首都大学東京
(東京都立大学)
理学研究科
生命科学年報

2005

生命科学教室

目次

はじめに…… 1

概要…… 2

構成員一覧…… 4

研究室紹介

<<理学研究科生命科学教室>>

神経分子機能研究室…… 6

神経生物学研究室…… 10

発生プログラム研究室…… 14

細胞遺伝学研究室…… 18

分子遺伝学研究室…… 21

ホルモン細胞機構研究室…… 25

感覚情報研究室…… 29

幹細胞再生学研究室…… 32

発生制御研究室…… 34

生化学研究室…… 35

進化遺伝学研究室…… 38

植物光応答機構研究室…… 42

細胞エネルギー研究室…… 46

環境微生物学研究室…… 50

動物生態学研究室…… 52

植物生態学研究室…… 56

動物系統分類学研究室…… 60

植物系統分類学研究室…… 64

<<連携大学院>>

矢倉研究室…… 67

白澤研究室…… 68

長谷川研究室…… 69

齋藤研究室…… 70

遠藤研究室…… 71

反町研究室…… 72

その他の研究・事業

小笠原研究…… 73

牧野標本館の業務…… 74

ショウジョウバエ系統保存事業…… 75

教育・研究関連資料

学位取得者…… 76

生物学教室セミナー…… 79

はじめに

2005 年度は，激変と新しい出発の時であった．東京都立大学は，他の都立の大学・短大と統合されて，新しい首都大学東京となった．東京都立大学理学部生物学科は，首都大学東京都市教養学部理工学系生命科学コースとなり，学生定員（1 学年）が 24 名から 50 名にほぼ倍増した．大学院は，2005 年度は，首都大学東京大学院理学研究科生物科学専攻として，博士前期課程（学年定員 27 名）と博士後期課程（同 13 名）の新入生を受け入れた．ただし，この新大学の専攻は 1 年限りで，2006 年度からは，理工学研究科生命科学専攻として改編され，博士前期課程（学年定員 40 名），博士後期課程（同 18 名）となる．

これまでの生物学教室と自然史科学講座は統合されて，生命科学教室となった．さらに，科学技術大学から，山田雅弘教授，宮本寛治教授が，都立短期大学から古川聡子助手が合流された．相垣敏郎氏が教授に昇任され，田村浩一郎氏と岡本龍史氏が准教授に昇任された．これらの結果，教授 12 名，助教授・准教授 11 名，助手 17 名（将来的には 12 名）の体制となった．教員定数は減少したが，新しいスタッフを迎え，学部・大学院を通じて 1 つの組織として生物学・生命科学の教育研究を推進できることは，ありがたかった．

このような組織的な激変の中でも，教育・研究活動は，これまでの活動を継承し，さらに発展させるべく取り組まれた．ゼミナール入試等の新しい入試での合格者を含む新入生の半数以上が，新科目「生物学自主研究」に挑戦し，自主的な研究トレーニングを大学入学当初から開始した．教員からの援助を最低限に留めることで，グループを形成して問題を見つけ，自分たちで研究方法を調べ・考え，できるだけ自分たちの力だけで研究をまとめて発表を行った．卒業研究生や大学院生の研究に比べると，質的には遠く及ばないが，早くからの研究トレーニングが，勉学意欲を刺激し，将来の大学院や社会に出てからの主体的で独創的な研究に繋がることを期待している．

大学院教育においては，文部科学省の補助事業「魅力ある大学院教育」イニシアティブに採択され，創造性豊かな若手研究者の育成にこれまで以上の内容と体制で取り組み始めた．専攻単独で大学から公募に提案し採択されたテーマは，「異分野体験を核とする独創的思考回路の構築」である．これは現代生物科学の研究にとって分野横断的な視点がますます重要になっているのに加え，専門的研究の副作用である思考パターンの固定化から脱却し柔軟で独創的な発想と多角的な視点を養うことを重視したからである．この大学院教育の新事業に，大学からの支援を含め 3000 万円の資金を投入した．

生命科学専攻の「魅力ある大学院教育」イニシアティブ事業の柱は，コミュニケーション能力や英語能力を向上させる科学リテラシー教育を土台に，「研究室外での研究」「アウトリーチ」「インターンシップ」から構成される．研究室外での研究は，研究室や専攻をまたがる大学院生同士の共同研究や，海外の研究室を訪問しての研究を奨励している．アウトリーチでは，主に，大学院生が高校へ出向いて自分の研究について話をしたり、研究材料を使った実験指導を行う活動を進めた．インターンシップでは，特に都庁や都の試験機関での研究開発や，企画立案等での現場経験を積ませることができた．これらを，高い専門性，社会性，および独創的思考力を備えた研究者の養成に繋げていきたい．

教室の体制は，生命デザイン分野と多様性・環境分野というふたつの大分野に各研究室を配置し，それぞれに特色を持たせながら，統一的に運営することとなった．前年度途中の教員の転出で教員不在となった微生物生態学研究室に変えて新たに環境微生物学研究室を設置した．学生実験室の担当職員には，都立高校を定年退職された津田幸彦氏を迎えることができた．本年度末には，30 年以上の長きにわたり都立大学の教員として活躍された，分子遺伝学研究室の駒野照弥教授，植物系統分類学研究室の若林三千男教授，動物系統分類学研究室の渡辺信敬助手が定年退職された．

1982 年から毎年発行されてきた本年報は，本教室の教育研究活動について，(1)内容と成果を記録すること，(2)大学院進学や卒業研究での所属研究室を検討する際の資料となること，(3)構成員間の相互理解と研究協力に資すること，(4) 大学内外に活動状況を紹介することを主な目的としている．活用いただければ幸いである．

2006 年 3 月 31 日　　2005 年度生命科学教室主任 松浦克美

概要

1. 生命科学教室の基本目標

(1) 生命科学・基礎生物学分野の指導的な研究者・教育者・その他の専門家の養成を，学生と教員間のコミュニケーションを重視した大学院教育・大学教育を通じて行う．

(2) 大学院教育と一体化した高度な研究活動により，学問分野および人類社会に貢献する．

(3) 分子生物学から生態学や系統分類学までを含む基礎生物学の幅広い分野，動物・植物・微生物全ての生物材料を対象とした大学院教育・大学教育を行い，高度な専門性と幅広い知識・経験のバランスのとれた専門家を養成する．

(4) 研究トレーニングや，実験・実習科目を重視したカリキュラム編成で，実践的な教育を行う．

(5) 生物学分野の社会人教育，生涯教育，リカレント教育，高校生対象のプレ大学教育に先導的に取り組み，地域および東京都に貢献する．

2. 組織構成

首都大学東京生命科学教室は，2005 年 4 月 1 日現在 40 名の教員（定数は 35 名），1 名の職員，4 名の嘱託，および少数の非常勤事務職員を擁し， 18 研究室に分かれて研究と教育活動を行っている．また，東京都の研究機関（神経科学総合研究所，臨床医学総合研究所，精神医学総合研究所，老人総合研究所）と連携大学院協定を結んでおり，2005 年度は 9 名の修士学生が各研究所で研究を行った．卒研生，大学院生，研究生，教職員等，研究に携わっている者の総数は， 200 名を越える．

2005 年度は，学部 1 年次に 51 名が入学した． 2006 年 3 月には，A類 30 名， B類 7 名が卒業し， 30 名が修士課程を修了した．また，9 名が課程博士の学位を授与された．

3. 研究活動

各研究室は，多くの研究テーマに取り組んでおり，その具体的内容は「研究室紹介」の項に紹介されている．全般的な特徴として，研究材料が細菌から高等動植物まできわめて多様性に富んでいること，対象とする生命現象のレベルが分子から細胞・個体・集団と多岐にわたること，研究室間の交流・協力が盛んに行われていることなどが挙げられる．組織として取り組んでいる研究・事業として，小笠原研究，牧野標本館のハーバリウム業務，ショウジョウバエの系統保存事業があり，「研究室紹介」の後に概要が紹介されている．

国際交流も活発で，毎年多くの研究者が出張や研修で海外に出かけている．外国人研究者の来訪も多く，共同研究やセミナーなどによる研究交流が行われた．国内外および教室内の研究者による研究紹介「生物学教室セミナー」は月２回程度開かれており，本年報の最後に今年度の記録が載せられている．

4. 教育活動

生物学の広範囲な分野をバランスよくカバーする多彩な講義と充実した多くの実験実習などを特徴とする教育が行われている．通常の学部入学試験の他に，ゼミナール入試，チャレンジ入試，推薦入学，社会人入試，学士入学等の制度がある．生命科学コースの入学定員は 50 名であるが，そのうち 8 名がゼミナール入試合格者であった．また，他の入試の合格者のうち 4 名が，ゼミナールの受講生であった．

2005 年度までの大学院生物科学専攻の定員は修士課程 27 名，博士課程 13 名である．大学院生の活動は各研究室での研究が中心であるが，それに加えて多くの講義，演習，セミナーから各人の興味に応じた履修が行われている．大学院生には，ティーチングアシスタント制度の他，海外研究集会への派遣制度があり，毎年数名が生物科学専攻から派遣されており国際的な飛躍の機会となっている．

2005 年度（および 2006 年度）には，文部科学省の若手研究者養成機能強化のための補助事業「魅力ある

大学院教育」イニシアティブに採択され,「異分野経験を核とする独創的思考回路の構築」のテーマで，大学院教育の改革に取り組んでいる．研究室での研究と授業履修を中心とした大学院教育に加え，学内外の他研究室，行政機関や研究所，高校等へ出向いて，研究活動や研究紹介等を行うことにより，多角的な視点を養おうとするものである．6名の海外研究室派遣，20名を超える他研究室の大学院生との共同研究，20名を超える高校へのアウトリーチ派遣，5名の行政機関インターンシップ，その他の事業を展開した．

5. 研究施設と設備

14研究室は8号館の２ー５階に位置し，動植物の系統分類学研究室は，これとは独立した牧野標本館・自然史研究棟に位置している．科学技術大学から合流した2研究室は，2006年度まで日野キャンパスに位置する．各研究室には，個別空調設備，温水や各種高圧ガスの集中配管，情報ネットワークシステムなど，基本的な設備が整っている．生命科学教室には，多くの共通機器室が設備されて，各種の機器が研究室を越えて共同利用されており，機器やスペースの効率よい利用が図られていると共に，研究室間の交流の場ともなっている．また，ラジオアイソトープ研究施設，温室・圃場，動物飼育棟，電子顕微鏡，コンピューターセンターなど，共同利用のための設備が配備されている．理学部棟に隣接した国際交流会館は，外国人研究者の宿泊や各種研究集会の開催など，国際交流・研究交流の場として活用されている．約55万冊の蔵書を有する図書館では，電子ジャーナルを含め80あまりの生物学関連の学術雑誌を閲覧できる．

6. 卒業研究の研究室配属

学部生は原則として最終年次に，いずれかの研究室に所属して１年間卒業研究（生物学特別研究）を行う．また，早期卒業をめざす学生には最終年次以前に特別研究が認められることがある．例年１月から２月にかけて希望研究室調査に基づき，配属研究室が決定される．配属希望研究室は，本年報のほか，授業や実習での教員からの情報,研究室訪問,上級生からの情報等さまざまな情報をよく検討した上で決めることとなる．

7. 大学院入試選考

博士前期（修士）課程の一般入試は，通常夏期（8月末ー9月上旬）と冬期（2月中旬）に行われる．一般募集のほか，社会人学生，留学生を対象とした選考も行われている．2005年度の修士課程入学者は28名（うち他大学出身者18名）であった．博士課程入試は2月上旬に行われる．2005年度の博士課程入学者は8名であった．大学院願書出願に関する問い合わせは，理工学系事務室教務係（電話 0426-77-1111 内線 3022）で受け付けている．大学院出願者は，本年報や下記のアドレスのウエブページで各研究室の研究内容をある程度把握した上で，希望する研究室の教員にあらかじめ連絡をとることが奨励されている．各教員の電子メールアドレスはウエブページからリンクしたページに記載されている．過去の大学院入試問題はインターネットで受験生に公開されており，希望者はウエブページからリンクしたページから申し込むことができる．2006年度から理工学研究科生命科学専攻に改組される．

8. 場所と連絡先

首都大学東京キャンパスは，多摩ニュータウン西部の八王子市南大沢に位置し，京王相模原線南大沢駅（新宿から約40分，新横浜から橋本経由で約50分）からすぐの丘の上にある．駅から約200ｍの広い歩行者用通路でキャンパスに入る． 8号館はそこから東に約500ｍの８階建，三角屋根の建物である．生命科学教室事務室は，8号館西側の入口から入り(そこが２階)，吹き抜けに面した左側すぐの231号室にある．大学への交通案内は http://www.metro-u.ac.jp/access.htm に掲載されている．住所は〒192-0397 東京都八王子市南大沢 1-1，電話は 0426-77-1111 (代表)，0426-77-2558 (生命科学教室事務室)，ファックスは 0426-77-2559 (同事務室)，生物学教室のウエブページのアドレスは http://www.sci.metro-u.ac.jp/biol/である．ウエブページから問い合わせのメールを送ることもできる．

構成員一覧表（2005 年度）

	生命デザイン								
	神経分子機能	神経生物学	発生プログラム	細胞遺伝学	分子遺伝学	植物ホルモン機構	感覚情報	幹細胞再生学	発生制御
教授	久永真市		八杉貞雄	相垣敏郎	駒野照弥	小柴共一	山田雅弘	宮本寛治	
助教授		黒川信	西駕秀俊		加藤潤一	岡本龍史			
助手	斎藤太郎 浅田明子	矢沢徹	福田公子	松尾隆嗣	古屋伸久	古川聡子			上村伊佐緒
R.A.			高鳥直士						
大学院博士課程	朱英善 藤田悠一 佐藤裕 谷口誠 堤弘次 濱崎純 ※増田雅美	伊藤慎	室井雅代 Dwi Listyorini 木村航 生田哲朗	前田龍郎 桜井香代子 武尾里美 金内太郎 川原善浩 ※船越政史	三浦雅史	遠藤亮 岡本昌憲 池上啓一	*山本一徳	*山田知明	
大学院修士課程	亀井大嗣 山本直行 高橋淳也 ※窪田和季 本宮綱記 細川智永 河合悠成 ※笈川貴行	岡本崇伸 藤田真理 渡邉弥子 萱場うい子 金田健一	伊田健一郎 藤木真 大越康祐 草木雅裕 橘ゆう子 小林正明	※山本哲也 ※阿部優介 ※小山智加 田中三保子 斎藤智望 福田隆之 赤堀信 萩原奈津子 寺島九和 ※長野慎太郎	岸美紀 塩澤弘基 鈴木恵美子 林和之 佐藤敬司 下窄なつみ 馬鳥裕史	島谷健太郎 鈴木絵美 王舒 西村岳志 内海貴夫	*谷津陽朗 *吉村亮佑 *江南靖広 *吉良真一朗 *原昌之 *秦野隆光 *床並奈津子 *本間晃紀	*中川和浩 *山本幸弘 *掛札確	
卒業研究生	四本健介	山川浩幸	山内路子 広瀬弾 吉田慶太	真田賢 安川淳一郎 杉浦徹郎	井上梓 宮城えりか	古田沙知 丹羽理陽 高橋浩二 中野仁美	*上田義之 *佐竹正樹 *野原賢正 *吉本星二	*片山美紗緒 *山中智雄 *大矢丈生	
客員研究員研究生等	☆矢倉英隆 ☆長谷川成人 ☆遠藤玉夫 ☆反町洋之	★塚元葉子 ★矢崎育子 ★知見聡美 ★田口正敏		★布山喜章 ★村松圭吾 ★J.B.Peyre ★津田学 ★梅田祐美 ☆白澤卓二 ☆齊藤実 △藤尾克紀 △List Olivier	★橋本昌征 ★小川俊夫 ★三瓶巖一 石和玲子	★渋沢直恵 加藤英樹			★森元

主事：井出俊和（技術系）　　嘱託：杉山栄徹（技術系）、津田幸彦（技術系）、大川弘（事務系）、伊藤治（事務系）

臨時職員：飛田泰子（事務系）、安木孝子（技術系）、八巻洋子（IAGE 担当）、出羽久子（IAGE 担当）

Elizabeth Zielinska（IAGE 外国人英語教員）、Sonia Higuchi（IAGE 外国人英語教員）

進化多様性・環境応答									身体運動科学
生化	進化遺伝学	植物 光応答機構	細胞 エネルギー	環境 微生物学	動物生態学	植物生態学	動物 系統分類学	植物 系統分類学	
			嶋田敬三	松浦克美		可知直毅	小林幸正	若林三千男	
泉進	青塚正志	門田明雄			鈴木惟司	鈴木準一郎		菅原敬	
朝野維起	田村浩一郎	鐘ケ江健	永島賢治		草野保 林文男		渡辺信敬 清水晃	加藤英寿 藤井紀行	
植村富彦 加地健太郎 藤原千恵	茂木高志 北村徳一 野澤昌文	上中秀敏	永島咲子		加藤夕佳 松尾洋 坂本信介 白井剛 土屋香織	穂坂尚美 畑憲治 古川武文 中村亮二	宇津木望 新津修平	加藤朗子 仙仁径	
村瀬由美	横松克典	中島大輔 山田岳 半澤郁奈子 武藤彩希 山下弘子 坪井秀憲	鍋田誠 戸井裕子 佐々木舞	(微生物生態) 丸山みゆき 長谷祐美子 東岡由里子	原田幸子	中田望 松本考史	橋本幸宜	渡辺謙太 槇えりな 西出真人	
	鎌倉強志 腰塚豊 丸木崇裕		城村遊	久保響子	小林まや 中川光 山根清次郎	佐藤好恵 萩原陽介		鈴木辰雄 青木麻知 宮なろう 近藤よし美 井上淳 中田牧子	須山由美 須田麻里子 宮崎聡子
★山崎博子	瀬川涼子 ★Court G. Fiedler ★高森久樹.		時田誠二 ★種山正登志	☆滝井進 ☆福井学	片田真一	中村敏枝 鈴木亮 加賀屋美津子 鈴木智之 ●富松裕		★加藤僖重 ★水島うらら ★山本明堂囿いくみ 富田昇	

連携大学院教員：矢倉英隆（都神経研／神経分子機能研究室）、白澤卓二（都老人研／細胞遺伝学研究室）、長谷川成人（都精神研／神経分子機能研究室）、齋藤実（都神経研／細胞遺伝学研究室）、遠藤玉夫（都老人研／神経分子機能研究室）、反町洋之（都臨床研／神経分子機能研究室）

※連携大学院生、☆客員教員、★客員研究員、●特別研究員、△特別研究生、*工学部／工学研究科

神経分子機能研究室

1. 構成

久永真市、斎藤太郎、浅田明子、朱　英善（D3)、藤田悠一（D3)、佐藤　裕（D2)、谷口　誠（D2)、堤　弘次（D1)、濱崎 純（D1)、亀井大嗣（M2)、高橋淳也（M2)、山本直行（M2)、本宮綱記（M2)、河合悠成（M1)、細川智永（M1)、四本健介（卒研生)、矢倉英隆（都神経研、客員教員)、長谷川成人（都精神研、客員教員)、遠藤玉男（都老人研、客員教員)、反町洋之（都臨床研、客員教員）

2. 研究紹介

脳は学習、記憶、感覚、行動など高次神経機能の中枢であり、生命活動の支配のみならず、ヒトでは個性そのものと言っても過言ではない。脳機能を主に担うのは神経細胞である。哺乳動物脳は数百億の神経細胞からなり、それらは脳内の特定の場所で特定の標的と連絡し、動物の一生に亘って働き続けている。当研究室では、神経細胞の分化、シナプス活動から死にいたるまでの様々な役割を果たしているプロティンキナーゼ、サイクリン依存性キナーゼ（Cdk5）の機能と活性制御について生化学、分子生物学的手法を用いて研究している。

1) サイクリン依存性キナーゼ５（Cdk5）の活性制御機構

Cdk5 は神経細胞特異的なセリン／スレオニンキナーゼである。Cdk5 は活性化サブユニット p35 または p39 により活性化されるが、詳しい活性制御機構については判っていない。活性化機構と細胞内局在について以下の a〜d の観点から研究を行っている。

a) Cdk5-p35 と Cdk5-p39 の活性化：活性化サブユニット p35 または p39 の違いによる Cdk5 の機能的差異については全く判っていない。最近、p39 が結合した Cdk5 は p35 に結合した Cdk5 に比べて不安定であることが明らかになった。安定性の違いを、各種欠損変異体を用いて調べたところ、p35 と p39 の Cdk5 結合領域に差があることが判った。(河合)

b) Cdk5 細胞内局在と活性化サブユニットのミリストイル化：p35 と p39 は N 末側にミリストイル化シグナルを持つ。ミリストイル化はタンパク質の脂質アンカーの一つで細胞膜への結合に関与する。p35 と p39 は実際にミリストイル化され、細胞膜やゴルジ体に局在する。ミリストイル化されない変異体は核へ移行していた。p39 は、p35 に比べて、野生型では可溶性分画に、ミリストイル化されない変異体では核に集積している傾向がみられた。細胞内局在と Cdk5 の活性制御、機能との関連について検討中である。(浅田)

c) p35 と p39 の細胞内局在機構における N 末領域の役割：(b)に関連して、p35 と p39 の細胞内局在決定因子を、それらの N 末領域と GFP の融合タンパク質を用いて検討した。ミリストイル化タンパクの膜結合には補助因子を一般的には必要とするが、p35 と p39 ではミリストイル化のみで十分であった。非ミリストイル化変異体は核内に集積したが、塩基性アミノ酸（リジン残基）のクラスターは核移行シグナルとしては働かないことが示された。N 末領域にはゴルジ体と細胞膜への分配を決めているアミノ酸配列の存在が示唆された。(山本)

d) Cdk5/p35 の細胞膜との結合と活性制御：Cdk5-35 の細胞膜との相互作用と活性制御との関連についてラット胎児脳を用いて検討した。成体ラット脳 Cdk5-p35 は細胞膜に結合した不活性型であったが、胎児脳の Cdk5-p35 には膜から離れた活性型が存在しており、細胞膜との結合は p35 のリン酸化によって制御されているようであった。加齢に伴う活性変化や細胞膜との相互作用の変化は神経細胞の成熟に関連すると考えられる。(朱)

2) Cdk5 の神経機能

Cdk5 は脳形成期における神経細胞の移動や位置の決定、シナプス活動など様々な神経機能制御に関与している。しかし、それらをどのように制御しているかは判っていない。Cdk5 の作用機構について、以下の５つの基質について研究を行った。

a) Cdk5 による Dab1 のリン酸化：Dab1(Disabled-1)は脳の形成に関わる細胞内シグナル伝達のアダプター蛋白である。Dab1 欠損マウスは Cdk5 や p35 の欠損マウスと同様に、脳内における神経細胞の配置が異常になる。Cdk5 と Dab1 のシグナル伝達経路にはクロストークがあると考え、Cdk5 による Dab1 のリン酸化を検討して、新たなリン酸化部位を見つけ、現在はその役割を検討している。(佐藤)

b) Cdk5 によるセプチン５のリン酸化：シナプス領域における Cdk5 の新たな基質としてセプチン５を同定した。セプチンは酵母の細胞分裂に関わる細胞骨格として見つかったが、神経細胞ではエキソサイトーシスとの関連が示唆されている。セプチン５の Cdk5 によるリン酸化部位を同定し、リン酸化の役割として syntaxin1 との結合を検討しているところである。(谷口)

c) Cdk5 と AATYK1 の相互作用：AATYK1 (Apoptosis-associated tyrosine kinase 1)は p35 に結合する脳に多いキナーゼである。細胞死との関連から名付けられているが、その機能も活性制御も全く判っていない。機能を明らかにするため、細胞内局在とチロシンリン酸化の関連について検討した。AATYK1 はパルミトイル化されて、おもにゴルジ体に局在した。パルミトイル化は AATYK1 の Src ファミリーによるチロシンリン酸化を制御していた。(堤)

d) Cdk5 とシナプス可塑性：NMDA は長期増強（LTP と呼ばれ記憶の基礎となる現象）を引き起こす。一方、NMDA は p35 の分解を介して Cdk5 活性を低下させている。Cdk5 の活性低下が後シナプス領域で起こり、LTP 形成に関与するカルシウム／カルモジュリンキナーゼ II の活性化を引き起こすことを明らかにした。(細川)

3) Cdk5 活性の脱制御と神経細胞死

Cdk5 活性の制御が破たんし、異常な活性化が起こると神経細胞死が誘導される。この神経細胞死はアルツハイマー病などの原因になるとも考えられている。ここでは異常活性化の仕組みとその防御機構について研究を行った。

a) カルパインによる p35 の限定分解に対するリン酸化の抑制効果：p35 は神経細胞死の際に、カルパインにより p25 へと限定分解される。Cdk5/p25 はアルツハイマー病などの神経疾患で見られる神経細胞死に関与すると考えられている。p35 のリン酸化は p25 への限定分解を抑制した。p35 のリン酸化部位を同定し、同定したリン酸化部位について限定分解抑制作用を解析した。Ser7 と Thr138 のリン酸化は両方とも p35 の限定分解を抑制した。特に Thr138 は加齢に伴う p35 の限定分解され易さに関係しているようであった。(亀井)

b) 小胞体ストレス神経細胞死と p35 の p25 への限定分解：小胞体ストレスは小胞体内に異常折り畳みタンパク質が蓄積したことに対する生体防御反応であり、対応しきれない時は細胞死となる。アルツハイマー病等の細胞死の原因とも言われている。培養神経細胞に小胞体ストレスを与えた時の神経細胞死における Cdk5 の関与について解析を進めた。p35 が p25 へ限定分解され、核に集積し、細胞死を促進した。小胞体ストレス神経細胞死にもカルパインによる p35 の限定分解が関わることが判った。(斎藤)

c) リン酸化 FTDP-17 変異タウの脱リン酸化：前頭側頭葉型認知症（FTDP-17）の原因は微小管結合たんぱく質タウの変異である。FTDP-17 患者脳には高度にリン酸化された変異タウが凝集している。今年度は、Cdk5 でリン酸化した変異タウの脱リン酸化について検討した。脱リン酸化の実験系の確立を行い、幾つかの変異型タウの脱リン酸化を調べたところ、変異体の種類により脱リン酸化速度が異なることが示された。(四本)

３）その他

a) セプチンアイソフォームの発現の解析：セプチン（2-b 参照）には胎児型と成体型の２種類のアイソフォームがあるが、アイソフォーム間の違いについては殆ど判っていなかった。RT-PCR とウェスタンブロットにより、mRNA と蛋白の発現を調べた。胎児型、成体型ともに脳で多く発現し、成体型は胎児型におくれて発現することが判った。(高橋)

b) プロテアソームの新規サブユニットの同定：26S プロテアソームは細胞周期進行、ストレス応答など様々な細胞内制御に関わる巨大な蛋白分解酵素複合体である。プロテアソーム制御部位（19S）に結合している新規サブユニットを分離し、解析した。(濱崎、都臨床研　田中)

c) リン脂質代謝酵素 PLD1 の解析：フォスフォリパーゼ D（PLD）は細胞膜構成リン脂質フォスファチジルコリンを分解し、様々な細胞機能を調節するシグナル伝達因子である。 PLD1 の組織発現、細胞成長などの観

点から機能解析を行った。(本宮、筑波大　金保)

3. 研究発表

誌上発表

1. Wei, F-Y., Tomizawa, K., Ohshima, T., Asada, A., Saito, T., Nguyen, C., Bibb, J. A., Ishiguro, K., Kulkarni, A. B., Pant, H. C., Mikoshiba, K., Matsui, H., and Hisanaga. S. Control of Cyclin-dependent kinase 5 (Cdk5) activity by glutamatergic regulation of p35 stability. J. Neurochem. 93, 502-512, 2005.
2. Permana, S., Hisanaga, S., Nagatomo, Y., Iida, J., Hotani, H., and Itoh, T. J. Truncation of the projection domain of MAP4 (Microtubule-associated protein 4) leads to the attenuation of dynamic instability of microtubules. Cell Str. Funct. 29, 147-157, 2005.
3. Taniguchi, S., Suzuki, N., Masuda, M., Hisanaga, S., Iwatsubo, T., Goedert, M., and Hasegawa, M. Inhibition of heparin-induced tau filament formation by phenotiazine, polyphenols and porphyrins. J. Biol. Chem. 280, 7614-7623, 2005.
4. Ohshima, T., Ogura, H., Tomizawa, K., Hayashi, K., Suzuki, H., Saito, T., Kamei, H., Nishi, A., Bibb, J. A., Hisanaga, S., Matsui, H., and Mikoshiba, K. Impairment of Hippocampal Long-Term Depression and Defective Spatial Learning and Memory in p35-/- Mice. J. Neurochem. 94, 917-925, 2005.
5. Zhu, Y-S., Saito, T., Asada, A., Maekawa, S., and Hisanaga, S. Activation of latent cyclin-dependent kinase 5 (Cdk5)—p35 complexes by membrane dissociation. J. Neurochem. 94, 1535-1545, 2005.
6. Sakaue, F., Saito, T., Sato, Y., Asada, A., Ishiguro, K., Hasegawa, M., and Hisanaga, S. Phosphorylation of FTDP-17 mutant tau by Cyclin-dependent kinase 5 complexed with p35, p25, or p39. J. Biol. Chem. 280, 31522-31529, 2005.
7. Sasaki, T., Gotow, T., Shiozaki, M., Sakaue, F., Saito, T., Julien, J-P., Uchiyama, Y., and Hisanaga, S. Aggregate formation and phosphorylation of neurofilament-L Pro22 Charcot-Marie-Tooth disease mutants. Human Mol. Gen. in press.
8. Masuda, M., Dohmae, N., Nonaka, T., Oikawa, T., Hisanaga, S., Goedert, M., & Hasegawa, M. Cysteine misincorporation in bacterially expressed human alpha-synuclein. FEBS letter, in press. (2006)

口頭発表

9. Hamazaki, J., Tanaka, K., Murata, S. (2005) Genetic analysis of rpn10 subunit in mice. CSH meeting "The ubiquitin family"(4 月、Cold Spring Harbor , USA)
10. Hisanaga, S., Hosokawa, T., Konno, T., Asada, A., Saio, T. (2005) Calpain-dependent proteolysis of p35 Cdk5 activator to p25 in ER stress-induced neuronal cell death. .第 58 回日本細胞生物学会大会 (6 月、大宮)
11. Permana, S., Hisanaga, S., Itoh, T. J. (2005) Substitution of projection domain modifies the properties of MAP4 for the regulation of microtubule dynamic instability. 第 58 回日本細胞生物学会大会 (66 月、大宮)
12. Hamazaki, J., Tanaka, K., Murata, S. (2005) Genetic analysis of rpn10 subunit in mice. 第 58 回日本細胞生物学会大会 (6 月、大宮)
13. Akimoto, M., Mishra, K., Hisanaga, S., Mizuno ,K., Elson, A., Yakura, H. (2005) PTPepsilon negatively regulates FceRI-mediated mast cell activation. EuroPhosphatase Conference 2005. "The Biology of Phosphatase" (6 月、ケンブリッジ)
14. Permana, S., Hisanaga, S., Nagatomo, Y., Fujii, M., Hotani, H., Itoh, T. J. (2005) Involvement of the projection domain of MAP4 in the regulation of the microtubule dynamic instability. International Conference of Biophysics (8 月、モンペリエ、フランス)
15. Asada, A., Gohda, M., Hayashi, N., Yamada, M., Saito, T., Hisanaga, S. (2005) Regulation of intracellular localization of Cyclin-dependent kinase 5 (Cdk5) activators p35 and p39 by myristoylation. 第 48 回日本神経化学会大会 (9 月、福岡)
16. Yamada, M., Saito, T., Sato, Y., Sekigawa, A., Hamazumi, Y., Asada, A., Hisanaga, S. (2005)

Cdk5/p39 is a labile complex dissociated by detergent with a comparable kinase activity with Cdk5/p35. 第48回日本神経化学会大会（9月、福岡）

17. 増田雅美、鈴木伸之、渡辺小百合、野中隆、岩坪威、久永眞市、長谷川成人　(2005)α-シヌクレイン繊維化阻害剤の探索と阻害機構。痴呆学会（10月、大阪）
18. 笈川貴行、増田雅美、野中隆、久永眞市、長谷川成人　(2005)微小管重合に与えるα-シヌクレインの影響。痴呆学会（10月、大阪）
19. Kubota, K., Sato, Y., Suzuki, Y., Suzuki, M., Toda, T., Hisanaga, S., Suzuki, a., Endo, T. (2005) Analysis of synaptosome glycoproteins of the rat hippocampus with MALDI-TOF/MS. 生化学会年会（10月、横浜）
20. Hamazaki, J., Murata, S., Iemura, S., Natsume, T.,Tanaka, K. (2005) Identification of a novel subunit of mammalian proteasomes. International Symposium on Life of Proteins. （11月、神戸）
21. Taniguchi,M., Taoka, M., Itakura, M., Asada, A., Saito, T., Takahashi, M., Isobe, T., Hisanaga, S. (2005) Proteomic Identification of Sept5 (CDCrel-1) as a Novel Substrate for Cyclin-dependent kinase. 北米神経科学会、(11月、ワシントン)
22. Sato, Y., Asada, A., Saito, T., Yamada, M., Nakajima, K., Hisanaga, S. (2005) Phosphorylation of Disabled-1 (Dab1) by Cyclin-dependent kinase 5. 北米神経科学会、(11月、ワシントン)
23. 浅田明子、林宣宏、合田正貴、小澤美来、斉藤太郎、久永真市（2005）Cdk５の活性化サブユニットp35及びp39のmyristoylationと膜結合。第28回日本分子生物学会年会（12月、福岡）
24. 亀井大嗣、齋藤太郎、小澤美来、淺田明子、反町洋之、久永眞市（2005）Cdk5活性化サブユニットp35のカルパインによる限定分解のリン酸化依存的調節。第28回日本分子生物学会年会（12月、福岡）
25. 堤弘次、友村美根子、手塚徹、浅田明子、斎藤太郎、山本雅、久永真市（2005）AATYK1のリン酸化とその細胞内局在。第28回日本分子生物学会年会（12月、福岡）
26. 濱崎純、村田茂穂、家村俊一郎、夏目徹、田中啓二（2005）哺乳類プロテアソームにおける新規サブユニットの同定.　第28回日本分子生物学会年会.　(12月、福岡)
27. Sato, Y., Asada, A., Saito, T., Yamada, M., Nakajima, K., Hisanaga, S. (2005) Phosphorylation of Dab1 by Cdk5. 第28回日本分子生物学会年会.　(12月、福岡)
28. 山本直行、淺田明子、林宣宏、久永真市（2005）Cdk5活性化サブユニットp35及びp39の細胞内局在機構についてのEGFP融合蛋白質を用いた研究。第28回日本分子生物学会年会.　(12月、福岡)
29. 細川智永、斎藤太郎、浅田明子、福永浩司、久永真市（2005）NMDAは後シナプス部位におけるCdk5活性をdown regulationする。第28回日本分子生物学会年会　(12月、福岡)
30. 窪田和季、佐藤雄治、鈴木佑典、後藤菜穂子、鈴木實、戸田年総、久永眞市、鈴木明身、遠藤玉夫(2005)老化に伴う海馬シナプトソーム糖タンパク質変化のMALDI-TOF/MSによる解析。平成17年度日本薬学会（３月）
31. Hisanaga, S., Saito, T. (2005) Dysregulation of Cdk5 by calpain in neuronal cell death. 第２８回日本神経科学大会シンポジウム　(7月、横浜)
32. Hisanaga, S., Asada, A., Saito, T. (2006) Regulation of Cdk5 activity in neurons. Chorocher Advanced Symposium. (1月、香港)
33. Hisanaga, S., Asada, A., Saito, T. (2006) Cdk5 is a membrane-associated protein kinase whose mislocalization induces neuronal cell death. 第83回日本生理学会大会シンポジウム　(3月、前橋)

その他の出版物

34. 谷口小百合、鈴木伸之、増田雅美、久永眞市、岩坪　威、Goedert, M., 長谷川成人、タウの線維化阻害とその機構。Dementia Japan, 19, 21-32, 2005.
35. Hisanaga, S., and Sasaki, T. Neurofilament assembly. In “Cell Biology Protocol”, Harris, R., Graham, J., and Rickwood, D. eds. pp337-341. 2006.
36. Ueda, K., and Hisanaga, S. Alpha-synuclein fibril formation induced by tubulin. In “Cell Biology Protocol”, Harris, R., Graham, J., and Rickwood, D. eds, pp342-344, 2006.

