

国立遺伝学研究所年報

第49号 平成10年



生命情報研究センター

国立遺伝学研究所

1999年発行

目 次

- ・ 巻 頭 言
- ・ 研究室一覽
- ・ 研究の概要
- A. 分子遺伝研究系
 - A-a. 分子遺伝研究部門
 - A-b. 変異遺伝研究部門
 - A-c. 核酸化学研究部門
- B. 細胞遺伝研究系
 - B-a. 細胞遺伝研究部門
 - B-b. 微生物遺伝研究部門
 - B-c. 細胞質遺伝研究部門
- C. 個体遺伝研究系
 - C-a. 発生遺伝研究部門
 - C-b. 形質遺伝研究部門
 - C-c. 生理遺伝研究部門
- D. 集団遺伝研究系
 - D-a. 集団遺伝研究部門
 - D-b. 進化遺伝研究部門
 - D-c. 理論遺伝研究部門
- E. 総合遺伝研究系
 - E-a. 人類遺伝研究部門
 - E-b. 応用遺伝研究部門
- F. 系統生物研究センター
 - マウス系統研究分野
 - F-a. 哺乳動物遺伝研究室
 - F-b. 発生工学研究室
 - イネ系統研究分野
 - F-c. 植物遺伝研究室
 - 大腸菌系統研究分野
 - F-d. 原核生物遺伝研究室
 - 無脊椎動物系統研究分野
 - F-e. 無脊椎動物遺伝研究室
- G. 生物遺伝資源情報総合センター
 - G-a. 系統情報研究室
 - G-b. 生物遺伝資源情報研究室
- H. 構造遺伝学研究センター
 - H-a. 生体高分子研究室
 - H-b. 超分子機能研究室
 - H-c. 構造制御研究室
 - H-d. 超分子構造研究室
- I. 生命情報研究センター
 - I-a. 遺伝情報分析研究室
 - I-b. 大量遺伝情報研究室
 - I-c. 遺伝子機能研究室
 - I-d. 分子分類研究室
- J. 放射線・アイソトープセンター
- K. 実験農場
- ・ 海外における活動
- ・ ほかの機関における講義
- ・ 共同研究事業
- ・ 研究材料・研究情報の収集と保存
- ・ 行 事
- ・ 庶 務
- A. 沿 革
- B. 組織（機構と職員）
- C. 土地及び建物
- D. 予 算
- E. 奨学寄附金・産学連携等研究費
- F. 日 誌
- G. 諸 会
- H. 栄 誉
- I. 図書及び出版
- 付：財団法人遺伝学普及会
- X. 総合研究大学院大学生命科学研究科遺伝学専攻の概要

Ⅰ. 巻 頭 言

ここに国立遺伝学研究所年報第49号(平成10年度)をお届けする。今年度は前所長の時代からの研究所の改革が着実に実を結び、最先端の研究を推進して世界をリードする研究所への脱皮がようやく現実のものとなり始めた1年間であった。一方、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」について、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など、研究所をめぐる諸般の情勢がめまぐるしく変動する年でもあった。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必要があり、研究所をあげて努力する所存である。また、平成11年6月には、当研究所の創立50周年を迎えることとなる。それを期に企画する記念事業として、記念講演会、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努力をするべく、石浜 明教授を委員長とする創立50周年記念事業のための準備委員会で検討を行っている。

平成10年1月から12月の期間における組織の変更としては、個体遺伝研究系に初期発生研究部門が、総合遺伝研究系に脳機能研究部門が設置された。教官の人事異動としては、永年研究所の発展に貢献された今村 孝教授(人類遺伝研究部門)および沖野啓子教授(育種遺伝研究部門)が停年退官された。また、企画調整主幹の後任には小川智子教授(細胞遺伝研究部門)が併任した。さらに荒木弘之(微生物遺伝研究部門)教授が大阪大学から、佐々木裕之教授(人類遺伝研究部門)が九州大学から着任し、また小原雄治教授が構造遺伝学研究センターから生物遺伝資源情報総合センターの生物遺伝資源情報研究室へ配置換え、また城石俊彦教官(哺乳動物遺伝研究室)が教授に昇任するなどの人事異動があった。また、細谷俊彦助手(発生遺伝研究部門)、上村陽一郎助手(微生物遺伝研究部門)、多田 高助手(発生工学研究室)が採用されてセンターと研究部門の陣容が充実された。一方、才 宏偉助手(育種遺伝研究部門)は、(社)日本飼料作物種子協会へ、原 弘志助手(微生物遺伝研究部門)は埼玉大学理学部助教授へ、竇来 聡助教授(人類遺伝研究部門)は総合研究大学院大学先端科学研究科教授へ、白吉安昭助手(発生工学研究室)は鳥取大学医学部助教授へ、秋葉俊彦助手(超分子構造研究室)は農林水産省特別研究員にとそれぞれ転出した。

管理部では、4月に田村光男会計課長が岩手大学に転任となり、かわって小関賢三が着任、7月に當麻 均庶務課長が岡崎国立共同研究機構に転任となり、かわって小林 彰が着任した。

総合研究大学院大学生命科学研究科遺伝学専攻については、後期博士課程学生32名の教育指導を行い、あらたに11名が入学、8名が理学博士の学位を取得した。

その他、COE 関係では外国人研究員 5 名、博士研究員 8 名が採用されて研究と教育とを行った。

以上述べたように、研究所での研究と機構の改革とは順調に推移したと言える。特に新設され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る。これらの新しい動向を盛り込んだ第三期将来計画の策定も終了し、創立 50 周年を迎えて新時代に対応する新しい研究所としての発展を期している。「遺伝学」は生命科学のあらゆる分野を統一する基礎としての学問であるために、古い歴史を持ちながらも常に新しい研究分野を開拓していける可能性を持っている。しかしそれは、意識的に努力を重ねて自己改革を行っていかなければ沈滞の恐れがあるということをも意味する。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ている。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。

堀 田 凱 樹

II. 研究室一覽

(平成10年12月31日現在)

研究系等	研究部門等名	教授	助教授	助手
分子遺伝研究系 研究主幹(併) 石濱 明	分子遺伝研究部門	石 濱 明		藤 田 信之 光 澤 浩 木 村 誠
	変異遺伝研究部門		山 尾 文 明	岸 野 努 清 野 浩 明
	核酸化学客員研究部門	富澤純一(非) 寶 来 聰		
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	大 坪 榮 一 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 服 田 昌之 岡 部 正 隆 細 谷 俊 彦
	形質遺伝研究部門	廣 瀬 進	村 上 昭 雄	湊 清 山 田 正 明 上 田 均
	初期発生研究部門			
	生理遺伝客員研究部門	半 田 宏	金 谷 重 彦	
集団遺伝研究系 研究主幹(併) 池村 淑道	集団遺伝研究部門			高 野 敏 行
	進化遺伝研究部門	池 村 淑 道	齊 藤 成 也	天 前 豊 明
	理論遺伝客員研究部門	原田朋子(非) (太田) 北野宏明(非)		
総合遺伝研究系 研究主幹(併) 小川 智子	人類遺伝研究部門	佐 々 木 裕 之	藤 山 秋 佐 夫	
	育種遺伝研究部門			
	脳機能研究部門			
	応用遺伝客員研究部門	長 門 康 郎 辻 省 次		

研究系等		研究部門等名		教授	助教授	助手
研	系統生物 研究センター センター長(併) 中辻憲夫	マウス系統 研究分野	哺乳動物 遺伝研究室	城石俊彦		小出 剛
			発生工学 研究室	中辻憲夫		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
究	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
施	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
		超分子構造研究室			白木原康雄	
		遺伝子回路研究室				
設	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		五條堀 孝		池尾 一穂 今西 規
		大量遺伝情報研究室		西川 建		太田 元規
		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
設	放射線・アイト-プ センター長(併) 定家義人				定家義人	
	実験圃場 圃場長(併) 倉田 のり					野々村賢一

III. 研究の概要

A. 分子遺伝研究系

A-a. 分子遺伝研究部門

分子遺伝研究部門では、本年も3つの課題、「原核生物における転写装置の機能制御と転写の包括制御機構」、「真核生物の転写装置の分子解剖」及び「ウイルスの転写・複製装置の構造-機能相関」に沿った研究を継続した。これらの研究には、教授・石浜 明、助手・藤田信之、光澤 浩、木村 誠の4名のスタッフに加えて、科学技術振興事業団研究員・本田文江、P.R.SUBBRAYAN、A.Azam TALUKDER、櫻井仁美、同技術員・寺社下美樹、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)、Wjatschesslaw A.WLASSOFF(ロシア科学アカデミー細胞遺伝研究所)、Dipak DASGUPTA(インド・サハ核物理学研究所)、文部省流動研究員・前田広人(鹿児島大・水産)、日本学術振興会外国人特別研究員・Jung-Shan HWANG、大学院生・安井 潔、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)、渡辺貴斗(東大大学院・農学生命科学)、沼津高専専攻科学生・岡本拓人、研究補助員・遠藤静子、鈴木 久子、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Dipankar CHATTERJI、J.GOWRISHANKARとVijaya GOPAL (Centre for Cellular and Molecular Biology, Hyderabad, India)、文部省国際交流事業若手外国人研究者短期研究プログラムによるFrederic COLLAND(Pasteur Institut, Paris, France)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)「RNAポリメラーゼの金属をとりまく局所の構造と機能」(石浜)、基盤研究(B)(2)(代表者、大阪大学・京極好正)「RNAポリメラーゼと転写因子の構造解析」(藤田)、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の解析」(光澤)、特定領域研究(A)「RNAポリメラーゼIIと相互作用をもつ蛋白質因子の単離とその機能の解析」(木村)、奨励研究(A)「分裂酵母RNAポリメラーゼIIサブユニットを中心としたタンパク質相互作用の解析」(木村)。また、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。「定常期における大腸菌の加齢現象の研究」(大阪医

科大学・和田 明),「増殖定常大腸菌 RNA ポリメラーゼの主要シグマ因子の研究」(東京大学・田中 寛),「微生物の環境適応の分子機構」(鹿児島大学・前田広人),「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),「転写促進の協調性に関する生化学的研究」(東海大学・田中正史),「インフルエンザウイルスの転写・複製機構」(北里大学・水本清久).

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が,新規3年計画に入り,本年は,D.Chatterji 博士(細胞分子生物学センター)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継続した. 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 サブユニットの分子解剖:ドメイン間リンカーの構造と機能:藤田信之,遠藤静子,石浜 明

大腸菌 RNA ポリメラーゼの サブユニットは,サブユニット集合に必要なN末端ドメイン,転写因子およびUP エLEMENTによる転写活性化に必要なC末端ドメイン,および両者をつなぐ12-14 アミノ酸のリンカー領域からなっている. リンカー領域は溶媒中に露出しており,トリプシンやV8 プロテアーゼによって優先的に切断を受ける. NMR による分析からも,この領域の主鎖の構造が高い柔軟性を持っていることが示されている. C末端ドメインは,転写因子結合部位やUP エLEMENTの位置,個数に対応して,転写開始点のおよそ40 塩基上流から100 塩基上流までの広い範囲のDNA と相互作用することがわかっており,このような多様性はドメイン間リンカーの柔軟性に負うところが大きいと考えられる. この点を詳細に検討するため,リンカー領域の長さおよび配列を変えた変異体を多数作成し,CRP 依存およびUP エLEMENT依存の転写活性化に対する影響を調べた.

リンカーの中央に3アミノ酸の欠失変異を導入すると,CRP による lacP1 プロモーターの活性化は野生型の約50%まで低下し,6アミノ酸以上欠失させると全く活性化が見られなくなった. UP エLEMENTによる rrnBP1 プロモーターの活性化も,欠失の長さに応じて徐々に低下したが,9アミノ酸を欠失させても,なお30%程度の活性化能を保持していた. 一方,リンカーの長さを変えずに配列を変化させたものは,程度の差はあれ,どれも野生型に比べて活性化能の低下が見られた. とりわけ,リンカー領域が強い両親媒性ヘリックスを作るようにデザインされたものは,全く活性化を示さなかった. また,リ

ンカー中央の10 アミノ酸をすべてグリシンに置換したものでも、顕著な活性の低下が見られた。これらの結果から、転写の活性化には十分な長さのリンカーが必要であること、リンカーが強固な構造をとると機能が損なわれること、リンカーの機能には主鎖の柔軟性だけでなく側鎖(配列)の何らかの寄与があることが示唆された。

(2)大腸菌 RNA ポリメラーゼ サブユニットの分子解剖：サブユニット間相互作用部位の同定：野村 扶，藤田信之，石浜 明

大腸菌では約100種類の転写調節因子が同定されている。それらの転写因子は、DNA上に塩基配列特異的に結合するとともに、RNAポリメラーゼとも相互作用をし、そのプロモーター部位での結合を安定化させたり転写開始を加速することが知られている。転写因子がRNAポリメラーゼと相互作用する部位として、クラスI転写因子によるサブユニットのC末端ドメイン及びクラスII転写因子によるシグマ因子等が知られている。一方、RNAポリメラーゼの転写活性中心やRNA合成の基質結合部位を形成していると考えられている。及び「サブユニットについては、転写伸長過程や転写終結過程に影響を及ぼす因子としてNusA, GreA因子等が知られており、その作用機構の解明が進められている。また、複製開始因子として知られるDnaA蛋白がRNAポリメラーゼサブユニットに特異的に結合することが明らかになり、複製開始に必要とされる転写活性化に働くことが示唆されている。このように、RNAポリメラーゼの及び「サブユニットにおいても、転写調節に関わる因子の標的となり、転写を制御していることが示唆されている。

大腸菌RNAポリメラーゼについては、我々はすでにサブユニット結合部位の詳細なマッピングを行ってきた(Nomura et al., 1999)。サブユニット分子解剖の一環として、またサブユニットと相互作用する因子の検索と接点同定を目的とし、以下の2つの方法を用いて、サブユニット結合蛋白質の同定を試みた。まず第一に、ファージ・ディスプレイ法である。ファージゲノム外殻遺伝子内にランダムな塩基配列を挿入することにより、外殻蛋白質の一部にランダムなアミノ酸配列をもつファージ群を作製した。固定化した目的蛋白質(RNAポリメラーゼあるいはサブユニット単独)とファージのライブラリーとを混合し、ランダム配列を介して相互作用を行うファージを回収し、そのランダム配列領域のDNA塩基配列を決定することで、特異的に相互作用をするアミノ酸配列を同定し、その上で、その配列をもつ蛋白質を大腸菌ゲノムから探索するものである。第二の方法はグルタチオンSH転移酵素(GST)と融合させたサブユニットを、大腸菌に非誘導条件下で発現させ、GST結合支持体を用いて複合体を回収する、いわゆるGST pull-down assayにより、細胞内でRNAポリメラーゼあるいはサブユニットに結合している因子を同定する方法である。これらを併用し、スクリーニングを開始した。

(3)大腸菌 RNA ポリメラーゼ「サブユニットの分子解剖：サブユニット間相互作用部位の同定：片山 映，藤田信之，石浜 明

大腸菌 RNA ポリメラーゼは、基本的な RNA 合成能を持つコア酵素()に サブユ

ニットが結合することで、プロモーター認識能を持つホロ酵素となる。'サブユニットはRNAポリメラーゼの中で最も大きな塩基性のサブユニット(1407アミノ酸残基長)で、単独でDNA結合活性があり、RNAの合成にも関与していることが示唆されている。我々は先に、'サブユニット単独でもサブユニットと結合することを示し、またサブユニットと結合する'断片を同定した。従って、ホロ酵素形成時にサブユニットの結合で主要な役割をしていると考えられた。しかし、他のサブユニットに比べて、'サブユニットの分子解剖は大変遅れている。そこで、'サブユニットと他のサブユニットとの相互作用に関係する部位と、分子内におけるドメイン間の相互作用に関係する部位の詳細なマッピングを行なった。まず、サブユニット蛋白間接点を同定するために、トリプシンによる'サブユニットのプロテアーゼマッピングを行なった。'単独では、初期の切断は、アミノ酸残基800-950の領域で起こり、その結果生じたN末端800-950アミノ酸断片はその後プロテアーゼ抵抗性を示した。更に消化条件をきつくすると、アミノ酸残基350前後で切断されたN末端約350アミノ酸断片と、ポリペプチド鎖中間部350-(800-950)領域の断片が得られ、どちらもプロテアーゼ抵抗性を示した。次に、'単独でプロテアーゼ処理して得られた断片と、及び'サブユニットを混合し、コア酵素の再構成を行なった。その結果、N末端800-950アミノ酸断片とC末端450-600アミノ酸断片が、₂複合体に結合し、コア酵素様の構造体を形成した。同様に、プロテアーゼ処理'断片混合物を用いて、⁷⁰サブユニットとの結合能を調べたところ、N末端900-950アミノ酸断片、N末端約350アミノ酸断片とC末端450-500アミノ酸断片の結合が確認された。これらの結果を参考に、各種'サブユニット断片の発現系を作製し、₂及び⁷⁰サブユニットとの相互作用部位のマッピングを行った。その結果、₂サブコンプレックスと相互作用する部位として、N末端領域1-345アミノ酸残基、中間領域515-842アミノ酸残基とC末端領域1141-1407アミノ酸残基を確認した。また、⁷⁰サブユニットと相互作用する部位としてN末端領域151-345アミノ酸残基、中間領域515-842アミノ酸残基とC末端領域1141-1407アミノ酸残基を確認したが、この内、高塩濃度下(300mM KCl)でも相互作用する、強い部位として、201-345アミノ酸残基の領域を確認した。

(4)大腸菌RNAポリメラーゼ・シグマサブユニットの機能の比較：前田広人，藤田信之，寺社下美樹，野村 扶，石浜 明

大腸菌では、7種類のシグマ因子が同定されているが、増殖期には、⁷⁰、^N、^Fの3種類だけが存在している(Jishage et al., 1997)。しかし、各種のストレスが掛かった時や、増殖を停止し定常期に入ると、他の4種類のシグマ因子(^S、^H、^E、^{FecI})が出現する。従って、細菌成育の環境に応じて、7種類のシグマ因子が、さまざまな組み合わせで、一定分子数の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に違いない。その実態を知る手掛かりとして、試験管内で、純化したシグマ因子7種類を混合し、コア酵素への結合力の差を比較することとした。シグマ混合転写実験からは、

標準反応条件では、 σ^{70} が優先的に利用されるが、定常期の菌体内環境に近い条件で調べると、 σ^S などのストレス応答遺伝子を転写するシグマサブユニットの利用効率が上昇することを示唆された(Kusano et al., 1997など)。今回は、シグマ混合条件でのホ口酵素形成量を直接実測する、初めての試みを行った。7種類のシグマサブユニットを当量ずつ混合し、コア酵素との混合比を変えながら、7種類のホ口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。我々の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、シグマサブユニット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。我々が発見したRsd(Jishage and Ishihama, 1998)は、そのひとつの可能性がある。

一方、大腸菌7種類のシグマサブユニットのプロモーター認識特性については、5種類、 σ^{70} , σ^N , σ^F , σ^S , σ^H について解析されてきた。 σ^{70} と σ^S は、比較的広い範囲のプロモーターを認識し、しかも両者のいずれでも認識されるプロモーターが多いことが分かっている。今回、残された2種類のシグマ因子 σ^E と σ^{FecI} のプロモーター認識特性を調べた。 σ^E と σ^{FecI} は、それぞれ大量発現し精製した。純化シグマサブユニットを利用して、これまでin vivo実験で、 σ^E と σ^{FecI} によって転写されることが分かっている数少ない遺伝子から、rpoSとfecA遺伝子プロモーターを利用してin vitroでの転写を調べた。その結果、これら2種類のシグマサブユニットは、他のストレス応答遺伝子転写のシグマサブユニットと同様に厳格なプロモーター認識能をもっていることが判明した。

(5)大腸菌 RNA ポリメラーゼ・シグマサブユニットの機能制御：寺社下美樹，石浜 明
大腸菌が定常期に入ると、増殖関連遺伝子群の転写に必要な σ^{70} が、存在しながら機能しない理由を探索する中で、定常期にのみある蛋白質が σ^{70} に結合していることを発見し、その結果、転写が抑制されることから、これをシグマ制御因子(regulator of sigma D = Rsd)と命名した(Jishage and Ishihama, 1998)。Rsdの生体内機能を解明する目的の研究の一環として、まず定常期での合成機構を解析した。Rsd遺伝子転写産物を調べた結果、 σ^S によって転写される上流プロモーター(P1)と、 σ^{70} によって転写される下流プロモーター(P2)が同定された。P2プロモーターはGEARBOXプロモーターに類似した配列を示し、事実rsdプロモーター-lacZ融合遺伝子の活性は、定常期で上昇し、また増殖速度に反比例して増加し、GEARBOXプロモーターの特徴を示した。

σ^{70} 及び σ^S 依存のプロモーターとlacZ融合遺伝子を作製し、Rsd量の変化がそれらの活性に及ぼす影響を系統的に調べた。(i)Rsd遺伝子破壊株では σ^S 依存のプロモーター活性は減少、 σ^{70} 依存のプロモーター活性は増加した。(ii)Rsdを過剰発現させた株では σ^S 依存のプロモーター活性は増加、 σ^{70} 依存のプロモーター活性は減少した。(iii)Rsd遺伝子破壊株での σ^S 依存のプロモーター活性の減少は、Rsdを発現することで増加した。また同様に、(iv)Rsd遺伝子破壊株での σ^S 依存のプロモーター活性の減少は、 σ^S

を発現させることで部分的に回復した。これらの現象はいずれも、Rsdが σ に結合し、活性成分の有効濃度を低下させ、その結果コア酵素に余裕が生まれ、 σ ホク酵素が増加すると考える仮説によく一致する。大腸菌が対数増殖期から定常期へ移行する際、 σ が合成され、間のコア酵素に対する競合が起こることが予想される。Rsdが σ と結合することで σ とコア酵素との結合が優先され、 σ 依存の定常期の遺伝子発現が促進される、つまりRsdは生体内のホク酵素の相対濃度を調節している因子である可能性が示唆された。

(6)大腸菌 RNA ポリメラーゼ・シグマサブユニットの DNA 認識接点の同定：Frederic COLLAND, 藤田信之, 石浜 明, Annie KOLB¹(¹Institut Pasteur)

RNA ポリメラーゼ サブユニットは、遺伝子プロモーターの認識に直接関与している。大腸菌では、7種類のサブユニットの存在が知られ、それぞれは、特定遺伝子集団の転写に関与していると推定されているが、それらサブユニット間には、保存された共通配列が4箇所存在している。それら各領域の機能は、遺伝解析によって進められてきたが、化学的ヌクレアーゼ-プロテアーゼ活性をもつFeBABEが開発されたことで、サブユニット各領域とプロモーター各塩基対との接点を直接同定することが可能となった。カリフォルニア大学から来たJeff OWENSと、パーミンガム大学からきたJon BOWNは、⁷⁰保存領域4箇所およびその周辺に満遍なく、1ヶ所だけCysを配置したsingle Cys変異体にFeBABEを結合し、プロモーターと結合した後、還元条件での切断点から、プロモーターとの接点を同定した(Owen et al., 1998a; Bown et al., 1999)。また、同じシステムを利用して、コア酵素サブユニット上の⁷⁰サブユニットの接点の同定にも成功した(Owens et al., 1998b)。本年は、パスツール研究所から来たFred COLLANDが、転写実験から⁷⁰類似のプロモーター認識特性をもつと我々が予測した σ について解析した。⁷⁰について改変した部位に対応するアミノ酸残基をCysに置換した変異体コレクションを作製し、FeBABE法を用いてプロモーター切断点のマッピングを行った。その結果、 σ では、プロモーター-35とはあまり強い接触がないが、転写開始点下流との接触が強いことが示唆された(Colland et al., 1999)。この観察結果は、 σ 支配下プロモーターの-35領域の保存性が低いこととよく対応する。

(7)大腸菌 RNA ポリメラーゼ サブユニットとDNA UPエレメントとの相互作用：蛍光プローブを用いた解析：Olga N.OZOLINE, 藤田信之, 石浜 明

大腸菌 RNA ポリメラーゼ サブユニットは、クラスI転写因子やDNA UPエレメントと相互作用する転写制御ドメインである。各種転写因子やUPエレメント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ていたが、変異による解析は、間接的影響を除外できない。Cys残基を1ヶ所にもつ変異体サブユニットのCys部位にFeBABEを導入し、その蛋白質や核酸切断活性を利用して、初めて、サブユニット-UPエレメントや、二量体サブユニット間およびサブユニット内部の接点の直接同定に成功した(Murakami et al., 1997; Miyake et al., 1998)。同じsingle Cys変異体サブ

ユニットは、蛍光プローブを、各部位に導入するにも有効である。FMMA(fluoresceine monomercury acetate)を、各種のsingle Cys変異体 サブユニットに結合し、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エレメントと特異的相互作用をする確証が得られた(Ozoline et al., 1998a; 1998b)。加えて、遺伝解析では、まだ検出されていない領域でも、DNAと相互作用をすることが示唆された。

cAMP受容蛋白質(CRP)は、プロモーターDNA上で、RNAポリメラーゼサブユニットまたはサブユニットと相互作用をすることが分かっているが、今回、高感度蛍光プローブを利用することで、DNAなしにも溶液中で、蛋白質間の相互作用があることが判明した。

(8) 大腸菌ヌクレオイド結合蛋白質のDNA結合活性と細胞内濃度の解析: A. Azam TALUKDER, 石浜 明

大腸菌ゲノム全体を対象として転写制御を考える時、ゲノムDNAの存在様式を無視できない。その為に、転写装置の構造・機能解析に加えて、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。本年度は、12種類のヌクレオイド蛋白質を精製し、そのDNA結合配列認識特性と結合力を比較した。その幾つかについては、単独で解析した例はあるが、全てを同一条件で比較したのは、初めての研究である。また、これら全てについて、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。ヌクレオイドの構成蛋白質は、細胞増殖時期に応じて変化する様相が判明し、この変化が転写の包括制御に影響することが予測された。今回解析した蛋白質は、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), 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)の12種類である。

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, 木村 誠, 石浜 明, 岩田 晃¹, 上田 進¹(¹日本生物科学研究所)

分裂酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)RNAポリメラーゼIIの10種類のサブユニットと推定される蛋白成分について、我々はすでにcDNAおよび遺伝子を単離しDNA配列を決定した(Sakurai and Ishihama, 1997)。本年は、出芽酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)では検出されていたサブユニット4及びサブユニット9に対応する蛋白の

探索を行った。サブユニット9については、既に単離されていた出芽酵母、ヒトおよびショウジョウバエのサブユニット9の保存配列を基に、サブユニット9のcDNAおよび遺伝子と推定されるものを単離できた。そこで、この遺伝子がコードする蛋白質を大腸菌で大量発現・精製後、抗体を作成した。この抗体を用いて、精製RNAポリメラーゼIIをウエスタンブロットで調べた結果、この蛋白の存在が確認できたので、これを分裂酵母のRpb9と同定した。SDSポリアクリルアミド上で、Rpb9はRpb8及びRpb11とほぼ同じ位置に重なって泳動するために、従来は検出できなかったことが解った(Sakurai et al., 1998)。一方、1998年にはヒト及び植物のサブユニット4遺伝子が単離されたので、ヒトのRPB4の全アミノ酸配列を用い分裂酵母のDNAデータバンク(PomBase)で相同配列の検索を行った。その結果、コスミドc337にサブユニット4の相同蛋白がコードされていることが解った。その配列をもとにcDNAおよび遺伝子を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、ヒトおよび植物のサブユニット4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は出芽酵母より高等真核生物に似ていた。また、Rpb4をコードする遺伝子は3つのイントロンがあり、クロモゾーム2にコードされていた。現在、大腸菌で発現したRpb4の抗体を作成し、その発現と所在の確認をしている。

(2) 分裂酵母RNAポリメラーゼIIのサブユニット遺伝子の転写プロモーターの解析：櫻井仁美，石浜 明

分裂酵母RNAポリメラーゼIIに含まれる12個のサブユニットの遺伝子が揃ったので、それぞれの発現様式を知る第一段階として転写開始点を決定した。mRNAのキャップ構造を利用したオリゴキャップ法で転写開始点の解析を行った。その結果、転写開始点は開始コドンの上流-18から-214のいろいろな位置にあった。そのうちrpb1, rpb2, rpb3およびrpb11の転写開始点は、-21, -41, -18及び-27と翻訳開始点の極近傍であった。これらはそれぞれ大腸菌のRNAポリメラーゼの', , およびに対応するサブユニットである。一方、rpb4, rpb5, rpb7およびrpb8は、-153, -116, -214および-135と開始コドンの100bp以上上流から転写されていた。このうち、rpb4とrpb7の遺伝子産物はサブコンプレックスを作ると考えられている。また、rpb6, rpb9, rpb10およびrpb12は、それぞれ-54, -73, -49および-96と-79から転写が始まっていた。このmRNA上の5'-UTRの長さの違いは発現様式の違いを反映している可能性がある。次に、決定した転写開始点とTATA配列との関係を調べた。その結果、転写開始点が一箇所であったrpb3, rpb4, rpb5, rpb6, rpb7およびrpb10はTATA配列を持つことが解った。上記以外の遺伝子は複数の転写開始点が約30bの限られた領域に点在していた。それらの開始点(rpb12以外)の上流100b以内に典型的なTATA配列はなかった。また、既知の

転写調節因子の結合配列の検索及びそれぞれのプロモーター配列内に共通して存在する配列を検索し、転写調節に関与しているシス因子の候補をいくつか見出すことができた。

(3) 分裂酵母 RNA ポリメラーゼのサブユニットの分子解剖：Rpb2 の活性中心：Wjatschesslaw A. WLASSOFF, 木村 誠, 石浜 明

真核生物の RNA ポリメラーゼはいずれも 10 種類以上のサブユニットから形成されているが、ここのサブユニットの分担機能の同定、機能地図の解析は、原核生物の RNA ポリメラーゼに比べて大変遅れている。今回、その手始めに、RNA 合成の触媒活性中心の形成に関与していると示唆されている、サブユニット 2 (Rpb2) の機能域の分析を行った (Wlassoff et al., 1999)。この目的のために、合成途中の RNA 3' にだけに、光照射で蛋白質にクロスリンクされ易いヌクレオチドアナログを取り込ませ、RNA ポリメラーゼ中での RNA 伸長端の局在を同定することとした。転写開始直後のオリゴヌクレオチド及び転写開始から伸長過程に移行して合成された約 25 塩基の RNA のそれぞれ 3' 端にヌクレオチドを取り込ませ、紫外線照射で RNA ポリメラーゼに共有結合させたのち、さらに放射性ヌクレオチドで 3 塩基伸長させた複合体を調整した。SDS ゲル電気泳動でサブユニットを分離すると、大きな 2 種類のサブユニット、Rpb1 と Rpb2 だけに放射能が検出された。これらに対応する大腸菌 RNA ポリメラーゼのサブユニット上に、活性中心が存在することと良く対応している。こうして転写途中の RNA を結合して単離した Rpb1、Rpb2 をプロテアーゼで処理し、SDS ゲル電気泳動で分画して、RNA 結合断片を多数単離した。それぞれの N 端アミノ酸配列の分析から、RNA は、Rpb2 の 825 - 917 アミノ酸残基領域に最も多く結合し、それ以外には、Rpb1 の 614 - 917 残基と Rpb2 の 298 - 535 残基領域にも少量検出された。サブユニット上での RNA 伸長活性中心領域の分布も、大腸菌のサブユニットと良く似ていた。

(4) 組換えサブユニット蛋白質による分裂酵母 RNA ポリメラーゼ II の培養昆虫細胞内での再構成：木村 誠, 石浜 明

培養昆虫細胞内で分裂酵母 RNA ポリメラーゼ II の組換えサブユニット蛋白質を発現し、細胞内での再構成を試みた。この目的のために、Rpb4 を除く 11 種類のサブユニット蛋白質遺伝子に由来する cDNA を組み込んだバキュロウイルスを作製した。各サブユニットを単独で発現するウイルスと、二つのプロモーターの下流にそれぞれ別のサブユニットの cDNA を挿入し、二つのサブユニットを同時に発現するウイルスを多種類作製し、これらを同時に感染させることで、同一昆虫細胞内で 11 種類のサブユニット蛋白質を発現させることを可能とした。ただし、このとき各サブユニットの発現量は大きく異なり、特に、大型の 2 種のサブユニット、Rpb1、Rpb2 の発現量は極めて低いものであった。

サブユニット集合の核となることが予想される Rpb3 遺伝子に GST 遺伝子を融合し、他のサブユニットと同時に発現させた後、GST ブルダウン法により、サブユニット集合を解析した結果、Rpb1、2、3、5、7、8、11 による複合体形成が観察された。この場合も、

各サブユニットの分子数比は大きく異なり、Rpb1, 2 は、極少量のみが GST-Rpb3 とともに分離された。また、Rpb5, 7, 8, 11 は、Rpb1, 2 不在でも GST-Rpb3 と結合することから、現段階では、Rpb3 と直接結合するサブユニットのみが複合体構成成分として観察され、少量しか含まれない Rpb1, 2 に結合するその他のサブユニットは、さらに少量しか結合できないために GST プルダウンで分離される複合体内には、検出できないと考えられる。

(5) 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：Rpb3 サブユニットの温度感受性株の分離と解析：三戸部治郎，光澤 浩，石浜 明

分裂酵母 RNA ポリメラーゼ II の Rpb3 サブユニットの機能を同定する目的で、我々は先に rpb3 遺伝子に変異をもつ高温感受性変異体を単離したが、いずれも複数の変異をもっていた (Yasui et al., 1998)。そこで今回は、Rpb3 に単一のアミノ酸置換変異をもった温度感受性株の単離と解析を試みた。変異の導入は two step gene disruption 法の变法で行なった。rpb3 遺伝子内部に 1 カ所ある +450bp の BglII サイトを含んだ 5' 末端側と 3' 末端側の 2 つの領域をそれぞれ PCR で増幅し、これらの PCR 断片を分裂酵母の ura4 遺伝子をマーカーにもつ integration vector に挿入し、BglII で直鎖状にした後に分裂酵母を形質転換し、プラスミド全体を酵母のゲノムに挿入した。次いで選択培地で Ura⁺ の形質転換体を選択してから YE plate にレプリカし、37 2 日間と 20 5 日間の培養後、それぞれをスクリーニングして高温感受性株 (Ts) および低温感受性株 (Cs) を分離した。得られた候補株は遺伝学的にウラシル非要求性と温度感受性の連鎖を観察することで rpb3 遺伝子の変異であることを確認し、5-F0A 培地で Ura⁻ の温度感受性株を選択し、サザンプロットで 1 コピーの rpb3 遺伝子を保持していることを確認したのち以降の解析に用いた。塩基配列を決定した結果、9 個の Ts 株と 3 個の Cs 株を得た。ほとんどの変異株は、単一のアミノ酸置換を与える塩基置換を保存領域 A から D の内部にもっていた。またこれらの変異はヘテロ二倍体の表現型から劣性変異であることが分かった。

rpb3 遺伝子産物と相互作用する因子を単離する目的で Ts3-154 株から制限温度条件下 (37 °C) で成育可能な復帰変異株を単離し、その中から 20 °C で低温感受性を示すもの 5 株をスクリーニングにより得た。四分子解析によって、これらの復帰変異株が rpb3 遺伝子以外の単一の遺伝子の変異によることが明らかになったので、これらの復帰変異株にゲノム DNA ライブラリーの導入を行い、低温感受性の相補を利用して抑圧変異が起きた遺伝子を単離したところ、独立に分離された 3 株の復帰変異株から各 1 種類のプラスミドが回収された。これらのプラスミドを他の復帰変異株に導入しても相補が見られなかったため、複数の復帰変異を起こしうる遺伝子の存在が予想された。これら遺伝子の塩基配列をデータベースでサーチした結果、プロテアーゼならびにプロテアゾームの構成成分 (残る一つはデータベース上で未解析) の蛋白配列をもち、Rpb3 に直接相互作用する因子というよりは異常な蛋白に対する分解系の動態の変化というような、間接的な作

用による抑圧変異が分離される可能性の方が高いように思われた。こうした結果から変異株の Rpb3 蛋白は高温で異常な蛋白として蛋白分解系で処理されやすくなっていることが予想されたため、4 つの保存領域に変異をもつ代表的な 7 つの Ts 株について、許容温度ならびに制限温度での細胞内の Rpb3 蛋白を Western blot で定量したところ、予想どおり野生株と比較して制限温度下で Rpb3 蛋白の量の減少が観察され、増殖速度とある程度の相関が見られることが分かった。また全ての変異株は増殖曲線の観察によれば、制限温度下では 3-4 世代の分裂後、増殖停止することから機能異常をもった変異というよりは、サブユニット集合不全変異であることが予想された。

サブユニット集合状態を観察するひとつの方策として、rpb3 遺伝子の N 末端側に His-tag をつけた 2 株の変異株と野生株を作成し、これらの株を許容温度の 30 °C で大量培養し Ni-NTA カラムを利用し、変異株と野生株の RNA ポリメラーゼを精製した。当研究室の木村らが開発した方法(Kimura et al., 1997)で、精製した酵素を 2M と 4M の尿素で 4 -2 時間処理したのち Western blot でサブユニットの解離状況を観察したところ、4M の処理で領域 A に変異をもつ Ts3-30 株では野生型と比べて Rpb2 の量が 1/3 程度に減少し、変異株では確かにサブユニット間の接触の強さが野生株より弱くなっているのが示された。この Ts3-30 株の変異位置は、最近発表された大腸菌 RNA ポリメラーゼの X 線構造解析から、RNA ポリメラーゼ集合過程で最初に形成される サブユニット 2 量体を形成するのに重要な N 端側ヘリックス構造の内部に存在し、大腸菌での サブユニット 2 量体形成で異常を示す変異もこの近傍に位置していた。そこで、真核生物での第一次集合体 Rpb3-Rpb11 の形成に加わると報告されている Rpb11 をこれらの Ts 株で発現させ、高温感受性への影響を観察した。その結果、Ts3-30 株のみならず、4 つの保存領域に変異をもつ代表的な 7 つの Ts 株全てで 37 °C での相補が認められ、その強さは Rpb11 の発現量に比例する結果が得られた。以上の結果から、サブユニット集合初発反応に加わると報告されている Rpb11 を高発現させることで、その後の集合反応各過程で異常があると予想される変異株でも、障害が克服される効果を示したのではないかと考えられた。

(6) RNA ポリメラーゼ II のサブユニット機能の遺伝解析：Rpb6, Rpb7 と Rpb11 変異株の単離と解析：石黒 亮, 小本美和, 光澤 浩, 石浜 明, 禾 泰壽¹(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、我々は、生化学的、遺伝学的、免疫学的方法を駆使して、サブユニット接触関連図の作成を行ってきた(Ishiguro et al., 1998; Miyao et al., 1998; Yasui et al., 1998)。本年は、サブユニット 6(Rpb6), 7(Rpb7)及び 11(Rpb11)の温度感受性変異体の単離と解析を行った。

Rpb11 は Rpb3 とアミノ酸配列で一部相同性をもち、サブユニット集合過程では、まず Rpb3 とヘテロ二量体を形成すると考えられている。プラスミド上に rpb11 遺伝子をもつ分裂酵母の染色体上の rpb11 遺伝子を破壊し、プラスミドから発現した Rpb11 を供給した時だけ生存できる系を構築した。rpb11 の PCR 産物を染色体 rpb11 遺伝子破壊株に

導入し、細胞増殖が高温または低温感受性となった条件致死変異株の単離を試み、5個の高温感受性変異体、3個の低温感受性変異体を単離した。高温感受性変異体については、非許容温度でもプラスミドで正常のRpb11を供給すれば生育でき、相補されることから、rpb11遺伝子上の変異と推定された。変異体のrpb11遺伝子のDNA配列を分析したところ、点突然変異が同定され、アミノ酸置換変異によるものであることが判明した。今後、これらの変異体におけるRNAポリメラーゼIIの形成と機能の異常を解析する計画である。

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も示唆され(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シーケ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。変異は、遺伝子全域に分散していた。それぞれの変異がRNAポリメラーゼの形成と機能に及ぼす影響の解析を開始した。

Rpb7は、出芽酵母では、Rpb4と相互作用し、RNAポリメラーゼIIには、比較的緩く会合していることが示唆されている。rpb11の温度感受性変異の単離と同じ方法を用いてrpb7遺伝子の温度感受性変異の単離を試みた。rpb7の発現プラスミドをもつ分裂酵母株の染色体上のrpb7遺伝子を破壊し、それをPCRで増幅したrpb7遺伝子断片で置き換えた後、温度感受性増殖を示すものをスクリーニングするというものである。これまでに3株の変異株を得た。そのうちのひとつから制限温度でも生育可能になった復帰変異株を単離した。遺伝解析の結果、抑圧変異はrpb7遺伝子座にあることが示唆された。

(7)分裂酵母のTAF遺伝子の解析：光澤 浩，清野浩明¹，山尾文明¹，石浜 明（¹遺伝研・変異遺伝）

分裂酵母のubiquitin conjugating enzymeのひとつをコードするubcP4遺伝子の温度感受性変異の多コピーサプレッサーとして転写因子TAFと高い相同性を示す2種類のクローンが単離された。TAFはTATA結合蛋白質(TBP)とともに基本転写因子TFIIDの構成する蛋白質で、真核生物において酵母からヒトまでよく保存されている。これらのTAF様遺伝子の機能を解析するため、RT-PCR法によってcDNAを単離した。ひとつは既知の必須遺伝子taf72でありもうひとつは新規遺伝子でtaf71と命名した。taf71遺伝子の破壊株は生育不能でありこの遺伝子が増殖に必要な遺伝子であることが示された。またtaf71, taf72の過剰発現は酵母の増殖を著しく阻害した。ubcP4はM期におこる特異的な蛋白質の分解に関与していることが山尾らによって示されているが、このM期特異的なユビキチンに依存した蛋白質分解においてはAPC/cyclosomeと呼ばれる蛋白質

複合体が基質の認識をおこなっていると考えられている。 ubcP4 遺伝子の温度感受性変異を抑圧する taf72 遺伝子は、APC/cyclosome 構成蛋白質をコードする cut9 遺伝子の温度感受性変異をも抑圧できることが明らかになった。 これらの結果は、 taf71, taf72 遺伝子が細胞周期特異的な蛋白質分解に関わる因子の転写を正に制御しているという可能性を示唆している。 現在、これらの遺伝子産物が本当に TAF であるかどうか、言い換えると細胞内で TBP と複合体を作っているかどうかを調べている。

3. ウイルスの転写・複製装置の構造 - 機能相関

(1)インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼの分子解剖：サブユニット PB2 のキャップ結合領域の同定： 本田文江, 石浜 明, 水本清久¹(¹北里大学薬学部)

インフルエンザウイルスは、ウイルス遺伝子 RNA を鋳型とし独自の RNA 依存 RNA ポリメラーゼにより、ゲノム RNA の複製とウイルス mRNA の転写を行う。 RNA 複製では、プライマー非依存的に RNA 合成を開始するが、mRNA 合成は宿主細胞由来のキャップ RNA 断片をプライマーとして開始される。 遺伝的解析及び UV クロスリンクの分析から RNA ポリメラーゼのサブユニットの一つ PB2 蛋白質がキャップ構造を認識し結合することが知られている。 そこで私達は PB2 上のキャップ RNA 結合領域の同定を行った。 キャップ部分にのみ放射能活性をもつキャップ RNA とウイルス粒子から分離精製した RNP (vRNA-RNA ポリメラーゼ-NP 複合体)を RNA 合成条件下で混合し UV 照射後、RNase で遊離部分の RNA を分解し、RNA をクロスリンクされた蛋白産物を調整した。 これを、大腸菌で大量発現させた PB2 と混合し、SDS- アクリルアミドゲルで PB2 に相当するバンドだけを切り出した。 PB2 を含むゲル断片を蛋白質分解酵素 V8 でゲルの中で消化しそのままアクリルアミドゲル電気泳動を行い、切断断片蛋白をニトロセルロース膜に移し、染色後、放射活性をもつバンドを検出した。 それらの PB2 断片を抽出し、アミノ酸配列を決定した。 その結果、PB2 にはキャップを認識し結合する部分が二箇所あることがわかった。 一つは N 末側のアミノ酸残基 230-260、もう一つは C 末側でアミノ酸残基 530-600 の領域であった。 C 末側にはリボゾーム蛋白のキャップ結合蛋白と相同性の高いアミノ酸配列があるが、N 末側には相当性がなくウイルス特異的と考えられる。 またこれら二つの領域を含む断片を大腸菌で大量発現し単独でのキャップ結合反応を行った。 その結果、両断片ともキャップ結合反応を示した。

(2)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宿主因子の同定： 岡本拓人, 本田文江, 石浜 明

インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼはウイルス RNA (マイナス鎖)を鋳型とし 2 種類の RNA を転写する。 一つはプライマー非依存的に RNA 合成を開始し、鋳型 RNA に完全に相補的な cRNA、及び cDNA を鋳型にして完全長の vRNA を合成する複製である。 他は宿主細胞 mRNA のキャップ RNA 断片をプライマーとして mRNA を合成する、転写である。 ウイルスが細胞に感染してすぐに産生されるのはプライマー依存的合成産物の mRNA で、

感染中期頃からプライマー非依存的産物の cRNA, vRNA が合成される。RNP を用いた試験管内 RNA 合成ではプライマー依存的合成しか起こらないが、感染細胞内では両方の RNA が合成されてくる。これらのことから、ウイルス RNA ポリメラーゼの機能変換(mRNA 合成のための転写酵素から cRNA/vRNA 合成のための複製酵素)には感染細胞に存在する因子が関与していることが考えられた。そこで宿主因子を同定する目的で、酵母の two-hybrid system を用いて、ウイルス RNA ポリメラーゼ各サブユニットと相互作用する細胞蛋白質をスクリーニングした。現在までに、PB1, PB2, PA それぞれと、相互作用する HeLa 細胞蛋白質が多く単離された。宿主因子候補については、大腸菌発現蛋白を調整し、抗体を準備した。宿主因子候補の幾つかについては、抗体による共沈実験から、感染細胞中でもインフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼと結合していることが判明した。また、試験管内のウイルス RNA 合成系に加え影響をみた。その結果、RNA 合成を阻害する活性を示す成分が発見された。

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

タバコモザイクウイルス(TMV)ゲノムにコードされる 130K 蛋白及びその通過翻訳産物 180K 蛋白は、TMV ゲノム RNA の転写と複製に関与する RNA ポリメラーゼであると考えられてきた。この予測の拠り所は、130K 成分にメチルトランスフェラーゼ(M)及び RNA ヘリカーゼ(H)と類似配列があり、また、180K 成分にウイルス RNA レプリカーゼ(P)特有の配列が存在することであった。我々は、ウイルス RNA の転写、複製に関与する RNA ポリメラーゼの分子実体を、実験的に解明する目的で、130K, 180K 蛋白 cDNA を pET ベクターに挿入し、大腸菌で発現させ、特異抗体を作製した。

感染細胞から、RNA ポリメラーゼを単離し、その分子構成を同定する目的で、今回調整した、各ドメインに対する抗体を利用した、アフィニティークロマトグラフィーを行った。TMV 感染細胞抽出液をタウロデオキシコール酸(taurodeoxycholate)処理後の、遠心上清から、抗体カラムを用いて、130K と 180K を等量ずつ含み、モデル鑄型を利用して RNA 合成活性を示す複合体を単離した。TMV-RNA ポリメラーゼのプロトマーは、130K と 180K を等量含むことを提唱した(Watanabe et al., 1999)。

研究業績

(1) 原著論文

- 1 Apirakawamwong, A., Fukuchi, J., Kashiwagi, K., Kakinuma, Y., Ito, E., Ishihama, A. and Igarashi, K.: Enhancement of cell death due to decrease in Mg²⁺ uptake by OmpC (cation-selective porin) deficiency in ribosome modulation factor-deficient mutant. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 251, 482-487 (1998).
2. Ballesteros, M., Kusano, S., Ishihama, A. and Vicente, M.: The *ftsQ1p* gearbox

promoter of *Escherichia coli* is a major sigma S-dependent promoter in the *ddlB-ftsA* region. *Mol. Microbiol.* 30, 419-430 (1998).

3. Berton, G., Fujita, N., Ishihama, A. and de Lorenzo, V.: Active recruitment of ⁵⁴-RNA polymerase to the *Pu* promoter of *Pseudomonas putida*: role of IHF and CTD. *EMBO J.* 17, 5120-5128 (1998).
4. 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 ⁷⁰ subunit of RNA polymerase. *J. Biol. Chem.* 274, 2263-2270 (1999).
5. Chatterji, D., Fujita, N. and Ishihama, A.: The mediator for stringent control, ppGpp, binds to the ⁻ subunit of *Escherichia coli* RNA polymerase. *Genes to Cells* 3, 279-287 (1998).
6. Honda, A., Mizumoto, K. and Ishihama, A.: Identification of the 5' terminal structure of influenza virus genome RNA by a newly developed enzymatic method. *Virus Res.* 55, 199-206 (1998).
7. 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).
8. Ishiguro, A., Kimura, M., Yasui, K., Iwata, A., Ueda, S. and Ishihama, A.: Two large subunits of the fission yeast RNA polymerase II provide a platform for the assembly of small subunits. *J. Mol. Biol.* 279, 703-712 (1998).
9. Ishihama, A.: Modulation of the nucleoid, the transcription apparatus, and the translation machinery in bacteria for stationary phase survival. *Genes to Cells* 3, 135-143 (1999).
10. 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.
11. Ishihama, A., Kimura, M. and Mitsuzawa, H.: Subunits of yeast RNA polymerases in structure and function. *Curr. Opin. Microbiol.* 1, 190-195 (1998).
12. Jishage, M. and Ishihama, A.: A stationary phase protein in *Escherichia coli* with binding activity to the major ⁻ subunit of RNA polymerase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95, 4953-4958 (1998).
13. Masuya, 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).
14. Nomura, T., Fujita, N. and Ishihama, A.: Mapping of subunit-subunit contact surfaces on the ⁻ subunit of *Escherichia coli* RNA polymerase. *Biochemistry*

- 38, 1346-1355 (1999).
15. Miyake, R., Murakami, K., Owens, J.T., Greiner, D.P., Ozoline, O.N., Ishihama, A. and Meares, C.F.: Dimeric association of *Escherichia coli* RNA polymerase subunits, studied by cleavage of single-cysteine subunits conjugated to iron-(S)-1-[p-(bromoacetoamido) ethylenediaminetetraacetate. *Biochemistry* 37, 1344-1349 (1998).
 16. Miyao, T., Honda, A., Qu, Z. and Ishihama, A.: Mapping of Rpb3 and Rpb5 contact sites on two large subunits, Rpb1 and Rpb2, of the fission yeast RNA polymerase II. *Mol. Gen. Genet.* 259, 123-129 (1998).
 17. Mukherjee, A., Cui, Y., Ma, W.L., Liu, Y., Ishihama, A., Eisenstark, A. and Chatterjee, A.K.: RpoS (Sigma-S) controls expression of *rmsA*, a global regulator of secondary metabolites, Harpin, Ecc and extracellular proteins in *Erwinia carotovora*. *J. Bacteriol.* 180, 3629-3634 (1998).
 18. Nagai, S., Yagihashi, T. and Ishihama, A.: An avian pathogenic *Escherichia coli* strain produces a hemolysin, the expression of which is dependent on cyclic AMP receptor protein gene function. *Veterinary Microbiol.* 60, 227-238 (1998).
 19. Negre, D., Oudot, C., Prost, J.-F., Murakami, K., Ishihama, A., Cozzone, A.J. and Cortay, J.-C.: FruR-mediated transcriptional activation at the *ppsA* promoter of *Escherichia coli*. *J. Mol. Biol.* 276, 355-365 (1998).
 20. Owens, J.T., Chmura, A., Murakami, K., Fujita, N., Ishihama, A. and Meares, C.F.: Mapping *lacUV5* DNA sites proximal to conserved regions of sigma-70 in an *Escherichia coli* RNA polymerase-DNA open promoter complex. *Biochemistry* 37, 7670-7675 (1998).
 21. Owens, J.T., Miyake, R., Murakami, K., Chmura, A.J., Fujita, N., Ishihama, A. and Meares, C.F.: Mapping the sigma-70 subunit mapping the contact sites on the core enzyme subunits of *Escherichia coli* RNA polymerase by site-specific cleavage with sigma-conjugated chemical protease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95, 6021-6026 (1998).
 22. Ozoline, O.N., Fujita, N., Murakami, K. and Ishihama, A.: Monitoring of RNA polymerase-DNA UP element interaction by a fluorescent probe conjugated to subunit. *Eur. J. Biochem.* 253, 371-381 (1998).
 23. Ozoline, O.N., Murakami, K., Negishi, T., Fujita, N. and Ishihama, A.: Specific fluorescent labeling of two functional domains in RNA polymerase subunit. *PROTEINS: Structure, Function, and Genetics* 30, 183-192 (1998).
 24. 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).
 25. Ryu, S., Fujita, N., Ishihama, A. and Adhya, S.: GalR-mediated repression and

- activation of hybrid *lacUV5* promoter: Differential contacts with RNA polymerase. *Gene* 223, 235-245 (1998).
26. Sakurai, H., Kimura, M. and Ishihama, A.: Identification of the gene and the protein of RNA polymerase II subunit 9 (Rpb9) from the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Gene* 221, 11-16 (1998).
 27. Sun, W., Hattman, S., Fujita, N. and Ishihama, A.: Activation of bacteriophage Mu *mom* transcription by C protein does not require specific interaction with the carboxyl-terminal region of the σ^{70} subunit of *Escherichia coli* RNA polymerase. *J. Bacteriol.* 180, 3257-3259 (1998).
 28. Yasui, K., Ishiguro, A. and Ishihama, A.: Location of subunit-subunit contact sites on RNA polymerase II subunit 3 from the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Biochemistry* 37, 5542-5548 (1998).
 29. Wang, P., Yang, J., Ishihama, A. and Pittard, A.J.: Demonstration that the TyrR protein and RNA polymerase complex formed at the divergent P3 promoter inhibits the binding of RNA polymerase to the major promoter P1 of the *aroP* gene of *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 180, 5466-5472 (1998).
 30. 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 126K/183K protein heterodimer. *J. Virol.*, 73, 2633-2640 (1999).
 31. 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 藤田信之：大腸菌 RNA ポリメラーゼの構造生物学．蛋白質核酸酵素，増刊号「構造生物学のフロンティア」(西村善文ら編)，44，421-429 (1999)．
- 2 藤田信之：転写活性化．「シリーズ・ニューバイオフィジックス，2：遺伝子の構造生物学」(嶋本伸雄，郷 通子編)，92-103 頁，共立出版(1998)．

(3) 発表講演

- 1 Blick, R.J., Greenberg, E.P., Fujita, N., Ishihama, A. and Stevens, A.M.: Transcriptional activation of the *lux* operon during quorum sensing in *Vivrio fischeri*. American Society of Microbiology (ASM), Annual Meeting, Atlanta, USA, May.
2. 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? 99th General Meeting, American Society of Microbiology (ASM), Chicago, USA, October.

3. Fujita, N., Murakami, K., Nomura, T., Ozoline, O.N., Owens, J.T., Miyake, R., Meares, C.F. and Ishihama, A.: Proximity analysis of *Escherichia coli* RNA polymerase and transcription complexes by site-specific cleavage with artificial proteases/nucleases. The 5th Asian Conference on Transcription (ACT-V), Lorne, Australia, February.
4. 藤田信之: DNA および転写因子との相互作用に関わる RNA ポリメラー - ゼ上の構造 . 科研費重点領域研究(1)公開シンポジウム「蛋白質の高次構造に基づくシグナル認識機構」, 東京, 9月 .
5. 藤田信之, 村上勝彦, OWENS, J.T., OZOLINE, O., 石浜 明: 大腸菌 RNA ポリメラー - ゼと転写調節因子との相互作用 . 第71回日本生化学会大会, 名古屋, 10月 .
6. Honda, A., Okamoto, T., Zu, Z., Hwang, J.S. and Ishihama, A.: Viral and host factors for transcription and replication of influenza virus RNA in various organisms. German-Japanese Symp. "Viral and Host Factors as Determinants of Pathogenesis of Viruses", Marburg, Germany, May.
7. Ishihama, A.: Structure and function of RNA polymerase: Comparison between prokaryotes and eukaryotes. The 5th Asian Conference on Transcription (ACT-V), Lorne, Australia, February.
8. Ishihama, A.: Molecular architectures of transcription apparatus from prokaryotes and eukaryotes. Univ. Birmingham Lecture, Birmingham, UK, March.
9. Ishihama, A.: Protein-protein communications in transcription regulation. Pasteur Institut Lecture, Paris, May.
10. Ishihama, A.: Control of activity and specificity of RNA polymerase. Juan March Workshop "Bacterial Transcription Factors Involved in Global Regulation", Madrid, Spain, June.
11. Ishihama, A.: Control of the promoter selectivity and transcription activity of *Escherichia coli* RNA polymerase. Internat. Symp. "Frontier of the Genome Biology of *Escherichia coli*", 岡崎, 11月 .
12. 石浜 明: 遺伝子発現のヒエラルキーは、どのようにして決まるのか? 科学技術振興事業団戦略的基礎研究推進事業公開シンポジウム「生命活動のプログラム」, 東京, 6月 .
13. 石浜 明: 転写装置における分子間コミュニケーション . 日本生化学会北陸支部シンポジウム「シグナル伝達による転写調節」, 金沢, 7月 .
14. 石浜 明: 遺伝子発現のヒエラルキー決定機構の解明を目指して . 第49回タンパク質構造討論, 第10回日本蛋白質工学会年会(蛋白合同年会), 長岡, 9月 .
15. 石浜 明: インフルエンザウイルス研究の過去・現在・未来 . 文部省科研費公開シンポジウム「RNA ウイルス研究の新展開」. 定光寺, 10月 .
16. 石浜 明: 転写制御における分子間コミュニケーション . 名古屋大学理学部セミ

ナー，名古屋，12月．

17. Ishihama, A., Fujita, N., Ozoline, O.N., Murakami, K., Owens, J.T., Bown, J.A., Nomura, T., Miyake, R., Talukder, A.A., Jishage, M., Subbarayan, P.R., Katayama, A., Minchin, S.D., Busby, S.J.W., and Meares, C.F.: Protein-protein and protein-DNA communications within the transcription apparatus. 文部省科学研究費補助金特定研究(A)公開シンポジウム「生体機能における金属イオンの特異的作用の分子科学」第三回ワークショップ，広島，11月．
18. Ishihama, A., Kimura, M., Ishiguro, A., Yasui, K., Miyao, T., Sakurai, H., Mitsuzawa, H., Mitobe, J., Komoto, M. Iwata, A. and Ueda, S.: Subunit-subunit contact network within the fission yeast RNA polymerase II. The 5th Asian Conference on Transcription (ACT-V). Lorne, Australia, February.
19. Ishihama, A., Kimura, M., Ishiguro, A., Yasui, K., Miyao, T., Sakurai, H., Mitsuzawa, H., Mitobe, J., Komoto, M., Iwata, A. and Ueda, S.: Subunit assembly of the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe* RNA polymerase II. The 10th RNA Polymerase Workshop, Derby, UK, March.
20. Ishihama, A., Owens, J., Jishage, M., Miyake, R., Nomura, T., Katayama, A., Fujita, N. and Meares, J.: Molecular architecture of *Escherichia coli* RNA polymerase: Subunit-subunit and subunit-transcription factor contacts. The 10th RNA Polymerase Workshop, Derby, UK, March.
21. 石井崇洋，中井謙太，矢田哲士，十時 泰，石浜 明：大腸菌 RNA ポリメラーゼ各種 因子の認識プロモーター予測理論の実験による検証．第 21 回日本分子生物学会年会，横浜，12月．
22. Jishage, M. and Ishihama, A.: Anti-sigma factor for the major sigma subunit of *Escherichia coli*. Juan March Workshop "Bacterial Transcription Factors Involved in Global Regulation", Madrid, Spain, June.
23. 片山 映，藤田信之，石浜 明：大腸菌 RNA ポリメラーゼ サブユニットの分子解剖：サブユニット間相互作用部位の同定．第 21 回日本分子生物学会年会，横浜，12月．
24. 木村 誠：分裂酵母 RNA ポリメラーゼ II の構造と機能．科研費特定領域研究第 2 回コンファレンス，三島，9月．
25. 櫻井仁美，木村 誠，石浜 明：分裂酵母 RNA ポリメラーゼ II サブユニット 9 の遺伝子の単離と蛋白の同定．第 21 回日本分子生物学会年会，横浜，12月．
26. Talukder, A.A., 石浜 明：Twelve species of DNA-binding proteins from *Escherichia coli*. Sequence recognition specificity, DNA-binding affinity and intracellular level at various growth phase. Internat. Symp."Frontier of the Genome Biology of *Escherichia coli*", 岡崎，11月．
27. Talukder, A.A., 石浜 明：大腸菌 DNA 結合蛋白質 12 種類の DNA 認識配列と結合

強度の解析比較．第21回日本分子生物学会年会，横浜，12月．

28. 豊田哲也，升永憲治，大津 寧，水本清久，濱田信之，石浜 明：インフルエンザウイルスRNAポリメラーゼの分子解剖．第71回日本生化学会大会，名古屋，10月．
29. 宇野和浩，山崎俊夫，田中好幸，児玉高志，石浜 明，京極好正：NMRによる大腸菌RNAポリメラーゼサブユニットC端ドメイン(CTD)とUP element DNAの相互作用．第21回日本分子生物学会年会，横浜，12月．
30. 和田 明，牧 泰史，吉田秀司，和田千恵子，石浜 明：大腸菌定常期におけるプロテオーム．第21回日本分子生物学会年会，横浜，12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，研究補助員として相磯菜穂子，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以下の2件であった．

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

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

研究費は，通常経費に加え，文部省科学研究費補助金，特定領域研究(1)「選択的蛋白分解の分子機構」(代表，鈴木紘一)，特定領域研究(2)「細胞周期を制御する特異的ユビキチン経路の解析」(代表，山尾)，特定領域研究(2)「ユビキチン系による染色体複製開始の制御」(代表，岸)，によった．

昨今，蛋白質分解の研究が分子生物学や細胞生物学の様々な分野から多大の注目を集めている．これまで蛋白質分解は細胞内の不要物の除去機構として負のイメージで捉えられがちであったが，現在では逆に積極的な細胞機能調節機構として再評価されるに至っている．そして，その中心的な役割を担っているのはユビキチン系による選択的蛋白分解機構である．ユビキチンシステムが生命科学研究の表舞台に登場してきたのには以下の様な理由による．第一に，ユビキチン経路は極めて多様に分岐するカスケードシステムとして生命現象の多様性と特異性に対応して増殖制御系とネットワークを形成していることであり，第二には，その結果としてユビキチンの関わる生命現象が，細胞周期，転写調節，代謝調節，シグナル伝達，アポトーシス，ストレス応答，免疫応答と多

岐にわたり、バイオロジー研究のあらゆる分野に及んできた点である。ユビキチンの意義はまだ発展途上の段階であり、脳記憶や蛋白質の品質管理機構などますます広がる勢いを示している。このような状況を踏まえ、当研究室では蛋白質分解による細胞周期制御の観点から研究を進めてきた。サイクリンとCdc2がMPF(M期促進因子)を構成するという周期制御のドグマの確立以後、CDK(サイクリン依存性キナーゼ)の多様性の発見、CDK InhibitorとしてのCKIの発見を通し蛋白質リン酸化による制御が大きな関心をよんだ。その後現在では、ユビキチン化による翻訳後修飾は蛋白質リン酸化に匹敵するほどに細胞周期を制御する基本的機構として位置づけられる。それは蛋白質分解の選択性、迅速性、不可逆性という特性が順序だった一連の周期機能の制御に極めて合致するものであると認識されるに至ったからである。

研究材料として酵母の系を用い、その細胞生物学的手法と遺伝学的技法を駆使して細胞周期制御における選択的蛋白質分解の役割の分子レベルでの解析を進めている。具体的には、細胞増殖、周期を制御するキーとなる蛋白質の選択的分解機構をユビキチン系を中心に同定し、その制御ネットワークを解析している。今年度はおもに細胞周期の制御に大きく関わる代表的なユビキチン経路の二つについて解析した。

1) 分裂酵母のUbcP4経路

分裂期サイクリンの分解系は、Xenopus卵やClamの抽出液中での系や酵母の遺伝学的系での解析が中心となって行われた結果、細胞分裂期全体の制御を統括する蛋白質分解経路として認識されるにいたっている。我々の分離した分裂酵母ubcP4の欠損は細胞周期M期に異常を引き起こした。その遺伝学的解析の結果、このユビキチン経路は分裂期Cyclin(Cdc13p)分解、分裂後期開始に必須の姉妹染色体分離のための核蛋白質(Cut2p)分解を担っているものであることが判明した。他方、分裂期サイクリン特異的なリガーゼE3であるCyclosomeは20Sの巨大複合体で、UbcP4と共役して働くことがわかった。このUbcP4/Cyclosomeユビキチン経路はCdc13、Cut2以外にも標的とする蛋白質があり、それらはいずれも分裂期の制御に必須な役割を担っていると想像される。またこの蛋白質分解経路が分裂期のみならず、G1-S期、G2期にも稼働している可能性が示唆される。その一つの例として、S期に分解される分裂酵母におけるもう一つのBサイクリン、Cig2の分解を調べ、Cig2もUbcP4とCyclosomeを介して分解され得ることを示唆した。このことは次の2点を意味する。CyclosomeはS期においても活性を持つこと。Cig2はサイクリンとしての機能はCdc13互換であるが、他方、Cdc13と類似の分解シグナル(Destruction Box)を持っているにもかかわらず分解時期が異なることから、これらサイクリンを分解標的として時期特異的に識別する機構の存在を示唆する。実際Cig2の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。このことについて分子レベルで解析を進めている。

2) 分裂酵母の全ユビキチン経路の検索

DNA複製の開始の制御およびライセンス、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6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いだし、ubcP5 ~ ubcP10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のうち未解析のもと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、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、このプロジェクトが有効であることを強く支持するものである。

3) SCF^{Grr1}によるG1サイクリンCln2のユビキチン化

ユビキチン系による蛋白質分解によって細胞周期の進行、特にG1期からS期への進行、metaphaseからanaphaseの進行、M期の終了が制御されている。出芽酵母CDC34はG1/S期の進行に必須なユビキチン結合酵素であり、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Cdc34に依存してユビキチン化される。制御蛋白質が選択的にユビキチン化される機構を明らかにするためにはCdc34経路で働く因子を明らかにすることが必須であるが、我々を含むいくつかのグループからSkp1, Cdc53, F-box蛋白質が明らかになり、その結果、Skp1, Cdc53, F-box蛋白質からなるSCF(S_kp1-C_dc53-F_box protein)複合体が、Cdc34経路で作用するE3ユビキチンリガーゼであることがわかってきた。

これまでに、cdc34-1 sic1株からサプレッサーを分離しその原因遺伝子として、グルコース抑制およびG1サイクリンの分解に関与するGRR1をクローン化し、GRR1がユビキチン系で働くことを明らかにしてきた。また、cdc34-1株にGRR1を過剰発現するとコロニー形成が阻害されるが、これを多コピーで抑圧する遺伝子をクローン化したところSKP1が得られた。Skp1はF-boxモチーフを持つ蛋白質と結合することが報告されているが、このF-boxモチーフがGrr1に存在しており、実際Grr1はF-boxに依存してSkp1と結合した。Grr1はSkp1と結合してユビキチン系で機能することが示唆された。詳細は文献1に発表した。

また、Grr1はリン酸化したG1サイクリンCln2とin vivoで結合した。さらにin vivoで、Skp1はCln2とGrr1に依存して結合した。この相互作用(Skp1-Grr1-Cln2)

の意義を明らかにするために、まず、Grr1のドメイン解析を行った。Grr1にはF-boxの他にロイシンリッチリピート(LRR)が存在するが、LRRを欠失したGrr1-dL蛋白質はSkp1との結合能を保持しているがCln2との結合ができなくなった。また、逆にF-boxを欠失したGrr1-dF蛋白質はCln2との結合は保持しているがSkp1との結合はできなかった。そこで次に、grr1-dL株およびgrr1-dF株を作製し、これらの株の中でのCln2の安定性を調べたところ、いずれの株においても、Cln2はgrr1破壊株と同程度に安定化した。

以上のことはGrr1はSCFの中でリン酸化フォームのCln2を「選択的」に認識し、Skp1にリンクする分子であることを示す。また、Cln2のリン酸化はG1後期におこることから、リン酸化に依存したCln2とGrr1との結合が、Cln2の「時期特異的」なユビキチン化を保証する1つの段階であることが示唆される。詳細は文献1)、3)に発表した。

研究業績

(1)原著論文

1. Kishi, T., Seno, T. and Yamao, F. (1998). Grr1 functions in the ubiquitin pathway in *Saccharomyces cerevisiae* through association with Skp1. *Mol. gen. Genet.* 257, 143-148.
2. Tanaka, H., Takenaka, H., Yamao, F. and Yagura, T. (1998). Aphidicolin induces alterations in Golgi complex and disorganization of microtubules of HeLa cells upon long-term administration. *J Cell Physiol* 176, 602-611.
3. Kishi, T. and Yamao, F. (1998). An essential function of Grr1 for the degradation of Cln2 is to act as a binding core that links Cln2 to Skp1. *J. Cell Sci.* 111, 3655-3661.
4. Nishiyama, R., Ikami, M., Yamao, F., Tsuchida, S. and Yagura, T. (1998). Inhibition of nuclear envelope reconstitution in *Xenopus* interphase egg extract by hemin. *Cell Struct Funct* 23, 291-301.
5. Matsumoto K., Okada M., Horikosi Y., Matsuzaki H., Kishi T., Itaya M., Shibuya I. (1998). Cloning, sequencing, and disruption of the *Bacillus subtilis* psd gene coding for phosphatidylserine decarboxylase. *J. Bacteriol.*, 180, 100-106.
6. Yamao, F. (1999). JB Review: Ubiquitin System - Selectivity and Timing of Protein Destruction. *J. Biochemistry* 125, 223-229.

(2)発表講演

1. Kishi T., Seno T. and Yamao F.: Grr1 is a component for the ubiquitination of Cln2 in *Saccharomyces cerevisiae*. The 13th workshop on DNA replication. 1998 Jan. (Makuhari)
2. 山尾文明:「ユビキチン系における分子識別と細胞周期」大阪大学蛋白質研究所セ

ミナー, 1998年6月(大阪).

3. 清野浩明, 山尾文明:「細胞分裂期進行制御に関わるユビキチン転移酵素 UbcP4」酵母遺伝学フォーラム, 1998年8月(大阪).
4. 岸 努, 山尾文明:「Grr1の機能ドメインの解析」酵母遺伝学フォーラム, 1998年8月(大阪).
5. 岸 努:「SCF^{Grr1}によるG1サイクリンCln2の“選択的”かつ“時期特異的”なユビキチン化 第70回日本遺伝学会大会シンポジウム, 1998年9月(札幌).
6. Kishi T.: Grr1 tethers phosphorylated Cln2 to Skp1 in the degradation of G1 cyclin Cln2. The 14th Workshop on DNA Replication. 1998, Oct. (Fukuoka)
7. Yamao F.: Ubiquitin pathways for cyclin destruction in yeast. Rinshoken International Conference. 1998, Nov. (Tokyo)
8. Kishi T. and Yamao F.: Grr1 acts as a binding core that links Cln2 to Skp1 in the degradation of Cln2. Rinshoken International Conference. 1998, Nov. (Tokyo)
9. 河野享子, 林 和洋, 岸 努, 道下 健, 夏目竜一, 平中晶子, 丸山美理, 井原尚也, 加納康正:「出芽酵母核分裂異常を相補するスタスミン様遺伝子の解析」第21回日本分子生物学会年会, 12月(横浜).

A-c. 核酸化学客員研究部門

(1) 遺伝的組換えとDNA傷害修復の機構: 富澤純一

本研究は, 当研究所細胞遺伝研究部門および大阪大学理学部生物学教室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) ミトコンドリアDNA多型からみた日本人の起源: 宝来 聡, 尾本恵市¹(¹国際日本文化研究センター).

