

挨拶

自然科学研究支援開発センター長 田中 伸和

私どもの自然科学研究支援開発センターのミッションは、1) 法令を遵守した研究環境の実現と研究者の安全対策の徹底による実験コンプライアンスの達成と、2) 研究設備サポート事業を背景とした先端研究設備の有効かつ効率的な利用の促進による研究の高度化への支援です。遺伝子実験部門、生命科学実験部門、低温・機器分析部門、アイソトープ総合部門の4部門体制で、各部門が独自のアイデアをだし、研究支援を競うことでセンターのミッションの達成に取り組んでいます。部門ごとの支援強化とともに4部門が連携して大学全体の自然科学系の研究支援をリードし、本学が進める研究大学強化促進事業（RU）、スーパーグローバル大学創生支援事業（SGU）に貢献しています。

私どものセンターは平成15年度に設置され、本年度末で14年が経過しますが、この間、本学で唯一の自然科学系教育研究の総合支援センターとして全学の基礎及び応用研究への支援活動を行ってまいりました。この研究支援活動が本学の研究推進において継続的に必要であることが認められ、本年度10月にこれまで付されていた6年毎の設置の時限が廃止されました。今後は世界トップレベルの総合研究大学を目指した本学の研究基盤を支える組織として継続的な支援活動を行ってまいります。

本年度の私どものセンターの成果をいくつか挙げさせていただきます。

まず始めに、低温物質科学分野の教育研究を支援に必要な不可欠な基盤的インフラであるヘリウム液化システムの更新の予算措置がなされたことです。ヘリウム液化システムの老朽化が当センターの最大の懸案事項の一つであり、毎年更新に必要な予算の要求を行ってまいりましたが、その額の大きさのため、なかなか措置されない状況でした。しかし、今年度にその要求が叶いましたので、来年度にかけて低温・機器分析部門が更新の作業を進めてまいります。

次に、文部科学省主催の先端研究基盤共用促進事業（共用プラットフォーム形成支援プログラム）に北海道大学を代表機関とした「原子・分子の顕微イメージングプラットフォーム」が採択され、本年度より生命科学実験部門が実施機関の担当部署の一つとして先端的イメージング分析装置の利用促進と依頼測定を開始しております。また、東広島動物実験施設が本格稼働し、生命科学実験部門の管理運営のもとに、東広島地区の研究者を中心に、霞地区の研究者にも利用を始めていただいております。

6月には第40回国立大学アイソトープ総合センター長会議が広島大学で開催され、アイソトープ総合部門がその担当組織として会議の運営に寄与いたしました。また、

福島復興支援や「放射線災害復興を推進するフェニックスリーダー育成プログラム」については、本年度も引き続きアイソトープ総合部門が大きな貢献をしています。

現在、中国地方の 5 国立大学の連携による「中国地方バイオネットワーク」で機関を超えて先端研究設備による依頼分析が利用できる体制を構築しておりますが、本学の充実した設備サポート事業を背景に、遺伝子実験部門のリードにより、島根大学、山口大学、岡山大学、鳥取大学で利用説明会を企画・実施し、相互利用の促進に貢献いたしました。

今般、広島大学の構成員の人件費が本学に措置される運営費交付金を超えているという非常事態の中で、全学の研究者がより多くの外部資金を獲得する必要があります。そのためには、私どものセンターは各研究者の研究の質の向上だけでなく論文の数の増加にも貢献する必要があります。当センターを利用いただいている研究者の皆様へは、さらに充実した研究支援を行っていく所存ですので、引き続きのご協力・ご支援をよろしくお願いいたします。

理念・目標

I 理念

自然科学研究支援開発センターは、本学における自然科学系学際研究センターとして、生命科学、健康科学、物質科学、環境科学などの学際的发展を可能とする教育研究支援体制を構築し、それらの革新的開発研究を推進する。

II 目標

本センターは、高度な自然科学の教育・研究・開発を支援するために、高度先端研究機器・設備の集約化と一元的管理・運営を行うことにより教育研究支援体制を強化し、本学における自然科学各分野の一層の進展と、それらから生まれる新たな学際的研究を推進する基盤的施設として設置する。特に、生命科学、健康科学、物質科学、環境科学には欠かせない動物実験、遺伝子実験、遺伝子組換え（改変）生物実験、各種機器分析などの適切で優れた環境と技術を提供し、寒剤供給、低温技術及び放射性同位元素を利用したトレーサー実験に関する教育・技術指導など、自然科学分野の教育研究支援を総合的に行うとともに、生命科学及び物質科学関連のプロジェクト研究を推進し、幅広い先端的な基礎研究基盤の充実とともに応用研究へと発展させる使命を合わせ持つ。以下に具体的な目標を定める。

1. 教育研究支援

- (1) 動物実験、植物実験、遺伝子実験、遺伝子組換え（改変）生物の開発・応用などに関する教育研究支援を進める。
- (2) 高性能分析・評価機器を共同利用機器として提供し、また機器による依頼分析や液体ヘリウムなどの寒剤の安定供給及び低温実験機器・技術提供による教育研究支援を進める。
- (3) 放射性同位元素を用いた実験に対する教育研究支援、環境保全及び放射線管理を行う。
- (4) その他、センターの目的を達成するために必要な教育研究支援業務を行う。

2. 研究開発

- (1) 再生医療、病態解析、細胞医療の開発、医療ベンチャー創生など新しい医療や生命科学に関するプロジェクト研究を推進する。
- (2) エネルギー変換・貯蔵機能、新規触媒機能、情報変換・伝達機能など高機能を有する未来材料のシーズ開拓を目指したプロジェクト研究を推進する。
- (3) 遺伝子組換え（改変）生物などを利用して、生命科学、健康科学及び環境科学の基礎的・応用的研究を推進し、先端的な研究・開発とその基盤整備を行う。

沿 革

本センターの設置前には、広島大学には 1 つの附置研究所と 24 の学内共同教育研究施設・センター等が存在し、これらはこれまで必要に応じて設置されてきた。今後、本学が総合研究大学としてさらなる発展を遂げるためには、各施設・センターの教育研究支援及びサービス業務等において果たす役割を見直し、大学全体として国の施策に準じた将来構想を策定することが不可欠であるとの提言が出された（平成 12 年 6 月策定の「21 世紀広島大学マスタープラン」）。

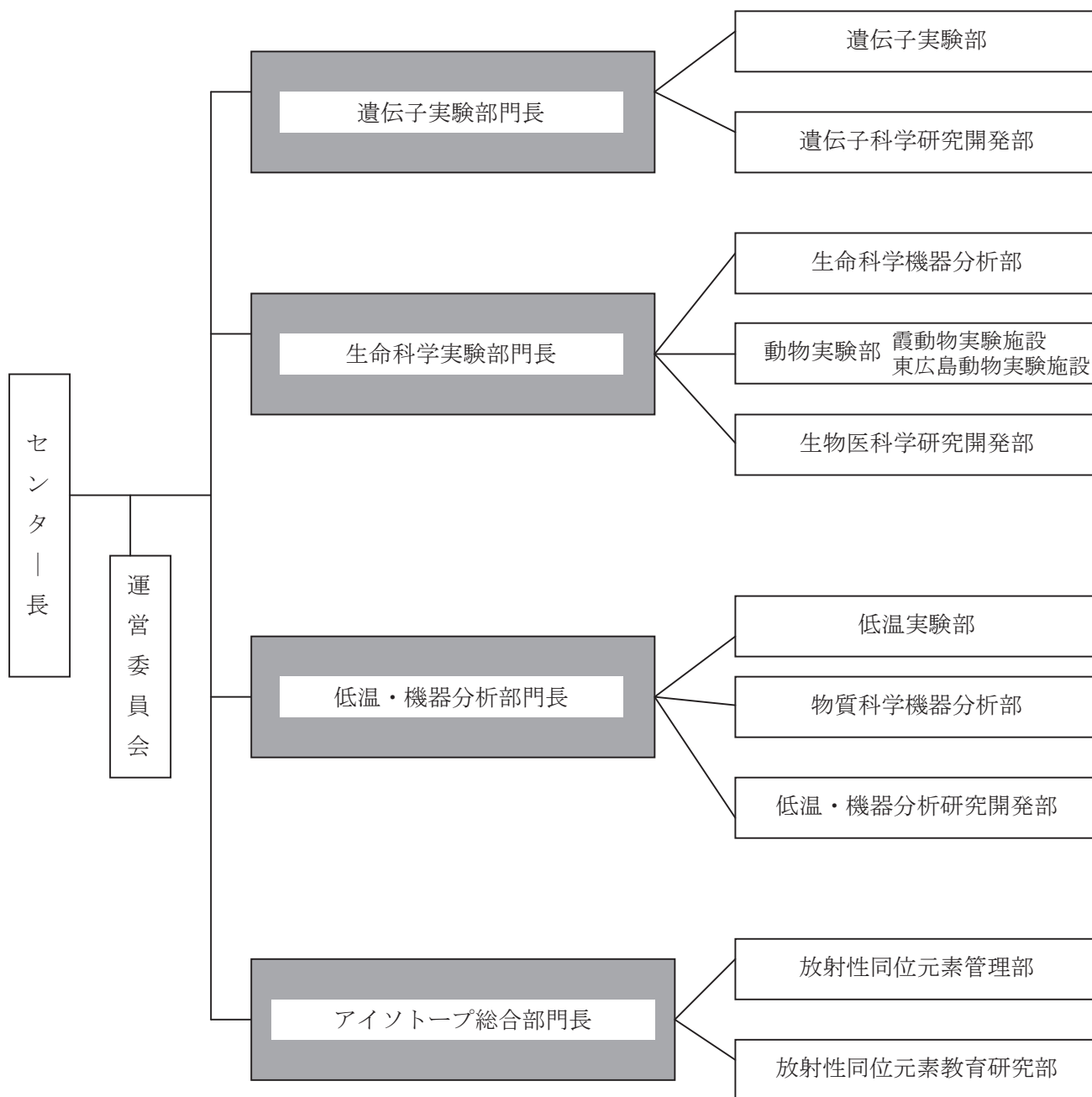
そこで、平成 12 年、評議会の下に組織部会 B（研究所・学内共同教育研究施設等の整備）が設置され、各施設・センターの今後のあり方について全学ヒアリングが実施され、これらの改組・再整備に関する基本方針やそのために必要な方策等について提言された。その中に、本学が世界的にみて活力の高い研究者を有し、著しい進展を遂げている生命科学や物質科学関連のプロジェクト研究を積極的に推進するため、低温センターと機器分析センターを統合し、研究開発機能を持った物質機能開発センターと、遺伝子実験施設と医学部附属動物実験施設を統合し、先進医療に関する開発機能を持つ生命医科学研究センターの 2 つのセンター構想案が盛り込まれた。

平成 13 年度に入ると、早速各センター・ワーキング委員会が設置され、上記 2 研究センター案を取りまとめ、文部科学省に趣旨を説明した。しかし文科省サイドでは、研究開発が複雑化・高度化する中で、我が国の先端的・基礎的な研究開発を積極的に推進する観点から、国立大学における教育研究支援体制を強化する研究基盤整備計画を策定した（参照：平成 13 年度文部科学白書及び平成 14 年度科学技術白書）。したがって、文科省としては、平成 15 年度は、研究支援重視のセンター以外は新設しない方針であるから、上記 2 センター案に、さらにアイソトープ総合センターを加え、それらを統合した 1 センター案を構想しては、とコメントされた。

こうした文科省の指導の下に、平成 14 年度初め、1 センター構想案、即ち、旧教育研究支援施設・センター（遺伝子実験施設、医学部附属動物実験施設、低温センター、機器分析センターおよびアイソトープ総合センター）を統合し、生命科学分野、健康科学分野、物質科学分野、環境科学分野など自然科学学際分野の全学的な共同研究・共同利用のための教育研究支援センターとしての役割の充実と、著しい進展を遂げている生命科学や物質科学関連のプロジェクト研究を推進するための研究開発の使命を合わせ持った自然科学研究支援開発センター構想案を作成した。平成 14 年 6 月開催の評議会の議を経て、文部科学省へ再度趣旨説明をし、それが認められて平成 15 年度 4 月、自然科学研究支援開発センターの設置に漕ぎ着けた。つまり、法人化を前にした大学改革の一環として、大学主導で本学に自然科学系の学際研究センターが設置されたのである。

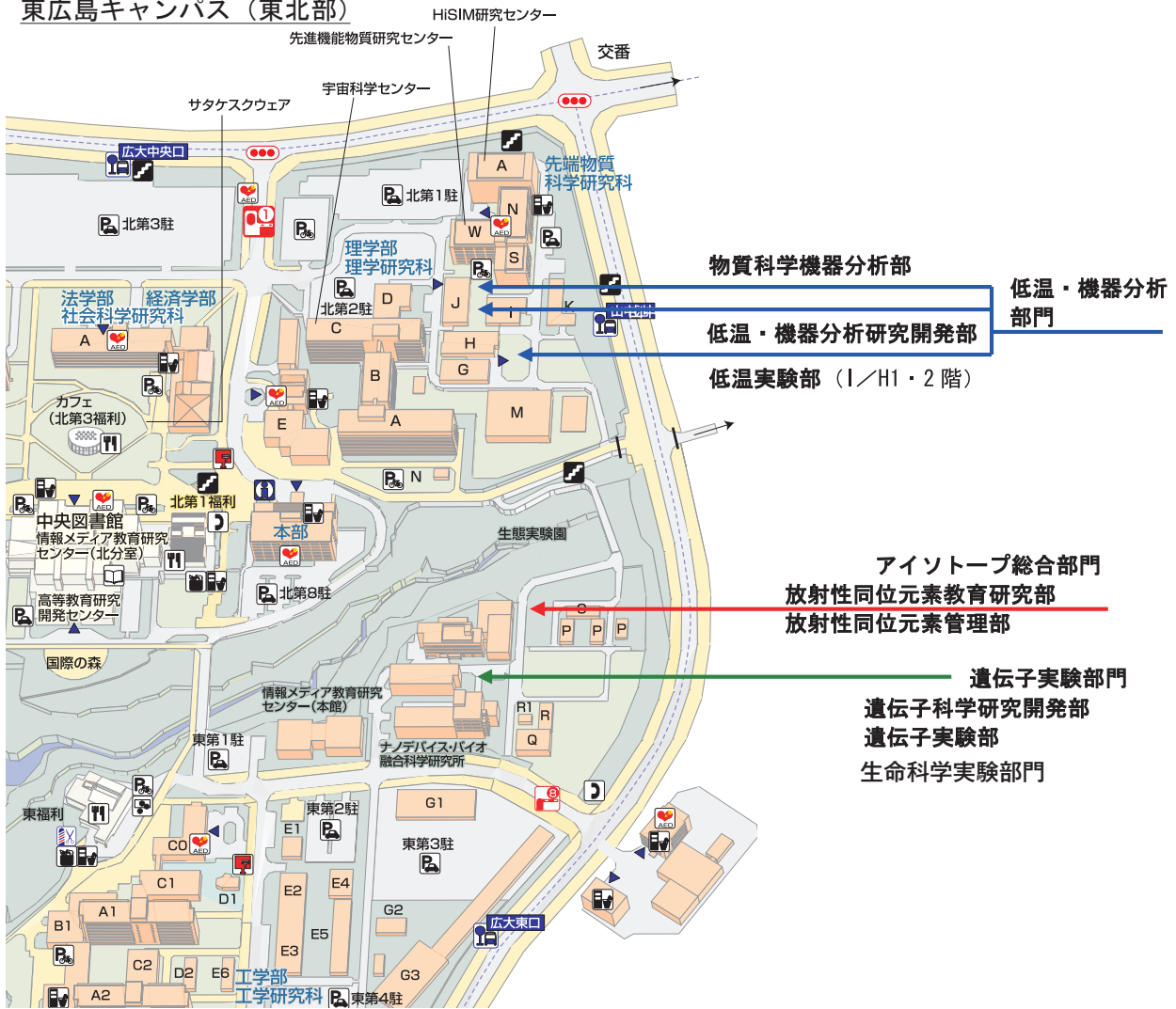
当初は、生命科学研究支援分野、物質科学研究支援分野、放射性同位元素研究支援分野の3分野を柱とし、3分野長の下での全学的研究支援体制とした。その後、先端機能物質研究センターが独立したのを契機に、平成18年度よりスリム化した形で、遺伝子実験部門、生命科学実験部門、低温・機器分析部門、アイソトープ総合部門の4部門に再編し、それぞれの部門長の下で部門会議を行いながら各部門が個別に迅速かつ柔軟な支援を行い、全学的な研究支援の問題を運営委員会で討議して支援を行なう、より実働的な体制に変革した。平成19年の2名の教授昇格に引き続き、平成23年度も2名が教授に昇格し、各部門に専任教授が配置できる体制に至りより充実したセンターとなった。この間、さまざまな法改正や全学的な規制の変化などにも迅速に対応し、学内内規やその内部評価の機構の設定にも積極的にかかわり、実際の研究者に対しより円滑な研究支援を行なっている。平成23年度より文部科学省特別経費による「設備整備サポートセンター」事業が始まり、技術センターと協力して本学の基盤的な先端研究設備の共同利用の支援を行っている。平成27年度に東広島動物実験施設が竣工し、生命科学実験部門の管理運営により平成28年度より遺伝子組換え動物（マウス、ラット）の飼育と実験が本格的に開始された。

組 織



配置図

東広島キャンパス（東北部）



霞キャンパス



遺伝子実験部門 部門長 田中伸和

本年度から第 3 期中期目標・中期計画が開始され、広島大学は教育力と研究力の強化を実現する体制を構築している。また、現在、広島大学は文部科学省「研究大学強化促進事業」と「トップ型スーパーグローバル大学」に選定されており、世界トップレベルの大学を目指した努力が行われている。国際的に通用するだけでなく、リードできる先端研究の推進が急務であり、その基盤を支える自然科学研究支援開発センターの責任は重大である。遺伝子実験部門は自然科学研究支援開発センターにおける研究支援体制の一角として、「設備サポートセンター整備事業」を背景に本学「研究設備サポート体制」に寄与している。

昨年度より、中国地方 5 大学（鳥取大学、島根大学、岡山大学、広島大学、山口大学）の旧遺伝子実験施設の連携による「中国地方バイオネットワーク」における研究支援サービスの相互利用が開始された。広島大学では技術センターの小池技術職員による「透過型電子顕微鏡観察受託サービス」を提供している。すでに、昨年度に広島大学で相互利用に関する説明会を開催したが、各大学において相互利用に関する認知度が低かったため、本年度は広島大学と鳥取大学の主導のもとに、島根大学、山口大学、岡山大学、鳥取大学でそれぞれ説明会を開催した。その効果があって、本学の電顕サービスをはじめ、各大学のサービスの相互利用が格段に増え、今後の更なる利用の拡大が期待される。

生命科学実験におけるコンプライアンスについては、当部門は部門長の田中と助教の北村が組換え DNA 実験安全委員会の委員として、遺伝子組換え実験計画書の審査や安全講習会の講師などで、本学の遺伝子組換え実験の安全管理に携わっている。本年度もカルタヘナ法の違反は発生せず、引き続きの安全管理に努めたい。

当部門では本年度も学外への貢献を行い、スーパーサイエンスミュージアム（広島市こども文化科学館）や広島県立教育センターへの教材提供などで小中高校生対象の遺伝子教育に貢献した。また、田中は 12 月に全国大学等遺伝子研究支援施設連絡協議会（大学遺伝子協）の代表幹事に就任し、全国の遺伝子組換え実験の安全管理の取りまとめに寄与しているほかに、組換え生物等委員会、ゲノム編集 WG、遺伝子組換え実験の電子申請 WG、ジーンドライブ WG の委員として、より適切なアカデミアでの遺伝子組換え実験環境整備に取り組んでいる。加えて、今年度より貴重な生物材料を災害等で滅失しないために基礎生物学研究所を中心に立ち上げられた大学連携バイオバックアッププロジェクト（IBBP）計画推進委員会委員に就任し、より良い生物材料の保存のために

尽力している。さらに、学外の幾つかの機関や組織の遺伝子組換え実験安全委員会の外部委員、法令順守活動に貢献している。北村は、ナショナルバイオリソースプロジェクト酵母遺伝資源運営委員会委員および分担機関課題実施者として、酵母遺伝資源のバックアップを行っている。

