ポリコーム群蛋白質はクロマチンの構成成分であり、一般に遺伝子の抑制やインスレータ機能にかかわっている。インプリンティングは対立遺伝子特異的な発現抑制機構として捉えることができるため、インプリンティングへのポリコーム群蛋白質の関与が示唆されている。そこで当研究室では、2つのポリコーム遺伝子 *Me1-18*、*Bmi-1* のノックアウトマウスにおけるインプリンティング遺伝子の発現を調べた。これまでに *H19* の発現は正常であることが判明しており、現在ほかの遺伝子を調べているところである。

(6) DNA メチル基転移酵素 (*Dnmt1*) 欠損マウスにおける X 染色体不活性化：佐渡 敬，M. H. Fenner²，S. -S. Tan³，P. P. L. Tam⁴，T. Shioda²，E. Li¹ (¹CVRC, MGH, USA, ²Cancer Ctr. MGH, USA, ³Melbourne Univ., Aus., ⁴CMRI, Aus.)

X 染色体不活性化における DNA メチル化の役割を検討するために、*Dnmt1* 欠損マウスを用いて、ゲノムの極端な低メチル化が胚体組織、および胚体外組織における X 染色体不活性化におよぼす影響を解析した。

(7) X 染色体不活性化センター (Xic) 領域の解析：佐渡 敬，三浦明日香，佐々木裕之，En Li¹ (¹CVRC, MGH, USA)

X 染色体不活性化には X 染色体上の不活性化センター (Xic) と呼ばれる領域が必須である。不活性 X 染色体から特異的に発現される *Xist* 遺伝子は Xic の構成要素の一つであることは間違いないが、Xic の機能の全てを *Xist* が担っているわけではないと考えられる。我々は、*Xist* 遺伝子の転写領域を完全に含む逆方向の転写に由来する RNA の存在を見だし、それをコードするゲノム領域のクローニングを行った。このアンチセンス RNA の X 染色体不活性化における役割を検討するため遺伝子ノックアウトによる解析を

行っている。

(8) 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¹，Bong Yong-Sik²，藤山秋佐夫¹(¹マックスプランク研究所・放射線影響研究所，²総研大)

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進めている。

GTP結合蛋白質は，細胞内で行われる各種のシグナル伝達(形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に解析システムの開発を進めると同時に，*ras*-株で特異的に発現が抑制される遺伝子群の検索をおこなった。

(9) 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¹，朴 洪石²，許山肖子²，遠藤明子³，増島 恵，遠藤光子(¹マックスプランク研究所・放射線影響研究所，²理化学研究所，³東邦大学)

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行った。

(10) ヒト11番染色体長腕，ヒト18番全染色体ドラフト配列決定：藤山秋佐夫，服部正平¹，榊 佳之^{1,2}，矢田哲士¹，伊藤武彦³(¹理化学研究所ゲノム科学総合研究センター，²東京大学医科学研究所，³三菱総合研究所)

ヒト全ゲノムの90%について多重度5のドラフト配列を決定させる国際コンソーシアム計画にのっとり，11番染色体長腕，18番全染色体について計900クローンのBACクローンを単離した。現在11番染色体について40%をカバーする領域の配列解析が終了している。また，この計画に必要な地図情報をネット上から自動的に収集し図示するIMAPシステムを構築した。

(11) 単離染色体を用いた染色体テロメア領域の解析：藤山秋佐夫，瀧本光弘¹，須田剛士¹(¹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，単離可能なヒト染色体についてテロメア長の変動を測定中である。この結果は，サブテロメア領域に関する研究とリンクさせ発展させる。

(12) 共有結合型DNAチップの開発研究：藤山秋佐夫，井上将亮¹，実吉峯男¹（¹帝京科学大学）

共有結合により，ガラス表面にオリゴヌクレオチドもしくはDNAを結合させる基礎条件について，検討を始めた。

(13) DNAアレイ発現解析システムの構築に関する研究：藤山秋佐夫，大山 彰¹，阿久津達也²（¹三井情報開発，²東京大学医科学研究所）

上記研究課題(10)に関連し，マクロアレイ，マイクロアレイ画像データ解析ソフトウェアの開発を始めた。基本的には，昨年度までに完成させた2次元ゲルパターン解析ソフトウェアの拡張版とし，定量化機能を持たせることを計画している。

研究業績

(1) 原著論文

1. Kato, R., Shirohzu, H., Yokomine, T., Mizuno, S., Mukai, T. & Sasaki, H.: Sequence-ready 1-Mb YAC, BAC and cosmid contigs covering the distal imprinted region of mouse chromosome 7. *DNA Res.* **6**, 401-405, 1999.
2. Danjoh, I. and Fujiyama, A.: *Ras*-mediated signaling pathway regulates the expression of a low molecular weight heat shock protein in fission yeast. *Gene* **236**, 347-532, 1999.

(2) その他

1. Sasaki, H., Ishihara, K. & Kato, R.: Mechanisms of *Igf2/H19* imprinting: DNA methylation, chromatin and long-distance gene regulation (review). *J. Biochem.* (in press).
2. 佐々木裕之：ゲノムインプリンティングとクロマチン構造。蛋白質・核酸・酵素 43(増刊号)細胞核研究の最先端，541-548，1999。
3. 佐々木裕之：インプリンティング。岩波講座・現代医学の基礎5・生殖と発生(森崇英，山村研一編)，183-194，岩波書店，1999。
4. 中村桂子，藤山秋佐夫，松原謙一 共訳：エッセンシャル細胞生物学，(1999) 南江堂。
5. 藤山秋佐夫：ゲノム研究のあゆみー現状と将来，(1999) 免疫・Immunology Frontier，メディカルレビュー社。
6. 藤山秋佐夫：ゲノム解析の現状，(1999) 数理科学，6月号。
7. 藤山秋佐夫：遺伝子の情報を読む，(1999) アエラムック「生物学がわかる」，144-148。

(3) 発表講演

1. 佐々木裕之: DNAメチル化とドメインレベルのインプリンティング制御. 大阪大学蛋白質研究所セミナー: DNAメチル化とゲノムインプリンティング, 大阪, 1月.
2. 佐々木裕之: ゲノムインプリンティングの機構と個体発生. 開放的融合研究公開シンポジウム: 個体発生のゲノム機能と分子機構の解明, 東京, 3月.
3. Fujiyama, A., Park, H-S., Motoyama, A., Terada, Y., Danjoh, I. and Sakaki, Y.: CONSTRUCTION OF CHROMOSOME-ENRICHED HUMAN BAC LIBRARIES. Cold Spring Harbor meeting "Genome sequencing and Biology", Cold Spring Harbor, May.
4. Hattori, M., Ishii, A., Toyoda, A., Taylor, T., Park, H-S, Soeda, E., Ohki, M., Fujiyama, A. and Sakaki, Y.: Chromosome21, 11, and 18 sequencing project at GSC. Cold Spring Harbor meeting "Genome sequencing and Biology", Cold Spring Harbor, May.
5. Park, H-S. and Fujiyama, A.: High resolution map construction and structural analysis of the human chromosome 21 telomeric region. Cold Spring Harbor meeting "Genome sequencing and Biology", Cold Spring Harbor, May.
6. Fujiyama, A., Park, H-S., Motoyama, A., Sakaki, Y. and Danjoh, I.: HUMAN CHROMOSOME21-ENRICHED GENOMIC DNA LIBRARIES, EMBO workshop Molecular biology of chromosome21 and Down syndrome, Tel Aviv, Israel, June.
7. Telomeric repeats specific for Human Chromosome21: Park, H-S., Fujiyama, A., Motoyama, A., Sakaki, Y. and Danjoh, I.: Tel Aviv, Israel, June.
8. Fujiyama, A.: Panelist. International Symposium "Gene medicine: Using the Map", Washington, D.C., USA, Sep.
9. 佐渡 敬, S.-S. Tan, P.P.L. Tam, E. Li: *Dnmt1*欠損マウスにおけるX染色体不活性化. 日本遺伝学会第71回大会, 広島, 10月.
10. 佐々木裕之: DNAメチル化と染色体ドメインレベルのインプリンティング制御. 日本癌学会第58回総会(シンポジウム: エピジェネティクスと発がん), 広島, 9-10月.
11. 佐々木裕之: クロマチンを介したゲノムインプリンティング制御. 第72回日本生化学会大会(シンポジウム: クロマチン機能の制御), 横浜, 10月.
12. 渡辺卓也, 吉村 朗, 三嶋行雄, 遠藤禎郎, 佐々木裕之, 木南 凌: ゲノムインプリントを受けた染色体領域のクロマチン凝縮状態. 第72回日本生化学会大会, 横浜, 10月.
13. 佐々木裕之, 石原 宏, 古海弘康, 加藤玲子: 大規模塩基配列比較に基づく *IGF2/H19* 刷り込み制御配列の同定と解析. 日本人類遺伝学会第44回大会, 仙台, 11月.
14. 佐々木裕之: インプリンティングドメインの構造とクロマチンを介した転写制御. 第22回日本分子生物学会年会(シンポジウム: クロマチン構造と転写制御), 福岡,

12月.

15. 佐渡 敬, M.H. Fenner, S.-S. Tan, P.P.L. Tam, T. Shioda, E. Li : *Dnmt1*欠損マウスにおけるX染色体不活性化. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
16. 千々岩崇仁, 阿部訓也, 酒井康弘, 河野友宏, 田嶋正二, 佐々木裕之 : 哺乳類の新しいDNAメチルトランスフェラーゼ *Dnmt3* の生殖系列における発現. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
17. 石原 宏, 佐々木裕之 : *Igf2/H19* 遺伝子ドメインのインプリンティング制御領域に結合するタンパク質の同定と解析. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
18. 横峯孝昭, 都築政起, 松田洋一, 佐々木裕之 : 鳥類におけるゲノムインプリンティングの検討. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
19. 大野みずき, 青木奈緒, 佐々木裕之 : *Igf2* インプリンティングの初期胚における確立過程 : アレル特異的RNA-FISHによる転写解析. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
20. 水野晋一, 千々岩崇仁, 佐々木裕之 : 新規DNAメチルトランスフェラーゼ *Dnmt3a*, *Dnmt3b* の急性及び慢性骨髄性白血病における発現レベルの検討. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
21. 服部正平, 藤山秋佐夫, 榑 佳之 : 理研GSCでのゲノムシーケンシング. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
22. 矢田哲士, Todd S. Taylor, 渡邊日出海, 十時 泰, 朴 洪石, 豊田 敦, 石井一夫, 藤山秋佐夫, 服部正平, 伊藤武彦, 川越千晴, 高木利久, 榑 佳之 : ヒトゲノムシーケンシング総合支援システム. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
23. Park, H.-S., Ishii, K., Toyoda, A., Taylor, T., Wada, H., Yoshida, S., Yonezawa, M., Hattori, M., Fujiyama, A. and Sakaki, Y.: Structural analysis of the human chromosome21q telomeric region. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
24. 石井一夫, 豊田 敦, Todd S. Taylor, 朴 洪石, 矢田哲士, 十時 泰, 渡邊日出海, 藤山秋佐夫他 : ヒト21番染色体21q22.1の連続した6Mb領域のゲノムシーケンシング. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
25. 藤山秋佐夫, 朴 洪石, 石井一夫, 豊田 敦, 服部正平, 榑 佳之他 : ゲノム科学総合研究センターにおけるヒト18番全染色体のドラフト配列決定計画について. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
26. 豊田 敦, 石井一夫, 藤山秋佐夫, 服部正平, 榑 佳之他 : ヒト21番染色体q21領域のゲノムシーケンシング. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
27. 津藤さおり, 大島健志朗, 藤山秋佐夫, 榑 佳之, 服部正平他 : 大規模シーケンシングにおけるマルチキャピラリーDNAシーケンサー対応プロトコルの確立. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
28. Kanaya, K., Ohyama, A., Akutsu, T. and Fujiyama, A.: DDGEL/DDCHIP: Web

based Systems for Analysis of 2D-gel Electrophoresis Images and DNA Macro/Micro Array Images, The Tenth Workshop on Genome Informatics, Yebis, Tokyo, Dec.

E-b. 脳機能研究部門

脳機能研究部門では、マウス嗅覚系を中心とした神経の発生機構の研究を行っている。3月に助教として平田たつみが名古屋大学から着任し、特別共同研究員佐藤泰史(名古屋大学大学院生)と共に研究を開始した。8月からは高木良子が研究補助員として、12月には川崎能彦が助手として研究室に加わった。

本年度の研究は、文部省から科学研究費特定領域研究「脳研究の総合的推進に関する研究」、「脊椎動物のボディープランの分子的基盤」、および奨励研究(A)、科学技術振興事業団からは戦略的基礎研究「脳を知る」とさきがけ21「素過程と連携」の助成を受けた。また、総合研究大学院大学専攻間での共同研究を行い(代表 嶋本伸雄)、研究費の助成を受けた。

(1) 神経軸索の側枝形成に関する研究(論文1): 平田たつみ

発生時、神経細胞の多くは、軸索を枝分かれさせて軸索側枝と呼ばれる突起を作り、この先端で標的細胞とシナプス結合する。複数の標的細胞と結合する必要がある神経細胞にとって、この方法は非常に効率が良いと思われる。実際、軸索側枝によるシナプス形成は、ほ乳類神経系の様々な場所で一般的に観察されるが、その機構についての研究は驚くほど少ない。

マウス終脳の吻側端にある嗅球には、僧帽細胞と呼ばれる神経細胞が存在する。この細胞の軸索は、側枝を発達させて標的細胞とシナプス結合する。この側枝形成過程を追っていくと、僧帽細胞の主軸索の伸長が終了して2-3日の間を置いて、突然、主軸索の様々な部位から軸索側枝が芽生え始める事がわかった。軸索側枝形成過程を再現できる終脳の器官培養系を確立し、側枝形成開始のタイミングを決めている要因を検討した。その結果、軸索側枝は僧帽細胞の成熟にしたがって自然に発生してくるのではなく、発生のある時期に軸索周囲に現れる環境因子によって誘導されてくる事が明らかとなった。この側枝形成を誘導する因子は主軸索の軸索伸長をガイドする因子とは明らかに異なると考えられた。

(2) 僧帽細胞軸索をガイドする lot 細胞の発生機構: 平田たつみ, 富岡直美¹, 佐藤泰史¹(¹名古屋大学)

僧帽細胞の主軸索は終脳外側の狭い領域を尾側に向かって伸長し、嗅索(lateral olfactory tract; LOT)と呼ばれる軸索の束を形成する。我々の作製したモノクローナル抗体 lot1 が認識する細胞(lot 細胞)は、嗅球から軸索が伸長し始めるより前から、将来この軸索が伸長することになる経路にわたって細胞の帯を作って配列する。嗅球か

ら伸長した軸索は、このlot細胞がつくった細胞の帯を足場にして伸長する。lot細胞を破壊すると、嗅球からの軸索伸長は停止し、嗅索は形成されない。以上の結果は、lot細胞が嗅球の軸索をガイドする道標的な役割を果たす細胞である事を示している。

このようにlot細胞が終脳における嗅索の位置を決定していると考えられるが、なぜこの細胞が予定嗅索領域に配列するのかについては謎であった。lot細胞はマウス胎生9.5-10.5日目(E9.5-10.5)という非常に早いステージに最終分裂を終えて分化する神経細胞であるが、この細胞がモノクローナル抗体lot1で検出できるようになるのはE12.5からである。このステージではすでにlot細胞は予定嗅索領域に局在しており、単純な抗体染色からはlot細胞の発生過程を追跡することができない。そこで本年度は、様々な培養法を用いてlot細胞が終脳のどこで発生し、どのようにして嗅索領域に局在するようになるのかを解析した。またlot細胞発生の分子機構を探るために、脳の形態形成に関与するとされる様々な因子の突然変異マウスにおけるlot細胞の動態を解析した。

lot細胞が最終分裂を行っているE10.5の終脳を様々な領域に分割して分散細胞培養し、lot細胞が終脳のどの領域から分化してくるのかを検討した。この時期の終脳は、遺伝子発現の様式の違いから、背側の新皮質と腹側の神経節隆起との2つの区画に分けることができる。lot細胞はそのうち新皮質の細胞を培養したときのみ分化し、神経節隆起を培養しても分化しなかった。また終脳新皮質の中では、どこの部位からもまんべんなく分化してきた。

実際の生体内でlot細胞が新皮質全体で発生してくるとすれば、これらの細胞はかなりの距離にわたって終脳半球を腹側方向に移動しなければならない。しかしこれまでに腹側方向に移動する細胞の報告はない。本当にこのような細胞移動様式が存在するのかを確かめるために、東北大学の隅田典子博士と共同研究を行い、マウス全胚培養法による細胞移動の解析を行った。その結果、実際に終脳新皮質全体で生まれた細胞が腹側方向に移動し、予定嗅索領域に局在する事が確かめられた。以上の結果を総合すると、生体内でlot細胞は終脳新皮質全体で発生し予定嗅索領域まで移動するという興味深い発生過程をたどることが示唆された。

いくつかの形態形成遺伝子の突然変異マウスにおいてlot細胞の解析を行ったところ、転写制御因子Gli3に変異をもつXt¹マウスにおいて、lot細胞が予定嗅索領域に局在せず、新皮質全体にわたって集塊を作りながら分散して存在していることが明らかとなった。全胚培養法を用いて細胞移動を解析した結果、Xt¹マウスにおいては、終脳の腹側方向への細胞移動がほとんど認められなかった。この細胞移動の異常が、Xt¹の終脳にみられるlot細胞の位置異常の原因であると考えられる。

Xt¹マウスは系統生物研究センター哺乳動物遺伝研究室(教授城石俊彦)の「系統保存事業」により分与された。

研究業績

(1) 原著論文

1. Hirata, T. and Fujisawa, H.: Environmental control of collateral branching and target invasion of mitral cell axons during development. *J. Neurobiol.* **38**, 93-104, 1999.

(2) その他

1. 平田たつみ, 佐藤泰史: マウス終脳培養系を用いた軸索ガイダンス機構の解析. *細胞工学* **18**, 77-83, 1999.

(3) 発表講演

1. 平田たつみ: Development of guidepost cells for mitral cell axons in the lateral olfactory tract. 第32回日本発生物学会 ワークショップ, 神戸, 5月.
2. 平田たつみ, 佐藤泰史, 藤澤 肇: マウス嗅球-終脳神経回路にみられる軸索ガイド機構. 第22回日本神経科学大会 シンポジウム, 大阪, 7月.
3. 平田たつみ: マウス終脳器管培養系を用いた軸索ガイド機構の解析. 第40回日本組織細胞化学会 シンポジウム, 京都, 12月.
4. 佐藤泰史, 平田たつみ, 藤澤 肇: 神経突起伸長を阻害するモノクローナル抗体の作成. シンポジウム脳神経科学の最先端 1999, 名古屋, 12月.

E-c. 応用遺伝客員研究部門

(1) イネにおける茎頂分裂組織の分化, 維持機構: 長戸康郎

茎頂分裂組織は植物の地上部を構成するすべての器官の源であり, 植物の形作りの根幹をなすものである. そこで, イネの茎頂分裂組織の分化決定並びに維持機構の解析を行っている. 4 遺伝子座 (*SHL1* ~ *SHL4*) に由来する茎頂分裂組織を欠失する *shootless* 変異体を 9 系統同定し, 解析した (Sato et al. 1999). それらの変異体では, 茎頂分裂組織とともに鞘葉, エピブラストも欠失しており, 鞘葉, エピブラストの分化は茎頂分裂組織に依存することが明らかになった. しかし, 胚盤上皮組織に特異的に発現する *RAmy1A* は *sh1* 変異体でも正常に発現し, 胚盤は茎頂分裂組織と独立に分化する. 茎頂分裂組織及びその近傍組織で発現し茎頂分裂組織の分化と維持に重要であると考えられているイネのホメオボックス遺伝子 *OSH1* の発現領域は, *sh11* 及び *sh12* 変異体では極端に狭くなっており, *SHL1* 及び *SHL2* 遺伝子は *OSH1* の上流で茎頂分裂組織の分化決定に関与していると考えられる. 一方, *sh13* と *sh14* 変異体での *OSH1* の発現パターンは正常であり, *SHL3* と *SHL4* は *OSH1* の下流で茎頂分裂組織の分化に関わっていると考えられる.

更に, 茎頂分裂組織の維持に関与する遺伝子を同定するために, 発芽後まもなく枯死

する変異体をスクリーニングした。そのうち発芽後初期に2, 3枚を出葉して死ぬ変異体は, *SHL2*座の弱いallele(*sh12-6*)であることが判明した。*sh12-6*では, 胚発生で茎頂分裂組織を分化するが2枚程度の葉を分化した後やがて消失すること, また鞘葉は分化しないことが明らかになった。*sh12-6*の胚における*OSH1*の発現領域は, 強いallele(*sh12-1*~*sh12-5*)と同様に, 狭くなっていた。従って, *SHL2*遺伝子は, 茎頂分裂組織の分化決定だけでなく, その維持にも関与している。

(2) イネにおける葉の分化様式の解析: 長戸康郎

茎頂分裂組織から分化する葉の配置や形態は植物の形を作り上げる大きな要因となっている。茎頂分裂組織からの葉原基分化の規則性は古くから注目されてきたが, 遺伝的制御機構に関してはほとんど明らかになっていない。昨年, 葉原基分化の時間的規則性(葉間期)を制御する*PLA1*遺伝子を解析した。そこで, 次に空間的規則性(葉序)の制御について解析した。野生型のイネは1/2互生葉序を示すが, *decussate(dec)*変異体の約半数の個体では, 第3葉に続き2対の葉を十字対生で分化した。残りの個体でもラセンなどの様々な葉序の異常が見られた。*dec*変異体の茎頂分裂組織を観察したところ, 高さは野生型と変わらなかったが, その幅は非常に大きくなっていった。従って, 葉の分化位置の制御には頂分裂組織のサイズ, 特に幅が重要であると考えられる。なお, 葉序の異常は初期に限られ, その後は正常な互生に復帰した。

この*dec*変異体に関して更に興味深いことは, 対生あるいはラセン葉序で分化した葉では, 葉身-葉鞘境界が斜めにずれて形成されることである。すなわち, 1つの葉身(葉鞘)の中でも左右の領域により伸長の程度に差が認められた。このずれには規則性があり, より新しい葉原基に近い葉身の領域の伸長が顕著であった。このことは, 葉原基が分化する位置によって葉の長軸方向の伸長が規定されることを示している。従って, *DEC*遺伝子は, 茎頂分裂組織からの葉原基分化位置を制御するとともに, 葉の形態形成にも重要な機能を持っていると考えられる。

(3) 台湾先住民の集団遺伝学的研究: 寶来 聰

血球酵素型: Feng Jin¹, 斎藤成也, 石田貴文², Cheih-Shan Sun³, I-Hung Pan⁴, 尾本恵市⁵, 寶来 聰¹(中国科学院, ²東京大学, ³台東病院, ⁴台湾大学, ⁵国際日本文化研究センター)

台湾に居住する9つの先住民族集団(Ami, Atayal, Bunun, Paiwan, Puyuma, Rukai, Saisiat, TsouおよびYami)の集団遺伝学的研究を行った。12種類の赤血球酵素(酸性ホスファターゼ(AcP), アデニル酸キナーゼ, カルボネートアンヒドラーゼ1, カルボネートアンヒドラーゼ2, エステラーゼD(EsD), グリオキサラーゼI(GLO), グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ(GPT), グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ, 乳酸脱水素酵素, マレイン酸脱水素酵素, ホスホグルコン酸脱水素酵素(PGD)およびホスホグルコムターゼ1(PGM1))について, 等電点電気泳動法およびデンブレン電気泳動法により多型解析した結果, 6種類のタンパク遺伝子座(AcP, EsD, GLO, GPT, PSDおよびPGM1)において多型性を認めた。また, これら台湾の先住民族集団においては, 3種

類の稀な対立遺伝子(PGM1*6, GPT*6 および EsD*7)が比較的高頻度に出現するという特徴が観察され、これらのホモ接合体も認めた。既に報告しているアデノシンデアミナーゼ多型のデータを含め、13種類の赤血球酵素遺伝子座から得た先住民族間の遺伝距離に基づき、民族間の系統解析を行ったところ、彼らの居住地域との間にはある程度の相関を認めたものの、言語学上の分類との間には全く相関を認めなかった。詳細は文献7に発表した。

(4)アンデスのミイラに存在した古代のヒトT細胞白血病のタイプIプロウイルス: Hong-Chuan Li¹, 藤吉利信¹, Hong Lou¹, 屋敷伸次¹, 園田俊郎¹, Luis Cartier², Lautado Nunez³, Ivan Munoz⁴, 寶来 聰, 田島和男⁵(¹鹿児島大学, ²チリ大学, ³北カトリック大学, ⁴タラパカ大学, ⁵愛知がんセンター研究所)

ヒトT細胞白血病ウイルスI型(HTLV-I)が原因となる疾患を有する患者の居住地や民族集団を世界規模で調査することにより、HTLV-I感染の歴史が明らかになるかもしれない。アンデス地方の先住民は、日本人と類似した遺伝学的な特徴を持ち、また、この両集団において、HTLV-Iは一般的に検出される。今回、アジアとアンデス地方におけるHTLV-Iが共通の起源を持つかどうかを明らかにするために、アンデスの約1500年前のミイラから得たHTLV-IのプロウイルスDNAを分析した。104個体のミイラの骨髄標本から得たDNAサンプルを用いて、Polymerase Chain Reaction(PCR)法によりヒトβグロビン遺伝子DNAの増幅を確認したところ、2サンプルにおいて、βグロビン遺伝子の部分配列(長さ110bp)の増幅が認められた。これら2つのDNAサンプルのうちの1サンプルにおいては、PCR法によるHTLV-I-pX(p40xおよびp27xをコードするアミノ酸指定領域)、およびHTLV-I-LTR(長末端反復)遺伝子DNAの部分配列(それぞれ長さ159bp、および157bp)の増幅も認めた。ミイラの骨髄より抽出した古代のHTLV-I-pXおよびHTLV-I-LTRのPCR産物をクローン化し、各クローンにおいて塩基配列を決定したところ、現在のアンデスの人々および日本人で見られるものと類似していた。但し、全てのミイラDNAのクローンが同一の塩基配列を有したわけではなく、一部ではあるが、異なる塩基配列を持つクローンも認めた。以上の結果は、HTLV-Iが、アンデス地方が植民化される以前に、古代のモンゴロイドによりアンデスへと運ばれたことを示している。古代のHTLV-Iの塩基配列の分析は、先史時代におけるヒトの移動だけではなく、レトロウイルスの感染の歴史を研究する上でも有用な手段となるであろう。詳細は文献8に発表した。

研究業績

(1)原著論文

1. Yamaguchi, J., Itoh, S.-I., Saito, T.-K., Ikeda, A., Tashiro, T. and Nagato, Y.: Characterization of β -amylase and its deficiency in various rice cultivars. *Theor. Appl. Genet.* **98**, 32-38. 1999.
2. Miyoshi, K., Nakata, E., Nagato, Y. and Hattori, T.: Differential *in situ* expres

- sion of three ABA-responsive genes of rice, *Rab16A*, *REG2* and *OSBZ8*, during seed development. *Plant Cell Physiol.* **40**, 443-447, 1999.
3. Satoh, N., Hong, S.-K., Nishimura, A., Matsuoka, M., Kitano, H. and Nagato, Y.: Initiation of shoot apical meristem in rice: characterization of four *SHOOTLESS* genes. *Development* **126**, 3629-3636, 1999.
 4. Kikuchi, K., Ueguchi-Tanaka, M., Yoshida, K. T., Nagato, Y., Matsusoka, M. and Hirano, H.-Y.: Molecular analysis of the NAC gene family in rice. *Mol. Gen. Genet.* (in press)
 5. Kinae, T., Matsuoka, M. and Nagato, Y.: *apical displacement 1* affects the shoot position and the number of radicles in rice embryo. *Rice Genet. Newslett.* **16**, 1999. (in press)
 6. Itoh, J.-I., Kitano, H. and Nagato, Y.: Leaf development in *shoot organization2* mutant of rice. *Rice Genet. Newslett.* **16**, 1999. (in press)
 7. Jin, F., Saitou, N., Ishida, T., Sun, C.-S., Pan, I.-H., Omoto, K. and Horai, S.: Population genetic studies on nine aboriginal ethnic groups of Taiwan. I. Red cell enzyme systems. *Anthropological Science* **107**(3): 229-245, 1999.
 8. Li, H.-C., Fujiyoshi, T., Lou, H., Yashiki, S., Sonoda, S., Cartier, L., Nunez, L., Munoz, I., Horai, S. and Tajima, K.: The presence of ancient human T-cell lymphotropic virus type I provirus DNA in an Andean mummy. *Nature Medicine* **5**(12): 1428-1432, 1999.

(2) その他

1. 長戸康郎：実験生産環境生物学．東京大学大学院農学生命科学研究科生産・環境生物学専攻編，朝倉書店，東京(分担執筆)1999．
2. 長戸康郎，北野英己：イネの胚発生における茎頂分裂組織の構築．細胞工学別冊植物細胞工学シリーズ12，「新版植物の形を決める分子機構」秀潤社，pp 60-67. 1999.
3. 寶来 聡：現代人の起源「メディアスケープ・フォーラム」II. バイオパラダイム・セッション 大日本印刷 15:1-20, 1999.
4. 寶来 聡：DNAで探る現代人の起源と進化。「遺伝子で生物の進化を考える」第13回「大学と科学」公開シンポジウム講演収録集，クバプロ，pp.135-147，1999.

(3) 発表講演

1. 山口貴大，川崎信二，長戸康郎，平野博之：イネの雌蕊のアイデンティティーの決定と葉の中肋の形成を制御する *DROOPING LEAF (DL)* 遺伝子のポジショナルクローニング．日本植物生理学会1999年度年会，3月．

2. 池田恭子, 佐々直子, 佐藤 光, 長戸康郎: イネの穎の数とアイデンティティーに関する突然変異体について. 日本育種学会第95回講演会, 4月.
3. 春原英彦, 魚津桜子, 北野英己, 長戸康郎: イネの節間伸長に対する穂の分化異常の影響. 日本育種学会第95回講演会, 4月.
4. 菊池一浩, 原田浩介, 吉田 薫, 長戸康郎, 平野博之: イネの *OsNAC8* の遺伝子構造と発現解析. 日本育種学会第95回講演会, 4月.
5. 山木辰一郎, 木苗貴秀, 長戸康郎: イネの種子中の胚の位置を変更する突然変異. 日本育種学会第95回講演会, 4月.
6. 木苗貴秀, 北野英己, 長戸康郎: イネの幼根数が増加する突然変異体の解析. 日本育種学会第95回講演会, 4月.
7. 林田恵美, 伊藤純一, 長戸康郎: イネの葉の表裏の分化に関する変異体の解析. 日本育種学会第96回講演会, 9月.
8. 伊藤純一, 北野英己, 松岡 信, 長戸康郎: 分子マーカーを用いたイネ *shoot organization (sho)* 突然変異体の解析. 日本育種学会第96回講演会, 9月.
9. 佐藤奈美子, 佐藤 光, 長戸康郎: イネの栄養生長初期が継続する変異体の解析. 日本育種学会第96回講演会, 9月.
10. 山口貴大, 石川元一, 川崎信二, 松岡 信, 長戸康郎, 平野博之: イネホメオティック遺伝子 *DL* の単離. 日本育種学会第96回講演会, 9月.
11. Horai, S.: Mitochondrial DNA polymorphism and the peopling of East and Southeast Asia. International Symposium on "Recent Progress in the Studies of the Origin of the Japanese. International Research Center for Japanese Studies, Kyoto, February 22-23, 1999.
12. 寶来 聰: DNA 考古学 特別招待講演. 第7回日本情報考古学会大会, 奈良先端科学技術大学院大学, 奈良, 3月22日.
13. 寶来 聰: シンポジウム「コラボレーションを求めて」からビジネスを考える. 「メディアスケープ・フォーラム」II, バイオパラダイム・セッション, 東京. 6月18日.
14. 寶来 聰: DNA でみる日本人と韓国人 ワークショップ「日本人と韓国人-歴史と文化-」. 学習院大学, 東京, 10月16日.
15. 寶来 聰: DNA から探るヒトの起源, 現代人の起源, 日本人の起源. 第390回総合カンファレンス, 東京都立駒込病院, 東京, 10月20日.
16. Horai, S.: Mitochondrial DNA polymorphism and evolution of Asian Population. Gordon Research Conference on Molecular Evolution, Hayama, October 24-29, 1999.
17. Horai, S.: Mitochondrial DNA polymorphism and the peopling of Asia. Seminar of Institute of Medical Biology, Kunming, China, November 23, 1999.

F. 系統生物研究センター

系統生物研究センターは、動植物・微生物の遺伝実験生物系統を基盤としたユニークで活発な研究を展開している。また、遺伝資源としての実験生物系統の開発・保存分譲事業を進めているのも本センターの特色の一つである。この期間の職員の異動としては、発生工学研究室の中辻憲夫教授の京都大学再生医学研究所への転出と無脊椎動物研究室の林 茂生助教授の教授昇任があった。従って、各研究室を構成する教官名は次のようになった。哺乳動物遺伝研究室(城石俊彦教授, 小出 剛助手), 発生工学研究室(中辻憲夫教授(兼任), 斉藤哲一郎助手, 多田 高助手), 植物遺伝研究室(倉田のり助教授, 伊藤幸博助手, 実験圃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 茂生教授, 後藤 聡助手)。

F-a. 哺乳動物遺伝研究室

この研究室では、標準的な実験用マウス系統に加えて、野生マウス自然集団から生物機能に関する特色ある遺伝子資源を導入して新しい実験用マウス系統を開発し、それらを用いて「染色体間組換え機構の研究」、「形態形成機構の遺伝学的研究」、「マウス行動遺伝学」について独自の研究を展開した。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、さらにゲノム解析的手法が活用された。

前年度に引き続き、石島淳子が、日本学術振興会特別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、磯部 拓, 牧野 茂, 岡 彩子の3名が大学院に在籍し、清水邦彦(日本大学大学院歯学研究科), 矢田有加里(お茶の水女子大人間文化研究科)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), 杉山博文(筑波大学動物実験センター)の7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), 佐伯宣久(琉球大医学部)らが研究に参加した。

本研究室の海外における研究活動は次の通りである。城石俊彦は、7月1日から3日まで米国メイン州ジャクソン研究所で開催されたワークショップ「Advanced Functional Genomics」に参加し発表討論を行った。城石俊彦, 小出 剛の2名は、10月31日から11月3日まで米国ペンシルバニア州フィラデルフィアで開催された第13回国際マウスゲノム会議に出席し発表討論を行った。マウス系統の維持分譲事業としては、「系統保存事業費」及び文部省がん特別研究「実験動物委員会」(山村研一委員長)の援助を受けた。平成11年12月現在、88系統のマウスを系統生物センターの附属マウス飼育棟, 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、桜井宣子がJACから派遣され、主にマウス受精卵及び配偶子の凍結保存を担当した。上記の維持系統は、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。

(1) Synaptonemal complex(SC)におけるホットスポットの空間配置の解析：磯部 拓，松田洋一¹，城石俊彦¹(北海道大学理学部)

第一減数分裂初期において、2本の相同染色体は、お互いの相同な領域を対合させ、相同的組換えを起こし分裂する。相同染色体どうしが、完全に対合するパキテン期において、染色体は、Synaptonemal complex(SC)と呼ばれる特異的な高次構造を取る。この構造は、父方と母方の染色体が対合すると考えられているSCコアと、そこからランプブラシ状にクロマチンがループアウトした領域に分けることが出来る。現在、SCを構成する蛋白質は詳しく調べられていて、SCコア上に、直接組換えに関わる蛋白質やその複合体が局在していることが分かっている。一方、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的組換え部位が、塩基配列レベルで体系的に調べられている。これらの研究で、組換えがランダムに生ずるのではなくホットスポットと呼ばれる特異的な染色体部位に限定して起こることが明らかになっている。そこで我々は、ホットスポットがSCコアに対してどのような空間配置を取るかを明らかにするため、SCコアの抗体で免疫染色し、ホットスポットを含むDNAプローブを用いてFISHを行った。そして、抗体で染色したコア領域にFISHシグナルが重なってくるかどうかを調べた。その結果、マウスMHCクラスII領域のホットスポットの一つである*Lmp2*ホットスポットを含むFISHシグナルは、t検定により、ホットスポット以外の領域にあるFISHシグナルより、SCコアに有意に近いことがわかった。また、同時に、ホットスポットシグナルとSCコアの距離の分散が、それ以外のFISHシグナルとSCコア間の距離の分散よりも有意に小さいことが、F検定により分かった。この結果は、少なくとも一つのホットスポットは、他の領域よりもSCコアに近いことが示された。

(2) 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¹，K. Fischer Lindaw²，五條堀孝，Silvana Gaudieri³，城石俊彦¹(¹理化学研究所，²Univ.Texas，³Univ.Western Australia)

マウス主要組織適合抗原複合体(MHC)のクラスII領域では、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。この領域においては、4つのホットスポットの報告がある。我々は、*Pb* 遺伝子近傍にあるホットスポットの位置と塩基配列を決定し、これまで解析した*CAS4/wm7*の交配由来の6つの組換え体に加え、*wm7*由来以外の組換え体の組換え部位を決定した。その結果、組換え点は、*wm7*由来の組換え体より広範な領域に分布した。また、我々の解析した*Pb*ホットスポットを含め、現在知られているMHCクラスII領域内の全てのホットスポットについて共通する塩基配列の探索を行った。さらに、近年、データベース上に公開されたクラスII全領域の塩基配列情報(Rowen

et al. Unpublished)を基に、ホットスポット以外の領域も含め、さらに詳細な解析を行った。その結果、4カ所全てのホットスポット部位に、オクタマー転写因子結合配列、Bモチーフ様配列(転写因子結合配列)、TCTGあるいはCCTGの4塩基からなる繰り返し配列の存在を見いだした。この3つの塩基配列は、ホットスポットでは一定の距離間隔を持って存在し、同時に、オクタマー転写因子結合配列とBモチーフ様配列の方向が逆向きである。これらの個々の配列は、MHCクラスII領域に頻繁に出現するが、これらが一定の短いDNA断片中に、同様な方向を持って出現する頻度は、ホットスポット部位において高いことが示唆された。

(3) マウス・コンソミック系統における雄の生殖能力低下に関する研究：岡 彩子，三田 晏彦，城石俊彦

現在、本研究室において、21種類の全染色体のうち1本の染色体のみが異なるマウス系統の由来を持ち、その他の遺伝的背景が共通のマウス系統由来であるコンソミック系統を作製している。コンソミック系統を作製する際には、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ため、受容系統としては近交系マウスC57BL/6Jを、供与系統としてはマウス別亜種に属する日本産野生マウス(モロシヌス亜種)由来の近交系であるMSM系統を使用している。コンソミック系統の作製は、供与系統に受容系統を繰り返し戻し交配することにより行っている。本研究室では、21種類の染色体すべてについてのコンソミック系統を作製中であるが、その過程でX染色体のコンソミック系統の雄マウスにおいて世代を重ねるごとに生殖能力の減少が認められた。この雄マウスの精子頭部には形態異常があり、*in vitro* fertilization(IVF)実験において受精能の著しい低下が認められた。現在、頭部の形態異常によって受精のどの段階が制約されるのかについて解析している。また、このX染色体コンソミック系統の精子形態異常は、供与系統由来のX染色体上のある特定の領域(遺伝子)と受容系統由来の常染色体もしくはY染色体上の領域(遺伝子)がうまく協調して働かないことにより発生すると考え、この二つの領域をマッピングする予定である。

(4) 軸前側多指症を示すマウス突然変異 *mesenchymal dysplasia(mes)* の解析：牧野 茂，矢田有加里，樹屋啓志，深見伸一¹，中福雅人¹，田村 勝²，斎藤哲一郎²，橋本康弘³，米川博通⁴，城石俊彦¹(東大・院医・神経生物，²発生工学研究室，³理研・糖鎖機能，⁴都立臨床床研・実験動物)

*mesenchymal dysplasia(mes)*は、第13番染色体上にマップされている劣性マウス突然変異で、軸前側多指症の他に、頭部や胸骨の形態異常、皮膚の過形成、体重の増加など、中胚葉由来の組織の異常を示す。*mes*原因遺伝子を探索するため、日本産野生マウス由来のMSM系統を用いた戻し交配を行い、得られた241匹のN2個体で連鎖解析を行った。その結果、*mes*はD13Mit318とD13Mit187の間1.7cMの領域にマップされた。その領域にはすでに複数の遺伝子がマップされているが、そのうちの一つ、*patched(pte)*は、遺伝的に*mes*と分離されないことが分かった。そのため、*mes*ホモ個体で*pte*遺伝

子の塩基配列を調べたところ、染色体上に32bpの欠失が存在することが分かった。さらに、この32bpの欠失が*mes*の表現型の原因になっているかどうかを調べるため、*ptc*ノックアウトマウス(*ptc*^{-/-}) (Goodrich et al., 1997)を用いたアレリズムテストを行った。*ptc*^{-/+}個体と*ptc*^{+/*mes*}個体を交配し、得られたF1個体の表現型と遺伝型を調べたところ、多指を示した37個体全てが*ptc*⁻と*mes*の両方のアリルを持っていた。また、多指を示さなかった173個体全てが、それぞれどちらかのヘテロあるいは野生型であった。以上の結果より、*mes*は*ptc*のアリルであることが明らかとなった。

*Ptc*は、12回膜貫通型のタンパク質で、脊索や神経管の底板、肢芽のZPA、肺などで発現される分泌タンパク質Sonic Hedgehog (Shh)の受容体である。Shhが存在しないとき、*Ptc*は、もう一つの膜タンパク質であるSmoothened (*Smo*)の活性を抑制している。Shhが存在するとき、*Ptc*は、Shhと結合し不活性化される。そのため、構成的なシグナル伝達能を持った*Smo*の*Ptc*による抑制がはずれ、様々な下流の遺伝子が活性化される。*mes*の*Ptc*は、32 bpの欠失により、C-末端細胞内ドメインのほとんどを失っていると推定される。C-末端細胞内ドメインの機能はまだ分かっていないが、*ptc*^{-/*mes*}個体は、*ptc*^{-/+}個体や*ptc*^{*mes*/*mes*}個体よりも激しい表現型を示すことから、*Ptc*^{*mes*}は*Smo*活性を完全には抑えることができないhypomorphなアリルであることが示唆された。

ptc^{-/-}の個体は、発生約10日の段階で致死になるため、*ptc*の発生後期における機能をノックアウトマウスを用いて調べることは今まで不可能であった。しかし、*ptc*^{-/*mes*}個体の生存率を発生を追って調べたところ、生後すぐに呼吸不全で致死になるものの、それまではほぼ全ての個体が生存することが分かった。つまり、*ptc*^{-/*mes*}個体を用いることで、今まで観察することのできなかつた様々な器官形成における*ptc*の機能を調べることができるようになった。現在、肺や肢芽を中心に*ptc*の発生後期における機能を解析している。

(5) 軸前側多指症を示すマウス突然変異体X-linked polydactyly (*Xpl*), luxate (*lx*)の解析: 矢田有加里¹, 樹屋啓志², 牧野 茂, 城石俊彦¹ (お茶の水女子大・人間文化研究科, ² 理研ゲノム科学総合研究センター)

マウスの四肢前後軸形成には、肢芽の中胚葉後端部に位置するZPAと、外胚葉末端部に位置するAERが位置情報源として働くことが知られている。ZPA活性の本体は、分泌型のタンパク質であるSonic Hedgehog (SHH)であると考えられている。マウスには軸前側多指症を示す自然突然変異体が多数存在し、それらの多くが肢芽前側で異所的な*Shh*を発現することが分かっている。

後肢にのみ軸前側多指症を示すX-linked polydactyly (*Xpl*)は、古くから知られている優性の突然変異体で、X染色体上にマップされている。*Xpl*遺伝子の単離を目的として、日本産野生マウス由来の近交系であるMSM系統を用いた戻し交配により得られた1,262個体のN2個体を用いて遺伝的連鎖解析を行った結果、*Xpl*遺伝子は、X染色体上のDNA多型マーカー*DXMgc39*と*DXMit121*の間0.32cMの領域に位置することが分かった。こ

の領域には、細胞の増殖因子の一つである *Figf* や、*Hox* 遺伝子の発現調節に関するポリコム遺伝子 *Scml2* がマップされている。また、ヒトにおいて手足や顔面の形成に異常を示す遺伝的疾患 oral-facial-digital syndrome type 1 (OFD1) が、*Xpl* と相同な領域にマップされていることから、*Xpl* は、OFD1 のマウスモデルであると考えられた。さらに、*Xpl* 胚を用いた *in situ* hybridization の結果、後肢肢芽において前側での異所的な *Shh*, *Fgf4*, *Hoxd11* の発現が観察された。このような肢芽前側での重複した ZPA 活性が *Xpl* 個体に見られるような軸前側への過剰指形成の原因となっていると考えられた。

また、別の突然変異体 *luxate* (*lx*) も *Xpl* と非常に類似した表現型を示すことが分かっている。*lx* 胚後肢肢芽においても前側での異所的な *Shh*, *Fgf4*, *Hoxd11* の発現が観察されたが、*Fgf4* の発現領域全体が前側へシフトしており、*lx* の多指症発症の機構は、*Xpl* とは異なる可能性が示唆された。このことは、*lx* と *Xpl* のダブルヘテロ接合体の表現型からも支持され、マウス正常胚において、*lx* 遺伝子は肢芽発生期の早い時期に働き、*Xpl* 遺伝子は *lx* 遺伝子より遅い時期に働いている可能性が考えられた。

(6) 軸前側多指症マウス, Hemimelic extra-toes (*Hx*) の変異遺伝子の探索：嵯峨井知子, 樹屋啓志, 清水邦彦¹, 城石俊彦¹ (日本大学松戸歯学部小児歯科学教室)

四肢は、多数のシグナル分子の複雑な相互関係によって形成される。肢芽は前後、遠近、背腹の三方向への軸に沿って成長するが、このうち前後軸に沿った四肢の形成は肢芽後端部の ZPA 部位に発現する sonic hedgehog (*shh*) によって支配される。マウスには四肢の形態異常が多数知られているが、このうち軸前側(親指側)に過剰指を示すマウスの多くは、*shh* を肢芽の前端部にも異所的に発現する。そのうちの一つ、*Hx* マウスは、軸前側多指および脛骨の形成不全を示し、その原因遺伝子は、合指症を示す Hammer-toes マウスの遺伝子とともに第5染色体上の *shh* の極近傍にマップされている。また、ヒトの相同領域にも複雑な多指・合指症がマップされており、*shh* の近傍には四肢の形態形成に関与する複数の遺伝子の存在が示唆される。すでに報告したように、遺伝的連鎖解析および *shh* から *Hx* 領域にいたる物理的地図作成により、*Hx* の変異は、*shh* の翻訳領域から約 1Mb テロメア側に位置する約 150kb の単一 BAC クローンに含まれることがわかってきている。今回、この BAC に含まれる遺伝子をクローニングするため 9.5-11.5 胚由来のライブラリーを用いて cDNA セレクションを行った結果、ヒトの相同領域に報告されている転写産物のうち二つに相当する断片を得た。これらの翻訳領域の全長を含む cDNA クローンを同定し、染色体上の位置を調べたところ、一つについては、5' 側の一部が *Hx* 領域に含まれることがわかった。このクローンの塩基配列を *Hx* マウスについて調べたが、これまでのところ翻訳領域内に変異を見つけることはできていない。また、*Hx* の変異が四肢に限定されていることを考え、このクローンをプローブとして 11.5 日胚の肢芽に由来するライブラリーのスクリーニングを試みたが肢芽に特異的なアイソフォームを見つけることはできなかった。*Hx* 領域には他の遺伝子は報告されていない

ため、新規遺伝子の探索とこのクローンの非翻訳領域の解析を目的として現在 *Hx* 領域のゲノム解析をすすめている。

(7) 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¹，小出 剛，三田 豊彦，内田紀久枝，若菜茂晴²，吉川欣亮³，米川博通³，佐々木博己⁴，城石俊彦¹ 日本大学松戸歯学部小児歯科学教室，² 実験動物中央研究所 DNA 解析室，³ 東京都臨床医学総合研究所実験動物研究所，⁴ 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。*Ts* ホモ個体は発生初期段階の桑実期に形態の異常を示し、胚盤胞期にその発生を止めることが知られている。*Ts* ヘテロ個体は、ホメオティックトランスフォーメーションを含む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ている。我々は、これまでに *Ts* 遺伝子がマウス11番染色体遠位部に位置する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の領域に存在する事を明らかにし、YAC clone 及びBAC clone によるこの領域のcontigを完成させている。これらのYAC clone 及びBAC clone の部分塩基配列を調べることで、この領域に位置する新たなマーカーを作成し、更に詳細な解析を加えた結果、*Ts* 遺伝子は2つのマーカー *D11Rin56* と *D11Nig17* に挟まれた約250kbp以内の領域に存在することが明らかとなった。この領域に存在する遺伝子を単離するために、マウス胎児期のcDNA library を作成し、このcDNA library とBAC clone を用いたcDNA selection を行い、これまでに5種類のcDNA clone を得た。5種類のcDNA clone はインターネット上のゲノム情報データベース(BLAST)によるホモロジーサーチの結果、それぞれ murine endogenous retrovirus with leucine tRNA primer (*MuERV-L*)、Rat ribosomal protein L38 (*RpL38*)、myotube EST clone、sea urchin dynein intermediate chain3 (*DYIMC-3*)、及びkinesin と高い相同性を示している。

Ts マウスを対象にして、これらの遺伝子の発現をNorthern blot 解析で調べた結果、*RPL38* 遺伝子の発現量が減少していることが確認できた。そのため *Ts* マウスにおける *RPL38* 遺伝子の領域を詳細に解析した結果、*Ts* マウスでは、*RPL38* 遺伝子を含む18kbの領域が欠如することを明らかにした。加えて、*Ts* マウスの allele と考えられている Tail-short shionogi (*Tss*) マウス及び、Rabo torcido (*Rbt*) マウスにおいて *RPL38* 遺伝子を調べたところ、*Tss* マウスでは *RPL38* 遺伝子の第3exon と第4exon の間に375bp の insertion が存在し、*Rbt* マウスではスプライジングのドナーサイトに1bp の insertion が認められた。両変異マウスとも開始コドン近傍でフレームシフトが生じ、正常なタンパクが生成できないと予想される。以上の結果より、これらのマウスで観察できるホメオティックトランスフォーメーションを含む中軸骨格形成異常は、*RPL38* 遺伝子の変異によって引き起こされることが示された。

(8) 上部消化管及び皮膚で特異的に発現するマウス遺伝子 gasdermin (*Gd*) の解析：佐伯

宣久¹, 青木 彩², 桑原勝孝³, 佐々木博己³, 城石俊彦(¹琉球大, ²順天堂大, ³国立がんセンター)

我々は、皮膚に異常をもつ変異マウスの原因遺伝子をクローニングするためにcDNA selection法を用いて11番染色体を解析していたところ、新規遺伝子を得ることが出来た。Northern analysisを行ったところ、その遺伝子は皮膚で発現のみならず胃においてもより強く発現していたためGasdermin(*Gd*)と名付けられた。その他の組織では発現は見られず、また消化管での発現は、食道及び胃に限局しており十二指腸以下の消化管では全く発現がみられなかった。このように上部消化管特異的に発現がみられる遺伝子は、哺乳類ではこれまで報告がなく、それがどのような機能をもつか興味をもたれるところである。また、その遺伝子の染色体上の近傍にはoncogeneであるERBB-2などがん細胞で増幅および過発現が確認されている遺伝子がいくつか存在することから、食道がん及び胃がん由来のcell lineで*Gd*の発現を調べてみたところ、驚いたことに発現は全くみられず*Gd*は細胞の癌化において抑制的にはたらくことを示唆する結果となった。現在*Gd*の機能を解析するためノックアウトマウスの作成を行っている。また今後上部消化管特異的に機能する*Gd*のプロモーターを解析し遺伝子治療への応用の可能性をさぐる予定である。

(9)スピードコンジェニック法による糖尿病感受性遺伝子の解析: 若菜茂晴¹, 丸山千佳¹, 野村達次¹, 森脇和郎², 城石俊彦(¹実験動物中央研究所, ²総合研究大学院)

遺伝子変異が軽微であり、他の疾患遺伝子と共存することにより初めて疾患への影響が明らかとなる多因子疾患においては原因遺伝子をクローニングし、機能を明らかにすることは必ずしも容易ではない。疾患感受性遺伝子を同定・単離していくためには、個々の軽微な変異が疾患全体に及ぼす機能的影響をin vivoで効率よく検出するシステムの構築が不可欠である。多因子疾患であるI型糖尿病モデルマウスNOD/shi系統においては18種類の糖尿病感受性遺伝子がマップされているが、このうち分子レベルでの解析が進んでいるのはMHC領域の*Idd1*のみである。本研究では*Idd1*以外の糖尿病感受性遺伝子同定のため、非糖尿病感受性系統であるMSM系統にNOD/Shi系統由来のMHC領域を導入したコンジェニック系統の作製をおこなった。その際、戻し交配に要する手間、時間等を短縮するためスピードコンジェニック法による作製を試みた。この方法は、各戻し交配世代においてレピシエント側に染色体領域が置き換わっている比率の高い個体を選ぶことによりコンジェニックマウス系統を作製する方法である。その結果、N4世代においてドナー側(NOD/Shi)とレピシエント側(MSM)間の多型マーカーを解析したところ、97.6%(82/84)がレピシエント側のタイプに置き換わっていた。今後このマウスをNOD/shiと交配実験を行うことにより糖尿病発症に係わる微細な遺伝子の詳細な解析を進めていく。

(10)野生由来マウス系統を用いた行動遺伝学: 小出 剛, 森脇和郎¹, 城石俊彦(¹総研大)
ゲノムプロジェクトにより、マウスにおいてはゲノムの全塩基配列が明らかになるの

みならず、大多数の遺伝子cDNAがクローニングされ、その情報も公開されようとしている。更に遺伝子座マーカーの数も7000を越え、遺伝学は新時代を迎えようとしている。ヒトでは同様な理由で、これまではアプローチが困難だった疾患、体質、行動や性格までもそれらに関わる遺伝子座が解明されようとしている。マウスにおいても行動を司る遺伝子の遺伝学的解析はポジショナルクローニングの手法の進歩と共に現実的なものとなってきている。われわれは、マウスの行動を制御する遺伝子を解明することを目的とした行動遺伝学を数年前より開始した。我々独自のアプローチとしては、これまでに使用されてきた一般的実験用系統のみではなく、世界各地の野生マウスに由来する近交系マウスを用いた行動解析を行い、遺伝学的解析に使用することである。野生由来マウス系統を行動遺伝学に用いることの利点は以下の3点である。

- ・ヒトによる愛玩化を受けていないのでマウス本来の行動が解析できる
- ・各野生系統間では遺伝的に進化レベルでの大きな違いがある
- ・各野生マウス系統間の遺伝子多様性に基づいた行動の多様性が期待できる

以上の理由から、野生マウスに由来する8系統(BFM/2, NJL, BLG2, HMI, CAST/Ei, KJR, SWN, MSM)、日本産愛玩用マウスに由来する系統(JF1)と一般的近交系統2系統(C57BL/6J, DBA/1)を用いて自発運動性、情動性、学習記憶能力などの行動解析を行った。その結果、行動には野生由来系統間で大きな多様性があることが分かった。このような系統間での行動パターンの違いをもたらす遺伝子を探索するためには遺伝学的解析が不可欠である。遺伝的解析の第一段階として、今回行動解析を行った系統について遺伝的マイクロサテライトマーカーの多型性を解析した。方法としては104遺伝子座のマイクロサテライトマーカーをPCR増幅した後、SSLP法により解析した。全系統の総組み合わせで各々の多型頻度を解析した。その結果、共に実験用系統であるC57BL/6とDBA/1系統、共に日本産マウスであるJF1とMSMの二つの組み合わせでは、多型頻度が50パーセント以下になり、遺伝的に非常に近いことが分かった。しかし、実験用系統と日本産マウス系統の間ではどの組み合わせにおいても多型頻度は80パーセントを超え、遺伝的に異なっていることが分かった。更に、韓国産マウス系統のKJRとSWN、それに日本産マウス系統のJF1とMSMの合計4系統は多型頻度が70パーセントかそれ以下で、遺伝的には近いグループに属することが分かった。以外にも地理的には離れているデンマーク由来のNJL系統は日本と韓国の4系統と遺伝的に近い数値を示している。しかし、これら以外の場合にはどの野生由来マウスの組み合わせにおいても多型頻度が高いことが分かった。これらのことから、野生由来マウス系統は今後の行動の遺伝学的解析に有効な系であることが分かった。

これまでに、野生由来マウス系統を用いて、行動の多様性とマイクロサテライトマーカー遺伝子座の多様性を明らかにしてきた。現在、これらの情報を用いたマウス行動の遺伝学的解析を進めている。

研究業績

(1) 原著論文

1. Sato, H., Koide, T., Sagai, T., Ishiguro, S.I., Tamai, M., Saito, N. and Shiroishi, T.: The Genomic organization of type I keratin genes in mice. *Genomics*, **56**: 303-309, 1999.
2. Komine, Y., Tanaka, N. K., Yano, R., Takai, S., Yuasa, S., Shiroishi, T., Tsuchiya, K. and Yamamori, T.: A novel type of non-coding RNA expressed in the rat brain. *Mol. Brain Res.* **66**: 1-13, 1999.
3. Moriwaki, K., Miyashita, N., Yamaguchi, Y. and Shiroishi, T.: Multiple genes governing biological functions in the genetic backgrounds of laboratory mice and Asian wild mice. *Prog. Exp. Tumor Res. Basel, Karger*, **35**: 1-12, 1999.
4. Shum, A. S. W., Poon, L. L. M., Tang, W. W. T., Koide, T., Chan, B. W. H., Leung, Y-C. G., Shiroishi, T. and Copp, A. J.: Retinoic acid induces down-regulation of Wnt-3a, apoptosis and diversion of tail bud cells to a neural fate in the mouse embryo. *Mech. Dev.* **84**:17-30, 1999.
5. Shimizu, K., Tani, M.m., Watanabe, H., Nagamachi, Y., Niinaka, Y., Shiroishi, T., Ohwada, S., Raz, A. and Yokota, J.: The autocrine motility factor receptor gene encodes a novel type of seven transmembrane protein. *FEBS letter* **456**: 295-300, 1999.
6. Ueda, Y., Miyashita N., Imai, K., Yamaguchi, Y., Takamura, K., Notohara, M., Shiroishi, T., Kawashima, T., Ning, L., Wang, C., Wu, X. and Moriwaki, K.: Nucleotide sequences of the mouse globin beta cDNAs in a wild derived new haplotype *Hbb^{wt}*. *Mammal. Genome* **10**: 879-882, 1999.
7. Hattori, M., Yamato, E., Itoh, N., Fujisawa, T., Yoshino, M., Fukuda, M., Matsumoto, E., Toyonaga, T., Nakagawa, I., Petruzzelli, M., McMurray, A., Weiner, H., Sagai, T., Moriwaki, K., Shiroishi, T., Maron, R. and Lund, T.: Cutting edge: homologous recombination of the MHC class I K region defines new MHC-linked diabetogenic susceptibility gene(s) in nonobese diabetic mice. *J. Immunol.* **163**: 1721-1724, 1999.