本研究では, 現在論争となっている縄文人の「東南アジア起源」あるいは「北東アジア起源」の仮説を検証するため, 東南アジアおよび北東アジアの集団に着目した, タイの3集団(コンケン, チェンマイ, 少数民族サカイ), マレーシアおよびインドネシア集団を含む東南アジアの5人類集団について, ミトコンドリアDNAのDループ領域の塩基配列を分析した. 159人の東南アジア人について563bpの塩基配列を比較したところ, 119の異なる配列のタイプが見られた. これらのうち98タイプは, それぞれの集団に特有のものであり, 残りの21タイプは集団間に共通して見られた. 系統樹分析によって, 東南アジア人は少なくとも6個の単系統クラスターに分類されるが, 5集団からの系統は各クラスター中に完全に混じりあっていた. 昨年報告した東アジアの5集団以外に, 新たに分析したハルピンの中国人(60人), アフリカ人, ヨーロッパ人, アメリカ先住民のデータを併せて解析した. 塩基多様度のネット値(DA)に基づき集団の系統樹を作成したところ, 東アジアと東南アジアの各集団は単系統クラスターを形成するが, さらに

南と北のグループに分割される傾向が読み取れた。平均距離法による系統樹では、南グループには台湾中国人、インドネシア人とタイ人が含まれ、北グループには、本土日本人、韓国人、ハルビンの中国人、琉球人とアイヌが含まれた。しかし近隣結合法による系統樹では、アイヌは南グループと北グループの中間に現われるという微妙な系統的位置を示した。詳細は、文献1に発表した。

(3)ミトコンドリアの構造異常を伴う新たな先天性筋ジストロフィー：西野一三¹，後藤雄一¹，宝来 聡，桒中征哉¹(¹国立精神神経研究センター・神経研究所)。

われわれは、新型の先天性筋ジストロフィー(congenital muscular dystrophy: CMD)を独立した3家系の4患者に見い出し、遺伝様式は常染色体劣性遺伝と考えられた。すべての患者はメロシン陽性の先天性筋ジストロフィーの臨床像を呈していたが、顕著な精神遅滞を有していた。病状は緩やかに進行し、1患者は拡大型心筋症にて13歳時に死亡した。筋の壊死と再生不良を伴うジストロフィー様の変化に加えて、最も顕著な所見は筋質の中央部にみられたミトコンドリアの欠乏像であった。筋繊維の周辺部におけるミトコンドリアは複雑なクリステと共に顕著に肥大化し(megaconical appearance), in situ hybridization では正常量のミトコンドリアDNAを含んでいた。ミトコンドリアの肥大化は、筋質の中央部におけるミトコンドリアの欠乏症の機能的な補償効果を示すと考えられ、そこでは筋原繊維再生不良が起こっていた。詳細は、文献2に発表した。

(4)Leigh 脳症に関連するミトコンドリアDNAのT9176C変異：牧野道子¹，宝来 聡，後藤雄一¹，桒中征哉¹(¹国立精神神経研究センター・神経研究所)。

臨床的かつ脳画像の特徴から Leigh 脳症と診断された80名の患者のうち、11名の患者はすでに報告のあるミトコンドリアDNAの塩基座位8993の変異を有していた。さらに、3患者は塩基座位9176のTからCへの変異を有していたが、このT9176C変異は以前に両側性縞様壊死を伴った兄弟と Leigh 脳症の1患者で報告されたものである。われわれの3患者のうち1患者は、初期の乳児期から典型的な Leigh 脳症の臨床像を示し、他の2患者は後発性の神経欠損を有していた。3患者ともに脳画像からは緩やかな進行性および基底神経節の異常を示した。8993変異および9176変異は共にミトコンドリアDNAのATPase 6遺伝子上にあるので、ATPaseの機能異常が Leigh 脳症や両側性縞様壊死を伴う他の症例における酵素異常の1つであることが示唆された。詳細は、文献2に発表した。

(5)A1555G変異と関連した感音性難聴家系のミトコンドリアDNAの系統解析：宇佐美真一¹，宝来 聡，W. J. Kimberling²(¹弘前大学医学部，²国立ポーイズタウン病院)

感音性難聴家系においては、ミトコンドリアDNAの12SrRNA遺伝子上の塩基座位1555のAからGの点突然変異(A1555G変異)と関連していることが知られている。我々はA1555G変異を有する感音性難聴の日本人13家系に関して、ミトコンドリアDNAを制限酵素切断型およびDループ領域の塩基配列多型を分析し、それらのデータを分子系統学

的に解析を行った。その結果、13家系では種々の異なったミトコンドリア DNA のタイプが観察された。このうち3家系では、制限酵素切断型およびDループ領域の塩基配列多型で同一のタイプを有していたが、残りの10家系では共通した多型パターンは観察されなかった。さらに62人の正常対照のDループ領域の塩基配列データと併せて分子系統学的解析を行ったところ、3家系は1つのクラスターを形成したが、残りの10家系は系統樹の中に完全に分散して位置していた。このことは、3家系を除き、A1555G変異を有する日本人の感音性難聴家系に共通の祖先は存在せず、A1555G変異は散発的かつ多重的に発生していることが明らかとなった。これらの結果は、日本人集団においては共通した病因性(A1555G変異に関連した難聴)といえども、異なった遺伝的背景を有する家系においても孤発性に発生することを示唆している。詳細は文献4に発表した。

研究業績

(1)原著論文

1. 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, 707-716, 1998.
2. Horai S. and Omoto K.: Peopling of Japan inferred from mitochondrial DNA polymorphisms in East Asians. In: *The origin and past of modern humans - Towards a reconciliation.* K. Omoto & P. V. Tobias (eds.), pp 54-73, World Scientific, 1998.
3. Nishino I., Kobayashi O., Goto Y., Kurihara M., Kumagai K., Fujita T., Hashimoto K., Horai S. and Nonaka I.: A new congenital muscular dystrophy with mitochondrial structural abnormalities. *Muscle & Nerve* 21: 40-47, 1998.
4. Makino M., Horai S., Goto Y. and Nonaka I.: Confirmation that a T-to-C mutation at 9176 in mitochondrial DNA is an additional candidate mutation for Leigh's syndrome. *Neuromuscular Disorders* 8: 149-151, 1998.
5. Abe S., Usami S., Shinkawa H., Weston M.D., Overbeck L.D., Hoover D.M., Kenyon J.B., Horai S. and Kimberling W.J.: Phylogenetic analysis of mitochondrial DNA in Japanese pedigrees of sensorineural hearing loss associated with the A1555G mutation. *Eur. J. Hum. Genet.* 6 (6): 563-569, 1998.

(2)その他

1. 宝来 聡：ミトコンドリア DNA でみる日本人の起源。「生物の科学遺伝」特集・ミトコンドリア 52(2): 38-41, 1998.
2. 宝来 聡：ミトコンドリア DNA。「逆転の日本史」日本人のルーツここまでわかった！ 洋泉社 pp.150-165, 1998.
3. 宝来 聡：現生人類の起源と進化。「分子進化 - 解析の技法とその応用 -」(宮田 隆

編) 共立出版 pp.119-127, 1998.

4. 宝来 聰: 古代DNA: 縄文人のDNA. 「分子進化 - 解析の技法とその応用 -」(宮田隆編) 共立出版 pp.135-140, 1998.

(3) 発表講演

1. Horai S.: Mitochondrial DNA polymorphisms in Southeast Asian populations, with special reference to the peopling of Asia. Symposium "Molecular Anthropology in the 21st Century" The 14th International Congress of Anthropological and Ethnological Sciences, Williamsburg, USA, July, 1998.
2. Horai S., Cartier L., Nunez L., Guillen S., Hurtado L., Sonoda S. and Tajima K.: Phylogenetic affiliation of ancient and contemporary Native South Americans inferred from mitochondrial DNA sequences. Memorial Symposium "Ethnoepidemiological Comparison of Andeans and Japanese" San Pedro de Atacama, Chile, August, 1998.
3. Li H-C., Fujiyoshi T., Lou H., Yashiki S., Sonoda S., Cartier L., Nunez L., Munoz I., Horai S. and Tajima K.: Ancient HTLV-I provirus DNA of Andean mummies. Memorial Symposium "Ethnoepidemiological Comparison of Andeans and Japanese" San Pedro de Atacama, Chile, August, 1998.
4. 宝来 聰: ミトコンドリアDNA からみたアジア人集団の系統関係. 重点領域研究「分子進化の新展開」第4回公開シンポジウム, 東京, 1月.
5. 宝来 聰: DNA からみた人類の進化. 第42回大阪精神神経科診療所協会総会・学術講演会特別講演, 大阪, 5月.
6. 宝来 聰: 遺伝子よりみた日本人の起源. 第96回遠江医学会特別講演, 浜松, 6月.
7. 宝来 聰: DNA で探る現代人の起源と進化. 第13回「大学と科学」公開シンポジウム「遺伝子で生物の進化を考える」, 東京, 10月.
8. 宝来 聰: 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, 東京, 11月.

B. 細胞遺伝研究部門

B-a. 細胞遺伝研究部門

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關与するタンパク質の同定へと進み、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。

これらの研究の過程で、我々は、生物全般を通して組換えの基本的な機構には共通性があることを示した。同時に、真核生物では組換えが、種々のタンパク質との共同作業で行われ、それによってタンパク質機能が変わることを示した。また、組換えはそれが行われる場、すなわち、染色体構造と密接に關連していること、そして、今後の解析で最も重要なことは、組換えが厳密な制御のもとで行われ、その制御がどこでおこなわれるかを知った点である。これらの知見は、組換え機構の理解には、組換え反応の時間的、空間的、機能的な制御の仕組みを明らかにしなければならないことを示している。

遺伝的組換えは、減数分裂期の過程に組み込まれているように、世代を通しての種の保持に必須な役割を担っている。また、個体では DNA が受けた損傷を修復して遺伝情報の安定な維持に關わっている。このように重要な組換え機構の中心を担っているのが MRE11 と RAD51 遺伝子機能である。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に於けるこれら蛋白質の機能を解析し、さらに共同で働く蛋白質の作用機構について研究を進めた。

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、学術振興会外国人特別研究員：Andrei Alexeev、総合研究大学院大学学生：渡辺光一、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、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)「真核生物の遺伝的組換えシステムの研究」(代表・小川英行)(小川)、ヒューマンフロンティア・サイエンスプログラム研究助成「組換え、複製、修復反応で働く DNA-蛋白質複合体の研究」(小川)、公益信託林女性自然科学者研究助成基金「遺伝的組換え機構の解析」(小川)、文部省科研費補助金、特定領域研究(A)(1)、「生殖細胞の特質」(代表：山本)「減数分裂の特性とその制御」(小川)、特定領域研究(A)(1)「DNA 修復欠損の分子病態」(代表：花岡)「酵母の組換え前期と中期過程の分子機構」(小川)、国際学術研究「組換えに關与する染色体構造の機能解析」(田中)、国際学術研究「減数分裂期組換えの機能解析」(太田)、特定領域研究(A)「細胞核の機能構造」(代表：水野)「クロマチンの構造を介した組換え反応の機能解析」(太

田), 特定領域研究(A)「転写調節機構」(代表: 藤井)「クロマチン構造変化を介した転写調節機構の解明」(太田), 特定領域研究(A)「エイズ制御」(代表: 内山)「ヒト HIV・インテグラーゼを補助する宿主核内因子 SWI 蛋白質の機能解析」(太田), 奨励研究(A)「組換え蛋白質複合体の精製と機能解析」(太田), ヒューマンフロンティア・サイエンスプログラム研究助成「真核生物における DNA 傷害の組換え修復の研究」(太田), 日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), 特別研究員奨励費「組換え体形成に働く複合体とその構成蛋白質の機能解析」(松田), 特別研究員奨励費「真核生物の SOS 応答反応機構の解析」(Andrei Alexeev)などの支援を受けた。

研究所の共同研究としては「遺伝的組換え開始の分子機構とその制御の研究」(阪大・理学部・坪内英生), 「転写調節におけるクロマチンの構造変化 - 原子間力顕微鏡を用いた解析」(京大・総合人間学部・竹安邦夫), 「高頻度にターゲットインテグレーションを起こすニワトリ B リンパ細胞株 DT40 相同 DNA 組換え機構の解析」(京大・医学研究科・武田俊一)と, 「出芽酵母組換え開始遺伝子 MRE11 の機能解析」(岩手女子看護短大・小川英行)を行った。

減数分裂期組換えは, 遺伝子のプロモータ - 領域にある組換えのホット・スポットに Mre11 タンパク質が結合して開始する。これは, Mre11 と転写開始に関与するタンパク質や, 染色体構造構成タンパク質との相互作用が, 組換え開始に主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 は別のタンパク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2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 のタンパク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 タンパク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 break; DSB)と, その DNA の末端の消化である。切断には少なくとも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。精製された Mre11 蛋白質はドメインにより分けられる機能を持っている。すなわち, ヌクレアーゼを支配する N 末, 切断に必要な C 末, 切断と処理のためのそれぞれ異なる DNA 結合部位, 二箇所の Rad50 との結合部位等である。上記の2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蛋白質に

ある2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2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(非同相組換え)である。ヌクレアーゼ依存の修復は、減数分裂期のDSB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。この研究の複合体形成は、大阪大学理学部・臼井雄彦と小川英行との共同研究である。

(2)Mre11変異株の単離：押海裕之，立田大輔，小川智子

MRE11遺伝子が組換えやDNA損傷の修復に働くことから変異株の単離を行った。3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、MMSで作られるDSB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-末端にアンパ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DSBは部分的に修復される。グループCに属する変異は、Mre11蛋白質のホスホエステラーゼ・コンセンサス配列に変異を持ち、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、このグループの変異株はMMS処理により生じたDSB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、異なった反応を行うことを示している。さらに、これらのグループの変異株の組み合わせによって作った2倍体は野生型の表現型を示した。これは、それぞれの反応が別の複合体により行われていることを示唆した。実際に、ヘテロ2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を形成していた。

(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された。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活性が検出できた。多量体形成反応には基質線状DNAの末端の相同性が必須である。また、Mre11-58蛋白質(グループC)は、野性型蛋白質複合体より高い多量体形成活性を示した。これは、エキソヌクレアーゼ活性の消失によると考えられる。この線状DNAの末端の結合は特殊な組換え反応に働く活性であると考えられ、現在その解析が進められている。

(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変異株ではテロメアの短小化が観察される。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、野生株ではテロメアの末端のssDNAはS期の後期に合成されるが、mre11変異株ではそのssDNAが細胞周期を通し

て殆ど観察されなかった。現在、種々の mre11 変異株と rad50 変異株のテロメア長と ssDNA の露出の程度を細胞周期との関連で解析し、テロメア維持に関与する Mre11-Rad50-Xrs2 複合体の役割を検討している。

(5)Rad51 蛋白質による組換え反応は Rad52 蛋白質によって促進される：篠原 彰（大阪大学）、小川智子

Rad51 蛋白質は、一本鎖の環状構造 DNA と、それと同じ塩基配列の鎖を持つ線状の二本鎖 DNA があると、線状二本鎖 DNA から、環状構造 DNA の相補鎖に当たる鎖を、環状構造 DNA に移行させる反応を行う。その移行が完了すると、最終的には二本鎖の環状構造 DNA と一本鎖の線状 DNA ができる。Rad51 蛋白質単独では、この反応の活性は弱いですが、Rad52 の添加によって大きく促進される。(1)その促進は DNA 結合蛋白質、RPA を加えたとさらに促進される。(2)Rad52 蛋白質による Rad51 蛋白質の活性の促進には、Rad52 蛋白質の C 末端が必要である。Rad52 を C 末端から 177 アミノ酸を欠失させると、その変異蛋白質では Rad51 の活性を促進することができなくなる。両蛋白質同士の相互作用が促進に必要である。(3)Rad52 蛋白質は DNA に結合してリング状の構造をつくる。単独で DNA の相補鎖をアニーリングする活性を持っていることが分かった。

(6)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。驚くことに、rad52-1 変異株は殆どすべての組換え機能を欠失しているのにも関わらず、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。この結果は、組換えの主な反応は Rad51 移行鎖反応であることを示唆している。また、この移行反応で、Rad51 が ssDNA にヌクレオプロテイン・フィラメントを形成するためには Rad52 の ssDNA 結合能が重要な役割を担っていることを示唆している。

(7)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ている。

(8) 組換え遺伝子発現の制御 : A. Alexeev, 田中茂生, 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。我々は RAD51 の誘導に伴う因子の同定を *in vivo* footprinting 法を用いて行ってきた。その結果下記のことが明らかになった。

1. RAD51 遺伝子の上流に数種類の塩基配列が, Rad51 蛋白質の誘導合成とその抑制に関与する。

DNA 傷害剤で処理した細胞の RAD51 遺伝子上流配列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 を行った結果, 上流領域約 1kb に渡って 4 箇所に footprint が観察された。その中の 3 つの配列は遺伝子の発現に従って蛋白質が結合し, 他の 1 つは結合していた蛋白質が除去された。

2. 同じ試料をマイクロコッカール DNase で処理してヌクレオソーム構造を調べた。

上流領域 1kb に 3 個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ない領域に存在した。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. 同定した塩基配列に特異的に結合する蛋白質を同定した結果, 40K の蛋白質が同定された。その蛋白質を精製し, そのアミノ酸配列を決定したところ Cbf1 蛋白質であることがわかった。現在, cbf1 変異株に於ける RAD51 遺伝子の上流領域の footprinting を行って, 正の制御因子であることの確認と, 変異株に於ける RAD51 遺伝子発現を細胞周期 G1/S と MMS 処理の細胞と, 減数分裂期の細胞で調べ, Cbf1 蛋白質の役割を解析している。

(9) 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。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* 再構成転写系で解析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。

(10) 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を検討している。

研究業績

(1) 原著論文

1. Shinohara, A., Gaisor, S., Ogawa, T., Kleckner, N. and Bishop, D. K.: *S. cerevisiae* *recA* homologues *RAD51* and *DMC1* have both distinct and overlapping roles in meiotic recombination. *Genes to Cells*, 2, 615-629 (1997).
2. Wakasugi, T., Nagai, T., Kapoor, M., Ohta, T., Yoshinaga, K. and Sugiura, M. Complete nucleotide sequence of the chloroplast genome from the green alga *Chlorella vulgaris*; The existence of genes possibly involved in chloroplast division. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94, 5967-5972 (1997).
3. Alexseev, A.A., Baitin, D.M., Kuramitsu, S., Ogawa, T., Ogawa, H., Lanzov V.A.: A recombinational defect in the C-terminal domain of *Escherichia coli* RecA2278-5 protein is compensated by protein binding to ATP. *Mol Microbiol.* 23, 255-265 (1997).
4. Shinohara, A. and Ogawa, T.: Stimulation of by Rad52 of yeast Rad51-mediated Recombination. *Nature*, 391, 404-407 (1998).
5. Shinohara, A., Shinohara, M., Ohta, T., Matsuda, S. and Ogawa, T.: Rad51-independent Homologous Recombination Mediated by Rad52. *Genes to Cells* 3, 145-156, (1998).
6. Okamoto, T., Yamamoto, S., Watanabe, T., Ohta, T., Hanaoka, F., Roeder, G. R. and Ohkuma, Y.: Analysis of the role of TFIIE in transcriptional regulation through structure-function studies of TFIIEb. *J. Biol. Chem.*, 273, 19866-19876, (1998).
7. Usui, T., Ohta, T., Oshiumi, H., Tomizawa, J., Ogawa, H. and Ogawa, T.: Complex formation and functional versatility of yeast Mre11 of budding yeast in recombination. *Cell*, 95, 705-716, (1998).
8. Kobayashi, M., Aita, N., Hayashi, S., Okada, K., Ohta, T. and Hirose, S.: DNA supercoiling factor localizes to puffs on polytene chromosomes in *Drosophila*. *Mol. Cell. Biol.*, 18, 6737-6744, (1998).
9. Lin, Y., Tong, T., Nomura, T., Dorjbal, D., Hayashi, N., Wei, W., Ohta, T., Roeder, G. R. and Murakami, S.: The HBV X protein is a cofactor of activated transcription that modulates the transcription machinery and disal binding activators. *J. Biol. Chem.*, 273, 27097-27103, (1998).

(2) その他

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

(3) 発表講演

1. Ohta, T., Oshiumi, T., Ogawa, H. and Ogawa, T.: Roles of ssDNA Endonuclease of Mre11 Protein of Yeast, 国際シンポジウム「遺伝的組換え機構とその重要性」大阪，3月．
2. Ogawa, T.: Functions of Mre11 Protein involved in Recombination and Repair. EMBO workshop on Genetic Recombination, Seillac France, May.
3. Ogawa, T.: Functions of Mre11 and Rad50 Proteins involved in Recombination Initiation Reaction. Gordon Research Conference on MEIOSIS, NewLondon, USA, June.
4. Ogawa, T., Ogawa, H., Ohta, T., Oshiumi, H.: Functions of Mre11 Protein in Yeast Recombination. Eighteenth International Congress of Genetics, Beijing, China, August.
5. 小川智子：組換え修復に関与する Mre11 蛋白質機能．放射線影響学会第41回大会シンポジウム，長崎，12月．
6. 小川智子：酵母の組換え機構．第13回ワークショップ「遺伝的組換えとその制御」，横浜，12月．
7. Ohta, T., Tomizawa, J., Ogawa, T.: Roles of Mre11 Protein in Yeast Recombination and Repair. 第21回日本分子生物学会年会，横浜，12月．
8. Oshiumi, H., Tsubouchi, H. and Ogawa, H.: *mre11* Mutants Defective only in Occurrence of Meiosis-specific Double-strand Breaks. 国際シンポジウム「遺伝的組換え機構とその重要性」大阪，3月．
9. Andrei, A., Ogawa, T.: Chromatin Structure of The Operator-promoter Region of the *RAD51* Gene. 国際シンポジウム「遺伝的組換え機構とその重要性」大阪，3月．
10. Andrei, A. and Ogawa, T.: Chromatin Structures of the Operator-promoter Region of the *RAD51* Gene. DNA Repair, Warrenton USA, April.
11. Ohta, T., Oshiumi, T., Ogawa, H. and Ogawa, T.: Roles of Mre11 Protein in Yeast Recombination. Gordon Research Conference on MEIOSIS, NewLondon, USA, June.
12. 押海裕之，太田 力，坪内英生，小川英行，小川智子：減数分裂期組換え開始に於

- ける酵母 Mre11 蛋白質の役割. 日本遺伝学会第 70 回大会, 札幌, 9 月.
13. 小川智子, 田中茂生: 遺伝子 Mre11 のテロメア維持に関する機能解析, 第 13 回ワークショップ「遺伝的組換えとその制御」, 横浜, 12 月.
 14. 押海裕之, 太田 力, 坪内英生, 小川英行, 小川智子: 遺伝的組換えの開始機構: Mre11 蛋白質の減数期 DNA 二重鎖切断導入における役割. 第 13 回ワークショップ「遺伝的組換えとその制御」, 横浜, 12 月.
 15. 田中茂生, 小川智子: 酵母組換え遺伝子 Mre11 のテロメア維持に関する機能解析. 第 21 回日本分子生物学会年会, 横浜, 12 月.
 16. 押海裕之, 太田 力, 坪内英生, 小川英行, 小川智子: 遺伝的組換えの開始機構, Mre11 蛋白質の減数分裂期 DNA 二重鎖切断導入における役割. 第 21 回日本分子生物学会年会, 横浜, 12 月.
 17. 渡辺光一, 松田志麻子, 太田 力, 小川智子: 出芽酵母の体細胞分裂期に働く Rad51 組換え系の蛋白質の機能解析. 第 21 回日本分子生物学会年会, 横浜, 12 月.
 18. Andrei, A. and Ogawa, T.: Chromatin structure of the operator-promoter region of the *RAD51* gene. 第 21 回日本分子生物学会年会, 横浜, 12 月.
 19. 松田志麻子, 渡辺光一, 太田 力, 小川智子: 出芽酵母 Rsd52 蛋白質の機能解析. 第 21 回日本分子生物学会年会, 横浜, 12 月.
 20. 上村隆俊, 小川智子, 池村淑道: マウス減数分裂期における三重鎖形成配列の核内配置. 第 21 回日本分子生物学会年会, 横浜, 12 月.
 21. 朝川真也子, 山下利春, 箕輪明子, 小川智子, 瀬川 薫: Rad 蛋白質と p53 蛋白質の機能的相互作用. 第 21 回日本分子生物学会年会, 横浜, 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, 及び大腸菌の細胞分裂に関する研究を行った.

本部門のスタッフは, 1 月に荒木弘之が教授として大阪大学より着任し, 4 月に助手原弘志が埼玉大学に転任し, 12 月に上村陽一郎が助手として大阪大学より着任した. 従って本年の研究は, 教授荒木弘之, 助教授安田成一, 助手原 弘志(1 ~ 3 月), 助手上村陽一郎(12 月), 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“細胞核の機能構造”(2)「出芽酵母の DNA 複製装置の変異による核分裂の異常」(荒木), 同“細胞複製装置”(2)「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”(2)「出芽酵母 DNA ポリメラーゼとその補助因子の DNA 修復における役割」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者としての支援も受けている。

本研究の共同研究としては、「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 I (), II (), III ()が必要である。DPB11 遺伝子は、DNA ポリメラーゼ II ()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 (Araki et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 92, 11791-11795)。本年はまず、Dpb11 と Pol2 が物理的に相互作用しているかどうか調べるために架橋剤で処理した細胞抽出液を免疫沈降法を用いて解析した。その結果、Dpb11 と Pol2 が共沈してきたことから、両者が複合体を形成していることがわかった。さらに Dpb11 の染色体 DNA 複製における役割と PolII との関係を調べるために CHIP (chromatin immunoprecipitation) 法を用いて Dpb11 のクロマチンへのローディングおよび Pol2 との挙動の比較をおこなった。複製前複製開始複合体 (pre-RC) の一つである Mcm4 は M 期後期から複製開始領域に結合しているが、Dpb11 は Pol2 と同じ S 期初期に複製開始領域にローディングされることが分かった。さらに、*dpb11-1* 変異株での PolIII の複製開始領域へのローディングを調べたところ、PolIII のローディングは検出されない。これらのことから、Dpb11 は DNA ポリメラーゼの複製開始領域へのローディングに必要であることがわかった。

(2) 出芽酵母 Dpb11 と相互作用する Sld2, 3, 4 の解析：上村陽一郎，荒木弘之

Dpb11 の機能をより詳しく解析するため、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 II 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, 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、まずこの因子の解析を行った。DPB11、SLD2 は各々の温度感受性変異を多コピーで抑圧した。また、2-ハイブリッド法や、免疫沈降法の実験から Dpb11 と Sld2 が細胞内で複合体を形成していることを示した。更に、各々の温度感受性変異ではこの複合体形成能が温度感受性を示していることがわかった。次に、DPB11、SLD2 の温度感受性変異株の解析から、これらの因子が染色体 DNA 複製の初期に機能していることを示した。これらのことから、Dpb11/Sld2 複合体形成が、染色体 DNA

複製に必須の機能を果たしていることが明らかになった(原著論文, 1). 現在は, SLD3 と SLD4/CDC45 の解析を進行中であり, これらの結果をもとにその役割を明らかにしようとして試みている.

(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 のタンパク質をコードしており, 細胞増殖に必須である. 温度感受性変異 sld5-12 の多コピーサブ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ている. また, two-hybrid 法と免疫沈降法により Sld5 と Psf1 の物理的な相互作用が酵母細胞内で検知される. さらに, 大腸菌の大量発現系によって得た Sld5 と Psf1 タンパク質が複合体を形成することがわかり, Sld5 と Psf1 が細胞内で直接結合することが示唆された. 一方, sld5 及び psf1 温度感受性変異株では, 制限温度下において垂鈴型を示し S 期初期に細胞周期を停止することから, Sld5/Psf1 複合体が染色体 DNA 複製の初期に関与していることが示唆された. さらに, two-hybrid 法において Psf1 は Dpb11, DNA ポリメラーゼ II の 2 番目のサブユニットをコードする Dpb2, 新規の複製因子 Sld3 とも相互作用する. これらのことから, Sld5/Psf1 も, 複製の初期に Dpb11/Sld2 とともに Pol III と相互作用しながら働いていると考えている.

(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) と呼ばれるリピート構造の 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(原著論文, 1). 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. 現在までに, 10 を越える温度感受性変異に加えて, 増殖には影響しないが DNA 損傷に感受性の変異も取得している. 今後, これらの変異の解析から Dpb11 の複製以外での機能や Dpb11 の各 BRCT リピートの機能について明らかにしてゆく予定である.

(5) 大腸菌イニシエーター DnaA 蛋白の熱安定化機構: 安田成一

われわれは大腸菌の染色体複製開始をつかさどる DnaA 蛋白が, 熱ショック蛋白 DnaK と結合することで熱による不活性化に対して非常に抵抗性になるのを見いだした. DnaA のどの領域が DnaK 蛋白との結合にあずかっているのかを明らかにする目的で今までに DnaA の種々の欠失変異の単離を行ってきたが, 本年はそれらの変異 DnaA 蛋白のうち唯一可溶性画分に大部分の回収可能な, C 末端 91 アミノ酸の欠失したもの (DnaA573) を大量発現させ, その精製を行った. DnaA 蛋白は現在, 4 つの機能ドメインからなる

考えられており、そのうちのもっともC末端側の4分の1ほどはoriCへの結合に関するドメインであり、そのとなりのドメインのN末側の端、DnaAの中央付近にはATP結合部位があることが知られている。またこれら二つのドメインの境界あたりには膜との結合に関与すると推定されるアミノ酸配列が見いだされている。DnaA573で欠失したC末端領域はDNA結合ドメインを完全に含むので、この蛋白はDNA結合能は失っていることが予想されるが、それ以外の性質について野生型DnaAとの違いを調べた。まずATP結合能を調べたところDnaA573のATPに対する解離定数は野生型DnaAのそれとほとんど変わらなかった。DnaA573ではATP結合ドメインが無傷で残っている筈なので予想されたことであるが、この蛋白のC末端の欠失によってこの蛋白の構造変異がそのほかの領域に及んでいるとしても、少なくともATP結合領域の構造は正常であると考えられる。次にDnaKとの結合をしょ糖密度勾配遠心法で調べたところ、野生型のDnaAと異なり、全く結合しないことが分かった。このことから暫定的な結論として、DnaAのDNA結合ドメインのなかにDnaKとの結合に関する部位が含まれるといえるが、最終的な結論を得るにはさらに実験が必要である。野生型のDnaAは低イオン強度でアグリゲートする性質があり、DnaKと結合することによって可溶化するの、DnaA同士の結合領域とDnaKとの結合領域は共通である可能性があったが、DnaA573では低イオン強度でやはりアグリゲートするので、これらは異なる部位で結合していると考えられる。低イオン強度の条件で野生型DnaAをDnaKと結合させたところにoriC DNAを加えると、DnaAとDnaKの結合は破壊され、すべてのDnaAはoriCと結合し、DnaKのみがフリーで残る。このことはDnaAのDnaKとの結合に関する部位が同時にoriCとの結合部位に重なるとの上述の暫定的な結論と矛盾しない。今後は欠失の範囲を少しずつ変えた変異蛋白をとって、DnaAのDnaKとの結合部位とoriC結合領域の異同をさらに詳しく調べる予定である。

(6)大腸菌の細胞壁ペプチドグリカン合成するモノファンクショナルグリコシルトランスフェラーゼ：原 弘志(現 埼玉大・理・分子生物)

細菌細胞壁をつくるペプチドグリカンは、糖鎖を短いペプチド鎖が架橋している網目構造の巨大分子である。大腸菌では、ペプチドグリカンの糖鎖重合酵素として、ペプチド架橋活性もあわせもつペニシリン結合蛋白質(PBP)1aと1bが知られているが、それ以外に、糖鎖重合だけをこなす単機能酵素(モノファンクショナルグリコシルトランスフェラーゼ)も存在する(Hara, H. and Suzuki, H., FEBS Lett. 168, 155-160, 1984)。最近、単機能酵素をコードすると推測される遺伝子mtgAが同定され、その過剰発現株は高い糖鎖重合活性をもつことが示された(Di Bernardino, M. et al., FEBS Lett. 392, 184-188, 1996)。

そこで、染色体上のmtgA遺伝子の50番目のコドンの後にインターポゾンを挿入して破壊した。mtgA::株は生育可能であった。最初に発見された単機能酵素は、イオン交換クロマトグラフィーでPBP1a・1bと別の画分(CM画分)に分離され、精製されている。mtgA::株のCM画分を調べると、野生株と同じく高い糖鎖重合活性を示した。mtgA遺伝

子産物は、最初に発見された酵素と、分子量や2価金属イオン要求性に少し違いが見られると報告されている。大腸菌は2種類(かそれ以上)のモノファンクショナルグリコシルトランスフェラーゼをもっているのかもしれない。

研究業績

(1)原著論文

1. Kamimura, Y., Masumoto, H., Sugino, A. and Araki, H.: Sld2, which interacts with Dpb11 in *Saccharomyces cerevisiae*, is required for chromosomal DNA replication. *Mol. Cell. Biol.*, 18, 6102-6109, (1998).
2. Noskov, V. N., Araki, H. and Sugino, A.: The *RFC2* gene, encoding the third-largest subunit of the replication factor C complex, is required for an S phase checkpoint in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Cell. Biol.*, 18, 4914 - 4923, (1998).
3. Leem, S-H., Chung, C-N., Sunwoo, Y. and Araki, H.: Meiotic role of *SWI6* in *Saccharomyces cerevisiae*. *Nucl. Acids Res.*, 26, 3154 - 3158, (1998).
4. Sugino, A., Ohara, T., Sebastian, J., Nakashima, N. and Araki, H.: DNA polymerase encoded by *cdc20⁺* is required for chromosomal DNA replication in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Genes to Cells*, 3, 99-110, (1998).
5. Mengin-Lecreulx, D., Ayala, J., Bouhss, A., van Heijenoort, J., Parquet, C. and Hara, H.: Contribution of the *Pmra* promoter to expression of genes in the *Escherichia coli mra* cluster of cell envelope biosynthesis and cell division genes. *J. Bacteriol.* 180, 4406-4412, (1998).
6. Kamimura, Y., Kawasaki, Y., Ohara, T. and Sugino, A.: DNA helicase III of *Saccharomyces cerevisiae*, encoded by *YER176w (HEL1)*, highly unwinds covalently closed, circular DNA in the presence of a DNA topoisomerase and *yRF-A*. *J. Biochem.*, 25, 236-244, (1999).

(2)その他

1. 上村陽一郎, 荒木弘之: 複製装置と細胞周期チェックポイント. 実験医学, 16, 1167-1171(1998). 羊土社.

(3)発表講演

1. Araki, H., Kamimura, Y., Masumoto, H., Okawa, M., Takayama, Y. and Sugino, A.: The Dpb11 and Sld proteins are required for the early step of chromosomal DNA replication in *Saccharomyces cerevisiae*. FASEB Summer Conference "Yeast chromosome structure, replication and segregation", Snowmass, Co., USA, August.

2. 上村陽一郎, 杉野明雄, 荒木弘之: 出芽酵母 Sld3 の機能解析. 第 31 回酵母遺伝学フォーラム, 大阪, 8 月.
3. 増本博司, 杉野明雄, 荒木弘之: 出芽酵母 Dpb11 の染色体 DNA 複製への関与. 第 31 回酵母遺伝学フォーラム, 大阪, 8 月.
4. 荒木弘之: 出芽酵母 Dpb11 の染色体 DNA 複製に於ける機能, 第 71 回日本生化学会, 名古屋, 10 月.
5. Takayama, Y., Okawa, M., Kamimura, Y., Sugino, A. and Araki, H.: Function of the Sld5/Psf1 complex which interacts with DNA polymerase II () and Dpb11 in *Saccharomyces cerevisiae*., The 14th workshop on DNA replication, Fukuoka, October.
6. 上村陽一郎, 杉野明雄, 荒木弘之: 出芽酵母 SLD 遺伝子の機能解析. 第 21 回日本分子生物学会年会, 横浜, 12 月.
7. 増本博司, 杉野明雄, 荒木弘之: 出芽酵母 Dpb11 の染色体 DNA 複製への関与, 第 21 回日本分子生物学会, 横浜, 12 月.
8. 高山優子, 大川麻里子, 上村陽一郎, 杉野明雄, 荒木弘之: 出芽酵母 DNA ポリメラーゼ II (), 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 21 回日本分子生物学会, 横浜, 12 月.

B-c. 細胞質遺伝客員研究部門

ゲノムのダイナミズムに関与する遺伝子の作用を分子遺伝学的手法を用いて解明することを目的とし, 行った研究の結果は以下のとおりである.

(1)ゲノム再編に深く関わる動く遺伝子及び反復配列の研究: 大坪栄一

1)バクテリアの挿入配列(IS; insertion sequence)である IS1 及び IS3 は, それぞれ転移機構が異なる 2 つのタイプの IS 群の代表格である. これらの転移に必要な宿主因子を検索するために, 各種大腸菌変異株における IS の分子内転移反応や環状 IS 分子の生成の有無を調べた. その結果, IS1 によるこれらの反応が H-NS 欠損株では起こらないこと, さらに分子間転移反応も起こらなかったことから, H-NS が IS1 転移に必須であることがわかった. また, 転移反応の生化学的解析を行うために, IS1 と IS3 のトランスポゼース, 及びインヒビタータンパク質 (IS1 InsA, IS3 O_{rf}A タンパク質) の精製を試み, IS3 のトランスポゼース以外のタンパク質をクロマトグラフィーで精製した. IS1 のトランスポゼース及び InsA タンパク質の IS 末端の逆向き反復配列への結合能を調べたところ, どちらも末端逆向き反復配列 IR 特異的な DNA 結合活性を持つことが分かった.

また, 病原性大腸菌 O157 のプラスミドを解析し, IS1, IS3 ばかりではなく, 種々様々な IS がその上に存在すること, それらの因子のいくつかが病原性を来す遺伝子の獲得に深く関わっていることを明らかにした.

2) IS とは異なる様式で転移するトランスポゾン Tn3 の転移の分子機構の解析。 これまでに、Tn3 転移の *in vitro* 系でトランスポゼースによる Tn3 末端に存在する IR の 3' 末端でのニッキング反応を見だし、この反応が宿主タンパク質 ACP (acyl carrier protein) により促進されることを示した。 本年度において、宿主タンパク質 ACP の機能を知るために、先ず精製したトランスポゼース及び ACP によるニッキング反応の化学量論的研究を行うと共に、ACP の存在下でトランスポゼースの IR 特異的結合活性と非特異的 DNA 結合活性を調べた。 その結果、ACP がトランスポゼースの DNA 結合状態を変え、クロマチン様構造を形成することを明らかにした。 さらに、ACP 存在下で IR 変異体のニッキング効率を測定し、変異体の転移効率との関係を調べた結果、末端の変異はニッキングも転移も阻害したことから重要であることが分かった。 また、IR にはトランスポゼースが結合する領域と結合しない領域があるが、結合する領域内において強く影響を与える部位とそうでない部位があることが分かった。

3) 植物(イネ)ゲノムから転移性遺伝因子の構造と機能の解析。 本年度において、新たな 5 種の転移性遺伝因子分離同定した。 また、新規のジブシー型レトロトランスポゾン及び LINE を分離同定すると共に、LINE においては、このエレメントが植物界に広く分布していることを明らかにした。 また、レトロポゾン SINE の発現の解析を行うことによって、これが熱処理をはじめとする各種ストレスによって発現が抑制されること、脱メチル化によって発現が誘導されることを明らかにした。

(2) 薬剤耐性プラスミド R100 の接合による DNA 伝達の開始と終結の機構。 DNA の移動というダイナミックな現象に関わる *tra* 遺伝子群が、遺伝子群の先頭に位置する二つの遺伝子 *traJ* と *traY* の産物によって正及び負に制御されていることを明らかにした。

(3) 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(発表講演 1)。

1998 年度は、恐怖以外の情動、怒り(攻撃行動)についても調べたところ、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(発表講演 2, 3)。

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史史教授と行った。 1998 年度の成果としては、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(原著論文 1)。

研究業績

(1) 原著論文

1. Makino, K., Ishii, K., Yasunaga, T., Hattori, M., Yokoyama, K., Yutsudo, C., Kubota, Y., Yamaichi, Y., Iida, T., Yamamoto, K., Honda, T., Han, C.-G., Ohtsubo, E., Kasamatsu, M., Hayashi, T., Kuhara, S. and Shinagawa, H.: Complete nucleotide sequences of 93-kb and 3.3-kb plasmids of an Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7 derived from Sakai outbreak. *DNA Research* 5, 1-9 (1998).
2. KumeKawa, N., Ohtsubo, H., Horiuchi, T. and Ohtsubo, E.: Identification and characterization of novel retrotransposons of gypsy type in rice. *Mol. Gen. Genet.* 260, 593-602 (1998).
3. Taki, K., Abo, T. and Ohtsubo, E.: Regulatory mechanisms in expression of the traY-I operon of sex factor plasmid R100: Involvement of traJ and traY gene products. *Genes Cells* 3, 331-345 (1998).
4. Janosi, L., Mottagui-Tabar, S., Isaksson, L. A., Sekine, Y., Ohtsubo, E., Zhang, S., Goon, S., Nelken, S., Shuda, M. and Kaji, A.: Evidence for in vivo ribosome recycling, the forth step in protein biosynthesis. *EMBO J.* 17, 1141-1151 (1998).
5. Noma, K., Ohtsubo, E. and Ohtsubo H.: Non-LTR retrotransposons (LINEs) as ubiquitous components among plant kingdom. *Mol. Gen. Genet.* 261, 771-79 (1999).
6. Tsuchimoto, S., Ohtsubo, H. and Ohtsubo, E.: Expression and regulation of rice retroposon p-SINE1. *Plant Mol. Biol.* in press (1999).
7. Sekine, Y., Aihara, K., and Ohtsubo, E.: Linearization and transposition of IS3 circles. submitted to *J. Mol. Biol.*
8. Kitazawa, H., Yagi, T., Miyakawa, T., Niki, H. and Kawai, N.: Abnormal synaptic transmission in the olfactory bulb of Fyn-kinase deficient mice. *J. Neurophysiol.* 79: 137-142, (1998).

(2) その他

1. 二木宏明: 遺伝子欠損マウスの行動解析, *Molecular Medicine*, 5: 1480-1487 (1998).
2. 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, No. 2, 272-273 (1998), 秀潤社.

(3) 発表講演

1. Niki, H. and Miyakawa, T.: Behavioral phenotypes of Fyn-deficient mice: emotionality, seizure susceptibility and ethanol sensitivity. First Brain research Interactive Symposium on "Knockout and Mutants: Genetically dissecting brain

and behavior", San Diego, California, November, 1998.

2. Miyakawa, T., Yagi, T. and Niki, H.: decreased offensive and increased defensive aggression in Fyn-deficient mice. The 28th Annual Meeting of Society Neurosci ence, Los Angeles, California, November, 1998.
3. 宮川 剛, 八木 健, 二木宏明: Fyn 欠失マウスの攻撃性, 第 21 回日本神経科学・第 41 回日本神経化学合同大会, 9 月, 東京, 1998.

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山田琢磨(8月31日まで), 小瀬博之, 丹羽 尚(4月1日着任)が研究に参加し, 研究補佐員・鈴木恵美子, 岡部恵子(4月1日着任), 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」, 重点領域研究「RAS/MAPK シグナル伝達経路の新しい制御因子・EDL と SPRY」, 学術振興会未来開拓事業「発生におけるパターン形成機構」(プロジェクトリーダー・林 茂生), 学術振興会日欧共同研究「ショウジョウバエ *eyeless* 遺伝子による器官決定の発生遺伝学的研究」の支援を受けた.

ショウジョウバエグループ 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) 神経細胞誘導能の獲得に関わる *edl* 遺伝子の機能解析: 岡部正隆, 山田琢磨, 広海 健
神経系の発生において神経細胞は段階的に産生される. 例えば, アフリカツメガエル胚の中樞神経系ではまず少数の 1 次神経細胞(primary neuron)が形成され, その後その周囲に新たに神経細胞が誘導されることが知られている. このような 2 段階の神経誘導メカニズムは, ショウジョウバエの神経発生にも共通に観られる. ショウジョウバエ成虫複眼の視細胞(R1 ~ R8)や幼虫伸展受容器の感覚母細胞(C1 ~ C8)はそれぞれお互いを形態的に区別できないが, その運命決定の様式によって 2 つに分類できる. 1 次神経細胞様の Class1 細胞は, 複眼の R8 細胞や rhomboid 遺伝子を発現する 5 つの感覚母細胞(C1 ~ C5)に相当し, Notch シグナル伝達系と bHLH 型転写因子である *atonal* 遺伝子

産物の相互作用により運命決定される。ClassII細胞(R1 ~ R7とC6 ~ C8)は、Rasシグナル伝達系を介してClassI細胞によりその周囲に誘導される。ClassI細胞は神経細胞であるという点でClassII細胞と区別できないが、周囲の未分化細胞を神経細胞に分化させる能力を持つ点で異なっている。ClassI細胞はどのようにして神経誘導能を獲得するのであろうか。ClassI細胞におけるRasシグナル伝達系の機能を調べる目的で、ClassI細胞を含む領域にRasシグナル伝達系の核内標的因子をコードするpointed遺伝子を過剰発現させたところ、過剰な神経細胞が生じるのではなく、ClassI細胞の周囲の神経細胞がむしろ減少した。このことはClassI細胞におけるpointed遺伝子の過剰発現はClassII細胞を誘導する能力を低下させることを示している。Rasシグナル伝達系の構成因子はClassI細胞にも発現しているために、ClassI細胞にはRasシグナル伝達系を抑制するなんらかのシステムが存在することが考えられる。我々は、ClassI細胞においてRasシグナル伝達系を抑制する新しい因子、Edlを単離した。edl機能欠失突然変異体の表現型はpointed遺伝子の過剰発現の表現型に類似しており、ClassI細胞におけるrhomboid遺伝子の発現量が低下し視細胞もしくは感覚母細胞の数が減少していた。EdlによるRasシグナル伝達系の抑制は、ClassI細胞に特異的な神経細胞誘導能の獲得に機能していると考えられる。

(2)核内リセプターSeven-upのリガンド結合領域と結合する新規Pc-G蛋白, 401cの解析: 小瀬博之, 鈴木恵美子, 広海 健

進化的に保存された核内リセプターSeven-upは、ショウジョウバエ個眼内で特定の光受容細胞に発現しており、細胞自立的にそれらのニューロンの運命を決定している。Seven-upはいわゆる孤児リセプターで、リガンドは同定されていない。しかし、Seven-upのリガンド結合領域のみを強制発現させた時、普段Seven-upを発現しない細胞が細胞種特異的に運命変換が起こることから、我々はリガンド結合領域は他の蛋白の活性の調節に関わっていると考えている。この仮説に基づき、酵母2ハイブリッド法を用いてSeven-upリガンド結合領域と結合する蛋白を検索し、Polycomb groupに属する新規遺伝子401cを同定した。現在、401cの機能欠損型、機能亢進型の系統を作成し、seven-upとの遺伝学的相互作用の解析を進めている。

(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、ショウジョウバエにおいて複眼や翅の形成を担うマスターコントロール遺伝子が明らかにされている。これらの遺伝子は異所的な発現によって本来とは異なる場所に各種の器官を形成させることが可能である。しかし、「どの体節にどのような器官を作るか?」という、器官が形成されるための分子的基盤、さらには器官の特異化の分子機構についてはほとんど明らかにされていない。我々は、複眼形成のマスターコントロール遺伝子候補であるeyeless(ey)遺伝子による、成虫原基での異所性複眼形成をモデルとして、器官形成誘導・特異化の分子機構を成虫原基内、及び体節間における位置情報との関連に着目して解析を行っている。

熱ショックプロモーター(hsp70)を用いて ey 遺伝子を幼虫期のすべての成虫原基で発現させたとすると、異所性複眼は産卵後 72-96 時間に熱ショックを与えたもので最も多く形成されることを見出した。さらに FRT/FLP, GAL4/UAS 両システムを組み合わせた FRT/GAL4 システムを用いて、ey 遺伝子の持続的発現細胞群を成虫原基に作成し、解析を行った結果、ey 遺伝子発現細胞群は成虫原基の様々な場所にみられるものの、複眼の形成までにいたるのは触角、脚、翅原基における decapentaplegic 遺伝子発現領域であり、かつ wingless 遺伝子が発現しない部位のみであることを見出した。このことは特定の時期、特定の場所に ey 遺伝子が発現された場合のみに異所性複眼が形成誘導されることを示している。現在、このような時期、部位特異性が他の感覚器官の形成においてもみられるかを比較、解析している。

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(3月1日着任)の2名である。その他科学技術振興事業団ポスドク；梅園良彦、学術振興会特別研究員；秋山 - 小田康子、東京大学大学院生(広海 健教授に委託)；笹村 剛、平本正輝、滝沢一永、新座麻記子、東千絵子が参加した。さらに技術課職員；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」の支援を受けた。

(1) 神経細胞・グリア細胞の分化機構：秋山 - 小田康子、梅園良彦、滝沢一永、堀田凱樹

神経系は神経細胞とグリア細胞という性質の大きく異なる 2 種類の細胞から形成される。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、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 遺伝子を欠失するとこれらの細胞は神経細胞様に分化し、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。中枢神経系の幹細胞の一つである胸部体節の NB6-4 が不等分裂する際、gcm mRNA は分裂前に発現するがタンパクは検出されない。分裂直前から gcm mRNA は NB6-4 内で不均等に分布するようになり、分裂時には不均等に分配されることが分かった。正中線に近い娘細胞は gcm mRNA を受け取り gcm タンパクを発現してグリア細胞を作り、外側の娘細胞は mRNA を受け取らずに神経細胞を作ることが分かった。グリア細

胞のみを生み出す胸部体節のNB6-4では不均等分配は見られなかった。以上の知見から幹細胞の細胞分化分岐点にあたる細胞分裂におけるgcm mRNAの不均等分配が神経細胞・グリア細胞分化決定を制御していることが示された。またこの不均等分配の分子機構についても解析を行った(秋山・小田)。末梢神経系の感覚器の一つでは1個の前駆細胞が2個の細胞に分裂し、gcm発現のON/OFF制御により一方はグリア細胞に、他方は神経細胞に分化する。このときgcm遺伝子はNotchシグナルを介して発現し、神経細胞ではNotchシグナルの抑制因子であるnumbタンパクが働くことによってgcm遺伝子の発現を抑えていることを示唆する結果を得た(梅園)。

gcmによって制御されるグリア細胞や神経細胞の分化過程を明らかにするために、gcm下流の遺伝子カスケードを解析した。グリア細胞で発現する遺伝子prospero, repo, pointed, tramtrackはいずれもgcm欠失変異体で発現が減るかまたはgcm強制発現によって発現が増し、gcmによる正の発現制御を受けていることが分かった。変異体の解析からこれらのグリア細胞特異的遺伝子はグリア細胞の分化や移動・形態形成に必須であることが分かった。特に、グリア細胞は近隣の神経細胞へ分化誘導シグナルを送っていることが示唆されているが、pointedとtramtrackはともにこの分化誘導能の獲得に必要であることが示された。またtramtrackは神経細胞特異的遺伝子elavを抑えており、神経細胞への分化を抑制する経路の一部であると考えられる(滝沢)。

(2)軸索走行メカニズムの解析：滝沢一永，平本正輝，笹村 剛，新座麻記子，堀田凱樹

グリア細胞が欠失するgcm突然変異体での軸索走行を解析することによって、神経軸索束の形成におけるグリア細胞の機能を検討した。その結果から、軸索束の形成においては、(1)グリア細胞非依存的なパイオニア神経細胞の軸索伸長、(2)グリア細胞の神経軸索への会合、(3)グリア細胞依存的なフォロアー神経細胞の軸索伸長、(4)グリア細胞非依存的なシナプス標的認識という4ステップが順に起こるというモデルを提案した(滝沢)。

中枢神経系の軸索走行機構を、横方向に走る神経細胞の軸索ガイダンス分子と従来は考えられていたネトリンNetrin A, B, およびその受容体と想定されているFrazzled分子の機能を中心に解析した。縦方向のみに走行する神経細胞MP1, dMP2の解析により、Netrin A, BおよびFrazzledは共にMP1, dMP2の縦方向への軸索伸長に必要である事、Netrin A, Bは合成分泌された後Frazzled発現細胞に捕捉される事、Netrin A, Bが局在している領域はMP1, dMP2の軸索の侵入を抑えている事を示した(平本)。

軸索束の形成に関与する新たな遺伝子の同定を目的とし、軸索の染色が可能なtau-lacZ遺伝子をマーカーとしたエンハンサートラップスクリーニングを行った。縦方向の軸索走行に異常を持つ複数の系統を単離し、そのうち3系統の原因遺伝子のクローニングを行っている(笹村・新座)。うち一つの系統の原因遺伝子の候補の一つは新規キナーゼをコードし神経発生のごく初期から発現していた。この系統では神経細胞とグリア細胞の形成にも異常が見られることから、細胞分裂や分化などへの関与が推定される(新

座).

(3) gcm 転写調節因子ファミリー：東千絵子，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。これまでにヒト，マウス，ゼブラフィッシュ，プラナリアにおいて gcm モチーフを持つ分子が単離されている。ショウジョウバエの新たな遺伝子である gcm2 を単離し，一部のグリア細胞で gcm 依存的に発現していることを示す結果を得た。gcm2 は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(東)。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。一方 gcm2 もこの領域で発現しており，同様に血球の分化に関与する可能性がある。現在突然変異体の単離を行なっている(東・細谷)。またマウスの gcm もショウジョウバエと相同な機能を持っている可能性があると考え，変異体を作成中である(細谷)。

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：藤沢敏孝，服田昌之，高橋俊雄，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(¹ 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 180 のペプチドを単離し，7 種のペプチドのコーディング遺伝子を同定し，4 種のペプチドに対する抗体を作成した。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。

1-1) ヒドラ足部形成を促進する Hym-323 と Hym-346：服藤尚恵ら

足部形成を促進する 2 種のペプチドを同定した(Hym-323: KVVQGKPTGEVKQIKF, Hym-346: AGEDVSHELEEKEKALANHS)。Hym-323 は新規なペプチドだが，Hym-346 は既報の pedibin(Hoffmeister, 1996) と基本的には同じ分子と考えられる。両ペプチドとも足部再生を促進し，また位置情報を下げることにより体幹の足部化をひきおこす。この様に実験発生的な解析では両者に差が見られないが，体幹上での遺伝子発現のパターンは大きく異なっていた。Hym-323 は内外両胚葉の上皮細胞でほぼ一様に発現するが，Hym-346 は足部と触手の内胚葉上皮細胞で発現する。Hym-323 遺伝子の発現パターンと足部形成促進活性の関係については様々な可能性が考えられ，現在解析中である。一方，Hym-346 遺伝子の発現パターンからはこのペプチドが足部のみならず，触手の形成にも関わっている可能性が考えられる。この可能性についても現在解析中である。

1-2) ヒドラの外胚葉上皮筋を特異的に収縮させる新規の神経ペプチド，Hym-176：廉勝植ら

Hym-176(APFIFGPVKamide) は外胚葉上皮筋を特異的にかつ可逆的に収縮させる活性を持つ。ヒドラの筋繊維は外胚葉は頭 - 足軸に沿って縦走り，内胚葉は縦軸に直角に環

状に走っている。従って、外胚葉上皮筋の収縮と内胚葉上皮筋の弛緩はヒドラのからだの収縮を惹起し、その逆は伸長を促す。Hym-176の作用は体幹に限られており、触手には何ら影響を及ぼさない。この事から触手の運動に関わる未同定の神経伝達物質が存在すると考えられる。Hym-176に対する抗体を用いた免疫組織染色及び、Hym-176コーディング遺伝子の発現解析からこのペプチドは主として足部の神経細胞で発現することが明らかとなった。発現パターンとその作用の間には強い相関がある。これらの結果はヒドラの運動は部域特異的な神経伝達物質と筋肉細胞との特異的な組み合わせで決まることを示唆する。

(2)ヒドラの生殖細胞で発現する nanos ホモログ及び vasa-like gene の単離：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特に重要と思われる生殖幹細胞の分子マーカーの分離を試みた。ショウジョウバエの生殖細胞形成には nanos, vasa などが重要な働きをしていることが知られている。また vasa 関連の遺伝子はアフリカツメガエル、マウスなどでも生殖細胞で特異的に発現している。そこで、これら遺伝子のヒドラホモログを単離し、その発現を *in situ* hybridization 法で解析した。ヒドラ nanos (Hynos) の cDNA は全長約 1.5Kb で、Zn フィンガードメイン周囲のアミノ酸配列はヒル、ショウジョウバエ、アフリカツメガエルと約 50% 前後の相同性を示した。hynos は生殖幹細胞で発現し、かつ多能性間幹細胞でも発現すると思われる。一方、ヒドラ vasa (Hydra vasa-like gene=Hyvlg) は 3 種存在し、うち 2 種 (Hyvlg 2, 3) は hynos と似た発現パターンを示した。これらも全長 cDNA を得たが、Hyvlg 2, Hyvlg 3 は N-末端付近にそれぞれ 7 つと 1 つの Zn フィンガードメインを持つ。この種の vasa タイプの遺伝子は線虫以外では報告されていない。現在、これらの遺伝子のより詳細な発現パターンを解析中である。

(3)細胞外マトリックス：清水 裕

細胞外マトリックスは、上皮細胞の基底膜として細胞増殖や細胞分化において重要な役割を果たすと考えられている。また、進化の過程で細胞の接着を仲立ちすることにより多細胞体制の形成に重要な役割を果たしたと考えられる点でも注目されている。しかし、その実験系は多くが高等動物の培養細胞系であり、生体系、下等動物での研究例は非常に少ない。腔腸動物ヒドラでは、細胞外マトリックス(メソグリア)は一層の外胚葉上皮と一層の内胚葉上皮の間に存在する非細胞性の層状構造である。両胚葉の上皮はすべてメソグリアと密接に接着している。我々は、ヒドラ個体にメスで傷を付けたり頭部切除などを行うと、傷口付近でメソグリアの収縮が起こり、収縮した範囲内ではメソグリアが完全に欠失した状態になること、この状態が長時間持続することを明らかにした。そこで、このメソグリア欠失によって上皮構造や細胞の活性に及ぼす影響を調べる研究

をアメリカカンサス大学サラス教授らと共同で行っている。

(4) サンゴの網目状進化：深見裕伸，服田昌之

ミドリイシサンゴの多くの種は一斉産卵を行うことから交雑の可能性が指摘されてきた。交配実験によって形態の類似性とは関係なく特定の組み合わせで種間交配が起こること、種間交配する種どうしは遺伝的に区別できず、種間交雑による遺伝子移入の可能性が高いことを明らかにした。このような一群の種は 'metaspecies' というべき種複合体と見なされ、ミドリイシ属は少なくとも6単位の種複合体からなることを示した。これは網目状進化の時間的断面によく一致するとともに、雑種化による種の融合過程における形態多様化の可能性が考えられる。

研究業績

(1) 原著論文

1. Hacohen, N., Kramer, S., Sutherland, D., Hiromi, Y. and Krasnow, M. A.: *sprouty* encodes a novel antagonist of FGF signaling that patterns apical branching of the *Drosophila* airways. *Cell* 92, 253-263, (1998).
2. Akiyama-Oda, Y., Hosoya, T. and Hotta, Y.: Asymmetric cell division of thoracic neuroblast 6-4 to bifurcate glial and neuronal lineage in *Drosophila*. *Development* 126, 1967-1974 (1999).
3. Akiyama-Oda, Y., Hosoya, T. and Hotta, Y.: Alteration of cell fate by ectopic expression of *Drosophila* glial cells missing in non-neuronal cells. *Dev. Genes & Evol.* 208, 578-585, (1998).
4. 堀田凱樹：生体時計とグラニオン。科学 68 巻 2 号(1998 年 2 月号) 巻頭言 101(1998)。
5. 堀田凱樹：21 世紀の大学像。学術月報 51 巻 10 号(1998 年 10 月号) 巻頭言 2-3 (1998)。
6. 滝沢一永：ショウジョウバエ神経系におけるグリア細胞の分化とその神経回路形成における機能，東京大学理学系研究科生物化学専攻博士論文(1998 年 12 月)。
7. 平本正輝：ショウジョウバエ神経系の前後方向の軸索ガイダンスにおけるネトリン・フラッツルドの機能解析，東京大学理学系研究科生物化学専攻博士論文(1998 年 12 月)。
8. 新座麻記子：ショウジョウバエ初期神経系発生に関する新規遺伝子の単離，東京大学理学系研究科生物化学専攻修士論文(1998 年 1 月)。
9. 東千絵子：gcm モチーフを持つショウジョウバエの新たな遺伝子 gcm2 の解析，東京大学理学系研究科生物化学専攻修士論文(1998 年 1 月)。
10. Yum, S., Takahashi, T., Koizumi, O., Aiura, Y., Kobayakawa, Y., Mohri, S. and Fujisawa, T.: A novel neuropeptide, Hym-176, induces contraction of the ectodermal muscle in hydra. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 248, 584-590 (1998).

11. Yum, S., Takahashi, T., Hatta, M. and Fujisawa, T.: The structure of a preprohormone of a neuropeptide, Hym-176 in *Hydra magnipapillata*. FEBS Lett. 439, 31-34 (1998).
12. Grens, A., Shimizu, H., Hoffmeister, S., Bode, H.R., & Fujisawa, T. (1999). Pedibin/Hym- 346 lowers positional value thereby enhancing foot formation in hydra. Development, 126, 517-524.

(2) その他

1. 岡野栄之, 岡部正隆, 中村由紀, 今井貴雄, 榊原伸一, 澤 斉: 神経前駆細胞 / 神経幹細胞の非対称性分裂の制御と細胞系譜の形成 実験医学, 羊土社 16(17), 2198-2205, 1998.
2. Hideyuki Okano, Yukiko Kaneko, Yuki Nakamura, Wado Akamatsu, Yoshihiro Yuasa, Takao Imai, Yuki Hirota, Ming-Hao Jin, Katsuhiko Tabuchi, Akiko Taguchi, Masataka Okabe, Shin-ichi Sakakibara, Takahiro Goto, Yasuo Uchiyama and Kazunobu Sawamoto : The regulatory mechanisms of neural development: Role of cell-autonomous and non-cell-autonomous cues in cell-fate decisions. In "Neural Development: Keio University Symposia for Life Science and Medicine Volume2" Springer, Eds. K.Uyemura, K.Kawamura, T.Yazaki, pp9-23, 1998.
3. 藤澤敏孝: 新規ホルモン探索の新戦略と腔腸動物のホルモン「ホルモンの分子生物学」第8巻, 日本比較内分泌学会編学会出版センター, pp. 17-36.
4. 藤澤千笑, 藤澤敏孝: ヒドラの生殖細胞分化と個体の性決定. 蛋白質核酸酵素 43巻4号, pp. 346-355.

(3) 発表講演

1. Hiromi, Y., Kramer, S., Yamada, T., Okabe, M., Hacohen, N. and Krasnow, M. A.: Sprouty and EDL, two novel negative regulators of the DER pathway. 39th Annual Drosophila Research Conference, Washington D.C., 4月.
2. Tabuchi, T., Yoshikawa, S., Okabe, M., Sawamoto, K. and Okano, H.: Drosophila paired-like homeobox gene expressed in the subsets of developing neurons and epidermis. 39th Annual Drosophila Research Conference, Washington D.C., 4月.
3. 岡部正隆, 山田琢磨, 広海 健: ショウジョウバエ伸展受容器感覚母細胞の2段階誘導の分子機構, 日本発生物学会第31回大会, 熊本, 5月.
4. 山田琢磨, 岡部正隆, 広海 健: ショウジョウバエの新しいEts因子EDLが神経系の分化に与える影響, 日本発生物学会第31回大会, 熊本, 5月.
5. 廣田ゆき, 山本篤世, 岡部正隆, 中村 真, 今井貴雄, 榊原伸一, 澤本和延, 岡野

- 栄之：ショウジョウバエ複眼形成における RNA 結合蛋白質 Musashi の発現と機能，日本発生物学会第 31 回大会，熊本，5 月．
6. 湯浅喜博，岡部正隆，吉川真悟，岡野栄之：ショウジョウバエ repo 遺伝子産物による glia 細胞の分化制御，日本発生物学会第 31 回大会，熊本，5 月
 7. Okabe, M., Yamada, T. and Hiromi, H.: The inhibition of Ras signaling pathway by edl is required for the neural inducing ability of founder cells. 7th European Symposium on Drosophila Neurobiology, Coventry, 9 月．
 8. 岡部正隆，山田琢磨，広海 健：Ras シグナル伝達系を抑制することが神経誘導能の獲得に必要である，日本分子生物学会総会，横浜，12 月．
 9. 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複眼形成と位置情報の関係，日本分子生物学会総会，横浜，12 月．
 10. 小瀬博之，Steve West，鈴木恵美子，広海 健：「孤児核内受容体にリガンドは不要である？」ショウジョウバエ複眼における核内受容体 seven-up の機能解析 第 2 回日本分子生物学会，横浜，12 月．
 11. 湯浅喜博，岡部正隆，吉川真悟，岡野栄之：ショウジョウバエ repo 遺伝子産物の転写制御因子としての機能，日本分子生物学会総会，横浜，12 月．
 12. 廣田ゆき，山本篤世，岡部正隆，中村 真，今井貴雄，宮尾幸代，来栖光彦，榊原伸一，澤本和延，岡野栄之：ショウジョウバエ musashi の複眼における機能解析，日本分子生物学会総会，横浜，12 月．
 13. Hiramoto, M. and Hotta, Y.: Netrin localization at transverse commissure in *D. melanogaster* is dependent on Frazzled. Cold spring harbor, N.Y., 1998 年 9 月．
 14. 東千絵子，細谷俊彦，秋山(小田)康子，堀田凱樹：gcm ファミリーに属するショウジョウバエの新たな遺伝子 gcm2. 日本発生物学会第 31 回大会，熊本，1998 年 5 月 28-30 日．
 15. 堀田凱樹：遺伝子はいかにして脳をつくるのか，湘南レクチャー「物理学的生命像」，葉山，1998 年 8 月 3 日．
 16. 堀田凱樹：ショウジョウバエ神経細胞とグリアの分化スイッチ遺伝子 gcm，ワークショップ「昆虫の変態・休眠の分子機構」特別講演，伊豆長岡，1998 年 8 月 7 日．
 17. 堀田凱樹，秋山(小田)康子，細谷俊彦：ショウジョウバエのニューロン・グリア細胞運命の分岐と glial cells missing(gcm)遺伝子の発現パターン，第 21 回日本神経科学・第 41 回日本神経化学合同大会シンポジウム「脳神経系の形態形成」講演，東京 1998 年 9 月 21-23 日(英文抄録：Drosophila glial cells missing gene determines glia vs. neuron cell fate by asymmetric segregation of mRNA at stem cell divisions, Neuroscience Research. (In Press))
 18. 堀田凱樹：モデル実験生物としてのショウジョウバエ 脳神経細胞分化の遺伝子機構，第 21 回日本学術会議薬理学研究連絡委員会主催シンポジウム「脳・免疫系疾

患モデル動物の開発と創薬，遺伝子治療 現状・問題点と展望」講演，札幌，1998年9月26日．

19. 堀田凱樹：細胞の運命と私の運命，東京大学理学部物理学教室談話会（最終講義），東京，1998年10月23日．
20. 秋山(小田)康子，細谷俊彦，堀田凱樹：グリア・神経細胞の運命分岐と gcm mRNA の非対称分配，JST 戦略基礎研究「脳を知る」シンポジウム，大阪，1998年12月10-11日．
21. 細谷俊彦，堀田凱樹：哺乳動物 GCM 遺伝子の器官特異的発現，JST 戦略基礎研究「脳を知る」シンポジウム，大阪，1998年12月10-11日．
22. 梅園良彦，堀田凱樹：末梢神経系におけるグリア・神経細胞の運命分岐に関わる分子制御機構，JST 戦略基礎研究「脳を知る」シンポジウム，大阪，1998年12月10-11日．
23. 東千絵子，堀田凱樹：ショウジョウバエ gcm2 遺伝子の解析，JST 戦略基礎研究「脳を知る」シンポジウム，大阪，1998年12月10-11日．
24. 花岡龍毅，大森康浩，植村慶一，細谷俊彦，堀田凱樹，岡本 仁：ゼブラフィッシュ gcm 遺伝子のクローニング，JST 戦略基礎研究「脳を知る」シンポジウム，大阪，1998年12月10-11日．
25. 清水真人，森川耿右，細谷俊彦，秋山(小田)康子，堀田凱樹：立体構造解析を目的とした GCM 蛋白質の大量発現系の構築と結晶化，JST 戦略基礎研究「脳を知る」シンポジウム，大阪，1998年12月10-11日．
26. 阿形清和，梅園良彦，堀田凱樹：プラナリアの脳神経系の構造と gcm 遺伝子発現，JST 戦略基礎研究「脳を知る」シンポジウム，大阪，1998年12月10-11日．
27. 新座麻記子，笹村剛司，滝沢一永，堀田凱樹：ショウジョウバエ神経系形成に關する遺伝子の探索，第21回日本分子生物学会年会，横浜，1998年12月16-19日．
28. 藤澤敏孝，服田昌之，高橋俊雄，石原 健，桂 勲，小早川義尚，小泉 修．「環境情報応答シグナル」としての神経ペプチド LWamide ファミリー．日本発生生物学会第31回大会，5月，熊本．
29. 服藤尚恵，服田昌之，清水 裕，小泉 修，藤澤敏孝．ヒドラの足部形成活性化ペプチド，Hym-323の機能解析．日本発生生物学会第31回大会，5月，熊本．
30. 高橋俊雄，服田昌之，宗岡洋二郎，小泉 修，小早川義尚，Thomas C.G. Bosch，藤澤敏孝．ペプチド分子，PW ファミリーと Hym-355，によるヒドラ神経分化の制御．日本発生生物学会第31回大会，5月，熊本．
31. 服田昌之，Sabine Hoffmeister，高橋俊雄，藤澤敏孝．ヒドラの足部再生促進ペプチド Hym-330/Pedin 遺伝子の解析．日本発生生物学会第31回大会，5月，熊本．
32. 清水 裕，M.Sarras Jr. ヒドラ細胞外マトリックスと細胞増殖・形態形成．日本

発生生物学会第31回大会, 5月, 熊本.

33. 望月一史, 藤澤千笑, 藤澤敏孝. ヒドラにおける nanos ホモログ(Cn-nos)のクローニングと発現解析. 日本発生生物学会第31回大会, 5月, 熊本.
34. 藤澤敏孝. ヒドラのペプチド性シグナル分子の特異性と普遍性. 日本比較生理生化学会第9回大会シンポジウム, 7月, 千葉.
35. 藤澤敏孝. ヒドラにおけるペプチド性シグナル分子の組織的同一性. 日本動物学会第69回大会ワークショップ. 9月, 広島.
36. 廉勝植, 服田昌之, 高橋俊雄, 小泉 修, 小早川義尚, 藤澤敏孝. ヒドラの筋収縮活性を持つ新しいペプチドHym-176の同一性, その遺伝子の単離, 発現様式. 日本動物学会第69回大会, 9月, 広島.
37. 服田昌之, 廉勝植, 高橋俊雄, 小泉 修, 小早川義尚, 宗岡洋二郎, 藤澤敏孝. ヒドラの上皮由来のペプチドHym-301の遺伝子単離とその発現様式. 日本動物学会第69回大会, 9月, 広島.
38. 高橋俊雄, 服田昌之, 廉勝植, 小泉 修, 小早川義尚, 藤澤敏孝. ヒドラの神経分化を促進する神経ペプチドHym-355の遺伝子の単離とその発現様式. 日本動物学会第69回大会, 9月, 広島.
39. 深見裕伸, 服田昌之, 下池和幸, 林原 毅, 大森 信. 多重遺伝子族を用いたミドリイシ属サンゴの遺伝的系統関係と網目状進化の再評価. 日本動物学会第69回大会, 9月, 広島.
40. 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時間のずれによるミドリイシの進化. 日本サンゴ礁学会第1回大会, 11月, 東京.
41. 望月一史, 藤澤千笑, 藤澤敏孝. ヒドラの vasa-like gene の単離と発現解析. 日本分子生物学会第21回年会, 12月, 横浜.
42. Hiroshi Shimizu and Michael P. Sarras Jr. Correlation between cell-ECM contact and mitotic and morphogenetic capacity of epithelial cells in Hydra. Third Congress of the Asian-Pacific Organization for Cell Biology, Aug. 24-28, 1998. Osaka.

