IV 生物科学専攻·生物科学科

1 生物科学専攻

本専攻は平成5年4月に「生命の多様性を生み出す普遍法則と情報の探求」および「フロンティアを拓き国際平和に貢献する独創的人材の育成」を教育・研究目標として誕生した。

1-1 専攻の理念と目標

本専攻では中期目標の中で、以下に示す研究内容および水準の質的向上に関する目標を掲げている。

生物科学専攻では、21世紀は「生命の世紀」といわれている状況下において、「複雑生命系の成立機構」(動物科学講座)と「植物の多様性形成機構」(植物生物学講座)に焦点を当てて独創性の高い特徴ある研究を推進することを目指している。

その一つの柱である「複雑生命系の成立機構」研究では、生命系をタンパク質と核酸からなる 生体高分子の集合体とみなし、集合体の性質の解明を中心課題とする。生体高分子が集合すると、 細胞、組織、及び器官の各階層の生命の存在目的に適う秩序を有する超複雑機能系が出現する。 この出現を可能にしている原理とその原理に基づく仕組みの解明を目指す。具体的には以下の研究を推進する。1)複雑生命系の発生の仕組みの解明、2)細胞骨格系の成立の仕組みの解明、 3)情報伝達系の形成の仕組みの解明。

「植物の多様性形成機構」については次の研究を推進する。植物は多様な地球環境に適応・進化し、多様な植物を生み出してきた。本研究は多様な植物を生み出した機構を、分子、細胞、個体、群集レベルで追求するものである。以下のキーワードをもとに研究を推進する。最初の陸上植物コケ植物の種多様性、環境応答と形態形成の分子機構と多様性形成、超生物界間遺伝子移動によるゲノムの多様性形成、多様な植物遺伝子・系統の解析と保存、多様な自然環境の形成と保全。

1-2 専攻の組織と運営

本専攻は、2000年4月の大学院理学研究科の部局化にともない、動物科学講座、植物生物学講座、多様性生物学講座、両生類生物学講座、および植物遺伝子資源学講座の5つの講座に再編された。動物科学講座には、発生生物学、細胞生物学、情報生理学の3分野がある。植物生物学講座には、植物分類・生態学、植物生理化学、植物分子細胞構築学の3分野がある。多様性生物学講座には海洋分子生物学と島嶼環境植物学の2分野、両生類生物学講座には発生研究グループ、進化多様性・生命サイクル研究グループ、遺伝情報・環境影響研究グループの3研究グループ、植物遺伝子資源学講座には植物遺伝子資源学の分野がある。かくして本専攻には、微生物、動物、植物を材料にし、多様な生物現象を分子から、細胞、組織、個体、集団レベルに至るまで様々なレベルを対象にした幅広い研究分野が勢揃いする事となった。本専攻の一番の特色は、多様な生命現象を多様な目でみることのできる教育・研究を実践できることである。

生物科学専攻の運営は、生物科学専攻長を中心にして行われていて、副専攻長がそれを補佐する。専攻長および副専攻長は原則として動物分野と植物分野から交互に毎年選出される。

大学院専攻に関わる諸問題について、教員会議で審議する。専攻における各種委員もここで選出し、必要に応じて講座代表、研究分野代表連絡会が開かれる。

法人化を契機に、専攻の定員削減計画がはじまった。従来の教育・研究水準を維持することさえ困難な状況になり、対応に苦慮している。

現在,生物科学専攻の教員が,数理分子生命理学専攻の教員と共同で学部教育(生物科学科) を担当している。共通の理念で学部教育プログラム編成を行って,基礎的かつ分野に偏りのない 幅広い生物科学教育を目指している。

1-2-1 教職員

《平成26年度構成員》 H27.3.31現在

動物科学講座

発生生物学研究室 菊池 裕(教授), 穗積俊矢(助教), *武藤彰彦(特任助教)

細胞生物学研究室 濱生こずえ(准教授),

情報生理学研究室 小原政信(教授), 植木龍也(准教授), 森下文浩(助教)

植物生物学講座

植物分類・生態学研究室 山口富美夫(教授),嶋村正樹(准助教),*片桐知之(特任助教)

植物生理化学研究室 高橋陽介(教授),深澤壽太郎(助教),伊藤 岳(助教)植物分子細胞構築学 鈴木克周(教授),守口和基(講師),山本真司(助教)

多様性生物学講座

附属臨海実験所 安井金也(教授), 田川訓史(准教授)

附属宮島自然植物実験所 坪田博美(准教授)

両生類生物学講座

発生研究グループ 矢尾板芳郎 (教授), 高瀬 稔 (准教授), 中島圭介 (助教),

田澤一朗 (助教)

進化多様性・生命サイクル研究グループ 住田正幸 (教授)、鈴木 厚 (准教授)、倉林 敦 (助教)、

*Islam Mohammed Mafizul(特任助教)

遺伝情報・環境影響研究グループ 古野伸明(准教授),三浦郁夫(准教授),花田秀樹(助教),

*柏木昭彦(特任教授)

植物遺伝子資源学講座 草場 信(教授), 谷口研至(准教授), *中野道治(特任助教),

*上妻馨梨(特任助教)

フェニックスリーダー育成プログラム *出口博則(特任教授), *高橋秀治(特任准教授)

国立大学改革強化促進事業 *小栗恵美子(特任助教)

生物科学専攻事務室 湯口恵美(主任),下坊雪美(契約一般職員),

下森雅美(契約一般職員)

注)*任期付き特任教員 武藤彰彦,片桐知之,出口博則, : 平成26年4月1日~平成27年3月31日

小栗恵美子, 柏木昭彦, 高橋秀治,

Islam Mohammed Mafizul, 中野道治, 上妻馨梨

1-2-2 教員の異動

平成26年度の教員の異動について、下記一覧表に示す。

	発 令	氏名		異動	内 容
	年月日			現所属等	新 所 属 等
				生物科学専攻	生物科学専攻
1	26. 4. 1	嶋村 正樹	昇任		
				助教	准教授
				生物科学専攻	生物科学専攻
2	26. 4. 1	山本 真司	更新		
				特任助教	特任助教
				生物科学専攻	生物科学専攻
3	26. 4. 1	伊藤岳	更新		
				特任助教	特任助教
				生物科学専攻	生物科学専攻
4	26. 4. 1	武藤 彰彦	更新		
				特任助教	特任助教
				生物科学専攻	生物科学専攻
5	26. 4. 1	木根原匡希	更新		
			2 4.0.1	特任助教	特任助教
				生物科学専攻	生物科学専攻
6	26. 4. 1	片桐 知之	更新		
	20 1	71117	22701	特任助教	特任助教
				生物科学専攻	生物科学専攻
7	26. 4. 1	出口博則	更新		20117 47
ĺ	20 1		22/01	特任教授	特任教授
				生物科学専攻	生物科学専攻
8	26. 4. 1	小栗恵美子	更新		2,011,03,0
		V 2/02/20	24.01	特任助教	特任助教
				附属両生類研究施設	附属両生類研究施設
9	26. 4. 1	柏木 昭彦	更新		
				特任教授	特任教授
				附属両生類研究施設	附属両生類研究施設
10	26. 4. 1	高橋 秀治	更新		
				特任准教授	特任准教授
		ISLAM		附属両生類研究施設	附属両生類研究施設
11	26. 4. 1	MOHAMMED	採用		
		MAFIZUL		特任助教 (パート)	特任助教 (パート)
				附属植物遺伝子保管実験施設	附属植物遺伝子保管実験施設
12	26. 4. 1	中野 道治	更新		
				特任助教	特任助教
				附属植物遺伝子保管実験施設	附属植物遺伝子保管実験施設
13	26. 4. 1	上妻 馨梨	更新		
				特任助教	特任助教
				生物科学専攻	
14	26. 6.10	細谷 浩史	辞職		
	(26.6.9限り退職)			教授	

				生物科学専攻	大学院医歯薬保健学研究院
15	26.10. 1	木根原匡希	配置換		基礎生命科学部門
				特任助教	特任助教
				生物科学専攻	広島大学グローバル推進室
16	26.12. 1 (27.3.31まで)	小原 政信	併任		
	(27.3.3.7 & C)			教授	
				生物科学専攻	生物科学専攻
17	26.12.31	山本 真司	辞職		
				特任助教	助教 (年俸制)
				生物科学専攻	生物科学専攻
18	26.12.31	伊藤 岳	辞職		
				特任助教	助教 (年俸制)
				生物科学専攻	生物科学専攻
19	27. 1. 1	山本 真司	採用		
				特任助教	助教 (年俸制)
				生物科学専攻	生物科学専攻
20	27. 1. 1	伊藤 岳	採用		
				特任助教	助教 (年俸制)
				附属両生類研究施設	
21	27. 3.31	住田 正幸	定年退職		
				教授	
				附属植物遺伝子保管実験施設	附属植物遺伝子保管実験施設
22	27. 3.31	谷口 研至	定年退職		
				准教授	特任准教授

非常勤講師

《平成26年度》

平岡 泰 (大阪大学大学院生命機能研究科・教授)

授業科目名:「染色体ダイナミクスの生細胞蛍光イメージング」

石崎 公庸 (神戸大学大学院理学研究科·准教授)

授業科目名:「植物ゲノム学」

芳賀 永 (北海道大学大学院先端生命科学研究院・教授)

授業科目名:「細胞と細胞外環境の力学的相互作用が生み出す協同現象」

伊村 智(国立極地研究所研究教育系生物圏研究グループ・教授)

授業科目名:「極域生態学」

高橋 俊雄(公益財団法人サントリー生命科学財団・研究員)

授業科目名:「生理活性ペプチドの生物学」

平成26年度生物科学専攻の各種委員

生物科学専攻内の各種委員会委員

委 員 会 名	平 成 26 年 度
専攻長	草場 信
副専攻長	小原 政信

庶務 (学科と兼務)	中島・伊藤
生物科学セミナー委員	三浦・森下・倉林・深澤・中島
大学院チューター	菊池・鈴木(克)
教務委員(学科教務委員が兼務)	草場・矢尾板・安井・山口・濱生
就職担当	菊池(~9月30日), 草場(10月1日~)
大学院HP	濱生・嶋村
LAN管理	守口
電子顕微鏡	細谷(後任:濱生) ・山口
動物飼育室	森下・坂本(尚)
植物管理室	ЩП
スロー生物学演習担当委員	京海、於十(古)、山口、十郎
(旧・同改革WG)	高瀬・鈴木(克)・山口・古野
社会実践生物学特論担当委員	細谷(後任:高橋)・守口
(旧・同改革WG)	州守(汉山・同惝/ ・ゾロ

理学研究科および全学各種委員会委員(*印:全学委員)

委 員 会 名	平成26年度
*副研究科長・副学部長(学部担当)	小原
*大学院博士課程リーダー育成プログラム	
放射線災害復興を推進するフェニックスリーダー	出口, 高橋 (秀)
育成プログラム担当者	
*学芸員資格取得特定プログラム委員	山口
*国際生物学オリンピック運営委員会	小原
*動物実験委員会	矢尾板
*動物実験委員会審査部会	住田, 菊池
*東広島地区実験動物集約施設検討WG	矢尾板
*魚類・両生類を用いる実験に関する倫理審査等検討WG	矢尾板, 住田, 菊池
*バイオセーフティ委員会	矢尾板
*総合博物館運営委員会	山口, 坪田
*総合博物館研究員	出口, 三浦, 山口, 坪田, 住 田, 田澤, 花田, 柏木(昭)
*文科省世界展開力事業「アセアンー広島大学学生交流事業 AIMS-HU」部会	小原 (副部会長)
*産学・地域連携コーディネーター	古野
*附属理学融合教育研究センター運営委員会	小原
*自然環境保全専門委員会	山口
人事交流委員会	専攻長(草場)

安全衛生委員会	安井
評価委員会	山口・小原
広報委員会	鈴木 (厚)
地区防災対策委員会	専攻長(草場)
教務委員会	学科長(矢尾板)
入学者選抜方法検討委員会	島田(裕)
教育交流委員会	嶋村
大学院委員会	高橋 (陽)
情報セキュリティ委員会	坪田
将来構想検討WG	草場・矢尾板
大学院研究力推進WG	草場・小原(座長)
大学院国際化推進WG	三浦・小原(座長)

1-3 専攻の大学院教育

1-3-1 大学院教育の目標とアドミッション・ポリシー

多様な生命現象を分子から集団レベルまで多角的に捉え,基礎科学に貢献できる人材を育成するために,多様な専門性を持った学生を幅広く受け入れることを基本にしている。

1-3-2 大学院教育の成果とその検証

教育内容:大学院での教育は、講義と演習、セミナーなどの授業、さらには学生と指導教員、チューターとの密接な個別指導(研究室における修士論文、博士論文の指導)の2系統の教育を行っている。20年度に大学院教育の発展を期し、修士課程学生を対象としたスロー生物学演習と社会実践生物学特論(社会実践学特論)を開設して6年が経った。スロー生物学演習受講者は研究に対する様々な視点が身についたという感想を寄せ、社会実践生物学特論では、研究だけではなく、社会の様々な分野で活躍している方を講師に招いており、受講者のアンケート調査の結果は好評であった。博士課程後期では、必修や選択などの授業は特に設定されておらず、各自の研究テーマに沿った個別指導が中心である。年度毎に専攻独自の評価と紙媒体の学生による授業アンケートを実施して改善を図っている。

大学院学生の在籍状況及び学位授与状況

【修士課程,博士前期課程	平成26年度	
入学定員(各年度4.1現在)		24人
入学者数(各年度11.1現在)		19人
	5人	
定員充足率	79%	
在籍者数(各年度11.1現在)		33人
留年,退学,休学者数 ※1 (全ての学年,各年	3人	
留年,退学,休学者率	9%	
学位(修士)授与数(各年度3.31現在)	13人	
学位授与率 ※2		81%

【博士後期課程,博士課程(一貫制)】	平成26年度
入学定員(各年度4.1現在)	12人
入学者数(各年度11.1現在)	3人
うち,他大学出身者勢 (各年度11.1現在)	3 1人
定員充足率	25%
在籍者数(各年度11.1現在)	22人
留年,退学,休学者数 ※1 (全ての学年,各年度内の該当人数)	5人
留年,退学,休学者率	23%
学位(博士)授与数(各年度3.31現在)	5人
☆うち、いわゆる「満期退学」者や「単位取得後退学」者による博士号 得を課程博士として取扱っている場合にはその数(各年度3.31現在)	0人
学位授与率 ※2	56%
論文博士授与数(各年度3.31現在)	0人