神経生物学研究室

1. 構成

黒川 信、矢澤 徹、伊藤 慎（D3)、岡本崇伸（M2)、藤田真理（M2)、萱場うい子（M1)、渡邊弥子（M1)、金田健一（M1・前期)、山川浩幸（卒研生・前期)、矢崎育子（客員研究員)、塚元葉子（客員研究員)、知見聡美（客員研究員)、田口正敏（客員研究員）

2. 研究紹介

本研究室では動物行動の生理機構を解明するために、反射から学習までの様々な行動をテーマに、多種の無脊椎動物を実験材料とした研究を行っている。特に、心臓や鰓、血管などの呼吸循環系や消化器官系、生殖器官系などの自律運動系と、移動、摂食、防御行動などの体性運動系の中枢および末梢神経系、内分泌系による調節機構、および両運動系の液性、神経性連関機構の解析を進めている。比較生理学的視点から現在、軟体動物（アメフラシ、ゾウアメフラシ、トゲアメフラシ、ウミフクロウ、モノアラガイ）や甲殻類（オオグソクムシ、ロブスター、イセエビ）の他、鱗翅目昆虫（カイコ、エビガラスズメ）等を用いている。ニューロンレベルの電気生理学的解析を中心にカルシウムイメージング法や、行動学、薬理学、組織学、免疫細胞化学などの手法を取り入れながら研究を進めている。

2004 年 8 月から、東京都島嶼農林水産総合センター等と連携した「東京都水産海洋研究推進プロジェクト」に参画し、大島、八丈島海域の「磯焼け」に代表される沿岸環境変化の原因究明と修復を目指した調査研究を実施している。

１）軟体動物を用いた研究

a）消化管の神経支配機構：消化管には「第２の脳」が内在すると言われているが、その機能解明はあまり進んでいない。アメフラシ（*Aplysia*)消化管に内在する末梢ニューロン群は比較的大きく、これらは末梢神経回路やその活動と機能および、中枢神経系との関係を単一ニューロンレベルで解析できるモデル系である。砂嚢の自律運動には砂嚢自身の末梢ニューロンによる神経原性運動と筋肉の歩調取り電位に伴う筋原性運動が区別された。アセチルコリン（ACh）の投与で末梢ニューロンのバースト活動頻度と筋肉の歩調取り電位の頻度が共に上昇した。ACh 受容体は末梢ニューロンと筋細胞上に存在し、共に砂嚢の自律運動の促進性作用を担う事が示唆された。咀嚢の膨張でこのバースト活動頻度が上昇した事から、同調的バースト活動のリズムを制御する自己受容反射回路があると推測された。(伊藤)

b) 軟体動物後鰓類ウミフクロウにおける頭部機械感覚の入力機構：ウミフクロウ *Pleurobranchaea japonica* 頭部にある 3 つの主要感覚器官からの感覚情報はもっぱら脳神経節に入力するものと考えられて来た。しかし、これらの感覚器官と脳神経節を接続する各脳神経節神経には、足神経節神経(P2)の分枝がそれぞれ合流していた。機械刺激に対して、P2 を介して足神経節へ脳神経節と異なる機械感覚情報が入力していることが示された。各器官への接触刺激に対する P2 の反応を比べたところ、いずれの器官への刺激に対しても反応する同一の求心性インパルスが P2 で記録された。このことは各器官の機械感覚を収斂し足神経節に入力する共通のニューロンの存在を示唆する。組織学的観察により、P2 神経束上には多数のニューロン細胞体が認められた。P2 の感覚経路はこれらのニューロンに介在されている事が分かった。(藤田)

c）神経束上のニューロンの解析：フレリトゲアメフラシ（*Bursatella leachii*）において、内臓神経節から生殖器官へとのびる生殖神経束上に、ニューロン細胞体が多数存在することを発見した。末梢器官上に存

在する神経節や、効果器上に点在するニューロン細胞体は他の後鰓類でも知られるが、そこに至る前の神経束上での報告はほとんどない。細胞体は単独で存在することもあったが、多くは数個から十数個でクラスターを形成し、上向性、下向性、および両方向性ニューロンが含まれていた。ニューロン細胞体部分を隔絶し、高濃度Mg^{2+}溶液で灌流すると、このニューロン由来と考えられるインパルスが消失した。細胞内記録によりEPSPおよびIPSPが記録され、複数の興奮性および抑制性の化学シナプス入力がもたされている事が明らかになった。(渡邊)

d) 鰓運動修飾のニューロン機構：後鰓類アメフラシ（*Aplysia*）の鰓運動をモデルとした神経制御機構の研究は、従来主に中枢神経節内のニューロン回路のみについて行われて来た。しかし鰓の神経系は中枢神経節の他、末梢神経系、すなわち鰓に内在する鰓神経節や神経集網のニューロン群から構成される。本研究では、これらの末梢神経系のニューロンと中枢神経系との連関を解析し、行動制御における新規同定ニューロンの役割を調べている。新たに腹部神経節で発見したニューロン Anti-L7 は鰓運動ニューロンである L7 のインパルス活動自身に中枢神経節内で影響することなしに、L7 が惹起する鰓運動を抑制した。鰓に対するセロトニン投与の効果は、Anti-L7 による L7 作用の抑制と一致した。Anti-L7 がセロトニン作動性であることが免疫細胞化学的にも示された。(黒川)

e) アマクサアメフラシの２型の系統解析および生理学的比較：アマクサアメフラシ(*Aplysia juliana*)は汎存種で日本沿岸でも普通に見られるアメフラシである。体色変異が大きく色彩による同定は困難だが、尾部が吸盤状になっていること、他のアメフラシは紫汁を分泌するが本種は乳白汁を分泌することの２点から同定されてきた。しかし、この両特徴をもつアメフラシには尾部形態や運動性、刺激への反応性の違いによる２型があることを発見した。そこでミトコンドリア DNA による分子系統樹を作成したところ、遺伝的分化があることが示唆された。さらに交配実験では生殖的隔離が起きていることが示唆された。さらに詳しい生理学的、行動学的差異を解析中である。(萱場)

f) ゾウアメフラシの分布、生理学的特徴：伊豆半島や鹿児島県佐多岬沿岸で発見された体長 60cm 以上にも及ぶアメフラシ科の大型個体について、オーストラリア南西海岸沿岸に分布する *Aplysia gigantea* （ゾウアメフラシ）である事を明らかにした。ゾウアメフラシは、少なくとも 10 年前から房総半島以南の大平洋沿岸、伊豆諸島沿岸に広く分布していることが分かった。三浦半島、伊豆大島沿岸などで冬期に幼体も発見された事から各地で定着し繁殖していると考えられた。大型化した成体で、中枢神経節から末梢器官へ延びる長く太い神経繊維束の途中に多数のニューロン細胞体が存在するという上述のトゲアメフラシでの発見と類似の神経解剖学的特徴が認められた。(黒川)

g) 生殖器官の神経支配機構：オランダ産モノアラガイ(*Lymnaea stagnalis*)は神経行動学研究のモデル動物として、摂食や生殖などの行動時の中枢神経系による諸器官の制御や、各器官間の相関的制御機構が単一ニューロンレベルで多く研究されてきた。一方、各器官内部や周辺にも多くのニューロン細胞体を含む末梢神経系が存在する。本研究では、末梢ニューロン群が諸器官の制御や器官間の相関的制御に関与する可能性を検討した。中枢神経系を除去した標本で電気生理学実験を行い、消化器官から末梢神経系を介して生殖器官に送られる神経活動や、末梢ニューロン群から両器官に連関して送られる神経活動の存在を明らかにした。以上から、末梢神経系が中枢神経系とは独立して自律的に両器官の神経相関に関わる可能性が示唆された。末梢神経系による自律的な器官間の神経相関は脊椎動物を含めほとんど知られていない器官制御の様式である。(岡本)

２）甲殻類等を用いた研究

a) 心臓制御の研究：病気やけがが原因で心拍に不具合や心停止がおきる。心臓やそのコントローラーの生

理状態を定量的に表示できれば役に立つだろう。この可能性を非線形科学者が発表してから 20 余年経過する。しかし人では不可能な実験も必要のようである。ゲノム科学の恩恵で無脊椎動物が立派なモデルになり得る。そこで、正常状態から疾病時に至るまでの人をふくむいろいろな動物から記録した心臓拍動データを比較した。独自の心拍ゆらぎの解析により制御系の状態およびペースメーカーの状態を定量的に扱えるようになり、心臓を有する動物に共通する原理として、停止のリスクなどを議論できるようになった。(矢澤)

b) 心臓動脈弁筋肉の収縮機構：動物は行動の種類に応じてそれぞれの器官へ送られる血液分配量が調節されている。オオグソクムシ(*Bathynomus doederleini*)において、心臓から体の各所に向かう各動脈の出口に弁が存在し、血流量の制御が行なわれている。この心臓動脈弁筋肉は、グルタミン酸やセロトニンにより興奮しその結果弁が閉じる。同筋肉はグルタミン酸により膜電位が脱分極して収縮する一方、セロトニンによって膜電位が変化せずに収縮する「非脱分極性収縮」を行う。現在これらの収縮メカニズムを明らかにするために、筋細胞内のカルシウム動態をカルシウムグリーン細胞内注入によりイメージングし解析進めている。(塚元)

c) 棘皮動物ウニの変態誘導機構の解析：ウニの変態は顕著な幼生組織の退縮を伴うが、神経伝達物質を始め変態を誘導すると言われる種々の物質が幼生組織細胞の何処にどう働くかは全く分かっていない。自然での変態誘導機構を知るために、極めて誘導能の高い緑藻*Ulvella lense*から有効物質の単離・同定を進めると共に、有効物質が引き起こすもっとも早い生理変化を細胞内カルシウム濃度の変化によって明らかにすべく Ca^{2+}感受性色素による蛍光イメージング法により定量を行なっている (矢崎・黒川)。

3）その他

a) 東京都水産海洋研究推進プロジェクト：沿岸の海藻群落が長期的に消失する深刻な現象「磯焼け」が全国的に広がっているが、その原因究明と対策は遅れている。日本全国の海洋面積の 40%近くを保有する東京都では、東京湾から小笠原海域までの各所で発生している磯焼けを始めとする海の異常現象のメカニズム解明と回復に向けた取り組みを進めている。本研究室では、島嶼農林水産総合センター（旧水産試験場）や国立環境研究所などと共同で、近年発生している大島でのコンブ科褐藻アントクメ消失と八丈島でのテングサの激減の原因究明を目指して、海藻食動物相の影響調査と安定同位体比分析による沿岸栄養塩の起源分析などを実施している。

b) 電子部品メーカーと共同で脳・神経系からの電気的活動の多点同時記録用電極の開発試験を行っている。長さの異なる金属電極を狭ピッチ配列したプローブをアメフラシ神経節などの細胞外記録に適用し、空間分解能、S/N 特性等を検討した。(黒川・知見)

3. 研究発表

誌上発表

1. Wilkens, J.L., Shinozaki, T., Yazawa, T. and ter Keurs, H.E. (2005) Sites and modes of action of proctolin and the FLP F2 on lobster cardiac muscle. J. Exp. Biol. Feb 208:737-747.

2. Yazawa, T., Tanaka, K. and Katsuyama, T (2005) Neurodynamical control of the heart of healthy and dying crustacean animals. CCCT2005 The 3rd International Conference on Computing, Communications and Control Technologies. (Ed. Hsing-Wei Chu, Michael J. Savoi and Belkis Sanchez) Vol. 1. pp367-372.

3. Uchimura, K., Ai, H., Kuwasawa, K., Matsushita, T. and Kurokawa, M. (2005) Excitatory neural control of posterograde heartbeat by the frontal ganglion in the last instar larva of a lepidopteran, *Bombyx mori*. J. Comp. Physiol. A. Oct 18: 1-11.

口頭発表

4. 伊藤　慎，黒川　信（2005） アメフラシ腸管神経系の末梢ニューロン群の同調的活動と自己受容制御. 日本比較生理生化学会第 27 回大会（東京）.

5. 岡本崇伸，黒川　信（2005） モノアラガイにおける消化器官と生殖器官活動の末梢神経系による連関. 同上.

6. 伊藤 慎，黒川 信（2005） アメフラシ砂嚢の自律運動に対するアセチルコリンの二重促進性作用.　日本動物学会第 76 回大会（つくば）.

7. 藤田真理，黒川　信（2005） 海産軟体動物ウミフクロウの第二足神経（P2）による感覚経路.　同上

8. 渡邊弥子，黒川　信（2005） フレリトゲアメフラシ（*Bursatella leachii*）の神経束上のニューロン細胞体.　同上.

9. 尾城 隆，泉妻勝美，白井隆明，藤田真理，黒川 信，阿部宏喜（2005） 直接発生型腹足類リムネア幼生の変態制御因子に関する研究. 平成 17 年度日本水産学会 （東京）.

10. 内山佳丈，尾城 隆，木谷洋一郎，長島裕二，岡本崇伸，黒川 信，藤川高志（2005） 淡水産腹足類リムネア卵紐における生体防御システムに関する研究. 平成 17 年度日本水産学会（東京）.

11. 松浦 裕志，矢崎育子，沖野 龍文（2005） 緑藻 *Ulvella lense* から抽出された水溶性ウニ変態誘起物質の作用　日本水産学会東北・北海道合同支部大会（仙台）.

12. Yazawa, T. (2005) Neurodynamical control of the heart of healthy and dying crabs. インドネシア国際生理学会（Balli）

13. Yazawa, T., Tanaka, K. and Katsuyama, T. (2005) Neurodynamical control of the heart of healthy and dying crustacean animals.　The 3rd International Conference on Computing, Communications and Control Technologies CCCT’05 (Austin).

14.Yazawa, T. (2005) DFA analysis of heartbeat intervals of lobsters and crabs. ノンリニアーウェイブフィジィックス NWP2005 (St. Petersburg-Nizhny Novgorod).

15. Yazawa, T. (2005) Neurodynamical Control of Heart of Healthy and dying crustacean animals ASME IDETC2005 International Design Engineering Technical Conferences and Computers and Information in Engineering Conference. 5th International Conference on Multibody Systems, Nonlinear Dynamics, and Control. (MSNDC-17) (California).

16. Yazawa, T. (2005) Nonlinear Neurodynamical Control of the Heart of Crustaceans : Forecasting a Cardiac Arrest(電気通信大学).

17. Yazawa, T., Tanaka, K. and Katsuyama, T. (2005) Neurodynamical control of the heart of freely moving crabs and lobsters.　XXXV International Congress of Physiological Science (San Diego).

18. Yazawa, T., Tanaka, K. and Katsuyama, T. (2005) Scaling exponents for controlling heartbeat of freely moving crustaceans. 北米神経科学会 (WDC).

19.藤田真理，黒川　信（2005） 軟体動物後鰓類ウミフクロウにおける頭部機械感覚の入力機構.　日本動物学会関東支部第 58 回大会（東京） .

20.岡本崇伸，黒川　信（2005） オランダ産モノアラガイにおける消化器官と生殖器官の末梢神経系による自律的神経相関.　同上.

発生プログラム研究室

1. 構成

八杉貞雄，西駕秀俊，福田公子，高鳥直士（リサーチアソシエート），Dwi Lityorini（Ｄ３），室井雅代（Ｄ３），木村　航（Ｄ２），生田哲朗（Ｄ１），伊田健一郎（Ｍ２），大越康祐（Ｍ２），藤木　真（Ｍ２），草木雅裕（Ｍ１），小林正明（Ｍ１），橘ゆう子（Ｍ１），広瀬　弾（卒研），山内路子（卒研），吉田慶太（卒研）

2. 研究紹介

本研究室の研究テーマは，脊索動物の発生における遺伝子の発現と機能を詳細に解析し，発生過程に内包されるプログラムを明らかにすることである．研究は以下に述べる３つの方向からなされている．１）は八杉が，２）は福田が，３）は西駕が主に担当している．2005 年度には，八杉，藤木がシドニーの，八杉がコルシカ島での国際学会に参加した．　また西駕はサンタバーバラでの第３回ホヤ会議に出席，口演した．生田は，IAGE により，オックスフォード大学で２ヶ月間の研究機会を得て渡英した．

1）鳥類胚における器官形成と分化に関する分子細胞学的研究

a) ニワトリ胚前胃で特異的に発現する Wnt5a の機能解析を行い，Wnt5a 産物が前胃上皮の細胞分化制御に関わることが見いだされた（Listyorini）．ニワトリ成体型のペプシノゲンも胚期から発現があることが示され，また内腔上皮特異的に発現する cSP 遺伝子の発現調節領域が推定された（伊田）．前胃上皮細胞の機能的培養の試みが続けられた（橘）．消化器官および膵臓における PPAR 遺伝子の発現パターンが詳細に解析された（草木）．盲腸の領域決定機構（大越）や、胃の発生における Smad の発現（室井）も調べられている．

b) ニワトリ胚始原生殖細胞から多分化能をもつ胚性生殖細胞を樹立する培養を行い，これらの細胞における特異的抗原(SSEA-1, CVH)の挙動が調べられた（八杉）．

２）鳥類初期胚における内胚葉領域化の分子機構の解析

まず，内胚葉特異的に遺伝子を導入する方法を in vitro(福田)，in ovo(木村)の両方で確立した．これをもちいて前腸内胚葉特異的に発現する Sox2 発現調節機構の詳細が明らかにされた（福田，大阪大学近藤教授と共同研究）．また未分化内胚葉，分化した前方内胚葉，後方内胚葉を集め，それぞれから抽出した mRNA を用いて DNA microarray 法で，それぞれの領域特異的に発現する多数の遺伝子を単離した(木村，理研発生研 Guojun Shen 博士と共同研究)．鳥類胚と魚類胚を用いた新しい expression cloning 法で内胚葉分化に必要な新規遺伝子の単離を行った(藤木，名古屋大学菊池博士と共同研究)．

３）脊索動物の基本的な発生プログラムの解析

脊索動物の基本的な発生プログラム（発生の遺伝子基盤）の理解を目指して，ホヤの発生における発生遺伝子の発現，機能，発現制御機構の解析が行われている．

a) 脊椎動物オーガナイザー機能遺伝子の１つである Not 遺伝子について，ホヤの発生における機能解析とホヤ綱での保存性についての検討が行われている（高鳥）．同じく Lhx 遺伝子について，カタユウレイボヤの Lhx3 遺伝子 *Ci-Lhx3* は，マボヤの Lhx3 遺伝子（*Hrlim*）と同様に時期特異的な２種類の転写物を持つこと，従って系統的に遠い両種で転写調節機構が保存されていることが示唆された（小林）．動物の前方領域化に働く遺伝子 *Otx* について，卵割期の発現を司る因子の同定が試みられている（広瀬）．また脊椎動物の左右非対称性に関わる *Pitx2* のホヤ相同遺伝子について，転写調節機構の解析とホヤにおける保存性の検討が行われている（吉田）．

b) カタユウレイボヤ Hox 遺伝子について，その機能の網羅的解析が開始され，Hox 遺伝子の中の１部のメンバーは，形態形成や消化管形成の過程で機能していることが示唆された（生田）．カタユウレイボヤの消化管形成過程での遺伝子発現の記載が試みられた（山内）．

c) 脊索動物に近縁な動物における Hox 遺伝子の染色体マッピングのため，FISH の技術改良が試みられた（生田，オ

ックスフォード大学Peter Holland教授と共同研究)

3. 研究発表

誌上発表

1. Asai, R., Okano, H. and Yasugi, S. (2005) Correlation between Musashi-1 and c-hairy-1 expression and cell proliferation activity in the developing intestine and stomach of both chicken and mouse. Dev. Growth & Differ. 47, 501-510.
2. Hojo, M., Takada, I., Kimura, W., Fukuda, K. and Yasugi, S. (2005) Expression patterns of the chicken peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) during the development of the digestive organs. Gene Expression Patterns 6, 171-179.
3. Hoshino, A., Koide, M., Ono, T. and Yasugi, S. (2005) Sex-specific and left-right asymmetric expression of Bmp7 in the gonad of normal and sex-reversed chicken embryos. Dev. Growth & Differ. 47, 65-74.
4. Ikuta, T. and Saiga, H. (2005) Organization of Hox genes in ascidians: present, past and future. Dev. Dyn. 233, 382-389.
5. Kimura, W., Yasugi, S., Stern, C. and Fukuda, K. (2006) Fate and plasticity of the endoderm in the early chick embryo. Dev. Biol. 289, 283-295.
6. Matsuda, Y., Wakamatsu, Y., Kohyama, J., Okano, H., Fukuda, K. and Yasugi, S. (2005) Notch signaling functions as a binary switch for the determination of glandular and luminal fates of endodermal epithelium during chicken stomach development. Development 132, 2783-2793.
7. Oda-Ishii, I., Bertrand, V., Matsuo, I., Lemaire, P. and Saiga, H. (2005) Making very similar embryos with divergent genomes: conservation of regulatory mechanisms of *Otx* between the ascidians *Halocynthia roretzi* and *Ciona intestinalis*. Development 132, 1663-1674.
8. Shin, M., Watanuki, K. and Yasugi, S. (2005) Expression of Fgf10 and Fgf receptors during development of the embryonic chicken stomach. Gene Expression Patterns 5, 511-516.
9. Yagi, K., Takatori, N., Satou, Y. and Satoh, N. (2005) *Ci-Tbx6b* and *Ci-Tbx6c* are key mediators of the maternal effect gene *Ci-macho1* in muscle cell differentiation in *Ciona intestinalis* embryos. Dev. Biol. 282, 535-549.

口頭発表

10. 淺井理恵子,岡野栄之,八杉貞雄 (2005) ニワトリおよびマウス消化器官の発生における Musashi-1 の発現.日本発生生物学会第３８回大会, 仙台.
11. Fujiki,S., Yasugi, S. and Fukuda, K. (2005) Analysis of pluripotency of chicken hypoblast cells. 15th Intern. Soc. Dev. Biol. Congress, Sydney.
12. 福田公子,木村 航,平松宏明,八杉貞雄 (2005)ニワトリ胚内胚葉領域化機構.日本発生生物学会第３８回大会ワークショップ, 仙台.
13. Hiramatsu, H. and Yasugi, S. (2005) Commitment and fate determination in the intestinal epithelial cells in the chicken embryo. 15th Intern. Soc. Dev. Biol. Congress, Sydney.
14. Hojo, M. and Yasugi, S. (2005) Expression of PPAR genes during the development of the digestive organs of chicken embryo. Intern. Congress Biol. Lipid, 2005, Corsica.
15. 北條 幹,高田伊知郎,R. Yu,八杉貞雄.ニワトリ消化器官の発生における PPAR の発現解析.日本発生生物学会第３８回大会, 仙台.
16. Hoshino, A. and Yasugi, S. (2005) Overexpression of follistatin caused to form bilateral ovary cortex in the chicken embryo. 15th Intern. Soc. Dev. Biol. Congress, Sydney.
17. 生田哲朗, 西駕秀俊 (2005) カタユウレイボヤ Hox 遺伝子の機能解析. 日本動物学会第７６回大会.筑波.

18. Ikuta, T., Satoh, N. and Saiga, H. (2005) Hox genes of the ascidian, *Ciona intestinalis*: insight into the evolution of ascidian development. 2nd Intern. Symp. and Annual Meeting Dyn. Dev. Systems, Kazusa.
19. 勝本恵一, 福田公子, 木村　航, 嶋村健児, 八杉貞雄, 粂　昭苑 (2005) ニワトリ胚初期膵臓形成における細胞移動の解析. 日本発生生物学会第３８回大会, 仙台.
20. Kimura, K., Tsunekawa, N., Noce, T. and Yasugi, S. (2005) Expression of SSEA-1 and CVH (Chiken Vasa Homologue) by chicken PGC in vivo and in vitro. Intern. Symp. on Germ Cells, Epigenetics, Reprogramming and Embryonic Stem Cells, Kyoto.
21. 木村香那, 八杉貞雄 (2005) ニワトリ胚生殖腺の器官培養における SSEA-1 と CVH の消長. 日仏生物学会第 164 回例会, 京都.
22. Kimura, W., Fujiki, M., Yasugi, S. and Fukuda, K. (2005) The analysis of molecular mechanisms of endodermal regionalization. 2nd Intern. Symp. and Annual Meeting Dyn. Dev. Systems, Kazusa.
23. 木村 航, 八杉貞雄, 福田公子 (2005) ニワトリ初期胚内胚葉の領域化成立時期の同定. 日本発生生物学会第３８回大会, 仙台.
24. 小林正明, 中島優香, 西駕秀俊 (2005) ２種のホヤにおける Lhx3 遺伝子の転写調節機構の保存性. 日本動物学会第７６回大会, 筑波.
25. 草木雅裕, 八杉貞雄 (2006) ニワトリ膵臓の発生における PPAR の発現解析. 第５８回日本動物学会関東支部大会, 東京.
26. Listyotini, D. and Yasugi, S. (2005) Expression and role of Wnt5a in the development of the stomach in chicken embryo. 日本動物学会第７６回大会, 筑波.
27. 中崎歩, 小島拓哉, 西駕秀俊, 高橋直樹 (2005) Hox 標的遺伝子の解析. 第２８回日本分子生物学会年会, 福岡.
28. Saiga, H. (2005) Conservation of the transcription regulatory mechanisms of *Otx* between two ascidian species, *Halocynthia roretzi* and *Ciona intestinalis*. 3rd Intern. Tunicate Meeting, Santa Barbara.
29. 西駕秀俊, 生田哲朗 (2005) カタユウレイボヤにおける消化管の発生と Hox 遺伝子. 日本発生生物学会第３８回大会ワークショップ, 仙台.
30. 眞 昌寛, 野地澄晴, 八杉貞雄 (2005) ニワトリ胚前胃形成における FGF10 の役割. 日本発生生物学会第３８回大会, 仙台.
31. Yasugi, S., Matsuda, Y., Shin, M. and Fukuda, K. (2005) Molecular analysis of epithelial-mesenchymal interactions during the course of chicken gut development. 2nd Intern. Symp. and Annual Meeting Dyn. Dev. Systems, Kazusa.

その他の出版物

32. 福田公子, 八杉貞雄 (2005) 消化管の領域化と器官形成. 発生システムのダイナミクス (蛋白質, 核酸, 酵素 増刊号), pp, 670-677
33. Iizuka, K., Sessions, S. K., Yasugi, S., Nakazato, Y. and Takeuchi, Y. (2005) A comparative study of the form and evolutionary implications of the interdigital membrane of larval hynobiid salamanders. In, Herpetologia Petropolitana (Anajeva, N. and Tsinenko, O., eds), pp. 148-154.
34. 小林正明 (2005) 日本比較内分泌学会ニュース学会印象記 東京大学海洋研究所共同利用研究集会「境界動物の生物学」に参加して. JSCE Newsletter 117, 26-27
35. 八杉貞雄 (2006) 心にのこる１冊-種の起原-. 科学, 76, 106-107.
36. 八杉貞雄, 眞 昌寛, 福田公子 (2005) 成長因子と消化器官の形態形成. 田畑泰彦, 岡野光夫編, ティッシュエンジニアリング 2005, 日本医学館, pp. 57-64.

細胞遺伝学研究室

１．構成

相垣敏郎，松尾隆嗣（教員），前田龍郎 (D3)，櫻井香代子 (D3)，武尾里美 (D3,学振特別研究員)，金内太郎，川原善浩 (D2)，船越政史 (D１)，田中三保子，齋藤智美，山本哲，阿部優介，小山智加 (M2)，萩原奈津子，寺島九和，赤堀信，福田隆之，長野慎太郎 (M1)，真田賢，安川淳一朗，杉浦 徹郎 (卒研生)，藤尾克紀，LIST、Olivier (研究生)，村松圭吾，Peyre，J.-B.，梅田祐美，布山喜章，津田学 (客員研究員)

２．研究紹介

1) クロマチン制御遺伝子 *lola* の発現制御機構

lola 遺伝子は 80 種類の mRNA アイソフォームを産生し、20 種類の BTB-Ｚｎフィンガー転写因子をコードしている。また、4 つの選択的プロモーターが存在し、互いに異なる配列の 5’ 非翻訳領域を構成する。*lola* の発現制御機構と選択的スプライシング制御機構の実態を解明するために、それぞれのプロモーター活性を調べた。その結果、発生段階によってその選択性は大きく異なることが分かった。プロモーターと可変領域エキソンの選択性を調べたところ、関連性はないことが示された。最近の研究で、*lola* はガン抑制遺伝子 Rbf の発現制御に関わっていることが示唆された。そこで、Rbf 発現量と各 Lola アイソフォームの関係について、Lola 各アイソフォーム強制発現系統を用いて解析を進めている（寺島，萩原，津田，松尾，相垣）.

2) カルシニューリン調節因子 Sra/MCIP の機能解析

ショウジョウバエ *sra* 遺伝子は、カルシウム依存性脱リン酸化酵素であるカルシニューリン(CN)の調節因子 MCIP をコードする。生体内における MCIP の機能を明らかにするため、*sra* 機能破壊変異体の表現型を解析した。*sra* 変異体では、卵の減数分裂が第一減数分裂後期で停止し、致死となる。CN シグナルとの相互作用を調べることで、CN シグナルと Sra による制御が雌の減数分裂の進行に重要であることを明らかにした。また、行動異常の表現型を調べたところ、*sra* 変異体では、睡眠量の著しい減少と、それに伴う活動量の亢進がみられた。現在、覚醒睡眠制御機構と雌減数分裂における *sra* および CN シグナルの機能解析を進めている（武尾，赤堀，津田，松尾，相垣）.

3）スタスミン遺伝子機能欠失変異体の解析

スタスミンは微小管の安定性制御にかかわるタンパク質である．ショウジョウバエではスタスミンをコードする遺伝子は１個であるが，２つの異なる転写開始点と選択的スプライシングにより複数のアイソフォームが産生される．上流の転写開始点から始まる転写産物 A は主に生殖細胞系列で，下流の転写開始点から始まるもの B は主に神経系において強く発現される．それぞれの機能を明らかにすることを目的として、アイソフォーム特異的機能破壊変異体の免疫組織染色を行なった。その結果、両アイソフォームは共に中枢神経系で発現されるが、異なる領域に局在することがわかった（真田，金内、松尾，相垣）.

4）チオレドキシン遺伝子による老化と寿命の制御

チオレドキシン(TRX)は，活性酸素に対する防御機構において重要な役割を担っていると考えられている．パーキンソン病では、ドーパミン作動性ニューロンの特異的変性がおこるが、酸化ストレスとの関係が示唆されている。そこで、ヒト Pael 受容体遺伝子を過剰発現するショウジョウバエのパーキンソン病モデルを用いて、その表現型におよぼす TRX の効果を検証した。ショウジョウバエ PD モデルで、TRX を強制発現したところ、加齢に伴うドーパミン作動性ニューロンの特異的脱落と運動機能の低下が顕著に抑制されることが判明した。また、酸化ストレス(酸素)をかけた Bod において、DNPH 法、ウエスタンブロット法によるカルボニルタンパク

の定量を試みたが、タンパク酸化の増加は見られなかった。また、酸素ストレス(酸素)と Bod の Survivorship との相関、更に CoQ10 による Survivorship の延長も調べた。酸化ストレスが小さいと多少 Survivorship が上がる、CoQ10 の Survivorship 延長効果は多少見られるが、明確な差異はなかった。
（梅田，津田，藤尾、松尾，相垣）.

5）JNK シグナルを制御する POSH の機能解析

POSH は RING フィンガーと 4 つの SH3 ドメインをもつ JNK シグナルのスキャッフォルドタンパク質である．POSH の機能破壊変異体は、成虫の寿命が短く，自然免疫機能に異常を示す。S2 細胞を用いて、POSH の過剰発現、および RNAi による発現抑制を行なったあと、ペプチドグリカンによって免疫応答を刺激し、JNK の活性化パターンを解析した。過剰発現では、POSH は一時的に高いレベルで活性化されるのに対して、RNAi を行なった細胞では、活性化のレベルが著しく低下していた。また、POSH のユビキチンリガーゼ活性に不可欠な RING フィンガーの欠失変異を導入したものでは、JNK シグナルの活性化は野生型と同様におこるが、その後の不活性化が起こらなくなった。これらの結果は、POSH が JNK の活性化とそれにつづく不活性化の両方にかかわる分子であることを示した（津田，相垣）.

6）JNK シグナルを制御する dDLK の機能解析

dDLK は，哺乳類の神経特異的 MAPKKK のショウジョウバエホモログである．*dDLK* 機能欠失変異体は行動異常の表現型を示すが，これらでは神経シナプスの形成不全が見られた．さらに，遺伝学的手法を用いた解析により，*dDLK* が JNK 経路の活性化を介してシナプスの成長を正に制御していることを明らかにした．
酵母２-ハイブリッドスクリーニングで dDLK と相互作用する蛋白質を探索した。これまでに得られたクローンは生体防御や免疫応答に関わる遺伝子をコードしているものが相対的に多く含まれていた（金内，齋藤，松尾，相垣）.

7）寿命遺伝子・抗酸化遺伝子の解析

Lily：GS 系統を用いた強制発現により長寿命となる新規遺伝子 *Lily* を同定した。*Lily* 遺伝子は、アミノ末端側に ANK リピート、カルボキシル末端側に Zf-MYND ドメインを持つタンパク質をコードしており、類似した遺伝子は線虫からヒトまで広く保存されている。*Lily* を強制発現するハエは酸化ストレス耐性であること、また機能破壊変異体は致死となり、発生に不可欠な機能を担っていることを明らかにした；*grappa*：強制発現により酸化ストレス耐性となる遺伝子として *grappa* を同定した。全長 7kpb 以上の mRNA に対応する cDNA クローニングを試みている。機能欠損変異体は野生型より短寿命であることを明らかにした；*LipB*：強制発現系により酸化ストレス耐性となる遺伝子として、リポ酸合成に関わる遺伝子を同定した。大腸菌の類似遺伝子の機能欠失株を用いた相補性試験により、合成経路のどこで機能しているかを検討した。*Dmev-1*: 線虫の *mev-1* 変異体が活性酸素を過剰に産生し短寿命となる。ショウジョウバエ老化促進モデルの開発を目的として、ショウジョウバエの mev-1 ホモログに同様な変異を導入した構築を作製し、形質転換系統を作製した（田中，List,福田，杉浦、津田、松尾，相垣）。

8）ショウジョウバエゲノムの遺伝子機能の体系的解明

ショウジョウバエゲノムに挿入して，近傍の遺伝子を強制発現できる GS ベクター挿入系統を大規模に作製し，挿入地点を LM-PCR 法により決定した．翅原基で発現される *sd-GAL4* と GS 系統の F1 表現型を網羅的に取得し，画像データベースを作製した．翅のサイズ、細胞面積を高精度に計測する方法の開発をおこなっている（村松，Peyre，津田，川原，松尾，相垣，東大・森下研）.

9）ショウジョウバエの寄主選択行動に関わる遺伝子Obp57d/eの進化

これまでの研究により、セイシェルショウジョウバエの特徴的な食性の進化はOdorant-binding protein Obp57e の発現が失われることにより起こったことが明らかになった。近傍に位置するObp57dとあわせて、近

縁他種での発現様式を明らかにするため、キイロショウジョウバエを用いたレポーター実験により解析したところ、これら2つの遺伝子のプロモーター領域の機能は種を越えて保存されていた。この結果から、Obp57d/eの片方しか持たない種ではセイシェルショウジョウバエ同様に食性の転換が起こっている可能性が示唆された(安川、松尾、相垣、布山).