(2) その他

1. 榊屋啓志, 城石俊彦: ランダムミュータジェネシスによるマウス突然変異体の作製, 実験医学「新遺伝子工学ハンドブック」257-262, 1999.
2. 城石俊彦: マウス亜種間コンソミック系統の作製とその応用, 中山書店, 自然発症疾患モデル動物- コモンディジーズの原因遺伝子のハンティング-, 166-170, 1999.
3. 嵯峨井知子, 城石俊彦: Storage pool 病, 中山書店, 自然発症疾患モデル動物- コモンディジーズの原因遺伝子のハンティング-, 67-71, 1999.

(3) 発表講演

1. 小出 剛, 森脇和郎, 城石俊彦: 野生由来マウス系統にみられる受動的回避行動多様性とその遺伝学的解析へのアプローチ, 第59回日本動物心理学会, 金沢, 5月.
2. 牧野 茂, 榊屋啓志, 城石俊彦: 軸前側多指症を示す突然変異マウス X-linked polydactyly (*Xpl*) の解析, 日本発生生物学会, 第32回大会, 神戸, 5月.
3. 嵯峨井知子, 榊屋啓志, 城石俊彦: *Hx* マウスの遺伝学的解析及び変異遺伝子の探索. 日本発生生物学会, 第32回大会, 神戸, 5月.
4. 矢田有加里, 榊屋啓志, 三田旻彦, 石和貞男, 城石俊彦: 四肢, 腎臓に異常を示すマウス突然変異体 *luxate (lx)* の解析, 日本発生生物学会, 第32回大会, 神戸, 5月.
5. 小出 剛: 近交系マウスの使い分け 野生由来マウスを用いた行動研究, 第5回日本行動薬理研究会, 岡山, 8月.
6. 城石俊彦: ランダムミュタジェネシスに基づいたマウスゲノム機能解析, 第23回阿蘇シンポジウム, 阿蘇, 8月.
7. 小出 剛, 森脇和郎, 城石俊彦: 野生由来近交系マウスに見られる行動の遺伝学的解析, 第71回日本遺伝学会, 広島, 10月.
8. 嵯峨井知子, 榊屋啓志, 森脇和郎, 城石俊彦: *Hx* マウスの遺伝的解析および変異遺伝子の探索, 日本遺伝学会第71回大会, 広島, 10月.
9. 城石俊彦, 小出 剛, 三田旻彦, 森脇和郎, 米川博通, 吉川欣亮, 若菜茂晴: マウス亜種間コンソミック系統の開発, 第71回日本遺伝学会, 広島, 10月.
10. 城石俊彦: 遺伝子多型情報に基づいたマウスゲノム解析システム, シンポジウム '99「明日をめざす科学技術」, 東京, 10月.
11. Koide, T., Moriwaki, K. and Shiroishi, T.: Characterization of behavioral diversity in the inbred strains established from wild mice. 13th International Mouse Genome Conference, Philadelphia, , USA, October-November, 1999.
12. Masuya, H., Sagai, T., Takahasi, M., Ogura, T. and Shiroishi, T.: Mapping of modifier gene for mouse preaxial polydactylous mutation, *Rim4*. 13th International Mouse Genome Conference, Philadelphia, , USA, October-November, 1999.
13. 城石俊彦: 我が国における ENU ミュタジェネシスプロジェクトの現状と将来, 第42回日本先天代謝異常学会シンポジウム, 鹿児島, 11月.
14. 城石俊彦: モデル動物の表現型から遺伝子へ, 第5回ヒューマンサイエンス総合研究セミナー「創薬に向けたモデル動物研究の最前線」, 東京, 11月.
15. 板谷光泰, 永田妙子, 城石俊彦, 藤田京子: 古草菌ゲノム工学-古草菌ゲノムベクターにマウス由来の BAC クローンを移した-, 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.

16. 矢田有加里, 榎屋啓志, 牧野 茂, 石和貞男, 城石俊彦; 軸前側多指症を示すマウス突然変異体 X-linked polydactyly (*Xpl*) の解析, 第22回日本分子生物学会, 福岡, 12月.
17. 清水邦彦, 石島淳子, 小出 剛, 三田旻彦, 内田紀久枝, 若菜茂晴, 吉川欣亮, 米川博道, 佐々木博己, 塚原清志, 平沢 勉, Rudi Balling, 城石俊彦: マウス中軸骨格異常を示す Tail-short (*Ts*) 遺伝子の Positional cloning, 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
18. 牧野 茂, 矢田由加里, 榎屋啓志, 深見伸一, 中福雅人, 田村 勝, 斎藤哲一郎, 橋本康弘, 米川博通, 城石俊彦: 軸前側多指症を示す突然変異マウス mesenchymal dysplasia (*mes*) の解析, 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
19. 嵯峨井知子, 榎屋啓志, 清水邦彦, 城石俊彦: 軸前側多肢症マウス *Hx* の変異遺伝子のポジショナルクローニング, 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
20. 城石俊彦: 化学変異源ENUによる大規模マウスミュータジェネシス, 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 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、特に生殖系列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、斎藤哲一郎助手、多田 高助手、総合研究大学院大学遺伝学専攻の大学院生3名、日本学術振興会の博士研究員2名、そして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2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特定領域研究「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」、斎藤哲一郎を代表者として特定領域研究「脳研究の総合的推進に関する研究」の公募研究「neuronal identity 決定の機構 - 神経発生と高次脳機能の接点の解明 -」と奨励研究「Neuromere 形成の機構」の交付を受けた。また中辻憲夫は生研機構基礎研究推進事業からの受託研究「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」、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「多分化能の成立と制限機構の研究」を担当した。さらに農水省「形態・生理機能の改変による新農林水産生物の創出に関する総合研究」からの受託研究「胎仔幹細胞株の樹立と発生工学技術の開発」を行った。

(1) マウス生殖系列細胞の発生分化機構: 田村 勝¹, 中馬新一郎², 菅野靖彦³, 桜井敏之², 多田 高, 斎藤哲一郎, 中辻憲夫(¹学術振興会, ²生研機構, ³特別共同利用研究員(埼玉大学))

マウスなどの哺乳類における受精から妊娠中期までは、脳などの中枢神経系の形成、

卵子や精子を将来作り出す始原生殖細胞の出現と卵巣や精巣の分化などの重要な現象が起きる。当研究室では始原生殖細胞の増殖分化や、卵子や精子の形成へ向かう細胞分化が雌雄で異なって起こる性分化について興味を持っている。様々なマウス系統を用いて始原生殖細胞の増殖・分化機構と雌雄生殖細胞の性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が、最近始原生殖細胞が減数分裂を開始して卵母細胞へと分化する過程を培養下で進行させることに成功し、この分化過程を制御する機構解明を進めている。また生殖細胞や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、その結果得られた幾つかの新規遺伝子について、発現パターンの解析を行なうとともにそれらの遺伝子機能の解明を目指している。さらに、すべての組織細胞に分化しうる多能性を持つ胚幹細胞(ES細胞)に関して、いくつかのマウス系統からの細胞株樹立やキメラ形成能と培養下での分化誘導についても研究を行っている。

(2) 神経細胞の多様性を形成する分子機構：斎藤哲一郎，浜 太郎¹，坂本修一¹，佐波理恵¹，中辻憲夫¹(¹総合研究大学院大学)

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高次脳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が、HLH型転写因子の上流や下流については不明な点が多い。我々は、今までに神経発生の初期に発現するBar型ホメオボックス(*BarH*)遺伝子の*MBH1*が、HLH型転写因子の遺伝子*Mash1*や*neurogenin2*の上流で機能することを示してきた。しかし、*MBH1*の発現領域は*Mash1*や*neurogenin2*よりも限局しており、ハエや線虫にも*BarH*遺伝子は複数あることから、他の哺乳類*BarH*遺伝子の存在が推測されていた。今回、新たにクローニングした*MBH2*遺伝子は、*MBH1*と同様、神経系で特異的に発現していた。*MBH2*タンパク質はハエや線虫の*BarH*タンパク質より、*MBH1*タンパク質に類似しており、このことから*MBH1*と*MBH2*の両遺伝子は脊椎と無脊椎動物の分岐後に派生したと考えられる。また、ハエの*BarH1*と*BarH2*遺伝子がともに同一染色体上に並んで存在し、同一細胞の同じ時期に発現するのに対し、*MBH1*と*MBH2*遺伝子は異なる染色体上に存在し、発現細胞も異なっていた。

*MBH1*は、間脳背側のneuromereで早い時期から特異的に発現する。そこで、neuromere形成とその特異性獲得の機構を探るため、*MBH1*遺伝子の転写制御領域の解析も進めている。

(3) マウス生殖細胞におけるX染色体インプリントの書き換え機構：多田 高，尾畑やよい¹，多田政子²，後藤友二³，中辻憲夫，Seong-Seng Tan⁴，河野友宏⁵，高木信夫¹(¹信州大・遺伝子，²さががけ21・PRESTO，³北大・地球環境，⁴Univ. of Melbourne，⁵東京農大・総合研)

雄XY雌XXの性染色体構成をもつ哺乳類では、ゲノムの約7%を占めるX染色体を雌が1本余分にもつ事により雄との間に遺伝子量の不均衡が生じる。この遺伝子量を補正す

るために、雌では2本あるX染色体の1本を遺伝的に不活性化している。この現象がX染色体の不活性化(XCI; X-Chromosome Inactivation)である。雌の体細胞では父性X染色体と母性X染色体がランダムに不活性化し、結果としてある細胞では父性X染色体が、他の細胞では母性X染色体が活性X染色体として残る。ところが、マウスの胚発生で胎盤等の胚体外組織を形成する細胞では父性X染色体が優先的に不活性化し、ゲノムインプリンティング現象として知られている。このノンランダムなXCIは生殖細胞の発生過程における可逆的なDNA上の化学的修飾(後生的修飾; Epigenetic modification)、いわゆるインプリントにより制御されていると考えられているが、その機構は不明である。

我々はこのX染色体のインプリントがどのようなプロセスを経て書き換えられるかに着目し、X-linked *lacZ* トランスジェニックマウスやX染色体に転座をもつマウスを用いて、成長期前の雌生殖細胞(ng; non-growing)の核を除核した成長期後(fg; fully growing)の生殖細胞に移植した。初めに、X-linked *lacZ* をヘテロにもつ発生後7.5日齢の再構成胚におけるXCIをX-gal染色により観察した。移植によるX-linked *lacZ*/ng核と正常のfg核を持つng-*lacZ*/fg胚の胚体組織はランダムなXCIの結果X-gal染色に陽性であったが、胚体外組織はX-gal染色に陰性であった。この結果は、ng核由来のX-linked *lacZ* が優先的に不活性化される事を示している。逆の組み合わせによるng/fg-*lacZ*胚では、胚体外組織と胚体組織が共にX-gal染色に陽性を示し、胚体外組織ではng核由来のX染色体が優先的に不活性化している事実を支持していた。

これらの結果は外来遺伝子の活性を指標にX染色体の活性を観察したが、X染色体全体の活性を調べる目的でX染色体のS期における複製時期をR-バンド法により観察した。不活性X染色体はS期の後期に複製される事が示されている。2本のX染色体を形態的に区別するためにX染色体と9番染色体が動原体で融合したRb9転座をヘテロにもつ胚を核移植により作製した。7.5日齢のng-Rb9/fg胚の胚体外組織ではRb9X染色体が優先的に不活性化していた。これに対し、ng/fg-Rb9胚の胚体外組織では正常X染色体が優先的に不活性化されていた。両胚の胚体組織ではRb9と正常X染色体でランダムXCIが起きていた。

これらの結果から、1) X染色体の不活性化に関わるインプリントの書き換えは雌生殖細胞の卵成長期に起こる。2) fg核の由来のX染色体は不活性化に対する抵抗性を獲得しており、結果としてng核由来のX染色体が優先的に不活性化する。3) ng核由来のX染色体はデフォルトでは不活性化する性質があり、父性X染色体と似た性質を持つ。以上の事が明らかになった。これら結果は現在投稿中である。

(4)ゲノム再プログラム化に関わる因子の同定: 多田政子¹, 中辻憲夫, 多田高¹(さきがけ21・PRESTO)

生殖細胞の役割は次世代に正常な遺伝情報を伝達する事にある。DNAの塩基配列が遺伝情報を担うが、加えてDNAの正常な化学的修飾(Epigenetic modification)の獲得が必須であることがゲノムインプリンティング等の研究から明らかになっている。両親

の後生的修飾が子孫へそのまま伝達されることを阻止するために、生殖細胞の形成過程で両親の後生的修飾の消去が起こる。似た現象が、体細胞核由来のクローン動物形成過程でも起きると考えられている。体細胞核を除核した未受精卵に核移植すると、卵の細胞質因子により体細胞ゲノムが初期化され全能性を獲得する。この時、再プログラム化されるのが後生的修飾であり、このゲノムの再プログラム化は全能性の獲得と親密な関係があるとされている。我々は、ゲノムの再プログラム化に関わる因子を同定する目的で、似た多分化能を保持するが由来が異なる、ES (Embryonic Stem) と EG (Embryonic Germ) 細胞の mRNA の比較を試みている。

これまで、生殖巣移入後の始原生殖細胞由来の EG 細胞と体細胞を細胞融合させた結果、EG 細胞の因子により体細胞の後生的修飾がほとんど再プログラム化される事実を融合細胞の正常胚発生への寄与や DNA のメチル化を指標とした解析から明らかにしている。これに対して、ES 細胞と体細胞との融合細胞は多分化能を獲得するが、インプリントに関わる DNA のメチル化の一部は再プログラム化されない事を明らかにしている(投稿準備中)。これらの結果から、EG 細胞と ES 細胞はともに体細胞ゲノムの再プログラム能を保持するが、その能力には差があることが示された。この差をもたらし因子を同定することでゲノムの再プログラム化の秘密に迫れるのではないかと考えている。EG 細胞には再プログラム化を引き起こす優性因子があると仮定し、サブトラクション法により EG 細胞の mRNA から ES 細胞の mRNA を差し引き、残ったクローンをプローブに EG 細胞の cDNA ライブラリーから遺伝子を単離し、塩基配列の決定を進めている。現在まで、cDNA ライブラリーの約 1/7 のスクリーニングが完了した。部分的塩基配列の解析結果から EG 細胞で特異的に発現量が多い未知の遺伝子が 10 個以上見つかった。それらの、いくつかは転写因子、ヒストンのアセチル化、DNA のメチル化等に関わる既知の因子と部分的にホモロジーを持つことが解っている。今後、これらの遺伝子の同定を進めることで、ゲノムの再プログラム化の機構を解明する手がかりを得られるのであろうと期待している。

研究業績

(1) 原著論文

1. Ono, K., Nagata, I., Hama, T. and Nakatsuji, N.: Perpendicular contact guidance of CNS neurons: is it operative in brain cortex development? "Neural Development" (Eds., Uyemura, K., Kawamura, K., Yazaki, T.), Keio Univ.Symp. for Life Science and Medicine. vol.2, pp.50-56 (1999).
2. Arakawa, T., Kanno, Y., Kitano, T., Nakatsuji, N. and Nakatsuji, T.: Stages of embryonic development of the ice goby (Shiro-uo), *Leucopsarion petersii*. Zool. Sci. 16, 761-773 (1999).
3. Kanno, Y., Tamura, M., Chuma, S., Sakurai, T., Machida, T. and Nakatsuji, N.:

A cystatin-related gene, testatin/cresp, shows male-specific expression in germ and somatic cells from the initial stage of murine gonadal sex-differentiation. *Int. J. Dev. Biol.*, in press (1999).

(2) その他

1. 中辻憲夫：ヒトES細胞株樹立が意味するもの。蛋白質核酸酵素, **44**, 291-294, (1999)。
2. 中辻憲夫：始原生殖細胞。岩波講座「現代医学の基礎」第5巻「生殖と発生」(編者：森 崇英・山村研一), 2-8, (1999)。
3. 中辻憲夫：ヒトES細胞株の樹立とその意義。最新医学 **54**, 2755-2763, (1999)。
4. 斎藤哲一郎：神経細胞の多様性を生み出す分子機構。日本神経精神薬理学雑誌 **19**, 147-150, (1999)。

(3) 発表講演

1. 中辻憲夫：マウス始原生殖細胞から雌雄生殖細胞への分化機構。日本発生物学会第32回大会でのワークショップ「生殖細胞系列の発生メカニズム」(オーガナイザー：野瀬俊明・中辻憲夫), 神戸, 5月。
2. 中馬新一郎, 中辻憲夫：マウス始原生殖細胞の平面培養下での第一減数分裂前期への移行。日本発生物学会第32回大会, 神戸, 5月。
3. 黄 振勇, 桜井敬之, 田村 勝, 中馬新一郎, 菅野靖彦, 斎藤哲一郎, 中辻憲夫：生体内電気穿孔法によるマウス生殖細胞へのGFP遺伝子の導入。日本発生物学会第32回大会, 神戸, 5月。
4. 中辻憲夫：マウス生殖系列細胞の発生と性分化機構の解析。東北大学加齢医学研究所シンポジウム「幹細胞と形態形成」, 仙台, 6月。
5. 中辻憲夫：ヒトES細胞株の意義と今後の展望。第2回日本組織工学会におけるシンポジウム「動物クローニング, ES細胞, 細胞臓器移植の展望と問題点」(オーガナイザー：中辻憲夫), 八王子, 6月。
6. 中辻憲夫：マウスにおける雌雄生殖細胞の発生と分化。第14回「大学と科学」公開シンポジウム, 東京, 11月。
7. 斎藤大樹, 紙本幹子, 三宅顕三, 北野 忠, 秋山信彦, 木下政人, 中辻憲夫, 中辻孝子：シロウオ(*Leucopsarion petersii*)受精卵および未受精卵へのGFP遺伝子導入。日本動物学会第70回大会, 山形, 9月。
8. 紙本幹子, 斎藤大樹, 三宅顕三, 山羽悦郎, 鈴木 徹, 中辻憲夫, 中辻孝子：シロウオ(*Leucopsarion petersii*)胚8細胞期の動物極側割球除去後の胚発生。日本動物学会第70回大会, 山形, 9月。
9. 斎藤哲一郎：神経細胞の多様性を生み出す分子機構。第27回脳の医学・生物学研

研究会, 名古屋, 6月.

10. 佐波理恵, 浜 太郎, 中辻憲夫, 斎藤哲一郎: Mammalian BarH Homologue (MBH) 1 遺伝子のクローニングと解析. 日本分子生物学会第22回大会, 福岡, 12月.
11. 浜 太郎, 佐波理恵, 中辻憲夫, 斎藤哲一郎: 神経分化における MBH ファミリー遺伝子の解析. 日本分子生物学会第22回大会, 福岡, 12月.
12. 牧野 茂, 矢田有加里, 樹屋啓志, 深見伸一, 中福雅人, 田村 勝, 斎藤哲一郎, 橋本康弘, 米川博通, 城石俊彦: 軸前側多指症を示す突然変異マウス mesenchymal dysplasia (mes) の解析. 日本分子生物学会第22回大会, 福岡, 12月.
13. Mikami, A., Hama, T., Saito, T. and Vallee, R.B.: Tissue localization and biochemical characterization of cytoplasmic dyneins. 39th annual meeting, society for cell biology, Washington, DC, U.S.A., December.
14. 多田 高, 岡村大治, 多田政子, 前川真治, 井上 純, 西原茂城, 押村光雄: マウス embryonic germ 細胞因子によるヒト PEG1/MEST 遺伝子のインプリント書き換え. 日本発生生物学会第32回大会, 神戸, 5月.
15. Tada, T., Obata, Y., Tada, M., Goto, Y., Nakatsuji, N., Tan, S. S., Kono, T. and Takagi, N.: Choice of imprinted X-chromosome inactivation in oocyte growth. International Genomic Imprinting Meeting, Dublin Ireland, August.
16. 多田 高, 尾畑やよい, 多田政子, 後藤友二, 中辻憲夫, Tan S-S., 河野友宏, 高木信夫: 生殖細胞における X 染色体インプリンティングの獲得. 日本遺伝学会第71回大会, 広島, 9月.

F-c. 植物遺伝研究室

当研究室は, 系統生物研究センター イネ系統研究分野 植物遺伝研究室として3年半前に研究を開始した. 現在進行中の研究は「イネ初期胚発生および再分化過程における遺伝的プログラムの解明」「イネ細胞核の構築機構研究」「遺伝子分離頻度の歪みをもたらす遺伝因子の解析」の3課題について分子細胞生物学および分子遺伝学的手法を用いて研究を進めている. 昨年度からイネ系統保存事業として新たな遺伝子改変系統の作成も開始した. そこでは「イネエンハンサートラップ系統の開発」と「イネ遺伝子破壊系統の作成と検索」に関する研究と事業への利用を目指している. またイネ系統保存事業としては, 全国レベルでのイネ遺伝資源小委員会の組織と運営, また各委員の協力を得てイネ遺伝資源データベースへのデータ集積もおこなっている. 従来よりおこなわれて来た野生イネ系統の増殖, 形質調査, 保存, 分譲も事業の一環として継続している.

スタッフは, 助教授 倉田のり, 助手 伊藤幸博と実験圃場より助手 野々村賢一, および技官 永口 貢が, また非常勤博士研究員として三好一丸の5名で構成し, 遺伝学普及会研究員として春島嘉章も加わり研究の推進を図っている. 実験圃場技官 宮林登志

江は野生イネの増殖、分譲を専任でおこなった。99年度は、総研大博士課程1年に安炳玉(Byoung-Ohg AHN, 韓国)が入学し、東海大学工学部より修士1年度の高谷和彦、齋小百合の2名も研究に参加した。研究補助員 妹尾治子、鈴木和子、坂井里美、牧野智美、石井明美、佐伯園子が研究および事業支援をおこなった。

1998(平成10)年度の研究は、遺伝学研究所校費、総研大校費、文部省系統保存事業費に加え、文部省科学研究費助成金・特定領域研究「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)」、奨励研究「イネの機能的動原体領域の単離と構造解析(野々村)」、基盤研究(B)「イネ人工染色体の構築と導入植物の作出-人工染色体の育種工学への利用の基盤(倉田)」、基盤研究(B)「イネのエンハンサートラップ系統の作出と変異体解析(倉田)」、および農林水産省、生物資源研究所の第2期イネ・ゲノム研究より「遺伝子の分離歪みを引き起こす原因遺伝子の単離と機能解析(倉田)」への支援を受けた。また倉田、伊藤、野々村は、総合研究大学院大学共同研究「ゲノム構造のダイナミズムとその生体機能への変換」(代表者、基礎生物学研究所、飯田 滋)に参加した。当研究室として以下2件の遺伝研共同研究を受け入れ実施した。「改変型GFPを導入した形質転換イネの解析」(静岡県立大学、丹羽康夫)、「トランスポゾンRice mutatorの転移機構の解明」(弘前大学、石川隆二)。

1. イネ胚発生および再分化を制御する遺伝プログラムの解析

この課題では、イネ胚発生過程で発現する転写制御因子遺伝子等を単離し、その解析を通して胚発生および再分化を制御する遺伝プログラムを明らかにすることを目指している。そのターゲットとしてホメオボックス遺伝子や*LEC1*ホモログ等の解析をおこなっている。

(1) イネ胚発生過程で発現する*KN1*タイプのホメオボックス遺伝子の発現制御: 伊藤幸博、丹羽康夫¹⁾、倉田のり¹⁾(静岡県立大・食糧栄養科学部)

これまでに8つの*KN1*タイプのホメオボックス遺伝子のcDNAを単離し、その発現パターンを調べた。興味ある発現パターンを示した遺伝子に関してはゲノムクローンの単離もおこなった。昨年度はその1つ*OSH1*遺伝子を導入した形質転換イネを用い、過剰発現の影響と発現制御の解析をおこなった。今年度はさらに*OSH6/HOS16*、*OSH15/HOS3*、*OSH71/HOS9*の過剰発現の影響と発現制御の解析を始めた。*OSH6/HOS16*、*OSH15/HOS3*、*OSH71/HOS9*をイネで過剰発現させたところ、*OSH1*同様正常な再分化が阻害されカルスのまま増殖を続けた。これらの遺伝子は、野生型のイネではシュートメリステムで特異的に発現していることを考え合わせると、シュートメリステムを未分化な状態に維持する働きがあると考えられる*OSH71/HOS9*過剰発現イネで他のホメオボックス遺伝子の発現を調べたところ、*OSH15/HOS3*の発現が見られた。*OSH15/HOS3*は通常のカルスでは発現が見られないので、*OSH71/HOS9*は*OSH15/HOS3*の遺伝子の発現を誘導できることが分かった。*OSH1*は*OSH15/HOS3*、*OSH6/HOS16*の発現を誘導できるので、これらのホメ

オボックス遺伝子間には発現ネットワークが存在し、それによりシュートメリステムが形成、維持される可能性がある。

昨年度形質転換イネを用いた実験結果から、*OSHI*の発現制御に関し次のような仮説を提唱した。“*OSHI*のプロモーター領域にはシュートメリステムと葉の両方で発現させる配列があり、コード領域内には他の因子が作用し葉での発現を抑制する配列がある”という仮説である。今年度はこの仮説の検証の1つとして、葉での発現を抑制する配列の限定を進めた。しかし、必要十分な最小限の領域を同定するには至っていない。現在、さらに限定するためのコンストラクトをイネに導入中であり、今後その領域が明らかになると期待される。

(2) *KN1*タイプのホメオボックス遺伝子の突然変異体の選抜：伊藤幸博，広近洋彦¹，倉田のり¹（農水省・生物資源研）

塩基配列が既知の遺伝子の突然変異体を分離する手法として、イネでは内在性のレトロトランスポゾンによる遺伝子破壊が現在最も有効な手法である。この方法は、培養により *Tos17* レトロトランスポゾンが無作為に転移させた個体を多数作成し、PCRにより目的の遺伝子への *Tos17* 挿入株を選抜する方法である。この系を用いてホメオボックス遺伝子の突然変異体を選抜した結果、*HOS59*の3' UTRに *Tos17* が挿入した株が得られた。今後、この株での *HOS59*の発現や表現型を調べる予定である。

(3) イネ再分化プログラムと関連遺伝子 *LEC1* 解析：三好一丸，永口 貢，倉田のり

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。このため再分化培養におけるカルス性胚形成過程を同調化し、生化学的に扱える材料を得るため、種々の培養条件の検討をおこなった。至適条件を得るのはなかなか困難で、今後も引き続き検討が必要である。

遺伝子解析のレベルでは、昨年度に続きアラビドプシス *LEAFY COTYLEDON1 (LEC1)* のイネ相同遺伝子の解析をおこなっている。アラビドプシス *LEC1* 遺伝子は、この遺伝子の過剰発現個体において、葉すなわち体細胞からほぼ完全な多数の不定胚を形成する。単一遺伝子の強制発現によって不定胚形成が誘導された例は双子葉類であるアラビドプシスの *LEC1* 遺伝子のみであり、単子葉類での報告例はない。昨年度までに、単子葉植物で類似構造をもつトウモロコシ遺伝子 *HAP3* 断片をプローブに用いて受精後3日胚のイネ cDNA ライブラリーのスクリーニングをおこない、イネ *LEC1* ホモログの候補となる複数の cDNA クローンを単離し、これらクローンの塩基配列の解析およびデータベースサーチより、イネにおいては少なくとも3種の *LEC1* ホモログ (cDNA clone#3, #35, *LEC-EST*) が種子形成過程で発現していることを明らかにした。今年度はまず、これらに対応する完全長 cDNA の単離を試み、clone#3 について完全長 cDNA を得た (文献(2)-1)。サザン解析の結果、clone#3 に対応する遺伝子はゲノム中に1コピーであることが明らかになった。また、clone#3, #35 について発現の組織特異性を RT-PCR により調査した。その

結果、開花直前の花、発生初期の子房、juvenile phaseのshootでは発現が認められたが、葉、根ではほとんど発現していないことが示された。現在、より詳細な発現パターンを調査するため、*in situ* hybridizationによる解析を進めている。

(4) レセプター型プロテインキナーゼ遺伝子の単離：高谷和彦，伊藤幸博，倉田のり

絶対的な細胞系譜がないと考えられる植物の発生では、位置情報や近隣の細胞とのコミュニケーションが重要な意味を持つ。そこで、そのようなシグナル伝達の重要な担い手と考えられているレセプター型プロテインキナーゼ遺伝子の解析をおこなっている。まず、ニンジン体細胞胚の1細胞期から発現するSERK(somatic embryogenesis receptor-like kinase)遺伝子のホモログを受精後3日胚cDNAライブラリーから単離した。さらにそのゲノムクローンも単離した。ゲノミックサザンの結果、この遺伝子はイネゲノム中に2コピー存在すると推定され、その構造と発現解析を進行中である。

(5) イネヘテロクロニック変異 *plastrochl1* の原因遺伝子のポジショナルクローニング：安 炳玉，三好一丸，倉田のり

一般に植物のライフサイクルは胚発生、初期栄養生長(juvenile phase)、後期栄養生長(adult phase)、生殖生長の4つの生長相に分類される。各生長相ではそれぞれ特異的な遺伝的プログラムが発現し、その生長相に独自の発生様式が展開される。これら各生長相特異的なプログラムが時間的に正確にコーディネートされることで、植物体の正常なライフサイクルが達成されると考えられているが、その遺伝的制御機構や分子の基盤についてはほとんど明らかになっていない。近年、イネにおいて栄養生長相の発現期間が延長している(heterochronic mutation)と考えられる突然変異体 *plastrochl1* が単離された。*plal* 突然変異は単因子劣性の遺伝様式を示し、劣性ホモ接合体では植物体の矮化、葉身、葉鞘のサイズの縮小、葉間期の短縮などの種々の表現型の他、穂の原基がshootに転換するといった多面的な変異形質が観察される。このような突然変異についての報告は、イネ以外の植物種を見渡しても皆無に等しく、植物の発育制御の遺伝的プログラムを考察する上で非常に貴重な材料である。そこで我々は、*plal* 突然変異が引き起こす種々の変異形質についての分子的基盤を解析するため、原因遺伝子のポジショナルクローニングを開始した。

まず、*plal* 遺伝子の座上位置を同定するため、マッピング集団(F2世代、579個体)を作成した。これらF2集団、イネの高密度連鎖地図(Harushima *et al*, 1998)および約40種のRFLPマーカーを利用し、詳細な連鎖解析をおこなった。その結果、*plal* 遺伝子は第10染色体の短腕、RFLPマーカーC961とR1738Aに挟みこまれる領域に座上することが明らかになった(文献(2)-2)。各RFLPマーカーと*plal* 遺伝子座との遺伝的距離は、*plal*-C961間で0.9cM、*plal*-R1738A間で3.0cMであった。次に、連鎖分析によって同定された最接近マーカーC961をプローブにBACライブラリーのスクリーニングをおこない、10個のポジティブクローンを得た。現在、これらのBACクローンをういて*plal* 遺伝子座近傍の物理地図を作成中である。

2. イネ細胞核の構築機構研究

(1) イネ人工染色体の構築：イネ第5染色体の動原体領域の構造解析：野々村賢一，斎小百合，倉田のり

植物はカルスから容易に細分化個体が得られる利点があり，人工染色体の細胞への導入，個体分化，および安定した遺伝が実現すれば，植物の染色体工学を大きく前進させることができる．本研究では単子葉植物で最小のゲノムサイズをもつイネで人工染色体を構築することを目的とし，染色体機能に必須な動原体領域に関する解析をおこなった(文献(1)-1)．

イネの動原体に局在する繰り返し配列 RCS2 と RCE1 をプローブとして，すでに第5染色体にマップされた酵母人工染色体(YAC)クローン Y6514 を選抜した．Y6514 は第5染色体の RFLP 連鎖地図上で推定された動原体領域に含まれる 53.7cM に位置する(Saji *et al.* 1995)．農水省イネゲノムチームの YAC 整列化地図の情報を参考に，YAC エンドクローンを用いて染色体歩行を行い，53.7cM に位置づけられる3つの独立した YAC 整列化地図(contigI, II, III)を確認した．これらの整列化地図の物理距離は少なくとも 1Mb を越えることから，この領域では組み換えが抑制されており，contigI, II, III は動原体領域に由来することが示唆された．

イネの動原体領域に局在することが知られる RCS2 と RCE1 の分布について調べたところ，RCS2 は約 160bp を1単位とするタンデムリピートで，contigI 内で約 13kb と 15kb の2つの近接するクラスターを形成していた．一方 RCE1 は約 3.6kb を繰り返し単位とする 10 数コピーのタンデムリピートを形成していることが示唆され，それらは RCS2 クラスターを含む 600kb の範囲内に分布していた．

また多くの高等生物で，動原体領域に転移因子様配列が多数分布していることが報告されているが，contigI においても *Ty3/gypsy* タイプのレトロトランスポゾンである RIRE3 と RCS1 に類似の配列が局在していた．特に RCS1 様配列の分布は2つの RCS2 クラスターの周辺だけに限定されていた．RCE1 の保存性の高い領域は，最近報告されたイネ *Ty3/gypsy* タイプのレトロトランスポゾン RIRE4 の long terminal repeat (LTR) と非常に高い相同性を示すことから，イネの動原体構造の形成にはレトロトランスポゾンが関与している可能性が示唆された．

以上の結果はこの領域が機能的な動原体形成中心であることを示唆するものである．この領域を持つ YAC クローンの両腕の YAC ベクター部分を，イネ用の選抜マーカーを組み込んだ YAC ベクターに置換する作業を進めている．構築したイネ人工染色体の候補は，イネ細胞への導入と維持実験を通じて，人工染色体としての成立要素の解析をおこなう．

(2) イネ染色体上の GFP タグを用いた細胞核内染色体動態の解析：倉田のり

イネ染色体を素材とした核内の染色体動態の研究は，人工染色体の動態解析のみならず，異種野生ゲノム種染色体添加系統や異数体，核構造変異体等の解析に非常に有用で

ある。この課題では、イネ染色体にGFP-Lac repressor と Lac operator repeat array を組み入れて、operator の組込みサイトにGFPを結合させ、GFPの動きを追跡して染色体の核内動態を解析する。このため上記2種のベクターをイネ型に改変し、それぞれ別個に形質転換イネの作成をおこなった。GFP-Lac repressor 挿入イネ17個体とLac operator repeat の挿入個体6個を得て、自殖後代個体より導入配列のホモ個体を選抜中である。今後Lac operator repeat の挿入サイトが種々に異なる系統や人工染色体へ導入した系統、あるいはそれらを異数体や変異体のバックグラウンドに入れた系統などを交配により作成し、GFP タグの動きを解析し、マクロなレベルでの染色体動態解析の指標とする。

3. 遺伝子分離頻度の歪みをもたらす遺伝因子の解析と生殖的隔離障壁のポジショナルクローニング：春島嘉章，倉田のり

「種」を分ける遺伝的要因は生殖的隔離と呼ばれ、雑種不和合、雑種死滅、雑種不稔、雑種崩壊などがあげられる。これら生殖的隔離障壁は種間または種内雑種の後代で遺伝子分離頻度のゆがみを引き起こす。10年度は、近縁種間または種内交雑後代でゲノム全体を網羅する遺伝的マーカーの遺伝型分離頻度から、それらの間の生殖的隔離障壁がどの様になっているかを解析する方法を開発し、それを日本型稲(日本晴)×インド型稲(Kasalath)のF2集団に適用し、34個の配偶体または接合体で働く生殖的隔離障壁によって12本全ての染色体の遺伝子型分離頻度を説明できることを示した(投稿準備中)。10年度解析に用いた集団はF2なので、検出した配偶体隔離障壁が雌性で働か雄姓で働か不明であった。そこで、11年度は、同じ組み合わせのF1に日本晴を花粉親として戻し交雑をした集団235個体(以下BCFと略す)、F1を花粉親とした戻し交雑集団238個体(以下BCMと略す)を用いた遺伝地図を作製し、遺伝子型分離頻度の解析を行った。

F2集団にて最も顕著な分離頻度の歪みを引き起こした第3染色体のRFLPマーカーC582は、BCF、BCMの2集団で大きな分離頻度の歪みは観測されず、この近傍の生殖的隔離障壁は戻し交雑では働かないと考えられる。F2集団とBCF、BCMは、細胞質は全て日本晴型なのでF2集団とBCF、BCMの遺伝型の分離頻度に影響を与えるのは雌性配偶子遺伝型、雄性配偶子遺伝型、接合体遺伝型、母親の遺伝型の4者である。今回、F2集団で歪みが観測されBCF、BCMでは歪まない事が分かったので、雄性配偶子が母親の遺伝型と相互作用して働くと考えられる。そこで、BCF、BCMでは歪まなくとも、その自殖後代で、C582の遺伝子型がKasalath型に歪む系統と歪まない系統に分離すれば、歪む系統間で共通するヘテロ型の領域にこの生殖的隔離障壁と相互作用する母親の遺伝子が存在する事が期待される。BCFとBCMの自殖種子のC582の遺伝子型の分離もKasalath型に歪む系統が観測され、16系統の分離からこの生殖的隔離障壁と相互作用する領域は第6染色体長腕部分の特定領域にあると推定できた。

第3染色体上の雄性配偶体で働く生殖的隔離障壁については、ポジショナルクローニン

グを目指している。10年度までに、186個体のF2集団の自殖後代の解析からC582を含む1.9cMにこの隔離障壁があることが分かっている。そこで、11年度はさらに精密にその位置を求めるため、この1.9cM領域で組み換えている個体を前記の合計473個体の戻し交雑集団と新たに1000個体のF2集団から選抜し、それらの自殖種子を得た。

4. イネエンハンサートラップラインの作成

この課題では新たなイネ実験系統としてエンハンサートラップラインを作成し、様々な突然変異体の分離およびその原因遺伝子の単離やエンハンサーの同定をおこなうと同時に、研究用遺伝資源として保存し、その維持、増殖、分譲をおこなう予定である。エンハンサートラップ用のベクターとしては、トウモロコシのトランスポゾンAc/Dsをベースにシロイヌナズナ用に開発されたベクターDs-GUSおよび35S-Acを、一部選択マーカーをイネ用に改変し用いている。Ds-GUSは非自律性因子で、転移には35S-Acから供給されるAcトランスポゼースが必要である。35S-Acはトランスポゾンの末端配列を欠いており、転移できない。従って、Ds-GUS系統、35S-Ac系統をそれぞれ作成し、交配により両者を共存させることによりDs-GUSの転移を引き起こし、転移後はDs-GUSと35S-Acを分離させることにより、安定な転移系統として維持することができる。このような実験系統の開発をおこなっている。

(1)Ds-GUS系統および35S-Ac系統の作成：伊藤幸博，永口 貢，倉田のり

Ds-GUSベクターは、カリフラワーモザイクウイルス35SRNAの最小プロモーターにレポーターとしてGUSのコード領域を連結したトラップと選択マーカーとしてハイグロマイシン耐性遺伝子がDs上にのったものである。Ds-GUSの両側にはそれぞれ35Sプロモーターとクロルスルホン耐性遺伝子のコード領域が存在するため、Ds-GUSが切り出されるとクロルスルホン耐性遺伝子が発現するようになっている。これまでにDs-GUSを1コピー持つものを42系統、2コピー持つものを50系統作成した。35S-Acベクターは、35Sプロモーターの下流にAcトランスポゼースのコード領域を連結したもので、選択マーカーとしてピアラフォス耐性遺伝子がついている。これまでに35S-Acを導入したイネを7系統作成した。

(2)Ds-GUSの体細胞での切り出し：伊藤幸博，永口 貢，倉田のり

11年度は35S-Ac系統とDs-GUS系統を交配し、得られたF1での体細胞でのDsの切り出しを調べた。35S-Acの6系統とDs-GUSの4系統を交配し、そのうちの17組み合わせで葉でのDsの切り出しをPCRで調べた。その結果、多くの組み合わせでDs-GUSの切り出しが見られた。しかし、35S-Ac系統の1系統はいずれのDs-GUS系統と交配してもDs-GUSの切り出しを誘導できず、またDs-GUS系統の1系統はいずれの35S-Ac系統と交配しても切り出しが見られなかった。Ds-GUSが切り出されたものについては、後に残るフットプリントの塩基配列を調べた結果、同じ葉のDNAから複数の異なる配列が見いだされ、Ds-GUSの切り出しが葉の発生の比較的後期で起こっていると考えられた。今後、生

殖細胞での転移を調べ、転移が見られた組み合わせでは多数の種子をとり、多くの転移系統を作成する予定である。また、転移を誘導できる 35S-Ac 系統は他の Ds-GUS 系統と交配し、転移可能な Ds-GUS 系統のスクリーニングに用いる予定である。

5. イネ遺伝子破壊系統の作成と検索

(1) 内在性 retrotransposon 転移系統の胚発生突然変異体スクリーニング：永口 貢，三好一丸，伊藤幸博，長戸康郎¹，倉田のり¹(¹東京大学・農学部，遺伝研・応用遺伝客員部門)

この課題では、培養によって転移するイネの内在性トランスポゾン Tos17 を利用し、組織特異的時期特異的に発現する有用な遺伝子が挿入破壊された変異系統を作成することを目的とする。当研究所ならびに東京大学、名古屋大学、福井県立大学で育成された共同研究素材を用いて、胚発生に関わる重要な遺伝子が Tos17 により挿入破壊された突然変異系統を選抜すると同時に破壊された遺伝子を単離する目的でおこなう。

約 2800 系統の M2 種子を除穎吸水処理した後、発芽初期の種子を実体顕微鏡下で詳細に観察し、胚形成に異常が見られ、その異常型と野生型の分離比が 1:3 に適合する 96 系統を選抜した。選抜した個体の種子を 20 粒づつ育成し、個体ごとに葉と種子を採取し、葉の DNA で Tos17 の挿入を、自殖種子で突然変異形質の検定をおこない、Tos17 挿入と突然変異のリンクを確認する作業をおこなっている。胚形成の異常が Tos17 の挿入により引き起こされている変異系統の選抜を進め、原因遺伝子のクローニングを目指す。

これらの系統からはまた、1 の (2) に示したように、reverse genetics の手法で、KN1 タイプのホメオボックス遺伝子への Tos17 挿入株を、PCR により選抜できた。つまり同じ変異系統に reverse genetics と forward genetics の両方の手法を適用でき、今後のイネ遺伝子の機能解析に不可欠の素材である。

研究業績

(1) 原著論文

1. Nonomura, K.I. and Kurata, N.: Organization of 1.9-kb repeat unit RCE1 in the centromeric region of rice chromosomes. *Mol. Gen. Genet.* **261**:1-10, 1999.
2. Miyoshi, K., Nakata, E., Nagato, Y. and Hattori, T.: Differential *in situ* expression of three ABA-responsive genes of rice, *Rab16A*, *REG2* and *OSBZ8*, during seed development. *Plant Cell Physiol.* **40**, 443-447, 1999.
3. Ito, Y., Eiguchi, M. and Kurata, N.: Expression of novel homeobox genes in early embryogenesis in rice. *Biochim. Biophys. Acta* **1444**: 445-450, 1999.
4. Ashikawa, I., Kurata, N., Saji, S., Umehara, Y. and Sasaki, T.: Application of restriction fingerprinting with a rice microsatellite sequence to assembling rice YAC clones. *Genome* **42**: 330-337, 1999.
5. Sentoku, N., Sato, Y., Kurata, N., Ito, Y., Kitano, H. and Matsuoka, M.: Re-

gional expression of the rice *KN1*-type homeobox gene family during embryo, shoot and flower development. *The Plant Cell* 11: 1651-1664, 1999.

(2) その他

1. Miyoshi, K. and Kurata, N.: Cloning of two cDNAs encoding the HAP3 subunit protein from developing rice seeds. *Rice Genetics Newsletter* 15: in press, 1999.
2. Ahn, B. O., Miyoshi, K., Itoh, J.-I., Nagato, Y. and Kurata, N.: Mapping of a rice heterochronic gene, *Plal*, regulating the plastochron and the duration of vegetative phase. *Rice Genetics Newsletter* 15: in press, 1999.

(3) 発表講演

1. 倉田のり, 野々村賢一: 植物人工染色体(Plant artificial chromosome:PAC)構築の構想, 日本農芸化学会第43回シンポジウム, 福岡, 3月.
2. 野々村賢一, 近江戸伸子, 福井希一, 倉田のり: イネの動原体領域に由来するYACクローンの構造解析, 日本育種学会第95回講演会, 宇都宮, 4月.
3. 伊藤幸博, 倉田のり: イネのホメオボックス遺伝子の発現制御, 日本育種学会第96回講演会, 岡山, 10月.
4. 野々村賢一, 倉田のり: 整列化YACクローンを用いたイネ第5染色体の動原体領域の構造解析, 日本育種学会第96回講演会, 岡山, 10月.
5. 春島嘉章, 倉田のり: イネ日本晴/KasalathのF1と日本晴間の正逆交雑集団に見られる遺伝子型の分離比の歪みについて, 日本育種学会第96回講演会, 岡山, 10月.
6. 岩本辰也, 洪 淳寛, 岩崎行玄, 服部東穂, 倉田のり, 長戸康郎, 松岡 信, 北野英己: 培養変異によるイネ胚発生突然変異体の特性解析, 日本育種学会第96回講演会, 岡山, 10月.
7. 伊藤幸博, 倉田のり: イネのホメオボックス遺伝子間の発現ネットワーク, 日本分子生物学会第22回講演会, 福岡, 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テーマの研究をおこなった. 研究室構成員, 西村昭子(助教授), 上原 剛(東大/特別研究員), 藤島博史(東大/特別研究員), 坂季美子(文部技官), 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おこなった. 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

辻太)“大腸菌の細胞分裂の時間的制御機構(西村)”, 戦略的基礎研究推進事業(代表者, 森 浩慎)“大腸菌遺伝子の機能解析(西村)”, 基盤研究(C)“大腸菌の細胞分裂の時期決定機構(西村)”, 三菱総合研究所研究助成“大腸菌をモデル生物とした細胞分裂の遺伝的調節機構”の支援を受けた. 本研究所共同研究として, 次の4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), (ii)大腸菌の細胞複製におけるヒストン様蛋白質H-NSとStpAの役割の解析(京都薬科大:加納康正), (iii)大腸菌緊縮応答関連酵素SpoT蛋白質の構造と機能(奈良女子大:池原健二, 前田真希), (iv)マルチスパン型膜蛋白の膜への組み込み機構に関与する遺伝子の選択(千葉大:中村辰之介). 事業面では, 遺伝資源研究室(山崎由紀子助教授)の協力を得て, 大腸菌変異系統情報のインターネット公開を実現させた(<http://gilbert.lab.nig.ac.jp/ecoli/welcome2.html>). また大腸菌小委員会が正式に発足した.