C-b. 形質遺伝研究部門

当研究部門では, 主としてショウジョウバエとカイコを用いて遺伝子発現制御と発生および发育遺伝学の研究を行っている. 本年度の研究には, 教授・広瀬 進, 助教授・村上昭雄, 助手・上田 均, 山田正明, 湊 清, COE 外国人研究員・Marek Jindra, 日本学術振興会特別研究員・岡田聖裕, 同外国人特別研究員・劉 慶信, COE 非常勤研究員・竹丸憲一, 藤田雅丈, 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, 増田祥子, 岩手大学大学院生・川崎陽久, チェコ共和国サウスボヘミア大学大学院

生・朝比奈雅子，東京工業大学生命理工学部教授・半田 宏(国立遺伝学研究所生理遺伝研究部門客員教授)，同大学院生・霜島 司，可部泰明，大阪大学工学部教授・原島 俊，奈良先端科学技術大学院大学助教授・白川昌宏，同大学院生・尾崎 淳，三島正規が参加した。また，技術課職員・深瀬と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「カイコの転写因子 FTZ-F1 とそのメディエーター MBF との相互作用についての構造生物学的研究」(代表者：奈良先端科学技術大学院大学・白川昌宏)，「in vivo を反映したクロマチン再構築系における転写のメカニズムの解明」(代表者：慶應義塾大学医学部・梅澤明弘)，「リガンドおよびターゲット特異的な Notch シグナル伝達機構の解析」(代表者：村田武英)，新規核タンパク質 GSBP の機能解析(代表者：広島大学理学部・赤坂甲治)，「試験管内転写系を用いた LCR 機能機構の解析(代表者：東北大学医学部・五十嵐和彦)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：九州大学農学部・河口 豊)を組織し，共同研究を行った。

本年度の研究は，文部省科学研究費特定領域研究“細胞核の機能構造”(1)「核機能発現の場の構築」(広瀬)，同特定領域研究“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“昆虫の変態・休眠の分子機構”(2)「脱皮・変態の分子機構の解析」(上田)，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。

広瀬は第5回 Asian Conference on Transcription (2月，オーストラリア，ローヌ)，第53回 Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology (6月，アメリカ合衆国，ニューヨーク)，第18回 International Congress of Genetics(8月，中国，北京)，Cold Spring Harbor Meeting “Dynamic Organization of Nuclear Function”(10月，アメリカ合衆国，ニューヨーク)に，上田と川崎は第39回 Drosophila Research Conference(3月，アメリカ合衆国，ワシントン DC)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。超らせん化因子に対する抗体を用いてショウジョウバエの唾腺染色体上で因子の分布を調べたところ，euchromatin 上の特定の interband やパフが染色された，熱ショック処理した幼虫から調製した唾腺染色体では，熱ショック前に観察された染色が消え，新たに熱ショックパフが染色された。また，唾腺をエクダイソン処理すると，エクダイソンパフが染色された。これらの結果は，超らせん化因子が転写活性クロマチンの形成に関わることを示唆している(発表講演7，原著論文3)。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 GAL4 支配化に強制発現できるトランスジェニックフライを作製したので，

SCF をこの領域にトラップした際に起きる症状を観察することにより、この因子の生体内での役割を明らかにしようと試みている。

(2)クロマチン構造を介した遺伝子発現調節：岡田聖裕，霜島 司¹，上田 均，半田 宏¹，広瀬 進¹ 東京工業大学生命理工学部)

ショウジョウバエ *fushi tarazu(ftz)* 遺伝子のプロモーター領域(zebra element)には GAGA 因子の結合配列が存在し、初期胚における *ftz* の発現には GAGA 因子が必須である。われわれは GAGA 因子に依存したクロマチンのリモデリングにより、*ftz* の転写を活性化することに成功した(発表講演 8，原著論文 1，その他論文 1)。GAGA 因子はクロマチンのリモデリング因子と直接相互作用するわけではないので、両者の間を仲介するタンパク質(群)の存在が予想される。そこで、Flag タグ付き GAGA 因子を発現するトランスジェニックフライを作製し、その胚の核抽出液から Flag 抗体ビーズにより、GAGA 因子を集め、Flag ペプチドで溶出することにより、GAGA 因子と相互作用する 2 つのタンパク質 p93 と p130 を得た(発表講演 16)。現在、p93 と p130 の解析を進めている。

(3)転写コアクチベーター MBF に関する研究：Marek Jindra，朝比奈雅子，藤田雅丈，竹丸憲一，劉 慶信，上田 均，原島 俊¹，可部泰明²，半田 宏²，尾崎 淳³，三島正規³，白川昌宏³，広瀬 進¹ 大阪大学工学部，² 東京工業大学生命理工学部，³ 奈良先端科学技術大学院大学)

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、これらコアクチベーターについて研究してきた(発表講演 4，5)。MBF1 は転写制御因子と TBP の間をか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。遺伝学的解析を用いて、出芽酵母の MBF1 が転写制御因子 GCN4 による転写活性化を仲介することを明らかにした(発表講演 1，12，原著論文 2)。また、ショウジョウバエから *mbf1* 遺伝子、線虫 *C.elegans* から FTZ-F1 のホモログをコードしている *nhr-25* 遺伝子の変異株を分離し、生体内での機能を解析している。ヒト MBF1 は FTZ-F1 のヒトホモログである Ad4BP による転写活性化を仲介する(発表講演 9)。NMR により、ヒト MBF1 の立体構造を解析したところ、先に明らかにしたカイコ MBF1 の構造とほとんど同じであり、MBF1 が立体構造からみても保存されていることがうかがえた(発表講演 13)。一方、MBF2 は TFIIIA と相互作用して転写を活性化するコアクチベーターである。抗体を用いた組織染色から、カイコの MBF2 は通常細胞質に存在するが、幼虫脱皮の特定の時期(眠 D3 期)に核に局在することを見出した(発表講演 6，14)。

(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：増田祥子，広瀬 進，上田 均

FTZ-F1 は、エクジソンのパルスによって誘導され、孵化直前の後期胚、幼虫脱皮、蛹化の直前に一過的に発現する転写因子である。FTZ-F1 の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すると共に、制御領域に作用する因子の同定を進めている。その結果、転写開始点上流 -300bp に存在する DNA 結合因子 I-4 の認識部位に変異を導入したところ、レポーター遺伝子の発現が著しく低下し、I-4 結合部位もポジティブに働くと考えられた。また、すでに同定している上流エンハンサー様領域 (-2.4kb から -1.5kb)、DHR3 結合部位 (+0.2 から +0.4kb 内に 3ヶ所存在) と I-4 結合部位の 3ヶ所のポジティブに働く領域の 1ヶ所でも欠くとレポーター遺伝子の発現が著しく低下することから、これらの 3ヶ所の領域は協調的に働く可能性が考えられた(発表講演 11, 20)。

(5) FTZ-F1 の変異株の解析: 山田正明, 広瀬 進, 上田 均

FTZ-F1 の変態期における機能を探るため、FTZ-F1 変異株の形態学的解析をおこなったところ、前蛹期で発生が停止していることが明らかになった。また、熱ショックで FTZ-F1 を発現できる遺伝子 hsFTZ-F1 を導入し、前蛹期の様々な時期に熱ショックを与えると、前蛹期中期から後期にかけての内在性 FTZ-F1 が発現する時期に FTZ-F1 を発現させた場合のみ効率の良い発生異常の回復が観察された。これらの結果から、FTZ-F1 は、前蛹期中期から後期において時期特異的に発現することが重要な転写因子であると推定した。さらに、各組織での FTZ-F1 の機能を推定するため、体の内部を観察したところ、唾腺のヒストリシス、中枢神経系の発達、成虫原基の発達、消化器官系の発達など様々な器官で異常が観察された。以上のことから、FTZ-F1 は、変態期に多くの器官で様々な作用をする重要な因子であることが判明した(発表講演 15, 18)。

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

ショウジョウバエの EDG78E 遺伝子は、クチクラタンパクをコードし、前蛹期中期から後期にかけて体全体の表皮細胞で特異的に発現することが知られている。また、この遺伝子は、転写開始点の上流 -100bp と -500bp に FTZ-F1 結合部位を持っており、熱ショックで FTZ-F1 を発現する hsFTZ-F1 遺伝子を有する系統では、熱ショックで EDG78E mRNA が本来発現する時期より早く発現することから、この遺伝子は FTZ-F1 の標的遺伝子の候補と考えられた。この遺伝子の発現制御機構を探るため、転写開始点を含む様々な領域を LacZ 遺伝子に結合した融合遺伝子を持つ transgenic fly 系統を作成し、レポーター遺伝子の発現パターンを観察した。まず、-100bp と -500bp に変異を導入してもレポーター遺伝子の発現に違いは観察されず、同定している FTZ-F1 結合部位は、この遺伝子の発現に必ずしも必要でないことが判明した。上流領域を -665bp まで削ってもレポーター遺伝子の時期および組織特異的発現が観察されたが、-115bp まで削るとレポーター遺伝子の発現が遅れることから、-665bp と -115bp の間に、発現の時期を決める領域があると考えられた。現在、この領域を狭めることおよび、この領域に結合する因子を検索している(発表講演 10, 19)。

(7) 昆虫における完全変態機構の進化：湊 清

昆虫綱が動物界の中で圧倒的な種類数を誇っている大きな理由の一つである「完全変態機構」が、進化の過程でどのように生まれて来たかについて前年度に引き続き考察を加えた。完全変態類昆虫(内翅類)の特徴は、不完全変態類昆虫(外翅類)のそれと異なり、親に似ない比較的単純な幼虫型(内部に潜在化した翅・触角・複眼・胸肢等の原基、多くの場合比較的柔軟なクチクル)と、蛹期という特殊な令期の存在にある。完全変態類昆虫の繁栄の大きな要因は、これらの幼虫型をとることによって可能となる「新しい餌と棲息場所の利用」、すなわち、「新しい生態的地位(Niche)の獲得」にあると思われる。例えば、多くの完全変態類昆虫の幼虫の生活型を調査した時、それらが、不完全変態類昆虫の幼虫が利用出来なかったような対象、地面・材や茎・葉肉・果実・果汁のような三次元的な構造の内部や、いも虫型の体型と腹脚による不安定な構造上での生活、また、寄生や保育に見られる未発達な幼虫型での生活を可能にしていることが分かる。

完全変態類昆虫で見られる幼虫型の諸形質の内、特に、上記のような生活型にとって邪魔や不必要になる成虫原基の内在化が重要である。進化の過程で、外翅型幼虫からこのような変化がどのように生まれて来たかについては、まだ、よく分かっていない。しかし、恐らく、完全変態類の中ではより始原的な目である、アミメカゲロウ目やシリアゲムシ目で見られる様な生活、すなわち、水中での石の下や、陸上での地中へ潜るような生活型を採らざるを得ない自然選択圧、または、採ることが有利に働く積極的適応の下に徐々に生まれて来たものと思われる。しかし、外翅型と内翅型の間中型というものは考えにくいので、すべての幼虫令期でそういう変化が全体として徐々に進行したとは考えにくい。内翅型への転換は、多分幼虫令期の内、早い令期から順に徐々に起き、同時に、蛹期も、不完全変態類ではあるがアザミウマ目に見られる様なやや不完全な状態のそれからより完全なそれへと変化して来たものと思われる。成虫原基を内在化させる機構について、分子的基础を含めて調査・考察中である。

研究業績

(1) 原著論文

1. Okada M. and Hirose S.: Chromatin remodeling mediated by *Drosophila* GAGA factor and ISWI activates *fushi tarazu* gene transcription *in vitro*. Mol Cell. Biol. 18: 2455-2461 (1998).
2. Takemaru K., Harashima S., Ueda H. and Hirose S.: Yeast coactivator MBF1 mediates GCN4-dependent transcriptional activation. Mol. Cell. Biol. 18: 4971-4976 (1998).
3. Kobayashi M., Aita N., Hayashi S., Okada K., Ohta T. and Hirose S.: DNA supercoiling factor localizes to puffs on polytene chromosomes in *Drosophila melanogaster*. Mol. Cell. Biol. 18: 6737-6744 (1998).

4. Wada T., Takagi T., Yamaguchi Y., Ferdous A., Imai T., Hirose S., Sugimoto S., Yano K., Hartzog G. A., Winston F., Buratowsky S. and Handa H.: DSIF, a novel transcription elongation factor that regulates RNA polymerase II processivity is composed of human Spt4 and Spt5 homologs. *Genes Dev.* 12: 343-356 (1998).
5. Hirose S.: JB Review : Chromatin Remodeling and Transcription. *J. Biochem.* 124: 1060-1064 (1998).
6. Liu Q.-X., Ueda H. and Hirose S.: Comparison of sequences of a transcriptional coactivator MBF2 from three Lepidopteran species *Bombyx mori*, *Bombyx mandarina* and *Sania cynthia*. *Gene* 220: 55-59 (1998).
7. 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*, in press.

(2) その他

1. 岡田聖裕, 広瀬 進: クロマチン構造変化による転写制御. 蛋白質・核酸・酵素, 43:2094-2100(1998).
2. 上田 均: 昆虫ステロイドホルモンで制御される遺伝子群. ホルモンの分子生物学. 8. 「無脊椎動物のホルモン」(日本比較内分泌学会編岩見雅史. 桜井 勝. 長澤寛道編集), pp127-148 ,(1998). 学会出版センター.

(3) 発表講演

1. Hirose S., Takemaru, K. and Ueda, H.: Yeast coactivator MBF1 mediates GCN4-dependent transcriptional activation. 5th Asian Conference on Transcription, Lorne, February, 1998.
2. Kawasaki H., Ueda H. and Hirose S.: Transcriptional regulation of the EDG78E gene, a candidate for target gene of FTZ-F1. 39th Annual Drosophila Research Conference, Washington DC, March, 1998.
3. Ueda H., Yamada M. and Hirose, S.: Temporal regulation of the EDG84A gene by nuclear receptors during metamorphosis. 39th Annual Drosophila Research Conference, Washington DC, March, 1998.
4. Hirose S., Takemaru K., Jindra M., Asahina M., Li F.-Q. and Ueda H.: MBF1 is a novel coactivator that recruit TBP to promoters where DNA-binding regulators are bound. 53rd Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology, Cold Spring Harbor, June, 1998.
5. Hirose S., Takemaru K., Jindra M. and Ueda H.: Genetic studies on the coactivator MBF1. 18th International Congress of Genetics, Beijing, August, 1998.

6. Liu Q.-X., Ueda H. and Hirose S.: Expression pattern of coactivator MBF2 in the silkworm. 18th International Congress of Genetics, Beijing, August, 1998.
7. Hirose S., Aita N., Kobayashi M., Hayashi S., Okada K. and Ohta T.: DNA supercoiling factor localizes to puffs on polytene chromosomes in *Drosophila*. Cold Spring Harbor Meeting on "Dynamic Organization of Nuclear function" Cold Spring Harbor, October, 1998.
8. Hirose S.: Chromatin remodeling and transcriptional activation. 71st Meeting of the Japanese Biochemical Society, Symposium on "mRNA Factory", Nagoya, October, 1998.
9. 可部泰明, 後藤正英, 和田忠士, 諸橋憲一郎, 広瀬 進, 半田 宏: Ad4BP の転写活性化におけるコアクチベーター hMBF1 の機能解析. 第21回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月.
10. 川崎陽久, 広瀬 進, 上田 均: late FTZ-F1 の標的遺伝子候補, EDG78E の転写制御機構. 第21回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月.
11. 増田祥子, 影山裕二, 広瀬 進, 上田 均: ショウジョウバエ FTZ-F1 遺伝子の転写調節機構の解析. 第21回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月.
12. 竹丸憲一, 藤田雅文, 尾崎 淳, 上田 均, 白川昌宏, 広瀬 進: 変異導入による出芽酵母コアクチベーター MBF1 の解析. 第21回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月.
13. 三島正規, 尾崎 淳, 後藤正英, 半田 宏, 竹丸憲一, 上田 均, 広瀬 進, 池上貴久, 白川昌宏: ヒト MBF1 コアドメインの溶液構造. 第21回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月.
14. 劉 慶信, 上田 均, 広瀬 進: カイコと近縁種の転写コアクチベーター MBF2 の構造と機能. 第21回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月.
15. 上田 均, 山田正明, 広瀬 進: エクダイソンで誘導される転写因子 FTZ-F1 の変態期における機能. 第21回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月.
16. 広瀬 進: クロマチンのリモデリングによる転写活性化. 文部省科学研究費特定研究A 公開シンポジウム「分子細胞生物学の新しい流れ」, 東京, 11月.
17. Ueda H.: Temporal regulation of the EDG84A gene by nuclear receptors. The 1997 ecdysone workshop, Washington D.C., March.
18. 上田 均: 転写因子 FTZ-F1 の脱皮と変態過程における機能, ワークショップ「昆虫の変態・休眠の分子機構」, 伊豆長岡, 8月.
19. 川崎陽久, 広瀬 進, 上田 均: Late FTZ-F1 ターゲット遺伝子候補, EDG78E の発現調節, ワークショップ「昆虫の変態・休眠の分子機構」, 伊豆長岡, 8月.
20. 増田祥子, 影山裕二, 広瀬 進, 上田 均: ショウジョウバエ FTZ-F1 遺伝子の転写調節因子の同定, ワークショップ「昆虫の変態・休眠の分子機構」, 伊豆長岡, 8月.

C-c. 生理遺伝研究部門

(1) 動物細胞遺伝子の発現制御機構

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

動物細胞遺伝子の発現には数多くの制御因子が関与する。それら因子による機能的相互作用を解析するために、DNA アフィニティーラテックス粒子を開発した。その粒子表面に特異塩基配列を有する DNA 断片を固定化して、その塩基配列に結合する転写因子を細胞核抽出液から直に、短時間で精製する技術を開発した。そのシステムを用いて、転写因子 ATF/CREB ファミリーに属する 8 つの異なる因子群を HeLa 細胞核抽出液から一度に精製できた。面白いことに、それら DNA 結合性転写因子に加えて、それら因子に親和性のあるコファクター CBP やたんぱく質リン酸化酵素であるキナーゼを同時に単離できることを明らかにした。このことから、キナーゼ活性が DNA 結合性転写因子によって DNA 上にリクルートされるというモデルを提唱し、そこで、キナーゼの転写反応における役割を解明するために、キナーゼ阻害剤である DRB による転写反応への影響を cell free 転写系およびその再構成系を用いて検討した。転写再構成系により DRB が RNA ポリメラーゼ II の転写伸長段階を阻害することを明らかにして、その阻害に必須な転写制御因子 DSIF を同定・精製した。DSIF は分子量 160kDa と 14kDa の 2 つのサブユニットから成り、それらの cDNA をクローン化して、塩基配列を決定すると、それらは酵母転写因子の Spt5 と Spt4 のヒトホモログであることがわかった。また、DSIF に加えて、DSIF と協調的に働き転写阻害に関与する新規転写制御因子 NELF (negative elongation factor) を同定・cDNA クローン化した。NELF は 5 つのサブユニットから成る因子で、今までにそれらサブユニットと相同性のあるものは見出されてなく、極めて興味ある因子である。さらに、DSIF と NELF による転写阻害を解除するキナーゼが P-TEFb であることを明らかにした。P-TEFb は RNA ポリメラーゼ II の C 末端に存在する CTD (C-terminal domain) をリン酸化し、転写伸長反応を促進する。DRB は P-TEFb をターゲットとして、この CTD リン酸化を阻害することによって転写伸長反応を阻害することを明らかにした。面白いことに、DSIF と NELF は CTD の非リン酸化型 RNA ポリメラーゼ II に結合するが、リン酸化型には結合しないことを明らかにした。近年、エイズの原因ウイルスである HIV の tat 依存的転写促進反応に DSIFp160 が関与することを明らかにした。

転写因子 E4TF1/hGABP は、いくつかのウイルス遺伝子やがん抑制 Rb 遺伝子などを含むいくつかの細胞遺伝子発現を制御している。E4TF1 は DNA 結合能を有する 60kDa サブユニット (E4TF1-60) と転写活性化能を有する 53kDa サブユニット (E4TF1-53) から成り、全ての組織・臓器の細胞で発現している。我々は、近年、酵母 two hybrid system を用いて、E4TF1-53 と相互作用する細胞性因子 YEAF-1 を単離した。面白いことに、この因子は E4TF1-53 と他の基本転写因子間の橋渡し役を果たすことを明らかにした。ま

た, YEAFF-1 との相互作用により E4TF1 が組織・臓器特異的遺伝子の発現に関わる可能性を示唆する実験結果を得た。

単細胞および多細胞生物における種固有コドン利用における制約を明らかにする目的で, コンピュータ解析および実験の両面から研究を進めた。

(2) 種固有のコドン利用多様性: 金谷重彦, 池村淑道¹ (1 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ドン利用の種固有の潜在構造を, 主成分分析法によりモデル化した。主成分モデルの構造は, 池村らによる細胞内の tRNA 量から推定された最適コドンと一致するという知見が得られた。遺伝子において主成分モデルから算出される Z1 値は, 細胞内のタンパク質量と関連したコドン利用の最適性を示す指標であることも確認された。また, 生物種に特異的に存在する遺伝子のコドン利用特性を, 進化学的見地から検討した。クロロプラスト遺伝子と対応する *Synechocystis* sp. 遺伝子のほとんどが Z1 の値が正であり, 藻類と高等植物のクロロプラストの遺伝子の比較において, 高等植物で欠失した遺伝子と対応した *Synechocystis* sp. 遺伝子ほど Z1 値は小さい傾向にあった。発現量の低い遺伝子ほど, らん藻類からクロロプラストの進化の過程で初期に欠失し, 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 *Rickettsia prowazekii* 遺伝子との類縁遺伝子についても, 同様の傾向が得られた。これらの成果は, 原著論文 1 に報告した。また, 本研究で開発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ドン利用との適合度を検討した。この成果は原著論文 2, 3 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ドン利用による分類法を開発し, 発表講演 1 で発表した。

研究業績

(1) 原著論文

1. Hatakeyama, M., Ogura, Y., Sawada, J.-I., Fujimoto, K., Handa, H. and Kawaguchi, H.: Preparation of dimerized polypeptide-carrying microspheres and purification of specific proteins bound to these microspheres. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 10, 41-49(1997).
2. Hiramoto, M., Shimizu, N., Sugimoto, K., Tang, J., Kawakami, Y., Ito, M.,

- Aizawa, S., Tanaka, H., Makino, I. and Handa, H.: Nuclear targeted suppression of NF- κ B activity by the novel quinone derivative E3330. *J. Immunol.*, **160**, 810-819 (1998).
- Hiramoto, M., Aizawa, S., Iwase, O., Nakano, M., Toyama, K., Hoque, M., Nabeshima, R., Kaidow, A., Imai, T., Hoshi, H. and Handa, H.: Stimulatory effects of substance P on CD34 positive cell proliferation and differentiation in vitro are mediated by the modulation of stromal cell function. *Int. J. Mol. Med.*, **1**, 347-354 (1998).
 - Wada, T., Takagi, T., Yamaguchi, Y., Ferdous, A., Imai, T., Hirose, S., Sugimoto, S., Yano, K., Hartzog, G. A., Winston, F., Buratowski, S. and Handa, H.: DSIF, a novel negative transcription elongation factor that regulates RNA polymerase II processivity, is composed of human Spt4 and Spt5 homologs. *Genes Dev.*, **12**, 343-356 (1998).
 - Hartzog, G.A., Wada, T., Handa, H. and Winston, F.: Evidence that Spt4, Spt5, and Spt6 control transcription elongation by RNA polymerase II in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genes Dev.*, **12**, 357-369 (1998).
 - Hirano, F., Tanaka, H., Hirano, Y., Hiramoto, M., Handa, H., Makino, I. and Scheidereit, C.: Functional interference of Sp1 and NF- κ B through the same DNA binding site. *Mol. Cell. Biol.*, **18**, 1266-1274 (1998).
 - Yamaguchi, Y., Wada, T. and Handa, H.: Drawing a new view of DRB: Interplay between positive and negative elongation factors. *Genes Cells*, **3**, 9-15 (1998).
 - Vasslas, I., Hazan, U., Michel, Y., Sawa, C., Handa, H., Gouya, L. and Morinet, F.: hGABP transcription factor regulates expression of the human B19 parvovirus promoter. *J. Biol. Chem.*, **273**, 8287-8293 (1998).
 - Hatakeyama, M., Iwato, S., Fujimoto, K., Handa, H. and Kawaguchi, H.: DNA-carrying latex particles for DNA diagnosis. 1. Separation of normal and point mutant DNAs according to the difference in hybridization efficiency. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **10**, 161-169 (1998).
 - Hatakeyama, M., Nakamura, K., Iwato, S., Handa, H., Fujimoto, K. and Kawaguchi, H.: DNA-carrying latex particles for DNA diagnosis. 2. Distinction of normal and point mutant DNA using S1 nuclease. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **10**, 171-178 (1998).
 - Yamaguchi, Y., Wada, T., Suzuki, F., Takagi, T., Hasegawa, J. and Handa, H.: Casein kinase II interacts with the bZIP domains of several transcription factors. *Nucleic Acids Res.*, **26**, 3854-3861 (1998).
 - Suzuki, F., Goto, M., Sawa, C., Ito, S., Watanabe, H., Sawada, J-I. and Handa, H.: Functional interactions of transcription factor hGABP subunits. *J. Biol. Chem.*, **273**, 29302-29308 (1998).

13. Wada, T., Takagi, T., Yamaguchi, Y., Watanabe, D. and Handa, H.: Evidence that p-TEFb alleviates the negative effect of DSIF on RNA polymerase II-dependent transcription *in vitro*. *EMBO J.*, **17**, 7395-7403 (1998).
14. Aizawa, S., Nakano, M., Iwase, O., Yaguchi, M., Hiramoto, M., Hoshi, H., Nabeshima, R., Shima, D., Handa, H. and Toyama, K.: Bone marrow stroma from refractory anemia of myeloid dysplastic syndrome is defective in its ability to support normal CD34-positive cell proliferation and differentiation *in vitro*. *Leuk. Res.*, in press (1998).
15. Kanaya, S., Yamada, Y., Kudo, Y., 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. (submitted).
16. Nakayama, K., Kanaya, S., Ohonishi, M., Terawaki, Y., Hayashi, T.: The complete nucleotide sequence of fCTX, a cytotoxin-converting phage of *Pseudomonas aeruginosa*: implications for phage evolution and horizontal gene transfer via bacteriophages. *Mol. Microbiol.*, **31**, 399-419, 1999.
17. Kunisawa, T., Kanaya, S., Kutter, E.: Comparison of synonymous codon distribution patterns of bacteriophage and host genomes. *DNA Res.*, **5**, 1-8, 1998.
18. 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*, **13**, in press, 1999.

(2) その他

1. Kawaguchi, H., Hatakeyama, M., Iwato, S., Fujimoto, K. and Handa, H.: Affinity latex for DNA diagnosis. *In Advances in Polymer Biomaterials*, edited by T.Akaike, T.Okano, M.Akashi, M.Terano and N.Yui, CMC, 355-362 (1997).
2. Handa, H., Yamaguchi, Y. and Wada, T.: Purification of DNA binding proteins, *In High Resolution Chromatography: A Practical Approach*, edited by P.A.Miller, Oxford University Press, Oxford, in press (1998).
3. 半田 宏: 分子細胞生物学辞典(分担), 東京化学同人(1997).
4. 半田 宏: 生化学辞典 第3版(分担), 東京化学同人(1998).
5. 半田 宏: 生体物質相互作用のリアルタイム解析実験法(編集); シュプリンガー・フェアラーク東京株式会社(1998).
6. 半田 宏: 細胞機能と代謝マップII. 細胞の動的機能(分担), 東京化学同人(1998).
7. 高木敏行, 山口雄輝, 和田忠士, 半田 宏: 新規転写因子 DSIF による転写伸長反応制御機構 - リン酸化による転写制御機構へのアプローチ. *実験医学*, **17**, No. 3, 39-44(1998). 羊土社.

(3) 発表講演

1. Takagi, T., Wada, T., Yamaguchi, Y. and Handa, H.: DSIF, a novel elongation factor that regulates RNA polymerase II processivity. *Transcriptional Mechanisms at Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology*, February 21-26, Taos, New Mexico, USA(1998).
2. Yamaguchi, Y., Takagi, T., Wada, T. and Handa, H.: Identification of a novel factor required for DRB-mediated transcription inhibition and different from DSIF and p-TEFb. *Transcriptional Mechanisms at Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology*, February 21-26, Taos, New Mexico, USA (1998).
3. Sawada, J-I., Suzuki, F., Yamaguchi, Y., Sawa, C., Goto, M., Watanabe, H. and Handa, H.: Synergistic transcriptional activation of hGABP and select members of the ATF/CREB Family. *Transcriptional Mechanisms at Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology*, February 21-26, Taos, New Mexico, USA (1998).
4. Handa, H., Wada, T., Takagi, T., Watanabe, D. and Yamaguchi, Y.: Human Spt4 and Spt5 homologs regulate RNA polymerase II elongation and show structural and functional similarities to the E.coli elongation factor NusG. *The Fifth Asian Conference on Transcription*, February 22-26, Victoria, Australia (1998).
5. Miyamoto, I., Nabeshima, R., Shima, D., Handa, H., Hoshi, H. and Aizawa, S.: Study for the regulatory mechanism of cytokine production and secretion by flag-fused cytokine expression system. *27th Annual Meeting of the International Society for Experimental Hematology*, August 1-5, Vancouver, British Columbia, Canada (1998).
6. Wada, T., Takagi, T., Yamaguchi, Y. and Handa, H.: Evidence that p-TEFb alleviates the negative effect of DSIF on RNA polymerase II-dependent transcription. *Mechanisms of Transcription at the LXIII Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology*, June 3-8, Cold Spring Harbor, New York, USA (1998).
7. Watanabe, H., Shima, D., Nabeshima, R. and Handa, H.: Development of a new latex particle for affinity purification. *IBC's 3rd International Exposition and Symposium Drug Discovery Technology*, August 10-13, Boston, Massachusetts, USA (1998).
8. Handa, H., Tang, J., Nishi, T., Uju, Y. and Shimizu, N.: Nuclear targeted suppression of NF- κ B activity by the novel quinone derivative E3330. *The 1st International Symposium on Molecular Medicine*, October 15-17, Island of Crete, Greece (1998).
9. Suzuki, J., Hamada, C., Takeoka, E., Handa, H. and Tajima, M.: Establishment and characterization of immortalized human outer root sheath cells. *Intercon-*

tinental Meeting of Hair Research Societies, November 5-7, Washington DC, USA (1998).

10. 半田 宏：新規転写伸長因子 DSIF の単離および機能解析，生化学会北陸支部シンポジウム，シグナル伝達による転写調節，7月4日，金沢大学医学部記念館，金沢(1998)。
11. 半田 宏：微粒子を利用した環境ホルモン様物質と生体受容体の解析方法，環境ホルモン様物質の検出・測定・評価とリスク対策，10月14日，総評会館，新御茶ノ水，東京(1998)。
12. 半田 宏，山口雄輝，高木敏行，和田忠士：RNA ポリメラーゼ II の伸長反応を制御する因子群：薬剤 DRB を用いたアプローチ，第71回日本生化学会大会シンポジウム mRNA factory：転写・プロセッシングを担う核内分子間ネットワーク，10月14-17日，名古屋国際会議場，名古屋(1998)。
13. 半田 宏：微粒子を用いた生体レセプター - の解析と機能性物質の創製，ゲノムインフォマティクス技術プロジェクト・微粒子利用型生体結合物質等創製技術プロジェクト発足記念講演会，10月28日，健保会館，東京(1998)。
14. 半田 宏：微粒子利用型生体結合物質等創製技術プロジェクト，微粒子プロジェクトシンポジウム，微粒子を介した生物と化学の接点を求めて，12月3日，蔵前工業会館，東京(1998)。
15. 半田 宏，清水 宣，明唐建偉，鶴重順康，西 剛志，渡辺 肇，平本正樹：転写因子 NF- κ B 活性化機構 - 活性化阻害剤とその生体レセプター - ，第21回日本分子生物学会年会ワークショップ，転写因子からみる生物学とその応用，12月16-19日，パシフィコ横浜，横浜(1998)。
16. Kanaya, S., Kudo, Y., Abe, T., Okazaki, T., C. D. Carpio. and Ikemura, T.: Gene classification by self-organization mapping of codon usage on bacteria with complete sequenced genome. '98 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) 組換え率の自然淘汰圧に及ぼす影響：高野敏行

分子進化における自然淘汰等の働きを明らかにする目的で、ショウジョウバエ3種(D.melanogaster; D.simulans; D.yakuba)のデータをもとに進化速度の一定性について、特に祖先集団の変異を考慮に入れて解析を行ってきた。その結果、祖先集団の変異の効果ができるだけ小さい条件においても、同義座位における置換数に系統と遺伝子との相互作用の効果、エピソーディックな進化パターン、が観察された。これは特に、X染色体のテロメア末端に位置する遺伝子でコドン使用頻度の歪みに変化が生じたためであること、すなわちD.yakubaに比べD.melanogasterではコドン使用頻度の歪みが小さいためであることを明らかにしてきた。また、非翻訳領域の置換パターンから、この種間の違いは領域依存的な突然変異の歪み(AT/GC bias)によるものではないことも明らかにした。ところで、自然淘汰がいかに有効に働くかということは、私達ヒト集団を含め集団中に保有される有害突然変異の量、さらには集団の存続に関わる重要な問題である。実際の淘汰圧は淘汰係数や集団の有効な大きさだけでなく、組換え価も近傍での有害突然変異の効果(background selection)を通して淘汰圧に影響を与えることが理論的に証明されている。以上の知見から、観察された置換パターンを説明するのにX染色体のテロメア末端領域の組換え価がD.yakubaにおいてD.melanogasterよりも高い可能性が考えられた。そこでD.melanogaster, D.simulans, D.yakubaの3種でX染色体のテロメア末端領域のyellow, stubarista, suppressor of apricot 3つの遺伝子について、分子マーカーを構築し組み換え価を推定した。唾腺染色体のバンド・パターンから、この3つの遺伝子を含むX染色体のテロメア末端領域は3種の間で大きな染色体の構造変異は起っていないと言われてきたが、実際にin situハイブリダイゼーションによって遺伝子の順序が同じであることを確認した。結果は、驚くべきことに、D.yakubaの組換え価がD.melanogasterよりも約14倍高いことを明らかにした。このことは、D.simulansを含めたD.melanogasterの系統で特異的に組換え価の低下による自然淘汰の弛緩が起こったことを強く示唆する。D.yakubaの高い組換え価はX染色体のテロメア末端領域に特異的な現象であり、その原因となる配列は実際にテロメア末端

領域に存在している可能性が高い。現在、組換え価の領域依存的な組換え制御の観点から、*D. yakuba* の高い組換え価をもたらしている配列の探索へと研究を進めている。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イロショウジョウバエとその近縁3種では全く同じパターンで胸部の剛毛(Macrochaetae)が観察される。ところが、キイロショウジョウバエ(*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*とキイロショウジョウバエとの雑種では剛毛は失われない。また、*D. simulans*の系統によってもほとんど剛毛を失わないものから多くの剛毛を失うものまで、大きな変異が存在している。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。QTLマッピングの結果からforked遺伝子近傍に用いた2系統間の差の約3/4の相加的效果をもった有意な領域を見いだした。また、遺伝的效果に性特異性があること、すなわち雑種雌よりも雑種雄でより顕著な剛毛の消失が観察されることも明らかにしている。本年度は原因遺伝子の単離を目的として、このforked近傍の領域について詳細なスクリーニングを行った。重複染色体による雑種雄でのスクリーニングによって、scalloped遺伝子近傍領域の重複によって剛毛の形成が有意に回復されることを見出した。この領域の欠失染色体を用いたスクリーニングでは顕著な効果をもった欠失染色体は見い出されなかった。これは、遺伝的效果に性差があることと一致している。原因遺伝子の位置をさらに特定するため、救済効果のあった重複染色体上に線による欠失突然変異の誘発実験を行った。欠失の結果、雑種雄の剛毛消失を救済できなくなった複数の重複染色体の欠失の位置から、おそらく唾腺染色体のバンド1~2本に相当するごく狭い領域に救済効果の原因遺伝子が存在すると考えられた。ところが、この領域は第4染色体上の別の重複に含まれているが、この重複染色体は雑種雄の剛毛消失を救済しない。このことが、救済効果をもたない重複染色体上の突然変異によるのか、あるいは救済効果のある重複はY染色体上の転座であるため、染色体の対合等の性染色体間の特異な相互作用の結果なのか、現在のところ不明である。今後、救済効果のあった重複染色体から絞り込めた領域の詳細な物理地図を作成するとともに、形質転換による救済実験によって遺伝子の単離を目指している。本研究の一部については、文献(2)を参照。

研究業績

(1) 原著論文

1. Takano T. S.: Rate variation of DNA sequence evolution in the *Drosophila* lineages. *Genetics* 149: 959-970 (1998).
2. Takano T. S.: Loss of notum macrochaetae as an interspecific hybrid anomaly between *Drosophila melanogaster* and *D. simulans*. *Genetics* 149: 1435-1450 (1998).

(2) 発表講演

1. Takano T. S.: Species differences in the genetic architecture of notum bristle formation in *Drosophila*. Fukuoka International Symposium of Population Genetics, Fukuoka, August.
2. 高野敏行: 組換え率の自然淘汰に及ぼす影響. 日本遺伝学会第70回大会, 札幌, 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, 遺伝子塩基配列レベルの進化と染色体レベルの進化を関係づけ, 分子進化と表現型や機能の進化とを総合的に理解することを目標にしている. これらの研究には, 教授・池村淑道, 助教授・斎藤成也, 助手・天前豊明(7月からイスラエルのヘブライ大学に留学)が携わり, これに総研大の大学院生の山形哲司(3月に理学博士号を取得し, 東海大学医学部の奨励研究員となる), 浜田 玲(3月に理学博士号を取得し, 植物工学研究所の研究員となる), 太田聡史, 野上正弘, 北野誉, 野田令子, 金子美華, 上村隆俊が加わった. 日本学術振興会特別研究員(PD)の隅山健太が在籍し, 総研大の研究生・Petur H. Petersenが3月まで研究に加わった. 渡辺良久, 宮内洋子, 鈴木和子, 北きよみ, 川本たつ子, 吉田由美子が研究の補助業務を行った. 教授・池村はイタリア(アンコーナ)で開催された第13回染色体国際会議に出席し発表を行うため, 9月6日から14日まで渡航した. 助教授・斎藤は, 6月にカナダ(バンクーバー)のプリティッシュ・コロンビア大学で開催された第6回分子生物学と進化学会に出席し, 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含量ドメイン構造の解析と遺伝子高密度領域の探索」(代表者池村), 特定領域研究(A)(2)「高等動物の染色体バンド領域の核内配置とその動態」(代表者池村), 基盤研究(C)(2)「哺乳動物染色体のバンド境界部位の機能構造について」(代表者池村), 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

構造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(C)(2)「直列重複遺伝子間の遺伝子変換に関する解析」(代表者斎藤)、国際学術研究(学術調査)「中国漢民族における遺伝的・文化的多様性の研究」(代表者斎藤)等の援助を受けた。

共同研究としては、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、三田和英・放射線医学総合研究所サブグループリーダーを代表に「高等動物クロマチン構造と染色体GC含量分布との関係の解析」に関して、工藤喜弘・山形大学工学部教授を代表に「自己組織法に基づいた連続コドン構造による遺伝子機能の推定法の開発」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」に関して、奥村克純・三重大学生物資源学部助教授を代表に「動物細胞ゲノムの複製スイッチ部位の解析」に関して、武藤正弘・放射線医学総合研究所室長を代表に「マウス生殖細胞における新規核蛋白質Np95の核内分布と三重鎖形成構造の相対的配置の解析」に関して実験的ならびに理論的研究を行った。また、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・東京大学院理学系研究科助教授および成松久・創価大学生命科学研究所教授との共同研究を行った。

(1)ヒト染色体DNAの間期核内配置を決めるシグナルの探索:池村淑道、大野みずき¹、天前豊明(¹九大医学部)

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り、その配置自体が複製や発現制御に深く関わっている。セントロメアおよびテロメアが、染色体の核内配置に重要な役割をはたすことは明らかであるが、我々は、染色体のバンド境界もランドマークをなす重要な部位と考えて研究を続けてきた。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いる。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と配列特異的に対合することが可能であり、核内配置を決める機構として重要と考えられる。三重鎖を含むB型構造を形成するDNAを蛍光プローブとして用いて、ヒト細胞の間期核内でこれらプローブに特異的に親和性を示す構造体の探索を行い、得られた結合部位の構造と機能に関する解析を行った。三重鎖構造に対する特異的モノクローナル抗体を用いた免疫組織化学的な解析を組み合わせると、以下の結果を得た。

三重鎖形成能を持つポリプリン/ポリピリミジン配列、(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*結合実験を行ったところ、配列特異的に特徴的なfoci状の結合像を得た。これらのポリプリン/ポリピリミジン配列はヒトゲノム上に多数コピー存在している。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プローブと同様に、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。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、具体的には、ヒト MHC 領域内に特定したバンド境界部位に存在する 209bp 配列や、偽常染色体部位境界 (PAB) の近傍に存在する 850bp 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的に近接する三重鎖の配列が異なっていることも判明した (Ikemura et al., 1998; Ohno et al., 1999)。

(2) ヒト MHC とその周辺領域の DNA 複製タイミングの研究: 天前豊明, 渡辺良久, 山形哲司, 安藤麻子¹, 猪子英俊¹, 池村淑道 (¹ 東海大医学部)

ヒト染色体バンド領域は、S 期内の複製時期ならびに GC 含量の区分構造と関係しており、遺伝子密度や組換え頻度等を異にしている。構造上のみならず、機能上のドメインとして理解されるようになってきた。生物学的意味に富んだバンドの属性と塩基配列との関係づけは、ゲノム解析における重要な課題である。複製タイミングのスイッチ点や GC 含量のモザイク境界については、塩基配列レベルで特定できる可能性が高く、境界を特徴づけるシグナル群が存在する可能性も考えられる。MHC クラス I からそのテロメア側の非 MHC 領域について、約 1.5Mb のゲノム歩行を行い、生化学的な方法で GC 含量分布の測定を行った。テロメア側の非 MHC 領域が顕著に AT に富むことが示され、新たな GC 含量の境界が明らかになった。前年度のプロメタフェーズ様染色体を用いた FISH 解析により、6p21.3 と p22.1 の境界を含むことが確認された領域である。クラス I と非 MHC 領域との境において、明瞭な複製時期の差が見い出され、AT-rich である非 MHC 領域側が S 期の遅い時期に複製していた。この着目領域については、どこまでが MHC 領域であるのかについて、明確には限定されていない。複製タイミングと GC 含量分布の変移点として定義することも可能に思える。MHC クラス II のセントロメア側の非 MHC 領域については、東海大の猪子グループにより塩基配列の解析がなされており、その配列を用いて PCR プライマーのデザインが可能であった。この非 MHC 領域は S 期の早い時期に複製することが明らかになった。この領域は GC 含量が顕著に高いことが知られており、この場合も、GC 含量と複製時期の変移が一致していた。この領域については、機能上の MHC と非 MHC 領域の境界が正確に限定できている。この機能ドメインの境界において、複製時期と GC 含量が変移していたことは、ヒトゲノムの機能上のドメイン化の生物学的意味を考える上で興味深い。複製時期の制御のみならず、複数遺伝子群の転写を制御するシグナルを含む可能性が考えられ、ゲノムの進化過程とその進化機構にも基礎知見をあたえると考えられる。境界部位には複数の特徴構造が見い出されているが、大型のポリプリン / ポリピリミジン配列 (209bp) の存在は特に興味深い (Ikemura et al., 1998; Ohno et al., 1999)。ポリプリン / ポリピリミジン配列の特徴として、生理条件下で

三重鎖を形成することが知られており、*in vitro*の研究により、DNA複製フォークの進行を止めることが報告されている。三重鎖構造が、細胞内で複製タイミングの制御に直接に係っているのかについては現時点では不明に残されている。大型のポリプリン/ポリピリミジン配列のみで複製の制御が可能とは考えられないが、この種のNon-B型構造を形成するゲノム部位の機能上の意味は興味深い(Tenzen et al., manuscript in Preparation)。

(3)ヒトX染色体XIC(X-chromosome inactivation center)とその周辺のDNA複製タイミングの研究: 渡辺良久, 天前豊明, 池村淑道

MHC領域で得られた結論の一般性を検証する目的で、X染色体のXIC(X-chromosome inactivation center)とその周辺領域についても解析を進めた。この領域も複合バンドゾーンよりなり、バンド境界の分子レベルでの構造解析に適したゲノム領域である。X染色体の不活性化に重要な役割を果たすXIC(約1.2Mb)は、Xq13領域内に位置し、そのセントロメア側の境界はXq13.1とq13.2の境界附近と推定されている。XICおよびその周辺領域については、塩基配列の情報が蓄積しており、複製タイミングを詳細に解析することで、バンド境界の分子レベルでの特定および境界の特徴構造の探索が可能と考えられた。対数増殖期のヒト男性の血球系細胞THPを60分間BrdUで標識した後、セルソーターを用いて細胞周期により6分画(G1, S1, S2, S3, S4, G2/M)を行った。一定の細胞数を含む各分画よりDNAを調製し、超音波処理後に免疫沈降法によりBrdU標識の新生鎖DNAを精製した。各分画の新生鎖DNAに対し、多数のゲノム部位のprimerを用いて定量的なPCRを行った。セルソーターを用いる方法の長所は、培養細胞の同調化が必要でなく、広範囲の細胞株に適用可能である。XICのセントロメア側に位置する約250kbの逆位配列の近傍、ならびにXIST遺伝子領域において、複製時期がS期前半から後半へ転換していた。すなわち、着目の逆位配列からXISTまでの約1MbがS期後半に複製しており、GバンドXq13.2に対応すると結論した。XIST領域はその周辺も含めて塩基配列の情報が蓄積しており、詳細な解析が行えた。XIST遺伝子の5'上流およびエクソン1の部位がS期前半に複製するのに対して、遺伝子の3'側や3'下流が後半に複製し、XIST遺伝子内部において(特に3'側部位で)、複製タイミングが大きく変移していた。このタイミングの変移を、細胞増殖の経過時間に換算すると、3時間程度の差と推定できる。

MHC領域が属する6p21.3は、T型のRバンド領域であるのに対して、XICの属するXq13は通常のRバンドである。ヒトゲノムの一般的な性質として、T型のRバンド領域は明瞭にGCに富み、GバンドはATに富む。しかしながら、通常のRバンドは中間的で複雑な性格を持つ。XIST領域の複製タイミングのスイッチ点においてもGC含量の変化は見られたが、Tバンドに属するMHCの場合よりは、その差は小さいものであった。ゲノム上にバンド境界と関係したランドマークを特定していく方法としては、複製時期の測定のほうが広い適用性を持つと結論できる。進化的に見た場合、複製時期の差は下等真核

生物においても見られるのに対して、Mb レベルの GC 含量のモザイク構造は、温血脊椎動物で特徴的に見られる。温血脊椎動物にいたる進化過程で、複製時期が早いゲノム領域において、GC 含量が上昇したと考えられている。複製時期の差異は、Mb レベルでの GC 含量のドメイン化よりも進化の初期に確立しており、ゲノムのより基本的な性質と考えられる。GC 含量と複製タイミングの変移部位を異なった生物種間で比較することは、ゲノムが成立してきた進化過程とその分子機構を知る上で、重要な研究手法を与える (Watanabe et al., submitted).

(4) 遺伝子コドン選択パターンの研究: 中村保一¹, 金谷重彦², 山田優子³, 池村淑道¹ (1) かずさ DNA 研究所, ² 生理遺伝研究部門, 山形大学, ³ 自治医科大)

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.dna.affrc.go.jp/nakamura/codon.html>)。現在、約 30 万遺伝子のコドン使用と、1 万の生物種 (ウイルスを含む) について、生物種別のコドン集計値を集録している。詳細は、Nucl. Acids Res. (Nakamura et al., 1998) に紹介した。実験的な研究として、枯草菌 (*Bacillus subtilis*) の細胞内 tRNA 量を定量し、枯草菌遺伝子のコドン選択パターンが細胞内の tRNA 存在量により強い制約を受けていることを見出した。tRNA 存在量が tRNA 遺伝子の重複数と相関があることも明らかとなった。'98 までに全ゲノム塩基配列が報告されている 18 種の微生物種 (*S. cerevisiae*, *Aquifex aeolicus*, *Archaeoglobus fulgidus*, *B. subtilis*, *Borrelia burgdorferi*, *Chlamydia trachomatis*, *E. coli*, *Haemophilus influenzae*, *Helicobacter pylori*, *Methanococcus jannaschii*, *Methanobacterium thermoautotrophicum*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Pyrococcus horikoshii*, *Rickettsia prowazekii*, *Synechocystis* sp., and *Treponema pallidum*.) に関して、同義コドン選択パターンと tRNA 遺伝子数との関係について研究を行い、いずれの生物種でもタンパク質合成からの制約を受けていることを見出した (Kanaya et al., 1999)。

(5) Rh 式血液型遺伝子の進化: 北野 誉, 斎藤成也

Rh 式血液型は輸血不適合や溶血性貧血などに関与する医学的にも重要な血液型のひとつである。その遺伝子産物は、12 回膜貫通型の膜タンパクで、Rh 遺伝子と相同性のある Rh50 遺伝子の産物とともにヘテロテトラマーを形成して、赤血球膜表面上に存在するとされている。

我々は、齧歯類においての Rh 遺伝子と Rh50 遺伝子の進化のパターンを霊長類のものと比較するために、マウスとラットの大腿骨の骨髓細胞から RNA を AGPC 法によって抽出し、degenerate PCR 法および RACE 法によって cDNA の全コード領域の塩基配列を決定した。その結果、ヒトとマカクの間では、Rh 遺伝子と Rh50 遺伝子の両方で非同義置換数の方が同義置換数よりも高く観察されたのに対して、マウスとラットの間では、Rh 遺

伝子と Rh50 遺伝子の両方で同義置換数の方が非同義置換数よりも高い値を示した。このことは、霊長類と齧歯類の間では自然淘汰のパターンの差異があるということを示唆している。この結果は、すでに論文 8 で発表した。

また、我々はアフリカツメガエルとメダカの Rh50-like 遺伝子の cDNA の全コード領域の塩基配列を決定し、Rh 遺伝子と Rh50 遺伝子のアミノ酸配列を用いて系統樹を作成し、それらの遺伝子の進化パターンの分析を行なった。その結果、哺乳類の Rh50 遺伝子とアフリカツメガエルの Rh50-like 遺伝子はクラスターを形成し、Rh 遺伝子と Rh50 遺伝子の遺伝子重複の時期はメダカ、つまり硬骨魚類と他の脊椎動物との分岐前後に相当するということに推測された。また系統樹の枝の長さを比べてみると、Rh 遺伝子の各枝の方が、Rh50 遺伝子の各枝の方よりも、およそ 3 倍ほど長いことが示された。このことは、Rh50 遺伝子の方が Rh 遺伝子よりも進化速度が遅く、より重要な機能を保持していると推測される。また、これらの遺伝子の祖先型は Rh50 遺伝子の方により類似したもので、それから Rh 遺伝子が分化してきたと考えられる。

これらの研究成果を、The Tri-National Meeting on Molecular Evolution, The Sixth Annual Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution, および第 21 回日本分子生物学会年会で発表した。

(6) 霊長類における ABO 式血液型遺伝子の進化：野田令子，北野 誉，隅山健太，竹中修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タンパク質に付着した糖鎖の変異であり、遺伝子は糖転移酵素をコードしている。ABO 式血液型抗原である糖鎖本来の生体内における役割はまだよく分っていないが、体内に侵入したバクテリアやウイルスの足掛かりとして用いられったり、糖鎖抗原に対する抗体が外来抗原を認識することなどによって他の生物と相互作用し、その結果独特の進化パターンを示している可能性がある。

我々は、これまでに発表された ABO 式血液型遺伝子の主に第 7 エキシンの塩基配列を分析して、この遺伝子に正の自然淘汰が働いており、また霊長類のいくつかの系統において独立に A 型から B 型が進化しているという可能性を指摘した。同様の可能性はヒト上科において上流の第 6 イントロンの配列の比較からも示唆されている。もしこの遺伝子座に正の自然淘汰が働いているのなら、その傾向は他の生物種でも観察されると予想される。これをふまえ我々は霊長類 7 種の核 DNA から PCR 法によって第 7 エキシンの約 450bp の領域および第 5 または第 6 エキソンから第 7 エキソンに至る約 2kb または 1.5kb の領域を増幅し、塩基配列を決定した。

解析の結果、旧世界猿マカク属では数百万年の種分化の間に A 型と B 型の間の進化が複数回起きた可能性が大きい事が判明した。また、テナガザル 2 種の祖先種では A 型と B 型が多型的に存在し、種分化以前に第 7 エキソンで組み換えが生じたか、もしくは第 7 エキソン下流でアミノ酸置換を伴うような塩基置換が平行して起きた可能性が示唆された。もしこの可能性が正しければテナガザルの系統において第 7 エキソン下流の糖転移

酵素の活性を決定する部位に、何らかの正の自然淘汰が働いていたと考える事ができる。さらにテナガザルとオランウータンそれぞれの A 型遺伝子と B 型遺伝子の塩基配列との比較から、A 型遺伝子と B 型遺伝子の多型は類人猿の祖先種に遡る可能性も示唆された。これらの研究成果を、第 21 回日本分子生物学会年会で発表した。

(7) 分子進化解析システム DeepForest の開発：太田聡史，斎藤成也

今日まで数多くの遺伝子情報解析プログラムが開発されてきた。しかし、従来の分子進化学における解析プログラムは、いわゆるパッケージ・プログラムであり、手軽である反面ユーザー一人一人が持つ独自の問題には簡単に対応することはできない。ここで我々が開発した DeepForest は、解析環境とでもいうべきもので、柔軟に分子進化学研究を支援するための一種の言語である。DeepForest は解析用パッケージ・プログラム以外に分子進化学研究に有用な KL1/KLIC のモジュール(部品となる述語のセット)を提供する。

分子進化的解析システム DeepForest で提供されたモジュールを使ってプログラミングをする場合、利用者はあらかじめ定義された述語の内容を知る必要がなくなる。つまり、完全なライブラリ集として DeepForest を使えるようになる。また例題集には簡単な KL1 のプログラムを含めるようにするため、利用者が KL1 の知識を持っていなくても、簡単なアプリケーションプログラムを自力で作れるようになる。

我々は HTML 化したドキュメントから即座に呼び出せるシェル環境を開発した。そこにはあらかじめ例題が書き込まれており、ユーザーは自分の好みに応じてスクリプトを変更してあらかじめ定義された述語を使うことができる。ICOT で開発された PIM の OS である PIMOS ではいったんプログラムをロードすると、ちょうど Prolog インタープリターのようにプログラム内で定義した述語をシェルから呼び出すことができた。DeepForest ではこのシェルに似せた環境を DeepForest Shell Environment として提供した。これは DeepForest 内で定義された述語を、簡単なスクリプトを使って呼び出すことのできる一種のインタープリターである。具体的には、DeepForest は、HTML で書かれたドキュメントから呼び出される CGI プログラムである。ユーザーがスクリプト(文法は基本的に KL1 と同じ)を書き込むとインタープリターがそれを解釈して DeepForest 内で定義された述語を呼び出す。すべての述語について即座に実行可能な例文を掲載した(これが Live document の由来である)。また、塩基配列やアミノ酸配列の進化のシミュレーションのようなアプリケーション・プログラムも、CGI を用いたインターフェースによって使うことができる。この場合はスクリプトの代わりにデータファイルを入力することになる。DeepForest は、以下の WWW で公開する予定である：
<http://thinker.lab.nig.ac.jp/DeepForest/deepforest.html>

(8) 2000 年前の中国人類集団における分子遺伝学的解析：太田博樹¹，斎藤成也，松下孝行²，植田信太郎¹ (¹ 東大理学系大学院生物科学専攻，² 土居が浜人類学ミュージアム)

われわれは、中国山東半島の Yixi 遺跡から発掘された、約 2,000 年前の人骨より DNA

を抽出し、24 個体についてミトコンドリア DNA の D ループ領域の塩基配列を 180 ~ 300 サイト決定した。これら Yixi 遺跡人の塩基多様度を推定したところ、現代人集団とあまりかわらなかった。これらの古代 DNA を現代人集団と比較するために、DDBJ/EMBL/GenBank 国際塩基配列データベースから相同領域を持つ約 1300 人のミトコンドリア DNA 配列 414 タイプを抽出して系統ネットワーク解析を行ない、推定した系統樹を 6 グループに分割した。これら 6 グループの出現頻度は地域別にかなり違いがあった。頻度のパターンからすると、Yixi 遺跡人集団は台湾在住の漢族集団に類似していた。この結果は、集団間の遺伝距離解析からも支持された。この結果は、論文 12 で発表した。

(9) マウス由来の新たな 1,3- フコース転移酵素 (FUT9) のクローニングとその発現および特徴：工藤 崇¹、池原 譲¹、梅谷内晶¹、金子美華、平賀恒夫¹、佐々木克敏²、成松 久¹(¹創価大・生命研、²協和醗酵)

Lewis x (CD15, SSEA-1) 抗原 (Gal 1,4(Fuc 1,3)GlcNAc-R) は、マウス脳において発生段階特異的な発現が見られるが、既知の Lewis x 合成酵素であるマウス Fuc-TIV は、脳ではほとんど発現していない。そこで、発現クローニング法を用い、マウス脳 cDNA ライブラリーから新規 1,3- フコース転移酵素遺伝子 (Fuc-TIX) をクローニングした。pAMo ベクターに組み込んだマウス脳 cDNA ライブラリーを Namalwa 細胞に遺伝子導入し、セルソーターにより、Lewis x 抗原を発現するクローンを分離し、遺伝子配列を決定した。アミノ酸レベルでは、既知の 1,3- フコース転移酵素遺伝子との相同性は 40 ~ 50 % しかなかったが、1,3- フコース転移酵素に共通であるアミノ酸配列のモチーフは保存されていた。Fuc-TIX 導入細胞株のフローサイトメーター解析と合成オリゴ糖を用いた酵素活性測定では、Fuc-TIX は Lewis x 抗原および Lewis y 抗原合成能をもち、シアリル Lewis x 抗原および Lewis a 抗原合成能のない酵素であり、Fuc-TIV の基質特異性と類似していた。一方、competitive RT-PCR 法による Fuc-TIX の発現分布の検討では、脳と腎臓に強い発現が見られ、Fuc-TIV と全く異なっていた。これらの結果の一部は、すでに論文 10 で発表した。

研究業績

(1) 原著論文

1. 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*, 13, in press, 1999.
2. Ikemura T., Ohno M., Uemura T., Sasaki H. and Tenzen T.: Genome and subnuclear organization of non-B forming DNAs in mammalian chromosomes. *Cytogenet Cell Genet*, 81, 101-102, 1998.
3. Shiina T., Tamiya G., Oka A., Yamagata T., Yamagata N., Kikkawa E., Goto K.,

- Mizuki N., Watanabe K., Fukuzumi Y., Taguchi S., Sugawara C., Ono A., Chen L., Yamazaki M., Tashiro H., Ando A., Ikemura T., Kimura M. and Inoko H.: Nucleotide sequencing analysis of the 146 kb segment around the IKBL and MICA genes at the centromeric end of the HLA class I region. *Genomics*, 47, 372-382, 1998.
4. Ikuta T., Sogawa N., Ariga H., Ikemura T. and Matsumoto K.: Structural analysis of mouse tenascin-X: evolutionary aspects of reduplication of FNIII repeats in the tenascin gene family. *Gene*, 217, 1-13, 1998.
 5. Kanaya S., Kudo Y., Abe T., Okazaki T., Carpio C. del. and Ikemura T.: Gene classification by self-organization mapping of codon usage in bacteria with completely sequenced genome. *Genome Informatics Series*, No.9, 369-371, 1998.
 6. Ando A., Kikuti Y., Abe K., Shigenari A., Kawata H., Ikemura T. 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*, in press, 1999.
 7. Nakamura Y., Gojobori T. and Ikemura T.: Codon usage tabulated from the international DNA sequence databases. *Nucl. Acids Res.* 26, 334, 1998.
 8. Kitano T., Sumiyama T., Shiroishi T. and Saitou N.: Conserved evolution of the Rh50 gene compared to its homologous Rh blood group gene. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 249, No. 1, pp. 78-85 (1998).
 9. Oota S.: ThreeTree: A new method to reconstruct phylogenetic trees. In Miyano S. and Takagi T. eds., *Genome Informatics 1998*, Universal Academy Press, Tokyo, pp. 340-341, 1998.
 10. Kudo T., Ikehara Y., Togayachi A., Kaneko M., Hiraga T., Sasaki K. and Narimatsu H.: Expression Cloning and Characterization of a Novel Murine α 1,3-Fucosyltransferase, mFuc-TIX, that synthesizes the Lewis x (CD15) Epitope in Brain and Kidney. *J. Biol. Chem.*, vol. 273, pp. 26729-26738 (1998).
 11. Sumiyama K., Washio-Watanabe K., Ono T., Yoshida M.C., Hayakawa T. and Ueda S.: Human class III POU genes, POU3F1 and POU3F3, map to chromosomes 1p34.1 and 3p14.2. *Mammalian Genome*, vol. 9, pp. 180-181 (1998).
 12. 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, pp. 250-258 (1999).

(2) その他

1. Saitou N.: *Patterns in Nature - New Molecular View* (book review). *Anthro-*

pological Science, Vol. 106, No. 2, pp. 193-195 (1998).

2. 斎藤成也：人類進化．アエラムック『生命科学がわかる』, 40-43 頁．朝日新聞社, 東京(1998)．
3. 斎藤成也：ABO 式血液型遺伝子の系統ネットワーク解析．遺伝, 52 巻 3 号, 9-10 頁(1998)．
4. 斎藤成也監訳：DNA から見た生物進化．日経サイエンス社, 東京(1998)．
5. 斎藤成也：近隣結合法と最大節約法．宮田 隆編, 『分子進化 - 解析の技法とその応用 - 』, 54-63 頁．共立出版株式会社, 東京(1998)．
6. 斎藤成也：今月の解説：系統樹と進化．遺伝, 52 巻 10 号, 65-69 頁(1998)．

(3) 発表講演

1. Ikemura, T.: Genome and subnuclear organization of non-B forming DNAs in mammalian chromosomes. The 13th Chromosome Meeting. Italy, September, 1998.
2. Tenzen T., Ohno M., Yamagata T., Fukagawa T., Sugaya K. and Ikemura T.: Borders of isochores and of chromosome bands; precise switching of DNA replication timing during S phase in GC% transition region of human MHC. International Society of Molecular Evolution, "Junk DNA; The role and the evolution of non-coding sequences" Costa Rica, January.
3. 山形哲司, 池村淑道, 猪子英俊：HLA 領域と関連した神経疾患と MHC class I 領域に位置する代謝型 - アミノ酸(GABA) 受容体遺伝子の関連．免疫学会, 9 月．
4. 池村淑道, 天前豊明, Jeremy S. Lee, 大野みずき：ヒト間期核に存在する DNA 三重鎖構造の核内配置とその機能．第 21 回日本分子生物学会年会, 横浜, 12 月．
5. 渡辺良久, 天前豊明, 長坂安彦, 池村淑道：ヒト X 染色体不活性化センター(XIC) 領域における DNA 複製タイミングならびにバンド領域との対応．第 21 回日本分子生物学会年会, 横浜, 12 月．
6. 山形哲司, 池村淑道, 猪子英俊：代謝型 GABA 受容体遺伝子における発現調節機構の解析．第 21 回日本分子生物学会年会, 横浜, 12 月．
7. 椎名 隆, 山形哲司, 池村淑道, 猪子秀俊, ほか 20 名：HLA クラス I 全領域 2.0Mb のゲノムシーケンシング．第 21 回日本分子生物学会年会, 横浜, 12 月．
8. 安藤麻子, 池村淑道, 猪子英俊, ほか 7 名：HLA 領域と相同性を示す第 1 染色体 1q22-23 領域の遺伝子構成 - CD1 遺伝子群周辺の構造解析．第 21 回日本分子生物学会年会, 横浜, 12 月．
9. 市場勇太, 池村淑道, 吉川研一：長鎖 DNA 単分子のヒストンタンパク質による凝縮転移; 蛍光顕微鏡による直接観察．第 21 回日本分子生物学会年会, 横浜, 12 月．
10. 上村隆俊, 小川智子, 池村淑道：マウス減数分裂期における三重鎖形成配列の核内

配置．第21回日本分子生物学会年会，横浜，12月．

11. 野上正弘，香田 淳，竹林慎一郎，奥村克純，田口 寛，中尾光善，池村淑道：HL60細胞におけるSNRPN遺伝子の核内配置．第21回日本分子生物学会年会，横浜，12月．
12. 斎藤成也：ABO式とRh式血液型遺伝子の進化．京都大学霊長類研究所共同利用研究会「分子レベルから見た霊長類の進化」，犬山，2月．
13. 斎藤成也：古代人のDNAから読みとる人類進化．科学技術庁フランス語研修生同窓会特別講演，竹橋会館，東京，6月．
14. Oota S.: Phylogenetic relationship of muscle tissues deduced from superimposition of gene trees The Tri-National Meeting on Molecular Evolution, Vancouver, Canada, June.
15. Kitano T.: Evolution of Rh blood group genes and their related genes. The Tri-National Meeting on Molecular Evolution, Vancouver, Canada, June.
16. Saitou N.: Simultaneous sequence Joining (SSJ): a new method for constructing phylogenetic networks. The Sixth Annual Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution (SMBE6), Vancouver, June.
17. Oota S. and Saitou N.: ThreeTree: a new method to reconstruct molecular phylogenetic trees from distance matrices. The Sixth Annual Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution (SMBE6), Vancouver, June.
18. Kitano T., Sumiyama K., Shiroishi T. and Saitou N.: Evolution of Rh blood group genes and their homologous genes. The Sixth Annual Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution (SMBE6), Vancouver, June.
19. 斎藤成也：生命進化の創発的挙動．共同研究会「創発システムの科学」，総合研究大学院大学，葉山，6月．
20. 斎藤成也：遺伝進化学から見た人類の起源．三田史学会総合シンポジウム，慶応大学三田，東京，6月．
21. 斎藤成也：ABO式およびRh式血液型遺伝子の進化．生命の多様性研究会，国際高等研究所，京都，7月．
22. Saitou N.: Divergence between primates and rodents based on Rh blood group gene and its homologous 50kD glycoprotein. International Symposium on the Origin of Mammalian Orders. Graduate University for Advanced Studies, Hayama, July.
23. Saitou N.: Evolution of blood group genes. Fukuoka International Symposium on Population Genetics. Kyushu University, Fukuoka, August.
24. 斎藤成也：さまざまな系統樹作成法を用いた哺乳類分子データの解析．日本遺伝学会年次大会シンポジウム「哺乳類の分子系統」，北海道大学，札幌，9月．
25. 金子美華，工藤 崇，池原 譲，新屋直子，岩崎裕子，西原祥子，中川 智，佐々

- 木克敏, 椎名 隆, 猪子英俊, 成松 久: 新規ヒト 1, 3- フコース転移酵素遺伝子(hFuc-TIX)のクローニング. 日本生化学会, 名古屋, 10月
26. 斎藤成也: 分子系統学から遺伝子進化学への展開. 微生物分類研究会 第18回研究集会特別講演. 山梨県富士保養所富士桜荘, 10月.
 27. Saitou N.: Methods for constructing phylogenetic trees and networks of closely related sequences. International Symposium on Biodiversity. International Institute of Advanced Studies, Kyoto, December.
 28. 斎藤成也: 分子進化学的解析による突然変異パターンの推定. 第8回放射線生物学ワークショップ「DNAはどこまで安定/不安定か», 仙台, 12月.
 29. Oota S.: ThreeTree: A new method to reconstruct phylogenetic trees. Genome Informatics 1998, Tokyo, December.
 30. 斎藤成也: 霊長類におけるABO式血液型遺伝子の進化. 第21回日本分子生物学会年会ワークショップ「糖鎖遺伝子», 横浜, 12月.
 31. 北野 誉, 隅山健太, 城石俊彦, 斎藤成也: 齧歯類におけるRh式血液型遺伝子の進化. 第21回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月.
 32. 野田令子, 北野 誉, 隅山健太, 竹中 修, 斎藤成也: 霊長類におけるABO式血液型遺伝子の進化. 第21回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月.

D-c. 理論遺伝研究部門

(1) 相互依存モデルによるほぼ中立理論の研究: 太田朋子

ほぼ中立突然変異の行動を明らかにするため昨年に引き続きカウフマンのNKモデルをもとに, シミュレーションを行った. 単位時間あたりの突然変異置換数(進化速度), 集団の平均適応度およびTajimaのD統計について調べた. 集団が大きい程, 進化速度は低くなり, 平均適応度は増加し, D統計はマイナスで絶対値が増加する. これらはほぼ中立突然変異の特徴である. さらに進化速度のゆらぎを単位時間あたりの突然変異置換数の分散で調べた. 単純な中立モデルではポアソン過程が予想されるため分散は平均と等しくなる. シミュレーションの結果, 多くの場合分散は平均の1~1.5倍になった. 実際の蛋白質の進化では, 哺乳類のデータでは5~6倍である. したがってこのモデルでは説明できず, 環境や集団の大きさの変化を考慮する必要がある. しかしショウジョウバエでは, 蛋白質の進化ではゆらぎが小さく, むしろ同義置換でゆらぎが大きいという報告もあり, 今後検討すべき課題である. 詳細は文献1に発表した.

(2) 組織適合抗原の多型パターンと遺伝子変換: 太田朋子

今年度は遺伝子変換の多型パターンに及ぼす効果について, シミュレーションとDNAデータ解析による研究を行った. 多様化淘汰としては超優性プラス初期有利性および母・胎児不適合性のモデルを用いた. 遺伝子変換には, 一遺伝子座内(対立遺伝子間)と遺伝

子座間(非対立遺伝子間)との二種類がある。非対立遺伝子間の遺伝子変換は、対立遺伝子間の距離を増大させ、非同義置換数と同義置換数の比を減少させる。実際のデータと比べると、ヒトに比べネズミやウシの方がこの比が低い傾向にあり、この種の遺伝子変換が多く起こっていると推定できる。このことはネズミやウシの遺伝子では、しばしば抗原認識部位で、同義置換数が他の領域よりも多いこととも合致する。超優性プラス初期有利性淘汰と、母・胎児不適合性淘汰との違いは、他の統計量がほぼ同じになる条件で、後者の方が対立遺伝子の数が増える点である。詳細は文献2に発表した。

研究業績

(1)原著論文

1. Evolution by nearly-neutral mutations. *Genetica* 103: 83-90, 1998.
2. On the pattern of polymorphisms at major histocompatibility complex loci. *Journal of Molecular Evolution* 46: 633-638, 1998.

(2)発表講演

1. ほぼ中立突然変異と分子時計。第18回国際遺伝学会，8月，中国，北京。
2. 分子進化のほぼ中立理論。集団遺伝学国際シンポジウム，8月，福岡。
3. ほぼ中立理論。ワークショップ，進化の総合的ダイナミックス，10月，アメリカ，サンタフェ。

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。

12月に佐々木裕之が教授として着任し、前任地の九州大学で行っていたゲノムインプリンティング(ゲノム刷込み)についての分子遺伝学的研究を進展させるべく、研究活動を開始した。ゲノムインプリンティングは哺乳類の父・母由来の対立遺伝子に発現差をもたらす現象であり、個体発生に重要で、種々の先天異常やがんの原因と関連している。また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も知られる。当部門では、インプリンティング関連疾患の解明を視野に入れ、分子機構の研究を中心テーマにすえている。そのため、個体レベルでの実験が可能なマウスを用いて、ゲノム解析技術と発生工学技術によりこの現象の解明をめざしている。

藤山秋佐夫は、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。

(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¹, 横峯孝昭¹, 水野晋一¹, 白水久男¹, 石原 宏¹, 向井常博²(¹九大・遺伝情報, ²佐賀医大・生化)

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. そこで当部門では, 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 クローンを用いて, ショットガン法による全塩基配列の決定を開始した. さらにインプリンティング遺伝子が CpG アイランドをもつ点に着目し, CpG アイランドを同定する簡便な方法を開発した. 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, 新たなインプリンティング遺伝子の発見がこれらの疾患の解明に寄与することも期待される.

(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¹, 加藤玲子¹, 古海弘康¹, 大野みずき¹, モハマドズパイル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 両遺伝子では, エンハンサー競合により対立遺伝子特異的な発現が起こっている. 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, 遺伝子外に合計 10 箇所の進化的に保存された部分が見つかった. またそのうちの 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, その他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 つがエンハンサー競合にかかわる可能性のある新しい組織特異的エンハンサーであることが分かった. 今後このようなアプローチにより, さらに詳細にインプリンティング制御機構を検討していく予定である. 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 メチルトランスフェラーゼのクローニング: 佐々木裕之, 千々岩崇仁¹, 古海弘康¹, ワヒューブルボワシト¹, 水野晋一¹, 田嶋正二², 河野友宏³(¹九大・遺伝情報, ²阪大・蛋白研, ³東京農大・総研)

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であると考えられている. 当部門では, これまで哺乳類で知られていた唯一の DNA メチルトランスフェラーゼ 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 メチルトランスフェラーゼと思われる cDNA を同定した. これまでにマウスの完全長 cDNA のクローニングを

終え、そのタンパク質産物が DNA メチル化活性を有することを確認している。今後、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予定である。

(4) 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（マックスプランク研究所、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開始した。

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。

(5) 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、寺田頼子³、増島 恵、遠藤光子¹（マックスプランク研究所、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。

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

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

(7) ヒトゲノム画像データベースの構築に関する研究：藤山秋佐夫、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(6)の画像データベース化を進めている。第一段階のソフトウェアは、昨年度に完成しており、今年度は www 化とパターンマッチング部分の改良作業を進めている。

研究業績

(1) 原著論文

1. Hatano, N., Eversole-Cire, P., Ferguson-Smith, A.C., Jones, P.A., Surani, M.A. & Sasaki, H. Enhancer-dependent, locus-wide regulation of the imprinted mouse insulin-like growth factor II gene. *J. Biochem.* 123, 984-991 (1998).
2. Shibata, H., Yoda, Y., Kato, R., Ueda, T., Kamiya, M., Hiraiwa, N., Yoshiki, A., Plass, C., Pearsall, R.S., Held, W.A., Muramatsu, M., Sasaki, H., Kusakabe, M. & Hayashizaki, Y. A methylation imprint mark in the imprinted gene *Grf1/Cdc25Mm* locus shares a common feature with the *U2afbp-rs* gene: an association with a short tandem repeat and a hypermethylated region. *Genomics* 49, 30-37 (1998).
3. Ishihara, K., Kato, R., Furuumi, H., Zubair, M. & Sasaki, H. Sequence of a 42-kb mouse region containing the imprinted *H19* locus: identification of a novel muscle-specific transcription unit showing biallelic expression. *Mamm. Genome* 9, 775-777 (1998).
4. Kato, R. & Sasaki, H. Quick identification and localization of CpG islands in large genomic fragments by partial digestion with *Hpa*II and *Hha*I. *DNA Res.* 5, 287-295 (1998).
5. Yoshikawa, H., Fujiyama, A. and Matsubara, K.: A novel human gene located on Xp11.2-p11.4 which escapes X-inactivation detected and isolated using a two-dimensional DNA mapping method. (1998) *Genomics*, 49, 237-246.
6. Danjoh, I. and Fujiyama, A.: Ras-mediated signaling pathway regulates the expression of a low molecular weight heat shock protein in fission yeast.(1999) *Gene*, in press.

(2) その他

1. 波多野直哉, 佐々木裕之: ゲノム刷込みと哺乳類の胚発生. 蛋白質・核酸・酵素 43(増刊号)生殖細胞の発生と性分化, 541-548(1998).
2. 佐々木裕之: インプリンティングのメカニズムとDNAメチル化. *Molecular Medicine* 35, 888-896 (1998).
3. 水野晋一, 佐々木裕之: ゲノムインプリンティング: ヒトとマウスの分子遺伝学的研究からみたそのメカニズム. *遺伝子医学* 2, 406-411(1998).
4. 佐々木裕之: ゲノムインプリンティングと染色体機能ドメイン. 蛋白質・核酸・酵素 43, 2101-2108(1998).
5. 佐々木裕之: 新しい遺伝概念「ゲノム刷り込み」と疾患. 内科学進歩のトピックス(仁保喜之・石橋大海編), 6-8, 九州大学出版会(1998).

(3) 発表講演

1. 佐々木裕之：ゲノムインプリンティングと染色体ドメインレベルの制御．シンポジウム：ゲノムインプリンティングの分子メカニズムと生殖細胞の分化，大阪，5月．
2. 石原 宏，波多野直哉，古海弘康，モハマドズバイル，佐々木裕之，岩城 徹：マウス Igf2/H19 領域のインプリンティングを調節すると考えられるエンハンサー群：大規模塩基配列比較による遠位制御配列の検索．日本発生生物学会第31回大会，熊本，5月．
3. 武田裕彦，巖佐 庸，佐々木裕之：ゲノムインプリンティングの数理モデル：対立遺伝子多型の実現．日本発生生物学会第31回大会，熊本，5月．
4. Danjoh, I. and Fujiyama, A.: Transcriptomic approach of fission yeast genome, classification of genes regulated by *ras*-mediated signaling pathway. Cold Spring Harbor Meeting on genome sequencing and mapping, Cold Spring Harbor, May.
5. Fujiyama, A., Park, H-S. and Danjoh, I.: Human Genome Resource at National Institute of Genetics. Cold Spring Harbor Meeting on genome sequencing and mapping, Cold Spring Harbor, May.
6. 佐々木裕之：ゲノムインプリンティングと先天異常・小児癌．第7回成長と成長障害に関する講演会，福岡，7月．
7. 佐々木裕之：ゲノムインプリンティングと染色体ドメインレベルの制御．日本遺伝学会第70回大会（シンポジウム：ゲノムインプリンティングの分子機構），札幌，9月．
8. Kato, R., Ishihara, K., Yokomine, T., Mizuno, S., Furuumi, H., Shirozu, H., Hatano, N., Iwaki, T., Jinno, Y. & Sasaki, H: Genome analysis of the distal imprinted region of mouse chromosome 7: comparative sequencing between human and mouse identifies multiple tissue-specific enhancers in the downstream region of *H19*. 12th International Mouse Genome Conference, Garmisch-Partenkirchen, 9-10月．
9. 佐々木裕之：DNAメチル化とインプリンティング・胚発生．第71回日本生化学会大会（シンポジウム：クローン動物の可能性），名古屋，10月．
10. 渡辺卓也，遠藤禎郎，三嶋行雄，佐々木裕之，高木信夫，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71回日本生化学会大会，名古屋，10月．
11. 藤山秋佐夫：染色体ソーティングに基づくヒトゲノム構造解析．染色体コロキウム，つくば，11月．
12. 佐々木裕之，加藤玲子，石原 宏，水野晋一，横峯孝昭，白水久男，古海弘康，大

- 野みずき, Wahyu Purbowasito, 千々岩崇仁: ドメインレベルのインプリンティング制御機構. 第21回日本分子生物学会年会(ワークショップ: ゲノムインプリンティングの機構と疾患), 横浜, 12月.
13. 辻本直美, 鈴木 諭, 岩城 徹, 佐々木裕之, 服巻保幸, 岩城明子: Head-to-head で近接して存在する HSPB2 遺伝子と B-クリスタリン遺伝子の筋組織における発現調節機構. 第21回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月.
 14. 渡辺卓也, 遠藤禎郎, 三嶋行雄, 佐々木裕之, 高木信夫, 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21回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月.
 15. 加藤玲子, 横峯孝昭, 水野晋一, 白水久男, 石原 宏, 小出 剛, 向井常博, 佐々木裕之: 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. 第21回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月.
 16. 石原 宏, 波多野直哉, 加藤玲子, 古海弘康, 陣野吉広, 岩城 徹, 佐々木裕之: 広範囲塩基配列比較による Igf2/H19 インプリンティングドメインの制御配列の同定. 第21回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月.
 17. 大野みずき, 青木奈緒, 佐々木裕之: RNA-FISH によるマウス初期胚におけるインプリンティング遺伝子 Igf2 の転写の解析. 第21回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月.
 18. 千々岩崇仁, 古海弘康, Wahyu Purbowasito, 水野晋一, 藤本弘一, 河野友宏, 田嶋正二, 佐々木裕之: 哺乳類の新規 DNA メチルトランスフェラーゼ Dnmt3 のクローニングと解析. 第21回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月.
 19. 檀上稲穂, Bong Yong-Sik, 中井謙太, 藤山秋佐夫: 全ゲノムを対象とした分裂酵母遺伝子発現プロファイルの解析. 第21回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月.
 20. 檀上稲穂, 朴 洪石, 増島 恵, 許山肖子, 遠藤光子, 藤山秋佐夫: 染色体特異的ゲノムリソースの整備とそれをを用いたゲノムの構造解析-II. 第21回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月.
 21. Akutsu, T., Ohyama, A., Kanaya, K. and Fujiyama, A.: Development of a Spot Matching Module in Image Analysis System DDGEL for 2D Gel Electrophoresis. Genome Informatics 1998, Tokyo, December.