- ※1 休学者数については、当該年度内(1年間)休学している者の数を留年、退学者数とあわせ記入。
- ※2 学位授与率については、修士課程の場合においては当該年度の学位授与数を2年前の入学者数で割った数値、博士課程の場合においては当該年度の課程博士授与数を3年前(医・歯・獣医学は4年前、5年一貫制の場合は5年前)の入学者数で割った数値。

大学院学生の就職・進学状況

【修士課程,博士前期課程】	平成26年度
修了者数	13人
大学の教員(助手・講師等)	0人
公的な研究機関	0人
企業 (研究開発部門)	0人
企業(その他の職種)	8人
学校(大学を除く)の教員	2人
進学 (博士課程, 留学等)	2人
その他	1人

【博士後期課程,博士課程(一貫制)】	平成26年度
修了者数	7人
大学の教員(助手・講師等)	1人
公的な研究機関	0人
企業 (研究開発部門)	1人
企業 (その他の職種)	0人
ポスドク (同一大学)	2人
ポスドク (他大学等)	0人
進学(留学等)	0人
その他	3人

1-3-3 大学院生の国内学会発表実績

平成26年度の大学院生による国内学会発表実績は下表のとおり。

	発生生物学	細胞生物学	情報生理学	植物分類・生態学	植物生理化学	学 植物分子細胞構築	附属臨海実験所	実験所附属宮島自然植物	設附属両生類研究施	管実験施設附属植物遺伝子保	#
博士課程前期	8	0	4	1	5	4	0	0	3	1	26
博士課程後期	2	3	3	1	0	0	2	12	4	2	29
前期・後期共	2	0	0	1	0	0	0	1	3	0	7
総計	12	3	7	3	5	4	2	13	10	3	62

^{*}学部生はカウントしない。

^{*「}前期・後期共」とは、博士課程前期・後期の学生が共に共同発表した実績を記載。

1-3-4 大学院生の国際学会発表実績

平成26年度の大学院生により国際学会発表実績は下表のとおり。

	発生生物学	細胞生物学	情報生理学	植物分類・生態学	植物生理化学	堂 植物分子細胞構築	附属臨海実験所	実験所附属宮島自然植物	設置工業研究施	管実験施設附属植物遺伝子保	計
博士課程前期	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
博士課程後期	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
前期・後期共	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
総 計	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	2

^{*}学部生はカウントしない。

1-3-5 修士論文発表実績(個人情報保護法に留意)

《平成26年度 修士論文題目一覧》

学生氏名	論 文 題 目			
安達 由加	繊毛虫ミドリゾウリムシが保持するストレス耐性に関する研究			
砂後 義明	カタユウレイボヤ Vanabin の発現および機能解析			
井上万莉野	アグロバクテリア VirB/D4 システムによる高等植物細胞への広宿主域型プラスミドの移行			
井上 良平	シロイヌナズナにおける暗黒誘導性老化の分子遺伝学的解析			
國弘 佳代	ミオシンⅡ調節軽鎖アイソフォームの機能解析			
重田美津紀	Molecular study on the function of a novel oxygen-binding globin protein, cytoglobin (酸素結合性グロビンタンパク質サイトグロビンの機能解明に関する研究)			
髙山 和也	ゼブラフィッシュの尾ビレ再生制御機構に関する研究			
棚橋 寿至	ナツメボヤにおける腸内細菌の探索および新規バナジウム結合タンパク質の同 定			
寺脇 綾香	SCL3 による GA 生合成酵素遺伝子の転写抑制機構の解析			
松原 宏介	ミドリゾウリムシにおける宿主細胞内での共生藻数の制御に関する研究			
宮本 知佳	ジベレリン信号伝達における GAF1-DELLA 複合体による転写制御の解析			
宮本 良祐	細胞系譜に依存しない遺伝子発現制御機構の研究			
渡辺 愛	次世代バイオリソース・ネッタイツメガエル7系統における近交度および遺伝的 関係			

^{*「}前期・後期共」とは、博士課程前期・後期の学生が共に共同発表した実績を記載。

1-3-6 博士学位

申請基準:博士論文は、レフェリー付きの国際学術誌に公表論文が受理されていることが必須条件であり、専攻内における予備審査に合格したものが申請することができる。

学位授与実績:平成26年度の学位授与数と論文題目は下記に示す(授与年月日を[]]内に記す)。

課程博士授与数 5件

平林 諒〔平成27年3月23日〕(甲)

Analyses of zebrafish Ddx46 function in the tissue and organ formation.

(組織・器官形成におけるゼブラフィッシュDdx46 の機能解析)

主查:菊池 裕 教授

副查:小原 政信 教授,矢尾板 芳郎 教授,安井 金也 教授

有本 飛鳥〔平成27年3月23日〕(甲)

Evolutionary developmental study on the regeneration of the hemichordate, Ptychodera flava

(半索動物ヒメギボシムシの再生に関する進化発生学的研究)

主查:田川 訓史 准教授

副查:小原 政信 教授,山本 卓 教授,矢尾板 芳郎 教授

小巻 翔平〔平成27年3月23日〕(甲)

Population structure and geographical dynamics of common anuran species in Japan

(日本産普通種両生類を用いた集団構造および生物地理学的研究)

主查:矢尾板 芳郎 教授

副查:安井 金也 教授,山口 富美夫 教授

掛橋 竜祐〔平成27年3月23日〕(甲)

Development of molecular markers for the endangered *Babina* species (Anura:Ranidae) and classification of its phylogenetic position

(絶滅危惧種無尾類Babina属(アカガエル科)に関する分子マーカーの開発と系統学的位置の解明)

主查:矢尾板 芳郎 教授

副查:安井 金也 教授,山口 富美夫 教授

廣瀬 健太朗〔平成27年3月23日〕(甲)

Studies on novel molecular mechanisms in zebrafish fin regeneration

(ゼブラフィッシュ尾びれ再生における新規分子メカニズムの研究)

主查:菊池 裕 教授

副查:小原 政信 教授, 矢尾板 芳郎 教授, 安井 金也 教授

論文博士授与数 0件

1-3-7 TAの実績

【博士課程前期】		
区 分		
在籍者数	33人	
TAとして採用されている者	24人	
在籍者数に対する割合	73%	

【博士課程後期】			
区 分			
在籍者数	22人		
TAとして採用されている者	14人		
在籍者数に対する割合	64%		

1-3-8 大学院教育の国際化

生物科学専攻では大学院教育の国際化を下記の項目について進めており、その成果は国際共同研究欄に記載した他、1-4-2項の研究グループ別研究活動に記載した。

- ・国際学会への積極的参加
- ・フィールドサイエンス分野における研究対象地域の海外での展開
- ・海外研究者との積極的交流および、種々の形態による受け入れ
- ・外国人留学生の積極的受け入れ

1-4 専攻の研究活動

1-4-1 研究活動の概要

生物科学専攻の各研究グループにおいて、平成26年度におこなわれた研究活動の成果は、1-4-2 項の研究グループ別研究活動に記載する。そこに示されたデータに基づいて、活動の概要を以下に示す。

○産学官連携実績

細谷浩史

・広島県教育委員会広島県教育センター主催 第18回 (2014) 教材生物バザール参加

坪田博美

- ・広島県保健協会共同研究(2006-) 広島県廿日市市・広島県広島市(気生藻類の分子系統学的研究)
- ・国立科学博物館共同研究(2014-)茨城県つくば市(地衣共生藻類の分子系統学的研究)

<u>柏木昭彦</u>・柏木啓子・<u>花田秀樹</u>・<u>鈴木賢一</u>・<u>鈴木 厚</u>・<u>古野伸明</u>・<u>田澤一朗</u>・<u>倉林 敦</u>・<u>中島圭</u> 介・竹林公子・小林里美・竹中純子・杉原麻美・山本 卓・住田正幸

・第61回日本実験動物学会総会,第48回日本実験動物学会技術者協会総会 日本動物科学技術さっぽろ2014におけるナショナルバイオリソースプロジェクト(NBRP)ポスター展示 「高品質な近交系ネッタイツメガエルを用いた生物学の研究」(2014年5月,札幌コンベンションセンター,札幌市)

<u>柏木昭彦</u>・柏木啓子・<u>花田秀樹</u>・<u>鈴木賢一</u>・<u>鈴木 厚</u>・<u>古野伸明</u>・田澤一朗・<u>倉林 敦</u>・ 中島圭介・竹林公子・小林里美・竹中純子・杉原麻美・山本 卓・住田正幸

・第85回日本動物学会仙台大会におけるナショナルバイオリソースプロジェクト(NBRP)ポスター 展示動物学ひろば「重要な実験動物―ツメガエル」(2014年9月,東北大学,仙台市)

<u>柏木昭彦</u>・柏木啓子・<u>花田秀樹・鈴木賢一</u>・鈴木<u>厚</u>・竹林公子・<u>古野伸明</u>・<u>田澤一朗・倉林</u>敦・中島圭介・小林里美・竹中純子・杉原麻美・山本 卓・住田正幸

・第37回日本分子生物学会におけるナショナルバイオリソースプロジェクト(NBRP) ポスター展示 「近交系ネッタイツメガエルを用いた生命科学」(2014年11月, パシフィコ横浜, 横浜市)

鈴木 厚・竹林公子

・広島県立教育センター主催「第18回生物教材バザール」教材の提供および解説 (2014年5月 東広島)

柏木昭彦

・第85回日本動物学会仙台大会2014シンポジウム ナショナルバイオリソースプロジェクト (NBRP)シンポジウム開催 「ネッタイツメガエル」——ツメガエルを用いた機能ゲノム科学研究— オーガナイザー 共済:NBRP広報企画ワーキンググループ (2014年9月,東北大学,仙台市) 講演者:山本 卓,荻野 肇,安岡有理,<u>鈴木賢一</u>

柏木昭彦・花田秀樹・柏木啓子・鈴木賢一・宮本 圭

・NBRP-メダカ・NBRP-ネッタイツメガエルによる合同国際トレーニングコース開催 オーガナイザーおよび講師「Experimental techniques using medaka and Xenopus—The merits of using both」(2014年9月,10月,基礎生物学研究所,岡崎市)

草場信

・広島県教育委員会広島県教育センター主催 第18回教材生物バザール参加

○高大連携の成果

〇生物科学専攻のスタッフが平成26(2014)年度に発表した論文,総説・解説,著書,学会の総数を以下に示す。

<u> </u>	
項目	平成26年度
論 文	53
総説・解説	11
著書	5
国際学会	17
国内学会	10

^{*}国際学会は、該当する全てをカウントする。

^{*}国内学会は、招待、依頼、特別講演のみをカウントする。

○学術団体等からの受賞実績

生物科学専攻の学生および教員が、平成26年度に受けた学会賞等を次にあげる。

氏 名	賞の名称	研 究 内 容	授与者	授与年月日
三島 由佳	中国四国植物 学会優秀発表 賞ポスター発 表部門	翻訳後修飾によるジベレリン信号伝 達制御の解析	中国四国植物学会会長	H26.5.10
庄田佐知子	中国四国植物 学会優秀発表 賞ポスター発 表部門	イネ培養細胞によるρ-coumaryl alcoholの分泌およびvir遺伝子誘導能 の解析	中国四国植物学会会長	H26.5.10
武藤 彰彦	日本遺伝学会 第86回大会 (2014年度) Best Papers (BP)賞	四肢発生過程における染色体高次構造形成を介した遺伝子発現調節機構	日本遺伝学会会長	H26.12.24
廣瀬健太朗	理学研究科長 表彰	学術研究活動において特に優秀な成 績を修めた。	理学研究科長	H27.3.23
池谷 淳	理学部長表彰	学業成績において特に優秀な成果を 修めた。	理学部長	H27.3.23

○国際交流の実績

国際共同研究・国際交流活動

植木龍也

- ・インドネシア・ブライジャヤ大学での講師担当:生物系の大学院学生約40名に対し2014年11月 10日に60分間の講義を行った。
- ・インドネシア・国立イスラム大学マラーン校での講師担当:生物系の学部学生約100名に対し2014年11月11日に60分間の講義を行った。

田川訓史

- 台湾中央研究院と部局間国際交流協定を締結。
- ・米国ハワイ大学と共同でヒメギボシムシの再生研究を進めている。
- ・米国ハワイ大学、米国JGI、米国カリフォルニア大学バークレー校、米国スタンフォード大学、 英国オックスフォード大学、米国ライス大学、米国ハーバード大学、米国ベイラー医科大学、 台湾中央研究院、独国ハイデルベルグ大学、加国モントリオール大学と共にギボシムシのゲノ ム解析を進めている。
- ・カリフォルニア州立大学および台湾中央研究院と共同でヒメギボシムシに寄生するカイアシ類 の研究を進めている。

坪田博美

・Estebanez博士(スペイン・マドリッド自治大学)との蘚苔類の分子系統学的研究

- ・Mohamed教授(ブルネイ・ブルネイ大学)およびYong Kien Thai博士(マレーシア・マラヤ大学)との蘚類の系統・分類学的研究
- ・Seppelt教授(オーストラリア・タスマニア博物館)およびDalton氏(オーストラリア・タスマニア大学)とのオーストラリアの蘚苔類に関する分子系統学的研究

<u>矢尾板芳郎・中島圭介</u>

・ヴァージニア大学 (米国)

研究テーマ:「ネッタイツメガエルの遺伝子変異作製について」

住田正幸

・バングラデシュ農業大学(学部間協定締結校)

研究テーマ:「バングラデシュのカエル類の種多様性と遺伝的多様性に関する研究」

• 国立台湾師範大学台湾

研究テーマ::アジアの両生類の多様性

鈴木 厚

・米国エネルギー省、カリフォルニア大学、テキサス大学ほか 研究テーマ:「アフリカツメガエルゲノムプロジェクト」

・英国ポーツマス大学,英国ガードン研究所および米国ウッズホール海洋生物学研究所 研究テーマ:「ネッタイツメガエルリソースの系統解析」

・英国ポーツマス大学および米国ウッズホール海洋生物学研究所 研究テーマ:「国際ツメガエルリソースの国際拠点形成」

倉林 敦

・ブラウンシュバイク工科大学 (ドイツ)・ビショップ博物館 (アメリカ)・南オーストラリア 博物館 (オーストラリア)