３．研究発表

誌上発表

1. Horiuchi, T. and Aigaki, T. (2006) Alternative trans-splicing: a novel mode of pre-mRNA processing. Biol. Cell, 98, 135-140
2. Katsuyama, T., Sugawara, T., Tatsumi, M., Oshima, Y., Gehring, W., Aigaki, T. and Kurata, S. (2005) Involvement of winged eye encoding a chromatin-associated bromo-adjacent homology domain protein in disc specification. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 102, 15918-15923
3. Kanuka, H, Hiratou, T, Igaki, T, Kanda, H, Kuranaga, E, Sawamoto, K, Aigaki, T, Okano, H, and Miura, M. (2005) Gain-of-function screen identifies a role of the Sec61alpha translocon in Drosophila postmitotic neurotoxicity. Biochim. Biophys. Acta 1726, 225-237
4. Tsuda, M., Langmann, C., Harden, N. and Aigaki, T. (2005) The RING finger-scaffold protein POSH targets TAK1 to control immunity signaling in Drosophila. EMBO reports 6, 1082-1087
5. Takeo, S., Akiyama, T., Firkus, C., Aigaki, T. and Nakato, H. (2005) Expression of a secreted form of Dally, a Drosophila glypican, induces overgrowth phenotype by affecting action range of Hedgehog. Dev. Biol. 284, 204 –218
6. Laviolette, M.J., Nunes, N., Peyre , J.B., Aigaki, T. and Stewart, B. A. (2005) A Genetic screen for suppressors of Drosophila NSF2 neuromuscular junction overgrowth. Genetics 170, 779-792
7. Orihara-Ono, M., Suzuki, M., Saito, M., Yoda, Y., Aigaki,T. and Hama, C. (2005) The slender lobes gene, identified by retarded mushroom body development, is required for proper nucleolar organization in Drosophila. Dev. Biol. 281, 121-133
8. Kotani, N., Kitazume, S., Kamimura, K., Takeo, S., Aigaki,T., Nakato, H. and Hashimoto, Y. (2005). Drosophila orthologues of human b-secretase induce the secretion of a Golgi-resident transferase, heparan sulfate 6-O-sulfotransferase. J. Biochem. 137, 315-22
9. 相垣敏郎 (2006) ショウジョウバエを用いた抗老化遺伝子の探索　医学のあゆみ (印刷中)
10. 相垣敏郎、上田龍 (2005) ショウジョウバエゲノムの体系的機能解析 ―発生・分化の遺伝子システム解明に向けて　タンパク質・核酸・酵素 50, 2146-2152
11. 梅田祐美、津田学、大倉千明、J.B. Peyre、難波吉雄、大内尉義、相垣敏郎（2005） ショウジョウバエ PD モデルの神経毒性を緩和するチオレドキシンの効果　分子精神医学　5, 109-110

口頭発表

国内学会発表

1. Takeo, S., Akahori, S., Tsuda, M., Ejima, A., Mastuo, T., Aigaki, T. (2005) Sra/DSCR1, a calcineurin-inhibitory protein is essential for proper meiotic progression in Drosophila females. 第７回 ショウジョウバエ研究会. 7月. 淡路
2. Peyre, J-B., Aigaki, T. (2005) Applications of the Gene Search Project: Using large scale phenotypic screens to get insights on gene relations. 第７回ショウジョウバエ研究会. 7月. 淡路
3. Sakurai, K., Kojima, T., Aigaki, T., Hayashi, S. (2005) Cell affinity boundary formation by the homophilic cell adhesion molecule, Capricious. 第７回ショウジョウバエ研究会. 7月. 淡路
4. Tsuda, M., Aigaki, T. (2005) POSH, a RING finger-containing scaffold protein regulates Imd-mediated

immunity signaling in Drosophila. 第７回ショウジョウバエ研究会. 7月. 淡路

5. Hagiwara, N., Horiuchi, T., Terashima, K., Aigaki, T. (2005) Analysis of isoform-specific functions of Drosophila lola gene. 第７回ショウジョウバエ研究会. 7月. 淡路

6. Terashima, K., Horiuchi, T., Hagiwara, N., Aigaki,T. (2005) Expression of lola isoforms in Drosophila: complex patterns and a putative regulatory sequence conserved in Anopheles gambiae. 第７回ショウジョウバエ研究会. 7月. 淡路

7. Kaneuchi, T., Togawa, T., Matsuo, T., Aigaki, T. (2005) dDLK, a MAPKKK plays a crucial role in the nervous system function in Drosophila. 第７回ショウジョウバエ研究会. 7月. 淡路

8. Akahori, S., Takeo, S., Matso, T., Aigaki, T. (2005) Calcineurin signaling regulated by Sra/DSCR1 in Drosophila. 第７回ショウジョウバエ研究会. 7月. 淡路

9. Tanaka, M., Togawa, T., List, O., Matsuo, T., Aigaki, T. (2005) Misexpression screen for genes related to oxidative stress resistance and longevity in Drosophila melanogaster. 第７回ショウジョウバエ研究会. 7月. 淡路

10. Takashi MATSUO. (2005) Genetic basis of host plant preference and speciation in Drosophila. 第７回ショウジョウバエ研究会. 7 月. 淡路

11. 松尾 隆嗣 ショウジョウバエにおける寄主選択行動の遺伝的基盤. 第７回日本進化学会東北大会. 2005 年 8 月. 仙台

12. 津田 学. 相垣 敏郎 ショウジョウバエ POSH 遺伝子による免疫応答反応の制御. 第 28 回日本分子生物学会. 2005 年 12 月. 福岡

13. 村松 圭吾. Peyre Jean-Baptiste. 川原 善浩. 松尾 隆嗣. 新井 理. 小原 雄治. 林 茂生. 相垣 敏郎 ショウジョウバエゲノムにおける P-element derivative vector の挿入点分布. 第 28 回日本分子生物学会. 2005 年 12 月. 福岡

14. 田中 三保子. 外川 徹. 松尾 隆嗣. 相垣 敏郎 ショウジョウバエを用いた寿命制御遺伝子探索法の検討と新規遺伝子 Lily-1 の解析. 第 28 回日本分子生物学会. 2005 年 12 月. 福岡

15. 松尾　隆嗣　ショウジョウバエにおける寄主選択行動進化の遺伝的基盤. 第 17 回ショウジョウバエ遺伝資源センター公開セミナー. 2005 年 12 月. 京都

16. 松尾　隆嗣　ショウジョウバエにおける寄主選択行動の遺伝的基盤. 動物行動の遺伝学第４回研究会. 2005 年 12 月. 三島

国際学会発表

1. Aigaki, T. (2005) Sra regulates female meiosis, ovulation and reproductive behavior in *Drosophila.* October, IUBS/TAIB, France
2. Aigaki, T. (2006) Ovulation and egg activation in *Drosophila.* January, The 52nd NIBB Conference, Aichi

その他

公開データベース: http://gsdb.biol.metro-u.ac.jp/%7Edclust/ GS ベクター挿入系統のマップ情報、挿入サイトのゲノム配列、近傍の遺伝子、強制発現される遺伝子、特定の GAL4 を使って強制発現を誘導した時に生じる表現型情報が登録されている。GS 系統番号、遺伝子名、あるいは染色体領域名で検索することができる。

特許: 遺伝子探索ベクター隣接ゲノム配列の同定方法、及び酸化ストレス感受性変異体　出願番号：特願 2005-324980　出願日：２００５年１１月９日　発明者：相垣敏郎　出願人：首都大学東京

分子遺伝学研究室

1. 構成

駒野照弥、加藤潤一、古屋伸久、三浦雅史(D2)、岸美紀(M2)、佐藤敬司(M2)、林和之(M2)、塩澤弘基(M2)、鈴木恵美子(M2)、下窄なつみ(M1)、馬鳥裕史(M1)、井上梓(卒研)、宮城えりか(卒研)、小川俊夫(客員研究員)、三瓶嚴一(客員研究員)、橋本昌征(研究支援者)、石和玲子(研究生)、本多弘典(実験補助員)

2. 研究紹介

分子遺伝学研究室では、不和合性群Ｉプラスミドの接合伝達、細菌の生理、および大腸菌のゲノム、必須遺伝子群を中心に研究を進めている。

１）IncI プラスミドの接合伝達

IncI1 プラスミド R64 の接合伝達領域は、49 個の遺伝子から構成されており、表面接合伝達には 24 個の遺伝子が液内接合伝達にはさらに IV 型線毛形成に関与する 12 個の *pil* 遺伝子が必須である。*pilV* 遺伝子にはシャフロンと呼ばれる多重 DNA 逆位領域が存在する。この領域では、4 種の DNA セグメントが 7 個の *sfx* 組換え配列で区分されており、隣に位置する *rci* 遺伝子の産物の作用により、各セグメントは単独でまたは連合して逆位を起こす。シャフロンの DNA 逆位の結果、PilV アドヘシンの C 末部が 7 種に変換し、受容菌表層のリポ多糖を認識して液内接合伝達における受容菌の特異性を決定する。

シャフロンの DNA 組換え頻度は、R64 の接合伝達に関する脱抑制変異 *drd-11* 株で極めて低いことが知られており、その原因は R64 の接合伝達遺伝子群発現の正の調節因子 TraC により負に調節されていると考えられる。人工的に作成された対称 *sfx* 組換え配列によるシャフロン組換えには Rci の C 末部を必要としないという性質を用いた実験から、TraC が Rci の C 末部 311 番付近から 320 番までのアミノ酸からなるペプチドに作用してシャフロンの DNA 組換えを負に調節している可能性が示唆された。(鈴木、古屋、駒野)

R64 の IV 型線毛の形成には PilKMRU の内膜タンパクが必要である。PilR タンパクは、IV 型線毛形成系および II 型タンパク分泌系で広く保存されたタンパクであり、IV 型線毛形成における重要性が指摘されている。PhoA、LacZ トポロジープローブを用いて、PilR タンパクの膜トポロジーの推定を試みている。そのため *pilR* 部分の長さの異なる *pilR-phoA*、*pilR-lacZ* 融合遺伝子の作成した。(塩沢、古屋、駒野)

接合における DNA 伝達は、伝達起点（*oriT*)に特異的ニックが導入されることによって開始される。R64 の *oriT* への特異的ニック導入には、DNA 結合タンパクである NikA の *oriT* 特異的結合が不可欠である。ランダムな DNA の断片の集合をプローブに用いて NikA に特異的結合を示す配列を選択したところ、ACGGTA のコンセンサス配列が得られた。この配列はニック部位から１８塩基上流に存在していた。NikA は４量体を形成し、そのアミノ末端領域は ﾘﾎﾞｿｰﾍﾘｯｸｽｰﾍﾘｯｸｽ（RHH）２量体構造を持つ事から、NikA４量体中に存在する２個の DNA 結合部分の内の１つによってこの配列が認識されていると予想された（古屋、吉田（化学）甲斐荘（化学)、駒野)。

R64 の IV 型線毛は、液体培地中で供与菌・受容菌の細胞塊を作って液内接合伝達を促進する。RP4, R6K, R388 のようなプラスミドは表面接合でのみ高頻度に伝達される。RP4, R6K, R388 の接合実験で供与菌または受容菌に R64 の IV 型線毛を発現させると液内接合伝達の頻度が上昇した。この結果、R64 の IV 型線毛は本来ならば表面接合のみを行うプラスミドの液内接合をも促進することが明らかになった。(岸、駒野)

2） 細菌の生理

赤痢菌 *Shigella sonnei* の病原性プラスミド上の *ospE2* 破壊株による HeLa 細胞への感染では、野生株感染時には観察されない形態変化（rounding）を引き起こし、小さなプラークを産生した。野生株感染細胞では、OspE2 は F-アクチンが終結し、FAK、Talin が蓄積する細胞接着斑に局在した。この結果は、OspE2 が宿主細胞内に分泌され、細胞接着斑に局在し、宿主細胞の形態維持に寄与することで、赤痢菌の隣接細胞への再感染に影響しうることを示す。（三浦、駒野、渡辺（感染研））

グラム陽性球菌のストレプトコッカスが合成する GTF-B、GTF-C 等のグルコシル転移酵素は、細菌の発育が定常状態に入っても合成速度が保持される。この現象が RNA polymerase の subunit による調節を受けているかどうかを、subunit の変異体を分離してを調べている。（小川）

3） 大腸菌最小必須遺伝子群の同定と機能未知必須遺伝子群の機能解析

一つのモデル生物について全体像を全て分子レベルで理解することは、生物についての我々の理解を深めるために、またより高等な生物を理解するための基礎として重要である。我々は分子生物学的にこれまでよく研究されてきた大腸菌を材料として、細胞増殖の基本的な過程全てを分子レベルで理解することを目指し、まずは生育に最低限必要な全遺伝情報を同定し、それらの機能を全て明らかにすることを目標として、ゲノムサイエンス的な視点から研究を進めている。

a) 染色体広域欠失株群の作製

細胞増殖に最低限必須な全遺伝情報を、小さな必須遺伝子や、遺伝子をコードしない必須な染色体領域などをも含めた形で同定するために、染色体の比較的長い領域にわたる欠失変異株をこれまで系統的、網羅的に作製してきた。既知必須遺伝子が存在する染色体領域についても、複製起点のようにシスに必須な染色体領域が存在する可能性を考え、その既知必須遺伝子をクローニングしたミニ F プラスミドを作製し、それにより相補させた状態で染色体欠失株の作製を進めた。特にそれまでの方法では欠失変異を作製できなかった領域については、細胞内で特定の染色体領域をプラスミドに移すシステム（FRT システム）を構築して解析を行なった。その結果、最終的には複製起点 *oriC* と複製終結点にある *dif* 以外の全ての領域について、染色体欠失変異を作製することができた。大腸菌などの細菌では、増殖に必須または重要なシスに働く染色体領域として *oriC* と *dif* がこれまでに知られているが、これら以外にもたとえば真核生物のセントロメアのような染色体必須領域が存在するかどうかという点は、細菌の染色体について残された大変興味深い問題の一つであったが、今回の結果から、染色体上に唯一存在する *cis* に働く必須領域は *oriC* と *dif* だけであることが明らかになった（加藤、橋本、本多）。

b) 機能未知必須遺伝子の解析

(i)生育に必須な tRNA 修飾酵素、MesJ（TilS)、の解析

必須遺伝子 *mesJ* は Ile-tRNA のリシジン修飾酵素をコードする。この *mesJ* 遺伝子の高温感受性変異に対する抑圧変異として、リボソームタンパク質 S1 をコードする *rpsA* 遺伝子のプロモーター領域に挿入配列(IS)が挿入した *rpsA* 変異が同定された。この *rpsA* 変異により細胞内の S1 の量が減少し、MesJ の機能が部分的に回復すること、また精製した S１と MesJ が直接相互作用することが明らかになり、S1 が MesJ の機能に関連することが示唆された。

また *mesJ* 遺伝子の高温感受性変異株のプロテオーム解析（首都大化学専攻、田岡博士との共同研究）と、そこから得られた結果を基にした遺伝子発現についての解析により、*mesJ* 変異により発現量が変化する遺伝

子群を同定することができた。それらの遺伝子発現についてさらに詳しく調べたところ、多くのものは高温で培養した時に発現量が増大し、熱ショックタンパク質をコードする遺伝子であることがわかった。熱ショックタンパク質の発現を抑制する *dnaK* 遺伝子が AUA コドンを含み、実際に *mesJ* 変異により *dnaK* 遺伝子の発現量が低下することも確認されたことから、DnaK の減少による結果と考えられる。(林、加藤)。

(ii)生育に必須な GTPase の解析

機能未知必須遺伝子の中で GTPase をコードするものについて、その機能を明らかにするために高温感受性変異株を単離して表現型を調べたところ、細胞がやや長くなり細胞分裂に欠損があると考えられるものが見つかった。細胞分裂に必須な *ftsZ* 遺伝子の発現量を調べる実験系を構築して調べたところ、この GTPase の遺伝子の変異により *ftsZ* 遺伝子の発現量が減少することがわかった。この現象には *ftsZ* 遺伝子の翻訳開始領域が重要であり、翻訳段階での発現調節である可能性が考えられた。またシグナル分子である ppGpp の代謝に関与する *relA, spoT* 遺伝子の変異によって影響を受けることが分かったので、この発現調節に ppGpp が関与することが示唆された。(佐藤、加藤)。

(iii)細胞分裂に必須な遺伝子群の解析

大腸菌では、細胞分裂に必須な FtsZ タンパク質をコードする *ftsZ* 遺伝子を GFP タンパク質をコードする *gfp* 遺伝子と融合させた、*ftsZ-gfp* 遺伝子を持つ菌株が致死性を示すことを我々はすでに明らかにしている。この性質を利用して遺伝学的に *ftsZ* 遺伝子の機能に関連する遺伝子を探索した。(馬鳥、橋本、加藤)。

(iv)ミニ F プラスミドの安定性に関する変異株の解析

生育が高温感受性で、低温でもミニ F プラスミドを安定に維持できない変異株を用いて、染色体複製、分配などの過程に関与する遺伝子を探索したところ、細胞骨格に関する遺伝子、 細胞分裂に必須な遺伝子が同定された。(下窄、馬鳥、加藤)。

(v)細胞表層の形成に必須な遺伝子群の同定

系統的、網羅的に染色体広域欠失株を作製する過程で同定された、機能未知必須遺伝子群について解析を行なった。高温感受性変異株また産物の過剰生産株を作製して表現型を調べたところ、細胞の形態に異常が見られるものが見つかった。また産物であるタンパク質と同じ構造ドメインを持つ別の遺伝子が大腸菌に存在するものについては、それらの機能的な関連を調べるために、それぞれの遺伝子をクローニングしたプラスミドを、他方の遺伝子の変異株に導入して生育を調べたところ、生育に変化が見られ機能的な関連が示唆されるものがあった。それらの遺伝学的な解析から、細胞表層のリポ多糖（LPS）または細胞壁であるペプチドグリカンの合成に関与すると考えられる必須遺伝子が同定された（井上、宮城、加藤)。

3. 研究発表

誌上発表

1. Hashimoto, M., Ichimura, T., Mizoguchi, H., Tanaka, K., Fujimitsu, K., Keyamura, K., Ote, T., Yamakawa, T., Yamazaki, Y., Mori, H., Katayama, T. and Kato, J. (2005) Cell size and nucleoid organization of engineered *Escherichia coli* cells with a reduced genome. Mol. Microbiol. 55: 137-149.
2. Akahane, K., D. Sakai, N. Furuya, and T. Komano (2005) Analysis of the *pilU* gene encoding prepilin peptidase for type IV pilus biogenesis in plasmid R64. Mol. Gen. Genomics 273:350-359.
3. Miura, M., J. Terajima, H. Izumiya, J. Mitobe, T. Komano, and H. Watanabe (2006) OspE2 of *Shigella sonnei* Is Required for the Maintenance of Cell Architecture of Bacteria-infected Cells. Infec. Immun. 74 (in press).
4. Ikeuchi, Y., Soma, A., Ote, T., Kato, J., Sekine, Y., and Suzuki, T. (2005) Molecular mechanism of lysidine

synthesis that determines tRNA identity and codon recognition. Mol. Cell 19: 235-246.

5. Kato, J. (2005) Regulatory network of the initiation of chromosomal replication in *Escherichia coli*. Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol. (Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology) 40: 331-342.
6. Ote, T., Hashimoto, M., Ikeuchi, Y., Su'etsugu, M., Suzuki, T., Katayama, T., and Kato, J. (2006) Involvement of the *Escherichia coli* folate-binding protein YgfZ in RNA modification and regulation of chromosomal replication initiation . Mol. Microbiol. 59: 265-275.
7. Ikeuchi, Y., Shigi, N., Kato, J., Nishimura, A., and Suzuki, T. (2006) Mechanistic insights into sulfur-relay by multiple sulfur mediators involved in thiouridine biosynthesis at tRNA wobble positions. Mol Cell 21: 97-108.

口頭・ポスター発表

8. 古屋伸久、駒野照弥（2005）プラスミド R64 の接合伝達開始点に結合する NikA タンパクの配列認識. 日本遺伝学会大会第 77 回大会 （東京）.
9. 古屋伸久、吉田均、甲斐荘正恒、駒野照弥（2005）プラスミド R64 の接合伝達開始点 *oriT* に結合する NikA タンパクの配列認識. 第 28 回日本分子生物学会年会 （福岡）.
10. 古屋伸久、駒野照弥（2005）プラスミド R64 の接合伝達開始点における DNA 結合タンパク NikA の認識機構. 遺伝研研究会『原核生物 DNA 複製開始とその調節の仕組みの普遍性と多様性を巡って』（三島）
11. 駒野照弥、赤羽健治、酒井大輔、古屋伸久(2005) プラスミド R64 の IV 型線毛の形成に必須なプレピリンペプチダーゼをコードする *pilU* の遺伝学的解析. 日本遺伝学会大会第 77 回大会 （東京）.
12. 加藤潤一、橋本昌征 （2006）大腸菌染色体広域欠失株の系統的な作製. 第 8 回ワークショップ 微生物ゲノム研究のフロンティア（千葉）
13. 池内与志穂、鴫直樹、加藤潤一、西村昭子、鈴木勉（2006） RNA 修飾に関わる硫黄リレータンパク質群の同定. 第 8 回ワークショップ 微生物ゲノム研究のフロンティア（千葉）
14. 加藤潤一、橋本昌征（2005）大腸菌の系統的網羅的な染色体欠失変異株作製. 第 28 回日本分子生物学会年会（福岡）.
15. 林和之、大手友武、田岡万悟、池内与志穂、橋本昌征、鈴木勉、礒邉俊明、加藤潤一（2005）大腸菌ライシジン合成酵素 TilS (MesJ)の遺伝子発現調節への関与. 第 28 回日本分子生物学会年会（福岡）.
16. Miura, M., J. Terajima, H. Izumiya, J. Mitobe, T. Komano, and H. Watanabe (2005) OspE2 of *Shigella sonnei* is required for the maintenance of cell architecture of bacteria-infected cells. 14th Joint Conference on Cholera and Other Bacterial Enteric Infections (Boston)
17. 三浦雅史、寺嶋淳、泉谷秀昌、三戸部治郎、駒野照弥、渡邊治雄 (2005) 赤痢菌(*Shigella* spp.) *ospE2* 遺伝子の機能解析 第 78 回日本細菌学会総会（東京）
18. 鈴木恵美子、行田敦子、古屋伸久、駒野照弥（2005）プラスミド R64 のシャフロン特異的組み換えの調節. 第 28 回日本分子生物学会年会 （福岡）.

植物ホルモン機構研究室

１．構成

小柴共一、岡本龍史、古川聡子、遠藤亮（D4）、岡本昌憲（D3）、池上啓一（D2）、王 舒ネ（M2）、島谷健太郎（M2）、鈴木絵美（M2）、内海貴夫（M1）、西村岳志（M1）、高橋浩二（卒研）、中野仁美（卒研）、丹羽理陽（卒研）、古田沙知（卒研）、加藤英樹（研究生（ー５月））、澁澤直恵（客員研究員）

２．研究紹介

本研究室では、主に植物ホルモンとして知られるオーキシン(IAA)とアブシシン酸(ABA)の生合成の調節機構、および、これらのホルモンがどのように植物の環境応答や形作りに関与するのかという問題を解明するために研究を進めている。また、高等植物の初期胚発生および胚乳形成機構の解析にも着手している。材料はシロイヌナズナ、トウモロコシ、イネ等を用い、生化学・分子生物学的手法、顕微鏡、電子顕微鏡を用いた細胞生物学的手法に加えて、突然変異体、遺伝子組換え体を用いた分子遺伝学的手法など多角的な方法を取り入れている。なお、国内では理研（横浜）、東大、農工大、京大、名大、北大、明治大、筑波大など、国外ではフランス、オランダ、ドイツ、スペイン、イスラエル、アメリカなどの研究グループと共同研究を進めている。また、都農林総合センター、北興化学工業、明治製菓、プロトセラ、および独法・農業生物資源研など民間や法人等との共同研究契約締結に基づく応用・開発を視野に入れた研究も進められている。

１）ABA の生合成と生理作用機構の解析

ABA は、植物の種子休眠や発芽の調節、気孔の閉鎖、ストレス耐性、老化などに重要な役割を果たしている。ABA の生合成に関与する遺伝子・酵素に関する研究は、ここ数年で大きく前進し、シロイヌナズナにおいてはほぼ全容が明らかになった。本研究室では、ABA 生合成後期段階の反応に着目し ABA 生合成酵素の発現制御機構に関する研究を進めている。

a) ABA 合成酵素の発現部位の解析：AAO3、ABA2 および AtNCED3 に対する特異的抗体を用いることで、植物体におけるこれら３つのタンパク質の局在を組織化学的により調べたところ、乾燥処理した植物において、これらの酵素が主に葉の維管束組織で発現していることが明らかとなった（遠藤）。

b) ABA の輸送の解析：これまでに、シロイヌナズナ植物体は乾燥処理により内生 ABA が葉において急速に増加すること、そしてその一部が速やかに根に移動することを明らかにしてきた。そこで、同ストレス条件下における、ABA 及び乾燥応答性遺伝子（RD29A、RD29B）の発現を調べたところ、ABA 応答性遺伝子の発現誘導と内生 ABA 量の間に相関関係が認められた（池上）。

c) ABA の不活性化に関わる 4 つの ABA8'位水酸化酵素(CYP707A)の生理的役割：種子の ABA 量の調節においては、CYP707A2 のみが重要であると考えられていたが、*cyp707a1* の乾燥種子は *cyp707a2* よりも多くの ABA を蓄積しており、深い種子休眠性を示した。遺伝子発現解析および変異体を用いた実験から、CYP707A1 は種子登熟期中期の ABA の不活性化に主要な役割を果たし、胚で行われる ABA の不活性化は乾燥種子の ABA 量と休眠性に影響を及ぼすことが明らかとなった。一方、CYP707A2 は種子熟期後期に endosperm と胚で ABA の不活性化に関わっていることが明らかとなった。（岡本昌、南原（理研））。

２）IAA の生合成と作用機構に関する解析

IAA は天然オーキシンとして多くの生理作用が知られているが、その作用機構の詳細はまだ明らかになっていない。IAA がどこで合成され内生量がどのように調節されているのか、その IAA がどのように作用するのかを明らかにすることは、植物の成り立ちの解明にもつながる大切な課題である。こうしたことから、IAA 生合成に関する研究に焦点をあてて研究を進めている。

a) トウモロコシ幼葉鞘の IAA 生合成部位の解明：トウモロコシ幼葉鞘先端が光や重力といった外的環境刺激を受容しそれに応答することは古くから知られているが、これらの刺激による IAA の量や移動方向の調節に関する報告は少ない。トウモロコシの黄化芽生えに重力刺激を与えると、まだ屈曲が起きる前のわずか 20 分以内に先端から 8mm 部分までで上下の組織の IAA 量に差が表れた。また、IAA は合成部位を含む先端 0〜3mm 部分で主に重力方向に移動していることが明らかとなった（鈴木、古川）。さらに、赤色光照射の影響について調べたところ、赤色光は IAA の移動速度や結合型へ

の変換には作用せず先端部での IAA 合成速度を低下することを明らかにした。(西村、門田)。

b) In vivo、in vitroでのIAA合成活性：$^{13}C_{11}{}^{14}N_2$-トリプトファンをトウモロコシ幼葉鞘先端部へ与えると、IAAへの標識の取り込みが確認された。この際、内生IAAの絶対量が変化しないこと、赤色光処理での量的減少の対象と同様に観察されることから、この標識の取り込みは生体内での経路によるものであると考えられた。また、想定される中間体によるIAAへの標識取り込みの阻害を試みたが、阻害はみられなかった。一方、トウモロコシ幼葉鞘先端部は切片を寒天に乗せておけば数時間の間IAAを合成し続ける。しかし、組織を破砕するとこの合成活性は損なわれる。破砕しても活性を損なわない条件を検討している（中野、西村、小柴)。

c) 幼葉鞘先端 0-2、2-4、4-6 mm の３つの部位における mRNA の発現パターンを網羅的に解析・比較し 先端部特異的に発現すると推定していた遺伝子について PCR を行い、発現が 0-2 mm で強く、2-4 mm で弱く、4-6 mm で見られないことをひとつの遺伝子で確定した。先端 0-2 mm でのみ発現している遺伝子はなかった。その他、0-2、2-4 mm で強く発現し、4-6 mm で弱く発現もしくは発現がみられない遺伝子をそれぞれ１つずつ確認した。また、DR5::GUS を導入したイネの幼葉鞘での GUS の発現を調べたが、強い発色は観察されなかった。このため、DR5::GUS(GFP)導入トウモロコシの作成も進めている（丹羽、岡本龍)。

d) IAA 抗体による IAA 分布の可視化：今年度の大学院イニシアチブ海外研究による補助により、抗 IAA 抗体によるトウモロコシ幼葉鞘先端部における IAA 分布の可視化についてスペイン国立理科学研究所(CSIC、マドリッド)で共同研究を進めた（2006.2.7-3.13）(西村)。

３）初期胚発生機構の解析

ほとんど全ての被子植物の受精卵は小さな頂端細胞と大きな基部細胞からなる２細胞胚へと不等分裂し、頂端および基部細胞は胚および胚柄へとそれぞれ発達する。この第一分裂後の２種の細胞における遺伝子発現の違いを調べることは胚発生機構のみならず植物細胞の極性形成や植物の軸形成機構の研究において重要である。近年、胚嚢の奥底で進行する胚発生を in vitro で再現できるようになってきた。この in vitro 受精系を用いて、高等植物の胚発生機構の解析を進めている。

a) 胚発生第一分裂における極性決定の分子機構：トウモロコシ卵細胞、in vitro 受精系で作製した受精卵、２細胞胚、頂端細胞および基部細胞を材料として分子生物学的解析を行い、受精後に頂端細胞または基部細胞においてのみ発現する遺伝子もしくは発現が抑制される遺伝子が同定されている。さらに、それらの遺伝子は第一分裂以前に受精卵中において既に発現していることから、それらの遺伝子産物（mRNA）が受精卵中の将来頂端もしくは基部細胞へと局在していることが示唆されている（岡本龍)。受精後に頂端細胞にのみ発現している遺伝子の一つとして polyprymidine tract-RNA binding protein (PTB)遺伝子が同定されている。PTB は hnRNP ファミリーに属する RNA 結合タンパク質であり、動物においては RNA の細胞内輸送やスプライシング制御に関与していると推定されている。その遺伝子の機能を調べる目的で、シロイヌナズナおよびイネ PTB の発現部位解析を行い、精細胞で強く発現し、また、胚中においても発現が確認された（王、岡本龍)。

b) イネ配偶子および中心細胞の単離法の確立：上記の in vitro 受精系をイネで確立するため、イネからの卵細胞、精細胞、中心細胞の単離法及びそれら配偶子の融合方法を確立し、培養条件についての検討を行っている（内海)。このイネ in vitro 受精系を用いた受精前後で促進、抑制される遺伝子のプロファイリングを DNA マイクロアレイを用いておこなったところ、３６の遺伝子について受精後に発現量の変化が見られその発現パターンを解析した（内海、高橋、岡本龍)。また、イネ卵細胞における主要タンパク質の同定、イネ初期胚発生および初期胚乳形成機構に関与する遺伝子の検索・同定に向けた研究も進めている（内海、岡本龍)

４）イネの環境ストレス耐性に関わるタンパク質(RSOsPR10)の発現調節と生理的機能の検討

塩ストレス、乾燥ストレスやいもち病菌の感染、プロベナゾール処理等により根特異的に発現が誘導される *RSOsPR10*（*RSI1* 遺伝子として特許）のタンパクレベルでの詳細な発現解析をおこなった。抗 RSOsPR10 抗体を用いたウェスタンブロットにより、RSOsPR10 タンパク質の発現が乾燥、高塩、プロベナゾールによって誘導されることが確認されたが、その中間で誘導に働く情報物質としてジャスモン酸が、また抑制的な作用の有力な候補としてサリチル酸が明らかになってきた（島谷、古川）。また、*RSOsPR10* の形質転換体（過剰発現及び発現抑制体）の検定を行った（古田、古川、小松（生物資源研)）。さらに、*RSOsPR10* プロモーター::GFP を導入したイネを作成した（加藤、森野（中央農研)、古川)。

これと平行して、*RSOsPR10*の形質転換体（過剰発現及び発現抑制体）と野生型との特性の比較を行った。その結果、過剰発現体の方が野性型よりも草丈が高く、クロロフィルが多かった。また、過剰発現体と野性型の種子を様々な濃度のNaCl溶液に浸させ発芽させたところ、野性型に比べ過剰発現体では塩による発芽阻害の程度はかなり低かった。一方発現抑制体では野生型よりも強い阻害がみられた。また過剰発現体は野生型よりも乾燥耐性を持っていた（古田、小松（生物資源研）、古川）。

５）都市緑化施策に向けた先端的基礎研究から応用・開発研究へ

主にシバを研究材料として、環境耐性植物の開発に向けた共同研究をすすめている。本年度は特に、ABA合成に関わる遺伝子と、*RSOsPR10*遺伝子を導入した植物の作成を行っている（寺川（北興）、澁澤（都農試）、島谷、古川、岡本龍、小柴）。

６）新病害の探索同定及び病原糸状菌の再分類

植物の新病害は現在でも年間数十を越える報告がある。病原菌の同定を行うことは防除の面からも不可欠である。今年度はナンテン及びニガウリの新病害を報告した。また菌の再分類に関しては*Phoma*属菌の再分類を行っている(古川)。

３．研究発表

誌上発表

Okamoto, M., Kuwahara, A., Seo, M., Kushiro, T., Asami, T., Hirai, N., Kamiya, Y., Koshiba, T. and Nambara, E. (2006) CYP707A1 and CYP707A2, which encode ABA 8'-hydroxylases, are indispensable for a proper control of seed dormancy and germination in Arabidopsis. Plant Physiol. (in press)

Saito, S., Okamoto, M., Shinoda, S., Kushiro, T., Koshiba, T., Kamiya, Y., Hirai, N., Todoroki, Y., Sakata, K., Nambara, E. and Mizutani, M. (2006) Uniconazole is a potent inhibitor of ABA 8'-hydroxylase in *Arabidopsis*. Biosci. Biotech. Biochem. (in press)

Uchiumi, T., Komatsu, S., Koshiba, T., Okamoto, T. (2006) Isolation of gametes and central cells from *Oryza sativa* L. Sexual Plant Reprod. (in press)

Umezawa, T., Okamoto, M., Kushiro, T., Nambara, E., Oono, Y., Seki, M., Kobayashi, M., Koshiba, T., Kamiya, Y., Shinozaki, K. (2006) CYP707A3, a major ABA 8'-hydroxylase involved in dehydration and rehydration response in *Arabidopsis thaliana*. Plant J. (in press)

Kikuchi, A., Sanuki, N., Higashi, K., Koshiba, T., Kamada, H. (2005) Abscisic acid and stress treatment are essential for the acquisition of embryogenic competence by carrot somatic cells. Planta, in press.

Lefebvre, V., North, H., Frey, A., Sotta, B., Seo, M., Okamoto, M., Nambara, E., Marion-Poll, A. (2006) Functional analysis of Arabidopsis *NCED6* and *NCED9* genes indicates that ABA synthesized in the endosperm is involved in the induction of seed dormancy. Plant J., 45: 309-319.

Woodward, C., Bemis, S., Hill, E.J., Sawa, S., Koshiba, T., Torii, K.U. (2005) Interaction of auxin and ERECTA in elaborating Arabidopsis inflorescence architecture revealed by the activation tagging of a new member of the YUCCAfamily putative flavin monooxygenases. Plant Physiol., 139:192-203.

Fedorova, E., Redondo, F. J., Koshiba, T., Pueyo, J.J., de Felipe, M.R., Lucas, M.M. (2005) Aldehyde oxidase (AO) in the root nodules of *Lupinus albus* and *Medicago truncatula*: Identification of AO in meristematic and infection zones. Mol. Plant Microbe Interact., 18:405-413.

Okamoto, T., Scholten, S., Lörz H., Kranz, E. (2005) Identification of genes that are up- or down-regulated in the apical or basal cell of maize two-celled embryos and monitoring their expressions during zygote development by a cell manipulation- and PCR-based approach. Plant Cell Physiol., 46:332-338.

Nakabayashi, K., Okamoto, M., Koshiba, T., Kamiya, Y., Nambara, E. (2005) Genome-wide profiling of stored mRNA in *Arabidopsis thaliana* seed germination: epigenetic and genetic regulation of transcription in seed. Plant J., 41: 697-709.

Ogata, Y., Iizuka, M., Nakayama, D., Ikeda, M., Kamada, H., Koshiba, T. (2005) Possible involvement of abscisic acid in the induction of secondary somatic embryogenesis on seed coat-derived carrot somatic embryos. Planta, 221: 417-423.

Mori, Y., Nishimura, T., Koshiba, T. (2005) Vigorous synthesis of indole-3-acetic acid in the apical very tip leads to a constant basipetal flow of the hormone in maize coleoptiles. Plant Sci., 168: 467-473.

Minami, A., Nagao, M., Ikegami, K., Koshiba, T., Arakawa, K., Fujikawa, S., Takezawa, D. (2005) Cold acclimation in bryophytes: Low temperature-induced freezing tolerance accompanied by increases in expression of stress-related genes but not those in endogenous abscisic acid. Planta, 220: 414-423.

Furukawa, T., Ushiyama, K., Kishi, K. (2005) Botrytis Blight of Taiwanese Toad Lily caused by *Botrytis elliptica* (Berkeley) Cooke. J. Gen. Plant Pathol., 71:95-97.