E-b. 応用遺伝研究部門

(1) イネの花の分化制御機構：長戸康郎

花の分化機構については、シロイヌナズナやキンギョソウで精力的に研究され、大きな成果が上がっている。しかしながら、単子葉植物の花の分化のプログラムはほとんど明らかにされていない。そこで、イネの花の分裂組織の確立、花器官の分化領域の確立、花器官数の制御、器官のアイデンティティーの決定などの遺伝的プログラムを明らかにするために、花の分化に関わる突然変異を多数同定、解析した。

既に、花序分裂組織が花分裂組織に転換できない突然変異 *fm1* を同定しているが、その1つの allele は、温度感受性で、高温では野生型の表現型を示すが、20 以下の低温では、花が分化せず、花序(枝梗)の発生を繰り返す。この温度感受性の変異体を、低温(18)下で育て、幼穂形成初期に6~48時間高温(28)処理し、再び低温に戻す実験を行った。その結果、花器官分化後に花序が形成されるものが観察された。従って、FML 遺伝子は、花序分裂組織の花分裂組織への転換だけでなく、花分裂組織の維持にも必要であることを確認した。また、高温下で育てた温度感受性の変異体の花を詳細に観察した結果、半数近くの花で、最初の護穎が伸長しないことがわかった。また、希に外穎が増加する場合もあり、花器官の分化、伸長にも関与していると考えられる。

花器官数については既に *fon1*, *fon2* の2つの遺伝子が雄蕊、雌蕊の数の制御に関わっていることを明らかにした。本年度は、それ以前に形成される器官である内穎、外穎、護穎の数に影響する変異体のスクリーニングを行った。その結果、2つの変異体、*fm 55*, *fm 56* を同定した。いずれも外穎を増加させるとともに、鱗被の領域にも穎を分化させた。低頻度ではあるが、雄蕊の数に影響することもあった。いずれの系統でも、外穎の重複には2通りの場合が見られた。1つは、外穎-外穎-内穎が互生で分化するもので、鱗被は2番目の外穎の内側に分化した。2つ目は、2枚の外穎が対生で分化し、内穎は消失するものである。この場合には、外穎の外側にできる2枚の護穎も対生のように見える場合もあった。*fm 55*の方が稔性が低く、より強い表現型を示すが、いずれも、穎の数(分化様式)の制御に関わるものであろう。

*pap1*は1次枝梗数を増加させるが、単独では花器官の数にはほとんど影響を与えない。しかし花器官数が増加する *fon1* との2重突然変異体では、器官の極端な増加が認められ、*fon1* との相互作用により、花器官数の制御にも関わっていることが示唆された。詳細は文献2に示した。

以上のように、花器官数の制御には多くの遺伝子が時間的、空間的に分化しながら関わっていると考えられる。しかも、時には *phyl lotaxy* の変更を伴う変異体も見られる。従って、器官数の制御は1つの *whorl* での原基数の問題だけではなく、多くの複雑なプロセスが関与する興味ある問題と言える。

(2) イネの茎頂分裂組織の維持機構：長戸康郎

胚発生で分化した茎頂分裂組織が発芽後も維持される機構に迫るために、茎頂分裂組織の維持に関わる変異体を得る目的でスクリーニングを行い、発芽後約1週間で枯死するものを約10系統同定した。その中には、葉原基分化により茎頂分裂組織が消費され、発芽後約1週間で茎頂分裂組織が消失するものや、茎頂分裂組織の層構造が崩壊するものがあった。これらの変異体のいくつかは茎頂分裂組織の維持に重要な遺伝子が関わっていると考えられる。

植物のライフサイクルにおける胚発生 - juvenile phase - adult phase - reproductive phase の相転換は、茎頂分裂組織そのものの転換(成熟)の反映である。pla1 変異体は、栄養生長期(adult phase)において葉原基を野生型の約2倍の速度で分化するものとして同定された。pla1 は、野生型と同じ時期に最後の葉である止め葉を分化したが、その後は穂を分化せず多くのシュートをラセンで分化した。茎頂付近を詳細に観察した結果、この表現型は、穂の基部の1次枝梗原基がシュートに転換した結果であることがわかった。このectopicなシュートは、止め葉の分化と1次枝梗原基のシュートへの転換を繰り返した。従って、pla1 は、生殖生長期でも栄養生長期のプログラムが終了せず機能しているヘテロクローン変異体である。現在2つの alleles が得られており、弱いpla1-2 変異体では葉原基の分化速度がpla1-1 より少し遅く、シュートに転換する1次枝梗原基も少ないので、茎頂分裂組織における葉原基の分化速度の大小が栄養生長期の終了に影響すると考えられる。いずれの変異体でも茎頂分裂組織が野生型より大きくなっており、茎頂分裂組織における細胞分裂の制御が葉原基の分化速度や栄養生長期の長さに影響すると示唆される。詳細は文献3に示した。

葉原基の分化様式の最も興味ある現象はその空間的な配置(葉序)であろう。葉序について2つの変異体を同定している。1つは juvenile phase でランダムな葉序を示す sho 変異体であり、この場合には茎頂分裂組織の形が重要であること、更に sho では茎頂分裂組織における細胞分裂が高頻度で起こっていることを既に示した。興味深いことに sho の葉では領域の分化が異常になっていることが明らかになった。茎頂分裂組織の異常が葉の architecture (central-lateral-marginal) にも影響すると考えられる。

もう1つの変異体 dec は juvenile phase で十字対生を示す。dec の茎頂分裂組織は野生型より大きくなっており、茎頂分裂組織のサイズや形が葉原基の分化位置に大きく影響することが明らかである。また、dec の葉では葉身-葉鞘の境界が規則的にずれており、葉身-葉鞘の分化が1つ前の葉原基(の位置)によって影響されると考えられる。

(3) 神経疾患の発症機構の分子レベルでの解明：辻 省次

さまざまな神経疾患の発症機構を分子レベルで解明し、治療法開発の道を拓くことを目的に研究を行っている。神経変性疾患の中でも CAG リピートの増大によって発症する脊髄小脳変性症の解明に力を入れている。遺伝性脊髄小脳変性症にはさまざまな疾患が含まれており、その頻度が民族によって異なることを見いだした。それぞれの民族にお

ける健常者についてCAGリピート数の分布を調べ、正常範囲ではあるが、発症者で見られる伸長CAGリピートに近い長さのCAGリピートの(中間型アレル)の頻度とその民族におけるそれぞれの遺伝性脊髄小脳変性症の相対頻度との間に明瞭な相関のあることを見いだした(Takano H., et al. Amer. J. Hum. Genet. 63, 1060-1066, 1998を引用). 齒状核赤核・淡蒼球ルイ体萎縮症(DRPLA)の変異ゲノム遺伝子を単一コピーで有するトランスジェニックマウスを作製し、このマウスがヒトで見られるのと同様のCAGリピートの不安定性を示すことを見だし、CAGリピートの不安定性機構を解明するための良いモデルであることを示した(Sato T., et al. Hum. Mol. Genet. 8, 99-106, 1999). 伸長したCAGリピートはポリグルタミンをコードしているが、伸長したCAGリピートを有するDRPLA cDNAを用いて、伸長したポリグルタミンが核外、核内凝集体を形成しアポトーシスを誘導することを証明した(Igarashi S., et al. Nature Genet. 18, 111-117, 1998).

研究業績

(1)原著論文

1. Sugimoto, N., Takeda, G., Nagato, Y. and Yamaguchi, J.: Temporal and spatial expression of the α -amylase gene during seed germination in rice and barley. *Plant Cell Physiol.* 39: 323-333, 1998.
2. Takahashi, M., Nagasawa, N., Kitano, H. and Nagato, Y.: *panicle phytochrome1* mutations affect the panicle architecture of rice. *Theor. Appl. Genet.* 96: 1050-1056, 1998.
3. Itoh, J.-I., Hasegawa, A., Kitano, H. and Nagato, Y.: A recessive heterochronic mutation, *plastochron1*, shortens the plastochron and elongates the vegetative phase in rice. *Plant Cell* 10: 1511-1521, 1998.
4. Yamaguchi, J., Itoh, S.-I., Saito, T.-K., Ikeda, A., Tashiro, T. and Nagato, Y.: Characterization of α -amylase and its deficiency in various rice cultivars. *Theor. Appl. Genet.* (in press).
5. 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.* (in press).
6. Igarashi, S., Koide, R., Shimohata, T., Yamada, M., Hayashi, Y., Takano, H., Date, H., Oyake, M., Sato, T., Sato, A., Egawa, S., Ikeuchi, T., Tanaka, H., Nakano, R., Tanaka, K., Hozumi, I., Inuzuka, T., Takahashi, H. and Tsuji, S.: Suppression of aggregate formation and apoptosis by transglutaminase inhibitors in cells expressing truncated DRPLA protein with an expanded polyglutamine stretch. *Nature Genet.* 18, 111-117, 1998.
7. Onodera, O., Idezuka, J., Igarashi, S., Takiyama, Y., Endo, K., Takano, H.,

- Oyake, M., Tanaka, H., Inuzuka, T., Hayashi, T., Yuasa, T., Ito, J., Miyatake, T. and Tsuji, S.: Progressive atrophy of cerebellum and brainstem as a function of age and the size of the expanded CAG repeats in the MJD1 gene in Machado-Joseph disease. *Ann. Neurol.* **43**, 288-296, 1998.
8. Okuizumi, K. and Tsuji, S.: Alzheimer's disease as a polygenic disease. *Neuropathology* **18**, 111-115, 1998.
 9. Saito, M., Matsumine, H., Tanaka, H., Ishikawa, A., Shimoda-Matsubayashi, S., Schaffer, A. A., Mizuno, Y. and Tsuji, S.: Refinement of the gene locus for autosomal recessive juvenile parkinsonism (AR-JP) on chromosome 6q25.2-27 and identification of markers exhibiting linkage disequilibrium. *J. Hum. Genet.* **43**, 22-31, 1998.
 10. Tanno, Y., Okuizumi, K. and Tsuji, S.: Mitochondrial DNA polymorphisms in Japanese sporadic Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* **19**, S47-S51, 1998.
 11. Ikeuchi, T., Sanpei, K., Takano, H., Sasaki, H., Tashiro, K., Cancel, G., Brice, A., Bird, T. D., Schellenberg, G. D., Pericak-Vance, M., Welsh-Bohmer, K. A., Clark, L. N., Wilhelmsen, K. and Tsuji, S.: A novel long and unstable CAG/CTG trinucleotide repeat on chromosome 17q. *Genomics* **49**, 321-326, 1998.
 12. Hayashi, Y., Kakita, A., Yamada, M., Egawa, S., Oyanagi, S., Naito, H., Tsuji, S. and Takahashi, H.: Hereditary dentatorubral-pallidoluysian atrophy: ubiquitinated filamentous inclusions in the cerebellar dentate nucleus neurons. *Acta Neuropathol.* **95**, 479-482, 1998.
 13. Takiyama, Y., Shimazaki, H., Morita, M., Soutome, M., Sakoe, K., Esumi, E., Muramatsu, S., Yoshida, M., Igarashi, S., Tanaka, H., Tsuji, S., Sasaki, H., Wakisaka, A., Nakano, I. and Nishizawa, M.: Maternal anticipation in Machado-Joseph disease (MJD): some maternal factors independent of the number of CAG repeat units may play a role in genetic anticipation in a Japanese MJD family. *J. Neurol. Sci.* **155**, 141-145, 1998.
 14. Illarionovskaya, S. N., Markova, E. D., Slominsky, P. A., Miklina, N. I., Popova, S. N., Limborska, S. A., Tsuji, S., Ivanova-Smolenskaya, I. A.: The GTP cyclohydrolase I gene in Russian families with dopa-responsive dystonia. *Arch. Neurol.* **55**, 789-792, 1998.
 15. Herrmann, T., Schindler, D., Tabe, H., Onodera, O., Igarashi, S., Polack, A., Zehnpfenning, D. and Tsuji, S.: Molecular cloning, structural organization, sequence, chromosomal assignment, and expression of the mouse alpha-N-acetylgalactosaminidase gene. *Gene* **211**, 205-214, 1998.
 16. Zhou, Y.-X., Wang, G.-X., Tang, B.-S., Li, W.-D., Wang, D.-A., Lee, H.-S., Sambuughin, N., Zhou, L.-S., Tsuji, S., Yang, B.-X. and Goldfarb, L. G.: Spinocerebellar ataxia type 2 in China: Molecular analysis and genotype-phenotype

correlation in nine families. *Neurology* 51, 595-598, 1998.

17. Sasaki, H., Wakisaka, A., Sanpei, K., Takano, H., Igarashi, S., Ikeuchi, T., Iwabuchi, K., Fukazawa, T., Hamada, T., Yuasa, T., Tsuji, S. and Tashiro, K.: Phenotype variation correlates with CAG repeat length in SCA2 - A study of 28 Japanese patients. *J. Neurol. Sci.* 159, 202-208, 1998.
18. Good, P., Yoda, A., Sakakibara, S., Yamamoto, A., Imai, T., Sawa, H., Ikeuchi, T., Tsuji, S., Satoh, H. and Okano, H.: The Human Musashi Homolog 1 (MSI1) gene encoding the homologue of Musashi/Nrp-1, a neural RNA-binding protein putatively expressed in CNS stem cells and neural progenitor cells. *Genomics* 52, 382-384, 1998.
19. Takano, H., Cancel, G., Ikeuchi, T., Lorenzetti, D., Mawad, R., Stevanin, G., Didierjean, O., Durr, A., Oyake, M., Shimohata, T., Sasaki, R., Koide, R., Igarashi, S., Hayashi, S., Takiyama, Y., Nishizawa, M., Tanaka, H., Zoghbi, H., Brice, A., Tsuji, S.: Close associations between prevalence rates of dominantly inherited spinocerebellar ataxias with CAG-repeat expansions and frequencies of large normal CAG alleles in Japanese and Caucasian populations. *Am. J. Hum. Genet.* 63, 1060-1066, 1998.
20. Koide, T., Igarashi, S., Kikugawa, K., Nakano, R., Inuzuka, T., Yamada, M., Takahashi, H. and Tsuji, S.: Formation of granular cytoplasmic aggregates in cells expressing mutant Cu/Zn superoxide dismutase associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Neurosci. Lett.* 257, 29-32, 1998.
21. Sidransky, E., Burgess, C., Ikeuchi, T., Lindblad, K., Long, R. T., Philibert, R. A., Rapoport, J., Shalling, M., Tsuji, S. and Ginns, E. I.: A triplet repeat on 17q accounts for most expansions detected by the repeat expansion detection technique. *Am. J. Hum. Genet.* 62, 1548-1551, 1998.
22. Okuizumi, K., Takano, H., Seki, K., Onishi, Y., Horikawa, Y. and Tsuji, S.: Genetic polymorphism of the tau gene and neurodegenerative diseases with tau pathology among Japanese. *Ann. Neurol.* 44, 707, 1998.
23. Hayashi, Y., Kakita, A., Yamada, M., Koide, R., Igarashi, S., Takano, H., Ikeuchi, T., Wakabayashi, K., Egawa, S., Tsuji, S. and Takahashi, H.: Hereditary dentatorubral-pallidoluyisian atrophy: detection of widespread ubiquitinated neuronal and glial intranuclear inclusions in the brain. *Acta Neuropathol.* 96, 547-552, 1998.
24. Sato, T., Oyake, M., Nakamura, K., Nakao, K., Fukusima, Y., Onodera, O., Igarashi, S., Takano, H., Kikugawa, K., Ishida, Y., Shimohata, T., Koide, R., Ikeuchi, T., Tanaka, H., Futamura, N., Matsumura, R., Takayanagi, T., Tanaka, F., Sobue, G., Komure, O., Takahashi, M., Sano, A., Ichikawa, Y., Goto, J., Kanazawa, I., Katsuki, M. and Tsuji, S.: Transgenic mice harboring a full-length

human mutant DRPLA gene exhibit age-dependent intergenerational and somatic instabilities of CAG repeats comparable to those in DRPLA patients. Hum. Mol. Genet. 8, 99-106, 1999.

25. Aida, H., Takakuwa, K., Nagata, H., Tsuneki, I., Takano, M., Tsuji, S., Takahashi, T., Sonoda, T., Hatae, M., Takahashi, K., Hasegawa, K., Mizunuma, H., Toyoda, N., Kamata, H., Torii, Y., Saito, N., Tanaka, K., Yakushiji, M., Araki, T. and Tanaka, K.: Clinical features of ovarian cancer in Japanese women with germline mutations of BRCA1. Clin. Cancer Res. (in press).
26. Takano, H., Koike, R., Onodera, O., Sasaki, R. and Tsuji, S.: Mutational analysis and genotype-phenotype correlation of 29 unrelated Japanese patients with X-linked adrenoleukodystrophy (ALD). Arch. Neurol. (in press)

(2) その他

1. Nagato, Y., Itoh, J.-I. and Kitano, H.: Morphogenetic Mutants in Rice.in (Shimamoto, K. ed.) "Molecular Biology of Rice", Springer-Verlag, Tokyo, pp 79-99. 1998.
2. Tsuji, S.: Molecular genetics of dentatorubral-pallidoluysian atrophy (DRPLA). In "Genetic Instabilities and Hereditary Neurological Diseases" (edited by Wells R. D. and Warren S. T.), pp213-220, Academic Press, San Diego, 1998.
3. Sanpei, K. and Tsuji, S.: DIRECT technologies. In "Genetic Instabilities and Hereditary Neurological Diseases" (edited by Wells R. D. and Warren S. T.), pp455-462, Academic Press, San Diego, 1998.
4. Tsuji, S.: Dentatorubral-pallidoluysian atrophy (DRPLA). In "Analysis of Triplet Repeat Disorders" (edited by Rubinsztein D. C. and Hayden M. R.), pp209-218, BIOS Scientific Publishers, Oxford, 1998.

(3) 発表講演

1. 菊池一浩, 吉田 薫, 上口(田中)美弥子, 松岡 信, 長戸康郎, 平野博之: イネ OsNAC 遺伝子群の発現解析. 日本育種学会第 93 回講演会, 横浜, 3 月.
2. 田口文緒, 伊藤純一, 長戸康郎: イネの葉の形態形成に関わる突然変異. 日本育種学会第 93 回講演会, 横浜, 3 月.
3. 伊藤純一, 田口文緒, 長戸康郎: イネの葉の葉身 - 葉鞘の境界について. 日本育種学会第 93 回講演会, 横浜, 3 月.
4. 浅井和美, 佐藤 光. 北野英己, 長戸康郎: イネの juvenile-adult 相転換を制御する MORI 遺伝子. 日本育種学会第 93 回講演会, 横浜, 3 月.
5. 三好一丸, 中田栄治郎, 長戸康郎: イネ穂発芽性突然変異体の解析. 日本育種学会第 93 回講演会, 横浜, 3 月.

6. 魚津桜子, 永澤信洋, 長戸康郎: イネにおける穂形成と茎の節間伸長との相互作用. 日本育種学会第93回講演会, 横浜, 3月.
7. 山口貴大, 川崎信二, 長戸康郎, 平野博之: イネ DL 遺伝子のポジショナルクローニングへのアプローチ. 日本育種学会第94回講演会, 盛岡, 9月.
8. 伊藤純一, 北野英己, 長戸康郎: イネ shoot organization (sho) を用いた葉の発生過程の解析. 日本育種学会第94回講演会, 盛岡, 9月.
9. 佐藤奈美子, 長戸康郎: イネの茎頂分裂組織の維持に関わる突然変異の解析. 日本育種学会第94回講演会, 盛岡, 9月.
10. 木苗貴英, 佐藤 光, 北野英己, 長戸康郎: イネの胚器官数の制御に関わる突然変異体の解析. 日本育種学会第94回講演会, 盛岡, 9月.
11. Itoh, J., Kitano, H., Hasegawa, A. and Nagato, Y.: *PLASTOCHRON* gene regulates the leaf production rate and the duration of vegetative phase. 18th Int. Congr. Genet. Beijing, China, August.
12. Satoh, N., Hong, S.-K., Matsuoka, M., Kitano, H. and Nagato Y.: Characterization of developmental mutations involved in the initiation of shoot apical meristem in rice. 18th Int. Congr. Genet. Beijing, China, August.
13. Tsuji, S.: Molecular mechanisms of neurodegenerative diseases. 10th International Seminar on Neurobiology, Tokyo, 1月.
14. Takano, H., Koike, R., Onodera, O., Sasaki, R. and Tsuji, S.: Genotype-phenotype correlation analysis on Japanese patients with X-linked adrenoleukodystrophy (ALD) from 29 Japanese pedigrees. International symposium • Crest Research Conference -Peroxisomes: Biogenesis, Function, and Disease-, Fukuoka, 3月.
15. Tsuji, S.: Update on dominant ataxias. 9th International Congress on Neuromuscular Diseases, Adelaide, 9月.
16. Tsuji, S.: CAG repeat instability in dominant ataxias. 9th International Congress on Neuromuscular Diseases, Adelaide, 9月.
17. Tsuji, S.: Gene locus for autosomal recessive distal myopathy with rimmed vacuoles maps to chromosome 9. 9th International Congress on Neuromuscular Diseases. 9th International Congress on Neuromuscular Diseases, Adelaide, 9月.
18. Tsuji, S.: Dentatorubral-pallidoluysian atrophy: genetics and phenotype. 5th International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders, New York, 10月.
19. Tsuji, S.: Molecular genetics of hereditary ataxias caused by expansion of CAG repeats. Japan-Canada Neuroscience Symposium on NeuroGenes "Functional Genomics of Neurodegeneration - Triplet Repeat Diseases", Tokyo, 11月.

F. 系統生物研究センター

(旧) 遺伝実験生物保存研究センターからの改組とセンター棟の増築改修から一年以上経た系統生物研究センターは、各研究室の人員と研究活動が大幅に増大するとともに、動植物・微生物の遺伝学的系統を用いた活発な研究と系統の開発・保存事業を行うセンターとして引続き発展している。この期間の職員の異動としては、哺乳動物遺伝研究室の城石俊彦助教授の教授への昇任、発生工学研究室の白吉安昭助手の鳥取大学医学部助教授への転出と多田 高助手の採用があった。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、斎藤哲一郎助手、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 茂生助教授、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、さらにゲノム解析の手法が活用された。

前年度に引き続き、榎屋啓志が、日本学術振興会特別研究員として研究に参加した。また、中外製薬(株)創薬開発研究所の福田達也氏が受託研究員として研究に参加した。石島淳子は、10月から中核研究機関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 茂の2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(お茶の水女子大学大学院人間文化研究科)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)、河野友宏(東京農大)、津金瑞代(札幌医科大学解剖)の8名が参加した。また、嵯峨井知子、内田紀久枝、浜田 俊(沼津学園)、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、榎屋啓志の2名は、5月17日から21日まで米国アイダホ州サンバレーで開催された第6回四肢発生生物学会議に出席し発表討論を行った。城石俊彦、石島淳子、嵯峨井知子、清水邦彦の4名は、9月29日から10月3日までドイツ・ゲーミッシュ市で開催された第12回国際マウス・ゲノム・カンファレンスに参加し研究発表を行うと共に各国の研究者と情報交換を行った。

城石俊彦は、10月5-6日に開催された第1回マウスENUミュータジェネシス会議に出席し発表討論と情報交換を行った。

マウス系統の維持分譲事業としては、「系統保存事業費」及び文部省がん特別研究「実験動物委員会」(山村研一委員長)の援助を受けた。平成10年12月現在、88系統のマウスを系統生物センターの第1ネズミ飼育舎において維持・保存している。これらの系統については、実験動物中央研究所モニタリングセンターに依頼して、定期的に遺伝学のおよび微生物学的モニタリングを行っている。また、「系統保存事業費」により、薩川美代子と水品洋一の二名が日本クレア株式会社から派遣され、主にマウス受精卵の凍結保存を担当した。現在、合計220系統、51,607個の2細胞胚が凍結保存によって維持されている。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。平成9年3月に、微生物モニタリングの結果ネズミ付属棟のマウス系統の一部に *Pasteurella pneumotropica* の感染が認められた。このため全系統を第1ネズミ飼育舎に移し、凍結胚を元にした清浄化を開始した。平成10年12月現在、合計21系統の清浄化が完了しSPF系統としてネズミ付属棟に移して分譲を行うためのコロニーの拡大を進めている。

(1) Synaptonemal complex (SC)におけるDNAフラグメントの空間的配位：磯部 拓，松田洋一¹，城石俊彦(¹名古屋大学農学部)

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。この間に染色体はSynaptonemal complex (SC)と呼ばれる特異的な高次構造を取る。現在、SCを構成する蛋白は詳しく調べられているが、SCに対してDNA断片が、どのような空間的な配位を取るのかその詳細は不明である。このことは、相同染色体の対合や減数分裂期組換えの分子機構を理解する上でも重要である。一方、マウス主要抗原複合体(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の切断点が、塩基配列レベルで組織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局していることが明らかになっている。我々は、ホットスポットがSC構造の上でどのような空間配置を取るかを明らかにするため、SC構造に対するMHCクラスII全領域の空間的配位を解析している。このため、クラスII領域に含まれる複数の染色体DNA断片をプローブとするマルチカラーFISH法とSC構造を特異的に検出する抗体染色法を併用する方法を確立した。

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

Tail-short(Ts)は、約半世紀前に発見された骨格形成異常を示す優性突然変異である。そのヘテロ個体は骨格形成異常に加えて頭部神経管形成異常、多指症等が高い頻度で観

察される。Ts 遺伝子は第 11 番染色体の末端側にマップされ、この領域はマウス - ヒト染色体の相同性 (synteny) からみると、ヒト第 17 番染色体短腕 (17q21-24) にあり、骨形成に関わるヒトの遺伝性疾患である Campomelic Dysplasia (CMPD1) および Meckel Syndrome (OMIM2400) (MES) がマップされている。これらの遺伝性疾患のうち CMPD1 は、性決定遺伝子である Sry 遺伝子と共通の DNA 結合ドメインを有する Sox9 が原因遺伝子であることが報告されていたが、詳細な連鎖解析の結果 Ts と Sox9 の間に複数の組み換えが見られたことから、Sox9 が Ts の原因遺伝子でないことが示されている。MES は、多指や頭部神経管形成異常、嚢胞腎などが主な症状であり、その原因遺伝子を含めその発症の機構については不明であるが、Ts マウスと類似した骨格異常を示すことにより MES がヒトの Ts 相同遺伝子の異常によって生ずる疾患である可能性が示唆されている。我々は MES の病因理解と骨形成を含む形態形成のメカニズムの解明を目的として Ts 遺伝子の単離を進めている。

これまでに Ts 遺伝子がマウス 11 番染色体遠部位に位置する 2 つのマイクロサテライトマーカー D11Mit128 と D11Mit256 に挟まれた 0.16cM の領域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。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 250kbp の長さ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、BAC clone を用いた cDNA selection 法を行い、現在までに 5 種類の cDNA clone を得ている。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 chain (DYIMC-3), 及び Kinesin と高い相同性を示している。

現在までに、これらの clone を用いた Genomic Southern 解析と、遺伝子の coding 領域の塩基配列を TsJ-Ts/+ 及び TsJ-+/+ で比較したが、Ts 特異的な変異は見つかっていない。今後は、これまでに cloning した遺伝子の coding 領域だけでなく調節領域を含めた解析を Northern blot 解析を中心に進めるとともに、cDNA selection 法で screening できなかった遺伝子を探すために BAC clone を用いた genome の sequencing を行っていく予定である。

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

優性突然変異 Tail-short (Ts) ヘテロ個体に特徴的な表現型としては、約 24h の発生遅延、骨形成異常 (多指症を含む)、頭部神経管形成異常 (脳脱、二分脊椎、口蓋裂など) を起こし、まれに臍ヘルニアを伴う。これらのうち重度なものについては、出生後致死になると考えられる。多数のマウス系統との交雑実験の結果、Ts ヘテロ個体の生存度はその交配相手の系統に依存することが判明した。Ts ヘテロ F1 の生存度に従い、標

準的な実験用近交系マウスは大きく2つに分けられる。C57BL/6J, SJL/J, 129/SvJ, BALB/cAnN, MSM等の系統と交配した場合、表現型に差はあるものの、TsヘテロF1は生存する。その一方で、A/J, CBA/J, C3H.SW/SnJ, AKR/J等と交配した場合は胎生期の早い段階で致死となる。A/J系統由来の対立遺伝子を持つ場合、Tsヘテロ胚体は嚢胚形成初期より形態的な異常を示す。神経板形成期には原条より過剰な胚体外中胚葉の形成が観察され、同時に胚体は貧形成となる。体節や尾部脊索、心臓、静脈系の異常を伴い、臍帯の形成不全により12.5dpc前後で致死となる。このことは、Ts変異遺伝子と相互作用する遺伝子が、これら2つのグループ間で機能的に多型であり、表現型が修飾されていると考えられる。Ts変異遺伝子の表現型を修飾している遺伝子を探すため、C57BL/6JとA/JとのF1をTsヘテロ個体に交配し、マイクロサテライトマーカーを用いた連鎖解析を行った。その結果、Tsヘテロ個体の生存度を優性的に支配する遺伝子は、Ts遺伝子座と遺伝的に不分離な単一の染色体領域に存在する事が解った。更に他系統、CBA/J, C3H.SW/SnJ, AKR/Jとの連鎖解析からも同様の結果が得られている。これらのことは、目的遺伝子がTs遺伝子自身の対立遺伝子であり、近交系間で多型性が保持されている可能性を示している。Ts変異遺伝子と交配相手の対立遺伝子の組み合わせが、Tsヘテロの表現型に変化をもたらし、結果として生存度の差として表れていると考えられる。機能的な面でどのようにTs変異遺伝子と相互作用しているかについては今後の研究課題である。

(4) 四肢前後軸形成異常を示すRim4の修飾遺伝子：樹屋啓志，嵯峨井知子，城石俊彦

正常な脊椎動物四肢の前後軸は肢芽後端部に極性領域(ZPA)が形成されることにより決定される。ZPAで発現するSonic hedgehog (Shh)は、この領域の細胞がZPA活性をもつために主要な役割を果たしている。マウスにおける軸前側多指症突然変異の多くでは、肢芽前上部にShhが発現しており、肢芽前上部でのZPA形成を抑制する遺伝的システムに障害が生じていることが示唆される。最近、pairedタイプホメオボックス遺伝子であるAlx4が肢芽前側領域に発現しており、Shh発現の抑制をおこなっていること、多指症突然変異Istの原因遺伝子であることが示された。Rim4はIstに良く似た表現型を示す多指症突然変異であり、肢芽前上部にShhが異所的に発現している。この異所的発現はMSM系統の遺伝的背景により完全に抑制され、その結果、C57BL10/JとMSM系統のF1では、Rim4ヘテロ接合体の軸前側多指症も完全に抑制される。

本研究では、この表現型発現率の遺伝的背景による変化に注目し、MSMハプロタイプ内に局在するRim4表現型の抑制に関する遺伝子(Rim4修飾遺伝子)のマッピングを試みた。すでに、第2染色体上D2Mit130近傍にRim4修飾遺伝子が存在することを確認している。今回これをMop1(Modifier of polydactyly 1)と命名し、軸前側多指症の程度とMop1アリルの相関を検討した結果、Mop1は、Rim4の遺伝子浸透度と多指症の程度の両方をコントロールしていると考えられた。現在のところ、Mop1には2つのアリルがあることが明らかとなっている。MSM系統は、優性のMop1アリルを持ち、C57BL10/

J, NZB 系統は、劣性の mop1 アリルを持つ。一方、D2Mit130 近傍には Alx4 遺伝子があることが最近になって示された。Mop-1 と Alx4 の直接の位置関係を同一の交配パネル上で検討した結果、Mop-1 と Alx4 の染色体上の位置は一致した。また、Rim4 と、Alx4 の変異体である Ist の交配実験を行ったところ、Ist は Rim4 の表現型を増強することが示された。さらに、Alx4 の DNA 配列を系統間で比較したところ、コード領域において、MSM 系統では、C57BL10/J, NZB と比較して、3 カ所のアミノ酸の違いがあることが判明した。これらの置換はアミノ酸の性質を微妙に変化させるものであった。C57BL10/J と NZB では、DNA 配列では 1 塩基の違いがあったが、アミノ酸配列には差はなかった。これらに加えて、Rim4 変異体や、マウス系統間で Alx4 の発現パターンに違いがあるかどうかについて検討した。Alx4 は Rim4 マウス肢芽でも正常に発現しており、MSM 系統と C57BL10/J, NZB でも発現の違いはみられなかった。これらの結果より、Mop-1 は Alx4 遺伝子そのものであること、そのコード領域におけるアミノ酸配列の相違による機能の差が、遺伝的背景による Rim4 表現型の差を生み出していることが示唆される。最近、同じく paired ホームオボックスをもつ Cart1 が、Alx4 と結合することにより、Alx4 の機能を修飾することが示された。Alx4 は、他のいくつかの因子との結合により、様々な器官形成において違った役割を果たすことが示唆されている。おそらく、Rim4 は Alx4 機能修飾に関与する分子のひとつであると考えられる。

(5) Hx マウスの遺伝学的解析及び変異遺伝子の探索：嵯峨井知子，榎屋啓志，城石俊彦

Hx マウスは、軸前側多指症に加え前肢とう骨及び後肢脛骨の形成不全を示す。Hx 遺伝子は、第 5 染色体上の shh 遺伝子のテロメア側の極めて近い位置に遺伝学的にマップされ、Hx の変異は shh の軸前側への異所的発現を誘導する。Hx の変異は、単一優性の遺伝形式をとるが、表現型は交配するマウス系統の遺伝的背景によって異なる。特に野生マウス由来の近交系との交配では軸前側多指症や脛骨形成不全の部分的回復、本来の遺伝的背景ではみられなかった軸後側への変異の誘導もみられた。逆に数種の実験用近交系との交配では顕著な差はみられなかった。これらの結果は、野生マウス由来の遺伝子の中には Hx の表現型に対する修飾因子が含まれることを示唆する。Hx と相同なヒトの 7q36 領域には合・多指症の一つである Nicolli-Hamel syndrome がマップされている。この変異の複雑な表現型についても異なる遺伝的背景が変異の表現型に影響を及ぼしていることが類推される。現在、このマウスとヒトの相同領域にマップされる四肢形成遺伝子のポジショナルクローニングを行っている。

MSM 系統を用いた連鎖解析により shh の翻訳領域は、Hx の原因領域の候補から除外されたこと、shh と Hx が約 1.5Mb の同一 YAC 上にあること、また Hx 領域は、別の 600Kb の一本の YAC でカバーできることについてはすでに報告した。その後 shh の翻訳領域から Hx 領域までの約 1Mb の BAC contig を作成した。Hx ヘテロマウスと MSM 系統の約 1,700 の戻し交雑個体を用いた連鎖解析では、Hx 領域を約 600Kb 以下の範囲に狭めることができなかった。そこで、P/J および MAL 系統を用いてあらたな戻し交雑個体を作製

して連鎖解析を行ったところ、MSMを用いた解析の約1/5の個体数の解析で、Hx領域内にMSMとの組み合わせでは得られなかった部位での組み換え体を4個体得ることができた。この結果は、遺伝的組み換え部位が系統の組み合わせに依存することを示すものである。得られた組み換え体の解析から、Hxの変異領域は、約150Kbの2本のBACクローンでカバーできる約100-200Kbの領域内に含まれることがわかった。現在Hx領域の縮小と領域内に含まれる遺伝子の単離を試みている。

(6)四肢・腎臓に異常を示すマウス突然変異体 luxate(lx)の解析：矢田有加里，榎屋啓志，三田旻彦，城石俊彦

luxate(lx)は、自然発生した優性突然変異で、第5染色体上にマップされている。ヘテロ個体は後肢にのみ軸前側多指症を示し、ホモ個体では後肢脛骨、第一指の欠失も見られる。また、第26腰椎の仙椎化、水腎症や馬蹄腎などの腎臓形成異常を高頻度に表示。腎臓は、中間中胚葉から発生し、四肢は中間中胚葉からの誘導を受けて発生すると考えられていることから、lx遺伝子は、後肢レベルの中間中胚葉形成の段階で機能していると考えられる。

lxホモ個体の成体の腎臓を調べた結果、NZB系統の遺伝的背景で約10%、C57BL/6系統の遺伝的背景では約55%の個体が異常を示していた。このように、腎臓形成異常は遺伝的背景に影響を受けることが分かったが、後肢の表現型には遺伝的背景による差はほとんど見られなかった。今後C57BL/6系統の遺伝的背景で、腎臓形成異常を発生段階を追って解析していく予定である。また、連鎖解析によるマッピングを行う際、日本産野生マウス由来の近交系マウスであるMSM系統は、標準的な近交系マウスとの遺伝的多型性が大きいいため非常に有用な系統であるが、lxの表現型はMSM系統と交配することにより完全に消失するため、MSM系統を用いた戻し交雑によるマッピングはこれまで不可能であった。しかし、標準的な近交系マウスであるC57BL/6Jの遺伝的背景で、第5染色体のみがMSM系統由来の染色体に置換されたコンソミック系統を用いることにより、表現型が消失することなく、かつlx領域において豊富な遺伝的多型マーカーを利用することが出来た。現在は、このような戻し交雑により、lx遺伝子の詳細なマッピングを行っている。

(7)軸前側多指症を起こすmesenchymal dysplasia(mes)の解析：牧野 茂，榎屋啓志，津金瑞代¹，城石俊彦¹札幌医大)

現在、軸前側多指症を示すマウスが複数知られているが、それらは肢芽前端部での異所的なSonic hedgehog (Shh) 遺伝子の発現に帰因する肢芽前後軸形成異常であることが解っている。(mesenchymal dysplasia)mesは、CBA系統に生じB6C3Hで維持されてきた劣性変異で、軸前側多指症に加え、顔や頭部の形態異常、尾の縮れ等の異常を示す。また、皮膚や筋肉の過形成も観察されている。mesの表現型について詳細に調べたところ、中手骨、中足骨から重複指が伸びているが、それらは関節が二つの第1指様の重複指であり、Rim4で見られるような鏡像対称な重複指ではなかった。また、指

や腕が全体として太くなっていた事より, mes の軸前側多指症は肢芽形成期において細胞の過増殖が起こった事による肢芽領域の増大が原因なのではないかと考えられた. さらに, 胸骨や剣状突起の形の異常も見られたが, 胸骨や筋肉, 四肢は中胚葉由来の組織であることから, mes は中胚葉の増殖に関わる遺伝子の突然変異なのではないかと考えられた.

また, 現在 MSM 系統を用いた mes のマッピングも行っており, N2 個体 247 匹について調べた. その結果, mes の領域には Gas1 などの細胞の増殖調節因子や, Ptch のような中胚葉の形成に関わる遺伝子も含まれていた. さらに, mes の原因遺伝子を明らかにするための解析を進めていく予定である.

(8) 表皮の異常を示すマウス突然変異 Rim3 の原因遺伝子のポジショナルクローニング: 佐伯宣久¹, 佐藤 肇², 嵯峨井知子, 榎屋啓志, 城石俊彦 (¹ 琉球大医学部, ² 東北大医学部)

Rim3 は, 角膜の混濁や皮膚の hyperkeratosis, 脱毛など主として表皮(epidermis) の異常を示すマウス突然変異で, その表現型は既に報告されているマウス突然変異 rex denuded に類似しており, その原因遺伝子は 11 番染色体にマップされる. その領域の近傍には, retinoic acid receptor- (Rara) や Grb7, ERBB-2 など細胞の増殖と分化に関与する遺伝子が存在する. また, この染色体領域に相同(Syntenic)なヒトの 17 番染色体上の領域には, 種々のがんにおいて Genome amplification などの変化が生じていることが報告されており, Rara や Grb7, ERBB-2 をはじめとする細胞増殖制御関連遺伝子の存在が示唆されている. Rim3 の原因遺伝子が存在するゲノム上の領域は, 約 300Kb の範囲にあり, その領域をカバーする BAC(Bacterial Artificial Chromosome) を検索したところ, 3 つの BAC でカバーされることが明らかになった. その過程においてその領域の近傍に存在する既知の遺伝子や DNA マーカーの位置が明らかになり, その領域近傍の詳細な physical map を作成することができた. Rim3 の原因遺伝子が存在する領域をカバーするそれら 3 つの BAC を用いて cDNA selection による原因遺伝子のクローニングを試みているが, 現在皮膚と角膜で発現がみられる新規の遺伝子が得られている. その塩基配列から想定されるタンパクは既知のタンパクとは相同性がなく, その機能を推測することは困難である. この新規遺伝子が Rim3 の原因遺伝子であるかどうかはさらなる研究が必要であるが, 少なくとも epidermis の細胞増殖と分化に関与する遺伝子であると考えられる.

(9) NOD マウスにおける糖尿病感受性遺伝子に関する研究 V: 若菜茂晴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 総研大)

I 型糖尿病(インシュリン依存糖尿病(IDDM))は, 遺伝的要因と環境要因が複雑に絡んだ多因子疾患であり, その原因遺伝子についての解明がゲノムプロジェクトの進展とともに進行している. ヒト多因子疾患では個々の疾患感受性遺伝子と発症との対応は困難であり, 単一遺伝子疾患で用いられてきた連鎖解析法で遺伝子を同定することは不可能である. この点モデル動物では個々の疾患感受性遺伝子についてコンジェニックマウス

系統を作製して詳細に解析して行くことができ、遺伝子同定も可能である。我々は、これまで I 型糖尿病モデルマウス NOD/Shi において糖尿病感受性遺伝子 Idd4 について解析するため、日本産野生マウス MSM 由来の Idd4 染色体領域を導入したコンジェニックマウス NOD/Shi . -Idd4^{MSM/MSM} を作製し、Idd4 は発症時期をコントロールする遺伝子であり MSM 系統由来のアレルは NOD に比して早期に糖尿病発症させる recessive なアレルであることを明らかにした。そこで Idd4 を詳細にマッピングするため、Idd4 領域(Acrb-Mpo 間)にリコンビナント個体を得て MSM 由来の異なる染色体領域が導入された 6 系統のマウス系統を作製してコンジェニックマッピングを行い、約 0.8cM 以内にマップした。さらにこの領域にあるマイクロサテライトマーカーから YAC および BAC の単離を行い Idd4 を含む約 800kb の Contig を作成することができた。今後、Idd4 のポジショナルクローニングに向けて詳細な物理地図を作成する予定である。

(10) 野生由来マウス系統を用いた行動解析(II) 自発運動性、情動的記憶：小出 剛，森脇和郎¹，城石俊彦¹ (総研大)

動物の行動を支配する遺伝子の解析は、行動に関する突然変異体の解析や標的遺伝子導入などの手法を用いて急速に進んできている。その一方で、生体が示す多様な行動パターンの遺伝子支配に関する知見は乏しい。このような状況の中で、人為的選択がほとんどなされておらず、しかも遺伝的にはそれぞれ完全な近交系統となった野生由来マウス系統を用いて行動の解析を行う意義は大きいと考えられる。そこで世界各地の野生マウスに由来する 9 系統(BFM/2, NJL, BLG2, HMI, CAST/Ei, KJR, SWN, MSM, JF1) と一般的な近交系統 2 系統(C57BL/6J, DBA/1) を用いて行動解析を行っている。行動の解析方法としてはこれまで自発運動性テスト、明暗箱テスト、受動的回避反応テストを行った。

自発運動性はニューロサイエンス社の自発運動解析装置を用いて解析し、系統間で比較した。NJL や KJR は夜間の運動が高活動性であるのに対し、BFM/2, HMI, BLG2 などは同じく野生由来の系統であり運動能力に顕著な障害は認められないにも関わらず低活動性を示した。このように夜間の自発運動性は系統間で大きな違いが認められた。明暗箱テストでは KJR 系統は、暗箱での滞在時間が他の系統よりも長く明箱と暗箱の間を往来して行う探索行動は極端に低かった。更に明暗箱の明箱に入れられてから暗箱に最初に入るまでに最も長い時間を要した。これらの結果は、KJR 系統で恐怖心が他の系統よりも亢進していることを示している。また、情動的記憶能力をシャトル型受動的回避反応実験装置を用いて解析し比較したところ、BFM/2, KJR, SWN, MSM, C57BL/6 系統は高い情動的記憶能力を示すのに対し、CAST/Ei や BLG2 系統などではこのテストでの情動記憶がうまく形成されないことが分かった。この結果は直ぐに、CAST/Ei や BLG2 系統で記憶能力に障害があることを示していると結びつけるものではない。特に、行動解析装置によって各系統のマウスが得意とする装置と苦手とする装置が存在することはこれまでも多数報告されている。しかし、このデータの系統間での違いは、情動的記憶が

形成されるステップのある段階での能力差を示していると考えられる。今後は更に他の装置を用いた情動的記憶能力の解析を加えて解析を進めることで、これらの系統差が生れる機構を行動学的に分析していくことが可能となると思われる。

このように、野生由来のマウス近交系統を用いることで、これまでの実験用マウス系統を用いて調べられてきたよりも更に高い多様性が明らかとなってきた。このことは、これら野生由来マウス系統を目的に応じて使い分けることで、脳高次機能の分子遺伝学的解析、行動薬理学的解析、動物心理学的解析等に幅広く利用できることを示唆している。今後の目標として、これらの行動解析で見いだされてきた特徴ある行動に関してその背景にある遺伝子を行動遺伝学的解析で探索していく。

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

さまざまな個体レベルでの生物機能を遺伝学的に解析するための実験システムとして、我々は、新しいタイプの実験用マウス系統であるコンソミック系統の開発を進めている。二つの系統が一つの染色体全域について異なった由来を持ち他の遺伝的背景が共通である場合、これらの二つの系統を互いにコンソミック(Consonomic)な状態にあると呼び、これらの系統はコンソミック系統と定義される。コンソミック系統の作製は、RI 系統の場合と異なり、染色体供与系統の特定の染色体に注目して計画的に染色体受容系統に戻し交配を繰り返して導入する。マウスは、合計 21 種類の異なった染色体(19 本の常染色体 + X 及び Y 染色体)を持っているから、コンソミック系統 1 セットは、合計 21 のマウス系統で構成される。この 21 種類の系統によって供与系統の染色体は完全にカバーされる。コンソミック系統を作成する際には供与系統と受容系統間の遺伝的多型性が可能な限り大きいことが望ましい。そうすることでコンソミック系統を用いて解析対象となる遺伝形質の範囲が拡大される。また、コンソミック系統を基にした連鎖解析においてより詳細な遺伝子地図の作成も可能となる。以上の点を考慮して受容系統としては標準的な近交系マウスである C57BL/6 あるいは A/J 系統を、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 系統を使っている。すなわち作製中のコンソミック系統は、亜種間コンソミック系統と呼ぶべきものである。実際にマイクロサテライト DNA マーカーについて調べたところ、標準的な実験用近交系マウスと日本産亜種由来近交系統の間には、任意のマイクロサテライトマーカーで調べた結果、約 80% の頻度で多型が検出された。これは標準的な近交系統間にみられる値の約 2 倍である。このように MSM 系統と実験用近交系マウスの間には大きな遺伝的多型性が存在することがすでに明らかとなっている。

現在、戻し交配が最も進んだ第 11 染色体では、すでに N12 世代まで到達し、11 番染色体がヘテロとなった雌雄マウスを交配してホモ個体の作製を行っている。また、合計 15 種類の染色体では最低でも戻し交配が N4 世代へと進んでいる。今後、全染色体につ

いて戻し交配を重ねて完全なコンソミックセットを完成してゆく計画である。

(12) 化学変異原クロラムブシルを用いたマウスミュータジェネシス：城石俊彦，福田達也¹，内田紀久枝，三田旻彦¹ 中外製創薬開発研

DNA 鎖クロスリンカーでもあるアルキル化剤のクロラムブシル(CHL)は，減数分裂後の精細胞に対して遺伝子欠失型の突然変異を高頻度に誘発する。我々の研究室では，CHLを用いたマウスのミュータジェネシス・プロジェクトを開始している。このプロジェクトでは，表現型優先(Phenotype-driven)のスクリーニング以外に，特定の遺伝子を欠失した突然変異をスクリーニングする遺伝子優先(Gene-driven)のミュータジェネシスを同時に進めている。CHLによる突然変異の頻度は，1 遺伝子座 1 配偶子当たり 13×10^{-4} であるから，変異原処理されたマウスを独立に 1,000 個体以上調べれば，理論上，特定の遺伝子が欠失した 1 つの突然変異マウスが検出される確率はかなり高くなる。このプロジェクトでは，進化上大きく離れた日本産野生マウス由来の MSM 系統の雄に CHL を投与し，標準的な実験用マウスの C3H 系統の雌と交配して少なくとも 1,000 個体以上の F1 マウス雄を作製する。それらの精子を個体毎に全て凍結し凍結精子バンクを構築する。これと平行して，これらの F1 マウス個体からゲノム DNA を調製する。MSM と C3H 系統の間では遺伝子の 3' 末端の非翻訳領域の塩基配列に DNA 長の多型が高率にみられるから，適当な PCR プライマーを設定すればゲノム DNA をテンプレートにして多くの遺伝子で父母由来のアリルを簡単に区別することができる。この方法で MSM 系統由来のアリルに対して遺伝子欠失を示すマウス個体が検出されたら凍結精子を用いた試験管内受精によって突然変異マウス個体を作製する。この方法は，遺伝子優先のミュータジェネシスであるが，同時に F1 マウスについて表現型のスクリーニングを行えば通常の化学変異原を用いた場合と同様に表現型優先のミュータジェネシスとなる。このプロジェクトを進めるため予備実験を行い以下の成果を得た。

(1) CHL による染色体欠失突然変異誘導の至適条件の検討：日本産野生マウス由来の MSM 系統について，欠失変異を誘導する CHL の至適投与条件を検討した。このため，2mg から 8mg/kg 体重の異なった量の CHL を MSM 系統の雄に腹腔内投与し，投与後 1 週から 4 週目の 1 週間のインターバルに C3H 雌 2 頭と交配し，その期間に得られた G1 世代の個体数を算定した。この方法で最も出産数の低下する条件を探索した。さらに，得られた G1 世代個体から染色体欠失を検出するためのゲノム DNA を調製した。

(2) 突然変異マウス精子の凍結保存の基礎条件と凍結精子を用いた体外受精法の確立：突然変異誘発に用いるマウス系統について，受精卵凍結に加えて精子凍結についての基礎条件と凍結精子を用いた体外受精について検討した。基本的には，中潟ら(1996 年)の方法を用いた。即ち，突然変異の Founder マウス個体の成熟雄(12 週令以上)の精巢上体尾部から，精巢上体管を細切後，ラフィノース，スキムミルクを含む凍結保存液の中に精子を懸濁し，ストロー中に充填後，冷却フロントに入れ液体窒素中にて凍結した。凍結精子を用いた体外受精は，凍結精子を液体窒素から取り出し，37 度 C の温水で融解

し、精子浮遊液を媒精用培地に移し1.5時間の前培養後に、過排卵卵子を加えて媒精を行った。体外受精の効率は、受精卵を培養した後、2細胞期まで達した胚数、Blastocyst 期まで達した胚数、及び2細胞期胚を輸卵管に移植して出産した産仔数を各々の実験で用いた胚の母数に対する比率として求め検討した。

(3)RLGS(Restriction Landmark Genome Scan)法による染色体欠失検出系の確立：CHLで処理されたMSM系統雄から作製した(C3H × MSM)G1世代個体を用いて、RLGS法による染色体欠失の検出系を確立した。C3H/HeJ系統とMSM系統は、異なった亜種に属するため極めて大きな遺伝的多型が存在し、RLGSにおいてほぼ50%のスポットが両系統で多型的となっている。さらに、がん研究所病理研究部の神田浩明、理研つくばライフサイエンス研究センターゲノム科学研究室の林崎良英両博士らによって(C3H × MSM)の交配を基礎とした多型スポットの遺伝子マッピングが進められている(現在すでに850スポットがマップされている)。従って、上記交配によって得られたF1個体のゲノムDNAを使用してMSM側の欠失スポットを迅速に検出し同時に欠失部位の染色体マッピングを行うことが可能である。具体的には、染色体欠失が誘導されているMSMを用いた交配で(C3H × MSM)G1世代個体のゲノムDNAをRLGS法によって二次元に展開して、MSM由来の染色体の多型スポットの欠失を検出する実験系を開発した。

以上の成果を基にして、現在染色体欠失変異マウスバンクの構築を進めている。

研究業績

(1)原著論文

1. Hasimoto, Y., Shindo-Okada, N., Tani, M., Nagamachi, Y., Takeuchi, K., Shiroishi, T., Toma, H. and Yokota, J. Expression of the Elm1 gene, a novel gene of CCN family, suppresses In vivo tumor growth and metastasis of K-1735 murine melanoma cells. *J. Exp. Med.* 187: 289-296, 1998.
2. Nagase, H., Wang, C-R., Yoshimoto, T., Sugishita, C., Shiroishi, T., Matsuzawa, A. and Nariuchi, H.: Novel mutant mice secreting soluble CD4 without expression of membrane-bound CD4. *Eur. J. Immunol.* 28: 403-412, 1998.
3. Obata, Y., Kaneko-Ishino, T., Koide, T., Takai, Y., Ueda, T., Shiroishi, T., Ishino, F. and Kono, T.: Disruption of primary imprinting during oocyte growth leads to the modified expression of imprinted genes during embryogenesis. *Development*, 125: 1553-1569, 1998.
4. Miwa, T., Nonaka, M., Okada, N., Wakana, S., Shiroishi, T. and Okada, H. : Molecular cloning of rat and mouse membrane cofactor protein (MCP, CD46): preferential expression in testis and close linkage between the mouse Mcp and Cr2 genes on distal chromosome 1. *Immunogenet.*, 48: 363-371, 1998.
5. Ishijima, J., Yasui, H., Morishima, M. and Shiroishi, T. : Dominant lethality of the mouse skeletal mutation Tail-short (Ts) is determined by the Ts allele from

mating partner. *Genomics*, 49: 341-350, 1998.

6. Katoh-Fukui, Y., Tsuchiya, R., Shiroishi, T., Hashimoto, N., Noguchi, K. and Higashinakagawa, T. : Male sex-reversal in M33 mutant mice. *Nature*, 393: 688-692, 1998.
7. Kitano, T., Sumiyama, K., Shiroishi, T. and Saitou, N.: Conserved evolution of the Rh50 gene compared to its homologous Rh blood group gene. *BBRC*, 249: 78-85, 1998.
8. Takahashi, M., Tamura, K., Buscher, D., Masuya, H., Yonei-Tamura, S., Matsumoto, K., Naitoh-Matsuo, M., Takeuchi, J., Ogura, K., Shiroishi, T., Ogura, T. and Belmonte, J. C. I. The role of *Alx-4* in the establishment of anteroposterior polarity during vertebrate limb development. *Development* 125: 4417-4425, 1998.
9. Varin-Blank, N., Dondi, E., Tosi, M., Hernandez, C., Boucontet, L., Gotoh, H., Shiroishi, T., Moriwaki, K. and Meo, T. : Male-specific transcription initiation of the *C4-Slp* gene in mouse liver follows activation of *STAT5*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. in press.

(2) その他

1. 城石俊彦：マウス系統保存とデータベース，ライフサイエンスのための系統保存とデータベース，蛋白質，核酸，酵素 Vol.43，888-892，1998.
2. 城石俊彦：哺乳動物遺伝研究室，研究室研究所めぐり(1)，Vol.25，63-65，1998.
3. 佐藤 肇，城石俊彦：ゲノム情報，実験動物のゲノム解析の現状，アニテックス，Vol.10，90-94，1998.
4. 嵯峨井知子，城石俊彦：Storage Pool 病，自然発症弛緩モデル動物，*Molecular Medicine*，Vol.35，791-795，中山書店，1998.
5. 城石俊彦：クロラムピシルによるマウス突然変異誘発法，飽和突然変異体作製，医学のあゆみ，Vol.185，385-389，1998.
6. 城石俊彦：マウス突然変異を利用した形態形成機構の遺伝学的解析，関西実験動物研究会報，Vol.19，73-76，1998.

(3) 発表講演

1. 若菜茂晴，河野厚子，城石俊彦，森脇和郎，野村達次：糖尿病感受性遺伝子 *Idd4* のコンジェニックマッピングと物理地図の作成の解析．第41回日本糖尿病学会年次学術総会，5月，和歌山．
2. 若菜茂晴，河野厚子，城石俊彦，森脇和郎，野村達次：糖尿病感受性遺伝子 *Idd4* のコンジェニックマッピングと物理地図の作成．第45回日本実験動物学会総会，5月，松本．

3. 城石俊彦：動物を分与する立場からみた SPF 問題．第 45 回日本実験動物学会総会，5 月，松本．
4. 榊屋啓志，嵯峨井知子，小椋利彦，城石俊彦：マウス四肢前後軸形成異常遺伝子 Rim4 のゲノム領域の解析と modifier マッピング，日本発生生物学会第 31 回大会，熊本，5 月．
5. 石島淳子，内田紀久枝，三田旻彦，城石俊彦：マウス突然変異体 Tail-Short (Ts) 遺伝子の多型性が Ts ヘテロ変異体の表現型に与える効果，第 31 回日本発生生物学会，熊本産業文化会館，5 月．
6. 城石俊彦，福田達也，内田紀久枝，三田旻彦：化学変異原クロラムブシルを用いたマウスミュタジェネシス．第 31 回日本発生生物学会，熊本産業文化会館，5 月．
7. Masuya, H., Sagai, T., Takahashi, G., Ogura, T. and Shiroishi, T.: Modifier gene which interact with mouse preaxial polydactyly mutant, Rim4 6th International Limb Development and Regeneration Conference, Sun Valley, May.
8. Shiroishi, T., Sagai, T., Masuya, H.: Forward genetics of mouse preaxial polydactyly mutations and positional cloning of hemimelia extra-toes (Hx). 6th International Limb Development and Regeneration Conference, Sun Valley, May.
9. 小出 剛，森脇和郎，城石俊彦：野生由来近交系マウスを用いた行動の多様性の解析，第 70 回日本遺伝学会，札幌，9 月．
10. 城石俊彦，榊屋啓志，石島淳子：マウス形態形成異常突然変異に対する遺伝的背景効果，第 70 回日本遺伝学会，札幌，9 月．
11. 磯部 拓，吉野正康，Fisher Lindahl, K.，水野健一，森脇和郎，城石俊彦：MHC クラス II 領域における組換えのホットスポットの構造解析，第 70 回日本遺伝学会，札幌，9 月．
12. Shimizu K., Koide T., Mita, A., Uchida K., Wakana S., Kikkawa Y., Yonekawa H., Sasaki H. and Shiroishi T.: Positional cloning of the Mouse Skeletal Mutation, Tail short (Ts). 12th International Mouse Genome Conference, Garmisch-Partenkirchen, Germany, September.
13. Ishijima J., Yasui H., Morishima M., Shiroishi T.: Polymorphism at *Tail-short* (Ts) locus among standard inbred strains affects the viability of Ts heterozygotes. 12th International Mouse Genome Conference, Garmisch-Partenkirchen, Germany, September.
14. Sagai T., Matsuda Y., and Shiroishi T.: Genetic analysis and physical mapping of polyductylous mouse mutation, hemimelic extra toes (Hx). 12th International Mouse Genome Conference, Garmisch-Partenkirchen, Bavaria, Germany, October.

15. Wakana, S., Shiroishi, T., Moriwaki, K., Maruyama, C., Watanabe, T. and Nomura, T.: Genetic and physical mapping of *Idd4* that controls onset of IDDM in mice. The 12th International Mouse Genome Conference, Garmisch-Partenkirchen, October.
16. Shiroishi, T.: Chlorambucil mouse mutagenesis. HUGO/EUROPE Mouse ENU-Mutagenesis Workshop, Schloss Hohenkammer, Germany, October.
17. 若菜茂晴, 河野厚子, 城石俊彦, 森脇和郎, 野村達次: 糖尿病感受性遺伝子 *Idd4* のコンジェニックマッピングと物理地図の作成の解析. 第21回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月.
18. 城石俊彦: 体系的マウスミュタジェネシス計画について. 第21回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月.
19. 小出 剛, 森脇和郎, 宮川 剛, 二木宏明, 城石俊彦: 野生由来マウス系統を用いた行動解析と脳研究への利用, 第21回日本分子生物学会, 横浜, 12月.
20. 榎屋啓志, 嵯峨井知子, 高橋源尚, 小椋利彦, 城石俊彦: マウス四肢前後軸形成遺伝子 *Rim4* の modifier 遺伝子, 日本分子生物学会第21回大会, 横浜, 12月.
21. 磯部 拓, 松田洋一, 吉野正康, 城石俊彦: MHCクラスII領域における組換えホットスポットの細胞遺伝学的解析 第13回ワークショップ「遺伝的組換えとその制御」, 横浜, 12月.

F-b. 発生工学研究室

当研究室は哺乳類の胚発生機構を細胞・組織から遺伝子に至る様々なレベルから研究することを目指しているが、特に生殖細胞と脳神経系の発生機構に注目している。研究室の構成としては中辻憲夫教授、斎藤哲一郎助手、白吉安昭助手(鳥取大学医学部助教授へ転出)、多田 高助手(12月に着任)と中村紀美代技官、総合研究大学院大学遺伝学専攻の大学院生4名と他大学院に所属する特別共同利用研究員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。研究の遂行に当たっては、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」、白吉安昭を代表者として基盤研究(C)「幹細胞の自己複製過程と分化決定機構の制御システムに関する研究」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) マウス生殖細胞の発生分化機構：田村 勝，中馬新一郎，菅野靖彦，桜井敬之，多田高，白吉安昭，斎藤哲一郎，中辻憲夫

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、最近これまでは困難であった生殖巣到着後の生殖原細胞時期の培養方法を改良して雌性生殖細胞が減数分裂を開始する過程を培養下で進行させることに成功し、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別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の解析を行っている。

(2) 神経細胞の発生・分化を制御する転写因子：斎藤哲一郎，浜 太郎，坂本修一，佐波理恵，中辻憲夫。

神経系の多種多様な神経細胞の発生にはヘリックス・ループ・ヘリックス(HLH)型転写因子が重要な役割を果たしているが、HLH型転写因子の上流や下流の因子については不明な点が多い。我々は、哺乳類のHLH型転写因子、Mash1やneurogenin遺伝子の上流因子の候補としてMBH1ホメオドメイン転写因子、下流遺伝子の候補としてPHD1を同定してきた。神経細胞の多様性を生み出す機構を分子レベルで解析するため、これらの転写因子の機能解析を行っている。また、カスケードにおける転写因子間の関係を明らかにするため、各転写因子の下流遺伝子の同定と転写制御領域の解析を進めている。

(3) マウス胚細胞分化に関わる遺伝子機構：白吉安昭，河村 昭，中辻憲夫。

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

研究業績

(1) 原著論文

1. Mochizuki T., Saijoh Y., Tsuchiya K., Shirayoshi Y., Takai S., Taya C., Yonekawa H., Yamada K., Nihei H., Nakatsuji N., Overbeek P. A., Hamada H. and Yokoyama T.: Cloning of *inv*, a gene that controls left/right asymmetry and kidney development. *Nature*, **395**, 177-181 (1998).
2. Saito T., Sawamoto K., Okano H., Anderson D. J. and Mikoshiba K.: Mammalian BarH homologue is a potential regulator of neural bHLH genes. *Dev. Biol.*, **199**, 216-225 (1998).
3. Lin J. H., Saito T., Anderson D. J., Lance-Jones C., Jessell T. M. and Arber S.: Functionally related motor neuron pool and muscle sensory afferent subtypes defined by coordinate ETS gene expression. *Cell*, **95**, 393-407 (1998).
4. 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, pp50-56 (1999).
5. Sugihara K., Nakatsuji N., Nakamura K., Nakao K., Hashimoto R., Otani H., Sakagami H., Kondo H., Nozawa S., Aiba A. and Katsuki M.: Rac1 is required for the formation of three germ layers during gastrulation. *Oncogene*, **18**, in press (1999).

(2) その他

1. 中辻憲夫：マウス胎仔生殖細胞の増殖分化．蛋白質核酸酵素 臨時増刊号「生殖細胞の発生と性分化」(編者：岡田益吉，長浜嘉孝，中辻憲夫)，421-429(1998)．

(3) 発表講演

1. Nakatsuji T., Chuma S., Tamura M., Nakamura K., Yanai N., Toyama Y., Yuasa S., Obinata M. and Nakatsuji N.: Hematopoietic stem cell lines established from the aorta-gonad-mesonephros (AGM) region of transgenic mouse embryos harboring a conditional immortalizing gene. Fifth CGGH Symposium on Generation and Lineage Commitment of Stem Cells, Tsukuba, 4月.
2. Chuma S. and Nakatsuji N.: Meiotic entry of murine fetal germ cells studied in vitro. Third Congress of the Asian-Pacific Organization for Cell Biology, Osaka, 8月.
3. Nakatsuji T., Chuma S., Tamura M., Nakamura K., Yanai N., Toyama Y., Yuasa S., Obinata M. and Nakatsuji N.: Hematopoietic stem cell lines established from the aorta-gonad-mesonephros (AGM) region of transgenic mouse embryos

- harboring a conditional immortalizing gene. Third Congress of the Asian-Pacific Organization for Cell Biology, Osaka, 8月.
4. Shirayoshi Y., Suzuki T. and Nakatsuji N.: Expression and function of Notch-4/int-3 in vasculogenesis and angiogenesis. Cold Spring Harbor Meeting on Mouse Molecular Genetics, Cold Spring Harbor, New York, USA, 9月.
 5. Chuma S. and Nakatsuji N.: In vitro analysis of meiotic entry of murine primordial germ cells. Cold Spring Harbor Laboratory Meeting on Gametogenesis, Cold Spring Harbor, New York, USA, 10月.
 6. Tamura M. and Nakatsuji N.: Nephgonadin: A novel b-HLH transcription factor related to sex differentiation of mouse gonads. Cold Spring Harbor Laboratory Meeting on Gametogenesis, Cold Spring Harbor, New York, USA, 10月.
 7. Saito T., Anderson D. J., Mikoshiba K. and Nakatsuji N.: Novel homeobox genes involved in neuronal differentiation. 28th Annual Meeting, Society for Neuroscience, Los Angeles, California, USA, 11月.
 8. 中馬新一郎, 中辻憲夫: マウス胎仔生殖細胞の分化制御機構の培養系での解析. 日本発生生物学会第31回大会, 熊本, 5月.
 9. 荒川伴子, 斎藤大樹, 鈴木 徹, 中辻憲夫, 中辻孝子: シロウオ(*Leucopsarion petersii*)胚軸形成におけるレチノイン酸の影響. 日本発生生物学会第31回大会, 熊本, 5月.
 10. 白吉安昭, 鈴木貴士, 中辻憲夫: ES細胞を用いた血管内皮細胞への分化誘導過程におけるNotch-4の機能. 日本発生生物学会第31回大会, 熊本, 5月.
 11. 中辻孝子, 中馬新一郎, 田村 勝, 中村紀美代, 外山芳郎, 湯浅茂樹, 中辻憲夫: マウス10日胚AGM領域から樹立した造血系細胞株. 日本発生生物学会第31回大会, 熊本, 5月.
 12. 田村 勝, 管野靖彦, 中馬新一郎, 斎藤哲一郎, 白吉安昭, 中辻憲夫: マウス生殖巣形成過程において性依存的な発現を示す新規b-HLH型転写因子, nephgonadinの解析. 日本発生生物学会第31回大会, 熊本, 5月.
 13. 荒川伴子, 鈴木 徹, 紙本幹子, 中辻憲夫, 中辻孝子: シロウオ(*Leucopsarion petersii*)胚軸形成におけるレチノイン酸の影響. 日本動物学会第69回大会, 広島, 9月.
 14. 荒川伴子, 斎藤大樹, 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による胚軸形成異常. 日本動物学会第69回大会, 広島, 9月.
 15. 斎藤大樹, 木下政人, 松村直行, 北野 忠, 秋山信彦, 中辻憲夫, 中辻孝子: シロウオ (*Leucopsarion petersii*)受精卵へのクラゲGFP遺伝子導入. 日本動物学

会第 69 回大会，広島，9 月．

16. 中辻憲夫：マウス生殖細胞の発生と性分化機構の解析．特定領域研究公開シンポジウム「分子細胞生物学の新しい流れ」，東京，11 月．
17. 杉原一広，中辻憲夫，中村健司，中尾和貴，橋本龍樹，大谷 浩，坂上洋行，近藤尚武，野澤志朗，響場 篤，勝木元也：Rac1 欠損による原始線条体形成不全．日本分子生物学会第 21 回年会，横浜，12 月．
18. 斎藤哲一郎，坂本修一，浜 太郎，中辻憲夫：神経細胞の特異性を規定する転写因子．日本分子生物学会第 21 回年会，横浜，12 月．
19. 田村 勝，菅野靖彦，中馬新一郎，斎藤哲一郎，白吉安昭，中辻憲夫：マウス生殖巣形成過程において性依存的な発現を示す bHLH 型転写因子 nephgonadin の解析．日本分子生物学会第 21 回年会，横浜，12 月．
20. 菅野靖彦，田村 勝，中馬新一郎，桜井敬之，町田武生，中辻憲夫：マウス生殖細胞において性分化開始初期から性依存的発現を示す新規遺伝子 *crep* の解析．日本分子生物学会第 21 回年会，横浜，12 月．
21. Saito T., Kinoshita M., Matsumura N., Kitano T., Akiyama N., Nakatsuji N. and Nakatsuji T.: Production of the transgenic ice goby (Shiro-uo), *Leucopsarion petersii*, by microinjection of the GFP-expression vector into fertilized eggs. 日本分子生物学会第 21 回年会，横浜，12 月．
22. 川村 昭，鈴木貴士，中辻憲夫，白吉安昭：肥満の原因遺伝子 *tubby* と相同性を示す新規な遺伝子 *TULP3* のクローニング．日本分子生物学会第 21 回年会，横浜，12 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 2 年半にわたり主に「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．また今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を開始することとなり「イネエンハンサートラップ系統の開発」と，さらに「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も開始した．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，およびイネ遺伝資源データベースへのデータ集積も行うこととなった．従来より行って来た野生イネ系統の増殖，形質調査，保存，分譲も事業の一部として位置づけた．

スタッフとしては，助教授・倉田のり，助手・伊藤幸博，実験圃場より助手・野々村賢一，および永口 貢技官が，さらに 8 月より非常勤博士研究員として三好一丸の 5 名が

参加し、研究員として遺伝学普及会より春島嘉章も加わり研究の推進を計っている。実験圃場技官・宮林登志江は野生イネの増殖、分譲を専任で行っている。この他98年度は、東海大学工学部および帝京科学大学バイオサイエンス学部よりそれぞれ高谷和彦、中條篤史の2名の卒論学生が卒業研究を行い、加えて技官・妹尾治子および研究補助員・坂井里美、牧野智美、鈴木和子、石井明美が研究および事業支援を行った。

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「イネ初期胚発生で発現するホメオボックス遺伝子HOS13の機能解析(伊藤)」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「遺伝子の分離ゆが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5件の遺伝研共同研究を受け入れ実施した。「改変型GP と部位特異的組換え系を利用したイネ発生過程の解析」(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)「イネ交雑親和性の遺伝モデル構築」(北海道大学、佐野芳雄)「イネの発生を制御する遺伝子の単離とその解析」(東京大学、平野博之)「イネ属植物の種分化に関する研究」(北海道大学、金沢 章)「野生イネ自生地保存法確立のための基礎的研究」(北海道大学、島本義也)。また遺伝研共同研究会「イネの比較遺伝学」(北海道大学、佐野芳雄)と、第1回イネ遺伝資源小委員会(代表者、倉田)を開催した。

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行っている。(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(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(原著論文7および投稿中)。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行った。今年度はそれらの遺伝子を導入した形質転換植物を用い、過剰発現の影響と発現制御の解析を進めた。OSH1/HOS24をイネで過剰発現させたところ正常な再分化が阻害され、カルスのまま増殖を続けた。OSH1/HOS24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、この遺伝子は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(発表

講演 5). この時に他のホメオボックス遺伝子の発現を調べたところ, HOS3 と HOS16 の発現が見られた. HOS3, HOS16 は通常のカルスでは発現が見られないので, OSH1/HOS24 はこれらの遺伝子の発現を誘導できることが分かった. OSH1/HOS24 のアンチセンスを導入したところ, 葉の形態に異常が見られた. その葉で OSH1/HOS24 の発現を調べたところ, センスの mRNA が検出された. 野生型の葉では OSH1/HOS24 の発現は見られないので, アンチセンスを導入することによりセンスの mRNA が転写されるようになると考えられた. そこで OSH1/HOS24 の発現制御機構を調べるため, そのプロモーターの下流にレポーター遺伝子として GUS (HOS24-GUS) あるいは GFP (HOS24-GFP) を連結し, イネおよびタバコに導入した. HOS24-GUS をタバコに導入した場合, シュートメリステムに加え, 葉柄, 葉の主脈からも GUS 活性が見られた. これらの結果から OSH1/HOS24 の発現制御に関し次のような仮説が可能となる. OSH1/HOS24 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. つまり HOS24-GUS には葉での抑制配列がないためメリステムおよび葉の両方で発現が見られ, またアンチセンスの導入により, 抑制配列のコピー数が増えたため相対的に抑制因子が不足し, そのため葉で HOS24 センス mRNA が発現したと解釈できる. 今後この点の検証を行う. また HOS24-GFP をイネに導入した場合, GFP の発現と再分化が良く一致していた. OSH1/HOS24 は受精卵からの発生だけではなく, カルスからの再分化でも機能していると思われる.