研究テーマ:ヘビからカエルへの遺伝子水平伝播

・ブラウンシュバイク工科大学(ドイツ)・コネチカット大学(アメリカ)・ノースウェスト大学(南アフリカ)

研究テーマ: フクラガエルが生殖行為に用いる糊状物質の解明

・ブラウンシュバイク工科大学(ドイツ)

研究テーマ:両生類皮膚粘液に存在する細菌類の進化と分布の解明

・ビショップ博物館

研究テーマ:パプアヒメアマガエルの種インベントリー

• 中国科学院成都生物研究所

研究テーマ:無尾類のミトコンドリアゲノムの進化

竹林公子

・英国ポーツマス大学および米国ウッズホール海洋生物学研究所 研究テーマ:「国際ツメガエルリソースの国際拠点形成」

三浦郁夫

・キャンベラ大学 (豪州) Dr. Tariq Ezaz 性決定と性染色体の進化に関する研究

- ・成都生物学研究所(中国)Dr. Xiaomao Zeng ツチガエルの進化に関する研究
- ・Leibniz-Institute of Freshwater Ecology and Inland Fisheries IGB Germany Dr. Matthias Stöck カエルの系統進化に関する研究

高橋秀治

- ・日米アフリカツメガエルゲノムコンソーシアム
- ・スウェーデン Ludwig Institute for Cancer Research Ltd (Jan M. Stenman)
- ・米国カリフォルニア州立大学 アーバイン校 (Ken Cho)

○客員研究員 • 博士研究員

平成26年度に生物科学専攻で受け入れた研究員等の人数は以下のとおり。

	平成26年度
客員研究員	0人
博士研究員	4人

○RAの実績

氏	名	所属研究室	学年	指導教員	研究プロジェクト名
中原	良成	発生生物学	D3	菊池 裕	脳下垂体前葉における内分泌細胞の特 異化に関与するHeyl, Her4の機能解析
平材	卞 諒	発生生物学	D3	菊池 裕	染色体ダイナミズムの解明
岡田	佳那子	植物生理化学	D2	高橋 陽介	新しいジベレリン信号伝達経路の解析
細羽	康介	細胞生物学	D2	濱生こずえ	細胞分裂期におけるミオシンII調節軽鎖 リン酸化キナーゼZIPKの機能解明
世良	康如	細胞生物学	D2	濱生こずえ	細胞分裂期におけるミオシンII調節軽鎖 の機能解明
大嶺	悠太	植物分子細胞 構築学	D3	鈴木 克周	生物界間高分子輸送に関する研究
田中	啓太	細胞生物学	D3	濱生こずえ	ダイナミンによる微小管制御機構の解 明

1-4-2 研究グループ別研究活動

動物科学講座

発生生物学研究室

平成26年度構成員:菊池 裕(教授), 穂積俊矢(助教), 武藤彰彦(特任助教)

○研究活動の概要

発生生物学研究室では、細胞の運命決定機構及び分化転換・リプログラミング・脱分化時に観察される細胞可塑性制御機構の解明を目標に、ゼブラフィッシュを用いた胚葉分化・尾ビレ再生や培養細胞(血管内皮細胞・脂肪細胞)を実験系として研究を行っている。細胞は外部からの様々な物理・化学・生化学的シグナルを受けることにより、その情報を細胞膜から核内へ伝え、エピゲノムや染色体構造を変化させることで遺伝子発現をコントロールし、自らの運命や可塑性を変化させている。細胞運命決定機構は、様々なモデル動物や幹細胞(ES細胞・iPS細胞)を用いて数多くの解析が行われてきた。また、細胞可塑性制御機構も多くの解析が行われてきたが、未だ詳細なメカニズムは不明な点が多いのが現状である。この様な細胞の運命決定機構・細胞可塑性制御機構のメカニズムは、ES細胞・iPS細胞からの細胞分化・臓器形成や、再生出来ない哺乳類の体内再生(in vivo再生)に応用できると考えている。

現在, 主に以下の4つのテーマを中心に研究を行っている。

1. 細胞運命決定機構の解明

脊椎動物の細胞分化過程では、全ての細胞に分化可能な幹細胞から3つの胚葉(内胚葉・中胚葉・外胚葉)に分化することが知られている。私達の研究グループでは、内胚葉分化に異常を示す4つのゼブラフィッシュ変異体やノックダウン実験により内胚葉分化機構・中内胚葉分離機構を明らかにしてきた。現在私達は、内胚葉分化における新たなシグナルの同定・解析、中内胚葉分離機構の詳細な解析を行い、新規な胚葉分化・分離機構の解明を試みている。

更に私達は、外胚葉細胞における中内胚葉性遺伝子の発現能力(コンピテンシー)に関して、分子生物学的解析を行った。その結果、コンピテンシーは原腸陥入後期に失われる事を見出した。 胞胚期・原腸陥入初期では、中内胚葉性遺伝子のプロモーター領域はH3K4トリメチル化(転写活性化)とH3K27トリメチル化(転写抑制)の2つのヒストン修飾を受けているバイバレントな状態であった。しかし、原腸陥入後期には転写抑制のヒストン修飾のみに変化するため、コンピテンシーが失われることが明らかになった。

2. 染色体ルーピング機構の解明

細胞が外部から受けた情報は、細胞膜から核内へ伝えられ、核内でのエピゲノムや染色体構造を変化させることで遺伝子発現をコントロールしている。遺伝子発現制御には、遠位に存在するエンハンサーと近位のプロモーターが立体的に近接するルーピング構造の形成が重要であることが報告されている。このルーピング構造の形成には、Cohesin、Nipped-B-like (Nipbl)、Mediator等の因子の関与が知られているが、詳細な機能は未だ不明な点が多い。私達は、ゼブラフィッシュ胚を用いて、染色体ルーピングを制御するCohesin、Nipbl、Mediatorの機能解明を目指している。nipbl或いはmed12ノックダウン胚の胸びれ形成過程において、Hox遺伝子群のエンハンサーとプロモーター間の距離の変化を、蛍光 in situハイブリダイゼーション法(Fluorescence in situ hybridization:FISH)により解析を行った。その結果、Nipbl、Med12の欠失により、エンハンサーと

プロモーター間の距離が長くなったことから、染色体ルーピング構造が異常になることが示唆された。本研究成果は、PLoS Geneticsに論文発表を行った。

3. 再生における細胞可塑性制御機構の解明

ゼブラフィッシュは、再生可能なモデル実験動物として多くの再生研究に用いられている。再生過程においては、分化細胞が前駆細胞或いは増殖可能な細胞へと変化する様な細胞可塑性を示すことが報告されているが、詳細な分子メカニズムは不明な点が多く残されている。私達は、ゼブラフィッシュの尾ビレ再生を実験系とし、細胞可塑性を制御するシグナル経路の探索実験を行ってきた。その結果、mammmalian target of rapamycin complex 1(mTORC1)のシグナル経路が、再生の早い時期(切断後6時間)に活性化され、細胞増殖・細胞分化・細胞死を制御していることを明らかにした。更に私達は、mTORC1シグナルが古典的Wntシグナル経路、Insulin-like growth factorの下流でシグナル伝達経路を統合している事を見出し、BMC Developmental Biologyに論文発表を行った。

4. 培養細胞を用いた細胞可塑性・分化機構の解明

細胞可塑性・分化機構の解明には、エピゲノム変化や染色体・核内構造変化をゲノムワイドに調べる必要があるが、個体を使った実験では核内構造・ゲノム構造を詳細に調べることは非常に困難である。そこで私達は、培養細胞を用いた実験を組み合わせることにより、細胞可塑性制御・細胞分化機構の詳細な解析を目指している。昨年に引き続き、糖尿病における高血糖が血管内皮細胞の機能障害を引き起こすメカニズム解明に関する研究を行っている。更に、本年度より細胞分化機構の詳細に明らかにするため、脂肪前駆細胞(3T3-L1細胞)から脂肪細胞へ分化をモデル実験系として分化過程の解析を開始した。

○発表論文

1. 原著論文

Shimoda, N., Izawa, T., Yoshizawa, A., Yokoi, H., Kikuchi, Y., and Hashimoto, N.(2014).

Decrease in cytosine methylation at CpG island shores and increase in DNA fragmentation during zebrafish aging.

Age 36:103-115.

⊚Takayama, K., Shimoda, N., Takanaga, S., Hozumi, S. and Kikuchi, Y.* (2014).

(* corresponding author).

Expression patterns of *dnmt3aa*, *dnmt3ab*, and *dnmt4* during development and fin regeneration in zebrafish.

Gene Expression Patterns 14: 105-110.

Muto, A., Ikeda, S., Lopez-Burks, M.E., <u>Kikuchi, Y.*</u>, Calof, A.L.*, Lander, A.D.*, Schilling, T.F.* (2014).

(*: These authors contributed equally)

Nipbl and mediator cooperatively regulate gene expression to control limb development. *PLoS Genetics*, 10(9): e1004671.

©Hirose, K., Shiomi, T., <u>Hozumi, S.</u>, <u>Kikuchi, Y.*</u> (2014). (* corresponding author). Mechanistic target of rapamycin complex 1 signaling regulates cell proliferation, cell survival, and differentiation in regenerating zebrafish fins.

BMC Developmental Biology, 14(1): 42.

Shimoda N, Hirose K, Kaneto R, Izawa T, Yokoi H, Hashimoto N, <u>Kikuchi, Y.</u> (2014). No Evidence for AID/MBD4-Coupled DNA Demethylation in Zebrafish Embryos. *PLoS One* 9(12): e114816.

総説・解説
 なし

○特許

なし

○講演

- 1. 国際会議での招待・依頼・特別講演なし
- 2. 国際会議での一般講演なし
- 3. 国内学会での招待・依頼・特別講演
- ◎穂積俊矢, 宮本良祐, 粂昭苑, 菊池裕

遺伝子発現制御解析による細胞可塑性コントロール機構の解明 第87回日本生化学会,京都府(国立京都国際会館),10月16日,(招待講演) シンポジウム 細胞可塑性:膵内分泌細胞の可塑性を制御するシグナルネットワーク オーガナイザー <u>菊池裕</u>,粂昭苑

◎武藤彰彦, 池田晋悟, Lopez-Burks Martha, <u>菊池裕</u>, Calof Anne, Lander Arthur, Schilling Thomas (招待講演)

四肢発生過程における染色体高次構造形成を介した遺伝子発現調節機構第37回日本分子生物学会年会、横浜市(パシフィコ横浜)、11月27日ワークショップ クロマチン・染色体・細胞核のダイナミクスオーガナイザー 菊池裕、佐渡敬

- 4. 国内学会での一般講演
- ◎髙山和也,下田修義,高永俊祐,穂積俊矢,菊池裕

ゼブラフィッシュの発生・再生過程におけるマウス*dnmt3*相同遺伝子の発現・機能解析 第66回日本動物学会中国四国支部大会,岡山県岡山市(岡山理科大),5月11日,(ロ頭発表) 下田修義,廣瀬健太朗,井澤俊明,横井勇人,橋本有弘,菊池裕

ゼブラフィッシュ胚でAIDとMBD4がカップルした脱メチル化は起こるのか? 第8回日本エピジェネティクス研究会年会,東京大学伊藤国際学術研究センター,5月27日(ポスター発表)

◎廣瀬健太朗,塩見太志,<u>穂積俊矢</u>,<u>菊池裕</u> ターゲットオブラパマイシン複合体1(TORCI)は,ゼブラフィッシュ尾ビレ再生を制御する 第85回日本動物学会大会, 宮城県仙台市 (東北大学), 9月11日, (口頭発表)

下田修義, 廣瀬健太朗, 井澤俊明, 横井勇人, 橋本有弘, 菊池裕

AIDとMBD4による脱メチル化はゼブラフィッシュ胚で起こるのか?

第86回日本遺伝学会、滋賀県長浜市(長浜バイオ大学)、9月17~19日、(口頭発表)

◎穂積俊矢, 宮本良祐, 粂昭苑, 菊池裕

bHLH型転写因子による神経細胞での内胚葉・中胚葉性遺伝子発現誘導機構の解明 第86回日本遺伝学会、滋賀県長浜市(長浜バイオ大学),9月17~19日,(口頭発表)

〇中原良成, 武藤彰彦, 粂昭苑, 佐久間哲史, 山本卓, 菊池裕

ゼブラフィッシュHer4, Hey1は、Notchシグナルの下流因子として体節形成期後期で発現し脳下垂体形成を制御している

第86回日本遺伝学会,滋賀県長浜市(長浜バイオ大学),9月17~19日,(口頭発表)

◎塩見太志, 武藤彰彦, 木村 宏, 菊池裕

初期発生過程における細胞運命決定の可塑性制御機構の解明 第86回日本遺伝学会,滋賀県長浜市(長浜バイオ大学),9月17~19日,(口頭発表)

◎髙山和也,下田修義, 高永俊祐, <u>穂積俊矢</u>, <u>菊池裕</u>

ゼブラフィッシュの発生・再生過程におけるマウス*dnmt3*相同遺伝子の発現・機能解析 第86回日本遺伝学会,滋賀県長浜市(長浜バイオ大学),9月17~19日,(口頭発表)

②<u>武藤彰彦</u>, 池田晋悟, Lopez-Burks Martha, <u>菊池裕</u>, Calof Anne, Lander Arthur, Schilling Thomas

四肢発生過程における染色体高次構造形成を介した遺伝子発現調節機構 第86回日本遺伝学会,滋賀県長浜市(長浜バイオ大学),9月17~19日,(口頭発表)

◎廣瀬健太朗,塩見太志,穂積俊矢,菊池裕(ポスター発表)

Mechanistic target of rapamycin complex 1 (mTORC1)はゼブラフィッシュ尾ビレ再生に必要である

第37回日本分子生物学会年会,横浜市(パシフィコ横浜),11月27日

○各種研究員と外国人留学生の受入状況

なし

○研究助成金の受入状況

- 1. 科学研究費補助金 基盤研究(C) 代表者 菊池裕
- 2. 科学研究費補助金 若手(B) 代表者 穂積俊矢
- 3. 科学研究費補助金 特別研究員奨励費 代表者 廣瀬健太朗
- 4. 日本臟器製薬 共同研究 代表者 菊池裕
- 5. 花王健康科学研究会研究助成 代表者 菊池裕