(1)細胞分裂の時期を決める分子機構:西村昭子, 藤島博史, 川端 猛, 西川 建

cfcA 及び *cfcB* 変異株は, 核分裂後親株よりも早い時期に小さい細胞のまま分裂するが, 細胞周期の長さは変わらず, 分裂後親株細胞と同じ大きさまで成長した後, 次のDNA複製を開始することから, *cfc* 遺伝子は細胞分裂のタイミングに関与することを昨年までに明らかにした. また *cfcA* 変異株はグリシル-tRNA合成酵素(GlyS)の α サブユニットをコードする *glySa* 遺伝子に, *cfcB* 変異株はAp4A分解酵素(ApaH)をコードする *apaH* 遺伝子に変異を持つこと, 分裂時期はAp4Aの細胞内濃度で決まること, Ap4AのレベルはGlySとApaHにより制御されていることなどを明らかにした. Ap4Aは*in vitro*では, 多くのアミノアシル-tRNA合成酵素により合成され, その合成様式もよく解っている. しかし細胞内合成様式については全く知られていない. 各種アミノアシル-tRNA合成酵素の変異株やアミノアシル化の阻害作用でAp4Aのレベルが上昇するという報告もない. Ap4Aの細胞内レベルがGlySの変異によって変化する原因を明らかにする為に, 野生型及び変異型GlySの精製を行いAp4A合成活性, 分解活性, 及びグリシル化活性を測定した結果, ATPに対する変異型GlySのKm/Kcat値は野生型GlySの20倍, グリシンに対する変異型GlySのKm/Kcat値は野生型GlySの100倍以上高かった. また変異型GlySは, *in vitro*で野生型GlySの2倍以上合成活性があることが解った. このことから, *cfcA* 変異株でAp4Aの細胞内レベルが上昇するのは *glyS* 変異による間接的結果ではなく, GlyS蛋白質自身がAp4Aの細胞内レベルの制御に直接関与していると結論される. 一方Ap4Aによる分裂時期の決定がどのようにおこなわれるか明確にする為に, Ap4Aの標的蛋白を探索しその機能解析をおこなうことにした. その為にAp4A結合活性を持つ蛋白群を分離精製しN末を決定した処, 未知の蛋白が見つかった. 塩基配列か蛋白の構造のホモロジーサーチをおこなった処, (1)Zn²⁺結合ドメインを持ち, (2)Ap4Aなどの多リン酸ヌクレオチド結合蛋白として殆ど全ての生物で保存されている蛋白であり, (3)細胞増殖周期に係わっているらしいことが予測されているが, その機能については殆ど解析されていない新規の蛋白であることが解った. この遺伝子は細胞にとって必須であり破

壊株を作成することはできなかったため、現在この遺伝子の条件破壊壊株の作成をおこなっている。またこの蛋白を高発現させた結果、Ap4A 過剰生産変異株の表現型を強調するらしいことが解ったので厳密な定量をおこなっている。Ap4A 結合活性や分解活性との関連や、機能ドメインの活性を解析する為、野生型および機能部位を置換させた変異蛋白の精製を開始した。

(2) 大腸菌の細胞分裂における HscA の機能に関する研究：上原 剛，松澤 洋，藤島博史，西村昭子

大腸菌は直径約 $1 \mu\text{m}$ ，縦 $2 \mu\text{m}$ の桿菌であり，DNA 複製に同調して縦方向に伸長し，核 DNA の分離後，細胞の中央に収縮環が形成され，同じ 2 個の娘細胞が形成される。収縮環は，FtsA, I, K, L, N, Q, W, Z, ZipA などの蛋白群により，構築されることが知られているが，その最初に働く因子として注目されているのが，真核生物のチューブリンとホモロジーを持つ FtsZ である。FtsZ は普段は細胞質中に分散しているが，細胞分裂開始時期になると，細胞中央部の細胞膜に沿って環状に集まり，FtsZ-リングを形成する。この FtsZ の細胞質中から分裂予定面への移行は方向性を持って行われているのか，FtsZ-リング形成に関与する因子は存在するのか，という点に興味を持ち，この問題を解明することを目的に本研究を開始した。その結果，DnaK のホモログである HscA が FtsZ-リングの形成に関与していることを見出した。本解析に用いた変異株は， 30°C では正常に増殖し桿菌となるが， 42°C では細胞分裂が阻害されて多核フィラメントとなる「広田の温度感受性変異体バンク」430 系統の中から選別した。DNA 複製や分配には影響を与えず，分裂装置の形成にのみ欠損を持つ変異株として， 42°C で培養すると，DNA がきれいに分配されたフィラメント細胞となる変異株 *fts715* を選別した。*fts715* 変異株の高温感受性を相補するプラスミド，pLC20-46 から，*fts715* 変異を相補する DNA 領域のサブクローニングをおこなったところ，大腸菌染色体上 57.3 分に存在する *hscA* 遺伝子が相補活性を持つことが解った。また，P1 マッピングにより，*fts715* 変異は 57.5 分領域に存在する *Zff::Tn10* と 96% の確率で共形質導入されることが解った。*fts715* 変異株のゲノムからクローニングした *hscA* 遺伝子 (= *hscA715* 遺伝子) の塩基配列を解析した結果，575 番目の C が G に変異していた。これにより，HscA 蛋白質の 192 番目のアラニンがバリンに変異していると思われる。この変異型 *hscA715* 遺伝子を担うプラスミドは *fts715* 変異株を相補できなかった。以上の事実から *fts715* 変異株は *hscA* 遺伝子の変異株であることが示唆された。*fts715* 変異株の変異形質が *hscA* 遺伝子の変異によるのかどうかを確認するために *hscA* 遺伝子の破壊株を作成し解析をおこなった。その結果，*fts715* 変異株の *hscA* 遺伝子を破壊した株は 30°C ， 42°C 共に生育し，桿菌形態を示した。即ち，*hscA* 遺伝子は細胞分裂に必須ではなかった。しかし，この欠損株を変異型 *hscA715* 遺伝子を担うプラスミドで形質転換した株は *fts715* 変異形質を示した。即ち， 30°C では桿菌， 42°C では伸長した細胞を形成し，増殖は温度感受性であった。対照実験として，上記破壊株を野生型 *hscA* 遺伝子で形質転換した株は 30°C ， 42°C 共に桿菌

形態で、高温でも生育できた。このことから、以下の2つの可能性を推論した。1つは、野生型 HscA は細胞分裂には全く関与せず、変異型 HscA715 がアリアル特異的に分裂を阻害する可能性である。2つ目は、野生型 HscA は分裂に関与するが、他に代用できる蛋白質が存在するために、破壊株を作成しても分裂に影響を示さず、たまたま *fts715* 変異株では両蛋白質に変異が生じたために分裂が阻害された可能性である。両可能性を検討するため、次に野生株の *hscA* 遺伝子を破壊した株を同様に作成し解析を行った結果、30°C、42°C共に生育し、桿菌形態を示した。しかも、この破壊株を変異型 *hscA715* 遺伝子をもつプラスミドで形質転換した株は、温度感受性にならず、30°C、42°C共に桿菌形態であった。この結果は、*fts715* 変異株の *hscA* 遺伝子を破壊した結果と異なっており、変異型 *hscA715* 遺伝子が細胞分裂を阻害するためには *fts715* 変異株の遺伝的背景が必要であることが解った。つまり、第2の可能性が示唆された。HscA は Hsp70 ファミリーの蛋白質であり、大腸菌では、DnaK、Hsc62 と高い相同性を持ち、*in vitro* において ATPase 活性があり、シャペロンとして機能することが知られている。従って、DnaK や Hsc62 などが、HscA の代用をしている可能性も考えられる。*hscA* 遺伝子については、既に T. H. Kawula らにより *hscA1* 変異が分離されている。この変異は *hns* (大腸菌のヒストン様蛋白質をコードする遺伝子) の変異形質を部分的に抑制することが知られているが、分裂との関わりについては全く解析されていない。また、HscA はバクテリアに広く保存されており、大腸菌の全蛋白質量の約 1% も存在するにもかかわらず、その細胞内機能については良く解っていない。そこで、*hscA* 遺伝子の変異 *fts715* が、分裂装置構築のどの過程に影響を与えているか解析をおこなった。まず、*fts715* 変異が、FtsZ-リング形成の前後どちらの過程に影響を与えているか解析するために、FtsZ の細胞内局在を間接蛍光抗体法で観察した。その結果、30°C では野生株と同様、桿菌細胞の中央部に顕著な FtsZ-リングが観察された。しかし、42°C では分裂予定位置に FtsZ-リングがほとんど検出されず、しかも検出された FtsZ-リングは全てフィラメント細胞の端側の分裂予定面に位置していた。恐らく、30°C で形成された FtsZ-リングが培養温度を 42°C に切り替えたことにより途中で停止したものと思われる。このような形質は FtsZ 蛋白質の量が減少したことが原因とも考えられたので、FtsZ 量をウエスタンブロッティングにより測定した結果、*fts715* 変異株と野生株では FtsZ 量に違いは無かった。以上の結果から、*fts715* 変異は、細胞質中の FtsZ が集合して FtsZ-リングを形成する過程を阻害していることが解った。野生型 HscA の機能を類推するために、アラビノースプロモーターにより *hscA* 遺伝子の発現を制御した株について、FtsZ-リングの局在を解析した。その結果、*hscA* 遺伝子の発現が抑制された条件下では、63% の細胞は分裂予定面に FtsZ-リングが観察された。15% 細胞で、細胞の端のポールにのみ FtsZ-リングが観察された。また、ポール側にのみ FtsZ-リングをもつ細胞は、比較的小さい細胞であることから、分裂した直後の細胞と思われる。*hscA* 遺伝子を発現させた細胞では、90% 以上の FtsZ-リングが分裂予定面にのみ観察された。以上の結果から HscA は FtsZ-

リングの形成に関与して、HscAが欠乏するとFtsZ-リングが異常になり、分裂後FtsZが速やかに脱リングしない、あるいはHscAはFtsZの脱リングに直接関与している可能性が示唆された。

そこで、FtsZとHscAの共局在の可能性を検討した。まず、野生型HscA蛋白質を精製した抗体を作成した。この抗体はHscAだけでなくDnaKも認識したので、野生株の*dnaK*を破壊した株について、HscAの細胞内局在を観察した。その結果、分裂直後の小さい細胞では両端のポール側にHscAが局在するが、少し成長した細胞では分裂予定面と両ポールの合計3ヶ所にHscAが局在していた。この結果は前項のFtsZの局在から得た推論を強く支持するものである。以上の2つの結果から、HscAとFtsZの間に物理的相互作用があることが強く示唆された。そこで、FtsZとHscAの蛋白質間相互作用を検討するための*in vitro*の解析をおこなった。精製されたFtsZのGTP依存的に重合・脱重合に、野生型HscA、変異型HscA715がどのような影響を与えるか解析した。FtsZの重合・脱重合度は光散乱法で測定した。27℃では、野生型HscA、変異型HscA715いずれもFtsZの重合・脱重合にほとんど影響を示さなかった。36℃では、野生型HscAを加えてもFtsZの重合・脱重合度は変化しなかったが、変異型HscA715存在下ではFtsZの重合・脱重合度は半分に抑制された。このことから変異型HscA715は*in vivo*だけでなく*in vitro*でも高温でFtsZの重合・脱重合の過程を阻害することが解った。*in vitro*において、野生型HscAはFtsZの重合に影響を示さなかったので、野生型HscAとFtsZの物理的相互作用の可能性を検討するために、野生型HscAが重合したFtsZと共沈するかどうか遠心法で調べた。HscA共存下でFtsZを重合させ、超速心後、その上清と沈殿をSDS-PAGE、CBB染色で検出した結果、HscAは重合したFtsZと共沈した。このことから確かにHscAは重合したFtsZに結合することが解った。以上の結果から、HscAは、FtsZ-リング形成あるいはFtsZの脱リング化の過程に関与していることが解った。

(3) 大腸菌の膜構成成分と細胞分裂の共役：西森加奈，藤島博史，高木秀幸，西村昭子

多くの状況証拠から「細胞の整合的増殖は、細胞内諸反応と細胞分裂の相互識別により営まれている」との仮説を立て、細胞内主要反応と細胞分裂との共役関係の実在を立証してきた。その結果、外膜構成成分の約30%を占めるリポ多糖の合成が欠損すると、細胞分裂環の構成成分であるFtsZの合成が転写レベルで阻害されることを見出した。まず広田の温度感受性変異株の中から、*ter*領域のDNAにより相補される7種の細胞分裂変異株(*fts1* ~ 7)について解析をおこなった。以下の結果から、何れもリポ多糖合成に関与する遺伝子*kdsA*に変異を持つことが解った。(1) P1 フェージマッピングにより7種全ての変異が27分にマップされた。(2) *fts1* ~ 7変異を相補する最小DNA領域のサブクローニングとシーケンス解析の結果、*kdsA*遺伝子とその丁度裏側にORF-Xが認められた。(3) シーケンスにより変異点の決定を行った。KdsAのアミノ酸配列は7種の変異株全てで変化していたが、ORF-Xではアミノ酸置換が認められないものが4株あった。(4) 更に部位特異的変異によりORF-XのN末70番目のグルタミン酸はストップ・コドン

に変化するが、KdsAのアミノ酸配列は変化しないように改変したプラスミドを作成し、*fts1*~7に対する相補活性をみた。その結果、このプラスミドは7種全ての*fts*変異を相補した。以上の結果から7種の*fts*変異遺伝子は、全て*kdsA*遺伝子のアリアルであると結論した。*kdsA*遺伝子は3-deoxy-D-manno-octulosonic-acid(KDO)の前駆体であるKDO-8-リン酸の合成酵素をコードする。一方リポ多糖はリピドAと少糖鎖からなり、KDOは両者のリンカー部を構成する。また、リポ多糖は外膜総重量の30%も占めている。従って、KDO合成が欠損するとリピドAがペリプラズム層に蓄積し外膜からリポ多糖が欠失する為、膜構造は非常に不安定になり、膜蛋白の局在性や細胞隔壁の形成に大きな影響を与えると考えられる。一方膜は、外環境からの情報を受け細胞内に伝達する機能も保持している。従って、膜成分の合成と膜の安定性が細胞分裂遺伝子群の転写に関与している可能性も考えられる。大腸菌の*kdsA*遺伝子はサルモネラ菌の*kdsA*変異株を相補するDNAとして分離されたものであるが、大腸菌の*kdsA*遺伝子の変異株は、現在迄に分離されておらず、膜成分の合成と細胞分裂の共役、膜構造の変化と分裂装置蛋白質群の機能的相関など、細胞分裂との関わりも不明であった。まず膜の安定性を解析する為に、極性の強いアミノ酸に置換していた*fts2*について、各種疎水性薬剤に対する感受性を野生株と比較した。培養は、変異株がコロニーを形成できる最高の温度36°Cでおこなった。*kdsA*変異株はノボピオシンやエオシンY、SDSには感受性を示すが、逆にEDTAでは野生株の方が感受性であった。また食塩を含まないLB培地では、変異株は36°Cでコロニー形成能が阻害されるがメチレンブルーの添加によりコロニーを形成するようになり、食塩を0.5%含むLB培地にメチレンブルーを添加すると野生株より大きなコロニーを形成した。メチレンブルーの添加により、変異株の増殖が活性化されるようである。従って膜の不安定化により単に分裂蛋白が安定に膜上に構築されないだけでなく、膜構造の変化が遺伝子の転写に直接影響しているのではないかと予測し、分裂環構成成分をコードする*ftsZ*のmRNA量を測定した。その結果、変異株のmRNA量は30°Cでも親株の3/4まで減少していた。培養温度を41°Cに切り換えると培養液の濁度が2倍増加する毎に3/5ずつ減少した。41°Cでの*ftsZ*-mRNAの減少速度はKDOの減少速度と略一致していた。変異株を*kdsA**を担うプラスミドで形質転換した株では、*ftsZ*-mRNA量もKDO量も親株と同じレベルまで回復した。しかし、*ftsZ**を担うプラスミドで*kdsA*変異株を形質転換しても分裂を回復しないことから、*kdsA*変異は*ftsZ*以外にも多くの遺伝子の転写に影響を与えているものと思われる。

(4)大腸菌ABCトランスポーターFtsEの機能解析：藤島博史，鶴飼英樹，川端 猛，西川 建，西村昭子

我々は細胞分裂の温度感受性変異株*ftsE*^{ts}を41°Cで培養すると、大腸菌の3種のK⁺ポンプを構成する膜蛋白の局在が阻害されることを明らかにした(J Bacteriol. 1998, 180:3663-3670)。ftsEはftsYEXオペロンを形成していて、FtsYはSRP受容体のホモログであることからFtsEも膜透過装置を構成している可能性が予測された。しかし

一方、(1)低 pH 培養条件下では、ftsE 変異株の細胞分裂阻害や増殖阻害や K⁺ ポンプの構築阻害が回復すること、(2)ftsE 変異株は H⁺ のアンカプラー CCCP に対する感受性が、親株と比べて低いこと、(3)ftsE 変異株では H⁺ のアンチポーターである TetA のテトラサイクリン耐性能が低下していることを見いだした。このことから FtsE は細胞内 pH の調節に関与している可能性も示唆されたので、ftsE 変異株の細胞内 pH の測定系の検討をおこなった。また FtsE の一次配列から得られた構造解析から、FtsE は ABC トランスポーターのポンプ駆動部分であり、これを膜に維持する蛋白として、FtsX が機能している可能性が示唆されたので、ftsX 破壊株での K⁺ ポンプ構築や、分裂蛋白の膜局在について解析する為、ftsX の条件破壊株を作成した。

(5)大腸菌 SpoT 蛋白質における ppGpp 合成ドメインの推定：田中 愛，藤田千鶴子，前田真希，池原健二，松本邦男，西村昭子

大腸菌 SpoT 蛋白質はアミノ酸欠乏などに伴って蓄積された ppGpp を分解する為の酵素であると考えられてきたが、近年の研究結果、(1)SpoT 蛋白質は ppGpp 合成酵素である RelA 蛋白質と高い相同性を有すること、(2)大腸菌 *spoT* 及び *relA* の二重欠失変異株は ppGpp を合成する活性を全く失うこと、(3)それに伴って、複数種のアミノ酸を要求する性質が生じることなどから、大腸菌の SpoT 蛋白質は ppGpp の合成と分解を担う二機能性酵素であることが分かってきた。そこで我々はまず最初にこの大腸菌 SpoT 蛋白質をキモトリプシンなどの蛋白質分解酵素による部分分解産物の解析を行い、この蛋白質は4つのドメインからなることを確認した。次に、各ドメインをさまざまな組み合わせで発現するプラスミドを作成し、どのドメインに ppGpp 合成の活性が存在するのかを調べた。*spoT* 及び *relA* の二重欠失変異株に各ドメインをコードするプラスミドを導入する実験を行ったところ、N 末から2番目のドメインを含むプラスミドを導入した時には、常に(1)アミノ酸合成能の回復によって最小合成培地での生育が可能となること、(2)ヒスチジン類似体であるアミノトリアゾールに対する抵抗性を回復することが分かった。更に、ドメイン1+2で形質転換した株には、確かに ppGpp を合成する活性のあることが確認できたことから、大腸菌 SpoT 蛋白質の N 末端から2番目のドメインに ppGpp 合成の活性がコードされていることが推定できた。緊縮調節に於ける ppGpp 合成と増殖の関係を詳細に解析する為、ドメイン1, 1+2, 1+2+3, 1+3+4, 1+2+3+4, 2, 2+3+4, 3, 3+4, 4, をコードする DNA の発現ベクターへのクローニングをおこなっている。

(6)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：堀江真紀子，坂季美子，北川正成，後藤康丞，森 浩禎，松本邦男，菅原秀明，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発現のヒエラルキー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子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)のマッピングをおこなってきた。昨年度から、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

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)の系を構築した。今年度は約 1000 の野生型 ORF をクローニングした。

研究業績

(1) 原著論文

1. Azam, T. A., Iwata, A., Nishimura, A., Ueda, S., Ishihama, A.: Growth phase-dependent variation in protein composition of the *Escherichia coli* nucleoid. *J. Bacteriol*, **181**, 6361-6370, 1999.
2. Nishimura, A.: Timing of cell division: Ap4A as the signal. *TiBS*, **23**, 157-159, 1998.
3. Ukai, H., Matsuzawa, H., Ito, K., Yamada, M. and Nishimura, A.: *ftsE*(Ts) affects translocation of K⁺-pump proteins into the membrane *Escherichia coli*. *J. Bacteriol*, **180**, 3663-3670, 1998.

(2) その他

1. 西村昭子：大腸菌の系統保存。蛋白質核酸酵素, **143**(10), 1377-1380, 1998. 共立出版.

(3) 発表講演

1. Nishimura, A.: Timing of Cell Division: Ap4A as a Signal. International symposium "Bacterial Cell Cycle Meeting". Abondance, France, March 1999.
2. Nishimura, A., Ukai, H., Itoh, K., Matsuzawa, H.: Defect in growth of *ftsE*(ts) is due to the loss of K⁺ ion pumps in *Escherichia coli*. International symposium "Bacterial chromosomes". Keystone, USA, February. 1998.
3. Nishimura, A.: Post genome project: Systematic analysis of unknown genes in *Escherichia coli* K12. The frontier of genome research on microorganisms. Osaka, 1999.
4. 西村昭子：大腸菌の K⁺-ポンプ蛋白の膜局在に与える *ftsE* 変異の影響。大阪大学蛋白研究所セミナー“膜蛋白質の生合成と蛋白質膜透過のメカニズム”，大阪，7月，1999.
5. Uehara, T., Matsuzawa, H., Fujishima, H., Wakagi, T., Nishimura, A.: HscA66, a DnaK homolog, is involved in the cell division of *Escherichia coli*. ワークショップ“微生物細胞周期の新展開”，第22回日本分子生物学会年会，福岡，12月，1999.
6. 藤島博史，鶴飼英樹，上原 剛，松澤 洋，西村昭子：大腸菌 ABC transporter FtsE の機能解析。第22回日本分子生物学会年会，福岡，12月，1999.

7. 山川武廣, 池上 徹, 加藤潤一, 森 浩禎, 西村昭子, 山崎由紀子: オブジェクト指向技術を用いた大腸菌データベース(PEC)の構築. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月, 1999.

F-e. 無脊椎動物遺伝研究室

平成11年度も林 茂生, 後藤 聡を中心にキイロショウジョウバエの発生遺伝学に関する研究を行った. 池谷智淳(国立遺伝学研究所非常勤研究員), 亦勝 和(大阪府立大学大学院), 千原崇裕(総合研究大学院大学), 久保田一政(東京医科歯科大学大学院), 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, 間瀬玲子, 栗田憂子, 丹羽ひろみ, 米山佐知子, 松永 彩, 佐渡由希子が研究と系統保存事業を支援した. 林・久保田は4月に米国ワシントン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. 本年度の研究は文部省特定領域研究(B)「細胞分化による細胞間相互作用の変換機構」, 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), 文部省特定領域研究(A)「ショウジョウバエ脚のパターン形成機構の解析」「複数の細胞外シグナル因子による遺伝子発現制御の解析」, 文部省奨励研究(A)「1分子イメージングによる生体分子の時間的・空間的動態の解析」, 文部省特定領域(B)「発生における分子機構のイメージング」(後藤), 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, 林 茂生
 ショウジョウバエの脚・翅の原基は, 最初, 共通の前駆細胞として胚期に誘導される. その後, 分泌蛋白Decapentaplegic (Dpp)の濃度勾配によって翅・脚への運命決定がなされる. 高濃度のDppを受け取った細胞は翅の運命を, 低濃度のDppを受け取った細胞は脚近位部の運命を獲得する. しかし, 解析を進めていくうちに, 運命決定過程の説明にDppだけでは不十分だと考えられた. そこで, 他のシグナルが関与しているかを調べたところ, ショウジョウバエのEGF受容体(DER)の機能欠失変異体では, 脚原基が形成されることがわかった. また, DERのリガンドとしては分泌蛋白Spitz (Spi)が, DERの下流ではMAPKカスケードが働いていることがわかった(久保田).

脚は, 基部から先端部にいたる近遠軸にそったパターンをもっている. 胚期に誘導された脚原基では, 近遠軸にそって2つの領域に分けられる. 基部(近位部)ではZnフィンガー遺伝子*escargot* (*esg*)とホメオボックス遺伝子*homothorax* (*hth*)が, 先端部(遠位部)ではホメオボックス遺伝子*Distalless* (*Dll*)が発現している. 幼虫期を通じて, 脚原基は分節化し, 成虫では9つの節からなる脚が完成する. このような成虫脚の近遠軸にそったパターンが, 胚期の2領域を基に, どのようにして形成されるかを調べた. *esg*と*hth*の異所的強制発現や, 機能欠失細胞群の誘導による近遠軸パターンに及ぼす効果を解析した結果, 近位部と遠位部との間での細胞間相互作用が脚の分節化と極性決定に重要であることがわかった. 詳細は原著論文2に発表した(後藤).

(2) 気管形成の細胞生物学：池谷智淳，千原崇裕，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．

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を仲介する重要なシグナル伝達系のレセプター分子である．気管形成においては様々な機能を担った細胞種がNotchの機能に依存して枝ごとに決まった数だけ選択されてくることがわかった．このNotchの作用の背景にはFGF様因子をコードする*branchless*との相互作用があることを明らかにした．詳細は原著論文3に発表した(池谷)．

気管原基は外胚葉から陥入すると決まった方向に分岐して枝を伸展させる．この伸展パターン決定に関わる分子機構をDpp，EGFR，Wgシグナルによる細胞運命決定と細胞運動制御の観点から検討している(千原)．

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

ショウジョウバエの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．我々は過剰な翅脈の突然変異表現型を示す遺伝子*plexus*を分子遺伝学的に研究した．*plexus*遺伝子産物は新規のZnフィンガー様の蛋白で，核マトリックスの構成成分であった．また遺伝学的解析により*plexus*は新たなクラスの翅脈形成抑制因子であることが明らかとなった．詳細は原著論文4に発表した(亦勝)．

(4) 形態形成に関わる新規の遺伝子機能同定のためのスクリーニング：後藤 聡，谷口美佐子，佐渡由希子，栗田憂子，松永 彩，丹羽ひろみ，林 茂生

脚・翅や気管の形成過程には，いまだ未知な点が多い．そこで，脚・翅や気管の形成過程に関わる遺伝子を網羅的にリストアップすることを目的にして，Gal4を用いたエンハンサートラップ系統のスクリーニングを行っている．国内の7研究室と共同で約4500系統のエンハンサートラップ系統を作成した．レポーター遺伝子としてGFPとlacZを用い，胚では抗beta-Gal抗体による抗体染色，1，2齢幼虫と成虫ではGFPによる生体蛍光観察，3齢幼虫ではX-gal活性染色により発現パターンを観察している．当研究室では，胚の抗体染色を迅速かつ大量に行えるシステムを確立して，全系統の染色をほぼ完了した．また，P因子挿入による突然変異のスクリーニングも行っている．現在この方法で選り出された系統で変異している遺伝子の同定を行っている．このスクリーニングの結果は，生物遺伝資源情報総合センターの系統情報研究室との共同作業でデータベース化している．

研究業績

(1) 原著論文

1. Hayashi, S. and Yamaguchi, M.: Kinase-independent activity of Cdc2/Cyclin A prevents S phase in the *Drosophila* cell cycle. *Genes to Cells*, **4**, 111-122, 1999.
2. Goto, S. and Hayashi, S.: Proximal to distal cell communication in the *Drosophila* leg provides a basis for an intercalary mechanism of limb patterning. *Development*, **126**, 3407-3413, 1999.
3. Ikeya, T. and Hayashi, S.: Interplay of Notch and FGF signaling restricts cell fate and MARK activation in the *Drosophila* trachea. *Development*, **126**, 4455-4463, 1999.
4. Matakatsu, H., Tadokoro, R., Gamo, S. and Hayashi, S.: Repression of the wing vein development in *Drosophila* by the nuclear matrix protein Plexus. *Development*, **126**, 5207-5216, 1999.
5. Fuse, N., Matakatsu, H., Taniguchi, M. and Hayashi, S.: Snail-type zinc finger proteins prevent neurogenesis in *Scutoid* and transgenic animals of *Drosophila*. *Development Genes and Evolution*, **209**, 573-580, 1999.
6. Adachi-Yamada, T., Nakamura, M., Irie, K., Tomoyasu, Y., Sano, Y., Mori, E., Goto, S., Ueno, N., Nishida, Y. and Matsumoto, K.: p38 mitogen-activated protein kinase can be involved in transforming growth factor- β superfamily signal transduction in *Drosophila* wing morphogenesis. *Mol. Cell. Biol.*, **19**, 2322-2329, 1999.

(2) その他

1. 後藤 聡, 林 茂生: ショウジョウバエ脚のパターン形成 - 近遠軸形成機構. *実験医学*, **17**: 306-312, 1999.

(3) 発表講演

1. 林 茂生: はばたく虫たち - 昆虫の付属肢の起源. 千里ライフサイエンスセミナー, 大阪, 2月.
2. Hayashi, S., Yamaguchi, M.: Kinase-independent activity of Cdc2 prevents S phase. 40th Annual *Drosophila* Research Conference, Washington, USA, March.
3. Kubota, K., Goto, S., Eto, K., Hayashi, S.: Role of the *Drosophila* EGFR signaling in the embryonic limb development. 40th Annual *Drosophila* Research Conference, Washington, USA, March.
4. 林 茂生: Patterning mechanisms of the *Drosophila* limb and their implication for appendage evolution. 日本発生生物学会, 兵庫, 5月.
5. 久保田一政, 後藤 聡, 江藤一洋, 林 茂生: ショウジョウバエ翅・脚原基形成に

- におけるEGFシグナルの役割. 日本発生生物学会, 兵庫, 5月.
6. 亦勝 和, 田所竜介, 蒲生寿美子, 林 茂生: ショウジョウバエ核内マトリックスPlexusは翅のパターン形成に関与する. 日本発生生物学会, 兵庫, 5月.
 7. 志賀靖弘, 林 茂生, 時下進一, 太田敏博, 山形秀夫: ミジンコ *Antennapedia* 遺伝子産物のショウジョウバエ胚における機能解析. 日本発生生物学会, 兵庫, 5月.
 8. 池谷智淳, 林 茂生: ショウジョウバエ気管形成におけるNotchシグナルの役割. 日本発生生物学会, 兵庫, 5月.
 9. 千原崇裕, 林 茂生: ショウジョウバエ気管系におけるescargot 遺伝子の発現制御. 日本発生生物学会, 兵庫, 5月.
 10. 林 茂生: Escargot とCdc2による細胞周期チェックポイント機構. 日本解剖学会関東地方会第9回懇話会, 東京, 7月.
 11. 久保田一政, 後藤 聡, 江藤一洋, 林 茂生: ショウジョウバエ翅・脚原基形成におけるEGFRシグナルの役割. 日本ショウジョウバエ研究会, 愛知, 8月.
 12. 亦勝 和, 田所竜介, 蒲生寿美子, 林 茂生: 核マトリックス構成分子Plexus翅脈パターン形成での役割. 日本ショウジョウバエ研究会, 愛知, 8月.
 13. 林 茂生, 池谷智淳, 田中-亦勝実穂, 千原崇裕: Cell specification and polarization in the tracheal development. 日本ショウジョウバエ研究会, 愛知, 8月.
 14. 池谷智淳, 林 茂生: Notchシグナルが果たす気管での役割. 日本ショウジョウバエ研究会, 愛知, 8月.
 15. 後藤 聡, 谷口美佐子, 林 茂生: 肢原基で発現するgal4エンハンサートラップシステムのスクリーニング. 日本ショウジョウバエ研究会, 愛知, 8月.
 16. 千原崇裕, 林 茂生: ショウジョウバエ気管系におけるWgシグナリングの二つの機能. 日本ショウジョウバエ研究会, 愛知, 8月.
 17. 亦勝 和, 田所竜介, 蒲生寿美子, 林 茂生: 核マトリックス蛋白Plexusによるショウジョウバエ翅脈パターンの制御. 日本遺伝学会第71回大会, 広島, 9月.
 18. 志賀靖弘, 林 茂生, 太田敏博, 山形秀夫: ミジンコ *Antennapedia* 遺伝子産物のショウジョウバエ胚における機能解析. 第22回日本分子生物学会, 福岡, 12月.
 19. 林 茂生, 伊藤 啓, 吉原基二郎, 上田 龍, 松崎文雄, 中越英樹, 相垣敏郎, 後藤 聡, 上村 匡, 谷村禎一: ショウジョウバエでのGAL4エンハンサートラップによる大規模スクリーニング. 第22回日本分子生物学会, 福岡, 12月.
 20. 千原崇裕, 林 茂生: ショウジョウバエ気管系におけるWinglessシグナリングの二つの機能. 第22回日本分子生物学会, 福岡, 12月.
 21. 後藤 聡, 谷口美佐子, 林 茂生: 翅・脚原基で発現するgal4エンハンサートラップシステムのスクリーニング. 第22回日本分子生物学会, 福岡, 12月.

G. 生物遺伝資源情報総合センター

本センターは、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及び系統情報を統合的に収集整理してデータベースを構築するためのセンターとして平成9年度に設立された。本センターは系統情報研究室(山崎由紀子助教授)と生物遺伝資源情報研究室(小原雄治教授)の2研究室からなり、それぞれ、系統情報データベース、生物遺伝資源委員会の運営という事業を担っている。系統情報データベースについては、昨年度の立ち上げ期を経て、いくつかの生物種のデータベース公開に至っている。各生物種の関連研究者の協力を得て、ますますその内容を充実させていく計画である。生物遺伝資源委員会は発足に手間取ってしまったが、1999年10月に第1回全体委員会を開催した(「Ⅵ. 研究材料, 研究情報の収集と保存」の項を参照)。有機的な運営のため設けた幹事会(ステアリングコミッティー)を中心にわが国の系統保存事業の効果的な運営のために活動を進める予定である。

一方、本センターに課せられた事業をより意義のあるものにしていくためには、生物学の新しい流れを踏まえた系統生物学・系統情報学の先導的研究を遂行してゆく必要がある。このために本センターでは、実験系と情報系が融合をめざして、ゲノム生物学(ゲノムの機能の徹底的な解明と生命システムの多様性研究)や生物情報科学(多様な生物情報のデータベース化と新しい知識の抽出)の研究を進めている。

G-a. 系統情報研究室

系統情報研究室では、山崎由紀子が「異種統合知識情報データベースに関する研究」を行った他、山崎由紀子、山川武廣(業務委託)、三ツ井和(業務委託)、渡辺功二(業務委託)、斉藤真理(業務委託)、土屋里枝(業務委託)、堀口達矢(業務委託)、鈴木健司(業務委託)、鈴木栄美子(業務補佐員)、矢野澄子(事務補佐員)が、研究事業「遺伝資源情報データベースプロジェクト」を推進した。

本年度の研究は、科技庁科学技術振興調整費「マウス遺伝子多型情報に基づいた遺伝子機能解析システムの開発」(代表者:城石俊彦)の支援を受けた。

また遺伝学研究所の共同研究として、「ムギ類の画像およびDNA データベース構築手法の開発」(岡山大学資源生物化学研究所 佐藤和広)および、「ヒト腸管由来の *Lactobacillus gasseri* JCM1031 株における2種のフォスホ-β-ガラクトシダーゼの構造遺伝子からの分子系統解析」(東北大学大学院農学研究科 齋藤忠夫)を実施した。

(1) 異種統合知識情報データベースに関する研究

当研究室では、各生物種毎に作成した遺伝資源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。本年度は大腸菌データベースおよびイネデータ

ベースが完全オブジェクト指向型データベースとして完成したので、これらのデータベースを例に比較解析方法を検討している。特に染色体レベルでの生物種間比較について、大腸菌遺伝子分類データベースのアプリケーションとして開発した Genomic view を基に、より一般化できるシステムを考案中である。

(2) 遺伝資源情報データベースの構築

イネ: イネ遺伝資源小委員会(代表: 当研究所植物遺伝研究室・倉田のり助教授)との共同作業により、第2世代データベース-Oryzabase(test version)-を構築した。Oryzabaseは、(1)系統情報(11080 accessions)、(2)変異体画像コレクション(77 images)、(3)染色体地図(6maps)(特に遺伝子地図、遺伝子分子地図、物理地図を統合した地図)、(4)遺伝子辞書(ca. 1000 genes+ca. 2300 markers)、(5)文献情報(1100)、(6)イネ学の基礎、から構成される。また遺伝子辞書の自動更新システムを開発し、遺伝子分類別の担当者が外部からアクセスして情報更新することを可能にした。本データベースはObjectStoreを用いたオブジェクト指向型データベースであり、アプリケーションにJAVAを採用した。(URL: <http://www.shigen.nig.ac.jp/rice/rice.html>)。

コムギ: 本年度は系統情報データベース--KOMUGI-ver. 1.2-をリリースした他、ミラーリング用のシステムを構築し、米コーネル大のサーバー上にKOMUGIミラーサイトを開設した。またDNA配列データベースから大麦を除く麦類(属名 *Aegilops*, *Agropyron*, *Avena*, *Triticum*, *Secale*)の情報を抽出しKOMUGIホームページから参照できるようにした(<http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/wheat.html>)。さらに、International Triticeae EST Cooperative (ITEC)の日本グループ(代表: 横浜市立大学木原生物学研究所・荻原保成助教授)のメンバーとして、データ登録、解析およびデータベース構築を行った。日本グループは、*Triticum aestivum*, cv. Norin 26の幼穂から分離したおよそ2000クロンの配列データを登録した。データベースにはこれらの配列の他、ITECが収集した全配列と、blastnおよびblastx検索結果、phradを用いて作成したCONTIG配列などを収録し、Web上に公開した。ITECに登録されたすべての情報(最終的に4万クロンを予定)は2000年7月に一般公開を予定しており、それまでに十分な解析ができるようローカルなblast検索ツールもメンバー内に提供している。

オオムギ: 昨年に引き続き、岡山大学生物資源科学研究所の佐藤和広助教授との共同作業により、オオムギ系統情報データベースの維持、管理および公開を行った。岡山大学におけるデータベースシステムの準備が整うのを待って、ネットワーク上のCORBA環境でデータの送受信を行う予定である。(<http://www.shigen.nig.ac.jp/barley/Barley.html>)

アラビドプシス: 昨年に引き続き、宮城教育大学教育学部・後藤伸治教授との共同作業により、アラビドプシスのAISコレクション(独: Arabidopsis Information Service)および仙台コレクションのデータベースの維持、管理および公開を行った。(<http://www.shigen.nig.ac.jp/arabidopsis/>)

ショウジョウバエ：昨年に引き続き、保存系統データベースの維持、管理および公開を行った(<http://shigen.lab.nig.ac.jp/fly/CENTER.e.html>)。また当研究所無脊椎遺伝研究室林 茂生助教授との共同作業により、エンハンサートラップ系統およびその発現パターンデータベースの維持、管理およびメンバー内公開を行った。

マウス：昨年に引き続き、当研究所哺乳類遺伝研究室城石俊彦教授との共同作業により、飼育系統と凍結胚保存系統のデータベースの維持管理および公開を行った(<http://www.shigen.nig.ac.jp/mouse/mouse.default.html>)。また科技厅プロジェクトである Mouse Microsatellite Database of Japan(MMDBJ)においては、公開中のデータベースとは別に、(i)microsatellite DNA の配列情報、(ii)電気泳動パターンの画像情報および(iii)解析結果の3項目を追加したデータベースを構築しメンバー内公開を行った。

クローニングベクター：DNA 配列データベースとのクロスリファレンス化を行いデータベースに反映させた。データベース管理は昨年に引き続き、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た。(<http://www.shigen.nig.ac.jp/cvector/cvector.html>)

大腸菌：東京大学医科学研究所・加藤潤一助教授・池上氏との共同作業により、大腸菌遺伝子分類データベース(PEC: Profiling of E.coli Chromosome)を構築し、試作版の公開を開始した。(<http://www.shigen.nig.ac.jp/eco/pec/>)。PEC ver. 1.0 は、(1)全遺伝子の基本情報(遺伝子名、別名、位置情報、関連データへのリンク)、(2)遺伝子の分類情報：a:「生育に必須か否か」の分類、(3)欠失株情報および関連文献情報、(4)枯草菌 ortholog 遺伝子情報、から構成される。遺伝子の基本情報は、(1)Escherichia coli database collection, Justus-Liebig-Universitaet Giessen, GERMANY by Mnafred Kroeger 1997, (2)GenBank Accession AE000111-510(1998)and U00096, (3)Linkage Map Edition 10 (1998) by Mary Berlyn, (4)Completing the E.coli proteome, Dr.Gavin H.Thomas, John Innes Centre, ukを参考にし、最終的に加藤氏が注釈した結果を反映している。「生育に必須か否か」の判断は、(i)文献に基づくもの他、(ii)リボソームとtRNA synthetase 遺伝子は無条件に必須とし、(iii)鞭毛関連遺伝子は文献とは無関係に非必須とし、(iv)deletionが得られたものについては非必須と判断している。このほか、b:ドメイン・モチーフ解析からの分類、c:コドン解析による分類、d:他の生物種との比較解析からの分類、などを加えていく計画である。本データベースは、データベースマネジメントソフトとしてObjectStoreを使ったオブジェクト指向型データベースであり、アプリケーションとしてJAVAを使用した。また、PECとは独立に、本研究所在核生物研究室・西村昭子助教授との共同作業により、系統情報データベースを構築し試作版の公開を開始した。(<http://www.shigen.nig.ac.jp/ecoli/strain/>)。PECデータベースとの連携作業を行っている。

研究業績

(1) その他

1. PEC - <http://www.shigen.nig.ac.jp/ecoli/pec/>
2. Oryzabase - <http://www.shigen.nig.ac.jp/rice/oryzabase>
3. Cloning vector Database updated - <http://www.shigen.nig.ac.jp/cvector/cvector.html>
4. Mouse Database updated - <http://www.shigen.nig.ac.jp/mouse/mouse.default.html>
5. E.coli strain database - <http://www.shigen.nig.ac.jp/ecoli/strain/>

(2) 発表講演

1. 山川武廣, 池上 徹, 加藤潤一, 森 浩禎, 西村昭子, 山崎由紀子: オブジェクト指向技術を用いた大腸菌データベース(PEC)の構築. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
2. 荻原保成, 藤田雅子, 河浦香奈子, 大澤智子, 村井耕二, 松岡由浩, 布藤 聡, 佐藤恵美, 早川克志, 野田和彦, 宇都木繁子, 力石和英, Ahmed Nisar, 半田裕一, 村山誠治, 小林 愛, 下坂悦生, 栗原志保, 富田因則, 寺地 徹, 山崎由紀子: コムギのゲノム科学II, コムギ幼穂で発現されるcDNAの大量解析. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.

G-b. 生物遺伝資源情報研究室

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.

研究室構成は, 小原雄治(教授), 安達佳樹(助手), 小倉顕一, 伊藤将弘, 大浪修一(3月まで), 川崎一郎(7月から米国インディアナ大学より)(以上4名, 科学技術振興事業団研究員), 新井 理(帝人システムテクノロジー, 業務委託), 小川知之(CTI, 業務委託), 本橋智子(10月まで), 廣野啓子(以上2名, 科学技術振興事業団技術員), 大庭登紀江, 杉浦郁子, 小原真澄, 長岡圭美, 鈴木孝美(以上5名, 科学技術振興事業団実験補助員), 佐野正子, 上杉裕子, 杉山康代, 野本久代, 北山小百合, 林 和子(5月から8月), 赤間智子(5月から8月), 田中紀子(7月から), 岩田未菜(8月から), 大石加寿子(10月から), 芹澤路子(10月から), 中田恭子(10月から), (以上12名, パート実験補佐員), 水口洋平(アルバイト), 杉本章子(事務補佐員), 高橋初江, 三田真澄, 三田あつみ(補助業務員)であった. また3月に約2週間, Jean Thierry-MiegとDanielle Thierry-Mieg(共にCNRS, Montpellier, France)が研究室に滞在し, 共同研究をおこなった.

本年度の研究は, 文部省科学研究費特定領域研究「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), 科学技術振興調整費「ゲノムフロンティア」(小原, 代表・金久 実 京大教授)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。大腸菌全ゲノム 4,700 キロ塩基対が、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おり、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。大腸菌全ゲノム塩基配列はすでに決定されたこともあり、リクエストは減ったが、それでも本年は 13 件、のべ 1,015 クローンを 4ヶ国(日本、インド、アメリカ、韓国(件数順))の研究者に送付した。これまでの累計は、25ヶ国 826 件、のべ 99,198 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。発現パターン情報と共に DDBJ 計算機上での WWW での公開を開始している (<http://watson.genes.nig.ac.jp:8080/db/index.html>)。

cDNA クローンについては、1999 年には 875 件のべ 4,516 クローンを 18ヶ国(アメリカ、日本、イギリス、カナダ、ドイツ、韓国、スイス、台湾、フランス、スウェーデン、ベルギー、イタリア、オランダ、オーストリア、オーストラリア、シンガポール、香港、ポルトガル(件数順))の研究者に分与した。これまで(1995年-1999年)の累計は、24ヶ国 2,591 件、のべ 11,242 クローンにのぼっている。昨年からは RNAi への利用のためクローンの請求が急増した。

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)に書き込まれているが、英米 2 グループの共同作業による全ゲノム DNA の塩基配列決定計画がほぼ完了し 1998 年 12 月に発表された。

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: 佐野正子, 杉山康代, 野本久代, 林 和子, 赤間智子, 田中紀子, 大石加寿子, 新井 理, 小原雄治

これまでに、3種のcDNAライブラリーから約65,000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、10,955種(遺伝子)に分類した。これは、19,000と推定される全遺伝子の約半分以上にあたる。これに加え、東京大学医科学研究所・菅野純夫助教授のグループとの共同研究で、彼らが開発したオリゴキャッピング法での完全長cDNAライブラリーを試作し、その配列解析を行った。約2,000クローンを解析した結果、約400の新規なcDNA種が得られた。また、トランススプライスリーダー配列の新たな性質や、遺伝子構造の確認など多くの情報が得られた。引き続き配列解析を進める。また、米国ミネソタ大学のDon Riddle教授のグループが構築したdauer特異的cDNAライブラリーを均一化したものの配列解析も行った。挿入cDNAが極端に短いものが多いが、15%程度に新規cDNA種が見つかった。

(2) cDNAのマッピング: Jean Thierry-Mieg, Danielle Thierry-Mieg, 新井 理, 小原雄治

昨年に引き続き、ゲノムシーケンス(97Mb以上)を利用した *in silico* マッピングをおこない、エキソン/イントロンの対応付けを行うことにより、遺伝子構造の確定を進めた。このためにABIシーケンサーのクロマトファイルをUNIXワークステーションに読み込み、ゲノム配列と比較し、エキソンを次々同定していくプログラムを開発した。ゲノムシーケンシングチームが予測した遺伝子のセットであるWormPepは、その半分は何らかの修正が必要であることがわかり、最終的なデータベースの修正作業を進めている。すでに多数のalternative splicingパターンや、イントロン中の逆向き遺伝子の存在などを見つけてきた。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予定である。

(3) 線虫cDNAマイクロアレイ: 上杉裕子, 小原雄治

分類済み約10,000cDNA種の代表クローンについてcDNA部分をPCRで増幅し、昨年までにナイロンメンブレンに高密度でスポットしたいわゆる「マイクロアレイ」を作成し、内

外の共同研究に用いた。今年は、スタンフォード大学タイプのマイクロアレイスポットを導入し、ガラススライドへのスポットを行った。数々の問題に出くわし、時間がかかったが、16ピンによる約8,000クローンのマイクロアレイが作成できた。内外の多数の共同研究に供する予定である。また、結果のデータベース化の枠組みをNEXTDBの内部に構築した。

(4) 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，渡辺小百合，鈴木孝美，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引き続き進めている。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試料を含む画像を保存してデータベースすると共に、各ステージでの発現パターンのアノテーションをつけた。発現細胞の完全同定は困難であるので、発現部位を絵文字化し、テクニシャンがアノテーションしやすいワークベンチをNEXTDBの内部に設けた。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。これまでに、第3染色体とX染色体に同定した全ての遺伝子(それぞれ1,449個と1,281個)を含む約5,000遺伝子について幼虫-成虫期のアノテーションを終えた。さらに残り約2,000遺伝子(合計7,000遺伝子)についてはハイブリダイゼーションは終了し、アノテーションを進めている。必要に応じ国内外の研究者との共同研究を進めた。

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。

(5) 線虫 *C. elegans* 発生における遺伝子発現パターンのクラスタ分析：伊藤将弘，小原雄治

線虫 *C. elegans* は、わずか1,000個の体細胞からなるシンプルな系であり、その細胞系譜も明らかにされていることや、多細胞生物としては初めてほぼ全ゲノムの塩基配列(97Mb)が決定されたことから、「ゲノムから個体」の発生プログラムを個々の細胞レベルで遺伝子発現制御システムとして解明できる可能性の最も高い生物である。上述のように、われわれのcDNAプロジェクトでは全遺伝子の1/2以上の約10,000遺伝子のcDNAを分類し、これについて、mRNA *in situ* 発現パターン(空間的)を全発生過程(時間的)で観察し、発現パターンの記録(アノテーション)を行いデータベース化を進めてきた。

本研究の目標は、このような大量の遺伝子発現パターンからデータ解析と特徴抽出を行い、遺伝子発現の制御ネットワークの再構築することである。最初の試みとして、こ

れまでに、アノテーションを終えた第3染色体とX染色体に同定した全ての遺伝子を含む約5,000遺伝子について発現パターンのクラスター分析を行った。クラスタリングの方法にはいくつかの非類似度とアルゴリズムの組み合わせを試みた。すなわち、非類似度は、ユークリッド距離と標準ユークリッド距離の2種類を、アルゴリズムは、最短距離法、最長距離法、群平均法、メジアン法、k-means法の5種類を用いて、計10種類のクラスター分析をした。一連のクラスター分析結果は、中身は多少異なるが、1)ひとつの遺伝子のみからなるシングルクラスターが多数存在し、2)反対に100個以上の遺伝子からなる巨大クラスターの存在も観察された。現在、クラスター分析結果を詳細に検討し、最適のクラスタリングの方法を設定を試みている。

III. 線虫 *C. elegans* 発生における遺伝子発現制御の解析

(1) *C. elegans* の母性 mRNA の翻訳調節における POS-1 と PIP-1 の役割：小倉顕一，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。

C. elegans の *pos-1* 変異体は、母性胚致死で、咽頭筋や腸、生殖細胞の形成不全が観察される。また、*pos-1* 変異体では母性の *apx-1* mRNA が存在するにもかかわらず、APX-1 タンパク質が発現されないことから、POS-1 は母性の mRNA の翻訳調節に関わるのではないかと考えられていた。POS-1 は TIS11 型のジンクフィンガータンパク質であり、初期胚の主として後部割球の細胞質に存在する。また、線虫の生殖顆粒の構成タンパク質の1つである。しかし、その分子機能は不明であった。我々はその機能を明らかにするため、POS-1 と相互作用する分子をスクリーニングし、新規の RNA 結合タンパク質 PIP-1 を同定した。PIP-1 は卵母細胞から2細胞期までは全ての割球の細胞質に存在し、4細胞期以降は主として後部割球に存在する。また、PIP-1 も生殖顆粒の構成タンパク質の1つであることが判明した。*pip-1* 遺伝子の RNA 阻害の結果、咽頭筋や腸、生殖細胞の形成不全など、*pos-1* 変異体と良く似た表現型を示すことがわかった。PIP-1 は RNA 結合ドメインを持つこと、また、初期胚の細胞質で観察されること、特定の組織の分化に関わることから、やはりある特定の母性の mRNA の翻訳調節に関わるのではないかと予想される。そこで、*pip-1* 遺伝子の RNA 阻害の初期胚で、その発現や局在に影響が出る母性因子を探し、その候補分子を同定した。

(2) 線虫 *C. elegans* 母性遺伝子の RNAi による系統的機能解析と抗体による発現パターン解析：廣野啓子，長岡圭美，岩田未菜，大浪修一，小原雄治

本研究では線虫 *C. elegans* の初期発生に焦点をあて、これを支配する遺伝子システム解明をめざして、この過程に関与する全遺伝子の関係付けを進めている。

*C. elegans*の初期発生では受精後4回の卵割の間に各割球の運命決定がおこる。この過程は母性遺伝子に支配されている。われわれの研究室ではESTプロジェクトから全遺伝子の1/2強に相当する約1万のcDNA種を分離同定し、mRNAの発現パターンを約4000遺伝子について解析してきた。これまでの経験や予備の実験から、(1)卵母細胞に存在し、(2)受精後速やかに消失するかあるいは特定細胞系譜に局在化する、という遺伝子が初期発生の運命決定に関与する可能性が高いと考えられた。このような基準で、発現パターンデータをサーチすると約200遺伝子(約5%)見つかった。初期発生過程(受精-原腸陥入開始期)の遺伝子システムのカギの大部分がこの中にあるとすれば、このサブセットの遺伝子についてまず系統的に機能解析することが早道であると考え、この遺伝子群に対しRNAi(RNA mediated interference)による機能解析実験を進めている、具体的には、標準N2株に各遺伝子の2本鎖RNAを顕微注入し、注入した親虫、F1胚、孵化した幼虫(escaper)の成長、生殖能、形態等の観察を行っている。現在のところ、24%にF1胚致死またはF1数の減少、36%にescaperのみ表現型が見られ、40%には全く表現型が見られなかった。

また内100遺伝子についてタンパク発現パターンを明らかにするために、大腸菌で調製した部分蛋白でラット1匹を免疫し、現在までに63種に対する抗血清を得、これによる抗体染色の結果を明らかにした。これらの情報はNEXTDBに統合化した。

(3)線虫*C. elegans*初期胚の4次元遺伝子発現データベースの構築-発生の*in silico*再現をめざして-:伊藤将弘, 水口洋平, 本橋智子, 長岡圭美, 小原雄治

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44細胞期までCG化した。さらに、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(共焦点顕微鏡による3DのmRNAの分布、蛋白の分布)を重ね合わせる仕組みを開発した。重ね合わせのマーカにはPOS-1タンパク(P1-P4)とDAPI染色(すべての核)を用い、調べたい遺伝子産物をもう1色の蛍光で染めて、3重標識にしてCGと重ねるものである。これまでに、*skn-1*, *glp-1*, *mex-3*などの多数の母性遺伝子の発現結果をCGデータベースに重ね合わせて取り込んだ。

IV. 線虫 *C. elegans* T-box 遺伝子 *tbx-9* の解析: 安達佳樹

DNA 結合モチーフ T-box を持つ遺伝子は、様々な多細胞動物で見つかっており、発生初期における内胚葉の決定、脊索の組織分化、前後肢の差異を作る器官形成など、多岐にわたる発現現象への関与が明らかとなっている。また、最初に見つかった T-box 遺伝子であるマウス Brachyury (T) を含め数個の T-box 遺伝子については、その産物が転写の活性化因子もしくは抑制因子であることが示されている。*C. elegans* では全ゲノム配列を基に 20 個の T-box 遺伝子の存在が推定されているが、その機能の詳細な解析はなされていなかった。*C. elegans* における T-box 遺伝子の役割を解明するため、cDNA 解析により見いだされた最初の T-box 遺伝子であり、かつ T-box 遺伝子中で最も多数の cDNA クローンが分離されている遺伝子でもある CELK02736=*tbx-9* の解析を進めている。これまでに、*tbx-9* 産物は Brachyury 産物結合配列とよく似た配列に対する特異的結合能を持つ転写活性化因子であること、*tbx-9* の発現は胚発生時に少数の細胞で起こること、遺伝子破壊により作製した *tbx-9* 遺伝子欠失変異体は胚発生時に生ずる主に体後半部の形態形成不全を示し、この変異体では身体の側面を前後方向に沿って配置する体壁筋に異常が認められることを明らかにしてきた。

今回、*tbx-9* について更に理解を深めるため、まずその発現部位をマーカーとなる遺伝子 *pos-1* や *hlh-1* との *in situ* hybridization² 重染色により解析した。*tbx-9* の最初の発現は、8 細胞期において腸の創始細胞である E 細胞で起こり、この発現は 26 細胞期まで続いていた。一方この 26 細胞期には、体壁筋や表皮へと分化する Ca, Cp 細胞などで発現が始まった。また 200 細胞期には、脊椎動物の MyoD ホモログであり体壁筋細胞及びその前駆細胞で発現する *hlh-1* 遺伝子の発現が、MS 細胞由来の 4 個の細胞で *tbx-9* の発現と重なっていた。*tbx-9* の発現が前駆細胞で見られるこれらの組織の内、*tbx-9* 変異体で異常が観察される体壁筋について、体壁筋ミオシン抗体を用いた組織染色により解析した。1.5-fold 期に体壁筋細胞の移動により形成される体前後軸に沿った細胞整列において、変異体では個体ごとに異なる一部の体壁筋細胞が列から離れた部位に位置することが判明した。

研究業績

(1) 原著論文

1. Tabara, H., Hill, R.J., Mello, C., Priess, J. and Kohara, Y.: *Pos-1* encodes a cytoplasmic zinc-finger protein essential for germline specification in *C. elegans*. *Development* **126**, 1-11 (1999).
2. Motii, M., Yoshida, S., Morita, K., Kohara, Y. and Ueno, N.: Identification of TGF- β -regulated genes in *Caenorhabditis elegans* by differential hybridization of arrayed cDNAs. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 15020-15025 (1999).
3. Cassata, C., Kagoshima, H., Andachi, Y., Kohara, Y., Durenberger, M.B., Hall,

D.H., and Burglin, T.R.: The Lim Homeobox gene *ceh-14* confers thermosensory function to the AFD neurons in *Caenorhabditis elegans*. *Neuron* (in press).