(2)ホメオボックスと Zn フィンガーの両方を持つ HAZ1 の解析: 中條篤史, 伊藤幸博, 倉田のり

昨年度までに, HAZ1 のホメオボックスだけを含む部分 cDNA を単離し, イネ胚の外側で強く, 内部で弱く発現することを明らかにした. 今年度は HAZ1 の胚以外での発現を調べるとともに, ゲノムクローンと完全長の cDNA を単離した. RT-PCR を行った結果, 胚に加え, 実生, 葉身, 葉鞘, 根での発現が見られた. ゲノムクローンおよび cDNA の塩基配列を決めたところ, HAZ1 には特徴的な配列として, N 末端から順に核移行シグナルリピート, Zn フィンガードメイン, リン酸化部位, ホメオドメインがあることが推定された. 今後, 発現が見られた器官での *in situ* ハイブリダイゼーションによる発現解析および過剰発現などによりこの遺伝子の機能を調べていく予定である.

(3)イネ再分化プログラムと関連遺伝子の解析: 三好一丸, 永口 貢, 高谷和彦, 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行った. 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.

遺伝子のレベルでは, 昨年アラビドプシスにおいて胚発生過程でおこる諸々の現象を統合的に制御する可能性のある興味深い遺伝子, LEAFY COTYLEDON 1 (LEC1) が単離さ

れた。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 LEC1 遺伝子のみであり、胚発生の遺伝プログラムを解明する上で特に重要な遺伝子であると考えられる。そこで、イネにおける LEC1 相同遺伝子の単離と機能解析を通じ、イネ胚発生の遺伝プログラムの一端を明らかにすることを目的とし、本研究を開始した。まず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 PCR により得た。これをプローブに用いて受精後 3 日胚のイネ cDNA ライブラリーをスクリーニングすることにより、イネ LEC1 ホモログの候補となる複数の cDNA クローンを単離した。これらクローンの塩基配列の解析及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 ホモログが胚発生過程で発現していることを明らかにした。現在、それぞれの遺伝子について完全長 cDNA の単離を行っている。今後は、Northern hybridization, in situ hybridization による発現解析、および過剰発現個体の作成や遺伝子破壊株のスクリーニングと解析などによりこれら遺伝子の機能を調べていく。

同様にニンジン体細胞胚の 1 細胞期から発現する SERK (somatic embryogenesis protein kinase) 遺伝子のホモログ単離も進めた。やはり受精後 3 日胚 cDNA ライブラリーよりホモログの部分クローンを単離し、ゲノムクローンの解析も進行中である。初期胚細胞マーカーとして、あるいは発生経路のシグナル伝達の担い手として期待できる。

2. イネ細胞核の構築機構研究

(1) イネ人工染色体の構築：イネセントロメア配列の単離と構造解析：野々村賢一，倉田のり

植物はカルスから容易に細分化個体を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、染色体機能に必要な動原体領域に関する解析を行った(文献 5)。トウモロコシやイネなど穀類の動原体周辺に共通して局在する CCS1 は、約 200 から 500bp 程度の短い反復配列であり、ヒトの動原体特異的タンパク CENP-B の結合部位 CENP-B box と類似の配列 (CBLS) を含んでいることが知られている。本研究ではイネの CBLS を参考に互いに相補的な 2 種類のプライマーを合成し、PCR による新規の CCS1 配列 RCS1516 (264bp) を得た。RCS1516 はイネゲノム中に約 10^2 から 10^3 コピー存在すると推定された。次に RCS1516 をプローブとして選抜したファージクローン IRCB11 (14kb) の全塩基配列を決定したところ、基本単位が 1.9kb の直列反復配列 RCE1 が 3 コピー見出された。3 コピーの RCE1 は互いに 3' 側の約 300bp が特に高い相同性 (95%) を示し、CBLS もこの領域に存在した。蛍光 in situ ハイブリダイゼーションの結果から、RCE1 繰り返し配列はイネの動原体周辺に局在する事が示された。IRCB11 の第二の特徴として、核マトリックス結合領域 (MAR) に共通して見られる A/T リッチなモチーフ (Topo-

II box, A box, T box, BUR) のクラスターが4カ所で認められた。最後にイネ動原体に局在すると報告されている短い繰返し配列と相同な配列が2カ所でみられた。現在RCE1繰返し配列を含むYACおよびBACクローンの選抜・解析を行うとともに、動原体領域の候補クローンについてはイネ細胞への導入を検討中である。

(2) イネのミニ染色体保持系統の作成：野々村賢一，倉田のり

植物については、動原体を構成するすべての機能領域のDNA配列を直接に取り出し、その機能を解析することは、結合蛋白の側からも、DNA配列の側からも未だ困難である。そこで(1)を補完する意味からも、機能的な最小の染色体単位(ミニ染色体)を保持する系統を作成することを試みることにした。本研究では、野生種*Oryza punctata*由来で短腕が欠失した染色体が、栽培種*O. sativa*に1対添加された系統(DtAAL; $2n=26$)を材料とした。開花前日の穎花にガンマ線を照射し、自家受粉させることで、添加染色体の長腕側が新たに欠失したミニ染色体が安定に遺伝する系統を得る計画である。現在までに200個体のDtAALについてガンマ線照射を行い、得られたM1種子のうち3079個について冬季世代促進を行っている。ミニ染色体の単離・解析から、イネ属に共通する動原体領域の構造、栽培種と野生種の分化過程での動原体領域や繰返し配列の構造および機能の変化などを知る手がかりとなることを期待している。なおDtAALは九州大学の安井 秀氏より分譲を受けた。

(3) 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進行中である。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で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ず遺伝因子の解析

(1) 高密度連鎖地図を用いた遺伝子分離頻度のゆがみをもたらず遺伝的因子の網羅的検索と相関因子の解析：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。しかし、ゲノム全体を網羅する遺伝的マーカーの不足などのため、近縁種間または種内でどのぐらいの強さの生殖的隔離障壁がどの様にゲノム中に分布しているのかほとんど知られていなかった。また、接合体形成後の生殖的隔

離に於いて、二つの遺伝子座の相互作用が重要な要因であると考えられていたが、相互作用する遺伝子座を推定することは一般に困難で手つかずであった。

イネでは、日本型稲(日本晴)×インド型稲(カサラス)の F_2 世代を用いて高密度遺伝子連鎖地図が構築され(原著論文1)、昨年度その高密度連鎖地図のマーカーの分離比をもとに、どのぐらいの強さの生殖的隔離障壁がどの様にゲノム中に分布しているのかを解析する多応答非線形回帰分析のプログラムの開発を行い、配偶体で機能する数個の生殖的隔離障壁で一部の染色体の分離ゆがみを説明できることを示した。

今年度は、配偶体と接合体で機能する生殖的隔離障壁を考慮し、34個の生殖的隔離障壁によって12本全ての染色体の遺伝子分離頻度を説明できることを示した。

また、高密度遺伝子連鎖地図の全てのマーカーの組み合わせで、2つのマーカー間の分離頻度が相互に影響しあうか、独立であるかを二元分割表による χ^2 検定で調べ、相互作用する領域を推定した。

日本型稲×インド型稲の他の F_2 集団で観測される生殖的隔離障壁がどの様になっているかを調べるため、FL1084 x Dao Ren QiaoとFL1007 x Kinandang putiの二つの F_2 集団を用いて作製した連鎖地図のマーカー分離比を解析した。それぞれ、31個と38個の隔離障壁にて全ての染色体の遺伝子分離頻度を説明できた。日本型稲×インド型稲の $F_2,3$ 集団で合計103個の隔離障壁が検出され、各集団で共通に用いたマーカーとの位置から、少なくとも92個は別の座位と考えられた。3集団で日本型稲×インド型稲間に共通に存在する隔離障壁はなかった。また、それぞれの連鎖地図のマーカー間の分離頻度の独立性検定より相互作用している領域も交雑組み合わせによって異なっていた。(以上の今年度の成果は、投稿準備中)

(2) 遺伝子伝達頻度を花粉由来で数%まで低下させる配偶子遺伝子ga-2のポジショナルクローニング: 春島嘉章, 倉田のり

生殖的隔離障壁がどの様にして働いているか、その分子レベルにおける機構の解明は、ショウジョウバエなどごく一部を除いては進められていない。日本晴とカサラス F_2 集団で最も作用力の大きな隔離障壁である第三染色体上のga-2をクローニングすることにより、生殖的隔離障壁の一つを分子レベルで機構を解明し、本来の個体でどの様な働きをしていたものが隔離障壁となるか明らかにするのが本研究の目的である。昨年度は高密度連鎖地図上の最近接マーカーに挟まれた領域にこの遺伝子があることを明らかにした。今年度は、この遺伝子の準同質系統作製のため日本晴のカサラス置換系統(BC_1F_5)を日本晴に戻し交雑した個体の自殖種子を得て276個体を育成、目的遺伝子があると推定される領域がカサラスホモ型で、他の領域が日本晴型となっている個体をCAPSマーカーを用いて6個体選抜し、日本晴に戻し交雑を行った。

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行うと同時に、研究用遺伝資源として保存し、その維持、増殖、分譲を行う予定である。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 (AcTPase) 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行っている。

(1) Ds-GUS 系統の作成とマッピング：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ィルス 35S RNA 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トウモロコシの 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フロンの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フロンの耐性遺伝子が発現するようになっている。これまでにアグロバクテリウムを介して Ds-GUS 導入イネを 263 系統作成し、導入された Ds-GUS のコピー数や末端までの組込みの確認を開始した。

今年度はまず 263 系統の Ds-GUS のコピー数を調べた。その結果、昨年度のものと同合わせ 1 コピーのものが 42 系統、2 コピーのものが 50 系統あった。さらに 1 コピーと判断されたものはマッピングするためその隣接ゲノム領域のクローニングを行った。得られた隣接領域の塩基配列を決定しホモロジー検索したところ、イネ EST と同じ配列を持つものなどがいくつか見られた。また、クロルスルフロンの耐性遺伝子がイネでも機能することを確認した。今後、Ds-GUS のマッピングを行うと同時に 35S-Ac と交配し、転移頻度を調べる予定である。

(2) 35S-Ac 系統の作成：伊藤幸博，倉田のり

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。今年度は 35S-Ac を導入したイネを十数系統作成した。今後、それぞれの系統の AcTPase の発現量、Ds-GUS 系統と掛け合わせた場合の Ds-GUS の転移頻度を測定していく。

5. イネ遺伝子破壊系統の作成と検索

(1) 内在性 retrotransposon 転移系統の作成：永口 貢，長戸康郎¹，倉田のり¹ (東京大学・農学部，遺伝研・応用遺伝学客員部門)

この課題では、イネのレトロトランスポゾン 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の作出を目的とする。Tos17 は培養という比較的容易な方法で転移させることができ、また内在性のレトロトランスポゾンであることから、得られた個体をフィールドに展開が可能などの利点を有する。材料は Tos17 を 2 コピー持つことが知られている品種日本晴を用い、完熟種子をカルス誘導培地に置床し 4 週間培養した。胚盤より誘導されたカルスは液体培地に移植し、3ヶ月間培養後、得られたカルスを再分化培地に移植し、約 900 の再分化個体を育成した。一部の再分化個体で Tos17 の転移を調べたところ、ほとんどの個体で 1 ~ 6 コピーの転移が見られ、平均 2 ~ 3 コピーの転移が確認された。これらの個体より自殖 M₂ 種子を得た。この M₂ 種子を用いて各種のスクリーニングを試みる。

(2) 転移系統の解析：胚発生突然変異体のスクリーニング：永口 貢，三好一丸，伊藤幸博，倉田のり

これは(1)の素材および農水省生物資源研，名古屋大学，福井県立大学などで同様に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挿入破壊された突然変異系統を選抜すると共に，破壊された遺伝子を Tos17 をタグとして単離する目的で行う。系統毎に M₂ 種子を除穎・吸水処理し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る種子を選抜する。一方で個々の転移系統より抽出した DNA を用いて，Tos17 特異的プライマーを利用した PCR スクリーニングにより，破壊された遺伝子の検索も進めている。

研究業績

(1) 原著論文

1. Harushima, Y., Yano, M., Shomura, A., Sato, M., Shimano, T., Kuboki, Y., Yamamoto, T., Lin, S. Y., Antonio, B. A., Parco, A., Kajiya, H., Huang, H., Yamamoto, K., Nagamura, Y., Kurata, N., Khush, G. S. and Sasaki, T. A high density rice genetic linkage map with 2275 markers using a single F₂ population. *Genetics* 148: 479-494, 1998.
2. Yoshimura, S., Yamanouchi, U., Katayose, Y., Wang, Z-X, Toki, S., Kono, K., Kurata, N., Yano, M., Iwata, N. and Sasaki, T. Expression of *Xa-1*, a novel bacterial blight resistance gene in rice, is induced by bacterial inoculation. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*. 95: 1663-1668, 1998.
3. Rajyashri, K. R., Nair, S., Ohmido, N., Fukui, K., Kurata, N., Sasaki, T. and Mohan, M. Isolation and FISH mapping of Yeast Artificial Chromosomes (YACs) encompassing an allele of the *Gm2* gene for gall midge resistance in rice. *Theor. Appl. Genet.* 97: 507-514, 1998.
4. Wu, J., Kurata, N., Tanoue, H., Shimokawa, T., Umehara, Y., Yano, M. and Sasaki, T. Physical mapping of duplicated genomic regions of two chromosome

ends in rice. *Genetics* 150: 1595-1603, 1998.

5. 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.
6. 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.
7. Ito, Y., Eiguchi, M. and Kurata, N. Expression of novel homeobox genes in early embryogenesis in rice. *Biochim. Biophys. Acta*, 1444: 445-450, 1999.
8. 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: 330-339, 1999.

(2) その他

1. Harushima, Y., Yamazaki, Y. and Kurata, N. Rice genetic resources and genome databases on the internet. *Rice Genetics Newsletter* 14: 167-168, 1998.
2. 倉田のり：イネの系統保存とデータベース，蛋白質，核酸，酵素 43：2227-2231. 共立出版．1998.
3. 野々村賢一，倉田のり：植物人工染色体と核機構研究，育種学最近の進歩第40集：41-44. 日本育種学会編，1998.

(3) 発表講演

1. 野々村賢一，倉田のり：イネの動原体領域に存在する繰返し配列 RCE1 とその周辺配列の構造，日本育種学会第 93 回講演会，横浜，4 月．
2. 伊藤幸博，北野英己：イネ胚発生の突然変異体の解析とホメオボックス遺伝子の発現パターン，特定領域研究「植物生殖システム」公開シンポジウム，仙台，7 月．
3. Nonomura, K. and N. Kurata :Organization of 1.9-kb repeats and their flanking sequences detected in the centromeric region of rice. The13th International Chromosome Conference, Ancona, Italy, September.
4. 野々村賢一，倉田のり：植物人工染色体と核機構研究，日本育種学会第 40 回シンポジウム，盛岡，9 月（オーガナイザー：倉田：核と染色体 - その構成と機能ダイナミクス研究の進展）．
5. 伊藤幸博，倉田のり：イネのホメオボックス遺伝子の過剰発現の影響，日本育種学会第 94 回講演会，盛岡，9 月．
6. 春島嘉章，倉田のり，矢野昌裕，佐々木卓治，中川原捷洋：イネ日印交雑後代の遺伝子型の分離頻度に影響を与える遺伝子間の相互作用について，日本育種学会 第 94 回講演会，盛岡，9 月．
7. 春島嘉章，倉田のり，矢野昌裕，佐々木卓治，中川原捷洋：F₂ 集団の分離頻度のゆ

がみの定量解析法, 日本遺伝学会第70回講演会, 札幌, 10月.

- 堀江真紀子, 蓼沼磨貴, 三橋貴子, 伊藤幸博, 松本邦男, 西村昭子: ポスト・ゲノム解析「温度感受性変異体バンクを用いた大腸菌遺伝子機能の網羅的解析」, 第21回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月.

F-d. 原核生物遺伝研究室

原核生物遺伝研究室では, 大腸菌の細胞分裂の遺伝的調節機構, 特に分裂時期の決定機構について7テーマの研究を行った. 研究室構成員, 西村昭子(助教授), 藤田千鶴子(奈良女子大/特別研究員), 西森加奈(東邦大M2), 蓼沼磨貴(東邦大M2), 堀江真紀子(神奈川工大/外研), 田中 愛(神奈川工大/外研), 笹沼明美(文部技官), 杉本貴司(派遣職員), 上山清子(研究支援推進員), 佐藤靖子(実験補助員), 鈴木小夜子(実験補助員), 岸本みどり(実験補助員), 植村 薫(パート)により研究の推進を行った. 本年度の研究は, 文部省科学研究費重点領域研究(1)細胞複製装置(代表者, 平賀壮太)“大腸菌の細胞分裂の時間的制御機構(西村)”, 日本学術振興会未来開拓学術研究事業(代表者, 小笠原直毅)“大腸菌遺伝子の機能解析(西村)”, 基盤研究(C)“大腸菌の細胞分裂の時期決定機構(西村)”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, 上原 剛, 藤島博史),(ii)大腸菌の増殖誘導期の長さに影響するAspSとORF17の役割(山口 大:山田 守, 伊豆英恵, 山口秋初),(iii)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),(iv)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).

(1)細胞分裂の時期を決める分子機構: 西村昭子

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迄成長した後, 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(論文2). 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. まずGlySとHis-tagとの融合蛋白をコードするように, 各GlyS遺

伝子を多量発現ベクター pET21a(+) にクローニングした。100ml の培養液から細胞を集菌し、ニッケルカラムを用いて分離精製を行い、各々約 12mg の GlyS を得た。他の蛋白の混在は検出されなかった。これらの蛋白についてグリシル化活性を測定した結果、ATP に対する変異型 GlyS の K_m / K_{cat} 値は野生型 GlyS の 20 倍、グリシンに対する変異型 GlyS の K_m / K_{cat} 値は野生型 GlyS の 100 倍以上高かった。ところが Gly-tRNA の細胞内レベルは、逆に cfcA 変異株では野生株の約 1/3 しか検出されなかった。Gly-tRNA の細胞内レベルが cfcA 変異株で低いのは、cfcA 変異株では glySa 遺伝子の変異の他に、glySb 遺伝子の非依存性転写終結シグナル配列内に IS1 挿入変異を持つ為に glyS 遺伝子の発現量が低下しているのではないと思われる。glyS 遺伝子の mRNA 量を測定することを検討中であるが、apaH に変異を持つ cfcB 変異株では Gly-tRNA 量は野生株と変わり無いことから、Ap4A の細胞内レベルの増加がグリシル化活性の低下をひき起こしているわけではない。また apaH 遺伝子を担うプラスミドが cfcA 変異を抑制することから、グリシル化活性の低下が Cfc の表現型をひき起している可能性も無い。野生型 GlyS は ATP とグリシンを基質とし *in vitro* で次の反応を行うことが知られている。(1) $ATP + Gly + GlyS \rightleftharpoons GlyS \cdot Gly + AMP + PP_i$, (2) $GlyS \cdot Gly + AMP + ATP \rightleftharpoons Ap4A + Gly + GlyS$. 各 GlyS と 3H -ATP を用いて上記の反応を行い 3H -Ap4A 量を測定したところ、野生型 GlyS を用いた場合 3H -Ap4A は全放射活性の 15% であるのに対して、変異型 GlyS を用いた場合は 30% 以上合成されていた。今回は HEPES 緩衝液中で反応を行ったが、この条件では合成された 3H -Ap4A は ADP に分解されることが知られている。実際野生型 GlyS を用いた場合 40% 以上の 3H -ADP が検出された。しかし変異型 GlyS を用いた場合 3H -ADP は僅か数% しか検出されなかった。今回得た結果は Ap4A の合成と分解が同時に起こる条件下で Ap4A 量を測定したものである為、変異型 GlyS は、Ap4A 合成反応を促進するのか分解反応を抑制しているのかを区別することはできなかった。しかし何れにしても変異型 GlyS を用いた場合多量の Ap4A が検出されることから、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行われるか明確にする為に、Ap4A の標的蛋白を探しその機能解析を行うことにした。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。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。この蛋白の機能を明らかにする為にこの蛋白をコードする遺伝子のクローニングを行った。現在この遺伝子の条件破壊株の作成を行っている。最近枯草菌で類似の遺伝子が同定され、その破壊株は Cfc と類似の表現型を示すようである。

(2) 大腸菌 SpoT 蛋白質における ppGpp 合成ドメインの推定：藤田千鶴子，前田真希，池原健二，田中 愛，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)大腸菌の *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わらべた。*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。

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

細胞分裂が欠損すると普通増殖も停止する。*ftsE* 変異株の解析から増殖停止の原因を追求した。*phoA* 融合蛋白のウェスタンブロットング解析から、*ftsE* 変異株ではカリウムイオンポンプを構成する蛋白、KdpA, Kup, TrkH が膜から欠失していることが解った。各融合蛋白は K^+ イオンポンプの機能は保有していた。*ftsE* 変異株を 41 で培養すると融合蛋白の膜内濃度は培養液の濁度に逆比例して減少するが、30 で培養中に既に膜に組み込まれた融合蛋白は 41 でも安定であった。パルスチェイス実験から、*ftsE* 変異株でも融合蛋白は合成されるが膜に組み込まれない為直ちに分解されることが解った。*ftsE* 変異株での融合蛋白の欠失は *ftsE*⁺ を担うプラスミドにより抑制された。また融合蛋白の膜内濃度が 1/15 に減少すると増殖が停止するが、高濃度の K^+ イオンを培養液に加えると増殖が回復した。しかしこの時分裂は回復しない為、細胞は 100 倍以上伸長し長いフィラメント細胞が形成された。カリウムイオンは蛋白合成過程に必須なイオンであると共に栄養の取り込みに必要な膜電位を形成している為カリウムイオン濃度が減少すると細胞の増殖が停止することが解っている。従って *ftsE* 変異株で増殖が停止するのは、 K^+ イオンポンプ蛋白が細胞膜に組み込まれない為と結論した。

(4)リポ多糖合成と細胞分裂の相互認識機構：西森加奈，西村昭子

外膜の主要構成成分であるリポ多糖の合成に関与する *kdsA* 変異株が高温で多核フィラメントとなることから、リポ多糖の合成と細胞分裂の間に相互認識機構が存在するのではないかと予測し、この変異株の詳細な解析を行った。リポ多糖は少糖鎖とリポドAと両者を繋ぐリンカー(KDO)から構成されており、*kdsA* 遺伝子は KDO の前駆物質を合成する酵素をコードしている。*kdsA* 変異株を 41 で培養すると、KDO の細胞内濃度と、細

胞分裂装置の蛋白をコードする *ftsZ* 遺伝子の mRNA 量が、何れも同じ速度で急速に減少した。この減少は、*kdsA*⁺ 遺伝子を担うプラスミドで形質転換すると回復した。リポ多糖合成と細胞分裂の相互認識の分子機構を明らかにする為に、*kdsA* 変異を抑制する変異株を分離し *kdsA* 遺伝子領域の塩基配列を解析した処、*kdsA* 遺伝子以外の遺伝子に生じた抑制変異株であることが解ったのでこの抑制遺伝子の解析に着手した。

(5) 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，蓼沼磨貴，岸本みどり，佐藤靖子，伊藤幸博，松本邦男，森 浩禎，菅原秀明，後藤康丞，西村昭子

大腸菌の細胞分裂機構を構成する全遺伝子群を系統的に同定し、個々の遺伝子の構造と機能及び遺伝子相互の関連を網羅的に解析することにより、細胞分裂機構の全貌を明らかにしたいと考え、数年前よりこれらの遺伝系統の樹立を開始し、細胞分裂に関する変異遺伝子(430系統)のマッピングを行ってきた。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。約 250 の野生型 ORF をクローニングし既知の変異株を用いて検討した結果、発現制御、相補性テスト、ORF クローニング効率何れも問題無いことが分かった。

研究業績

(1) 原著論文

1. Ukai H, Matsuzawa H, Ito K, Yamada M, and Nishimura A.: *ftsE*(Ts) affects translocation of K⁺-pump proteins into the membrane of *Escherichia coli*. J. Bacteriol. 180, 3663-3670, 1998.
2. Nishimura A. : Timing of cell division: Ap4A as the signal. TiBS 23, 157-159, 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, 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, February.
2. 西村昭子，西川一八，横川隆志：大腸菌の細胞分裂のタイミング。第 21 回日本分子生物学会年会，大阪千里，12 月。
3. 堀江真紀子，蓼沼磨貴，三橋貴子，伊藤幸博，松本邦男，森 浩禎，菅原秀明，後

藤康丞, 西村昭子: ポストゲノム解析「温度感受性変異体バンクを用いた大腸菌遺伝子機能の網羅的解析」第21回日本分子生物学会年会, 大阪千里, 12月.

4. 藤田千鶴子, 前田真希, 池原健二, 田中 愛, 松本邦男, 西村昭子: 大腸菌 SpoT 蛋白質における ppGpp 合成ドメインの推定. 第21回日本分子生物学会年会, 大阪千里, 12月.
5. 藤島博史, 上原 剛, 牧野伸一, 西山泰孝, 古米亮平, 佐久 敬, 和地正明, 永井和夫, 西村昭子, 松沢 洋: 大腸菌の細胞分裂に關与する fts 遺伝子の解析. 第21回日本分子生物学会年会, 大阪千里, 12月.

F-e. 無脊椎動物遺伝研究室

平成10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(COE 非常勤研究員), 高山絵理子(国立遺伝学研究所非常勤研究員), 亦勝実穂(日本学術振興会特別研究員), 千原崇裕(総合研究大学院大学), 亦勝 和(大阪府立大学大学院), 久保田一政(東京医科歯科大学大学院), 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, 五百木麗子, 石川和美, 雷 群が研究と系統保存事業を支援した. 亦勝(実)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. 林は7月にギリシャ・クレタ島で行われた EMBO ワークショップに参加し, 発表した. 本年度の研究は特定領域研究(A)「細胞外シグナル因子による遺伝子発現制御の解析」「ショウジョウバエ肢の近遠軸形成の解析」(後藤), 日本学術振興会未来開拓学術研究「発生におけるパターン形成」(林)の援助を受けて行われた.

(1) ショウジョウバエの肢翅誘導とパターン形成機構: 後藤 聡, 久保田一政, 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, 脚原基が形成されないことがわかった. 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) 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 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、Esg と Dll の発現細胞間での細胞間相互作用が重要な役割を果たしていることがわかった(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。通常の気管形成においては様々な機能を担った細胞種が枝ごとに決まった数だけ選択されてくるのに対して Notch の機能欠損変異体ではその数に異常が見られた。枝の融合に関わる tip cell は増大し，末端の terminal branch は減少した。逆に Notch の活性を増大させると逆の表現型がえられた。これらの結果は Notch の時間的，細胞特異的な活性化が気管形成に必須であることを示している(池谷)。また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。この初期の分岐パターン決定に関わる分子機構を Dpp，EGFR シグナルによる細胞運命決定と FGF シグナルによる細胞運動制御の観点から検討している(千原)。

(3) キナーゼ非依存的な Cdc2 の活性による S 期抑制機構：林 茂生，山口政光¹(愛知県がんセンター・放射線部)

細胞周期の調節因子 Cdc2 カイネーゼは M 期において細胞分裂を促進する機能に加えて G2 期において S 期を抑制する。我々は Cdc2 がサイクリン A と協同して DNA 合成を阻害する事を突然変異体と過剰発現による解析により明らかにした。またこの Cdc2 の作用は転写因子 E2F の活性を阻害することによることを培養細胞と個体での実験により確かめた。さらに Cdc2 は E2F に直接作用しうる事が in vitro 実験により示された。意外なことにこの Cdc2 の活性はキナーゼ活性を必要としない。従って Cdc2 はこれまでに知られていなかった機能により E2F を阻害し S 期を停止させる事が示された。このメカニズムは真核生物の細胞周期において S 期が連続して起こらないようにする制御機構(チェックポイント)を説明し得るものである。詳細は原著論文 3 に報告した。

(4) 成虫翅に異常を来す突然変異 plexus：亦勝 和¹，蒲生寿美子¹，田所竜介²，林 茂生¹(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。我々は過剰な翅脈を生ずる突然変異 plexus を手がかりに翅の前後軸のパターン形成機構を追求している。これまでに plexus 遺伝子座のゲノム領域をクローニングし，その cDNA の構造を明らかにした。cDNA 配列から予想される plexus 産物は新規の蛋白で核に局在していた。現在 plexus 蛋白の機能の遺伝学的解析を進めている。

(5) 神経分化の背腹パターンの制御：八木克将¹，鈴木利治¹，林 茂生¹(¹東京大学薬学部)

ショウジョウバエのニューロブラストは生まれた時点ですでに位置に応じた特有な個

性をもっていることから神経細胞の個性の決定は外胚葉の時点で始まると考えられる。神経外胚葉は各半体節ごとに背腹軸方向に三列ずつに分かれてニューロプラストを生むがそのパターンは *escargot* 遺伝子の発現と良い対応をしめす。 *escargot* の転写調節を手がかりに神経外胚葉の背腹パターンの由来を追求したところ EGFR/MAPK とホメオボックス遺伝子 *vnd* の相互作用が重要なことがあきらかとなった。脊椎動物でも神経分化は背腹軸方向に三列ずつに分かれておこり、*vnd* 相同遺伝子が類似な位置に発現していることから神経分化の初期段階には進化的に保存されたパターン形成機構の存在が示唆された。詳細は原著論文1に発表した。

(6)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，武内裕子，谷口美佐子，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5000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なえるシステムを確立したので、効率的なスクリーニングをおこなっている。現在、約2000系統のスクリーニングが終了し、脚・翅原基や気管で発現している数十系統を同定した。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山崎由紀子助教授、斎藤真理氏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. Yagi Y., Suzuki T. and Hayashi S.: Interaction between *Drosophila* EGF receptor and *vnd* determines three dorsoventral domains of the neuroectoderm. *Development*, 125, 3625-3633, 1998.
2. Kobayashi M., Aita N., Hayashi S., Okada K., Ohta T. and Hirose S.: DNA supercoiling factor localizes to puffs on polytene chromosomes in *Drosophila melanogaster*. *Mol. Cell Biol.*, 18, 6737-6744, 1998.
3. Hayashi S. and Yamaguchi M.: Kinase-independent activity of Cdc2/Cyclin A prevents Sphase in the *Drosophila* cell cycle. *Genes to Cells*, 4, in press, 1999.

(2)その他

1. 後藤 聡，林 茂生：発生研究のための蛍光プローブによる mRNA とタンパク質の二重染色法。 *実験医学*，16：523 - 527，1998。

2. 林 茂生：突然変異を利用したショウジョウバエのゲノム解析．医学のあゆみ，185：391-394，1998．
3. 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. 亦勝 - 田中実穂，林 茂生：ショウジョウバエ気管形成過程における細胞極性変化の解析．日本発生生物学会，熊本，5月．
2. 後藤 聡，久保田一政，林 茂生：ショウジョウバエ脚の近遠軸形成．日本発生生物学会，熊本，5月．
3. 八木克将，鈴木利治，林 茂生：初期発生における神経上皮の背腹軸方向の分化とDER-MAPK シグナル系．日本発生生物学会，熊本，5月．
4. 久保田一政，後藤 聡，江藤一洋，林 茂生：ショウジョウバエ脚原基形成におけるEGF シグナルの役割．日本発生生物学会，熊本，5月．
5. 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，熊本，5月．
6. Hayashi S.: Pattern formation in the imaginal disc and the tracheal system. EMBO International Workshop, Kolybari, Crete, June.
7. 池谷智淳，林 茂生：管状上皮の形態形成と分化における細胞間コミュニケーション - ショーン．第71回日本生化学会大会，名古屋，10月．
8. 瀬原 - 藤沢淳子，林 茂生：細胞から見上げた器官形成のメカニズム．第21回日本分子生物学会年会，横浜，12月．
9. 林 茂生，久保田一政，後藤 聡：ショウジョウバエの付属肢の誘導と成長に働く細胞間相互作用．第21回日本分子生物学会年会，横浜，12月．
10. 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．第21回日本分子生物学会年会，横浜，12月．
11. 志賀靖弘，林 茂生，秋元 愛，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．第21回日本分子生物学会年会，横浜，12月．
12. 久保田一政，後藤 聡，江藤一洋，林 茂生：ショウジョウバエ肢原基形成におけるEGF シグナルの役割．第21回日本分子生物学会年会，横浜，12月．
13. 後藤 聡，久保田一政，林 茂生：ショウジョウバエ脚の近遠軸形成．第21回日本分子生物学会年会，横浜，12月．
14. 亦勝 和，田所竜介，蒲生寿美子，林 茂生：ショウジョウバエの翅脈パターン形成に関わるplexus 遺伝子の解析．第21回日本分子生物学会年会，横浜，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2研究室からなり、発足当初から活動していた系統情報研究室(山崎由紀子助教授)に加え、3月にはかねてより人事が進められてきた生物遺伝資源情報研究室の教授に構造遺伝学研究センター遺伝子回路研究室の小原雄治が所内で移籍した。小原は4月よりセンター長に就任した。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「知識情報の記述法に関する研究」を行った他、山崎由紀子、斉藤真理、土屋里枝、鈴木栄美子、矢野澄子が、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。なお本研究事業は今年度予算が措置され、本格運用を開始した。

本年度の研究は、文部省科学研究費補助金から研究成果公開促進費「系統資源情報データベース」(代表者：山崎由紀子)、基盤C科学研究費「生物系統保存調査研究」(代表者：森脇和郎)、科技厅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、「植物遺伝資源データベース研究会」(岡山大学資源生物化学研究所)を実施した。

(1) 知識情報の記述法に関する研究

異種統合機能遺伝子データベースに関する研究：山崎由紀子

当研究室では、各生物種毎に作成した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。昨年度より、イネ、コムギ、ショウジョウバエ、マウスの4生物種について遺伝子の統合データベースの構築を試みている。各生物種の遺伝子に関する情報は、(1)DNA配列データベース、(2)系統情報データベースおよび(3)遺伝子カタログから収集し、遺伝子テーブルを作成した。遺伝子テーブルは、生物種名、遺伝子名、系統番号、DNA配列番号、染色体番号から構成される。また遺伝子分類テーブルを複数試作し、遺伝子表記が情報源によって統一されていない場合でも、関連の遺伝子群を横断的に検索

できるかどうか検討した。一次情報の自動収集システムおよび、分類テーブルと一次情報とを一覧できるようなインターフェースを開発することによって、単純な遺伝子分類テーブルならば人手による査定作業を効率よく行うことができると考えている。

さらに遺伝子テーブルを拡張し、ライフサイクルにおける様々な現象(イベント)を、遺伝子産物以外の物質も含めたかたちで表現する方法として、関連情報のオブジェクト化を検討している。

(2) 遺伝資源情報データベースの構築：山崎由紀子

コムギ：国内のコムギ研究グループとの共同作業により「系統情報データベース - KOMUGI--version 1.1」をリリースした。オンライン大量データ更新システムも開発したが、サイト毎に異なるデータ管理者システムを考慮しなかったため、効率化に十分貢献できなかった。ムギ連(*Triticeae*) DNA レポジトリに関しては、荻原保成助教授(横浜市立大学木原生物学研究所)との共同作業により試作版データベースを公開した。また第9回国際コムギ遺伝学シンポジウムにてKOMUGI データベースを紹介し、*graingenes*(米コーネル大)のフォーマットとの相違点について、将来的な統合化も含めて議論した。

イネ：当研究所植物遺伝研究室・倉田のり助教授を中心にイネ遺伝資源小委員会が結成され、第2世代データベースの構築に向けて段階的に作業を開始した。特に、イネ遺伝子地図、遺伝子分子地図、物理地図を統合した地図の作成および変異体画像とのリンク作業などは、九州大学農学部吉村教授との共同作業で開始した。また遺伝子記号に関する文献情報データベースは、木下俊郎(北大名誉教授)の協力により改訂作業を行っている。

オオムギ：岡山大学生物資源科学研究所の佐藤和広助教授との共同作業により、オオムギ系統情報データベースを構築し、オンライン公開を開始した。岡山大学におけるデータ管理システム上のデータから、公開可能な最新データを定期的に転送するシステムを開発中である。

アラビドプシス：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を作成しネットワーク公開を開始した。オンライン完全自動更新システムを開発し、保存担当者による遠隔地管理を可能とした。

ショウジョウバエ：各研究室毎の保存システムをデータベース化し検索を可能とした他、当研究所無脊椎遺伝研究室林 茂生助教授と共同で、エンハンサートラップシステムおよびその挿入サイトのエンハンサーの発現パターンなどをデータベース化し、プロジェクトメンバー内公開を開始した。

マウス：当研究所哺乳遺伝研究室城石俊彦教授と共同で、飼育システムと凍結胚保存システムの重複を見直し、系統情報データベースの改訂版をリリースした。Mouse Microsatellite Database of Japan(MMDBJ)は科技厅プロジェクトとして本格運用を開始した。

クローニングベクター：当研究所微生物遺伝研究部門の安田助教授によって「オンラインメンテナンスシステム」を用いたデータベース管理が行われた。

大腸菌：東京大学医科学研究所・加藤潤一氏との共同作業により，大腸菌遺伝子分類データベースの構築を開始した．遺伝子分類は複数の観点から行う計画であるが，第一段階は「生育に必須か否か」で分類した遺伝子情報および判断の基準となった文献情報と欠損株情報をデータベース化し，ゲノム情報とリンクして公開する予定である．

研究業績

(1) その他

1. Yukiko Yamazaki, Hisashi Tsujimoto and Taihachi Kawahara: KOMUGI Database - Wheat Genetic Resources Database. *Genes Genet. Syst.* (1998) 73, 75-77.
2. Yukiko Yamazaki: Wheat Genetic Resource Database in Japan. 9th International Wheat Genetics Symposium Proceeding.2, 375-376 (1998).
3. 山崎由紀子：「遺伝資源情報データベース」蛋白質核酸酵素(1998)，43，2012-2015.

(2) 発表講演

1. 山崎由紀子：イネ遺伝資源データベース構想．イネ遺伝学・分子生物学ワークショップ，名古屋，6月．
2. Yukiko Yamazaki: Wheat Genetic Resource Database in Japan. 9th International Wheat Genetics Symposium Saskatoon, Canada, August, 1998.
3. 山崎由紀子：異種統合機能遺伝子データベース2．第21回日本分子生物学会年会，横浜，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．

研究室構成としては，小原雄治(教授)，安達佳樹(助手)，小倉顕一，伊藤将弘，大浪修一(科学技術振興事業団研究員)，新井 理(業務委託)，本橋智子，廣野啓子(科学技術振興事業団技術員)，大庭登紀江，杉浦郁子，小原真澄，長岡圭美，渡辺小百合，鈴木孝美(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(パート実験補助員)，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．1月-3月の約2カ月，日仏ゲノム研究の支援で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，文部省科学研究費重点領域研究「ゲノムサイエンス」(小原)，科学技術振興事業団戦略的基礎研究推進事業(CREST)(小原)の支援を受けた．

I. 研究事業

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

(1) 大腸菌遺伝子ライブラリー事業

小原が名古屋大学在職中に作成した大腸菌ゲノムの遺伝子ライブラリーの維持、配布、情報収集を続けた。このライブラリーの特色は、個々のクローンについて詳細な制限酵素地図が作成されており、これをもとに、大腸菌全ゲノム 4,700 キロ塩基対が、互いに少しずつオーバーラップするクローンでおおわれていることである。総数 3,400 クローンの中から十分な重なりをもってゲノムをカバーする 476 クローンを選び出し、これを「ミニセット」としてリクエストに応じてきた。本年は 19 件、のべ 1,488 クローンを 5 ヶ国(日本、韓国、アメリカ、フランス、インド(件数順)の研究者に送付した。これまでの累計は、25 ヶ国 812 件、のべ 98,162 クローンにのぼっている。発送先の研究者には、その地域の研究者への二次配布を積極的に求めているので、クローンの利用者はこれらの数字よりはるかに多いことが予想される。

(2) 線虫遺伝子ライブラリー事業

次項で述べる cDNA の系統的解析プロジェクトから得られたクローンおよびその情報は、DNA データバンクに送るとともに逐次線虫統合データベース ACEDB などに送付し公開している。タグ配列のうち約 60,000 本は DDBJ に登録した。利用者の便、アップデートの容易さなどを考慮し、DDBJ スタッフの協力により DDBJ 計算機上での WWW での公開を開始した (http://www.ddbj.nig.ac.jp/htmls/c-elegans/html/CE_INDEX.html)。また、発現パターン情報についても、WWW での公開を開始した (<http://watson.genes.nig.ac.jp:8080/db/index.html>)。

cDNA クローンについては、1998 年には 781 件のべ 3,197 クローンを 21 ヶ国(アメリカ、日本、イギリス、ドイツ、カナダ、スイス、フランス、スウェーデン、韓国、ベルギー、オーストラリア、オランダ、ウガンダ、台湾、シンガポール、イスラエル、イタリア、ハンガリー、フィンランド、ブラジル、オーストリア(件数順)の研究者に分与した。これまで(1995 年 -1998 年)の累計は、24 ヶ国 1,614 件、のべ 6,059 クローンにのぼっている。今年から RNAi への利用のためクローンの請求が急増した。これも情報のフィードバックのみを分与の条件にしており、最近われわれの WWW ページ上に feedback 情報用の入力フォームを開設した。

II. 線虫 *C. elegans* の cDNA 解析

線虫 *C. elegans* は動物発生・行動研究のすぐれたモデル系である。この全遺伝情報は 100Mb のゲノム(染色体 6 本)に書き込まれており、この解読のため、英米 2 グループの共同作業により全ゲノム 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、上杉裕子、杉山康代、野本久代、新井理、小原雄治

3種の cDNA ライブラリーからランダムに 10 万以上のクローンを取り上げ、グリッド化し保存した。ここから高発現遺伝子クローンをハイブリダイゼーションで同定して除いたあと、各クローンの 5'-タグ、3'-タグの両方のシーケンシングをおこない、3'-タグを比較することにより、クローンの分類を行った。これまでに、約 65,000 クローンを処理した結果、それぞれ 41,502 クローン及び 53,205 クローンについてクリーンな 3'-タグ、5'-タグ配列が得られ、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。

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

ゲノムシーケンシングプロジェクトで得られたシーケンス済コスミドデータ (84Mb 程度) を利用した *in silico* マッピングを行った。その結果、約 800 種 (約 7%) はヒットが見られなかったが、のこり約 93% はコスミドにヒットしゲノム上の位置が判明した。現在、5'-タグも用いてエキソン/イントロンの対応付け作業を進めており、全遺伝子についての様々な発現配列のパターン (differential transcription start site, alternative splicing, differential poly(A) addition など) の整理をおこなっている。登録 cDNA 配列は不明確な塩基が一定以下の領域のみに限っているが (300-360 塩基) 実際のクロマトグラムは 3 時間程度の泳動のものでも 500 塩基程度までの情報を持っている。スプライシングのパターンの検定だけならば、このような領域でも十分に使用に耐えるので、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。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。また、ゲノムシ

ケンシングチームによる遺伝子予測の修正も進めている。興味深い構造については、cDNA クローンの全長配列決定を進めていく予定である。

(3)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進めてきた。胚発生期については、10ステージ(2細胞期，4細胞期，8-12細胞期，原腸陥入開始期，同中期，同後期，コンマ期，1.5折れ期，2折れ期，3折れ期)についてそれぞれ典型的な発現パターンの胚の画像を3つの焦点面でとり、データベース化しているが、あまりにも手間がかかるので、各ステージの典型的な試料を含む画像をとりあえず撮って保存することにした。後胚発生期については、L1-L2，L2-L3，L3-L4，L4-成虫の4ステージに分け、それぞれでの典型的な発現パターンの画像をデータベース化している。これまでに、第3及びX染色体を中心に3500種の遺伝子についてハイブリダイゼーションを完了した。次年度中に残りのハイブリダイゼーションを終える予定である。画像のアノテーション作業、特に発現細胞(系譜)の同定は専門知識を必要とする人手のかかる作業であり、プロジェクト全体の律速段階になっている。専門知識をもつテクニシャンの養成を進めている。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。

III. 線虫 *C. elegans* 発生における遺伝子発現制御の解析

(1) *C. elegans* の生殖系列決定に関わる遺伝子 *pos-1* の解析：小倉顕一，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。昨年までに、mRNA は卵母細胞では一様に分布するが、第一卵割で後割球に局在化し、その後生殖系列細胞にのみ残る遺伝子 *pos-1* を発見し、詳細な解析を進めてきた。*pos-1* には真核生物の転写因子である Tis11 ファミリーとホモロジーのある zinc finger 領域が見いだされ、似た構造をもつ遺伝子 *pie-1* や *mex-1* との関係が示唆されている。*pos-1* 変異体では P3 の分裂が不等分裂でなくなり、始原生殖細胞である P4 が姉妹細胞 D と同じ運命(筋肉細胞)をとることや、*mex-1* 変異体では POS-1 蛋白の分布あるいは発現量が変化することが示された。

われわれは POS-1 蛋白と相互作用する遺伝子を見いだすために、酵母 two-hybrid 法を用いた探索をおこなった。数種の強い相互作用を示す遺伝子群が得られ、それらについて in

situハイブリダイゼーションによる発現細胞の解析，アンチセンスRNA注入による機能解析，突然変異体との対応付け，などの詳細な解析を進めた．その結果少なくとも2種の遺伝子産物が，POS-1タンパクと結合すること，発現領域の重なり，機能阻害表現型の酷似，などを示すことがわかった．現在，相互作用の意味を解析中である．

(2) *C.elegans* の母性発現を示す遺伝子群の解析：大浪修一，長岡圭美，廣野啓子，小原雄治

ポストゲノム時代の戦略は，ある生物現象に関わる全ての遺伝子を解析しそれらの関係付けをおこなうことである．われわれは線虫初期胚における発生・運命決定が母性発現遺伝子によってほとんどがカバーされていることから，特に初期胚に興味を持っている．上記cDNAの発現パターン解析プロジェクトの約1000種の結果から，mRNAが(a)母性発現し，大体18細胞期までに消失する，(b)母性発現し特定の細胞系譜のみで継続発現するもの100種を選び出した．この基準に合うものは1-数%と予想される．全体でも数百のオーダーであるので十分feasibleであるとの考えから，抗体作成によるタンパク産物の挙動，RNAi(2本鎖RNA注入による遺伝子機能阻害実験)による遺伝子機能解析を体系的におこなうプロジェクトを開始した．

抗体作成については，極力低コストでかつシステムティックに進めるため，種々の予備実験の結果，cDNAクローンから100-150アミノ酸残基長の部分タンパクを大腸菌で発現し，ラット1匹を用いてポリクローナル抗体を作成することにした．これまでに47の抗原に対して抗体を作成できた．組織染色を進めた結果，胚外周，細胞膜，細胞質，核，中心体，など様々な場所に及び時期に存在が見られ，データベース化を進めた．次項の遺伝子機能解析の結果と統合し，遺伝子ネットワークの理解を目指したい．

RNAiによる遺伝子機能解析については，同じセットの100のcDNAクローンから2本鎖RNAを合成し，順に虫に微量注入し，表現型を観察した．その結果，全く影響がないものが1/3あったが，残りは胚致死，幼虫生育阻害，不稔，卵殻異常，などが観察され，データベース化を進めた．遺伝子タンパク発現パターンとの比較から，まず卵殻形成にかかわる遺伝子群が同定できた．ゲノム配列の比較から，機能重複の可能性のある遺伝子については，複数種のRNAを混ぜて微量注入するなどの実験をおこなう予定である．

(3) *C.elegans* 発生・遺伝子発現の4次元データベースの構築：伊藤将弘，本橋智子，水口洋平，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ーには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。今後、胚発生の後期までのCG化を進める予定である。

(4)線虫*C. elegans* T-box 遺伝子 *tbx-9* に対する標的遺伝子の探索：安達佳樹

C. elegans 発生における遺伝子発現制御の一端の解明をめざし、cDNA解析により見いだされたT-box遺伝子(CELK02736 = *tbx-9*)の解析を進めている。T-boxはDNA結合モチーフであり、このモチーフを持つ遺伝子には脊索の分化や前後肢の形成など発生現象に関わるものが多く見つかっている。その内、マウスBrachyury(T)遺伝子は転写因子をコードすることが示されているが、その他のT-box遺伝子産物も転写因子であるのかはわかっていない。*C. elegans* ではゲノム解析の結果から20個のT-box遺伝子が見つかり、これらは*C. elegans* 発生に重要な働きをしていると考えられるが、その詳細な解析は報告されていない。*tbx-9* についてこれまでに行った解析から、この遺伝子の発現が *in situ* ハイブリダイゼーションで胚発生初期の少数の細胞に見られることや、遺伝子破壊により作成した *tbx-9* 欠失変異体は胚発生期に体壁筋形成不全を含む形態形成異常を起こすことを明らかにした。

本年度はまず、*tbx-9* 産物が転写因子であるのかを調べた。PCR selection法により決定した *tbx-9* 産物DNA結合配列は、T産物結合配列と酷似した18塩基の長さのパリンドローム構造を持つ配列であった。この *tbx-9* 結合配列をレポーター遺伝子 *lacZ* につないだプラスミドと、ヒートショックプロモーターに *tbx-9* 遺伝子をつないだプラスミドを、*C. elegans* 野生株に導入し、ヒートショックを与えたところ、*tbx-9* の発現と *tbx-9* 結合部位の存在に依存した *lacZ* の発現が起こった。このことから *tbx-9* 産物が転写活性化能を持つことが明らかとなった。

次に、*tbx-9* により転写調節を受ける標的遺伝子を探索した。*tbx-9* 結合配列を基に *C. elegans* ゲノムDNA配列を調べたところ、結合配列18塩基中17塩基が一致する部位をコスミドT01E8配列中に見つけた。この部位の近傍には、cDNA解析によりcDNAクローン *yk202a10* として同定されている遺伝子が存在した。この遺伝子と *tbx-9* との関係を知るため、先の遺伝子導入株で調べたところ、ヒートショックによる *tbx-9* の発現に応じて *yk202a10* 遺伝子の転写が起こることから、この遺伝子は *tbx-9* により発現誘導を受けることが示唆された。更に *yk202a10* 遺伝子が *tbx-9* の標的遺伝子であることを示すには、この遺伝子の本来の発現細胞と *tbx-9* 発現細胞との間の関連を調べるなどの解析が必要である。

研究業績

(1)原著論文

1. The *C.elegans* Sequencing Consortium: Genome sequence of the nematode *C.elegans*: A platform for investigating biology. *Science* 282, 2012-2018 (1998).
2. 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).
3. Kuwahara, M., Ishibashi, K., Gu, Y., Terada, Y., Kohara, Y., Marumo, F. and Sasaki, S.: A water channel of the nematode *Caenorhabditis elegans* and its implications for channel selectivity of MIP proteins. *The Am. J. Physiol.: Cell Physiol.* C1459-C1464 (1998).

(2)その他

1. 小原雄治:線虫*C.elegans*のポストゲノムシーケンスの総合戦略. *実験医学*, 16, 11-15(1998).
2. Fields, S., Kohara, Y. and Lockhart, D.J.: Functional Genomics. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1999 in press).

(3)発表講演

1. 小原雄治: 特定領域研究「ゲノムサイエンス」シンポジウム, 大阪, 1月.
2. 小原雄治: Post Genomics Era. 第1回日本線虫集会, 金沢, 7月.
3. 安達佳樹: T-box ファミリー遺伝子 *tbx-9* により転写調節を受ける遺伝子の探索. 第1回日本線虫集会, 金沢, 7月.
4. Kohara, Y.: The Genome as the Blueprint of Life. 1st Annual Symposium on Japanese-American Frontiers of Science, Irvine, CA, USA, 8月.
5. 小原雄治: ゲノムプロジェクトの将来と構造生物学. 第3回構造生物学シンポジウム「構造生物学の新ツール」, 三島, 9月.
6. 小原雄治: 線虫 *C.elegans* ゲノムの発現・機能マップ - 総遺伝情報の理解に向けて - . 第71回日本生化学会大会シンポジウム, 名古屋, 11月.
7. 小原雄治: 線虫 *C.elegans* における Post Genomics Era の総合戦略. 第9回シロイヌナズナワークショップ, 木更津, 11月.
8. Shin-i, T. and Kohara, Y.: NEXTEDB: The expression pattern map database for *C.elegans*. *Genome Informatics Workshop '98* 東京, 12月.
9. 小原雄治, 伊藤将弘, 新井 理, 大浪修一, 本橋智子, 長岡圭美, 廣野啓子, 小倉顕一: Toward 4-dimensional database for gene expression and function in *C.elegans*. 第21回日本分子生物学会年会シンポジウム, 横浜, 12月.

10. 伊藤将弘, 本橋智子, 水口洋平, 小原雄治: 線虫 *C. elegans* の発生・遺伝子発現の4次元データベース. 第21回日本分子生物学会年会ワークショップ, 横浜, 12月.
11. 新井 理, 本橋智子, 大庭登紀江, 杉浦郁子, 小原真澄, 渡邊小百合, 鈴木孝美, 上杉裕子, 佐野正子, 杉山康子, 野本久代, 大浪修一, 長岡圭美, 廣野啓子, 小原雄治: NEXTDB: *C. elegans* 発現パターンマップデータベース. 第21回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月.
12. 廣野啓子, 大浪修一, 小原雄治: RNAi による線虫 *C. elegans* 母性遺伝子の系統的機能解析. 第21回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月.
13. 大浪修一, 長岡圭美, 小原雄治: 線虫 *C. elegans* 胚における母性 mRNA 翻訳産物の発現パターン解析. 第21回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月.
14. 小倉顕一, 小原雄治: *C. elegans* の母性因子 POS-1 タンパク質と相互作用する分子の機能解析. 第21回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月.
15. 餅井 真, 吉田 悟, 森田清和, 小原雄治, 上野直人: High-density filter を用いた TGF- β により制御される線虫遺伝子のスクリーニング. 第21回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月.
16. 安達佳樹: 線虫 *C. elegans* T-box 遺伝子 *tbx-9* により転写調節を受ける遺伝子の探索. 第21回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月.

H. 構造遺伝学研究センター

構造遺伝学研究センターは、広い意味での構造生物学的手法を遺伝学に導入し、新しい分野を切り開くために、旧・遺伝情報研究センターを拡充・改組し、平成8年5月に設立された。このセンターは、現在、5研究室から成る。本年当初の教官メンバーは、超分子機能研究室が教授・嶋本伸雄と助手・永井宏樹、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・白木原康雄と助手・秋葉俊彦、遺伝子回路研究室が教授・小原雄治と助手・安達佳樹、生体高分子研究室が助教授・徳永万喜洋であったが、その後、大きな変動があった。すなわち、遺伝子回路研究室では、教授・小原雄治と助手・安達佳樹が、それぞれ3月1日付と10月16日付で、生物遺伝資源情報総合センター・生物遺伝資源情報研究室に、所内で配置換になった。また、超分子構造研究室の助手・秋葉俊彦が、10月31日付で農林水産省食品総合研究所の開放的融合特別研究員に転出した。今後はこれらの空席を埋めて、本センターをさらに発展させることが望まれる。

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、特別共同利用研究員として廣島通夫(大阪大学大学院基礎工学研究科博士課程)が加わって行った。遺伝研共同研究として、岩根敦子(大阪大学医学部)、木村富紀(関西医科大学)、斉藤 究(金沢大学理学部)が参加した。文部省科学研究費より基盤研究(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、(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な変化や動きの解明、(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、を目指し新しい光学顕微鏡の設計と開発を行っている。

(2)生体分子の1分子捕捉・操作・力計測：徳永万喜洋、喜多村和郎¹、岩根敦子¹、柳田敏雄¹(¹大阪大学医学部)

生体分子1個を生きたまま捕まえ操作する技術の開発により、分子1個に働く分子間相互作用を直接計測することが可能となった。

翻訳後修飾によりピオチン化されるタンパク質との融合タンパク質を、アビジン・ピオチン系を使って、生きたまま表面に固定する。表面をピオチン化した ZnO ウィスカー(先端の曲率半径は平均 17 nm)にアビジンを結合させたものを、プローブとして使い、タンパク質1分子を捕捉する。この方法で捕捉したミオシン頭部1分子が、ATP 存在下でアクチンと相互作用して発生する力を計測する事に成功した。1個のATP加水分解中に、約5.3nmのステップが複数回(最大5回)起こって、ミオシン頭部1分子がアクチン・フィラメント上を進む様子が直接計測された。

生体分子モーターであるアクチン・ミオシン系の分子機構に関して、長年の論争が行われてきたが、この問題に決着をつける重要な証拠を提供するものである。詳細は文献2に

発表した。

(3) ゆらぎを導入した滑り運動系によるモーター分子機構の解明：徳永万喜洋，岩根敦子¹，喜多村和郎¹，柳田敏雄¹（¹大阪大学医学部）

上記5.3nm ステップが，ミオシン頭部の構造変化に基づくものか，アクチン・モノマーの間隔に基づくものかを決定する実験を行った。ミオシン頭部(S1)を，BDTC(ピオチン化ペプチド)と制御軽鎖(RLC)との融合タンパク質を用いてアビジン経由でガラス表面に結合させると，双頭のミオシンと同程度に速く滑り運動することを見つけている。この系において，BDTCとRLCとの間にグリシン・リッチであるフレキシブルなペプチドを導入し，滑り運動の変化を計測した。最大12nmまで伸びうる柔らかいペプチドを導入しても，アクチンフィラメントは，導入する前の8割の速さで滑ることがわかった。

フレキシブル・ペプチドを導入しても，ATPase活性には変化がほとんど見られなかった。電子顕微鏡により，導入したフレキシブル・ペプチドが，期待される柔らかさを実際に示すことを確認した。滑り運動中のアクチン位置の画像解析から，滑り運動中もフレキシブル・ペプチドの柔らかさが保持され，アクチンフィラメントが揺らぎながら滑っていることを確かめた。

以上の結果は，従来言われてきた構造変化説では説明できず，生体分子モーターの分子機構として，揺らぎを使った確率的なモデルを支持している。

(4) 分子間力顕微鏡により計られた分子間相互作用の精密解析：廣島通夫¹，徳永万喜洋（¹大阪大学大学院基礎工学研究科，遺伝研特別共同利用研究員）

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ている。分子間力顕微鏡により，生体高分子と同程度サイズ(曲率半径約17nm)のプローブ表面(ZnOウィスカー)とガラス表面との間に働く力が，サブナノメートル・サブピコニュートンの分解能を持って，両者の距離の関数として計測されている。

これまでに広く受け入れられている理論(DLVO理論)によると，帯電表面間の力は，van der Waals引力と静電相互作用の和であるということになっている。ところが，分子間力顕微鏡による高感度計測の結果を，計算機を使って精密に解析したところ，表面が離れている場合にはvan der Waals引力が検出できず，静電相互作用のみで記述できることが明らかとなった。これは，分子間相互作用の基本的な性質を明らかとするもので，広い分野にまたがる重要な知見である。

(5) 動的な分子間相互作用に関する新しいモデル：徳永万喜洋

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

上記の1分子実験および揺らぎ実験は、このような理論的考察を基に、どのような実験をすればどちらのモデルが正しいと決定できるかを考えて、デザインしたものである。簡単な計算機シミュレーションは、非対称相互作用モデルがこれら実験結果をはじめとして、従来得られている多くの知見を説明できる事を示した。

研究業績

(1) 原著論文

1. Ishijima A., Kojima H., Funatsu T., Tokunaga M., Higuchi H., Tanaka H. and Yanagida T.: Simultaneous observation of individual ATPase and mechanical events by a single myosin molecule during interaction with actin. *Cell*, 92, 161-171, 1998.
2. 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. 徳永万喜洋：生体分子機能の1分子直視と計測．現代化学，328，26-30，1998．
2. 石島秋彦，小嶋寛明，徳永万喜洋：生体分子機能の1分子イメージング．蛋白質・核酸・酵素，43(10)，1365-1371，1998．
3. 廣島通夫，徳永万喜洋：分子間力顕微鏡と1分子技術．応用物理学会・有機分子バイオエレクトロニクス分科会会誌，9(4)，156-162，1998．
4. 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)，印刷中．
5. 徳永万喜洋：分子間力顕微鏡．「医学生物学の原子間力顕微鏡」(牛木辰男ら編)，西村書店，印刷中．

(3) 発表講演

1. Aoki T., Hiroshima M., Kitamura K., Tokunaga M. and Yanagida T.: Non-contact Scanning Probe Microscopy with Sub-piconewton Force Sensitivity. *Biophys. J.*, 74, A187, 1998.
2. Hiroshima M., Aoki T., Kitamura K., Tokunaga M. and Yanagida T.: Long Range Attractive Forces between Hydrophobic Surfaces Using a Molecular Size Probe and a Glass Coverslip Detected by Intermolecular Force Microscopy. *Biophys. J.*, 74, A187, 1998.
3. Iwane A. H., Funatsu T., Harada Y., Tokunaga M., Ohara O. and Yanagida T.: Single Molecular Assay of the Individual ATP Turnovers by a Myosin-GFP Fusion Protein Expressed *in vitro*. *Biophys. J.*, 74, A260, 1998.

4. Kitamura K., Tokunaga M., Iwane A. H. and Yanagida T.: Myosin Step Size Determined by Directly Manipulating a Single S1 Molecule with a Scanning Probe. *Biophys. J.*, 74, A265, 1998.
5. Ishijima, A., Kojima, H., Funatsu, T., Tokunaga, M., Higuchi, H., Tanaka, H. and Yanagida, T.: Simultaneous Observation of Individual ATPase and Mechanical Events by a Single Myosin Molecule during Interaction with Actin. *Biophys. J.*, 74, A265, 1998.
6. Tokunaga M., Kitamura K., Aoki T., Hiroshima M., Iwane A. H., Saito K. and Yanagida T.: Single Molecule Imaging of Interactions of Biological Macromolecules. Kazusa International Symposium: Recent Progress in Sequence and Structural Analysis of DNA, Kisarazu, Chiba, March, 1998.
7. Ishijima A., Kojima H., Funatsu T., Tokunaga M., Higuchi H., Tanaka H. and Yanagida T.: Simultaneous Observation of Individual ATPase and Mechanical Events by a Single Myosin Molecule during Interaction with Actin. Kazusa International Symposium: Recent Progress in Sequence and Structural Analysis of DNA, Kisarazu, Chiba, March, 1998.
8. Tokunaga M.: Single Molecule Technique of Imaging, Manipulation & Measurement of Interaction. AMBO Workshop I (Special Lectures) Experimental and Theoretical Approaches to Structural Biology, Natl. Inst. Genet., Apr, 1998.
9. 徳永万喜洋：1分子技術による生体分子機能のイメージング。国立遺伝学研究所研究会「ポストゲノム期のためのナノバイオロジーの手法」、遺伝研，7月。
10. 徳永万喜洋：ナノバイオロジーの新ツール -1分子技術-。第3回構造生物学シンポジウム「構造生物学の新ツール」，三島，9月。
11. 徳永万喜洋：分子間相互作用の1分子イメージング。日本生物物理学会第36回年会，福岡，10月。
12. 岩根敦子，徳永万喜洋，喜多村和郎，柳田敏雄：S1ネックをflexible chainを介して基板に結合させてもアクチンは良く走る。日本生物物理学会第36回年会，福岡，10月。
13. 喜多村和郎，徳永万喜洋，岩根敦子，柳田敏雄：1分子のミオシンS1が発生するステップ状の変位。日本生物物理学会第36回年会，福岡，10月。
14. 青木高明，曽和義幸，廣島通夫，徳永万喜洋，柳田敏雄：蛋白質重合体の非接触表面力イメージング。日本生物物理学会第36回年会，福岡，10月。
15. 廣島通夫，青木高明，徳永万喜洋，柳田敏雄：微小疎水表面間に作用する長距離引力。日本生物物理学会第36回年会，福岡，10月。
16. 徳永万喜洋：1分子技術で観るモーター分子機能。東京工業大学資源化学研究所セミナー，横浜，12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。本年の本研究室の主な研究活動は、嶋本伸雄教授と、永井宏樹助手、CREST 研究員 Ranjan Sen、久堀智子、総合研究員 大学院生・杵淵 隆、佐藤由美子、研究実験補助員・須佐太樹、堀内恵美で行なわれた。

遺伝研共同研究として鷲津正夫、黒沢 修、加畑博幸、山本貴富喜(京都大学工学研究科)、十川久美子(理研)、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 12 月より Tamas Gaal(ウイスコンシン大学マディソン校)、科研費国際共同研究として Dipankar Chatterji、Vijaya Gopal、Kakoli Mukherjee、Richard Hayward、Tatiana Kostioukovitch、それ以外の共同研究として荒牧弘範(第一薬科大)が参加した。

(1) 転写調節機構としてのプロモーターでの不活化複合体形成機構：嶋本伸雄、永井宏樹、Ranjan Sen¹、久堀智子¹、Dipankar Chatterji³、Kakoli Mukherjee³、Richard Hayward⁴、Tatiana Kostioukovitch⁴、Tamas Gaal⁵、V. James Hernandez⁶(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 COE 外国人招聘研究者米国ウイスコンシン大学マディソン校、⁶ ニューヨーク州立大学バッファロー校)

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

P_R プロモーターにおいて大腸菌 RNA ポリメラーゼは、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不活化複合体に変換する。

転写開始因子 RNA ポリメラーゼの ⁷⁰ サブユニットの 3.1 領域の変異は、abortive initiation を阻害するものがある。ヘパリン競合反応、過マンガン酸カリフットプリンティングを用いて、この阻害は、moribund 複合体の蓄積が減少する事によって起こり、その原因は moribund 複合体の関わる反応が早くなることであることが明らかになった(文献 2: V. James Hernandez との共同研究)。

P_R プロモーターにおいて形成された複合体を、各種 DNA フットプリンティングと⁷⁰の蛋白フットプリンティングを行った。その結果、不活化複合体と思われる構造体がプロモーターで形成され、その出現の経時変化は不活化複合体のもの一致した。これらを総合すると、不活化複合体は、DNA の銹型鎖との相互作用が弱くなっており、エクソヌクレアーゼ V によるフットプリントでは、プロモーター位置よりも 10 塩基以上後退していた。つまり、不活化複合体はポリメラーゼと DNA との相互配置が狂ったため、RNA 合成反応が出来ない複合体と考えられる。

RNA 切断因子 GreA/GreB 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、 P_R 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・ポリメラーゼ二体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、二体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。

(2) 大腸菌⁷⁰と^Aの生理的構造生物学的意義：永井宏樹，佐藤由美子，嶋本伸雄，Dipankar Chatterji¹，Kakoli Mukherjee¹，Vijaya Gopal¹，Richard Hayward²，Tatiana Kostioukoviitch² (¹ 科研費国際共同研究・インド Centre of Cellular and Molecular Biology, ² 同英国エジンバラ大学)

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

大腸菌⁷⁰や枯草菌^Aは、主要と呼ばれ、大部分の遺伝子の転写開始因子となっている。両者を比較すると、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、大腸菌には必須であるとの考えもあった。そこで、まず大腸菌の⁷⁰の欠損株を、⁷⁰をプラスミドから供給して作製し、枯草菌^Aや⁷⁰の挿入部分を削除したものの deINC がこの欠損株を相補するかどうか検討した。結果は全て相補をしたが、deINC では相補する温度領域が低温に限られた。In vitro では deINC は異常に難溶性であったが、^Aも deINC もホロ酵素は遜色のない活性を持っていた。この結果、挿入領域の役割の一つは、^Aの溶解度を保証することにあると考えられ、界面活性化ドメインであることが明らかになった。(Richard Hayward, Tatiana Kostioukoviitch との共同研究)

この研究の副産物として、inclusion bodiesから、従来法に比べ8-20倍の効率で可溶化出来るグリセロールを用いた方法を発明し(文献3)、HSP研究所をとおして特許を出願した(国際区分B01J 19/00(#144758))。

(3) 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, 鷲津正夫¹, 黒沢 修^{1,2}, 加畑博幸¹, 山本貴富喜¹, 荒牧弘範³(¹京都大学工学研究科,²アドバンス(株),³第一薬科大学)

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

このようなDNAを長くすることによって、特異的部位での親和性が高くなる効果をアンテナ効果と名付け、スライディングによるアンテナ効果の生理的条件下での存在を大腸菌 TrpR を用いて証明した。従来、TrpR は、特異的部位への結合定数と非特異的部位への結合定数との比が200-500であり、特異性の低い蛋白とされてきた。このような低い特異性では、理論的にも実験的にも1万コピーの蛋白が細胞あたり必要であるが、現実にはたった300コピーしか存在せず、長い間の矛盾であった。そこで、アンテナ効果を調べると、16塩基対から5k塩基対になるにつれて1万倍のアンテナ効果が存在した。つまり、菌細胞内のような比較的DNAが露出している環境では、特異的部位への結合定数と非特異的部位への結合定数との比は 10^5 以上になり、300コピーでも十分であることが説明できた。このアンテナ効果は、スライディングによるもので、DNAが蛋白質1分子に2カ所接触して安定化するルーピングではないことが、ピオチンを用いたDNAフラグメントの接続を利用して、証明できた。つまりTrpRの場合、スライディングの生理的役割は、細胞内コピー数の節約と言うことになる。

研究業績

(1) 原著論文

1. Nagai, H. & Shimamoto, N.: Most conserved regions of the *E. coli* primary sigma factor are involved in interaction with RNA polymerase core enzyme. *Gene Cells* 2, 725-734, 1998.
2. Sen, R., Nagai, H., Hernandez, V. J. and Shimamoto, N.: Reduction in abortive transcription from the P_R promoter by mutations in region 3 of the sigma-70

subunit of *E. coli* RNA polymerase. *J. Biol. Chem.* 273, 9872-9877, 1998.

3. Shimamoto, N., Kaschiukovich, T., Nagai, H. and Hayward, R. S.: Efficient solubilization of proteins overproduced as inclusion bodies by use of an extreme concentration of glycerol. *Tech. Tips Online* (electric journal), t01576, 1998.

(2)その他

1. 杵淵 隆, 嶋本伸雄: DNA 上におけるタンパク質のスライディング. *化学と生物* 36, 278-280, 1998.
2. 嶋本伸雄, 郷 通子: 遺伝子の構造生物学. Vol. 2, 196, 共立出版, 東京, 1998.