昨年度の7月に遺伝子実験棟の1階および2階の改修が終了し、本年度から生命科学実験部門・動物実験部の管理運営の下で東広島動物実験施設が本格的に稼働を開始した。当部門との連携を深めて、広島大学における動物実験の支援に貢献していただくことを願いたい。

上記のように、本年度も当部門では遺伝子組換え実験の安全管理並びに共同利用機器の利用の推進など多岐にわたって本学の研究の促進に寄与しており、当部門の業務に対して学内外から引き続きのご理解とご支援を賜りたい。

遺伝子実験部

概要

本部門は、組換え DNA 実験並びに遺伝子組換え生物実験に関する教育研究支援業務を担当している。本部門では従来より組換え DNA 実験指針に準拠した教育訓練を行ってきたが、平成 16 年 2 月に遺伝子組換え生物の使用に関する法律（カルタヘナ法）が施行されたことを受け、組換え DNA 実験安全委員会のメンバーとして実験計画書の審査や安全講習会の講師などを行うことで全学的な安全管理に携わり、遺伝子組換え実験のリスクマネージャーとして安全委員会を支援している。さらに、これに関連して、バイオセーフティ委員会、平成 24 年度からは動物実験委員会の委員として広島大学の生命系実験における安全管理の推進に協力している。一方、平成 12 年度より中学校・高校の教員向けの遺伝子研修会を、平成 16 年度より高校生向けの遺伝子操作体験実習を行ってきたが、最近は広島県内の高校のサイエンスパートナーシッププログラムの実施で高校生に、また広島市子ども文化科学館のスーパーサイエンスミュージアムの講師として小学生に遺伝子教育を行っている。

平成 23 年度から 3 年間、文部科学省特別経費として「設備サポート事業費」が措置されたことで、生命科学研究機器の東広島キャンパスにおける拠点としての役割が強化されている。特に、平成 14 年度に開始した DNA 塩基配列決定サービスはその高品質な配列結果が大変好評で、毎年多くの依頼を受けており、平成 20 年度に開始した電子顕微鏡観察サービスの受託件数も順調に推移している。その他、技術セミナー、生命科学フォーラムなどを開催し部局を超えた情報交換の場も提供している。平成 16 年度に設置した遺伝子組換え動植物の飼育・培養設備（遺伝子実験施設 2 階）において、遺伝子科学研究開発部並びに関連研究科から採択された重点研究を推進している。さらに、平成 25 年度より、理学研究科より移管された質量分析装置の学内共同利用化と受託サービスを開始した。平成 27 年度には、施設 1 階並びに 2 階の一部に「東広島動物実験施設」が設置され、本年度より本格的に稼働を開始している。当センターの生命科学実験部門・動物実験部が管理運営を行っているが、当部門も協力体制をとっている。

学部教育については、工学部の学内非常勤として第三類発酵工学講座の講義及び実習を受け持ち、学部 4 年生の研究指導を行っている。また、平成 10 年度より大学院先端物質科学研究科の協力講座として大学院生の教育・研究指導にも携わっている。

本部門の研究支援活動並びに教育研究活動の詳細については、本部門のホームページ (<http://www.hiroshima-u.org/>) を参照いただきたい。

専任教員の研究紹介

教授 田中伸和

アラビノガラクトタンパク質 (AGP) は様々な機能を持つ植物特有の細胞表層プロテオグリカンであり、複雑な構造を持つ糖鎖を持ち、各種の外界シグナル物質の受容あるいはそれ自体がシグナル分子として働くと考えられている。我々は AGP 糖鎖の構造と機能の相関を明らかにするため糖鎖部分を人為的に改変する方法を確立し、新たな植物改良技術としての可能性を探索する研究を行っている。今年度は、AGP 糖鎖を人為的に増加するための、AGP 糖鎖の合成に関わる3つのタンパク質、すなわち、UDP-ガラクトース合成酵素 (UGE)、UDP-ガラクトース輸送体 (UGT)、 β -1,3-ガラクトース転移酵素 (β -1,3-GalT) の遺伝子を単独、もしくは組み合わせて植物に導入できるコンストラクトを作製し、タバコ植物体への導入を試みた。これらの遺伝子は、導入されたタバコ植物細胞で発現されることが確認できたので、今後は導入植物個体を取得し、AGP 糖鎖量に増加がみられるか、また、それに相関するような生育や形態の変化が生じるかを観察する予定である。

また、AGP 遺伝子を中心としたタバコでの遺伝子破壊を目的に、ゲノム編集の試みを開始した。タバコ (*Nicotiana tabacum*) は異種のタバコが交配することで生じた複2倍体であり、非常によく似た遺伝子が2セット存在するため、双方を正確に編集するための方法の確立を行っている。

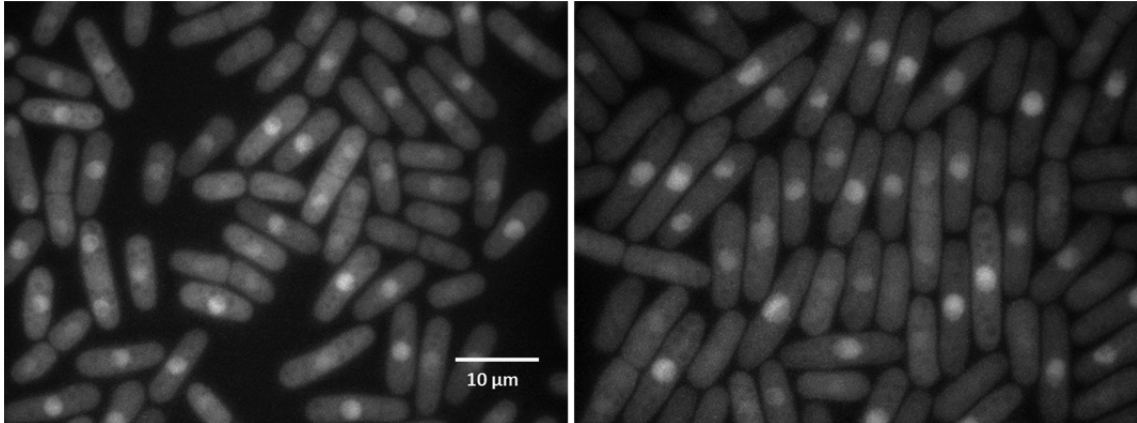
助教 北村憲司

細胞外のジ・トリペプチドは細胞膜上の特異的な輸送体を介して細胞内に取込まれて再利用される。進化的に保存された POT ファミリー輸送体に加えて、一部の真菌のみに新たな FOT ファミリー輸送体が存在することが報告された。多くの天然ジペプチドはどちらの輸送体でも同様に取り込まれるが、これらの輸送体の機能的な違いを調べるため、POT ファミリーとして Ptr2、FOT ファミリーとしてワイン用出芽酵母に由来する Fot1 を、出芽酵母実験室株の ptr2 変異株で発現し、様々なジペプチド類に対する応答を調べた。

人工甘味料のアスパルテームは Fot1 のみ取り込めることがわかった。さらに、各種の抗生物質について調べたところ、ペプチド輸送体を介して取り込まれるものが見つかり、Ptr2 輸送体はブラストサイジン S、Fot1 輸送体はビアラホス及びピューロマイシンを優先的に取込んでいた。各輸送体に対して特異性が異なる基質が見つかったことは、幅広い特異性をもつペプチド輸送体の基質認識基盤の解明に有用な情報となる。また、アミノ酸の供給以外に、一部のジペプチドは酵母細胞に対して増殖阻害等の生理活性をもつことがわかったため、その作用機作についても調べている。

教授 山下一郎

細菌から動植物まで、倍数体細胞はサイズ（容積）が大きくなることが知られている。染色体の倍加による細胞サイズの増大は発生や器官形成に重要であるが、なぜ同質の遺伝子セットが倍加するだけで細胞サイズが大きくなるのかは長く不明である。本年は、酵母 *S. pombe* の一倍体と二倍体細胞において、細胞伸長に関わる遺伝子を同定し、遺伝子発現制御ネットワークの解明を目指した。その結果、*cdc2* 遺伝子を中心とする正負制御経路が一倍体と二倍体細胞の伸長速度を決定していることを見出した。



一倍体（左）と二倍体（右）細胞の伸長速度を決めている Cdc25 の核局在性

利用状況 (平成 29 年 3 月 31 日現在)

総合科学研究科	26 名
教育学研究科	7 名
理学研究科	102 名
医師薬保健学研究科	9 名
工学研究科	15 名
生物圏科学研究科	127 名
先端物質科学研究科	72 名
両生類研究センター	16 名
自然科学研究支援開発センター	7 名
学外者	3 名
合 計	384 名

主な分析機器の利用

		平成 26 年	平成 27 年	平成 28 年
FACS	回数	95	102	174
リアルタイム PCR	回数	145	82	146
冷却 CCD 蛍光顕微鏡	時間	82.5	177.9	168.5
透過型電子顕微鏡	時間	403	326	512
シーケンサー (セルフラン)	ラン回数	916	1210	828
走査型電子顕微鏡	時間	3	140	77
TOF-MS	時間	764.5	116.7	38
オリンパス共焦点レーザー顕微鏡	時間	845.5	1091.75	1166.25
カールツァイス共焦点レーザー顕微鏡	時間	444.5	209.75	326
ChemiDoc	回数	162	37	23

利用申請者と研究テーマ

- 利用申請者の研究発表論文はセンター・ホームページに掲載しています

利 用 申 請 者	研 究 テ ー マ	共 同 研 究 者
総合科学研究科 平野 哲男	白血病関連長鎖非コード性 RNA の研究	5

彦坂 暁	トランスポゾンの転移活性と進化に関する研究 及び 無腸動物と藻類の共生に関する研究	2
久我 ゆかり	土壌生態系における植物と微生物の共生に関する研究	5
石原 康宏	グリア細胞の病態生理的役割の解明	5
佐藤 明子	ショウジョウバエ視細胞を用いた極性輸送と形態形成機構の解明	7
石田 敦彦	蛍光検出円二色性 (FDCC) 分光法における構造・スペクトル相関の研究	3
根平 達夫	蛍光検出円二色性の検出機構の解明	4
教育学研究科		
松原 主典	天然生理活性物質に関する研究	3
富川 光	無脊椎動物およびカワイワタケの系統分類学的研究	4
理学研究科		
菊池 裕	ゼブラフィッシュを用いた細胞運命決定機構の細胞生物学・生化学的解析	1 2
千原 崇裕	神経回路の形成と維持を司る分子基盤の解明	6
植木 龍也	ホヤによる高選択的金属濃縮の研究	4
森下 文浩	軟体動物腹足類の神経ペプチドの構造と機能に関する分子生物学的研究	2
鈴木 克周	原核生物から真核生物への遺伝子水平伝達	9
泉 俊輔	植物生体内における分子の動態・状態変化を主に酵素科学的・生化学的に扱う	7
坂本 尚昭	部位特異的ヌクレアーゼを利用したゲノム編集技術の開発	2 7
中坪 敬子	アリールスルファターゼの機能解析	2
坂本 敦	変動環境と植物の成長生存戦略	1 1
島田 裕士	光合成機能強化植物の育種	6
井出 博	DNA 損傷修復の研究	1 3
草場 信	葉老化の分子メカニズム	1
田川 訓史	半索動物ギボシムシの再生および分子発生生物学的・ゲノム科学的研究	2
白石 史人	CaCO ₃ 結晶核形成におけるシアノバクテリア EPS の影響	1
医師薬保健学研究科		

相澤 秀紀	動物の適応行動を制御する神経回路機能の解明	6
林 幾江	細菌の観察	1
丸山 博文	神経・筋疾患生検材料での封入体の検討	2
工学研究科		
滝畠 繁樹	高圧流体を利用したナノコンポジット材料の開発	3
池田 篤志	脂質二分子膜を用いた材料の創製	6
金田一 智規	分子生物学的手法を用いた環境微生物群集構造の解析	1
中井 智司	微生物を用いた有用物質生産	5
生物圏科学研究科		
江坂 宗春	ストレス耐性植物の作出に関する研究	1 3
矢中 規之	肥満形成における脂肪細胞因子の探索	1 3
	コリン栄養素の生理機能の解明	2
国吉 久人	ミズクラゲ幼生の変態に関する研究	8
小山 寛喜	甲殻類の浸透圧調節関連遺伝子に関する研究	1
豊後 貴嗣	家畜の気質と遺伝子多型	4
西堀 正英	資源動物の分子進化学的解析および有用遺伝子の探索	8
島田 昌之	雌雄生殖細胞の機能解析	6
平山 真	藻類レクチンの機能解析とその応用	8
鈴木 卓弥	食品成分の生体調節機能に関する研究	1
河合 幸一郎	水生動物の遺伝子系統解析	5
小池 一彦	単細胞性藻類のリボゾーマル遺伝子解析	5
長沼 毅	地衣類に共生しているバクテリアの系統解析	6
清水 典明	動物細胞内での遺伝子増幅と、その利用	7
手島 圭三	植物蛋白質の構造と機能	1
大塚 攻	海洋無脊椎動物の組織学的研究	6
	海洋生物の微細組織に関する研究	2
冲中 泰	メダカトランスポゾンの転移に関する研究	1
中井 敏博	魚類病原微生物	2
上田 晃弘	植物の環境ストレス耐性向上の試み	1 4
長澤 和也	水族寄生虫学	2
海野 徹也	水圏生物の DNA 多型	7
富永 るみ	植物表皮細胞分化の研究	6
本同 宏成	油脂結晶観察	1

先端物質科学研究科		
荒川 賢治	放線菌の二次代謝生産・制御システムの包括的 解明を 指向したゲノム全塩基配列解析	1 0
秋 庸裕	機能性脂質の生合成及び発酵生産に関する研究	9
河本 正次	免疫アレルギー疾患の分子基盤解明に関する研 究	1 1
中の 三弥子	糖鎖分析	6
湯川 格史	酵母の増殖と分化に関する基礎的研究	5
藤江 誠	高等植物の分子生物学的研究	7
水沼 正樹	モデル生物を用いた寿命制御機構および細胞極 性制御機構の解析	8
上野 勝	テロメアの研究	1
黒田 章夫	バクテリアのリン代謝機構の解析	9
舟橋 久景	プラスミド DNA 塩基配列決定と細胞内 mRNA の蛍光顕微観察	5
川北 龍司	生物科学班勉強会において分離された本学内に 生息するセルロース分解能を有する糸状菌の同 定	1
両生類研究センター		
高瀬 稔	両生類におけるホルモン作用機構の解析	1
鈴木 厚	初期発生分子機構	8
倉林 敦	脊椎動物における転移因子およびゲノム進化の 研究	5
三浦 郁夫	両生類の性決定、色彩発現および種分化	2
自然科学研究支援開発 センター		
山下 一郎	染色体の倍数性による細胞サイズの調節機構	1
田中 伸和	外来異種遺伝子導入による植物の機能変化の研 究	5
北村 憲司	蛋白質分解による生理機能制御	1
岡山大学 環境生命科学研究科		
根本 理子	珪藻	1
島根大学・研究・学術 情報機構		
中川 強	植物分子遺伝学	1

山口大学 医学部神経内科 尾本 雅俊	末梢神経の超微形態	1
--------------------------	-----------	---

共同研究者は延人数です。

教育研究支援活動

A. 新規利用者講習会

講師 自然科学研究支援開発センター 山下 一郎
 “ 田中 伸和
 “ 北村 憲司

受講者（新規利用者対象）100名（広島大学教員・学生）

開催日 平成28年4月13日、4月21日、5月20日
 6月13日、7月6日、8月23日
 9月6日、9月27日、10月26日
 11月21日、12月6日

開催場所 自然科学研究支援開発センター
 （RI 総合部門、遺伝子実験棟）

B. スーパーサイエンスミュージアム

第8回講座「DNA鑑定に挑戦～お米の銘柄を判別しよう～」

講師：自然科学研究支援開発センター 田中伸和

受講者：小学5・6年生（16名）および父兄

開催日：平成28年9月10日（土） 9：30～14：00

主催：スーパーサイエンスミュージアム実行委員会

共催：広島市こども文化科学館

開催場所：自然科学研究支援開発センター遺伝子実験棟

C. 遺伝子組換え生物等使用実験に関する安全講習会（学内）

講師：自然科学研究支援開発センター 田中伸和、北村憲司

受講者：広島大学遺伝子組換え実験従事者

実施日：平成28年4月15日（金）、9月28日（水）、10月6日（木）

主催：広島大学組換えDNA実験安全委員会

開催場所：理学研究科 E002 講義室、E102 講義室

D. 技術セミナー

●平成28年度第1回技術セミナー

MultiNA (DNA/RNA 分析用マイクロチップ電気泳動装置) (島津製作所) 使用説明会

機器紹介及び実機の使用説明とデモ

講師 (株) 島津製作所 担当者

受講者 6名

(広島大学教員、学生)

開催日 平成28年10月24日

開催場所 自然科学研究支援開発センターRI 総合部門セミナー室、
遺伝子実験部門合成分析室1

●第60回遺伝子技術セミナー

オックスフォード・ナノポアテクノロジー社シークエンサー「MinION」の
基礎と活用事例、今後の開発予定について

講師 株式会社オックスフォード・ナノポアテクノロジーズ
テクニカルアプリケーションマネージャー 宮本真理, PhD

受講者 36名

(広島大学教員、学生)

開催日 平成29年1月17日

開催場所 生物生産学部A棟C314

E. 農林水産省「ジーンドライブ (Gene Drive) に関する勉強会」

講師： 沖縄科学技術大学院大学 安全衛生セクション 田中俊憲

自然科学研究支援開発センター 田中伸和

受講者： 農林水産省、水産庁、環境省、経済産業省、文部科学省等の遺伝子組換え
研究の安全管理関係者 (22名)

実施日： 平成29年1月23日 (月)

主催： 農林水産省事務局研究企画課

開催場所： 農林水産省 消費・安全局第3会議室

F. DNAシーケンシングサービス

・相互利用：セルフラン依頼件数（サンプル数）

	総	教	理	生	先	合計
H28	18(352)	66(2464)	132(2608)	180(7584)	14(240)	411(13248)
H27	2(32)	33(1168)	134(3168)	274(14816)	24(416)	467(19660)

・依頼測定：依頼件数（サンプル数）

	総	教	理	生	先	サ	自セ	両セ	合計
H28	4(96)	1(48)	114(593)	59(2052)	54(373)	－	15(129)	17(60)	264(3351)
H27	3(80)	4(208)	104(546)	88(1876)	43(215)	7(33)	52(398)	－	301(3356)

・依頼測定：内容別依頼件数（サンプル数）

	1. 泳動+解析	2. 精製+泳動+解析	3. 反応+精製+泳動+解析	4. シェアラン	合計
H28	69(260)	17(159)	134(804)	44(2128)	264(3351)
H27	66(399)	28(430)	174(1135)	33(1392)	301(3356)

G. 電子顕微鏡観察受託サービス

・受託サービス依頼件数

【平成 28 年度】

	総	教	理	工	生	先	医歯薬	自セ	学外	合計
試料作製, 観察※1	1(6)	1(1)	1(2)	－	6(45)	3(13)	1(4)	1(4)	4(24)	18(99)
技術講習※2	3(11)	－	1(1)	－	11(45)	－	－	－	1(2)	16(59)

※1 () は依頼サンプル数, ※2 () は時間

【平成 27 年度】

	総	教	理	工	生	先	医歯薬	自セ	合計
試料作製, 観察※1	1(2)	－	2(11)	1(2)	6(35)	2(13)	－	1(2)	13(65)
技術講習※2	6(24)	－	1(10)	1(2)	18(126)	1(2)	－	－	27(164)

H. 質量分析（MALDI-QIT-TOF/MS）受託サービス

・質量分析装置（MALDI-QIT-TOF/MS）使用時間

平成27年度（平成27年8月より担当者不在）

116.7時間

平成28年度（平成28年8月まで担当者不在）

38時間

・質量分析装置（MALDI-QIT-TOF/MS）相互利用者数

	生 圈	理 学	先 端	工 学	医歯薬	原 医	総 科	自然セ	合計
平成 27 年度	0	1	1	0	0	0	2	1	5
平成 28 年度	0	1	0	0	0	0	2	1	4