(2) その他

1. Fields, S., Kohara, Y. and Lockhart, D.J.: *Functional Genomics*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**, 8825-8826, (1999).
2. 小原雄治: シリーズ系統保存とデータバンク, ゲノム時代のトップランナー, 線虫. 蛋白質核酸酵素, **44**, 1415-1418, (1999).
3. 小原雄治, 上杉裕子: 線虫の cDNA マイクロアレイ. *細胞工学* **18**, 1392-1398, (1999).
4. 小原雄治: 線虫ゲノム研究のこれから. *現代化学*, 1999年11月号, 29-33.
5. 小原雄治: ゲノムプロジェクトと形づくり. 「生き物の形づくり」p. 74-83 第13回「大学と科学」公開シンポジウム組織委員会編(1999).
6. 小原雄治: 線虫 *C. elegans* のゲノム生物学. 蛋白質核酸酵素, **44**, 2601-2608, (1999).
7. 小原雄治: ポストゲノムシークエンスまっただ中 - 線虫のゲノム生物学. *実験医学*, **17**, 2531-2536, (1999).
8. 小原雄治: ゲノム解析のモデル生物: 多細胞生物のモデルとしての線虫. *現代医療*, **32**, 174-180, (2000).
9. 小原雄治: 生物学者から見た分子生物情報学. *人工知能学会誌*, **15**, 51-55, (2000).

(3) 発表講演

1. 小原雄治: 遺伝情報から見た生命. 日本学術会議遺伝学研連・遺伝資源研連共催シンポジウム「系統生物学と情報科学の出会い」への招待, 1999年1月11日, 東京.
2. 小原雄治: ゲノムプロジェクトと形づくり. 第13回「大学と科学」公開シンポジウム「生き物の形づくり」, 1999年1月22, 23日, 神戸.
3. 小原雄治: ゲノム生物学の現状と展望, 線虫ゲノム塩基配列決定のインパクト. 文部省特定領域研究「ゲノムサイエンス」公開シンポジウム, 1999年1月29日, 東京.
4. 小原雄治: *Life in silico* に向けて, 第17回高峰カンファレンス, 1999年2月6, 7日, 東京.
5. 小原雄治: 線虫ゲノムの全体像. 第2回ワークショップ「微生物ゲノム研究のフロンティア」1999年2月8, 9日, 大阪.
6. Kohara, Y.: Post genomics strategies to understand the molecular mechanisms of *C.elegans* development. 2nd HUGO Pacific Meeting, 24-26 March,

- 1999, Bali, Indonesia.
7. Kohara, Y.: Post genomics strategies to understand the molecular mechanisms of *C.elegans* development. Human Genome Meeting '99, 27-30 March, 1999, Brisbane, Australia.
 8. Kohara, Y., Itoh, M., Motohashi, T., Minakuchi, Y., Shin-i, T., Onami, S., Nagaoka, T., Ogura, K. and Hirono, K.: A 4-dimensional database of gene expression and function in *C.elegans* - Towards "*C.elegans* as a test tube in silico" The 2nd International Workshop on Advanced Genomics " Genomics and Drug Discovery", 27-28 April, 1999, Chiba, Japan.
 9. Kohara, Y., the Kohara Lab and collaborators: Post genomics strategies in *C.elegans*. 12th International *C.elegans* Meeting, June 2-6, 1999, Madison, WI, USA.
 10. Thierry-Mieg, J., Thierry-Mieg, D., Shin-i, T. and Kohara, Y.: Expressed genes in *C.elegans*. 12th International *C.elegans* Meeting, June 2-6, 1999, Madison, WI, USA.
 11. Ogura, K. and Kohara, Y.: Studies on POS-1 interacting proteins. 12th International *C.elegans* Meeting, June 2-6, 1999, Madison, WI, USA.
 12. Bertrand, S., Lefebvre, S., Kohara, Y., Munnich, A. and Thierry-Mieg, D.: RNA interference of SMN, the gene causing Spinal Muscular Atrophy in humans, leads to embryonic lethality and to germ cell apoptosis in the nematode *Caenorhabditis elegans*. 12th International *C.elegans* Meeting, June 2-6, 1999, Madison, WI, USA.
 13. Hirono, K., Onami, S. and Kohara, Y.: Systematic RNAi experiments with maternal genes. 12th International *C.elegans* Meeting, June 2-6, 1999, Madison, WI, USA.
 14. Ito, M., Motohashi, T., Minakuchi, Y. and Kohara, Y.: Toward four-dimensional database of gene expression in *C.elegans*. 12th International *C.elegans* Meeting, June 2-6, 1999, Madison, WI, USA.
 15. Maeda, I., Kohara, Y., Yamamoto, M. and Sugimoto, A.: RNAi screening with a non-redundant cDNA set. 12th International *C.elegans* Meeting, June 2-6, 1999, Madison, WI, USA.
 16. Motohashi, T., Ohba, T., Sugiura, I., Obara, M., Kitayama, S., Suzuki, T., Shin-i, T. and Kohara, Y.: Systematic analysis of mRNA distribution by whole mount *in situ* hybridization. 12th International *C.elegans* Meeting, June 2-6, 1999, Madison, WI, USA.
 17. Onami, S., Nagaoka, T. and Kohara, Y.: Protein expression pattern analysis of maternal mRNAs. 12th International *C.elegans* Meeting, June 2-6, 1999, Madison, WI, USA.

18. Shin-i, T. and Kohara, Y.: NEXTDB: the nematode expression pattern mapdatabase. 12th International *C.elegans* Meeting, June 2-6, 1999, Madison, WI, USA.
19. Yoshida, S., Mochii, M., Morita, K., Shimizu, M., Kohara, Y. and Ueno, N.: Isolation and characterization of a gene acting downstream of *sma-2* signaling. 12th International *C.elegans* Meeting, June 2-6, 1999, Madison, WI, USA.
20. Andachi, Y.: *tbx-9* encodes a transcription activator. 12th International *C. elegans* Meeting, Madison, USA, June, 1999.
21. 小原雄治:「生物学者から見た分子生物情報学:生命プログラムと2000年問題」第7回分子生物情報(SIGMBI)研究会(人工知能学会第2種研究会)1999年5月26日, 三島.
22. 小原雄治:線虫を用いた発生生物学にゲノムサイエンスが与えたインパクト. 第32回日本発生生物学会ワークショップ, 1999年5月29日, 神戸.
23. 小原雄治:線虫初期胚における創始細胞,特に生殖系列の運命決定の遺伝子機構. 第22回東北大学加齢医学研究所シンポジウム, 1999年6月18, 19日, 仙台.
24. Kohara, Y.: Expressed genes in *C.elegans* and post-genomics strategies. 東京大学医科学研究所 COE シンポジウム "The Frontier of the cDNA Research", 1999年8月12日, 東京.
25. Kohara, Y.: Post-genomics strategies in *C.elegans* toward understanding of the molecular mechanisms of development. 6th IUBMB Conference, Oct. 10-13, 1999, Seoul, Korea.
26. Kohara, Y.: POST-GENOMICS STRATEGIES IN *C.ELEGANS* TOWARD UNDERSTANDING OF THE MOLECULAR MECHANISMS OF DEVELOPMENT. 9th Beyond the Identification of Transcribed Sequences Workshop, Oct. 28-31, 1999, Washington DC, USA.
27. 小原雄治:これからのゲノム研究. 微生物ゲノムワークショップ, 1999年11月25日, 瀬戸.
28. 伊藤将弘, 本橋智子, 大庭登紀江, 杉浦郁子, 小原真澄, 北山小百合, 鈴木孝美, 長岡圭美, 水口洋平, 新井 理, 小原雄治:線虫 *C. elegans* 発生における遺伝子発現パターンのクラスター分析. 第22回日本分子生物学会年会ワークショップ, 1999年12月8日, 福岡.
29. 杉本亜砂子, 前田郁麻, 小原雄治, 山本正幸:体系的なRNA干渉法による線虫 *C. elegans* の発生メカニズムの解析. 第22回日本分子生物学会年会ワークショップ, 1999年12月8日, 福岡.
30. 小倉頭一, 小原雄治:*C. elegans* の母性 mRNA の翻訳調節における POS-1 と PIP-1 の役割. 第22回日本分子生物学会年会ワークショップ, 1999年12月10日, 福岡.
31. 杉山由樹, 小原雄治, 五嶋良郎, 田伏 洋, 大野茂男:非対称分裂に関する遺伝

- 子の検索：RNAi法を用いた線虫 *C. elegans* 初期胚の表現型異常のスクリーニング。第22回日本分子生物学会年会ワークショップ，1999年12月10日，福岡。
32. 新井 理，本橋智子，大庭登紀江，杉浦郁子，小原真澄，北山小百合，鈴木孝美，長岡圭美，岩田未菜，大浪修一，廣野啓子，上杉裕子，佐野正子，杉山康子，野本久代，Jean Thierry-Mieg，Danielle Thierry-Mieg，伊藤將弘，小原雄治：NEXTDB：線虫 *C. elegans* ゲノムの発現/機能データベース。第22回日本分子生物学会年会，1999年12月9，10日，福岡。
 33. 水口洋平，伊藤將弘，本橋智子，長岡圭美，小原雄治：線虫 *C. elegans* 初期胚の4次元遺伝子発現データベースの構築-発生の *in silico* 再現をめざして-。第22回日本分子生物学会年会，1999年12月9，10日，福岡。
 34. 川崎一郎，Anahita Amiri，Yuan Fan，小原雄治，Susan Strome：線虫 *C. elegans* の生殖顆粒の構成成分PGL-1，2，3遺伝子産物の生殖系列の発生における分子機能。第22回日本分子生物学会年会，1999年12月9，10日，福岡。
 35. 廣野啓子，長岡圭美，岩田未菜，大浪修一，小原雄治：線虫 *C. elegans* 母性遺伝子のRNAiによる系統的機能解析と抗体による発現パターン解析。第22回日本分子生物学会年会，1999年12月9，10日，福岡。
 36. 前田郁麻，杉本亜砂子，小原雄治，山本正幸：逆遺伝学的手法による線虫 *C. elegans* の生殖細胞形成に必須な遺伝子の探索：第22回日本分子生物学会年会，1999年12月9，10日，福岡。
 37. 餅井 真，吉田 悟，森田清和，小原雄治，上野直人：線虫 cDNA アレイを用いた TGF- β により制御される遺伝子の同定。第22回日本分子生物学会年会，1999年12月9，10日，福岡。
 38. 岩橋 潤，濱田信之，小原雄治，豊田哲也：線虫 Reticulon (RTN) ホモログ蛋白質のクローニング及び解析。第22回日本分子生物学会年会，1999年12月9，10日，福岡。
 39. 山本文子，廣野啓子，本橋智子，小原雄治，榊 佳之：アルツハイマー病において発現が著しく減少する hNap1 の機能解析。第22回日本分子生物学会年会，1999年12月9，10日，福岡。
 40. Shin-I, T. and Kohara, Y.: NEXTDB: The Expression Pattern Map Database for *C. elegans*. 10th Workshop on Genome Informatics, Dec. 14-15, 1999, Tokyo.
 41. 小原雄治：cDNA 解析を軸とする線虫ゲノム研究の総合戦略。第16回資源生物科学シンポジウム，1999年12月17日，倉敷。

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、現在、5研究室から成る。本年の教育メンバーは、生体高分子研究室が助教授・徳永万喜洋、超分子機能研究室が教授・嶋本伸雄と助手・永井宏樹(9月より休職中)、構造制御研究室が教授・桂 勲と助手・石原 健、超分子構造研究室が助教授・白木原康雄、遺伝子回路研究室が助教授人事進行中であった。本年は生体高分子研究室と超分子構造研究室の助手が内定し、来年の早い時期に着任することになった。これにより、本センターがさらに発展することが期待されている。

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、新しい分野としての「生命現象の1分子イメージング」を開拓すべく、生物物理学的研究を行っている。

研究活動は、徳永万喜洋(助教授)に、COE 非常勤研究員・廣島通夫(3月まで大阪大学大学院基礎工学研究科博士課程)、特別共同利用研究員として坂根勲(東京大学大学院理学系研究科博士課程)が加わって行った。遺伝研共同研究として、今本尚子(大阪大学医学部)が参加した。文部省科学研究費の特定領域(B)「生命現象の1分子イメージング」(領域代表:徳永, 1999-2003)が採択され、「分子間相互作用の可視化と細胞内分子定量イメージング」(代表者:徳永)の交付を受けた。他に、基盤研究(B)「プローブ顕微鏡下の1分子技術による分子間相互作用のイメージング」(代表者:徳永)と重点領域研究(A)「生体分子モーター」公募研究「分子モーター間に働く相互作用の1分子イメージング」(代表者:徳永)、(財)東レ科学振興会より東レ科学技術研究助成金「プローブ顕微鏡下の1分子技術による生体分子未知機能の探索」(代表者:徳永)の援助を受けた。

(1)細胞・組織における1分子イメージングのための新しい顕微鏡の開発:徳永万喜洋

1分子技術は、生体分子モーターを主とした *in vitro* の研究から誕生したものである。*In vitro* ばかりでなく *in vivo* へと、生体分子モーターから生命科学の広い分野へと1分子技術を展開すべく、新しい顕微鏡法の開発を行っている。

数多くの生体分子の存在が明らかとなり、さらにポストゲノム期を迎えるにあたり、「どの分子が、いつ、どこで、どんな分子と相互作用して、機能しているか」を解明するための新しい手法が必要とされている。そこでは、(a)1分子レベルの分解能を有する *in vivo* 蛍光イメージングによる、分子数の定量化・分子の空間的な分布とその時間的变化や動きの解明、(b)分子間相互作用の *in vivo* イメージングによる、分子間相互作用の映像化・活性化された状態の分子の可視化、の実現が重要である。

In vivoにおける1分子イメージングのためには、共焦点顕微鏡を高感度化することが必須であると判断した。市販製品の組み合わせでもこの高感度を実現できるが、biologicalに興味のある系の観察のためには、backgroundを下げることでdynamic rangeを広くすることが重要であり、この点をキーワードとして、新しいタイプの共焦点顕微鏡の設計を完了し、作成を行った。

(2)核輸送の1分子イメージング：徳永万喜洋，今本尚子¹(¹大阪大学医学部)

In vitroにおける1分子蛍光イメージング技術である、対物レンズ型全反射照明法を用いると細胞や個体の表面約10um程度まで、高感度に観察することができる。この方法を使って、核内に輸送される分子を蛍光標識し、核輸送に関係する分子のイメージングを行っている。近年核輸送に関して、異なる輸送担体が担う多くの輸送経路の存在が示され、核膜孔通過シグナルを持つ蛋白質がどのように認識されて核膜孔にターゲットするのか明らかにされてきた。しかし、蛋白質が核膜孔を通過する具体的な分子機構の解析は進展しておらず、複数の輸送経路に乗った分子が核膜孔を滞りなく流通する機構や制御の仕組みについては明らかにされていない。1分子蛍光イメージング法により、核膜孔に結合した輸送される分子1個1個を識別することができた。従って、核輸送の分子機構と、核膜孔の使い分けに関し、直接的な手がかりが得られると考えている。

(3)分子間相互作用・分子内構造計測のための分子間力顕微鏡：廣島通夫，徳永万喜洋

我々はこれまでに、生体分子1個に働く分子間相互作用を直接計測し得る走査プローブ顕微鏡として、サブピコニュートン分解能の力計測と非接触計測可能な分子間力顕微鏡を開発した。高感度のためには、市販品よりも100倍以上柔らかいカンチレバーを自作する技術を確立した。カンチレバー自身の熱揺らぎを抑え、非接触計測可能にするために、光の輻射圧を使いフィードバックによってカンチレバー位置を遠隔的に制御するシステムを開発した。

遺伝学的に重要と考えられる分子のin vitro研究に使えるように、次の点を新しくした装置を作成した。1)高精度に計測できる力のレンジを100~200pNにまで広げる。

2)1分子蛍光イメージングと力計測の同時計測を実現する。3)水平方向にもカンチレバーの位置を制御するシステムを組み込み、水平方向の相互作用ポテンシャル曲線を計測可能とする。この新しい装置を使って、核酸や蛋白質分子の高次構造を保持している力や、分子間相互作用ポテンシャルの1分子計測を行う。

(4)分子間力顕微鏡によるタンパク質フォールディングの研究：坂根 勲^{1,2}，桑島邦博²，徳永万喜洋(¹ 遺伝研特別共同利用研究員，² 東京大学大学院理学系研究科)

ひも状のポリペプチド鎖から、どのように巻きあがってタンパク質が天然状態の構造をとるか知ることは、遺伝暗号の真の意味での解説といえる。そのため、タンパク質の折れ畳みに関し精力的な研究が続けられてきたが、これまでの測定はマクロな量で行われてきたため折れ畳み経路や中間構造の解明が十分にはなされていない。分子間力顕微鏡を使った1分子計測を行って、折れ畳み過程を直接に観測すれば、折れ畳み経路と中

間構造についての新たな知見が得られると考えられる。

Staphylococcal Nuclease はフォールディング研究の対象としてよく研究され、C 端側のアルファヘリックスを失った変異体は、天然状態が安定せずモルテングロビュール様状態にとどまること等が知られている。これらの特性は 1 分子計測に適しており、Staphylococcal Nuclease を計測に用いることとした。分子間力顕微鏡でタンパク質分子の両端を引っ張るために N 末 C 末両端にシステイン残基を導入し、大腸菌で発現精製した。

研究業績

(1) 原著論文

1. Kitamura, K., Tokunaga, M., Iwane, A. H. and Yanagida, T.: A single myosin head moves along an actin filament with regular steps of 5.3 nanometres. *Nature*, **397**, 129-134, 1999.

(2) その他

1. 廣島通夫, 徳永万喜洋: 分子間相互作用のイメージング - 分子間力顕微鏡と 1 分子技術 -, 電子顕微鏡, **34**(2), 151-153, 1999.
2. 徳永万喜洋, 喜多村和郎: 「ミオシン 1 分子は 1 個の ATP 分解の間に複数ステップで動く」蛋白質・核酸・酵素, **44**(11), 1584-1589, 1999.
3. 徳永万喜洋: 「1 分子技術で観るミオシンの分子メカニズム」細胞工学, **18**(11), 1641-1647, 1999.
4. 徳永万喜洋: 「ナノメーターの動きを測る」“生命科学を拓く新しい光技術(シリーズ 光が拓く生命科学 第 7 巻)”日本光生物学協会刊行委員会編, 第 4 章第 2 節, 共立出版, 1999.
5. 喜多村和郎, 岩根敦子, 徳永万喜洋: 「ミオシン頭部 1 分子は ATP 分解 1 回で複数ステップ動く: 1 分子補足・操作によるルースカップリングの直接証拠」生物物理, 印刷中.

(3) 発表講演

1. Tokunaga, M., Iwane, A., Kitamura, K. & Yanagida, T.: S1 Attached to a Glass Surface through a Flexible Random Chain Can Move Actin as Fast as Intact Myosin, *Biophys. J.*, **76**, A36, 1999.
2. Kitamura, K., Tokunaga, M., Iwane, A. & Yanagida, T.: A Single Myosin Head Moves along an Actin Filament with Regular Steps of ~5.5 nm, *Biophys. J.*, **76**, A36, 1999.
3. Tokunaga, M., Iwane, A., Kitamura, K. & Yanagida, T.: S1 Attached to a Glass

Surface through a Flexible Random Chain Can Move Actin as Fast as Intact Myosin, The 7th JST International Symposium: Molecular Process and Biosystems, Tokyo, February.

4. Kitamura, K., Tokunaga, M., Iwane, A. H. & Yanagida, T.: A single myosin head moves along an actin filament with regular steps of 5.3 nanometres. The 7th JST International Symposium: Molecular Process and Biosystems, Tokyo, February.
5. Hiroshima, M., Aoki, T., Kitamura, K., Yanagida, T. & Tokunaga, M.: Intermolecular Interactions in Aqueous Solution Revealed by Surface Force Measurements Using Nanometer-Sized Probes. The 7th JST International Symposium: Molecular Process and Biosystems, Tokyo, February.
6. Aoki, T., Hiroshima, M., Kitamura, K., Tokunaga, M. & Yanagida, T.: Non-Contact Surface Force Imaging of Protein Polymers. The 7th JST International Symposium: Molecular Process and Biosystems, Tokyo, February.
7. Tokunaga, M.: (Invited Talk) Direct Trapping and Nanometry of Single Motor Proteins and Asymmetric Fluctuation Model, The 25th Annual Symposium of The Japan Bioenergetics Group, Kochi University of Technology, August.
8. 徳永万喜洋：1分子技術で観る生体分子モーター，東京大学工学部応用物理学教室談話会，東京，3月．
9. 徳永万喜洋：生体分子1個の機能を観る，ミニシンポジウム「生体分子機構の1分子イメージングを目指して」，遺伝研，3月．
10. 徳永万喜洋：非対称相互作用による揺らぎセンサー，日本物理学会第54回年会シンポジウム「分子モーターの物理モデル」，広島，3月．
11. 徳永万喜洋：1分子技術による生体分子の機能研究，名古屋大学理学部生命理学セミナー，名古屋，4月．
12. 徳永万喜洋：1分子技術で分子間相互作用を観る計る，特定領域(B)「生命現象の1分子イメージング」班会議，伊豆大仁，8月．
13. 徳永万喜洋：生体分子モーター1個の反応と動きを追う，茨城大学理学部セミナー，水戸，11月．

H-b. 超分子機能研究室

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(エール大学留学4月より研修, 9月より休職), CREST研究員, 久堀智子(4月まで), 派遣研究員, 十川久美子(4月から)総合研究員大学院生, 杵淵 隆, 佐藤由美子, 須佐元樹, 研究支援推進員堀内恵美で行なわれた。

遺伝研共同研究として荒牧弘範(第一薬科大学) 鷲津正夫, 黒沢 修, 加畑博幸(京都大学工学研究科), 原田慶恵, 木下一彦(慶応大学), 遺伝研 COE 外国人招聘研究者として2月まで Tamas Gaal (ウィスコンシン大学マディソン校), 12月より Georgi Miskelishvili (ドイツ微生物遺伝学研究所), 科研費国際共同研究として Dipankar Chatterji・Vijaya Gopal・Richard Hayward, それ以外の共同研究として十川久美子(理研, 4月まで)が参加した。

(1) プロモーターでの不活化による転写調節機構と Gre 因子の作用機構: 嶋本伸雄, 永井宏樹, Ranjan Sen¹, 久堀智子², Dipankar Chatterji³, Richard Hayward⁴, Tamas Gaal⁵, V. Georgi Miskelishvili⁶ (1 遺伝研 CREST 研究員, 2 学術振興会奨励研究員, 3 科研費国際共同研究, インド Centre of Cellular and Molecular Biology, 4 科研費国際共同研究, 英国エジンバラ大学, 5 米国ウィスコンシン大学マディソン校, 6 ドイツ微生物遺伝学研究所)

一群のプロモーターに対して, 大腸菌 RNA ポリメラーゼは, プロモーターに結合したまま, 不活性な複合体を形成する。λ PR プロモーターにおいては, 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) との分岐した反応経路をたどる。後者は, 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 dead-end 複合体に変換する。

RNA 切断因子 GreAGreB は, RNA 伸長時のブロックを解除する伸長因子と考えられて来たが, λ PR プロモーターにおける不活化複合体の形成を阻害することが分かった。この阻害は, RNA 合成以前に起こっており, 開始ヌクレオチドである GTP が高濃度 (mM) 存在することが必要であった。このため, Gre 因子は, 本来非可逆的に分岐した2つの反応経路を, プロモーター・ポリメラーゼ二者複合体のレベルで可逆的にしていると思われる。開始ヌクレオチドへの親和性が, 長鎖 RNA を合成する複合体の方が高いため, Gre 因子と高濃度 GTP が共存すると, 二者複合体の中で平衡が長鎖 RNA を合成する複合体のほうに傾く, と言うことになる。T7A1 のようにもともと可逆的と思われるプロモーターでは, Gre 因子による活性化は, 存在しなかった。つまり, 1. Gre 因子は, 転写開始においては RNA 切断よりも, 可逆性導入因子として働く。2. プロモーターには, 可逆的なものと非可逆的なものがあり, 非可逆的なものは, 可逆性を導入して活性化できる可能性があることが示された。

細胞内での Gre 因子の機能を推定するために, greA, greB 単独・二重破壊株を作製して, 遺伝子発現の変化を見た。二重破壊株の蛋白質の分析では, 減少する蛋白質のうち9種, 増加する蛋白質のうち1種が同定された。一方, ゲノムアレイでは, 4290 遺伝子のうち2600 遺伝子の mRNA が検出され, そのうち200 遺伝子の mRNA が二重破壊株で減少, 67 遺伝子が増加した。このうち70%のものは, 転写開始段階での gre 因子の関与を推定させた。greA, greB 単独・二重破壊株の表現型解析からも, gre 因子は RNA

伸長因子的な GreB 因子の寄与よりも転写開始因子的な GreA 因子の欠損がより強い効果を与えることが見出された。(文献3, 4)

(2) RNA ポリメラーゼ ω サブユニットの機能の同定: 嶋本伸雄, 永井宏樹, Dipankar Chatterji¹, Kakoli Mukherjee¹(¹科研費国際共同研究インド Centre of Cellular and Molecular Biology)

長らく機能が不明であった大腸菌 RNA ポリメラーゼ ω 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. コア酵素が活性を失っていることを見だし, ω はコア酵素の活性のある構造形成に必須であること, さらに ω が存在しないときにはシャペロンの関与が必須であることを明らかにした(文献2).

(3) 主要 σ 因子のアミロイドジェネシスによるプリオン様集合体形成: 嶋本伸雄, 佐藤由美子, 永井宏樹, Taciana Kauscikovic¹, Richard S. Hayward¹(¹科研費国際共同研究エジンバラ大学)

大腸菌の分子温度計・環境センサーの実体は, 長い間の謎である. 驚いたことに, 主要転写開始因子 σ^{70} が, 温度や環境変化に応じて, プリオンと同様なアミロイド集合体を形成して不活化する事を見出した. この変化は転写制御を通して, σ^{70} が蛋白の分子温度計になり得ることが示され, その当否を決定しようとしている.

大腸菌主要 σ 因子 σ^{70} と枯草菌主要 σ 因子 σ^A とを比較すると, 大腸菌では 200 アミノ酸近い部分が挿入されている. 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, σ 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.

(4) タンパク質の DNA 上のスライディングの役割: 嶋本伸雄, 杵淵 隆, 十川久美子, 加畑博幸¹, 黒沢 修^{1, 2}, 鷲津正夫¹, 荒牧弘範³, 原田慶恵⁴, 木下一彦⁴(¹京都大学工学研究科, ²アドバンス(株), ³第一薬科大学, ⁴慶応大学)

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.(文献1, 5)

スライディング運動がDNAのグルーブをなぞっているのかどうかは、塩基配列の読み出し効率に大きな影響を与えるので、長年の問題であった。分子の回転をマクロに引き出す方法論を考案し、それをを用いてこの問題に決着をつける予定である。

この回転系は、遺伝研共同研究「RNA合成の1分子的検出」(原田慶恵, 木下一彦と共同)でヒントを得たものである。

研究業績

(1)原著論文

1. Shimamoto, N.: One dimensional diffusion of proteins along DNA: its biological and chemical significance revealed by single-molecule measurements. *J. Biol. Chem.* **274**, 15293-15296, 1999.
2. Mukherjee, K., Nagai, H., Shimamoto, N. & Chatterji, D.: (1999). GroEL is involved in activation of Escherichia coli RNA polymerase devoid of omega subunit in vivo. *Eur. J. Biochem.* **266**, 228-235.

(2)その他

1. 嶋本伸雄:大腸菌RNA polymerase in 分子生物学キーワード辞典 (田村隆明, 饗場弘二 eds), pp.227 羊土社, 1999.
2. 嶋本伸雄:GreA, GreB in 新用語ライブラリー(転写因子) (田村隆明, 饗場弘二 eds), pp.227 羊土社, 1999.
3. 嶋本伸雄, 杵淵 隆:DNA上のタンパク質の滑り運動:DNA結合蛋白質の遠攻近交戦略. *科学* **69**, 42-50. 1999.

(3)発表講演

1. Shimamoto, N.: Reversibility of promoters and activation of transcription initiation. "Transcription assembly & nucleic acid-protein interactions" Bangalore, India (1999) 6月.
2. Shimamoto, N., Nagai, H., Kubori, T., Sen, R., Susa, M., Sato, Y., Kasciukovic, T. & Hayward, R.S.: Switches by sigma-70 holoenzyme: oligomerization of sigma-70 and inactivation at promoters. "FASEB Meeting: Prokaryotic Transcription Initiation" Saxton's River, Vermont, U.S.A. (1999) 7月.
3. Sato Y., Nagai H., Kasciukovic, T., Hayward, R.S. & Shimamoto, N.: Role of the spacer region of $\sigma 70$ and Inactivation by oligomerization. "FASEB Meeting: Prokaryotic Transcription Initiation" Saxton's River, Vermont, U.S.A. (1999) 7月.
4. Kinebuchi, T., Kabata, H., Kurosawa, O., Washizu, M. & Shimamoto, N.: Antenna effect due to sliding of E. coli TrpR and its biological role in gene expression "Phage Meeting" Wisconsin Madison, Wisconsin, U.S.A. (1999) 8月.

5. Susa, M., Kubori, T., Sen, R., Nagai, H. & Shimamoto, N.: Mechanism of action and a physiological role of RNA cleavage factor GreA and GreB in transcription initiation. "Phage Meeting" Wisconsin Madison, Wisconsin, U.S.A. (1999) 8月.
6. Shimamoto, N., Kinebuchi, T., Kabata, H., Kurosawa, O. & Washizu, M.: Protein sliding along DNA: its importance in biology and chemistry. IUPAB Meeting, Delhi, India (1999) 9月.
7. 佐藤由美子, 永井宏樹, Taciana Kauscikovic, Richard S. Hayward, 嶋本伸雄: 主要転写開始因子 σ は分子温度計か?, 日本RNA学会年会, 京都, 8月.
8. 嶋本伸雄, 久堀智子, 永井宏樹, Ranjan Sen, 須佐太樹: RNA切断因子GreAGreBの作用機構と遺伝子アレイを用いた細胞内での役割の推定, 日本RNA学会年会, 京都, 8月.
9. 村松 宏, 本間克則, 山本典孝, 十川久美子, 嶋本伸雄: 近接場光学顕微鏡による λ DNAの観察, 日本生物物理学会年会, 和光, 10月.
10. 加畑博幸, 荒牧弘範, 嶋本伸雄: CamR レプレッサーへの2番目のエフェクター分子の結合がcamオペロンの遺伝子発現を誘導する, 日本生物物理学会年会, 和光, 10月.
11. 佐藤由美子, 永井宏樹, 嶋本伸雄, Taciana Kauscikovic, Richard S. Hayward: 大腸菌でのプリオン様調節機構: 主要転写開始因子 σ の不活性化, 日本生物物理学会年会, 和光, 10月.
12. 黒沢 修, 岡部圭一郎, 石田且広, 加畑博幸, 嶋本伸雄, 鷲津正夫: 物理的方法で切断したDNAの回収と増幅, 日本生物物理学会年会, 和光, 10月.
13. 十川久美子, 嶋本伸雄: RNAポリメラーゼはどのようにしてDNA鎖上をスライディングしていくのか-DNA1分子操作による観察系構築, 日本生物物理学会年会, 和光, 10月.
14. 嶋本伸雄, 永井宏樹, Taciana Kauscikovic, Richard S. Hayward, 柳 秀樹: 可溶化が困難な量産化蛋白質の高効率可溶化, 日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
15. 杵淵 隆, 加畑博幸, 黒沢 修, 鷲津正夫, 嶋本伸雄: DNA結合蛋白質のスライディングの意義. 日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
16. 須佐太樹, 久堀智子, Ranjan Sen, 永井宏樹, 嶋本伸雄: RNA切断因子GreAGreBの作用機構と遺伝子アレイを用いた細胞内での役割の推定. 日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
17. 堀 研介, 秋光信佳, 須佐太樹, 久堀智子, 嶋本伸雄, 関水と久, 松尾美記: 大腸菌GreAGreB欠失変異株における運動性の低下. 日本分子生物学会年会, 福岡, 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・宮原浩二、同・菱田竜一(3月まで)、総合研究大学院大学大学院生・藤原 学(3月まで、4-5月は遺伝学普及会研究員)、同・大蔵清貴(4月より)、研究補佐員・杉浦麻理子であった。また、技術課所属の技官・大石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)、特定領域研究(A)(2)総合脳「*C. elegans* を用いた高次神経機能に関わる新規分子の同定とその機能解析」(代表者:石原)の援助を受けた。

(1)線虫 *C. elegans* のフッ素イオン耐性変異の解析:大石あかね, 石原 健, 桂 勲

我々は、*C. elegans* のフッ素イオン耐性変異を分離・解析している。これらの変異はすべて劣性で、5つの遺伝子 *f1r-1* ~ *f1r-5* に位置し、クラス1(*f1r-1*, *f1r-3*, *f1r-4*)とクラス2(*f1r-2*, *f1r-5*)に分類される。前者は、フッ素イオン強耐性である他に、脱糞周期が短く、脱糞の排出過程がしばしば欠落し、成長が遅く、合成dauer構成性(下記(2)参照)である等、多様な表現型を示す。*f1r-1*はdegenerin/ENaCファミリーに属するイオンチャネル、*f1r-4*はC末端側に疎水性配列を持つ新規のSer/Thrキナーゼ、*f1r-3*はやはりC末端側に疎水性配列を持つキナーゼ様分子をコードする。機能的な*f1r-1*::GFP融合遺伝子は胚発生のコンマ期から成虫期まで腸のみ発現し、*f1r-4*::GFP融合遺伝子と*f1r-3*::lacZ融合遺伝子も主に腸で発現する。これから、クラス1遺伝子群は、腸で働き食物関連の多様な機能を制御する調節系を作ると予想されている。クラス2変異は、フッ素イオンに弱耐性である他に、クラス1変異表現型のうち成長遅延と合成dauer構成性を示すが、フッ素イオン強耐性と脱糞の異常は抑圧しない。したがって、クラス1遺伝子群の作る調節系は下流で少なくとも2つに分岐し、クラス2遺伝子群は成長とdauer幼虫形成に関する部分を制御すると考えられる。クラス2遺伝子群のうち、*f1r-2*遺伝子はTGF- β 阻害因子であるgremlin/DAN/cerberusファミリーに属するタンパク質をコードする。

本年の研究では、以下の結果を得た。

1)クラス1変異体は餌(大腸菌)のある場所に留まる傾向が弱い、シャーレの壁を這い上がって自殺する割合として、これを定量化することに成功した。この表現型もクラス2変異で抑圧される。dauer幼虫形成の異常も化学受容またはその制御が異常なことを示しているため、これとの関連を調べている。

2)*f1r-4*の変異として、スプライス・アクセプターの変異(*ut3*)、C末端側の疎水性領域のミスセンス変異(*ut7*)、キナーゼドメインのミスセンス変異(*n2259*, *sa201*)が存在する。キナーゼドメインの変異2つはクラス1変異としては例外的に成長がほぼ正常だが、*ut3*と*ut7*は成長が遅い。これらの間のヘテロ接合体を構築したところ、*ut3/n2259*と

*ut3/sa201*は予想通り成長速度が正常だが、*ut7/n2259*と*ut7/sa201*は意外にも成長速度が遅かった。*flr-4*遺伝子全体を欠失する変異と*n2259*、*sa201*とのヘテロ接合体は成長が正常なので、*n2259*、*sa201*がhaplo-insufficientなのではなく、*ut7*が*n2259*、*sa201*に対して dominant-negative に働くらしい。この結果から、FLR-4 蛋白質は、オリゴマーとして働くことが予想される。

3) 脱糞周期に関して温度感受性の変異 *n2259* を用いて温度シフト実験を行ったところ、正常な脱糞周期を示すためには、脱糞周期測定を行う時に FLR-4 蛋白質の活性が必要なのことがわかった。これから、*flr-4* 遺伝子は正常な脱糞周期に必要な細胞の生成や分化に働くのではなく、脱糞周期を制御する細胞機能に必要なことが示唆される。

4) FLR-2 蛋白質は TGF- β 阻害因子とホモロジーを持つ。そこで、*C. elegans* の 4 つの TGF- β 遺伝子 (*daf-7*, *dbl-1/cet-1*, *unc-129*, F39G3.8) を、それぞれ多コピーでクラス 1 変異体に導入したが、成長の遅さを抑圧しなかった。前 3 者については、cDNA に熱ショックプロモーターをつないだものも導入し、熱ショック実験を行ったが、やはり抑圧しなかった。したがって、FLR-2 蛋白質が TGF- β 阻害因子として働く証拠は得られていない。

5) *flr-2::GFP* 融合遺伝子は、咽頭・頭部・尾部の少数の神経で発現することがわかった。現在、その細胞を同定している。

(2) 合成 dauer 構成性変異の解析：宮原浩二，大蔵清貴，石原 健，桂 勲

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 (頭部の感覚器官の 1 つ) で感じて、3 齢幼虫の代りに dauer 幼虫 (口の閉じた耐久型の幼虫) 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、これを利用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 (*Sdf-c*) 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。このような表現型が生ずるのは、dauer 幼虫形成制御信号が複数の経路を通るため、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からと推測される。dauer 幼虫を生ずる変異の組合せパターンと、それを抑圧する変異による抑圧パターンを調べ、感覚情報処理回路とそこでの各遺伝子の役割を解明しようと試みている。

さらに、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。野生型線虫は 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 dauer 構成性になる。したがって、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 個のうち 8 個は既知の遺伝子の変異だが、他の 36 個は未知の遺伝子 (少なくとも 13 遺伝子) にあるらしい。これらの遺伝子を *sdf* 遺伝子と名づけた。*sdf* 変異体の中には、種々の感覚機能

に異常をもつものが存在する。 *sdf-1* 変異体は、野生型が正の走化性を示すベンズアルデヒド、イソアミルアルコール、ブタノンに負の走化性を示し、温度走性は好熱性になるなど、広範囲の異常がある。 *sdf-13* 変異体は、AWC 神経で感じるベンズアルデヒド、イソアミルアルコール、ブタノンに対する走化性に異常はないが、これらの匂い物質に対する順応に異常がある。この遺伝子は、T-box をもつ転写因子(マウスの Tbx2 やショウジョウバエの 0mb のホモログ)をコードする。

本年度は、*sdf* 変異体について、以下の結果を得た。

(1) *sdf-2* 変異体は、AWA 神経で感じる匂い物質のうちジアセチルに対する走化性は正常だが、ピラジンと 2-メチルピラジンに対する走化性が異常だった。

(2) *sdf-13* の 2 つの変異 (*ut180*, *ut192*) は、T-box 中の同一のリジン残基が、それぞれグルタミン酸とアルギニンに変化したミスセンス変異だった。また、SDF-13 蛋白質のそれぞれ N 末端または C 末端に GFP がつながった融合蛋白質をコードする遺伝子を作成し *sdf-13* 変異体に導入したところ、前者の導入体は表現型(合成 dauer 構成性および嗅覚の順応)が変異型のままだったが、後者の導入体は野生型に変化した。これらの GFP 融合遺伝子は、いずれも胚発生後期~成虫期で咽頭の神経 M2 および I5 で発現していた。現在、抗体を作って発現部位を確認する実験を行っている。また、amphid の感覚神経と咽頭の神経のどちらが *sdf-13* 変異表現型に重要なかを決定する実験を行っている。

(3) 二つの行動の選択性に異常を示す変異体の解析: 石原 健, 飯野雄一(東京大学・遺伝子実験施設), 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。

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。また、満腹を疑似すると考えられるセロトニン存在下では、飢餓によるこの行動の変化がみられなくなった。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、行動範囲が広が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。

これらの行動を解析するために変異体の単離・解析を行っている。*ut236* 変異体は、野生型に比べ、匂い物質や銅イオンに対する各々の応答には異常が見られないが、二つ

の刺激がある場合には、匂い物質への走化性より銅イオンからの忌避を優先する。このことは、*ut236*変異体では二つの応答の相互作用に異常があることを示唆している。さらに、*ut236*変異体では、飢餓とNaClの対提示による条件付け(連合学習)にも、異常がみられることが示唆された。これらのことから、*ut236*変異体では、感覚情報処理に広く異常がある可能性が考えられる。*ut236*変異体の原因遺伝子をポジショナルクローニングにより同定した。この遺伝子は、LDL受容体リガンド結合ドメインを一つ持つ新規の分泌タンパク質をコードしていた。また、機能的なGFP融合遺伝子を作成して、遺伝子の発現部位を推定したところ、少数の感覚神経・介在神経などで発現が見られた。また、組換えタンパク質を抗原とした抗体を作成し、タンパク質の局在などの解析を進めている。

*ut235*変異体では、飢餓による銅イオンからの忌避反応が弱くなるという変化が見られなかった。しかし、飢餓による運動量の変化や餌に対する応答性はほぼ正常であったので、*ut235*変異体では飢餓による応答の一部だけに異常がみられると考えられる。また、*ut235; ut236*の二重変異体では、飢餓状態にあるかどうかに関わらず、銅イオンからの忌避反応が優先されることがわかった。現在、この遺伝子のポジショナルクローニングを進めている。

研究業績

(1) 原著論文

1. Fujiwara, M., Ishihara, T. and Katsura, I.: A novel WD40 protein, CHE-2, acts cell-autonomously in the formation of *C.elegans* sensory cilia. *Development* **126**, 4839-4848 (1999).
2. Winnier, A.R., Meir, J.Y-J., Ross, J.M., Tavernarakis, N., Driscoll M., Ishihara, T., Katsura, I. and Miller, III D.M.: UNC-4/UNC-37-dependent repression of motor neuron-specific genes controls synaptic choice in *Caenorhabditis elegans*. *Genes Dev.* **13**, 2774-2786 (1999).
3. Hashimoto, H., Nishino, A., Shintani, N., Hagihara, N., Copeland, N.G., Jenkins, N.A., Yamamoto, K., Matsuda, T., Ishihara, T., Nagata, S. and Baba, A.: Genomic organization and chromosomal location of the mouse vasoactive intestinal polypeptide 1 (VPAC1) receptor. *Genomics*, **58**, 90-93 (1999).
4. Okuda, T., Haga, T., Kanai, Y., Endou, H., Ishihara, T. and Katsura, I.: Identification and characterization of the high-affinity choline transporter. *Nature Neurosci.*, **3**, 120-125 (2000).

(2) その他

1. 桂 勲: 線虫 *C. elegans* における生物時計. *生体の科学*, **50**(3), 207-211, 1999.

(3) 発表講演

1. Fujiwara, M., Ishihara, T. and Katsura, I.: A novel WD40 protein, CHE-2, acts cell-autonomously in the formation of sensory cilia. The 12th International *C.elegans* Meeting, Madison, WI, U.S.A., June.
2. Ishihara, T. and Katsura, I.: Analyses of the interaction of two sensory signals on the behavior under well-fed and starved conditions. The 12th International *C.elegans* Meeting, Madison, WI, U.S.A., June.
3. Miyahara, K., Suzuki, N., Ishihara, T. and Katsura, I.: *sdf-13/Ce-tbx-2* mutants have abnormality in odorant-specific adaptation. The 12th International *C.elegans* Meeting, Madison, WI, U.S.A., June.
4. Oishi, A., Take-uchi, M., Ishihara, T. and Katsura, I.: *flr-2* gene, which controls the growth rate of *flr-1*, *flr-3* and *flr-4* mutants, encodes a putative TGF- β antagonist. The 12th International *C.elegans* Meeting, Madison, WI, U.S.A., June.
5. 石原 健, 桂 勲: 線虫 *C. elegans* における二種類の感覚情報の相互作用と飢餓による行動の変化, 第22回日本神経科学大会, 大阪, 7月.
6. Katsura, I.: *C.elegans* FLR-1 ion channel acts in the intestine and controls various food-related functions. 1st ICSDT Conference Workshop, Shizuoka, August.
7. 武内昌哉, 大石あかね, 川上 穰, 石原 健, 桂 勲: 線虫の腸で働く遺伝子群が行動を制御する. 生物物理学会第37回年会, 和光, 10月.
8. 桂 勲, 石原 健, 大石あかね, 宮原浩二, 藤原 学, 大蔵清貴: 線虫 *C. elegans* の感覚信号伝達・情報処理に必要な遺伝子. 第72回日本生化学会大会シンポジウム, 横浜, 10月.
9. 石原 健, 飯野雄一, 桂 勲: *C. elegans* において二つの感覚情報の相互作用と連合学習能力に異常を持つ *ut236* 変異体の解析. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
10. 大石あかね, 武内昌也, 石原 健, 桂 勲: 線虫 *C. elegans* のクラス2フッ素イオン耐性遺伝子の解析. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.
11. 宮原浩二, 鈴木教郎, 石原 健, 桂 勲: 嗅覚の順応に関わる線虫の *sdf-13/Ce-tbx-2* 遺伝子の解析. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡, 12月.

H.d. 超分子構造研究室

当研究室では、構造生物学における様々な機構を分子レベルで理解するために、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。

今年度の超分子構造研究室の研究活動は、助教授・白木原康雄、総合研究大学院1年・進藤一泰、研究実験補助員・白木原千佳子、白鳥綾によって行われた。更に、遺伝研共同研究として山登一郎、目黒俊幸(東京理科大学)、森口充暲、佐藤晶子(大分大学)、井上純一郎、内藤明日香(東京大学)が参加し、また吉田賢右、宗行英朗、角田聡、政池知子、原清敬、野地博行、鈴木俊治、Dirk Bald(東京工業大学・資源化学研究所)、天野豊己(静岡大学)と協力して研究を行った。

(1) F1-ATPase の部分集合体のX線結晶解析：白木原康雄、吉田賢右、角田聡、政池知子、原清敬、野地博行、鈴木俊治、天野豊己、宗行英朗、白木原千佳子、白鳥綾

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、膜から突き出した巨大分子集合体(分子量38万)である。F1の3つの β サブユニット上にある3つの触媒部位の間には極めて強い相互作用があり、触媒過程のどの瞬間をとってもお互いが異なった状態にあり、この非等価性を決めているのは、回転する γ サブユニットだとされている。このように極めて精緻に調節された触媒機構を理解するのに、現在得られている構造情報はMgADP阻害型に属するヌクレオチド結合型ミトコンドリアF1の構造と、ヌクレオチド無しの $\alpha 3 \beta 3$ 複合体構造のものだけである。活性化状態を含めた他の多くの状態の構造情報を必要としているのは明らかである。私たちは数年前に解いた $\alpha 3 \beta 3$ 複合体(F1の5分の1程度のATPase活性を示し、そのコア部分を形成する；分子量33万)のヌクレオチド非存在下の構造をベースに、上に述べた情報を得るために異なるサブユニットの組み合わせで得られる種々の集合体の構造解析を行っている。

ヌクレオチド非存在下の $\alpha 3 \beta 3$ 複合体構造を、先に解かれたMgADP阻害型に属するヌクレオチド結合型ミトコンドリアF1の構造と比較することにより、主要サブユニット β 、 α が形成する $\alpha 3 \beta 3$ 複合体部分が大きな構造変化をすることがわかったが、これが(1)サブユニット γ 、 δ 、 ϵ の有無の違い、(2)ヌクレオチド結合の違い、のいずれによるか不明である。これに対しては、ヌクレオチド結合型の $\alpha 3 \beta 3$ 複合体構造とヌクレオチド非結合型 $\alpha 3 \beta 3 \gamma$ 複合体(F1とほぼ同様な酵素的な性質を示す複合体)の構造を見ることでその疑問に答えることが出来る。

ヌクレオチド結合型の $\alpha 3 \beta 3$ 複合体構造解析については、昨年度ヌクレオチド非存在下で成長した $\alpha 3 \beta 3$ 複合体結晶をヌクレオチドを含む液に浸して数日後の結晶からの回折データを解析したが、はっきりした結論は得られなかった。今年度は $\alpha 3 \beta 3$ 複合体がヌクレオチド存在下で不安定になるという従来の考えを棄てて、ヌクレオチド存

在下での結晶化実験を行ったところ結晶が得られることを見だし、現在結晶化条件を検討中である。 $\alpha 3 \beta 3$ 複合体はF1の5分の1も活性を示すという事実は、 γ サブユニットを經由しない β サブユニット上の触媒部位間の相互作用経路があることを強く示唆している。 $\alpha 3 \beta 3$ 複合体のヌクレオチド結合型の構造は、既に得られているヌクレオチド非結合型の構造と比べることによって、この経路の実体を見せてくれる可能性がある。

ヌクレオチド非結合型 $\alpha 3 \beta 3 \gamma$ 複合体の構造をしらべるだけでなく、活性化状態を含め種々のヌクレオチドの異なる結合状態の $\alpha 3 \beta 3 \gamma$ 複合体の構造を見るために、 $\alpha 3 \beta 3 \gamma$ 複合体の結晶化実験を昨年度に引き続き行った。単に結晶化条件の検討にとどまらず、精製法の検討も行った。精製に関しては、カラム前の処理、即ち従来の60度1時間程度の熱処理に加えて硫酸分画を行うことが大きな結晶を得るために重要であることが確立した。また、従来の疎水とイオン交換カラムの組み合わせに加えて、一段目ゲル濾過それに続く弱疎水カラムも有効であることを見出した。また複合体を安定に保つために行った、1)精製溶液中の塩化ナトリウム($\alpha 3 \beta 3 \gamma$ 複合体を解離させるというデータがある)を硫酸ナトリウムに置き換えることはいくらか効果があったが、2)ヌクレオチドを精製溶液に含ませることは効果がなかった。結晶化に関しては、界面活性剤を添加することにより、従来0.2-0.3mm程度の大きさの結晶が倍以上の大きさになる場合が多く、界面活性剤の効果に関しては更に検討中である。このような大きさの結晶になって初めて実験室系のX線で低分解能データの予備的な解析が可能になり、クライオ条件の検討を含めて実験が進行中である。最適の結晶化法は大方の予想と異なり、(オイル)バッチ法であることがわかった。 $\alpha 3 \beta 3 \gamma$ 複合体結晶の核形成は、プラスチック表面を用いて極めてゆっくりした蒸発を伴うオイルバッチ法で制御可能となり、ガラス表面を用いたハンギングドロップ法、プラスチック表面を使ったシッティングドロップ法、通常の微小透析法では核形成の調節が困難であった。また精製法の向上に伴い、結晶化は添加ヌクレオチドの種類と濃度を選ばなくなった。これにより、ヌクレオチド結合状態の異なる構造を得られる見通しが出てきた。

上に述べた $\alpha 3 \beta 3 \gamma$ 複合体の結晶化は野生型の分子を扱ったものであるが、今年度は吉田研から18種類の変異分子の標品の検討を受けて、それらの結晶化実験を行った。変異分子は、1) β サブユニットのヒンジ部分が固定されるもの、2) γ サブユニットとの相互作用部位(DELSEED)をアミノ酸置換した β サブユニットを含むもの、3)2つの β サブユニット間にクロスリンクのかかったもの、に大別される。このうちでヒンジ部分の変異分子が野生型の分子よりもいくらか大きな結晶を与えることがわかった。

$\alpha 3 \beta 3 \gamma \epsilon$ 複合体の結晶化は、鈴木による複合体の大量生産系の確立に伴い実験が容易に実行できるようになった。鈴木から供給を受けた複合体標品は、 $\alpha 3 \beta 3 \gamma$ 複合体の結晶化条件に設定すると、小さな結晶を形成した。そこで弱疎水カラムで $\alpha 3 \beta 3 \gamma \epsilon$ 複合体と混在している $\alpha 3 \beta 3$ 複合体から分離すると、約0.3mm程度のパイピラミッド型の結晶を形成することがわかった。結晶の大きさを改善する努力が進行中である。

- (2) ATP 合成酵素の結晶化：進藤一泰, Dirk Bald, 鈴木俊治, 吉田賢右, 白木原康雄
触媒部 F1 に膜貫通部 Fo(ab2c8-12)を加えたものが FoF1 又は ATP 合成酵素と呼ばれる膜酵素である。ATP 合成酵素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。好熱菌 PS3 由来の ATP 合成酵素を細菌内膜から, Dodecylmaltoside で可溶化する精製法を検討中である。またサブユニット b の可溶性部分 b' を F1 につけたものの大量生産系が鈴木によって作られたので, その精製品の供与をうけ, 一般的な条件を探索する結晶化実験(4種の基本的沈殿剤を用いて代表的な pH 範囲, 温度で条件を捜すグリッドスクリーンと他種類の沈殿剤を適宜試すスパーススクリーン(ハンプトン・リサーチ社からクリスタルスクリーンとして市販))を行う実験が進行中である。
- (3) B 細胞 CD40 細胞質内領域の立体構造解析：井上純一郎, 内藤明日香, 白木原千佳子, 白木原康雄

抗体産生細胞である B 細胞の細胞膜に存在する受容体 CD40 は B 細胞の増殖分化に必須なシグナルを伝達する。CD40 シグナルを伝達するタンパク質 TRAF5, TRAF6 は CD40 細胞質内領域(約 70 アミノ酸残基)の異なる二つの部位に結合する。本研究では, TRAF タンパク質を介する CD40 シグナルの伝達機構を明らかにすることを目的し, この CD40 細胞質内領域の結晶化を行った。CD40 細胞質内領域(aa216-277)を GST 融合タンパク質として大腸菌で大量発現させ Glutathione-Sepharose で精製後, 結晶化を試みた。昨年度の酵母 Mre11 断片-GST 融合蛋白質の場合と同様に, GST 蛋白質にこのように短い断片が融合したものが GST の結晶化能を利用して容易に結晶になることを期待した。今回は GST 融合蛋白質の結晶化条件にこだわらず, 一般的な条件を探索する結晶化実験(4種の基本的沈殿剤を用いて代表的な pH 範囲, 温度で条件を捜すグリッドスクリーンと他種類の沈殿剤を適宜試すスパーススクリーン(ハンプトン・リサーチ社からクリスタルスクリーンとして市販))を行った。このスクリーンで硫酸, pH5 で樹状突起物が見られ近傍条件を捜したが結晶は得られなかった。なお沈殿点プロファイルが Mre11 断片-GST 融合蛋白質と比べてかなり異なることがわかり, このことは GST の結晶化能を利用した融合蛋白質の結晶化はいつでも実現するわけではないことの証拠となりうる。

- (4) D-アミノアシラーゼの結晶化：佐藤晶子, 森口充暲, 白木原千佳子, 白木原康雄
D-アミノアシラーゼは N-アシル-D-アミノ酸を D-アミノ酸と脂肪酸に加水分解する反応を触媒する酵素である。天然に存在しない D-アミノ酸化合物を基質にする酵素の活性中心の構造, 基質結合の様子を知ることが興味深だけでなく, これらの知見はこの酵素の工業化に役立つと考えている。Alcaligenes xylosoxydans subsp. xylosoxydans A-6 由来の D-アミノアシラーゼを大腸菌で大量発現させ DEAE イオン交換, Butyl 疎水カラムで精製後, グリッドスクリーンとクリスタルスクリーンによる結晶化条件の探索を行った。MPD 溶液とイソプロパノール溶液とから小さい結晶が成長することを見いだしたが, これらの結晶の成長は再現性に乏しかった。精製度を検討したところ, 精製度にばらつきがあることがわかり, これまでの最高純度を実現するよう条

件を検討している。

(5)イオン輸送性V型ATPaseの結晶化：目黒俊幸，白木原康雄，山登一郎

F1ATPaseと類似のイオン輸送性ATPaseとしてV型ATPaseが良く知られている。このイオンポンプは真核細胞内膜系，一部の真核・原核細胞の細胞膜に存在し，内膜内，細胞外の酸性化に重要な役割を果たしている。一次構造上はF1ATPaseとよく似ているがその立体構造は明らかにされていない。

そこで，腸内連鎖球菌Na⁺イオン輸送性V型ATPaseの頭部(F1ATPaseの $\alpha 3 \beta 3 \gamma$ 複合体に相当する部分)を高純度に精製し，結晶化条件を検討した。0.2mm程度の板状，又は針状の結晶がポリエチレングリコール溶液から成長することを見いだした。この結晶型は6 Åの回折斑点を与えるが，3.6 Å分解能の弱い回折点を示す場合が出てきた。結晶を良くするには精製を改善するのが良いと考え，そのなかでも良質な反転膜を再現性良く作る努力が進行中である。

研究業績

(1)その他

1. 白木原康雄：ATP合成酵素，蛋白質・核酸・酵素，構造生物学のフロンティア 44 (1999)538-545.