(3)発表講演

1. Shimamoto, N., Kubori, T., Sen, R. & Nagai, H.: Integrated model of productive/abortive synthesis and activation//inactivation during transcription initiation. *Asian Transcription Conference V, Lorne, Australia.*, 2月.
2. Shimamoto, N.: Control of transcription initiation by inactivating a binary complex. *Derby, England* 3月.
3. Shimamoto, N.: Sliding of protein along DNA: hidden strategy of DNA binding proteins. *Gordon Research Conference "Lasers in Medicine and Biology" Meriden, New Hampshire, U.S.A.* 7月.
4. 黒沢 修, 鷲津正夫, 神谷 大, 加畑博幸, 山本貴富喜, 嶋本伸雄: 犠牲層エッチングによる断片化 DNA の薄利回収. *日本生物物理学会年会, 福岡市, 10月.*
5. 嶋本伸雄: DNA 蛋白質結合の1分子ダイナミクスと化学法則からの逸脱. *日本生物物理学会年会, 福岡市, 10月.*
6. 久堀智子, 永井宏樹, Ranjan Sen, 嶋本伸雄: 転写制御因子 GreA/GreB による遺伝子発現調節, *日本分子生物学会年会, 名古屋市, 12月.*
7. 杵淵 隆, 嶋本伸雄, 加畑博幸, 黒沢 修, 鷲津正夫: DNA 結合蛋白質のスライディングの生物学的意義. *日本分子生物学会年会, 名古屋市, 12月.*
8. 佐藤由美子, 永井宏樹, 嶋本伸雄: 大腸菌 rpoD 欠損株の構築, *日本分子生物学会年会, 名古屋市, 12月.*
9. 永井宏樹, 嶋本伸雄: 温度センサとしての sigma-70, *日本分子生物学会年会, 名古屋市, 12月.*

H-c. 構造制御研究室

構造制御研究室では、線虫 *C. elegans* を材料として行動と神経機能の分子生物学的研究を行っている。本年の研究室メンバーは、教授・桂 勲、助手・石原 健、学振PD・菱田 竜一、同・宮原浩二、COE 非常勤研究員・武内昌哉(3月まで総合研究大学院大学大学院生、4月から9月まで遺伝研研究生)、大学院生・藤原 学(総合研究大学院大学)、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(旧姓・最美)の助けを受けた。本年度は文部省科学研究費より、基盤研究(B)(2)「線虫 *C. elegans* の神経機能の分子生物学的解析」(代表者: 桂)、重点領域研究(神経可塑性)(1)「可塑性を制御する遺伝子の探索」(代表者: 野田 亮(京大・医)、班員: 石原)、奨励研究(A)「線虫 *C. elegans* の神経回路における情報処理機構の逆遺伝学による解析」(代表者: 石原)の援助を受けた。

(1)線虫 *C. elegans* のフッ素イオン耐性変異の解析: 武内昌哉, 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(Katsura, I. et al., 1994, *Genetics*, 136: 145-154)。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、強耐性変異(*f1r-1*, *f1r-3*, *f1r-4*)と弱耐性変異(*f1r-2*, *f1r-5*)に分類される。以下の研究結果より、腸に強耐性変異遺伝子産物から成る調節系があり、これがフッ素イオンに応答するほかに、多様な遺伝子機能を制御すると予想し、研究を進めている。

強耐性変異(*f1r-1*, *f1r-3*, *f1r-4*)は、他に、脱糞周期が短く、脱糞の排出過程がしばしば欠落するという表現型をもつ。また、軽度の変異以外は、成長遅延と合成 dauer 構成性(下記(2)参照)を示す。*f1r-1*はdegenerin/ENaCスーパー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 キナーゼをコードする。*f1r-3*変異をレスキューするゲノム DNA 断片は、キナーゼ様分子(やはりC末端側に疎水性配列を持つ)と新規のタンパク質の情報を持つポリシストロニック mRNA を生産する。*f1r-1::GFP* 融合遺伝子は、胚発生のコンマ期から成虫期まで、腸でのみ発現する。また、*f1r-4::GFP* 融合遺伝子は、胚発生の1.5-fold期以降の腸、3-fold期以降の咽頭峡部筋肉、L1 幼虫期以降のAUA神経(頭部にある一対の神経)で発現する。これらのGFP融合遺伝子はコード領域の3' 端にGFPのcDNAをつないだもので、各変異体の表現型をレスキューする。したがって、線虫が野生型表現型を示すためには、上記の発現部位・時期で十分と考えられる。

弱耐性変異は、遺伝学的に強耐性変異と相互作用する。すなわち、強耐性変異の表現型の中で、成長遅延と合成 dauer 構成性は弱耐性変異によって抑圧されるが、フッ素イオン強耐性と脱糞の異常は抑圧されない。

本年の研究では、以下の結果を得た。

1) *f1r-3* 変異をレスキューするゲノム DNA 断片を改変し、2つのORFのそれぞれにナンセンス変異を導入したDNAを作成した。その各々についてレスキュー活性を調べたところ、*f1r-3* 遺伝子がキナーゼ様分子をコードすることが明らかになった。

2) 野生型および *f1r-4* 変異体のAUA神経を破壊して脱糞周期と成長速度の表現型を調べた

が、破壊しない虫と変らなかった。これらの表現型に関して、AUA 神経は必須ではない。

3) フッ素イオンは、野生型の脱糞周期を延ばすが、強耐性変異体の脱糞周期は変えない。これから、フッ素イオンは野生型の強耐性遺伝子産物を活性化することにより脱糞周期を長くし、過剰な活性化が続くと虫に致死作用を及ぼすことが考えられる。

4) flr-4 の変異は、スプライス・アクセプターの変異、キナーゼドメインのミスセンス変異、C 端側の疎水性領域のミスセンス変異に分類される。フッ素イオン耐性・脱糞周期異常・排出過程欠落は全変異に共通である。キナーゼドメインの変異体 2 つは、温度感受性で、成長速度がほぼ正常、合成 dauer 構成性の浸透度が低い。また、疎水性領域の変異体は、フッ素イオンまたは低浸透圧条件により、脱糞の排出過程の部分的欠落が抑圧される。

5) flr-3 変異体に野生型 flr-4 遺伝子を多コピー導入すると、変異表現型が抑圧される。この結果は FLR-3 が FLR-4 の活性化因子と考えたと説明できる。FLR-3 は分子全体に渡って FLR-4 と弱いホモロジーがあり、もし FLR-3 が FLR-4 に結合する場合は、これが意味を持つのかもかもしれない。

6) flr-2 遺伝子をレスキュー法によりクローニングしたところ、gremlin/DAN/cerberus ファミリーに属する TGF- 阻害因子をコードすることがわかった。既存の flr-2 変異 2 つは、いずれも保存されたアミノ酸のミスセンス変異であった。C. elegans のゲノムには 4 つの TGF- 遺伝子があるが、flr-2 がどの経路にかかわるかを、現在、決定しようとしている。

(2) 合成 dauer 幼虫形成変異の解析: 宮原浩二, 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 齢幼虫の代わりに 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、合成 dauer 構成性を抑圧する変異による抑圧パターンを調べることにより、感覚情報処理回路とそこで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。

本年は、これらの変異のうち、sdf-1 遺伝子(1株)と sdf-13 遺伝子(2株)の変異を詳細に調べた。以前より sdf-1 変異体は、野生型の虫が好むベンズアルデヒドから逃げる事がわかっていて、本年の研究で、野生型が正の走化性を示すイソアミルアルコール、ブタノン、NaCl、リジンにも負の走化性を示し、温度走性は好熱性になるなど、広範囲の異常が判明した。なお、ジアセチル、ピラジン、チアゾールへの走化性と高浸透圧への応答は正常だった。また、オクタノールには、野生型より強い忌避反応を示した。sdf-13 変異体は、ベンズアルデヒドやイソアミルアルコールに対する走化性に異常はなかったが、それらに対する順応が起こりにくいという異常が見つかった。このように、合成 dauer 構成性表現型を指標にして、種々の感覚機能に異常をもつ変異体が分離できることが示された。遺伝子導入法により sdf-13 遺伝子をクローニングしたところ、T-box をもつ転写因子(マウスの Tbx2 やショウジョウバエの Omb のホモログ)をコードすることがわかった。現在、遺伝子発現の時期や部位を手がかりに、分子機能と変異表現型の関係を知ろうとしている。

(3) *C. elegans* の感覚繊毛形成に必要な che-2 遺伝子の解析: 藤原 学, 石原 健, 桂 勲

che-2 遺伝子の変異体は、多くの感覚神経の先端にある感覚繊毛が非常に短く、繊毛基部より後方に異常な突起ができる。また、これらの神経が関与する走化性・高浸透圧忌避などの行動に異常を示す。che-2 遺伝子をクローニングしたところ、それは N 末端側に WD40 レピートをもつ新規のタンパク質をコードしていた。既存の変異体のうち、WD40 レピート部分のミスセンス変異体は強い走化性異常と弱い高浸透圧忌避異常を示したが、C 末端近くのナンセンス変異体 2 株は双方に強い異常を示した。che-2 コード領域の 3' 末端に GFP をつけた融合遺伝子(CHE-2 活性をもつ融合タンパク質を作る)は、繊毛を持つ感覚神経のほぼ全て(AFD, BAG 神経以外)で発現し、GFP は感覚繊毛に局在した。che-2 変異体において一部の感覚神経でのみ che-2 を発現させると、発現した細胞の機能と繊毛形態のみが、回復した。これから、che-2 遺伝子は細胞自律的に働くことがわかった。GFP で感覚繊毛を可視化して発生過程での感覚繊毛形成を追跡したところ、野生型では繊毛の伸長が胚発生後に起きること、che-2 変異体ではいったん繊毛が伸張するが次にそれが変性して異常な後方突起ができるのではなく、繊毛伸長が全く起きないことがわかった。熱ショックプロモーターを che-2 遺伝子につないで che-2 変異体に導入し、様々な時期に che-2 を強制発現させたところ、胚や一齢幼虫での発現だけでなく、成虫になってからの発現でも繊毛が伸張することがわかった。ただし、成虫時に伸張した繊毛には曲がったものが見られる。正常な発生では、繊毛の伸長はソケット細胞により繊毛の入る穴が形成されるのと連携するが、成虫時の伸長ではこの制御が外れたためと思われる。また、この実験で che-2 の発現が止まると、繊毛はゆっくりと短くなるが見つかった。これらの結果から、感覚繊毛形成のプログラムは時期に関して柔軟性があること、CHE-2 タンパク質が感覚繊毛構造の形成だけでなく保持にも必要なことがわかった。

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

線虫 *C. elegans* は、銅イオンのような重金属イオンや匂い物質等を頭部の別々の感覚神

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

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

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

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*変異株は、野生型に比べ、餌が十分にある条件で匂い物質への走化性より銅イオンからの忌避を優先したが、匂い物質や銅イオンに対する各々の応答性は正常であった。このことは、*ut236*変異株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。*ut235*変異株では、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*変異株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*の二重変異株では、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。*ut236*変異体の原因遺伝子を同定するため、この変異がマップされた約1MBの領域にあるcosmidを遺伝子導入することによる表現型の回復を調べている。

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

(5)PDZドメインをもつ遺伝子の逆遺伝学：菱田竜一，石原 健，桂 勲

PDZドメインは、蛋白質間の結合に使われ、膜貫通型受容体やイオンチャネルなどをクラスター形成させ、かつ細胞膜内で特定の場所に局在させるといわれる。我々は、*C.elegans*

のゲノム塩基配列よりPDZドメインをもつ蛋白質をコードする遺伝子を探し、GFP融合遺伝子を作成して発現の部位と時期を検討した。その結果、興味をもった2つの遺伝子について遺伝子破壊を行って、表現型を調べた。1つはPDZドメインのC末端側にMDM1(中間径繊維の1つ)様の配列をもつ蛋白質で、幼虫から成虫にかけて多数の神経細胞・排泄細胞・陰門の縁で発現する。細胞内では細胞質中に顆粒状に局在し、細胞核を前後に挟んでいることが多い。この遺伝子のMDM1様の配列を欠失する変異体を分離したが、目立った表現型はなかった。もう1つはMAGI-1ホモログで、グアニル酸キナーゼ様配列・2つのWWドメイン・5つのPDZドメインをもつ。GFP融合遺伝子は胚から幼虫の腸細胞、胚から成虫の側面下皮細胞、幼虫から成虫の頭部神経細胞・肛門・腹部下皮細胞・子宮・貯精囊・卵巣の遠位端細胞で発現する。また、少なくとも3種類の転写産物が存在する。グアニル酸キナーゼ様配列を欠失する変異体は目立った表現型をもたなかったが、多コピー導入による過剰発現で、側面のseam cellの形態が異常になる個体が少数みられた。

研究業績

(1)原著論文

1. Take-uchi M., Kawakami M., Ishihara T., Amano T., Kondo K. and Katsura I.: An ion channel of the degenerin/epithelial sodium channel superfamily controls the defecation rhythm in *C. elegans*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 95, 11775-11780 (1998).
2. Takanami T., Sato S., Ishihara T., Katsura I., Takahashi H. and Higashitani, A.: Characterization of a *Caenorhabditis elegans* *recA*-like gene *Ce-rdh-1* involved in meiotic recombination. DNA Research, 5, 373-377 (1998).

(2)その他

1. 桂 勲, 石原 健: 線虫 *C. elegans* 実験法(1). 実験医学, 16(1), 71-77, 1998.
2. 桂 勲, 石原 健: 線虫 *C. elegans* 実験法(2). 実験医学, 16(2), 155-160, 1998.

(3)発表講演

1. 桂 勲: 神経回路の中で遺伝子の働く順序をどのようにして決めるか。日本生物物理学会第36回年会, 福岡, 10月。
2. 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の解析。第21回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月。
3. 菱田竜一, 石原 健, 桂 勲: 線虫 *C. elegans* のMAGI-1ホモログの解析。第21回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月。
4. 宮原浩二, 鈴木教郎, 石原 健, 桂 勲: 線虫の様々な行動に關与する *sdf-1* 変異体の解析。第21回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月。

5. 武内昌哉, 石原 健, 桂 勲: 線虫 *C. elegans* の脱糞行動リズムに関与する *f1r* 遺伝子群の解析. 第21回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月.
6. 藤原 学, 石原 健, 桂 勲: *C. elegans* の感覚繊毛形成に関わる *che-2* 遺伝子はWD40リピートを持つ新規なタンパクをコードする. 第21回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月.
7. 最美あかね, 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クローニング. 第21回日本分子生物学会年会, 横浜, 12月.

H-d. 超分子構造研究室

当研究室では、遺伝学を中心とした生物学における様々な機構を分子レベルで理解するために、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。

超分子構造研究室の研究活動は、助教授・白木原康雄, 助手・秋葉俊彦, COE非常勤研究員・村上勝彦, 総合研究大学院2年・福司功治のメンバーによって行われた。更に、遺伝研共同研究として荒牧弘範(第一薬科大学), 山登一郎, 田中角則(東京理科大学)が参加し, また吉田賢右, 天野豊己, 宗行英朗, 加藤康之, 角田 聡(東京工業大学・資源化学研究所), 牧野耕三(大阪大学・微生物病研究所), 西村善文(横浜市立大大学院), 木村 誠, 石浜 明(分子遺伝研究部門)太田 力, 小川智子(細胞遺伝研究部門)と協力して研究を行った。

(1)F1-ATPaseのX線結晶解析: 白木原康雄, 村上勝彦, 吉田賢右, 天野豊己, 宗行英朗, 加藤康之, 角田 聡

F1ATPase(F1, サブユニット構成 3×3)は、呼吸鎖が形成する膜を隔てた水素イオンの濃度差をATPに変換するATP合成酵素の、膜から突き出した部分である。超分子構造解析として、私たちが解いた 3×3 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、F1の機能構造相関を詳細に理解することを目的として種々のサブユニット集合体の構造解析を行っている。

3×3 複合体構造を、先に解かれたヌクレオチドの結合したミトコンドリアF1の構造と比較することにより、主要サブユニット α , β が形成する 3×3 複合体部分が、(1)小さなサブユニット α , β との相互作用、(2)ヌクレオチド結合、の2つの条件の違いにより大きな構造変化をすることがわかった。この構造変化に上の2つの条件の違いのうちどちらがより多く寄与するかを調べるために、今年度もヌクレオチド結合型の 3×3 複合体構造解析と 3×3 複合体(F1とほぼ同様な酵素的な性質を示す複合体)の結晶化を引き続き行った。

ヌクレオチド結合型の 3×3 複合体構造解析については、12種のヌクレオチドを含む液に浸した 3×3 複合体結晶からの回折データを引き続き解析した。見かけ上大きな構造

変化が期待された ATP, MgADP の場合, 結晶内での分子の向きが異なるだけで, その 3 3 複合体自体の構造は他のリガンド浸透型結晶の場合と同様, ヌクレオチド非結合型の場合と比べて殆ど変わらなかった。しかし, 詳細に密度分布図を検討すると, 全てのリガンド浸透型結晶共通の特徴として, ヌクレオチド非結合型の場合と比べて, リン酸結合性 P-loop のリガンド結合性が サブユニットで弱くなっていることが浮かび上がってきた。

3 3 複合体の結晶化では昨年度, 標品の純度の向上, 結合ヌクレオチドの制御, 標品の保存条件の改善など蛋白がわの検討と同時に結晶化条件の検討も加えたが, ときおり大きい結晶ができるものの, 再現性に乏しい, 結晶が融解しやすいなどの問題があった。放射光での実験では結晶が融解しやすいために, 非常に低い分解能の回折斑点を記録できただけであった。今年には更に精製, 結晶化条件を検討し, 精製に関しては 60 度 1 時間程度の熱処理をする, 硫酸分画を併用する, などの手段をこらうとすると結晶化再現性が向上すること, 結晶化に関しては添加ヌクレオチドとして ATP S が有効なこと, 結晶の融解を防ぐために従来の 15 度での結晶化を 25 度で行うようにすると沈殿剤の種類, 最適 pH が変わることなどをみだし, これらは全体として結晶化の再現性, 形状, 大きさの向上, 結晶の扱いやすさの向上に大きく寄与した。

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

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

PhoB 蛋白質でのリン酸化に依存したドメイン間の相互作用に基づく制御機構を解明する目的で, PhoB 蛋白質全体の大量精製と結晶化実験を行っている。昨年度確立した大量発現条件, 精製法を使い, 非リン酸化条件下で結晶化条件を Hampton crystal Screen を用いて探索したが結晶は得られなかった。精製法を再検討してみたところ, ヘパリンカラムによる粗精製の前に, 細胞破碎液に含まれるヌクレオチドを前処理によって除くとよりよい純度のものが得られることがわかった。更にリン酸化したものの結晶化をおこなうため Acetyl Phosphate を使ってみたが, Acetyl Phosphate 存在下では二量体が共存しており, この問題の解決を行っている。

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

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

数年にわたる結晶化条件の検討の結果, 二つの結晶型が得られていた。一つはリン酸を沈殿剤として用いたときに得られ, タンパク質標品の純度に非敏感な結晶型である。二つめはポリエチレングリコールを沈殿剤として用いたときに得られ, タンパク質標品の純度

に敏感な結晶型であるが、この結晶型に関してはこの数年以前と比べて半分程度の大きさのものしか得られなくなった。そこで、大量発現系を従来のPLプロモーターの系から効率の良いT7の系にかえ純度を5倍程度向上させると同時にタンパク質の精製法、結晶化用のサンプル準備法特に溶液のpH、等を見直した結果、従来のものより大きくて形の良い結晶が得られ始めた。ポリエチレングリコールとリン酸とで得られる結晶は殆ど同様の単位格子を持つことがX線結晶解析でわかったが、双方の結晶の温度変化に敏感な性質を回避しないと先の解析がいかないこともわかった。

(4)RNAポリメラーゼとそのサブユニットの結晶化：大腸菌RNAポリメラーゼ、サブユニット、イーストRNAポリメラーゼのサブユニット：村上勝彦，木村 誠，白木原康雄，石浜 明
大腸菌RNAポリメラーゼは₂のコア酵素(分子量38万)，₂₇₀のホロ酵素(分子量45万)の形をとる巨大分子である。昨年度からひきついでおこなったサブユニットの結晶の改善は大変困難であったので、今年度はコア酵素，ホロ酵素の結晶化実験に努力を集中した。酵素の精製を容易にするためコア酵素を大量生産する大腸菌(BL21(DE3)/pGEMABC)をつくった。これにより従来の大腸菌野生型からの精製に比べて収量を約5倍増加させることができた。高度に精製したコア酵素，ホロ酵素について，Hampton Research社のCrystal screening kitなどを用いて結晶化条件を系統的に探索したが結晶は得られなかった。動的光散乱を用いて会合条件を検討したところ，両酵素についてpH，Mgイオン濃度，トリス緩衝液の場合対イオンの種類，塩化ナトリウム濃度に複雑に依存することがわかり，あらかじめ会合していない条件下の近傍で沈殿剤の濃度をふって結晶化を更に試みている。

イーストのRNAポリメラーゼは12種のサブユニットからなる巨大複合体であるため，大量生産系が確立しているサブユニットについて結晶化実験を計画した。そのうち，Rpb11は動的光散乱，ゲル濾過から巨大集合体を作ることが判明したので，Rpb6についてその結晶化条件を系統的に探索したが結晶は得られていない。

(5)Mre11断片-GST融合蛋白質の結晶化：村上勝彦，太田 力，白木原康雄，小川智子

Mre11蛋白質は，酵母で遺伝子組換えの初期にRAD50とともにDNA切断を行う蛋白質である。この蛋白質のなかで，DNA結合活性を持つ70アミノ酸鎖が，GST融合蛋白質として高度に精製されている。GST蛋白質にこのように短い断片が融合したものは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て，GST融合蛋白質の結晶化条件の近傍の条件，及び一般的な条件を探索する結晶化実験を行った。しかし予想に反し結晶は得られなかった。GSTをはずした断片だけを対象にするのが良いと考えている。

(6)イオン輸送性V型ATPaseの結晶化：田中角則，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 3 3 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 の回折斑点を与える。更に精製条件、結晶化条件の検討を計画している。

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(印刷中)。

(2)発表講演

1. 白木原康雄：F1-ATPase 3 3複合体の X線構造解析。PF シンポジウム，つくば，4 月。
2. Shirakihara, Y.: Crystal structure analysis of F1-ATPase: An example of structure solution of a large molecular assembly. AMBO Workshops and Training Courses GENE EXPRESSION. Mishima. April.
3. 白木原康雄：X線結晶解析の新ツール。構造生物学シンポジウム。三島，9月。
4. 白木原康雄，神原 稔，海原千歳，天野豊己，吉田賢右：F1-ATPase 3 3複合体のヌクレオチド結合型の構造解析。日本生物物理学会 36 回年会，福岡，10月。
5. Shirakihara, Y., Leslie, A.G.W., Abrahams, J. P., Walker, J. E., Ueda, T., Sekimoto, Y., Kambara, M., Saika, K., Kagawa Y. & Yoshida M.: Crystal structure of 3 3 complex of F1-ATPase from a thermophilic Bacillus PS3. Japan and European seminar on Bioenergetics and Mitochondria. Bari. Italy. November.

I. 生命情報研究センター

当センターは、生命情報科学に関する研究を行うとともに、DDBJ(日本DNAデータバンク)研究事業を担当することを目的に、平成7年4月に設立された。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、五條孝教授、池尾一穂助手、今西規助手で構成されている。今西助手は平成10年10月より米国シアトル市のワシントン大学ゲノムセンターのPhil Green博士のもとへ留学中である。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市川恵子、岩瀬正子、因間美恵、上田陽子、内田玲子、江嶋真由美、遠藤紀子、大久保信孝、岡根谷美英子、奥田啓子、川本たつ子、佐藤由美子、仕田原容、島田明美、杉山順子、鈴木あかね、鈴木利紀子、大藤由紀子、田辺理恵、筒井波留、柳楽幸子、成田智子、野村貴美子、長谷川麻子、浜松千賀、服部叔恵、平島美恵子、堀江元乃、堀口達矢、室谷淳一、安田徳一、山本ゆか、渡辺昭乃という多くの人々が協力して参画した。

I-a. 遺伝情報分析研究室

当研究室は、五條堀孝教授、池尾一穂助手、今西 規助手により構成され、分子進化学を中心とした遺伝情報の分析を行うとともに、DDBJ研究事業にも中心的に参画している。当研究室では、角山和久が総合研究大学院大学の博士課程3年生として在籍している。また、秋田大学医学部大学院博士課程4年生の鈴木善幸、奈良先端研究大学院大学3年生の伊藤剛が特別研究生として、Silvana Gaudieri、Matthew Bellgard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。竹崎直子は技術補佐員として研究活動を行った。遠藤俊徳、高橋一成は、博士研究員として、それぞれハーバード大、大阪大学にて研究に従事している。小見山智義は湧永製薬株式会社の受託研究員として研究に協力した。新井 理は、継続して帝人システムテクノロジー株式会社からの受託研究員として、研究に協力した。また、小野浩明、梅原由美、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) ロタウイルスにおける遺伝子内組換え：鈴木善幸¹、五條堀孝(¹ 秋田大学医学部)

グループAロタウイルスは、世界中で乳幼児に下痢症を起こさせる最も重要な病原体である。ウイルス粒子の外殻を構成するVP7は、宿主の免疫応答によるウイルス粒子の中和反応における主要な標的分子であり、中和試験により14の血清型が同定されている。ロタウイルスの抗原変異株を作り出す主要な機構としては塩基置換、遺伝子再集合、遺伝子再編成が報告されているが、いまだ遺伝子内組換えが起こったという報告はなされていない。本研究は、ロタウイルスのVP7遺伝子において遺伝子内組換えが起こった証拠を分子進化学的に検証することを目的として行われた。その結果、CH55とCHW17という2つの株が2つの異なる血清型をもつ株の間の遺伝子内組換え体であることが結論づけられた。これはロタウイルスにおける遺伝子内組換えの最初の発見である。現在最も有力視されているロタウイルス感染に対する予防策は、小児の間で流行している主要な血清型を含むような多価の遺伝子再集合体をワクチンとして接種するというものである。しかしながら、VP7の抗原性には異なるアミノ酸座位間の相互作用が関与していることが示唆されており、遺

伝子内組換えにより VP7 遺伝子内部にモザイク構造をつくり出すことによって、ロタウイルスは多価ワクチンにより引き起こされた免疫応答から逃れられる変異体を創り出す可能性がある。このことは、ロタウイルスの有効なワクチン開発を目指す上できわめて重要な基礎資料を提供するものである。

(2)GB ウイルス C/G 型肝炎ウイルスの進化速度：鈴木善幸，片山和彦¹，福士秀悦¹，影山努¹，大谷 明¹，岡本博文²，田中靖人³，溝上雅史³，五條堀孝¹(株)BML，²杏林大医，³名市大医)

GB ウイルス C/G 型肝炎ウイルス (GBV-C/HGV) は 1995 年に慢性肝炎の原因ウイルスとして単離された。このウイルスについてはすでに進化速度が推定されており、座位当り年当り 10^{-3} から 10^{-4} 個のオーダーであると考えられていた。しかしながら、これらの推定に用いられた方法には、進化速度を過大に推定する可能性があるという問題点が指摘されていた。本研究は GBV-C/HGV の進化的歴史を明らかにするために行われた。まず、以前とは異なった方法で GBV-C/HGV の進化速度を推定しなおしてみると、それは座位当り年当り 9.0×10^{-6} 個以下であろうと推定された。これは今まで考えられていた進化速度よりも約 1,000 倍も遅い値であった。また系統樹解析においては GBV-C/HGV に存在する 3 つの遺伝子型のうち、HG タイプと呼ばれるものが最初に分岐したこと、またその分岐がおよそ 7,000 年から 10,000 年よりも以前であろうと推定された。GBV-C/HGV でみられた遅い進化速度は、このウイルスが宿主の体内で持続感染する機構としてヒト免疫不全ウイルスや C 型肝炎ウイルスとは異なったものが考えられることを示唆しており、実験データとも一致していた。

(3) 遺伝子内部領域における同義置換の不均一性から見た遺伝子の進化様式：角山和久，Matthew I Bellgard¹，五條堀孝¹(Murdoch University)

遺伝子の翻訳領域における塩基置換には、対応するアミノ酸が変化する「非同義置換」とアミノ酸が変化しない「同義置換」の 2 種類がある。同義置換は、アミノ酸配列を変化させないため、タンパク質レベルの機能的制約をまったく受けない。したがって、DNA レベルや mRNA レベルの影響がないとすれば、同義置換は自然突然変異による塩基置換をそのまま反映していることになる。さらに、突然変異率が一定であるとすると、遺伝子領域内の同義置換速度も、領域によらず一定であることが期待される。しかし、幾つかの遺伝子では、同義置換速度が遺伝子領域によって変化していることが指摘され、遺伝子領域内の同義置換速度の一定性にたいして議論があった。本研究では、これを解決するため、マウスとラットの両方で DNA 配列がわかっている 418 遺伝子の相同配列をデータベースから抽出し、さらに、ゲノムの配列が完全に決定された *Mycoplasma genitalium* と *Mycoplasma pneumoniae* から 84 遺伝子を抽出して、遺伝子ごとに内部領域の同義置換率を推定した。その結果、マウスとラットの比較では 92 パーセント、マイコプラズマでは 94% もの遺伝子において、同義置換率が遺伝子領域内で有為に変動していることが明らかになった。このことから、同義置換に対しても DNA レベルや mRNA レベルで働く機能的制約が影響しているか、あるいは遺伝子領域内において突然変異率が一定ではない可能性が示唆された。そこで、

遺伝子領域内の同義置換率の変動の原因にたいする幾つかの仮説をたて、マウスとラットの相同遺伝子を用いて、検証をおこなった。遺伝子内部領域における非同義置換、同義コードンの使用頻度、GC含量、突然変異率、そしてmRNAの2次構造について、同義置換との相関を解析した結果、2塩基配列5'-CG-3'が、TGまたはCAに変化することによる同義置換が多数観測され、他の仮説よりも強い相関を示すことが明らかになった。このことは、遺伝子内部領域における同義置換の不均一性は、機能的制約が原因であるというよりも、突然変異率の不均一性が原因であることを示している。

(4)大腸菌 K-12 株の二つのサブストレイン間でのゲノム比較による短期間における進化の解析：伊藤 剛¹，五條堀孝¹(¹奈良先端科学技術大学院大学)

大腸菌はおよそ4.6Mbの環状二本鎖DNAのゲノムを持ち、最も良く研究されて来たモデル生物の一つである。日本の大腸菌ゲノム計画は大腸菌 K-12 株の配列を、主にサブストレイン W3110を用いて決定している。また、Wisconsin大学のF.R.Blattnerを中心とするグループによって、サブストレインMG1655の全ゲノム配列が1997年に決定されている。我々はこれら約40年前に分岐した二つのゲノムの塩基配列を2Mbに渡って直接比較し、大腸菌における塩基変化速度の算出を試みた。まず、Stanford大学のR.W.Davisらによって決定された526kbのMG1655の配列をBlattnerらの配列と比較したところ、配列決定における誤差は塩基部位当たり 2.57×10^{-5} と見積もられた。この誤差を考慮すると、サブストレイン間での塩基変化は塩基部位当たり 2.24×10^{-5} であった。二つのサブストレインが約40年前に分岐したこと、また、MG1655が突然変異原にさらされたことを考慮に入れると、塩基変化速度は塩基部位及び年当たりおよそ 10^{-7} もしくはそれ以下と見積もられた。我々はさらに大腸菌と赤痢菌の部分的なゲノム配列比較を行い、これら腸内細菌間での塩基変化速度が大腸菌サブストレイン間での速度と一致すること、さらにはRNAウイルスよりは遙かに遅く、およそ 10^{-9} という、哺乳動物と同じくらいの速度である可能性があることを明らかにした。また、大腸菌間の比較において、一つの溶源性ファージと九つの挿入配列(IS)による大きな挿入・欠失が発見された。ISは年当たり0.25回という高頻度で転位していることが明らかになり、さらに、進化の過程でゲノム再編成に重要な役割を果たす可能性が示唆された。

(5)ミトコンドリア全配列データから作成された脊椎動物の正しい系統樹と間違った系統樹：竹崎直子

ミトコンドリアの全蛋白コード遺伝子の配列を用いた種の系統関係の推定が最近よく行われている。以前の研究では、哺乳類、鳥類、両生類、魚類にわたる、11の生物種のミトコンドリアの全蛋白コード遺伝子による系統樹は生物学的に確立されている脊椎動物の系統樹と一致した。また、この系統樹の樹形は統計的有意性をもって指示された。

しかし、この11の生物種のミトコンドリア蛋白遺伝子系統樹にヤツメウナギとウニが加えられた時、脊椎動物の系統樹の樹根は哺乳類と鳥類・両生類・魚類の間または、哺乳類・鳥類と両生類・魚類の間につけられた。これは、生物学的に知られている系統関係と明ら

かに食い違うものであるが、このヤツメウナギとウニを含むミトコンドリアの系統樹の樹形は再び、高いブートストラップ値により統計的有意性をもって指示された。

本研究では、なぜこのように生物学的に間違った系統樹がミトコンドリアの全蛋白コード遺伝子の配列から作成されたのかを調べた。以前、間違った系統樹は、アミノ酸組成の変化や、疎水性アミノ酸を持つ座位で起こった多重置換によるホモブラシーのために起こったのではないかと示唆されていた。

しかし、本研究の結果は、これらは脊椎動物のミトコンドリア系統樹の間違った樹根の位置の原因ではないということを示した。本研究によれば、正しい系統樹を作成するにはアミノ酸置換速度の座位ごとの違い、アミノ酸間の異なる置換確率を考慮することが重要であった。ミトコンドリアのアミノ酸配列の置換速度は脊椎動物のいろいろなグループで大きく異なる。このような場合、正しい樹形を得るには実際の置換パターンに近い置換モデルを用いることが重要であることがコンピュータシミュレーションによる研究で知られている。アミノ酸置換速度の座位ごとの違いを考慮することによって、脊椎動物のミトコンドリア蛋白遺伝子系統樹に正しい樹根の位置が得られた。

Takezaki, N. and T. Gojobori: Correct and incorrect vertebrate phylogenies obtained by the entire mitochondrial DNA sequence. *Mol. Biol. Evol.* In press.

(6)ゲノム全配列に対するゲノム情報学的、分子進化学的研究: Matthew I Bellgard¹, 五條掘孝¹(Murdoch University)

ゲノム全構造の決定が終了した*M. genitalium*と*M. pneumoniae*の全ゲノム配列データを生命情報学的なアプローチを用いて改めて調べた結果、新しいORFを見つけた。その中でも特に重要と思われるものは、*ribonuclease H*遺伝子である。この遺伝子は、従来の研究では、この両種においては存在しないと考えられていた。今回我々が開発した新しい方法で、全ゲノム配列データを調べることによりこのような従来存在しないと考えられていた遺伝子の存在を発見することができ、この方法の有効性を証明した。詳細についてはFEBS Letters 445/1, 6-8, 1999に発表した。

また、全ゲノム配列データが利用できる近縁な種間におけるGC含量の変化を調べる新しい方法を開発した。この方法によって、種分化の後に起こった、GC含量の変化をマイコプラズマ類に関して用いた。これらの解析に用いられたウエア類は統一環境のもとで利用できるウエアパッケージとして開発され、整備を進めている。

(7)霊長類のMHC領域における多型の分子進化的研究: Silvana Gaudieri¹, 五條掘孝¹(University of Western Australia)

霊長類のMHC遺伝子の進化を研究することを目的として、ヒト以外の霊長類におけるPERB11遺伝子族に関して、その構造と多型に関する研究をおこなった。PERB11(MIC)遺伝子はMHC遺伝子領域に存在する遺伝子である。PERB11遺伝子族はヒトのゲノム上では五つ存在し、そのうちの二つが翻訳され多型が見られることが知られている(PERB11.1, PERB11.2)。これらの遺伝子は自己免疫疾患に関係する(Behcet's病)。サザンハイブリダ

イゼイションの結果によるとチンパンジーでは、ヒトに比べると多型の度合いが低いことが推定された。チンパンジーにおいて、自己免疫疾患の度合いがヒトより少ないことから、この遺伝子のゲノム上での位置と多型の度合いが自己免疫疾患の発症に大きく関与することが示唆されている。この領域における PERB11 遺伝子の多型性を調べるために、チンパンジー7頭とオランウータン1頭、それに6匹のアカゲザルを用い、100以上のクローンを調べた。また、霊長類における PERB11 遺伝子のゲノム上の数を FISH 法を用いて調べた。HLA 遺伝子と PERB11 遺伝子を含む領域の重複の進化的軌跡を調べるために、クラス1領域の配列を調べた。337Kbの HLA-B と HLA-C を含む領域と319Kbの HLA-A, HLA-G と HLA-F を含む領域である。この二つの領域を PERB11 遺伝子と HLA 遺伝子の関係に注目して比較した結果、これらの領域において、二つの遺伝子の重複の数と方向に違いが見られた。また、これらの領域の重複は不完全であり、レトロエレメントの関与が重複の機構として考えられた。

(8)PAX 遺伝子の分子進化学的研究：池尾一穂, Walter Gehring¹(¹University of Basel)

PAX 遺伝子はホメオボックスドメインとペアードドメインを持ち、1 から9までのサブファミリーに分類されるホメオボックス遺伝子の一員である。サブファミリーのうちPAX6は昆虫から哺乳類にいたるまで広い生物種にわたって眼の形態形成や神経系の発生に関与していることが知られている。分子進化学的な解析によると、PAX ファミリー遺伝子の起源は非常に古く多細胞生物の出現まもなくには、少なくともいくつかのサブファミリーの祖先型が出現していたと考えられる。PAX6もそのような起源の古いサブファミリーの一つである。また、PAX ファミリーに見られる二つの機能ドメインは、分子系統樹を用いた解析によると、PAXファミリーはその出現の最初から、ホメオドメインとペアードドメインをもつモザイクタンパクとして存在したことが示唆された。ドロソフィラにおいて見つかった PAX6 遺伝子のホモログ遺伝子である Toy 遺伝子については、その起源は約3億年前の遺伝子重複であり、昆虫の系統に特異的な遺伝子重複である可能性が示唆された。この結果は、現在この Toy 遺伝子が昆虫以外から見つかっていない事実とも一致する。一方、PAX6 遺伝子とその祖先が共通であると考えられる PAX2, 5, 8 遺伝子については、脊椎動物の出現以降の重複であり、無脊椎動物に見られる相同な遺伝子群はそれぞれ独立して特定の系統で重複を起していることが示唆された。これらの結果の詳細については、現在、論文の準備中である。

(9)ヒトゲノム中の重複領域の探索：今西 規, 五條堀孝

ヒトゲノムの遺伝子構成の全体像を明らかにすることをめざし、さらにヒトゲノム研究のための基盤整備を目的として、ヒトの遺伝情報の解析とデータベース構築を進めている。その一環として、ヒト遺伝子族データベース(Database of Human Gene Families)とヒト染色体重複領域データベース(Database of Duplicated Human Chromosomal Regions)を開発・公開した。現在利用可能なヒトの全遺伝子配列のうち、染色体上の位置が既知のものを DAD(DDBJ Amino Acid Database)から抽出し、総当たりの相同性検索を行った。その結

果に基づき、同一の染色体バンド上にある相同な遺伝子をグループ化した。さらにこれを相同性に基づいて分類したところ、ヒトの全遺伝子は1,775種類の遺伝子族または単独遺伝子に分類された。これを、ヒト遺伝子族データベースとして公開した。ヒト染色体上の重複領域は、重複遺伝子の染色体上の分布様式をヒントにして推定した。これまでのところ、70組以上の重複領域が見つかっており、その情報をデータベース化した。中には、HOX遺伝子群や免疫グロブリン遺伝子群のような既知の重複領域だけでなく、多数の新たな重複領域の候補が発見された。このように、ヒトのゲノムはかなりの重複性を示し、ヒトゲノムの進化の過程で「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たことが示唆された。また、ヒト染色体重複領域データベースは、ヒトゲノム中の未知の遺伝子の発見に役立つ可能性がある。なお、これらのデータベースはインターネット上で公開しており、そのURLは、<http://www.cib.nig.ac.jp/dda/timanish/dup.html> である。

研究業績

(1)原著論文

1. Nakamura, Y., Gojobori, T., Ikemura, T.: Codon usage tabulated from the international DNA sequence databases; its status 1999, *Nucl. Acids Res.* 27(1), 292 (1999).
2. 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).
3. 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).
4. 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, 6-8, (1999).
5. 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, 332-346, (1999).
6. Horiuchi, M., Yamaguchi, Y., Gojobori, T., Mochizuki, M., Nagasawa, H., Toyoda, Y., Ishiguro, N. and Shinagawa, M.: Differences in the evolutionary pattern of feline Panleukopenia virus and canine Parvovirus. *Virology* 249, 440-452 (1998).
7. Katsuyama, Y., Inoko, H., Imanishi, T., Mizuki, N., Gojobori, T. and Ota, M.: Genetic relationships among Japanese, Northern Han, Hui, Uygur, Kazakh, Greek, Saudi Arabian and Italian populations based on allelic frequencies at four VNTR (D1S80, D4S43, C0L2A1, D17S5) and one STR (ACTBP2) loci. *Human Heredity* 48(3), 126-137 (1998).

8. Mizuki, N., Ohno, S., Ando, H., Sato, T., Imanishi, T., Gojobori, T., Ishihara, M., Goto, K., Ota, M., Geng, Z., Geng, L., Li, G. and Inoko, H.: Major histocompatibility complex class II alleles in an Uygur population in the Silk Route of Northwest China. *Tissue Antigens* 51(3), 287-292 (1998).
9. Nakamura, Y., Gojobori, T. and Ikemura, T.: Codon usage tabulated from the international DNA sequence databases. *Nucleic Acids Res.* 26(1), 334 (1998).
10. Okayama, T., Tamura, T., Gojobori, T., Tateno, Y., Ikeo, K., Miyazaki, S., Fukami-Kobayashi, K. and Sugawara, H.: Formal design and implementation of improved DDBJ DNA database with a new schema and object oriented library. *Bioinformatics* 14(6), 472-478 (1998).
11. Perriere, G., Gouy, M. and Gojobori, T.: The non-redundant *Bacillus subtilis* (NRSUB) database: update 1998. *Nucl. Acids Res.* 26(1), 60-62 (1998).
12. Robertson, B., Myers, G., Howard, C., Brettin, T., Bukh, J., Gaschen, B., Gojobori, T., Maertens, G., Mizokami, M., Nainan, O., Netesov, S., Nishioka, K., Shin-i T., Simmonds, P., Smith, D., Stuyver, L. and Weiner, A.: Classification, nomenclature, and database development for hepatitis C virus (HCV) and related viruses: Proposals for standardization. *Arch. Virol.* 143(12), 2493-2503 (1998).
13. Suzuki, Y. and Gojobori, T.: The origin and evolution of human T-Cell lymphotropic virus type I and II. *Virus Genes* 16(1), 69-84 (1998).
14. Suzuki, Y., Gojobori, T. and Nakagomi, O.: Intragenic recombinations in rotaviruses. *FEBS Letters* 427(2), 183-187 (1998).
15. Tanaka, Y., Mizokami, M., Orito, E., Ohba, K.-i., Kato, T., Kondo, Y., Mboudjeka, I., Zekeng, L., Kaptue, L., Rikandou, B., M'Pele, P., Takehisa, J., Hayami, M., Suzuki, Y. and Gojobori, T.: African origin of GB virus C/hepatitis G virus. *FEBS Lett.* 423(2), 143-148 (1998).
16. Tateno, Y., Fukami-Kobayashi, K., Miyazaki, S., Sugawara, H. and Gojobori, T.: DNA Data Bank of Japan at work on genome sequence data. *Nucl. Acids Res.* 26(1), 16-20 (1998).
17. Tsunoyama, K. and Gojobori, T.: Evolution of nicotinic acetylcholine receptor subunits. *Mol. Biol. Evol.* 15(5), 518-527 (1998).
18. Lou H., Li H.-C., Kuwayama M., Yashiki S., Fujiyoshi T., Suehara M., Osame M., Yamashita M., Hayami M., Gurtsevich V., Ballas M., Imanishi T. and Sonoda S.: HLA class I and class II of the Nivkhi, an indigenous population carrying HTLV-I in Sakhalin, Far Eastern Russia. *Tissue Antigens*, 52, 444-451 (1998).

(2) その他

1. 五條堀孝 : 「ゲノム生物学の現状とこれから」 実験医学 1月号 pp2-5 羊土社 , 1998.

2. 秋篠宮文仁, 大野 乾, 秋道智彌, 五條堀孝: 座談会 責任企画「遺伝子と文化の接点」実験医学1月号 pp38-48 羊土社, 1998.
3. 河合隼雄, 杉本秀太郎, 山折哲雄, 五條堀孝, その他: 「生物の進化とは「遊び」や「むだ」がいっぱいあること。」『先端科学の現在 - 大腸菌から宇宙まで』 pp151-168 潮出版社, 1998.
4. 五條堀孝: 「エイズウイルスとC型肝炎ウイルスの分子進化とそのワクチン開発への応用」第2部 ウイルス感染と防御 (種痘200年記念)シンポジウム2, 1998.
5. 養老孟司, 五條堀孝: 「脳と遺伝子 - 二つの情報系を解明する」情報と生命I(座談会)BOC出版, 1998.
6. 渡辺日出海, 五條堀孝: 「第IV部 データベースの利用」『分子進化 - 解析の技法とその応用』(宮田 隆編)共立出版社, 1998.
7. 五條堀孝, 鈴木善幸: 「進化」『ウイルス学』pp78-85 朝倉書店, 1998.
8. 斎藤成也(監訳), 今西 規, 隅山健太, 太田博樹, 太田聡史, 北野 誉, 野田令子, 金子美華(訳): 別冊日経サイエンス「DNAから見た生物進化」, 日経サイエンス社, 東京, 1998.

(3)発表講演

1. 五條堀孝: ヒトゲノム解析と分子進化. 九州大学医学部生命基礎医学群「遺伝学」特別講義, 徳島大学, 1月.
2. 五條堀孝: ゲノム進化学の発展. 「分子進化の新展開」第4回公開シンポジウム, 文部省統計数理研究所(東京), 1月.
3. 五條堀孝: エイズウイルス, C型肝炎ウイルスの分子進化. 名古屋肝疾患研究会, ホテルアソシア名古屋ターミナル, 2月.
4. 五條堀孝: Evolution of microbial genomes. (財)結核予防会結核研究所「MOLECULAR EPIDEMIOLOGY RESEARCH CONFERENCE IN JAPAN」, 結核研究所(清瀬市), 2月.
5. 五條堀孝: 疾患集団遺伝学. 東京医科歯科大学特別講義, 東京医科歯科大学(東京), 2月.
6. Gojobori, T.: Evolution of Genomes. Seminar at Laboratoire de Genetique Moleculaire, Institut Jacques Monod (Paris, France), 3月.
7. Gojobori, T.: Evolution of Genomes. Seminar at Institute of Biological Sciences, University of Aarhus (Aarhus, Denmark), 3月.
8. 五條堀孝: ゲノム構造のダイナミックな進化. 大阪大学遺伝情報実験施設シンポジウム, 大阪大学微生物病研究所(大阪), 3月.
9. Imanishi T., Endo T., Ohno S. and Gojobori T.: Discovery of extensive chromosomal regions duplicated within the human genome. HGM'98 (Torino, Italy), 3月.

10. Gojobori, T.: Significance of genome sequence in evolutionary study. Asian Molecular Biology Organization Workshops and Training Courses", National Institute of Genetics (Mishima, Japan), 3月, 4月 .
11. 五條堀孝: ゲノム構造の進化とゲノム工学の誕生 . 徳島大学大学院工学専攻特別講義, 徳島大学, 5月 .
12. 池尾一穂, 五條堀孝: イネ, トウモロコシと比較したコムギ葉緑体ゲノムの特徴 . コムギ葉緑体ゲノムの全構造の決定に関する研究会, 国立遺伝学研究所(三島), 5月 .
13. Takezaki, N. and Gojobori, T.: The causes of reconstruction of a biologically incorrect phylogeny from whole mitochondrial sequences. The Sixth Annual Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution, The University for British Columbia (Vancouver, Canada), 6月 .
14. Gojobori, T.: Complete Genome Sequence Analysis and Its Implications for Genome Evolution. New York Academy of Sciences Conference on Molecular Strategies in Biological Evolution, Rockefeller University (New York, U.S.A.), 6月 .
15. 五條堀孝: 生命科学からみたバイオインフォーマティクスの現状と展望 . 学習院大学生命科学セミナー, 学習院大学(東京), 7月 .
16. 徳永勝士, 坂内 誠, 八田陽子, 大橋 順, 今西 規, 神山治郎, 小川篤子, 田中秀則, 伊波政治, 三富斉忠, 赤座達也, 島袋 剛, 高橋有二, 五條堀 孝, 尾本恵市, 十字猛夫: HLAからみる北と南の日本人 . 第7回日本組織適合性学会大会, 箱根湯本富士屋ホテル(神奈川), 7月 .
17. Takezaki, N. and Gojobori, T.: The causes of reconstruction of a biologically incorrect phylogeny from whole mitochondrial sequences. International Symposium on the Origin of Mammalian Orders, The Graduate University for Advanced Study (Hayama, Japan), 7月 .
18. Gojobori, T.: Evolutionary Plasticity of Genome Structures. Fukuoka International Symposium of Population Genetics, Kyushu University (Fukuoka, Japan), 8月 .
19. Yamaguchi-Kabata, Y. & Gojobori, T.: Genealogical relationships of viral genes samples at different timepoints from single hosts: a new tool for understanding population dynamics. Fukuoka International Symposium of Population Genetics, Kyushu University (Fukuoka, Japan), 8月 .
20. Itoh, T. & Gojobori, T.: Evolutionary characteristics of bacterial genome structures. Fukuoka International Symposium of Population Genetics, Kyushu University (Fukuoka, Japan), 8月 .
21. Suzuki, Y. & Gojobori, T.: New detection method for positive selection at single amino acid sites. Fukuoka International Symposium of Population Genetics,

Kyushu University (Fukuoka, Japan), 8月.

22. Tsunoyama, K., Bellgard, M. and Gojobori, T.: Intragenic variation of synonymous substitution rates. Fukuoka International Symposium of Population Genetics, Kyushu University (Fukuoka, Japan), 8月.
23. 五條堀孝:組換えウイルスの分子進化の数学的解析に関する研究. 組換えウイルス, コアバンクの創設とその高度利用のための基盤技術に関する研究会議, 理化学研究所(筑波), 9月.
24. 今西 規, 遠藤俊徳, 大野 乾, 五條堀孝: ヒトゲノム中の重複遺伝子の分布と染色体の重複領域, 日本遺伝学会第70回大会, 北海道大学(札幌), 9月.
25. 角山和久, Matthew Bellgard, 五條堀孝: 遺伝子の内部領域における同義置換の不均一性から見た遺伝子の進化様式. 日本遺伝学会第70回大会, 北海道大学(札幌), 9月.
26. 鈴木善幸, 中込 治, 五條堀孝: ロタウイルスにおける遺伝子内組換えとその進化的意義. 日本遺伝学会第70回大会, 北海道大学(札幌), 9月.
27. 伊藤 剛, 森 浩禎, 五條堀孝: 微生物の全ゲノム配列比較からみたゲノム構造の進化的可塑性. 日本遺伝学会第70回大会, 北海道大学(札幌), 9月.
28. 佐藤 滋, 豊田礼子, 池尾一穂, 五條堀孝, 山本博章: 原動物マボヤの色素細胞における脊椎動物チロシナーゼ遺伝子のシス・エレメントの活性. 日本遺伝学会第70回大会, 北海道大学(札幌), 9月.
29. 遠藤広介, 矢嶋伊知朗, 豊田礼子, 佐藤 滋, 安元研一, 柴原茂樹, 池尾一穂, 五條堀孝, 山本博章: 小眼球症遺伝子のマボヤホモログの解析. 日本遺伝学会第70回大会, 北海道大学(札幌), 9月.
30. 荻原保成, 磯野一宏, 小島俊雄, 都築 央, 遠藤 亮, 村井里佳, 村井耕二, 華岡光正, 椎名 隆, 寺地 徹, 宇都木繁子, 村田 稔, 森 直樹, 宅見薫雄, 池尾一穂, 五條堀孝, 松岡由浩, 大西由佳里, 田尻 晃, 常脇恒一郎: コムギ葉緑体ゲノムの全構造の決定 コムギ葉緑体DNAの全塩基配列. 日本遺伝学会第70回大会, 北海道大学(札幌), 9月.
31. Gojobori, T.: Recent Advancement of Bioinformatics with Reference to Genomic Evolution. BioMedInfo Singapore '98, National University of Singapore (Singapore), 9月.
32. 五條堀孝: ゲノム解析からみた生命情報学の将来. キリンビール(株) 医薬探索研究所セミナー(群馬), 10月.
33. Gojobori, T.: Molecular evolution of phthogenic viruses, with reference to HIV, HCV, and HGV. Workshop on Viral Evolution, Issac Newton Institute (Cambridge, UK), 10月.
34. 五條堀孝: 病原性ウイルスはどのように進化したか. 第13回「大学と科学」公開シ

ンポジウム「遺伝子で生物の進化を考える」, 日経ホール(東京), 10月.

35. Gojobori, T.: Duplications of extensive chromosomal regions discovered within the human genome. BITS Workshop (Beyond the Identification of Transcribed Sequences: Functional and Expression Analysis) (Washington D.C., U.S.A.), 10月.
36. Gojobori, T.: Evolutionary instability of genome structure from bacteria to humans. Seminar at Columbia Genome Center, Columbia University (New York, U.S.A.), 10月.
37. 五條堀孝: 生命情報科学の最先端・国際的動向, 進展. バイオ交流大会 '98, 如水会館(東京), 11月.
38. 五條堀孝: 病原性ウイルスの分子進化的解析. 第3回東京大学分子細胞生物学研究所シンポジウム「種多様性とゲノム多様化の分子機構」, 池之端文化センター(東京), 11月.
39. Gojobori, T.: The instability of genomic structure and its evolutionary significance. Seminar at University of Lund (Lund, Denmark), 11月.
40. Gojobori, T.: Genomic Evolution. Symposium of Stazione Zoologica 'Anton Dohrn' (Naples, Italy), 11月.
41. 今西 規, 羽原香織, 遠藤俊徳, 大野 乾, 五條堀孝: ヒト遺伝子族データベースとヒト染色体重複領域データベースの開発. 第21回日本分子生物学会年会, パシフィコ横浜(神奈川), 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. 今年からはゲノム情報解析にも着手した. また日本DNAデータベース(DDBJ)の研究事業に参加するとともに, すべての種類のタンパク質に関する変異体データベース(Protein Mutant Database, 略称PMD)の作成を独自に進めている. 研究室メンバーは, 西川 建(教授), 太田元規(助手), 川端 猛(遺伝研COE博士研究員), 金城 玲(総研大学院生D1), および三村公子(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), 成田智子(秘書)からなる. また遺伝研共同研究として中島広志(金沢大学), 有坂文雄(東京工業大学), Shahid S. Siddiqui(豊橋技術科学大学)と協力し, その他にも磯貝泰弘(理化学研究所)と協同で研究した.

(1)逆フォールディング・サーチ法の開発: 太田元規, 西川 建

タンパク質の問いかけ配列をもとにそれと適合するタンパク質構造を既知構造データベースからサーチする, いわゆる順フォールディング・サーチ法はこの10年ほどで精力的に研究され, 実践的な構造予測にも利用されるまでになった. しかし, この逆のサーチ, す

なわち、問いかけ構造をもとに既知配列データベースから類縁タンパク質をサーチする逆フォールディング・サーチ法はまだ未開発であった。我々はタンパク質の非天然状態を構造配列適合性関数に陽に導入することが、逆フォールディング・サーチに有効であることを見出した。また、適合スコアの算出方法は順フォールディング・サーチで一般に利用される“配列乗せ換えスコア”ではなく、“構造配列アラインメントスコア”の方が適していることも発見した。これらの一見つじつまの合わない結果は逆フォールディング・サーチが“違った系の比較問題”であることを認識すればすっきりと理解される。この逆サーチ法の有効性を調べるために、既知の立体構造からなるデータセットを精選し、順方向と逆方向でのサーチを同時に行ない直接比較することにした。その結果、逆サーチによる「予測精度」は順方向サーチのそれに優るとも劣らないこと、数値的にはむしろ後者より良い成績を示すことが判明した。詳細は文献4に発表した。

(2)DNA配列データのジヌクレオチド分布による解析(その2):中島広志¹,太田元規,西川建(¹金沢大学医学部保健学科)

昨年に引き続き、2塩基組成によるDNA配列データの解析を行なった。ゲノムデータの増大に伴い、生物種は前回の3種類から10種類に増やし、8種類のバクテリアと酵母およびヒトを対象とした。各々のゲノム上の遺伝子を、2塩基組成に従って16次元空間中にプロットすると、生物種ごとにまとまったクラスターを形成した。個々の遺伝子の塩基組成が10種類の生物種の平均組成のどれに近いかという判別をさせると、およそ80%の遺伝子が「正しい」生物種に帰属された。これはランダムな判別精度(この場合は約10%)に比べて非常に精度の高い値である。また、遺伝子の代わりに1キロベース長のDNA断片を用いてもほぼ同様の結果になった。このことは遺伝子領域のみならず非コード領域を含めても、ゲノムの塩基配列は生物種ごとに特徴的な偏りをもつことを意味する。さらに、10種類の平均組成の間の距離の関係を系統樹に描いてみたところ真の系統樹に近い結果が得られた。このことは、塩基組成の偏りという現象がどのような原因によって生じたのかという点を考える上で重要な判断材料となる。詳細は文献1に発表した。

(3)変異タンパク質データベース用の検索システム:川端 猛,太田元規,西川 建

変異タンパク質データベース(Protein Mutant Database, PMD)はあらゆる種類のタンパク質変異体に関する文献情報を集めたものであり、現在までに文献数で10,000件以上、変異体データ数で約81,000件のデータが収録されている(PMDの作成は最初、蛋白質工学研究所で始められたが、1997年に遺伝研に移管された)。収録される内容は、文献名やタンパク名に加えて、タンパク分子のどこにどのような変異(アミノ酸置換や挿入/欠失など)が起り、その結果として天然タンパク質に比べて機能や構造上、どのような変化が生じたかを記述する。今回、インターネット上で利用できる検索システムを開発した(<http://pmd.ddbj.nig.ac.jp>)。この検索システムの特徴は、変異部分を示すためにアミノ酸配列の変異部位を色を変えて表示させるようにしたこと、立体構造既知のタンパク質の場合は立体構造図の上で変異部位を表示したこと、さらにホモロジー検索によって関連のタンパク

質が検索できるようにしたこと，などである．詳細は文献2に発表した．

研究業績

(1)原著論文

1. Nakashima, H., Ota, M., Nishikawa, K. and Ooi, T.: "Genes from nine genomes are separated into their organisms in the dinucleotide composition space", DNA Res. 5, 251-259, 1998.
2. Kawabata, T., Ota, M. and Nishikawa, K.: "The Protein Mutant Database", Nuc. Acids Res., 27, 355-357, 1999.
3. Fukami-Kobayashi, K., Tateno, Y. and Nishikawa, K.: "Domain dislocation: a change of core structure in periplasmic binding proteins in their evolutionary history", J. Mol. Biol., 286, 279-290, 1999.
4. Ota, M. and Nishikawa, K.: "Feasibility in the inverse protein folding protocol", Protein Sci. 8, 1001-1009, 1999.

(2)その他

1. 太田元規：3D-1D 法の可能性．生物物理，38，111-115，1998.

(3)発表講演

1. Nishikawa, K.: Protein prediction study using Protein Data Bank. 大阪大学蛋白質研究所セミナー，大阪，3月．
2. Nishikawa, K.: Detection of similar proteins by the inverse-folding protocol. The 1st International Conference on Bioinformatics of Genome Regulation and Structure, Novosibirsk, Russia, August, 1998.
3. 深海 薫，館野義男，西川 建：Periplasmic binding protein スーパーファミリーにおけるタンパク質立体構造の進化．第49回タンパク質構造討論会ポスター発表，長岡，9月．
4. 西川 建：タンパク質1分子の挙動を見る！日本生物物理学会第36回年会，福岡，10月．
5. 太田元規，西川 建：Ab initio threading の提案．日本生物物理学会第36回年会，福岡，10月．
6. 川端 猛，西川 建：変異確率行列を用いたタンパク質の立体構造比較．日本生物物理学会第36回年会，福岡，10月．
7. 金城 玲，西川 建：タンパク質立体構造の接触残基対の組成．日本生物物理学会第36回年会，福岡，10月．
8. Ota, M., Kawabata, T., Kinjo, A. R. and Nishikawa, K.: "Trials, difficulties and

success of predicting CASP3 targets". Third Meeting on the Critical Assessment of Techniques for Protein Structure Prediction (CASP3), Asilomar, December, 1998.

I-c. 遺伝子機能研究室

当研究室は、館野義男(教授)、深海 薫(助手)、平島美恵子(秘書)から構成され、DNA やタンパク質といった生体分子が持つ情報を抽出し、進化学的に解析することによって、それら生体情報分子の起源と進化を探る研究を進めている。また当研究室では生命情報研究センターの他の3研究室と共同で、DNA Data Bank of Japan (DDBJ) の事業を推進している(文献1, 2)。

(1)HLA ゲノム配列の大量解析

HLA クラス I は第6染色体短腕に位置し、約2メガ塩基対の領域を占める。この中でHLA-B とHLA-C 遺伝子を含む約385キロ塩基対の領域を分子進化学的に解析した。この領域は、数十キロ塩基対にわたって複製していることが知られている場所が2カ所あるが、このような大規模な複製が果たしてそれぞれ1回の複製で実現されたのだろうか。まずこのことを検証するため、2組の複製断片の内部構成を調べた。

この領域にはLINEやSINEなどの繰り返し配列が多数あることも今回の解析で分かったのだが、特に進化的起源がより古いとされるLINEに注目して内部構成を調べた。その結果、2組の断片それぞれが相同のLINE配列を同じ順序で多数もっていることがわかり、複製は1回ずつ起きたことが強く示唆された。ただ、断片の長さがそれぞれ異なるので、複製の後、部分欠失が起こったことも考慮しなければならない。また、1組の複製断片の相同なLINE類似性を計算し、その値を2組の間で比較することにより、複製が起こった進化時点の前後関係を定量的に推定することができた。特にこの研究では、LINEやSINEなどの繰り返し配列が、真核生物のゲノム構造の進化に深く関わっていることが示唆された。本研究の成果は文献3に発表した。

(2)Periplasmic binding protein (PBP)スーパーファミリーにおけるタンパク質立体構造の進化

PBPとは、ATP-binding cassette (ABC)タンパク質が関与する輸送システムにおいて、細胞内に輸送するリガンドとの結合を行なうタンパク質の総称である。それらは共通の祖先から進化してきたと考えられているにも関わらず、立体構造のコアにあるシートのトポロジーが異なる2つのタイプに分類できる。

このトポロジーの変化がどのようにして起こったかを明らかにするため、PBPスーパーファミリーの系統関係の解析を行なった。その結果、コア構造を変えるようなイベントは独立に何回も起こった訳ではなく、進化のある時点、しかも非常に昔に1回だけ起こったことが明らかになった。

一般に配列情報をもとにした系統樹では、配列の変化の方向性を決められないので、どこが一番古い時点(root)であるかが示されない。しかし本研究ではPBPファミリーの系統関係を立体構造の比較結果を結びつけることで、進化の方向性まで含めた構造変化の系譜を作成することができた。そして、第1のタイプから第2のタイプが派生したであろうという結論に達した。本研究の成果は文献4により発表した。

研究業績

(1)原著論文

1. Tateno Y., Fukami-Kobayashi K., Miyazaki S., Sugawara H. and Gojobori T.: DNA Data Bank of Japan at work on genome sequence data. *Nucleic Acids Research*, 26, 16-20 (1998).
2. Okayama T., Tamura T., Gojobori T., Tateno Y., Ikeo K., Miyazaki S., Fukami-Kobayashi K. and Sugawara H.: Formal design and implementation of an improved DDBJ DNA database with a new schema and object-oriented library. *Bioinformatics*, 14, 472-478 (1998).
3. Yamazaki M., Tateno Y. and Inoko H.: Genomic organization around the centromeric end of the HLA class I region; Large-scale sequence analysis. *Journal of Molecular Evolution*. (in press)
4. Fukami-Kobayashi K., Tateno Y. and Nishikawa K.: Domain Dislocation: A Change of Core Structure in Periplasmic Binding Proteins in their Evolutionary History. *Journal of Molecular Biology*, 286, 279-290 (1999).

(2)その他

1. 館野義男, 山崎正明, 猪子英俊: ゲノム情報活動とゲノム解析, 遺伝子医学 2, 457-464 (1998).

(3)発表講演

1. Tateno Y.: DNA Databases and their use for molecular evolutionary study, *Research Resources 98*, 台北, 台湾, 4月.
2. Tateno Y.: Information-biological activity at the DNA Data Bank of Japan, *Biological Informatics*, キャンベラ, オーストラリア, 7月.
3. Tateno Y.: DNA Data Bank of Japan in the age of genomics, *BRIC Workshop on Bioinformatics*, 浦項, 韓国, 8月.
4. 深海 薫, 館野義男, 西川 建: Periplasmic binding protein スーパーファミリーにおけるタンパク質立体構造の進化, 蛋白合同年会(長岡98)ポスター発表, 新潟県長岡市, 9月.
5. 深海 薫, 館野義男, 西川 建: Periplasmic binding protein スーパーファミリーに

おけるタンパク質立体構造の進化，第5回タンパク質立体構造の構築原理ワークショップ(ポスター発表)，東京，12月．

I-d. 分子分類研究室

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

(1)DDBJにおけるデータ処理システムの研究開発：菅原秀明，宮崎 智，五條堀孝，館野義男，池尾一穂，深海 薫，田村卓郎¹，岡山利次²(¹ 遺伝学普及会，² 日立ソフトウェアエンジニアリング)

DDBJ設立以来データの量が加速度的に増加したその内容も多様化している．このように質量ともに成長し続けるデータを途切れること無く安定に処理するデータ管理システムを構築することは容易ではない．われわれは，リレーショナルデータベース管理システムをデータベースエンジンとしながらも，オブジェクト指向設計技術を駆使して，柔軟な拡張性を有しかつ堅牢なデータ処理システムを構築し，日々のDDBJ業務に運用している．本システムの設計については(1)-1にて詳細に論じた．

さらに，そのゲノム全配列が決定された微生物については，キーワードまたは相同性によって一括および個別の検索が可能なシステムを構築提供し，(2)-3に紹介した．

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

World Federation for Culture Collections (WFCC)と Microbial Resources Centers Network(MIRCEN)のデータセンターである World Data Centre for Microorganisms(WDCM)のWWWサーバーの運用を行っている．現在このサーバーの独自データベースには60カ国498機関の情報が格納されている．また，インターネット上に分散した多様なデータベースに同時アクセスし検索結果を結合して表示するシステムも提供している．

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

タへの対応を試みた。

また、配列データの変異を特徴付ける概念として、情報理論に基づく複雑量を提案し、HIVの進化の解析に応用した(1)-4。菌株データベースにおいては、DDBJのデータベースと同様オブジェクト技術の応用を試みて(3)-1で発表した。また、データベース更新作業をより柔軟に行うためと現在では、微生物の同定・分類に不可欠である塩基配列について、配列決定手法についても詳細な把握が必要であると判断し、データが不十分である菌類に的を絞って、クロボキンの核小サブユニット rRNA 塩基配列の決定を行った。

さらに、生物多様性を論ずる上でことに重要な生物材料と実験プロトコルの信頼性を検証する研究グループに参加し、検証のための新しい統計解析手法の開発とデータベース構築に協力した。研究グループとしての成果は(1)-5 から 12 までに報告した。

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, *Nucleic Acids Research*, Vol. 27, No.1, 25-28, 1999.
2. Okayama, T., Tamura, T., Gojobori, T., Tateno, Y., Ikeo, K., Miyazaki, S., Fukami-Kobayashi, K. and Sugawara, H.: Formal design and implementation of an improved DDBJ DNA database with a new scheme and object-oriented library, *Bioinformatics*, 14, 472-478, 1998.
3. Sugawara, H. and Miyazaki, S.: Towards the Asia-Pacific Bioinformatics Network, *Pacific Symposium on Biocomputing '98*, (eds.) Altman, R. B., Dunker A. K., Hunter, L. and Klein, T. E., 759-764, Hawaii, 1998.
4. Satou, K., Miyazaki, S. and Ohya, M.: Analysis of HIV by Entropy evolution rate, *Amino Acids*, 14, 343-352, 1998.
5. Ohno, T., Asakura, M., Awogi, T. and et al.: Validation Study and Analyses of Variations of ED50 Values I. Overview of the Study and Analysis of Variations of ED50 Values, *Altern. Animal Test. Experiments*, 5, 1-38, 1998.
6. Omori, T., Saijo, K., Kato, M. and et al.: Validation Study on Five Cytotoxicity Assays by JSAE II. Statistical Analysis, *Altern. Animal Test. Experiment*, 5, 39-58, 1998.
7. Omori, T., Saijo, K., Kato, M. and et al.: Validation Study on Five Cytotoxicity Assays by JSAE III Quality of Collected Data Files, *Altern. Animal Test. Experiment*, 5, 59-73, 1998.
8. Tanaka, N., Asaskura, M., Hattori, C. and et al.: Validation Study on Five Cytotoxicity Assays by JSAE IV. Details of the Colony Formation Assay, *Altern. Animal Test. Experiment*, 5, 74-86, 1998.

9. Itagaki, H., Ohno, T., Hatao, M. and et al.: Validation Study on Five Cytotoxicity Assays by JSAAE V. Details of the Crystal Violet Staining Assays, Altern. Animal Test. Experiment, 5, 87-98, 1998.
10. Ohno, T., Futamura, Y., Harihara, A. and et al.: Validation Study on Five Cytotoxicity Assays by JSAAE - VI. Details of the LDH Release Assay, Altern. Animal Test. Experiment, 5, 99-118, 1998.
11. Itagaki, H., Ohno, T., Hatao, M. and et al.: Validation Study in Five Cytotoxicity Assays by JSAAE - VII., Altern. Animal Test. Experiment, 5, 119-130, 1998.
12. Ohno, T., Futamura, Y., Harihara, A. and et al.: Validation Study on Five Cytotoxicity Assays by JSAAE - VIII. Details of the Neutral Red Uptake Assay, Altern. Animal Test. Experiment, 5, 131-145, 1998.

(2) その他

1. 菅原秀明：国際 DNA 配列データベース，実験医学，Vol.16，No.1，30-37，1998.
2. 菅原秀明：菌株保存事業に文化が見える，バイオサイエンスとインダストリー，56，272-275，1998.
3. 森 浩禎，菅原秀明，内山郁夫：大腸菌ゲノム，蛋白質核酸酵素，43，1381-1387，1998.

(3) 発表講演

1. 宮崎 智，菅原秀明：オブジェクト技術による情報共有ワークベンチの試作，日本微生物資源学会，広島，6月．
2. 菅原秀明：配列データベースの進化，電子情報通信学会，山梨，9月．
3. Sugawara, H.: Role of a public database in the study of microbial genomes, Frontier of the Genome Biology of Escherichia coli, Okazaki, Japan, November.
4. Sugawara, H.: Information highway and its application to biological informatics - WDCM experiences and global biodiversity information facility, 16th International CODATA Conference, New Delhi, India, November.
5. 菅原秀明：in silico 生物学の可能性，The Ninth Parallel Computing Workshop，川崎，日本，11月．

J. 放射線アイソトープセンター

当センターでは放射線施設の管理運営に携わるかたわら、枯草菌を用いてゲノムサイエンスおよび細胞分化における遺伝子発現制御について研究を行っている。当センターの研究活動は以下の通り。

(1) 枯草菌 RNA ポリメラーゼと相互作用する因子の探索：藤田昌也，定家義人

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

(2) 枯草菌ゲノムの機能解析：定家義人，大島英之，谷田勝教，藤田昌也

昨年シークエンスの完了した枯草菌ゲノムのうち *phoB/cotA* 領域 70kb の領域には既知の *phoB*, *rrnE*, *groESL* 以外に *mannan utilization operon*, *glycoprotein endopeptidase operon*, *restriction/modification system gene*, *glucitol utilization operon* などが発見された。8個のORFからなるマンナンオペロンは, 分泌性のマンナーゼや分解糖PTS系まで揃った大きなオペロンで, コンニャクグルコマンナンで誘導され, グルコース, マンノースによってみごとに抑制される。また, 枯草菌固有の唯一の制限修飾系遺伝子群がORFの少ないGC含量の低い外来性と思われる領域に見い出された。メチル化酵素遺伝子は重複して存在し, 制限酵素遺伝子は他の2遺伝子とオペロンを組んでいた。メチル化酵素遺伝子の破壊は制限酵素遺伝子の破壊下で可能であった。外よりウイルスゲノムとして持ち込まれて制限修飾系遺伝子群のみが生き残ったものと思われる。今回はこの領域の50あまりの遺伝子について, 遺伝子破壊株を作成し, *lacZ* をレポーターとした転写活性を測定し, ノーザン解析による転写マップを作成した。

(3) 枯草菌 *secA* の機能に関する研究：定家義人

SecA は蛋白分泌装置として大腸菌で詳しく解析され, そのホモログがバクテリア, らん

藻，植物細胞色素体，トウモロコシ染色体に見い出されている．枯草菌の *secA* 遺伝子は多面的形質発現を示す遺伝子として分離された．多面形質のうち温度感受性致死変異 *secA341* を持つ細胞では37 °Cの許容温度で *AprE* の分泌生産が阻害される．この阻害は *aprE* 転写のアクチベーターである *DegU-P* を安定に保持する *degU32* 変異によって解除されたため，シグナル伝達に対する *SecA* の関与が示唆された．*DegU-P* のスタビライザー *DegR* の転写はシグマ D 依存である．*secA341* 変異株では *degR* 転写が阻害されていた．この阻害はアンチシグマ D を破壊することによって解除された．つまり *secA341* 変異株ではアンチシグマ D が希釈されず，シグマ D 依存の *degR* 遺伝子が転写されないため，*aprE* 転写のアクチベーターである *DegU-P* のスタビライザー *DegR* の合成が起きないので *aprE* 転写が阻害される．この変異株ではシグマ H 依存の転写も阻害されるため胞子形成が起きない．同様な理由によるものであろうか？

研究業績

(1) 原著論文

1. Fujita M. and Sadaie Y.: Promoter selectivity of the *Bacillus subtilis* polymerase A and H holoenzymes. *J Biochem.* 124, 89-97.
2. Asai K., Fujita M., Kawamura F., Takahashi H., Kobayashi Y. and Sadaie Y.: Restricted transcription from sigma H or phosphorylated Spo0A dependent promoters in the temperature sensitive *secA341* mutant of *Bacillus subtilis*. *Biosci Biotechnol Biochem.* 62, 1707-1713.
3. Sadaie Y.: *secA341* mutation inhibition of expression of the *Bacillus subtilis* protease gene, *aprE*. *Biosci Biotechnol Biochem.* 62, 1784-1787.
4. Fujita M. and Sadaie Y.: Feedback loops involving Spo0A and AbrB in in vitro transcription of the genes involved in the initiation of sporulation in *Bacillus subtilis*. *J Biochem.* 124, 98-104.
5. Nanamiya H., Asai K., Fujita M., Moriya S., Ohashi Y., Sadaie Y., Ogasawara N. and Kawamura F.: ClpC regulates the fate of a sporulation initiation sigma factor, H protein, in *Bacillus subtilis*. *Mol Microbiol.* 29, 505-513.
6. Han W-D., Kawamoto S., Hosoya Y., Fujita M., Sadaie Y., Suzuki K, Ohashi Y., Kawamura F., and Ochi K.: A novel sporulation-control gene (*spoOM*) of *Bacillus subtilis* with a H-regulated promoter. *Gene.* 217, 31-40.
7. Fujita M. and Sadaie Y.: Rapid isolation of RNA polymerase coupled with spore development in *Bacillus subtilis*. *Gene,* 221, 185-190.

(2) その他

1. 定家義人，小笠原直毅：枯草菌の系統保存とデータベース 蛋白質・核酸・酵素 43，1289-1290(1998)．

(3)発表講演

1. 藤田昌也, 定家義人: 枯草菌胞子形成期のシグナル伝達とシグマカスケードの *in vitro* 解析. 日本農芸化学会 1998 年度大会, 名古屋, 4 月.
2. 七宮英晃, 杉丸 圭, 大橋由明, 朝井 計, 藤田昌也, 定家義人, 河村富士夫: 枯草菌胞子形成開始シグマ因子(H)の CIPc による制御機構の解析 I. 日本農芸化学会 1998 年度大会, 名古屋, 4 月.
3. 高橋宏輝, 七宮英晃, 朝井 計, 藤田昌也, 定家義人, 河村富士夫: 枯草菌胞子形成開始シグマ因子(H)の CIPp による制御機構の解析 II. 日本農芸化学会 1998 年度大会, 名古屋, 4 月.
4. Sadaie Y. and Yata K.: Functional analysis of the *phoB/cotA* region of the *Bacillus subtilis* chromosome containing the konjac glucomannan utilization operon. International Conference on Bacilli, Japan, July, Osaka.
5. Sadaie Y.: The *secA341* mutation inhibits expression of the *Bacillus subtilis* protease gene, *aprE*, by blocking *degU* dependent activation step. International Conference on Bacilli, Japan, July, Osaka.
6. Fujita M. and Sadaie Y.: Analysis of sigma factor switching during sporulation in *Bacillus subtilis*. International Conference on Bacilli, Japan, July, Osaka.
7. 定家義人, 谷田勝教, 大島英之: 枯草菌染色体 *phoB/cotA* 領域の機能解析 第 21 回日本分子生物学会, 横浜, 12 月.
8. 藤田昌也, 定家義人: 定量的ウエスタンブロット法による枯草菌 RNA ポリメラーゼシグマカスケードの解析 第 21 回日本分子生物学会, 横浜, 12 月.

K. 実験園場

実験園場は, 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, これに必要な園場, 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. 実験園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.

従来より植物遺伝研究室とともにサクラ, アサガオ等の系統保存を行ってきたが, サクラは現在, 国立遺伝学研究所環境整備の手に委ねており, 芦川技官がこの任に当たっている. アサガオについては九州大学の仁田坂英二氏に全系統を委譲し, 今後仁田坂氏の下で系統の維持管理と分譲が行われることとなった.

主に野生イネ種子について約 180 系統の更新増殖と 252 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．

植物遺伝研究室とのグループ研究の内容については植物遺伝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. *Biochem. Biophys. Acta*, in press.