・質量分析装置（MALDI-QIT-TOF/MS）依頼件数（（ ）はサンプル数）

平成27年度

依頼内容	生 圈	理 学	先 端	工 学	医歯薬	原 医	総 科	自然セ	合計
MS 分析	2(10)								2(10)
MS/MS 分析									
Mascot 検索	2(10)								2(10)
測定補助		1					2		3
測定相談	1						2		3

平成28年度

依頼内容	生 圈	理 学	先 端	工 学	医歯薬	原 医	総 科	自然セ	合計
MS 分析								1(2)	1(2)
MS/MS 分析									
Mascot 検索									
測定補助		1					1		2
測定相談									

I. 機器利用講習

機 器 名	総	教	理	工	生	先	自セ	医	学外	受講者 数合計	開 催 回 数 (開催日)	講 師
DNAシーケンサー ABI 3130xl	3	1	7	0	12	2	0	0	0	25	10 回 (H28.5/12, 5/30, 6/23, 8/3, 9/13, 9/26, 9/27, 10/21, 10/26, 11/21)	彦坂 (自セ)
共焦点レーザー顕微鏡 FV-1000	2	0	12	0	1	0	0	0	0	15	1 回 (H28 5/17)	坂本 (オリンパス)
共焦点レーザー顕微鏡 LSM700	4	0	7	0	3	0	0	0	0	14	2 回 (H28 5/26)	滝口 (カールツァイス)
透過型電子顕微鏡 JEM-1400	2	0	2	0	4	0	0	0	1	9	9回 (H28 5/31, 6/14, 7/20, 7/25, 8/4, 8/26, 11/20)	小池 (自セ)
走査型電子顕微鏡 JSM-5610	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2	2 回 (H28 11/18, 22)	小池 (自セ)
質量分析装置 MALDI-QIT-TOF/MS	4	0	0	0	0	0	0	0	0	4	1 回 (H28 12/6)	石原 (自セ)
フローサイトメーター (BD・FACSCalibur 3S)	0	0	5	0	0	0	0	0	0	5	1 回 (H28 9/6)	北村 (自セ)
フローサイトメーター (BD・FACSCalibur 4A)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 回	

J. 外部委員等

- とっとりバイオフロンティア遺伝子組換え実験安全委員会委員 (田中)
- (独)水産総合研究センター瀬戸内海区水産研究所遺伝子組換え実験安全委員会委員 (田中)
- 大学連携バイオバックアッププロジェクト (IBBP) 計画推進委員会委員 (田中)
- 全国大学等遺伝子研究支援施設連絡協議会監事 (12月より代表幹事) (田中)
- NBRP酵母遺伝資源運営委員会委員 (北村)

遺伝子科学研究開発部

概要

遺伝子科学研究開発部では、重点研究を推進するために、平成 17 年度より遺伝子科学研究開発プロジェクトを募集し、採択された課題を平成 16 年度に設置した遺伝子組換え動植物の飼育・培養設備（遺伝子実験施設 2 階）で実施している。第 1 期は平成 17 年度～平成 19 年度、第 2 期は平成 20 年度～22 年度、第 3 期は平成 23 年度～25 年度であった。平成 26 年 4 月から第 4 期を開始しており、植物が 6 テーマ、動物（小型魚類に加え水産生物の受入）が 3 テーマで、所属部局は、理学研究科（4）、先端物質科学研究科（1）、生物圏科学研究科（2）、総合科学研究科（1）、自然科学研究支援開発センター（1）を重点支援した。本年度は最終年度であり、それぞれの研究の成果の報告が提出されたので、それらを記載する。なお、植物の研究テーマが 6 テーマで、さらにいくつかの問い合わせもあることから、栽培設備の拡張の必要性に迫られている。

今期のプロジェクト研究は以下の通りである。

分類	研究テーマ名	所属部局等	研究代表者（職）
植物	変動環境と植物の成長生存戦略	理学研究科	坂本 敦（教授）
	葉老化制御の分子遺伝学的研究	理学研究科	草場 信（教授）
	高等植物の細胞機能に関する研究	先端物質科学研究科	藤江 誠（准教授）
	遺伝子組換えによる高ストレス耐性植物の作出に関する研究	生物圏科学研究科	江坂 宗春（教授）
	植物の表皮細胞分化因子の研究	生物圏科学研究科	富永 るみ（講師）
	外来異種遺伝子導入による植物の機能変化の研究	自然科学研究支援開発センター	田中 伸和（教授）
動物	アリールスルファターゼの機能解析	理学研究科	中坪 敬子（助教）
	再生を制御するエピジェネティック機構の解明	理学研究科	菊池 裕（教授）
	無腸動物の飼育方法と実験手法の開発	総合科学研究科	彦坂 暁（助教）

各研究プロジェクトの目的と成果

[植物]

変動環境と植物の成長生存戦略（理学研究科・教授・坂本 敦）

研究目的：固着生活を営みながら不断に変化する環境を生き抜く植物の戦略を、分子遺伝学的、分子生物学的、生化学的および分子生理学的手法を駆使して総合理解すること、また、遺伝子操作を用いて過酷環境下の成長生存に資する植物機能を強化し、農業分野・環境分野におけるその応用を図ることを最終的な目的とする。

研究成果：植物の成長や生産性は、光に依存した同化機能のみならず、異化代謝による同化栄養のリサイクル機構が絶え間なく機能することで保証されている。核酸やヌクレオチドの主要成分であるプリン塩基は、植物の多量必須元素である窒素の含有率が格段に高いため、その分解は長らくこのようなりサイクル機構を担う典型的なハウスキーピング代謝と理解されてきた。その一方で、植物のプリン分解は様々な環境ストレスにより活性化され、代謝中間体であるアラントインを蓄積することが知られていたが、その生理的意義は不明であった。私たちは、本プロジェクトの前期（第3期）において、代謝酵素の遺伝子破壊によりアラントインを恒常的に蓄積させる *aln* 変異が、乾燥や浸透圧ストレスに対するシロイヌナズナの耐性を増強することを見出し、その分子機構として、アラントインの蓄積がストレスホルモンであるアブシジン酸（ABA）の生成系を活性化し、ABA を介したストレス応答機構を誘導することを明らかにした。今期（第4期）においては、この研究成果を2報の原著論文に纏めて公表するとともに（Watanabe et al., 2014a, 2014b）、植物ホルモン間のクロストークを介して、アラントインがABAのみならず、他の植物ホルモンによって制御されるストレス応答現象にも関与する可能性を追究した。その結果、アラントインの蓄積は、ABA と協調的に相互作用するジャスモン酸（JA）のシグナル伝達系を活性化することを、JA が制御する遺伝子発現、代謝、成長生理、傷害応答、および病理応答の観点から実証した。さらに、アラントインによる JA 応答の活性化は、JA シグナル伝達の主要転写制御因子である MYC2 を介することも明らかにした。上記の研究成果は、アラントインがストレスホルモン間の相互作用を通じて幅広い植物の環境応答機構に密接に関与することを具体的に示したものである。今期に得られたこれらの研究成果は、原著論文に纏めて公表した（Takagi et al., 2016）。

葉老化制御の分子遺伝学的研究（理学研究科・教授・草場 信）

研究目的：高等植物を用いてクロロフィル分解を含めた葉老化制御の分子機構を明らかにする。

研究成果：第4期はダイズのステイググリーン突然変異体を中心に解析を行った。ダイズには2つのタイプの青豆遺伝子が知られている。ひとつは *d1d2* と呼ばれる二重突然変異体であり、この原因遺伝子はイネのステイググリーン突然変異原因遺伝子の *SGR* のオーソ

ログ *GmSGR1* と *GmSGR2*であることを明らかにした。もうひとつは細胞質遺伝する青豆遺伝子 *cytG* である。こちらはタバコの葉緑体形質転換法なども用いて、葉緑体ゲノム上の遺伝子 *psbM* であることを明らかにした。*psbM* は光化学系 II の小サブユニットのひとつであり、このタンパク質が光合成と葉老化時のクロロフィル分解の両方に機能していることは興味深い。また、シロイヌナズナを用いて最も新しく発見された植物ホルモンであるストリゴラクトンの老化促進作用機構について、遺伝—生理学的な解析を行い、他の老化促進植物ホルモンであるエチレンとのクロストークを解析した。

高等植物の細胞機能に関する研究（先端物質科学研究科・准教授・藤江 誠）

研究目的：①シロイヌナズナのミオシン関連遺伝子の機能解析、②高等植物と植物病原細菌（植物共生菌）の相互作用の分子解析

研究成果：1. 形成層の発達変異を指標として取得したシロイヌナズナの変異体 CS36065 は、ミオシン XIF (*AtXIF*) に変異が存在する。CS36065 と pTH37 (色素体局在型 GFP を発現させる) 導入植物を交配すると、F1 で GFP 蛍光を発する細胞の分布が組織内でモザイク状になる表現型が出現する事を見出している。

(1) モザイク状の発現の原因の解析： モザイク状の表現型が CS36065 株に特有な現象ではなく、*AtXIF* の変異が原因であることを検証した。CS36065 とは異なる *AtXIF* 遺伝子破壊株 (CS327062) を用いて pTH37 と交配をしたところ、F2 において *AtXIF* のホモ破壊株では CS36065 と同様のモザイク状の GFP 発現の表現型が確認された。この結果から、モザイク状の表現型は CS36065 株に限定されず、*AtXIF* の変異により引き起こされることが強く示唆された。

(2) *AtXIF* 相補実験の解析： CS327062×pTH37 の F3 の *AtXIF* 遺伝子ホモ破壊株に、*AxXIF* の野生型ゲノム断片を導入することでモザイク状の表現型の相補を試みた。*AtXIF* のゲノミッククローンを含むプラスミド (pGWB1-*AtXIF*) を、*AtXIF* のホモ破壊株に形質転換したところモザイク状の発現は相補され、モザイク状の表現型は *AXIF* の変異に起因する事が明らかとなった。

2. 当研究室ではミヤコグサの根粒で発現するシステインプロテアーゼの遺伝子群 (h07、f12、h01、d01) を解析している。それぞれのプロモータの下流に GUS を接続したコンストラクトを毛状根形質転換法でミヤコグサに形質転換し、誘導された根に根粒菌を接種した。根粒菌感染後 1~2 カ月後に、形成された根粒周辺での GUS 染色のパターンを解析した。f12 では根粒基部の維管束と根粒近傍の根の維管束でシグナルが確認され、一部の根粒では内部の感染領域でもシグナルが確認された。また、根粒原基でのシグナルも確認された。h01 では根粒基部の維管束、根粒近傍の根の維管束、根粒内の維管束でシグナルが確認された。

遺伝子組換えによる高ストレス耐性植物の作出に関する研究（生物圏科学研究科・教授・江坂宗春）

研究目的：環境の悪化の深刻化により、植物の生育環境も、急激な劣悪条件に変貌しつつある。そこで本研究では、遺伝子組換え技術を用いて、抗酸化能を高めることにより、劣悪環境においても高い生育能力を有した高ストレス耐性植物の開発を目指した研究を行う。

研究成果：抗酸化物質であるアスコルビン酸について、高等植物では複数の生合成経路の存在が明らかにされているが、マンノース経路が主経路とされている。熱帯植物アセロラ (*Malpighia glabra*) では、マンノース経路に係わる生合成酵素の非常に高い発現が、アスコルビン酸大量集積の一因であることを明らかにしている。そこで生合成酵素の遺伝子発現機構を転写レベルで検討するため、マンノース経路に係わる GMP-D-mannose pyrophosphorylase (GMP) 遺伝子の転写活性化を評価した。その結果、アセロラ GMP (MgGMP) 遺伝子の転写活性化能はシロイヌナズナと比べて 20 倍以上高いことを明らかにした。さらに MgGMP 遺伝子の転写開始点上流 1087-1083 bp およびその周辺の配列が転写活性化シス因子として機能し、転写開始点 1185-600 bp を認識する転写因子も転写活性化に必要であることが明らかになった。アスコルビン酸生合成の副経路に係わるガラクトuron酸レダクターゼ (GalUAR) にも着目した。トマトではストレスにより GalUAR の発現が誘導されることから、トマト GalUAR の遺伝子発現を転写レベルで検討した。その結果、GalUAR の開始コドンから上流 600-500 bp に、カリフラワーモザイクウイルス 35S プロモーターと同程度の高い転写活性に関わるシス因子が存在することが明らかになった。またトマト GalUAR は、各種カルボニル化合物に対して酵素活性を示すことが明らかになった。

植物の表皮細胞分化因子の研究（生物圏科学研究科・講師・富永るみ）

研究目的：シロイヌナズナとトマトの表皮細胞分化（根毛やトライコーム形成）に関わる制御因子の形質転換体を作製し、植物体内での機能を解析する。

研究成果：植物は、表皮細胞を特殊な器官に分化させ、環境に適応している。我々は、植物の表皮細胞分化制御機構を解明するために、モデル植物であるシロイヌナズナを用い、転写制御因子の解析を中心に研究を進めた。表皮細胞分化には GL3 という細胞間移行する転写因子が関与しているが、なぜ細胞間移行するのか知られていない。そこで、本研究では植物の表皮細胞分化の仕組みを明らかにするために、GL3 の細胞間移行に関わる領域の解明を目指した。また、R3-type MYB 転写因子 CPC の細胞間移行についても解析を行った。これらの実験により、GL3 の細胞間移行に関わる領域として、N 末端側の配列が重要であることを見出した。CPC の細胞間移行についても、アミノ酸置換により研究を進めている。さらに、CPC ホモログである CPL3 を CPC 遺伝子プロモーターの制御下で発現させる実験により、CPL3 が細胞間移行しないことを明らかにし、同じ CPC ファミリーに属する遺伝子でも、機能が細分化されていることを明らかにした。

外来異種遺伝子導入による植物の機能変化の研究（自然科学研究支援開発センター・教授・田中伸和）

研究目的：ヒト由来の UDP-ガラクトース輸送体（UGT）遺伝子、真核微生物由来の糖鎖分解酵素遺伝子などを導入した植物体を作製し、アラビノガラクトサン（AG）糖鎖量と形質との関係を解析する。

研究成果：AGP は植物の生理、成長、分化、環境応答などで重要な役割を果たすことが分かっており、その機能には分子の 90%以上を占める糖鎖が重要と考えられている。本プロジェクトの第 4 期では、AGP 糖鎖を含む細胞壁マトリックス糖鎖の高ガラクトシル化を目指し、UDP-ガラクトース合成酵素遺伝子（AtUGE2）発現タバコ植物を作製し、以前に高ガラクトシル化が確認されたヒト UDP-ガラクトース輸送体遺伝子（hUGT1）発現タバコ植物と交配を行った。両遺伝子が発現する個体を多数取得したが、hUGT1 発現のみで見られた高ガラクトシル化のレベルを超えることはなかった。

[動物]

アリアルスルファターゼの機能解析（理学研究科・助教・中坪敬子）

研究目的：新奇細胞外基質アリアルスルファターゼ（Ars）の脊椎動物における機能を解明するために、マウス、ラットと共に顕微鏡下で形態形成運動の解析が容易なメダカを用いて、Ars の分子環境と構築システムを明らかにする。

期待される成果と意義：従来、芳香族硫酸エステルを加水分解するライソゾームの酵素として理解されてきたアリアルスルファターゼ（Ars）を、新奇の細胞外基質であるという視点に立ち、ラットとメダカを用いて、Ars の分子環境と構築システムの解析を行った。

今期は、まず、ラット ArsB の局在を再度精査した。蛍光抗体染色により、幼若肝臓の時期に既に細胞外基質を構成していること、免疫電顕により、従来報告した肝類洞領域に加えて、ArsA と同様にディッセ腔のコラーゲン繊維上にも局在していることを明らかにした。メダカを用いた解析では、細胞外分泌型 ArsB の多い脳では、ArsB は特殊な構造をもつ間質の細胞で合成され、上皮細胞から脳室内に分泌されている場合や、特殊な分泌細胞に分化した上皮細胞から分泌されている場合等の領域特異性が観察された。Ars の細胞外基質としての機能を明らかにするために、メダカ ArsA と ArsB の変異体を TILLING 法により作成したが、今回作成したアミノ酸置換変異体には、運動能力や形態形成への影響は認められなかった。ゲノム編集により、Ars をノックアウトした個体を作成し、Ars の欠失が形態形成に及ぼす影響を解析している。また、メダカゲノム内における Ars サブファミリーを検索しなおして、系統関係を再検討している。

再生を制御するエピジェネティック機構の解明（理学研究科・教授・菊池 裕）

研究目的：再生能力が高い脊椎動物の再生では、脱分化・再分化の過程を経て、組織・器官が再構築される。私達の研究により、脱分化には能動的 DNA 脱メチル化が重要であ

ることを明らかにしたが、詳細な分子機構は未だ不明である。本研究では、ゼブラフィッシュ変異体・組換え体を用いる事により、再生を制御するエピジェネティック機構（特に DNA 脱メチル化）の解明を目指す。

研究成果：多くの脊椎動物は、外傷や疾患による損傷に対して高い再生能力を有するが、哺乳類等の高等動物は非常に限られた再生能力しか示さない。そこで私達は、再生能力が高い・低い脊椎動物間における再生機構の違いを解明することにより、iPS 細胞を用いた移植による再生医療ではなく、生体内での再生医療の創生を目指している。私の研究室では、再生能力が高い動物として小型熱帯魚ゼブラフィッシュを用い、尾ビレ再生を実験系として研究を行っている。第 4 期は、尾ビレ再生過程を制御する新たなシグナル伝達系（Mechanistic target of rapamycin complex 1 (mTORC1)）の機能を明らかにしたので報告する。

mTORC1 は、細胞増殖・細胞成長・代謝の制御を通して、多彩な生命現象に関与する事が報告されていたが、脊椎動物の器官再生における役割は未だ不明であった。そこで私達は、最初に mTORC1 活性化の指標である Phosphorylated S6 kinase : p-S6K 抗体を用いた蛍光免疫染色法によって、尾びれ再生過程における mTORC1 活性化の時空間的解析を行った。その結果、p-S6K シグナルは再生過程の尾びれにおいて、切断後 6 時間目という非常に早い時期から活性化が起こり、細胞増殖期に移行した繊維芽様細胞・骨芽細胞・表皮細胞において活性化されていることを見出した。また、ラパマイシンを用いて mTORC1 の阻害実験を行った結果、劇的に尾びれ再生が抑制された。ラパマイシンの処理により、再生芽形成過程において細胞増殖の抑制が生じること、再生芽伸長過程においては細胞増殖の抑制・細胞死の誘発・骨芽細胞の分化抑制が起きていることが観察された。

更に、様々なシグナル伝達経路阻害剤を用いることにより、mTORC1 を活性化する上流の因子の探索を行った結果、Insulin-like growth factor-1 receptor: IGFR 及び Phosphatidylinositol-3 kinase: PI3K, Wnt の各伝達経路阻害によって mTORC1 の活性化が抑制されることが明らかとなった。従って、私達の解析結果により、IGFR-PI3K 経路及び canonical Wnt 経路によって活性化された mTORC1 が、細胞増殖・骨芽細胞分化の促進及び細胞死の抑制により尾びれ再生を制御していることを明らかになった。

無腸動物の飼育方法と実験手法の開発（総合科学研究科・准教授・彦坂 暁）

研究目的：無腸動物を実験室内で継続的に飼育する方法を確立し、また卵や初期胚を用いた様々な実験発生学的、分子発生学的手法を開発し、無腸動物を実験動物として広く利用できるようにする。

研究成果：瀬戸内海産無腸動物 *Praesagittifera naikaiensis* の飼育法を開発し、継続的な飼育を行った。また熱帯産無腸動物 *Waminoa litus* の継続的長期飼育も行った。これらを用いて、発生学、及び微細藻類との共生の研究を進めた。これにより以下のような成果が得られた。

- ① *P. naikaiensis* の共生藻テトラセルミスの培養法を開発した。
- ② 上記の藻類を用いて *P. naikaiensis* 幼生の藻類取り込みを観察した。
- ③ *P. naikaiensis* の共生藻密度を計測する手法を開発した。
- ④ 共生藻の葉緑体 *rbcL* 遺伝子を用いた DNA バーコーディングを行い、共生藻の系統を明らかにした。
- ⑤ ミトコンドリア COI 遺伝子を用いた *P. naikaiensis* の DNA バーコーディングを行い、本種の遺伝的多様性を調べた。
- ⑥ *Waminoa litus* に共生する褐虫藻の葉緑体 *cox*, *cob* 遺伝子を用いた DNA バーコーディングを行い、褐虫藻の系統を解析した。
- ⑦ 無腸動物のゲノムプロジェクト及び RNA-Seq 解析に材料を提供した。

【当部門利用申請者の研究業績】

総合科学研究科

Adam M. Session, Yoshinobu Uno, Taejoon Kwon, Akira Hikosaka (8 番目), Richard M. Harland, Masanori Taira, Daniel S. Rokhsar, 他 67 名. Genome evolution in the allotetraploid frog *Xenopus laevis*. *Nature*, vol. 538 (7625), 336-343, 2016.