○学界ならびに社会での活動

1. 学協会役員・委員

菊池裕

NBRPゼブラフィッシュ 運営委員

2. 学会誌編集委員等

なし

- 3. 産学官連携実績なし
- 4. セミナー・講義・講演会講師等

菊池 裕

- (1) 慶應義塾大学医学部 基礎分子細胞生物学II 「内胚葉細胞の分化誘導」 大学2年生の授業 (2014年5月12日)
- (2) 広島大学北京入試説明会への参加(2014年5月17日)
- (3) 第2回広島県科学セミナー 広島大学理学研究科 (2014年7月19日)
- (4) 第3回広島県科学セミナー 指導助言及び講評者 広島サンプラザ (2014年11月23日)
- (5) 第4回広島県科学セミナー 指導助言及び講評者 広島市立大学(2015年1月31日)
- その他
 なし

○特記事項

- 1. 本研究室の武藤彰彦が、日本遺伝学会のBest Papers賞を受賞。
- 2. 本研究室D2の廣瀬健太朗が、平成26年度理学研究科長表彰を受賞した。 (授賞式: 2015年3月23日)
- 3. 本研究室M2の髙山和也が、学術振興会特別研究員DC1に採用された。
- 4. 本研究室D2の廣瀬健太朗とD3の平林諒が、博士の学位を取得。

細胞生物学研究室

平成26年度構成員:細谷浩史(教授,平成26年6月9日辞職),濱生こずえ(准教授),木根原匡希 (特任助教,平成26年10月1日医歯薬総合研究科へ異動)

○研究活動の概要

細胞生物学研究室では、高等動物培養細胞や原生動物を実験に使用し、動物細胞の増殖・分化・ 共生のメカニズム解明に関する研究を行なっている。研究の柱は、以下の3点である。

1. 細胞質分裂時におけるリン酸化ミオシンⅡの役割

動物細胞の細胞質分裂は,アクチン繊維とミオシンIIから構成される収縮環が収縮することにより引き起こされると考えられている。ミオシンIIは,その構成成分であるミオシンII調節軽鎖 (MRLC)がリン酸化されることにより,活性が上昇することが*in vitro*で明らかにされている。しかし,細胞質分裂時にMRLCのリン酸化を行うキナーゼは不明なままであった。

当研究室では、高いMRLCリン酸化活性を持つZIPキナーゼに着目して細胞質分裂の解析を行った。ZPキナーゼを発現抑制すると、細胞質分裂の進行が遅れることを見出した。これは、MRLCの非リン酸化型変異体(AA-MRLC)を発現させた時の細胞質分裂と同様の結果であった。ZIPキナーゼの発現抑制は、細胞質分裂時の収縮環のリン酸化MRLCを減少させたこと、擬似リン酸化型MRLC(DD-MRLC)の発現がZIPキナーゼの発現抑制による細胞質分裂の遅延を回復させたことから、ZIPキナーゼがMRLCのリン酸化を介して細胞質分裂時の収縮環収縮の速度を制御していることが示唆された。

2. ダイナミンと微小管の相互作用メカニズムの解明

微小管は、細胞分裂を制御している代表的な細胞骨格である。細胞分裂時に微小管を制御する 微小管結合タンパク質は多数報告されているが、細胞質分裂時の微小管の制御メカニズムは不明 のままである。我々は、微小管結合蛋白質として発見され、細胞質分裂時の中央微小管に局在す るタンパク質、ダイナミンに注目した。現在、ダイナミンを発現抑制させたときの紡錘体、およ び中心体への影響を解析している。

3. ミドリゾウリムシと共生藻の共生メカニズムの解明

ミドリゾウリムシ体内には、数百個の共生藻が共生している。ミドリゾウリムシと共生藻の共生メカニズムを解明することを目的として、「ミドリゾウリムシ体内の共生藻数の制御機構」について検討を行った。ミドリゾウリムシの体のサイズが大きくなる程、保有する共生藻の数が増加した。また、分裂直後から次の分裂までの間に、ミドリゾウリムシの体のサイズは大きくなり、それに伴いミドリゾウリムシが保有する共生藻の数も増加していることが明らかとなった。このことから、ミドリゾウリムシの共生藻数は、ミドリゾウリムシの体の大きさに依存していることが示唆された。一方で、培養液の餌の量を増加させると、ミドリゾウリムシの体のサイズが同じであっても体内の共生藻数が増加したことから、共生藻数はミドリゾウリムシの栄養状態に依存していることも明らかとなった。

○発表論文

- 1. 原著論文(◎印は,著者として複数の本学教員参加の論文) なし
- 2. 総説 解説

なし

○著書・その他

なし

○取得特許

なし

○講演

- 1. 国際会議での招待・依頼・特別講演なし
- 2. 国際会議での一般講演なし
- 3. 国内学会での招待・依頼・特別講演 シンポジウム等オーガナイザー なし

シンポジウム・招待講演なし

- 4. 国内学会での一般講演
- ◎細羽康介,鎌田祐司,木根原匡希,立花太郎,細谷浩史
 1P-52 細胞分裂期における微小管とミオシンⅡ調節軽鎖の相互作用第66回日本細胞生物学会大会(奈良県新公会堂,東大寺総合文化センター)期間:2014年6月11日(水)-13日(金)(発表日:6月12日)
- ◎世良康如,田中啓太,木根原匡希,濱生こずえ,細谷浩史
 2P-21 動物培養細胞における微小管結合タンパク質Dynamin-2の機能解析第66回日本細胞生物学会大会(奈良県新公会堂,東大寺総合文化センター)期間:2014年6月11日(水)-13日(金)(発表日:6月12日)
- ◎政綱宜規, 木根原匡希, 濱生こずえ

HeLa細胞におけるミオシンII調節軽鎖スプライシングバリアントの特徴第37回日本分子生物学会大会(パシフィコ横浜),

期間:2014年11月25日(火)-27日(木)(発表日:11月26日)

◎細羽康介,松下将也,木根原匡希,肖文沁,立花太郎,<u>濱生こずえ</u> ミオシンII調節軽鎖リン酸化キナーゼであるZIPキナーゼの 細胞分裂時における機能解析 第37回日本分子生物学会大会 (パシフィコ横浜),

期間:2014年11月25日(火)-27日(木)(発表日:11月27日)

◎政綱宜規,木根原匡希,濱生こずえ

高等動物培養細胞におけるミオシンII調節軽鎖1スプライシングバリアントの機能解析 日本動物学会中国四国支部広島県例会(2015年3月3日,東広島市)

松下将也,濱生こずえ

細胞質分裂時における Zipper-interacting protein kinase の活性制御機構の解析

日本動物学会中国四国支部広島県例会(2015年3月3日,東広島市)

◎吉田由架,木根原匡希,濱生こずえ

細胞質分裂での二重リン酸化ミオシンⅡ調節軽鎖の局在に関する研究 日本動物学会中国四国支部広島県例会(2015年3月3日,東広島市)

○各種研究員と外国人留学生の受入状況

【外国人留学生】

なし

○研究助成金の受入状況

なし

○学界ならびに社会での活動

1. 学協会役員・委員

細谷浩史

- · 日本原生動物学会評議員
- ・日本原生動物学会ACP国際委員
- · 日本原生動物学会学会活性化委員会委員
- · 日本細胞生物学会評議員
- ・国際生物学オリンピック日本委員会(JBO)運営委員・第二部会主査

濱生こずえ

・第9回細胞運動研究会(2014年9月3日)世話人代表

木根原匡希

- ・第9回細胞運動研究会(2014年9月3日)世話人
- 2. 学会誌編集委員等

細谷浩史

- · 日本原生動物学会編集委員会委員
- The Editorial Board Member of the Open Gene Therapy Journal. Bentham Science Publishers
- 3. 社会での活動

○産学官連携実績

細谷浩史

・広島県教育委員会広島県教育センター主催 第18回 (2014) 教材生物バザール参加

○セミナー・講義・講演会講師等

◎細羽康介,木根原匡希,濱生こず之,細谷浩史

「ミオシンII調節軽鎖リン酸化キナーゼであるZIPキナーゼの細胞分裂時における機能解析」 第9回細胞運動研究会(広島大学),2014年9月3日(水)

情報生理学研究室

平成26年度構成員:小原政信(教授),植木龍也(准教授),森下文浩(助教)

○研究活動の概要

情報生理学研究室では脊椎動物や海産無脊椎動物など、幅広いモデル系を用いて生理機能の調節機構の解明を目指して研究を行っている。特に、両生類のサイトグロビンや脊索動物ホヤ類のバナビンなどの金属タンパク質や、軟体動物腹足類の神経ペプチドの前駆体の翻訳後修飾に係わる酵素群等を中心に、これらが、動物細胞における酸素の運搬や貯蔵、酸化還元、電子伝達、膜電位の保持、薬物代謝、神経伝達、癌転移等においてどのような役割を担うかを分子レベルで解析してきた。今後も先端の分子遺伝学的手法を取り入れながら、個々のタンパク質の生理機能解明を目指して研究を継続する。

最近になって発見されたサイトグロビンCygbは、ニューログロビンと共に細胞質グロビンに属する低酸素応答性へムタンパク質である。その生理機能は不明な点が多い。我々はこれまで、Cygbの生理機能を解明するためにCygb遺伝子導入アフリカツメカエルを作製し、これらのCygb高発現胚では、頭部欠損幼生を高頻度に発生することを見いだした。この奇形は幼生致死であり、ヒト無脳症の場合と同じく、胚発生初期の神経管閉鎖不全が原因であることを明らかにしてきた。本年度は、Cygb paralog遺伝子の構造解析や、カエル培養細胞を用いたRNAiによるCygbタンパク質の機能解析、ゲノム編集技術によるCygb遺伝子ノックダウン胚の解析等によりCygbの生理機能の解明を進め、Cygbと酸素の関係について大変興味ある知見を得た。さらに、2012年秋から、東京大学物性研究所と共同で、Cygbの構造生物学的解析も継続して実施した。今年度は解析材料の調製に重点を於いたが、未解決の問題も多い。また、数理分子生命理学研究科の山本卓教授のグループとの共同研究でCytg遺伝子のゲノム編集を実施し、その結果を解析した。今後ともCygbタンパク質の構造と機能の相関関係や、Cygbという新規酸素結合タンパク質の生理機能の解明を目指したい。

一方、ホヤによるバナジウムの濃縮という特異な生理現象は、金属イオンの選択的濃縮機構を解明する上で格好のモデルであり、長年にわたって化学と生物学の学際的問題として強い関心を引き付けてきた。我々はこの生理現象を、選択的濃縮機構、バナジウムの還元機構、濃縮のエネルギー機構の3つに分けて、それぞれに関与するタンパク質や遺伝子の探索とその機能解析を精力的に行い、世界をリードしてきた。平成25年3月に主たる研究拠点を向島臨海実験所に移動し、さらなる研究の推進を図っている。特に我々が発見した新規バナジウム結合タンパク質 Vanabinはバナジウムを濃縮するホヤのみが持つユニークなタンパク質ファミリーであり、濃縮機構のカギを握ると考えている。最近の研究でVanabinが、NADPHの還元力を起点としグルタチオン系およびチオレドキシン系と共役してバナジウムを還元する還元酵素活性を持つことを明らかにした。昨年度から新たに人工ヌクレアーゼやRNAiを用いたVanabin遺伝子の機能破壊系の開発、ホヤの腸内共生細菌によるバナジウムの濃縮還元の研究を開始した。また新たに生物規範工学分野の研究として、東広島地区および霞地区の共同利用設備を活用し、ホヤの接着機構および付着防止機構に関連する被嚢の微細構造観察と接着物質の同定を進めている。

また、われわれは軟体動物腹足類を主な研究対象とし、中枢神経系から多くの生理活性ペプチドを同定してその構造と機能の解析を進めている。一般に神経ペプチドは、より大型の前駆体タンパク質の一部としてリボソームで合成されたあと、翻訳後修飾によって活性型のペプチドとなる。そのため、神経ペプチドは一般の蛋白質と同様、L型アミノ酸で構成されている。しかし一部の神経ペプチドは翻訳後修飾の過程で特定のアミノ酸残基がD型に変換されることが知られてい

る。アミノ酸の一部がD型化することでそのペプチドは特徴的な立体構造をもつことが多く、そのことが受容体との特異的結合やペプチダーゼ分解に対する耐性の獲得に重要であることがわかっている。実際、われわれも1997年に後鰓類のアメフラシから心拍動増強作用をもつ神経ペプチド、NdWFamideを同定し、その生理作用・立体構造解析・局在・前駆体クローニングなどを明らかにしてきた。D型アミノ酸含有ペプチドは、軟体動物では頭足類、腹足類、二枚貝類から見つかっているが、腹足類のなかでも前鰓類からは見つかっていない。しかし、前鰓類のイボニシを用いた神経ペプチド前駆体クローニングの過程で、有肺類のアフリカマイマイから見つかっているD型アスパラギン酸含有神経ペプチド、フリシン、と類似したペプチドをコードする前駆体をクローニングした。フリシン前駆体には、フリシン関連ペプチドが10個以上コードされているが、イボニシでは5個しか見つからず、前駆体の構造が大きく異なることがわかった。一方で、イボニシのフリシン様ペプチドの1つは、アフリカマイマイのフリシンと全く同じアミノ酸配列であった。D型、またはL型のアスパラギン酸をもつ合成フリシンを用いて、イボニシ食道に対する作用を調べたが、いずれも顕著な作用は認められなかった。現在、他の組織・器官に対する作用や、イボニシ組織中のフリシンがD型アミノ酸をもつかどうかについて解析を進めている。

○発表論文

- 1. 原著論文
- ○Nakade S, Tsubota T, Sakane Y, Kume S, <u>Sakamoto N</u>, <u>Obara M</u>, Daimon T, Sezutsu H, <u>Yamamoto T</u>, <u>Sakuma T</u>, <u>Suzuki KT</u>. Microhomology-mediated end-joining-dependent integration of donor DNA in cells and animals using TALENs and CRISPR/Cas9. Nat Commun 5: 5560. (2014)
 - Yamamoto S, Matsuo K, Michibata H, <u>Ueki T</u>. Role of cysteine residues in the V(V)-reductase activity of Vanabin2. Inorganica Chimica Acta, 420, 47-52 (2014).
 - <u>Ueki T</u>, Uwagaki M, Yamamoto S, Michibata H. Participation of thioredoxin in the V(V)-reduction reaction by Vanabin2. Biochim Biophys Acta, 1840, 3238-3245 (2014)
 - Morishita F, Furukawa Y, Kodani Y, Minakata H, Horiguchi T, Matsushima O. Molecular cloning of precursors for TEP-1 and TEP-2: The GGNG peptide-related peptides of a prosobranch gastropod, *Thais clavigera*. Peptides, in press (2014)
- 2. 総説・解説
 - <u>T. Ueki</u>, N. Yamaguchi, Y. Isago, H. Tanahashi, Vanadium accumulation in ascidians: A system overview, Coord. Chem. Rev., in press (2015).
 - <u>植木龍也</u>,山口信雄 「海水からの1,000万倍濃縮-ホヤの金属代謝」実験医学32巻15号(増刊号「代謝研究の最前線」) 123-127 (2014)

○著書

該当無し

○講演

- 1. 国際会議での招待・依頼・特別講演
 - <u>Ueki T</u>, Yamaguchi N, Romaidi, Isago Y, Tanahashi H. Vanadium Accumulation in Ascidians: An Overview as a System. 第9回国際バナジウム化学・生物学シンポジウム(イタリア)2014.6.30. <u>Ueki T</u>. Biotechnology and biomimetics: lessons from marine animals. 第5回グリーンテクノロジー

国際学会 (インドネシア) 2014.11.7.