(2)その他

1. 野々村賢一，倉田のり：植物人工染色体と核機構研究，育種学最近の進歩第40集：41-44．日本育種学会編，1998．

(3)発表講演

1. 野々村賢一，倉田のり：イネの動原体領域に存在する繰返し配列 RCE1 とその周辺配列の構造，日本育種学会第93回講演会，横浜，4月．
2. Nonomura, K. and N. Kurata : Organization of 1.9-kb repeats and their flanking sequences detected in the centromeric region of rice. The13th International Chromosome Conference, Ancona, Italy, September.
3. 野々村賢一，倉田のり：植物人工染色体と核機構研究，日本育種学会第40回シンポジウム，盛岡，9月．

IV . 海外における活動

氏 名	内 容	渡 航 先	期 間
宮崎 智	環太平洋バイオコンピューティングシンポジウムに出席・研究打合せ	アメリカ合衆国	10. 1. 4 ~ 10. 1. 12
五條堀 孝	ゴードン会議（分子進化学）において講演及び情報交換	アメリカ合衆国	10. 1. 25 ~ 10. 2. 1
菅原 秀明	バイオインダストリー安全確保対策情報基盤整備について海外調査	アメリカ合衆国 ド イ ツ オ ラ ン ダ ベ ル ギ ー 連 合 王 国 フ ラ ン ス	10. 1. 29 ~ 10. 2. 11
堀田 凱樹	第4回ゴードン会議出席・講演及び研究連絡並びにカリフォルニア工科大学において研究連絡	アメリカ合衆国	10. 1. 31 ~ 10. 2. 8
西村 昭子	キーストーンシンポジウムに出席・発表及びニューメキシコ大学において研究連絡	アメリカ合衆国	10. 2. 6 ~ 10. 2. 16
石浜 明	日豪共同研究及びメルボルン大学においてアジア転写会議に講演・研究交流	オーストラリア	10. 2. 19 ~ 10. 2. 27
藤田 信之	日豪共同研究及びメルボルン大学においてアジア転写会議に講演・研究交流	オーストラリア	10. 2. 19 ~ 10. 2. 28
広瀬 進	第5回アジア転写会議出席・発表	オーストラリア	10. 2. 21 ~ 10. 2. 27
嶋本 伸雄	第5回アジア転写会議出席・発表及びメルボルン大学において情報収集	オーストラリア	10. 2. 21 ~ 10. 3. 1
永井 宏樹	第5回アジア転写会議出席・発表及びメルボルン大学において情報収集	オーストラリア	10. 2. 21 ~ 10. 3. 3

氏名	内容	渡航先	期間
菅原 秀明	国立ゲノム情報局において DNA 配列データ収集等調査研究	オーストラリア	10. 2.22 ~ 10. 2.27
宮崎 智	国立ゲノム情報局において DNA 配列データ収集等調査研究	オーストラリア	10. 2.22 ~ 10. 2.27
舘野 義男	EMBL データベースにおける調査研究	連 合 王 国	10. 2.23 ~ 10. 2.28
徳永 万喜洋	米国生物物理学会において研究成果発表	アメリカ合衆国	10. 2.23 ~ 10. 3. 1
藤山 秋佐夫	ヒトゲノムシーケンシング戦略に関する国際会議	バ ミ ュ ー ダ	10. 2.26 ~ 10. 3. 2
五條堀 孝	ジャックモノー研究所において欧州における DNA データベース利用調査	フ ラ ン ス	10. 3. 7 ~ 10. 3.12
嶋本 伸雄	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研究打合せ	連 合 王 国	10. 3. 7 ~ 10. 3.12
石浜 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	10. 3. 7 ~ 10. 3.16
今西 規	NCBI における DNA データベース構築・運営の調査	アメリカ合衆国	10. 3.19 ~ 10. 3.25
上田 均	第39回ショウジョウバエ研究会に参加・発表	アメリカ合衆国	10. 3.21 ~ 10. 3.31
広海 健	第39回ショウジョウバエ学会年会参加及び研究打合せ	アメリカ合衆国	10. 3.24 ~ 10. 3.30
後藤 聡	第 39 回ショウジョウバエ会議出席	アメリカ合衆国	10. 3.24 ~ 10. 3.30

氏名	内容	渡航先	期間
田中 茂生	カリフォルニア大学において実験技術に関する打合せ	アメリカ合衆国	10. 3.27 ~ 10. 3.31
菅原 秀明	OECD メガサイエンスフォーラム・バイオインフォマティクス W.G 出席	アメリカ合衆国	10. 3.27 ~ 10. 4. 2
今西 規	HGM'98においてヒト染色体の重複領域の探索に関する研究成果発表	イタリヤ	10. 3.27 ~ 10. 3.31
五條堀 孝	Genome Informatics Meeting に参加及びコロムビア大学コロムビアゲノムセンターにおいて分子進化学における研究打合せ	アメリカ合衆国	10. 4. 1 ~ 10. 4. 5
五條堀 孝	野鶏の分子進化学的調査研究	中華人民共和国	10. 4.10 ~ 10. 4.19
舘野 義男	「研究資源 98」国際シンポジウムにおいて講演	台湾	10. 4.12 ~ 10. 4.16
石浜 明	「ウイルス病原性を支配するウイルス及び宿主因子」に関する日独シンポジウムにおける講演及び日仏共同研究打合せ	ドイツ フランス	10. 5. 9 ~ 10. 5.17
藤山 秋佐夫	ゲノムマッピング・シーケンス会議に出席・研究発表ならびに意見交換	アメリカ合衆国	10. 5.13 ~ 10. 5.18
舘野 義男	国際実務者会議に出席	連合王国	10. 5.16 ~ 10. 5.22
小林 薫	国際実務者会議に出席	連合王国	10. 5.16 ~ 10. 5.23
太田 元規	国際実務者会議に出席	連合王国	10. 5.16 ~ 10. 5.23
菅原 秀明	国際実務者会議に出席及び EBI において DNA データベースに関する調査	連合王国	10. 5.16 ~ 10. 5.24

氏名	内容	渡航先	期間
宮崎 智	国際実務者会議に出席及びEBIにおいてDNAデータベースに関する調査	連 合 王 国	10. 5.16 ~ 10. 5.24
池尾 一穂	EBIにおいて国際実務者会議出席・研究発表及びパーゼル大学において調査研究	連 合 王 国 ス イ ス	10. 5.16 ~ 10. 5.24
斎藤 成也	国際実務者会議に出席及び国立輸血研究所において調査研究	連 合 王 国 フ ラ ン ス	10. 5.17 ~ 10. 5.23
城石 俊彦	国際四肢形成学会において研究成果発表及びソーク研究所において研究打合せ	アメリカ合衆国	10. 5.17 ~ 10. 5.24
小川 智子	遺伝的組換えに関するEMBOワークショップにて講演及び研究打合せ	フ ラ ン ス	10. 5.21 ~ 10. 6. 1
広瀬 進	第63回コールドスプリングハーバーシンポジウム「転写のメカニズム」に参加・発表	アメリカ合衆国	10. 6. 3 ~ 10. 6.10
石浜 明	「転写包括制御に關与する細菌転写因子」に関するシンポジウムの組織・講演及び国際共同研究打合せ	ス ペ イ ン ロ シ ア 連 合 王 国	10. 6. 6 ~ 10. 6.17
嶋本 伸雄	アメリカウイスコンシン大学・プリンストン大学・ドイツ微生物遺伝学研究所において調査研究及びゴードン会議出席発表並びにエジンバラ大学において研究打合せ	アメリカ合衆国 ド イ ツ 連 合 王 国	10. 6.10 ~ 10. 6.25
小川 智子	ゴードン会議に出席・発表	アメリカ合衆国	10. 6.12 ~ 10. 6.22
太田 カ	ゴードン会議に出席・発表及びロックフェラー大学において研究打合せ	アメリカ合衆国	10. 6.13 ~ 10. 6.24
斎藤 成也	ブリティッシュコロンビア大学及びワシントン大学において生命情報データベース利用調査	カ ナ ダ アメリカ合衆国	10. 6.14 ~ 10. 6.23

氏名	内容	渡航先	期間
五條堀 孝	コロンビア大学及びコロンビアゲノムセンターにおいて生命情報のデータベースの構築に関する調査研究	アメリカ合衆国	10. 6.27 ~ 10. 7. 1
舘野 義男	国際シンポジウム「Biological Information」において講演	オーストラリア	10. 7. 3 ~ 10. 7.10
五條堀 孝	野鷲の分子進化的調査研究および研究打合せ	中華人民共和国	10. 7. 4 ~ 10. 7. 8
広海 健	第11回EMBOワークショップ「ショウジョウバエ分子発生生物学」に出席・発表及び日欧共同研究に伴う研究連絡	ギリスヤ スイス	10. 7. 9 ~ 10. 7.20
林 茂生	第11回EMBOワークショップ「ショウジョウバエ分子発生生物学」に出席・発表	ギリスヤ	10. 7.10 ~ 10. 7.20
菅原 秀明	OECD バイオテクノロジー部会に参加	フランス	10. 7.11 ~ 10. 7.15
堀田 凱樹	第11回EMBOワークショップ「ショウジョウバエ分子発生生物学」に出席・講演及び研究連絡	ギリスヤ	10. 7.11 ~ 10. 7.21
天前 豊明	ヘブライ大学において哺乳類の染色体DNA脱メチル化酵素に関わる制御因子の解析	イスラエル	10. 7.15 ~ 11. 7.14
村上 昭雄	環境変異原研究の国際協力のため	大韓民国	10. 7.18 ~ 10. 7.25
西川 建	「第12回プロテイン・ソサイアティ学会」に参加及び「蛋白質の立体構造安定性マップ作製のための基盤研究」の研究打合せ	アメリカ合衆国	10. 7.23 ~ 10. 7.30
清水 裕	ヒドラ細胞外マトリックスが細胞活動に及ぼす影響を調べる研究について評価・助言を享受	アメリカ合衆国	10. 7.28 ~ 10. 8.13

氏 名	内 容	渡 航 先	期 間
山崎 由紀子	第9回国際コムギ遺伝学シンポジウムに出席	カ ナ ダ	10. 7.31 ~ 10. 8. 6
五條堀 孝	野鷄, 在来家鷄ならびに近縁関係にあたるキジ科鳥類の家畜化(Domestication)に関する調査研究	中華人民共和国	10. 8. 2 ~ 10. 8.14
舘野 義男	Pohang 大学における BRIC ワークショップ出席及び国立衛生研究所においてゲノム研究打合せ	大 韓 民 国	10. 8. 6 ~ 10. 8.11
荒木 弘之	酵母染色体構造・複製・分配に関するFASEB会議出席・発表	アメリカ合衆国	10. 8. 7 ~ 10. 8.15
田中 茂生	FASEB 国際会議に出席し, 組換えに関する情報収集及び研究交流	アメリカ合衆国	10. 8. 7 ~ 10. 8.15
小川 智子	第 18 回国際遺伝学会に出席・発表	中華人民共和国	10. 8. 8 ~ 10. 8.17
広瀬 進	第 18 回国際遺伝学会に出席・発表	中華人民共和国	10. 8. 9 ~ 10. 8.14
菅原 秀明	WFCC ワークショップ「微生物の経済的価値」出席及び研究打合せ	カ ナ ダ	10. 8.10 ~ 10. 8.15
小原 雄治	JAFoS シンポジウム参加・発表	アメリカ合衆国	10. 8.20 ~ 10. 8.24
西川 建	ロシア科学アカデミー細胞遺伝学研究所において変異タンパク質データベースの調査	ロ シ ア	10. 8.23 ~ 10. 8.29
白吉 安昭	コールドスプリングハーバーミーティングに出席・発表及び NIH・サンフランシスコ大学において研究打合せ	アメリカ合衆国	10. 8.31 ~ 10. 9.14
野々村賢一	第 13 回染色体国際会議出席・発表	イ タ リ ア	10. 9. 4 ~ 10. 9.16

氏名	内容	渡航先	期間
岡部 正隆	欧州ショウジョウバエ神経生物学学会出席 及びバーゼル大学において日欧共同研究打 合せ	連 合 王 国 ス イ ス	10. 9. 5 ~ 10. 9.13
池村 淑道	第13回染色体国際会議出席・発表	イ タ リ ア	10. 9. 6 ~ 10. 9.14
斎藤 成也	中国漢民族の遺伝的多様性の研究	中華人民共和国	10. 9.15 ~ 10. 9.22
城石 俊彦	第12回IMGCにおいて研究成果発表及びMRC 研究所において研究連絡	ド イ ツ 連 合 王 国	10. 9.27 ~ 10.10. 8
五條堀 孝	BioMedinfo Singapore '98において講演	シンガポール	10. 9.28 ~ 10.10. 1
中辻 憲夫	国際会議 Gametogenesis (配偶子形成) に 出席発表及び情報交換	アメリカ合衆国	10. 9.30 ~ 10.10. 6
斎藤 成也	誠信女子大学において集団遺伝学よりみた 日本人と韓国人の比較について研究連絡	大 韓 民 国	10.10. 1 ~ 10.10. 4
今西 規	「ヒトゲノムの重複構造の解明」に関する 研究	アメリカ合衆国	10.10. 1 ~ 11. 7.31
五條堀 孝	欧州における生物学データベース構築と利 用の実態調査	連 合 王 国	10.10. 4 ~ 10.10. 9
広瀬 進	コールドスプリングハーバーミーティング に出席・発表	アメリカ合衆国	10.10. 7 ~ 10.10.12
菅原 秀明	微生物資源情報システムに関する調査及び WDCM シンポジウムについての打合せ	連 合 王 国 イ タ リ ア	10.10. 7 ~ 10.10.12
舘野 義男	NCBIにおいて大量登録データに関する調査 研究	アメリカ合衆国	10.10.22 ~ 10.10.29

氏名	内容	渡航先	期間
五條堀 孝	BITSにおいて講演及びコロンビア大学において研究打合せ	アメリカ合衆国	10.10.23 ~ 10.10.29
嶋本 伸雄	インド細胞分子生物学センター・インド科学研究所・国立免疫学研究所・香港科学工科大学における研究打合せ及び調査	インド 香港	10.10.24 ~ 10.11. 4
斎藤 哲一郎	北米精神科学会において研究成果発表	アメリカ合衆国	10.11. 7 ~ 10.11.14
菅原 秀明	CODATA conferenceに出席	インド	10.11.10 ~ 10.11.15
白木原 康雄	日欧科学協力事業によるセミナーに出席・発表及び研究連絡	イタリア 連合王国	10.11.10 ~ 10.11.19
今井 弘民	キバハリアリ類の種分化に関する野外調査研究	オーストラリア	10.11.17 ~ 10.11.29
西川 建	中国で作成されている変異タンパク質データベースについて調査・研究	中華人民共和国	10.11.22 ~ 10.11.29
太田 元規	中国で作成されている変異タンパク質データベースについて調査・研究	中華人民共和国	10.11.22 ~ 10.11.29
五條堀 孝	ナポリ大学において、生命情報データベースの構築とその利用に関する調査研究	イタリア	10.11.23 ~ 10.11.30
太田 元規	生物学データベース構築と利用に関する調査研究	アメリカ合衆国	10.12.11 ~ 10.12.21
菅原 秀明	欧米における生物学データベース構築と利用に関する実態調査	アメリカ合衆国	10.12.14 ~ 10.12.20
今井 弘民	第13回国際社会性昆虫学会(IUSSI)アデレード大会出席及びオーストラリア産アリ類の野外調査	オーストラリア	10.12.26 ~ 11. 1. 8

. ほかの機関における講義

氏名	機関名	期間	担当科目
石濱 明	名古屋大学大学院 理学系研究科	10. 4. 1 ~ 11. 3. 31	生命理学特論
石濱 明	金沢大学医学部	10. 4. 1 ~ 11. 3. 31	生化学第一
廣瀬 進	名古屋大学理学部	10. 6. 1 ~ 11. 3. 31	生物学各論 XI
齊藤 成也	千葉大学理学部	10. 4. 1 ~ 11. 3. 31	動物系統学 II
齊藤 成也	東京都立大学大学院 理学研究科	10.10. 1 ~ 11. 3. 31	遺伝情報特別講義
齊藤 成也	東京大学理学部	10.10. 1 ~ 11. 3. 31	分子進化学
佐々木 裕之	東京大学農学部	10.12. 1 ~ 11. 3. 31	細胞生化学講義
城石 俊彦	北海道大学理学部	10. 4. 1 ~ 11. 3. 31	特別講義 IX
城石 俊彦	広島大学医学部	10. 4. 1 ~ 11. 3. 31	免疫学
中辻 憲夫	岡山大学医学部	10. 4. 1 ~ 10. 9. 30	解剖学(一)
中辻 憲夫	鳥取大学医学部	10. 4.13 ~ 11. 3. 31	細胞工学
中辻 憲夫	熊本大学理学部	10. 4.13 ~ 11. 3. 31	形態形成学特別講義
林 茂生	お茶の水女子大学	11. 2. 1 ~ 11. 3. 31	生物学特別講義 XI
小原 雄治	北海道大学理学部	10. 4. 1 ~ 11. 3. 31	特別講義 IV
小原 雄治	熊本大学理学部	10. 4.13 ~ 11. 3. 31	分子生物学特別講義
徳永 万喜洋	東京大学大学院 理学系研究科	10. 4. 1 ~ 10. 9. 30	物理学特別講義 AXV
徳永 万喜洋	東京大学大学院 工学系研究科	10. 4. 1 ~ 10. 9. 30	物理工学特別講義 VI
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	東京大学理学部	10. 4. 1 ~ 10. 9. 30	動物学特別講義 I
桂 勲	京都大学医学部	10. 4. 1 ~ 11. 3. 31	C 発生学・遺伝学
五條堀 孝	徳島大学工学部	10. 4. 1 ~ 11. 3. 31	生命工学特論 2
五條堀 孝	東京医科歯科大学医学部	10. 4. 1 ~ 11. 3. 31	生化学
五條堀 孝	九州大学医学部	10. 4. 1 ~ 11. 3. 31	生命基礎医学群 (遺伝学)
定家 義人	浜松医科大学	10. 4. 1 ~ 11. 3. 31	放射線医学

Ⅵ．共同研究事業

A．共同研究

- (1) 増殖定常期大腸菌 RNA ポリメラーゼの主要シグマ因子³⁸(rpoS 遺伝子産物)の研究
田中 寛 (東京大学分子細胞生物学研究所)
- (2) 定常期における大腸菌の加齢現象の研究
和田 明 (大阪医科大学)
- (3) 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)
- (4) 細菌の環境適応と遺伝子発現制御
内海 龍太郎 (近畿大学農学部)
- (5) 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)
- (6) 転写促進の協調性に関する生化学的研究
田中正史 (東海大学総合医学研究所)
- (7) インフルエンザウイルスの転写・複製機構
水本清久 (北里大学薬学部)
- (8) 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)
- (9) アデノウイルス E1A 誘導アポトーシスにおけるトポイソメラーゼ II 特異的分解機構
中島琢磨 (東京医科歯科大学歯学部)
- (10) 転写調節におけるクロマチンの構造変化 - 原子間力顕微鏡を用いた解析
竹安邦夫 (京都大学総合人間学部)
- (11) 高頻度にターゲットインテグレーションを起こすニワトリ B リンパ細胞株 DT40 の相同 DNA 組換え機構の解析
武田俊一 (京都大学大学院医学研究科)
- (12) 遺伝的組換え開始の分子機構とその制御の研究
坪内英生 (大阪大学大学院理学研究科)
- (13) ショウジョウバエ神経発生過程における musashi および repo 遺伝子産物の機能解析
岡野栄之 (大阪大学医学部)
- (14) DNA から見たサンゴの系統分類
大森 信 (東京水産大学)

- (15) 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)
- (16) 無脊椎動物の神経ペプチドの解析
松島 治 (広島大学理学部)
- (17) ヒドラ細胞外マトリックスの欠失と細胞増殖
美濃部 純子 (福岡女子大学人間環境学部)
- (18) エピトープセレクション法による、ヒドラの細胞分化マーカー遺伝子と特異的抗体の単離
小早川 義尚 (九州大学理学部)
- (19) *in vivo*を反映したクロマチン再構築系における転写のメカニズムの解明
梅澤明弘 (慶応義塾大学医学部)
- (20) カイコの転写因子FTZ-F1とそのメディエーターMBF1との相互作用についての構造生物学的研究
白川昌宏 (奈良先端科学技術大学院大学)
- (21) リガンドおよびターゲット特異的なNotchシグナル伝達機構の解析
村田武英 (理化学研究所)
- (22) 新規核タンパク質GSBPの機能解析
赤坂甲治 (広島大学理学部)
- (23) 試験管内転写系を用いたLCR機能機構の解析
五十嵐 和彦 (筑波大学基礎医学系)
- (24) 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)
- (25) 分子進化のほぼ中立モデルに関する理論的研究
舘田英典 (九州大学理学部)
- (26) 高等動物クロマチン構造と染色体GC含量分布との関係の解析
三田和英 (放射線医学総合研究所)
- (27) 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)
- (28) ヒトMHC領域と相同性をしめす第1, 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)
- (29) 動物細胞ゲノムの複製スイッチ部位の解析
奥村克純 (三重大学生物資源学部)
- (30) 自己組織法に基づいた連続コドン構造による遺伝子機能の推定法の開発
工藤喜弘 (山形大学工学部)

- (31) マウス生殖細胞における新規核蛋白質 Np95 の核内分布と三重鎖形成構造の相対的配置の解析
武藤正弘 (放射線医学総合研究所)
- (32) 種の分化と遺伝子の分化に関する数理解析
植田 信太郎 (東京大学大学院理学系研究科)
- (33) 初期胚細胞に特異的に発現する糖転移酵素群の遺伝子クローニングとその機能解析
成松 久 (創価大学生命科学研究所)
- (34) I 型糖尿病 (IDDM) モデルマウス NOD 系統における糖尿病感受性遺伝子の解析
若菜茂晴 ((財)実験動物中央研究所)
- (35) 母性ゲノムインプリンティングによるマウス単為発生胚の発生支配
河野友宏 (東京農業大学総合研究所)
- (36) インスリン依存性糖尿病 (IDDM) の発症に関与する遺伝子の研究
前田正人 (社会保険三島病院)
- (37) Jackson shaker(js)、及び Tail short(Ts)遺伝子のポジショナルクローニング
米川博通 ((財)東京都臨床医学総合研究所)
- (38) 歯胚の開始期・増殖期の異常の1つである先天性欠如歯の発現メカニズムに対する分子遺伝学的研究
朝田芳信 (日本大学松戸歯学部)
- (39) アジア産野生マウスの遺伝的分化と地理的分布の解析
山口泰典 (福山大学工学部)
- (40) 化学物質によるマウス突然変異誘発系を用いた発がん関連遺伝子の探索
宮下信泉 (香川医科大学医学部)
- (41) 四肢腹側構造の背側化を来す突然変異マウス“メロメリア(mem)”の原因遺伝子クローニング
津金瑞代 (札幌医科大学)
- (42) マウス造血系初期幹細胞株を使った発生分化機構に関する研究
中辻孝子 (東海大学海洋学部)
- (43) 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)
- (44) イネ交雑親和性の遺伝モデル構築
佐野芳雄 (北海道大学農学部)
- (45) イネの発生を制御する遺伝子の単離とその解析
平野博之 (東京大学大学院農学生命科学研究科)
- (46) イネ属植物の種分化に関する研究 - 特にバンコック深水地帯に分布する変異集団について -

金澤 章 (北海道大学農学部)

- (47) ショウジョウバエの変異系統を用いたミジンコのホメオボックス遺伝子の機能解析

志賀靖弘 (東京薬科大学生命科学部)

- (48) 改変型 GFP を導入した形質転換イネの作出

丹羽康夫 (静岡県立大学)

- (49) 大腸菌の細胞分裂に関与する遺伝子群の解析

松澤 洋 (東京大学大学院農学生命科学研究科)

- (50) 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)

- (51) 大腸菌の増殖誘導期の長さに影響する AspS と ORF17 の役割

山田 守 (山口大学農学部)

- (52) 大腸菌緊縮応答関連酵素 SpoT 蛋白質の構造と機能

池原健二 (奈良女子大学理学部)

- (53) 遺伝子機能解明の為に生体分子間相互作用のイメージング

柳田敏雄 (大阪大学医学部)

- (54) 均一鋳型構造をもった DNA による転写機構の解明

鷲津正夫 (京都大学大学院工学研究科)

- (55) レーザートラップによる転写鋳型 DNA の固定

十川 久美子 (理化学研究所)

- (56) 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)

- (57) 線虫を用いた減数分裂過程の制御機構の分子解明

東谷篤志 (東北大学遺伝生態研究センター)

- (58) CAG リピートを導入した形質転換 *C. elegans* の創製と伸長ポリグルタミンによる神経変性機構の解明

下濱 俊 (京都大学大学院医学研究科)

- (59) 土壌線虫 *C. elegans* と寄生性線虫 *Strongyloides fulleborni* の tyrosinases の比較

中垣和英 (日本獣医畜産大学)

- (60) シトクロム P-450cam オペロン・リプレッサー (Cam リプレッサー) の結晶化および X 線解析

荒牧弘範 (第一薬科大学)

- (61) 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)

- (62) *Caenorhabditis elegans* ミトコンドリア電子伝達系酵素の発現調節機構

- 北 潔 (東京大学大学院医学系研究科)
- (63) 神経冠細胞の分化に関与する小眼症遺伝子の実験的系統解析
山本博章 (東北大学大学院理学研究科)
- (64) 最適多重分枝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)
- (65) 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)
- (66) データバンク配列情報の数値計算による線溶系遺伝子の起源と機能：変異に及ぼす超分子集合理論の検証
高橋 敬 (島根医科大学医学部)
- (67) C型肝炎ウイルスの変異に影響を及ぼす諸因子の検討
熊田博光 (虎の門病院消化器科)
- (68) 全ゲノム配列が決定した生物種の蛋白質の分類方法の開発
中島広志 (金沢大学医学部)
- (69) T4 ファージをモデル系としたゲノム・遺伝子産物相関関係の解明
有坂文雄 (東京工業大学生命理工学部)
- (70) 線虫 *C. エレガンス* のタンパク質のファミリーの構造分析
シディキ シャヒード (豊橋技術科学大学)
- (71) N-アシル-D-アミノ酸アミドヒドロラーゼの立体構造の推定
森口充瞭 (大分大学工学部)
- (72) 1D-3D法による、経験的アミノ酸配列の相似性を考慮した三次構造の類似性の予測法の開発
日比野 威 (大阪府立大学農学部)
- (73) 量子分子動力学による光合成反応機構の研究
菊地浩人 (日本医科大学医学部)
- (74) メディア情報を有する生物情報データベースの検索及び可視化に関する研究
北上 始 (広島市立大学情報科学部)
- (75) 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)
- (76) 枯草菌ヒスチジン資化オペロンの抗転写終結機構の解析
織田雅直 (通商産業省工業技術院生命工学技術研究所)
- (77) 出芽酵母組換え開始遺伝子 MRE11 の機能解析
小川英行 (岩手女子看護短期大学)
- (78) 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
升方久夫 (大阪大学大学院理学研究科)
- (79) 野生イネ自生地保存法確立のための基礎的研究

- 島本義也 (北海道大学農学部)
- (80) ATP合成酵素F1の回転運動とATPase反応の同時可視化
斎藤 究 (金沢大学理学部)
- (81) 1分子蛍光イメージング法を用いた *in vitro* RNA輸送系の構築
木村富紀 (関西医科大学)
- (82) 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)
- (83) 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)
- (84) MAPキナーゼ類縁タンパク質キナーゼMRKの *C. elegans* を用いた機能解析
宮田愛彦 (京都大学大学院理学研究科)
- (85) D-アミノアシラーゼのX線結晶解析
森口充瞭 (大分大学工学部)
- (86) 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)

B. 研究会

- (1) ヒドラ多細胞体制の構築機構
小泉 修 (福岡女子大学人間環境学部) 1998.12.10 ~ 1998.12.11
- (2) 非B型DNAの生物学：ゲノム構造とエピジェネス
木山亮一 (通商産業省工業技術院生命工学工業技術研究所) 1998.10.23 ~ 1998.10.24
- (3) 体軸器官形成のマウス遺伝学
米川博通 ((財)東京都臨床医学総合研究所) 1999. 3.10 ~ 1999. 3.11
- (4) 生殖系列細胞の発生機構と発生工学
中辻憲夫 (系統生物研究センター) 1999. 3. 4 ~ 1999. 3. 5
- (5) イネの比較遺伝学
佐野芳雄 (北海道大学農学部) 1998.11.18
- (6) 植物遺伝資源データベース研究会
佐藤和広 (岡山大学資源生物科学研究所) 1999.2.22 ~ 1999. 2.23
- (7) ポストゲノム期のためのナノバイオロジー的手法
徳永 万喜洋 (構造遺伝学研究センター) 1998. 7.16 ~ 1998. 7.17
- (8) ヒト遺伝子多様性研究会
徳永勝士 (東京大学医学部) 1998.12.14 ~ 1998.12.15
- (9) コムギ葉緑体ゲノムの全構造の決定
常脇 恒一郎 (福井県立大学学長) 1998. 5.29 ~ 1998. 5.30
- (10) 「新展開するユビキチンワールド」

- 横澤英良 (北海道大学大学院薬学研究科) 1999. 3. 18 ~ 1999. 3. 19
(11) 「タンパク質立体構造の分類・予測・デザイン」研究会
西川 建 (生命情報研究センター) 1999. 2. 19 ~ 1999. 2. 20

C. 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 データの分子進化学的解析と遺伝子機能領域同定法の研究開発

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

VII . 研究材料・研究情報の収集と保存

I . 研究材料の収集保存

A . イネ属系統(*Oryza*) (植物遺伝研究室)

(1) 野生種および栽培種

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

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

(2) 同遺伝質系統

台中65号の遺伝背景をもち種々の特定遺伝子を含む19系統を保存している。これらは7回以上の戻し交雑ののち選抜されたもので、含まれる遺伝子は次の通りである。標識遺伝子: wx, Rc, lg, g, nl, bc, gl, la, Ph, d₁およびd₂, 早生遺伝子: E^a, E^bおよびm, およびF₁不稔性に関する4遺伝子。

B. アサガオ(Pharbitis nil)

アサガオ系統の収集保存は故竹中 要博士によって創設間もなく始められ,昭和41年同博士の没後も550系統を引続き保存してきた。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。

C. サクラ(Prunus spp.)

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

D. 淡水ヒドラ(Hydra)

- | | |
|---|----|
| A) 野生型 | 53 |
| (1) <i>Hydra magnipapillata</i> (日本産チクビヒドラ) | 14 |
| (2) <i>H. carnea</i> (ヨーロッパ産) | 2 |
| (3) <i>H. circumcincta</i> (ヨーロッパ産) | 2 |
| (4) <i>H. hymanae</i> (北アメリカ産) | 1 |
| (5) <i>H. oligactis</i> (ヨーロッパ産) | 8 |
| (6) <i>H. oligactis</i> (北アメリカ産) | 2 |
| (7) <i>H. viridissima</i> (北アメリカ産) | 8 |
| (8) <i>H. vulgaris</i> (formerly attenuata)(ヨーロッパ産) | 5 |
| (北アメリカ産) | 3 |
| (9) <i>Pelmatohydra robusta</i> (日本産) | 7 |
| (10) 種不明(オーストラリア産) | 1 |
| B) 突然変異型(<i>H. magnipapillata</i>) | 36 |
| (1) Mini(mini 1,-3,-4). Small body size with high budding rate. | |
| (2) Maxi(maxi 1,-2,-4). Large body size. | |
| (3) L4. Large body size with low budding rate. | |
| (4) Multi head(mh -1,-3). Secondary hypostomes are formed all along the body length (abnormal | |

budding zone?).

- (5) Twisted column(ts). Extended peduncle forms twisted column structure.
- (6) Holotrichous isorhiza minus(nem -3, -10).
- (7) Holotrichous isorhiza deformed(nem -1, -11, -15).
- (8) Male sterile(ms -1, -2). Non motile sperms.
- (9) Female sterile(def 1-12, 1-13). Eggs not fertilized.
- (10) Embryo lethal(def 1-14 (), 1-15()). Fertilized eggs produced between them do not hatch.
- (11) Regeneration deficient(reg -4, -16, -19, def -2 3, s9-k, s9-1, sl0-a, sl0-b).
- (12) Non feeding strain(ts)(nf-1). Produced by loss of interstitial cells by high temperature treatment(23) 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 .
- (17) 105 Epithelial(105 Ep). Deficient in all the cell types in the interstitial cell lineage. Derived from a wild type strain 105.
- (18) Pseudo epithelials(nem I Ps(()3 lines, nem I Ps()3 lines). Epithelial hydra derived from nem-1 containing only germ line cells.
- (19) Others. 13 strains.

C) 細胞系譜キメラ系統

38

E .ショウジョウバエ (*Drosophila*)

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

問い合わせ先 〒411-8540 三島市谷田1111

国立遺伝学研究所 系統生物研究センター 無脊椎動物遺伝研究室

林 茂生

1 . キロショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) 27 種 , 933 系統

A) 突然変異系統

- 1) 各染色体をカバーする欠失系統のセット
 - a) X染色体 (57)
 - b) 第二染色体 (109)
 - c) 第三染色体 (82)
 - d) 第四染色体 (2)

2) その他の変異系統 (約 600)

変異系統は標準的なマーカー系統の他に、ホメオティック遺伝子の変異体を含む。また、FLP, Ga14, lacZ マーカー系統なども維持している。

B) 野生型系統

1) iso-female 系統 (37)

2) 標準系統その他 (27)

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

1) iso-female 系統 (90)

2) 標準系統その他 (37)

3 他の近縁種 (♂ 種, 83 系統)

F. ネズミ

昭和26年に北大理学部より吉田俊秀元細胞遺伝部長によって、ラットおよびマウス約10系統が移され、旧細胞遺伝部におけるネズミの系統保存が始まった。その後、外国より輸入した系統や、海外学術調査で採集した野生ネズミが加わって、規模が大きくなった。昭和50年より遺伝実験生物保存研究施設が発足し、近交系マウス・ラット系統およびテラトーマ高発系マウス系統の維持が始まった。昭和59年に遺伝研が国立大学共同利用機関へ移行されたのに伴い、遺伝実験生物保存研究センターとして改組され、同時に設置された哺乳動物保存研究室において、これらの系統維持業務が行われてきた。基準系、突然変異系およびH2コンジェニックマウスの系統維持は、「がん重点・実験動物委員会」の援助も得て、この研究室で行われてきた。また、昭和60年度から系統保存費として「免疫遺伝学研究用マウス系統維持事業費」が認められた。マウスの野生系統、野生マウス由来の2遺伝子複合体を導入したコンジェニック系統および染色体組換え系は第1ネズミ飼育舎で維持されてきたが、これらの系統のうちの一部は帝王切開法および受精卵移植法によりSPF化され、センターのネズミ附属棟に移された。昭和57年よりマウス受精卵の凍結保存業務を開始した。また、平成8年度から「マウス胚凍結保存事業費」が認められ、凍結胚によるマウス系統保存事業が本格化した。

平成9年度には、センター名が系統生物研究センター、研究室名が哺乳動物遺伝研究室に改称されたが、引き続きマウス系統維持及び分譲事業を行った。平成9年度に、ネズミ付属棟のマウス系統の一部に *Pasteurella pneumotropica* の感染が認められたことから、全系統を第1ネズミ飼育舎に移し、凍結胚を使った清浄化を開始した。平成10年12月現在、合計13系統については清浄化が完了し、分譲のための繁殖を進めている。

1. 飼育維持している系統

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

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

系統名	由来
129/SvJ	Jax Ms(1990,F?),F?+22,A ^w ,BB,c ^b /c or c/c,H2 ^b
A/WySnJ	Jax Ms(1984,F186),F186+60,aa,bb,cc,H2 ^a
AKR/J	Jax Ms(1992,F?),F?+29,aa,BB,cc,H2 ^k
BALB/cAnN	NIH Ms(1984,F178),F178+62,cc,ミエロ - マ高発系,H2 ^d
BALB/cUcsde	Os Ms(1978,F?),F?+44+37,cc,H2 ^d
C57BL/10SnJ	Jax Ms(1985,F26+3),F29+46,aa,BB,CC,H2 ^b
C57BL/6J	Jax Ms(1984,F152),F152+56,aa,BB,CC,H2 ^b
C57BR/cdJ	Jax Ms(1987,F?),F?+35,aa,bb,CC,H2 ^k
C57L/J	Jax Ms(1984,F161),F161+50,aa,bb,lnln,CC,H2 ^b
C58/J	Jax Ms(1985,F200),F200+40,aa,BB,CC,H2 ^k
CBA/J	Jax Ms(1984,F194),F194+51,AA,BB,CC,H2 ^k
DBA/1J	Jax Ms(1982,F112),F112+67,aa,bb,CC,dd,H2 ^q
JF1/Msf	Ms(1993,F19),F19+18 aa,BB,CC,DD,ss
NZB/BINJ	Jax Ms(1988,F134),F134+33,aa,BB,CC,H2 ^d
P/J	Jax Ms(1987,F161),F161+36,sese,pp
PL/J	Jax Ms(1987,F137),F137+45,cc
RIIS/J	Jax Ms(1985,F63),F63+45,cc
SJL/J	Jax Ms(1982,F95),F95+67,AA,BB,cc,pp,H2 ^s
SWR/J	Jax Ms(1984,F150),F150+53,AA,BB,cc,H2 ^q

世代数は1998年12月1日現在のもの。

2) H2コンジェニック系マウス (2系統)

H2ハロタイプ	系統名	由来
BALB/c系 (2系統)		
H2 ^b	BALB.B/01a	01a Ms(1981,F?) Jic Ms(1985,F?),F?+50
H2 ^k	BALB.K/01a	01a Ms(1982,F?),F?+59

3) 野生ハツカネズミのH2染色体を導入したB10コンジェニック系(2系統*)

系統名	H2 H ² タイプ	交配世代数	H2 遺伝子の由来	育成開始 時期
B10.MOL-SGR	wm7	F1N10F15+72	Mol.Sgr	1976
戻し交配によって育成中の系統				
B10.Cas-Tch	wc2	N53	Cas.Tch	1979

* , 研究途上の系統であり , 一般への分譲はまだ行っていない .

4) B10.MOL-H2コンジェニック系由来のH2染色体組換え系(3系統*)

両親のH2 H ² タイプ	系統名 / 旧称	世代数	組換え体 H ² タイプ	H2領域の構成と組換え点					
				K	A	E	S	D	
a/wm7	B10.A(R201)/Msf	N4F54+24	aw1	k		w	w	w	w
a/wm7	B10.A(R209)/Msf	N4F42+21	aw9	w		k	k	d	d
b/wm7	B10(R233)/Msf	N4F36+20	bw3	b		w	w	w	w

* , 研究途上の系統であり , 一般への分譲はまだ行っていない .

5) その他のコンジェニック系マウス(1系統)

系統名	由来
BALB/cMsf-Hbb ^p *	Ms由来(1993),N5F2N1F2+18,wild-driver Hbb ^p haplotype

* , 研究途上の系統であり , 一般への分譲はまだ行っていない .

6) 染色体変異を持つ系統(1系統)

系統名	由来
C57BL/10Sn-Y ^{del} *	Ms(1990,B10.BR-Y ^{del} よりC57BL/10Snに戻し交配),N27

* , 研究途上の系統であり , 一般への分譲はまだ行っていない .

7) その他の突然変異遺伝子を保有している系統 (11系統)

系統名	由来
B10.D2/nSn-Hx/+	Jax Ms(1994,F58),F58+16,hemimelic extra tose(Hx)
C3HeB/FeJ-E ^o /E ^o Xt-/+	Jax Ms(1993,N10F12),N10F12+23,Extra toes-J(Xt-)
C57BL/6J-1st ^J	Jax Ms(1994),N10,Strong's luxoid-J(1st-), B6C3Fe-a/a-1st-(N25)より系統作成中
C57BL/6J-1x ^W	Jax Ms(1994,N111),N111+N10,luxate(1x)
C57BL/6J-pe/pe	Jax Ms(1994,F?),F?+11,pearl(pe)
C57BL/6J-Tr ^{Re}	Jax Ms(1991,N42),N40+N21,trembler(Tr),rex(Re)
C57BL/6J-Xpl	Jax Ms(1994),N14,X-linked polydactyly(Xpl), B6C3Fe-a/a-Xpl(N83)より系統作成中
C57BL/10Snf-rim2/rim2 [*]	Ms 由来(1994),F24+N1F16
C57BL/10Snf-Rim3/+ [*]	Ms 由来(1994),N16+N17
C57BL/10Snf-Rim4/+ [*]	Ms 由来(1994),N8+N13
TSJ/Le b/b Ts/+	Jax Ms(1993,F90),F90+15,Tail-short(Ts)

* , 研究途上の系統であり, 一般への分譲はまだ行っていない。

8) 野生ハツカネズミ由来の系統 (14系統)

種, 亜種名および系統名	採集地, 由来および時期	世代数
Mus musculus domesticus		
M.DOM-PGN2	Pegion(カナダ)1979年9月	F47
Mus musculus bactrianus		
M.Bac-kjo	Kujour(イラン)1990年11月	F12
M.Bac-Avz3	Ahvaz(イラン)1991年4月	F25
Mus musculus subspecies		
M.SUB-CHD	成都(中国)1981年5月	F42
Mus spicilegus		
ZBN	ブルガリア 1984年4月	F23
Mus musculus molossinus		
MSM/Msf	三島(静岡県)1978年4月	F46+21
Mus musculus brevisrostris		
BFM/2Msf	Montpellier(フランス)1976年	F15F40+23

Mus musculus musculus		
BLG2/Msf	Toshevo(ブルガリア)1980年	F3+41+23
NJL/Msf	Northern Jutland(デンマーク) 1980年9月	F41+14
Mus musculus castaneus		
HMI/Msf	和美(台湾)1986年6月	F21+16
MAL/Msf	マレーシア 1987年2月	F13+10
CAST/Ei	Jax Ms(1989, F43)1971年	F43+25
Mus musculus subspecies		
KJR/Msf	Kojuri 島(韓国)1984年9月	F31+25
SWN/Msf	水原(韓国)1984年9月	F22+17

9) トランスジェニック系統 (1系統)

系統名	由来	世代数
Tg(17MMUCyp21)1Msf (旧称 1.6-L11)	Ms 由来(1994)	F?+2+19

* , 研究途上の系統であり , 一般への分譲はまだ行っていない .

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

系統名	由来	凍結胚世代数	凍結胚数 (98実績)
1) 近交系 (31系統)			
129/J	Jax Ms(1992, F126)	F126+2 ~ 4	117
129/SvJ	Jax Ms(1990, F?)	F?+5 ~ 20	537
A/WySnJ	Jax Ms(1984, F186)	F186+38 ~ 56	462
A2G/O1a	O1a Ms(1998, F?)	F?+30 ~ 35	509
AKR/J	Jax Ms(1992, F?)	F?+6 ~ 19	173
AU/SsJ	Jax Ms(1991, F93)	F93+11 ~ 28	510
BALB/cAnN	NIH Ms(1984, F178)	F178+38 ~ 52	470
BALB/cJcsde	Os Ms(1978, F?)	F?+44+23 ~ 31	494
C57BL/6J	Jax Ms(1984, F152)	F152+33 ~ 52	488
C57BL/10SnJ	Jax Ms(1985, F26+3)	F29+27 ~ 42	267
C57L/J	Jax Ms(1984, F161)	F161+36 ~ 42, F194+1 ~ 3	582
C57BR/cdJ	Jax Ms(1987, F?)	F?+27 ~ 33, F216+2	381

C58/J	Jax	Ms(1985, F200)	F200+26 ~ 38	402
CBA/CaHn	N1H	Ms(1984, F65)	F65+39 ~ 41	92
CBA/J	Jax	Ms(1984, F194)	F194+33 ~ 47	406
CBA/StMs	Ms	Nga(1965, F34)	F75+44+16 ~ 18	161
		Ms(1978, F75)		
CE/J	Jax	Ms(1987, F102)	F102+21 ~ 34	489
DBA/1J	Jax	Ms(1982, F112)	F112+48 ~ 57	533
DBA/2J	Jax	Ms(1984, F151)	F151+35 ~ 39	249
DM/Shi	Shi	Ms(1983, F108)	F108+42 ~ 44	142
JF	As	Ms(1987, F?)	F?+14 ~ 19	79
JF1/Ms	Ms	(1993, F19)	F19+4 ~ 14	420
MA/MyJ	Jax	Ms(1983, F?)	F?+36 ~ 39	119
NZB/B1NJ	Jax	Ms(1988, F134)	F134+20 ~ 31	184
PL/J	Jax	Ms(1987, F137)	F137+27 ~ 39	459
P/J	Jax	Ms(1987, F161)	F161+22 ~ 35	467
PT/7af	Os	Ms(1986, F26)	F26+34 ~ 43	472
R111S/J	Jax	Ms(1985, F63)	F63+37 ~ 40	123
SJL/J	Jax	Ms(1982, F95)	F95+47 ~ 64	279
SM/J	Jax	Ms(1982, F106)	F106+36 ~ 43	398
SWR/J	Jax	Ms(1984, F150)	F150+36 ~ 51	164

2) H2コンジェニック系

B10系(25系統)

B10. 129(6M)/Snf	Jax	Ms(1977, F52)	F52+54 ~ 56N1(* 1)	157
B10. A/SgSnJ	Jax	Ms(1985, F28)	F28+21 ~ 25N1(* 1)	162
B10. A(2R)/SgSnJ	Jax	Ms(1982, F?)	F?+40 ~ 43N1(* 1)	121
			F?+58 ~ 62	559
B10. A(4R)/O1a	O1a	Ms(1982, F3)	F3+40N1(* 1)	152
			F3+59 ~ 62	529
B10. A(5R)/SgSnJ	Jax	Ms(1982, F20)	F20+39 ~ 40N1(* 1)	126
			F20+53 ~ 56	584
B10. AKM/O1a	O1a	Ms(1983, F?)	F?+34 ~ 36N1(* 1)	145
B10. AQR/O1a	O1a	Ms(1982, F?)	F?+41 ~ 43N1(* 1)	126
			F?+55 ~ 59	524
B10. BR/SgSnJ	Jax	Ms(1984, F26)	F26+33 ~ 34N1(* 1)	166
B10. D2/nSnJ	Jax	Ms(1983, F22)	F22+31 ~ 33N1(* 1)	174
B10. DA(80NS)/Sn	Jax	Ms(1987, F?)	F?+17 ~ 18N1(* 1)	121

B10.G/O1a	O1a	Ms(1985,F?)	F?+28 ~ 29N1 (* 1)	117
			F?+42 ~ 46	555
B10.GD	C.S.David	Ms(1984,F?)	F?+24 ~ 25N1 (* 1)	96
B10.GD/Ms			F?+29+10 ~ 14	518
B10.HTG/2Cy	Jax	Ms(1982,N16F19)	N16F19+34 ~ 35N1 (* 1)	111
			N16F19+49 ~ 54	330
B10.HTT/O1a	O1a	Ms(1985,F?)	F?+27 ~ 28N1 (* 1)	185
B10.M/Sn	Jax	Ms(1990,F84)	F84+10 ~ 12,F?,	693
			F84+24 ~ 28	
			F84+7N1 (* 1)1	50
B10.PL(73NS)/Sn	Jax	Ms(1982,F17)	F17+39 ~ 41N1 (* 1)	154
B10.RIIII(71NS)/O1a	O1a	Ms(1982,F?)	F?+44 ~ 47N1 (* 1)	139
B10.S/O1a	O1a	Ms(1985,F?)	F?+21 ~ 22N1 (* 1)	111
			F?+35 ~ 38	409
B10.S(7R)/O1a	O1a	Ms(1985,F?)	F?+24 ~ 27N1 (* 1)	69
B10.S(9R)/O1a	O1a	Ms(1985,F?)	F?+28 ~ 30N1 (* 1)	107
B10.SM(70NS)/Sn	Jax	Ms(1983,F22)	F22+32 ~ 33N1 (* 1)	153
B10.T(6R)/O1a	O1a	Ms(1985,F?)	F?+28 ~ 31N1 (* 1)	119
B10.WB(69NS)/Sn	Jax	Ms(1982,F19)	F19+38 ~ 39N1 (* 1)	161
B10.Y/Sn	Jax	Ms(1987,F?)	F?+19 ~ 20N1 (* 1)	150

A系(3系統)

A.AL/O1a	O1a	Ms(1982,F?)	F?+41 ~ 43	156
A.CA/Sn	Jax	Ms(1982,F23)	F23+45 ~ 49	112
A.B(4R)/Ms	Ms		N20F3 ~ 10	510

C3H系(5系統)

C3H.JK/Sn	Jax	Ms(1982,F22)	F22+51 ~ 52	79
C3H.NB/Sn	Jsx	Ms(1982,F18)	F18+55 ~ 56,F?	157
C3H.OH/N	NIH	Ms(1981,F?)	F?+44 ~ 45	46
	Jic	Ms(1985,F?)		
C3H.OL/Ne	NIH	Ms(1981,F?)	F?+25+17 ~ 29	385
C3H.SW/SnJ	Jax	Ms(1982,F22)	F22+43 ~ 58	307

3) 野生ハツカネズミのH2染色体を導入したB10コンジェニック系(17系統)

B10.BAC1	Ms		F?,N8F6N1F2 ~ 4,	47
			N8F6N1F2 ~ 4N1 (* 1)	68

B10.CAS-QZNe	Ms		N12F30+9 ~ 11N1(* 1)	108
			N12F30+27 ~ 32	255
B10.CAS-TCH/+	Ms		NE37 ~ 48(* 1)	71
B10.DOM-PGN	Ms		N12F2 ~ 3N1(* 1)	101
B10.MOL-ANJe	Ms		N11F41+11N1(* 1)	174
B10.MOL-MSM	Ms		N12F28 ~ 29,	62
			N12F26 ~ 28N1(* 1)	150
B10.MOL-NSB	Ms		N12F13N1F6N1F3N1(* 1)	1
B10.MOL-OHM	Ms		N12F11+33 ~ 34N1(* 1)	160
B10.MOL-OKBe	Ms		N12F44+12N1(* 1)	170
B10.MOL-SGR	Ms		F?,F1N12F15+38 ~ 39N1	130
			(* 1)	
			F1N10F15+60 ~ 62	542
B10.MOL-TEN1	Ms		N12F16+37N1(* 1)	106
			N12F16+56 ~ 61	525
B10.MOL-TEN2e	Ms		N10F36+13 ~ 15N1(* 1)	101
			N10F36+33 ~ 37	370
B10.MOL-YNG	Ms		N13F31N1F9,	13
			N13F31N1F8 ~ 9N1(* 1)	263
B10.SHH2	Ms		N8F10 ~ 12,	66
			N8F9 ~ 11N1(* 1)	70
B10.SHH3	Ms		N8F11 ~ 14,F?,	43
			N8F1013N1(* 1)	86
B10.CAS3/Kf I	Kf I	Ms(1991,F?)	F?N1(* 1)	202
京都 D20+	Ms		F?,N2F7N1(* 1)	21

4) B10.MOL-H2 コンジェニック由来のH2染色体組換体 (45 系統)

B10.A(R201)	Ms		N4F47 ~ 48N1(* 1),	196
			N4F55 ~ 56	14
B10.A(R201)/Ms	Ms		F54+13 ~ 17	563
B10.A(R202)	Ms		N4F44 ~ 47N1(* 1)	267
B10.A(R203)	Ms		N3F36 ~ 38N1(* 1)	161
B10.A(R204)	Ms		N4F37 ~ 39N1(* 1)	163
B10.A(R206)	Ms		N4F37 ~ 38N1(* 1)	261
B10.A(R207)	Ms		N4F43N1(* 1)	104
B10.A(R208)	Ms		N4F29 ~ 30N1(* 1)	110
B10.A(R209)	Ms		N4F34+1 ~ 2N1,	

			N4F39N1 (* 1)	200
B10.A(R209)/Ms	Ms		F42+11 ~ 14	629
B10.A(R211)	Ms		N4F36 ~ 37N1 (* 1)	552(485)
B10.A(R212)	Ms		N3F2 ~ 3N1 (* 1)	166
B10.A(R213)	Ms		N4F35 ~ 37N1 (* 1)	136
B10.A(R214)	Ms		N3F35N1 (* 1)	102
B10.A(R217)	Ms		N4F38N1 (* 1)	111
B10.A(R221)	Ms		F26 ~ 29N1 (* 1)	133
B10.A(R223)	Ms		F25N1 (* 1)	100
			F39 ~ 44	132
B10.A(R224)	Ms		F28 ~ 36N1 (* 1)	136
B10.A(R228)	Ms		F15 ~ 18N1 (* 1)	118
B10.A(R241)	Ms		N4F35N1 (* 1)	221
B10.A(R251)	Ms		N3F37 ~ 42N1 (* 1)	150
B10.A(R261)	Ms		N3F24 ~ 27N1 (* 1)	105
B10.A(R262)	Ms		N3F26 ~ 30N1 (* 1)	116
B10.BR(R220)	Ms		N8 ~ 9 (* 1)	95
B10.CAS4(R28)/Kf I	Kf I	Ms(1991, F?)	F?+1N1 (* 1)	121
			F+6	8
B10.SH1(R17)	Kf I	Ms(1985, F?)	F?+N7F14 ~ 15,	35
			F?+N7F13 ~ 14N1 (* 1)	103
B10(R226)	Ms		N10 ~ 12 (* 1)	142
B10(R231)	Ms		N3F32 ~ 36N1 (* 1)	140
B10(R233)	Ms		N4F32 ~ 33N1 (* 1),	166
			N4F37	1
B10(R233)/Ms	Ms		F36+12 ~ 15	563
B10(R236)	Ms		N3F34 ~ 41N1 (* 1)	110
B10(R237)	Ms		N3F31 ~ 32N1 (* 1)	110
B10(R239)	Ms		N3F31 ~ 32N1 (* 1)	164
B10(R263)	Ms		N1F1N1F2+18 ~ 19N1 (* 1)	175
B6.CAS3(R23)/Kf I	Kf I	Ms(1991, F?)	F?	52
B6.CAS3(R7)/Kf I	Kf I	Ms(1991, F?)	F?	92
B10.CAS3(R8)/Kf I	Kf I	Ms(1991, F?)	F?	156
C57BL/10SnS1c-H2 ^{ant6} /H2 ^b	Ms		N15+7 (* 1)	245
as55	Ms		F26 ~ 29	99
as61	Ms		F17 ~ 21	49
AS75	Ms		F12 ~ 28	195

as8	Ms		F25 ~ 32	81
as100	Ms		F26 ~ 44	215
as46	Ms		F27 ~ 30	142
as53	Ms		F25 ~ 26	75

5) その他のコンジェニック系 (20系統)

AXBG11/Ms	Ms		N2F25+6 ~ 11	548
B6-Ly2 ^c , 3 ^a	Ms		N12F13 ~ 14	95
BALB/c-Aph1 ^b	Nga	Ms(1985, F?)	F? ⁺ 7 ~ 8, F? ⁺ 7N1(* 2)	16 11
BALB/c-Aph1 ^b , Aph2 ^b	Nga	Ms(1985, F?)	F? ⁺ 8 ~ 9, F? ⁺ 8 ~ 9N1(* 2)	42 93
BALB/c-Aph1 ^c	Ms		F? ⁺ 9 ~ 10, F? ⁺ 8 ~ 9N1(* 2)	22 72
BALB/c-Aph2 ^b	Ms		F? ⁺ 5 ~ 6	82
BALB/c-Aph3	Ms		F? ⁺ 7 ~ 8, F? ⁺ 5 ~ 7N1(* 2)	14 86
BALB/cMsf-Hbb ^p	Ms		N5F2N1F2+8 ~ 15	399
BALB/c-H. 2	Ms		F? ⁺ 8 ~ 10, F? ⁺ 8 ~ 9N1(* 2)	87 111
BALB/c-H. 3	Ms		F? ⁺ 7, F? ⁺ 6 ~ 7N1(* 2)	25 117
BALB.B/O1a	O1a	Ms(1981, F?)	F? ⁺ 39 ~ 45	387
	Jic	Ms(1985, F?)		
BALB.K/O1a	O1a	Ms(1982, F?)	F? ⁺ 45 ~ 51	385
B6.BFM	Ms		N5(* 3)(* 1)	69
B6.BGR	Ms		N5(* 3)	52
B6.CAST	Ms		N5(* 3)(* 1)	62
B6.MAL	Ms		N5(* 3)(* 1)	55
B6.MSM	Ms		N5(* 3)(* 1)	52
B6.PGN	Ms		N5(* 3)(* 1)	57
B6.SJL	Ms		N5(* 3)(* 1)	52
HBBW1/Ms	Ms		N8F2N1F2+6 ~ 10	535

6) 染色体変異を持つ系統 (7系統)

B10.SMY-Ydote	Ms		N10F1+N11 ~ 25(* 1)	243
B10.SMY-conte	MRC	Ms(1989, N10)	N10F1+N13 ~ 14(* 1)	124

C57BL/10Sn-Y ^{del}	Ms		N8 ~ 24 (* 1)	142
C. URM	Ms		N4+7 ~ 8N1 (* 2), NE5+F6 ~ 8	85 245
Rb(9.15)/Ms	Ms		N13F21, F? N13F21+N1F1	30 363(186)
Rb(10,11)8Bnr	Jax	Ms(1991, F51)	F51+11 ~ 12	155
Rb(11,14)1Dn	Jax	Ms(1991, F?)	F?+4 ~ 5	95

7) 突然変異遺伝子を保有している系統 (30系統)

B6C3Fe-a/a-HdVa ^J			N86+N2	250(250)
B10. A(4R)/Ola(mut)	Ms		F3+37+M+3N1 (* 1)	94
B10. BR(R228)spot	Ms		F? (* 1)	209
B10. D2/nSn-Hx/+	Jax	Ms(1994, F58)	F58+7 ~ 12	488
B10. PL(73NS)/Sn-s/o	Jax	Ms(1982, F17)	F24+M+NE2F1N1 (* 1)	166
B10-ape	Ms		F?NE6F8+1NE3 ~ 4F1N1 (* 1)	42
B10. MOL-SGR-CMs2	Ms		F1N10F64+M+6 ~ 11 F1N10F64+M+10+N1 (* 4)	341 200
B10-Poe	Ms		F55NE3F12+11 ~ 12N1 (* 1)	158
C. OGS-Ap	Ms		N13F3N1F5N10 (* 2)	38
C3HeB/FeJ-E ^o /E ^{so} Xt ^{J/+}	Jax	Ms(1993, N10F12)	N10F12+18 ~ 19	394(358)
C3H/HeN-seal/+	Jms	Ms	F?+3 ~ 4	61
C57BL/6By-Ra0sPt/+	Jax	Ms(1997, N27)	N27+2 (* 3)	348
C57BL/6J-js/+	Jax	Ms	F?+1 ~ 2, F?	123
C57BL/6J-Ist ^J	Jax	Ms(1994)	N8 (* 3) N7F1	51 35
C57BL/6J-lxll ^v	Jax	Ms(1994, N111)	N111+8 (* 3)	216
C57BL/6J-pe/pe	Jax	Ms(1994, F?)	F?+3 ~ 8	502
C57BL/6J-Tr Re	Jax	Ms(1991, N42)	N40+15 (* 3)	164
C57BL/6J-Xpl	Jax	Ms(1994)	N8 ~ 11 (* 3)	118
C57BL/10-rim2/rim2	Ms		F20 ~ 26N1 (* 1)	146
C57BL/10Snf-rim2/rim2	Ms		F24+N1F6 ~ 10	493
C57BL/10-Rim3/+	Ms		N15 (* 1)	114
C57BL/10Snf-Rim3/+	Ms		N16+N9 ~ 12 (* 1)	358
C57BL/10-Rim4/+	Ms		N7 (* 1)	91
C57BL/10Snf-Rim4/+	Ms		N8+N5 ~ 10 (* 1)	478
C57BL/10-Rim5/+	Ms		N8 (* 1)	145
C57BL/10Snf-Rim5/Rim5	Ms		F17	12

HRS/J	Jax Ms(1984,F75)	F75+29 ~ 38	617
MWT/Le-at/at	Jax Ms(1993,F98)	F98+18 ~ 19	654(620)
TSJ/Le-b/bTs/+	Jax Ms(1987,F?)	F90+3 ~ 12	488
WB/ReJ-W	Jax Ms(1987,F?)	F?+27 ~ 29	145

8) 野生ハツカネズミ類 (30系統)

BFM/2Ms	Montpellier Ms	F15+42 ~ 43	23
BFM/2Ms	Montpellier Ms	F15+40+12 ~ 18	530
BLG2/Ms	Toshevo Ms	F3+41+13 ~ 18	515
	(ブルガリア)		
CASA/Rk	Jax Ms(1989,F12)	F12+7 ~ 8	31
CAST/Ei	Jax Ms(1989,F43)	F43+9 ~ 22	250
HMI/Ms	和美(台湾)	F21+8 ~ 13	250
KJR/Ms	Kojuri 島(韓国)	F31+13 ~ 18	476
MAL/Ms	マレーシア	F13+6 ~ 9	21
M. Bac-Avz3	Ahvaz(イラン)	F?	87
M. Bac-Gms	Garmsar(イラン)	F?	55
M. Bac-Iran	Mashhad(イラン)	F12 ~ 15	11
M. Bac-Kjo	Kujour(イラン)	F3 ~ 4	73
M. Bac-Nsh2	NowShahr(イラン)	F?	23
M. Cas-Hmi	和美(台湾)	F?	11
M. Cas-Mal	マレーシア	F?+9 ~ 11	74
M. DOM-PGN2	Pegion(カナダ)	F?,F45 ~ 47	295
M. Dom-Pgn3	M.DOM-PGN1 × PGN2	F?	19
M. MoI-Unu	内之浦(鹿児島県)	F?	15
M. MUS-NJL	NorthernJutland	F?	35
	(デンマーク)		
M. SUB-CHD	成都(中国)	F?	409(493)
M. SUB-KJR1	Kojuri 島(韓国)	F33	4
MSUB-SWN1	水原(韓国)	F18 ~ 22	59
M. SUB-SWN2	水原(韓国)	F?	10
M. SUB-SWN3	水原(韓国)	F?	55
MSM	三島(静岡県)	F38 ~ 41	190
MSM/Ms	三島(静岡県)	F46+8 ~ 15	263
MOM	瑞穂区	F29+2+11 ~ 13	120
	(愛知県名古屋市)		

NJL/Ms	NorthernJutland (デンマーク)	F41+3 ~ 10	531
SWN/Ms	水原 (韓国)	F22+7 ~ 13	519
ZBN	ブルガリア	F9	7

9) トランスジェニック系統 (9系統)

Tg(17MMUCyp21)1Ms	Ms	F?+8 ~ 9 (* 1)	40 106
		F?+2+5 ~ 9	548
Tg(0MMUCyp21)2Ms	Ms	(* 1)	109
Tg(0MMUCyp21)3Ms	Ms	G1F2	15
Tg(YHSPCyp21)5Ms	Ms	N12 (* 1)	108
Tg(17MMUCyp21)6Ms	Ms	N1F3N2F3 ~ 13 N1F3N1 (* 1)	17 14
Tg(0MMUCyp21)7Ms	Ms	(* 1)	50
Tg(0MMUCyp21)8Ms	Ms		1
		(* 1)	77
Tg(0MMUCyp21)9Ms	Ms	(* 1)	102
TN-C(-/-)	Ms		174(174)

(* 1) C57BL/10SnS1cまたは C57BL/10SnJ との heterozygote

(* 2) BALB/cCrS1c との heterozygote

(* 3) C57BL/6JJcl との heterozygote

(* 4) B10.MOL-SGR との heterozygote

G. 細菌とそのファージ

保存株の概要

Escherichia coli (大腸菌) : 15,000株

- (1) 1353 の標識遺伝子を含む各種突然変異株 (栄養要求性, 薬剤抵抗性, ファージ抵抗性, 放射線感受性, その他) : 7,000 株
- (2) トランスポゾン挿入変異株 (染色体地図のほぼ 1 分毎に, Tn10, Tn10 kan, Tn5 で標識されている) : 473 株
 - a) 遺伝的背景の異なる株 (1983-1987 年の Journals に記載された株のコレクション) : 203 株
 - b) 遺伝的背景が野性型の株 (Singer et al., 1989. Microbiol. Rev., **53**, 1-24 に掲載された kit) : 190 株
 - c) Hfr 株の kit : 80 株
- (3) クラーク・カーボンの pLC コレクション (合成 ColE1 ハイブリッド・プラスミド 2,000 種を含む大腸菌のジーン・バンク. Clarke & Carbon. 1976. Cell, **9**, 91-99) : 2,000 株

* Nishimura A, Microbiol Rev, **56**, 137-151, 1992.

(4) 広田の大腸菌温度感受性変異株のコレクション：約5,000株

DNA 複製欠損変異株	115 株
RNA 合成欠損変異株	100 株
ムレイン生合成欠損変異株	55 株
細胞分裂欠損変異株**	353 株
染色体分配欠損変異株**	45 株
膜蛋白欠損変異株	22 株
リボソーム蛋白変異株	79 株
未同定欠損変異株	約3,800 株

**Nishimura A. et al, Mapping of a whole set of cell division genes in *Escherichia coli* K-12. In "Control of growth and division" (A. Ishihama, H. Yoshikawa eds), pp. 205-223, Springer-Verlag/Tokyo, 1991.