Iwanami,N, Nakamura,Y , Satoh, T., Liu, Z. and Satoh.A. K.

Rab6 is required for multiple apical transport pathways
but not for basolateral transport pathway in *Drosophila* photoreceptors.
PLoS Genetics. (e1005828) 2016

Satoh, T., Nakamura,Y. and Satoh.A. K.

Rab6 regulates the retrograde trafficking of Golgi resident enzymes required
for apical transports in *Drosophila* photoreceptors.
Fly. 10, 123-7. (10.1080/19336934.2016.1182273) 2016

佐藤卓至, 中村祐里, 佐藤明子

ショウジョウバエ視細胞の膜タンパク質選別輸送における低分子量 G タンパク質 Rab6 の
役割
顕微鏡. 51, 3-8. 2016

Satoh, T., Nakamura,Y. and Satoh.A. K.

The roles of Syx5 in Golgi morphology and rhodopsin transport in *Drosophila*
photoreceptors.
Biol. Open. (bio.020958) 2016

Ishihara Y*, Fujitani N, Sakurai H, Takemoto T, Ikeda-Ishihara N, Mori-Yasumoto K,
Nehira T, Ishida A, Yamazaki T.

Effects of sex steroid hormones and their metabolites on neuronal injury caused by
oxygen-glucose deprivation/reoxygenation in organotypic hippocampal slice cultures.
Steroids. 2016 Sep;113:71-77.

Senga Y, Akizuki K, Katayama S, Shigeri Y, Kameshita I, Ishida A*, Sueyoshi N*.

High-performance CaMKI: A highly active and stable form of CaMKI δ produced by high-level soluble expression in *Escherichia coli*.

Biochem Biophys Res Commun. 2016 Jul 475:277-282

Ozaki H, Katoh T, Nakagawa R, Ishihara Y, Sueyoshi N, Kameshita I, Taniguchi T, Hirano T, Yamazaki T, Ishida A*.

Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase phosphatase (CaMKP/PPM1F) interacts with neurofilament L and inhibits its filament association.

Biochem Biophys Res Commun. 2016 Sep 477:820-825.

教育学研究科

Shibata, S., Ishitobi, H., Miyaki, S., Kawaoka, T., Kayashima, T., Matsubara, K. Carnosic acid protects starvation-induced SH-SY5Y cell death through Erk1/2 and Akt pathways, autophagy, and FoxO3a. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 67, 977-982, 2016.

Species Diversity of Animals in Japan (Motokawa, M. and Kajihara, H. eds),
Species Diversity and Phylogeny of Freshwater and Terrestrial Gammaridean
Amphipods (Crustacea) in Japan (pp. 249-266), 分担執筆 (単著, Tomikawa, K.),
Springer, pp. 1-721, 2017 年 DOI: 10.1007/978-4-431-56432-4_9)

Tomikawa, K., Kyono, M., Kuribayashi, K., Nakano, T., The enigmatic groundwater amphipod, *Awacaris kawasawai*, revisited: synonymisation of the genus *Sternomoera*, with molecular phylogenetic analyses of *Awacaris* and *Sternomoera* species (Crustacea : Amphipoda : Pontogeneiidae). *Invertebrate Systematics* 31:125-140 (2017) .

Shimomura, M., Tomikawa, K., *Epimeria abyssalis* sp. n. from the Kuril-Kamchatka Trench (Crustacea, Amphipoda, Epimeriidae). *Zookeys* 638: 125–142 (2016).DOI: 10.3897/zookeys.638.10329

Narahara-Nakano, Y., Kakui, K., Tomikawa, K., *Opisa takafuminakanoi*, a new species of Opisidae from Hokkaido, Japan (Crustacea: Amphipoda). *Zootaxa* 4200: 335–339 (2016). DOI: 10.11646/zootaxa.4200.2.9 (29 Nov. 2016)

Tomikawa, K., Nakano, T., Sato, A., Onodera, Y., Ohtaka, A., A molecular phylogeny of *Pseudocrangonyx* from Japan, including a new subterranean species (Crustacea, Amphipoda, Pseudocrangonyctidae). *Zoosystematics and Evolution* 92: 187–202 (2016). DOI: 10.3897/zse.92.10176 (14 Oct. 2016)

Tomikawa, K., Tanaka, H., Nakano, T., A new species of *Priscomilitaris* from the Seto Inland Sea, Japan (Crustacea: Amphipoda: Priscomilitaridae). *Zookeys* 607: 25–35 (2016). DOI: 10.3897/zookeys.607.9379

Takeuchi, I., Tomikawa, K., Lindsay, D. A new genus and species of the Phtisicidae (Amphipoda) from abyssal depths in the Japan Trench, northern Pacific, with special reference to its similarities with Southern Ocean genera. *Journal of Crustacean Biology* 36: 495–506 (2016). DOI:10.1163/1937240X-00002457

Hirabayashi, H., Ohtsuka, S., Urata, M., Tomikawa, K., Tanaka, H. Molecular evidence on evolutionary switching from particle-feeding to sophisticated carnivory in the calanoid copepod family Heterorhabdidae: drastic and rapid changes in functions of homologues. *Journal of Natural History* 50: 1759–1772 (2016). DOI: 10.1080/00222933.2016.1155779

Tomikawa, K., Shinoda, S., Redescription of a subterranean amphipod, *Eocrangonyx japonicus* (Crustacea, Amphipoda, Pseudocrangonyctidae) from Japan. *Crustaceana* 89: 583–594 (2016). DOI: 10.1163/15685403-00003544

Tomikawa, K., Kobayashi, N., Morino, H., Reassessing the taxonomic subdivision of the *Jesogammarus jesoensis* complex (Crustacea: Amphipoda: Anisogammaridae) in northern and central Japan. *Species Diversity* 21: 55–64 (2016). DOI: 10.12782/sd.21.1.055

理学研究科

Nakahara Y, Muto A, Hirabayashi R., Sakuma T., Yamamoto T., Kume S., Kikuchi, Y. * (* corresponding author). Temporal effects of Notch signaling and potential cooperation with multiple downstream effectors on adenohypophysis cell specification in zebrafish. *Genes to Cells* 21: 492–504, (2016).

Shiomi T., Muto A., Hozumi S., Kimura H., and Kikuchi, Y. * (* corresponding author).

Histone H3 lysine 27 trimethylation leads to loss of mesendodermal competence during gastrulation in zebrafish ectodermal cells.

Zoological Science 34: 64-71, (2017).

Iwasaka, M., K. Tagawa, K., and Kikuchi, Y.

Magnetically tunable control of light reflection in an unusual optical protein of squid.

AIP ADVANCES 7: 056722, (2017).

Romaidi, T. Ueki. Bioaccumulation of vanadium by vanadium-resistant bacteria isolated from the intestine of *Ascidia sydneiensis samea*. Marine Biotechnology, 18: 359-371 (2016).

N. Yamaguchi, M. Yoshinaga, K. Kamino, T. Ueki. Vanadium-binding ability of nucleoside diphosphate kinase from vanadium-rich fan worm, *Pseudopotamilla ocellata*. Zoological Science, 33: 266-271 (2016).

植木龍也, 山口信雄, 紙野 圭. 海産動物の接着機構の研究－接着物質の探索と応用展開－. オレオサイエンス, 16: 511-518 (2016).

植木龍也, ロマイディ. 1, 000 万倍に達するホヤのバナジウム濃縮-直接か間接か-. 生物と化学 55 巻 5 号 299-300 頁 (2017 年 5 月).

T. Ueki, T. Maeshige, T. Hino, Tri K. Adi, Romaidi. Vanadium Accumulation and Reduction in Ascidians: Contribution of symbiotic bacteria. 第 10 回国際バナジウム化学・生物学シンポジウム, 2016 年 11 月 6-9 日, 台湾..

森下文浩、古川康雄

軟体動物腹足類アメフラシ (*Aplysia kurodai*) の D 型トリプトファン含有神経ペプチドの構造と機能. 比較内分泌学、42:105 (2016)

Morishita F

Neuropeptides and their physiological functions in Mollusks. In: Biological Effects by Organotins (ed. Horiguchi, T), Springer Japan, Tokyo, Japan, pp167-198 (2017)

Sakuma T, Nakade S, Sakane Y, Suzuki KT and Yamamoto T

MMEJ-assisted gene knock-in using TALENs and CRISPR-Cas9 with the PITCH

systems

Nature Protocols, 11, 118–133, 2016

Suzuki M, Takagi C, Miura S, Sakane Y, Suzuki M, Sakuma T, Sakamoto N, Endo T, Kamei Y, Sato Y, Kimura H, Yamamoto T, Ueno N and Suzuki KT

In vivo tracking of histone H3 lysine 9 acetylation in *Xenopus laevis* during tail regeneration

Genes to Cells, 21, 358-369, 2016

Takemoto A, Miyamoto T, Simono F, Kurogi N, Shirae-Kurabayashi M, Awazu A, Suzuki KT, Yamamoto T and Sakamoto N

Cilia play a role in breaking left–right symmetry of the sea urchin embryo

Genes to Cells, 21, 568-578, 2016

Shigeta M, Sakane Y, Iida M, Suzuki M, Kashiwagi K, Kashiwagi A, Fujii S, Yamamoto T and Suzuki KT

Rapid and efficient analysis of gene function using CRISPR-Cas9 in *Xenopus tropicalis* founders

Genes to Cells, 21, 755-771, 2016

Takagi, H., Ishiga, Y., Watanabe, S., Konishi, T., Egusa, M., Akiyoshi, M., Matsuura, T., Mori, I.C., Hirayama, T., Kaminaka, H., Shimada, H. and Sakamoto, A. (2016) Allantoin, a stress-related purine metabolite, can activate jasmonate signaling in a MYC2-regulated and abscisic acid-dependent manner. *Journal of Experimental Botany* 67:2519–2532

Tominaga, J., Mizutani, H., Horikawa, D., Nakahara, Y., Takami, T., Sakamoto, W., Sakamoto, A. and Shimada, H. (2016) Rice CYO1, an ortholog of *Arabidopsis thaliana* cotyledon chloroplast biogenesis factor AtCYO1, is expressed in leaves and involved in photosynthetic performance. *J. Plant Physiol.* 207: 78-83..

Kuni Tagawa.

Hemichordate models.

Current Opinion in Genetics & Development 39; 71-78(2016).

M. Iwasaka, K. Tagawa, Y. Kikuchi.

Magnetically tunable control of light reflection in an unusual optical protein of squid.
AIP Advances 7, 056722 (2017); doi: <http://dx.doi.org/10.1063/1.4976938>.

高橋純夫編. 基礎生物科学. pp186-198. 培風館. (2016) .

先端物質科学研究科

A. T. Ayoub, R. Ahmed, Jack Xiao, C. W. Lewis, T. Tilli, K. Arakawa, Y. Nindita, G. Chan, L. Sun, M. Glover, M. Klobukowski, J. Tuszynski “Antitumor activity of lankacidin antibiotics is due to microtubule stabilization via a paclitaxel-like mechanism”
J. Med. Chem., 59: 9532-9540 (2016).

R. Kamei, T. Fujimura, M. Matsuda, K. Kakihara, N. Hirakawa, K. Baba, K. Ono, K. Arakawa, S. Kawamoto “A flavanone derivative from the Asian medicinal herb (*Perilla frutescens*) potently suppresses IgE-mediated immediate hypersensitivity reactions”
Biochem. Biophys. Res. Commun., 483: 674-679 (2017).

N. Tsujita, H. Kuwahara, H. Koyama, N. Yanaka, K. Arakawa, H. Kuniyoshi “Molecular characterization of aspartylglucosaminidase, a lysosomal hydrolase upregulated during strobilation in the moon jellyfish, *Aurelia aurita*”
Biosci. Biotechnol. Biochem., 81: in press (2017).

荒川 賢治

「放線菌のシグナル分子制御系改変による休眠二次代謝の誘導」
バイオサイエンスとインダストリー, 74: 40-42 (2016).

波多江 希, 津田 直人, 木梨 陽康, 荒川 賢治

「放線菌 *Streptomyces rochei* の抗生物質生産を誘導するシグナル分子 SRB の単離・構造決定および生合成」
第53回天然有機化合物討論会講演要旨集, pp. 575-580 (2016)a

Matsuo, Y., Maurer, S. P., Yukawa, M., Zakian, S., Singleton, M. R., Surrey, T. and Toda, T. An unconventional interaction between Dis1/TOG and Mal3/EB1 in fission yeast promotes the fidelity of chromosome segregation. J. Cell Sci. 129 (24) 4592-4606 (2016)

Takafumi Ogawa, Ryohei Tsubakiyama, Muneyoshi Kanai, Tetsuya Koyama, Tsutomu Fujii, Haruyuki Iefuji, Tomoyoshi Soga, Kazunori Kume, Tokichi Miyakawa, Dai Hirata, and Masaki Mizunuma, Stimulating S-adenosyl-L-methionine synthesis extends lifespan via activation of AMPK., PNAS vol. 113, No.42, 2016

Hajime Shigeto, Keisuke Nakatsuka, Takeshi Ikeda, Ryuichi Hirota, Akio Kuroda, Hisakage Funabashi, “Continuous monitoring of specific mRNA expression responses with a FRET-based DNA nano-tweezer technique that does not require gene recombination”, Anal. Chem., 88(16), 7894-7898 (2016)

工学研究科

M. Haruki, Y. Kodama, K. Tachimori, S. Kihara, S. Takishima, Dispersion polymerization of methylmethacrylate with three types of comblike fluorinated stabilizers in supercritical carbon dioxide, J. Appl. Polym. Sci., 133 (2016) app.43813.

Shin-ichi Kihara, Masao Asada, Masashi Haruki, and Shigeki Takishima, 5402 "Effect of the High Pressure Fluid Mixing on Preparation of Polymer Nanocomposites Containing Carbon Nanotubes", Proceedings, 17th International Congress on Rheology 2016, 08 - 13 August 2016 / Kyoto

木原伸一・高坂愛佳・春木将司・滝脇繁樹、“高圧流体混練法を用いたフッ素系ポリマー/フッ素系オリゴマーブレンドの開発および IPN 化”、監修 今井昭夫、「第三・第四世代ポリマーアロイの設計・制御・相容化技術」 第 4 章 pp. 132-139, S&T 出版株式会社 2016 年 11 月 25 日発行

K. Sugikawa, T. Kadota, K. Yasuhara, A. Ikeda, Anisotropic Self-Assembly of Citrate-Coated Gold Nanoparticles on Fluidic Liposomes, Angew. Chem. Int. Ed., 55 (12), 4059-4063 (2016).

K. Sugikawa, K. Kozawa, M. Ueda, A. Ikeda, Size Controlled Fullerene Nanoparticles Prepared by Guest Exchange of γ -Cyclodextrin Complexes in Water, RSC Adv., 6 (78), 74696-74699 (2016).

K. Sugikawa, Y. Takamatsu, K. Yasuhara, A. Ikeda, Vesicle to Layer Transition of Liposomes Induced by the Self-Assembly of Water Soluble Porphyrinthe Formation of

Supramolecular Nanofibers, Langmuir, 33 (4), 1023-1029(2017)

生物圏科学研究科

Suekawa M, Fujikawa Y, Inada S, Murano A, Esaka M., "Gene expression and promoter analysis of a novel tomato aldo-keto reductase in response to environmental stresses", J Plant Physiol. vol. 1, no. 200, pp.35-44, 2016.

Kondo T, Fujikawa Y, Esaka M., "A novel regulatory element responsible for high transcriptional expression of acerola GDP-d-mannose pyrophosphorylase gene", Biosci Biotechnol Biochem. vol. 6, pp.1-4, 2017

Y.Sanada, T.Yamamoto, R.Satake, A.Yamashita, S.Kanai, N.Kato, FA.van de Loo, F.Nishimura, P.E.Scherer, and N.Yanaka.

Serum Amyloid A3 Gene Expression in Adipocytes is an Indicator of the Interaction with Macrophages.Sci. Rep., 6:38697. (2016)

T.Hashimoto, B.Yang, Y.Okazaki, I.Yoshizawa, K.Kajihara, N.Kato, M.Wada, and N.Yanaka.

Time Course Analysis of Skeletal Muscle Pathology of GDE5 Transgenic Mouse. PLoS One, 11:e0163299. (2016)

Y.Nakagawa, T.Sakuma, N.Nishimichi, Y.Yokosaki, N.Yanaka, T.Takeo, N.Nakagata, and T.Yamamoto.

Ultra-superovulation for the CRISPR-Cas9-mediated production of gene-knockout, single-amino-acid-substituted, and floxed mice.

Biol. Open, 5:1142-1148. (2016)

Kawai T, Yanaka N, Richards JS, Shimada M. De Novo-Synthesized Retinoic Acid in Ovarian Antral Follicles Enhances FSH-Mediated Ovarian Follicular Cell Differentiation and Female Fertility. Endocrinology. 2016 May;157(5):2160-72. doi: 10.1210/en.2015-2064.

伊藤文香・大西諒貴・安江博・西堀正英. (2016) 生活圏に生息する動物種を対象とした分子種判別法の利活用に関する研究. DNA 多型, Vol. 24: 87-89.

Sayed Osman, Takahiro Yonezawa, and Masahide Nishibori (2016) Origin and genetic

diversity of Egyptian native chickens based on complete sequence of mitochondrial DNA D-loop region. *Poultry Science*, 95(6):1248-1256.

河合幸一郎、斎藤英俊、阿武沢磨. 日本産エリユスリカ亜科 33 属の遺伝的關係について. 陸水学雑誌, 78: 45-50, 2017.

Ikeda S, Yamashita H, Kondo S, Inoue K, Morishima S, Koike K. Zooxanthellal genetic varieties in giant clams are partially determined by species-intrinsic and growth-related characteristics. *PLoS ONE* 12(2): e0172285.doi:10.1371/journal.pone.0172285(2017)

Nishi S., Yamashita H., Kawato Y. and Nakai T.: Cell culture isolation of piscine nodavirus (betanodavirus) in fish-rearing seawater. *Applied and Environmental Microbiology* 82, 2537-2544, 2016.

R. Tominaga-Wada*, and T. Wada. The Arabidopsis CAPRICE protein fused to the VP16 transcriptional activation domain alters root hair and trichome development. *Plant Biotechnol.*, 33: 129-132, 2016.

R. Tominaga-Wada*, and T. Wada. The ectopic localization of CAPRICE LIKE MYB3 protein in Arabidopsis root epidermis. *J. Plant Physiol.*, 199: 111-115, 2016.

R. Tominaga-Wada*, and T. Wada. Analysis of TTG1 and CPC-like MYB genes during Arabidopsis epidermal cell differentiation. *Plant Biotechnol.*, 33: 201-206, 2016.

両生類研究センター

Suzuki, A., Yoshida, H., van Heeringen, S.J., Takebayashi-Suzuki, K., Veenstra, G.J.C. and Taira, M. “Genomic organization and modulation of gene expression of the TGF-beta and FGF pathways in the allotetraploid frog *Xenopus laevis*.” *Developmental Biology* 426, 336-359 (2017)

Suzuki, A., Uno, Y., Takahashi, S., Grimwood, J., Schmutz, J., Mawaribuchi, S., Yoshida, H., Takebayashi-Suzuki, K., Ito, M., Matsuda, Y., Rokhsar, D., and Taira, M. “Genome organization of the *vg1* and *nodal3* gene clusters in the allotetraploid frog *Xenopus laevis*.” *Developmental Biology* 426, 236-244 (2017)

Yoshida, H., Okada M., Takebayashi-Suzuki, K., Ueno, N., and Suzuki, A. “Involvement of JunB proto-oncogene in tail formation during early *Xenopus* embryogenesis.” *Zoological Science* 33, 282-289 (2016)

Session, A.M., Uno, Y., Kwon, T., Chapman, J., Toyoda, A., Takahashi, S., Fukui, A., Hikosaka, A, Suzuki, A., Kondo, M. et al. “Genome evolution in the allotetraploid frog *Xenopus laevis*.” *Nature* 538, 336–343 (2016).