(2)発表講演

1. 白木原康雄，神原 稔，天野豊己，角田 聡，宗行英朗，白木原千佳子，白鳥 綾，吉田賢右：好熱菌F1-ATPase $\alpha 3 \beta 3 \gamma$ 複合体の結晶化。日本生物物理学会37回年会，和光，10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データベース)研究事業を担当することを目的に，平成7年4月に設立された。このセンターは，遺伝情報分析研究室(教授1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。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。

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浅川紀

子, 市川恵子, 市川ひろ美, 因間美恵, 上田陽子, 江嶋真由美, 遠藤紀子, 岡根谷美英子, 奥田啓子, 勝部有季, 川本たつ子, 五條堀まり子, 佐藤由美子, 島田明美, 杉山順子, 鈴木あかね, 鈴木満美, 大藤由紀子, 筒井波留, 柳楽幸子, 成田智子, 橋爪亜紀, 長谷川麻子, 服部叔恵, 平島美恵子, 堀江元乃, 真島 淳, 丸山瑞穂, 向笠奈緒子, 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、峯田克彦、太田欽也の2名が総合研究大学院大学の博士課程1年生として在籍している。角山和久は総合研究大学院大学にて博士号を取得し、卒業した。また、鈴木善幸が日本学術振興会特別研究員として、伊藤 剛がCOE研究員として、中澤真澄がNEDO研究員として、Silvana Gaudieri, Matthew Bellgard, Dan Andrewsが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。岩間久和、新村芳人、竹崎直子は技術補佐員として研究活動を行った。小見山智義は湧永製菓株式会社の受託研究員として研究に協力した。また、梅原由美、山口(羽原)香織, Rose Chapman, 寺田恭子, 水口明美が研究に協力した。DDBJだけではなく、当研究室の活動補助を上田陽子、奥田啓子、勝部有季、杉山順子、丸山瑞穂、渡辺昭乃、Julie Bellgardが積極的に行った。

(1) マウスゲノム上の重複領域の探索：和田康彦¹, 今西 規¹(農水省畜試)

生物のゲノムの進化の過程では、「遺伝子重複」や「ゲノムの倍数化」が非常に大きな役割を果たしていると考えられる。そこで、われわれは以前に、染色体上の位置が既知のヒト遺伝子配列を材料としてヒト染色体重複領域データベースを開発、公開している。ヒトに加えてマウスゲノム上の重複領域を探索することにより、重複遺伝子がどのように機能分化したか、またそれらが生物進化にどのような影響を及ぼしたかをより詳細に理解できるのではないかと考えられる。そこで、マウスにおいても、ゲノム上の重複領域を探索した。MGD(Mouse Genome Database)において連鎖地図上の位置が既知でGenbank Release 112.0からアミノ酸配列が得られた遺伝子を抽出し、それらの総当たりの相同性検索をFasta3を用いて実施した。相同遺伝子の期待数が $1.0E-5$ 以下でオーバーラップ領域が100アミノ酸残基以上あり、オーバーラップ領域がオリジナル領域の8割以上あるものを相同遺伝子と見なした。そして、2組以上の相同遺伝子が5cM以内の間隔で連鎖している部分を重複領域候補と定義し、重複遺伝子がゲノム中にランダムに分布している場合の重複領域の期待数に基づく統計的検定を実施した。5%水準で有意な重複領域は異なる染色体間で24か所、同一染色体内で1か所の計25か所存在した。以上の成果は、日本分子生物学会年会で発表すると共に、<http://ws4.niaj.affrc.go.jp/dbsearch3/mgdduplicate/>で公開している。

(2)完全長ゲノムの比較による祖先型の再構成とゲノム構造の進化：伊藤 剛，五條堀孝
ゲノム配列の完全決定が微生物を中心に多数の生物種で行われるようになり，ゲノム構造進化の全体像を明らかにすることができるようになった．直系遺伝子の位置関係の比較により，長い進化の過程ではゲノム構造が大きく変化しうること，さらに，オペロンのような機能的に重要な単位であってもやはり多くの場合，構造上の変化が見られることを我々は明らかにしてきた．

今回，我々はまず直系遺伝子の探索方法を改良し，相同性の有意性の検定に対数化 Smith-Waterman スコアを用いた．直系遺伝子の同定のため，種分化後の遺伝子重複並びに融合も考慮できるようにした．この方法で定義された直系遺伝子の位置関係を比較することによって，真正細菌と古細菌の共通祖先生物の持っていたゲノム構造を推定した．その結果，共通祖先からのゲノム構造の変化の程度と，ゲノムが持っている反復配列の量との相関関係を明らかにした．さらに，ゲノム構造の変化の程度は，GC-skew のようなゲノム中の塩基構成の偏りにも影響を及ぼすことを我々は発見した．

また，真核生物における遺伝子融合を調べたところ，明らかに原核生物よりもその数が多く，特に原核生物型のオペロン構造に由来するものが大部分であった．これにより，真核生物の初期進化において，オペロン構造を融合遺伝子の形で保存しつつゲノム構造と制御機構が大きく変化したという真核生物の進化像を得ることができた．

(3)ゲノム配列中における塩基構成の進化的変化の方向を推定する方法の開発：Matthew I. Bellgard, 五條堀孝

比較的近縁な種であっても，ゲノム中に見られる塩基構成の偏り，特に GC 含量に大きな差が見られることがある．しかしながら，このような大規模な塩基構成の変化がどのような理由でどういった過程を経て生まれたかは謎であった．

そこで我々は，GC 含量の進化の過程での変化の方向を推定する簡便な方法を開発した．まず，非常に近縁と考えられる細菌の完全長ゲノム間 (*Mycobacterium tuberculosis* と *M. leprae*，及び *Helicobacter pylori* の二つの株) で直系遺伝子を取り出してアラインメントを作成し，その中の各コドンを，同一のもの(IC)，異なるコドンだが同一のアミノ酸(IA)，異なるアミノ酸(DA)の三つに分類した．次にそれぞれにおいて，コドンの三番目の GC 含量(GC3)を計算した．ここで我々は，IC の GC3 は祖先型の GC 含量を，IA の GC3 は種分岐後の各種で起こった GC 含量の変化を反映していると考えた．この方法によって，祖先型からの GC 含量の変化の方向を知ることができる．

この結果，二種のマイコバクテリウムでは，種分岐後に双方ともに GC 含量が低下しているが，特に *M. leprae* でその傾向が著しいことが分かった．さらに，ピロリ菌では J99 株では祖先型からほとんど変化していないが，26659 株では GC 含量が進化の過程で上昇したことが明らかになった．現在のところ，こういった GC 含量の変化は DNA 合成時の修復酵素の機能と関連があるのではないかと考えている．

(4) 主要組織適合遺伝子複合体の2つの subgenomic 領域の異なる進化過程 : Silvana Gaudieri, J.K. Kulski¹, R.L. Dawkins¹, 五條堀孝¹(¹The University of Western Australia)

ヒト主要組織適合遺伝子複合体の中に、いくつかの multicopy 遺伝子族によって構成される2つのブロック、 α ブロックと β ブロックが想定されている。これらの2つのブロック内では、一連の遺伝子族によって構成されるセグメントが不完全な重複を示していた。セグメントの重複と切り落としの位置は retroelement と関係していた。つまり、その retroelement によって不完全な重複、挿入・欠失、そして主に相同組み替えによる再構成が生み出されたと考えられる。しかし、2つのブロックでは異なる特徴が認められた。ヒト62.1ハプロタイプにおいて、 α ブロック内にHLAクラスI及びMIC遺伝子族の偽遺伝子と遺伝子フラグメントが少なくとも10回重複されていた。一方、 β ブロックではHLA-B, HLA-C, MICA 及びMICBを構成要素とする主要な2回の重複を示した。2つのブロック間では類似性ととも、重複領域の配置と数において特徴的な違いが認められた。

(5) 主要組織適合遺伝子複合体の中央領域370kb塩基配列内の高度な多様性 : Silvana Gaudieri, J.K. Kulski¹, R.L. Dawkins¹, 五條堀孝¹(¹The University of Western Australia)

ヒト組織適合遺伝子複合体(MHC)の非コード領域の塩基配列の多様性はコード領域の高度な多型の波及と考えられてきたが、この研究では、3種の異なるハプロタイプをもつヒト培養細胞を用い、ヒトMHCの中央部370kbを解析することにより次のような点が明らかになった。ヒトの他のゲノム領域と比べ最大80倍に及ぶ非常に高い塩基配列の多様性が非コード領域に認められた。また、1%以上の高い塩基配列多様性を示す領域は、クラスI領域から離れた非コード領域に及び、PERB11.2(MICB)からHLA-C座位までの関連の強い多数の遺伝子座位を含む領域を覆っている。そして、この領域の中には、特に多様性の高いピークを示す点が存在するとともに、この領域の両側では比較的多様性の低い領域と明瞭な境界なしで接していた。多様性の高い一連の領域は組み替えを抑制するように働き、この領域の外側で頻繁に組み替えが生じている可能性を示唆している。

(6) DNAチップを用いた神経系特異的遺伝子の探索 -- 進化初期型神経系プラナリアを用いて : 中澤真澄, 田崎 啓¹, Silvana Gaudieri, 池尾一穂, 五條堀孝, 阿形清和¹(¹姫工大・理学部生命科学科)

プラナリア(*Dugesia japonica*)は高等生物の脳に相当する神経系中枢を持つ最下等生物であり、目や脳神経節などの頭部形態を持つ。そのため高次神経系を進化の側面から理解する第一段階として、最も適した研究材料と言える。

現在までにプラナリア単一眼で発現している約1000遺伝子をEST(expressed sequence tags)法により採取し、その遺伝子配列を決定した。配列決定した遺伝子をそれぞれ既存のデータベースに対してBLASTXにより相同検索し、進化上最も初期型と考え

られる神経系の発現プロフィールを得た。(Tazaki et al. 1999, Gaudier et al. in preparation). さらに神経系で特異的に発現している遺伝子を同定する目的で、眼からとれた遺伝子群404種をDNAチップ基板上に固定し、プラナリアの頭部、それ以外の部分から取られた遺伝子を異なる蛍光色で標識し、競合的ハイブリダイゼーションを行った。現在、本実験により得られたプラナリア神経系で特異的に発現している遺伝子について、解析がすすんでいる。

(7) 植物ゲノムにおける散在性配列 MITE の探索とその進化的意義：峯田克彦，池尾一穂，荻原保成¹，五條堀孝¹（¹横浜市大）

葉緑体は，光合成を担う細胞内小器官であり，植物の進化過程を理解する上で，非常に良い材料を提供する．このため我々は，高等植物の葉緑体ゲノムにおける進化的再編成の過程を明らかにすることを試みた．

葉緑体ゲノムに対して全長での比較解析を5種類の葉緑体ゲノムに対して行った．その結果，双子葉植物，単子葉植物の間で大規模な逆位が起こっていること，遺伝子の順序はほぼ保存されていることを確認した．

さらに，葉緑体ゲノムの再編成の機構を解析するため，再編成に関わっていると考えられている転移性散在配列を葉緑体ゲノムから探し出すことを試みた．その結果，高等植物の葉緑体には，少なくとも1つの転移性散在配列，MITE familyに含まれる配列が存在する可能性が示された．この挿入配列は，系統的に単子葉植物が分化した後に転移，挿入が起こったと推測される．

これまでに葉緑体を含めてオルガネラゲノムでの転移性配列の存在は報告がなく，今回の探索においても1例を示すことができたのみである．従って，高等植物の葉緑体ゲノムにおいて考えられるゲノム再編成の機構としての転移性配列は考えにくい．また，核ゲノムにおいては非常に多くの転移性配列が見つまっていることから，高等植物の葉緑体には，外来性の遺伝子を排除する機構が存在している可能性がある．

研究業績

(1) 原著論文

1. Gojobori, T.: Evolution, in *The Encyclopedia of Molecular Biology*, T.E. Creighton, Editor. *John Wiley & Sons*: NY (1999).
2. Hatta, Y., Ohashi, J., Imanishi, T., Kamiyama, H., Iha, M., Simabukuro, T., Ogawa, A., Tanaka, H., Akaza, T., Gojobori, T., Juji, T. and Tokunaga, K.: HLA genes and haplotypes in Ryukyuan suggest a recent gene flow to the Okinawa islands. *Human Biology*. 71(3): 353-365 (1999).
3. Gaudieri, S., Kulski, J.K., Dawkins, R.L. and Gojobori, T.: Extensive nucleotide variability in a 370kb sequence within the central region of the major histocompatibility complex. *Gene Special Issue*. 238(1): 157-161 (1999).

4. Suzuki, Y. and Gojobori, T.: A method for detecting positive selection at single amino acid sites. *Mol. Bol. Evol.* (16): 1315-1328 (1999).
5. Ren, F., Tanaka, H., Okayama, T. and Gojobori, T.: Reconstructing molecular phylogenetic tree with multifurcation by using minimum complexity principle. *DNA and Molecular Computing*: 1825-1828 (1999).
6. Tanaka, H., Ren, F., Okayama, T. and Gojobori, T.: Topology selection in unrooted molecular phylogenetic tree by minimum model-based complexity method. in Pacific Symposium on Biocomputing'99. Hawaii, USA: (1999).
7. Sato, S., Toyoda, R., Ikeo, K., Gojobori, T., Katsuyama, Y., Saiga, H., Numakunai, T., Yajima, I. and Yamamoto, H.: Structure and developmental expression of the ascidian TRP Gene: Insights into the evolution of pigment cell-specific gene expression. *Developmental Dynamics*. **215**: 225-237 (1999).
8. Baba, T., Shiina, T., Ando, A., Imanishi, T., Matsuno, N., Sakurai, E., Nagao, T., Tanaka, K., Gojobori, T. and Inoko, H.: Isolation and characterization of a pig major histocompatibility complex (SLA) class II DNA cDNA clone. *Immunogenetics*. **49**: 915-917 (1999).
9. Tazaki, A., Gaudieri, S., Ikeo, K., Gojobori, T., Watanabe, K. and Agata, K.: Neural network in planarian revealed by an antibody against planarian synaptotagmin homologue. *Biochemi. Biophys. Res. Commun.* **260**(2): 426-432 (1999) .
10. Gaudieri, S., Kulski, J., Dawkins, R. and Gojobori, T.: Different evolutionary histories in two subgenomic regions of the major histocompatibility complex. *Genome Research*. **9**(6): 541-549 (1999).
11. Bellgard, M. and Gojobori, T.: Inferring the direction of evolutionary changes of genomic base composition. *Trends in Genetics*. **15**(7): 254-256 (1999).
12. Gojobori, T.: Part VI. Summary, in Molecular Starategies in Biological Evolution, L.H. Caporale, Editor. *Annals of the New York Academy of Sciences*: New York. p. 339-340 (1999).
13. Bellgard, M., Itoh, T., Watanabe, H., Imanishi, T. and Gojobori, T.: Dynamic Evolution of Genomes and the Concept of Genome Space, in Molecular Starategies in Biological Evolution, L.H. Caporale, Editor. *Annals of the New York Academy of Sciences*: New York. p. 293-300 (1999).
14. Gojobori, T.: Part VI. Introduction, in Molecular Starategies in Biological Evolution, L.H. Caporale, Editor. *Annals of the New York Academy of Sciences*: New York. p. 292 (1999).
15. Itoh, T., Okayama, T., Hashimoto, H., Takeda, J., Davis, R.W., Mori, H. and Gojobori, T.: A low rate of nucleotide changes in *Escherichia coli* K-12 estimated from a comparison of the genome sequences between two different

- substrains. *FEBS Letters*. **450**: 72-76 (1999).
16. Nakamura, Y., Gojobori, T. and Ikemura, T.: Codon usage tabulated from the international DNA sequence databases; its status 1999. *Nucl. Acids Res.* **27**(1): 292 (1999).
 17. Shiina, T., Oka, A., Imanishi, T., Hanzawa, K., Gojobori, T., Watanabe, S. and Inoko, H.: Multiple class I loci expressed by the quail MHC. *Immunogenetics*. **49**(5): 456-460 (1999).
 18. Takezaki, N. and Gojobori, T.: Correct and incorrect vertebrate phylogenies obtained by the entire mitochondrial DNA sequences. *Mol. Biol. Evol.* **16**(5): 590-601 (1999).
 19. Sugawara, H., Miyazaki, S., Gojobori, T. and Tateno, Y.: DNA Data Bank of Japan dealing with large-scale data submission. *Nucl. Acids. Res.* **27**(1): 25-28 (1999).
 20. Bellgard, M. and Gojobori, T.: Identification of a ribonuclease H gene in both *Mycoplasma genitalium* and *Mycoplasma pneumoniae* by a new method for exhaustive identification of ORFs in the complete genome sequences. *FEBS Letters*. **445**(1): 6-8 (1999).
 21. Itoh, T., Takemoto, K., Mori, H. and Gojobori, T.: Evolutionary instability of operon structures disclosed by sequence comparisons of complete microbial genomes. *Mol. Biol. Evol.* **16**(3): 332-346 (1999).
 22. Suzuki, Y., Katayama, K., Fukushi, S., Kageyama, T., Oya, A., Okamura, H., Tanaka, Y., Mizokami, M. and Gojobori, T.: Slow evolutionary rate of GB virus C/Hepatitis G virus. *J. Mol. Evol.* **48**(4): 383-389 (1999).
 23. Ophir, R., Itoh, T., Graur, D. and Gojobori, T.: A simple method for estimating the intensity of purifying selection in protein-coding genes. *Mol. Biol. Evol.* **16**(1): 49-53 (1999).
 24. Shiina, T., Shimizu, C., Oka, A., Teraoka, Y., Imanishi, T., Gojobori, T., Hanzawa, K., Watanabe, S. and Inoko, H.: Gene organization of the quail major histocompatibility complex (*MhcCoja*) class I gene region. *Immunogenetics*. **49**(5): 384-394 (1999).
 25. Mizokami, M., Imanishi, T., Ikeo, K., Y. Suzuki, Y., Orito, E., Kumada, T., Ueda, R., Iino, S. and Nakano, T.: Mutation patterns for two flaviviruses: hepatitis C virus and GB virus C/hepatitis G virus. *FEBS Letters* **450**: 294-298 (1999).
 26. Gehring WJ, Ikeo, K.: Pax 6: mastering eye morphogenesis and eye evolution. *Trends Genet.* 1999 Sep; **15**(9): 371-7 (1999).

(2) その他

1. 舘野義男, 菅原秀明, 五條堀孝: 「データベース 日本DNA データバンク (DDBJ) と

- ゲノム医学』『ゲノム医学の現在と未来』現代医療社 Vol. 32, No. 1, pp89-96 (1999).
2. 鈴木善幸, 五條堀孝:「インフルエンザウイルスの進化」『生物の科学 遺伝』葦華房 Vol. 54, No. 1, pp62-68(1999).
 3. 五條堀孝:「インターネットを利用したデータベース解析, 塩基配列解析」『分子生物学プロトコール改訂第2版』南江堂 付録: pp504-508(1999).
 4. 五條堀孝:「科学/技術と人間」『地球の生物システム』岩波講座 第8巻, pp87-107(1999).
 5. 宮田 隆, 五條堀孝ほか:「総合討論」『遺伝子で生物の進化を考える』第13回「大学と科学」公開シンポジウム組織委員会 pp150-159(1999).
 6. 五條堀孝:「病原性ウイルスはどのように進化したか」『遺伝子で生物の進化を考える』第13回「大学と科学」公開シンポジウム組織委員会 pp104-115(1999).
 7. 中澤真澄, 五條堀孝:「研究室・研究所めぐり」『生物の科学 遺伝』葦華房 Vol. 53, No. 8, pp69-70(1999).
 8. 五條堀孝:「特集 ゲノム情報からみた新しい生物学」『生物の科学 遺伝』葦華房 Vol. 53, No. 8, pp13-43(1999).
 9. 五條堀孝:「つぎはぎだらけの生き物のゲノム」サイアス・朝日新聞出版局 pp20-23(1999).
 10. 鈴木善幸, 五條堀孝:「ウイルスの進化-変異体の産生と遺伝子頻度の変動」『ウイルスを知る』山本直樹編集 羊土社 pp79-86(1999).
 11. 五條堀孝:「宮田 隆氏の紹介」蛋白質・核酸・酵素 Vol. 44, No. 3 p252 共立出版社(1999).
 12. 鈴木善幸, 五條堀孝:「C型肝炎ウイルスの分子進化」週刊医学のあゆみ 医歯薬出版 Vol. 188, No. 7, pp764-765(1999).

(3) 発表講演

1. Tsunoyama, K., Bellgard, M. and Gojobori, T.: Intragenic variation of Synonymous substitution rates and its evolutionary implication. International Society of Molecular Evolutionary Meeting (San Jose, Costa Rica), 1月.
2. Gaudieri, S., Kulski, J.K., Dawkins, R.L. and Gojobori, T.: Two different modes of genomic evolution in the class I region of the major histocompatibility complex. International Society of Molecular Evolutionary Meeting (San Jose, Costa Rica), 1月.
3. Bellgard, M. and Gojobori, T.: Evolutionary change of the GC content after speciation. International Society of Molecular Evolutionary Meeting (San Jose, Costa Rica), 1月.

4. 五條堀孝：全ゲノム配列から見た微生物ゲノムの進化。1999年第2回ワークショップ「微生物ゲノム研究のフロンティア」日本学術振興会・未来開拓学術研究推進事業「ゲノム微生物学」研究推進委員会，千里ライフサイエンスセンター，大阪，2月。
5. 五條堀孝：Impact of Genomics on Taxonomy. WDCM symposium, 九段会館，東京，2月。
6. Gojobori, T.: Data analysis of synonymous and nonsynonymous substitutions in the study of viral evolution Ninth International Conference on Human Retrovirology HTLV and Related Viruses, Kagoshima Shimin Bunka Hall, (Kagoshima, Japan), 4月。
7. 五條堀孝：ゲノム情報解析の現状と将来。旭化成大仁研究所講演，旭化成大仁研究所，静岡，4月。
8. Gojobori, T.: New Developments of Evolutionary Genomics. Annual Meeting of Korean Society of Molecular Biology, (Taejon, Korea), 5月。
9. 五條堀孝：遺伝学のはなしあれこれ・最近の話題から。静岡県公平委員会連合会総会事務研究会講演，三島プラザホテル，静岡，5月。
10. Gojobori, T.: Evolutionary Plasticity of Genomes. Genome Diversity and Evolution, The Penn. State University. (Penn State, U.S.A.), 6月。
11. Gojobori, T.: The New Era of Evolutionary Genomics. Lecture at University of Chicago, (Chicago, U.S.A.), 6月。
12. 五條堀孝：ヒトゲノム多様性プロジェクトと慢性関節リウマチなどの自己免疫疾患-DNAチップとその情報解析の将来。第9回静岡県東部リウマチ膠原病医会定例学術講演会，三島グランドホテル，静岡，7月。
13. 五條堀孝：遺伝子と遺伝子頻度。遺伝子浮動。拡散方程式。遺伝子重複と多重遺伝子族。これからの進化学。集中講義「集団遺伝子と分子進化」，国立遺伝学研究所，静岡，7月。
14. Gojobori, T.: From Comparative Genomics to Evolutionary Genomics-Evolution of Genomic Structures. Gene Therapy and Molecular Biology & Medicine, (Creta Island, Italy), 8月。
15. Gojobori, T.: A Method for detecting positive selection at single amino acid sites 7th Congress of the European Society for Evol. Biol., (Barcelona, Spain), 8月。
16. Gojobori, T.: Intragenic Variation of Synonymous Substitutions and its Evolutionary Implication. 7th Congress of the European Society for Evol. Biol., (Barcelona, Spain), 8月。
17. Gaudieri, S., Kulski, J.K., Habara, K., Dawkins, R.L. and Gojobori, T.: Extreme nucleotide variability within the Major Histocompatibility Complex. The 71st Annual Meeting of The Genetics Society of Japan, (Hiroshima, Japan), 9月。
18. 伊藤 剛，五條堀孝：ヒト及びげっ歯類における機能的制約の強度の比較研究。日

- 本遺伝学会第71回大会, 広島大学(東広島), 9月.
19. 鈴木善幸, 五條堀孝: アミノ酸座位ごとに正の自然選択圧を検出する方法の開発. 日本遺伝学会第71回大会, 広島大学(東広島), 9月.
 20. 池尾一穂, S. Gardon, W. Gehring: Pax 遺伝子族の分子進化的研究. 日本遺伝学会第71回大会, 広島大学(東広島), 9月.
 21. 五條堀孝: 遺伝子プロファイルから脳の進化がみえるか. 日本進化学会設立記念大会, 国立京都国際会館, 京都, 10月.
 22. Gojobori, T.: SNP Profile and Genomic Evolution of the Human Major Histocompatibility Complex. Int'l Symposium on the Evolution of Vertebrates, Lund University, (Malmo, Copenhagen), 10月.
 23. Gojobori, T.: Genomic Evolution in Higher Organisms-Genomic evolution of eukaryotes. 1999 Gordon Research Conference on Molecular Evolution, Shonan Village Center, (Hayama, Japan), 10月.
 24. Gojobori, T.: A gene expression profile obtained by determining over 1000 cDNA clones from a single Planarian eye cell. Beyond the Identification of Transcribed Sequences: Functional and Expression Analysis 9th Annual Workshop, Sheraton Reston Hotel, (Virginia, U.S.A.), 10月.
 25. 阿形清和, 梅園良彦, 田崎 啓, 岡本圭司, 洪 健智, 武内恒成, Gaudieri, S., 池尾一穂, 中澤真澄, 下田正文, 田中 謙, 五條堀孝: プラナリア視細胞の遺伝子発現プロファイルと三次元データベース. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡ドーム, シーホークホテル&リゾート, 福岡, 12月.
 26. 伊藤 剛, 五條堀孝: 直系遺伝子探索に基づく祖先ゲノムの再構成とゲノム構造の進化. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡ドーム, 福岡, 12月.
 27. 中澤真澄, 田崎 啓, Silvana Gaudieri, 池尾一穂, 五條堀孝, 阿形清和: DNAチップを用いた神経系特異的遺伝子の探索 -- 進化初期型神経系プラナリアを用いて, 第22回日本分子生物学会年会, 福岡ドーム, 福岡, 12月.
 28. 峯田克彦, 池尾一穂, 荻原保成, 五條堀孝: 植物ゲノムにおける散在性配列 MITE の探索とその進化的意義, 第22回日本分子生物学会年会, 福岡ドーム, シーホークホテル&リゾート, 福岡, 12月.
 29. 和田康彦, 今西 規: マウスゲノム上の重複領域の探索. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡ドーム, シーホークホテル&リゾート, 福岡, 12月.
 30. 早坂大輔, 鈴木善幸, 荻羽宏明, 水谷哲也, 五條堀孝, 高島郁夫: 北海道と極東ロシアのダニ媒介性脳炎ウイルスの系統解析. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡ドーム, シーホークホテル&リゾート, 福岡, 12月.
 31. 鈴木善幸, 片山和彦, 福士秀悦, 影山 努, 大谷 明, 岡村博文, 田中靖人, 溝上雅史, 五條堀孝: G 型肝炎ウイルスの進化速度と分岐年代. 第22回日本分子生物

学会年会, 福岡ドーム, シーホークホテル&リゾート, 福岡, 12月。

32. 片山和彦, 福士秀悦, 影山 努, 小嶋慈之, 岡村博文, 鈴木善幸, 五條堀孝: 8年間にわたる HCV genome 全長の宿主内進化の解析. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡ドーム, シーホークホテル&リゾート, 福岡, 12月。
33. 池尾一穂, Silvana Gaudieri, 田崎 啓, 中澤真澄, 阿形清和, 五條堀孝: プラナリア眼に特異的に発現する遺伝子の探索. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡ドーム, シーホークホテル&リゾート, 福岡, 12月。
34. 山口由美, 五條堀孝: HIV-1の表面タンパク質の多様性の再評価と不連続エピトープの予測. 第22回日本分子生物学会年会, 福岡ドーム, シーホークホテル&リゾート, 福岡, 12月。

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、とくに立体構造予測を中心として研究している。今年度からは、様々な生物のゲノム情報解析にも本格的に取り組んでいる。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(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), 金城 玲(総研大大学院生D2), 長野希美(博士研究員, 現UCL ロンドン大学), 川端 猛(JST受託研究員), 福地佐斗志(JST受託研究員), 鈴木小夜子(JST技術員), 石井崇洋(NEDO研究員・北里大学より派遣), 伊藤憲子(技術員), 三村公子(研究補佐員), 中山尚子(研究補佐員), 黒丸美奈子(研究補佐員), 山本かよ子(研究補佐員), 阿部多美枝(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(金沢大学教授)と協力し、その他に磯貝泰弘(理化学研究所研究員)と協同で研究した。

(1) タンパク質の立体構造予測コンテスト(CASP3)への挑戦: 太田元規, 川端 猛, 金城玲, 西川 建

西川研所属の4人がチームを組んでタンパク質の立体構造予測コンテスト(CASP3)の構造認識部門に参加した。このコンテストは構造未知のタンパク質を対象とした全くの目隠し予測会で、世界中の構造予測研究者が集う。構造認識部門では既知立体構造のデータベース(PDB)から予測構造を検索し、答えとして提出する。問題の構造は一般的な検索ツール、つまり、FASTA, BLAST, PSI-BLASTだけでは確定できないものが対象となる。我々は一般的な配列検索ツール、配列アラインメントツールなどで一通りの解析を行った後に、オリジナルの二次構造予測法、3D-1D法を利用した。これらの作業を独立に行い計算結果のデータを一通り揃えた上で何度も会議をもち、結果の整合性や生物学的情報などを十分検討した上で提出する構造を決定した。我々のチームは提出した18問中8問が正解と認定され、コンテストで入賞することができた。特に、ビタミンB12

の合成に関与する CbiK が Ferrochelataase 様の構造をとること、大腸菌の Cyanase の N 端ドメインが Cro repressor 様の構造をとることを予測し、評価を得た。様々な知識の統合が上手くできれば予測率が向上する可能性がある。詳細は文献 2 で発表した。

(2) システインは強い疎水性残基である：長野希美¹，太田元規，西川 建^(¹現 UCL ロンドン大学)

立体構造データベース(PDB)中のタンパク質を対象として、Cys(システイン)残基に注目しながら以下のような統計的解析を行った。Cys 残基は、SS 結合を形成しているもの(Cys-SS と表記)と SH-基を有するフリーのもの(Cys-SH と表記)を区別して取扱った。Cys 以外の 19 種類のアミノ酸残基と合わせ 21 種類の残基について、2 次構造形成指数(Chou-Fasman パラメータ)、疎水性/親水性指数などを立体構造データから求めたところ、Cys-SS と Cys-SH の両者とも Leu, Val, Phe などに匹敵する強い疎水性を示した。この結果は Cys-SS に関しては予想どおりであると云えるが、Cys-SH については意外であった。SH-基をもつ Cys-SH は、従来から OH-基をもつ Ser と類似するという理解が普通である。この点を明らかにするために、より詳細な解析として、Cys-SH の S 原子、Ser 側鎖の O 原子、さらに Ile 側鎖先端の C 原子をそれぞれ中心とするタンパク分子中での近傍原子の分布状態を統計的に調べた。その結果、Cys-SH の SH-基が相互作用する相手は、Ser の OH-基とは明らかに異なり、むしろ Ile 側鎖のメチル基とほとんど同じであることが判明した。これらの結果より、Cys-SH 残基は強い疎水性を示し、他の疎水性残基と同様にタンパク分子内部を好むという結論に達した。詳細は文献 3 で発表した。

(3) 人工グロビンの設計と合成：磯貝泰弘¹，太田元規，飯塚哲太郎¹，西川 建^(¹理化学研究所生体物理化学研究室)

タンパク質の立体構造予測法である 3D-1D 法を利用し、鑄型構造に巻き上がるタンパク質を全く人工的に作成する方法を提案し、実験的に検証した。設計対象として非対称な α -ヘリックス型で 153 残基からなるマッコウクジラのみオグロビンを選んだ。このタンパク構造を固定し、3D プロフィールを再帰的に作成しながら、最適配列を探索した。その後一般的なグラフィックソフトなどを利用し、明らかなぶつかりなどを解消して合成する配列(DG1)を決定した。最終的に得られた配列は天然配列と 26%のアミノ酸を共有している。この配列を大腸菌で発現させ、構造の特性を調べた。クロマトグラフィ、円偏光二色性、溶液 X 線散乱などの結果から、DG1 はモノマー、コンパクト、 α リッチな球状タンパクで、水中での概形はグロビン様であることがわかった。しかもスペクトル解析から DG1 は 1 つのヘムを結合することがわかった。しかし、ヘムを結合した DG1 は天然のグロビンほど安定ではない。NMR と変性実験から側鎖構造の揺らぎが大きいことに原因があると推測される。機能するタンパクの配列設計とその構造の単一性について様々な知見が得られた。詳細は文献 4 で発表した。

(4) タンパク質変異体安定性プロフィールの実験的検証：高野和文¹，太田元規，小笠原京子¹，山縣ゆり子²，油谷克英¹(¹大阪大学蛋白質研究所，²大阪大学薬学部)

以前我々は、3D-1D法を利用してタンパク質変異体の安定性が評価できることをリボヌクレアーゼHで示した。評価結果はタンパク質変異体安定性プロフィール(SPMP)に記述される。そこで、ヒトチゾチームのSPMPを作成した後、高い安定化が予測され、しかもその要因が異なると思われる変異体を9つ作成し、安定性と立体構造の解析を行った。58位のグルタミンをグリシンに置換した変異体は予測どおり高い安定性を示したが、残りの変異体は構造変化が少ないにもかかわらずあまり安定化しなかった。以前測定したデータを含めて実験値と計算値の相関を調べたところ、予測能は置換のタイプに依存することがわかった。プロリン置換体やタンパク質内部にある空孔を広げる変異体では実験値と計算値の相関が見られたが、側鎖の水素結合が安定化因子となる置換などでは無相関であった。SPMPの改良のためには側鎖の向きやぶつかりを考慮する、二次構造と疎水性の関数を上手く組み合わせる、などの工夫が必要ことがわかった。詳細は文献5で発表した。

研究業績

(1) 原著論文

1. Ota, M. and Nishikawa, K.: "Feasibility in the inverse protein folding protocol", *Protein Sci.* **8**, 1001-1009, 1999.
2. Ota, M., Kawabata, T., Kinjo, A.R. and Nishikawa, K.: "Cooperative approach for the protein fold recognition", *Proteins: Str. Func. Genet., Suppl.* **3**, 126-132, 1999.
3. Nagano, N., Ota, M. and Nishikawa, K.: "Strong hydrophobic nature of cysteine residues in proteins", *FEBS Lett.*, **458**, 69-71, 1999.
4. Isogai, Y., Ota, M., Fujisawa, T., Izuno, H., Mukai, M., Nakamura, H., Iizuka, T. and Nishikawa, K.: "Design and synthesis of a globin fold", *Biochemistry*, **38**, 7431-7443, 1999.
5. Takano, K., Ota, M., Ogasahara, K., Yamagata, Y., Nishikawa, K. and Yutani, K.: "Experimental Verification of Table for 'Stability Profile of Mutant Protein' (SPMP) Using Mutant Human Lysozymes", *Protein Eng.*, **12**, 663-672, 1999.
6. Tateno, Y., Miyazaki, S., Ota, M., Sugawara, H. and Gojobori, T.: "DNA data bank of Japan (DDBJ) in collaboration with mass sequencing teams", *Nucleic Acids Res.* **28**, 24-26, 2000.

(2) その他

1. Nishikawa, K.: "Protein structure prediction", in *The Encyclopedia of Molecular Biology* (Ed., T.E. Creighton), John Wiley & Sons, Inc. (1999).

(3) 発表講演

1. Nishikawa, K.: Evolution of protein structures. The 4th Hamamatsu International Symposium on Biology, Hamamatsu, February, 1999.
2. 深海 薫, 西川 建: タンパク質立体構造の系統進化. 第2回蛋白合同年会, 横浜, 6月.
3. Nishikawa, K. and Fukami-Kobayashi, K.: Evolutional changes of protein structures (Poster presentation). The 13th Symposium of the Protein Society, Boston, July, 1999.
4. Nakashima, H. and Nishikawa, K.: Oligonucleotide composition analysis of genomic sequence data. The 13th International Biophysics Congress, New Delhi, September, 1999.
5. Kinjo, A.R. and Nishikawa, K.: Discriminating between correct and incorrect folds of proteins (Poster presentation). The 13th International Biophysics Congress, New Delhi, September, 1999.
6. 西川 建: 遺伝情報と境界条件. 第37回生物物理学会年会ナイトセッション, 和光市, 10月.
7. 太田元規: インバース・フォールディング的フォールディング問題. 第37回生物物理学会年会シンポジウム, 和光市, 10月.
8. 金城 玲, 西川 建: エネルギー計算によって, タンパク質の正しいフォールドと誤ったフォールドを見分ける方法. 第37回生物物理学会年会, 和光市, 10月.
9. 川端 猛, 西川 建: 変異確率スコアを用いたタンパク質の立体構造比較. 第37回生物物理学会年会ポスター発表, 和光市, 10月.
10. 西川 建: 構造ゲノム学と立体構造予測. 第14回「大学と科学」公開シンポジウム, 神戸, 12月.
11. 太田元規: 立体構造予測の実際. AIシンポジウム99, 東京, 12月.
12. 中島広志, 西川 建: ゲノム塩基配列は生物種特有の塩基組成を持っている. 第22回分子生物学会年会ポスター発表, 福岡, 12月.

I-c. 遺伝子機能研究室

当研究室は、遺伝子ならびにタンパク質の機能を主に進化や構造の視点から解析・説明することを目的としている。

昨年の当研究室の仕事の一つは、明治製菓との共同研究によって、真核生物における新しい遺伝子を発見したことである。この遺伝子は、カビ(*Penicillium decumbens*)内で *cis*-propenylphosphonic acid (cPA) を抗生物質である fosphomycin (FOM) にヘポキシ化 (oxygenese の一種) する酵素 (EpoA と命名) をコードする。まず、FOM は cPA

によって誘導されることが分かっていたので、誘導前と後とのプロテオソームの違いから、新たに誘導されたタンパク質を同定し、そのN末のアミノ酸配列を部分的に決定した。そして、この部分配列をもとにプライマーを作成し、PCRによって候補遺伝子を増幅しその全配列を決定した。真核生物ではこの遺伝子は見つかっていなかったため、この遺伝子と系統的に一番近い(原核生物の)相同遺伝子との相同性を調べた結果、40%の相同性が得られた。また、配列解析の結果、EpoAには oxygenase ファミリーの活性部位に特有なモチーフ配列が存在することが分かった。さらに、この遺伝子を knockout するとエポキシ化の活性を失うことも確認した。つまり、真核生物では初めてのエポキシ化酵素を発見したことになる。この結果は *Applied and Environmental Microbiology* 誌に発表した。

また、当研究室では、東海大学医学部とフジヤバイオサイエンス研究所との共同研究により、HLA ゲノム領域の進化を調べている。この研究で対象になった領域はHLAIのHLAIII領域に近接の部分で、その長さは385Kbほどである。この領域には2組の相同ゲノム断片があることが分かっている。この1組にはそれぞれHLA-BとHLA-C遺伝子が、あと1組にはMICBとMICA遺伝子が乗っている。私達は、これらの断片に相同なLINE配列が数組づつ乗っていることを発見した。この発見はまず、2組のゲノム断片が重複によって生じたことを確定的に証明する。さらに相同LINE配列間の相同性を計算することにより、2組の断片の重複はそれぞれ独立の進化時点で起こったことが明らかになった。最近、MICAやMICBの遺伝子の機能が解明されつつあり、これらの遺伝子産物は、HLA遺伝子産物のように $\alpha\beta$ T細胞ではなく、 $\gamma\delta$ T細胞を活性化するという報告が出てきている。また、これらの遺伝子産物は種々の癌細胞やストレス下にある細胞に発現することも分かっている。このように、HLAとMICは違った機能をもつように進化してきたことが明らかになりつつあるが、私達の研究はその進化的起源を探るのに貢献できると思われる。この研究の一部は *J. Mol. Evol* に発表した。

これらの他に、日本DNAデータバンクの活動、特に大量配列登録に有用なソフトウェアの開発について *Nuc Acids Res* に発表した。

研究業績

(1)原著論文

1. Sugawara, H., Miyazaki, S., Gojobori, T. and Tateno, Y.: (1999) DNA Data Bank of Japan dealing with large-scale data submission. *Nucleic Acids Res.* **27**: 25-28.
2. Watanabe, M., Sumida, N., Murakami, S., Anzai, H., Thompson, C. J., Tateno, Y. and Murakami, T.: (1999) A phosphate-induced gene which promotes *Penicillium* mediated bioconversion of cis-propenylphosphonic acid to Fosfomycin. *Applied and Environmental Microbiology.* **65**: 1036-1044.
3. Yamazaki, M., Tateno, Y. and Inoko, H.: (1999) Genomic organization around

the centromeric end of the HLA class I region: Large-scale sequence analysis. *J Mol Evol.* **48**: 317-327.

4. Fukami-Kobayashi, K., Tateno, Y. and Nishikawa, K.: (1999) Domain dislocation: a change of core structure in periplasmic binding proteins in their evolutionary history. *J Mol Biol.* **286**: 279-290.

(2) その他

1. 宮崎 智, 館野義男: 国際DNA データバンクにおけるゲノム情報活動, *遺伝* **53**: 21-27 (1999).
2. 館野義男, 菅原秀明, 五條堀孝: 日本DNA データバンク (DDBJ) とゲノム医学, *現代医療*, **32**: 89-96 (1999).
3. 館野義男: パラロガス遺伝子とオルソロガス遺伝子, *生化学* **71**: 1251 (1999).

(3) 発表講演

1. 館野義男: Genomic analysis of a HLA I region, University of Washington の第101回 COMBI Seminar, シアトル, アメリカ, 1999年7月.
2. 館野義男: Evolutionary aspects of a HLA genome region, 第9回「International Congress on Genes, Gene Families and Enzymes」北京, 中国, 1999年10月.
3. 館野義男: Microarray databases in Japan, Microarray Database Meeting, ケンブリッジ, イギリス, 1999年11月.
4. 館野義男: Evolutionary analysis of a HLA I region and finding of possible genes in the region, Proteomics is a Revolution of Life Science Research, ソウル, 韓国, 1999年12月.

I-d. 分子分類研究室

当研究室は、生物を対象とするデータベース、データ解析および統合システムの研究開発を行ってきたが、今年度は特に微生物を対象とした進化系統解析のための実験研究も行った。また、日本DNA データバンク (DDBJ) の研究事業においてもその運用開発の中核をなす情報処理システムの研究開発を担当している。さらに、1997年に理化学研究所から引き継いだWFCC-MIRCEN World Data Centre for Microorganisms (WDCM) の研究事業も行っている。当研究室における情報システムの研究開発にあたっては、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情報システムの構築を目指している。

(1) DDBJにおけるデータ処理システムの開発：菅原秀明，宮崎 智

2000年早々にヒトゲノム3G塩基対がほぼ決定されるといわれまた微生物などの他の生物のゲノム配列もまた精力的に決定され続けている。そこで，昨年に引き続きDDBJにおけるデータ処理の中核となるデータの獲得・蓄積・検索システムのさらなる機能向上を計った。

(2) WDCM Web サーバーの開発：菅原秀明，宮崎 智，藤澤由美

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サーバーのコンテンツの充実をはかった。また，複数異種のデータ源を同時に検索して結果を受け取れるサーチエンジンAHMIIの機能も拡張した。その結果，昨年度と比較して約60%増の月平均50,000万件のアクセスがあり，微生物多様性に関するサーバーとして雑誌HELIXにおいて高い評価を受けた。

(3) 微生物の分類と同定：菅原秀明，宮崎 智，小川裕由

現代の分類学に求められている多相な分析(polyphasic analysis)に対応する情報システムをこれまで研究開発してきたが，本年は，データベース構築から様々な解析手法まで一貫して処理できるワークベンチの開発，進化系統解析の為の新しい測度の改良，および菌類の進化系統解析実験を行った。

ワークベンチにおいて，データ構造の変更，データの取り込みと更新，データの検索，数値分類，数理的同定，進化系統解析の各モジュールを開発しそれらの一部の連携を可能とした。

新しい測度については，情報量を見積もる基本的な量であるシャノンエントロピーを応用して，アライメント後の遺伝子配列上でsite単位での情報量の大小から遺伝子配列を分類するという目的において重要な連続領域を見つけるための量を提唱し，その有効性を検証している。

当研究室として新しい試みであった進化系統解析実験では以下の知見が得られた。

a. 種内変異の評価

(財)発酵研究所より提供を受けた糸状子囊菌類*Geosmithia putterillii* 5株について18S rRNA 遺伝子のシークエンシングを行った。その結果IFO 5758, 6244, 7241の3株の塩基配列はまったく同一であった。IFO 31130株(正基準株)およびIFO 31131株は相互に異なっていた。また，遺伝子系統樹上での分岐位置から，IFO 31131株は*G. putterillii*ではない可能性が示唆された。

b. 種内変異の評価

(財)発酵研究所より提供を受けた糸状子囊菌類*Penicillium argillaceum* 4株について18S rRNA 遺伝子のシークエンシングを行った。その結果IFO 31071, 31128, 31148の3株は，遺伝子中3箇所にイントロンの挿入が認められた。この3株のエクソン部分の塩基配列はまったく同一であった。また，イントロンはすべて，グループI自己スプ

ライシングリボザイムであった。さらに、唯一の国内分離株 IFO 32004 株はイントロンの挿入が無く、エクソン部分の塩基配列は他3者と比較して1塩基の相違であった。

c. 属内分散の評価

Penicillium sacculum(=*Eladia saccula*)2株の18S rRNA 遺伝子塩基配列は同一であった。また、*Penicillium*属の基準種*P. expansum*との相違は10塩基であった。

d. 属内分散の評価

*Penicillium*属に関連する不完全菌類4種4株を(財)発酵研究所から提供を受け、18S rRNA 遺伝子塩基配列を決定した。これらは*Talaromyces*属*Flavi*節および*Emersonii*節に分かれたが、グループIリボザイムの挿入がすべての菌株においてみられた。特に*G. viridis*, *P. oblatum*, *P. sabulosum*では5箇所の挿入が見られ、なかでもsite998の挿入は報告例が無い珍しいものであった。この位置のイントロンはsite1165のイントロンとの関係が示唆された。

研究業績

(1)原著論文

1. Sugawara, H., Miyazaki, S., Gojobori, T. and Tateno, Y.: DNA Data Bank of Japan dealing with large-scale data submission, *Nuc Acids Res*, 1, 1999.
2. 菅原秀明: 情報生物学の提案, 遺伝, 53(8), 39-43, 1999.

(2)その他

1. 菅原秀明: 微生物株系統保存とデータ活動, 蛋白質核酸酵素, 44(2), 175-180, 1999.

(3)発表講演

1. 菅原秀明: 微生物ゲノムの解明がもたらすもの, 日本微生物資源学会第6回大会, 千葉, 1999年6月10日-11日.
2. 宮崎 智, 後藤康丞, 菅原秀明: 大規模配列データの解析に対する情報論的アプローチ, 生命の起源進化学会第24回学術講演会, 桐生, 1999年3月15日-16日.
3. Miyazaki, S. and Sugawara, H.: Reconstruction of large-scale phylogenetic trees: problems and solutions, 6th International Congress on Amino Acids, August 3-7, 1999, Bonn.
4. Sugawara, H. and Miyazaki, S.: An information system for data integration and polyphasic analysis of microbes, 99th General Meeting of the American Society for Microbiology, May 5-June 3, 1999, Chicago.
5. Miyazaki, S and Sugawara, H.: From linking to integration of biological databases, The International Joint Workshop for Studies on BIODIVERSITY (Spe-

- cies 2000, CODATA and Global Environment Tsukuba), July 14-16, 1999, Tsukuba.
6. Sugawara, H. and Miyazaki, S.: Evolution of genes, genomes and species, The International Joint Workshop for Studies on BIODIVERSITY (Species 2000, CODATA and Global Environment Tsukuba), July 14-16, 1999, Tsukuba.
 7. Sugawara, H.: Links between microbial resources and gene sequences, IXth International Congress of Bacteriology & Applied Microbiology, Aug 16-20, 1999, Sydney.
 8. 菅原秀明：情報の流れとしての生命現象，平成11年度生命工学工業技術研究所講演会資料「生物資源研究の新たな展開 -21世紀のバイオ産業の創出を目指して-」，東京，1999年11月1日．
 9. 小川裕由，杉山純多，菅原秀明：1999，ペニシリウム属関連菌類の核小サブユニットリボソームRNA遺伝子に発見されたグループIイントロンの進化的多様性，日本分子生物学会年会，福岡，1999年12月7日-10日．
 10. 菅原秀明：情報としての遺伝子，静岡県県民カレッジ講座，三島，1999年12月11日．
 11. 菅原秀明：生物系研究資材は戦略的情報資源である，バイオリソースネットワークシンポジウム，東京，1999年12月17日．
 12. 宮崎 智，菅原秀明：培養生物を対象とする情報共有・解析システム，バイオリソースネットワークシンポジウム，東京，1999年12月17日．

J. 放射線・アイソトープセンター

国立遺伝学研究所の共同利用研究機関への改組後に，当「放射線アイソトープセンター」が設立されたが，以来所内のアイソトープ使用のための各種の施設の管理運営は，センター長・定家義人助教授が中心となり，助手・藤田昌也，技官・谷田勝教(放射線取扱主任者)，技官・原登美雄が協力して行ってきた．また，定家と藤田は，枯草菌の遺伝子発現制御に関する分子遺伝学的研究を行ってきた．ところが，センター長・定家は，埼玉大学の招聘を受け，平成11年4月同大学理学部分子生物学科教授として転出した．更に，助手・藤田昌也は，文部省海外派遣研究員として，平成11年6月より，アメリカ合衆国ハーバード大学に留学した．従って，本年は，一時的に教官不在の事態が招来したので，研究所は，分子遺伝研究系・研究主幹・石浜 明に，当センターのセンター長の兼任を指示した．アイソトープ施設は，今年も所内の研究需要に応じて正常に管理運営された．

定家助教授を中心として実施された，枯草菌のゲノム機能解析と遺伝子発現制御機構に関する研究の本年の成果を以下に要約した．なお，センター長・石浜 明は，分子遺伝研究部門での研究を統括すると共に，当センターでは，技官・谷田勝教と，大腸菌転

写因子の RNA ポリメラーゼ上の接点を同定することを目標に、各種転写因子の精製を行った。

(1) 枯草菌ゲノム *phoB/cotA* 領域の転写地図：定家義人¹，谷田勝教，大島英之(放射線アイソトープセンター，¹現：埼玉大学理学部)

枯草菌ゲノム *phoB/cotA* 領域 70kb にある機能未知遺伝子の機能解析の一環として、蛍光 RNA プロブを用いて、この領域にその存在が予測された各推定遺伝子の転写産物 RNA をノーザン法で検出する試みを行った。菌の生育は最小培地と孢子形成培地で行った。得られた結果をまとめて転写地図を作成した。なお、研究成果は、イタリア・バベローで開かれた *Bacillus* 会議で報告した。

(2) RNA ポリメラーゼの逐次的活性化による枯草菌孢子形成の制御：藤田昌也(放射線アイソトープセンター，現：Harvard Univ., Cambridge, USA)

枯草菌は生育環境の栄養源が枯渇すると、孢子を形成する。孢子形成過程には 100 個以上の遺伝子が関与し、これらの遺伝子は 5 種類のシグマ因子を含む RNA ポリメラーゼによって逐次的に転写制御されている。細胞内のシグマ因子と RNA ポリメラーゼを定量した結果、RNA ポリメラーゼコア酵素はシグマ因子に比べ過剰量存在していることが明らかになった。また、シグマ因子のコア酵素に対する親和性を測定した。これらの結果より、RNA ポリメラーゼの機能変換はシグマ因子の交換反応だけではなく、それ以外の調節機構の存在が示唆された。

研究業績

(1) 原著論文

1. Aramaki, H. and Fujita, M.: *In vitro* transcription analysis of *rpoD* in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *FEMS Microbiol Lett.* **180**, 311-316 (1999).
2. Aramaki, H., Sagara, Y. and Fujita, M.: 1999. *In vitro* transcriptional analysis of the cytochrome P-450cam hydroxylase operon. *Biol Pharm Bull.* **22**, 1110-1112 (1999).
3. Aramaki, H., Sagara, Y. and Fujita, M.: 1999. Cloning and sequencing of *rpoH* and identification of *ftsE-ftsX* in *Pseudomonas putida* PpG1. *DNA Res.* **31**, 241-245 (1999).
4. Fujita, M.: Identification of new σ^k -dependent promoters using an *in vitro* transcription system derived from *Bacillus subtilis*. *Gene* **237**, 45-52 (1999).