- 2. 国際会議での一般講演
 - Nagorny S, Ferrante M, Laubenstein M, Nisi S, <u>Ueki T</u>. Characterization of biological origin Vanadium for nuclear physics applications. 第9回国際バナジウム化学・生物学シンポジウム(イタリア) 2014.6.30.
- 3. 国内学会での招待・依頼・特別講演 該当なし
- 4. 国内学会での一般講演
 - 園田絢子,中出翔太,小原政信.カエル胚発生における新規グロビンタンパク質Androglobinの遺伝子発現に関する研究,第37回日本分子生物学会(2014年11月25日~27日,横浜パシフィコ)
- ○中出翔太,坂根祐人,<u>佐久間哲史</u>,<u>小原政信</u>,<u>鈴木賢一</u>,<u>山本卓</u>.ゲノム編集によるMMEJを利用した汎用的な遺伝子ノックイン法の確立,第37回日本分子生物学会(2014年11月25日~27日,横浜パシフィコ)
- ◎<u>植木龍也</u>,棚橋寿至,山口信雄,<u>田川訓史</u>.カタユウレイボヤ被嚢タンパク質の抽出とMS解析. 中国四国地区生物系三学会合同大会岡山大会(2014年5月16日-17日)
 - 植木龍也,藤江学,佐藤矩行.ナツメボヤ腸内細菌叢のメタゲノム解析.第16回マリンバイオテクノロジー学会大会(2014年5月31日~6月1日,三重大学)
 - Romaidi, <u>植木龍也</u>. Vanadium resistant bacteria isolated from the intestine of *Ascidia sydneiensis samea* and their ability to accumulate vanadium ions. 第16回マリンバイオテクノロジー学会大会(2014年5月31日~6月1日,三重大学)
 - 山口信雄,小池香苗,福場郁子,前田 誠,<u>植木龍也</u>.ホヤ被嚢接着部の解析.日本動物学会第 85回仙台大会(2014年9月11日-13日,仙台市)
- ○砂後義明, <u>佐久間哲史</u>, 白江麻貴, <u>山本</u>卓, <u>植木龍也</u>. TALENを用いたカタユウレイボヤVanabin の機能解析. 日本動物学会第85回仙台大会(2014年9月11日-13日, 仙台市)
 - 棚橋寿至,<u>植木龍也</u>.ホヤ腸内細菌からのバナジウム結合タンパク質の単離.日本動物学会第85回仙台大会(2014年9月11日-13日,仙台市)
- ◎彦坂智恵,山口信雄,<u>田川訓史</u>,<u>植木龍也</u>,彦坂 暁. 無腸類*P. naikaiensis*の飼育システム. 日本動物学会第85回仙台大会(2014年9月11日-13日,仙台市)
 - <u>植木龍也</u>. ナツメボヤ腸内細菌叢のメタゲノム解析. 日本動物学会中国四国支部広島県例会 (2015年3月3日, 東広島市)
 - <u>森下文浩</u>. 軟体動物腹足類アメフラシの新奇GGNGペプチド同族体. 日本動物学会中国四国支部広島県例会(2015年3月3日, 東広島市)
 - Romaidi, <u>植木龍也</u>. Bioaccumulation of vanadium and other heavy metals by vanadium-resistant bacteria isolated from the intestine of *Ascidia sydneiensis samea*. 日本動物学会中国四国支部広島 県例会(2015年3月3日,東広島市)
- ◎有藤拓也,益田恵子,浮穴和義,<u>森下文浩</u>,<u>小原政信</u> 軟体動物腹足類の神経ペプチド, GKWamide/FXXFamideの前駆体cDNAクローニングとその発現解析 中国四国地区生物系三 学会合同大会岡山大会(2014年5月17日-18日)

○各種研究員と外国人留学生の受入状況

該当無し

○研究助成金の受入状況

科学研究費補助金

- ・基盤研究(C) 「バナジウム濃縮関連遺伝子の機能破壊とバナジウム放出経路の研究」 代表者 植木龍也 1,300千円 (4,000千円/3年間)
- ・新学術領域「生物規範工学」公募研究 「ホヤ類の被嚢の微細構造および化学的性質を規範とする新規接着・防汚染物質の開発研究」 代表者 <u>植木龍也</u> 2,700千円(5,200千円/2年間)
- ・基盤研究(S) 「分子地球科学:原子レベルの状態分析に基づく地球と生命の進化史の精密解析」 代表者 <u>高橋嘉夫</u>,分担者 <u>植木龍也</u> 20千円(60,000千円/5年間)
- ・基盤研究(B) 「軟体動物前鰓類におけるレチノイン酸受容体(RXR)の性状および生理機能解析」 代表者 堀口敏宏, 分担者 森下文浩 250千円 (17,940千円/3年間)

寄附金

○学界ならびに社会での活動

1. 学協会役員・委員

小原政信

· A Member of Review Board in the Journal of Pediatric Biochemistry

植木龍也

- ・日本動物学会本部広報委員(2012-2016)
- ・日本動物学会中国四国支部代表委員(2015-2016)

森下文浩

- 日本動物学会中国四国支部会計幹事
- ・日本比較生理生化学会 評議員(2015-2016)
- ·独立行政法人国立環境研究所 客員研究員
- 2. セミナー・講演会開催実績

植木龍也

- ・2014中四国動物生理シンポジウム,2014年11月15日~16日,みはらし温泉研修施設(広島県三原市),参加者26名,主催
- 3. 産学官連携実績 該当無し
- 4. セミナー・講義・講演会講師等

植木龍也

- ・インドネシア・ブライジャヤ大学での講師担当:生物系の大学院学生約40名に対し2014年11月 10日に60分間の講義を行った。
- ・インドネシア・国立イスラム大学マラーン校での講師担当:生物系の学部学生約100名に対し2014年11月11日に60分間の講義を行った。

- ・広島大学理学研究科サイエンスカフェ「ホヤの不思議」講師, しまなみ交流館(尾道市), 2014年12月7日一般市民36名参加。
- ・<u>植木龍也</u>. ホヤによるバナジウム濃縮と還元. 海洋研究開発機構 (横須賀市), 2015年1月6日. セミナー講師, 研究者および大学院生等約25名参加。

7. その他

小原政信

- 理学研究科附属臨海実験所所長
- ・広島大会2015 日本生物学オリンピック運営委員会・委員

植木龍也

- ・兵庫県立龍野高等学校 スーパーサイエンスハイスクール運営指導委員会 運営指導委員
- ・島根大学生物資源科学部付属生物資源教育研究センター海洋生物科学部門隠岐臨海実験所 共 同利用運営委員会 委員

植物生物学講座

植物分類・生態学研究室

平成26年度構成員:山口富美夫(教授),嶋村正樹(准教授),片桐知之(特任助教)

○研究活動の概要

本研究室は、旧広島文理科大学時代(1929年に研究室創設)から一貫して隠花植物〔藻類、菌類、地衣類、コケ(蘚苔)植物、シダ植物〕の分類学的研究と植物群落の生態学的研究を行ってきた。現在、この豊富な研究資産を受け継ぎ、それを基礎として、新しい手法を用い、生物多様性研究領域の拡大・発展をめざして活動を展開している。本研究室では、これらの研究を裏づける標本資料の保存と管理を生物科学専攻の植物標本庫(収蔵標本数約40万点;国際標準標本庫略号HIRO)のもとで行い、標本の国内外研究機関・研究者への貸与を行っている。その結果、コケ植物、地衣類に関して、その収蔵数は、現在、国内大学第一位である。

平成26年度の植物分類・生態学研究室の研究活動の概要は以下のとおりである。

(1) 蘚苔類の系統・分類学的研究

尾瀬ヶ原産の植物体をもとに記載されたタイ類2種(Chiloscyphus mororanus, Chiloscyphus submersus)に関して系統・分類学的な観点から再検討を加え、その分類学的所属を明らかにした。台湾産タイ類(Wettsteinia rotundifolia)の植物体内部構造の形態観察を行い、Wettsteinia属の分類に関して新たな知見を得た。インド産ムクムクゴケ属2種(Trichocolea indica, Trichocolea tenera)に関して分類学的再検討を行った。タイ類種Plagiochasma appendiculatumに関して国内(徳島県)で初めて生育を確認した。タイ類科Phyllothalliaceaeの学名に関して、国際藻類・菌類・植物命名規約に従った正式発表の処理を行った。Urbian Faurie氏の採集したサハリン(樺太)産タイ類標本に関して英文で紹介することにより既存の情報を補った。東アジアのツボミゴケ科タイ類に関して、系統・分類学的研究を行った。至仏山の蘚苔類相を明らかにする過程で日本新産となるタイ類種Heteroscyphus inflatusの生育を確認し、報告した。

(2) 蘚苔類フロラおよび生態に関する研究

尾瀬ヶ原と周辺地域の蘚苔類フロラについて現地調査を行い、日本国内から60年ぶりにヤチゼニゴケの生育を確認した。広島県RDBと沖縄県RDBに関連する現地調査を行い、絶滅危惧蘚苔類の生育状況を確認した。ウラジオストク植物園(ロシア)の研究者が理学研究科を訪問し、蘚苔類の多様性解明に関する共同研究の研究打ち合わせを行った。パリ自然史植物園(フランス)の研究者が理学研究科を訪問し、蘚苔類の多様性解明に関する共同研究の研究打ち合わせを行った。極東ロシアにおいて、ウラジオストク植物園の研究者と共に蘚苔類の解明に関する調査研究を行った。

(3) 形態学的·発生学的研究

ナンジャモンジャゴケの根茎の発生,発達過程を走査型電子顕微鏡,透過型電子顕微鏡, FIB-SEMを用いて観察し、粘液毛頂端部の粘液分泌孔が植物体内部への菌類の侵入経路となっていることを明らかにした。また、侵入した菌糸が粘液毛内部で維管束植物の菌根で知られるハルティヒネット様の構造を形成することを明らかにした。

ナンジャモンジャゴケ,コマチゴケ,イシヅチゴケなど系統的にコケ植物の基部に位置する種 について胞子壁の構造について観察し、原著論文としてまとめた。

(4) 植物標本庫(HIRO)の整備

交換・寄贈標本として、Bryophytes of Asia, fasc. 21を国内外の45研究機関に配布した。これらを含めた収蔵標本の整理と体系的管理に向けたデータベース構築を行った。また、研究用蘚苔類標本として、国外研究機関に6件、国内研究機関に3件を貸し出し、国外研究機関に6件を贈与した。新たに1769件の標本データをデータベースに入力した。また、約7000点の尼川コレクションの標本データの整理を行い、標本袋の入替作業に着手した。

〇発表論文

1. 原著論文

- <u>Katagiri, T.</u> (2014). On the identity of the poorly known Japanese liverworts Chiloscyphus mororanus Steph. and C. submersus Warnst. (Jungermanniopsida, Marchantiophyta). Acta Phytotax. Geobot. 65: 153–156.
- <u>Katagiri, T.</u> (2014). Taxonomic notes on Wettsteinia rotundifolia with special reference to its stem. Bryostring 2: 25–28.
- <u>Kagagiri, T.</u>(2014). Studies on type material of Trichocolea indica and T. tenera (Trichocoleaceae, Marchantiophyta) from India. Hikobia 16: 427-432.
- <u>Katagiri, T.</u> & Mizutani M. (2014). Plagiochasma appendiculatum Lehm. & Lindenb., a species new to Japan. Hattoria 5: 95-100.
- <u>Katagiri, T.</u>, Söderström L., Hagborg A. & Von Konrat M. (2014). Notes on Early Land Plants Today. 63. Validation of the family Phyllothalliaceae (Pallaviciniales, Jungermanniopsida, Marchantiophyta). Phytotaxa 183: 298.
- Bakalin, V. & <u>Katagiri T.</u> (2014). The historical collection of liverworts from Sakhalin by Urbian Faurie (1846–1915) in herbarium of Kyoto. Arctoa 23: 29–32.
- Bakalin, V., Vilnet A., Furuki T. & <u>Katagiri T.</u> (2014). Taxonomic novelties in Solenostoma–Plectocolea complex (Solenostomatceae, Hepaticae) in East Asia. Botanica Pacifica 3: 3–18.
- ◎坂本雄司・井上侑哉・<u>片桐知之</u>・<u>嶋村正樹</u>・<u>山口富美夫</u>. (2014). 蛇紋岩地で発見された日本新産のHeteroscyphus inflatus (Steph.) S.C.Srivast. & A.Srivast. について. 蘚苔類研究 11: 31–36.
 - Brown, R.C. Lemmon, B.E. Shimamura, M. Villarreal, J.C. & Renzaglia K.S. (2015). Spores of relictual bryophytes: Diverse adaptations to life on land. Rev. Palaeobot. Palynol. 216: 1-17.
 - 嶋村正樹(2014). ゼニゴケ雌器托の貫生花様の奇形. Hikobia 16: 499-500.