Haramoto, Y., Saijyo, T., Tanaka, T., Furuno, N., Suzuki, A., Ito, Y., Kondo, M., Taira, M., and Takahashi, S. “Identification and comparative analyses of Siamois cluster genes in the *Xenopus laevis* and *tropicalis*.” *Developmental Biology* 426, 374-383 (2017)

Dufresnes C, Litvinchuk SN, Borzee A, Jang Y, Li J, Miura I, Perrin N, Stock M. (2016) Phylogeography reveals an ancient cryptic radiation in East-Asian tree frogs (*Hyla japonica* group) and complex relationships between continental and island lineages *Journal: BioMed Central Evolutionary Biology*. 23 November DOI : 10.1186/s12862-016-0814-x

三浦郁夫 (2017) ニホンアマガエル、東西で遺伝的に違う 自然保護 (日本自然保護協会) 556: 24-25.

三浦郁夫 (2016) ニホンアマガエル、実は日本国内東西で別種か *Academist Journal* 2016 年 1 2 月 2 4 日 page 1-8.
<https://academist-cf.com/journal/?p=2970>

自然科学研究支援開発センター

Kitamura K, Kinsui EZ, Abe F. Critical role of the proton-dependent oligopeptide transporter (POT) in the cellular uptake of the peptidyl nucleoside antibiotic, blasticidin S. *Biochim Biophys Acta*. 864(2):393-398 (2017)

生命科学実験部門 部門長 檜山英三

生命科学実験部門の中で最も大きな施設である動物実験部では、外丸主任、大中副主任を中心とした震動物実験部管理への精力的な活動により、様々な実験動物を用いたレベルの高い多くの最先端の生命科学研究の支援を継続するなかで、本年度より東広島動物実験施設が開設された。とくに、ゲノム編集などの新技術が進歩する中でのマウスの慢性的なケージ不足に対し、適正な動物実験・飼育環境の拡充に努めると同時に、体外受精や凍結保存などの生殖工学技術を駆使した胚バンクシステムを導入し、実験動物の維持・供給体制の効率化を進めている。また、遺伝子導入（トランスジェニック）ならびに遺伝子相同組換え（ノックアウト／ノックイン）動物の作製システムの構築に力を注ぎ、遺伝子組換え動物を含めた実験動物の作製・供給体制が強化されてきている。さらに、施設の設置から開設、維持管理の支援業務も追加され、少ない人的、物的資源の中で多大な支援をおこなっている。部門としては施設の拡充の前に、人員の確保と財源の確保が急務であると考えている。さらに、震動物実験施設の老朽化にともない、この施設の改修、更新に向けて作業も継続して行っており、益々の業務内容の増大となっている。

生命科学機器分析部は、各種生命科学研究機器およびサービスの提供を通じて、理学、工学、医歯薬学、生命科学領域の教育・研究活動を支援してきている。さらに、最新の技術情報の講習会や技術セミナーなどを企画・開催し、研究者および技術系職員の技術水準の向上をはかってきた。特に、学外利用を促進し、文部科学省の先端研究基盤共用促進事業として、新たに北海道大学、浜松医科大学とともに、原子・分子の顕微イメージングプラットフォームが採択となり、高度化した質量顕微鏡、超高解像度画像解析装置、走査型電子顕微鏡などを中心に、一細胞解析技術などを提供したり学内外利用を増やしてきている。また、機器導入・復活再生においては、利用者の要望を聞き、広島大学の設備マスタープランに沿って優先度の高いものから順次整備を進める努力を継続している。

また、歯学部透過型電子顕微鏡を継続して全学機器として位置づけており、共同して利用者支援を行う体制としたが、歯学部施設の空調の不備により一旦運用を停止した。

生物医科学研究開発部では、新しい医療技術や薬剤開発につながる研究に取り組み、研究成果の社会への還元を図ることを目指して企業あるいは工学との連携を通して融合型医学研究を行うとともに特定課題に基づくプロジェクト研究を推進し、現在4つのプロジェクトが進行中である。これらのプロジェクトは霞地区総合研究棟の1・3階フロアに集結し、昨年に引き続き種々の成果を上げている。

さらに、近年の業績が示すように、動物実験施設が支援してきた実験計画は年間100を超え、多岐の分野にわたる多くの優れた英文論文が発表されている。このことは、本部門が全学的な生命科学研究の実質的な支援の場となっていることを示している。

ところで、近年、ヒトゲノムが解析され、また、様々な生物のゲノムが解析されてきたが、遺伝子研究において遺伝子実験と動物実験との間には、その両輪であるといわれるほど密接な関係がある。とくに、遺伝子改変動物やゲノム編集による研究に対しては、それに特化した動物実験施設と機器分析施設を有機的かつ合理的に結合させて支援していくことで、広島大学における質の高い研究が効率よく推進されるものと考えている。ゲノム編集の技術が進む中で、さらに基盤整備を推し進め、全国でも突出する全学支援システムとし、さらにイノベーション創出の施策実現のためにも、学外利用施設としての生命科学実験部門の構築を推進していきたい。

生命科学機器分析部

[運営方針]

生命科学機器分析部は、各種生命科学研究機器およびサービスの提供を通じて、生命科学、理学、工学、医歯薬学、生命科学領域の教育・研究活動を支援することを目的として活動している。さらに、最新の技術情報を講習会や技術セミナーなどを企画・開催することで提供し、研究者および技術系職員の技術水準の向上を図ることもめざしている。今後、機器を導入、復活再生する際には、利用者の要望を聞き、生命科学実験部門会議およびセンター運営会議で充分検討したうえで、広島大学の設備マスタープランに沿って優先度の高いものから順次整備されることになる。

[概要]

平成 16 年 4 月、霞キャンパス総合研究棟1階の共同利用施設スペースに生命科学研究支援分野 ライフサイエンス教育研究支援部 ライフサイエンス機器分析室が設置され、以後自然科学研究支援開発センターによる生命科学系の教育・研究支援は当施設によって担われてきた。その後、平成 18 年度に行われた改組に伴い、生命科学実験部門 生命科学機器分析部に名称が変わり、現在に至っている。主な機器の導入および移管については、以下のとおりである。

- | | |
|----------|---|
| 平成 16 年度 | 遺伝子診断解析実験施設から機器が移管された。
DNA シークエンサー、質量分析装置、セルソーターが導入された。
10 月より、本格的に業務を開始した。 |
| 平成 17 年度 | 共焦点レーザー顕微鏡 LSM5 PASCAL が導入された。組織学細胞生物学研究室より電子顕微鏡 H7100 が移管された。 |
| 平成 18 年度 | Affymetrix 社の GeneChip システムを用いた測定・解析支援を立ち上げた。 |
| 平成 19 年度 | DNA シークエンサーPRISM377、自動免疫染色装置、ScanArray の 3 機器を希望研究室へ譲渡・移管した。動物実験部より液体クロマトグラフ、卓上超遠心機、カルシウムイオン測定装置が移管された。 |
| 平成 21 年度 | セルソーター、インキュベーター付共焦点レーザー顕微鏡、リアルタイム PCR、タンパク核酸自動分離装置・QIAcube、バイオアナライザー、超微量分光光度計・NanoDrop、マルチガスインキュベーター等培養器具一式、化学発光検出用イメージング装置・VersaDoc、自動磁気細胞分離装置・MACS など多くの機器が新規導入・更新された。リアルタイム PCR・ABI7700 および化学発光検出用イメージング装置・Flour-S を希望研究室へ譲渡・移管した。 |
| 平成 22 年度 | レーザーマイクロダイセクションを復活再生により、アップグレードした。 |
| 平成 23 年度 | 医療分子探索施設を統合。設置機器の整理を行った。核磁気共鳴装置 AVANCE 600 供用を開始した。リアルタイム PCR については、Opticon を廃止し、CFX96™ が動物実験部より移管された。 |

平成 24 年度 次世代シーケンサーMiSeq および ion PGM の 2 台が導入され、7 月より供用を開始した。透過型電子顕微鏡の依頼試料作成を 3 月より開始、観察支援に於いては、平成 23 年度学内設備共同利用促進事業により、歯学部透過型電子顕微鏡に高感度 CCD カメラが搭載され、7 月より観察支援を開始した。装置故障および老朽化に伴い、核磁気共鳴装置 JNM-A400、電子顕微鏡 H7100、化学発光検出用イメージング装置 LAS-1000plus の供用を停止し、一部廃棄した。DNA 自動分離装置については所有する 3 台を効率的に利用すべく、1 台を動物実験部に移管した。また、本年度は大学連携研究設備ネットワークを用いたオンラインでの機器予約を一部機器で開始した。

平成 25 年度 次世代シーケンサーデータ解析ソフト「ヒトエキソーム SNV 絞り込みシステム」を導入し 4 月より供用を開始した。故障に伴い超純水製造装置 milli-Q を廃棄し、6 月より新規超純水装置 RFU665EA の供用を開始した。次世代シーケンサーHiSeq 2500 が 7 月に導入された。質量分析装置 QSTAR XL の供用を 6 月に停止し、9 月より新規質量分析装置 TripleTOF 5600+ の供用を開始した。老朽化に伴い蛍光プレートリーダーを廃棄し、動物実験部よりマルチプレートリーダーTriStar LB941 を弊部に移管し、7 月より供用を開始した。デジタル PCR QX100 を導入し、9 月より供用を開始した。11 月、カルシウムイオン測定装置を口腔生理学教室へ移管した。故障により、振盪培養装置、卓上遠心機 Optima TL、遠心機 Avanti 30 の供用を終了した。

平成 26 年度 次世代シーケンサーHiSeq 2500 を導入し、4 月より供用を開始した。共焦点レーザー顕微鏡 LSM5 PASCAL のトラブル解消のため、6 月に制御 PC の入れ替えを行った。レーザーマイクロダイセクションの老朽化に伴い旧機種 AS LMD を廃棄し、6 月より新機種 LMD6500 を導入した。平成26年度研究用設備(復活再生)にて、老朽化していたセルソーターの UV レーザーを6月に更新した。

平成 27 年度 「先端研究基盤共用・プラットフォーム形成事業」において供用中のフローサイトメーター2機種（FACSVerse および LSRFortessa X-20）について、学内向けの供用も 6 月より開始した。また、故障のためプレート遠心機 Allegra 6KR の供用を 10 月に終了し、11 月より新規のプレート遠心機 LC-200 の供用を開始した。その他、故障や装置の老朽化により、紫外可視分光光度計 DU640、顕微鏡画像ファイリングシステム、フローサイトメーターFACSCalibur の供用を終了した。

平成 28 年度 4 月より「先端研究基盤共用・プラットフォーム形成事業」が「先端研究基盤共用促進事業（共用プラットフォーム形成支援プログラム）：原子・分子の顕微イメージングプラットフォーム」に更新され、学外向けの装置供用を継続している。装置に関しては、7 月にハイパフォーマンス遠心分離機 Avanti HP-20 および超遠心機 Optima XL-80K をウイルス学研究室に、CO₂ インキュベーターをインテグリン治療開発フロンティア研究室にそれぞれ移管した。

全利用登録者などに対して「施設機器の更新・新規設置に係る調査」を平成 20 年度に行い、利用者が導入を望む機器の現状把握に努めた。また本学技術センターと提携することで人的支援の拡充に努めた。

平成 21 年度には、補正予算による教育研究高度化のための支援体制整備事業が採択され、前述のと

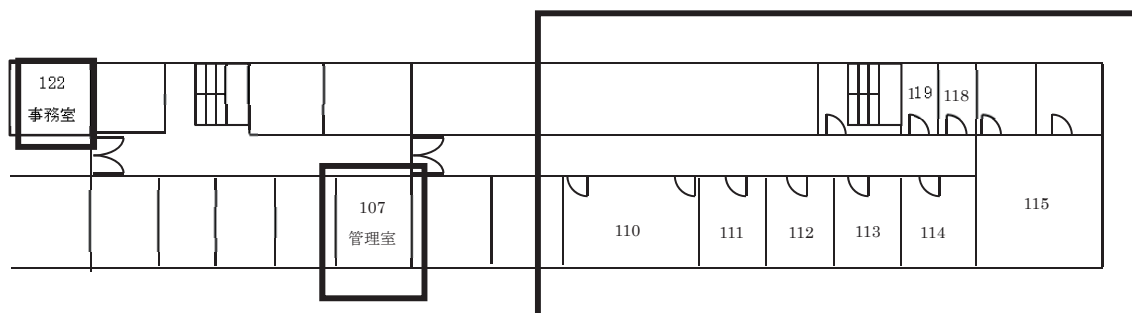
おり、多くの機器が新規導入・更新され、技術支援体制が大幅に強化された。加えて本事業推進のための人員が本施設に配属され、人的支援の強化も行われた。また、この事業に伴い、8月より「持続可能な社会構築に向けたイノベーション創出」プロジェクトが実施された。本施設ではこのプロジェクトが掲げる3つのサブプロジェクトのうち、「再生医療、生活習慣病・がんの分子標的創薬とその効果判定」を推進する体制の構築に取り組んだ。

文部科学省の研究開発施設共用等促進費補助金(先端研究施設共用促進事業)の採択を受け、平成21年12月から「生体反応および生命維持機構検出システム研究促進事業」を開始した。本事業において、本施設設置の4機種(マイクロアレイ解析装置・GeneChip、レーザーマイクロダイセクション、質量分析装置・QSTAR XL、セルソーター・FACSAria II)が供用されている。さらに平成23年度には2機種(核磁気共鳴装置、リアルタイムPCR-ABI 7900HT)、平成24年度には次世代シーケンサーMiSeqの供用を開始した。平成25年度からは「先端研究基盤共用・プラットフォーム形成事業」として、新たに3機種(デジタルPCR、および質量分析装置 TripleTOF 5600+、次世代シーケンサー HiSeq 2500)、平成26年度には6機種(3D-SIM 超解像度蛍光顕微鏡 DeltaVision OMX、クライオ電界放出形走査電子顕微鏡 JSM-7800F、質量顕微鏡システム iMScope、高速液体クロマトグラフ質量分析装置 LCMS-8050、フローサイトメーターFACSVerse および LSRFortessa X-20)の供用を開始した。平成28年度は「先端研究基盤共用促進事業(共用プラットフォーム形成支援プログラム)：原子・分子の顕微イメージングプラットフォーム」に採択され、企業および学外研究施設を対象とした上記機種(核磁気共鳴装置を除く)の供用を続けて実施している。

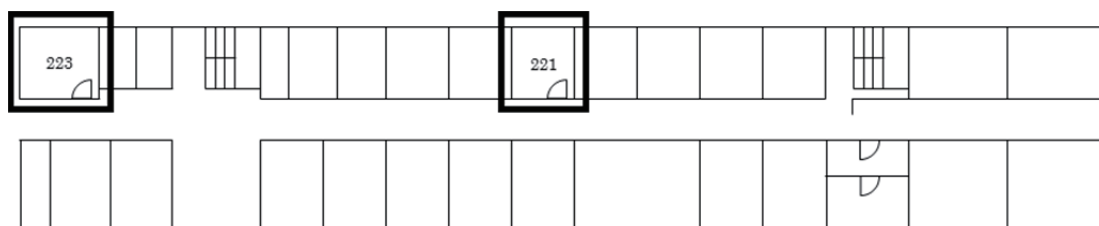
[施設概要]

①施設見取り図

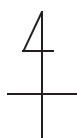
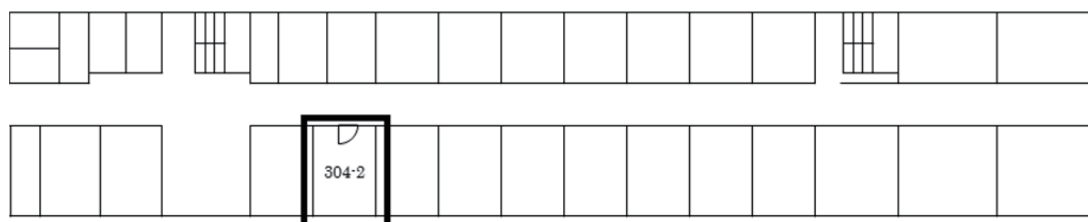
霞総合研究棟 1 階



霞総合研究棟 2 階



霞総合研究棟 3 階



②施設利用状況

	<26 年度>	<27 年度>	<28 年度>	
医歯薬学保健学研究科	621	726	644	
原爆放射線医科学研究所	43	53	54	
理学研究科	13	20	4	
先端物質科学研究科		1	1	
生物圏科学研究科	1		1	
自然科学研究支援開発センター	4	2	2	
その他	28	14	12	
合計	710	816	718	(人)

③主な分析機器

機器番号	機器名	型番(メーカー)	設置室	備考
1	タンパク質核酸自動分離装置	QIAcube (QIAGEN)	112	*1
2	DNA 自動分離装置	PI-50M (KURABO)	110	
3	バイオアナライザー	Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent)	110	*1
4	マイクロアレイ	GeneChip (Affymetrix)	111	*1、*4
5	遺伝子発現解析 装置貸出	GeneSpring (Agilent)	304-2	*1
6	超微量分光光度計	NanoDrop (Thermo)	110	
8	マルチプレートリーダー	TriStar LB941 (ベルトールド)	110	
9	PCR システム	GeneAmp PCR system 9700 (ABI)	110	
10	リアルタイム PCR 装置	ABI 7900HT (ABI)	110	*4
		CFX96 (Bio-Rad)		
11	DNA シークエンサー・3130	PRISM 3130xl (ABI)	110	*1
	DNA シークエンサー・310	PRISM 310 (ABI)	RCMM	*3
12	レーザーマイクロダイセクション	LMD6500 (Leica)	119	*4
13	遺伝子導入装置	GENE PULSER II (Bio-Rad)	110	
14	組織破砕機	Tissue Lyser II	110	
15	培養器具一式	マルチガスインキュベーター、クリーンベンチ、遠心機、薬用保冷庫、恒温槽、倒立顕微鏡	114・213	
16	自動磁気細胞分離装置	auto MACS Pro (Miltenyi Biotec)	114	
17	フローサイトメーター	LSRFortessa X-20 (BD)	114	*4
		FACSVerse (BD)		

機器番号	機器名	型番(メーカー)	設置室	備考
18	セルソーター	FACSria II (BD)	114	*1、*4
		UV レーザー搭載 FACSria II (BD)		
19	化学発光検出用イメージング装置	VersaDoc5000 (Bio-Rad)	110	
20	蛍光イメージング装置	MOLECULAR IMAGER FX (Bio-RAD)	110	
		FLA-3000G (GE)	RCMM	*3
21	ゲル撮影装置	AE-6931GXCL プリントグラフ (ATTO)	110	
22	共焦点レーザー顕微鏡	FV1000-D (Olympus)	118	
		LSM5 PASCAL (Carl Zeiss)	119	
23	電子顕微鏡	電顕用ミクロトーム、炭素蒸着装置	115	*2
26	液体クロマトグラフ	AKTAexplorer10S (GE)	112	
27	質量分析装置	TripleTOF 5600+ (AB SCIEX)	221	*4
28	核磁気共鳴装置	AVANCE600 (BRUKER)	113	
31	次世代シーケンサー	MiSeq (Illumina)	111	*1 *4
		HiSeq 2500 (Illumina)		
		ion PGM (Life Technologies)	111	*1
		ion Proton (Life Technologies)		
32	次世代シーケンサー解析システム	Exome 絞り込みシステム(メイズ)	304・2	*1
33	超純水装置	RFU665EA (アドバンテック東洋)	110	
34	デジタル PCR	QX100 (Bio-Rad)	110	*4
35	3D-SIM 超解像度蛍光顕微鏡	DeltaVision OMX (GE)	115	*4