(2) 発表講演

1. 荒牧弘範，藤田昌也¹(第一薬大・分子生命，¹遺伝研・RIセンター)：温度センサーとして機能する緑膿菌シグマ 70 の解析。日本農芸化学会 1999 年度大会，1999 年 4 月，福岡。

2. 池上昭彦^{1,2}, 仲宗根薫¹, 藤井真介¹, 藤田昌也³, 加藤千明¹, 宇佐美論², 掘越弘毅^{1,2}(¹海洋科技セ・深海環境, ²東洋大・工, ³遺伝研・RIセ): 深海由来好圧好冷細菌 *Shewanella violacea* strain DSS12の圧力応答オペロンに作用する因子の解析. 日本分子生物学会, 1999年12月, 福岡.
3. 織田雅直¹, 小林宣裕², 藤田昌也³, 定家義人³, 久留主泰朗²(¹工技院・生命工技研, ²茨城大・農, ³遺伝研・RIセ): 枯草菌ヒスチジン資化オペロンにおける HutP 結合領域と HutP 蛋白質の RNA 結合領域の解析. 日本分子生物学会, 1999年12月, 福岡.
4. 熊野みゆき, 中村幸治, 藤田昌也¹, 定家義人¹, 山根国男(筑波大生物科学, ¹遺伝研 RI センター): 枯草菌リンコマイシン耐性遺伝子オペロン ImrAB の発現機構の解析. 日本農芸化学会 1999 年度大会, 1999年4月, 福岡.
5. 藤田昌也・定家義人(遺伝研・RI センター): RNA ポリメラーゼの逐次的活性化による枯草菌孢子形成の制御. 日本農芸化学会 1999 年度大会, 1999年4月, 福岡.

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や野生イネを中心とした植物実験系統の維持管理を行っている。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。野々村と永口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んでいる。

主に野生イネ種子について約 173 系統の更新増殖と 115 系統の配布を宮林技官が行った。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。

事業、研究はすべて植物遺伝研究室との共同研究であり、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) 原著論文

1. Nonomura, K.I. and Kurata, N.: Organization of 1.9-kb repeat unit RCE1 in the centromeric region of rice chromosomes. *Mol. Gen. Genet.* **261**: 1-10, 1999.
2. Ito, Y., Eiguchi, M. and Kurata, N.: Expression of novel homeobox genes in early embryogenesis in rice. *Biochim. Biophys. Acta* **1444**: 445-450, 1999.

3. Ashikawa, I., Kurata, N., Saji, S., Umehara, Y. and Sasaki, T.: Application of restriction fingerprinting with a rice microsatellite sequence to assembling rice YAC clones. *Genome* 42: 330-337, (1999).
4. Sentoku, N., Sato, Y., Kurata, N., Ito, Y., Kitano, H. and Matsuoka, M.: Regional expression of the rice *KN1*-type homeobox gene family during embryo, shoot and flower development. *The Plant Cell* 11: 1651-1664, (1999).

(2) その他

1. Miyoshi, K. and Kurata, N.: Cloning of two cDNAs encoding the HAP3 subunit protein from developing rice seeds. *Rice Genetics Newsletter* 15: in press (1999).
2. Ahn, B.O., Miyoshi, K., Itoh, J-I., Nagato, Y. and Kurata, N.: Mapping of a rice heterochronic gene, *Pla1*, regulating the plastochron and the duration of vegetative phase. *Rice Genetics Newsletter* 15: in press (1999).

(3) 発表講演

1. 倉田のり, 野々村賢一: 植物人工染色体 (Plant artificial chromosome: PAC) 構築の構想, 日本農芸化学会第43回シンポジウム, 福岡, 3月.
2. 野々村賢一, 近江戸伸子, 福井希一, 倉田のり, イネの動原体領域に由来するYACクローンの構造解析, 日本育種学会第95回講演会, 宇都宮, 4月.
3. 伊藤幸博, 倉田のり: イネのホメオボックス遺伝子の発現制御, 日本育種学会第96回講演会, 岡山, 10月.
4. 野々村賢一, 倉田のり: 整列化YACクローンを用いたイネ第5染色体の動原体領域の構造解析, 日本育種学会第96回講演会, 岡山, 10月.
5. 春島嘉章, 倉田のり: イネ日本晴/KasalathのF1と日本晴間の正逆交雑集団に見られる遺伝子型の分離比のゆがみについて, 日本育種学会第96回講演会, 岡山, 10月.
6. 岩本辰也, 洪 淳寛, 岩崎行玄, 服部東穂, 倉田のり, 長戸康郎, 松岡 信, 北野英己: 培養変異によるイネ胚発生突然変異体の特性解析, 日本育種学会第96回講演会, 岡山, 10月.
7. 伊藤幸博, 倉田のり: イネのホメオボックス遺伝子間の発現ネットワーク, 日本分子生物学会第22回講演会, 福岡, 12月.

V. 海外における活動

氏名	内容	渡航先	期間
菅原 秀明	欧米におけるBioinformatics(生命情報学)に関する動向調査	アメリカ合衆国	11. 1. 3～ 11. 1. 8
宮崎 智	欧米における生物学データベース構築と利用の実態について調査	アメリカ合衆国	11. 1. 4～ 11. 1. 10
池村 淑道	国際分子進化学会主催の国際シンポジウムにおいて研究発表	コスタリカ	11. 1. 9～ 11. 1. 19
舘野 義男	ISME Meetingにおいて遺伝情報分析に関する研究発表	コスタリカ	11. 1. 10～ 11. 1. 17
五條堀 孝	Universidad de San Jose・Costa Ricaにおいて、生物学データベースの構築と利用に関する調査研究	コスタリカ	11. 1. 10～ 11. 1. 17
齊藤 成也	中国漢民族の遺伝的多様性の研究	中国	11. 1. 18～ 11. 2. 1
菅原 秀明	「微生物情報資源情報システム」に関する日英打ち合わせ	連合王国	11. 1. 28～ 11. 1. 31
石濱 明	日豪科学協力事業共同研究の情報交換及び研究打ち合わせ	オーストラリア	11. 2. 10～ 11. 2. 16
小川 智子	Keystone Symposiaにて遺伝的組換えに関する研究発表及びCalifornia大学The Salk研究所にて研究交流	アメリカ合衆国	11. 2. 13～ 11. 2. 25
五條堀 孝	中国における生命情報データベースの協力の可能性を調査	中国	11. 2. 24～ 11. 2. 28
菅原 秀明	塩基配列データベースをはじめとする生物学データベースの構築と利用に関する研究	アメリカ合衆国	11. 2. 24～ 11. 2. 28

氏名	内容	渡航先	期間
舘野 義男	中国科学院細胞生物学研究所を訪問してDNAデータベースに関する調査研究	中 国	11. 2. 25～ 11. 2. 28
菅原 秀明	OECDメガサイエンスフォーラムニューロインフォマティクスWGに参加	ベルギー	11. 3. 3～ 11. 3. 7
石濱 明	第10回RNAポリメラーゼワークショップにおける研究発表及び「遺伝子発現ヒエラルキー」研究の現状調査	連 合 王 国	11. 3. 3～ 11. 3. 11
藤田 信之	第11回RNAポリメラーゼワークショップへの参加・発表	連 合 王 国	11. 3. 7～ 11. 3. 13
西村 昭子	シンポジウム“Bacterial Cell Cycle”で発表及びジャック・モノー研究所にて研究連絡	フ ラ ン ス	11. 3. 9～ 11. 3. 19
池尾 一穂	バーゼル大学において生命情報データベース作成のための調査研究	ス イ ス	11. 3. 10～ 11. 3. 23
小林 薫	フロリダ大学にて研究打ち合わせ	アメリカ合衆国	11. 3. 14～ 11. 3. 20
永井 宏樹	各種細菌のシグマ因子に関する研究打ち合わせ及び情報収集	アメリカ合衆国	11. 3. 14～ 11. 3. 20
齊藤 成也	中国における生命情報データベースをはじめとする生物学データベースの構築と利用に関する研究	中 国	11. 3. 17～ 11. 3. 20
上田 均	昆虫の変態期における組織、特に脳の再構築のメカニズムに関する調査研究	アメリカ合衆国	11. 3. 23～ 11. 3. 29
林 茂生	第40回ショウジョウバエ学会年会において研究発表	アメリカ合衆国	11. 3. 24～ 11. 3. 30
広海 健	第40回ショウジョウバエ学会年会に参加	アメリカ合衆国	11. 3. 24～ 11. 3. 30

氏名	内容	渡航先	期間
岡部 正隆	第40回ショウジョウバエ学会年會に参加・発表	アメリカ合衆国	11. 3. 24～ 11. 3. 30
小原 雄治	The 2nd HUGO Pacific Meeting及びHGM'99 に出席・発表	インドネシア オーストラリア	11. 3. 24～ 11. 3. 31
細谷 俊彦	Annual Drosophila Research Conference 出席及びハーバード大学, ニューヨーク大 学において研究連絡	アメリカ合衆国	11. 3. 24～ 11. 4. 2
舘野 義男	韓国国立衛生研究所における第7回国際シ ンポジウムに出席	韓 国	11. 3. 26～ 11. 3. 28
官崎 智	塩基配列データベースをはじめとする生物 学データベースの構築ソフトウェアについ ての調査研究	アメリカ合衆国	11. 3. 26～ 11. 3. 28
永井 宏樹	ジオネラ菌の感染初期課程に関する研究	アメリカ合衆国	11. 4. 2～ 11. 9. 30
城石 俊彦	突然変異マウス作製法についての情報収集 とマウスゲノム解析についての情報交換	連 合 王 国 ド イ ツ	11. 4. 14～ 11. 4. 21
石濱 明	分子生物学分野における日本と台湾の共同 研究推進に関する調査	台 湾	11. 4. 25～ 11. 4. 29
五條堀 孝	魚類の系統進化に関する研究打ち合わせ	アメリカ合衆国	11. 4. 26～ 11. 4. 30
岸 努	ユビキチン系による細胞周期制御に関する 研究発表	アメリカ合衆国	11. 5. 5～ 11. 5. 11
五條堀 孝	The Annual Meeting of Korean Society of Molecular Biologyにおいて講演	韓 国	11. 5. 6～ 11. 5. 7
五條堀 孝	Swiss Institute of Bioinformaticsにお いてデータベース構築に関する情報交換	ス イ ス	11. 5. 16～ 11. 5. 20

氏名	内容	渡航先	期間
菅原 秀明	OECD Working Party for Biotechnologyに参加	フランス	11. 5.16～ 11. 5.21
藤山秋佐夫	ゲノムシーケンス・バイオロジー会議に出席・研究発表	アメリカ合衆国	11. 5.19～ 11. 5.24
小林 薫	在外研究員としてデータベースの解析を主とした分子進化学の研究	アメリカ合衆国	11. 5.23～ 12. 3.22
菅原 秀明	American Society for Microbiology General Meetingにおける微生物情報システムの発表及び調査	アメリカ合衆国	11. 5.30～ 11. 6. 5
桂 勲	第12回国際C. elegans学会へ出席・発表及び線虫C. elegansの神経機能の分子生物学解析に関する資料収集・情報交換	アメリカ合衆国	11. 6. 1～ 11. 6. 8
石原 健	第12回国際C. elegans学会へ出席・発表及び線虫C. elegansの神経機能の分子生物学解析に関する資料収集・情報交換	アメリカ合衆国	11. 6. 1～ 11. 6. 8
藤田 昌也	在外研究員としてハーバード大学において、枯草菌の孢子形成に関わる遺伝子発現制御の研究	アメリカ合衆国	11. 6. 1～ 12. 3.31
五條堀 孝	SZN Meetingにおいて生命情報データベース構築に関する情報交換及び生命情報データベースの利用に関する研究調査	イタリア	11. 6. 2～ 11. 6. 6
小原 雄治	国際線虫研究集会に出席し「線虫全発生過程の遺伝子発現プログラム」に関する研究発表	アメリカ合衆国	11. 6. 2～ 11. 6. 7
武田 洋幸	国際学会 AQUARAMA' 99 に出席・発表	シンガポール	11. 6. 2～ 11. 6. 7
嶋本 伸雄	インド科学研究所におけるシンポジウムにて研究成果発表及び研究打ち合わせ	インド	11. 6. 5～ 11. 6.11

氏名	内容	渡航先	期間
藤山秋佐夫	ダウン症・21番染色体国際会議に出席・研究発表及び意見交換	連 合 王 国	11. 6. 5～ 11. 6. 13
石濱 明	日印共同研究実施及び国際会議「転写制御と核酸-蛋白質相互作用」に出席・発表・研究交流	イ ン ド	11. 6. 5～ 11. 6. 13
五條堀 孝	Symposium on Genome Diversity and Evolutionにて講演及び生命情報データベースの利用に関する研究調査	アメリカ合衆国	11. 6. 11～ 11. 6. 16
齊藤 成也	国際研究集会に出席・発表及び研究打ち合わせ	アメリカ合衆国	11. 6. 11～ 11. 6. 23
武田 洋幸	国際会議EDBC-99に出席・発表及び意見交換	ノ ル ウ ェ ー	11. 6. 18～ 11. 6. 25
藤山秋佐夫	ワシントン大学においてゲノムシーケンシングに関する技術研修及び研究打ち合わせ	アメリカ合衆国	11. 6. 28～ 11. 6. 30
城石 俊彦	Mouse Initiatives: Advanced Functional Genomics に出席し、マウスゲノムプロジェクトの情報収集及び研究連絡	アメリカ合衆国	11. 6. 29～ 11. 7. 6
藤田 信之	第4回国際エンゲルハルト国際分子生物会議に出席・研究発表	ロ シ ア	11. 7. 3～ 11. 7. 12
嶋本 伸雄	FASEB 会議における研究成果発表及び研究打ち合わせ	アメリカ合衆国	11. 7. 3～ 11. 7. 13
石濱 明	FASEB 会議及びアメリカウイルス学会年会において講演・研究交流	アメリカ合衆国	11. 7. 3～ 11. 7. 14
齊藤 成也	中国出土古人骨のDNA分析に関する研究打ち合わせ	中 国	11. 7. 5～ 11. 7. 8
齊藤 成也	集団遺伝学よりみた日本人と韓国人の比較の研究	韓 国	11. 7. 17～ 11. 7. 19

氏名	内容	渡航先	期間
細谷 俊彦	GDPを用いたショウジョウバエの神経活動測定系についてHarvard大学Salve Regina大学にて研究連絡	アメリカ合衆国	11. 7. 18～ 11. 7. 26
西川 建	Baylor医科大学にてピロリ菌のゲノム情報解析について研究打ち合わせ及び第13回タンパク質学会シンポジウムにて発表	アメリカ合衆国	11. 7. 24～ 11. 7. 31
天前 豊明	哺乳動物の染色体DNAメチル化酵素に関わる制御因子の解析	イスラエル	11. 7. 27～
舘野 義男	ワシントン大学にてヒトゲノムデータの調査研究及びマイクロアレイ会議にて意見交換	アメリカ合衆国	11. 7. 29～ 11. 8. 5
山尾 文明	FASEB夏季研究集会(ユビキチンと細胞内蛋白分解)に出席・研究発表及び討議	アメリカ合衆国	11. 7. 30～ 11. 8. 7
池尾 一穂	IBC's 4th Annual Microfabrication and Microfluidic Technologiesに参加,分子進化学に関する情報交換・情報収集	アメリカ合衆国	11. 8. 1～ 11. 8. 5
宮崎 智	ドイツにおける生命情報データベースの構築と利用に関する調査研究	ドイツ	11. 8. 3～ 11. 8. 11
石濱 明	細菌分子遺伝学研究会議出席及び遺伝子発現ヒエラルキー共同研究打ち合わせ	アメリカ合衆国 連 合 王 国	11. 8. 3～ 11. 8. 14
小川 智子	FASEB国際会議に出席し, 遺伝情報創出の仕組みとその制御に関する研究発表及びカリフォルニア大学・NIHにおいて研究交流	アメリカ合衆国	11. 8. 4～ 11. 8. 16
太田 力	FASEB国際会議に出席し, 遺伝情報創出の仕組みとその制御に関する研究発表	アメリカ合衆国	11. 8. 6～ 11. 8. 14
五條堀 孝	Crete Meetingと7th Congress of the European Society for Evolutionary Biologyにおいて生命情報学に関する講演及び情報交換	ギリシャ ス ペ イ ン	11. 8. 13～ 11. 8. 29

氏名	内容	渡航先	期間
菅原 秀明	IUMSにて講演及び微生物学分野における生命情報データベースの利用に関する調査	オーストラリア	11. 8. 15～ 11. 8. 20
倉田 のり	「ジーンバンクと比較遺伝学」に関する国際ワークショップに参加・討議・提言作成	オランダ	11. 8. 21～ 11. 8. 28
池尾 一穂	7th Congress of the European Society for Evolutionary Biologyに参加・情報交換及びバーゼル大学にてデータベース作成の調査	スペイン スイス	11. 8. 22～ 11. 8. 31
今西 規	ワシントン大学にて遺伝子とゲノム構成の進化に関する研究	アメリカ合衆国	11. 8. 23～ 11. 11. 17
多田 高	INTERNATIONAL GENOMIC IMPRINTING Meeting 参加およびケンブリッジ大学にて研究連絡	アイルランド 連合王国	11. 8. 23～ 11. 8. 31
菅原 秀明	OECD/CSTP WPB 生物資源機関タクスフォーラム第1回会合に参加	フランス	11. 8. 29～ 11. 9. 2
藤山秋佐夫	大規模・高速ヒトゲノム構造解析並びに情報処理に関する研修	連合王国	11. 8. 31～ 11. 9. 4
広瀬 進	第6回真核生物の転写機構会議に出席・発表	アメリカ合衆国	11. 9. 1～ 11. 9. 6
藤山秋佐夫	Gene Medicine:Using the Map シンポジウムにパネリストとして参加	アメリカ合衆国	11. 9. 13～ 11. 9. 16
荒木 弘之	「真核生物DNA複製」の学会に出席・発表	アメリカ合衆国	11. 9. 14～ 11. 9. 21
上村陽一郎	「真核生物DNA複製」の学会に出席・発表	アメリカ合衆国	11. 9. 14～ 11. 9. 21
嶋本 伸雄	国際生物物理学会における招待講演及びインド科学研究所細胞分子生物学センターにて研究打ち合わせ	インド	11. 9. 14～ 11. 9. 29

氏名	内容	渡航先	期間
清水 裕	ヒドラ細胞外マトリックスの欠失、再合成が細胞構造、細胞活動に影響する機構に関する学会発表及び研究打ち合わせ	ドイツ	11. 9. 14～ 11. 9. 30
服田 昌之	ヒドラの発生を制御するペプチドに関する学会発表	ドイツ	11. 9. 15～ 11. 9. 25
藤澤 敏孝	新しい脳ペプチド分離に関する学会発表及び研究打ち合わせ	ドイツ	11. 9. 15～ 11. 9. 30
菅原 秀明	微生物資源の系統保存の実態とネットワークの現状調査	アメリカ合衆国	11. 9. 22～ 11. 9. 27
広海 健	Drosophila Neurobiology Meetingに参加及びPrinceton大学Illinois大学にて研究打ち合わせ	アメリカ合衆国	11. 10. 6～ 11. 10. 15
舘野 義男	10th International Congress on Genes, Gene Families and Isozymesにて講演とともに、中国における生命情報データベースの利用に関する研究調査	中国	11. 10. 8～ 11. 10. 11
小原 雄治	The 6th IUBMB Seoul Conferenceに出席・発表	韓国	11. 10. 12～ 11. 10. 14
武田 洋幸	日欧科学協力事業セミナーに参加	ハンガリー	11. 10. 12～ 11. 10. 18
舘野 義男	DNA データベース事業についての協力関係について打合せ及び生命情報の研究について打ち合せ	韓国	11. 10. 14～ 11. 10. 20
藤澤 敏孝	新しい脳ペプチド分離の新戦略に関する研究打ち合わせ及び神経科学会に出席・発表	アメリカ メキシコ	11. 10. 19～ 11. 11. 2
五條堀 孝	International Symposium on the Evolution of Vertebratesにて講演	スウェーデン	11. 10. 20～ 11. 10. 24

氏名	内容	渡航先	期間
石濱 明	アメリカ実験生物学会連合会(FASEB)研究会 議に出席	アメリカ合衆国	11.10.28～ 11.11. 3
小原 雄治	The 9th Transcribed Sequences Workshop on the Beyond the Identification of Transcribed Sequencesに出席・発表	アメリカ合衆国	11.10.28～ 11.11. 2
五條堀 孝	9th Annual Workshop Beyond the Identification of Transcribedにて講演 発表及びバイオ産業情報化事業調査への参 加, the 1999 Beckman Symposium 「Evolution」へ参加	アメリカ合衆国	11.10.29～ 11.11. 8
城石 俊彦	第13回国際マウスゲノム会議において研究 成果発表及びペンシルバニア州立大学にお いて研究連絡	アメリカ合衆国	11.10.30～ 11.11. 6
小出 剛	第13回国際マウスゲノム会議において研究 成果発表及びペンシルバニア州立大学にお いて研究連絡	アメリカ合衆国	11.10.30～ 11.11. 6
舘野 義男	EBIにて開催される「Microarray Gene Ex- pression Database Meeting」に出席・講演	連 合 王 国	11.11.13～ 11.11.17
菅原 秀明	EBIにて開催される「Microarray Gene Ex- pression Database Meeting」に出席	連 合 王 国	11.11.13～ 11.11.17
池尾 一穂	EBIにて開催される「Microarray Gene Ex- pression Database Meeting」に出席・情 報収集	連 合 王 国	11.11.13～ 11.11.17
今井 弘民	キバハリアリ類の種分化に関する分子細胞 遺伝学的研究	オーストラリア	11.11.23～ 11.12.22
舘野 義男	Yonsei医科大学で開催される国際生物医学 シンポジウムに出席・講演	韓 国	11.12. 2～ 11.12. 6

氏名	内容	渡航先	期間
五條堀 孝	魚類の系統進化に関する研究打ち合せ	アメリカ合衆国	11.12.3～ 11.12.5
藤山秋佐夫	Max Planck研究所において、研究交流及び共同研究	ドイツ	11.12.19～ 11.12.22

VI. ほかの機関における講義

氏名	機関名	期間	担当科目
山尾 文明	京都大学大学院 理学研究科	11. 4. 1 ~ 12. 3. 31	分子遺伝学特論
廣瀬 進	広島大学大学院 工学研究科	11. 4. 1 ~ 12. 3. 31	工業化学特別講義 XII
廣瀬 進	沼津工業高等専門学校	11. 6. 14 ~ 11. 6. 18	物質工学総論
武田 洋幸	山口大学大学院 理工学研究科	11. 4. 1 ~ 11. 9. 30	発生遺伝学特論
齊藤 成也	琉球大学	11. 4. 1 ~ 12. 3. 31	ヒトの科学と人間の 医学
齊藤 成也	東北大学大学院 理学研究科	11. 4. 1 ~ 12. 3. 31	生態進化生物学特選科目I 生態進化生物学特別講義I
佐々木 裕之	大阪大学大学院 理学研究科	11. 10. 1 ~ 12. 3. 31	哺乳類のゲノムインプ リンティングと胚発生
佐々木 裕之	お茶の水女子大学理学部	11. 10. 1 ~ 12. 3. 31	生物学特別講義 V
城石 俊彦	新潟大学大学院 自然科学研究科	11. 5. 1 ~ 12. 3. 31	生物圏科学特別講義 IV
城石 俊彦	東京大学理学部	11. 10. 1 ~ 12. 3. 31	動物学特別講義 II
林 茂生	お茶の水女子大学理学部	11. 2. 1 ~ 11. 3. 31	生物学特別講義 XI
小原 雄治	熊本大学医学部	11. 4. 9 ~ 12. 3. 31	大学院セミナー (系統発生学)
徳永 万喜洋	名古屋大学理学部	11. 4. 1 ~ 12. 3. 31	生物学各論 XIV
徳永 万喜洋	名古屋大学大学院 工学研究科	11. 4. 1 ~ 12. 3. 31	応用物理学特論 IV
徳永 万喜洋	茨城大学理学部	11. 4. 1 ~ 12. 3. 31	物性理論特論 I
徳永 万喜洋	東京工業大学 資源化学研究所	11. 1. 1 ~ 11. 3. 31	一分子技術で観る モーター分子機能
桂 勲	京都大学医学部	11. 4. 1 ~ 12. 3. 31	C 発生学・遺伝学
桂 勲	東京大学教養学部	11. 4. 1 ~ 11. 9. 30	基礎科学別講義 VII
桂 勲	東京大学大学院 総合文化研究科	11. 4. 1 ~ 12. 3. 31	生命環境科学 特別講義 I

氏名	機関名	期間	担当科目
桂 勲	千葉大学大学院 自然科学研究科	11. 10. 1～12. 3. 31	生命化学特別講義 II
白木原 康雄	北海道大学大学院 理学研究科	11. 6. 1～11. 7. 31	大学院特別講義 VII
五條堀 孝	京都大学理学部	11. 4. 1～12. 3. 31	特別講義「ゲノム・サイエンス」
五條堀 孝	東京医科歯科大学医学部	11. 4. 1～12. 3. 31	臨床遺伝学
五條堀 孝	九州大学医学部	11. 4. 1～12. 3. 31	生命基礎医学部群 (遺伝学)
五條堀 孝	東北大学大学院 理学研究科	11. 4. 1～12. 3. 31	分子細胞生物学特選科目II 分子細胞生物学特別講義II
五條堀 孝	お茶の水女子大学理学部	11. 11. 15～12. 3. 31	生物学特別講義 VI
舘野 義男	広島市立大学情報科学部	11. 4. 1～12. 3. 31	情報科学特別講義

VII. 共同研究事業

1. 共同研究 A

- (1) 大腸菌における2種の類似の特異性をもつRNAポリメラーゼ ($E\sigma^{70}$ と $E\sigma^{38}$) による転写調節機構の研究
田中 寛 (東京大学分子細胞生物学研究所)
- (2) 細菌の環境適応と遺伝子発現制御
倉田 亨 (近畿大学農学部)
- (3) インフルエンザウイルスのRNAポリメラーゼの構造と機能の研究
片平正人 (横浜国立大学工学部)
- (4) 細胞周期に伴うオルガネラ形成に関する研究
矢倉達夫 (関西学院大学理学部)
- (5) 遺伝的組換え過程監視システムの研究
小川英行 (岩手女子看護短期大学)
- (6) アリ類系統進化及び染色体進化の分子遺伝学的研究
山本雅敏 (京都工芸繊維大学繊維学部)
- (7) 染色体複製開始に関与するCdc45の出芽酵母, 分裂酵母, アフリカツメガエルにおける機能の比較解析
升方久夫 (大阪大学大学院理学研究科)
- (8) ショウジョウバエ神経発生過程における musashi 及び repo 遺伝子産物の機能解析
岡野栄之 (大阪大学医学部)
- (9) DNA から見たサンゴの系統分類
大森 信 (東京水産大学)
- (10) 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 (岡山大学理学部附属臨海実験所)
- (11) 腔腸動物ヒドラにおけるペプチド性シグナル分子の構造と機能
松島 治 (広島大学)
- (12) 初期卵割期の染色体DNA高速複製機構に関する研究
赤坂甲治 (広島大学理学部)
- (13) カイコの卵形成に関する突然変異遺伝子の形質発現と形態形成
河口 豊 (九州大学農学部生物資源環境科学研究科)
- (14) カイコ, Bombyxmori の概日時計, 光周性に関与する遺伝子のクローニング
竹田真木生 (神戸大学大学院自然科学研究科)

- (15) アミラーゼ重複遺伝子間の機能分化の解析
猪股伸幸 (九州大学理学部)
- (16) 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)
- (17) 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 (京都大学大学院理学研究科)
- (18) 古DNA分析に基づく人類集団の拡散と時代的変遷に関する解析
植田信太郎 (東京大学大学院理学系研究科)
- (19) 糖転移酵素遺伝子の進化
成松 久 (創価大学生命科学研究所)
- (20) 分子進化のほぼ中立モデルに関する理論的研究Ⅲ
館田英典 (九州大学理学部)
- (21) マウスにおける組換え機構の分子遺伝学的解析
米川博通 ((財) 東京都臨床医学総合研究所)
- (22) 遺伝子導入マウスを用いたインスリン依存型糖尿病 (IDDM) 発症の研究
前田正人 (社会保険三島病院)
- (23) マウス歯胚発育におけるホメオボックス遺伝子の役割について
朝田芳信 (日本大学松戸歯学部)
- (24) マウス肺腫瘍発生主要遺伝子Pas1の同定
宮下信泉 (香川医科大学医学部附属動物実験施設)
- (25) 多因子で制御される生体機構解明のためのスピードコンジェニックマウス系統の
開発
若菜茂晴 ((財) 実験動物中央研究所)
- (26) マウス血圧調節変異遺伝子の探索
杉山文博 (筑波大学基礎医学系)
- (27) 生殖細胞の発生と性分化に及ぼす内分泌攪乱化学物質の影響に関する研究
山崎聖美 (国立公衆衛生院栄養生化学部)
- (28) トランスポゾンRice Mutatorの転移機構の解明
石川隆二 (弘前大学農学生命科学部)
- (29) 改変型GFPを導入した形質転換イネの解析
丹羽康夫 (静岡県立大学)
- (30) 大腸菌の細胞分裂に関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)
- (31) 大腸菌の細胞複製におけるヒストン様蛋白質H-NSとStpAの役割の解析
加納康正 (京都薬科大学生命薬学研究所)

- (32) ムギ類の画像およびDNA データベース構築手法の開発
佐藤和広 (岡山大学資源生物科学研究所)
- (33) 「ヒト腸管由来の *Lactobacillus gasseri* JCM1031 株における 2 種のフォスフォーβ-ガラクトシダーゼの構造遺伝子からの分子系統解析」
齋藤忠夫 (東北大学大学院農学研究科)
- (34) タンパク質の核・細胞質間輸送の可視化
今本尚子 (大阪大学医学部)
- (35) 1 分子機能イメージング法の開発と細胞内情報伝達系への応用
岩根敦子 (大阪大学医学部)
- (36) RNA ポリメラーゼによる DNA 転写の 1 分子実時間イメージング
原田慶恵 (慶應義塾大学理工学部)
- (37) 酵素の機能に与える DNA の張力の効果とそのメカニズム
鷲津正夫 (京都大学大学院工学研究科)
- (38) 線虫 *C. elegans* の化学走性に関わる連合学習に必要な遺伝子の解析
飯野雄一 (東京大学遺伝子実験施設)
- (39) L-ドーパ耐性線虫変異株の分子遺伝学的解析
五嶋良郎 (横浜市立大学医学部)
- (40) クロマチン機能の制御に関する因子の線虫における機能解析
永田恭介 (東京工業大学生命理工学部)
- (41) B 細胞特異的受容体 (CD40) の細胞質領域の立体構造と細胞内シグナル伝達の分子機構
井上純一郎 (東京大学医科学研究所)
- (42) 生体膜に存在するタンパク質性超分子構造体の構造解析
山登一郎 (東京理科大学基礎工学部)
- (43) D-アミノアシラーゼ, D-グルタミン酸アシラーゼおよびD-アスパラギン酸アシラーゼの X 線結晶解析
森口充暲 (大分大学工学部)
- (44) 膠原病・リウマチ性疾患における責任遺伝子の解析
橋本博史 (順天堂大学膠原病内科)
- (45) 細胞受容体とリン酸化酵素の共進化の研究
中村正孝 (東京医科歯科大学)
- (46) 脊椎動物特異的な色素細胞の分化を保証する分子機構の系統解析 - 小眼球症遺伝子の系統解析と機能予測 -
山本博章 (東北大学大学院理学研究科)
- (47) C 型肝炎ウイルスの変異速度に及ぼすインターフェロンの影響
熊田博光 (虎の門病院消化器科)

- (48) 最適多重分岐探索方式による分子進化系統解析法の構築
田中 博 (東京医科歯科大学難治疾患研究所)
- (49) 複数ドメイン構造を持つ遺伝子群の分子進化と機能形成のメカニズム：データ解析と可視化画像解析による研究
高橋 敬 (島根医科大学)
- (50) 遺伝子塩基配列の生物種間の相違の解析
中島広志 (金沢大学医学部)
- (51) MHC-ペプチドの会合の特異性の研究
宇高恵子 (京都大学大学院理学研究科)
- (52) 量子分子動力学による光合成反応機構の研究
菊池浩人 (日本医科大学医学部)
- (53) 酵母の統合的分類同定システムの研究
中瀬 崇 (理化学研究所培養生物部)
- (54) 真核細胞におけるクロマチンレベルでの遺伝子発現制御
半田 宏 (東京工業大学)
- (55) 扁平上皮癌組織特異的転写因子の同定
濱田雄行 (愛媛大学医学部附属病院)
- (56) 合体して形成された遺伝子群の転写スルーの機構と制御系の進化
前田理久 (明治大学農学部)
- (57) 鳥類における性染色体の遺伝量補償機構に関する分子生物学的研究
松田洋一 (北海道大学理学部)
- (58) 大腸菌及び枯草菌における緊縮応答と細胞分裂
池原健二 (奈良女子大学理学部)
- (59) MAP キナーゼ類縁タンパク質キナーゼ MAK/MRK の *C. elegans* を用いた機能解析
宮田愛彦 (京都大学大学院生命科学研究科)
- (60) 核酸のコンホメーションと塩基配列との相関
菊池武司 (倉敷芸術科学大学産業科学技術学部)

2. 共同研究 B

- (1) 微生物の環境適応の分子機構
前田広人 (鹿児島大学水産学部)
- (2) ショウジョウバエ複眼発生における, 新規Pc-G 遺伝子, 401C の機能解析
松本耕三 (徳島大学医学部動物実験施設)
- (3) 遺伝情報発現における RNA helicaseA (RHA) の ATP ase/ヘリケース活性の意義-クロマチン構造変化因子としての RHA の可能性の追求-
中島利博 (筑波大学応用生物化学系)

- (4) 哺乳類ポリコーム群遺伝子産物による転写制御メカニズムの遺伝学的解析
古関明彦 (千葉大学大学院医学研究科)
- (5) マルチスパン型膜蛋白の膜への組み込み機構に関与する遺伝子の選択
中村辰之助 (千葉大学薬学部)
- (6) ショウジョウバエを用いたミジンコの *Antennapedia* 遺伝子産物の機能解析
志賀靖弘 (東京薬科大学生命科学部)
- (7) 固定化法を用いた結核菌のプロモーター検索
荒牧弘範 (第一薬科大学)

3. 研究会

- (1) ヒドラのペプチド性シグナル分子の大規模同定
小泉 修 (福岡女子大学人間環境学部) 12. 3. 24 ~ 12. 3. 25
- (2) 非B型DNAの生物学
大山 隆 (甲南大学理学部) 11. 10. 22 ~ 11. 10. 23
- (3) DNAメチル化に基づくゲノム機能のダイナミクス
佐々木裕之 (国立遺伝学研究所) 11. 11. 18 ~ 11. 11. 19
- (4) 遺伝的背景効果に基づいた多因子遺伝解析: マウス近郊系の遺伝的多様性とその利用
米川博通 ((財) 東京都臨床医学総合研究所) 11. 12. 9 ~ 11. 12. 10
- (5) 植物の細胞機能-イネの器官分化と環境応答の遺伝学
佐藤 光 (九州大学農学部) 11. 11. 29 ~ 11. 11. 30
- (6) 遺伝実験系統の保存と研究活用のネットワーク
笹隈哲夫 (横浜市立大学木原生物学研究所) 11. 6. 25, 11. 12. 20
- (7) 蛋白質立体構造の分類・予測・デザイン
西川 建 (国立遺伝学研究所) 11. 12. 6 ~ 11. 12. 7
- (8) ヒトゲノム多様性の生物学
五條堀孝 (国立遺伝学研究所) 12. 3. 23 ~ 12. 3. 24

4. 民間等との共同研究

体細胞からの個体発生におけるゲノム再プログラム化機構

中辻憲夫 (国立遺伝学研究所), 多田政子 (科学技術振興事業団)

大量DNAデータの分子進化的解析と遺伝子機能領域同定法の研究開発

五條堀孝, 館野義男 (国立遺伝学研究所), 川西祐一, 金井 理 (富士通株式会社)

産業上有益な微生物のゲノム情報解析システム

五條堀孝, 菅原秀明 (国立遺伝学研究所), 中澤真澄 (協和醗酵工業株式会社)

VIII. 生物遺伝資源・DNA 情報

(1) 生物遺伝資源委員会と資源センター小委員会

実験生物の多様な系統は生命科学の研究にとって不可欠のものである。さらに最近では、ゲノム研究など生物学の爆発的な発展によって、莫大な数の突然変異系統が体系的に作り出され、それをういた遺伝子機能の研究が世界的に進行している。このように増大する様々な生物系統の開発と解析、それらを保存して研究者の要望に応じて分譲する事業、そして増大する生物系統に関する情報を有効利用するためのデータバンク事業は、生命科学の基礎研究だけでなく、医学や農学などの応用分野でも極めて重要になってきた。

このような状況に対して、学術審議会学術情報資料分科会において報告「学術研究用生物遺伝資源の活用について」が出された(1996年6月)。この報告では「生物遺伝資源」を「遺伝子を基盤において取り扱う学術研究用の系統生物、学術研究の対象となる野生生物及びそれらの生物の細胞・DNAを包含する」と定義し、これらの広範かつ効果的な利用のためにその所在情報・特性情報のデータベース化とネットワークの整備を中心に提言したものである。このための体制作りの具体策の第1が、生物種毎の遺伝資源センターであった。主要な生物種毎に生物遺伝資源センターを整備し、各センターにおいては各生物系統の特性開発、維持保存、供給、データベースの構築の中心的な役割を果たすことが期待したものである。このため、各センターには当該生物遺伝資源に関する小委員会を設け、関連活動の推進、検討をはかることとした。第2に、それらの上部機構として生物遺伝資源委員会と系統情報データベース活動である。これは、わが国の生物遺伝資源の確保と活用に関して様々な学術的立場から総合的な検討・調整をすること、及び情報の総合的な収集発信の拠点作りを目的とするものである。

この報告などを受け、1997年度から、いくつかの大学において後述の資源センターが設置されてきた。国立遺伝学研究所においては遺伝実験生物保存センターを改組し、3つ生物種の資源センターの機能をもつ系統生物研究センターと生物遺伝資源委員会と系統情報データベースを運営する生物遺伝資源情報総合センターが設置された。

生物遺伝資源委員会はある意味では「遺伝資源事業」の国会であり、本来中央に置かれるべき性格のものといえる。これを国立遺伝学研究所で運営することになったため、性格がわかりづらくなった面があるが、別図に示すように、国立遺伝学研究所を管轄するものではなく、わが国の(特に)大学等における遺伝資源事業全体を検討・調整するものである。このためには遺伝資源事業の現状を把握し現場の声を反映することはもちろんであるが、一方で、バイオサイエンスにおける遺伝資源事業の位置づけなど大所高所からの将来計画策定が求められている。このような観点から、別表1に示すような様々な

生物種の資源センター責任者や今後資源センターを作ろうとする関連研究者さらには他省庁の関係者を結集するとともに、関係する学識経験者からなる幹事会(ステアリングコミティー)を設けて有機的な運営をはかることとした。通常の研究所委員会とは異なることもあり準備に手間取ったが、1999年6月に幹事会を開き、さらに同年10月に全体会議を開催し、規約(付録1)を決めると共に活動を開始した。今後は、委員会の目的でもある遺伝資源事業のあるべき方向の検討、新資源センター設立の支援、などの活動が予定されている。

遺伝資源小委員会は各資源センターにおかれるものであり、各資源センター自体は所属大学等の概算要求によって設置されるものである。したがって、その運営・規則は所属大学・研究所に依存するが、委員会の主務は当該生物種の系統保存事業が円滑かつ有効に進むよう情報交換や調査検討をおこなうことであり、このためセンター責任者と関連研究者で構成される。また、所在情報・特性情報のデータベース化も任務に含まれるが、これは後述のように生物遺伝資源情報総合センターの系統情報データベース事業の支援を受けて進められることが多い。別表2のように、これまでのところ、国立遺伝学研究所系統生物研究センターにマウス、イネ、大腸菌の資源センター及び小委員会が立ち上がっている。他大学では、オオムギ(岡山大学資源生物研究所)、ショウジョウバエ(京都工芸繊維大学)培養細胞(東北大学加齢医学研究所)、カイコ(九州大学遺伝子資源開発研究センター)について資源センターが設立されている。資源センターの設立には至っていないが、小委員会活動などセンター設立に向けた準備を進めている生物種としては、コムギ、メダカがある。

ゲノム研究や生物多様性・進化研究の発展に伴って、系統保存事業には新しい光が当てられようとしている。バイオサイエンスの大きな流れに対応すべく系統保存事業も、ダイナミックに変革していくことも重要である。各種センター・委員会活動がこれらの動きを加速し、よい方向に導くことが期待されている。

別図. 遺伝資源センター、委員会の関係組織図

別表1. 生物遺伝資源委員会委員名簿

別表2. すでに設立された小委員会組織一覧

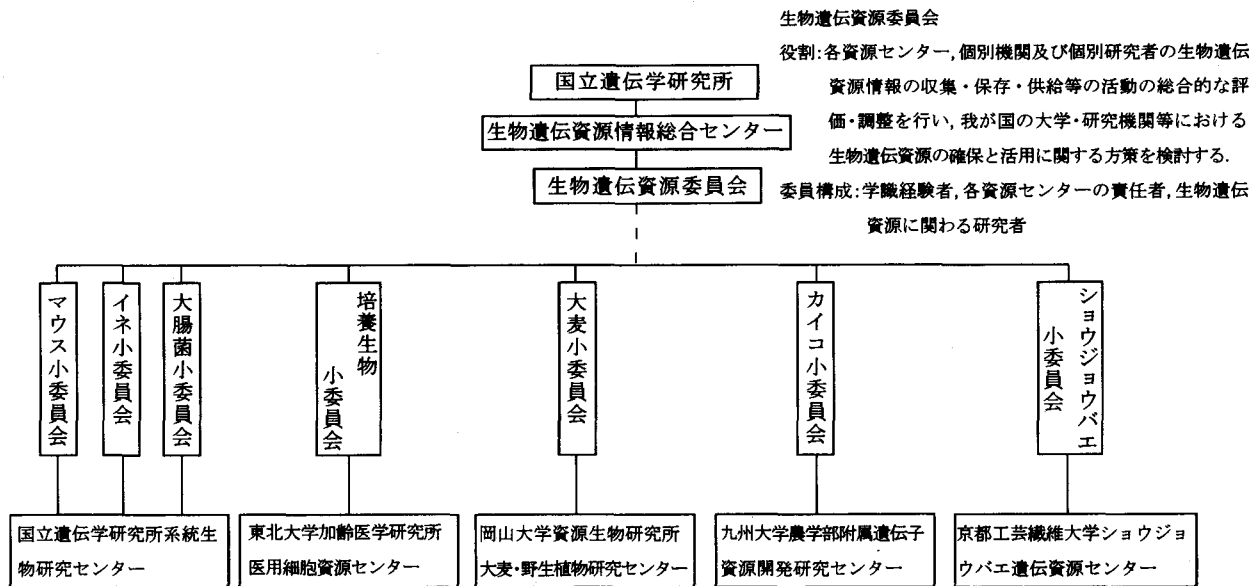
生物遺伝資源マウス小委員会委員名簿

生物遺伝資源大腸菌小委員会委員名簿

生物遺伝資源イネ小委員会委員名簿

参考資料. 生物遺伝資源委員会規則

別図 遺伝資源センター、委員会の関係組織図



生物遺伝資源・DNA情報

各小委員会

役割:当該生物遺伝資源に関する情報交換、維持系統事業の調整及び所在情報・特性情報データベースの検討等を行う。

委員構成:各資源センターの研究者及び関連のある研究者

別表1 生物遺伝資源委員会委員名簿

	氏名	所属	事業/生物種
幹事	岩槻邦男	立教大学理学部	植物系統保存
〃	岡田清孝	京都大学大学院理学研究科	シロイヌナシ
〃	勝木元也	東京大学医科学研究所	モザムウス
〃	堀寛	名古屋大学大学院理学研究科	メダカ
〃	山村研一	熊本大学医学部	マウス
〃	吉川寛	奈良先端科学技術大学院大学	微生物ゲム
〃	小原雄治	国立遺伝学研究所生物遺伝資源情報総合センター	線虫
〃	城石俊彦	国立遺伝学研究所系統生物研究センター	マウス
委員	松本耕三	徳島大学医学部動物実験施設	ラット
〃	吉里勝利	広島大学理学部両生類研究施設	両生類
〃	尾里健二郎	名古屋大学生物分子応答研究センター	メダカ
〃	武田洋幸	国立遺伝学研究所個体遺伝研究系	ゼブラフィッシュ
〃	佐藤矩行	京都大学大学院理学研究科	ホヤ
〃	藤井博	九州大学農学部遺伝資源開発研究センター	カイコ
〃	山本雅敏	京都工芸繊維大学ショウジョウバエ遺伝資源センター	ショウジョウバエ
〃	林茂生	国立遺伝学研究所系統生物研究センター	ショウジョウバエ
〃	藤澤敏孝	国立遺伝学研究所個体遺伝研究系	ヒドラ
〃	倉田のり	国立遺伝学研究所系統生物研究センター	イネ
〃	遠藤隆	京都大学大学院農学研究科	コムギ
〃	笹隈哲夫	横浜市立大学木原生物学研究所	コムギ
〃	武田和義	岡山大学資源生物科学研究所 大麦・野生植物資源研究センター	オオムギ
〃	後藤伸治	宮城教育大学教育学部	シロイヌナシ
〃	西尾剛	東北大学農学部	アブラナ

委員	谷口研至	広島大学理学部	キク
"	仁田坂英二	九州大学大学院理学研究科	アサガオ
"	仁藤伸昌	佐賀大学農学部	柑橘系植物
"	金子嘉信	大阪大学大学院工学研究科	出芽酵母
"	下田親	大阪市立大学理学部	分裂酵母
"	帯刀益夫	東北大学加齢医学研究所 医用細胞資源研究センター	培養細胞
"	森浩禎	奈良先端科学技術大学院大学 遺伝子教育センター	大腸菌
"	西村昭子	国立遺伝学研究所系統生物研究センター	大腸菌
"	小笠原直毅	奈良先端大学院大学 バイオサイエンス研究科	枯草菌
"	石濱明	国立遺伝学研究所分子遺伝研究系	ウイルス
"	菅原秀明	国立遺伝学研究所生命情報研究センター	微生物
"	山崎由紀子	国立遺伝学研究所生物遺伝資源情報総合 センター	データベース
"	水沢博	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変異遺伝部	厚生省細胞 バンク
"	大野忠夫	理化学研究所ライフサイエンス筑波研究センター 遺伝子基盤研究部門 細胞開発研究室	理研バンク
ワーカー バー	長村吉晃	農林水産省農業生物資源研究所 DNA 管理情報科長	農水省 DNA バンク
"	長峰司	農林水産省農業生物資源研究所 植物評価保存研究チーム	農水省 ジーンバンク
"	森脇和郎	総合研究大学院大学 副学長	マウス

別表2 すでに設立された小委員会組織一覧

生物遺伝資源マウス小委員会委員名簿

(所外 50音)

氏名	職名	所属
(所外)		
相澤 慎一	教授	熊本大学医学部附属遺伝発生医学研究施設
伊藤 豊志雄	センター長	(財)実験動物中央研究所 ICLAS モニタリングセンター
勝木 元也	教授	東京大学医科学研究所
木南 凌	教授	新潟大学医学部
日下部 守昭	部長	理化学研究所ライフサイエンス筑波研究センター実験動物室
近藤 壽人	教授	大阪大学細胞生体工学研究センター
芹沢 忠夫	教授	京都大学医学部附属動物実験施設
鍋島 陽一	教授	京都大学大学院医学研究科
西村 正彦	教授	名古屋大学医学部附属動物実験施設
野田 哲生	教授	東北大学大学院医学研究科
藤本 弘一	部門長	三菱化学生命科学研究所先端研究部門
松本 耕三	助教授	徳島大学医学部附属動物実験施設
森脇 和郎	副学長	総合研究大学院大学
山村 研一	教授	熊本大学医学部動物資源開発研究センター
米川 博通	部長	(財)東京都医学研究機構東京都臨床医学総合研究所
三輪 尚克	技術主幹	(財)ヒューマンサイエンス振興財団
(所内)		
城石 俊彦	センター長	系統生物研究センター
山崎 由紀子	助教授	生物遺伝資源情報総合センター

生物遺伝資源大腸菌小委員会委員名簿

(所外 50 音)

氏名	職名	所属
(所外)		
井口 八郎	教授	京都大学理学部
加藤 潤一	助教授	東京大学医科学研究所
平賀 壮太	教授	熊本大学大学院医学研究科
森 浩 禎	教授	奈良先端科学技術大学院大学遺伝子教育研究センター
山根 國男	教授	筑波大学生物科学系
由良 隆	所長	株式会社 HSP 研究所
(所内)		
西村 昭子	助教授	系統生物研究センター
荒木 弘之	教授	細胞遺伝研究系
菅原 秀明	教授	生命情報研究センター
山崎 由紀子	助手	生物遺伝資源情報総合センター

生物遺伝資源イネ小委員会委員名簿

(所外 50 音)

氏名	職名	所属
(所外)		
北野 英巳	助教授	名古屋大学農学部
佐藤 光	教授	九州大学農学部附属遺伝子資源開発研究センター
佐野 芳雄	教授	北海道大学農学部
島本 功	教授	奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科
谷坂 隆俊	助教授	京都大学農学部
長戸 康郎	教授	東京大学大学院農学生命科学研究科
松岡 信	教授	名古屋大学生物分子応答研究センター
吉村 淳	教授	九州大学大学院生物遺伝資源環境科学研究科
(所内)		
倉田 のり	助教授	系統生物研究センター
伊藤 幸博	助手	系統生物研究センター
山崎 由紀子	助教授	生物遺伝資源情報総合センター
野々村 賢一	助手	実験圃場
(オブザーバー)		
小原 雄治	教授	生物遺伝資源情報総合センター
長村 吉晃	部長	農林水産省農業生物資源研究所 DNA 管理情報課
長峰 司	チーム長	農林水産省農業生物資源研究所植物評価保存研究チーム

参考資料 生物遺伝資源委員会規則

平成11年10月12日

規則第3号

(設置)

第1条 国立遺伝学研究所生物遺伝資源情報総合センター(以下「情報総合センター」という。)に生物遺伝資源委員会(以下「委員会」という。)を置き、その運営はこの規則の定めるところによる。

(目的)

第2条 委員会は、学術審議会学術情報資料分科学術資料部会報告(平成8年6月20日)の趣旨を踏まえ、全国の生物遺伝資源センター(以下「資源センター」という。)等との連携・協力のもとに次の各号に掲げる事項を行う。

- 一 各資源センター、個別機関及び個別研究者の生物遺伝資源の収集・保存・供給等の総合的な評価・調整
- 二 我が国の大学・研究機関等における生物遺伝資源の確保と活用に関する方策の検討・提言
- 三 生物遺伝資源関連研究のあり方等に関する方策の検討・提言
- 四 新資源センター設立に関する検討・提言
- 五 その他生物遺伝資源情報に関する調査・検討等

(組織)

第3条 委員会は、次の各号に掲げる委員をもって組織する。

- 一 情報総合センター長
 - 二 情報総合センター教官 若干名
 - 三 学識経験者 若干名
 - 四 資源センター長
 - 五 生物遺伝資源に関わる研究者 若干名
- 2 前項第二号から第五号の委員は、委員会において選任し、所長が委嘱する。
- 3 前項の委員の任期は2年とし、再任を妨げない。
- ただし、委員に欠員を生じた場合の後任者の任期は前任者の残任期間とする。

(委員長及び副委員長)

第4条 委員会に、委員長及び副委員長各1人を置く。

- 2 委員長は情報総合センター長とする。
- 3 副委員長は委員が互選する。
- 4 副委員長は、委員長を補佐し、委員長に事故あるときはその職務を代理し、委員長が欠けたときはその職務を行う。

(招集)

第5条 委員長は委員会を招集し議長となる。

(会議)

第6条 委員会は、委員の過半数の出席がなければ、会議を開き、議決することができない。

2 委員会の議事は、出席者の過半数で決し、可否同数のときは委員長の決するところとする。

(委員以外の者の出席)