口頭・ポスター・セミナー発表等（主要なもの）

Koshiba, T. (2006) Plant hormones and environmental stimuli. The Seminar for Centro de Ciencias Medioambientales. (Madrid, Spain)

Okamoto, M., Kushiro, T., Asami, T., Koshiba, T., Kamiya, Y., Nambara, E. (2005) Characterization of genes for ABA 8'-hydroxylase, key enzymes in ABA catabolism in Arabidopsis Thaliana. 8th International Workshop on Seeds (Brisbane, Australia)

Koshiba, T. (2005) Regulation of ABA biosynthesis and its transport in Arabidopsis plant. Xth France-Japan Workshop on Plant Sciences (Toulouse, France)

小柴共一 (2006) オーキシンの特定部位（細胞）での合成制御と移動の調節。シンポジウム 「オーキシン生物学の最先端」日本農芸化学会 2006 年度年会（京都）

岡本昌憲、桑原亜由子、久城哲夫、神谷勇治、小柴共一、南原英司 (2006) シロイヌナズナ種子における ABA 不活性化鍵酵素(CYP707A)の生理的役割。第 47 回日本植物生理学会年会（つくば）

内海貴夫、小松節子、岡本龍史 (2006) イネ in vitro 受精系の確立。第 47 回日本植物生理学会年会（つくば）

島谷健太郎、古川聡子、小松節子、小柴共一 (2006) イネの根特異的 PR タンパク質 RSOsPR10 の発現調節。第 47 回日本植物生理学会年会（つくば）

古川聡子、橋本誠、岡本龍史、寺川輝彦、小松節子、小柴共一 (2006) RSOsPR10 タンパク質はイネの悪環境に対する耐性付与に関与する。第 47 回日本植物生理学会年会（つくば）

小柴共一 (2006) 文化系の大学生にとって“遺伝子”、“遺伝子組換え”とは何なのか？ -高校教育での「生物学（生命科学)」の必修化を！-。シンポジウム「遺伝子組換えと理科教育」第 47 回日本植物生理学会年会（つくば）

岡本龍史 (2006) 受精卵胚発生と体細胞胚発生。シンポジウム「分化全能性研究の新機軸（特定研究報告)」

岡本龍史 (2005) トウモロコシ卵細胞主要タンパク質の同定。シンポジウム「作物種子研究の新展開」日本植物学会第６９回大会（富山）

古川聡子、牛山欽司、岸國平 (2005) *Phomopsis* sp. によるナンテンの葉先枯病（新称)。2005 年度日本植物病理学会関東大会（東京）

小柴共一 (2005) 学会賞受賞講演「オーキシン、アブシジン酸の生合成の分子生物学的研究」。植物化学調節学会 2005 年度年会 （東京）

遠藤亮、小岩井花恵、小柴共一 (2005) 乾燥応答におけるアブシジン酸生合成部位は維管束柔組織である。植物化学調節学会第 40 回大会（東京）

池上啓一、岡本昌憲、小柴共一 (2005) シロイヌナズナにおける乾燥に応答した ABA 輸送と遺伝子発現。植物化学調節学会第 40 回大会（東京）

西村岳志、森由紀子、古川聡子、門田明雄、小柴共一 (2005) トウモロコシ幼葉鞘における赤色光照射による IAA 生合成の抑制。植物化学調節学会第 40 回大会（東京）

鈴木絵美、西村岳志、森由紀子、古川聡子、小柴共一 (2005) トウモロコシ幼葉鞘における重力刺激による IAA の移動。植物化学調節学会第 40 回大会（東京）

その他の出版物

小柴共一・神谷勇治編集/勝見允行監修(2006) 「植物ホルモンの分子細胞生物学」、講談社 (印刷中)

古川聡子(2006) 植物病原菌類図説 第三章 Alternaria, Phoma、第四章 Phoma、第六章 Phoma. (分担執筆)、全国農村教育協会 (印刷中)

Okamoto, T. (2006) Transport of proteases to the vacuole: ER export by-passing golgi? The Plant Endoplasmic Reticulum. D.G. Robinson ed. Springer-Verlag. in press.

Okamoto, T. and E. Kranz (2005) Major proteins in plant and animal eggs. Acta Biologica Cracoviensia. 47:17-22.

特許出願

小柴共一、寺川輝彦、長谷川久和、小松節子、岡本龍史、古川聡子、島谷健太郎「ストレス応答性遺伝子が導入された形質転換植物」(2006) 特願 2006-018661

感覚情報研究室

1. 構成

山田雅弘、山本一徳（D2）、谷津陽朗（M2）、吉村亮佑（M2）、江南靖広（M2）、吉良真一朗（M2）、原昌之（M2）、秦野隆光（M1）、床並奈津子（M1）、本間晃紀（M1）、上田義之（4年）、佐竹正樹（4年）、野原賢正（4年）、吉本星二（4年）

2. 研究紹介

主な研究テーマは（１）脊椎動物網膜神経回路網における神経細胞におけるシナプスの制御機構、（２）臨床関連の基礎研究への電気生理学的手法の応用、および、（２）神経細胞研究など生物応用を目指した新型顕微鏡の開発である。

１．フィードバックシナプスの制御に関する研究

網膜神経回路網において、光の三原色信号R,G,Bから反対色信号への色情報変換や中心周辺拮抗受容野の形成に関しては、第２次神経細胞である水平細胞から伝達物質GABAの放出により、視細胞へ負のフィードバック信号を送ることにより、情報処理が行われていると長年にわたって考えられてきた。しかし、それがGABA受容体の阻害剤によって阻止されないことから、本研究室で、このGABAによる負帰還説が否定された。GABAに基づく負帰還信号に代わるべきものの解明のための研究を行ってきた。水平細胞からの信号分子の候補としてプロトンが、考えられ錐体視細胞終末におけるCaチャネルを抑制することによって、伝達物質の放出が抑制されると考え、水平細胞からプロトンが放出されることを証明する必要がある。そこで網膜から単離した水平細胞に対し脱分極刺激を与えることにより、プロトンが放出されるかどうかをpH計測の実験で証明する試みを行った。細胞外から細胞膜に付着性のpH感受性蛍光色素を用いてレシオイメージング法による実験を行った。その結果、水平細胞を脱分極するために高カリウムあるいはカイニン酸（伝達物質グルタミン酸の類似薬）含有リンゲル溶液を潅流投与することにより、細胞表面のプロトン濃度が増大する現象を捉えることに成功した。その特徴は、１）水平細胞の脱分極の大きさに応じてプロトン放出が増大するという、膜電位依存性があり、２）しかもプロトンポンプの特異的な阻害剤であるBafilomycin A1で阻害されることから、プロトン放出の分子機構は、V-ATPaseによっていることを明らかにした（論文投稿中）（山本、原、本間、吉本、星城大・金子章道氏との共同研究）。

２．網膜神経回路網のpH依存性

網膜神経回路網がpHに感受性があることを上記とは別の実験からも明らかにした。剥離網膜を用いて、水平細胞の受容野に対するpHの効果を明らかにした。すなわち、従来ギャップ結合は、pHを酸性化することによりギャップ結合が閉じることが知られており、その結果として受容野が狭まることが予想されていた。しかし、本研究室での実験では、受容野の大きさは逆に増大した。これは、水平細胞の細胞膜コンダクタンスが、ギャップ結合コンダクタンスに比べてより大きく減少することから説明できることを実験と理論式とから明らかにした（論文投稿中）（吉村、佐竹、上田、野原）。

３．動き検出等のためのシナプス機構の解明

網膜には、動きおよび光の明暗変化に敏感に応答するON-OFF型アマクリン細胞があり、同じ細胞同士がギャップ結合を介して電気的に結合しシンシチウムを形成しており、広い受容野を持っている。そして網膜の最終段に特定の方向に選択的に応答するON-OFF型神経節細胞がある。この動き検出や方向選択性の情報処理がどのようなシナプス機構で行われているかを解明する研究を行った。ON型双極細胞とOFF型双極細胞が、ON-OFF型アマクリン細胞に入力しているが、このシナプスにおいて、上記の１で述べた錐体視細胞と水平細胞間のシナプスと同様のシナプスによる連絡様式となっている。光信号処理を行うこのアマクリン細胞の化学シナプスおよびギャップ結合チャネルよりなる電気シナプスの両シナプスで構成されるモデルを構築し、そのモデルを用いた理論式とpHが大きな制御作用を示す生理実験により各シナプスのコンダクタンスの変化を明きらかにした（江南、米SUNY齋藤建彦氏との共同研究）。

４．視細胞再生の電気生理学的機能の検証に関する研究

加齢網膜黄斑症などのより視細胞の消失が、非常に多くの失明の原因となっているが、その解決のために虹彩から視細胞を再生する試みを京都大学医学部眼科との共同研究で行った。ラットとサルの目の培養虹彩由来細胞に遺伝子（Crx, Nrl, NeuroD, またはその組み合わせ）導入を行った結果、再生した視細胞様の細胞において、ロドプシン等の視細胞特異的な蛋白質が発現したことを免疫組織科学で確認した。そして、さらにこの細胞が光刺激に対して応答するか微小電極を用いて電気生理学的な特性を計測した。その結果、微小であるが光応答が計測できた。この細胞が将来網膜に移植して網膜機能の再生を図る可能性を切り開いた（谷津、京大眼科・高橋政代氏らとの共同研究)。

５．心筋梗塞のモデル動物を用いた再生医療の実験

心臓駆動のための血管が詰まることによる心筋細胞の壊死による心筋梗塞部は心筋拍動のパルスの不正常な伝達により、不整脈を起こし、心臓機能の停止などの重大な機能障害を起こす可能性がある。それを防ぐために、培養した細胞からなる心筋シートを患部（壊死部位）の上に載せて生着させ、正常に心拍のパルス信号が伝播するかどうかをラットを用いて実験的に行った。その結果、信号の正常な伝播を膜電位感受性色素を用いて確認し、正常にパルス伝播がされることに成功した。このことから心筋シートの移植が再生に有効であることを示した。

1)新生児（０－３日齢）の心臓から得た心筋の初代培養細胞を用いて Cell Sheet (CS) を作成し、その CS を心臓に壊死領域を作成した 8 週齢のオスのヌードラットに移植した。その後 1 週間ないし 4 週間後に移植心臓を摘出し、光マッピングにより観察したところ CS とホスト心臓が電気的に結合していることを確認した。また CS を完全房室ブロックと呼ばれる不整脈の心臓に移植したところ、その不整脈が改善することも確認でした。

2)人間の特定部分由来の幹細胞をセルシートと患部への注射という 2 種類の方法で心筋梗塞を作成したヌードラット（オス、8 週齢）の心臓に移植したところ、エコーによる評価で心機能が改善することを確認した。また、その際注射による移植よりもセルシートでの移植の方が心機能がより改善した（吉良、慶応大循環器内科・三好俊一郎氏らとの共同研究)。

６．てんかん原因遺伝子の異常型イオンチャネルの電気生理学的研究

てんかん原因遺伝子にコードされたナトリウムチャネルを電気生理学的に解析し、その機能的性質を明らかにすることを目標に研究した。ナトリウムチャネルの機能的変化によって、発症メカニズムを理解し、将来的には治療法の開発につなげることを目指す。また神経・精神疾患の原因を解明することで脳細胞の機能、情報伝達の生化学的・生理学的メカニズムなどの解明にもつながると考えられる。そのために野生型および変異型ヒトナトリウムチャネル cDNA をヒト培養細胞において発現させ、膜表面上に存在するチャネルを通るイオン電流を精度良く測定する方法であるホールセルパッチクランプ法により電気生理学的なチャネルの性質の機能的変化を検討した（床並、慶応大生理・金田誠氏および理研脳科学センター山川和弘氏らとの共同研究)。

７．神経突起伸張の解明のための新型顕微鏡の研究開発

電気的・薬理学的刺激に対する神経突起伸張・縮退や神経疾患で失われた神経細胞の突起再生の機構の解明を目指し、次の研究開発に着手した。すなわち、生きた細胞を無染色で細胞内構造物である微小管・アクチン線維や顆粒の識別を高空間弁別・高時間分解能をもった顕微鏡を開発することである（秦野)。

3. 研究発表

誌上発表（査読あり）

1. Akagi, T., Akita, J., Haruta, M., Suzuki, T., Honda, Y., Inoue, T., Yoshiura, S., Kageyama, R., Yatsu, T., Yamada, M., Takahashi, M. Iris-derived cells from adult rodents and primates adopt photoreceptor-specific phenotypes. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 46: 3411-3419 (2005)

2. Furuta A, Miyoshi S, Itabashi Y, Shimizu T, Kira S, Hayakawa K, Nishiyama N, Tanimoto K, Hagiwara Y, Satoh T, Fukuda K, Okano T, Ogawa S. "Pulsatile cardiac tissue grafts using a novel 3-dimensional cell sheet manipulation technique functionally integrates with the host heart, in vivo." *Circulation Research* (in press)

国際会議等（査読あり）

１．Akira Furuta, Shunichiro Miyoshi, Yuji Itabashi, Tatsuya Shimizu, Kojiro Tanimoto, Shinichiro Kira, Keiko Hayakawa, Mitsushige Murata, Tomoko Tanaka, Keiichi Fukuda, Teruo Okano, Hideo Mitamura, Satoshi Ogawa (2004) "Demonstration of electrical communication between grafted myocardial cell-sheet and host heart using optical mapping" American Heart Association Scientific sessions 2004 (New Orleans), 1203 (Abst Num)

２. Toshiaki Sato, Shunichiro Miyoshi, Akira Furuta, Yuji Itabashi, Shinichiro Kira, Nobuhiro Nishiyama, Seiji Takatsuki, Kyoko Soejima, Tatsuya Shimizu, Teruo Okano, Satoshi Ogawa (2005) "Transplantation of artificial accessory pathway made by 3-D myocardial cell-sheet graft on the rat with complete atrio-ventricular block, in vivo." American Heart Association Scientific sessions 2005 (Dallas), II-190

３. Toshiaki Sato, Shunichiro Miyoshi, Akira Furuta, Yuji Itabashi, Shinichiro Kira, Nobuhiro Nishiyama, Seiji Takatsuki, Kyoko Soejima, Tatsuya Shimizu, Teruo Okano, Satoshi Ogawa (2006) "Possibility of electrical bridging over atrioventricular groove by the artificial epicardiac accessory pathway in a rat model of atrioventricular block" American Collage of Cardiology meeting 2006 (Atlanta)

４. Toshiaki Sato, Shunichiro Miyoshi, Akira Furuta, Yuji Itabashi, Shinichiro Kira, Nobuhiro Nishiyama, Seiji Takatsuki, Kyoko Soejima, Tatsuya Shimizu, Teruo Okano, Satoshi Ogawa (2006) "Transplantation of artificial accessory pathway made by 3-D myocardial cell-sheet graft on the rat with complete atrio-ventricular block, in vivo" 70th日本循環器学会学術集会 2006

口頭発表（査読なし）

1. Yamamoto, Kazunori; Jouhou, Hiroshi; Hara, Masayuki; Homma, Akinori; Kaneko, Akimichi; Yamada, Masahiro (2005) "Depolarization of a horizontal cell acidifies its immediate surrounding space" 第82回日本生理学会大会

2. Jouhou, Hiroshi; Yamamoto, Kazunori; Homma, Akinori; Hara, Masayuki; Kaneko, Akimichi and Yamada, Masahiro (2006) "Depolarization of isolated horizontal cells acidifies their immediate surrounding by activating V-ATPase." 第83回日本生理学会大会

3. Jouhou, Hiroshi; Yamamoto, Kazunori; Homma, Akinori; Hara, Masayuki; Kaneko, Akimichi and Yamada, Masahiro (2006) "Depolarization of isolated horizontal cells acidifies their immediate surrounding by activating V-ATPase." J. Physiol. Sci., 56, Suppl., S91.

4. 城宝 浩、山本一徳、原 昌之、本間晃紀、金子章道、山田雅弘 (2005) "外網膜でのnegative feedbackは水平細胞から放出されるプロトンに基づく" 視覚科学フォーラム第９回研究会

5. 古田晃, 三好俊一郎, 板橋裕史, 清水達也, 岡野光夫, 西山信大, 池上幸憲, 萩原陽子, 谷本耕司郎, 福本耕太郎, 佐藤俊明, 吉良真一朗, 小川聡(2005) "新しい細胞移植法・細胞シート法を用いた心筋細胞移植　光マッピング法を用いた移植片のホストとの電気的同期と催不整脈の観察" 心電図, 25巻5号, P.409.

6. 三好俊一郎, 西山信大, 肥田直子, 池上幸憲, 萩原陽子, 谷本耕司郎, 福本耕太郎, 板橋裕史, 古田晃, 佐藤俊明, 吉良真一朗, 梅澤明弘, 小川聡 (2005) "ヒト子宮内膜・月経血間葉系幹細胞由来, 再生心筋細胞の電気生理学的特徴" 心電図, 25巻5号, P.408.

7. 荻原郁夫, 床並奈津子, 神谷和作, 真崎恵美, 岡村奈美, 菅原隆, Montal M., 蒔田直昌, 藤原建樹, 井上有史, 金田誠, 山川和弘: "重篤な知能障害を伴う難治てんかん患者に観察された異常ナトリウムチャネルの電気生理学的解析" "Biophysical analyses of voltage-gated Na^+-channel gene mutations identified in intractable epilepsies with severe mental decline", 第27回日本神経科学大会・第47回日本神経化学会大会合同大会(Neuro2004), 大阪, 9月(2004).

8. 荻原郁夫, 金田誠, 真崎恵美, 岡村奈美, 床並奈津子, 藤原建樹, 井上有史, 山川和弘: "乳児期に発症する難治てんかんの電位依存性ナトリウムチャネル遺伝子変異解析" 日本人類遺伝学会第49回大会, 東京, 10月(2004).

幹細胞再生学研究室

１．構成

宮本寛治、山田知明（Ｄ１）、中川和浩（Ｍ２）、山本幸弘（M2)、掛札　確（M1)、片山美紗緒（卒研生)、山中智雄（卒研生)、大矢丈生（卒研生）

２．研究紹介

本研究室はマウスやサルの受精卵から作成した胚性幹細胞（embryonic stem cell）(ES 細胞）とマウスの体細胞核移植由来胚性幹細胞（ntES）及び骨髄などの体性幹細胞（somatic stem cell）を用いて種々の細胞に分化させる誘導法の開発や幹細胞を増殖させる方法を開発している。また霊長類の体細胞核移植によるクローン ES 細胞の樹立を目指して基礎研究をしている。

以下に構成員の研究を具体的に紹介する。

１）マウスクローン ES 細胞および骨髄から分化誘導の実験

マウスクローン ES 細胞から卵細胞への分化誘導：未分化なマウス ntES 細胞を、LIF を除いた培養培地を用いてノンコートディッシュ上で培養し、胚様体を形成させる。その後、性腺刺激ホルモンｈGC,PMSF を添加した培地で培養し、誘導する。誘導後の細胞は、卵子に特異的な ZP2,ZP3 タンパク質などの発現を RT-PCR を用いて検査する。また免疫組織化学的にも検査をし、細胞の評価を行う。さらに、培養を継続することで誘導後の細胞が、分裂をして胚盤胞の状態にまで発達するか、形態学的観察を行う（山田)。

マウスクローンＥＳ細胞から血液細胞への分化誘導：OP9 細胞とマウスクローン ES 細胞およびマウスＥＳ細胞を共培養することで血液細胞へ誘導し、FACS を用いた各細胞の血液系細胞表面マーカーの発現量の測定とメイグリュンワルド染色による形態学的観察によってその違いを検討する。現段階では血液細胞への誘導過程である、中胚葉様コロニーまで各細胞で確認している（掛札)。

マウスクローン ES 細胞から軟骨細胞への分化誘導：LIF を除いた培地を用いてハンギングドロップ法で胚様体を形成し、更に浮遊培養後、BMP-2 および TGFβ1 を添加した培養培地でそれぞれ軟骨細胞へ分化誘導する。コントロールとしてマウス ES 細胞を用いた。現段階では形態観察により、胚様体からコロニー形成まで確認している。今後はアルシアンブルー染色、RT-PCR、蛍光免疫染色により軟骨特有のⅡ型コラーゲンの発現を検査する（片山)。

マウスクローン ES 細胞からインスリン分泌細胞への分化誘導：胚様体を形成、ネスチン陽性細胞を分画し、インスリン分泌細胞へ誘導する。コントロールとしてマウス ES 細胞を用いた。現段階では ES 細胞のコロニー形成、胚様体形成、ネスチン陽性細胞まで確認され、マウスクローン ES 細胞及びマウス ES 細胞間の違いは認められない。今後、RT-PCR によるインスリン分泌細胞の遺伝子発現、グルコース応答性のインスリン分泌量を検査する（山中)。

マウス骨髄由来間葉系幹細胞から心筋細胞への分化誘導：マウス大腿骨から骨髄液を採取、培養し間葉系幹細胞を含む骨髄間質細胞を in vitro で増殖させ、5-azacytidine 処理を施し心筋細胞へ誘導する。誘導時には 5-azacytizine の濃度を変えて処理を施した（大矢)。

２）マウス ES,　サル ES、体細胞増殖法の開発

ヒト胎盤由来細胞を利用したヒト造血幹細胞増殖用フィーダーの開発：ヒト造血幹細胞に対するヒト胎盤細胞の支持能力を検討し、ヒト胎盤細胞フィーダーを利用した増殖培養法の開発を試みた。その結果、ヒト

羊膜細胞が造血幹細胞の単球系への分化増殖を促進することが確認できた。さらに、種々のサイトカインの添加によりヒト羊膜細胞フィーダー上で造血幹細胞を増幅することができた（中川)。

ヒト羊膜細胞を用いた ES 細胞増殖用フィーダーの開発：ES 細胞の未分化増殖にはマウス胎児線維芽細胞フィーダーを用いるのが通例である。しかし、異種動物由来細胞フィーダーの使用は動物由来病原体感染などの危険性がある。そこで我々の研究室では、ヒト胎盤由来細胞をフィーダー細胞として利用し、霊長類 ES 細胞の未分化増殖能があることを示した（山本)。

３）クローン ES 細胞作成のための基礎実験

豚やサルの卵巣から卵を採取して未成熟の卵を成熟卵になるための培養法の確立や卵丘細胞、皮膚細胞などの培養を検討している。また卵の凍結法や融解法なども検討している（宮本)。

３．研究発表

口頭発表

1. 川守田真子、宮本寛治、清野透、伊藤嘉浩（2006） マウスおよびカニクイザルＥＳ細胞の培養のための化学固定フィダー細胞の開発．第５回日本再生医療学会総会（岡山）

発生制御研究室

1. 構成

上村伊佐緒，森 元（客員研究員）

2. 研究紹介

1)**ウニ胚第４分裂期小割球形成機構：**小割球形成時にみられる不等分裂のしくみを解明するため、小割球が形成される植物極側細胞を透過電顕で観察した結果、第４分裂直前に核が植物極から 5um 程度まで接近した時に、植物極側細胞表面に並ぶ微絨毛の根元に核を引っ張ってきたと考えられる中心粒から伸びた微小管が結合している像が複数認められた。微絨毛の中心にはアクチン繊維が入っているが、これまでにアクチン繊維と微小管が直接結合している像が観察された例はほとんど知られていない。免疫電顕法により、線虫の不等分裂に役割を果たしている par タンパクの局在も調べている（上村).

２）**免疫電顕法によるウニ胚におけるsyndecanの局在：**従来，オスミウム固定試料は免疫電顕法には向いていないとされていたが，最近Na metaperiodateによる還元処理法が発表された．これを応用し，急速凍結後にオスミウムに凍結置換したウニ胚におけるsyndecanの局在を免疫電顕法により調べた．その結果，遺伝子配列から期待された細胞膜へのsyndecanの局在が確かめられた（末光*，上村　*埼玉大学).

３）**ヒト白血病細胞のApoptosisにおけるミトコンドリアの変化：** Dolichyl monophosphate によりApoptosisを引き起こさせたヒト白血病細胞（U937 株）を透過電顕により観察した結果，薬剤投与後５分以内にミトコンドリアのクリステが変性し始め，１時間以内にほとんど消失することを明らかにした（八杉*，上村　*国立国際医療センター).

４）**画像解析を主な手法とする個体発生における循環系の機能発現：**脊椎動物胚循環系、特に胚心臓の機能発現に必要な条件を明らかにするためメダカ胚前端への焼灼実験を行って得られた頭部欠損胚、２分割胚（頭部胚、および胴尾胚）など複数のタイプの欠損胚について、心臓の構築および拍動をアナログ顕微鏡ビデオカメラで動画として DVD に記録、観察した。　不完全心臓（心房）の拍動様態は動画を連続静止画像に変換、それにより得られた一連の元画像から複数のパソコンソフトを用い作成した長時間 GIF コンピューターアニメーションの形で発表された（森、上村)。

５）**ヒトデ胚の極体形成過程におけるアクチン繊維の挙動：**極端な不等分裂である極体形成過程におけるアクチン繊維の挙動を，イトマキヒトデ卵母細胞でローダミンファロイジン染色法を用いて経時的に観察した．アクチンは卵表面に一様に存在し，第一減数分裂時にアクチン繊維が分裂装置の周辺に集合し，第一極体形成時に細胞質が突出すると，その根本に収縮環を形成する．第二減数分裂時にも同様の挙動がみられた．微小管の阻害剤であるノコダゾールを処理すると，アクチン繊維の集合はみられなくなる（根本心一*，根本節子**、上村　*お茶大、**一橋大）．

3. 研究発表（口頭発表）

1. 森　元、上村伊佐緒（2005）局所的焼灼で発生したメダカ欠損胚の心臓構築と拍動；顕微鏡ビデオカメラでの観察　日本動物学会第７５回大会（筑波）

生化学研究室

1. 構成

泉　進，朝野維起，加地健太郎（D3），村瀬由美（M1），山崎博子（客員研究員）

2. 研究紹介

本研究室では，昆虫の後胚発生における細胞機能の分化と，それを支える遺伝子発現調節機構について研究を進めている．本年度の研究成果は以下の通りである．

1）カイコ変態時に出現する消化管分解関連プロテアーゼの解析

完全変態昆虫では蛹期に幼虫期の消化管は分解され，新たに成虫の消化管が形成されることにより成虫期での食性に対応している．カイコに於いても，蛹への変態時に消化管の分解が観察される．消化管に限らず，こうした幼虫組織の分解という現象には，選択的なタンパク質分解機構が関与していると考えられる．

昨年度までの研究により，蛹化後の幼虫消化管が分解される時期に対応して活性が出現するプロテアーゼが存在する事が明らかになっている．発生段階を追って消化管を採取し、その抽出物に含まれるプロテアーゼ活性をゼラチンザイモグラフィー法により解析すると，蛹変態直後に分子量約 37k の位置にプロテアーゼ活性が出現する．さらにその活性はステージが進むにつれて強くなることが観察されていた．このプロテアーゼ（以下 37k プロテアーゼ）を精製し，部分アミノ酸配列を決定した結果，セリンプロテアーゼの触媒ドメインに特有な配列が得られた．その配列をもとに，カイコゲノム及びESTデータベースを検索した結果，37kプロテアーゼをコードすると思われるcDNAクローンを特定できた．また，37kプロテアーゼに極めて高い類似性を示すタンパク質をコードする遺伝子が，ショウジョウバエ，ハマダラカ，ミツバチのゲノム配列中に存在していた．これらのプロテアーゼは，同じファミリーに属すると考えられるが，現時点において、どの昆虫種においても研究報告はなく，発現様式や機能等が未解明の新規プロテアーゼであると考えられる．

EST クローンの配列を利用して cDNA をクローニングした後，37k プロテアーゼを昆虫細胞による発現系で合成した．組み替え 37k プロテアーゼを含む培地を用いてゼラチンザイモグラフィーを行った結果，プロテアーゼ活性を検出することは出来なかった．しかし，合成した 37k プロテアーゼに吐糸期の消化管抽出液を加えインキュベーションした後にザイモグラフィーを行うと，蛹期で観察されるプロテアーゼ活性と同じ移動度に活性が出現した．特異抗体を用いたイムノブロット解析の結果，組み替え37kプロテアーゼは蛹期で観察される37kプロテアーゼより僅かに高分子量域にそのシグナルが検出された．一方，吐糸期の消化管抽出液を加えたものは、蛹期で検出される 37k プロテアーゼのシグナルと同じ移動度であった．これらの結果から，この 37k プロテアーゼは前駆体として合成された後，吐糸期の消化管中に存在する活性化酵素によって限定分解を受け活性化されることが示唆された．現在、この活性化のメカニズムについて解析を進めている（加地，朝野，泉）．

2）カイコ脂肪体における体液タンパク質遺伝子発現調節機構の解析.

昆虫の体液タンパク質は脂肪体（脊椎動物の肝臓と脂肪組織の機能を併せ持つ組織）で合成され，その組成は発生段階特異的に変化する．カイコ終齢幼虫の主要体液タンパク質である30Kタンパク質の合成は，幼若ホルモン(JH)により抑制されている．JH は，脱皮ホルモン（エクジソン）とともに，昆虫の脱皮・変態を制御する重要なホルモンであるが，その分子的な作用機序については不明な点が多々ある．30K タンパク質遺伝子上流の JH 応答配列は脂肪体初代培養細胞を用いた遺伝子導入実験，及び脂肪体核抽出液を用いたゲルシフト解析により同定されている．さらにゲルシフト解析からこの JH 応答シス配列に結合するタンパク質は，30K タンパク質遺伝子が転写されていないときに強く結合する，すなわち転写を抑制する方向に働く転写因子であると考えられている．そしてこの転写因子は DNA 結合配

列から，ホメオボックスタンパク質の一つであるPBXのカイコホモログであることが明らかとなった．現在、PBXが遺伝子発現を抑制する仕組みについて解析を進めている．一方、貯蔵タンパク質SP1は終齢幼虫の雄においてJHにより遺伝子の発現が誘導される．この誘導に関与する遺伝子調節タンパク質の解析も併せて進行中である（朝野，泉）．

３）昆虫の表皮硬化機構に関する研究

硬い外皮は昆虫の大きな特徴の一つであり，それは脊椎動物の内骨格に対して外骨格と呼ばれている．外骨格は形態維持や異物の侵入を防ぐなどの役割を果たし，昆虫の生存にとって不可欠なものである．その構成成分は主にキチン線維とそれに結合するタンパク質，脂質などである．昆虫は脱皮による外骨格の更新によって成長するが，その時新しい外皮は脱皮行動の円滑な進行を妨げないために非常に柔軟な状態にある．脱皮後，外皮は徐々に硬化して硬い外骨格となるが，この時，生体内ではポリフェノール類がラッカーゼ型フェノール酸化酵素（以下ラッカーゼ）によって酸化されてキノンになり，その後様々な過程を経ることによってタンパク質間が高度に架橋されるという過程が存在するのではないかと考えられている．今年度は，これまでに得られた実験結果について，より詳細な検討を加えるべく解析を進めた．また，昆虫細胞による発現系が確立され，組み換えラッカーゼの解析が可能になった．

これまで，蛹脱皮直前の表皮細胞にラッカーゼmRNAが大量に存在する事を示す結果が得られていたが，5齢幼虫への脱皮前の眠の時期に於ける表皮細胞内でもラッカーゼmRNAが存在する事が明らかになった．この結果は，5齢脱皮後にラッカーゼの活性が観察されたという過去の観察と一致する．また，蛹外皮からラッカーゼを精製し，得られた試料について生化学的な解析を行ったところ，非変性状態に於ける分子量が，これまで考えられていたものより大幅に小さいことや，高マンノース型糖鎖が付加している可能性を示唆する結果が得られた．

昆虫のラッカーゼは脱皮前の表皮中に不活性な前駆体の形で大量に蓄積され，脱皮後に何らかの分子機構が働いて活性化されると考えられている．しかし，ラッカーゼは蛹外皮中では不溶性である為に，ラッカーゼをインタクトなまま外皮から抽出する事は大変困難である．現時点で，蛹外皮からラッカーゼを溶出する唯一の方法は，外皮をプロテアーゼで処理する事であるが，この方法では可溶化に用いたプロテアーゼによって，外皮中のラッカーゼが２次的にプロセシングを受ける可能性を否定できない．そこで我々は，昆虫細胞による発現系を用いてラッカーゼを合成し、得られた標品の性状を詳細に解析することで，ラッカーゼが前駆体として合成されている可能性及び活性化機構について明らかにすることを考えた．ラッカーゼの発現には，鱗翅目昆虫由来の培養細胞であるSf9細胞とバキュロイウルスの系を用いた．その際，C末端にはヒスタグを付加した．まず，組み替えラッカーゼが可溶性かどうかを調べた．その結果，培地中で可溶画分に存在していたことから，ラッカーゼタンパク質自体の性質として，不溶性ではない事が考えられた．蛹外皮においてラッカーゼが不溶性である理由として，外皮成分との共有結合等による架橋が考えられているが，その詳細については今後の課題である．次に，ヒスタグを利用して精製度を上げた試料をSDS-PAGEで展開した結果，組み替えラッカーゼはcDNAから予測される分子量に相当する移動度を示した．今後は，組み替えラッカーゼの活性の有無や，その他の生化学的性状の詳細について調べる予定である．（朝野，山崎（博），泉）

４）昆虫の免疫

昆虫の免疫反応には異物認識や抗菌タンパク質合成系などが機能しており，ほ乳類を含む多くの後生動物に共通な自然免疫のモデル系として研究されている．また，蚊などによる病原体伝搬の分子機構を解明する目的で，各種病原体に対する宿主昆虫の免疫反応に注目が集まっている．

a）フェノール酸化酵素によるメラニン合成は，昆虫を含む節足動物に特有の生体防御反応である．フェノール酸化酵素は通常は不活性な前駆体（フェノール酸化酵素前駆体：proPO）として体液ならびに表皮中に存在しているが，カビやバクテリアなどの細胞壁成分を引き金とするプロテアーゼカスケード反応により限定加水分解を受けて活性型フェノール酸化酵素になる．クチクラの傷害部位や体腔内に侵入した異物の周囲で観察されるメラニン合成は，昆虫の免疫に重要な働きをしていると考えられているが，現在その作用機序の詳細は明らかではない．その他，proPOの活性化に関わるプロテアーゼカスケードに類似した反応系が，メラニン合成以外にも免疫応答性遺伝子発現誘導のシグナル

伝達や、出血時の血液凝固に関与する可能性が考えられている.