2. 総説 • 解説

3. 著書

- Shimamura, M. (2014). Monoplastidic cells in lower land plants. pp. 56-57.*In* Noguchi, T. et al. (eds) Atlas of Plant Cell Structure. Springer. 202 pp.
- Shimamura, M. & Mineyuki, Y. (2014). Microtubule organizing centers in bryophytes. pp. 116-117. *In* Noguchi, T. et al. (eds) Atlas of Plant Cell Structure. Springer. 202 pp.
- Shimamura, M. (2015) Whole Mount Immunofluorescence Staining of Plant Cells and Tissues. *In* Yeung, E.C.T., Stasolla, C., Sumner, M.J., Huang, B.Q. (Eds.). Plant Microtechniques and Protocols. Springer.

918 pp.

- 絶滅のおそれのある野生生物の選定・評価検討会植物Ⅱ分科会 蘚苔類(樋口正信, 有川智己, 長谷川次郎, 古木達郎, 山口富美夫). 2015. 蘚苔類, pp. 1-253. In 環境省(編) 日本の絶滅のおそれのある野生生物 植物Ⅱ. xxii + 580 pp. ぎょうせい, 東京.
- <u>山口富美夫</u>. 2015. コケ植物, pp. 426-428. In 沖縄県教育庁文化財課資料編集班(編) 沖縄県 史 各論編 第1巻 自然環境. 782 pp. 沖縄県教育委員会, 沖縄県.

○講演

- 1. 国際会議での招待・依頼・特別講演
 - Shimamura, M. (2014)."Mystery of Marchantia fertilization". Marchantia workshop 2014.(12月8日 神戸)
- 2. 国際会議での一般講演 該当無し
- 3. 国内学会での招待・依頼・特別講演 該当無し
- 4. 国内学会での一般講演
- ◎坂本雄司・<u>片桐知之</u>・<u>嶋村正樹</u>・<u>山口富美夫</u> (2014) 至仏山の蘚苔類フロラ. 第71回中国四国植物学会(5月10日 岡山)
 - <u>片桐知之</u> (2014) 東南アジア産ムクムクゴケ属 (Trichocolea). 日本蘚苔類学会第43回大会 (8月 27日 青森).
 - <u>片桐知之</u> (2014) 久慈産琥珀から発見されたコケ植物の新種 (Muscites kujiensis,クンノコゴケ). 日本蘚苔類学会第43回大会 (8月27日 青森).
- ②金 元熙・<u>出口博則・山口富美夫・坪田博美(2014)</u> ウツクシツヤシメリゴケSchofiedliella micans の日本新産地と分子系統分析結果. 日本蘚苔類学会第43回大会 (8月27日 青森).
 - Jose David Orgaz & Juan Guerra (2014) The genus Oxyrrhynchium (Schimp.)Warnst. in the Iberian Peninsula.日本蘚苔類学会第43回大会 (8月27日 青森).
 - <u>嶋村正樹</u> (2014). Andreaea rupestris Hedw. var. rupestris (タカネクロゴケ, 新称) 日本にも産す. 日本蘚苔類学会第43回大会 (8月27日 青森)
 - 村上真祈・久我ゆかり・<u>嶋村正樹</u> (2014) セン類ナンジャモンジャゴケの粘液毛からの共生菌の侵入.日本植物形態学会第26回大会(9月11日 神奈川)
 - 赤司一・<u>嶋村正樹(2014)</u>. コケ植物の造卵器成熟過程と開口部からの排出物への精子誘引について. 日本植物学会第78回大会(9月14日 神奈川)
 - <u>片桐知之</u>・水谷正美 (2015). コケ植物タイ類Plagiochasma appendiculatumは日本にも分布する. 日本植物分類学会第14回大会 (3月6日 福島).
- ◎<u>小栗恵美子</u>・正田いずみ・坂本雄司・井上侑哉・<u>片桐知之・嶋村正樹</u> (2015). 日本産ゼニゴケ 類の遺伝的多様性. 日本植物分類学会第14回大会 (3月6日 福島)
- ○各種研究員と外国人留学生の受入状況

【外国人客員研究員】

該当無し

【外国人留学生】

金 元熙(大韓民国)(博士課程後期) Jose David Orgaz(スペイン) (研究生)

○研究助成金の受入状況

科学研究費補助金

- ・基盤研究(B)「コマチゴケとナンジャモンジャゴケのゲノム情報を基盤とした総合的研究」代表者: <u>嶋村正樹(9,100</u>千円) (3年間 18,590千円)
- ・新学術領域「陸上植物進化を基軸とした発生ロジックの解明」代表者:河内孝之 研究分担者: 嶋村正樹 3,500千円 (5年間 42,770千円)

寄附金

· (株) 沖縄環境保全研究所 山口富美夫 133,500円

○学界ならびに社会での活動

1. 学協会役員・委員

山口富美夫

- ·中国四国植物学会会長(2015-)
- ·日本植物学会評議員(2014-)
- ・ヒコビア会会長 (2014-)
- ·日本蘚苔類学会会計幹事(2014-)
- ・植物地理・分類学会編集委員(2013-)
- ・環境省第5次絶滅のおそれのある野生生物の選定・評価検討会植物Ⅱ分科会検討委員(2014-)
- ・環境省稀少野生動植物保存推進員(2003-)
- ・沖縄県レッドデータの改定に関わる編集委員会委員(2013-)
- ・生物多様性広島戦略推進会議希少生物分科会検討委員会 委員 (2013-)
- ·財団法人服部植物研究所委託研究員(1992-)
- ・国立環境研究所客員研究員(2011-)
- ・岡山理科大学附属高等学校平成24年度文部科学省SSH運営指導委員(2012-)

嶋村正樹

- ・日本植物学会 代議員(2014-)
- ・日本蘚苔類学会庶務幹事(2014.1-)
- ・ヒコビア会編集幹事 (2014-)
- ·中国四国植物学会 広島県幹事(2014-)

片桐知之

・ヒコビア会会計幹事 (2014-)

4. セミナー・講義・講演会講師等

嶋村正樹

・広島大学模擬授業「コケ植物の研究から見えてくる植物の進化の歴史」 (広島県立安古市高校 2学年)

7. その他

山口富美夫

· 広島市植物公園植物観察会(山口県秋吉台)講師

坂本雄司 (博士課程前期)·<u>片桐知之</u>

・一般講演:「尾瀬・至仏山のコケ類を知ろう!学ぼう!」尾瀬沼ビジターセンター(福島県桧枝 岐村)(2014年10月11-13日)

植物生理化学研究室

平成26年度構成員:高橋陽介(教授),深澤壽太郎(助教),伊藤岳(特任助教)

○研究活動の概要

光エネルギーを化合物に転換することで、地球上における他のすべての生命を支える植物は、 自らは移動せず、大地に根を張り、その生存の領域を広げ、外部環境の激しい変化を克服して生 育する。そのために植物は柔軟な形態形成と環境応答のメカニズムを発達させてきた。本研究室 では、植物の形態形成や環境応答の分子機構を解析している。

ジベレリン(GA)は,発芽,成長,開花を制御する植物ホルモンである。GA内生量は,フィ ードバック制御により一定の範囲に維持されている。フィードバック制御ではGA信号伝達系を介 してGA代謝酵素遺伝子群の転写が調節される。GA信号伝達において中心的な役割をなすDELLA は、植物固有の核内タンパク質であり、信号伝達の抑制因子である。DELLAが核内に蓄積すると、 植物の成長が抑制され著しく矮化する。GAは、DELLAの分解を介して植物の成長を促進する。 これまでにDELLA相互作用因子として,光応答に関与する転写因子PIFや,ブラシノステロイド 信号伝達に関与する転写因子BZRなどが報告された。DELLAはこれら転写因子のDNA結合領域に 結合し,機能を阻害する。GAによる転写制御では,GA刺激によりDELLAが分解されるとPIFなど の転写因子の抑制が解除され、それらの標的遺伝子の転写が誘導されると説明されてきた。しか し、GA応答を示す多くの遺伝子は、GA生合成酵素遺伝子のようにGAにより転写が抑制されるた め、DELLAには未知の機能が存在すると考えられた。本研究室では独自の手法によりDELLAと相 互作用する転写因子GAF1を見出し、GA転写制御における新たな機構を明らかにした。DNA結合 能をもたないDELLAは転写のコアクチベーターであり、DNA結合型転写因子GAF1と複合体を形 成し転写を促進する機能をもつことを明らかにした。さらに、もうひとつのGAF1相互作用因子と してコリプレッサーTOPLESSファミリーに属するTPRタンパク質の単離に成功した。GA非存在下 ではGAF1は,DELLAと結合し標的遺伝子の転写を促進する。GA存在下ではDELLAが分解され, GAF1はTPRと結合し、転写抑制複合体を形成し標的遺伝子の転写を抑制する。すなわちGAF1複 合体は、GA刺激によって転写促進複合体から転写抑制複合体へと機能転換すると考えられた。こ の機構は、従来のモデルでは説明できなかったGAフィードバック制御を上手く説明できる。実際 GA生合成遺伝子, GAレセプター遺伝子などがGAF1複合体の直接の標的であることが明らかとな り、GAF1複合体がGAフィードバック制御を担うことが示された。

○発表論文

- 1. 原著論文
- ⊚ <u>Ito, T.</u>, Nakata, M., <u>Fukazawa, J.</u>, Ishida, S. and <u>Takahashi, Y.</u> (2014) Scaffold function of Ca²⁺-dependent protein kinase: NtCDPK1 transfers 14-3-3 to the substrate RSG after phosphorylation. *Plant Physiol.* **165**, 1737-1750.
- ©<u>Fukazawa</u>, J., Teramura, H., Murakoshi, S., Nasuno, K., Nishida, N., <u>Ito, T.</u>, Yoshida, M., Kamiya, Y., Yamaguchi, S. and <u>Takahashi, Y.</u> (2014) DELLAs function as coactivators of GAI ASSOCIATED FACTOR1 in regulation of GA homeostasis and signaling in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **26**, 2920-2938.
- ©Ito, T., Nakata, M., Fukazawa, J., Ishida, S. and Takahashi, Y. (2014) Phosphorylation-independent binding of 14-3-3 to NtCDPK1 by a new mode. *Plant Signal Behav.* 9, e977721. doi:

- ©<u>Ito, T.</u> and <u>Takahashi, Y.</u> (2015) Phosphatase protection assay: 14-3-3 binding protects the phosphate group of RSG from λ protein phosphatase. *Bio-Protocol.* **5**, e1395. bio-protocol.org/e1395.
- 2. 総説・解説

○著書

○講演

- 1. 国際会議での招待・依頼・特別講演
- 2. 国際会議での一般講演
- © <u>Ito, T.</u>, Nakata, M., <u>Fukazawa, J.</u>, Ishida, S., and <u>Takahashi, Y.</u> (2014). Scaffold function of Ca²⁺-dependent protein kinase: NtCDPK1 transfers 14-3-3 to the substrate RSG after phosphorylation. Plant Biology 2014, Portland, Oregon, USA, July 12-16, 2014.
- © Fukazawa, J., Fujiki T, Mori M, Miyamoto C, Mishima Y, Kamiya Y, Yamaguchi S, <u>Takahashi, Y.</u> (2014) "GAF1, A DELLA INTERACTING PROTEIN, REGULATES GIBBERELLIN HOMEOSTASIS AND SIGNALING" 25th International Conference on Arabidopsis Research, Vancouver Canada, July 28-October 1, 2014
- 3. 国内学会での招待・依頼・特別講演
- 4. 国内学会での一般講演
- ○岡村僚太,<u>伊藤岳</u>,<u>佐久間哲史</u>,<u>山本卓</u>,<u>高橋陽介</u> 植物の新奇転写抑制モチーフ –真核生物 に保存された転写抑制機構の解析– 第71回中国四国植物学会 岡山理科大学 2014年5月10日
- ◎三島由佳, <u>深澤壽太郎</u>, <u>高橋陽介</u> 翻訳後修飾によるジベレリン信号伝達制御の解析 第71回 中国四国植物学会 岡山理科大学 2014年5月10日 優秀発表賞受賞
- ◎深澤壽太郎, 森雅彦, 宮本知佳, 三島由佳, 神谷勇治, 山口信次郎, <u>高橋陽介</u> DELLA-GAF1 複合体によるGA信号伝達とフィードバック制御機構の解析 第49回植物化学調節学会 京都大学 2014年10月18-19日
- <u>◎伊藤岳</u>,大江翔太,石田さらみ,<u>高橋陽介</u>ジベレリン信号伝達に関与するカルシウム依存性タンパク質リン酸化酵素NtCDPK1の自己リン酸化による機能制御の解析 第37回日本分子生物学会(横浜)パシフィコ横浜 2014年11月25-27日
- ○<u>伊藤岳</u>, 岡村僚太, <u>佐久間哲史</u>, <u>山本卓</u>, <u>高橋陽介</u> EPR1の新奇転写抑制モチーフの機能解析 第56回日本植物生理学会(東京)東京農業大学 2015年3月17日

◎<u>深澤壽太郎</u>, 森雅彦, 宮本知佳, 三島由佳, 神谷勇治, 山口信次郎, <u>高橋陽介</u> DELLA-GAF1/IDD2 複合体によるGA信号伝達とフィードバック制御機構 第56回日本植物生理学会 東京農業大学 2015年3月18日

○研究助成金の受入状況

科学研究費補助金

- ・新学術領域「植物の成長制御エンハンソソームの解析」代表者 高橋陽介 18,850千円
- ・挑戦的萌芽研究「新しい転写抑制モチーフERDを用いた転写研究の新展開」代表者 <u>高橋陽介</u> 1,040千円
- ・新学術領域「転写サイクル」分担者 高橋陽介 200千円
- ・基盤研究 (C)「ジベレリン信号伝達のおける翻訳後修飾のクロストーク」代表者 <u>深澤壽太郎</u> 2,080千円