第7条 委員長は、必要に応じて、委員以外の者を会議に出席させ、意見を聴取することができる。

(幹事会)

第8条 委員会の円滑な運営のために幹事会を置く。

2 幹事会の組織運営については、委員会が別に定める。

(専門部会)

第9条 委員会は、必要に応じて専門部会を置くことができる。

2 専門部会の組織及び運営については、委員会が別に定める。

(庶務)

第10条 委員会の庶務は、管理部庶務課において処理する。

(細目)

第11条 この規則に定めるもののほか、必要な事項は委員会が別に定める。

附 則

1 この規則は、平成11年10月12日から施行する。

2 この規則施行後の最初の第3条第1項第二号から第五号の委員の任期は、同条第3項の規定にかかわらず平成13年3月31日までとする。

生物遺伝資源に関する小委員会規則(案)

平成 年 月 日
規 則 第 号

(設置)

第1条 国立遺伝学研究所系統生物研究センター(以下「センター」という。)に別表に掲げる生物遺伝資源に関する小委員会(以下「小委員会」という。)を置き、その運営はこの規則の定めるところによる。

第2条 各小委員会は、全国の関連研究機関及び研究者等との連携・協力のもとに次の各号に掲げる事項を行う。

- 一 当該生物遺伝資源に関する情報交換
- 二 当該生物遺伝資源に関する維持系統事業の調整及び所在情報・特性情報データベースの検討
- 三 その他当該生物遺伝資源に関する調査・検討等

(組織)

第3条 各小委員会は、次の各号に掲げる委員をもって組織する。

- 一 センター長又はセンターの教官 若干名
 - 二 所内の当該生物に関連のある教官 若干名
 - 三 所外の当該生物に関連のある研究者 若干名
- 2 前項の委員は、所長が委嘱する。
- 3 前項の委員の任期は2年とし、再任を妨げない。
ただし、委員に欠員を生じた場合の後任者の任期は前任者の残任期間とする。

(委員長及び副委員長)

- 第4条 各小委員会に、委員長及び副委員長各1人を置く。
- 2 委員長は、前条第1項第一号及び第二号の委員のうちから所長が指名する。
 - 3 副委員長は委員が互選する。
 - 4 副委員長は、委員長を補佐し、委員長に事故あるときはその職務代理し、委員長が欠けたときはその職務を行う。

(招集)

第5条 委員長は小委員会を招集し議長となる。

(会議)

第6条 小委員会は、委員の過半数の出席がなければ、会議を開き議決することができない。

2 小委員会の議事は、出席者の過半数で決し、可否同数のときは委員長の決するところとする。

(委員以外の者の出席)

第7条 委員長は、必要に応じて、委員以外の者を会議に出席させ、意見を聴取することができる。

(庶務)

第8条 小委員会の庶務は、管理部庶務課において処理する。

(細目)

第9条 この規則に定めるもののほか、必要な事項は所長が別に定める。

附 則

(1)この規則は、平成 年 月 日から施行する。

(2)この規則施行後の最初の第3条第1項第一号から第三号の委員の任期は、同条第3項の規定にかかわらず平成13年3月31日までとする。

別表

小委員会名	マウス小委員会
	イネ小委員会
	大腸菌小委員会

(2) 生物遺伝資源情報データベース

2-1: 経緯

当研究所は本年で50周年を迎えるが、開所当時から遺伝学を基礎とした系統開発やそれらの保存・分譲などを通して各方面での研究に貢献してきた歴史がある。特にムギ、イネ、カイコ、大腸菌、マウス、ショウジョウバエなどの分野では全国の中心的存在として認められ、現在なお系統生物研究センターを中心に基礎研究と密着した有用系統の開発と保存・分譲が行われている。一方、遺伝資源情報の整備に関する試みは1984年に始まる。この年遺伝実験生物保存センター(現系統生物研究センター)に遺伝資源研究室が増設され、以来系統情報の収集やカタログ整備の試みが行われるようになった。1989年には「保存系統情報のデータベース化率調査」のための研究事業費が措置された。この間遺伝研が出版したカタログのリストを表1にまとめた。さらに、ネットワーク通信が飛躍的に普及した1995年には、カタログ出版に代わって情報のインターネット公開を開始した。1997年には遺伝資源研究室が遺伝実験生物保存センターから独立し、新たに設置された生物遺伝資源総合情報センターとして全国規模の遺伝資源データベースの整備を進めることになった。

1998年には遺伝資源情報データベースプロジェクト事業費が措置されるに至り、生物遺伝資源委員会の設立(前述)とともに、本データベースプロジェクトは、ポストゲノムサイエンスを視野にいれて新たな事業展開を開始したところである。

表1 遺伝資源関連カタログ一覧

発行年	カタログ名	内 容
1985	国・公・私立大学等における実験生物系統	172機関 308487系統
1986	DROSOPHILA STOCK LIST IN JAPAN	122種 1250系統
1987	国公立大学・研究所等に維持されている実験用マウス系統	621種 1032系統
1988	わが国におけるカイコ実験系統	943系統
1990	国公立大学・研究所等に維持されている実験用ラット系統	実験系統 157種を含む 260亜系統
1993	Catalogue of Wheat Experimental Strains maintained in the universities and institutes in Japan	16機関 2547系統
1994	大腸菌遺伝系統	原核生物遺伝研究室から出版、 遺伝研保有株情報
1997	Rice Genetic Resources in Japan	33機関 11080系統
1997	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から出版、 遺伝研保有クローン情報

2-2：生物遺伝資源情報データベース活動内容

本データベースの果たすべき役割の第一は、研究用遺伝資源の共有と有効利用を実現するための情報公開である。遺伝研が保有する遺伝資源のデータベース化を行うほか、各生物種毎に設置される小委員会と連携し、情報収集、データベース構築および情報公開を全国規模で徹底するという責務を担っている。本年度は、大腸菌、イネ、マウス、オオムギの各遺伝資源小委員会およびコムギ遺伝資源小委員会準備会が発足し、委員会の議論を通して次世代型データベースの構築を開始し、一部公開することができた。データベースで扱う情報は、遺伝資源*の所在情報、入手方法、作製方法、利用方法、特性情報および付随する知識情報などである。表2に1999年12月現在のデータベース構築および情報公開状況をまとめた。本プロジェクトの成果としてのデータベースは、データベースサーバーSHIGEN(SHared Information of GENetics) <http://www.shigen.nig.ac.jp> からインターネット上に公開している。

*遺伝資源とは、保存、増殖、分譲可能な「もの」と定義し、たとえば様々な生物種の生物個体、凍結胚、種、菌株、細胞、DNAなどをいう

担当：山崎由紀子

連絡先：〒411-8540 静岡県三島市谷田1111

国立遺伝学研究所・生物遺伝資源総合情報センター・系統情報研究室

FAX:0559-81-6886

e-mail:shigen@lab.nig.ac.jp

<http://www.shigen.nig.ac.jp>

表2 生物遺伝資源情報データベースの現状

1999年12月現在

262

生物種名	データベース名	収録機関	収録 データ数	公開状況(URL)	作業 開始年	内容説明
DNAクローン	クローニングベクター	遺伝研	455	http://www.shigen.nig.ac.jp/cvector/cvector.html	1995	大腸菌K12で増殖可能なベクター情報、画像、配列データベースへのリンク
マウス	マウス系統情報データベース	遺伝研	276	http://www.shigen.nig.ac.jp/mouse/mouse.default.html	1995	飼育維持系統、凍結胚
マウス	MMDBJ(Mouse microsatellite DNA Database)	全国5機関	1125	http://www.shigen.nig.ac.jp/mouse/mouse.html	1997	マイクロサテライトDNAの系統間比較情報、実験条件、電気泳動パターンなど
動物	実験動物データベース	実験動物協会ほか	1633	http://www.shigen.nig.ac.jp/animal/animal1.html	1997	ウサギ、ラット、マウス他実験小動物維持系統
ショウジョウバエ	ショウジョウバエ系統情報データベース	全国26機関	3000	http://www.shigen.nig.ac.jp/fly/CENTER.e.html	1996	JFLY情報提供
ショウジョウバエ	ショウジョウバエエンハンサートラップ系統と発現パターンデータベース	遺伝研	2921	限定公開	1998	Gal4のエンハンサートラップベクター挿入系統、発現パターンイメージなど
コムギ	KOMUGI	全国16機関	15800	http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/wheat.htm	1996	系統情報、形質画像
コムギ	ムギDNAクローンデータベース	全国8機関	2726	限定公開	1997	ムギ類EST配列情報、解析情報など
オオムギ	オオムギ系統情報データベース	岡山大学	4250	http://www.shigen.nig.ac.jp/barley/Barley.html	1998	栽培特性情報など
イネ	Oryzabase	全国32機関	11080	http://www.shigen.nig.ac.jp/rice/oryzabase	1996	系統情報、遺伝子辞書、染色体地図ほか関連情報
シロイヌナズナ	アラビドプシス系統情報データベース	宮城教育大学	1126	http://www.shigen.nig.ac.jp/arabidopsis/	1998	AISコレクション、仙台コレクション
大腸菌	PEC (Profiling of E. coli Chromosome)		4683	http://www.shigen.nig.ac.jp/ecoli/pec/	1998	遺伝子分類情報、欠失株情報など
大腸菌	大腸菌系統情報データベース	遺伝研	2200	http://www.shigen.nig.ac.jp/ecoli/strain/	1999	系統特性情報

(3) 系統保存事業について

ゲノム科学を基礎とするバイオサイエンスの発展にともない、独自の進化の歴史をもつ多様な生物の生命機構を遺伝子を共通項として理解するために、遺伝資源は欠くことのできない研究素材であることが理解されるようになってきた。遺伝子の共通性によって、大腸菌からヒトに至るまで幅広い生物の生命現象が統一的に理解し得ることが明らかになってきたのである。このことは、ヒトの遺伝病の原因解明に、ショウジョウバエやマウスの知見が重要な情報を与え得ることを示している。一方、遺伝資源としての生物多様性は、それ自体として生物進化の道筋を正しく理解するためにも必須の研究素材となっている。このように、基礎生物学から臨床医学、農学にわたる広い研究分野において、多様な生物種からの遺伝資源は、バイオサイエンス全般を支える重要な研究基盤となっている。

系統生物研究センターは、このようなバイオサイエンスの進展を踏まえて、植物、原核生物、無脊椎動物、脊椎動物に至る多様な生物種の遺伝子資源の系統保存を進めている。これらの中には、標準的な菌株や近交系統、さまざまな突然変異株(系統)、染色体異常系統、さらには野生由来の系統などが含まれる。これらの系統は、国内外の研究者からの要望に応じて無償で分与を行っている。また、ポストシーケンス時代のゲノム科学の発展を予測して遺伝子改変技術を駆使した新たな遺伝実験系統の開発や野生集団中の遺伝子多様性を活用した実験生物系統の開発も開始している。

尚、系統生物研究センターで維持されている遺伝資源情報は、生物遺伝資源総合センターと密接な連携をとりながら情報の収集と公開を行っている。

3-1 クローニングベクター <http://www.shigen.nig.ac.jp/cvector/cvector.html>

収集および配布担当：安田成一

連絡先：〒411-8540 静岡県三島市谷田1111

国立遺伝学研究所・微生物遺伝研究部門

FAX:0559-81-6762

e-mail:cvector@lab.nig.ac.jp

480種の大腸菌クローニングベクターに関する情報を公開している。対象とするベクターは、大腸菌K12株で増殖でき、DNAとして安定に保存できるもので、微生物遺伝研究部門で通常おこなわれている研究技術での取扱と検定が行えるものに限定している。内訳は、汎用ベクター80種、発現ベクター120種、遺伝子融合ベクター60種、プロモータークローニングベクター20種、直接選択用ベクター20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など数種ずつである。

公開情報には、ベクターの名前、複製起点(ori)の由来、サイズ、ベクターが作られ

た本来の使用目的, 選択マーカー, プロモーター, 文献, ベクターの入手先, ベクターの遺伝子および物理地図, 配列データベースのアクセッション番号などの情報を付加している.

3-2 大腸菌 <http://www.shigen.nig.ac.jp/eco/strain/>

収集および配布担当: 西村昭子

連絡先: 〒411-8540 静岡県三島市谷田1111

国立遺伝学研究所・系統生物研究センター・原核生物遺伝研究室

FAX:0559-81-6826

e-mail:genkaku@lab.nig.ac.jp

1976年に微生物保存研究室として設置が認められて以来, 主として当研究所で開発された大腸菌変異系統及びそれらに感染するファージとプラスミドなどの維持保存分譲を行ってきた. 現在, 保有系統総数は約1万5千系統に及び, 既知変異系統の80%をカバーする. この内請求頻度の高い2200系統については, データバンクに登録しインターネット上に公開している. 分譲に関しては, イェール大学の大腸菌遺伝系統保存施設と相互協力を行っている(mary@fetalpig.biology.yale.edu).

- 1) 突然変異株(栄養要求性, 薬剤抵抗性, ファージ抵抗性, 放射線感受性など): 7000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, Tn10kan, Tn5で標識したもの): 473株

遺伝的背景の異なる株	203株
遺伝的背景が野生型の株	190株
Hfr株のkit	80株

- 3) クラーク・カーボンのpLCコレクション: 2000株

- 4) 広田の大腸菌温度感受性変異株のコレクション: 5000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3800株

このほか, 大腸菌のファージ(T_2 : T_3 , T_4 , T_4 GT7, T_5 , T_6 , T_7 , Plkc, Plvir, Mu, λ papa, λ vir, λ gt λ C, λ Cb2, λ cI₈₅₇S7, λ Tn5, λ Tn10, ϕ X174wild, X174am3, f1, MS2, Q β , その他)および枯草菌200株を保有している.

3-3 マウス <http://www.shigen.nig.ac.jp/mouse/mouse.dafault.html>

収集および配布担当：城石俊彦

連絡先：〒411-8540 静岡県三島市谷田1111

国立遺伝学研究所・系統生物研究センター・哺乳動物遺伝研究室

FAX:0559-81-6817

e-mail:tshiroids@lab.nig.ac.jp

国立遺伝学研究所におけるマウス系統保存は、昭和26年に北海道大学理学部よりラット及びマウス10系統が移されたことにより開始された。その後、国内調査、海外学術調査で採集した野生マウス、外国から輸入した標準的近交系マウス、コンジュニック系マウス、突然変異マウス、染色体組換え系マウス、遺伝子導入マウスが加わって規模が拡大してきた。これらの中で、野生マウスやそれらから由来した近交系マウス、さらには、野生由来系統を基に新たに開発した実験用マウス系統は、世界でも類を見ないユニークなマウス遺伝子資源となっている。昭和57年から、マウス受精卵による凍結保存を開始し、さらに精子凍結保存も加わって、これらの貴重な遺伝子資源の維持に努めている。

飼育維持系統(53 系統)

近交系マウス	22 系統
H2 コンジュニック系マウス	2 系統
野生ハツカネズミのH2染色体を導入したB10コンジュニック系	2 系統
その他の突然変異遺伝子を保有している系統	14 系統
野生ハツカネズミ由来の系統	13 系統

凍結胚保存系統(229 系統)

近交系	32 系統
H2 コンジュニック系	33 系統
B10 系	25 系統
A 系	3 系統
C3H 系	5 系統
野生ハツカネズミのH2染色体を導入したB10コンジュニック系	17 系統
B10. MOLH2 コンジュニック系由来のH2 染色体組換え系	45 系統
その他のコンジュニック系	20 系統
染色体変異をもつ系統	8 系統
突然変異遺伝子を保有している系統	34 系統

野生ハツカネズミ類

30 系統

トランスジェニック系統

10 系統

上記保存系統に関する情報はすべてインターネット上に公開している。

3-4 イネ <http://www.shigen.nig.ac.jp/rice/oryzabase>

増殖および配布担当：植物遺伝研究室・倉田のり

実験農場・野々村賢一

連絡先：〒411-8540 静岡県三島市谷田1111

国立遺伝学研究所・系統生物研究センター・植物遺伝研究室

FAX:0559-81-6808

e-mail:nkurata@lab.nig.ac.jp

e-mail:knonomur@lab.nig.ac.jp

遺伝研におけるイネ遺伝資源のコレクションは、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。特に遺伝研では、遠縁野生種、栽培型近縁野生種、および在来型栽培種を数十年にわたり、世界各地より収集し、保有してきた。

遺伝研を含む全国32カ所の文部省関連研究機関が保有している稲系統については、既にデータベース化(Oryzabase : <http://www.shigen.nig.ac.jp/rice/oryzabase>)し、インターネット上に情報公開を開始している。Oryzabaseには、コレクション系統情報のみならず、種々の突然変異や野生稲分布など、関連有用情報も含まれる。コレクション系統の内訳は以下の通りであり、括弧内は遺伝研の保有数を示す。

標識遺伝子系統	1494
突然変異系統	669
同質遺伝子系統	459 (36)
同質4倍体系統	52 (15)
一次3染色体系統	71
染色体変異系統	224 (20)
細胞質変異系統	48
細胞培養再生系統	161
栽培品種	6293 (3134)
野生種	1609 (1609)
Total	11080 (4814)

()内は遺伝研が保有する系統数

3-5 アサガオ <http://mg.biology.kyushu-u.ac.jp/>

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550系統を引き続き保存してきた。これらはアサガオ研究者のいる機関に移管することとなり、平成10年度から九州大学、理学部、仁田坂英二博士にすべての系統の保存を託した。なおアサガオの系統についての情報はアサガオホームページ <http://mg.biology.kyushu-u.ac.jp/> で得ることができ、遺伝研ホームページ遺伝資源情報データベースからもリンクされている。

3-6 サクラ <http://www.db.its.hiroshima-cu.ac.jp/~kitakami/prunus.html>

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250余りの系統が引き継がれている。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。しかし現在は、系統のほぼすべてが栄養体繁殖により多摩教育植物園に引き継がれており、系統保存事業としての栽培は終了している。

3-7 ショウジョウバエ <http://www.shigen.nig.ac.jp/fly/nighayashi.html>

収集および配布担当：林 茂生

連絡先：〒411-8540 静岡県三島市谷田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

FAX: 0559-81-6825

e-mail: shayashi@lab.nig.ac.jp

キイロショウジョウバエおよび近縁種。特にキイロショウジョウバエの突然変異系統、分子遺伝学的研究に適した有用系統に力をおいている。

キイロショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) 27種, 933系統

突然変異系統

各染色体をカバーする欠失系統のセット

X 染色体	57 系統
第二染色体	109 系統
第三染色体	82 系統
第四染色体	2 系統
その他の変異系統	約 600 系統

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。

野生型系統	
iso-female 系統	37 系統
標準系統その他	27 系統

オナジショウジョウバエ (*Drosophila simulans*) 287 系統

iso-female 系統	90 系統
標準系統その他	37 系統

他の近縁種 (25 種, 83 系統)

これらのストックリストは www で閲覧・検索可能である。なお所外の各研究機関および研究者 (26 箇所) が維持している系統 (約 3000 系統) に関する情報も SHIGEN サーバーから公開している。

公開リストには二つのファイル, mutant list および NIG wild list がある。

mutant list は *melanogaster* の標準的な系統と rearrangement mutant からなる。

各系統毎に、ストック番号 (N で始まる番号)、遺伝子型、breakpoint、その他の情報を収録してある。

NIG wild list (E) もしくは NIG wild list (J) は野生種のリストである。ストック番号 (W で始まる番号)、種名、採取地、整理番号、採取年度、その他の情報の 6 つの項目からなる。(J) は採取地に日本語を含むファイルであり、(E) は英語のみのファイルである。

3-8 ヒドラ <http://www.nig.ac.jp/labs/OntoGen/keitou.html>

収集および配布担当：服田昌之

連絡先：〒411-8540 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(ヒドラ研究グループ)

FAX:0559-81-6770

e-mail: mhatta@lab.nig.ac.jp

世界中から収集した種や系統に加えて遺伝的変異体等、様々な形質を有する約100系統を維持管理し、分譲を行っている。またDNA, RNA, cDNA library等や、場合によっては生化学材料として大量の提供も可能である。

淡水ヒドラ (Hydra)

野生型

	53 系統
<i>Hydra magnipapillata</i> (日本産チクビヒドラ)	14 系統
<i>H. carnea</i> (ヨーロッパ産)	2 系統
<i>H. circumcincta</i> (ヨーロッパ産)	2 系統
<i>H. hymanae</i> (北アメリカ産)	1 系統
<i>H. oligactis</i> (ヨーロッパ産)	8 系統
<i>H. oligactis</i> (北アメリカ産)	2 系統
<i>H. viridissima</i> (北アメリカ産)	8 系統
<i>H. vulgaris</i> (formerly <i>attenuata</i>) (ヨーロッパ産)	5 系統
(北アメリカ産)	3 系統
<i>Pelmatohydrarobusta</i> (日本産)	7 系統
種不明 (オーストラリア産)	1 系統

突然変異型 (*H. magnipapillata*)

36 系統

- 1) Mini(mini1,-3,-4). Small body size with high budding rate.
- 2) Maxi(maxi1,-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(def1-12, 1-13). Eggs not fertilized.
- 10) Embryo lethal(def1-14 (♂), 1-15 (♀)). Fertilized eggs produced between them do not hatch.
- 11) Regeneration deficient(reg-4, -16, -19, def-2 3, s9-k, s9-1, s10-a, s10-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(105Ep). Deficient in all the cell types in the interstitial cell lineage. Derived from a wild type strain 105.
- 18) Pseudo epithelial(nem1 Ps((♂)3 lines, nem1 Ps(♀)3 lines). Epithelial hydra derived from nem-1 containing only germ line cells.
- 19) Others 13 strains.

平成10・11年度 遺伝実験生物保存系統分譲実績

分譲機関	年度	マウス	カイコ	シヨウジョウウバエ	ヒドラ	イネ	大腸菌・枯草菌 その他微生物	クローニング ベクター	計
国立大学	10	35 (46)	2 (7)	46 (257)	4 (7)	17 (165)	133 (1,195)	49 (149)	286 (1,826)
	11	51 (86)		44 (1,802)	6 (3)	8 (52)	119 (565)	62 (176)	290 (2,684)
国立 研究機関	10	3 (3)	1 (7)	21 (49)		10 (59)	13 (14)	24 (83)	72 (215)
	11			7 (94)			5 (6)	31 (85)	43 (185)
公立大学	10	1 (1)		17 (168)	5 (8)			9 (33)	32 (210)
	11	2 (2)		9 (38)	4 (4)		2 (2)	12 (23)	29 (69)
公立 研究機関	10			6 (208)			1 (1)	10 (33)	17 (242)
	11	4 (34)		3 (10)			1 (2)		8 (46)
私立大学	10	11 (20)		3 (9)			33 (437)	18 (48)	65 (514)
	11	13 (16)		4 (10)	4 (3)		30 (514)	16 (50)	67 (593)
民間 研究機関	10	18 (35)		5 (19)	1 (1)	3 (11)	39 (47)		66 (113)
	11	23 (38)		2 (9)		2 (14)	26 (36)		53 (97)
高等学校等	10	3 (11)		5 (35)	2 (2)		1 (22)	1 (15)	12 (85)
	11	3 (6)		1 (3)	4 (7)				8 (16)
国外	10	2 (4)	3 (12)	24 (82)	3 (3)	2 (17)	45 (52)	100 (340)	179 (510)
	11			32 (97)	1 (1)	4 (37)	36 (72)	78 (269)	151 (476)
その他	10	2 (5)		1 (8)	1 (1)				4 (14)
	11			3 (5)		1 (14)			4 (19)
合計	10	75 (125)	6 (26)	128 (835)	16 (22)	32 (252)	265 (1,768)	211 (701)	733 (3,729)
	11	96 (182)		105 (2,068)	19 (18)	15 (117)	219 (1,197)	199 (603)	653 (4,185)

※ 数字は件数、()内は延べ系統数。

※ 枯草菌は研究者の異動に伴って系統保存事業の停止を行っているため、平成11年度より系統数から削除。

(4) 日本DNAデータバンク (DNA Data Bank of Japan, DDBJ) の活動

館野義男

1 国際DNAデータバンクとしてのDDBJ

国際DNAデータバンクは、現在、英国のケンブリッジ郊外のHinxtonにあるEuropean Bioinformatics Institute (EBI, 欧州生命情報学研究所), 米国東海岸のメリーランド州にあるNational Institutes of Health (国立保健研究機構) に所属するNational Center for Biotechnology Information (NCBI, 国立バイオテクノロジー情報センター), そして国立遺伝学研究所で活動している日本DNAデータバンク (DNA Data Bank of Japan, DDBJ) の3者で運営されている。3者のデータバンクはそれぞれ収集、査定したデータを広く公表するとともに、毎日データの相互交換をしている。つまり、3者が提供しているデータはそれぞれ基本的に同質同量である。収集データのデータベース化のための記述や査定の方法は、3者が共同で制作した共通マニュアルにもとづいて行われている。さらに、3者間の協力を一層友好的そして強固にするため、もしまわりで国際DNAデータバンク実務者会議と国際DNAデータバンク諮問委員会を開催している。前者はデータベースの実務上の具体的問題を解決するため毎年開かれ、後者は主にデータベース利用者側に立った助言勧告を行うため隔年開かれる。1999年4月には両会議とも遺伝研で開催された。

ところで、国際DNAデータバンクの発足は、今から20年前の欧州の活動まで遡る。欧州における分子生物学の発展を目指す目的で、14カ国のEC加盟国の出資のもと、ハイデルベルグに欧州分子生物学研究所 (European Molecular Biology Laboratory, EMBL) が設立されたのは4半世紀前のことである。そして、1980年“EMBL Workshop on Computing and DNA Sequences”という会議が開催され、欧州で自由に利用できるDNAデータバンクを設立することが提唱された。その結果、同年EMBLにEMBLデータライブラリーという組織が作られ、DNAデータバンク活動が世界に先駆けて開始された。そして、上記のように、1994年からEMBLの分所としてケンブリッジ郊外にEBIのデータライブラリーとして生まれ変わり、さらに活動を拡充している。

米国では、1982年、NIHの援助のもとにGenBankが、最初はニューメキシコ州のロスアラモスにあるLos Alamos National Laboratory (ロスアラモス国立研究所) に組織された。NIHはGenBankとの契約を5年毎に更改することとし、その契約では、1967年以降発表された50塩基以上の配列データを全て収集し、データベース化することとした。この契約を2回更新の後、1988年にNIHのNational Library of Medicine (国立医学図書館-MEDLINEの本拠地としても知られている) 内に新たに設立されたNCBIにその活動の拠点を移している。特記すべきは、NCBIは議会下院の決議によって設置されたことである。学者だけでなく、国としてもDNAデータの重要性を認識したことの表れであろう。事実、NCBIは国の大きな援助を受けて事業を拡大している。

わが国でのDNAデータバンク活動の萌芽は、1981年度からの文部省特定研究「遺伝情報システムの編集」(代表者: 小関治男京大教授(当時))と科学技術振興調整費「DNAの抽

出・解析・合成技術に関する研究(代表者:和田昭允東大教授(当時))の2つの研究プロジェクトにみる事ができよう。この頃から、わが国の生物学者の間でもDNAデータバンクの必要性が議論され、議論の度にその認識が高まっていっていった。この意味では、欧州や米国の生物学者に決して引けを取ってはいないといえる。事実、この頃大井龍夫京都大学教授(当時)は、試験的に論文からDNAデータを入力する作業を行なっている。そして、1983年、上記特定研究を母体として「DNAデータバンク運営委員会」(委員長:内田久雄東大教授(当時))が組織された。DNAデータバンク運営委員会では、わが国のDNAデータバンクをDNA Data Bank of Japan (DDBJ, 日本DNAデータバンク)と命名し、その恒久的設置場所として遺伝研を選定し、当研究所に打診した。このころ丁度遺伝研は、大学共同利用機関に改組される時期にあり、DDBJの研究事業が大学共同利用機関として果たすべき活動に合致していることから、これを受け入れた。その後、遺伝研におけるDDBJの活動は、EBIやNCBIとの国際共同関係を築きながら着実に業績を挙げてきている。

さて、GenBankの記録によると、1967年には世界でたった121塩基のデータしか発表されていなかった。ところが、2000年1月時点でのDDBJリリース(データバンクがその時点まで収集したデータを再編集して磁気テープなどの形で希望者に配布すること)によると、国際DNAデータバンクの提供している総塩基数は47億以上になっている。過去30年ほどの間に実に3,900万倍の増加となっている。国際DNAデータバンクでは、データは配列を単位(エントリー)として提供しているが、上記塩基数は約539万エントリーに相当する。

このようなデータ量の急速な増加の理由として少なくとも3つの事柄が挙げられる。1番目は、もちろんDNA配列決定法の確立である。2番目は、発現遺伝子の部分配列(Expressed Sequence Tag, EST)を大量に決定する技術の拡散、そして3番目は、ゲノムプロジェクトの台頭と急激な進展である。特に、ヒトゲノムを始めとするゲノムプロジェクトの世界的な展開は、データの増加にさらなる勢いをもたしている。

2 ゲノムデータ活動とDDBJにおけるゲノムデータ収集活動

1995年C. Venterのグループにより、2種の原核生物、*Haemophilus influenzae* (1)と*Mycoplasma genitalium*(2)の全ゲノムの塩基配列が決定されたが、これがゲノム完全配列決定の先駆となった。その後、1997年最初の真核生物の全ゲノムが出芽酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)で決定され、1998年には最初の多細胞生物の全ゲノムが線虫(*Caenorhabditis elegans*)について明らかになった。この間に、大腸菌(*Escherichia coli*)、結核菌(*Mycobacterium tuberculosis*)そして藍藻(*Synechocystis sp*)を含む22種の原核生物のゲノムの完全配列が次々と決定されている。藍藻ゲノムの完全配列は、1996年かずさDNA研究所が決定したが(3)、これが我が国で初めての記念すべき完全ゲノム配列の解説となった。

我が国のゲノムプロジェクト活動は、この他にも科学技術事業団のヒトゲノムプロジェクト、理化学研究所のヒト・マウスゲノムプロジェクト、農業生物資源研究所のイ

ネゲノムプロジェクト、かずさDNA研究所のアラビドプシスゲノムプロジェクトなどが挙げられる。特に、理化学研究所ゲノム科学センターの榎 佳之リーダーが率いるヒトゲノムプロジェクトは、主に21番染色体についての塩基配列を決定しつつある。また、慶応大学の清水信義教授らは第22番染色体の全配列決定に大きな貢献をした。DDBJは世界に向けてこれらのデータを公開している。最近の雑誌Natureなどでは、欧米の研究所が共同で2000年の春までにヒトゲノム全体の約90%を「ドラフト配列」として決定するという動きが報じられている。「ドラフト配列」の意味は、精度が千分の1程度ということで、普通の配列データに比べて精度が十分の一程度落ちることが骨子らしい。我が国でも相応の貢献すべく、活動に拍車がかけている。

これら種々のゲノムプロジェクト活動に呼応すべく、DDBJではゲノムデータを収集するソフトウェアの開発に取り組んできており、このほどその初版を公開した(4)。このソフトウェア開発の主眼は、データを登録する側が、自分たちが配列決定したデータをチェックしながら登録できるような仕組みを作ることにある。世界のゲノムデータの登録状況を見ると、データを産生した側が登録すべきデータの内容をチェックしてデータベース化しやすい形に編集してから登録しているケースが多い。DDBJが開発したデータ登録支援ツールを使ったゲノムデータ登録の概要は以下の通りである。

まず、ゲノムデータをDDBJに登録する前に、予めその旨DDBJへ連絡を頂くことをお願いしている(ゲノムデータを登録したい方はDDBJ, E-mail:ddb.j@ddb.j.nig.ac.jp, へご連絡ください)。この段階で、データ登録者とDDBJがデータ登録や公開について具体的な協議を行う。またこの段階で、DDBJからは、データ登録者になるべく入念なデータ内容のチェックを行っていただくようお願いしている。一度誤りを含んだデータを公開してしまうと、データ登録者とDDBJの双方に良くない影響をもたらしてしまう。世界の研究者がかたずを飲んで公開を待っているケースが多いので、とくに気を付ける必要があると思われる。

データ登録者とDDBJの協議が合意に達した段階で、データ登録者にはこの登録支援ツールを自分のパソコンまたはワークステーションにダウンロードしていただく。このツールはJAVAで書かれているので、ウインドウズ、マック、UNIXワークステーションのいずれでも稼働する。このツールを使うことによって、登録者は登録すべき複数の配列に共通な項目、個別の配列に固有の項目、そして配列そのものに分けてデータの編集を行うことができる。項目の編集用に、登録者が間違いやすい用語やその組み合わせの仕方がメニュー形式で実装されている。また、記述の誤りをチェックする機能(Parser)も備えているので、これらを活用することによって、比較的簡単に編集ならびにチェック作業を行うことができる。編集とチェックが完了したら、データをDDBJに送っていただく。DDBJでは独自の査定(annotation, アノテーション)をして、問題がなければアクセス番号を登録者に送り、直ぐ公開すべきデータなら直ちに公開作業に入る。また、公開を特定の日に指定した場合は、その日に公開作業に入るが、もしそのデータを報告する論文が出版されたことが分かったら、その段階で公開作業に入る。この公開

原則はDDBJ独自のものではなく、国際DNAデータバンクに共通の原則である。

これらの活動の結果、DDBJへ登録されるデータ量が急上昇し、1999年3月時点で、DDBJが活動を開始してから初めて欧州のEMBLデータライブラリーの登録データ量を上回った。もちろん、ゲノムデータ以外のデータ収集活動も着実に実績を伸ばしてきていることも明記しておきたい。図1に、1993年から2000年1月時点までの3者のデータバンクのそれぞれのデータ収集件(エントリー)数の増加過程を表した。この図の示すように、DNA情報の収集と提供に関する限り、我が国の世界への貢献度はかなりの勢いで向上しているといえる。

3 DDBJでのゲノムデータ提供活動

DDBJではFASTA, BLAST, Getentry, SRSなどの検索ツールや、タンパク質高次構造予測ツールそして分子進化解析ツールなどを提供している(<http://www.ddbj.nig.ac.jp/searches-e.html>を参照)が、ここではその1つであるゲノムデータ検索ツールを紹介する。

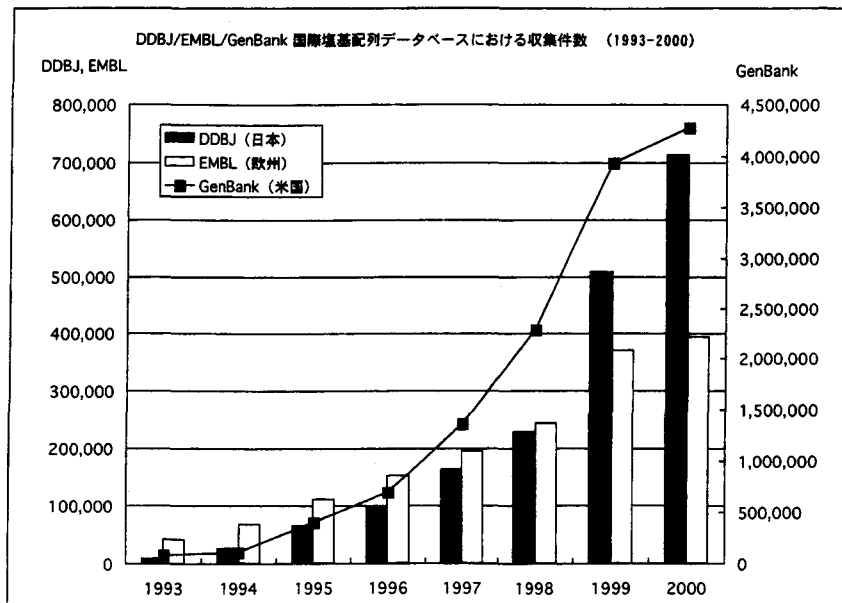
上にも述べたように、多くの生物種について完全ゲノム配列が決定され公開されているが、これらのデータをもっと利用しやすい形で提供するため、DDBJでは独自の利用ソフトウェア(Genome Information Broker, GIB)を開発し公開した。このソフトウェアはDDBJのWeb(<http://mol.genes.nig.ac.jp/gib/>)上で利用できるが、その最初のページを図2に示す。現在はこの図にも載せてあるように、真核生物1種(出芽酵母)と22種の原核生物の全ゲノムが利用できるが、他のデータも公開された時点で取り込むことにしている。

GIBを利用することにより、ある特定の生物種ならびに全生物種について、キーワード検索や配列の相同性検索を行うことができる。たとえば、特定の酵素遺伝子が何種の生物種のゲノムに存在するか、その各々のゲノム上の位置はどこか、その位置付近には他にどのような遺伝子が存在するか、その遺伝子の生物種ごとの塩基配列はどうか、またそのアミノ酸配列は、などという質問にはたちどころに答えを得ることができる。その他の利用法が種々あると思うが、特にゲノム構造の進化的研究の一助ともなる。(この報告は、筆者らが雑誌「遺伝」1999年8月号に発表した報告を改変したものである。)

引用文献

1. Fleischmann, R.D. *et al.*: Whole-genome random sequencing and assembly of *Haemophilus influenzae* Rd. *Science*, **269**, 496-512 (1995).
2. Fraser, C.M. *et al.*: The minimal gene complement of *Mycoplasma genitalium*. *Science*, **270**, 397-403 (1995).
3. Kaneko, T., Tabata, S., *et al.*: Sequence analysis of the genome of the unicellular cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC6803. II. Sequence determination of the entire genome and assignment of potential protein-coding regions. *DNA Res* **3**, 109-136 (1996).
4. Sugawara, H., Miyazaki, S., Gojobori, T. and Tateno, Y.: DNA Data Bank of Japan dealing with large-scale data submission. *Nucleic Acids Res* **27**, 25-28 (1999).
5. 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 Res* **26**, 16-20 (1998).

生物遺伝資源・DNA情報



☒ 2 Genome Information Broker for Microbial Genomes

HELP**Overview of views and operation of GIB**

*_ALL Genomes*search all genome at once

_Saccharomyces cerevisiae

*_Aquifex aeolicus**_Bacillus subtilis**_Borrelia burgdorferi**_Chlamydia pneumoniae**_Chlamydia trachomatis**_Deinococcus radiodurans* NEW*_Escherichia coli*(The Japan *Escherichia coli* genome project team)*_Escherichia coli*

(Laboratory of Genetics, University of Wisconsin)

*_Haemophilus influenzae**_Helicobacter pylori* 26695*_Helicobacter pylori* J99*_Mycobacterium tuberculosis**_Mycoplasma genitalium**_Mycoplasma pneumoniae**_Rickettsia prowazekii**_Synechocystis* PCC6803*_Thermotoga maritima**_Treponema pallidum*

*_Aeropyrum pernix**_Archaeoglobus fulgidus**_Methanobacterium thermoautotrophicum**_Methanococcus jannaschii**_Pyrococcus abyssi**_Pyrococcus horikoshii*

IX. 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10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2,700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11年10月30日(土)13:30～16:00
場 所	国立科学博物館講堂(台東区上野公園内)
共 催	国立科学博物館
後 援	遺伝学普及会
講 演	

脳の神経回路はどのようにしてできるのか

総合遺伝研究系 助教授

医学博士 平田 たつみ

【要旨】

私たちの行動や感情は脳の中にある膨大な数の神経細胞がつくるネットワークから生まれてきます。脳の機能が正常に営まれるためには、神経細胞が適切な細胞と結合して正確な回路をつくる必要がありますが、この配線の多くの部分は、私たちが生まれながらにしてもつ遺伝子のプログラムによって決められていることがわかっています。

私たちは発生時に神経回路が形成されてくるしくみを、マウスの嗅球-終脳神経回路という独自のモデル系を使って研究しています。嗅球とは匂いの情報を受け取る脳の部分ですが、ここの神経細胞は長い突起を伸ばして終脳の別の部分にある特定の神経細胞とシナプス結合を作ります。一般的に哺乳類の神経回路形成は母親の胎内で起こりますので解析が非常に困難です。この嗅球-終脳神経回路の優れた点は、器官培養下で、生体内で見られるのと同じ回路形成過程が再現できるという点です。これまでにこの培養系をつかってわかってきた突起伸長のメカニズムについて紹介します。

父由来・母由来遺伝子の協調と競争

総合遺伝研究系 教授

医学博士 佐々木 裕之

【要旨】

ヒトをはじめとする多くの生物は父と母に由来する一対の遺伝子セットを持っています。あなたの場合、父親からの遺伝の影響が強いですか？ それとも母親からの影響が強いですか？

遺伝子はふつう父由来・母由来コピーの区別なく同じように働きますが、哺乳類遺伝子の一部にはこの区別があり、これは「遺伝子が自分の由来する親を記憶する現象」という意味から「インプリンティング（刷り込み）」とよばれています。インプリンティングを受ける遺伝子では、父由来・母由来コピーのうち決められた一方だけが働くように調節プログラムが刷り込まれています。インプリンティングの発見により、哺乳類の単為生殖クローンが発生しない理由が明らかになり、メンデルの法則に従わない遺伝病の発症機構が分かってきました。

ここでは、インプリンティングが (1) 如何なる分子メカニズムで起こるのか、(2) 父由来・母由来遺伝子コピーにどのような役割分担があるのか、(3) 何故このような現象が進化したのか、などについて最新の知見をもとに解説します。

X. 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、生命科学研究所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、新た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、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。

平成10年度には、個体遺伝研究系に初期発生研究部門及び総合遺伝研究系に脳機能研究部門が設置された。

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11年5月28日 法律第55号(平成12年4月1日施行)

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11年3月31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 大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測
宇 宙 科 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11年9月14日(平成12年4月1日施行)

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	国立歴史民俗博物館	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11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(機構にあつては、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。

(寄附研究部門)

- 第8条 機関(機関に置かれる研究所を含む.)に、寄附研究部門を設けることができる。
- 寄附研究部門に係る経費は、国立学校特別会計法(昭和39年法律第55号)第17条の規定により機関の長に經理を委任された金額をもって支弁するものとする。
 - 前2項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。

(内部組織に関する委任)

第8条の2 この省令又は他の法令に別段の定めのあるものを除くほか、機関の内部組織については、その機関の長が定める。

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。
- 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。

- 分子遺伝研究系
- 細胞遺伝研究系
- 個体遺伝研究系
- 集団遺伝研究系
- 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。
- 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。
 - 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。
 - 部長は、所長の命を受け、部の事務を掌理する。
 - 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。

- 各研究系に研究主幹を置き、教授をもって充てる。
- 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 初期発生 *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 脳機能 *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	
実験圃場	

○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10年4月9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 教授となることのできる者は、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 助教授となることのできる者は、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のできる者
- 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 助手となることのできる者は、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11年3月31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つては、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11年5月28日(平成12年4月1日施行)

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、選考によるものとする。

- 2 学長の採用のための選考は、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について、評議会(評議会を置かない大学にあつては、教授会、以下同じ。)の議に基づき学長の定める基準により、評議会が行う。
- 3 学部長の採用のための選考は、当該学部の教授会の議に基づき、学長が行う。
- 4 学部長以外の部局長の採用のための選考は、評議会の議に基づき学長の定める基準により学長が行う。
- 5 教員の採用及び昇任のための選考は、評議会の議に基づき学長の定める基準により、教授会(国立学校設置法第2章の2の規定によりその組織が定められた大学にあつては、人事委員会、第12条第1項において同じ。)の議に基づき学長が行う。
- 6 前項の選考について教授会が審議する場合において、その教授会が置かれる組織の長は、当該大学の教員人事の方針を踏まえ、その選考に関し、教授会に対して意見を述べることができる。

(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、評議会の議に基づき学長が定める。

(任期及び停年)

第8条 学長及び部局長の任期については、評議会の議に基づき学長が定める。

- 2 教員の停年については、評議会の議に基づき学長が定める。

(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項の根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、評議会の議に基づき学長が定める。

(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、学長にあつては評議会、教員及び学部長にあつては教授会の議に基づき学長、学部長以外の部局長にあつては学長が行う。

- 2 前項の勤務成績の評定は、評議会の議に基づき学長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、現職のままで、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つては国家公務員法第101条第1項の規定に基づく命令又は同法第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つ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10年10月30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

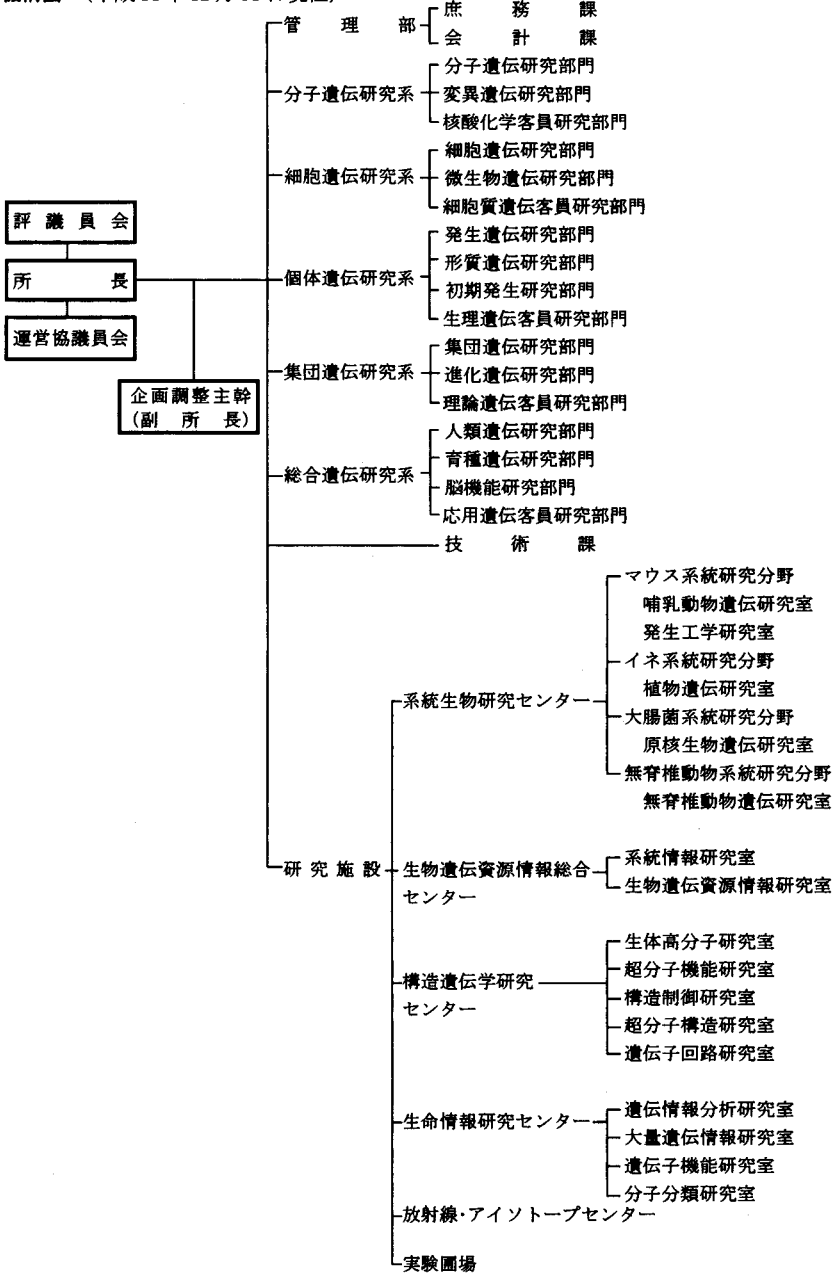
(平成11年12月31日現在)

区 分	指定職	行政職 (一)	教育職 (一)	計
定 員	1	40	79	120
現在員	1	38	65	104

所 長

医学博士 堀田凱樹

機構図 (平成11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11年12月31日現在)

現 職	氏 名	任命年月日	備 考
国際日本文化研究センター 研 究 部 教 授	石 井 紫 郎	平成10年6月28日	
岡崎国立共同研究機構長	伊 藤 光 男	平成11年4月1日	
立教大学理学部教授	岩 槻 邦 男	平成10年6月28日	
国立学校財務センター所長	大 崎 仁	平成10年8月1日	
(株)生命誌研究館顧問	大 澤 省 三	平成10年6月28日	
北海道大学名誉教授	大 塚 榮 子	"	
筑波大学名誉教授	岡 田 益 吉	"	
福井工業大学教授	京 極 好 正	"	
東京大学大学院教授	黒 田 玲 子	"	
東 邦 大 学 長	杉 村 隆	"	
広 島 市 立 大 学 長	田 中 隆 莊	"	
福 井 県 立 大 学 長	常 脇 恒 一 郎	"	
(財)住友病院長	豊 島 久 真 男	"	
総合研究大学院大学長	廣 田 榮 治	"	
名 古 屋 大 学 長	松 尾 稔	"	
(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	"	

国立遺伝学研究所運営協議員名簿

所外(副会長のほかは50音順)

(平成11年12月31日現在)

官 職 名	氏 名	任命年月日	備 考
福岡歯科大学教授(歯学部)	関 口 睦 夫	平成10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(ウィルス研究所)	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	"	
九州大学教授(生体防御医学研究所)	笹 月 健 彦	"	
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	"	
お茶の水女子大学教授(理学部)	松 浦 悦 子	"	

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(細胞遺伝研究系)	小 川 智 子	平成10年6月20日	会 長
教 授(分子遺伝研究系)	石 濱 明	"	
教 授(微生物遺伝研究系)	荒 木 弘 之	"	
教 授(個体遺伝研究系)	廣 海 健	"	
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)	佐々木 裕之	平成10年12月1日	
教 授(系統生物研究センター)	城 石 俊 彦	平成11年4月1日	
教 授(生物遺伝資源情報総合センター)	小 原 雄 治	平成10年6月20日	
教 授(構造遺伝学研究センター)	桂 勲	"	
教 授(生命情報研究センター)	五 條 堀 孝	"	

平成11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
奈良先端科学技術大学院大学教授(バイオサイエンス研究科)	小笠原直毅
理化学研究所ライフサイエンス筑波研究センター主任研究員	篠 崎 一 雄
京都大学教授(化学研究所)	金 久 實
東京大学教授(医科学研究所)	高 木 利 久
(財)かずさDNA研究所遺伝子構造第2研究室長	田 畑 哲 之
農業生物資源研究所遺伝資源第二部DNA管理情報科長	長 村 吉 晃
理化学研究所ゲノム科学総合研究センターチームリーダー	服 部 正 平
科学技術振興事業団研究基盤情報部長	藤 川 昇
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

平成11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11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	薬学博士	小 川 智 子	(10. 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	理学博士	水 本 清 久	11. 4. 1
	非常勤講師	理学博士	和 田 明	11. 4. 1

細胞遺伝研究系 研究主幹(併) 荒木 弘之

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 教 授	理学博士	荒 木 弘 之	10. 1. 1
	文部教官 助教授	理学博士	安 田 成 一	51. 4. 1
	文部教官 助 手	博士(医学)	上 村 陽 一 郎	10.12. 1
細胞質遺伝客員研究部門	非常勤講師	薬学博士	富 澤 純 一	9.10. 1
	非常勤講師	医学博士 文学博士	二 木 宏 明	10. 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
	文部教官 助手	博士(理学)	細谷 俊彦	10. 3. 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	理学修士	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
初期発生研究部門	文部教官 教授	理学博士	武田 洋幸	11. 3. 16
生理遺伝客員研究部門	文部教官 助教授	理学博士	白川 昌宏	11. 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
	文部教官 助手	博士(理学)	深川 竜郎	11. 3. 1
理論遺伝客員研究部門	非常勤講師	Ph. D. 理学博士	原田(太田)朋子	9. 4. 1
	非常勤講師	工学博士	北野 宏明	10. 4. 1

総合遺伝研究系 研究主幹(併) 佐々木 裕之

部 門 別	官 職 名	学 位	氏 名	任用年月日
人類遺伝研究部門	文部教官 教授	医学博士	佐々木 裕之	10. 12. 1
	文部教官 助教授	理学博士	藤山 秋佐夫	62. 12. 16
	文部教官 助手	博士(理学)	佐 渡 敬	11. 5. 16
育種遺伝研究部門				
脳機能研究部門	文部教官 助教授	博士(医学)	平田たつみ	11. 3. 16
	文部教官 助手	修士(理学)	川崎能彦	11. 12. 1
応用遺伝客員研究部門	文部教官 教授	農学博士	長戸 康 郎	10. 4. 1
	文部教官 教授	医学博士	寶 来 聰	10. 4. 9

研究施設

系統生物研究センター センター長(併) 城石 俊彦

(マウス系統研究分野)				
哺乳動物遺伝研究室	文部教官 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	(併)中辻憲夫	11. 4. 1
	文部教官 助手	理学博士	齋藤 哲一郎	9. 9. 1
	文部教官 助手	博士(理学)	多 田 高	10. 12. 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)				
原核生物遺伝研究室	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 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) 小原 雄治

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	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

構造遺伝学研究センター センター長(併) 桂 勲

部 門 別	官 職 名	学 位	氏 名	任用年月日
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
構造制御研究室	文部教官 教 授	理学博士	桂 勲	3.12. 1
	文部教官 助 手	博士(理学)	石 原 健	4. 4. 1
超分子構造研究室	文部教官 助教授	理学博士	白木原康雄	7. 8. 15
遺伝子回路研究室				

* (永井 宏樹) 研究休職中

生命情報研究センター センター長(併) 五條堀 孝

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
		Ph. D.		
遺伝子機能研究室	文部教官 教 授	理学博士	館 野 義 男	63. 4. 1
	文部教官 助 手	学術博士	小 林(深海) 薫	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)	官 崎 智	8. 8. 1

放射線・アイソトープセンター センター長(併) 石濱 明

実験園場 園場長(併) 倉田 のり

	文部教官 助 手	博士(農学)	野々村 賢一	8.10. 1
--	----------	--------	--------	---------

名譽教授

氏名	職名	称号授与年月日
三浦 謹一郎	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(太田) 朋子	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
今村 孝	国立遺伝学研究所教授	10. 4. 1
沖野(森島) 啓子	元国立遺伝学研究所教授	10. 4. 1