キイロショウジョウバエには，タンパク質レベルで2種類のproPOアイソフォーム（proPO A_1およびA_3）が同定されている．proPO A_1については，cDNAの配列やproPO活性化酵素による限定加水分解について既に報告されている．昨年度はproPO A_3をコードする遺伝子については明らかにしたが，proPO A_3の限定加水分解については明確な実験結果を未だ得ていなかった．そこで今年度は，ショウジョウバエ成虫ホモジネート中におけるproPO A_3の限定加水分解について調べる為に，proPO A_3の特異抗体を用いたウェスタンブロット解析を行った．その結果，proPO A_3はproPO A_1と同様に，分子量の低下による移動度の変化が観察された．これは，proPO A_3がホモジネート中の活性化酵素によってプロセシングを受けたことによると思われる．また，proPO活性化酵素の働きを特異的に抑えると考えられている因子（spn27A）の組み替えタンパク質を添加することにより，proPO A_3のプロセシングが抑制される事なども観察された．また、proPOの活性化には，クリップドメインを有するセリンプロテアーゼによって構成されるカスケード反応が関与していると考えられている．現在、数種類のクリップドメインプロテアーゼを昆虫細胞発現形により発現させ、得られたタンパク質の物理化学的性質等についての解析が進行中である．（村瀬，朝野，泉）

b）表皮は環境中に存在する病原と直接に接触するという点で生体防御の最前線の機能を果たしている．表皮で生ずる生体防御反応は，昆虫を始めとする様々な生物の免疫機構を理解する上で極めて重要な研究対象であると位置づけられている．近年，昆虫の気管表皮内で生じる抗菌ペプチド合成誘導に，異物認識タンパク質が関与している可能性や，同じ節足動物であるカブトガニの外骨格中で生じる免疫反応に関与するタンパク質因子について報告されている．

これまでに，カイコ外骨格内に存在する新規免疫因子を探索する過程に於いて，機能未知の新規ドメインを有する130k のタンパク質を同定した．また，その発現様式について詳細な解析を行い，様々な他の外骨格内タンパク質の発現様式との比較等も行った．今年度は，カイコ外骨格内に存在する新規免疫応答因子探索を進展させるべく，２次元電気泳動法とマス解析の組み合わせによる解析を行った．また，それに先立って試料調製の最適化等を行った．現在，既に数種類のタンパク質がカイコ外骨格内の免疫応答因子の候補として同定されており，今後 RT-PCR や免疫組織化学などを行う予定である．（朝野，泉）

3. 研究発表

学会発表

１） 加地健太郎，泉進「カイコ消化管プロテアーゼの解析」応用動物昆虫学会 第49回大会 2005年3月（東京）

２） 竹渕一史，加地健太郎，朝野維起「ショウジョウバエフェノール酸化酵素前駆体アイソフォームに関する研究」応用動物昆虫学会 第49回大会 2005年3月（東京）

３） 加地健太郎，朝野維起，「家蚕クチクラに存在する，新規ドメインタンパク質に関する研究」蚕糸学会 2005年4月（東京）

４） 新津修平，泉進，藤原晴彦「オオミノガ翅原基の組織培養化の試み」日本節足動物発生学会 第41回大会 2005年6月（犬山）

５） 朝野維起，竹渕一史「ショウジョウバエフェノール酸化酵素前駆体に関する研究」比較免疫学会 第17回大会（東京）

６） 朝野維起，竹渕一史「ショウジョウバエフェノール酸化酵素前駆体カスケード因子に関する研究」日本動物学会 第76回大会 2005年9月（つくば）

７） Asano Tsunaki, Takashi Shinkawa and Toshiaki Isobe “Proteomic analysis of the immune inducible proteins in insect cuticle.” 第18回内藤カンファレンス「自然免疫の医学・生物学［II］」2005年11月（葉山）

進化遺伝学研究室

1. 構成

青塚正志，田村浩一郎，茂木高志(D5)，野沢昌文(D4)，北村徳一 (D4)，横松克典 (M1)，鎌倉強志 (卒研生)，腰塚 豊(卒研生)，丸木崇裕(卒研生)，瀬川涼子 (研究生)，George Curt Fiedler (客員研究員)，高森久樹 (客員研究員)

2. 研究紹介

本研究室では，ショウジョウバエ他の高等動物を研究材料に，国内外の研究機関と密な連携を保ちながら生物の多様性，それを創出してきた機構，歴史を，主にタンパク質変異，ＤＮＡ変異を指標に研究している．

１）ショウジョウバエの分子系統学的，進化遺伝学的研究

a）東アジア地域におけるショウジョウバエ類多様性の研究

H15 年度から 3 年間の予定で科学研究費基盤（A）(代表者：青塚)「東アジア地域におけるショウジョウバエ相の系統分類学的，進化遺伝学的研究」が開始された．これはH12-14 の第１次調査を受けたもので，それまでの南中国地域のショウジョウバエ相の調査から対象地域を拡大して，さらに東アジアにおけるショウジョウバエ多様性を解明するための研究として計画されたものである．最終年度にあたるH17 年度は，インドネシア，ベトナム，中国へ合計４回の調査派遣を実施し，ショウジョウバエ相の分布調査および生態調査を行った．([1]戸田，[2]木村，[3]片倉，[4]屋富祖，[5]高森，[6]渡部，青塚　：[1]北大低温研，[2]北大地球環境科学研究科，[3]北大理学研究科，[4]琉球大学農学部，[5]学芸大学教育学部，[6]北海道教育大札幌校)

b）アナナスショウジョウバエにおける新規反復配列の分子進化

アナナスショウジョウバエ（*Drosophila ananassae*）には，比較的起源の新しい反復配列が存在し，ゲノムの約 1.2%を占める．我々は，この反復配列の増幅過程の解明を目的として研究を行なった．この反復配列はゲノム中に散在し，レトロトランスポゾンの特徴である RNA ポリメラーゼⅢのプロモーター配列を保持していた．しかし，そのほとんどがタンデムに重複しており，DNA トランスポゾンやサテライト DNA にみられる DNA 二次構造も保持していた．これらの結果から，この反復配列は，レトロポジションと DNA リアレンジメントの複数のメカニズムによって増幅してきたことが示唆された．(野澤，青塚，田村)

c）テングショウジョウバエ亜群で見つかった mtDNA 核転移配列

テングショウジョウバエ種亜群に属する *Drosophila sulfurigaster* では，トータル DNA を鋳型にした場合，2 種類の mtDNA COI 遺伝子と相同な塩基配列が増幅される．精製したミトコンドリアからの DNA を鋳型にして増幅した場合は単一の配列が得られることから，この現象が複数のタイプの mtDNA を持つ，いわゆるヘテロプラズミーではないことが確認された．ミトコンドリアには存在しないもう一つの COI 相同配列の由来を探るために，異なる COI 相同配列をもつ *D. sulfurigaster* の 2 亜種（*D. s. sulfurigaster* と *D. s. albostrigata*）を用いて交配実験を行い，遺伝様式を検討した．その結果，COI 相同配列は，ミトコンドリアから常染色体上に転移した核転移配列（numt）であることが示唆された．(丸木，青塚，田村)

d）*D. prolongata* 前肢の性淘汰に関する研究

D. rhopaloa 種亜群はキイロショウジョウバエ種群に含まれ，東アジアを中心に分布している．この種亜群は，雄生殖器の構造では共通の特徴を持っており単系統群であることはほぼ間違いないが，そのほかの外部形態は変化に富んでいる．特に，*D. prolongata*は，雄前肢が大きく発達した特殊な形態を持ち，性淘汰の観点から興味深い．本研究では，*D. prolongata*の求愛行動を観察し，雄が発達した前肢を用いたユニークな行動をとることを確認した．この行動は，前肢の発達が見られない本亜群の他 3 種では観察されなかった．(横

松，[1]高森，青塚：[1]学芸大学教育学部）

e）オウトウショウジョウバエ種亜群の分子系統

オウトウショウジョウバエ（*D. suzukii*）種亜群はキイロショウジョウバエ種群に含まれ，東アジアを中心に分布している．これまで，ベトナム，中国南部および日本で分布調査を行うとともに，既知種 8 種，未記載種 2 種を採集し，形態およびmtDNA遺伝子の解析を行った結果，本種亜群は多系統群である可能性が示唆された．今後，さらに東アジア全体での詳細な分布および生態調査を実施するとともに，mtDNAに加えて核DNA遺伝子の解析を行い，キイロショウジョウバエ種群における本種亜群の系統学的位置を特定し，その結果如何では新種亜群を確立する．この種亜群の数種は，ブドウ，サクランボなどの害虫として知られているが，この種亜群における系統進化学的研究は生物進化のメカニズムを知る基礎研究であると同時に，害虫の食性進化メカニズムを知る貴重な例となることが期待される．（[1]高森，青塚：[1]学芸大学教育学部）

２）ヨモギハムシ核型二型混生域の解析

日本のヨモギハムシ自然集団には，核型二型が存在し，両核型は異所的あるいは側所的に分布している．室内交配実験では，異なる核型間には，交配前，交配後共に，不完全ではあるが生殖的隔離が発達していることが判明している．しかし，自然界における核型間の生殖的隔離については不明である．核型分布調査の結果，函館市郊外で両核型個体が同所的に生息していることが確認された．そこで，同地点で交尾状態にある個体を採集し，核型を決定した．その結果，交尾している雄雌個体の核型の組み合わせはランダムであり，顕著な同核型個体交配の傾向は認められなかった．また，同地点および近隣地域での調査から，核型間雑種と思われる中間染色体数を示す個体も観察されたが，その頻度はきわめて低かった．これらの観察から，自然界においては，核型二型間に交配前隔離が存在していたとしてもその程度は弱く，一方で交配後隔離が強く作用していることが推論された．（北村，[1]藤山，[2]藤山，青塚 [1]信州大学，[2]北海道教育大函館校）

３）ヒトゲノムにおけるミトコンドリアから核への DNA 配列挿入機構の解明とその年代推定

ミトコンドリアから核ゲノムへ転移挿入された塩基配列は numt と呼ばれ，ヒトゲノム内には，およそ 300 から 600 コピー存在する．本研究では，配列が挿入される仕組みと挿入年代の詳細な検討を行った．ホモロジーサーチプログラムによって検出された約 600 の numt は，複数の遺伝子を含むこと，逆転写に必要とされるポリ A 配列を持たないことから，ミトコンドリア DNA の核ゲノムへの直接的な挿入によって生じたものと推論された．挿入後に生じたと考えられる重複配列を除いて，それぞれ独立に挿入された配列の挿入年代を推定したところ，複数のミトコンドリア遺伝子を含む配列の多くが，広鼻サル類と狭鼻サル類が分岐した後の，旧世界サルと類人猿が分岐する前の時期に挿入されたことが明らかになった．（茂木，青塚，田村）

４）サワガニ（*Geothelphusa dehaani*）mtDNA非コード領域の解析

サワガニのmtDNAには，高等動物としては例外的に多い，12箇所の非コード領域が存在する．これらの非コード領域の塩基配列置換速度，配列長変異を検討するために，遺伝的に異なる地域集団を網羅するようにサワガニ38個体を選択し，それぞれの個体について9箇所の非コード領域の塩基配列を決定した．解析済みのmtDNA ND2遺伝子配列データと比較した結果，非コード領域は配列長の変異が著しく，また，解析に用いた9箇所の非コード領域間で進化速度の違いが認められるものの，そのほとんどがND2遺伝子より速い進化速度であるなど，機能的制約が作用していないDNA領域の特徴を示した．ただし，1つの非コード領域は，配列長，塩基配列共に保存性が高く，何らかの機能を保持している可能性が残された．（鎌倉，瀬川，青塚）

５）サワガニ科mtDNAにおけるtRNA遺伝子配置の変異

サワガニのmtDNAは，昆虫類，甲殻類の多くの種が共通に示す遺伝子配置（祖先型配置）とは*trnL*^{uur}の位置が異なっている点で特徴的である．これは遺伝子の重複に起因するものと推論されるが，本研究では，この*trnL*の転移がサワガニ類の進化系統のどこで生じたのかを明らかにするために，サワガニの近縁３属の種について*trnL*^{uur}の位置の確認を行った．その結果，近縁３属のmtDNAでは，*trnL*は祖先型と同じ位置に存在することが示唆された．従って，*trnL*の転移はサワガニ属の分岐後に起こったと考えられる．（瀬川，

鎌倉，青塚）

６）The Evolution of Simultaneous Hermaphroditism in the Hippolytidae

Simultaneous hermaphroditism appears to be ubiquitous among members of the genus *Lysmata*. Past studies on the evolution of this sexual system have focused upon the genus *Lysmata* itself, and apparent socio-ecological patterns in extant species. However, very little attention has been given to the evolution of the genus itself or to the sexual systems of related hippolytids. In this study, I obtained and analyzed molecular sequence data from 19 *Lysmata* species, and specimens from six additional hippolytid genera (*Lysmatella*, *Alope*, *Exhippolysmata*, *Parahippolyte*, *Merguia*, & *Thor*). （G. Curt Fiedler）

７）東京都西部におけるニホンイノシシ集団への家畜ブタ遺伝子流入の検証

これまで本研究室で行ってきたmtDNA変異解析により，東京都の野生イノシシ集団中に，家畜ブタとの雑種に由来する個体がいる可能性が示唆された．これをさらに検証するために，マイクロサテライト解析を計画した．今年度は解析に用いるマイクロサテライトマーカーを選定し，解析の系を確立した．（腰塚，[1]遠竹，宮崎，瀬川，野澤，北村，田村，青塚，[1]東京都農林総合研究センター）

８）東京都に生息するニホンジカ（*Cervus nippon*）の遺伝的多様性の調査

近年，東京都ではニホンジカの個体数が増加し，様々な問題を引き起こしている．そのため，都は 2005 年から個体数調整を開始したが，大規模な捕獲による遺伝的多様性の低下が懸念される．本研究では，遺伝的多様性の観点から個体数管理について検討するため，mtDNA制御領域を指標に，東京都・埼玉県に生息するニホンジカの遺伝的多様性，および地域遺伝的分化を調査した．その結果，東京都，埼玉県のシカの間に遺伝的多様性の程度の差や遺伝的分化は見られず，個体数調整の際に，捕獲を行う地域については考慮する必要がないと思われた．（腰塚，[1]遠竹，青塚，[1]東京都農林総合研究センター）

９）統合尤度を用いた DNA 進化パラメーターの推定に関する理論的研究

配列間塩基置換数、トランジション・トランスバージョン比、塩基座間進化速度変異など，DNAの分子進化に関する数理パラメーターを統合尤度(composite likelihood)を指標として推定する方法を考案し，その有効性をコンピュータ・シミュレーションによって従来の最尤法と比較・検討している．（田村, [1]Kumar [1]アリゾナ州立大）

10）比較ゲノム解析ソフトウェアシステム（*MEGA3*）の開発

DNA・アミノ酸配列データに関して分子進化・比較ゲノム解析を行うためのソフトウェア・システム，*MEGA4* (Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 4)、の開発を行っている．（田村, [1]Kumar、[1] Dudley、[2]Nei　[1]アリゾナ州立大，[2]ペンシルバニア州立大）

3. 研究発表

誌上発表

1. Nozawa M., Aotsuka T., Tamura K. A novel chimeric gene, *siren*, with retroposed promoter sequence in the *Drosophila bipectinata* complex. Genetics 171:1719-1727. 2005.
2. Nozawa, M., Kumagai, M., Aotsuka, T., and Tamura, K. Unusual evolution of interspersed repeat sequences in the *Drosophila ananassae* subgroup. Mol. Biol. Evol. In press.
3. Segawa, RD. and Aotsuka, T. (2005). The mitochondrial genome of the Japanese freshwater crab, *Geothelphusa dehaani* (Crustacea: Brachyura): Evidence for its evolution via gene duplication. Gene 355: 28 - 39.
4. Saito S., K. Tamura and T. Aotsuka (2005) Replication origin of mitochondrial DNA in insect. Genetics 171:1695-1705.

5. Takamori, H., Watabe, H., Fuyama, Y., Zhang, Y. and Aotsuka, T. (2005).*Drosophila subpulchrella*, a new species of the *Drosophila suzukii* species-subgroup from Japan and China (Diptera, Drosophilidae). Entomological Science. in press.

口頭発表

6. Nozawa, M., Kumagai, M., Aotsuka, T., Tamura, K. (2005) Genome-wide explosion of a repeat sequence during the evolution of the *Drosophila ananassae* subgroup. The 2005 SMBE conference (Aukland)
7. Nozawa, M., Kumagai, M., Aotsuka, T., Tamura, K. (2005) Genome-wide explosion of a repeat sequence during the evolution of the *Drosophila ananassae* subgroup. SMBE Tri-National Young Investigator's Workshop (Palmerston North)
8. 野澤昌文，熊谷真彦，青塚正志，田村浩一郎（2005） アナナスショウジョウバエ亜群における反復配列の進化 日本遺伝学会第 77 回大会（東京）
9. 野澤昌文（2006） レトロポジションによる機能遺伝子の創出 第 24 回岩手大学 COE フォーラム（盛岡）
10. 丸木崇裕，清水恒典，青塚正志，田村浩一郎（2006）テングショウジョウバエ亜群で見つかったミトコンドリア DNA 核転移配列 日本動物学会第 58 回関東支部大会（東京）
11. 北村徳一 (2006) ヨモギハムシ核型二型集団の系統地理と生殖的隔離 第 24 回岩手大学 COE フォーラム（盛岡）
12. 鎌倉強志，瀬川涼子，青塚正志 (2005) サワガニ（*Geothelphusa dehaani*）mtDNA の遺伝子間非コード領域 (IGN) の解析．第 7 回日本進化学会（仙台）
13. 鎌倉強志，瀬川涼子，青塚正志 (2006) サワガニ（*Geothelphusa dehaani*）mtDNA 非コード領域の解析．日本動物学会関東支部第 58 回大会（東京）
14. 瀬川涼子，鎌倉強志，青塚正志 (2005) サワガニ類 mtDNA における IGN の進化．日本動物学会第 76 回大会（つくば）
15. G. Curt Fiedler (2005) The Evolution of Simultaneous Hermaphroditism in the Hippolytidae. 日本甲殻類学会第 43 回大会（奈良）

ポスター発表

16. 野澤昌文，熊谷真彦，青塚正志，田村浩一郎（2005） アナナスショウジョウバエ亜群における反復配列の解析 日本進化学会第 7 回大会（仙台）
17. 茂木 高志，青塚正志，田村浩一郎（2005）Mitochondrial DNA の核ゲノムへの挿入およびその後の重複の age distribution の推定 日本進化学会第 7 回大会（仙台）
18. 北村徳一，藤山直之，青塚正志（2005）ヨモギハムシの異なる核型個体間の生殖的隔離 日本進化学会第 7 回大会（仙台）
19. 北村徳一，藤山直之，青塚正志（2005） ヨモギハムシの異なる核型個体間の生殖的隔離 日本動物学会第 76 回大会（つくば）
20. 腰塚豊，遠竹行俊，宮崎亜紀子，瀬川涼子，野澤昌文，北村徳一，田村浩一郎，青塚正志(2005) 東京都西部におけるニホンイノシシ集団への家畜ブタ遺伝子流入の検証．日本動物学会第 76 回大会（つくば）
21. 腰塚豊，遠竹行俊，青塚正志（2006）東京都に生息するニホンジカ（*Cervus nippon*）の遺伝的多様性の調査．日本動物学会関東支部第 58 回大会（東京）

植物光応答機構研究室

１．構成

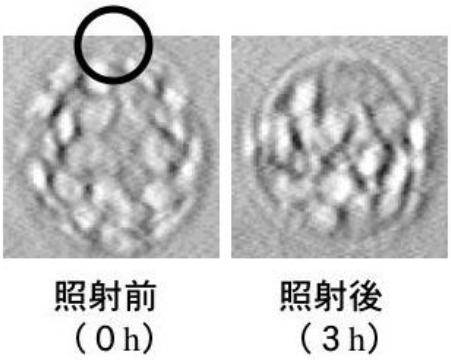
門田明雄、鐘ヶ江健、上中秀敏（D3)、中島大輔（M2)、半澤郁奈子（M2)、山田岳（M2)、坪井秀憲（M1)、武藤彩希（M1)、山下弘子（M1）

２．研究紹介

本年度より、研究室名をより研究内容に近く、わかりやすくするため、これまでの形態形成学研究室から植物光応答機構研究室に変更した。本研究室では光情報によって制御される植物の発生や生理現象（近年は特に葉緑体光定位運動）の光受容から信号伝達、現象発現までの素過程を、シロイヌナズナ、ホウライシダ、ヒメツリガネゴケなど実験目的に適した材料を使用し、分子生物学、細胞生物学、生理学などの技術を用いて解析している。一部の実験は基礎生物学研究所光情報研究室との共同研究として行われている。

ヒメツリガネゴケフィトクロムの機能解析

これまでの生理学的実験から、ヒメツリガネゴケのフィトクロムには細胞膜近傍と核近傍に存在する２種類がある事が示唆されている。ヒメツリガネゴケには４つのフィトクロム遺伝子が知られている。現在、４つのフィトクロムと YFP との融合タンパク質を発現する形質転換体を作製している。それら形質転換体を用いて、細胞内局在や機能解析を行っている。その結果、３つのフィトクロム（phy1, phy2, phy3）は赤色光によって誘導される葉緑体逃避運動に働くことが示された。これらフィトクロムは細胞質に観察された。今後、葉緑体定位運動を誘導する為に必須なフィトクロムの機能ドメインを決定し、さらに、核近傍に存在するフィトクロムの同定、機能ドメインの特定を行う予定である。(上中、門田)



図：フィトクロムとYFPの融合遺伝子を発現しているプロトプた。○は赤色のマイクロビームの位置を示す。

ヒメツリガネゴケフォトトロピンの細胞内局在解析

青色光受容体であるフォトトロピンの細胞内での局在を調べることは、その光受容やシグナル伝達系など、分子の機能解析を行う上で重要であると考えられるが、ヒメツリガネゴケにおいてはその細胞内分布については観察されていない。そこで、ヒメツリガネゴケ細胞内で、フォトトロピンと蛍光タンパク質(YFP)の融合遺伝子を発現させ可視化する事で、細胞内局在を明らかにしたいと考え、融合遺伝子を発現する形質転換体の単離を行っている。(武藤、門田、鐘ヶ江)

フォトトロピン遺伝子破壊株を用いたヒメツリガネゴケ原糸体の赤色偏光屈性

原糸体の偏光屈性は細胞膜に平行に配向するフィトクロムに依存すると考えられている。配向したフィトクロムに調節されるもう一つの反応として、葉緑体光定位運動が知られているが、最近この信号伝達経路に

青色光受容体であるフォトトロピンが関与することが報告されている（Kasahara et al. 2004）。そこで、ヒメツリガネゴケ原糸体のフォトトロピン遺伝子破壊株を用いて、フォトトロピンの赤色偏光屈性への関与を調べた。その結果、野生株と同様の屈曲を示したことから、フィトクロムによる偏光屈性の調節に、フォトトロピンは関与していないと考えられる。（半澤、門田）

先端成長しているヒメツリガネゴケ原糸体先端部の細胞骨格

GFP-talin、GFP-tubulinにより、アクチンフィラメント、微小管それぞれを可視化した原糸体を用い、先端成長における細胞骨格の役割を調べた。原糸体はブレンダーを用いて細断した後培養し、伸長している原糸体を得た。微小管は、束状で先端部に集束した配向が観察された。また、アクチンフィラメントは網目状に配向していた。細胞骨格阻害剤で処理すると、これらの配向は観察されなくなり、先端成長が抑制されることから、先端成長には微小管とアクチンフィラメントが重要な役割を果たしていることが示唆される。（半澤、門田）

コケ・シダ細胞におけるtdTomato-talinを用いたアクチンフィラメントの可視化

従来のGFP-talinによるアクチンフィラメント可視化株では、青色光反応における構造変化を見る場合、GFPを励起する青色光が刺激光と同一であるため、詳細な観察が難しい。そこで、新規のRFPであるtdTomato-talinを安定に発現するヒメツリガネゴケ形質転換体を作出した。また、GFP-tubulinとtdTomato-talinの両方を発現させた、微小管・アクチンフィラメント可視化株も得た。このラインによって、同一細胞内での、２種類の細胞骨格の同時観察が可能となった。この系を用いて、葉緑体光定位運動を主とした、植物の光反応の解析を行っていく予定である。

また、tdTomato-talinの一過的発現によって、ホウライシダ生細胞でのアクチンフィラメントの観察が可能となり、現在詳細な観察を行っている。（山下、鐘ヶ江、門田）

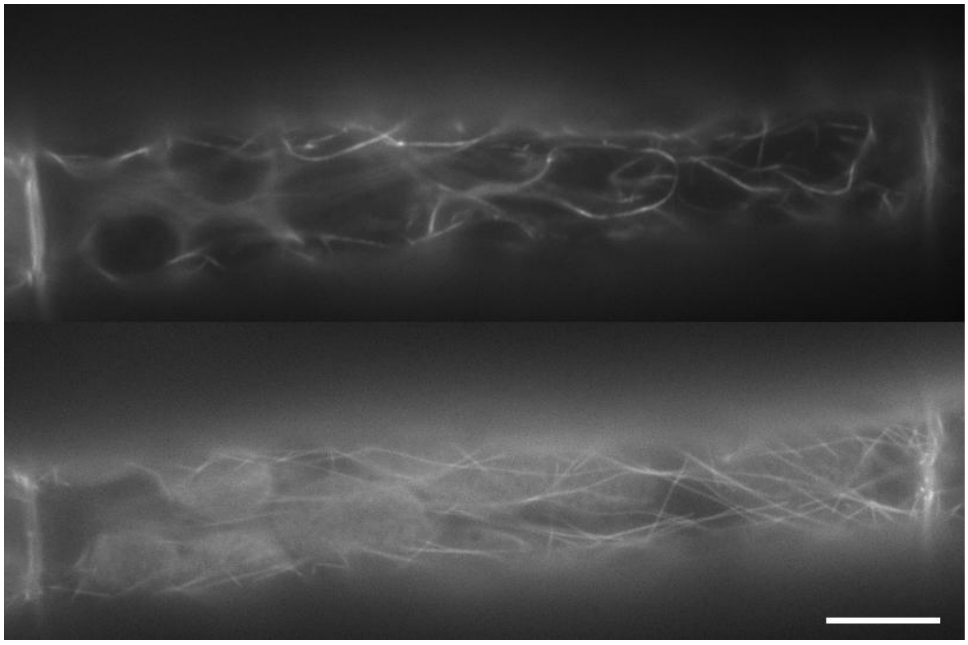


図. GFP-tubulin、tdTomato-talin安定発現株で観察される同一細胞内での細胞骨格
上段がアクチンフィラメント、下段が微小管を撮影したもの。スケールバーは10 μm 。

シロイヌナズナでの葉緑体光定位運動に伴うアクチンフィラメント構造変化の解析

GFP-talin を発現するシロイヌナズナのアクチンフィラメント可視化株を材料に、葉緑体光定位運動のアクチンミオシン系による制御機構を解析した。蛍光顕微鏡下の観察から、葉緑体表面に特異的な細かいアクチンフィラメントが見出された。青色微光束照射により葉緑体運動を誘導すると、集合反応・逃避反応いず

れの場合も葉緑体の運動方向前端にアクチンフィラメントが偏り、この程度が葉緑体の運動速度と強い相関を示した。ミオシン阻害剤処理によりこのアクチン構造の変化は阻害されなかったが、葉緑体の運動は著しく阻害された。これらのことから、シロイヌナズナの葉緑体光定位運動は細胞質中ではなく葉緑体表面に存在するアクチンフィラメントの光依存的な局在化、およびそれとミオシンとの相互作用によって引き起こされることが強く示唆された。現在、葉緑体の分布や光定位運動に異常を持つ変異体について解析を行っている。(山田、末次*、和田*、門田　*基生研)

シロイヌナズナ葉緑体光定位運動関連遺伝子の逆遺伝学的探索

葉緑体光定位運動に関連することが期待される遺伝子群の T-DNA 挿入変異体を、逆遺伝学的にシロイヌナズナの突然変異体リソースから単離し、その葉緑体光定位運動を解析している。昨年度に引き続き、特にアクチンフィラメントへの結合、あるいはアクチンの重合・脱重合などに関与する遺伝子群を中心として網羅的探索を行っている。(鐘ヶ江、山田、門田、和田*　*基生研)

ホウライシダフィトクロム３の機能解析

ホウライシダで発見されたフィトクロム 3 (PHY3) は、N 末端に赤色光受容体フィトクロムの光受容部位を、C 末端に青色光受容体フォトトロピン全長を有するユニークな光受容体である。PHY3 は赤色光を受容する発色団フィトクロモビリン１分子と青色光を受容する発色団 FMN２分子が結合しており、吸収波長域を異にする２種３分子の発色団が光受容体１分子内に共存するという、これまでにない発色団構成をとっている。これらの特徴から、PHY3 は１分子で赤色光受容体と青色光受容体の機能を併せ持つことが予測されている。これまでに PHY3 が葉緑体光集合反応の赤色光受容体として機能することを明らかにしてきたが(Kawai et al. 2003)、青色光受容体としての機能の有無については未だ不明である。そこで、シロイヌナズナ *phot1-5 phot2-1* にホウライシダ PHY3 を導入した形質転換植物体を用いて機能解析を行っている。また、発色団結合アミノ酸残基を置換した改変 PHY3 の導入形質転換体も作成しており、各発色団の光生理反応に関する役割も併せて解析を進めている。現在、胚軸の光屈性を指標として各形質転換体の光生理反応を解析している。(鐘ヶ江、和田*　*基生研)

ホウライシダ仮根細胞における負の光屈性

ホウライシダの胞子発芽時に最初に出現する仮根が負の光屈性を示すことを発見し解析を行った。寒天培地上に播かれた胞子に赤色光を一方向から照射し、発芽を誘導すると、仮根が出現する部位はランダムなのに対して仮根は光源とは反対方向に伸長しているものが多く見られた。そこで微光束照射による詳細な解析を行った。暗順応させた原糸体の先端部分 40μm の片側に赤色微光束を照射すると仮根細胞の先端は光照射部位と反対方向へ屈曲した。フィトクロム３遺伝子の変異体である rap 変異体に同様な光照射を行った結果、仮根細胞の赤色光による負の光屈性が失われていた。このことは原糸体細胞で正の光屈性の光受容体であるフィトクロム３が仮根では負の光屈性の光受容体として使われていることを示している。現在さらに詳細な解析を行っている。(坪井、末次*、和田*　*基生研)

３．　研究発表

誌上発表

1. Uenaka, H., M. Wada and A. Kadota (2005) Four distinct photoreceptors contribute to light-induced side branch formation in the moss *Physcomitrella patens*. Planta 222: 623-631.
2. Yamauchi, D., K. Sutoh, H. Kanegae, T. Horiguchi, K. Matsuoka, H. Fukuda and M. Wada (2005) Analysis of expressed sequence tags in prothallia of *Adiantum capillus-veneris*. J. Plant Res. 118: 223-227.

口頭発表

1. 山下弘子、鐘ケ江　健、末次憲之、和田正三、門田明雄(2006)　コケ・シダ細胞における tdTomato-talin を用いたアクチンフィラメントの可視化　第 47 回日本植物生理学会年会（つくば）
2. 坪井秀憲、和田正三(2006)　ホウライシダ仮根細胞における負の光屈性　第 47 回日本植物生理学会年会（つくば）
3. 門田明雄、山田　岳、佐藤良勝、及川和聡、中井正人、小倉康裕、笠原賢洋、加川貴俊、末次憲之、和田正三(2006)　シロイヌナズナ葉緑体光定位運動におけるアクチンフィラメントの役割　第 47 回日本植物生理学会年会（つくば）
4. 鐘ヶ江　健、倉本千裕、林田恵美、和田正三(2005)　シダ フィトクロム３の機能解析　第 28 回日本分子生物学会年会（福岡）
5. 鐘ヶ江　健、倉本千裕、林田恵美、和田正三(2006)　シダ フィトクロム３の機能解析　第 47 回日本植物生理学会年会（つくば）

その他の出版物

1. Sato, Y. and A. Kadota (2006)　Chloroplast movements in response to environmental signals.　*In*: Advances in Photosynthesis and Respiration, The structure and function of plastids. R.R. Wise and J. K. Hoober (Eds.), Springer, New York, pp. 527-537.
2. Kanegae, T. and M. Wada (2006)　Photomorophogenesis of ferns.　*In*: Pnotomorphogenesis of Plants and Bacteria: function and signal transduction mechanisms. 3rd edn. E. Schäfer and F. Nagy (Eds.), Springer, Berlin, pp. 515-536.
3. Suetsugu, N. and M. Wada (2005) Photoreceptor gene families in lower plants. *In*: Handbook of Photosensory Receptors. W.R. Briggs and J.L. Spudich (Eds.), Wiley-VCH Verlag, Weinheim, pp. 349-370.
4. Wada, M. (2005) Chloroplast movement. *In*: Light Sensing in Plants. M. Wada, K. Shimazaki and M. Iino (Eds.), Springer, Tokyo, pp. 193-199.

細胞エネルギー研究室

1. 構成

嶋田敬三，永島賢治，永島咲子(D3)，鍋田 誠(M2)，戸井(日置)裕子 (M1)，佐々木 舞(M1)，城村 遊(卒研生)，時田誠二(研究生)

2. 研究紹介

本研究室では，光合成細菌を材料にして，生物が光を効率よく吸収して利用する仕組みや光合成における電子移動の仕組みを研究している．また，光合成色素の生合成や機能，環境条件に応じた光合成遺伝子の発現調節機構，新しい光合成細菌の単離と分類，光合成機構の進化についても研究している．こうした基礎研究を通じて，人類が直面しているエネルギー問題，環境問題，食糧問題への貢献も目指している．なお，毎年の活動報告等は研究室の Web ページ http://www.comp.metro-u.ac.jp/~kvpn/に掲載されている．

＜研究の背景と基本用語の説明＞

光合成細菌は光エネルギーを利用する細菌で，系統的に５つのグループに分けられる．それらは紅色細菌，緑色イオウ細菌，緑色糸状細菌，ヘリオバクテリア，シアノバクテリア（ラン色細菌）と呼ばれる．このうちシアノバクテリアは植物の葉緑体のもとになった細菌で酸素を発生する光合成を行い，他の 4 グループは酸素を発生しない光合成を行う．酸素を発生しない光合成細菌が進化して，シアノバクテリアが誕生したと考えられている．

光はクロロフィルやカロテノイドなどの光合成色素に吸収され，光合成反応中心複合体（単に反応中心とも呼ばれる）に結合したクロロフィルまで色素間を伝達される．これが光捕集系である．反応中心に結合したクロロフィルは，光エネルギーを用いて電子を放出する．引き続きキノンやチトクロムなどの成分を経由した電子伝達が進行してプロトンが生体膜を横切って輸送され，やがてＡＴＰの合成に至る．

光合成細菌には，酸素がない状態でのみ生育するもの（嫌気性：緑色イオウ細菌とヘリオバクテリア），基本的に酸素がある状態で生育するもの（好気性：シアノバクテリア），いずれの状態でも生育できるもの（通性嫌気性：紅色細菌と糸状光合成細菌）がある．通性嫌気性のものは，一般に嫌気状態でのみ光合成を行い，好気状態では光合成色素を作らずに呼吸によって生育する．しかし，同じグループの中に嫌気状態では光合成を行わず，好気状態で補助的に光エネルギーを使う細菌がある．これを好気性光合成細菌と呼ぶ．

１）光合成電子伝達系におけるチトクロムの構造と機能

紅色細菌や緑色糸状細菌の光合成反応中心には，通常４つのヘムを持つチトクロムサブユニットがあり，光で酸化された反応中心クロロフィルに電子を与えている．しかし，ある種の紅色細菌ではこのサブユニットがない．このサブユニットに電子を与える成分は，ヘム鉄を含むチトクロムやヘムを含まない鉄イオウタンパク質（HiPIP），あるいは銅タンパクの場合がある．このチトクロムサブユニットとその中の各ヘムの役割の解明に，光合成電子伝達系の進化の視点を加えて取組んでいる．

紅色光合成細菌 *Rubrivivax gelatinosus* の反応中心チトクロムサブユニットを *Blastochloris viridis* のものに置き換えたキメラ反応中心を材料に，４つのヘム *c* の酸化還元中点電位を変える部位特異的変異の評価をコンピューターシミュレーションにより詳細に行った．ニューヨーク市立大学の Gunner 博士らの開発した MCCE (Multi-Conformation Continuum Electrostatics)プログラムにより得られた予測値は実際の変異タ

ンパクでの測定値と良い一致を示した．また，実際にはまだ変異を導入していない部位，特に中性アミノ酸を荷電アミノ酸に変更した仮想変異タンパク約８０例に対し同様の計算を行い，うちいくつかで中点電位が大きく変わることが予測された．今後この予測を基に変異株作製を行い，これまでに得られていない中点電位分布を確立することを目指す．(Gunner(CCNY, USA)、永島 K)

光酸化された反応中心のバクテリオクロロフィル二量体（スペシャルペア）を還元する４つのヘムの酸化還元中点電位は、上記のキメラ反応中心では-60, 310, 60, 400 (mV)の順に並んでスペシャルペア(350 mV)へと続くが，変異導入した株のひとつでは 400 mV の高電位ヘムが 0 mV となった．これに伴う静電的相互作用により 60 mV のヘムが 130 mV となり、低-高-低-高の中点電位配置が低-高-低-低となった。閃光照射による電子伝達速度の測定の結果，この変異によりスペシャルペアの還元速度は約１００倍遅くなった．このことは，エネルギー的に不利に見える低電位ヘムを経た電子伝達が実際に起こっていることを示すと共に，両末端の電子供与体・受容体の間に有意な電位差があれば，最終的に電子はあたかも熱力学的なローラーコースターを滑るように伝達されるというモデルを支持した．一方，マイクロ秒オーダーで完結するこの反応が１００倍程度遅くなったところで光合成電子伝達の順向き方向への全過程に及ぼす影響は微々たるものであり，４つのヘムの中点電位が低-高-低-高となる配置を進化の過程でかたくなに保存してきた理由はまだ明らかになっていない．(Alric (IBPC Paris, France)、永島 K)

海洋性の紅色光合成細菌*Rhodovulum sulfidophilum*には、光合成反応中心への電子供与体として一般的な可溶性のチトクロムc_2以外に膜結合型の新規チトクロム*c*が働いていることを数年前に本研究室で見いだした．今回、この新規膜結合チトクロムの遺伝子破壊株を作製したところ，すでに得られているチトクロムc_2遺伝子破壊株と同様，呼吸・光合成とも野生株と変わらない生育を示した．しかし，両者の２重破壊株を作製したところ光合成による生育を示さなかった．このことは*R. sulfidophilum*の光合成電子伝達において両者が生理的な電子供与体として同等に働いていることを示す．(永島K)

紅色光合成細菌*Rubrivivax gelatinosus*の光化学反応中心への電子供与体は多様であり，メインに働くHiPIP（鉄-イオウタンパク）および酸化還元電位の異なる２種類の可溶性チトクロムc_8，さらに 553 nmに吸収ピークを持つ未同定のチトクロム*c*があることが本研究室で見いだされている．このチトクロムc_{553}の遺伝子をクローニングし塩基配列を決定して解析したところ，このチトクロムが２ヘム型のチトクロム*c*で，鉄酸化細菌でよく研究されているチトクロムc_4に高い相同性があることが分かった．反応中心への電子供与体としてこのクラスのチトクロムの関与が示されたのは初めてである．前出の３つの電子供与体（HiPIP，低電位・高電位チトクロムc_8）の３重破壊株に加え、チトクロムc_{553}遺伝子も破壊した４重破壊株を作製して光合成条件下で培養したところ，４重破壊株の生育は非常に遅くなった．このことからチトクロムc_{553}が光合成電子伝達の生理的電子運搬体として働くことが示唆されたが，４重破壊株がなお光合成による生育を示したことから，他にもまだ見つかっていない電子伝達タンパクが存在することが予想された．(永島K)

前年度にキメラ反応中心複合体のチトクロムサブユニット表面に分布する酸性アミノ酸をそれぞれ塩基性アミノ酸に置換した変異株を１０数株作成したが，測定の精度を上げるために光捕集色素タンパク複合体の変異株を用いて同様の変異株を作製している．また，*B. viridis*のチトクロムc_2タンパクを*Rvi. gelatinosus*内で発現させ、同タンパク表面に分布する塩基性アミノ酸を酸性アミノ酸に置換した変異株を作成し，タンパク分子間認識における静電的作用の効果を調べている．(永島S，永島K)

２）亜鉛バクテリオクロロフィルを持つ細菌の光合成系

pH3 付近で生育する好気性光合成細菌 *Acidiphilium* は亜鉛バクテリオクロロフィル(Zn-BChl)を持ち，反

応中心でも Zn-BChl が通常の Mg-BChl に代わって機能していることを本研究室を含む日本のグループが約 10 年前に発見した．この菌の反応中心に電子を供給する電子伝達系各成分は細胞外と通じたペリプラズムにあるため直接的に酸性環境の影響を受けると考えられ，事実反応中心結合型チトクロムサブユニットは異常な表面電荷分布を持つ．このサブユニットに電子供与体として相互作用する可溶性チトクロムも通常のものとは異なる性質があると予想されるためその探索と変性を避けた単離方法の検討を行っている．（戸井，嶋田）