(5) *Escherichia coli* のファージ： T₂, T₃, T₄, T₄GT7, T₅, T₆, T₇, P1kc, P1vir, Mu, papa, vir, gt C, cb2, cl₈₇S7, Tn5, Tn10, X174wild, X174am3, f1, MS2, Q, その他

その他

Bacillus subtilis (枯草菌): 200 株

H. クローニングベクターコレクション

微生物遺伝研究部門では大腸菌を宿主とするクローニングベクターの収集と配布の事業を行っている。現在、約460種類のプラスミドベクターを精製したDNAとして保存しており、これらは分譲が可能である。内訳は汎用ベクター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等数種ずつである。保有しているすべてのベクターのマップを含めたデータをまとめたカタログを製本して希望者への配布を行っている。同じ内容のデータをインターネット上に公開しており(<http://www.shigen.nig.ac.jp/cvector/cvector.html>)、データベースファイルとして取り出せるようになっている。郵便、ファックス、あるいは電子メールでの問い合わせ、請求に応じている。

連絡先: 〒411-8540 静岡県三島市谷田1,111 国立遺伝学研究所微生物遺伝研究部門

クローニングベクターコレクション(担当 安田成一)

FAX: 0559-81-6762

電子メール: cvector@lab.nig.ac.jp

. 遺伝情報の収集保存および提供

1998年におけるDDBJの活動は以下のとおりである。

リリース：

リリース 32 (1998年 1月)	1,956,669 件	1,300,950,613 塩基
リリース 33 (1998年 4月)	2,174,769 件	1,479,303,279 塩基
リリース 34 (1998年 7月)	2,412,785 件	1,708,580,623 塩基
リリース 35 (1998年 10月)	2,759,261 件	1,957,341,169 塩基

サブミッション件数：(件)

	通常	大量	合計
1月	735	4,105	4,840
2月	710	1,249	1,959
3月	1,087	2,718	3,805
4月	923	1,787	2,710
5月	1,551	1,514	3,065
6月	771	25,180	25,951
7月	726	4,508	5,234
8月	687	970	1,657
9月	805	9,970	10,775
10月	1,052	748	1,800
11月	854	9,931	10,785
12月	1,111	4,554	5,665

合計	11,012	67,234	78,246
----	--------	--------	--------

登録形式：(件)

	SAKURA	Author in	Sub. form	Sequin	合計
1月	610	36	88	1	735
2月	664	9	30	7	710
3月	1,001	56	30	0	1,087
4月	892	18	12	1	923
5月	1,431	18	77	25	1,551
6月	717	8	45	1	771
7月	688	33	5	0	726
8月	630	49	8	0	687
9月	770	15	10	10	805
10月	829	170	52	1	1,052

11月	768	82	3	1	854
12月	1,095	11	4	1	1,111

合計	10,095	505	364	48	11,012
----	--------	-----	-----	----	--------

磁気媒体を用いた DNA データベース配布 :

DDBJ データベース

DDBJ リリース	カートリッジ*	8mm	DAT	合計
リリース 32 (1998 年 1 月)	2	11	13	26
リリース 33 (1998 年 4 月)	1	12	12	25
リリース 34 (1998 年 7 月)	1	9	14	24
リリース 35 (1998 年 10 月)	1	8	18	27

合計	5	40	57	102
----	---	----	----	-----

EMBL データベース

EMBL リリース	カートリッジ*	8mm	DAT	合計
リリース 54 (1998 年 3 月)	1	8	7	16
リリース 55 (1998 年 6 月)	1	6	6	13
リリース 56 (1998 年 9 月)	1	5	9	15
リリース 57 (1998 年 12 月)	1	5	8	14

合計	4	24	30	58
----	---	----	----	----

SWISS-PROT データベース

SWISS-PROT リリース	カートリッジ*	8mm	DAT	合計
リリース 36 (1998 年 7 月)	1	8	9	18
リリース 37 (1998 年 12 月)	1	5	4	10

合計	2	13	13	28
----	---	----	----	----

発行物 :

- ・ DDBJ CIB Report March 1998 1998 年 3 月発行
- ・ DDBJ/CIB Report English Version 1998 年 5 月発行
- ・ DDBJ オフラインニュース 第 9 号 1998 年 7 月発行
- ・ DDBJ オフラインニュース 第 10 号 1998 年 12 月発行

- ・生命情報研究センターにおける活動の紹介 1998年 9月発行
- ・DDBJ 所内ニュース No. 57 1998年 1月発行
- ・DDBJ 所内ニュース No. 58 1998年 4月発行
- ・DDBJ 所内ニュース No. 59 1998年 5月発行
- ・DDBJ 所内ニュース No. 60 1998年 7月発行
- ・DDBJ 所内ニュース No. 61 1998年 9月発行
- ・DDBJ 所内ニュース No. 62 1998年 11月発行

・ 系統情報の収集・保存および提供

生物遺伝資源情報総合センター・系統情報研究室では、全国の研究機関に保存されている様々な生物種の遺伝資源について、所在情報や特性情報をデータベース化し、インターネット上 (<http://www.shigen.nig.ac.jp/>) で公開している。

データベース名	収録機関数	件数	公開状況
クローニングベクター	1	300	公開
マウスマイクロサテライト	1	917	公開
マウス系統 (凍結胚)	1	260	公開
実験動物	52	1633	公開
ショウジョウバエ	26	3000	公開
コムギ系統	16	158000	公開
ムギクローン	2	726	公開
イネ系統	33	11080	公開
オオムギ系統	1	4250	公開
アラビドプシス系統	1	1126	公開

平成9・10年度 遺伝実験生物保存系統分譲実績

(別表)

分譲機関	年度	マウス	カイコ	ショウジョウバエ	ヒドラ	イネ	大腸菌・枯草菌 その他微生物	計
国立学校	9	51 (106)	2 (7)	62 (384)		14 (148)	180(4,376)	309(5,021)
	10	35 (46)	2 (7)	46 (257)	4 (7)	17 (165)	133(1,195)	237(1,677)
国立 研究機関	9		1 (7)	18 (339)		21 (442)	27 (44)	67 (832)
	10	3 (3)	1 (7)	21 (49)		10 (59)	13 (14)	48 (132)
公立大学	9	2 (2)		6 (15)	5 (12)	1 (2)	3 (7)	17 (38)
	10	1 (1)		17 (168)	5 (8)			23 (177)
公立 研究機関	9			2 (234)	2 (2)		2 (6)	6 (242)
	10			6 (208)			1 (1)	7 (209)
私立大学	9	12 (32)		1 (2)	1 (1)		34 (53)	48 (88)
	10	11 (20)		3 (9)			33 (437)	47 (466)
民間 研究機関	9	24 (32)		3 (9)		4 (134)	47 (73)	78 (248)
	10	18 (35)		5 (19)	1 (1)	3 (11)	39 (47)	66 (113)
高等学校等	9	4 (14)		5 (22)	1 (1)			10 (37)
	10	3 (11)		5 (35)	2 (2)		1 (22)	11 (70)
国外	9	2 (2)	3 (12)	21 (44)	7 (14)	3 (26)	43 (41)	79 (139)
	10	2 (4)	3 (12)	24 (82)	3 (3)	2 (17)	45 (52)	79 (170)
その他	9			2 (7)	1 (1)	1 (6)		4 (14)
	10	2 (5)		1 (8)	1 (1)			4 (14)
合計	9	95 (188)	6 (26)	120(1,056)	17 (31)	44 (758)	336(4,600)	618(6,659)
	10	75 (125)	6 (26)	128 (835)	16 (22)	32 (252)	265(1,768)	522(3,028)

数字は件数，()内は延べ系統数。

アサガオの系統の管理は平成10年度より他機関へ委譲。そこで9年度より系統数から削除。

VIII . 行 事

研究所の一般公開

毎年科学技術週間における行事の一環として行われる研究所の一般公開は、4月11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6,000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 10 年 11 月 14 日(土)13:30 ~ 16:30
場 所 国立科学博物館新宿分館(新宿区百人町)
共 催 国立科学博物館
後 援 遺伝学普及会
講 演

分子1個の動きを観る

構造遺伝学研究センター助教授

理学博士 徳永 万喜洋

【要旨】

遺伝情報をもとに作られた蛋白質などの生体分子はどのような動きをしているのでしょうか？

最近、生体分子1個を生きたまま《観る》《操る》《計る》ことによって、分子の動きを直接調べることができるようになりました。

蛍光色素でラベルした生体分子を蛍光顕微鏡で観察すると、分子1個を生きたまま直接観ることができます。たとえば蛍光ATPを使うと、酵素分子によってATP1分子が加水分解されている様子をビデオ像として観察できます。また、蛍光ラベルした生体分子1個を探針に捕まえて操作し、他の分子との相互作用によって動いたり力を出す様子を直接計ることも実現しています。

生命科学の新しい手法として注目を集めているこの1分子技術について、何が出来、将来どこまで発展しえるのか、新しく明らかとなった生体分子機能の動的な姿とともに紹介します。

真核生物染色体 DNA の複製機構と細胞周期チェックポイント

細胞遺伝研究系 教授

理学博士 荒木弘之

【要旨】

真核生物の染色体DNAは、細胞周期のS期に一度だけ複製されます。また、DNA複製に異常が生じると細胞周期チェックポイントが働いて、細胞周期の進行が止まります。これは、染色体DNAの複製と細胞周期制御が密接に関わっていることを示しています。我々は、単細胞で遺伝学的解析の可能な出芽酵母を真核生物のモデル系とし、染色体の複製機構とその制御を研究しています。

真核生物の染色体DNAは、3種類のDNAポリメラーゼ、 α 、 δ 、 ϵ により複製されます。これらのDNAポリメラーゼは細胞周期のどの時期にも同じ程度の量が細胞内にありますが、S期のみ染色体DNAを複製します。それは、S期のみこれらDNAポリメラーゼが染色体DNA複製開始領域にローディングされるからです。このローディングには、複製開始領域に結合するOrcをはじめ、幾つかのタンパク質、そして細胞周期を制御するプロテインキナーゼが要求されます。そして、複製開始領域はこの領域に集合するタンパク質により1本鎖に開かれ、ローディングしてきたDNAポリメラーゼによりこの領域からDNA合成が始まります。

DNAポリメラーゼと遺伝的に相互作用する因子として我々が分離したDpb11も、このローディング過程に関与していることが分かってきました。Dpb11の温度感受性変異株では、非許容温度でDNA複製に欠損があるのにも関わらず、チェックポイントが働かず細胞が分裂していきます。これは、Dpb11が、DNA複製だけでなくS期での細胞周期チェックポイントにも関与していることを示しています。そして、Dpb11が染色体DNA複製に関わりながら同時にその異常を検知していることを示唆しています。

Dpb11のDNAポリメラーゼを複製開始領域にローディングさせる機能が、細胞周期チェックポイントのセンサーとしての機能とどのように結びつくのか、我々の最新のデータに基づいて説明します。

IX. 庶 務

A. 沿 革

昭和15年8月、京城で開催された日本遺伝学会第13回大会において、国立遺伝学研究所設立決議案が満場一致で可決された。翌16年4月に日本学術振興会内に設けられた第4特別委員会(遺伝)がこれに協力して、研究所実現の努力を続けた。昭和22年5月、日本遺伝学会は、財団法人遺伝学研究所を設立し、側面的に国立機関設置の促進に努めた。これらの努力が実を結び、昭和24年6月1日、文部省設置法が施行されて、ここに待望10年の国立遺伝学研究所が誕生した。

最初は、第1(形質遺伝)、第2(細胞遺伝)、第3(生理遺伝)の3研究部をもって発足し、事務所を文部省内に置いた。昭和24年9月、敷地として静岡県三島市富士産業株式会社所有の土地77,773平方メートルを買収するとともに、同社の建物4,452平方メートルを借り受け、12月1日研究所を現在の地に移した。昭和35,37,38年度には、従前の木造の本館を鉄筋コンクリート3階建に改築する工事が逐次進められ、昭和42年度において全館が完成した。また研究部門の構成も、昭和27年度に形質遺伝部、細胞遺伝部、生理遺伝部と改組され、さらに昭和28年度に生化学遺伝部、29年度に応用遺伝部、30年度に変異遺伝部、35年度に人類遺伝部、37年度に微生物遺伝部、39年度に集団遺伝部及び44年度に分子遺伝部が増設されて10部門となり、また50年度には遺伝実験生物保存研究施設が新設された。

昭和59年4月12日、国立学校設置法の改正により、文部省所轄機関から、大学共同利用機関へ改組・転換された。これに伴って、従来から設置されていた10研究部は、研究対象のレベルに応じて分子・細胞・個体・集団の4研究系およびこれらにまたがる総合遺伝研究系の5つに区分され、昭和59年度はその中の3つの研究系に客員研究部門が設けられ、また、共同利用の核となるべき附属施設として、既存の遺伝実験生物保存研究センターの拡充がはかられ、加えて、遺伝情報研究センターが設置された。

昭和60年度には、2つの研究系の客員研究部門と、遺伝情報研究センターに合成研究室、遺伝情報分析研究室が設置された。

昭和63年度には、放射線・アイソトープセンターと遺伝情報研究センターに遺伝子ライブラリー研究室が設置された。また、7つの大学共同利用機関を母体とする総合研究大学院大学開学に伴い、生命科学研究科の遺伝学専攻を担当することになった。

平成3年度には、寄附研究部門として大量遺伝情報研究部門が設けられた。

平成5年度には、遺伝実験生物保存研究センターに発生工学研究室が、平成6年度には、遺伝情報研究センターに遺伝子機能研究室が設置された。

平成7年度には、生命情報研究センターが設置され、遺伝情報研究センターから遺伝情報分析研究室と遺伝子機能研究室が振替られるとともに、新に大量遺伝情報研究室と分子

分類研究室が設置された。更に、平成8年度は、遺伝情報研究センターが構造遺伝学研究センターとして改組され、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10年6月12日 法律第101号

国立学校設置法

第1章 総則

(設置及び所轄)

第1条 この法律により、国立学校を設置する。

2 国立学校は、文部大臣の所轄に属する。

(国立学校)

第2条 この法律で、「国立学校」とは、学校教育法(昭和22年法律第26号)第1条に定める学校で国が設置するものをいい、第3章の3から第3章の6までに定める機関を含むものとする。

2 国立の小学校、中学校、高等学校、盲学校、聾学校、養護学校及び幼稚園は、この法律に特別の定めをするもののほか、政令で定めるところにより、国立大学若しくは国立大学の学部又は国立短期大学に附属して設置するものとする。

第3章の3 大学共同利用機関

(大学共同利用機関)

第9条の2 大学における学術研究の発展その他政令で定める目的に資するため、大学の共同利用の機関として、政令で定めるところにより、研究所その他の機関(以下「大学共同利用機関」という。)を置く。

2 大学共同利用機関は、大学の教員その他の者で当該大学共同利用機関の目的たる研究その他の事項と同一の事項に従事するものの利用に供するものとする。

3 大学共同利用機関は、大学の要請に応じ、大学院における教育その他その大学における教育に協力することができる。

第4章 職及び職員

(国立学校の職)

第10条 各国立学校に置かれる職の種類は、文部省令で定める。

(国立学校に置かれる職員の任免等)

第11条 国立学校に置かれる職員の任免、懲戒その他人事管理に関する事項については、国家公務員法(昭和22年法律第120号)及び教育公務員特例法の定めるところによる。

第5章 雑則

(命令への委任)

第13条 この法律又は他の法律に別段の定めのあるものを除くほか、国立学校の位置並びに組織及び運営の細目については、文部省令で定める。

国立学校設置法施行令(抄)

(昭和59年6月28日政令第230号)最終改正 平成10年4月9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りとする。

大学共同利用機関の名称	目的
国文学研究資料館	国文学に関する文献その他の資料の調査研究、収集整理及び保存
国立極地研究所	極地に関する科学の総合研究及び極地観測
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・天象観測並びに曆書編製、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10年4月9日

国立学校設置法施行規則

第4章 大学共同利用機関

(位置)

第46条 大学共同利用機関の位置は、次の表に掲げるとおりとする。

大学共同利用機関の名称	位置	大学共同利用機関の名称	位置
国文学研究資料館	東京都	核融合科学研究所	岐阜県
国立極地研究所	東京都	岡崎国立共同研究機構	愛知県
宇宙科学研究所	神奈川県	高エネルギー加速器研究機構	茨城県
国立遺伝学研究所	静岡県	学術情報センター	東京都
統計数理研究所	東京都	国立民族学博物館	大阪府
国際日本文化研究センター	京都府	国立歴史民俗博物館	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10年4月9日

大学共同利用機関組織運営規則

第1章 総則

(機関の長等)

第1条 大学共同利用機関(以下「機関」という。)に、次の各号に掲げる区分に応じ、それぞれ当該各号に掲げる職員を置く。

- 一 岡崎国立共同研究機構及び高エネルギー加速器研究機構 機構長
- 二 国立極地研究所, 宇宙科学研究所, 国立遺伝学研究所, 統計数理研究所, 国際日本文化研究センター, 核融合科学研究所, 岡崎国立共同研究機構に置かれる分子科学研究所, 基礎生物学研究所及び生理学研究所, 高エネルギー加速器研究機構に置かれる素粒子原子核研究所及び物質構造科学研究所, 学術情報センター並びにメディア教育開発センター 所長

- 三 国文学研究資料館，国立民族学博物館及び国立歴史民俗博物館 館長
四 国立天文台 台長
- 2 機構長は，それぞれ岡崎国立共同研究機構又は高エネルギー加速器研究機構の業務を掌理する．
- 3 所長，館長又は台長は，それぞれ所務，館務又は台務を掌理する．
(職員の種類)

第2条 前条に掲げるもののほか，機関に次の職員を置く．

- 一 教授
 - 二 助教授
 - 三 助手
 - 四 事務職員
 - 五 技術職員
- 2 機関に，前項に掲げるもののほか，講師(非常勤の者に限る．以下同じ．)を置くことができる．
- 3 教授は，研究に従事し，及び国立大学その他の大学の大学院における教育に協力するための学生の研究指導(以下「研究指導」という．)を行う．
- 4 助教授は，教授の職務を助ける．
- 5 講師は，教授又は助教授に準ずる職務に従事する．
- 6 助手は，教授及び助教授の職務を助ける．
- 7 事務職員は，庶務，会計等の事務に従事する．
- 8 技術職員は，技術に関する職務に従事する．
(外国人研究員)

第3条 機関の長は，国家公務員法(昭和22年法律第120号)第2条第7項に規定する勤務の契約により，外国人を研究に従事させることができる．

- 2 前項の規定の実施に関し必要な事項については，別に文部大臣が定める．
(評議員会)

第4条 機関(岡崎国立共同研究機構及び高エネルギー加速器研究機構(以下本章において「機構」という．)に置かれる研究所を含む．以下この条において同じ．)に，それぞれ評議員会を置く．

- 2 評議員会は，それぞれ当該機関の事業計画その他の管理運営に関する重要事項について，当該機関の長に助言する．
- 3 評議員会は，評議員20人以内で組織し，評議員は，左の各号に掲げる者(機構にあっては，機構に置かれる各研究所の評議員とする．)のうちから，文部大臣が任命する．
- 一 国立大学の学長
 - 二 公立又は私立の大学の学長
 - 三 その他学識経験のある者
- 4 前項の規定にかかわらず，岡崎国立共同研究機構の評議員は，岡崎国立共同研究機構

に置かれる各研究所の評議員のうちから、高エネルギー加速器研究機構の評議員は、高エネルギー加速器研究機構に置かれる各研究所の評議員及び同項各号に掲げる者のうちから、それぞれ文部大臣が任命する。

- 5 評議員の任期は、2年とし、その欠員が生じた場合の補欠の評議員の任期は、前任者の残任期間とする。
- 6 評議員は、非常勤とする。
- 7 評議員会の運営に関し必要な事項は、別に文部大臣が定める。

(運営協議員会)

第5条 機関(岡崎国立共同研究機構にあっては、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っては、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っては、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って、当該機関の目的達成上特に功績のあった者に対し、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。

- 2 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経理を委任された金額をもって支弁するものとする。
- 3 前2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。

第5章 国立遺伝学研究所

(企画調整主幹)

第28条 国立遺伝学研究所に企画調整主幹1人を置き、教授をもって充てる。

- 2 企画調整主幹は、所長の命を受け、国立遺伝学研究所の行う研究に係る事業の企画及び実施について総合調整する。

(内部組織)

第29条 国立遺伝学研究所に、管理部及び次の5研究系並びに技術課を置く。

- 一 分子遺伝研究系
- 二 細胞遺伝研究系
- 三 個体遺伝研究系
- 四 集団遺伝研究系
- 五 総合遺伝研究系

- 2 前項に掲げるもののほか、国立遺伝学研究所に研究施設を置く。

(管理部)

第30条 管理部においては、庶務、会計及び施設等に関する事務を処理する。

- 2 管理部に、その所掌事務を分掌させるため、文部大臣が別に定めるところにより、課を置く。
- 3 管理部及びこれに置かれる課に、それぞれ部長及び課長を置き、事務職員をもって充てる。
- 4 部長は所長の命を受け、部の事務を掌理する。
- 5 課長は、上司の命を受け、課の事務を処理する。

(研究系及び研究部門)

第31条 別表第6の上欄に掲げる研究系に、それぞれ同表の下欄に掲げる研究部門を置く。

- 2 各研究系に研究主幹を置き、教授をもって充てる。
- 3 研究主幹は、所長の命を受け、当該研究系における研究及び研究指導に関し、総括し、及び調整する。

(技術課)

第32条 技術課においては、技術に関する専門的業務を処理する。

- 2 技術課に、課長を置き、技術職員をもって充てる。
- 3 課長は、所長の命を受け、課の事務を処理する。

(研究施設)

第33条 研究施設の名称は、別表第7に掲げるとおりとする。

- 2 研究施設に長を置き，教授又は助教授をもって充てる．
- 3 前項の長は，当該研究施設の業務を処理する．

別表第 6(第 31 条関係)

国立遺伝学研究所の研究部門

研究系の名称	左欄の研究系に置く研究部門
分子遺伝	分子遺伝 変異遺伝 *核酸化学
細胞遺伝	細胞遺伝 微生物遺伝 *細胞質遺伝
個体遺伝	発生遺伝 形質遺伝 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	
実験農場	

大学共同利用機関の内部組織に関する訓令(抄)

(昭和 52 年 4 月 18 日文部省訓令第 8 号)最終改正 平成 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会等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9年10月17日

人事に関する権限の委任等に関する規程

(趣旨)

第1条 任命権、選考の権限その他人事に関する権限の委任等については、法令又は別に定めるもののほか、この規程の定めるところによる。

(任命権)

第3条

5 文部大臣は、次の各号に掲げる官職を除き、大学共同利用機関の長に当該機関に属する官職についての任命権を委任する。

一 大学共同利用機関の長、所長(岡崎国立共同研究機構及び高エネルギー加速器研究機構に置かれる研究所の長に限る。)、企画調整官及び企画調整主幹

二 大学共同利用機関の局長、部長(行政職俸給表(一)適用者に限る。)、次長、課長及び室長(行政職俸給表(一)適用者に限る。)

三 大学共同利用機関の評議員及び運営協議員

四 大学共同利用機関に附属する施設の長(高エネルギー加速器研究機構の加速器研究施設の長に限る。)

五 大学共同利用機関の創設準備室の室長、次長及び主幹

12 前各項各号に掲げる官職と同等以上の官職で文部大臣の指定するものについての任命権は、前各項の規定にかかわらず、委任しない。

13 教育公務員特例法施行令(昭和24年政令第6号)第3条の2第3項第1号の規定中「任命権者」とあるのは、教育公務員特例法(昭和24年法律第1号)第8条を準用する場合にあっては、第5項から第8項までの規定にかかわらず、文部大臣をいうものとする。

教育公務員特例法(抄)

(昭和24年1月12日法律第1号)最終改正 平成10年6月12日

教育公務員特例法

第1章 総則

(この法律の趣旨)

第1条 この法律は、教育を通じて国民全体に奉仕する教育公務員の職務とその責任の特殊性に基き、教育公務員の任免、分限、懲戒、服務及び研修について規定する。

第2章 任免、分限、懲戒及び服務

第1節 大学の学長、教員及び部局長

(採用及び昇任の方法)

第4条 学長及び部局長の採用並びに教員の採用及び昇任は、選考によるものとし、その選考は、大学管理機関が行う。

2 前項の選考は、学長については、人格が高潔で、学識がすぐれ、且つ、教育行政に関し識見を有する者について、大学管理機関の定める基準により、学部長については、当該学部の教授会の議に基き、教員及び学部長以外の部局長については、大学管理機関

定める基準により、行わなければならない。

(休職の期間)

第7条 学長、教員及び部局長の休職の期間は、心身の故障のため長期の休養を要する場合の休職においては、個々の場合について、大学管理機関が定める。

(任期及び停年)

第8条 学長及び部局長の任期については、大学管理機関が定める。

2 教員の停年については、大学管理機関が定める。

(服務)

第11条 国立大学の学長、教員及び部局長の服務について、国家公務員法(昭和22年法律第120号)第96条第1項の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、大学管理機関が定める。

(勤務成績の評定)

第12条 学長、教員及び部局長の勤務成績の評定及び評定の結果に応じた措置は、大学管理機関が行う。

2 前項の勤務成績の評定は、大学管理機関が定める基準により、行わなければならない。

第3章 研修

(研修)

第19条 教育公務員は、その職責を遂行するために、絶えず研究と修養に努めなければならない。

2 教育公務員の任命権者は、教育公務員の研修について、それに要する施設、研修を奨励するための方途その他研修に関する計画を樹立し、その実施に努めなければならない。

(研修の機会)

第20条 教育公務員には、研修を受ける機会が与えられなければならない。

2 教員は、授業に支障のない限り、本属長の承認を受けて、勤務場所を離れて研修を行うことができる。

3 教育公務員は、任命権者の定めるところにより、現職のまま、長期にわたる研修を受けることができる。

第4章 雑則

(兼職及び他の事業等の従事)

第21条 教育公務員は、教育に関する他の職を兼ね、又は教育に関する他の事業若しくは事務に従事することが本務の遂行に支障がないと任命権者において認める場合には、給与を受け又は受けなくて、その職を兼ね、又はその事業若しくは事務に従事することができる。

2 前項の場合においては、国家公務員たる教育公務員にあっては国家公務員法第101条第1項の規定に基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っては地方公務員法第38条第2項の規程により人事委員会が定める許可の基準によることを要しない。

(教育公務員以外の者に対するこの法律の準用)

第22条 国立又は公立の学校において教員の職務に準ずる職務を行う者、文部省に置かれる研究施設、文化施設及び研修施設で政令で定めるもの並びに国立学校設置法(昭和24年法律第150号)第3章の3から第3章の6までに規定する機関の長(同法第3章の3に規定する機関に置かれる研究所で政令で定めるものの長を含む。)並びにその職員のうち専ら研究又は教育に従事する者、並びに国立又は公立の専修学校又は各種学校の校長及び教員については、政令の定めるところにより、この法律の規定を準用する。

教育公務員特例法施行令(抄)

(昭和24年1月12日政令第6号)最終改正 平成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

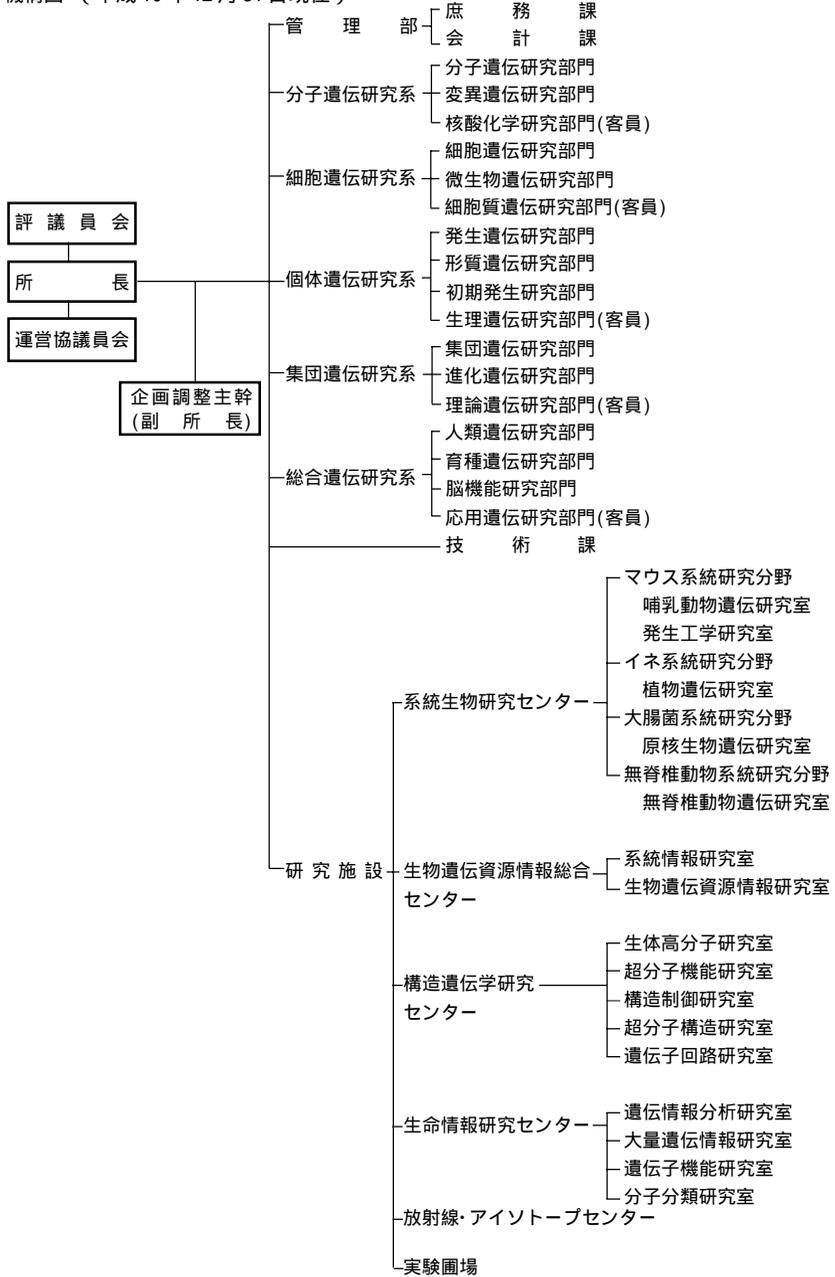
(平成10年12月31日現在)

区分	指定職	行政職(一)	教育職(一)	計
定員	1	40	79	120
現在員	1	39	62	102

所長

医学博士 堀田凱樹

機構図（平成10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10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	
立教大学理学部教授	岩 槻 邦 男	"	
(財)放送大学教育振興会理事長	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	
北海道大学薬学部教授	大 塚 榮 子	"	
筑波大学名誉教授	岡 田 益 吉	"	
大阪大学蛋白質研究所教授	京 極 好 正	"	
東京大学大学院 総合文化研究科教授	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	"	
大阪府立成人病センター総長	豊 島 久 真 男	"	
岡崎国立共同研究機構長	濱 清	平成9年 4月 1日	
総合研究大学院大学長	廣 田 榮 治	平成10年6月28日	
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10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(細胞遺伝研究系)	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)	中 辻 憲 夫	平成10年6月20日	
教 授(生物遺伝資源情報総合センター)	小 原 雄 治	"	
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10年度 系統保存委員会委員

(所外委員のみ記載)

官 職 名	氏 名
筑波大学名誉教授	岡田 益 吉
光塩学園女子短期大学教授	木下 俊 郎
福山大学教授 (工学部)	中田 篤 男
大阪大学教授 (医学部)	野村 大 成
国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター 変異遺伝部第三室長	水 沢 博
筑波大学教授 (生物科学系)	山 根 國 男
熊本大学教授 (医学部附属遺伝発生医学研究施設)	山 村 研 一
京都工芸繊維大学教授 (繊維学部)	渡 邊 隆 夫

平成10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
神戸大学教授 (理学部)	磯 野 克 己
(財)癌研究会癌研究所物理部長	伊 藤 彬
農業生物資源研究所遺伝資源第二部 DNA 管理情報科長	鶴 川 義 弘
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
京都大学教授 (化学研究所)	金 久 實
名古屋大学教授 (大学院理学研究科)	郷 通 子
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
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
東京大学教授 (医科学研究所)	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
東京大学教授 (医科学研究所)	吉 田 光 昭

平成10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10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	文部教官 教 授	薬学博士	小 川 智 子	(10. 4. 1)
企画調整主幹(併)				
分子遺伝研究系 研究主幹(併) 石濱 明				
分子遺伝研究部門	文部教官 教 授	理学博士	石 濱 明	59. 4.12
	文部教官 助 手	理学博士	藤 田 信 之	59. 8. 1
	文部教官 助 手	理学博士	光 澤 浩	8. 2. 1
	文部教官 助 手	博士(理学)	木 村 誠	8. 4. 1
変異遺伝研究部門	文部教官 助教授	理学博士	山 尾 文 明	元. 9. 1
	文部教官 助 手	博士(工学)	岸 努	5. 4. 1
	文部教官 助 手	博士(理学)	清 野 浩 明	6. 7. 1
核酸化学客員研究部門	非常勤講師	薬学博士	富 澤 純 一	9.10. 1
	文部教官 教 授	医学博士	實 来 聰	10. 4. 9
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(理学)	上 村 陽 一 郎	10.12. 1
細胞質遺伝客員研究部門	文部教官 教 授	理学博士	大 坪 榮 一	10. 4. 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
生理遺伝客員研究部門	文部教官 教授	医学博士	半田 宏	8. 4. 1
	文部教官 助教授	工学博士	金谷 重彦	9. 4. 1

集団遺伝研究系 研究主幹(併) 池村 淑道

集団遺伝研究部門	文部教官 助手	理学博士	高野 敏行	5. 3.16
進化遺伝研究部門	文部教官 教授	理学博士	池村 淑道	60. 4. 1
	文部教官 助教授	Ph.D. 博士(理学)	齊藤 成也	3. 1.16
	文部教官 助手	博士(農学)	天前 豊明	6. 4. 1
理論遺伝客員研究部門	非常勤講師	Ph.D. 理学博士	原田(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) 小川 智子

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
育種遺伝研究部門				
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 助教授	医学博士	辻 省次	10. 4. 1

研究施設

系統生物研究センター センター長(併) 中辻 憲夫

部 門 別	官 職 名	学 位	氏 名	任用年月日
(マウス系統研究分野)				
哺乳動物遺伝研究室	文部教官 教授	理学博士	城石俊彦	59.9.16
	文部教官 助手	博士(医学)	小出剛	7.4.1
発生工学研究室	文部教官 教授	理学博士	中辻憲夫	3.9.1
	文部教官 助手	理学博士	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 助教授	理学博士	林茂生	2.7.1
	文部教官 助手	博士(理学)	後藤聡	7.4.1

生物遺伝資源情報総合センター センター長(併) 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

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				

生命情報研究センター センター長(併) 五條堀 孝

部 門 別	官 職 名	学 位	氏 名	任用年月日
遺伝情報分析研究室	文部教官 教授	理学博士	五條堀 孝	58. 9. 1
	文部教官 助手	博士(理学)	池 尾 一 穂	4. 6. 1
	文部教官 助手	博士(理学)	今 西 規	6. 4. 1
大量遺伝情報研究室	文部教官 教授	理学博士	西 川 建	7.10. 1
	文部教官 助手	博士(理学)	太 田 元 規	8. 8. 1
遺伝子機能研究室	文部教官 教授	Ph.D. 理学博士	館 野 義 男	63. 4. 1
分子分類研究室	文部教官 助手	学術博士	小 林(深海) 薫	8. 4. 1
	文部教官 教授	工学博士	菅 原 秀 明	8. 2. 1
	文部教官 助手	博士(理学)	宮 崎 智	8. 8. 1

放射線・アイソトープセンター センター長(併) 定家 義人

	文部教官 助教授	理学博士	定 家 義 人	43. 4. 1
--	----------	------	---------	----------

実験圃場 圃場長(併) 倉田 のり

	文部教官 助手	博士(農学)	野々村 賢一	8.10. 1
--	---------	--------	--------	---------

名誉教授

氏 名	職 名	称号授与年月日
三 浦 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

名誉所員

氏 名	職 名	称号授与年月日
酒 井 寛 一	元国立遺伝学研究所応用遺伝部長	48. 6. 1
森脇 大五郎	元国立遺伝学研究所長	50. 3.13
大 島 長 造	元国立遺伝学研究所生理遺伝部長	54. 4. 1
田島 彌太郎	元国立遺伝学研究所長	58.10. 4

事務職員（管理部）

職 名	氏 名	任用年月日
管 理 部 長	砂 田 籐	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	大 川 淑 子	6. 4. 1
会計課課長補佐	佐 藤 隆 司	9. 4. 1
庶 務 係 長	酒 井 清 人	61. 4. 1
人 事 係 長	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	村 松 祐	8. 4. 1
情報資料係長	五 条 寿 久	9. 4. 1
総 務 係 長	八 木 悟 司	6. 4. 1
経 理 係 長	橋 本 登	9.10. 1
用 度 係 長	岩 崎 久 治	9. 4. 1
管 財 係 長	滝 澤 三 郎	10. 4. 1
施 設 係 長	前 田 佳 宏	4. 4. 1
庶 務 主 任	新 田 清 隆	5. 1. 1
人 事 主 任	八 木 正 行	8. 4. 1
経 理 主 任	土 屋 雅 義	7. 4. 1
用 度 主 任	齋 藤 勝 麗	10. 4. 1
共同研究係員	山 田 恵 子	10. 4. 1
総 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	三 田 旻 彦	35. 7.20
動 物 班 長	深瀬 与惣治	32. 8. 1
植 物 ・ 微 生 物 班 長	妹 尾 治 子	38. 1. 1
機 器 班 長	榊 原 勝 美	34. 6. 1
動 物 班 第 一 技 術 係 長		
動 物 班 第 二 技 術 係 長	境 雅 子	47.12. 5
植 物 ・ 微 生 物 班 第 一 技 術 係 長	永 口 貢	63. 4. 1
植 物 ・ 微 生 物 班 第 二 技 術 係 長	石 井 百 合 子	39. 7. 1
機 器 班 第 一 技 術 係 長	谷 田 勝 教	63. 4. 1
機 器 班 第 二 技 術 係 長	原 登 美 雄	46. 9. 1
動 物 班 第 一 技 術 係 員	谷 口 美 佐 子	9. 4. 1
動 物 班 第 二 技 術 係 員	芦 川 東 三 夫	36. 4.16
動 物 班 第 二 技 術 係 員	中 村 紀 美 代	9. 4. 1
植 物 ・ 微 生 物 班 第 一 技 術 係 員	宮 林 登 志 江	2. 4. 1
植 物 ・ 微 生 物 班 第 二 技 術 係 員	芦 川 祐 毅	35. 4. 1
植 物 ・ 微 生 物 班 第 二 技 術 係 員	村 松 佐 知 子	10. 4. 1
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
庶務課研究協力係長	山 本 勉	昭 45. 4. 1 ~ 平 10. 1.12	死亡
総合遺伝研究系教授	今 村 孝	昭 61. 4. 1 ~ 平 10. 3.31	停年退職
総合遺伝研究系教授	沖野(森島)啓子	昭 36. 4. 1 ~ 平 10. 3.31	停年退職
庶務課課長補佐	岩 城 英 一	昭 37. 9. 1 ~ 平 10. 3.31	定年退職
庶務課共同研究主任	岩 田 英 子	昭 42. 9. 1 ~ 平 10. 3.31	定年退職
総合遺伝研究系助手	才 宏 偉	平 8. 4. 1 ~ 平 10. 3.31	辞職
細胞遺伝研究系助手	原 弘 志	昭 59. 4.12 ~ 平 10. 3.31	埼玉大学理学部助教授へ

職 名	氏 名	在職期間	備 考
会計課長	田村光男	平 7. 4. 1 ~ 平 10. 3. 31	岩手大学経理部主計課長へ
会計課管財係長	滝田公一	平 7. 4. 1 ~ 平 10. 3. 31	静岡大学庶務部庶務課 共同研究係長へ
会計課経理係主任	松永幸夫	平 7. 4. 1 ~ 平 10. 3. 31	静岡大学経理部主計課 司計係企画主任へ
総合遺伝研究系助教授	寶来 聡	昭 57. 9. 1 ~ 平 10. 4. 8	総合研究大学院大学 先端科学研究科教授へ
庶務課庶務係主任	長澤明子	昭 50. 3. 15 ~ 平 10. 6. 30	退職
庶務課長	當麻 均	平 8. 7. 1 ~ 平 10. 6. 30	岡崎国立共同研究機構 総務部研究協力課長へ
植物・微生物班 第二技術係員	笹沼明美	平 9. 4. 1 ~ 平 10. 7. 24	退職
系統生物研究センター助手	白吉安昭	平 3. 12. 1 ~ 平 10. 9. 30	鳥取大学医学部助教授へ
構造遺伝学研究中心助手	秋葉俊彦	平 8. 9. 16 ~ 平 10. 10. 31	退職

平成 10 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
Wlassoff Wjatschesslaw A.	ロシア科学アカデミー 細胞学遺伝学研究所 所上級研究員	転写装置における 分子間コミュニケーションの 解明	分子遺伝研究部門	平 9. 9. 10 ~ 平 10. 9. 9
Dasgupta Dipak	川核物理学研究所 教授	RNAポリラーゼと転写因 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. 31
Gaal Tamas	ウイコンシ大学メイソ ン校助手	転写調節の機構研 究	超分子機能研究室	平 10. 12. 2 ~ 平 11. 3. 1
Ozoline Olga N.	ロシア科学アカデミー 細胞生物物理学研究所 所上級研究員	転写装置の分子動 態の解析	分子遺伝研究部門	平 11. 1. 4 ~ 平 11. 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
秋本正博	Oryza属AAゲノム野生種の系統 分化学的研究	北海道大学大学院 農学研究科	1998. 4. 1 ~ 1998. 9.30
久保田一政	ショウジョウバエの翅・肢原基 の形成機構の解析	東京医科歯科大学 大学院歯学研究科	1998. 4. 1 ~ 1999. 3.31
菅野靖彦	マウス生殖巣などの発生分化機 構に関する研究	埼玉大学大学院 理工学研究科	1998. 4. 1 ~ 1999. 3.31
深見裕伸	ミドリイシ属(Acropora)サンゴの 雑種形成と種分化についての研究	東京水産大学大学院 水産学研究科	1998. 4. 1 ~ 1999. 3.31
廣島通夫	1分子技術による生体分子機能 のイメージング	大阪大学大学院 基礎工学研究科	1998. 4. 1 ~ 1999. 3.31
藤田千鶴子	大腸菌緊縮応答関連酵素 SpoT 蛋 白質の構造と機能	奈良女子大学大学院 人間文化研究科	1998. 4. 1 ~ 1999. 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	1998. 4. 1 ~ 1999. 3.31
平本正輝	ショウジョウバエ神経回路形成 機構の解析	東京大学大学院 理学系研究科	1998. 4. 1 ~ 1999. 3.31
滝沢一永	神経軸索走行路決定に関する 遺伝子の分子生物学的解析	東京大学大学院 理学系研究科	1998. 4. 1 ~ 1999. 3.31
新座麻記子	神経発生の分子機構解析	東京大学大学院 理学系研究科	1998. 4. 1 ~ 1999. 3.31
東千絵子	神経系の発生生物学	東京大学大学院 理学系研究科	1998. 4. 1 ~ 1999. 3.31
増本博司	真核生物のDNA複製開始機構の 解明	大阪大学大学院 医学研究科	1998. 4. 1 ~ 1999. 3.31
上村陽一郎	出芽酵母染色体DNA複製の研究	大阪大学大学院 医学研究科	1998. 6. 1 ~ 1998.11.30
押海裕之	DNA傷害修復と減数分裂期組換え 開始に関するMRE11遺伝子の機 能解析	大阪大学大学院 理学研究科	1998. 4. 1 ~ 1999. 3.31
河村昭	マウス神経の初期発生に関わる遺伝 子のクローニング及びその機能解析	奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス研究科	1998. 4. 1 ~ 1999. 3.31
矢田有加里	マウス四肢前後軸形成に関する 遺伝学的解析	お茶の水女子大学 大学院人間文化研究科	1998.10. 1 ~ 1999. 9.30

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
福田 達也	中外製薬株式会社 富士御殿場研究所	マウス個体を用いた突然変異検出系の開発	系統生物研究センター	1998. 4. 1 ~ 1998. 9.30
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過程の考察	生命情報研究センター	1998.10. 1 ~ 1999. 3.31
朴 洪石	理化学研究所	ヒトゲノム中に見られる機能領域の解析	人類遺伝研究部門	1998.10. 1 ~ 1999. 3.31
許山 肖子	理化学研究所	ヒトの染色体地図作成技術に関する研究	人類遺伝研究部門	1998.10. 1 ~ 1999. 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	1998.12. 1 ~ 1999. 3.31
飯田 朋子	旭化成工業株式会社 ライフサイエンス総合研究所	マウス胚幹細胞株の培養と操作	系統生物研究センター	1998.12.14 ~ 1999. 3.31

研究生

氏名	研究題目	受入研究部門等	研究期間
溝口佳伸	MHC分子のモデリングによるペプチド結合能の予測	生命情報研究センター	1998. 4. 1 ~ 1999. 9.30
武内昌哉	線虫 <i>C.elegans</i> の脱糞周期リズムの調節機構に関する研究	構造遺伝学研究センター	1998. 4. 1 ~ 1998. 9.30
溝口佳伸	ゲノムの塩基配列解析	生命情報研究センター	1998.10. 1 ~ 1999. 3.31

C. 土地及び建物

(平成10年12月31日現在)

土地総面積	105,312 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	面 積	
		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
自動車車庫	木造瓦葺き平屋建	52	52
公務員宿舎(21棟)	木造瓦葺き平屋建	1,250	1,250
放射線実験室	鉄筋平屋建一部地下室	392	535
特別蚕室	ブロック造り一部地下	194	218
ポイラー室	鉄骨造り平屋建	97	97
研修室・講堂	鉄筋コンクリート造り2階建 屋根鉄板葺	233	465
渡り廊下	鉄骨造り屋根防水モルタル塗	8	8
孵卵育雛舎	鉄筋コンクリート造り平屋建	290	290
ファイロン温室(2棟)	鉄骨造りファイロン張平屋建	284	284
堆肥舎	鉄筋造波型スレート葺平屋建	128	128
鶏糞処理小屋	ブロック造り平屋建	6	6
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
図書館	鉄筋コンクリート造り3階建	258	803
ネズミ飼育舎	鉄筋コンクリート造り平屋建	539	557
水源ポンプ小屋	鉄骨造り平屋建	5	5
内部照射実験棟及び附属棟	鉄筋コンクリート造り平屋建	591	645
ベレット温室	鉄骨造り平屋建ガラス張	93	93
系統生物研究センター棟	鉄筋コンクリート造り2階建	370	739
機械棟	鉄骨造り平屋建	380	380
廃棄物保管庫	鉄筋コンクリート造り平屋建	46	46
ネズミ附属棟	"	388	388
カイコ附属棟	"	254	254
微生物附属棟	"	263	263
排水処理棟	"	56	56
組換えDNA実験棟	鉄筋コンクリート造り2階建	79	158
野生イネ温室	鉄骨平屋建一部鉄筋コンクリート	185	185

動物飼育装置上屋	鉄骨平屋建	32	32
実験圃場管理棟	鉄筋コンクリート造り平屋建	407	407
焼却炉上屋	鉄筋造波型スレート葺平屋建	22	22
構造遺伝学研究センター棟	鉄筋コンクリート造り5階建	446	1,855
隔離温室	鉄筋コンクリート造及鉄骨造平屋建	300	300
水田温室	鉄筋コンクリート造及鉄骨造平屋建	183	183
桑温室	鉄骨造及鉄筋コンクリート造平屋建	305	305
R I 実験棟	鉄筋コンクリート造り5階建	563	2,382
中央機械室	鉄筋コンクリート造り平屋建	344	346
R I ボンブ室	"	30	30
テニスコートシャワー室	鉄筋コンクリート造り平屋建	11	11
屋外便所	ブロック造り平屋建	5	5
研究員宿泊施設	鉄筋コンクリート造り3階建	346	807
廃棄物保管庫	ブロック造り平屋建	58	58
研究実験棟	鉄骨鉄筋コンクリート造り7階建	561	3,907
渡り廊下	鉄骨造り	41	41
電子計算機棟	鉄筋コンクリート造り3階建	347	1,064
系統生物研究センター棟	鉄筋コンクリート造り4階建	384	1,594
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
同上渡り廊下	鉄骨造り	22	22
計		13,142	28,971

D. 予 算 (平成10年度当初予算(項)研究所)

人 件 費 906,421(単位：千円)
 物 件 費 2,337,899
 合 計 3,244,320

E. 奨学寄附金・受託研究費

平成 10 年奨学寄附金受入

奨学寄附金 35,172 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
大阪府吹田市古江台六丁目 2 番 3 号 株式会社 生物分子工学研究所 常務取締役研究所長 志村 令郎	500,000 円	大量遺伝情報研究室に対する研究助成
東京都港区芝大門 1 丁目 12 番 16 号 財団法人 住友財団 理事長 浦上 敏臣	1,100,000 円	ヒドラの発生を制御するペプチド性シグナル分子の同定と機能解析の研究
静岡県御殿場市駒門 1 丁目 135 番地 中外製薬株式会社 創薬開発研究所 所長 牛尾 秀敏	1,000,000 円	哺乳動物遺伝学の研究助成のため
静岡県御殿場市駒門 1 丁目 135 番地 中外製薬株式会社 創薬資源研究所長 海部 禄朗	3,000,000 円	マウスジェノミクスに関する研究
静岡県三島市谷田 1111 国立遺伝学研究所 核酸化学客員研究部門 富澤 純一	2,000,000 円	分子細胞生物学の研究助成のため
福島市松川町美郷四丁目 1 番地の 1 株式会社 創薬技術研究所 代表取締役 森岡 茂夫	1,000,000 円	インフルエンザウイルス増殖機構の研究助成のため
静岡県三島市谷田 1111 国立遺伝学研究所 細胞遺伝研究部門 太田 力	10,017,000 円	真核生物における DNA ダメージの組換え修復の研究助成のため
静岡県三島市谷田 1111 国立遺伝学研究所 細胞遺伝研究部門 小川 智子	7,959,537 円	組換え，複製，修復反応で働く，DNA 蛋白質複合体の研究助成のため

静岡県三島市谷田 1111 国立遺伝学研究所 生体高分子研究室 徳永 万喜洋	6,900,000 円	ローブ顕微鏡下の 1 分子技術による生分子未知機能の探索研究助成のため
東京都港区芝 2 丁目 3 番 3 号 財団法人 日本情報処理開発協会 先端情報技術研究所 常務理事 市川 隆	1,200,000 円	学研究のため
静岡県三島市谷田 1171 の 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
静岡県三島市谷田 1171 の 195 財団法人 遺伝学普及会 会長 森脇 和郎	244,860 円	研究助成（海外渡航費）のため
合 計	35,171,397 円	

平成 10 年受託研究受入

産学連携等研究費 254,518千円

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
gcm タンパクの転写調節機能	所長 堀田 凱樹	自 1998. 4. 1 至 1999. 3. 31	科学技術振興事業団	円 7,000,000
ゲノム全遺伝子の発現ヒエラルキー決定機構の解明	分子遺伝研究部門 教授 石濱 明	自 1998. 4. 1 至 1999. 3. 31	科学技術振興事業団	9,000,000
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 1998. 4. 1 至 1999. 3. 31	科学技術振興事業団	1,000,000
線虫全発生過程の遺伝子発現プログラム	生物遺伝資源情報総合センター 教授 小原 雄治	自 1998. 4. 1 至 1999. 3. 31	科学技術振興事業団	12,000,000
発生におけるパターン形成機構	系統生物研究センター 助教授 林 茂生	自 1998. 4. 1 至 1999. 3. 31	日本学術振興会	39,347,000
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 1998. 4. 1 至 1999. 3. 31	医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構	5,000,000
ENU,Chlorambucil-mutagenesis による高発がん感受性マウス系統の開発とその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 1998. 4. 1 至 1999. 3. 31	医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構	10,000,000

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
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 1998. 4. 1 至 1999. 3. 31	生物系特定産業技術研究推進機構	円 15,267,000
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 1998. 6. 30 至 1999. 3. 31	科学技術振興事業団	3,000,000
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 1998. 7. 17 至 1999. 3. 31	日本学術振興会	17,422,000
培養生物を対象とする情報共有・解析システムに関する研究	生命情報研究センター 教授 菅原 秀明	自 1998. 8. 5 至 1999. 3. 31	科学技術振興事業団	11,945,000
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明	系統生物研究センター 助教授 倉田 のり	自 1998. 8. 19 至 1999. 3. 31	農林水産省 農業生物資源研究所	3,501,000
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 1998.10.20 至 1999. 3. 31	科学技術振興事業団	7,060,000
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 1998.10.20 至 1999. 3. 31	科学技術振興事業団	1,000,000
多分化能の成立と制御機構の研究	系統生物研究センター 教授 中辻 憲夫	自 1998.10.20 至 1999. 3. 31	農林水産省畜産試験場	7,510,000
胎子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 1998.10.20 至 1999. 3. 31	農林水産省畜産試験場	2,946,000

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
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 1998.10.21 至 1999. 3.31	財団法人日本宇宙フォーラム	円 2,990,000
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 1998.11.10 至 1999. 3.31	株式会社海洋バイオテクノロジー研究所	25,183,200
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 1998.11.20 至 1999. 3.31	理化学研究所	4,830,000
遺伝子産物固定システム機能検討・プロトタイプ開発	生命情報研究センター 教授 西川 建	自 1999. 2. 4 至 1999. 3.31	科学技術振興事業団	3,500,000
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. 2. 8 至 1999. 3.31	科学技術振興事業団	1,000,000
新しいコンソミック系統の樹立に関する研究	系統生物研究センター 教授 城石 俊彦	自 1999. 3. 1 至 1999. 3.31	財団法人実験動物中央研究所	33,786,000
遺伝子多型情報のデータベースの構築	生物遺伝資源情報総合センター 助教授 山崎由紀子	自 1999. 3. 1 至 1999. 3.31	財団法人実験動物中央研究所	4,898,000
コンソミック系統を用いた高次機能遺伝子の解析システムの開発	系統生物研究センター 助手 小出 剛	自 1999. 3. 1 至 1999. 3.31	財団法人実験動物中央研究所	11,654,000
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. 3. 1 至 1999. 3.31	宝酒造株式会社	13,679,000

F. 日誌

1月20日	第61回運営協議員会
3月5日	第62回運営協議員会
3月16日	第30回評議員会
3月30日	アジア分子生物学研究機構(AMBO)
~ 4月11日	ワークショップ・トレーニングコース
4月11日	一般公開
6月11日	第63回運営協議員会
6月25日	第31回評議員会
10月7日	第64回運営協議員会
11月14日	公開講演会

教授会議

1月13日	第250回	1月27日	第251回
2月10日	第252回	2月24日	第253回
3月10日	第254回	4月14日	第255回
4月28日	第256回	5月12日	第257回
5月25日	第258回	6月9日	第259回
6月23日	第260回	7月27日	第261回
9月11日	第262回	9月21日	第263回
10月12日	第264回	10月27日	第265回
11月10日	第266回	11月24日	第267回
12月8日	第268回	12月22日	第269回

外国からの主な来訪者

1月11日 ~ 14日	袁 義達, 中国科学院遺伝研究所, 中国
1月20日 ~ 21日	張 志欣, 北京血液中心, 中国
1月19日 ~ 3月20日	Jean Thierry-Mieg, CNRS, Laboratoire de Physique Mathematique, Universite Montpellier, France
2月2日	Tom Slezak, Human Genome Center, Lawrence Livermore National Laboratory, U.S.A.
3月5日 ~ 6日	E.M. Southern, University of Oxford, U.K.
3月17日 ~ 18日	Peter Day, The State University of New Jersey, U.S.A
3月17日 ~ 18日	Helmut Knuepfer, IPK, Gatersleben, Germany

4月12日 ~ 14日	Martin F.Gellert,Laboratory of Molecular Biology,NIH, U.S.A.
5月26日 ~ 6月13日	Dipankar Chatterji,Centre for Cellular and Molecular Biology,India
6月3日 ~ 4日	Yasuyuki Kishimoto,Max Plank Institute of Tuebingen, Germany
6月15日 ~ 16日	Bernard de Massy,Institut Curie,France
6月16日	J. Lawrence Marsh,University of California at Irvine,U.S.A.
7月17日 ~ 8月23日	Shozo Yokoyama,Syracuse University,U.S.A.
7月30日 ~ 31日	Kiyotoshi Kaneko,University of California San Francisco,U.S.A.
7月23日	Takashi Kondoh,University of Geneva,Switzerland
8月3日 ~ 4日	Akihito Yamamoto,University of California Los Angeles,U.S.A.
8月28日 ~ 29日	Philip A. Beachy,Johns Hopkins University,U.S.A.
8月31日 ~ 9月1日	Michael Hengartner,Cold Spring Harbor Laboratory,U.S.A.
9月28日 ~ 30日	金 鋒,中国科学院遗传研究所,中国
9月28日 ~ 30日	曹 京龍,中国科学院遗传研究所,中国
10月6日 ~ 7日	Sumio Ohtsuki,University of California Berkeley,U.S.A.
10月8日 ~ 9日	Harald Bissmann,University of California at Irvine,U.S.A.
10月12日 ~ 13日	Roel Nusse,Stanford University Medical Center,U.S.A.
10月13日	Stephanie L. Chisoe,Washington University School of Medicine,U.S.A.
10月13日 ~ 14日	Gail Martin,University of California San Francisco,U.S.A.
10月14日	Thomas B. Kornberg,University of California San Francisco,U.S.A.
10月14日 ~ 15日	Michael Lichren,NIH,U.S.A.
10月15日 ~ 16日	Kenneth J. Kemphues,Cornell University,U.S.A.
10月19日 ~ 20日	Richard S. Mann,Columbia University,U.S.A.
10月20日 ~ 21日	Randall Moon,University of Washington School of Medicine,U.S.A.
10月28日 ~ 29日	Kalpana White,Brandeis University,U.S.A.
10月31日 ~ 11月2日	Leland H. Johnston,National Institute for Medical Research,U.K.

11月10日～	13日	Antoine Blancher, Hospital Purpan, France
11月30日～	12月3日	Laurent Excoffier, University of Geneva, Switzerland
12月7日～	8日	Minoru Watanabe, Harvard Medical School, U.S.A.
12月10日～	11日	Steven H. Bryant, NCBI, NIH, U.S.A.
12月10日～		Vijaya Gopal, Centre for Cellular and Molecular Biology, India
12月21日～	22日	Ichiro Kawasaki, Indiana University, U.S.A.

G. 諸 会

研究活動を促進するために次の会を行う。

内部交流セミナー

研究所内における研究経過を討論する会で、盛夏の時期を除き毎週金曜日に開かれる。

- 1月 9日 1. ホメオボックス遺伝子の分子進化 (池尾一穂)
 - 2. 系統情報データベースにおける異種生物間検索システムについて (山崎由紀子)
- 1月16日 昆虫の窒素循環における細胞内共生微生物の役割 (石川 統)
- 1月23日 バクテリア種固有のコドン利用多様性 (金谷重彦)
- 2月23日 1. ヒドラ上皮細胞とはなにか? (清水 裕)
 - 2. F1-ATPase 3 3複合体の構造解析 (白木原康雄)
- 2月20日 1. 野生マウスのY-染色体 (城石俊彦)
 - 2. Not just a protein kinase: a novel function of Cdc2 in S phase regulation (林 茂生)
- 2月27日 1. FTZ-F1のMutantsについて (山田正明)
 - 2. ヒト染色体上の重複領域はいかに進化したか (今西 規)
- 3月 6日 1. 組換え遺伝子のテロメア維持に関する機能 (田中茂生)
 - 2. タンパク質立体構造の比較と系統進化(?) (西川 建)
- 3月13日 1. ゲノムの構造・機能解析 (藤山秋佐夫)
 - 2. ゲノム構造の進化 (五條堀孝)
- 3月20日 ヒトの摂食行動と代謝の遺伝的個性と可塑性について (今村 孝)
- 3月27日 フィールドと実験室のはざま (森島啓子)
- 4月17日 1. タンパク質フットプリントによる大腸菌主要転写開始因子 70の解析 (永井宏樹)
 - 2. 線虫C. elegansの感覚繊毛の変異体che-2の解析 (藤原 学)
- 4月24日 1. 大腸菌DNAと複製蛋白DnaAとDnaKの相互作用 (安田成一)
 - 2. ショウジョウバエ超らせん化因子の機能解析 (相田紀子)
- 5月 1日 1. 神経ペプチド, LWamideファミリー: ヒドラからヒトの脳まで?

(藤澤敏孝)

2. 細菌における同種異種の識別と集団防御 (石浜 明)
- 5月 8日
1. (1) SecA による遺伝子転写制御の意味 (2) コンニャクオペロン (定家義人)
 2. マウス減数分裂期にみられる組換えのホットスポットと染色体挙動 (磯部 拓)
- 5月 15日
1. 大腸菌の ftsE 変異はカリウムポンプ蛋白の膜局在に影響を与える (西村昭子)
 2. Rh 式血液型遺伝子およびその相同遺伝子の進化的研究 (北野 誉)
- 5月 22日
1. 分裂酵母 RNA ポリメラーゼ II 遺伝子の温度感受性変異の解析 (光澤 浩)
 2. マウス胎仔生殖細胞の増殖, 分化能の解析 (中馬新一郎)
- 5月 29日
1. SSJ (Simultaneous Sequence Joining): 近縁な塩基配列を大規模解析するための新しい方法 (斎藤成也)
 2. 遺伝子内部領域における同義置換の不均一性から見た遺伝子の進化様式 (角山和久)
- 6月 5日
1. DDBJ の大規模配列データ対応 (菅原秀明)
 2. ヒト・ゲノムの核内ダイナミクスに関する研究 (野上正弘)
- 6月 12日
- 組み換え率の自然淘汰圧に及ぼす影響 (高野敏行)
- 6月 19日
1. *C. elegans* の介在神経の機能の解析 (石原 健)
 2. タンパク質立体構造の系統進化 - periplasmic binding protein ファミリーの場合 - (深海 薫)
- 6月 26日
1. *Penicillium decumbens* エポキシダーゼ遺伝子の機能解析 (舘野義男)
 2. 出芽酵母 Rad51 組換え系に働く蛋白質の機能解析 (渡辺光一)
- 7月 3日
1. 出芽酵母 Mre11 蛋白質の機能解析 (太田 力)
 2. 血管内皮細胞分化におけるマウス Notch-4 の発現と機能 (白吉安昭)
- 7月 10日
1. 分裂酵母 RNA ポリメラーゼ II の構造と機能 (木村 誠)
 2. Grr1 は G1 サイクリン Cln2 の「選択的」かつ「時期特異的」なユビキチン化を担う (岸 努)
- 7月 17日
- 線虫 *C. elegans* の dauer 幼虫形成制御にかかわる遺伝子と神経回路 (桂 勲)
- 7月 24日
1. イネの胚発生と再分化課程の遺伝的制御解析 (倉田のり)
 2. 死んだふりの RNA ポリメラーゼとその功德 (嶋本伸雄)
- 7月 31日
1. 線虫 *C. elegans* T-box 遺伝子 *tbx-9* の機能解析 (安達佳樹)
 2. マウス生殖細胞系列の発生機構に関する研究 (中辻憲夫)
- 9月 4日
1. ヒドラのペプチドシグナル分子 - ペプチド遺伝子から (服田昌之)
 2. 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 進)
- 9月 18日
1. 大規模系統樹の作成について (宮崎 智)
 2. ユビキチン転移酵素 UbcP4 の関わるユビキチン経路による蛋白質分解の制御 (清野浩明)

- 10月 2日 1. 同祖染色体対合を抑制する遺伝子を単離する方法(野々村賢一)
2. 高等動物染色体 DNA の間期核内での組織化された配置を決める分子機構; 3重鎖構造の存在とその役割について(池村淑道)
- 10月 9日 1. グロビン巻きのレシピ(太田元規)
2. ショウジョウバエの脚の近遠軸形成(後藤 聡)
- 10月 16日 1. イネのホメオボックス遺伝子の過剰発現の影響(伊藤幸博)
2. 誘導の代価(広海 健)
- 10月 23日 1. 野生由来マウス系統を用いた行動遺伝学(小出 剛)
2. Post Genomics Era(小原雄治)
- 10月 30日 1. RNA ポリメラーゼ サブユニットを介した転写活性化のメカニズム(藤田信之)
2. 昆虫の完全変態機構の進化について(湊 清)
- 11月 6日 1. 昆虫の変態期における遺伝子の時期および組織特異的な発現制御(上田 均)
2. 発芽酵母の遺伝的組み換えと DNA 傷害の修復(小川智子)
- 11月 13日 ユビキチンリガーゼによる分解標的の認識(山尾文明)
- 11月 20日 1. 神経細胞の特異性の決定(斎藤哲一郎)
2. 染色体 DNA 複製装置の自己点検機構(荒木弘之)
- 11月 27日 1. Ras シグナル伝達系を抑制することが神経誘導能の獲得に必要である(岡部正隆)
2. RNA ポリメラーゼ逐次的活性化による細胞分化の制御(藤田昌也)
- 12月 4日 1. グリア分化制御遺伝子 gcm とそのファミリー(細谷俊彦)
2. MBH2 の cDNA クローニングと発現解析(浜 太郎)
- 12月 11日 1. 1 分子イメージングと計測(徳永万喜洋)
2. スライディングの生物学的意義(杵淵 隆)
- 12月 25日 1. 族遺伝子の進化過程における遺伝子機能多様化の獲得ホメオボックス遺伝子を例として(池尾一穂)
2. 遺伝資源情報データベースプロジェクト(山崎由紀子)

Biological Symposium

- 1月 14日 A manifold of codes in genetic sequences(Edward N. Trifonov)
- 2月 2日 The 2nd Decade of Human Genome Informatics Support: Reflections and Future Directions relevant to other Genome efforts.(Tom Slezak)
- 2月 17日 CREB-mediated gene expression: a mechanism underlying hippocampal synaptic activity-induced formation of long-term memory?(Haruhiko Bito)
- 2月 18日 Growth cone からシナプスへ(吉原基二郎)
- 2月 26日 脳の領域特異化と神経細胞分化における転写因子 Isllet-1 ファミリーの役割(岡本 仁)

- 3月 5日 Oligonucleotide arrays and the discovery of efficient antisense reagents(E.M.Southern)
- 3月12日 頭蓋骨の発生と進化(倉谷 滋)
- 3月17日 Genetically engineered foodcrops:problems and prospects (Peter Day)
- 3月17日 ショウジョウバエの性行動の遺伝解析(山元大輔)
- 3月19日 The St.Louis,Sanger,Mishima worm sequencing project.(Jean Thierry-Mieg)
- 4月13日 V(D)J RECOMBINATION AND ITS BIOLOGICAL RELATIVES (Martin Gellert)
- 4月15日 Notch 情報伝達系における Deltex の機能(松野健治)
- 4月22日 細胞および組織観察による皮質ニューロンの産生と配置に関する考察(小川正晴)
- 4月22日 Inactivation at promoters and control of transcription initiation (Ranjan Sen)
- 4月23日 シナプス特異結合の分子機構: ショウジョウバエ神経一筋結合をモデルとした解析(能瀬聡直)
- 4月27日 線虫 *C.elegans* における温度走性の分子機構と神経制御機構(森 郁恵)
- 5月 8日 Supramolecular Structure of the *Salmonella typhimurium* TypeIII Protein Secretion System (久堀智子)
- 5月13日 動物の行動を制御する遺伝情報について -Fyn 欠損マウスを用いた解析より-(八木 健)
- 5月13日 Reductive evolution of endocellular parasites and the origin of mitochondria(Charles G.Kurand)
- 5月14日 カドヘリンスーパーファミリーの機能解析が拓くパターン形成の分子機構(上村 匡)
- 5月18日 ヒトおよびマウスにおける突然変異の検出と解析(権藤洋一)
- 5月18日 インプリンティング: ゲノム修飾に基づく染色体ドメインレベルの遺伝子制御(佐々木裕之)
- 6月 3日 脊椎動物における腹側化機構: ゼブラフィッシュ突然変異体を用いた遺伝学的解析(岸本康之)
- 6月16日 Maintaining and integrating morphogen gradients. Cross regulation of Wg and Dpp.(J.Lawrence Marsh)
- 6月19日 ヒトセントロメア機能配列の解析と人工染色体の構築(舩本 寛)
- 6月22日 マウス嗅球 - 終脳神経回路形成機構(平田たつみ)
- 7月 6日 ゼブラフィッシュにおける中枢神経の発生機構: 胚操作技術と突然変異体を用いた解析(武田洋幸)
- 7月 8日 Ras による神経可塑性の制御(饗場 篤)
- 7月15日 The initiation of meiotic recombination in *Saccharomyces cerevisiae* (Bernard de Massy)

- 7月23日 神経分化および軸索誘導に対する Pax6 遺伝子の役割 (大隅典子)
- 7月23日 「HoxD 遺伝子群における高次発現調節機構の存在とその機能についての解析」
(近藤 隆)
- 7月24日 「神経機能・胚発生に関与するマウス quaking 変異の発生遺伝学的解析」
(阿部訓也)
- 7月27日 線虫 *C.elegans* におけるプログラム細胞死：新規遺伝子の探索 (杉本亜砂子)
- 7月29日 酵母ゲノムにおけるクロマチンの構造と転写調節機構 (清水光弘)
- 7月30日 プリオン病の新局面 -Protein X を中心に - (金子清俊)
- 7月30日 Constructing trees from subtrees(with applications to mammalian evolution)(Dan Graur)
- 7月31日 Relative Contributions of Mutation and Selection to the Evolution of Bacterial DNA Base Composition(Noboru Sueoka)
- 8月 3日 Roles of the paraxial protocadherin(PAPC)gene in morphogenetic movement during gastrulation of the zebrafish,Xenopus and mouse embryos.
(Akihito Yamamoto)
- 8月 7日 組織血液型 ABO 系：糖鎖抗原から遺伝子および糖転移酵素へ (山本文一郎)
- 8月28日 Hedgehog protein biogenesis and signaling (Philip A.Beachy)
- 9月 1日 Genetic control of programmed cell death in the nematode *C.elegans*.
(Michael Hengartner)
- 9月14日 ゲノムインプリンティングと生殖細胞系列 (多田 高)
- 9月17日 染色体 DNA 複製と細胞周期チェックポイントに関わる出芽酵母 Dpb11 タンパク質の機能解析 (上村陽一郎)
- 9月30日 ショウジョウバエ マスターコントロール遺伝子発現の共通制御機構と器官アイデンティティの確立 (倉田祥一郎)
- 10月 5日 植物の光形態形成を制御する核内タンパク質の解析 (松井 南)
- 10月 5日 シロイヌナズナゲノムの構造・機能解析 (田畑哲之)
- 10月 6日 ショウジョウバエの胚におけるエンハンサーとプロモーターの相互作用
(大槻純男)
- 10月 8日 The Telomeres of *Drosophila* and the Mosquito *Anopheles gambiae*
(Harald Biessmann)
- 10月13日 Signaling by *wnt* Genes in *Drosophila*:Common and Unique Pathways
(Roel Nusse)
- 10月13日 FGF signaling in the vertebrate embryo (Gail Martin)
- 10月13日 The *C.elegans* Genome Project (Stephanie L.Chissoe)
- 10月14日 Genetic and molecular mechanisms that pattern and organize in *Drosophila*
(Thomas B.Kornberg)

- 10月15日 Control of meiotic recombination in *Saccharomyces cerevisiae*
(Michael J.Lichten)
- 10月16日 Establishing polarity in the *C.elegans* embryo (Kenneth J. Kemphues)
- 10月19日 Control of developmental pathways by Hox proteins and their cofactors
(Richard S.Mann)
- 10月19日 体細胞不定胚形成から植物の胚発生を探る (鎌田 博)
- 10月19日 イネにおけるホメオボックス遺伝子の発現様式と機能 (松岡 信)
- 10月20日 Specification of the dorsal axis of *Xenopus* by the Wnt signaling pathway
(Randall T.Moon)
- 10月22日 腎臓の発生におけるシグナル因子の役割 (石原(小原)朋子)
- 10月28日 *Drosophila* ELAV protein is a major posttranscriptional regulator in neurons (Kalpana White)
- 11月 2日 GAL4-UAS 法を利用した, ショウジョウバエ成虫脳の構造・機能・発生の解析
(伊藤 啓)
- 11月 2日 The End of Mitosis in Budding Yeast (Leland H. Johnston)
- 11月 9日 1億年の進化の時をこえて植物ゲノムを融合させる試みは意味がある? - 植物分子遺伝学からゲノム生物学へ - (柴田大輔)
- 11月 9日 ゲノムDNAメチル化と植物形態形成とトランスポゾン: アラビドプシス突然変異体を用いたアプローチ (角谷徹仁)
- 11月10日 シナプスで機能する情報伝達分子 HIG と SIF について - 活動性低下変異の解析から - (浜 千尋)
- 11月11日 Evolution of Rh genes and antigens in nonhuman primates (Antoine Blancher)
- 11月19日 発生過程のコンピュータシミュレーション (北野宏明)
- 12月 1日 大腸菌の細胞複製に必須な新規遺伝子の探索 (加藤潤一)
- 12月 1日 大腸菌リン酸レギュロンにおける転写制御回路 (牧野耕三)
- 12月 1日 Estimation of past demographic parameters when the mutation rates vary among sites (Laurent Excoffier)
- 12月 7日 FAST-1 はアフリカツメガエル初期胚におけるアクチビン / TGF による中胚葉誘導に必須の因子である。(渡部 稔)
- 12月10日 Evaluation of Threading Specificity and Accuracy (Stephen H. Bryant)
- 12月15日 Isochores, selection and random drift. (Girogio Bernardi)
- 12月22日 線虫 *C.elegans* の生殖顆粒, P granules, およびその成分である PGL-1 の生殖細胞系列の発生における役割について (川崎一郎)
- 12月24日 神経誘導と前後軸パターン形成におけるオーガナイザー特異的ホメオボックス遺伝子 *Xlim-1* の役割 (平良真規)
- 12月28日 酵母をモデルとしたゲノムの機能解析: 相互作用からのアプローチ
(伊藤隆司)

12月28日 大腸菌の相同組換え後期過程の分子メカニズム -RuvA, RuvB, RuvC 蛋白質の構造と機能を中心に - (岩崎博史)

三島遺伝談話会

1月16日 高等植物硝酸還元酵素(NR)の活性抑制機構(金丸研吾)

2月25日 ショウジョウバエ FGF 受容体, breathless の気管系発生過程における発現制御(大城朝一)

3月11日 ニワトリ枝芽の形態形成を司る, Wnt3a と Wnt7a の2つの異なるシグナル伝達経路(見学美根子)

3月12日 tRNA と mRNA の両機能を持つ新しいRNA:tmRNA(武藤 昱)

H . 栄 誉

国立遺伝学研究所長堀田凱樹は, 科学技術に関する注目すべき研究業績に対する褒賞として, 平成10年11月12日, 「武田医学賞」を受賞した.

受賞課題 「神経系における細胞運命決定の分子生物学的機構」

I . 図書及び出版

図書委員会委員長 (1998年度)	西川 建
図書委員会委員 (1998年度)	池村淑道・城石俊彦・藤田信之 太田力・服田昌之・上田均 永井宏樹・伊藤幸博

1) 蔵書数

和書	3,420冊	製本雑誌を含む
洋書	16,973冊	"
計	20,393冊	

2) 1998年図書増加冊数

和書	24冊	製本雑誌を含む
洋書	371冊	"
計	395冊	

3) 雑誌

	購入	寄贈	計	備考
和文	19種	3種	22種	
欧文	156種	4種	160種	国内欧文雑誌含む
計	175種	7種	182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48号 Ann.Rep.Natl.Inst. Genet.No.48	257	700部	国内研究機関, 大学, 試験場ほか
	174	900部	内外研究機関, 大学, 試験場ほか

5) **1998**年購入外国雑誌リスト

1. Acta Crystallographica D:Biological
2. American Journal of Botany
3. American Journal of Human Genetics
4. American Naturalist
5. Analytical Biochemistry
6. Animal Behaviour
7. Annales de Genetique
8. Annals of Human Genetics
9. Archives of Virology
10. Behavior Genetics
11. Biochemical and Biophysical Res.
12. Biochemical Genetics
13. Biochemistry
14. Biochimica et Biophysica Acta:Gene
15. Biometrika
16. Biophysical Journal
17. Botanical Review
18. Canadian J. of Botany
19. Cancer Genetics & Cytogenetics
20. Cancer Research
21. Caryologia
22. Cell
23. Cellular Mol. Life Sci.(Experientia)
24. Chromosoma
25. Chromosome Research
26. Clinical Genetics
27. Crop Science
28. Current Adv. cell. Dev.
29. Current Biology
30. Current Contents:Life Sciences
31. Current Genetics
32. Current Opinion in Cell Biology
33. Current Opinion in Genetics & Dev
34. Current Opinion in Immunol.
35. Current Opinion in Structural Biol.
36. Current Opinion in Neurobiol.

37. Cytogenetics & Cell Genetics
38. Development
39. Development, Genes and Evolution
40. Developmental Biology
41. Developmental Genetics
42. Differentiation
43. Ecological Applications
44. Ecology
45. EMBO Journal
46. Environmental & Experimental Botany
47. Environmental & Molecular Mutagenesis
48. Euphytica
49. European J. of Biochemistry
50. European J. of Immunogenetics
51. Evolution
52. Evolutionary Ecology
53. Experimental Cell Research
54. FEBS Letters
55. FEMS Microbiology Letters
56. Gene
57. Genes & Development
58. Genes to Cells
59. Genetic Counseling
60. Genetica
61. Genetical Research
62. Genetics
63. Genome
64. Genome Research
65. Genomics
66. Hereditas
67. Heredity
68. Human Genetics
69. Human Heredity
70. Human Molecular Genetics
71. Immunogenetics
72. Immunological Reviews
73. International J. of Radiation Biol.

74. Journal of Applied Ecology
75. Journal of Bacteriology
76. Journal of Biological Chemistry
77. Journal of Cell Biology
78. Journal of Cell Science
79. Journal of Cellular Physiology
80. Journal of Computational Biology
81. Journal of Ecology
82. Journal of Evolutionary Biology
83. Journal of Experimental Medicine
84. Journal of Experimental Zoology
85. Journal of General Virology
86. Journal of Genetics
87. Journal of Heredity
88. Journal of Immunology
89. Journal of Medical Genetics
90. Journal of Molecular Biology
91. Journal of Molecular Evolution
92. Journal of Neurogenetics
93. Journal of Neuroscience
94. Journal of Virology
95. Korean Journal of Genetics
96. Lancet
97. Macromolecular Structures
98. Mammalian Genome
99. Mechanisms of Development
100. Microbiology
101. mibr (Microbiological Reviews)
102. Molecular & General Genetics
103. Molecular and Cellular Biology
104. Molecular and Cellular Neuroscience
105. Molecular Biology and Evolution
106. Molecular Biology of the Cell
107. Molecular Endocrinology
108. Molecular Microbiology
109. Molecular Cell
110. Mutation Research

111. Nature
112. Nature Biotechnology
113. Nature Genetics
114. Nature Structural Biology
115. Neuron
116. New England Journal of Medicine
117. Nucleic Acids Research
118. Oncogene
119. Plant Breeding
120. Plant Breeding Abstracts
121. Plant Journal
122. Plant Molecular Biology
123. Plant Physiology (with Plant Cell)
124. Plant Science
125. Plasmid
126. Proc. Nat. Acad. Sci
127. Proc. of the Royal Society:ser.
128. Protein Engineering
129. Protein Science
130. Proteins
131. Quarterly Review of Biology
132. Quarterly Reviews of Biophysics
133. Radiation Research
134. Res. in Microbiology
135. Res. in Virology
136. Revista Brasileira de Genetica
137. RNA
138. Science
139. Scientific American
140. Sexual Plant Reproduction
141. Somatic Cell & Molecular Genetics
142. Structute
143. Theoretical & Applied Genetics
144. Theoretical Population Biology
145. Trends in Biochemical Science
146. Trends in Cell Biology
147. Trends in Genetics

- 148. Trends in MicroBIOLOGY
- 149. Trends in Neurosciences
- 150. Trends in Plant Science
- 151. Virology
- 152. Virus Research
- 153. Yeast

付

財団法人遺伝学普及会

歴 史

昭和24年6月1日に文部省所轄機関として国立遺伝学研究所が設立されたのを契機に、昭和25年11月、遺伝学に関する知識の普及とその応用を図ることを目的として設立されたが、昭和63年11月1日に主務官庁である文部省の認可を得て寄附行為の一部を改正、その主たる目的を「学術研究の助成及び知識の普及を図る」に改め、学術研究を積極的に助成することになった。

事業概況

遺伝学に関する研究、海外渡航費の助成及び遺伝学に関する講演会(セミナー・シンポジウムを含む)・研究会の開催と助成並びに遺伝学に関する雑誌、図書の編集及び会報の発行事業等を行っている。

役 員

会 長	森脇和郎
常務理事	五條堀 孝, 中辻憲夫
理 事	堀田凱樹, 三浦謹一郎, 山口彦之, 野村達次, 黒田行昭, 石浜 明, 重藤學二
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, 瀬野悞二, 館野義男
監 事	今村 孝, 池村淑道, 桂 勲
顧 問	森脇大五郎

X . 総合研究大学院大学生命科学研究科

遺伝学専攻の概要

A . 目的

総合研究大学院大学は、大学共同利用機関との緊密な連係・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圃場が持つ機能、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
入学者数	9(1)	5(4)	8(3)	11(2)	13(1)	8(1)	9(2)	9(1)	11(5)	11(3)

() は女子で内数

F．修了要件及び学位の種類

1．修了要件

3年以上在学し，本専攻で定めた履修科目について，10単位以上修得し，かつ，必要な研究指導を受けた上，博士論文の審査及び試験に合格することとする．

ただし，在学期間に関しては，特に優れた研究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
課程博士 (理学)	6	4	9	7	12	6	8
論文博士 (理学)	0	0	1	0	0	2	0

H. 正規生 33名

入学時期	氏 名	所属講座	所内所属研究部門等
6年4月	藤原 学	個 体	構造遺伝学研究センター 構造制御研究室
8年4月	相田 紀子	個 体	個体遺伝研究系 形質遺伝研究部門
	石黒 亮	分 子	分子遺伝研究系 分子遺伝研究部門
	磯部 拓	細 胞	系統生物研究センター 哺乳動物遺伝研究室
	北野 誉	集 団	集団遺伝研究系 進化遺伝研究部門
	中馬 新一郎	個 体	系統生物研究センター 発生工学研究室
	角山 和久	集 団	生命情報研究センター 遺伝情報分析研究室
	野上 正弘	集 団	集団遺伝研究系 進化遺伝研究部門
	浜 太郎	個 体	系統生物研究センター 発生工学研究室
	渡辺 光一	細 胞	細胞遺伝研究系 細胞遺伝研究部門
8年10月	杵 淵 隆	分 子	構造遺伝学研究センター 超分子機能研究室
9年4月	上村 隆俊	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

入学時期	氏名	所属講座	所属研究部門等
	青木美和	分子	分子遺伝研究系 分子遺伝研究部門
	野田令子	集団	集団遺伝研究系 進化遺伝研究部門
	服藤尚恵	個体	個体遺伝研究系 発生遺伝研究部門
	福司功治	分子	構造遺伝学研究センター 超分子構造研究室
	牧野茂	細胞	系統生物研究センター 哺乳動物遺伝研究室
	増田祥子	個体	個体遺伝研究系 形質遺伝研究部門
	三戸部治郎	分子	分子遺伝研究系 分子遺伝研究部門
	望月一史	個体	個体遺伝研究系 発生遺伝研究部門
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
	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 超分子構造研究室
	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