共同研究

東京大学理学系研究科 石田さらみ NtCDPK1の機能解析 (<u>高橋陽介</u>, <u>伊藤岳</u>) 山形大学農学部 豊増知伸 bZIP型転写因子と14-3-3結合に関する研究 (深澤壽太郎)

受託事業

○学界ならびに社会での活動

1. 学協会役員・委員

高橋陽介

- · 日本学術振興会 特別研究員等審査会専門委員
- ·農林水産業·食品産業科学技術研究推進事業研究課題評価分科会委員

深澤壽太郎

- ・中国四国植物学会 会計幹事(2014.12月まで)
- ・中国四国植物学会 庶務幹事(2015.1月より)
- ·植物化学調節学会 50周年記念事業実行委員会委員

伊藤岳

- ・中国四国植物学会 会計幹事(2015.1月より)
- 4. セミナー・講義・講演会講師等セミナー

5. その他

- ・岡山理科大学において開催された第71回中国四国植物学会において「翻訳後修飾によるジベレリン信号伝達制御の解析」が優秀発表賞を受賞した。
- ・PLANT CELL誌に発表したGAF1の研究がRIKEN Research で紹介された。

植物分子細胞構築学研究室

平成26年度構成員:鈴木克周(教授),守口和基(講師),山本真司(特任助教)

○研究活動の概要

本研究室では主として、真正細菌から真核生物への遺伝子伝達現象とそれを担う生物を研究対象としている。アグロバクテリアは自然界で植物に遺伝子を注入して根頭癌腫病と毛状根病を引き起こすことが知られている。伝達域の広い接合プラスミドを持つ大腸菌から真核微生物の出芽酵母細胞へプラスミドが移ることが見出されたことを契機として細菌接合系による真核生物への遺伝子の水平伝達((超)生物界間接合)現象の報告が増えつつある。実験室で繰り返し再現できるこの水平伝達現象の特質についての研究と各種アグロバクテリアの多様性に関する研究を行っている。

平成26年度においては、以下の成果を得た。

- (1) 植物病原性アグロバクテリア菌株のほとんどが属する3主要種の中で、Agrobacterium tumefaciens (Rhizobium radiobacter)は、他の2種に比べて広く異なる環境で生存するのに適した能力を持つこと、rDNA配列等の多型性が大きいことをこれまでに報告した。また、日本産の根頭癌腫病原株のゲノミックグループはG1とG7が多く、G4とG8もあることを明らかにしている。国外にはゲノミックグループを種に昇格すると主張する研究グループが複数ある。今年度は、G8に含まれる国産菌株の全塩基配列をG1とG2菌株の全塩基配列とGenomeMatcherを用いて比較したところ、染色体DNA上の遺伝子の大部分を菌株間で維持しているという特徴を持つことがわかった。この結果はゲノミックグループを種に昇格する動向に疑問を呈するものであり、亜種としての扱いが妥当と考えられる。
- (2) 世界中で植物の形質転換に利用されている C58 菌株に代表されるアグロバクテリウムはイネ と共存培養しても感染 DNA 輸送に必須な vir 遺伝子レギュロンを発現しない。当研究室で発 見した国産アグロバクテリウム菌株の 1 株は誘導物質を人工的に与えなくてもイネ細胞との 共存培養で vir 遺伝子が発現しイネを形質転換できること,イネが合成し微量分泌するリグニン合成前駆体 p-coumarylalchohol が vir 遺伝子誘導能を持つことを明らかにしてきた。この菌 株 が イネ に 応答する 機 構 を 知る ために C58 株 と 比較 解析 したところ, 両株 共に p-coumarylalchohol を分解すること,この株よりも C58 株は明らかに高い分解活性を持つこと がわかった。 更に, 代謝産物として p-coumaric acid が検出されたことから,酸化分解系が働いていると考えられる。
- (3) アグロバクテリアは本来の宿主である双子葉植物と裸子植物以外にも様々な真核生物種に遺伝子を注入できる。特に菌類では形質転換操作への適用例が多いだけでなく、自然条件下でも木材腐朽菌がリグニン代謝の過程で放出するフェノール物質でアグロバクテリアを活性化して自然界でも菌類を形質転換しているのではないかと推定されている。また、酵母菌は変異体を用いた研究でT-DNAが宿主細胞の染色体に組み込まれる機構の解明に貢献した。私達は遺伝子を受け取る仕組みを理解するために形質転換効率が大幅に低下する酵母変異体を解析している。この内で、膜脂質のエルゴステロール合成に関与するERG28遺伝子の変異体はアグロバクテリアと共存させても細胞分裂が抑制されにくい点で、野生型酵母株や他の変異体と異なることわかった。Erg28がどのような仕組みで細胞量を検知するか興味深い。
- (4) アグロバクテリアの病原性 (腫瘍形成能や感染宿主範囲) は病原遺伝子の大半を含む病原プラスミド(Ti, Riプラスミド)とゲノムバックグラウンドそしてその組み合わせによって予期せず大きく変わる。アグロバクテリアで菌株毎に病原性の差がみられることの遺伝子レベルでの

原因解明と形質転換困難な植物に対応できる新規アグロバクテリア株を作出することを目的として、アグロバクテリア菌株間で病原プラスミドを着実に交換可能にする技術を開発してきた。本年度は、同技術を用いA. tumefaciens (R. radiobacter), A. rhizogenes(R. rhizogenes), A. vitis (R. vitis), R. etliの4種12株を素材として病原プラスミドを相互に交換した株を計61株(野生株含む)作成した。その病原遺伝子発現誘導活性を測定した結果、病原遺伝子の発現が最大になる時間が菌株によって異なること、宿主バクテリア細胞に殆ど依存せず強い病原遺伝子発現能を有する病原プラスミドがあること、共存させる植物細胞(タバコ・イネ)によって病原遺伝子の発現が大きく変わる宿主バクテリア株があるなど形質転換に関与する興味深い特性が見出された。また、病原プラスミド交換過程で、R. radiobacter MAFF301724株の持つ病原プラスミドpRi1724は既知のどの不和合グループにも属さない新規不和合グループの複製遺伝子を持つと示唆された。

(5) アグロバクテリアは多くの生物にT-DNA遺伝子を伝達できるが、既知のT-DNAが持っている遺伝子のレパートリーは小さい。しかし、可動性プラスミドのRSF1010をも伝達できるのでより広い範囲の遺伝子を輸送していると示唆されることから、この他にもどのようなプラスミドを輸送できるか興味深い。昨年度は、アグロバクテリアが可動性プラスミドのpBBR1型プラスミドをBY-2細胞へ輸送できることを見出したので、引き続きBY-2細胞への移行について解析した。プラスミド移行がアグロバクテリアの四型分泌系(VirB/D4-T4SS)により行われることを確認するために、VirB/D4-T4SSに関与するvirB2、virD4遺伝子の欠損株を作成し、pBBR1型プラスミドの移行がブロックされることを確認した。また、pBBR1型プラスミドの植物細胞への移行には自身の移行開始起点(oriT)が必要であることを証明するために、oriTに点変異を導入し、プラスミドの移行がブロックされることを確認した。さらに、pBBR1型プラスミドの移行はRSF1010と異なり宿主アグロバクテリアのT-DNA移行を阻害しないことから、pBBR1型プラスミドはVirB/D4-T4SS経路を速やかに通過して植物細胞内に進入すると推測された。

○発表論文

- 1. 原著論文
- 2. 総説 解説

○講演

- 1. 国際会議での招待・依頼・特別講演
- 2. 国際会議での一般講演
- 3. 国内学会での招待・依頼・特別講演
- 4. 国内学会での一般講演
- ○庄田佐知子,松井拓也,<u>高木隆吉,山本真司,鈴木克周(2014)</u> イネ培養細胞によるp-coumaryl alcohol の分泌およびvir遺伝子誘導能の解析. 中国四国植物学会 第71回大会 (於 岡山理科大学 5月10日) 優秀発表賞受賞 -
- ◎方岡結衣,藤本裕人,山本真司,澤田宏之,鈴木克周(2014) 日本で単離されたRhizobium radiobacter

病原性菌株におけるゲノムグループの解析. 中国四国植物学会 第71回大会 (於 岡山理科大学 5月10日)

- 山本真司 (2014) ハイブリッドアグロバクテリアの簡便な作出技術の確立. H24年度若手研究 者支援プログラム成果発表会・シーズ検討会 (於 広島大学本部棟5F9月22日)
- ◎井上万莉野,守口和基,三宅純,山本真司,鈴木克周(2014) アグロバクテリアVirB/VirD4システムによる植物細胞への広宿主域型プラスミドの移行. 日本分子生物学会 第37回年会 (於 パシフィコ横浜 11月25日)
- ○庄田佐知子,松井拓也,清川一矢,<u>山本真司,鈴木克周,高木隆吉,安倍学</u>,平賀良和 (2014) イネ細胞 から分泌されるp-coumaryl alchoholによる*Agrobacteriumのvir*遺伝子発現誘導. 日本分子生物 学会 第37回年会 (於 パシフィコ横浜 11月27日)

○研究助成金の受入状況

- ・科学研究費助成事業(学術研究助成基金助成金)基盤研究(C)「イネの形質転換に適した特質を持つアグロバクテリア菌株の解析」代表者,鈴木克周,400千円
- ・科学研究費助成事業(学術研究助成基金助成金) 挑戦的萌芽研究 「四型分泌機構を利用した革新 的植物ゲノム改変技術の確立」代表者,守口和基,900千円
- ・科学研究費助成事業(学術研究助成基金助成金) 若手研究(B)「優れた植物形質転換特性を有する 新規ハイブリッドアグロバクテリアの作出」代表者,山本真司,800千円

○学界ならびに社会での活動

- 1. 学協会役員・委員
- · 鈴木克周, 中国四国植物学会会長
- · 守口和基, 中国四国植物学会会計幹事
- 2. セミナー・講演会開催実績
- 3. 産学官連携実績
- 4. セミナー・講義・講演会講師等
- ・ 理学部Hi-サエンティストプログラム参加学生に細菌間の接合伝達実験指導と接合伝達を 高感度に検出するための研究指導を行なった(2014年5月-9月).
- ・オープンキャンパス参加高校生に天然の遺伝子導入現象である根頭癌腫病の概要説明と病原菌を植物に接種する実験を指導した(2014年8月7-8日).
- ・広島市科学館「大人の科学談話室」(広島大学科学わくわくプロジェクトと合同)において「みんなの知らないバクテリアのふしぎな話」というタイトルで一般社会人向けに講演を行った (2014年11月15日).
- ・バングラデッシュ農業研究所(Bangladesh Institute of Nuclear Agriculture)からの来学者5名にアグロバクテリアを用いる植物形質転換の特性と問題点を克服するための研究例を解説した(2015年3月19日).
- その他

○特記事項

1. 庄田は中国四国植物学会 第71回大会(於 岡山理科大学 5月10日)において優秀発表賞を受賞した.

多様性生物学講座

附属臨海実験所 • 海洋分子生物学研究室

平成 26 年度構成員:細谷浩史(所長,平成 26 年 6 月 9 日退職),小原政信(所長,平成 26 年 7 月 1 日付)安井金也(教授),田川訓史(准教授)

〈施設の概要等〉

所員は細谷浩史所長(平成 26 年 6 月 9 日退職),小原政信所長(平成 26 年 7 月 1 日付),安井金也教授(平成 21 年 10 月 30 日より東広島地区勤務),田川訓史准教授,山口信雄技術員,石井登紀子契約一般事務員の6名からなり,研究員1名,所属学生は卒業研究生が1名と大学院博士課程後期学生が2名であった。平成26年度の述べ利用者数は1,830名であった。

〈教育活動〉

本学理学部生物科学科で「動物形態学」・「比較発生学」を開講し、「先端生物学」・「生物科学概 説B」・「生物科学セミナー」・「基礎生物科学A」・「基礎生物科学B」の一部を担当した。実験所 内では2年次生を対象に多様な海産生物に直に接して、それらの分類・系統関係・生態を学ぶ「海 洋生物学実習 A | 3 年次生対象のウニやホヤ発生過程の比較観察と分子発生学的手法を習得する ことを目的にした「海洋生物学実習B」を開講している。大学院教育としては,本学理学研究科 生物学専攻の「生物科学研究セミナー」・「形態形成」・「分類・進化」の一部を担当し、また臨海 実験所において「進化発生学演習」を開講した。また本学理学研究科学内での教育活動に加えて、 全国の大学学部生を対象にした「公開臨海実習」を臨海実験所にて開講し、比較分子発生学のあ る程度高度な実験を実施して、発生学の現状を理解できるように組み立ててある。海洋生物学実 習Aに 30 名、海洋生物学実習Bに 9 名、公開臨海実習に他大学・大学院学生 5 名,本学の学生 2 名の参加があった。また、本学他学部(教育学部および総合科学部)の実習も2実習、他大学の 実習を1 実習支援した。また、文部科学省の教育関係共同利用拠点化を目指し、国立大学法人に 属する全国 20 の臨海・臨湖実験所のうち、研究分野が互いに関係する七大学(北海道・東北・お 茶の水女子・東京・筑波・名古屋・広島)が5年前から合同で実施している臨海実習を,本年度 は 8 大学(島根大学を追加)合同臨海実習として初めて本実験所で主催し、放送大学の「面接授 業」としての実習科目を新たに開講した。

〈研究活動〉

半索動物ギボシムシや頭索動物ナメクジウオやを研究材料として,再生研究や比較発生学的・比較ゲノム科学的・古生物学的に広い視野に立った研究を進めている。平成 26 年度の研究活動は以下のとおりである。公表論文は原著論文 3 編,総説・解説が 2 編,学会等の発表は,国内一般講演 4 回であった。

- 1)ヒメギボシムシ Ptychodera flava の再生研究を分子生物学的に押し進めるために, 再生芽 cDNA ライブラリーのクローン解析, 特に他の生物で再生に関与していると考えられるクローンの発現解析ならびに幹細胞で発現する因子・リプログラミングに関与すると考えられる因子の解析を進めている。
- 2) 基礎生物学研究所・慶應義塾大学・沖縄科学技術基盤整備機構と共同で、カタユウレイボヤ

Brachyury 下流遺伝子群の新口動物間における比較解析を進めている。

- 3) ヒメギボシムシ Ptychodera flava のゲノムプロジェクトを、ハワイ大学・国立情報学研究所・国立遺伝学研究所・沖縄科学技術大学院大学と共同で進めている。
- 4) 沖縄産ヒメギボシムシ Ptychodera flava に寄生するカイアシ類に関して、琉球大学およびカリフォルニア州立大学、台湾中央研究院と共同で進めている。
- 5) ヒメギボシムシの国内外を含めた生息地域差による遺伝的多様性の研究を進めている。
- 6) 実験室内でのヒメギボシムシの飼育を行っている。これまで砂を入れた容器で成体を一定期間飼育し続けることには成功しているが、実験室内で性成熟させるまでには至っていない。また、昨年度受精から長期間の幼生期を経て幼若個体に至る飼育を初めて成功させたが、さらに実験室内で大量飼育が可能になるよう進めている。
- 7) 軸形成遺伝子のヒメギボシムシにおける発現解析を進めている。

〈国際交流活動〉

- 1) 台湾中央研究院と部局間国際交流協定を締結。
- 2) 米国ハワイ大学と共同でヒメギボシムシの再生研究を進めている。
- 3) 米国ハワイ大学, 米国 JGI, 米国カリフォルニア大学バークレー校, 米国スタンフォード大学, 英国オックスフォード大学, 米国ライス大学, 米国ハーバード大学, 米国ベイラー医科大学, 台湾中央研究院, 独国ハイデルベルグ大学, 加国モントリオール大学と共にギボシムシのゲノム解析を進めている。
- 4) カリフォルニア州立大学および台湾中央研究院と共同でヒメギボシムシに寄生するカイアシ 類の研究を進めている。

○発表論文

1. 原著論文

Arimoto A, <u>Tagawa K.</u> (2015). *Hedgehog* expression during development and regeneration in the hemichordate, *Ptychodera flava*. Zoological Science 32(1):33-37.