３）光合成遺伝子群の解析

紅色光合成細菌は光捕集器官の一つとして，光捕集色素タンパク質複合体Ⅱ（LH2）を持つ．以前当研究室で LH2 をごく少量しか作らない紅色光合成細菌 *Rubrivivax gelatinosus* の自然突然変異株を得たが，この変異株の LH2 アポタンパクをコードしている領域（*pucBA*）や発現調節因子をコードしている領域（*ppsR, ppa*）の配列は野生株と違いがなかった．そこで，現在知られている LH2 の発現調節因子以外にも新たな因子が存在するのではないかと考え，発現調節機構の解明を目的に発現調節因子の探索と同定を行っている．（佐々木，永島 K）

紅色光合成細菌の光合成関連遺伝子の多くはゲノム上で大きな遺伝子クラスターを形成している．我々は *Rubrivivax gelatinosus* が約 37Kb（35 遺伝子）の光合成遺伝子クラスターを持つことを以前に明らかにしているが，このクラスターに隣接し電子伝達に関ると思われる 3 つの遺伝子(ORF247、321、408)の機能を明らかにするために塩基配列の解析と欠損株の作成を行っている．塩基配列からはこれらの遺伝子は無機イオウ化合物の酸化還元に関るものであることが示唆された．（城村，永島 K）

４）緑色光合成細菌の光捕集系とエネルギー移動の調節

緑色細菌の光捕集器官クロロソームは，バクテリオクロロフィル *c* 自己集合体を主成分とする特殊な光捕集器官であるが，単離に際し吸収ピークの短波長シフトやバクテリオクロロフィル *a* の減少が生じ，それに伴うバクテリオクロロフィル *c* から *a* へのエネルギー移動効率の低下が見られる．すでに緑色イオウ細菌 *Chlorobium tepidum* を用いて浸透圧ショック等の温和な方法で細胞を破砕し変性の少ない標品を得る方法を確立したが、さらに優良標品を多量に得るには完全な嫌気条件下での菌体培養が必須であることが分かった。この培養条件から得られたクロロソーム標品のスペクトルはバクテリオクロロフィル a の存在を示す 802nm 付近のピークが明確に認められ，優れた標品であることを示唆している。（時田，嶋田，松浦）

５）光合成色素の構造，機能，生合成系

カロテノイドは著名な色素として多くの生物に存在し，多くの種類が知られている．光捕集機能のほかに生理的役割として酸素障害防止機能を持つことが知られているが，この機能と化学構造との関連は十分には解明されていない．すでに紅色光合成細菌 *Rvi. gelatinosus* のカロテノイド合成系の酵素遺伝子を欠損あるいは基質特異性の異なる酵素に置換し，特定のカロテノイド分子種を蓄積する変異株を作成することによりこの菌が持つ各種カロテノイド分子種の生体内における酸素障害防止機能を解析したが，さらに好気性細菌や植物の主要カロテノイドである環状カロテノイドの機能を解析するべく β-カロテン蓄積株に続いてゼアキサンチン，カンタキサンチン，アスタキサンチンを合成する変異株を作成した．これらの変異株のカロテノイド組成を調べたところ，いずれも細胞中あるいは膜中ではこれら環状カロテノイドが 80%以上を占め，導入遺伝子が働いたことが示された．単離した光合成色素タンパク中でも環状カロテノイドが全カロテノイドの 40-50%を占めていた．これらの変異株が弱光下でも野生株とほぼ同様な増殖速度を示すことからこの菌の中で環状型カロテノイドも光捕集色素として機能しうることが示唆された．さらに，強光及び一重項酸素（活性酸素）に対する耐性を測定したところ，強光に対しては野生株よりむしろ弱かったが，一重項酸素に

対してはこれら環状型カロテノイド（ケト基、水酸基の付加したもの）の蓄積株は野生株よりも高い耐性を示した．このことから，環状型カロテノイド，特にケト基、水酸基が付加した分子形態は一重項酸素の消去に適応した分子形態であることが示唆された．（鍋田，高市（日本医大），永島 K，松浦，嶋田）

６）IAGE-TMUBio プログラムによる共同研究

１）蛍光タンパクを利用した光合成の効率向上に関する研究

光合成において光合成色素が吸収できるのは太陽光の一部の波長域に限られている．そこで，蛍光タンパク質を利用して，光合成色素が吸収できない波長域の光を光合成色素にとって有効な波長域に変換させることで，光合成による太陽光の捕捉を効率化するシステムを提案し，その有効性を検証することを目的として専攻間共同研究を行っている．蛍光タンパクの定量・光合成反応中心への蛍光エネルギー伝達の測定を行うと同時に蛍光タンパクの遺伝子の光合成細菌への導入を試みている．（佐々木，戸井，永島S，上地*，堀内*，吉田* *機械工学・動力工学研究室）

２）温泉の微生物マットにおける硫黄代謝に関わる微生物と光合成細菌の相互作用の解析

中房温泉（単純硫黄泉）には 50-60℃の流域に光合成細菌を含む微生物マットが見られるが，そこには 16S rRNAを用いた群集構造解析により好熱性硫酸還元菌の存在も示された．光合成細菌と硫酸還元菌の関わり合いやマット内の硫黄循環の有無を調べるため，これまでの方法に光合成関連遺伝子を用いた解析を加え、より精度の高い光合成細菌マットの群集構造解析を行っている。（永島S，長谷#，久保# #環境微生物学研究室）

3. 研究発表

誌上発表

1. Makihara F, Tsuzuki M, Sato K, Masuda S, Nagashima KVP, Abo M and Okubo A (2005) Role of trehalose synthesis pathways in salt tolerance mechanism of *Rhodobacter sphaeroides* f. sp. *denitrificans* IL106. Arch. Microbiol. 184, 56-65
2. Alric J, Lavergne J, Rappaport F, Vermeglio A, Matsuura K, Shimada K and Nagashima KVP (2006) Kinetic performance and energy profile in a roller coaster electron transfer chain: a study of modified tetraheme-reaction center constructs. J. Am. Chem. Soc. In press

口頭・ポスター発表

永島賢治, Jean Alric, 嶋田敬三, 松浦克美, Andre Vermeglio（2005）紅色光合成細菌の反応中心結合型チトクロムサブユニットに含まれる 4 つの c 型ヘムの酸化還元中点電位の部位特異的変異導入による改変．日本植物生理学会 2005 年度年会（新潟）

鍋田誠, 原田二朗, 高市真一, 三沢典彦, 永島賢治, 松浦克美, 嶋田敬三（2005）紅色光合成細菌 *Rubrivivax gelatinosus* を用いた環状カロテノイドの生体内酸化障害防止機能の評価．日本植物生理学会 2005 年度年会（新潟）

高見明子, 永島賢治, 嶋田敬三, 松浦克美（2005）緑色糸状細菌 *Roseiflexus castenholzii* における光合成反応中心タンパク遺伝子群の転写様式解析．日本植物生理学会 2005 年度年会（新潟）

宇野文子, 伊藤由加, 小林正美, 井上和仁, 松浦克美, 嶋田敬三, 永島賢治（2005）紅色光合成細菌 *Rubrivivax gelatinosus* を用いたバクテリオクロロフィル合成酵素の特異性の研究．日本植物生理学会 2005 年度年会（新潟）

永島賢治（2005）紅色光合成細菌の光化学反応中心複合体の進化と分子認識機構の変遷．日本生物工学会５７回大会（つくば）

鍋田 誠，原田二朗，高市真一，三沢典彦，永島賢治，松浦克美，嶋田敬三(2005）紅色光合成細菌 *R. gelatinousus* の環状カロテノイド蓄積変異株作成． 第 19 回カロテノイド研究談話会（東京）

環境微生物学研究室

1. 構成

松浦克美，長谷祐美子（M2），東岡由里子（M1），久保響子（卒研生：後期），滝井進（客員教授），福井学（客員教授）

2. 研究紹介

本研究室は，2005 年度に発足した新しい研究室である．昨年度まで活動した微生物生態学研究室から修士 2 年の学生 2 名を引き継ぎ，細胞エネルギー研究室から教授の松浦が移って発足した．ただし，本年度は，環境微生物学研究室としての活動は準備段階であり，本格的な活動は，2006 年度からとなる．

１）今後の研究の方向性

光合成細菌とそれと相互作用する細菌の環境中での動態・機能の研究を中心に進める。土壌中や水界での光合成細菌の活躍の実態を明らかにし、都市での活用の方策を探る。

光合成細菌の環境中での動態

１．土壌や水界での光合成細菌の分布・種構成と、環境条件による変動。（主な手法は光合成遺伝子の検出・塩基配列分析）

２．土壌や水界での光合成細菌の物質循環機能と他の細菌との相互作用。（主な手法は酸化還元反応測定・混合培養実験）

３．熱水中での細菌群集の動態と、物質循環機能の進化。光合成細菌と光合成機能の進化。（遺伝子解析、新種を含む多くの種での比較分子生物学、遺伝子操作による進化の再現）

水界における微生物群集の動態と相互作用，および物質循環機能

水界（湖沼、河川などの陸水域、沿岸海域、熱水環境および廃水・廃棄物処理系）に生息するさまざまな微生物の生理的・生態的特性の研究を基礎に，微生物群集の動態と相互作用，物質循環における作用、および人間の社会活動に伴う相互作用について解析する。

1）淡水および海水中の硫酸還元菌及び硫黄酸化細菌の多様性と物質循環機能

2）高温環境における硫酸還元菌の硫黄サイクルへの関与

3）湖底泥等におけるメタンの消費とメタン酸化細菌

環境浄化や環境保全に有益な未知細菌の探索

細菌（バクテリア）は地球上の至る所に分布し，現在まで に 6000 種以上の細菌が環境中から分離培養されているが，環境生態系を構成する全細菌の１％にも満たないと考えられている．多くの細菌が分解者として環境中の物質循環機能に重要な役割を果たしているが，それらの多くも分離されていない．本研究室では，環境浄化や環境保全に有益な細菌の探索を，新たなる視点で分離戦略を立てて進める．

２）温泉中の微生物群集と硫黄サイクルとの関係

温泉中（70C 以上）の微生物群集における硫黄サイクルを，分子生態学手法を中心に解析した．長野県中房温泉は，硫化水素や硫酸イオンをふくむ弱アルカリ泉であり，70C以上にも微生物の集合構造がよく発達

している．そこでの微生物による硫黄サイクルの特徴を明らかにするために，硫酸還元の過程においてアデノシンホスホ硫酸（APS）から亜硫酸塩（SO32-）への還元を触媒する APS 還元酵素遺伝子（apsA）および亜硫酸塩から硫酸塩(SO42-)への酸化を触媒する硫黄酸化酵素遺伝子(soxB)に基づく系統学的解析を行った．その結果，それらの機能遺伝子は，太古代から存在する細菌群によることが明らかとなった．(長谷，福井，松浦)

微生物群集の構造が硫黄サイクルに果たす役割を明らかにするために種々の培養条件で硫化水素濃度をモニターし、硫黄化合物の酸化還元活性を測定した。その結果、微生物群集内に嫌気部位と微好気部位が存在し、両者の存在が硫黄サイクルにとって重要であることが示唆された。特に微生物群集内部をほぐして、露出させた培養実験では、硫化水素の濃度がコントロールと比較し急激に減少した。この結果から微生物群集内部が好気条件になったことで、嫌気性である硫酸還元菌による活動が行われなかったと推測された。(長谷，福井，松浦)

同じ温泉の下流域の 70℃以下の場所では光合成細菌が主要な群集を形成している。そこでの光合成細菌と硫酸還元菌の間の相互作用を調べていくために、微生物の集合体を構成する種の特定を試みた。温泉水中の異なる地点から、主に光合成細菌と思われる色の付いた微生物の集合体を採取して DNA を抽出し、光合成細菌に共通な光合成反応中心複合体タンパク質の遺伝子および硫酸還元菌の持つ硫酸還元経路に関わる酵素の遺伝子を増幅し，系統解析を試みた．その結果，光合成細菌における光エネルギー変換に重要なタンパク質の遺伝子が PCR 法によって増幅されたことから、光合成細菌の存在が示唆された。また、硫酸還元に関わる酵素遺伝子（Adenosine 5'-phosphosulfate reductase gene）も増幅された。これにより、今回のサンプル中には硫酸還元菌が存在していることが示唆された。(久保，長谷，福井，松浦)

３）原油分解に関与する微生物群集の解析

原油による環境汚染を浄化するためには，微生物による原油分解が重要であるが，微生物による原油分解の詳細は不明であり，特に嫌気条件での原油分解に関する知見は乏しい．そこで嫌気条件を中心に，原油分解に関わる微生物群集の分子生態学的解析を行った．北海道石狩油田及び厚田油田の土壌，豊富温泉の炭化水素を含む温泉水に対して解析を行った結果、石狩サンプルから得られ増幅 DNA のほとんどが嫌気性細菌に近縁であることが示された。この結果から、石狩油田の現場において嫌気条件が形成され、原油の嫌気分解が行われている可能性が示唆された。単環芳香族化合物の分解に関わる微生物群を特異的に調べるために、DGGE 解析を行ったサンプルに対して単環芳香族代謝遺伝子を指標とした解析を行った。それにより，地点ごとに異なる代謝遺伝子を持つ微生物が存在することが示された。(東岡，松浦，小島（北大），福井)

嫌気状態での原油分解-硫酸還元集積培養系を確立するために，東京湾三番瀬干潟の堆積物を接種源とし、原油を唯一の炭素源とした硫酸還元条件下での嫌気集積培養を 8℃及び 28℃下で行った。培養系内の硫化物濃度を経時的に測定したところ、8℃培養系では硫化物濃度の増加が 6.1 mM で停止した一方で、28℃培養系では 23.2 mM に達した。PCR-DGGE 解析の結果、培養温度による群集構造の違いが認められた。これらの結果から、培養温度によって異なる硫酸還元菌が単環芳香族化合物分解に関与することが示唆された。(東岡，松浦，小島（北大），福井)

動物生態学研究室

1．構成

鈴木惟司（教員)、 草野 保（教員)、 林 文男（教員)、松尾 洋（D3)、 坂本信介（D3)、白井剛（D3)、加藤夕佳（D３)、土田香織（D1)、原田幸子（M2)、中川光（卒研生)、山根清次郎（卒研生)、小林まや（卒研生)、片田真一（研究生)

２．研究紹介

本研究室では、小型の脊椎・無脊椎動物を研究対象として、社会生態、行動、生態遺伝、地理系統、生活史、個体群動態等に関する研究が行なわれている。研究テーマの設定に当たっては、構成員の自主性が重んじられる。研究室全体としては個体・個体群レベルの野外研究を指向する傾向が強い。しかし野外調査だけでなく室内飼育実験や分子生物学的手法なども併用して研究が進められている。以下に紹介するのは 2005 年度に発表されたか実施された研究の一部である。

1) 無脊椎動物を対象とした研究

種子食性昆虫では、一部の個体が２年以上休眠し続ける現象が知られている。休眠期間を延長することはさまざまなコストを伴うと考えられるが、休眠遅延の コストを明確に示した研究は少ない。エゴヒゲナガゾウムシの単一コホートの羽化パターンを５年間にわたって調査した結果、１ー４年の休眠年数変異があり、また、大きい個体ほど休眠年数が長かった。実験的に羽化遅延させたところ、体サイズが減少し、その減少率は小さな個体ほど大きかった。これらの結果から、体サイズに依存した休眠遅延のコストが存在し、このコストに応じて休眠期間を決定している可能性が示唆された。さらに、雄の性的形質である眼柄長 が小さな雄でのみ短くなったことから、休眠遅延は小さな個体に対して、より重大な影響を及ぼすことが示された（11)。

マイクロサテライト遺伝子座は、個体群や家族の遺伝的な構造を解析するのに有効な分子遺伝マーカーであるが、対象種ごとに遺伝子座を探索しプライマーを設計する必要がある。現在、ムモンホソアシナガバチ、オキナワチビアシナガバチ、およびナガマルコガネグモで上記遺伝子座の探索を行っている。今までのところ、オキナワチビアシナガバチで 24 遺伝子座、ホソアシナガバチで 33 遺伝子座を新たに突き止め、これらの遺伝子座の多型性（分析における有効性）を試験中である。

トンボ類のオスは、精子競争を避けるために、他オスの精子を掻きだす行動をとる。一般に均翅亜目トンボ類のオスの交尾器は、交尾嚢の精子を掻きだすための反転部と、受精嚢の精子を掻きだすための側突起からなると言われている。しかし、ミヤマカワトンボではオスの反転部は効率よく機能しているが、側突起の機能は不完全であることがわかっている。本種のオスの交尾器の機能を明らかにするため、側突起を切除したオスをメスと交尾させ、交尾を中断して、メスの交尾嚢および受精嚢の精子数を調べた。その結果、側突起を切除したオスは、受精嚢の精子を全く掻きだすことができず、交尾嚢の精子も不完全にしか掻きだせなかった。また交尾時間も短くなった。つまり、オスの側突起は、受精嚢の精子を直接掻きだすだけでなく、反転部による交尾嚢の精子の掻きだし量や交尾行動にも関与することが明らかになった(27)。

ミトコンドリア DNA は一般的に塩基配列の解読が容易で、かつ変異率が高いため，近縁種間の系統関係や種内の系統地理学的解析によく用いられる。しかし、これは核 DNA とは異なり、母性遺伝をする。カワトンボとオオカワトンボ、アキアカネとタイリクアキアカネ、モイワサナエとダビドサナエ、およびコサナエ属 3 種という４例に関して、それぞれ核とミトコンドリア両方の DNA を用いて系統解析を行った結果、相反する系統樹が得られた。系統樹上での矛盾は，近縁種間の交雑によって引き起こされたミトコンドリア DNA の浸透に起因すると考えられた。トンボ類でとくにミトコンドリア DNA の種間浸透が起こりやすい背景として、

異種間交配の頻度が高いこと、交雑個体のメスの妊性が保持されていること、水塊という不安定な環境に生息するため集団サイズの変動が大きいことなどが考えられる（１）。

2）脊椎動物を対象にした研究

血縁度が高い、いわゆる、粘性の高い個体群の進化には、資源の質・量と同様に、個体間関係が重要な役割を果すと考えられている。しかし、個体間関係が作用する具体的なプロセスは未解決の問題である。この問題を考えるためには、そもそも粘性の高い個体群と低い個体群とで、個体間関係がどのように異なるのかについて知る必要がある。なわばりのオーナーが隣になわばりを持つ個体に対してどのように振舞うのかは、その動物種の個体間関係の親和性を示す良い指標とされている。粘性が低いアカネズミの雌において調べた結果、なわばりのオーナーは隣になわばりを持つ個体に対して敵対的であった。他のネズミ類では、このような例は報告されておらず、種間比較や個体群の状態に応じた反応を比較するなど、上記の問題を考える上で、アカネズミは良いモデル生物となりうると考えられる（19-21）。

東京都日野市にある多摩動物公園の園内で、野生のアオサギが集団で繁殖をしている。このアオサギの一部に足環をつけ、繁殖期後期（6 月ー9 月）の分布を調べた（22）。アオサギにはプラスチック製の足環に数字を彫ったものを装着し、2003 年からの 3 年間で、成鳥 18 羽、幼鳥 43 羽に標識した。繁殖地周辺で再確認された標識アオサギはほとんどが成鳥で、確認された場所と園との距離は、約 1.6kmー約 33.8km だった。園に近い場所に分布していた個体には園との間を行き来しているものがいた。また、遠方に分布していた個体の一部は 2004 年の繁殖期後期には園外でのみ確認され、次いで翌年の繁殖期に再び園内で確認され、さらにその年の繁殖終了後に前年と同じ場所で確認された。一方、幼鳥の再確認は 3 羽であり、当地における幼鳥の分布の傾向は明らかではない。今後の目撃情報が待たれる。

小笠原諸島の希少猛禽類オガサワラノスリ（ノスリの亜種）は、海洋島の狭い生息域に高密度で分布するため、個体群動態、社会行動、遺伝子の動態（近親交配率、繁殖の偏りなど）など、興味深い問題を提供する。現在この鳥の生態に関する基礎的な知見をまとめている。父島では、オガサワラノスリの食性は、在来種よりも、近年人為的に移入された小動物に大きく依存していることがわかった（7）。また、繁殖成功に関わるパラメータがヨーロッパなどに生息する他亜種に比べて一様に低いことが明らかになりつつある。 これらが、亜種オガサワラノスリの本来の姿なのか、現在の人間活動による影響なのか、分析を進めている。

メグロは小笠原群島（聟島列島、父島列島、母島列島から成る）にのみ分布が知られる小笠原固有の鳥類で、小笠原固有種４種のうち唯一絶滅を免れた鳥種である。さて、本種は聟島列島（絶滅）と母島列島（現存）には生息記録があるものの、群島中央に位置する父島列島（現在は生息しない）における過去の生息分布については長らく不明であった。今回，メグロの記載者である Kittlitz の著作を含む過去の文献を精査し、父島にも 1820 年代後半まではメグロが生息していたことを文献学的に明らかにした（13）。

近年、地球規模での気候温暖化の話題が盛んに取り上げられ、生物群集への影響が議論されている。そこで、1970 年代後半より現在までの 30 年間にわたる日の出町羽生におけるトウキョウサンショウウオの繁殖個体群の調査データと、八王子市南大沢での両生類数種の 15 年間の繁殖活動の記録に基づき、両生類の毎年の繁殖開始のタイミングの長期的変動について分析した。その結果、羽生および南大沢のトウキョウサンショウウオと南大沢のモリアオガエルにおいて、統計的に有意な繁殖開始時期の早期化の傾向を検出することができた。いずれの個体群においても、繁殖シーズン開始直前月の月平均気温と繁殖開始のタイミングに負の相関が見られ、温暖化により繁殖活動が早まっている傾向が明らかとなった（2）。

以上の他，卒業研究として，自動カメラを用いた大学キャンパス内の緑地に生息する小型・中型ほ乳類の調査（18），指骨を用いたトウキョウサンショウウオの繁殖年齢査定、アカネズミの飼育繁殖の検討等が行われた。

3. 研究発表

誌上発表

1. 林 文男 (2006) 核 DNA とミトコンドリア DNA で異なるトンボ類の分子系統樹：近縁種との交雑が集団遺伝構造に及ぼす影響. 生物科学 57 (印刷中)
2. 林 文男・土畑重人・二橋 亮 (2005) 日本産カワトンボ属の分類的, 生態的諸問題への新しいアプローチ (2) 資料. Aeschna 42: 1-18.
3. Hayashi, F., Dobata, S. & Futahashi, R. (2005) Disturbed population genetics: suspected introgressive hybridization between two *Mnais* damselfly species (Odonata). Zool. Sci. 22: 869-881.
4. Hayashi, F. & Ichiyanagi, H. (2005) Density dependent shifts in attachment site by the ectosymbiotic chironomid *Nanocladius asiaticus* on its megalopteran host *Protohermes grandis*. Ent. Sci. 8: 253-261.
5. Hayashi, F. & Tsuchiya, K. (2005) Functional association between female sperm storage organs and male sperm removal organs in calopterygid damselflies. Ent. Sci. 8: 245-252.
6. 林 義雄・草野 保. (2006). ミトコンドリア遺伝子 D-loop HV2 領域に基づくトウキョウサンショウウオの地域間変異. 爬虫両棲類学会報 2006(1):8-15.
7. Kato, Y. and Suzuki, T. (2005) Introduced animals in the diet of the Ogasawara buzzard, an endemic insular raptor in the Pacific Ocean. J. Raptor Res.39: 173-179.
8. Kusano, T., Sakai, A. & Hatanaka, S. (2005) Natural egg mortality and clutch size of the Japanese treefrog, *Rhacophorus arboreus* (Amphibia, Rhacophoridae). Current Herpetology 24: 79-84.
9. 草野 保・井上雅文 (2006) 気候温暖化と両生類の繁殖のタイミング：東京都多摩地区の両生類個体群の一例. 爬虫両棲類学会報 2006(1):1-7.
10. Matsuo, Y. (2005) Extreme eye projection in the male weevil *Exechesops leucopis* (Coleoptera: Anthribidae): its effect on intrasexual behavioral interferences. Journal of Insect Behavior 18: 465-477.
11. Matsuo, Y. (2006) Cost of prolonged diapause and its relationship to body size. Functional Ecology (In press).
12. Suzuki, T. (2005) Insemination of workers prior to assuming the position of queen in a temperate paper wasp *Polistes snelleni* Saussure (Hymenoptera Vespidae). Ethology Ecology & Evolution 17: 335-339
13. Suzuki, T. & Morioka, H. (2005) Distribution and extinction of the Ogasawara Islands Honeyeater *Apalopteron familiare* on Chichijima, Ogasawara Islands. J. Yamashina Inst. Ornithol. 37: 45-49.

口頭発表・ポスター発表

14. 林 義雄・草野 保 (2005) ミトコンドリア遺伝子 D-loop 領域に基づくトウキョウサンショウウオの遺伝的多様性. 第 44 回爬虫両棲類学会大会 (仙台)
15. Hayashi, F. & Ichiyanagi, H. (2005) Density-dependent shifts of attachment sites by the ecto-symbiotic chironomid larvae *Nanocladius asiaticus* on their megalopteran hosts *Protohermes grandis*. The 3rd International Symposium on Aquatic Entomology in East Asia (Tianjin, China).
16. Hayashi, F. & Tsuchiya, K. (2005) Functional association between female sperm-storage organs and male-sperm removal organs in calopterygid damselflies. International Symposium on Sperm Competition and Reproductive Strategies (Otaru, Japan).
17. 林 文男・土屋香織 (2005) 交尾器を部分的に切除したカワトンボのオスの交尾行動. 日本動物行動学会

第 24 回大会（東京）.

18. 小林まや・ 坂本信介・鈴木惟司 (2005) 赤外線センサーカメラを用いた都市緑地でのタヌキ・アナグマ・ハクビシンの生態調査. 日本生態学会第 53 回大会（新潟）

19. Sakamoto, S. (2005) 'Home and away' effects in combat and spatial distribution among female *Apodemus speciosus.* Symposium: Ecology and population genetics of *Apodemus* species. The Ninth International Mammalogical Congress (Sapporo).

20. Sakamoto, T. (2005) There are smaller winners: effects of dominance-subordinate interactions in territory acquisition on the distribution of female *Apodemus speciosus*. The Ninth International Mammalogical Congress (Sapporo).

21. 坂本信介 (2006) アカネズミ雌における neighbor-stranger discrimination: dear enemy phenomenon を示さないのは・・・？ 日本生態学会第 53 回大会（新潟）

22. 白井剛 (2005) 多摩動物公園の野生アオサギの、繁殖期後期における分布, 日本鳥学会 2005 年大会（松本）.

23. 武智玲奈・田村典子・林 文男 (2005) アカネズミとオニグルミ種子：採餌行動の個体差. 日本動物行動学会第 24 回大会（東京）.

24. Tamura, N. & Hayashi, F. (2005) Seed size variation of walnuts caused by two species of seed-dispersers. IX International Mammalogical Congress (Sapporo, Japan).

25. Tsuchiya, K. and Hayashi, F. (2005) Change in sperm viability after spermatogenesis until fertilization in the leafhopper producing bundled sperm. International Symposium on Sperm Competition and reproductive strategies, Otaru, Japan.

26. Tsuchiya, K., Kamimura, Y. & Hayashi, F. (2005) Change in sperm viability after spermatogenesis until fertilization in the leafhopper producing bundled sperm. International Symposium on Sperm Competition and Reproductive Strategies (Otaru, Japan).

27. 土屋香織・林 文男 (2005) ミヤマカワトンボの精子置換：オス交尾器の部分切除の影響. 日本動物行動学会第 24 回大会（東京）.

28. 土屋香織・林 文男 (2006) カワトンボ類における日齢に伴うオスの精子の劣化. 第 53 回日本生態学会大会（新潟）.

その他の出版物

29. 二橋 亮・林 文男 (2005) DNA によるトンボの分子系統解析. トンボの調べ方（日本環境動物昆虫学会編）118-126pp., 文教出版.

30. 林 文男 (2005) ヘビトンボ目・ラクダムシ目・アミメカゲロウ目. 日本産幼虫図鑑 (志村隆編) 26-35pp. 学習研究社.

31. 林 文男 (2005) オスの交尾器の進化, メスの生殖器の進化. 日本動物行動学会 NEWS LETTER 46: 9-14.

32. 林 文男 (2006) 陸水の事典（日本陸水学会編), 講談社サイエンティフィック (分担執筆).

33. 草野 保. (2005). 両棲類の生態研究：両棲類の繁殖移動を例として. これからの両棲類学 (松井正文編). 裳華房, pp. 16-27.

34. 草野 保. 2006. 気候温暖化と両生類の繁殖. 実践生物教育研究 (43): 6-12

35. 土屋香織・林 文男 (2006) 精子の挙動と昆虫の配偶行動ム精子の生存率の測定からわかること. 遺伝 60 (5) (印刷中)

.

植物生態学研究室

１．構成

可知直毅、鈴木準一郎*、穂坂尚美(D6)、畑憲治(D5)、古川武文(D3)、中村亮二（D1)、中田望（M2)、松本考史（M1)、佐藤好恵（卒研生)、萩原陽介（卒研生)、中村敏枝（研究生)、鈴木亮（研究生）**、加賀屋美津子(研究生)、鈴木智之（研究生)、富松裕（学振特別研究員)

*独立行政法人科学技術振興機構研究開発戦略センターフェローと兼業　　**9月まで

２．研究紹介

本研究室では、高等植物の生態現象をさまざまな時間的・空間的スケールで多角的にとらえることをめざしている。そのために、フェノロジー観察、植生調査、個体群統計、成長解析、野外実験、栽培実験、数理・統計モデル、分子マーカーを用いた遺伝的解析、生理的特性の測定などの手段を用いて、キャンパス内の温室や圃場や人工気象室、小笠原の海岸草原や乾性低木林、高尾山の温帯林、八ヶ岳の針葉樹林、北米の温帯林、多摩川河川敷、富士山の森林限界、ヨーロッパの半自然草原などの場所で研究を行っている。対象としている植物も、モデル植物であるシロイヌナズナをはじめとする各種の草本植物や木本植物など多岐にわたっている。野外で植物が繰り広げる生態現象の多様性を反映して研究内容も多彩である。詳しい研究室紹介は植物生態学研究室のホームページ（http://dept.biol.metro-u.ac.jp/plantecol/）に掲載されている。ここでは、修士論文、および誌上発表論文について研究課題と概要を紹介する。

１）個体密度が花に与える影響について

植物の有性繁殖のための器官である花に密度がおよぼす影響についての知見は少ない。そこで、植物個体の密度を変化させると花の咲き方に影響がでるという仮説をもとに２つの予測をした。１．密度が変化すると花の大きさよりも、開花数が変化する。２．低密度では個体あたりの種子生産量が多くなる。これらを検証するため、栽培実験をおこなった。

３段階の密度条件のもと、一年生草本のオクラ*Abelmoschus esculentua* Moenchを栽培し、花の大きさ、個体あたりの開花数、種子数、種子重量を測定した。

すべての密度間で花の大きさ、開花数、生産種子数には有意な差がみられ、密度が低いほど大きかった。１粒の平均種子重量は、高密度でのみ有意に小さかった。

花の大きさは密度の影響を受けていたが、密度の影響は花の大きさよりも開花数に強く現れた。１粒の平均種子重量よりも種子数に密度の影響がより顕著に認められた。低密度で種子数が多くなったのは、開花数の増加に起因すると考えられる。

密度が個体の花の咲き方に影響した。個体密度の変化にともなって利用できる資源量が制限されると、花への投資量も変化すると考えられる。今後はその投資量を評価し、植物が花の大きさや開花数にどのように分配するのかについて明らかにする必要がある。(佐藤好恵・卒業研究)

２）時間的に不均質な水分供給が植物個体重におよぼす影響の土壌栄養塩量による変化

資源の分布に対する植物の応答が他の資源の供給に応じてどのように変化するかについては、ほとんど知見がない。そこで、植物の成長に対する水分供給の時間的不均質性の影響が土壌栄養塩量によって変化するという仮説を栽培実験により検討した。貧栄養下では、水の利用機会が少ない場合は、多い場合よりも栄養塩の獲得効率が低下するため、個体重が小さいと予測した。一方、富栄養下では、水の利用機会が少ない場合でも十分な量の栄養塩を

獲得するため、水の利用機会による個体重の差は生じないと予測した。

材料にはシソ（*Perilla frutescens*）を用いた。水の利用機会の異なる３頻度の給水条件を設定し、栄養塩量２条件との組合せによって、個体重に対するそれらの効果を検討した。

個体重は富栄養条件下でより大きかった。富栄養条件下でのみ、高頻度給水条件で他給水条件よりも個体重が有意に大きかった。貧栄養条件下では給水頻度間で個体重に差がみられなかったことから、水の利用機会に加えて、一度の給水量の違いが個体重に影響したと考えられる。

本研究は、時間的に不均質な水分供給が植物の成長におよぼす影響が、土壌栄養塩量によって変化することを定量的に示した初めての例である。資源の不均質分布が植物におよぼす影響を評価する際には、他の資源の供給の影響についても考慮しなければならない。（萩原陽介・卒業研究）

３）ミヤコグサ野生系統における成長特性の変異とその生態学的意義

植物の成長速度は生存や繁殖と強く関わる形質であり、適応度評価のための指標となり得る。成長速度は、個体の初期バイオマスと相対成長速度(RGR)の積として計算される。RGRは、成長解析により生理的要素(NAR)および形態的要素(LAR)に分解される。本研究では、窒素固定能をもつモデル植物、ミヤコグサ(*Lotus japonicus*)を材料として、(1)ミヤコグサ野生系統には、RGRの系統間変異があるのか？(2)RGRの系統間変異はRGRのどの要素の変異により生じるのか？ (3)窒素固定は、RGRやその構成要素にどのような影響を及ぼしうるのか、の３点について成長解析により検討した。

各系統のRGRは、自生地の緯度の増加と負の相関関係を示した。RGRはNARと強い正の相関関係を示した。これらの結果から、ミヤコグサ野生系統間には成長特性の変異があり、低緯度地域に自生する系統ほど、高いNARに起因する高いRGRを持つ可能性が示唆された。非窒素固定時には、LARはRGRの高い系統ほど大きかった。高緯度地域由来の系統ほど低いLARを示す傾向は、生育環境に対する耐性の程度と関連するかもしれない。窒素固定はすべての系統のRGRを高めた。窒素固定時には、非窒素固定時に見られたLARの系統間変異が見られなくなった。これらは高緯度地域の系統のLARが増加したためであった。窒素固定は高緯度地域に自生する系統に対し、環境ストレスを緩和する効果があるかもしれない。（中田　望・修士論文）

４）カワラノギクの種子発芽に対する湿潤と乾燥の繰り返しの影響

カワラノギクの種子を異なる湿潤期間と乾燥期間の繰り返し条件に実験的に曝した。連続湿潤条件では９日間ですべての発芽可能な種子が発芽した（発芽率97.5%）。一方、湿潤期間と乾燥期間の繰り返し条件では発芽速度が遅れ、１日間湿潤―３日間乾燥の条件では、実験開始後50日目で発芽率は50%に達した。このことから、河川敷でカワラノギクの実生の出現が数ヶ月間に渡って見られることに、降水による湿潤と晴天による乾燥が河川敷の地表面で繰り返されること、そして石による被陰の有無によって湿潤期間や乾燥期間の長さが空間的に不均一であることが関与している可能性が示唆された。（加賀屋美津子・原著論文）

５）林床生クローナル低木*Asimina triloba*の長期生存に関わる新規ラメットの役割

林床生クローナル低木*A. triloba*が閉鎖林冠下で生産する新規ラメットの特徴について、北米Marylandの二次林にて調査した。3年間に加入したラメット数は死亡したラメット数を上回ったが、全ラメット数に対する両者の割合は一定であり、少ないラメットで構成された個体ほど盛んにラメットを生産する傾向は見られなかった。新規ラメットの基部直径は1年生以上のラメットに比べ小さいが、加入後1年間の絶対成長量と死亡率に有意な差は見られなかった。これらの結果より*A. triloba*は生産したラメットの死亡率が低いために閉鎖林冠下でも長期生存することが示唆された。（穂坂尚美・原著論文）

６）二年草オオハマボッス個体群における空間分布の年変動

植物個体群の空間動態を理解するには、世代内の死亡の空間パターンだけでなく、世代更新の空間パターンも明

らかにする必要がある。大小さまざまな礫がモザイク状に分布する海岸に生育する一回繁殖型二年草オオハマボッス*Lysimachia rubida*を対象に、５世代にわたる空間分布の変化を追跡した。礫環境の効果を個体の空間分布を決める主要因として仮定し、それ以外の生態学的要因の効果を検出するために、礫環境と個体密度の関係を考慮した無作為化検定法を開発した。