名譽所員

氏名	職名	称号授与年月日
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 箏	9.11. 2
庶 務 課 長	小 林 彰	10. 7. 1
会 計 課 長	小 関 賢 三	10. 4. 1
庶務課課長補佐	山 田 勝 久	11. 4. 1
會計課課長補佐	佐 藤 隆 司	9. 4. 1
庶 務 係 長	酒 井 清 人	61. 4. 1
人 事 係 長	佐 藤 忠 弘	10. 4. 1
研 究 協 力 係 長	引 地 光 夫	7. 4. 1
共 同 研 究 係 長	秋 山 啓 剛	11. 4. 1
情 報 資 料 係 長	新 田 清 隆	5. 1. 1
總 務 係 長	八 木 悟 司	6. 4. 1
經 理 係 長	橋 本 登	9.10. 1
用 度 係 長	岩 崎 久 治	9. 4. 1
管 財 係 長	梅 澤 三 郎	10. 4. 1
施 設 係 長	前 田 佳 宏	4. 4. 1
庶 務 主 任	土 屋 雅 義	7. 4. 1
經 理 主 任	安 藤 又 己	11. 7. 1
用 度 主 任	齋 藤 勝 麗	10. 4. 1
人 事 係 員	片 瀬 綾 子	11. 4. 1
共 同 研 究 係 員	山 田 恵 子	10. 4. 1
總 務 係 員	渡 邊 晃	10. 4. 1
施 設 係 員	上 田 敏 史	4. 4. 1
共同研究係員(併)	藤 井 真 貴 子	10. 4. 1

技術職員（技術課）

職 名	氏 名	任用年月日
技 術 課 長	(併)堀 田 凱 樹	11. 4. 1
動 物 班 長	原 登 美 雄	46. 9. 1
植 物・微 生 物 班 長	石 井 百 合 子	39. 7. 1
機 器 班 長	谷 田 勝 教	63. 4. 1
動 物 班 第 一 技 術 係 長	境 雅 子	47.12. 5
動 物 班 第 二 技 術 係 長		
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		
機 器 班 第 一 技 術 係 長	芦 川 祐 毅	35. 4. 1
機 器 班 第 二 技 術 係 長		
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	陣 内 寅 佳	10.11. 1
動 物 班 第 二 技 術 係 員	水 品 洋 一	11. 4. 1
動 物 班 第 二 技 術 係 員	古 海 弘 康	11. 5. 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 一 技 術 係 員	三 浦 明 日 香	11. 4. 1
植 物・微 生 物 班 第 二 技 術 係 員	村 松 佐 知 子	10. 4. 1
植 物・微 生 物 班 第 二 技 術 係 員	坂 季 美 子	11. 4. 1
機 器 班 第 一 技 術 係 員	芦 川 東 三 夫	36. 4.16
機 器 班 第 二 技 術 係 員	大 石 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 第二技術係員	中村紀美代	平 9. 4. 1～ 平11. 3.31	辞職
技術課長	三 田 旻 彦	昭35. 7.20～ 平11. 3.31	定年退職
技術課動物班長	深瀬与惣治	昭32. 8. 1～ 平11. 3.31	定年退職
技術課植物・微生物班長	妹 尾 治 子	昭38. 1.16～ 平11. 3.31	定年退職

職 名	氏 名	在職期間	備 考
技術課機器班長	榊原勝美	昭34. 6. 1～ 平11. 3. 31	定年退職
系統生物研究センター教授	中辻憲夫	平 3. 9. 1～ 平11. 3. 31	京都大学再生医科学研究所 教授へ
放射線・アイソトープセ ンター助教授	定家義人	昭43. 4. 1～ 平11. 3. 31	埼玉大学理学部教授へ
庶務課課長補佐	大川淑子	平 6. 4. 1～ 平11. 3. 31	静岡大学経理部経理課課長 補佐へ
庶務課共同研究係長	村松 祐	平 8. 4. 1～ 平11. 3. 31	静岡大学庶務部人事課職員 係長へ
庶務課人事係人事主任	八木正行	平 8. 4. 1～ 平11. 3. 31	沼津工業高等専門学校会計 課総務係企画主任へ
庶務課情報資料係長	五条寿久	平 9. 4. 1～ 平11. 6. 30	静岡大学人文学部総務係長 へ

平成11年度外国人研究員の受け入れ

氏 名	所 属	研 究 課 題	受入れ研究部門等	研究期間
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11. 6. 30
Dasgupta Dipak	核物理学研究所 教授	RNAポリメラーゼと転写 因子相互作用機構の 解明に関する研究	分子遺伝研究部門	平10. 11. 9～ 平11. 10. 30
Alexeev Andrei Alexeevich		真核生物のSOS応答に 関する遺伝子の発現 制御機構に関する研究	細胞遺伝研究部門	平11. 6. 1～ 平12. 5. 31
劉 玉 華		精転移酵素遺伝子 の進化	進化遺伝研究部門	平11. 6. 21～ 平12. 3. 31
Muskhelishvili Georgi David	ドイツ微生物遺伝学 研究所 主任研究員	転写開始の反応機 構	構造遺伝学研究セ ンター	平11. 11. 22～ 平12. 2. 19
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	転写装置の分子解 剖	分子遺伝研究部門	平12. 1. 4～ 平12. 3. 31

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
押海裕之	DNA 障害修復と減数分裂期組換え開始に關与する MRE11 遺伝子の機能解析	大阪大学大学院 理学研究科	1999. 4. 1 ~ 2000. 3. 31
増本博司	出芽酵母 Dpb11 の機能解析	大阪大学大学院 医学系研究科	1999. 4. 1 ~ 2000. 3. 31
笹村剛司	ショウジョウバエにおける神経発生機構の解析	東京大学大学院 理学系研究科	1999. 4. 1 ~ 2000. 3. 31
深見裕伸	DNA から見たサンゴの系統分類	東京水産大学大学院 水産学研究科	1999. 4. 1 ~ 2000. 3. 31
坂口拓哉	ゼブラフィッシュ中胚葉誘導の分子機構の解明	名古屋大学大学院 理学研究科	1999. 4. 1 ~ 2000. 3. 31
澤田篤志	ゼブラフィッシュ体節形成における MesP family 遺伝子の発現制御機構の解明	名古屋大学大学院 理学研究科	1999. 4. 1 ~ 2000. 3. 31
新家みのり	ゼブラフィッシュ頭部形成の分子機構	名古屋大学大学院 理学研究科	1999. 4. 1 ~ 2000. 3. 31
横峯孝昭	ゲノムインプリンティングドメインの進化に関する研究	九州大学大学院 理学研究科	1999. 4. 1 ~ 2000. 3. 31
古海弘康	ゲノムインプリンティングドメインの制御機構の研究	九州大学大学院 医学系研究科	1999. 4. 1 ~ 2000. 3. 31
ワヒュー・ブルボワシト	ゲノムインプリンティングドメインの構造特性に関する研究	九州大学大学院 医学系研究科	1999. 4. 1 ~ 2000. 3. 31
佐藤泰史	嗅索形成機構の解析	名古屋大学大学院 理学研究科	1999. 4. 1 ~ 2000. 3. 31
上原剛	大腸菌の細胞分裂に関する研究	東京大学大学院 農学生命科学研究科	1999. 4. 1 ~ 2000. 3. 31
藤島博史	大腸菌の細胞分裂に関する研究	東京大学大学院 農学生命科学研究科	1999. 4. 1 ~ 2000. 3. 31
白木岐奈	Drosophila mab-21 ホモログの解析	奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス研究科	1999. 4. 1 ~ 2000. 3. 31
坂根勲	タンパク質 1 分子の動的特性	東京大学大学院 理学系研究科	1999. 4. 1 ~ 2000. 3. 31

受託研究員

氏名	所属会社名又は機関名	研究題目	受入研究部門等	研究期間
小見山 智義	湧永製薬株式会社 広島事業所	鳥類の遺伝情報分析と 文化的背景を含めたド メスティケーション	生命情報研究セ ンター	1999. 4. 1～ 2000. 3. 31
許山 肖子	理化学研究所 ゲノム科学総合研究 センター	染色体ライブラリ作 成技術に関する研究	人類遺伝研究部門	1999. 4. 1～ 2000. 3. 31
福田 達也	中外製薬株式会社 創薬資源研究所	マウスジェノミクス に関する研究	系統生物研究セ ンター	1999. 4. 1～ 1999. 9. 30
川端 猛	科学技術振興事業団 研究基盤情報部	遺伝子産物同定シス テム研究開発, Gene Catalogシステム構築	生命情報研究セ ンター	1999. 4. 1～ 2000. 3. 31
鈴木小夜子	科学技術振興事業団 研究基盤情報部	遺伝子産物同定シス テム研究開発, Gene Catalogシステム構築	生命情報研究セ ンター	1999. 4. 1～ 2000. 3. 31
福地佐斗志	科学技術振興事業団 研究基盤情報部	遺伝子産物同定シス テム研究開発, Gene Catalogシステム構築	生命情報研究セ ンター	1999. 8. 1～ 2000. 3. 31
小林 欣滋	田辺製薬株式会社 安全性研究所	ES細胞株の樹立	系統生物研究セ ンター	1999. 9. 1～ 2000. 3. 31

C. 土地及び建物

(平成11年12月31日現在)

土地総面積	105,313 m ²
(内訳) 研究所敷地	96,069 m ²
宿舎敷地	9,243 m ²
建物総面積(建面積)	13,142 m ²
(延べ面積)	28,971 m ²

建物内訳

区 分	構 造	数 量 (m ²)		建 築 年月日
		建 面 積 (m ²)	延 べ 面 積 (m ²)	
本館	鉄筋コンクリート造り3階建	1,602	4,763	S36. 9. 19
自動車車庫	木造かわらぶき平屋建	52	52	S26. 10. 1
公務員宿舎(21棟)	木造かわらぶき平屋建	1,250	1,250	S26. ~40.
放射線実験室	鉄筋平屋建一部地下室	392	535	S31. 3. 25
特別蚕室	ブロック造り一部地下	194	218	S35. 3. 20
ボイラー室	鉄骨造り平屋建	97	97	S39. 3. 30
研修室	鉄筋コンクリート造り2階建 屋根鉄板葺	233	465	S40. 10. 31
渡り廊下(本館~研修室)	鉄骨造り屋根防水モルタル塗	8	8	S40. 10. 31
ファイロン温室(2棟)	鉄骨造りファイロン張平屋建	284	284	S42. 1. 10
堆肥舎	鉄筋造り波型スレート葺平屋建	128	128	S42. 1. 10
孵卵育雛舎	鉄筋コンクリート造り平屋建	290	290	S42. 3. 30
鶏糞処理小屋	ブロック造り平屋建	6	6	S44. 7. 9
麦温室	鉄骨一部補強コンクリート ブロック造り平屋建	146	146	S44. 10. 15
図書館	鉄筋コンクリート造り3階建	258	803	S46. 3. 25
ネズミ飼育舎	鉄筋コンクリート造り平屋建	539	557	S47. 3. 25
水源ポンプ小屋	鉄骨造り平屋建	5	5	S47. 12. 20
内部照射実験棟及び 附属棟	鉄筋コンクリート造り平屋建	591	645	S50. 3. 10
系統生物研究センター棟	鉄筋コンクリート造り2階建	370	739	S53. 7. 31
機械棟	鉄骨造り平屋建	380	380	S53. 7. 31
廃棄物保管庫	鉄筋コンクリート造り平屋建	46	46	S54. 3. 15
ネズミ附属棟	"	388	388	S55. 3. 15
カイコ附属棟	"	254	254	S55. 3. 15
微生物附属棟	"	263	263	S56. 3. 15
排水処理棟	"	56	56	S58. 3. 17
組換えDNA実験棟	鉄筋コンクリート造り2階建	79	158	S59. 3. 15
野生イネ温室	鉄骨平屋建一部鉄筋コンクリート	185	185	S59. 3. 15
動物飼育装置上屋	鉄骨平屋建	32	32	S59. 1. 9

実験圃場管理棟	鉄筋コンクリート造り平屋建	407	407	S60. 3. 28
焼却炉上屋	鉄筋造り波型スレート葺平屋建	22	22	S61. 10. 31
構造遺伝学研究中心棟	鉄筋コンクリート造り5階建	446	1,855	S62. 2. 12
隔離温室	鉄筋コンクリート造り及び鉄骨造り平屋建	300	300	S62. 2. 12
水田温室	"	183	183	S62. 3. 27
桑温室	鉄骨造り及び鉄筋コンクリート造り平屋建	305	305	S62. 3. 27
ペレット温室	鉄骨造り平屋建	93	93	S63. 12. 15
R I 実験棟	鉄筋コンクリート造り5階建	563	2,382	S63. 12. 15
中央機械室	鉄筋コンクリート造り平屋建	344	346	S63. 12. 15
R I ポンプ室	"	30	30	S63. 12. 15
テニスコートシャワー室	"	11	11	H 2. 3. 27
屋外便所	ブロック造り平屋建	5	5	H 3. 3. 26
研究員宿泊施設	鉄筋コンクリート造り3階建	346	807	H 4. 5. 1
廃棄物保管庫	ブロック造り平屋建	58	58	H 5. 3. 30
研究実験棟	鉄筋コンクリート造り7階建	561	3,907	H 7. 3. 10
渡り廊下(本館→実験棟)	鉄骨造り	41	41	H 7. 3. 13
電子計算機棟	鉄筋コンクリート造り3階建	347	1,064	H 8. 3. 25
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	H 9. 3. 25
生命情報研究センター棟	鉄筋コンクリート造り5階建	546	2,786	H10. 3. 20
渡り廊下(電算棟→生命情報)	鉄骨造り	22	22	H10. 3. 20
計		13,142	28,971	

D. 予 算 (平成11年度当初予算(項)研究所)

人件費	871,163(単位:千円)
物件費	2,265,392
合計	3,136,555

E. 奨学寄附金・受託研究費

平成11年奨学寄附金受入

奨学寄附金 38,788 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
東京都千代田区大手町二丁目三番六号 株式会社 三菱総合研究所 取締役社長 高橋 貞巳	6,500,000円	系統生物研究センター原核生物遺 伝研究室 西村 昭子助教授の「大 腸菌をモデル生物とした細胞分裂 の遺伝的調節機構」の研究助成
東京都中央区京橋2丁目1番9号 中外製薬株式会社 取締役社長 永山 治	3,000,000円	ランダム ミュータジェネシス による遺伝子機能の解析
静岡県三島市谷田1111 徳永 万喜洋	5,000,000円	「ブルーブ顕微鏡下の1分子技 術による生体分子未知機能の検 索」研究のため
静岡県三島市谷田1171-195 財団法人 遺伝学普及会 会長 森脇 和郎	232,000円	研究助成(海外渡航費)のため
静岡県三島市谷田1171-195 財団法人 遺伝学普及会 会長 森脇 和郎	250,000円	研究助成(海外渡航費)のため
静岡県三島市文教町1-4-60 文教住宅4-503 齊藤 成也	300,000円	進化遺伝学研究への助成
東京都千代田区大手町二丁目三番六号 株式会社 三菱総合研究所 取締役社長 高橋 貞巳	5,500,000円	系統生物研究センター原核生物 遺伝研究室 西村 昭子助教授の 「大腸菌をモデル生物とした細 胞分裂の遺伝的調節機構」の研 究助成

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	8,375,500円	真核生物におけるDNAダメージ の組換え修復の研究
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	6,979,543円	組換え, 複製, 修復反応で働く DNA-蛋白質複合体の研究
三島市谷田1706の8 富澤 純一	2,000,000円	分子細胞生物学の研究助成のため
国立市西2-11-31遠藤ビル2F たじま耳鼻咽喉科 院長 田島 文司	400,000円	学術研究
静岡県三島市谷田1171-195 財団法人 遺伝学普及会 会長 森脇 和郎	250,000円	研究助成(海外渡航費)のため
合 計	38,787,043円	

平成11年受託研究受入

産学連携等研究費 258,477千円

研究題目	代表者・所属・氏名	研究期間	委託者	産学連携等 研究費
				円
gcmタンパクの転写調節機構	所 長 堀田 凱樹	自 1999. 4. 1 至 2000. 3. 31	科学技術振興 事業団	6,000,000
発生におけるパターン形成機構	系統生物研究センター 教 授 林 茂 生	自 1999. 4. 1 至 2000. 3. 31	日本学術振興 会	37,994,000
クロマチン構造を介した転写組換え制御機構の解明	細胞遺伝研究部門 助 手 太 田 力	自 1999. 4. 1 至 2000. 3. 31	日本学術振興 会	16,960,000
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 1999. 4. 1 至 2000. 3. 31	生物系特定産 業技術研究推 進機構	15,041,000
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 教 授 城 石 俊 彦	自 1999. 4. 1 至 2000. 3. 31	医薬品副作用 被害救済・研究 振興機構	10,000,000
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 1999. 4. 1 至 2000. 3. 31	医薬品副作用 被害救済・研究 振興調査機構	4,000,000
遺伝子産物同定システムの研究開発, Gene Catalog システム構築	生命情報研究センター 教 授 西 川 建	自 1999. 4. 1 至 2000. 3. 31	科学技術振興 事業団	3,300,000

研究題目	代表者・所属・氏名	研究期間	委託者	産学連携等 研究費
線虫全発生過程の 遺伝子発現プログ ラム	生物遺伝資源情報総 合センター 教授 小原 雄治	自 1999. 4. 8 至 2000. 3. 31	科学技術振興 事業団	円 6,000,000
gcm ファミリーの 高等動物神経発生 での機能解析	発生遺伝研究部門 助手 細谷 俊彦	自 1999. 4. 8 至 2000. 3. 31	科学技術振興 事業団	1,500,000
DNA 複製開始から DNA 鎖伸長過程へ の移行機構	微生物遺伝研究部門 教授 荒木 弘之	自 1999. 4. 8 至 2000. 3. 31	科学技術振興 事業団	1,000,000
野生マウスの体内 回路網形態と行動	系統生物研究センター 助手 小出 剛	自 1999. 4. 8 至 2000. 3. 31	科学技術振興 事業団	500,000
神経軸索の伸長経 路を決める道標細 胞の発現分子検索	脳機能研究部門 助教授 平田たつみ	自 1999. 4. 8 至 2000. 3. 31	科学技術振興 事業団	1,000,000
先進的微生物分 類・DNA解析システ ムの開発	生命情報研究センター 教授 菅原 秀明	自 1999. 4. 8 至 2000. 3. 31	株式会社海洋 バイオテクノ ロジー研究所	24,812,000
ゲノム全遺伝子の 発現ヒラルキー決 定機構の解明	分子遺伝研究部門 教授 石 濱 明	自 1999. 4. 22 至 2000. 3. 31	科学技術振興 事業団	7,000,000
組換え修復蛋白質 の機能解析	細胞遺伝研究部門 助手 太田 力	自 1999. 5. 6 至 2000. 3. 31	財団法人日本 宇宙フォーラム	4,790,000
培養生物を対象と する情報共有・解 析システムに関す る解析	生命情報研究センター 教授 菅原 秀明	自 1999. 6. 21 至 2000. 3. 31	科学技術振興 事業団	11,625,000

研究題目	代表者・所属・氏名	研究期間	委託者	産学連携等 研究費
嗅覚回路形成機 構の解析	脳機能研究部門 助教授 平田たつみ	自 1999. 6. 29 至 2000. 3. 31	科学技術振興 事業団	円 500,000
遺伝子の分離ゆ がみを引き起こ す原因遺伝子の 単離と機能解析	系統生物研究センター 助教授 倉田 のり	自 1999. 6. 29 至 2000. 3. 17	農業生物資源 研究所	4,168,000
リソース群の系統 保存及び網羅的温 度感受性株の変異 位置の同定	系統生物研究センター 助教授 西村 昭子	自 1999. 7. 6 至 2000. 3. 31	科学技術振興 事業団	1,000,000
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 1999. 7. 6 至 2000. 3. 31	科学技術振興 事業団	200,000
魚類中枢神経系の 発達における繊維 芽細胞増殖因子 (FGF)の役割	初期発生研究部門 教授 武田 洋幸	自 1999. 7. 14 至 2000. 3. 15	農林水産技術 会議事務局	5,300,000
胎仔幹細胞株の樹 立と発生工学技術 の開発	系統生物研究センター 教授 中辻 憲夫	自 1999. 8. 9 至 2000. 3. 17	畜産試験場	3,086,000
多分化能の成立と 制限機構の研究	系統生物研究センター 教授 中辻 憲夫	自 1999. 8. 9 至 2000. 3. 17	畜産試験場	6,400,000
魚類における中胚 葉誘導と体節の形 成・分化の分子機 構の解明	初期発生研究部門 教授 武田 洋幸	自 1999. 8. 9 至 2000. 3. 16	養殖研究所	3,139,000
組換えウイルスの 分子進化の数学的 解析に関する研究	生命情報研究センター 教授 五條堀 孝	自 1999. 8. 16 至 2000. 3. 31	理化学研究所	4,417,000

研究題目	代表者・所属・氏名	研究期間	委託者	産学連携等 研究費
発生分化における情報分子の濃度勾配と遺伝子発現	発生遺伝研究部門 助教授 藤澤 敏孝	自 1999. 9. 20 至 2000. 3. 31	財団法人日本宇宙フォーラム	円 4,126,000
遺伝子発現と機能に関する抗体を用いたタンパク質レベルでの網羅的及び体系的解析法の開発	生物遺伝資源情報総合センター 教授 小原 雄治	自 1999. 12. 6 至 2000. 3. 31	株式会社医学生物学研究所	60,940,000
線虫の遺伝子間相互作用に関する実験研究	生物遺伝資源情報総合センター 教授 小原 雄治	自 1999. 12. 20 至 2000. 3. 31	宝酒造株式会社	13,679,000

F. 日誌

1月14日	第65回運営協議員会
3月18日	第66回運営協議員会
3月29日	第32回評議員会
4月10日	一般公開
5月31日	天皇・皇后兩陛下下行幸啓
6月1日	創立50周年記念式典・學術講演会・祝賀会
6月10日	第67回運営協議員会
6月28日	第33回評議員会
7月3日	創立50周年記念市民講演会
9月11日	創立50周年記念県民講座開講(12月11日まで計8回)
10月14日	第68回運営協議員会
10月30日	公開講演会
12月3日	平成11年度文部省所轄研究所等所長会議

教授会議

1月12日	第270回	1月26日	第271回
2月9日	第272回	3月9日	第273回
3月23日	第274回	4月13日	第275回
5月11日	第276回	5月24日	第277回
6月8日	第278回	6月22日	第279回
7月21日	第280回	9月10日	第281回
9月28日	第282回	10月12日	第283回
10月26日	第284回	11月24日	第285回
12月21日	第286回		

外国からの主な来訪者

1月6日～1月7日	Ivo Sauman, Institute of Entomology, Czech Academy of Sciences, Czech Republic
1月8日	Reiko Ohba, University of Virginia, Health Science Center, U.S.A.
1月11日～1月12日	Minoru Kawakami, Harvard Medical School, U.S.A.
1月21日～3月25日	Thomas Daniel Andrews, Australian National University, Australia

- 2月 8日～ 2月 9日 Sydney Brenner, Molecular Sciences Research Institute Inc., U.S.A.
- 2月 9日～ 2月 23日 林 善姬, 東亞大学教生物学科, 韓国
- 2月 18日～ 3月 24日 Richard Hayward, University of Edinburgh, U.K.
- 3月 5日～ 3月 6日 Obaid Siddiqi, Tata Institute of Fundamental Research, India
- 3月 6日～ 3月 23日 Jean Thierry-Mieg, CNRS Laboratoire de Physique Mathematique, Université MontpellierII, France
- 3月 6日～ 3月 23日 Danielle Thierry-Mieg, CNRS Laboratoire de Physique Mathematique, Université MontpellierII, France
- 3月 14日～ 3月 15日 Youri Pavlov, Sainkt-Petersburg State University, Russia
- 3月 15日～ 3月 30日 Nikolay A. Kolchanov, Russian Academy of Science, Russia
- 3月 24日 Sandro J. de Souza, Ludwig Institute for Cancer Research, Brazil
- 3月 30日～ 3月 31日 Mu-ming Poo, University of California San Diego, U.S.A.
- 4月 5日～ 4月 6日 Henry F. Epstein, Baylor College of Medicine, U.S.A.
- 6月 10日～ 6月 11日 Naoyuki Fuse, Johns Hopkins University, U.S.A.
- 7月 27日～ 7月 28日 Richard W. Padgett, Waksman Institute Rutgers University, U.S.A.
- 7月 29日～ 8月 4日 William Chia, National University of Singapore, Singapore
- 8月 2日～ 8月 13日 Giorgio Bernardi, Stazione Zoologica Anton Dohrn, Italy
- 8月 6日～ 8月 7日 Leo Tsuda, University of California Los Angeles, U.S.A.
- 8月 9日～ 8月 10日 Susumu Tonegawa, Massachusetts Institute of Technology, U.S.A.
- 8月 19日～ 8月 20日 Haifan Lin, Duke University Medical School, U.S.A.
- 9月 12日～ 9月 13日 John Y. Kuwada, University of Michigan, U.S.A.
- 10月 3日～ 10月 4日 Masaki Shirayama, Institute of Molecular Pathology, Austria
- 10月 14日～ 10月 15日 Masakazu Konishi, California Institute of Technology, U.S.A.
- 11月 13日～ 11月 20日 Giovanna Lucchini, Università degli Studi di Milano, Italy
- 11月 14日～ 11月 16日 Charles G. Kurland, Evolutionary Biology Centre, University of Uppsala, Sweden

11月21日～11月22日	Peter R. Cook, The Sir William Dunn School of Pathology The University of Oxford, U.K.
11月24日～11月25日	Timothy M. Jinks, National Institute for Medical Research, U.K.
12月4日～12月14日	John F.X. Diffley, ICRF Clare Hall Laboratories, U.K.
12月13日～12月14日	Chun-Fang Wu, University of Iowa, U.S.A.
12月13日～12月14日	En Li, Massachusetts General Hospital, U.S.A.
12月15日	Keiichi Shibahara, Cold Spring Harbor Laboratory, U.S.A.
12月15日～12月18日	Hiroaki Tabara, University of Massachusetts, U.S.A.
12月15日～12月19日	Kiyoshi Mizuuchi, NIH, U.S.A.

G. 諸 会

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。

- 1月8日 1. ヒドラ細胞外マトリックス研究の意義と今後の方針(清水 裕)
- 2. 神経分化の背腹パターンの制御(林 茂生)
- 2月12日 1. F1-ATPase $\alpha 3 \beta 3$ 複合体のヌクレオチド結合型構造決定の試み(白木原康雄)
- 2. 遺伝子多型情報を基にした“マウスの Functional Genomics”(城石俊彦)
- 2月19日 1. (1)タンパク質アグリケーションによって引き起こされる生命現象
- (2)大腸菌転写因子 GreA, GreB により発現調節される遺伝子の探索(永井宏樹)
- 2. ゲノム構造の進化的可塑性について(五條堀孝)
- 2月26日 1. 組換え蛋白質 Mre11 のテロメアに対する働き(田中茂生)
- 2. ゲノム情報データの塩基組成による解析(西川 建)
- 3月5日 1. FTZ-F1 の Mutants について(山田正明)
- 2. ヒト21番染色体長腕のサブテロメア領域構造の解析(藤山秋佐夫)
- 3月12日 1. 大腸菌 DnaA 蛋白の DNA 結合ドメインが DnaK 蛋白との結合にも関与する(安田成一)
- 2. 細菌における休眠とアポトーシスへの遺伝戦略(石濱 明)
- 3月19日 ゲノム機能解析の実験(定家義人)
- 3月26日 細胞周期停止を回復させる基本転写因子(光澤 浩)
- 4月2日 1. ヒドラ神経細胞の分化を制御する新規ペプチド分子群(藤澤敏孝)
- 2. Timing of cell division in Escherichia coli(西村昭子)
- 4月16日 1. 組換え率に依存した分子進化パターン(高野敏行)
- 2. バクテリア遺伝子の水平移動による進化(齊藤成也)

- 4月23日 1. 線虫 *C. elegans* における二種類の感覚情報の相互作用と飢餓による行動の変化(石原 健)
 2. 分裂酵母 RNA ポリメラーゼ II のサブユニット集合(木村 誠)
- 5月7日 1. ペリプラズム結合タンパク質の立体構造の系統進化
 ---ATP-binding cassette を通して見た場合---(深海 薫)
 2. 分裂酵母 RNA ポリメラーゼ II サブユニット間相互作用と Rpb6 サブユニットの遺伝解析(石黒 亮)
- 5月14日 Mapping of Subunit-Subunit Contact Surfaces on the β' Subunit of *Escherichia coli* RNA Polymerase(片山 映)
- 5月28日 1. 出芽酵母 MRE11 の機能解析(太田 力)
 2. Towards the interoperability of biological databases:efforts made in WFCC-MIRCEN World Data Centre for Microorganisms(WDCM) and DNA Data Bank of Japan(DDBJ)(菅原秀明)
- 6月4日 1. 出芽酵母 Sld3 の機能解析(上村陽一郎)
 2. DNA メチル化とインプリンティング(佐々木裕之)
- 6月11日 1. LINE 配列を指標にした HLA I 領域の進化解析と新しい遺伝子候補の発見(館野義男)
 2. 腔腸動物の生殖細胞に対する分子マーカーのクローニング(望月一史)
- 6月25日 1. GENETIC ANALYSIS OF MBF1:WHEN KNOCK-OUT ISN'T ENOUGH(Marek Jindra)
 2. 生殖細胞における X 染色体インプリンティングの獲得(多田 高)
- 7月2日 1. FGF によって誘導される Notch シグナルが果たす気管での役割(池谷智淳)
 2. Analysis of polydactylous mutant mouse, mesenchymal dysplasia (*mes*) (牧野 茂)
- 7月9日 Isolation and Characterization of Temperature-sensitive Mutations in the Subunit 3 Gene (*rpb3*) of RNA Polymerase II of the Fission Yeast *Schizosaccharomyces pombe*(三戸部治郎)
- 7月16日 1. 感覚信号は、どのように調節・処理されるか(桂 勲)
 2. Molecular cloning, characterization and chromosomal mapping of alpha 1,3-fucosyltransferase IX (hFuc-TIX), and long-term evolution of glycosyltransferase genes. (金子美華)
- 7月23日 1. SCF による G1 サイクリンの時期特異的ユビキチン化(岸 努)
 2. A Novel Peptide, Hym-323 Enhances Foot Formation in Hydra (服藤尚恵)
- 7月30日 Evolution of the ABO blood group gene in primate(野田令子)
- 9月17日 核/染色体/ゲノム構成が植物の発生分化を制御する方式(倉田のり)

- 10月 1日 1. 線虫 T-box 遺伝子 *tbx-9* の機能解析(安達佳樹)
2. 転写装置に隠匿された2種類のスイッチ機構: ゲノムアレイを用いた GreAB 研究の被書と, シグマ70 が環境モニターである容疑(嶋本伸雄)
- 10月 8日 1. 「サンゴはどのように進化しているか」(服田昌之)
2. 多様な組換え反応に関与する Mre11 蛋白質の機能(小川智子)
- 10月 15日 1. 最尤法による大規模進化系統樹の作成シミュレーション(宮崎 智)
2. クロマチンのリモデリングとエピジェネティクス(広瀬 進)
- 10月 22日 1. イネ第5染色体の動原体領域の構造解析(野々村賢一)
2. 分裂酵母ユビキチン転移酵素 UbcP1/Ubc4 の細胞周期における機能(清野浩明)
- 10月 29日 1. タンパク質分子モデリング用ロータマーポテンシャル(太田元規)
2. Gal4 エンハンサートラップ法によるショウジョウバエの脚で発現する遺伝子の検索(後藤 聡)
- 11月 5日 1. イネ胚発生過程で発現するホメオボックス遺伝子の発現制御(伊藤幸博)
2. 高等動物間期核内での染色体 DNA の配置を決める分子機構(池村淑道)
- 11月 12日 1. 野生由来マウス系統を用いた行動遺伝学: 学習記憶能力とマウス愛玩化の解析(小出 剛)
2. 私の研究室における生殖細胞と ES 細胞研究の現状と展望(中辻憲夫)
- 11月 19日 1. 転写活性化を支える固くて柔らかい蛋白構造(藤田信之)
2. 画一化の制御(広海 健)
- 11月 26日 1. 昆虫における完全変態機構の進化について(湊 清)
2. これからのゲノム研究(小原雄治)
- 12月 3日 1. ショウジョウバエ FTZ-F1 と FTZ の相互作用による転写活性化機構(上田 均)
2. ユビキチン系と post-replication repair はどうつながるのか?(山尾文明)
- 12月 17日 非対称分裂における転写後調節の役割(岡部正隆)
- 12月 24日 1. 神経細胞の多様性形成の機構(斎藤哲一郎)
2. in vivo 分子イメージングのための顕微鏡の開発(徳永万喜洋)

Biological symposium

- 1月 6日 Circadian clock gene regulation in silkworm differs from *Drosophila*.
(Ivo Sauman)
タンパク質や RNA はどのようにして核外輸送されるのか?(大野陸人)
- 1月 8日 ヒストンアセチル化酵素複合体と転写制御(大羽玲子)
- 1月 11日 ニワトリ胚左右軸形成及び体節分化における PKI の役割(川上 穰)
- 1月 18日 代謝型グルタミン酸受容体は細胞外 Ca^{2+} によっても活性化される!(久保義弘)
- 2月 1日 Intracellular Traffic Control(Shahid S. Siddiqui)

- 2月 8日 筋原繊維の形成過程におけるアクチン繊維の重合制御: *C. elegans* をモデルとしたアクチン結合タンパク質(ADF/ コフィリン)の研究(斧正一郎)
- 2月 9日 Finding gene regulatory signals in vertebrates using the compact genome of Fugu(Sydney Brenner)
- 2月 15日 原子間力顕微鏡を用いたタンパク質/DNA 相互作用の解析: スクレオゾームの可視化(竹安邦夫)
- 2月 22日 Effect of Demethylation on Imprinted X-inactivation(Takashi Sado)
- 2月 23日 Effect of low concentration of guanidine hydrochloride upon the transcriptional activity of T7 RNA polymerase(Dipak Dasgupta)
Molecular Anatomy of *rrnB* P1: Transcription activation and regulation without factors besides RNA polymerase and promoter(Tamas Gaal)
Transcriptional activation mediated by the carboxy-terminal domain of RNA polymerase α subunit: Multipoint monitoring with a fluorescent probe(Olga N. Ozoline)
- 2月 24日 発生現象への数理生物学的こころみ(巖佐 庸)
- 3月 1日 Chromosome Pairing and Synapsis in Yeast(Beth Rockmill)
- 3月 5日 Olfactory Conditioning in *Drosophila*(Obaid Siddiqi)
- 3月 15日 Site-Directed Mutagenesis of Active Site of Yeast Replicative DNA Polymerases δ and ϵ (Youri Pavlov)
Patterns of Single Nucleotide Polymorphisms in Human Genes (Aravinda Chakravarti)
GEP エネルギー移動を使った新しいCa 指示薬カメレオン(宮脇敦史)
核-細胞質蛋白質輸送の分子メカニズム(今本尚子)
CIS/JAB による JAK/STAT 経路の調節機構- サイトカインシグナル伝達- (吉村昭彦)
- 3月 24日 Ploughing a lonely furrow: the curious case of the *E. coli proU* P1 promoter(J. Gowrishankar)
Physiological roles of aggregation of sigma 70 in *E. coli*(Hiroki Nagai)
GroEL is involved in maturation of *E. coli* RNA polymerase devoid of omega subunit(Dipankar Chatterji)
Gene Express: intelligent system on gene expression regulation (Nikolay A. Kolchanov)
- 3月 31日 Cytoplasmic signaling in neuronal growth cone guidance(Mu-ming Poo)
- 4月 5日 Protein Machines Directing Myosin Assembly(Henry F. Epstein)
XML のゲノム配列情報の交換と検索への応用(松田秀雄)
- 4月 20日 Ras ファミリー GTP 結合蛋白 Rap1 の活性制御 - 多様な制御機構は何を意味するか(松田道行)

- 5月10日 Generation time of HIV-1(Yun-Xin Fu)
- 5月19日 The Molecular Mechanisms of the Organelle Transport in Cells: Identification and Characterization of New Motor Proteins, KIFs(廣川信隆)
- 5月21日 匂い分子識別の神経メカニズム(森 憲作)
- 5月28日 Assembly and disassembly of protein complexes in homologous recombination(Akira Shinohara)
- 6月 4日 A new type of eukaryotic protein phosphatase required for dephosphorylation of the CTD and transcription by RNA PolymeraseII in *Saccharomyces cerevisiae*(Jack Greenblatt)
- 6月 7日 RecA 蛋白質-DNA 複合体の構造(森松克実)
- 6月 9日 酵母における非対称分裂の制御機構(入江賢児)
- 6月10日 Sonic hedgehog の Patched への結合と神経管パターンニング活性(布施直之)
- 6月16日 Survival signaling pathways in neuronal cells(後藤由季子)
- 6月24日 HIV ベクターの開発と遺伝子治療(三好浩之)
Towards Mining Gene Expression Database(森下真一)
- 6月28日 細胞内シグナルによる細胞骨格と接着の制御(貝淵弘三)
- 7月 1日 p53 ファミリー遺伝子: どう生物機能を探るか(井川洋二)
- 7月12日 真核細胞における転写制御機構: TFIID, ヒストンアセチラーゼを中心として(中谷善洋)
- 7月13日 「動物の皮膚の模様とチューリングパターン」(生物学における数理解析の意味と限界について)(近藤 滋)
- 7月14日 Conserved Mechanism of Induced Mutagenesis: Newly Emerging Mutagenic DNA polymerases(大森治夫)
- 7月27日 Genetic Analysis of TGF- β Signaling - the long and short of it (Richard W. Padgett)
- 7月28日 神経回路形成, 血管形成に働く多機能性膜分子ニューロピリン-1(川崎能彦)
- 7月29日 Asymmetric Cell Divisions and the Generation of Neuronal Diversity (William Chia)
- 8月 2日 人工生命と進化するコンピュータ(下原勝憲)
- 8月 6日 EGF レセプター下流因子 ebi は Notch シグナルを制御する(津田玲生)
- 8月 9日 Studies on Learning and memory, and Activity-dependent Development of the Visual System with Genetically Engineered Mice: Multilevel Analysis of Hippocampus-dependent Memory(利根川進)
- 8月19日 Making a difference: the asymmetric division of stem cells in the germline (Haifan Lin)
- 8月26日 線虫 *C. elegans* をモデル系とした JNK, p38MAP キナーゼカスケードによる神経系の制御機構(松本邦弘)

- 8月30日 Structure and function of human killer cell immunoglobulin receptors(前仲勝実)
- 9月1日 ミオシンIIのリン酸化による細胞骨格の制御(孤嶋慎一郎)
- 9月2日 ゼブラフィッシュ発生におけるミッドラインシグナリング(川上厚志)
- 9月13日 Directional cues that guide axons in the zebrafish brain
(John Y. Kuwada)
- 10月4日 How Cdc20 regulates cell cycle progression in *Saccharomyces cerevisiae*?
(Masaki Shirayama)
Xenopus MAP4による微小管ダイナミクスの制御機構と中心体集積因子の同定・解析(椎名伸之)
- 10月5日 Large-scale in situ hybridization systemの確立とこの方法を用いたマウス小腸、精巣で部位・細胞特異的に発現している遺伝子の検索(小宮透)
- 10月15日 Brain mechanisms of behavior(Masakazu Konishi)
- 10月20日 注意の脳内メカニズム(伊佐正)
言語習得はどこまでモジュール的か(正高信男)
- 11月1日 TGF-beta signaling in vertebrate development: Insights from zebrafish
(Alexander Schier)
Genetic analysis of forebrain development in zebrafish(Stephen Wilson)
- 11月8日 細胞のコンピュータシミュレーション: E-CELL プロジェクトの経過報告と将来展望(富田勝)
- 11月12日 Steps Common to Genetic Recombination in Eukaryotes, Prokaryotes, Archaea, and Phage(Stephen Kowalczykowski)
- 11月15日 The Multiple Genomic Origins of the Mitochondrial Proteome(C. G. Kurland)
DNA DAMAGE CHECKPOINTS AND DNA REPAIR IN BUDDING YEAST(Giovanna Lucchini)
- 11月16日 新たな転写制御段階の発見(和田忠士)
- 11月18日 DNA replication-, transcription-, and translation-coupled biases from intra-strand Parity Rule2 (A=T and G=C) do not explain inter-specific variations of DNA G+C content. (Noboru Sueoka)
- 11月22日 Transcription factories and the path of transcripts to the cytoplasm(Peter R. Cook)
- 11月24日 Strategies for analyzing large DNA clones: A Transposon-mediated insertion technique for analyzing the murine Hoxb Cluster(Timothy M. Jinks)
- 11月29日 小脳内部モデルとコミュニケーションの進化(川人光男)
- 12月13日 REGULATING CHROMOSOMAL DNA REPLICATION IN EUKARYOTIC CELLS(John F. X. Diffley)

Role of *de novo* methyltransferases *Dnmt3a* and *Dnmt3b* in development and disease (En Li)

Structural and Kinetic Mechanisms of T7 RNA Polymerase Regulation (Rui J. Sousa)

Biochemical and Physiological/Genomic Studies of Nitrogen Signalling in Enteric Bacteria (Sydney Kustu)

Integration of Regulatory Signals at Bacterial Promoters (as revealed by the study of CRP- and FNR-dependent promoters) (Steve Busby)

12月14日 左右軸を支配する新規遺伝子(横内裕二)

12月15日 DNA複製に伴うクロマチン構造維持のメカニズム(柴原慶一)

12月16日 線虫におけるRNAiとトランスポゾン転移抑制の遺伝学的解析(田原浩昭)

12月17日 遺伝子転移組換え分子機構の研究(水内 清)

H. 栄 誉

1. 細胞遺伝研究系教授小川智子は、「遺伝的組換えの分子機構の解析-特に真核細胞の特性と機能について-」により、平成11年9月25日日本遺伝学会木原賞を受賞した。
2. 系統生物研究センター教授林 茂生は、「ショウジョウバエ発生の遺伝学的研究」により、平成11年9月25日日本遺伝学会奨励賞を受賞した。
3. 国立遺伝学研究所長堀田凱樹は、遺伝学研究功績に対する褒賞として、平成11年11月3日紫綬褒章を受賞した。

I. 図書及び出版

図書委員会委員長 (1999年度) 西川 建
 図書委員会委員 (1999年度) 池村淑道・城石俊彦・徳永万喜洋
 藤田信之・太田 力・服田昌之
 上田 均・伊藤幸博

1) 蔵書数

和書	3,421冊	製本雑誌を含む
洋書	16,973冊	〃
計	20,394冊	

2) 1999年図書増加冊数

和書	25冊	製本雑誌を含む
洋書	371冊	〃
計	396冊	

3) 雑誌

和文	18種	寄贈を含む
欧文	131種	〃
計	149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49号	270	700部	国内研究機関, 大学, 試験場ほか
Ann. Rep. Natl. Inst. Genet. No. 49	186	900部	内外研究機関, 大学, 試験場ほか

5) 1999年購入外国雑誌リスト

1. Acta Crystallographica D:Biological Crystallograph
2. American Journal of Human Genetics
3. American Naturalist
4. Analytical Biochemistry
5. Annals of Human Genetics
6. Behavior Genetics
7. Biochemical Genetics
8. Biochemical and Biophysical Res.Communication
9. Biochemistry
10. Biochimica et Biophysica Acta:Gene Structure and Expression
11. BioEssays
12. Bioinformatics
13. Biophysical Journal
14. Cancer Genetics & Cytogenetics
15. Cancer Research
16. Caryologia
17. Cell
18. Chromosoma
19. Chromosome Research
20. Current Advances in Cell & Development Biology
21. Current Biology
22. Current Contents:Life Sciences
23. Current Genetics
24. Current Opinion in Cell Biology
25. Current Opinion in Genetics & Development
26. Current Opinion in Immunology
27. Current Opinion in Neurobiology
28. Current Opinion in Structural Biology
29. Cytogenetics & Cell Genetics
30. Development
31. Development, Genes and Evolution
32. Developmental Biology
33. Developmental Genetics
34. DNA sequences
35. EMBO Journal
36. European J. of Biochemistry

37. Evolution
38. Evolutionary Ecology
39. Experimental Cell Research
40. FEBS Letters
41. Gene
42. Genes & Development
43. Genes to Cells
44. Genetica
45. Genetical Research
46. Genetics
47. Genome
48. Genome Research
49. Genomics
50. Hereditas
51. Heredity
52. Human Genetics
53. Human Heredity
54. Human Molecular Genetics
55. Immunogenetics
56. Immunological Reviews
57. Int.J.Syst.Bacteriol
58. International Immunology
59. Journal of Bacteriology
60. Journal of Biological Chemistry
61. Journal of Cell Biology
62. Journal of Cell Science
63. Journal of Cellular Physiology
64. Journal of Computational Biology
65. Journal of Evolutionary Biology
66. Journal of Experimental Medicine
67. Journal of Experimental Zoology
68. Journal of General Virology
69. Journal of Genetics
70. Journal of Heredity
71. Journal of Immunology
72. Journal of Medical Genetics
73. Journal of Molecular Biology

74. Journal of Molecular Evolution
75. Journal of Neuroscience
76. Journal of Neurogenetics
77. Journal of Virology
78. Korean Journal of Genetics
79. Lancet
80. Mammalian Genome
81. Mechanisms of Development
82. Microbiology
83. Microbiology and Molecular Biology Reviews
84. Microbial & comparative genomics
85. Molecular and Cellular Neuroscience
86. Molecular & General Genetics
87. Molecular Biology and Evolution
88. Molecular Biology of the Cell
89. Molecular Endocrinology
90. Molecular Microbiology
91. Molecular and Cellular Biology
92. Mutation Research
93. Nature Biotechnology
94. Nature Genetics
95. Nature medicine
96. Nature Structural Biology
97. Nature
98. Neuron
99. New England Journal of Medicine
100. Nucleic Acids Research
101. Oncogene
102. Plant Journal
103. Plant Molecular Biology
104. Plant Physiology (with Plant Cell)
105. Plant Science
106. Plasmid
107. Proc. Nat. Acad. Sci.
108. Proc. of the Royal Society: ser. B (Biological Science)
109. Protein Engineering
110. Protein Science

111. **Proteins**
112. **Quarterly Review of Biology**
113. **Quarterly Reviews of Biophysics**
114. **RNA**
115. **Radiation Research**
116. **Research in Microbiology+Res. in Virology**
117. **Science**
118. **Scientific American**
119. **Somatic Cell & Molecular Genetics**
120. **Structure**
121. **Theoretical & Applied Genetics**
122. **Theoretical Population Biology**
123. **Trends in Biochemical Sciences**
124. **Trends in Cell Biology**
125. **Trends in Genetics**
126. **Trends in MicroBIOLOGY**
127. **Trends in Neurosciences**
128. **Trends in Plant Science**
129. **Virology**
130. **Virus Research**
131. **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, 城石俊彦
理事	堀田凱樹, 三浦謹一郎, 山口彦之, 野村達次, 石濱 明, 重藤學二, 中辻憲夫
評議員	大島長造, 田島彌太郎, 斎藤日向, 高垣善男, 松永 英, 吉野達治, 黒田行昭, 館野義男
監事	今村 孝, 池村淑道, 桂 勲
顧問	森脇大五郎

XI. 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. 年度別入学者数

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	平成 10年度	平成 11年度
入学者数	9(1)	5(4)	8(3)	11(2)	13(1)	8(1)	9(2)	9(1)	11(5)	11(3)	14(3)

()は女子で内数

F. 修士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、特に優れた研究業績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	平成 9年度	平成 10年度
課程博士 (理学)	6	4	9	7	12	6	8	8
論文博士 (理学)	0	0	1	0	0	2	0	2

H. 正規生 37名

入学時期	氏名	所属講座	所内所属研究部門等
8年4月	磯部拓	細胞	系統生物研究センター 哺乳動物遺伝研究室
	浜太郎	個体	系統生物研究センター 発生工学研究室
9年4月	上村隆俊	集団	集団遺伝研究系 進化遺伝研究部門
	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
	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
10年4月	大島英之	分子	RIセンター
	金城玲	分子	生命情報研究センター 大量遺伝情報研究室
	坂本修一	個体	系統生物研究センター 発生工学研究室
	高山優子	細胞	細胞遺伝研究系 微生物遺伝研究部門
	只木敏雅	分子	分子遺伝研究系 変異遺伝研究部門
	立田大輔	細胞	細胞遺伝研究系 細胞遺伝研究部門

入学時期	氏名	所属講座	所内所属研究部門等
	千原 崇 裕	個 体	系統生物研究センター 無脊椎動物遺伝研究室
	野 村 扶	分 子	分子遺伝研究系 分子遺伝研究部門
10年10月	佐藤 由美子	分 子	構造遺伝学研究センター 超分子機能研究室
	佐波 理 恵	個 体	系統生物研究センター 発生工学研究室
	Bong Yong-Sik	応 用	総合遺伝研究系 人類遺伝研究部門
11年4月	阿 川 泰 夫	個 体	個体遺伝研究系 形質遺伝研究部門
	飯 田 哲 史	細 胞	細胞遺伝研究系 微生物遺伝研究部門
	石 原 宏	応 用	総合遺伝研究系 人類遺伝研究部門
	大 蔵 清 貴	個 体	構造遺伝学研究センター 構造制御研究室
	太 田 欽 也	集 団	生命情報研究センター 遺伝情報分析研究室
	岡 彩 子	細 胞	系統生物研究センター 哺乳動物遺伝研究室
	須 佐 太 樹	分 子	構造遺伝学研究センター 超分子機能研究室
	辻 本 直 美	応 用	総合遺伝研究系 人類遺伝研究部門
	中 山 貴 博	個 体	個体遺伝研究系 形質遺伝研究部門
	松 野 元 美	個 体	個体遺伝研究系 発生遺伝研究部門
	峯 田 克 彦	集 団	生命情報研究センター 遺伝情報分析研究室
11年10月	萱 嶋 泰 成	個 体	個体遺伝研究系 形質遺伝研究部門
	進 藤 一 泰	分 子	構造遺伝学研究センター 超分子構造研究室
	Ahn Byoung-Ohg	応 用	系統生物研究センター 植物遺伝研究室

国立遺伝学研究所年報(50周年記念)第 50 号

平成 12 年 4 月 発行

発行者 堀 田 凱 樹

国立遺伝学研究所内

編集者 佐々木 裕之・倉田 のり

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 1,143

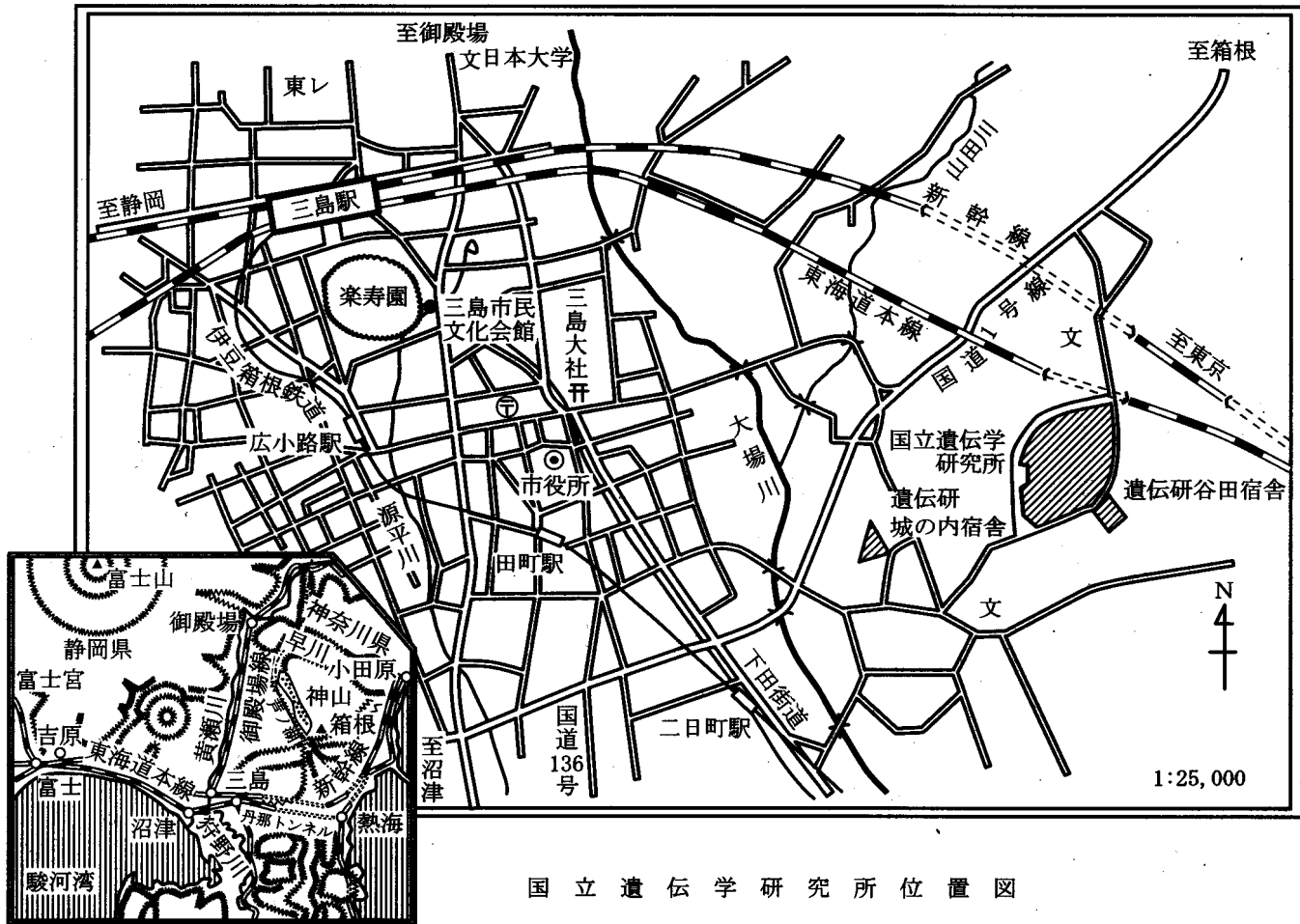
発行所 国立遺伝学研究所

<http://www.nig.ac.jp/home-j.html>

〒 411-8540 静岡県三島市谷田 1,111

TEL 0559(81)6718

FAX 0559(81)6719



国立遺伝学研究所位置図