機器番号	機器名	型番(メーカー)	設置室	備考
36	クライオ電界放出形走査電子顕微鏡・エネルギー分散型 X線分光器	JSM-7800F (日本電子)・	115	*4
		JED-2300 (日本電子)	115	*4
		クライオトランスファースystem ALTO2500(GATAN)	115	*4
37	質量顕微鏡システム	iMScope (島津製作所)	112	*4
38	高速液体クロマトグラフ質量分析装置	LCMS-8050 (島津製作所)	112	*4

*1: 依頼測定有

*2: 平成 23 年度より依頼試料作成開始。観察支援開始(観察支援に於いては、歯学部透過型電子顕微鏡 JEOL-1230 を使用)

*3: 設置室 RCMM は旧医療分子探索施設を示す

*4: 先端研究基盤共用促進事業(共用プラットフォーム形成支援プログラム)対象機器

④その他

機器名	型番(メーカー)	設置室	備考
解析用 PC	FlowJo (トミーデジタルバイオロジー) Review Station (オリンパス)等	110	
核酸電気泳動装置	Sub-Cell Model 96	110	
オートクレーブ	MLS-3750	110	
遠心機	TOMY LC-200	110	

[依頼測定・解析]

◆タンパク質核酸自動分離装置（機器番号①）

QIAGEN スピニングカラムキットを完全自動化した機械で、一回のランで 12 サンプルまで精製可能。組織破碎機も設置しており、キットや消耗品の販売も行っている。

◆バイオアナライザー依頼測定（機器番号③）

マイクロアレイを依頼する利用者から核酸(RNA)のグレードを評価したいと要望があり、依頼測定を開始した。測定内容は、各種キットを用いた核酸(DNA、RNA)の定量、品質検査を行っている。最近では次世代シーケンサーで用いられる核酸(DNA)測定の利用件数が増えている。

◆マイクロアレイ依頼測定（機器番号④）

核酸(DNA または RNA)サンプルを預かり、反応調整後 Affymetrix 社のマイクロアレイにハイブリダイズし、GeneChip システムのスキャナーにてデータの読み取りまでの作業を行っている。遺伝子発現解析用アレイ以外に SNP・ジェノタイピング解析アレイなども受け付けており、コンスタントな利用がある。

◆遺伝子発現依頼解析 装置貸出（機器番号⑤）

マイクロアレイのデータを依頼解析、もしくは解析ソフトがインストールされたパソコンの貸し出しを行っている。

◆塩基配列依頼測定（機器番号⑪）

通常 800bp 程度の塩基配列を解読することが可能な DNA シーケンサー 3130xl ジェネティックアナライザを用い、平成 21 年 10 月からは、PCR 反応から、あるいは精製の段階から塩基配列解読までの一連の操作を行う依頼項目を追加し、合計で 3 種類の依頼測定の受託とした。

◆セルソーティング依頼測定（機器番号⑬）

FACS Aria II および UV レーザー搭載 FACS Aria II を用いた、ソーティング実験の支援を行っている。依頼測定時に染色・調整したサンプルを持参、ソーティング依頼者が条件等を確認後、依頼者の指示に従い解析やソーティングの実験支援を行っている。

◆電子顕微鏡観察用試料の依頼測定（機器番号⑲）

平成 24 年 3 月末から電子顕微鏡用観察試料作成の支援を開始した。支援内容は、一般形態観察用生物試料を対象とし、依頼者と観察内容、固定・染色工程までの条件を決め、樹脂ブロック作成・超薄切・染色工程を行った。また、同年 7 月から、歯学部透過型電子顕微鏡 JEOL-1230 を用い観察支援を開始、平成 28 年 11 月本体を制御するために必要な冷却水循環装置の空調が故障したため、観察依頼を一時中断となる。また、平成 29 年 1 月観察試料を作成する施設所有のウルトラマイクロームの電子回路故障により、これら一連の工程を進める支援を中断する事となる。両装置とも経年劣化の為、今後の運営・支援体制の見直しが必要となる。

◆次世代シーケンサー依頼測定（機器番号㉑）

平成 24 年 7 月から MiSeq (Illumina) と Ion PGM(Life Technologies)、平成 26 年 4 月から HiSeq 2500(Illumina)、同年 7 月から Ion Proton (Life Technologies) のそれぞれについて依頼測定を開始。作成済みライブラリを提出してもらい、ライブラリクオリティーチェック・シーケンス・簡易解析までの依頼測定を行っている。

◆次世代シーケンサーデータ解析（機器番号㉒）

平成 25 年より Exome、RNA-seq などのデータ解析を行っている。平成 28 年より解析ソフトを増やし、Strand NGS と CLC Genomics Workbench での解析も行う。

[機器の稼働状況]

機器別利用状況 施設登録者数 718 人

上段: サンプル数(一部の機器は回数) 下段: 登録者数

機器名	平成 28 年度	平成 27 年度	平成 26 年度
タンパク核酸自動分離装置	10 91	0 64	93 62
DNA 自動分離装置	6,396 126	7,644 124	10,212 98
バイオアナライザー	238 138	198 96	296 86
マイクロアレイ・GeneChip	12 123	14 103	12 72
遺伝子発現解析 装置	0 102	5 72	7 60
超微量分光光度計	6,096 154	7,045 151	4,899 112
マルチプレートリーダー	469 208	343 190	322 179
PCR システム	145 179	55 133	61 96
リアルタイム PCR・ABI7900HT	288 226	345 268	111 222
リアルタイム PCR・CFX 96™	586 226	707 268	653 222
DNA シークエンサー (3130xl)	9,218 257	8,539 232	9,703 228
DNA シークエンサー (310)	613 257	995 232	1407 228
レーザーマイクロダイセクション	181 142	77 117	50 123
遺伝子導入装置	13 189	32 118	89 143
組織破砕機	98 104	52 73	59 48
自動磁気細胞分離装置	5 98	26 73	41 60
フローサイトメーターLSRFortessa X-20	102 222	58 208	
フローサイトメーターFACSVerse	120 222	35 208	
セルソーター・FACSAria II	193 203	244 149	266 110
セルソーター・UV レーザー搭載 FACSAria II	272 203	199 149	112 110
化学発光検出用イメージング装置 Versa Doc	153 179	241 126	386 120
蛍光イメージング装置 MOLECULAR IMAGER FX	19 170	5 141	10 132

機器名	平成 28 年度	平成 27 年度	平成 26 年度
蛍光イメージング装置 FLA-3000G	15 170	10 141	0 132
ゲル撮影装置	844 145	536 120	481 93
共焦点レーザー顕微鏡 LSM5 PASCAL	490 263	534 230	404 218
インキュベーター付共焦点レーザー顕微鏡 FV1000-D	160 263	143 230	139 218
電子顕微鏡	60 134	94 115	90 95
液体クロマトグラフ	16 118	31 86	20 85
質量分析装置	64 128	101 114	96 111
核磁気共鳴装置 AVANCE600	793 138	572 127	478 106
次世代シーケンサー MiSeq	17 117	8 86	11 62
次世代シーケンサー HiSeq2500	9 117	12 86	14 62
次世代シーケンサー ion PGM	6 117	7 86	31 62
次世代シーケンサー ion Proton	6 117	6 86	4 62
次世代シーケンサー解析装置	49 98	0 61	0 53
超純粋装置	654 187	771 165	821 139
デジタル PCR	55 118	37 79	94 65

[機器管理状況]

平成 28 年度における、機器の主な保守・修理状況は以下のとおりである。

機器名	区分	保守・修理等の内容
DNA 自動分離装置 PI-50M (KURABO)	保守	遠心庫内センサークリーニング、調整 (H28.9 月)
	修理	ハンドモーターケーブル交換修理 (H28.3 月)
リアルタイム PCR ABI7900HT (ABI)	保守	制御ソフトウェアバージョンアップ、整備・キャリブレーション (H28.12 月)
リアルタイム PCR CFX96 (Bio-Rad)	修理	リッドヒーター交換 (H28.6 月)
レーザーマイクロダイセクション LMD6500 (Leica)	保守	default 設定作成、簡易点検 (H28.11 月)
フローサイトメーター LSRFortessaX-20 (BD)	修理	トランスデューサー交換 (H28.5 月、7 月、8 月) (5 月以外無償)
	保守	ゲル塗り、ファイバー交換、光学系の調整 (無償) (H28.7 月)
	保守	光学系の調整 (H29.1 月)
セルソーター FACS Aria II (BD)	修理	サイトメーターコントローラー交換 (H28.8 月)
	保守	光学系の調整 (無償) (H28.7 月)
セルソーター・UV レーザー搭載 FACS Aria II (BD)	保守	保守契約締結 (H28.4 月～H29.3 月)
	保守	HiVoltagePCB の交換 (保守契約内) (H28.11 月)
	保守	光学系の調整 (無償) (H28.12 月)
	保守	保守契約に基づく点検 (H28.7 月、H29.1 月)
化学発光検出用イメージング装置 VersaDoc5000 (Bio-Rad)	修理	HDD の交換 (H28.11 月)
共焦点レーザー顕微鏡 FV1000-D (Olympus)	保守	保守契約締結 (H28.9 月～H29.8 月)
共焦点レーザー顕微鏡 LSM5 PASCAL (Carl Zeiss)	保守	スポット点検 (H28.7 月)
電子顕微鏡 ミクロトーム、炭素蒸着装置	修理	ミクロトーム調整修理 (H28.7 月)
	故障中	歯学部電子顕微鏡 JEM1230 冷却水循環装置空調故障 (未修理) (H28.11 月)
	故障中	ミクロトーム電子回路故障 (未修理) (H29.1 月)
超遠心機 OptimaXL-80K (BECKMAN)	保守	システムボードの不具合 (無償) (H28.5 月)
質量分析装置 TripleTOF5600+ (AB SCIEX)	保守	nanoLC 点検 (保守契約内) (H28.7 月)
	保守	部分保守契約締結 (nanoLC カラムコンパートメント部分) (H28.8 月～H29.3 月)
	修理	nanoLC の溶媒送液部分修理 (ポンプシール交換) (H28.9 月)
	修理	コンプレッサー修理 (H29.2 月)
	保守	nanoLC の配管等の補修 (H29.2 月.)

機器名	区分	保守・点検等の内容
核磁気共鳴装置 AVANCE600 (BRUKER)	保守	DRX600 用液体窒素蒸発防止装置定期メンテナンス(H28.8 月)
次世代シーケンサー HiSeq2500 (Illumina)	保守	GT 画像得られず点検 (H28.4 月)
	修理	green laser 交換(光学系) (H28.5 月)
	修理	Z 軸制御基盤の故障(イニシャライズエラー) (H28.6 月)
	修理	清掃点検(B 側 FC 白色析出物) (H28.7 月)
	修理	シリンジポンプ故障調整(流路系) (H29.2 月)
次世代シーケンサー ionPGM(LifeTechnologies)	修理	タッチパネル交換 (H28.5 月)
次世代シーケンサー ionProton (LifeTechnologies)	修理	データドライブディスク交換 (H28.9 月)
	修理	モニターディスプレイ交換(H28.10 月)
次世代シーケンサー解析システム (メイブ)	保守	ライセンス更新(1 年契約) (H28.10 月～H29.9 月)
超純水装置 RFU665EA (アドバンテック東洋)	保守	採水コック液漏れ対策のための改善作業(無償)(H28.11 月)
クライオ電界放出形走査電子顕微鏡 (SEM) JSM-7800F(日本電子)	保守	クライオトランスファースystem(ALTO2500)スポット点検 (H29.2 月)
	保守	本体・EDS 装置スポット点検、及び、定期交換部品交換 (H29.2 月)
質量顕微鏡 iMScope および マトリックス蒸着装置 iMLayer (島津製作所)	修理	iMLayer のレーザー検出部を分解・洗浄 (H28.7 月)
	修理	iMScope の TOF 部真空計断線エラー修理(TOF 部およびイオントラップ部のイオンゲージ交換) (H28.10 月)
	保守	iMLayer の制御ソフトウェアのバージョンアップ (H29.2 月)
高速液体クロマトグラフ質量分析装置 LCMS-8050(島津製作所)	修理	イオン源を認識しない不具合の修理 (H28.8 月)

[機器講習会等の開催]

■セミナー

質量分析セミナー

- ＜内容＞ 質量分析装置 TripleTOF5600+へのイオンモビリティ型分離装置 SelexION の導入にともなう質量分析セミナー。TripleTOF の原理、タンパク ID,iTRAQ 定量、SWATH の紹介。
新技術である SelexION イオンモビリティ、次世代プロテオミクスとして One omics の案内。
- ＜演者＞ 株式会社サイエックス 津幡 卓一 氏
- ＜日時＞ 平成 28 年 4 月 27 日(水) 15:00～17:00
- ＜場所＞ 霞総合研究棟 701 号室
- 受講者 16 名

統合データベース講習会

- ＜内容＞ 生命科学系のデータベースやツールの使い方、科学技術振興機構バイオサイエンスデータベースセンターのヒトデータベースの紹介に加えて、パスウェイデータベース、遺伝子発現データベースの使い方、次世代シーケンス解析、メタボローム解析、文献データベース、データの可視化についての紹介等。
- ＜演者＞ 科学技術振興機構バイオサイエンスデータベースセンター (NBDC)
情報・システム研究機構ライフサイエンス統合データベースセンター (DBCLS)
- ＜日時＞ 平成 28 年 7 月 5 日(火) 9:30～16:40
平成 28 年 7 月 6 日(水) 9:30～16:50
- ＜場所＞ 医学部基礎講義棟 1 階 第 2 情報端末室
- 受講者 50 名

質量顕微鏡 iMScope セミナー

- ＜内容＞ イメージング質量顕微鏡 iMScope(島津製作所製)の概要説明等。
- ＜演者＞ 株式会社島津製作所 山口 亮 氏、山本 卓志 氏
- ＜日時＞ 平成 28 年 8 月 4 日(木) 15:00～17:00
- ＜場所＞ 霞総合研究棟 701 号室, 112 号室
- 受講者 22 名

リアルタイム PCR 基礎と活用セミナー

- ＜内容＞ リアルタイム PCR の基礎原理から実験のポイントを理解し、更に発展できるように具体例を含めたトピックスを紹介。
- ＜演者＞ Thermo Fisher Scientific ライフテクノロジーズジャパン株式会社
テクニカルサポート 白神 博 氏
- ＜日時＞ 平成 28 年 8 月 23 日(火) 14:00～16:00
- ＜場所＞ 医学部第 3 講義室
- 受講者 62 名

次世代DNAシーケンサ(IonTorrent)セミナー

- ＜内容＞ IonTorrent の原理からアプリケーションなどを各生物種における実施例を交えて紹介。
- ＜演者＞ Thermo Fisher Scientific ライフテクノロジーズジャパン株式会社
テクニカルサポート 亀井 直樹 氏
- ＜日時＞ 平成 28 年 8 月 29 日(月) 14:30～16:30
- ＜場所＞ 霞総合研究棟 701 号室
- 受講者 18 名

レーザーマイクロダイセクションセミナー

- ＜内容＞ LeicaLMDの用法、使用例の紹介。蛍光イメージングの最新情報の紹介等
- ＜演者＞ Leica テクニカル 柴田 香苗 氏 五十嵐 健 氏
- ＜日時＞ 平成 28 年 11 月 24 日(木) 15:00～16:30
- ＜場所＞ 霞総合研究棟 701 号室
- 受講者 17 名

■機器説明会・相談会

質量分析装置 TripleTOF5600+装置説明会

- ＜内容＞ TripleTOF5600+を用いた SelexION のイオンモビリティの実機トレーニング。
SWATH のメソッド作成方法および測定結果の解析方法の紹介。
- ＜演者＞ 株式会社サイエックス 村上 達夫 氏
- ＜日時＞ 平成 28 年 4 月 28 日(木) 9:30～16:00
- ＜場所＞ 霞総合研究棟 221 号室
- 受講者 11 名

質量顕微鏡 iMScope 分析相談会

- ＜内容＞ イメージング質量顕微鏡 iMScope(島津製作所製)での測定結果についての質問等。
- ＜演者＞ 株式会社島津製作所 山本 卓志 氏
- ＜日時＞ 平成 28 年 8 月 5 日(金) 13:00～14:30
- ＜場所＞ 霞総合研究棟 112 号室
- 受講者 2 名

レーザーマイクロダイセクション取扱い説明会

- ＜内容＞ LeicaLMD6500 を使用して操作方法を説明。
- ＜演者＞ Leica テクニカル 柴田 香苗 氏
- ＜日時＞ 平成 28 年 11 月 25 日(金) 第 1 回 10:00～11:30 第 2 回 13:00～14:30
第 3 回 15:00～16:30
- ＜場所＞ 霞総合研究棟 119 号室
- 受講者 18 名

[利用者実績]

論文数

	研究室	論文数
医歯薬学保健学研究科	分子細胞情報学	1
	医化学	1
	神経薬理学	3
	法医学	2
	消化器・代謝内科学	7
	脳神経内科学	2
	小児科学	1
	消化器・移植外科学	7
	整形外科	1
	産科婦人科学	1
	硬組織代謝生物学	1
	口腔生理学	1
	医療薬剤学	4
	医薬分子機能科学	1
	小計	33
原爆放射線医科学研究所	血液・腫瘍内科	1
	小計	1
生物圏科学研究科	分子生命開発学講座	2
	小計	2
合計		36

動物実験部

(霞動物実験施設・東広島動物実験施設)

はじめに

動物実験部は「科学的かつ合理的な動物実験環境と微生物学・遺伝学的にも質の高い実験動物の提供」を活動理念として、動物実験を通して学内外の生命科学分野における研究の発展に大きな貢献を果たしている。また、動物実験のガイドラインの遵守に加え、動物愛護の精神に基づいて倫理的にも適正な動物実験が行われるように、適正な動物実験実施における指導的役割も担っている。

この一方、動物実験施設に対する生命科学に従事する研究者のニーズは年々多様化が進み、臓器・組織移植に代表される再生医療やガン領域でのゲノム・遺伝子レベルでの病態解析、ならびにポストゲノム時代のゲノムネットワーク解析等の研究への高度な対応が必要となっている。このため、これらの研究に必須であるゲノム編集技術を始めとする最先端技術による遺伝子改変動物の開発、また関連技術や開発された動物の提供システムの構築に積極的に取り組んできた。また、生殖工学技術の実務導入による実験動物の維持・供給体制の強化に力を注ぎ、胚バンクシステムやゲノム編集も含めた遺伝子組換え動物作製等のサポートならびに教育の体制が築かれている。

以上の取り組みを更に推進することで、今後も広島大学における生命科学分野の研究の要となり、また地域の中核となる動物実験施設の役割を果たすべく、研究支援体制の充実に取り組んでいる。近年では 2015 年度に、既存の霞動物実験施設に加え、東広島地区におけるマウス・ラットを用いた動物実験の中核施設として新たに東広島動物実験施設を設置し、その体制強化を進めた。

施設概要

霞動物実験施設

- ・飼養保管室 マウス＝SPF：16 室
 ラット＝SPF：9 室
 ウサギ＝コンベンショナル：1 室
 ハムスター・モルモット＝コンベンショナル：1 室
 イヌ＝コンベンショナル：1 室
 ネコ＝コンベンショナル：1 室
 サル＝コンベンショナル：1 室
 ブタ＝コンベンショナル：1 室
 ウズラ＝コンベンショナル：1 室
 マウス・ラット・ウサギ等＝感染実験：5 室
- ・実験室 一般実験：33 室
 感染実験：4 室

東広島動物実験施設

- ・飼養保管室 マウス＝SPF：3 室、コンベンショナル：1 室
 ラット＝SPF：3 室
- ・実験室 一般実験：9 室

事業内容

動物実験施設の運用を中心として、広島大学における動物実験に関する「支援」および「教育」という2つの大きな役割を担っている。支援業務としては、動物実験に関わる法律、指針、ガイドラインに基づいた飼育環境を提供するとともに、検疫、系統維持、受精卵・配偶子の凍結保存ならびに遺伝子改変動物作製等の高度な専門的業務にも対応している。一方、教育活動として、動物実験における飼育繁殖、環境統御、倫理ならびに生殖工学技術に関する講習会を実施している。