礫環境と個体の空間分布の関係を解析した結果、観察された個体の空間分布は礫サイズの小さな環境により集中して分布している傾向が統計的に検出された。そこで、礫環境へと個体密度の関係を観察値と同様に保ったまま個体の配置を無作為化する検定を行った。その結果、個体の空間分布は集中し、とくに実生個体が前年の繁殖個体の周囲に集中していた。このことは、種子散布が繁殖個体の周囲に制限されている可能性を示唆する。さらに、世代の異なる繁殖個体は互いに近接して分布することも統計的に示された。この結果は、個体が定着した生育パッチは世代間で重複することを示唆する。本研究の結果から、パッチ環境での植物個体群の空間動態を決める世代内世代間プロセスが示された。(鈴木亮・原著論文)

上記以外の継続中の研究課題は、植物生態学研究室のホームページ(http://dept.biol.metro-u.ac.jp/plantecol/)に紹介されている。

３．研究交流

・2005 年 7 月に東京大学理学研究科附属植物園日光分園で、東大植物生態グループと合同セミナーを行なった。
・2006 年 1 月から 3 月に中村亮二が、大学院イニシアティブ事業の一環として Institute of Botany, Academy of Sciences of the Czech Republic に滞在し共同研究を行った。
・2006 年 3 月に穂坂尚美が、大学院イニシアティブ事業の一環としてオランダの Radboud University Nijmegen に滞在し共同研究を行った。

４.各種活動

・2005 年 8 月に実施された港区の港区こどもエコツアー（長野県北八ヶ岳縞枯山）に講師およびインストラクターとして可知・中村(亮)が参加した。
・2005 年 8 月に可知がオープンユニバーシテイー「ボランティアレンジャー養成講座」を担当した。
・2005 年 8 月に可知がお茶の水大学で集中講義を行った。
・2005 年 8 月の大学説明会および 11 月の大学祭（みやこ祭）の理工学系オープンラボで研究室紹介のポスター展示を行った。
・2005 年 9 月に可知が東京大学生物学科の野外実習を担当した。
・2005 年 11 月に可知が C.W.ニコル氏, 野口健氏とともにオープンユニバーシテイー「ボランティアレンジャー養成講座」特別講義を担当した
・2006 年 3 月に開催された国立科学博物館附属自然教育園 生態学講座「植物の生活」の講師として富松が講義を行った。

５．研究発表

誌上発表（原著論文）

Suzuki, R. O., Suzuki, J-I., H. & Kachi, N. (2005) Change in spatial distribution patterns of a biennial plant between growth stages and generations in a patchy habitat. Annuals of Botany 96: 1009-1017

Shimamura, R., Kachi, N., Kudoh, H. & Whigham, F. D. (2005) Visitation of a specialist pollen feeder Althaeus hibisci Olivier (Coleoptera: Bruchidae) to flowers of *Hibiscus moscheutos* L. (Malvaceae). Journal of the Torrey Botanical Society 132: 197-203

Hosaka, N., Gomez, S., Kachi, N., Stuefer, J. F. & Whigham, D. F. (2005) The ecological significance of clonal growth in the understory tree, Pawpaw (*Asimina triloba*). Northeastern Naturalist 12: 11-22

Kagaya, M., Tani, T. & Kachi, N. (2005) Effect of hydration and dehydration cycles on seed germination of *Aster kantoensis* (Compositae). Canadian Journal of Botany 83: 329-334

Suzuki, J-I., Herben, T.& Maki, M. (2004) An under-appreciated difficulty: sampling of plant populations for analysis using molecular markers. Evolutionary Ecology 18: 625-646

その他の出版物

Nakata, N. & Kachi, N (2005) Latitudinal variation of relative growth rate and its ecological significance in Lotus japonicus. Journal of Plant Research 118 Supplement:67

可知直毅・西谷里美 (2005) 男女共同参画学協会連絡会第３回記念シンポジウム参加報告、日本生態学会ニュースレター No.5:1-2

富松裕 (2005) 生育場所の分断化は植物個体群にどのような影響を与えるか？ 保全生態学研究 10: 163-171

富松裕・大原雅 (2005) 林床植物個体群の存続を脅かす要因: オオバ ナノエンレイソウの保全生物学、 草木を見つめる科学: 植物の生活史研究 (種生物学会編) :163-182 文一総合出版

畑　憲治・可知直毅 (2005) ギンネムが在来種の種子発芽と実生の成長に与える影響について、 平成 16 年度小笠原国立公園植生回復調査報告書:180-18 (財) 自然環境研究センター/東京都小笠原支庁

Nur Supardi md. Noor, Suzuki, R., Kachi, N., Numata, S. & Okuda, T. (2005) Spatial pattern and habitat association of Dipterocarp species ina Malaysian tropical forest. Research Report of the NIES/FRIM/UPM Joint Research Project 2004:38-43 National Institute for Environmental Studies

可知直毅 (2005) ほんものの自然を知ろう―『こどもエコツアー』のねらいと成果―、 平成 17 年度港区子どもエコツアー実施報告集:2

平石直昭・伊藤隆司・入來正躬・可知直毅・鳥海光弘・和達三樹 (2005) 学問とは何か：荻生徂徠のある方法的発見から、 岩波科学 75:638-650

土屋賢二・伊藤隆司・可知直毅・鳥海光弘・橋田浩一・和達三樹 (2005) ツチヤの「科学者の生活はどうなっているんでしょうか」(前編)、 岩波科学 75:351-362

土屋賢二・伊藤隆司・可知直毅・鳥海光弘・橋田浩一・和達三樹 (2005) ツチヤの「科学者の生活はどうなっているんでしょうか」(後編)、 岩波科学 75:490-501

口頭発表・ポスター発表 (国際学会および招待講演のみ)

Tomimatsu, H. & Ohara, M. (2005) Demography of fragmented populations of a long-lived common plant. 90th Annual Meeting of the Ecological Society of America/IX International Congress of Ecology (Montre'al, Canada).

Tomimatsu, H. (2005) Does forest fragmentation affect the long-term population persistence of forest herbs? . The 22nd Symposium of the Society of Population Ecology (Kaga (Ishikawa))

Tomimatsu, H., Ohara, M. (2006) Projection matrix analysis of the demography of fragmented populations of a long-lived common plant. The Third Okazaki Biology Conference "The Biology of Extinction 2" (Okazaki)

その他、日本生態学会第 53 回大会 (新潟)、関東地区生態学関係修士論文発表会 (首都大学) 日本植物学会第 69 回大会 (富山)、第 37 回種生物学シンポジウム (八王子)などで計 21 件の発表を行った。口頭発表の詳細は研究室ホームページ (http://dept.biol.metro-u.ac.jp/plantecol/) に掲載されている。

動物系統分類学研究室

1. 構成

小林幸正、渡辺信敬、清水　晃、宇津木望（D4)、新津修平（D3)、橋本幸宜（M2）

2. 研究紹介

本研究室は昆虫類を主な研究対象としている。昆虫類は動物の中で最も種類数が多く、きわめて多様性に富んでいるため、その系統的背景もさまざまである。そのため研究にもいろいろな切り口があるが、本研究室では、伝統的な記載的分類学の他に、微細構造や発生の様式などを含む比較形態学、習性の比較を行う比較行動学、地理的な関係を考察する生物地理学、分子から系統を見る分子系統学などの手法を用いて、昆虫の系統分類および形態や習性などの進化に関する研究を行っている。本年度は、鱗翅目のコバネガ、ドクガ、ミノガ類、甲虫目のガムシ、アキマドボタル、膜翅目のクモバチ（ベッコウバチ)、双翅目のムシヒキアブ類、毛翅目のトビケラ類が主な研究対象となった。また、標本類（約８万点）の保管・管理や新たな標本の収集も行っているが、現在は甲虫目オサムシ類、高等膜翅類（ハチ類）の標本整理が継続的に行われている。

1）鱗翅目昆虫の系統分類学的および形態学的研究

昨年に続き日本および世界のコバネガ類の分子系統学的ならびに進化史的研究を行った。コバネガは鱗翅類で最も原始的なグループと見なされているため、その系統関係を調べることは鱗翅類の起源や初期の進化を推定する上で貴重なデータとなる。世界に広く分布するが、大半の種で移動能力が非常に低く、その分布は局所的かつ遺存的である。したがって、コバネガの系統関係を知ることは、このガ類の生物地理学、すなわち現在の世界分布がどのように生じたかを推定する上でも、非常に重要である。これまでに、国内外の研究者の協力を得て、日本を含む東アジア、ヨーロッパ、カナダ、コスタリカなどの北半球の種群のサンプルと、オーストラリア、ニュージーランド、ニューカレドニア、チリ、南アフリカ、マダガスカルなどの南半球のサンプルを入手した。これにより世界のコバネガのほぼ全属（12 属約 50 種）をカバーする規模で種間および属間の分子系統解析を進めている。現在までに、主にミトコンドリアの ND5 および 16SrRNA 遺伝子の塩基配列から以下のような点が明らかになった。①東アジアとカナダに分布する 5 属（*Micropterix* 属を除く）は単系統群を形成し、この中で日本と台湾にそれぞれ固有の *Neomicropteryx* 属と *Palaeomicroides* 属が姉妹群となる。②オセアニア地域の広義の *Sabatinca* 属は、オーストラリアに固有の種群（新属に相当)、ニュージーランドとニューカレドニアで種分化した狭義の *Sabatinca*-group、および単一種からなる *S. porphyrodes* の３グループに分割される。③アフリカ、マダガスカル、チリ、およびコスタリカの属は単系統群を形成することが示唆され、オーストラリアの *S. porphyrodes* もこのクレードに入る可能性が極めて高い。④ヨーロッパに多くの種を擁する *Micropterix* 属を生じた系統の起源は極めて古いが、種分化の時期は比較的新しい。しかしながら、これら５つのグループ間の系統関係や分岐順序のより正確な解明には、進化速度のより遅い遺伝子の導入が必要であり、現在、ロンドン自然史博物館のスタッフと共同で核の遺伝子の解析も進めている。(小林、鈴木（オリンパス)、宇津木、橋本里志（名古屋市)、三枝（九大)、Gibbs（Victoria 大学)、Lees（London 自然史博物館)、Davis（Smithsonian 博物館))。

ガ類の形態学的研究では、ミノガ科やシャクガ科などで見られる翅の退化現象に着目し、翅退化のプロセスに関する比較形態学的研究を行っている。今年度は、これまでに対象とした６種のガ類、すなわち痕跡翅型に属するフチグロトゲエダシャク（シャクガ科)、アカモンドクガ（ドクガ科)、ミノガ科無翅有脚群のアキノヒメミノガ、ハイイロチビミノガ、およびヒメミノガの未記載種 *Psyche* sp.、およびミノガ科の無翅無

脚群に属するオオミノガについて、翅退化プロセスをまとめるとともに、既知の研究等との比較から、翅退化プロセスを次の４つに類型化した。① 蛹翅非伸展型(翅が羽化不全、ヒメシロモンドクガ、フユヒトリ類)、② アポトーシス１回型（フユシャクガ類、痕跡翅型ドクガ類)、③ アポトーシス２回型（無翅有脚群のミノガ類)、④ 翅原基未発達型（無翅無脚群のミノガ類、無翅型ドクガ類)。また、無翅化の内分泌学的要因を探るために、オオミノガを対象にして、変態を誘導する脱皮ホルモン（20E）と、幼形性を維持する幼若ホルモン類似体（JHA）のメソプレンが、培養実験下で翅原基の発育にどのように影響を及ぼすかを調べた。その結果、メスの翅原基では 20E に対する応答能が欠落していることが示唆された（新津)。

２）膜翅目昆虫（ハチ類）の系統分類学的研究

クモバチ（ベッコウバチ）科 Pompilidae の研究では、形態学的にも行動学的にも最も特殊化の進んだグループと考えられるヒメクモバチ（ヒメベッコウ）族 Ageniellini（ムカシクモバチ亜科 Pepsinae）の系統解析を、形態形質に基づいて、属レベルで行った。その結果得られた系統仮説に基づき、このグループの分布、獲物選択性、行動などの進化的過程について考察した。

また、本州から得られた複数の標本に基づき、クモバチ科ナミクモバチ亜科 Pompilinae の 1 種 *Hanedapompilus yagagishii* を新属新種として記載した。

比較行動学的研究では、ヤドリクモバチ *Irenangelus pernix* sensu Yasumatsu,1933 の行動に関する野外調査を行った。その結果、労働寄生者としての本種の特異な行動や、それらに関連した形態の特殊化が明らかになった（清水)。

３）甲虫類の系統分類学的および形態学的研究

甲虫のガムシ類では、水生ガムシ類の微細構造について、比較を行った。特に、種特異的形質を持つ発音器官・雄性外部生殖器官・小腮鬚端部は、分類学的にも重要であり、ゴマフガムシ属・シジミガムシ属の問題群を検討する際に、有力な手掛りとなった。(渡辺信敬)

また、ホタル類では、数年前から調査を始めたアキマドボタルの胚発生様式と越冬との関連が明らかになったので発表した。本種は大陸性のホタルで、日本では長崎県対馬のみに分布する。本種はホタル類では唯一確実に卵で越冬する種であるが、越冬中に胚休眠が起こるか、起こるとすればどの発生段階かなど、その生活史の上で興味あるテーマが未解決のままであった。そこで、2000 年に採卵した卵を材料にして、発生ステージごとに組織切片標本を作製して調べたところ、胚発生のかなり初期、すなわちホタル類に特有の球状の胚原基が完成した段階で、約５ヶ月におよぶ非常に長い休眠状態に入ることが判明した（渡辺友、小林、鈴木（オリンパス))。

４）トビケラ目の比較形態学的研究

トビケラ目はシマトビケラ亜目 Annulipalpia、エグリトビケラ亜目 Integripalpia、ナガレトビケラ亜目 Spicipalpia の３亜目に分けられているが、これらの間の系統関係、とりわけナガレトビケラ亜目の系統上の位置については議論が多い。トビケラ類の胚発生は、初めの２亜目に属する幾つかの種で調べられており、両亜目の胚原基の形成様式には大きな違いが認められる。この違いは系統を反映したものであることが示唆されているが、ナガレトビケラ亜目の発生学的知見は全くない。そこで、トビケラ目の系統を比較発生学的観点から考察する目的で、ナガレトビケラ亜目に属するキヨスミナガレトビケラの胚発生の研究を行っている。昨年度に続き、室内での採卵に成功し、卵期間（約 17 日)、卵サイズ、胚発生の概略などについて基礎的データを得た（小林、倉西（千葉県博))。

この他にトビケラ目では、昨年に引き続き、成虫の第５腹節腹板に存在するフェロモン分泌腺の比較形態学的研究を行った（下図参照)。この分泌腺の組織学的知見はこれまで非常に不充分であるため、本年度はヒゲナガカワトビケラ、ムラサキトビケラ、エグリトビケラの３種に重点を置き、電顕用の樹脂包埋切片や

走査型電顕によりこれらの種の分泌腺を詳細に観察した。その結果、分泌腺の開口部は３種とも共通して三日月型を呈すること、分泌腺の貯嚢の薄膜は体表および導管のクチクラと連続することなど、分泌腺に関する細かな組織構造について、Ivanov らによる先行研究では不明瞭な点を明らかにした（橋本、小林)。

５）他の昆虫類

双翅目昆虫では、日本産ムシヒキアブ科の系統分類学的研究を行った。この科は双翅目短角亜目直縫群に属しており原始的な短角亜目の一つとされている。世界的に分類学的・系統学的研究は極めて不十分であるため、その記載分類と分子マーカーを用いた系統解析を行っている。今年度は、日本各地から標本の採集をおこなった結果、ムシヒキアブ亜科 Asilinae の *Philonicus* 属、イシアブ亜科 Laphriinae の *Choerades* 属、ヒゲボソムシヒキ亜科 Stenopogoninae の *Ceraturgus* 属からそれぞれ１種ずつ未記載種を発見し、またメガネムシヒキ亜科 Trigonomiminae の *Damalis* 属から１種の日本未記録種を見出し、これらについて発表の準備を行った（宇津木)。

６）その他

本年度から多摩地域の生物多様性保全研究の一環として、同地で昆虫相の調査を始めた。

なお、小林は「完全変態類昆虫を中心とする比較発生学、系統発生学的研究」の業績により、日本節足動物発生学会から第２回「丘英通賞」を受賞した。

3. 研究発表

誌上発表

1. Kobayashi, Y. (2006) Character phylogeny in lepidopteran embryogenesis: Its revaluation and issues to be resolved. Proceedings of Arthropodan Embryological Society of Japan, 41: (in press)
2. Kobayashi, Y., Watanabe, T. & Suzuki, H. (2006) Embryonic development of the firefly *Pyrocoelia rufa* Olivier (Insecta: Coleoptera, Lampyridae) with special reference to its hibernal diapause. Proceedings of Arthropodan Embryological Society of Japan, 41: (in press)
3. Shimizu, A. & Wahis, R. (2005) A new genus and species of Japanese Pompilinae (Hymenoptera, Pompilidae). Journal of Hymenoptera Research, 14: 111-116.

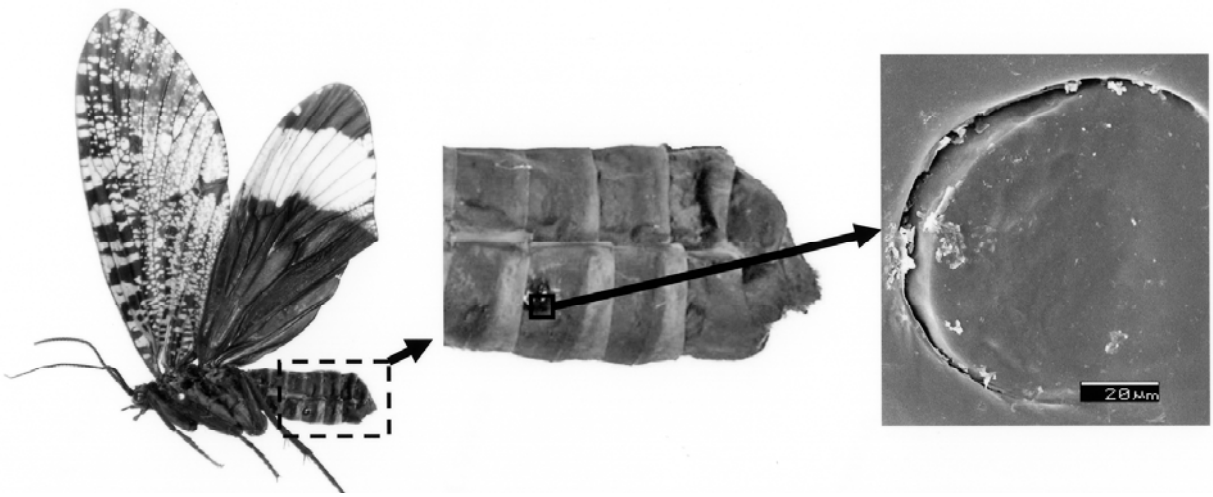
口頭発表

4. 小林幸正（2005）鱗翅目の胚発生における形質系統.日本節足動物発生学会第 41 回大会・第２回「丘英通賞」受賞講演（犬山）
5. 小林幸正・渡辺友・鈴木浩文（2005）アキマドボタル *Pyrocoelia rufa* の胚発生－特に初期胚での越冬について－.日本節足動物発生学会第 41 回大会（犬山）
6. 小林幸正・渡辺友・鈴木浩文（2005）アキマドボタル *Pyrocoelia rufa* の胚発生の概要と胚休眠. 日本昆虫学会第 65 回大会（岡山）
7. 新津修平（2005）培養系からみたオオミノガ翅原基における内分泌制御. 日本昆虫学会第 65 回大会（岡山）
8. 新津修平、泉進、藤原晴彦（2005） オオミノガ翅原基の組織培養化の試み. 日本節足動物発生学会第 41 回大会（愛知）

その他の出版物

9. 可知直毅・小林幸正（2005）生物モニタリングと生物標本. 多摩川流域の生物モニタリング　～未知の環境問題を検知するために～. pp.2. 多摩川流域の生物モニタリング研究会.
10. 新津修平（2005）どうやってハネは消えるの？ 早春に現れる蛾、フチグロトゲエダシャクのナゾ. 昆

虫発見、4：16－19.
11. 新津修平（2006）関東地方におけるオオミノガの衰退. 昆虫と自然、41(2)：9-11.
12. 清水 晃（2005） ヤドリベッコウの労働寄生. 国立科学博物館ニュース，434：12-13.



ムラサキトビケラ（メス）の第５腹節に見られるフェロモン分泌腺の三日月型の開口部
この分泌腺はオスにもあり、性フェロモンを分泌するが、その機能には不明な点も多い。

植物系統分類学研究室

1. 構成

若林三千男、菅原　敬、加藤英寿、藤井紀行、仙仁　径（D5)、加藤朗子（D5)、渡辺謙太（M2 休学)、槙えりな（M1)、西出真人（M1)、青木麻知（卒研生)、井上淳（卒研生)、近藤よし美（卒研生)、鈴木辰雄（卒研生)、中田牧子（卒研生)、宮なろう（卒研生)、堂囿いくみ（研究生)、富田昇（研究生）

2. 研究紹介

本研究室では、主に維管束植物を対象とした系統分類学的研究及びこれと密接に関連する植物地理学的、進化生物学的研究を行っている。そのために肉眼レベルから走査電顕レベルにいたる形態の比較、染色体の比較解析、酵素多型やDNA 塩基配列の解析、昆虫と植物の相互作用の解析など、様々な手法を駆使して進めている。また、広い視野にたって植物の多様性を捉えるため、海外での現地調査や標本資料の収集も進めており、本年度はミャンマーなどで調査を行った。国内では特に小笠原諸島における植物の種分化や保全に関する研究を行った。なお、牧野標本館の管理運営は本研究室が主体となって進めている。

以下に構成員の研究を具体的に紹介する。

1）維管束植物の分類学的研究

ヒマラヤ地域、中国雲南省、四川省、チベットおよび中央アジア山岳地帯で多様化したユキノシタ属、ネコノメソウ属、イワベンケイ属などを対象に、その染色体数、核型および外部形態の比較分析から分類学的解析を行っている。また、日本産ネコノメソウ属数種（特にイワボタン、コガネネネノメソウ）の種内分類群の再検討を目的に、花、種子等の地理的変異、および染色体解析を行っている（若林)。

北陸から山陰地方、ならびに鈴鹿山地、奄美・徳之島諸島に生育するカンアオイ属植物の分類学的研究を進めた。また、カンアオイ節やタイリンアオイ節諸種について分子系統学的解析（共同研究）も進めた。さらに、海外ではミャンマー植物相とその多様性を探るプロジェクトの一環として、カチン州フーコンバレー周辺での調査を継続して進め、ミャンマー産カンアオイの系統的位置について発表した（菅原)。

奥多摩地域、および長野県南部で採取されたコウツギに類似した花序をもつ植物の分類学的研究を行った。形態計測、染色体観察、花粉サイズの計測から、この植物はコウツギではないことがわかった（青木)。

多摩丘陵周辺の固有種であるタマノカンアオイの分布調査を行った。その結果、多摩丘陵において宅地造成やアズマネザサの繁茂によってタマノカンアオイの生育地が狭められている可能性が示唆された（鈴木)。

2）海洋島における種分化・生物多様性保全に関する研究

小笠原諸島において、在来生物相に深刻な影響を及ぼしている外来生物種の生態や抑制手法に関する研究、及び外来植物の管理対策を適切に行うためのリスク評価システムの研究を行っている（加藤英)。

小笠原固有のシロテツ属（ミカン科）植物を材料として、海洋島における種分化過程の解明を試みている。昨年度に引き続き小笠原諸島全域の集団について生態的・形態的および遺伝的解析を行い、集団間の分化パターンを推定した（加藤朗)。

小笠原諸島に分布する外来種の集団構造を明らかにすることの一端として、*Bidens pilosa*(広義)において花・痩果形態及び開花時期の調査を行った。その結果、すべての形質において変異が連続しており、明確な集団構造は認められなかった（宮)。

3）系統地理学的研究

南米アンデス山脈の高山フロラの成立過程を探るために、*Gunnera magellanica*（グンネラ科）の分子系統地理学的解析を行った。集団間 レベルの系統解析の結果、地理的にまとまる２つの系統が示唆された。 両者の分布域はチリ北部アタカマ砂漠を境に別れていた（藤井)。

日本列島の高山フロラの成立過程の解明を目的に、ハクサンイチゲ、ミヤマタネツケバナ、トウヤクリンドウ、ミネズオウ、エゾシオガマの５種を用いてそれぞれ系統地 理学的解析をおこなった。その結果、トウヤクリンドウとエゾシオガマでは３つのクレードが、それ以外の種では２つのクレードが認識された。また全種において本州中部山岳を中心に分布するクレードが認められ、本州中部山岳が温暖な時期のレフュー ジア（避難場所）であった可能性が示唆された（仙仁)。

日本列島固有種群であるネコノメソウ属イワボタン列について、核 DNA を用いた分子系統地理学的解析を行った。新たに用いた核 rDNA の ETS 領域は、ITS 領域に比べて個体内多型が少なく、系統樹の解像度もほぼ同等であった。今後は、ITS、ETS の両領域を用いて系統解析を進めていく予定である（富田)。

4) 花形態の多様性・送粉様式に関する研究

小笠原諸島固有種ムニンハナガサノキ（アカネ科）の性表現が実際どのように機能し、そしてどう進化してきたかを調査した。その結果、ムニンハナガサノキは形態的・機能的にも雄性両全性異株である事が強く示唆された。また、この性型は異型花柱性を介して進化してきた可能性のあることもわかってきた（西出)。

花筒長と送粉昆虫の口吻長のマッチングは、送粉効率を高める重要な要素と見なされている。筒型の花をもつシソ科カメバヒキオコシについてこれを検証するため、野外（奥多摩三頭山麓）での送粉様式の調査と授粉実験を行った（槙)。

日本産イブキジャコウソウ（シソ科）の花に変異が見られたことから、その性表現を明らかにするために花形態や雌雄機能の調査を行った。その結果イブキジャコウソウは両性花と、雄蕊はあっても雄性機能がほぼ失われた雌性花をもつ、雌性両全性異株である可能性が高いことが示された（中田)。

小笠原固有植物オオシラタマカズラ（アカネ科）について、異型花柱性としての特性を明らかにするために、花形態や花粉形態の観察、受粉実験による花粉発芽能力の有無の調査等を行った。その結果、オオシラタマカズラは異型花柱性である可能性が高いことが示された（近藤)。

植物の花形態や繁殖戦略の進化を明らかにすることを目的として、ヤマハッカ属（シソ科)・センニンソウ属（キンポウゲ科）などマルハナバチ媒花植物を対象に、マルハナバチの行動（吸蜜効率）と送粉効率の関係を調査した（堂囿)。

3. 研究発表

誌上発表

1. Fujii, N. and K. Senni (2006) Phylogeography of Japanese alpine plants: biogeographic importance of alpine region of central Honshu in Japan. Taxon (in press).
2. Kato, H., K. Hata, H. Yamamoto and T. Yoshioka (in press) Effectiveness of weed risk assessment system for plant introductions to the Bonin Islands. In：Proceedings of Assessment and Control of Biological Invasion Risks.
3. Kobashi, S., N. Fujii, A. Nojima, N. Hori (2006) Distribution of chloroplast DNA haplotypes in the contact zone on *Fagus crenata* in the southwest of Kanto District, Japan. J. Plant Res. (in press).
4. Murata, J., H. Murata, T. Sugawara and S.G. Wu (2006) New or noteworthy chromosome records in *Arisaema* (Araceae) (3). J. Jpn. Bot. (in press).
5. Okuyama, Y., N. Fujii, M. Wakabayashi, A. Kawakita, M. Ito, M. Watanabe, N. Murakami, and M. Kato (2005) Nonuniform Concerted Evolution and Chloroplast Capture: A Gradient of Observed Introgression Patterns in Three Molecular Data Partition Phylogenies of Asian *Mitella* (Saxifragaceae). Molecular Biology and Evolution 22: 285-296.
6. Pfosser, M., G. Jakubowsky, P. M. Schluter, T Fer, H Kato, T Stuessy and B.-Y. Sun (2005) Evolution of *Dystaenia takesimana* (Apiaceae), endemic to Ullung Island, Korea. Plant Systematics and Evolution 256:

159-170.

7. Senni, K., N. Fujii, H. Takahashi, T. Sugawara, and M. Wakabayashi (2005) Intraspecific chloroplast DNA variation of the alpine plants in Japan. Acta Phytotaxonomica et Geobotanica. 56: 265-275.
8. Sugawara, T., N. Fujii, K. Senni, and J. Murata (2005) Morphological and karyological characteristics and phylogenetic relationship of *Asarum cordifolium* C. E. C. Fisch. (Aristolochiaceae) occurring in Myanmar. Acta Phytotaxonomica et Geobotanica. 56: 247-255.
9. Takayama, K., T. Ohi-Toma, H. Kudoh and H. Kato (2005) Origin and diversification of *Hibiscus glaber*, species endemic to the oceanic Bonin Islands, revealed by chloroplast DNA polymorphism. Molecular Ecology 14: 1059-1071.
10. Tanaka, N. and T. Sugawara (2006) The use of edible *Canna* in Kachin State, Upper Myanmar. J. Jpn. Bot. (in press).

口頭・ポスター発表

11. Fujii, N., K. Senni, T. Sugawara, and M. Wakabayashi (2005) Phylogeography of Japanese alpine plants. XVII International Botanical Congress, Austria Center Vienna.
12. 池田啓・仙仁径・藤井紀行・瀬戸口浩彰 (2005) 葉緑体 DNA による日 本産高山植物の系統地理学的研究. 日本植物学会第 69 回大会 (富山)
13. Jayasekara, P., H. Kato, K. Horikoshi and Y. Ide (2006) Invasive black rats and Minamijima island in Ogasawara,What is happening there? 第 53 回日本生態学会大会 (新潟)
14. 加藤英寿 (2005) 小笠原における外来種リスク評価システムの有効性と活用法. シンポジウム「外来種のもたらすリスクと生物多様性保全」(東京)
15. 加藤英寿 (2005) 固有生態系保全のための雑草リスク評価導入に向けて-小笠原諸島での取り組み-. 日本雑草学会第 20 回シンポジウム (栃木).
16. Katoh, S. and H. Kato (2005) Morphological and genetic diveristy of endemic genus *Boninia* in the Bonin (Ogasawara) Islands, Japan.XVII International Botanical Congress (Vienna, Austria).
17. Ohi-toma, T., T. Sugawara, H. Murata, S. Wanke, C. Neinhus and J. Murata (2005) Molecular phylogeny and revision of *Aristolochia* sensu lato (Aristolochiaceae), as inferred from *rbc L*, *mat K* and *PHYA* genes. XVII International Botanical Congress (Vienna, Austria).
18. 仙仁径・藤井紀行・若林三千男 (2005) 日本産高山植物５種の葉緑体 DNA にもとづく系統地理学的解析. 日本植物学会第 69 回大会 (富山).
19. 菅原敬・堀田満・田畑満大・藤井紀行 (2006) 奄美群島域カンアオイ属植物の分布と分化. 日本植物分類学会第 5 回大会 (沖縄)

その他の出版物

20. 加藤英寿 (印刷中) 小笠原諸島の固有生態系保全のための外来植物リスク評価システムについて. 小笠原研究 31.
21. 堀田満・菅原敬・田畑満大 (2005) 奄美群島域でのカンアオイ類の分布と分化, pp1ー26. 西南日本植物情報研究所.
22. Sugawara, T. (2006) *Asarum* (Aristolochiaceae). *In*: Iwatsuki, K. *et al.* (eds.), Flora of Japan IIa, Angiospermae-Dicotyledoneae. Kodansha, Tokyo (in press).

連携大学院矢倉研究室

（財）東京都医学研究機構、東京都神経科学総合研究所、免疫統御研究部門

1. 構成

矢倉英隆、水野一也、中田和子、小澤智子、松八重雅美、林啓智、久永真市（客員研究員）

2. 研究紹介

当研究部門では、免疫系のリンパ球とマスト細胞の活性化、不活化に至る細胞内シグナル伝達機構について、チロシン脱リン酸化酵素（PTP）に焦点を合わせて解析している。それらの成果をもとに免疫病の診断や治療への応用を目指している。

1）CD45の基質の解析

PTPの分子機構の解明には基質の同定が必須になるが、未だ明らかにされていないのがほとんどである。当部門ではCD45の基質としてSrc型チロシンキナーゼを同定し、その制御機構を解析してきた。本計画では、CD45の新たな基質を同定し、リンパ球シグナルの詳細を明らかにすることを目的としている。すでにCD45欠失B細胞でリン酸化の亢進した蛋白数種検出しており、その同定のためのマススペクトル解析にかける資料調整の条件検討を行った。

2）マスト細胞活性化を制御するPTPの同定とその分子機構

SHP-1：造血系のSHP-1が、アダプター分子SLP-76を基質として、JNKの活性化を選択的に制御し細胞の運命を決定していることを明らかにした（論文1）。さらに、マスト細胞の高親和性IgE-Fcレセプター（FceRI）を介するシグナルにおけるSHP-1の役割を解析した。その結果、SHP-1が自らを脱リン酸化し、カルシウム反応を増強し、脱顆粒、サイトカイン産生を抑制することを明らかにした。

PTPe：PTPeはFceRIシグナルで誘導されるカルシウム反応、MAPキナーゼ活性化、脱顆粒、サイトカイン産生をネガティブに制御していることを明らかにし、現在その分子機構を解析している。

PTP-PEST：この酵素は脱顆粒には関与しないがサイトカイン産生に至る経路をポジティブに制御すること、不活型の酵素に2−3種のリン酸化蛋白が結合することが明らかになり、現在その性状について解析を進めている。

3. 研究発表

誌上発表

1．Mizuno K, Tagawa Y, Watanabe N, Ogimoto M, and Yakura H (2005) SLP-76 is recruited to CD22 and dephosphorylated by SHP-1, thereby regulating B cell receptor-induced c-Jun N-terminal kinase activation. *Eur. J. Immunol.* 35: 644-654

2．水野一也、矢倉英隆 (2005) チロシンホスファターゼによる免疫系の制御. 生化学 77: 1281-1290

3．矢倉英隆 (2005) PEP (PEST domain-enriched tyrosine phosphatase) / LYP (Lymphoid tyrosine phosphatase). 生化学 77: 1340

シンポジウム発表

1．Mizuno K, Ozawa T, Ogimoto M, and Yakura H (2005.4.3) Inhibitory regulation of FceRI-mediated mast cell functions by SHP-1. Block Symposium “Mast Cells”, Experimental Biology 2005. The 92st AAI Meeting. (San Diego, CA, USA)

2．Akimoto M, Mishra K, Hisanaga S, Mizuno K, Elson A, and Yakura H (2005.7.11) PTPe negatively regulates FceRI-mediated mast cell activation. Europhosphatases Conference 2005. "The Biology of Phosphatases" (Cambridge, UK) [Abstracts p.62]

3．秋元みづき、Kanchan Mishra、渡辺則幸、一ノ渡学、久永真市、水野一也、Ari Elson、矢倉英隆 (2005.8.4) チロシンホスファターゼによるマスト細胞活性化の制御. 第2回日本プロテインホスファターゼ研究会学術集会. 秋田 [抄録 p. 47]

4．水野一也、小澤智子、矢倉英隆 (2005.10.21) チロシンホスファターゼSHP-1によるマスト細胞機能の制御機構. 第55回日本アレルギー学会秋季学術集会シンポジウム「アレルギー反応に関与する新しい細胞内伝達系」 盛岡 [アレルギー 54: 923, 2005]

連携大学院白澤研究室

（財）東京都高齢者研究・福祉振興財団、東京都老人総合研究所、老化ゲノムバイオマーカー研究チーム

1. 構成

白澤卓二、清水孝彦、小河原緑、高橋真由美、森泉栄子、船越政史（細胞遺伝学研究室D2）

2. 研究紹介

老化や寿命制御のメカニズムを分子レベルで解明することを研究室の中核テーマにしている。そのために遺伝子改変マウスの作製および解析を行っている。これらのモデルマウスの表現形を解析することにより、寿命シグナルと個体寿命の制御機構、老化プロセスを評価するためのバイオマーカーの探索研究を展開している。

１）インスリンシグナル、ミトコンドリアシグナルと個体寿命

長寿命線虫である*daf-2*線虫, *clk-1*線虫と相同な遺伝子変異を有する遺伝子改変マウスを作製した。*daf-2*遺伝子はインスリン受容体をコードすることから、インスリン受容体遺伝子に長寿変異を導入した遺伝子改変マウスを作製した。マウスは酸化ストレス耐性を獲得し、インスリンの長寿シグナルが種を越えて保存されていることを明らかにした。一方、*clk-1*はユビキノン（CoQ）の生合成形酵素をコードし、ミュータントでのミトコンドリアの酸化的リン酸化、活性酸素の発生が抑制されるメカニズムを解明した。

２）MnSOD組織特異的ノックアウトマウスの作製と老化バイオマーカーの探索

ミトコンドリアで発生する活性酸素、スーパーオキサイドの分解酵素であるMnSODを臓器特異的にノックアウト出来るモデルマウスをcre-loxpシステムを用いて開発した。このモデル系を応用し、心臓で特異的にMnSOD活性を欠失したモデルマウスを作製したところ、マウスは生後数カ月で拡張性心筋症を発症した。本モデルマウスの心臓でDNAチップ解析を行い老化バイオマーカーの探索研究を行っている。

３）Aβタンパクの病的凝集機構とアルツハイマー病の神経変性

Aβタンパクが特殊なβシート構造を取りながら病的凝集する過程で、神経細胞毒性を獲得する分子メカニズムを研究している。特にβ構造をとりやすい遺伝子変異や、フリーラディカルの関与に注目して研究を展開している。

3. 研究発表（主要なもの）

1. Baba, T., Shimizu, T., Suzuki, Y., Ogawara, M., Isono, K., Koseki, H., Kurosawa, H. & Shirasawa, T. (2005) Estrogen, insulin, and dietary signals cooperatively regulate longevity signals to enhance resistance to oxidative stress in mice. J Biol Chem, 280, 16417-16426.
2. Uchiyama, S., Koike, H., Shimizu, T. & Shirasawa, T. (2005) A superoxide disumutase/catalase mimetic extends the lifespan of short-lived *mev-1* mutant but not the wild type strain in *Caenorhabditis elegans*. Anti-Aging Med Res, 2, 39-47.
3. Murakami, K., Irie, K., Ohigashi, H., Hara, H., Nagao, M., Shimizu, T. & Shirasawa, T. (2005) Formation and stabilization model of the 42-mer Abeta radical: implications for the long-lasting oxidative stress in Alzheimer's disease. J Am Chem Soc, 127, 15168-15174.
4. Masuda, Y., Irie, K., Murakami, K., Ohigashi, H., Ohashi, R., Takegoshi, K., Shimizu, T. & Shirasawa, T. (2005) Verification of the turn at positions 22 and 23 of the beta-amyloid fibrils with Italian mutation using solid-state NMR. Bioorg Med Chem, 13, 6803-6809.
5. Morimoto, A., Irie, K., Murakami, K., Masuda, Y., Ohigashi, H., Nagao, M., Fukuda, H., Shimizu, T. & Shirasawa, T. (2004) Analysis of the secondary structure of beta-amyloid (Abeta42) fibrils by systematic proline replacement. J Biol Chem, 279, 52781-52788.
6. Nakai, D., Shimizu, T., Nojiri, H., Uchiyama, S., Koike, H., Takahashi, M., Hirokawa, K. & Shirasawa, T. (2004) *coq7/clk-1* regulates mitochondrial respiration and the generation of reactive oxygen species via coenzyme Q. Aging Cell, 3, 273-281.

連携大学院長谷川研究室

東京都精神医学総合研究所、分子神経生物学研究チーム

１．構成

長谷川成人、亀谷富由樹、野中隆、山本明広、三上美代子、増田雅美（首都大東京、神経分子機能研究室 D1)、笈川貴行（首都大東京、神経分子機能研究室 M1)、森啓、久永眞市

２．研究紹介

当研究部門ではアルツハイマー病やパーキンソン病などの神経変性疾患の分子発症機構の解明と治療を目標に以下のような研究に取り組んでいる。

1) 神経変性疾患における細胞死と密接な関係が指摘されているタウ、αシヌクレイン、Aβの線維化、蓄積を抑制する化合物の探索を行い、いくつかの低分子化合物を同定すると共に、阻害剤によって形成されるオリゴマーの毒性について検討した。(増田、笈川、野中)

2) αシヌクレインの微小管重合に及ぼす影響について検討し、可溶性モノマーは微小管重合に影響しないが、重合状態や存在状態が異なるαシヌクレインは異常性質を獲得し、微小管の重合を阻害することを明らかにした。(笈川、増田、野中)

3) パーキンソン病の原因遺伝子αシヌクレインによるプロテアソーム機能阻害細胞モデルを構築し、その機能阻害を保護する、あるいは高める薬剤のスクリーニング法を開発した。(野中、増田)

4) 大腸菌にαシヌクレインを発現すると 136 番目のチロシンのコドンが誤翻訳され、システインを含むαシヌクレインが約 20%も発現すること、コドンを TAC から TAT に置き換えることで誤翻訳が抑えられることを明らかにした。(増田、野中、笈川)

5) 老人研、神経研、新潟大学などとの共同研究で、様々な神経疾患脳に蓄積するタウの分子種の解析や新規の遺伝子変異の機能に及ぼす影響などについて解析した。(長谷川)

6) APP およびその C 端側断片を発現させた培養細胞を用いてγセクレターゼ活性について解析し、εε切断を受けたAβ関連ペプチドははじめにα切断を受けたフラグメントから生じることを明らかにした。(亀谷)

3. 研究発表（主要なもの）

誌上発表

１． Masuda M, Dohmae N, Nonaka T, Oikawa T, Hisanaga S, Goedert M, Hasegawa M: Cysteine misincorporation in bacterially expressed human alpha-synuclein. FEBS Lett 580: 1775-1779, 2006.

２． Saito Y, Motoyoshi Y, Kashima T, Izumiyama-Shimomura M, Toda T, Nakano I, Hasegawa M, Murayama S. Unique tauopathy in Fukuyama-type congenital muscular dystrophy. J Neuropathol Exp Neurol 64: 1118-1126, 2005.

３． Yamazaki, M., Hasegawa, M., Mori, O., Murayama, S., Tsuchiya, K., Ikeda, K., Chen, K-M., Katayama, Y., Oyanagi, K. Tau-positive fine granules in the cerebral white matter: a novel finding exclusive to parkinsonism-dementia complex of Guam among the tauopathies. J Neuropathol Exp Neurol 64: 839-846, 2005.

４． Sakaue, F., Saito, T., Sato, Y., Asada, A., Ishiguro, K., Hasegawa, M., Hisanaga, S. Phosphorylation of FTDP-17 mutant TAU by cyclin-dependent kinase 5 complexed with p35, p25, or p39. J Biol Chem 280: 31522-31529, 2005.

５． Taniguchi S, Suzuki N, Masuda M, Hisanaga SI, Iwatsubo T, Goedert M, Hasegawa M: Inhibition of heparin-induced tau filament formation by phenothiazines, polyphenols and porphyrins. J Biol Chem 280: 7614-23, 2005.

６． Nonaka T, Iwatsubo T, Hasegawa M: Ubiquitination of alpha-synuclein. Biochemistry 44: 361-368, 2005.

７． Murayama KS, Kametani F, Araki W: Extracellular release of BACE1 holoproteins from human neuronal cells. Biochem Biophys Res Commun 338: 800-807, 2005.

８． 増田雅美, 長谷川成人: タウたんぱく質のリン酸化とサイトカイン. Clin Neurosci 23: 901-903, 2005.

９． 谷口百合, 鈴木伸之, 増田雅美, 久永眞市, 岩坪威, Goedert M, 長谷川成人: タウの線維化阻害とその機構. Dementia Japan 19: 21-32, 2005.

１０．長谷川成人: タウアイソフォームと神経変性疾患. Cognition and Dementia 4:313-320, 2005

口頭発表

１．笈川貴行, 増田雅美, 野中隆, 久永真市, 長谷川成人: 微小管に与えるαシヌクレインの影響. 第 24 回日本痴呆学会学術集会 大阪 2005/10/01.

増田雅美, 鈴木伸之, 渡辺小百合, 野中隆, 岩坪威, 久永真市, 長谷川成人: αシヌクレイン線維化阻害剤の探索と阻害機構. 第 24 回日本痴呆学 会学術集会, 大阪 2005/10/01.

連携大学院齊藤研究室

（財）東京都医学研究機構、東京都精神医学総合研究所、神経機能分子治療部門

1. 構成

齊藤　実（部門長）、宮下知之（研究員）、堀内純二郎（研究員）、松野元美（研究員）、山崎大介（技術員）、増岡菜津美（研究補助員）、山本哲也（M2）、長野慎太郎（M1）

2. 研究紹介

どのような遺伝子・分子の働きにより記憶が形成され、年をとることによる記憶力の低下や物忘れが起こるのか？我々の研究室は学習記憶や加齢性記憶障害の分子メカニズムを明らかにすることを目的としてショウジョウバエを用いた以下の研究を進めている。

1) 学習･記憶の遺伝子メカニズムの解明

NMDA 受容体は Mg ブロックという他の受容体にはないユニークな性質を持つ。この Mg ブロックが学習記憶の成立にどのような役割を果たしているのか？ Mg ブロックに影響を与える変異を入れた NMDA 受容体のトランスジェニックフライを作成し、Mg ブロックが遺伝子の新たな転写を必要とする長期記憶に必要であることを電気生理学的解析と行動解析を組み合わせた解析から見出した。（宮下、山本、齊藤）

また長期記憶に異常が見られる新規変異体 *ruslan* から、*ruslan* は細胞接着因子 Klingon をコードしていること、*ruslan* の発現は CREB などの転写因子により調節されていることなどを見出した。*ruslan* が脳のどの領域や細胞に発現し、既知の学習記憶遺伝子とどのような相互作用により記憶形成に関わっているのか、*ruslan* 遺伝子はシナプス可塑性の発現にどのように働きを示すのかを現在調べている。(松野、長野、齊藤)

2) 加齢性記憶障害の遺伝子メカニズムの解明

ショウジョウバエもヒトに似た加齢による記憶力の低下を示す。我々は行動遺伝学的解析から、加齢により特異的に障害される記憶の遺伝学的成分を同定し、さらに加齢による記憶力の低下を示さない変異体を初めて同定することができた。現在この変異体を起点としたプロテオミクス解析、分子遺伝学的解析を行い、加齢性記憶障害に至る分子メカニズムの解明と、個体老化との関わりなどを調べている（堀内、山崎、長野、山本、齊藤）

3. 研究発表

誌上発表

1. Xia S*, Miyashita T*, Fu T-G*, Lin W-Y, Wu C-L, Pyzocha L, Lin I-R, Saitoe M, Tully T, Chiang A-S. (2005). NMDA receptors mediate olfactory learning and memory in *Drosophila*. ***Current Biology*** **15**, 603-615.
2. Saitoe M, Tamura T, Ito N, Horiuchi J. (2005). *Drosophila* as a novel animal model for studying the genetics of age-related memory impairment. ***Rev Neurosci*** **16**, 137-149
3. Horiuchi J, Saitoe M (2005). Can flies shed light on our own age-related memory impairment? ***Ageing Res Rev*** **4**, 83-101.
4. Saitoe M, Tamura T, Horiuchi J, Ito N (2004). Identification of the memory component that decays with age in *Drosophila*. ***Jpn J Neuropsychopharmacol*** **24**, 231-237.

連携大学院遠藤研究室

（財）東京都高齢者研究・福祉振興財団、東京都老人総合研究所、老化ゲノム機能研究チーム

1. 構成

遠藤玉夫、三浦ゆり、萬谷 博、佐藤雄治、赤阪啓子、四宮あや、窪田和季（都立大神経分子機能研究室 M2)、中島亜衣、早川雅人

2. 研究紹介

我々は細胞どうしの認識や細胞内外の情報伝達において重要な役割を果たしているタンパク質の翻訳後修飾に焦点を当て、老化に伴う機能変化の解明および老化に伴う病態の解明に向けてアプローチしている。

１）老化に関連する糖タンパク質の網羅的解析と発現調節機構解明

アルツハイマー病で変動する糖鎖関連遺伝子について解析を進め、３種の遺伝子変化を明らかにした。レクチンカラムにより糖ペプチドを精製し、質量分析計による多段階マス解析により糖鎖構造情報とアミノ酸配列情報を得る技術の開発に成功した。

２）酸化ストレス応答の老化による影響

低線量放射線照射により発現変動するタンパク質およびリン酸化あるいは脱リン酸化されるタンパク質について解析を行ない、変化タンパク質を同定した。

３）筋形成維持に関連する糖鎖機能

ジストログリカンの糖鎖はマンノースを還元末端に持つ糖鎖(*O*-Man 型糖鎖)である。この糖鎖の合成に関わる糖転移酵素遺伝子 *POMGnT1* と *POMT1* はそれぞれ先天性筋ジストロフィー症の muscle-eye-brain 病 (MEB) と Walker-Warburg syndrome (WWS) の原因遺伝子で、患者で見いだされた変異により酵素活性が失われることを明らかにした。

４）老化モデルマウスの解析

老化モデルマウス(Klotho)の腎臓と肺でカルパインの異常な活性化が起こり、活性化したカルパインによりスペクトリン等の細胞骨格系が分解されることが腎臓や肺の障害の要因となる可能性を示した。同様の傾向は自然老化マウスでも見られた。klotho の機能はカルシウムホメオスタシスの維持に関わることが考えられる。

3. 研究発表（主要なもの）

1. Sato, Y., Yamanaka, H., Toda, T., Shinohara, Y., and Endo, T. (2005) Comparison of hippocampal synaptosome proteins in young-adult and aged rats. *Neurosci. Lett.*, 382, 22-26.
2. Saito, F., Blank, M., Schröder, J., Manya, H., Shimizu, T., Campbell,K.P., Endo, T., Mizutani, M., Kröger, S., and Matsumura, K. (2005) Aberrant glycosylation of α-dystroglycan causes defective binding of laminin in the muscle of chicken muscular dystrophy. *FEBS Lett.*, 579, 2359-2363.
3. Sasaki, N., Manya, H., Okubo, R., Kobayashi, K., Ishida, H., Toda, T., Endo, T., and Nishihara, S. (2005) β4GalT-II is a key regulator of glycosylation of the proteins involved in neuronal development. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 333, 131-137.
4. Endo, T. (2005) Glycans and glycan-binding proteins in brain: Galectin-1-induced expression of neurotrophic factors in astrocytes. *Cur. Drug Targets*, 6, 427-436.
5. Nakagawa, K., Kitazume, S., Oka, R., Maruyama, K., Saido, T.C., Sato, Y., Endo, T., and Hashimoto, Y. (2006) Sialylation enhances the secretion of neurotoxic amyloid-β peptides. *J. Neurochem.*, 96, 924-933.
6. Endo, T. (2005) Aberrant glycosylation of α -dystroglycan and congenital muscular dystrophies. *Acta Myol.*, XXIV, 64-69.

連携大学院反町研究室

(財)東京都医学研究機構、東京都臨床医学総合研究所、カルパインプロジェクト

1. 構成

反町洋之、小野弥子、秦勝志、尾嶋孝一、土井奈穂子、林智佳子、小山傑、眞田明、本宮綱記（首都大学東京神経分子機能研究室M2)、上岡寿子

2. 研究紹介

カルパインは、細胞質内に存在する「**モジュレータ**（調節／変換子）**・プロテアーゼ**」である。基質タンパク質を、バラバラに分解するのではなく、極めて限定的に切断することで、その機能・構造・活性などを調節・変換する酵素である。Ca^{2+}・リン脂質・自己消化・サブユニット解離などによる複合的かつ厳密な自己活性制御を行いながら、細胞内情報伝達や細胞形態変化を制御することにより、個体の生物機能を調節している。そのため、カルパインの活性不全により、胚性致死のみでなく、筋ジストロフィー、腫瘍、糖尿病など、様々な病態が引き起こされることが、遺伝学的アプローチなどから次々と明らかになってきた。ヒトにおいてカルパイン遺伝子の変異によって発症することが明らかとなっている筋ジストロフィー（肢帯型筋ジストロフィー2A型）についてはもちろん、カルパインが何らかの形で関与する病態の診断や治療には、カルパインをターゲットにすることが極めて有効と考えられ、大きな期待が寄せられている。しかしながら、カルパインの生理的な基質はもとより、カルパインによる生体制御の分子機構については、未だ不明な点がほとんどである。そこで、本研究室では、カルパインや関連分子の遺伝子改変・変異マウスを用いて、野生型マウスとの様々な比較解析を行なうことにより、カルパイン不全で発症する疾患の分子メカニズムを明らかにすると同時に、正常時のカルパインによる生体の調節メカニズムについて解析している。その結果を基に、カルパイン不全で発症する疾患の診断・治療・予防法の方向性を示すことを目的としている。

本研究室では、骨格筋および骨格筋特異的カルパイン **p94**、胃腸および胃特異的カルパイン **nCL-2** の 2 つに特に注目し、これらのカルパインの不活性型変異体（それぞれ、p94:C129S 及び nCL-2:C105S 点変異体）を野生型タンパク質の代わりに発現するノックインマウス（以下 CS マウス）を用いて詳細な解析を行なっている。骨格筋や胃腸には、他にも組織普遍的に発現するカルパインが 10 種以上発現しており、しかもその多くはタンパク質レベルでの性状が未知である。そこで、p94 や nCL-2 のみを抽出して解析するのではなく各組織に特異的なカルパインシステムのキー分子としてとらえ、複眼的に解析している。さらに、関連する分子についても遺伝子改変／変異マウスなどを用いて、複合的に解析を進め、最終的にはカルパインシステムの、正常時における作用機序を明確にしていきたいと考えている。

3. 研究発表

誌上発表（主要なもの）

1. Hayashi, M., Fukuzawa, T., Sorimachi, H., and Maeda, T.: Constitutive activation of the pH-responsive Rim101 pathway in yeast mutants defective in late steps of the MVB/ESCRT pathway. *Mol. Cell. Biol.*, **25**, 9478-9490, 2005.
2. Toyama-Sorimachi, N., Omatsu, Y., Onoda, A., Tsujimura, Y., Iyoda, T., Maki, A., Sorimachi, H., Dohi, T., Taki, S., Inaba, K., and Karasuyama, H.: Inhibitory NK receptor Ly49Q is expressed on subsets of dendritic cells in a cellular maturation- and cytokine stimulation-dependent manner. *J. Immun.*, **174**, 4621-4629, 2005.
3. Ojima, K., Ono, Y., Hata, S., Koyama, S., Doi, N., and Sorimachi, H.: Possible functions of p94 in connectin-mediated signaling pathways in skeletal muscle cells. *J. Muscle Res. Cell Motil,* in press, 2006.
4. Hata, S., Koyama, S., Kawahara, H., Doi, N., Maeda, T., Toyama-S., N., Abe, K., Suzuki, K., and Sorimachi, H.: Stomach-specific calpain, nCL-2, localizes in mucus cells and proteolyzes the β-subunit of coatomer complex, β-COP. *J. Biol. Chem.*, in press, 2006

その他の研究・事業

小笠原研究

１．研究の経過

小笠原諸島は東京の南約 1000ー1200 ㎞（北緯 27° 45’ ー 24° 14’）の太平洋上に散在する海洋島である．小笠原研究は，この群島が 1968 年 6 月 26 日にわが国へ返還されて以来，首都大学東京における特色ある研究のひとつとなっている．1976 年度からは東京都立大学の全学的な組織である「小笠原研究委員会」によって運営・推進されてきた． 2005 年度は，2004 年度の委員会が暫定的に継続して，本学の小笠原研究の対外的な窓口となった．父島の小笠原研究施設を拠点として，自然科学から人文科学まで極めて多様な研究が行われている．本教室では植物系統分類学，植物生態学，動物生態学，進化遺伝学などの研究室が研究を行ってきた．また，他大学の研究者との共同研究や文部科学省の科学研究補助金による研究，環境省の地球環境研究推進費による研究なども行われ，東京都に属しながら大洋中に孤立して存在する海洋島という特殊な条件を生かしたユニークな研究結果も数多く得られている．1987 年度より都立大学の特定研究が新設され，研究予算はその中に組み込まれるようになった．2005 年度は，傾斜配分研究費（全学枠）により予算措置された．

1989 年と 1990 年度にわたって東京都が行った小笠原自然環境現況調査を都立大学が受託し，小笠原研究委員会が窓口となって大規模な調査を実施し 1991 年秋に報告書を刊行した．1997 年度から 1999 年度には，環境庁の未来創造型基礎研究推進費による「亜熱帯域島嶼の生態系保全手法の開発に関する基礎研究」の一部を受託し，島嶼生態系における生物多様性とその維持機構について研究が行われた．また，1999 年度には牧野標本館（自然史科学講座），地理学科との共同研究として，東京都特定研究「小笠原諸島の固有植物の保全に関する研究」が，さらに 2003 年度には，総長特別研究費による「人と自然の共生をめざした小笠原の人文・自然に関する総合研究」が実施された．また，2005 年度から，植物系統分類学研究室と植物生態学研究室が，独立行政法人森林総合研究所からの受託研究として「小笠原諸島における侵略的外来植物の影響メカニズム解明とその管理手法に関する研究」を開始した．小笠原を主な調査地として 2005 年度に実施された生物系の研究として，各教員や名誉教授・客員研究員による研究の他，卒研生２名（植物系統分類），修士１名（植物系統分類），博士２名（植物生態，植物系統分類各 1）による研究が行われた．

２．研究施設

小笠原返還後間もない 1971 年度から，東京都総務局所管の総合調査室を借用して都立大学父島研究室が開設され，本学の小笠原研究の拠点として活用されてきた．この研究室は 1990 年度末に正式に都立大学に移管され，1991 年度に全面改築を行い，1992 年 3 月末に完工した．施設の敷地面積は 770m^2，建物の延べ床面積は 547m^2で，実験室，標本作製室，資料室，セミナー室，展示ホールなどを備えている．施設の管理業務は，南大沢キャンパス理系事務室の理工学系庶務係が担当している．従来から本学の研究者との共同研究の場合には他大学の研究者もこの施設を利用している．その人数もかなり多数にのぼっており，海外の研究者も含め，研究交流の場としても活用されている．2005 年度の施設利用者は延べ 111 名，延べ利用日数は 1006 日であった．なお，本施設の利用等については小笠原研究委員会が刊行する小笠原研究年報を参照されたい．

３．研究成果の発表

小笠原研究委員会は，次の二つの印刷物を発行している．一つは「小笠原研究年報」で，研究の概要や小笠原に関係する記事が登載され，毎年１回の発行である．2005 年度は，No. 29 として 5 篇の報文が掲載された．もう一つは 1978 年度に創刊された「小笠原研究」(Ogasawara Research)で，主として英文の研究報告または総説が掲載される．2005 年度には No. 31 として，小笠原諸島における外来植物のリスク評価に関する論文が掲載された．

牧野標本館の業務

自然科学は証拠主義に基づいている。ある名前で呼ばれている生物はどのような形態的特徴を具えているか、地球上のどこに分布しているか、というような情報の証拠となるのが学術標本であり、植物学においては、最も効率のよい保存方法として「さく葉標本」（以下、標本と略す）が国際的に採用されてきた。この学術標本を主に収集保管し、教育・研究のために運用するのが植物標本館（ハーバリウム）である。

牧野標本館は、日本の植物分類学の基礎を築いた牧野富太郎博士の没後に寄贈された、旧牧野邸に残されていた未整理標本（いわゆる牧野標本）約 40 万枚をもとにして 1958 年に設立された。それらの未整理標本を研究資料として活用するため、当館では植物名を同定し、新たにラベルを作り、台紙に貼付するという整理作業を行ってきた。その結果、重複標本を除いた約 16 万点余の整理済み牧野標本が標本室に収納されている。残りの重複標本は国内外の標本館との標本交換に利用され、10 万点以上の貴重な標本を得るのに役立ってきた。また、牧野標本館を兼務する植物系統分類学研究室および関係者による国内外での標本の採集も活発に行われ、標本館の充実に貢献してきた。その結果、2005 年 12 月末日の時点で整理済みの標本点数は維管束植物標本 365,217 点、コケ類標本 36,110 点、地衣類標本 1,102 点、海藻標本 24,457 点、その他未整理標本約 10 万点に達している。総標本点数や特に学術的価値が高いタイプ標本数では、国内で東京大学、国立科学博物館、京都大学につぐレベルにあり、国際記号 MAK として認知されたハーバリウムの一つである。

牧野標本館を最も特色づける標本には，牧野博士が発表した新種などのタイプ標本約 800 点があり、日本産植物の分類学的研究に欠くことのできない資料である。牧野博士自身やその研究協力者により、全国からまんべんなく収集された標本は、植物の自然分布の証拠としてなくてはならないものである。絶滅に瀕し、現在では見ることが困難な植物も多数含まれ、貴重な研究資料となっている。このほか、共立薬科大学から寄贈された故桜井久一博士のコケ類標本 2 万点、故東道太郎氏寄贈の藻類標本約 1 万点、ロシアのコマロフ植物研究所標本館（ｻﾝｸﾄ・ﾍﾟﾃﾙﾌﾞﾙｸﾞ市）から交換標本として贈られてきたシーボル氏採集の標本約 2,500 点なども当館の特色ある標本である。2005 年には、浅野一男氏から寄贈された 3,716 点を始め、水島うらら氏よりコケ標本 779 点が寄贈され、現在整理中である。

牧野標本館の標本は学内で行う教育・研究に利用されてきたばかりではなく、外来研究者にも標本の閲覧の便宜をはかるとともに、標本貸出等の要望に対応して、広く国内外の植物学研究者に活用されてきた。2005 年の研究サービスの実績は、以下のとおりである。

標本交換：国内発送 6 件（2,090 点）、国内受入 4 件（1,300 点）、国外発送 2 件（320 点）、国外受入 2 件（174 点）。標本貸出：国外 2 件。来訪研究者（のべ人数）：国内 224 人、国外 3 人。

牧野標本館では、より広範な標本利用に対応するため、「牧野標本館所蔵標本データベース」をインターネットで公開している（下記参照）。ここでは、当館で所蔵されている維管束植物のタイプ標本やシーボルトコレクションなど、貴重な植物標本の画像やラベル情報を閲覧することができる。また牧野標本館所蔵のコケ標本をデータベース化するためにの入力作業を行った。来年度にはインターネットによる公開を予定している。

データベースの URL：http://makdb.shizen.metro-u.ac.jp/database.htm

または http://wwwmakino.shizen.metro-u.ac.jp/database.htm

ショウジョウバエ系統保存事業

首都大学東京のショウジョバエ系統保存は、昭和 37 年に東京都の事業として認定されて以来、毎年充実され、世界でも有数のショウジョウバエ供給の事業所として、国内外の需要に応えている。

事業は動物飼育担当技術職員（井出俊和）および理工学系生命科学コースの進化遺伝学、細胞遺伝学両研究室の構成員によって遂行されている。首都大学東京の系統保存の特色は、100 種以上のショウジョバエ種を維持していることである。各種について多くの野生系統及び突然変異系統を維持しているが、それ以外にも分析中の多くの未確定系統があり、それらを加えると維持系統の総数は 3,000 を越える。

系統維持している種数

Dorsilopha	亜属	1 種
Drosophila	亜属	43 種
Sophophora	亜属	66 種

キイロショウジョバエの系統

野生型純系系統	4 系統
突然変異系統	136 系統
地域由来系統	
日　　本	11 地域
外　　国	19 地域

毎年多くの系統を国内外の教育.研究機関に分譲しているが、過去 5 年間の実績は次のとおりである。

分　譲　先

	大学・研究機関		高等（中）学校	分譲系統数合計
	国内	国外		
2001 年	98	23	20	16921
2002 年	170	47	34	30033
2003 年	59	42	42	6131
2004 年	46	21	29	2578
2005 年	43	32	36	506

教育・研究関連資料

学位取得者

修士（理学）

２００５年度３月修了

阿部 優介　低酸素親和性ヘモグロビンの虚血性心疾患に対する効果検証及び組換えヒト変異ヘモグロビン発現系の開発
主査：相垣敏郎　副査：久永眞市・白澤卓二

伊田 健一郎　ニワトリ胚前胃上皮における領域特異的遺伝子発現の解析（英文）
主査：八杉貞雄　副査：久永眞市・西駕秀俊

王 舒イー　シロイヌナズナおよびイネにおけるポリピリミジン領域結合タンパク質（PTB）遺伝子の発現部位（英文）
主査：岡本龍史　副査：小柴共一・門田明雄

岡本 崇伸　オランダ産モノアラガイ（Lymnaea stagnalis）における消化器官と生殖器官の末梢神経系による連関
主査：黒川信　副査：久永眞市・相垣敏郎

亀井 大嗣　Cdk5 活性化サブユニット p35 のカルパインによる限定分解の調節（英文）
主査：久永眞市　副査：泉進・黒川信

窪田 和季　レクチンアフィニティークロマトグラフィーと MALDI-TOF/MS を用いた高速高感度糖蛋白質構造解析法の開発
主査：久永眞市　副査：相垣敏郎・泉進・遠藤玉男

小山 智加　神経変性疾患モデル線虫を用いた抗てんかん薬の凝集抑制作用に関する研究
主査：相垣敏郎　副査：久永眞市・白澤卓二

斎藤 智望　ショウジョウバエ DLK と相互作用する遺伝子の探索（英文）
主査：相垣敏郎　副査：泉進・加藤潤一

佐藤 敬司　大腸菌の生育に必須な GTPase, ObgE(YhbZ), の細胞分裂に必須な ftsZ 遺伝子の発現調節への関与
主査：加藤潤一　副査：駒野照弥・嶋田敬三

塩澤 弘基　プラスミド R64 のⅣ型線毛形成に必須な PilR の膜配向性
主査：駒野照弥　副査：松浦克美・加藤潤一

島谷 健太郎　イネの根特異的 PR タンパク質 RSOsPR10 の発現調節
主査：小柴共一　副査：門田明雄・岡本龍史

鈴木 絵美　トウモロコシ幼葉鞘における重力刺激による IAA の移動方向の調節
主査：小柴共一　副査：門田明雄・岡本龍史

鈴木 恵美子　プラスミド R64 のシャフロン特異的組換えの調節

主査：駒野照弥　　副査：嶋田敬三・加藤潤一

高橋 淳也　　Septin 5 アイソフォームの発現解析（英文）

主査：久永眞市　　副査：八杉貞男・西駕秀俊

田中 三保子　　ショウジョウバエの新規長寿命遺伝子 Lily の同定と解析（英文）

主査：相垣敏郎　　副査：松浦克美・西駕秀俊

中田 望　　ミヤコグサ野性系統における成長特性の変異とその生態学的意義

主査：可知直毅　　副査：小柴共一・鈴木準一郎

鍋田 誠　　紅色光合成細菌を用いた植物型カロテノイドの生体内機能評価（英文）

主査：嶋田敬三　　副査：松浦克美・門田明雄

橋本 幸宜　　トビケラ類の腹部フェロモン分泌腺の比較形態学的研究

主査：小林幸正　　副査：青塚正志・菅原敬

長谷 祐美子　　温泉水中の微生物群集における太古代からの硫黄循環（英文）

主査：松浦克美　　副査：嶋田敬三・鈴木準一郎

林 和之　　大腸菌ライシジン合成酵素 TilS(MesJ)の遺伝学的解析

主査：加藤潤一　　副査：駒野照弥・泉進

原田 幸子　　東京都八王子市多摩森林科学園におけるシジュウカラおよびヤマガラの遺伝マーカーを用いた婚外交尾に関する研究

主査：鈴木惟司　　副査：青塚正志・小林幸正

半澤 郁奈子　　ヒメツリガネゴケ原糸体の先端成長の解析ー偏光屈性と先端細胞の細胞骨格ー

主査：門田明雄　　副査：嶋田敬三・小柴共一

東岡 由里子　　好気及び嫌気的原油分解に関与する微生物群集の分子生態学的解析（英文）

主査：松浦克美　　副査：嶋田敬三・可知直毅

藤木 真　　鳥類胚における内胚葉分化とその分子機構の解析（英文）

主査：八杉貞雄　　副査：西駕秀俊・泉進

藤田 真理　　軟体動物後鰓類ウミフクロウにおける頭部機械感覚の入力機構

主査：黒川信　　副査：久永眞市・泉進

本宮 綱記　　リン脂質代謝酵素ホスホリパーゼ D ノックアウトマウスの作製と解析

主査：久永眞市　　副査：相垣敏郎・小柴共一・金保安則

山田 岳　　シロイヌナズナでの葉緑体光定位運動にともなうアクチンフィラメント構造の変化（英文）

主査：門田明雄　　副査：久永眞市・岡本龍史

山本 直行　　dk5 活性化サブユニット p35 及び p39 の細胞内局在化機構の解析（英文）

主査：久永眞市　　副査：門田明男・岡本龍史

山本 哲也　　脆弱 X 症候群における記憶障害機構の分子遺伝学的解明

主査：相垣敏郎　　副査：久永眞市・斎藤実

岸 美紀　　各種プラスミドの液内接合伝達に対する IV 型線毛の役割

主査：駒野照弥　　副査：小柴共一・加藤潤一

博士（理学）

２００５年度３月修了

遠藤 亮　　シロイヌナズナにおける乾燥応答時のアブシジン酸生合成調節機構（英文）
主査：小柴共一　　副査：門田明雄・岡本龍史・南原英司

櫻井 香代子　　ショウジョウバエ脚の発生における細胞接着分子 CAPS/TRN による細胞親和性の制御機構（英文）
主査：相垣敏郎　　副査：西駕秀俊・加藤潤一・林茂生

野澤 昌文　　ショウジョウバエゲノムの進化におけるレトロエレメントの役割（英文）
主査：青塚正志　　副査：田村浩一郎・加藤潤一

松尾 洋　　エゴヒゲナガゾウムシにおける生活史と繁殖生態（英文）
主査：鈴木惟司　　副査：小林幸正・青塚正志

武尾 里美　　ショウジョウバエ雌の減数分裂におけるカルシニューリン制御因子 Sra/MCIP の役割（英文）
主査：相垣敏郎　　副査：八杉貞雄・久永真市

Dwi Listyorini　　ニワトリ胚腺胃の発生における *Wnt5a* の発現と機能（英文）
主査：八杉貞雄　　副査：西駕秀俊・泉進

新津 修平　　鱗翅目昆虫における翅の退化プロセスに関する比較形態学的研究（英文）
主査：小林幸正　　副査：鈴木惟司・泉進

朱 英善　　ラット脳 Cdk5/p35 の細胞膜による活性制御機構の解析（英文）
主査：久永眞市　　副査：嶋田敬三・泉進

岡本 昌憲　　シロイヌナズナにおけるアブシジン酸の代謝調節機構の解明（英文）
主査：小柴共一　　副査：駒野照弥・岡本龍史

2005 年度　生物学教室セミナー

第1回　2005年5月19日（金）　「決定論的な遺伝子がつくる非決定論的な脳」

堀田　凱樹（情報・システム研究機構）

第2回　2005年5月27日（金）　「ミニシンポジウム：海の異変の解明とその回復・再生に向けた産学公連携の取組み

オーガナイザー；小柴、黒川（首都大学東京）

第3回　2005年6月10日（金）　「脊椎動物の四肢の発生と進化」

田中　幹子（東京工業大学大学院　生命理工学研究科）

第4回　2005年6月17日（金）　「細菌の新しい門の発見　―地球は未知の細菌で満ち溢れている―」

花田　智（産業技術総合研究所　生物機能工学研究部門）

第5回　2005年7月22日（金）　「ミトコンドリアDNA解析に基づく日本鶏の進化的起源と家禽化過程の研究」

小見山　智義（国立遺伝学研究所　生命情報・DDBJセンター）

第6回　2005年7月29日（金）　「棘皮動物のボディプラン」

雨宮 昭南（東京大学）

第7回　2005年9月9日（金）　「神経細胞における軸索のアイデンティティー確立機構」

林　謙介（上智大学生命科学研究所）

第8回　2005年9月13日（火）　「カルシニューリンと統合失調症」

宮川　剛（京都大学医学研究科）

第9回　2005年9月30日（金）　「系統樹に悩んだときに：哲学・理論・道具

三中　信宏（農業環境技術研究所・環境統計ユニット）

第10回　2005年11月11日（金）　「遺伝子退化による生物の進化ー五感をつかさどる遺伝子を例にー」

郷　康広（総合研究大学院大学先導科学研究科）

第11回　2005年12月9日（金）　「顕微細胞操作で探る花粉管ガイダンスのメカニズム」

東山哲也（東京大学大学院　理学研究科）

第12回　2005年12月16日（金）　「モウコガゼルの保全生態学的研究：フィールドワークの愉しみにもふれながら」

高槻成紀（東京大学総合研究博物館）

第13回　2006年2月3日（金）　「アミロイド代謝制御とアルツハイマー病」

西道　隆臣（理化学研究所 脳科学総合研究センター 神経蛋白制御研究チーム）

第14回　2006年3月10日（金）　「ある水生昆虫の多様性」

渡辺信敬（首都大学東京・動物系統分類学研究室）

第15回　2006年3月10日（金）　「分子遺伝学との出合い」

駒野照弥（首都大学東京・分子遺伝学研究室）

第16回　2006年3月10日（金）　「牧野標本館での研究と思い出」

若林三千男（首都大学東京・植物系統分類学研究室）

首都大学東京（東京都立大学）理学研究科　生命科学年報　2005

発行所　首都大学東京 理学研究科 生命科学教室
（編集　加藤 英寿）
192-0397　東京都八王子市南大沢 1-1
0426-77-1111 (代表)
発行年月日　　平成 18 年 3 月 31 日
印刷所　　昭和情報プロセス株式会社
03-3452-8451