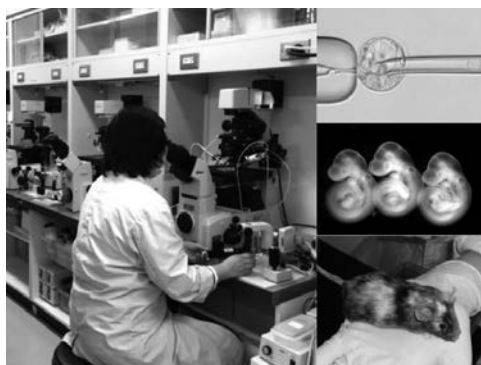
1. 教育活動

- 1) 施設利用者講習会（年間3回程度の定期講習および個別対応により実施）
 - ・実験動物学・倫理ならびに施設利用方法の講習
- 2) 生殖工学基礎技術講習会（不定期）
 - ・受精卵の凍結保存を中心としたマウスの生殖工学技術に関する講習
 - ・実験動物の微生物的および遺伝的統御に関する講習

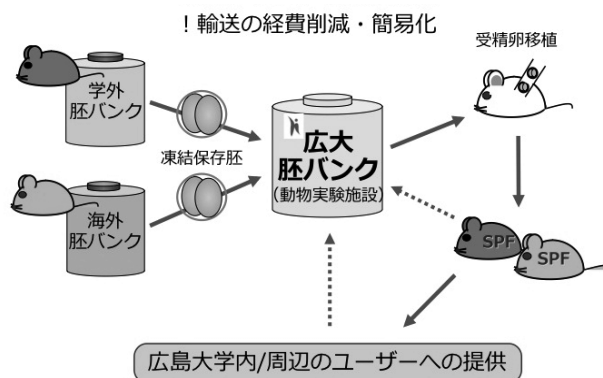
2. 支援業務

震動物実験施設では、マウスやラット等の小型実験動物から、イヌやブタ等の中型実験動物の飼養・実験に対応し、さらにP3レベルの飼育・実験区域や、手術等の実験処置に対応可能な種々の実験室を備えている。また、東広島動物実験施設は、マウス・ラットの飼養・実験に対応し、行動実験室を備えている。広島大学動物実験規則をはじめとした動物実験に関わる法律、指針、ガイドラインに基づいた環境の整備・統御を行うため、特に飼育管理については全国に先駆けてSOP（標準手順書）を作成し、これに従った管理を実践することで、高い精度での動物実験が可能な環境が整っている。

一方、マウスおよびラットにおける体外受精、凍結保存、胚移植による個体作製などの一連の生殖工学技術の提供体制を備えている。これにより、効率的な個体供給や系統維持、国内外における胚バンクシステムを利用した凍結受精卵による系統導入や分与等に対応している。また、ゲノム編集も含めた遺伝子組換えマウス・ラットの作製等、新規の実験動物開発にも対応している。



遺伝子改変動物の作製



胚バンクシステム

1) 施設実績 (平成 28 年 4 月～平成 29 年 3 月末)

< 震動物実験施設 >

利用者講習会の参加者数	全体 3 回・個別 6 回 実施 276 名
施設利用登録者数 (更新を含む)	682 名
延べ入館者数	42, 435 人
検疫等検査	
モニタリング	42 匹
検疫検査	288 匹
動物搬入 (購入) 数	
マウス	1, 0981 匹
ラット	2, 575 匹
ウサギ	227 匹
モルモット	38 匹
ブタ	2 匹
イヌ	11 匹
ネコ	0 匹
サル	2 匹
ウズラ	9 羽
各動物種延べ飼育ケージ数	
マウス	1, 113, 403 ケージ
ラット	100, 824 ケージ
ウサギ	24, 057 ケージ
モルモット	94 ケージ
ブタ	1, 169 ケージ
イヌ	3, 421 ケージ
ネコ	4, 886 ケージ
サル	3, 411 ケージ
ウズラ	178 ケージ
生殖工学技術サービス	
受精卵保存 (マウス・ラット)	48 系統
精子保存 (マウス)	10 系統
Tg 動物作製 (マウス)	1 遺伝子
ゲノム編集動物作製 (マウス)	3 遺伝子
死体処理量	4, 098, 856 g
洗濯枚数	86, 753 枚
エネルギー使用量	
電気使用量	1, 496, 660 kwh
水道使用量	14, 152 m ³
ガス使用量	226, 766 m ³

< 東広島動物実験施設 >

利用者講習会の参加者数	個別 5 回 実施 10 名
施設利用登録者数	10 名
延べ入館者数	727 人
検疫等検査（モニタリング・検疫）	11 匹
動物搬入（購入）数（マウス）	26 匹
動物延べ飼育ケージ数（マウス）	29,888 ケージ
死体処理量	17,135 g
洗濯枚数	2,038 枚

2) 設備修理等一覧（平成 28 年 4 月～平成 29 年 3 月末）

< 霞動物実験施設 >

4 月	521 号室用安全キャビネット排気ファンインバータ交換修理 AC-1 用蒸気配管修理 吸引ポンプ電磁弁交換工事
5 月	ACU-1 冷水コイル内とストレーナー洗浄作業
6 月	自動給水ユニット WU-1 圧力計の交換修理 303・304 号室用のエアコン修理
7 月	403 号室用湿度センサー交換工事 5 階エアコンの修理（ACP-11・12・13）
8 月	ACU-5・6 全熱交換器コイル洗浄
10 月	4 階温度湿度センサーの点検と校正 更衣室の洗面台蛇口の交換工事 C ゾーン、ACU-7 排気、406、2F サルの指示調節計取替工事
11 月	給湯配管修理 冷却塔薬注配管交換工事
12 月	貯湯槽用膨張タンクの給水弁交換工事 全熱交換器用膨張タンクの交換修理
1 月	集合排気ファン（FE-9）ベアリング交換修理 医療用ガスレギュレータ交換修理 526 号室差圧制御用指示調節計の交換修理 受水槽定水位弁の修理
2 月	自動給水ユニット WU-1 ポンプの交換修理 411 号室用湿度センサー交換工事 受水槽パイロット弁など交換修理
3 月	空調機の修理 集合排気ファン用モーターベアリングの交換工事

< 東広島動物実験施設 >

5 月	組換実験室（2）等電気設備取替工事
3 月	機械室設置純粋装置用給水配管のバルブ増設

医歯薬保健学総合研究科

神経生理学

<論文>

- 1) The Metabotropic Glutamate Receptor Subtype 1 Mediates Experience-Dependent Maintenance of Mature Synaptic Connectivity in the Visual Thalamus. Narushima M, Uchigashima M, Yagasaki Y, Harada T, Nagumo Y, Uesaka N, Hashimoto K, Aiba A, Watanabe M, Miyata M, Kano M. *Neuron* **91**: 1097-1109. 2016
- 2) CAPS1 RNA Editing Promotes Dense Core Vesicle Exocytosis. Miyake K, Ohta T, Nakayama H, Doe N, Terao Y, Oiki E, Nagatomo I, Yamashita Y, Abe T, Nishikura K, Kumanogoh A, Hashimoto K, Kawahara Y. *Cell Reports* **17**: 2004-2014. 2016
- 3) Ionic Basis for Membrane Potential Resonance in Neurons of the Inferior Olive. Matsumoto-Makidono Y, Nakayama H, Yamasaki M, Miyazaki T, Kobayashi K, Watanabe M, Kano M, Sakimura K, Hashimoto K. *Cell Reports* **16**: 994-1004. 2016

分子細胞情報学

<論文>

- 1) The androgen-induced protein AIBZIP facilitates proliferation of prostate cancer cells through downregulation of p21 expression. Cui X, Cui M, Asada R, Kanemoto S, Saito A, Matsuhisa K, Kaneko M, Imaizumi K. *Scientific Reports* **6**: 37310. 2016
- 2) Genome-wide identification and gene expression profiling of ubiquitin ligases for endoplasmic reticulum protein degradation. Kaneko M, Iwase I, Yamasaki Y, Takai T, Wu Y, Kanemoto S, Matsuhisa K, Asada R, Okuma Y, Watanabe T, Imaizumi K, Nomura Y. *Scientific Reports* **6**: 30955. 2016
- 3) Multivesicular body formation enhancement and exosome release during endoplasmic reticulum stress. Kanemoto S, Nitani R, Murakami T, Kaneko M, Asada R, Matsuhisa K, Saito A, Imaizumi K. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **480**(2): 166-172. 2016

分子内科学

<論文>

- 1) Suplatast tosylate protects the lung against hyperoxic lung injury by scavenging hydroxyl radicals. Fukuhara K, Nakashima T, Abe M, Masuda T, Hamada H, Iwamoto H, Fujitaka K, Kohno N, Hattori N. *Free Radic Biol Med*. **106**: 1-9. 2017
- 2) Inhibition of PAI-1 Limits Tumor Angiogenesis Regardless of Angiogenic Stimuli in Malignant Pleural Mesothelioma. Takayama Y, Hattori N, Hamada H, Masuda T, Omori K, Akita S, Iwamoto H, Fujitaka K, Kohno N. *Cancer Res*. **76**(11): 3285-94. 2016

消化器・移植外科学

<論文>

- 1) Role of Natural Killer Cells in the Innate Immune System After Intraportal Islet Transplantation in Mice. Saeki Y, Ishiyama K, Ishida N, Tanaka Y, Ohdan H. *Transplant Proc*. **49**(1): 139-144. 2017

- 2) h-Prune is associated with poor prognosis and epithelial-mesenchymal transition in patients with colorectal liver metastases. Hashimoto M, Kobayashi T, Tashiro H, Arihiro K, Kikuchi A, Ohdan H. *Int J Cancer* **139**: 812-23. 2016
- 3) Mouse model of proximal colon-specific tumorigenesis driven by microsatellite instability-induced Cre-mediated inactivation of Apc and activation of Kras. Kawaguchi Y, Hinoi T, Saito Y, Adachi T, Miguchi M, Niitsu H, Sasada T, Shimomura M, Egi H, Oka S, Tanaka S, Chayama K, Sentani K, Oue N, Yasui W, Ohdan H. *J Gastroenterol.* **51**: 447-57. 2016
- 4) Gasdermin C Is Upregulated by Inactivation of Transforming Growth Factor beta Receptor Type II in the Presence of Mutated Apc, Promoting Colorectal Cancer Proliferation. Miguchi M, Hinoi T, Shimomura M, Adachi T, Saito Y, Niitsu H, Kochi M, Sada H, Sotomaru Y, Ikenoue T, Shigeyasu K, Tanakaya K, Kitadai Y, Sentani K, Oue N, Yasui W, Ohdan H. *PLoS One* **11**: e0166422. 2016
- 5) Different sensitivity of rituximab-treatment to B-cells between ABO-incompatible kidney and liver transplantation. Morimoto H, Ide K, Tanaka Y, Ishiyama K, Ohira M, Tahara H, Akita T, Tanaka J, Ohdan H. *Hum Immunol.* **77**: 456-63. 2016
- 6) h-prune affects anaplastic thyroid cancer invasion and metastasis. Nambu J, Kobayashi T, Hashimoto M, Tashiro H, Sugino K, Shimamoto F, Kikuchi A, Ohdan H. *Oncol Rep.* **35**: 3445-52. 2016
- 7) KRAS mutation leads to decreased expression of regulator of calcineurin 2, resulting in tumor proliferation in colorectal cancer. Niitsu H, Hinoi T, Kawaguchi Y, Sentani K, Yuge R, Kitadai Y, Sotomaru Y, Adachi T, Saito Y, Miguchi M, Kochi M, Sada H, Shimomura M, Oue N, Yasui W, Ohdan H. *Oncogenesis* **5**: e253. 2016
- 8) Radiopaque biodegradable stent for duct-to-duct biliary reconstruction in pigs. Tanimoto Y, Tashiro H, Mikuriya Y, Kuroda S, Hashimoto M, Kobayashi T, Taniura T, Ohdan H. *Langenbecks Arch Surg.* **401**: 513-7. 2016
- 9) PD-L1/PD-L2-expressing B-1 cells inhibit alloreactive T cells in mice. Hirose T, Tanaka Y, Tanaka A, Sakai H, Sasaki Y, Shinohara N, Ohdan H. *PLoS One* **12**: e0178765. 2016
- 10) 異種抗体保有ヒト化マウスを用いた新規標的異種 NeuGc 抗体性拒絶反応の解明. 田原裕之. 日本臓器移植研究財団研究報告書 **12**: 153-155. 2016
- 11) 【IPMN と IPNB】 IPMN の経過観察と注意点. 石山宏平, 眞次康弘, 大段秀樹. 外科 **78(11)**: 1145-1149. 2016
- 12) 【臓器移植における免疫調節とその臨床応用】 骨髓由来間葉系幹細胞を用いた膵島に対する肝臓内 Natural Killer 細胞傷害活性抑制の試み. 石田伸樹, 石山宏平, 平田文宏, 佐伯吉弘, 田中友加, 大段秀樹. *Organ Biology* **23**: 136-140. 2016

<発表>

- 1) FAP とリンチ症候群、ゲノム不安定性の異なる 2 種類の遺伝性大腸癌マウスモデルの確立とその臨床応用. 檜井孝夫, 安達智洋, 斎藤保文, 三口真司, 新津宏明, 河内雅年, 佐田春樹, 坂本直也, 仙谷和弘, 大上直秀, 安井弥, 大段秀樹. 第 85 回大腸癌研究会. 大阪. 7 月 1 日. 2016

- 2) CDX2P-CreERT2:Apcflox/flox;KrasG12D マウスモデルを用いた大腸癌発生速度の検討. 河内雅年, 檜井孝夫, 安達智洋, 斎藤保文, 三口真司, 新津宏明, 佐田春樹, 坂本直也, 仙谷和弘, 大上直秀, 安井弥, 大段秀樹. 第 27 回日本消化器癌発生学会. 鹿児島. 9 月 15 日-16 日. 2016
- 3) 抗ドナーHLA 抗体産生マウスモデルの作製. 柳川泉一郎, 田原裕之, 大段秀樹. 第 52 回日本移植学会総会. 東京. 9 月 29 日-10 月 1 日. 2016
- 4) CDX2P-CreERT2:Apcflox/flox;KrasG12D マウスモデルを用いたタモキシフェン投与量依存性腫瘍発育速度の検討. 河内雅年, 檜井孝夫, 安達智洋, 斎藤保文, 三口真司, 新津宏明, 佐田春樹, 坂本直也, 仙谷和弘, 大上直秀, 安井弥, 大段秀樹. 第 75 回日本癌学会学術総会. 横浜. 10 月 6 日-8 日. 2016
- 5) ヒト化マウスを用いた抗 HLA 抗体産生マウスモデルの異種移植への応用. 柳川泉一郎, 田原裕之, 大段秀樹. 第 19 回日本異種移植研究会. 京都. 2 月 25 日. 2017
- 6) 再脾島移植における肝臓内 memory Natural killer 細胞の機能評価. 佐伯吉弘, 石山宏平, 石田伸樹, 田中友加, 大段秀樹. 第 44 回日本脾・脾島移植研究会. 京都. 3 月 10 日-11 日. 2017

整形外科学

<論文>

- 1) Attenuation of cartilage degeneration by calcitonin gene-related peptide receptor antagonist via inhibition of subchondral bone sclerosis in osteoarthritis mice. Nakasa T, Ishikawa M, Takada T, Miyaki S, Ochi M. *J Orthop Res.* **34(7)**: 1177-84. 2016
- 2) Cell Magnetic Targeting System for Repair of Severe Chronic Osteochondral Defect in a Rabbit Model. Mahmoud EE, Kamei G, Harada Y, Shimizu R, Kamei N, Adachi N, Misk NA, Ochi M. *Cell Transplant.* **25(6)**: 1073-83. 2016
- 3) Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes Promote Fracture Healing in a Mouse Model. Furuta T, Miyaki S, Ishitobi H, Ogura T, Kato Y, Kamei N, Miyado K, Higashi Y, Ochi M. *Stem Cells Transl Med.* **5(12)**: 1620-1630. 2016
- 4) Differences in joint morphology between the knee and ankle affect the repair of osteochondral defects in a rabbit model. Makitsubo M, Adachi N, Nakasa T, Kato T, Shimizu R, Ochi M. *J Orthop Surg Res.* **11(1)**: 110. 2016
- 5) Autologous bone grafts with MSCs or FGF-2 accelerate bone union in large bone defects. Murakami H, Nakasa T, Ishikawa M, Adachi N, Ochi M. *J Orthop Surg Res.* **11(1)**: 105. 2016
- 6) Inhibition of microRNA-222 expression accelerates bone healing with enhancement of osteogenesis, chondrogenesis, and angiogenesis in a rat refractory fracture model. Yoshizuka M, Nakasa T, Kawanishi Y, Hachisuka S, Furuta T, Miyaki S, Adachi N, Ochi M. *J Orthop Sci.* **21(6)**: 852-858. 2016
- 7) Angiogenic conditioning of peripheral blood mononuclear cells promotes fracture healing. Mifuji K, Ishikawa M, Kamei N, Tanaka R, Arita K, Mizuno H, Asahara T, Adachi N, Ochi M. *Bone Joint Res.* **6(8)**: 489-498. 2017

- 8) Evaluation of autologous skeletal muscle-derived factors for regenerative medicine applications. Yoshikawa M, Nakasa T, Ishikawa M, Adachi N, Ochi M. *Bone Joint Res.* **6(5)**: 277-283. 2017
- 7) The role of tetraspanin CD9 in osteoarthritis using three different mouse models. Sumiyoshi N, Ishitobi H, Miyaki S, Miyado K, Adachi N, Ochi M. *Biomed Res.* **37(5)**: 283-291. 2017

産科婦人科学

<発表>

- 1) ヒト臍帯血由来 CD133 陽性細胞は低酸素性虚血性脳症による脳障害を改善する. 田中教文. 第 25 回日本胎盤学会・第 35 回日本絨毛性疾患研究会. 雲仙. 11 月 25 日. 2017

口腔生理学

<論文>

- 1) Different rate-limiting activities of intracellular pH regulators for HCO₃⁻ secretion stimulated by forskolin and carbachol in rat parotid intralobular ducts. Ueno K, Hirono C, Kitagawa M, Shiba Y, Sugita M. *J Physiol Sci.* **66**: 477-490. 2016

生体分子機能学

<論文>

- 1) Scleraxis is required for maturation of tissue domains for proper integration of the musculoskeletal system. Yoshimoto Y, Takimoto A, Watanabe H, Hiraki Y, Kondoh G, Shukunami C. *Sci Rep.* **7**: 45010. 2017

<発表>

- 1) 筋・骨格系を統合する腱・靱帯の形成・維持機構. 宿南知佐. 第 48 回日本結合組織学会学術大会 ワークショップ「マトリックスクネクション 2016」. 長崎. 2016.
- 2) bHLH 型転写因子 Scleraxis による腱・靱帯形成制御. 宿南知佐. 第 11 回しまなみ骨・関節フォーラム. 愛媛. 2016
- 3) Molecular characterization and function of Tenomodulin, a marker of tendon/ligaments to integrate the musculoskeletal components. Shukunami C. The 13th Bone Biology Forum. Chiba. 2016
- 4) 腱・靱帯付着部の形成メカニズム. 宿南知佐. 第 31 回日本整形外科学会基礎学術集会 パネルディスカッション. 福岡. 2016

歯周病態学

<論文>

- 1) Porphyromonas gingivalis infection exacerbates the onset of rheumatoid arthritis in SKG mice. Yamakawa M, Ouhara K, Kajiya M, Munenaga S, Kittaka M, Yamasaki S, Takeda K, Takeshita K, Mizuno N, Fujita T, Sugiyama E, Kurihara H. *Clin Exp Immunol.* **186(2)**:177-189. 2016

- 2) Sequential process in brain-derived neurotrophic factor-induced functional periodontal tissue regeneration. Konishi A, Takeda K, Fujita T, Kajiya M, Matsuda S, Kittaka M, Shiba H, Kurihara H. *Eur J Oral Sci.* **124(2)**: 141-50. 2016

先端歯科補綴学

<論文>

- 1) Osseointegration aspects of placed plant in bone reconstruction with newly developed block-type interconnected porous calcium hydroxyapatite. Doi K, Kubo T, Makihara Y, Oue H, Morita K, Oki Y, Kajihara S, Tsuga K. *Journal of Applied Oral Science* **24(4)**: 325-331. 2016
- 2) Intermittent administration of parathyroid hormone enhances primary stability of dental implants in a bone-reduced rabbit model. Oki Y, Doi K, Makihara Y, Kubo T, Oue H, Tsuga K. *Journal of Oral Science* **58(2)**: 241-246. 2016
- 3) Enhanced Osseointegration of a Modified Titanium Implant with Bound Phospho-Threonine: A Preliminary In Vivo Study. Okazaki Y, Doi K, Oki Y, Kobatake R, Abe Y, Tsuga K. *Journal of Functional Biomaterial* **8(2)**: E16. 2016
- 4) Sphingomyelin generated by sphingomyelin synthase 1 is involved in attachment and infection with Japanese encephalitis virus. Taniguchi, M, Tasaki T, Ninomiya H, Ueda Y, Kuremoto K, Mitsutake S, Igarashi Y, Okazaki T, Takegami T. *Sci Rep.* **6**: 37829. 2016

歯科矯正学

<論文>

- 1) The effect of magnetic field during freezing and thawing of rat bone marrow-derived mesenchymal stem cells. Shikata H, Kaku M, Kojima SI, Sumi H, Kojima ST, Yamamoto T, Yashima Y, Kawata T, Tanne K, Tanimoto K. *Cryobiology* **73(1)**: 15-9. 2016

<発表>

- 1) 乳歯歯髓由来間葉系幹細胞を用いた骨再生技術と顎裂部閉鎖治療への応用：中島健吾，國松亮，鷺見圭輔，小島俊逸，角明美，栗田哲也，沖奈苗，阿部崇晴，安藤和代，加来真人，谷本幸太郎．第40回日本口蓋裂学会総会・学術集会．大阪．2016
- 2) 乳歯歯髓由来間葉系幹細胞の骨再生治療への応用．中島健吾，國松亮，鷺見圭輔，沖奈苗，阿部崇晴，安藤和代，加来真人，谷本幸太郎．第75回日本矯正歯科学会大会．徳島．2016
- 3) 乳歯歯髓由来間葉系幹細胞を用いた骨再生技術と顎裂部閉鎖治療への応用．中島健吾，國松亮，鷺見圭輔，角明美，栗田哲也，沖奈苗，阿部崇晴，安藤和代，加来真人，谷本幸太郎．第23回日本歯科医学会総会．福岡．2016
- 4) Bone regeneration in artificial jaw cleft by use of MSCs- The role of MSCs in angiogenesis. Oki N, Sumi K, Abe T, Sugiyama M, Tanimoto K. American association of orthodontists meeting. Orland. 2016
- 5) Comparison of root resorption between vital and pulpless teeth after orthodontic treatment. Sumi H, Kaku M, Kojima SI, Shikata H, Tanimoto K. American association of orthodontists meeting. Orland. 2016

- 6) Designed SDF-1 chimeric protein for bone tissue regeneration. Date T, Hirata I, Hattori S, Matsuda C, Nakano A, Yamakado, Tanimoto K, Kato K. International Dental Materials Congress. Bal. 2016

運動器機能医科学（浦川研）

<発表>

- 1) 豊かな環境飼育による扁桃体と海馬および不安様行動の変化： パルブアルブミン陽性ニューロンと神経細胞周囲網への着目。越智亮介，藤田直人，荒木美帆，黒瀬智之，西丸広史，小野武年，西条寿夫，浦川将。第 27 回日本行動神経内分泌研究会。岡山。4 月。2017
- 2) 運動の時間配分が肥満を伴う 2 型糖尿病ラットのブドウ糖負荷応答に及ぼす影響。藤田直人，青野沙紀，唐崎航平，世羅布実，黒瀬智之，藤野英己，浦川将。第 52 回日本理学療法学会大会。幕張。5 月。2017
- 3) 扁桃体と海馬におけるパルブアルブミン陽性ニューロンおよびペリニューロナルネットへの豊かな環境の影響と情動行動。越智亮介，藤田直人，荒木美帆，黒瀬智之，西丸広史，小野武年，西条寿夫，浦川将。第 40 回日本神経科学大会。千葉。7 月。2017
- 4) 持久運動が高インスリン血症を伴う肥満の脂質代謝に及ぼす影響。藤田直人，青野沙紀，唐崎航平，世羅布実，黒瀬智之，藤野英己，浦川将。第 70 回日本体力医学会大会。松山。9 月。2017
- 5) 持久運動が高インスリン血症を伴う肥満の脂質代謝と骨格筋内毛細血管に及ぼす影響。藤田直人，青野沙紀，唐崎航平，世羅布実，黒瀬智之，藤野英己，浦川将。第 69 回日本生理学会中国・四国地方会。徳島。10 月。2017
- 6) 豊かな環境飼育が parvalbumin 陽性ニューロンと perineuronal nets に与える影響—脳領域の違いによる影響の検討。越智亮介，藤田直人，黒瀬智之，西丸広史，小野武年，西条寿夫，浦川将。第 69 回日本生理学会中国・四国地方会。徳島。10 月。2017
- 7) 空気加圧による 1.3 気圧処置が肥満を伴う 2 型糖尿病モデルラットの血糖値と内臓脂肪量に与える影響。後藤夏季，藤田直人，中村智哉，二井野渉，越智亮介，浦川将。第 29 回広島スポーツ医学研究。広島。2 月。2018
- 8) 温熱療法が伸張性収縮誘導性のラット骨格筋損傷における組織学的変化に及ぼす影響。中村智哉，藤田直人，二井野渉，後藤夏季，越智亮介，浦川将。第 29 回広島スポーツ医学研究。広島。2 月。2018
- 9) 徒手療法が伸張性収縮誘導性のラット骨格筋損傷における組織学的変化に与える影響。二井野渉，藤田直人，後藤夏季，中村智哉，越智亮介，浦川将。第 29 回広島スポーツ医学研究。広島。2 月。2018
- 10) OLETf ラットの病期の進行に伴う骨格筋内毛細血管密度の変化。藤田直人，後藤夏季，中村智哉，二井野渉，越智亮介，浦川将。第 123 回日本解剖学会総会・全国学術集会。東京。3 月。2018
- 11) Effects of hyperbaric treatment at 1.3 atmospheres absolute on hyperglycemia and hyperinsulinemia in type 2 diabetes. Goto N, Fujita N, Nakamura T, Nino W, Ochi R, Urakawa S. 第 95 回日本生理学会。香川。3 月。2018

自然科学研究支援開発センター震動物実験施設

<論文>

- 1) Transcriptional regulator Bhlhe40 works as a cofactor of T-bet in the regulation of IFN- γ production in iNKT cells. Kanda M, Yamanaka H, Kojo S, Usui Y, Honda H, Sotomaru Y, Harada M, Taniguchi M, Suzuki N, Atsumi T, Wada H, Baghdadi M, Seino K. *Proc Natl Acad Sci USA*. **113(24)**: E3394-402. 2016

<発表>

- 1) 霊長類における遺伝的相同個体の作製技術について. 外丸祐介. 第63回日本実験動物学会総会 (ミニシンポジウム5). 川崎. 5月20日. 2016
- 2) 霊長類における受精卵と精子の凍結保存. 外丸祐介, 信清麻子, 吉岡みゆき, 畠山照彦, 印藤頼子, 兼子明久, 岡本宗裕, 今井啓雄, 平井啓久. Cryopreservation Conference 2016. 岡崎. 11月10-11日. 2016
- 3) 様々な核の組合せにより作製したマーモセット4倍体胚の発生能について. 外丸祐介, 信清麻子, 吉岡みゆき, 畠山照彦, 黒滝陽子, 平川玲子, 佐々木えりか. 第6回日本マーモセット研究会大会. 東京. 12月12-14日. 2016

再生治療・病態解析プロジェクト(茶山チーム)

平成 28 年度活動状況

抗ウイルス療法抵抗性のB型肝炎ウイルス(HBV)・C型肝炎ウイルス(HCV)に対する新規治療法の開発のため、HBV持続産生細胞株やHBV・HCV持続感染ヒト肝細胞キメラマウスモデルを作製し、ウイルス学的な治療抵抗性要因の探索とその対策を検討した。また、理化学研究所統合生命医科学研究センター消化器疾患研究チーム(チームリーダー:茶山一彰)と共同し、ウイルス性肝炎や肝癌の病態ならびに治療効果に関連する遺伝子多型の探索を行い、以下の知見を得た。

1. ヒト肝細胞キメラマウスおよび細胞株を用いた研究

- 様々な薬剤耐性変異を導入した HBV を用いて、新規核酸アナログ製剤テノホビルの抗ウイルス効果を解析し、アデホビル耐性変異を有する HBV ではテノホビルでの抗ウイルス効果が減弱することを示した。さらに、テノホビルの抗ウイルス効果は HBV genotype により異なることも見出した。(*J Infection*, 2016)
- HCV 持続感染ヒト肝細胞キメラマウスを用いて、NS3/4A プロテアーゼ阻害薬耐性 HCV を感染させたマウスで耐性株の割合が多ければ、NS3/4A プロテアーゼ阻害薬+NS5A 阻害薬併用療法の治療効果が低下することを示した。(*Antiviral Therapy*, 2016) また NS3/4A プロテアーゼ阻害薬にてウイルス排除が得られず、薬剤耐性変異を獲得した場合、NS3/4A プロテアーゼ阻害薬の再投与により、耐性変異が速やかに出現することが示された。(*J Infectious Disease*, 2016)
- HBV 持続感染ヒト肝細胞キメラマウスおよび B 型慢性肝炎患者に対し、HB ヒト免疫グロブリンが抗ウイルス効果を有することを見だし、HB ヒト免疫グロブリンが、B 型慢性肝炎患者に対する新規治療薬となる可能性を示した。(*J Gastroenterology*, 2016)
- cDNA-uPA/SCID マウスによるヒト肝細胞キメラマウスを用いて、新たなウイルス感染モデルを作製した。(*J General Virology*, 2017)

2. ゲノム解析

- C 型慢性肝炎患者において、インターフェロン $\lambda 4$ 遺伝子近傍にある遺伝子多型が、シメプレビル+PEG-IFN+リバビリンの治療効果と関連することを見出した。(*Hepatology Research*, 2017)
- C 型慢性肝炎患者において、ITPA 遺伝子多型がシメプレビル+PEG-IFN+リバビリンあるいはソホソブビル+リバビリン療法による貧血の程度と関連することを見出した。(*Hepatology Research*, 2016, *J Gastroenterol*, 2017)
- PNPLA3 の遺伝子多型は、非アルコール性脂肪性肝疾患の発症と関連があることが知られている。今回、PNPLA3 の遺伝子多型が、さらに 2 型糖尿病を合併した非アルコール性脂肪性肝疾患患者に対するアログリプチンの治療効果と関連性があることを見出した。(*Hepatology Research*, 2016)

平成 29 年度以降の活動計画

- 複数の薬剤耐性変異を有する HBV・HCV に対する治療法の構築に向けた研究を継続して行う。

- HBV 持続産生細胞株および HBV 感染キメラマウスモデルを利用して、HBV のレセプターである、NTCP の働きを解明する。
- HBV・HCV 感染に対する抗ウイルス療法や肝臓に対する化学療法の治療効果や慢性肝疾患の病態に寄与する遺伝子多型の同定を引き続き行っていく。

細胞医療プロジェクト（秀チーム）

アレルギーの発症・悪化を防ぐヘルスケア技術開発と、表面プラズモン共鳴による細胞機能検査装置の開発

平成28年度活動状況

前年度に引き続き、アトピー性皮膚炎に見られる汗アレルギーの研究を通して、アトピー性皮膚炎の発症機序を解明するとともに、患者自身がアトピー疾患の発症・悪化を防ぐための方法・製品を開発・提供することを目的とした。また、現在のアレルギー検査法の欠点を越える次世代細胞機能評価法としての表面プラズモン共鳴(SPR)を用いて二次元 SPR システム (SPR イメージング装置)を構築し、その臨床応用を検討した。

1. 汗アレルギー

1)汗アレルギーの臨床応用

平成 27 年度に続き、汗の主要抗原である MGL_1304 に対する特異的モノクローナル抗体を用いて免疫染色を行い、ヒト皮膚組織中のどの部分(角層、汗腺や脂腺との関連など)に汗抗原が多く存在するのかについて明らかにし、アトピー性皮膚炎やコリン性蕁麻疹の病態との関わりについて検討中である。また、*M. globosa* 以外のヒトにおける主要なマラセチア属真菌である *M. sympodialis* および、*M. restricta* における MGL_1304 相同体をクローニングが終了し、MGL_1304 との性質の違いやアトピー性皮膚炎の病態への関与について検討中である。

2. 表面プラズモン共鳴

表面プラズモン共鳴 (SPR) センサは、センサ表面上の数百 nm 内の屈折率変化を感度良く検出できる。我々はこれまでに SPR センサを利用して、生細胞の刺激応答 (細胞膜近傍の屈折率変化) をリアルタイムかつ高感度に検出することに成功している。また、我々が構築した SPR イメージング装置を利用して、1細胞毎、さらには1細胞内の局所的な膜近傍屈折率変化をリアルタイムに検出することにも成功している。

1)アレルギー診断用 SPR イメージング装置の作製

これまでに、SPR イメージング装置を利用して、ヒト好塩基球を各種抗原で刺激した時の屈折率変化を検出することに成功した。また、入射光波長、対物レンズの倍率を簡易に変更可能な新しい SPR イメージング装置を作製した。これにより、これまでよりもより鮮明な SPR 画像を簡易に取得できるようになった。さらに、マイクロ流体技術を応用し、迅速な好塩基球等の血球細胞分離技術から SPR イメージングまで1チップ上で行えるアレルギー診断チップを開発した。

2) SPR センサによるがん細胞の機能評価

癌の診断は病理組織学的に行われるのが通常であるが、癌の特徴は、増殖能や転移能など、

その機能が重要と考えられる。これまで我々は、SPR を利用して腫瘍・非腫瘍を判別できることを報告してきた。今回、我々は血中を流れる腫瘍細胞 (Circulating Tumor Cells; CTC) に着目し、血中から取り出した CTC が転移する能力のある腫瘍細胞かどうか判別するために SPR を利用しようと考えている。本年度は、正常血管内皮細胞とがん化した血管内皮細胞では、SPR センサによって得られる細胞固有屈折率が異なることを発見した。この屈折率の違いを利用して、正常と腫瘍細胞の見分けることができるかもしれない。本年度は、悪性黒色腫患者の血液から CTC を分離し、SPR 解析する技術を確立した。

平成29年度以降の活動計画

1. 汗アレルギー

汗の主要抗原 MGL_1304 を分泌する *M. globosa* 以外のヒトにおける主要なマラセチア属真菌である *M. sympodialis* および、*M. restricta* における MGL_1304 相同体を用いて、臨床においてアトピー性皮膚炎患者の反応性 (ヒスタミン遊離試験など) のデータの蓄積を今後も行い、MGL_1304 との性質の違いやアトピー性皮膚炎の病態への関与について纏め報告していく。

2. 表面プラズモン共鳴

これまで得られた知見を基に、微量の血液を使って多種類の抗原に対する好塩基球の反応性を迅速・高感度・網羅的に診断する次世代型アレルギー診断システムを開発し実用化を目指す。

医療ベンチャープロジェクト(檜山チーム)

平成 28 年度の活動計画

- ヒト腫瘍とともに体液中の遊離 DNA やエクソソーム内のマイクロ RNA を用いて、腫瘍における遺伝子変化、遺伝子発現変化、非コード RNA とくにマイクロ RNA の網羅的解析に次世代シーケンサー、イルミナおよびイオン PGM システムを用いて解析する。また、RNA シークエンス、メチル化解析法、全ゲノム解析についての解析を継続する。
- 間葉系幹細胞のみならず、正常上皮細胞、あるいは不死化細胞に種々の遺伝子を導入した株でコンディショニングに発現させて、増殖能と遺伝子発現変化に関わる重要な遺伝子のパスウェイ解析を継続して行う。
- 多剤耐性ブドウ球菌(MRSA)の院内分離菌について、次世代シーケンサーで全ゲノム解析を継続し、耐性遺伝子のパターンからその分類を行い、院内感染パターンを検討し、さらに耐性遺伝子の伝播経路の解析を継続する。
- 神経芽腫や小児腫瘍の予後不良例を特異的に早期に発見できる血中、尿中の新規マーカーをタンデムマスにて検討について継続し、血漿中遊離 DNA 中の種々の遺伝子変異について遺伝子増幅のみならず、循環腫瘍細胞の採取を行い、これらの検体から網羅的解析法について検討を行い、新たな診断法を確立する。
- 肝芽腫の新たなプロトコール JPLT3 プロトコールを継続し、終了した JPLT2 試験の解析を行う。また、米国との国際共同臨床試験は、平成 28 年度は症例集積に努めるとともに、次期国際共同研究(PHITT 研究)の準備を開始する。

平成 28 年度活動状況

- ヒト腫瘍、特に神経芽腫における腫瘍と体液中の遊離 DNA やエクソソーム内のマイクロ RNA を用いて、腫瘍における遺伝子変化、遺伝子発現変化、非コード RNA とくにマイクロ RNA の網羅的解析に次世代シーケンサー、イルミナおよびイオン PGM システムを用いて解析した。また、肝芽腫においては、全ゲノム解析に加えて、RNA シークエンス、全ゲノムメチル化解析法、についての解析を継続した。
- 間葉系幹細胞のみならず、正常上皮細胞、あるいは不死化細胞に種々の遺伝子を導入した株でコンディショニングに発現させて、増殖能と遺伝子発現変化に関わる重要な遺伝子のパスウェイ解析を継続して行った。
- 多剤耐性ブドウ球菌(MRSA)の院内分離菌について、イルミナの次世代シーケンサーで全ゲノム解析を行い、耐性遺伝子の存在と薬剤耐性の関連の検討を行い、院内感染パターンを検討し、さらに耐性遺伝子の伝播経路の解析を行った。
- 神経芽腫や小児腫瘍の予後不良例を特異的に早期に発見できる血中、尿中の新規マーカーをタンデムマスにて検討について継続し、血漿中遊離 DNA 中の種々の遺伝子変異について遺伝子増幅のみならず、循環腫瘍細胞(CTC)の採取を行い、これらの検体から網羅的解析法について検討を行い、新たな診断法のマーカー候補を抽出する。
- 肝芽腫の新たなプロトコール JPLT3 プロトコールを継続し、終了した JPLT2 試験の解析を行った。また、米国との国際共同臨床試験は、平成 28 年度は症例集積に努めるとともに、

日米欧の次期国際共同研究(PHITT 研究)のプロトコール骨子を作成した。

平成 29 年度以降の活動計画

- ヒト腫瘍、特に神経芽腫における腫瘍と体液中の遊離 DNA やエクソソーム内のマイクロ RNA を用いて、腫瘍における遺伝子変化、遺伝子発現変化、非コード RNA とくにマイクロ RNA の網羅的解析に次世代シーケンサー、イルミナおよびイオン PGM システムを用いて解析した。また、肝芽腫においては、全ゲノム解析に加えて、RNA シーケンス、全ゲノムメチル化解析法、についての解析を継続し、そのデータ解析を行う。
- 間葉系幹細胞のみならず、正常上皮細胞、あるいは不死化細胞に種々の遺伝子を導入した株でコンディショニングに発現させて、増殖能と遺伝子発現変化に関わる重要な遺伝子のパスウェイ解析を継続して行う。
- 多剤耐性ブドウ球菌(MRSA)の院内分離菌について、イルミナの次世代シーケンサーで全ゲノム解析を行い、耐性遺伝子の存在と薬剤耐性の関連とともに、院内感染パターンを検討し、さらに耐性遺伝子の伝播経路の解析を継続して行う。
- 神経芽腫や小児腫瘍の予後不良例に加えて成人腫瘍において、これらに特異的に早期に発見できる血中、尿中の新規マーカーをタンデムマスにて検討について継続し、血漿中遊離 DNA 中の種々の遺伝子変異について検出システムを確立する。さらに、循環腫瘍細胞(CTC)の採取を行い、これらの検体から網羅的解析法について検討を行い、新たな診断法を確立する。
- 肝芽腫の新たなプロトコール JPLT3 プロトコールを継続し、米国との国際共同臨床試験 AHEP0731 の症例集積に努めるとともに、日米欧の次期国際共同研究(PHITT 研究)のプロトコールを作成し、臨床研究審査の承認ののちに開始する。