<u>Tagawa K</u>, Arimoto A, Sasaki A, Izumi M, Fujita S, Humphreys T, Fujiyama A, Kagoshima H, Shin-I T, Kohara Y, Satoh N, Kawashima T. (2014). A cDNA resource for gene expression studies of a hemichordate, *Ptychodera flava*. Zoological Science 31(7):414-420.

Satoh N, <u>Tagawa K</u>, Lowe C.J., Yu JK, Kawashima T, Takahashi H, Ogasawara M, Kirschner M, Hisata K, Su YH and Gerhart J. (2014). On a possible evolutionary link of the stomochord of hemichordates to pharyngeal organs of chordates. Genesis 52(12):925-34.

2. 総説·解説

佐藤矩行, 高橋弘樹, 田川訓史: ゲノムで進化の謎を解く!第13回 無脊椎動物と脊椎動物の間. 細胞工学vol.34 No.1 (2015).

<u>田川訓史</u>: ヒメギボシムシ*Ptychodera flava*のcDNAリソース. JAMBIO News Letter vol. 5, 12月号 (2014).

3. 著書

○講演

- 1. 国際会議での招待・依頼・特別講演
- 2. 国際会議での一般講演
- 3. 国内学会での招待・依頼・特別講演
- 4. 国内学会での一般講演
- 1) <u>田川訓史</u>, 有本飛鳥, 佐藤矩行, 川島武士. 半索動物ヒメギボシムシの cDNA リソース. 日本動物学会第 85 回仙台大会:東北大学 2014 年 9 月 13 日
- 2) 有本飛鳥, <u>田川訓史</u>. 半索動物ヒメギボシムシにおける *hedgehog* の発現解析. 日本動物学会第85回仙台大会:東北大学 2014年9月13日
- 3) 花島章, 園部弘樹, <u>田川訓史</u>, 木村澄子. 半索動物コネクチンの一次構造. 日本動物学会第85回仙台大会:東北大学 2014年9月13日
- 4) ◎彦坂智恵,山口信雄,<u>田川訓史</u>,<u>植木龍也</u>,彦坂暁. 瀬 戸 内 海 産 無 腸 動 物 *Praesagottifera naikaiensis* の 飼 育 シ ス テ ム . 日本動物学会第 85 回仙台大会:東北大学 2014 年 9 月 13 日

○各種研究員と外国人留学生の受入状況

【博士研究員】

○研究助成金の受入状況

共同研究

- ・独立行政法人 理化学研究所「脊椎動物の頭部進化の解明に向けての比較研究」 代表者 安井金也 636千円
- ・マリンバイオ共同推進機構(JAMBIO) 共同利用・共同研究平成26年度 15万円(課題 No.26-59)半索動物キホシムシの再生におけるアリルスルファターセの役割

○学界ならびに社会での活動

- 1. 学協会役員・委員
- 2. セミナー・講義・講演会講師等

田川訓史

(1) 台湾国立中興大学にて、教職員並びに学生に対して広島大学大学院理学研究科生物科学専攻の紹介と「半索動物ヒメギボシムシの再生とゲノム解析」に関して講演した。

(平成 26 年 12 月 2 日)

- (2)台湾中央研究院にて広島大学大学院理学研究科生物科学専攻の紹介と「半索動物ヒメギボシムシの再生とゲノム解析」に関して講演した。(平成 26 年 12 月 3 日)
- (3) 本学理学研究科大学院共通科目の「理学融合基礎概論 A」の講義を担当した。 (平成 26 年 12 月 22 日)
- 3. その他

田川訓史

- 1) 尾道市立高見小学校 3 年生を対象に臨海実験所周辺の磯採集を行った。 (平成 26 年 5 月 27 日)。引率教員 3 名と小学 3 年生 18 名が参加。
- 2) 尾道市立高見小学校3年生を対象に臨海実験所周辺の磯採集を行った。 (平成26年9月8日)。引率教員4名と小学3年生19名が参加。
- 3) エデュパーク・キッズラボの小 1~小 6 の児童を対象に, ウニの解剖実習を行った。 (平成 26 年 7 月 20 日)。引率教員 4 名と小学生 23 名が参加。
- 4) 広島大学理学部・理学研究科公開にて附属臨海実験所展示を行い、一般市民に対して臨海実験所周辺に生息する生物のタッチプールや、研究材料であるヒメギボシムシおよびナメクジウオの展示を行った(平成26年11月1日)。参加者約342名。
- 5) 学校法人尾道学園尾道中学校1年生を対象に臨海実験所周辺の磯採集と講義を行った。 (平成26年6月11日)。教員7名と中学1年生39名が参加。
- 6) 尾道市立高見小学校3年生を対象に臨海実験所周辺の磯採集を行った。 (平成27年3月2日)。引率教員4名と小学3年生19名が参加。
- 7) 学内外から依頼を受けた研究材料の採集や飼育依頼に対応した。また、野外調査への協力を行った。本実験所への試料採集のための来所者は学内者8名(広大教職員4名,広大学生4名)、他大学・他機関75名の計83名であった。
- 8) 実験所で採集し、収集した海産生物を教育研究機関に提供した。内訳は、福山大学へミズクラゲ、筑波大学へカタユウレイボヤ、名古屋大学へカタユウレイボヤ、東京大学へスジキレボヤ、沖縄科学技術大学院大学へ無腸類、放送大学へは磯の生き物全般、エデュパークへムラサキウニ、広島大学大学院理学研究科へイボニシ、アメフラシ、フレリトゲアメフラシ、クロミドリガイ、コノハミドリガイ、広島大学総合科学部へ磯の生き物全般、無腸類、広島大学学校教育学部へ磯の生き物全般、広島大学祭企画(理学研究科、技術センター)へ磯の生き物全般、ウミホタル、高見小学校へ磯の生物全般、尾道中学校へ磯の生物全般を提供した。
- 9) 一般からの問い合わせや写真および情報提供を行った。内訳は、 テレビ朝日のいきなり! 黄金伝説へアメフラシ画像・動画、テレビ朝日ミラクルナインへウミサボテン画像、金沢大学環日本海域環境研究センター臨海実験施設へスズメガイダマシ資料「瀬戸内海の生物相 II p.207」、東北大学へホヤ類の被嚢微細構造に関する情報提供、実験医学 2014 増刊驚愕の代謝システム (p.123-129) へホヤ類に関する情報提供を行った。

附属宮島自然植物実験所・島嶼環境植物学研究室

平成26年度構成員:高橋陽介(教授,併任),坪田博美(准教授)

○研究活動の概要

宮島自然植物実験所は、世界遺産に登録され日本三景で有名な「安芸の宮島」にある。廿日市市宮島町の大元公園から上室浜に至る国立公園内にある国有地が昭和38年に広島大学へ所属替えとなり、昭和39年学内措置によって理学部附属自然植物園が発足した。平成10年現在の敷地面積は、約10.2ha(=10万2千平方メートル)である。平成12年4月より理学研究科に組織替えされた。島嶼環境植物学研究室は、附属宮島自然植物実験所に設置されている。平成26年度に1,339名(記帳者数)の施設外部からの来所者があった。

理念・目的・目標: 宮島自然植物実験所の設置目的は、宮島のすぐれた自然を利用して植物学の教育・研究を行うことにある。島嶼という地理的条件を生かして、隔離環境下における植物の種分化・分布・生態などの生物地理学に関する諸問題の解明および生物の保全・自然保護、地球規模での環境保全対策、共生などの生命現象の基礎的解明を目標として教育・研究活動を行っている。本実験所は、昭和39年に設置されて以来、宮島という人為撹乱の少ない自然を対象として、主として植物学の分野において研究を深化するとともに、学術研究において国際的な役割と果たし、成果を社会に還元することを目指している。また、実験所には、維管束植物・蘚苔植物・地衣類など約35万点の貴重な植物標本などの研究資料が保管されており、標本のデータベース作成や広島大学デジタル自然史博物館のコンテンツ作成による情報の公開を進めている。

教育活動:本実験所は,理学部生物科学科の学部学生を対象とした科目である「植物生態学B | と「卒業研究」を担当し、「教養ゼミ」、「生物学概説A」、「情報活用演習」、「先端生物学」、「生物 科学基礎実験」について分担した。本実験所が担当の「宮島生態学実習」については,平成23年 度からのカリキュラム変更に伴い隔年開講となっており、平成26年度は協定を結んでいるブルネ イ・ダルサラーム大学の施設を利用してブルネイ国で開講した。大学院生を対象とした科目とし ては,「島嶼環境植物学」と「島嶼環境植物学演習」(前・後期)を担当し,「生物科学セミナー」 と「社会実践生物学特論」,「遺伝・進化」を分担した。上記科目のうち学部1年生対象の「教養ゼ ミ」を,春期1泊2日,夏期2泊3日の日程で,本実験所で実施した。学部3年生対象の「生物科学基 礎実験Ⅲ」の一部も本実験所で実施した。「生物科学基礎実験Ⅲ」については、実験所に宿泊可能 な人数に限界があるため、4班に分かれて、各班1泊2日、合計4泊5日の日程で実習を実施した。大 学院生を対象とする「島嶼環境植物学演習」の一部を本実験所で行った。生物科学科以外の学内 および学外の利用として、学内では教育学研究科・教育学部や総合科学部・総合科学研究科の実 習に利用された。また、広島大学附属三原学園との共同研究として、野外学習の指導を行った。 学外では鈴峯女子短期大学の学生を対象とした野外実習に利用された。小・中・高等学校の教育 のための利用があり、SSH事業での指導や総合学習、高大連携事業への協力を行った。社会貢献 活動としてヒコビア植物観察会を14回(のべ参加人数571名,含勉強会)開催した。また,一般向 けに植物観察会勉強会や子ども向けに講座を開催して植物や植生に関する解説を行った。広島県 や廿日市市、環境省、森林管理署と共同でミヤジマトンボの保護や森林の保全に関する研究・活 動を行うとともに、行政に対して助言を行った。

研究活動:蘚苔類や維管束植物,藻類,地衣類の分子系統学的研究や系統分類学的研究・比較形

態学的研究、蘚苔類の島嶼生物学的研究や植物地理学的研究、蘚苔類や維管束植物の地理的変異 や集団遺伝学的研究、シダ植物や蘚苔類のアレロパシーに関する研究、稀少植物ヒナノシャクジ ョウ・シロシャクジョウ・ウエマツソウやウミヒルモ類の生態学的研究、宮島の維管束植物の遺 伝的多様性に関する研究, 未記載藻類種の分類学的研究, 空気中に浮遊する胞子から蘚苔類の拡 散・散布に関する研究,宮島白糸川崩壊地での植生回復に関する研究,崩壊地での藻類相の季節 変化に関する研究を行った。また、照葉樹林の遷移および植生単位の抽出と植生図化、宮島およ びその周辺地域の森林植生の動態、植物社会学的植生図にもとづいた宮島のアカマツ二次林の遷 移に関する研究、宮島内での植物の分布についても継続して研究を行った。とくに、コシダ・ウ ラジロが植生の遷移に与える影響と、リターが発芽に与える影響、シカが植物相や森林遷移に与 える影響について継続調査を行った。また、名古屋大学と共同で蘚苔類の重金属蓄積に関する基 礎研究を行い、広島大学大学院生物圏科学研究科と共同でヤマモガシの生理生態学的研究を行っ た。同教育学部・教育研究科と共同で地衣類の共生藻に関する系統・分類学的な研究を行った。 前年度に続いて,ヤマトウミヒルモとチャボイの生育状況について継続調査を行った。また,広 島のフロラに追加すべき種等について報告した。これらの研究成果については,学会発表等(17 件) および論文・著書・総説等(10件)で公表した。2013(平成25)年3月に開館した東広島キャ ンパスの学術標本共同資料館への重要標本の集約のため、平成26年度についても宮島自然植物実 験所に収蔵されている標本の整理と東広島への移転を継続して行った。標本整理については多く のボランティアの協力を得た。蘚苔類や維管束植物を中心とした植物の腊葉標本,種子標本の作 成・収集を行うとともに、植物標本のデータベース化を行った。また、広島大学デジタル自然史博 物館構築に参加し、インターネットで研究・教育活動ならびにその成果物を外部に公開した。

○発表論文(◎印は,複数の本学教員参加の発表)

1. 原著論文

- 半田信司・正田いずみ・溝渕 綾・中原-坪田美保・<u>坪田博美</u>. (2014) 日本新産の気生藻類ミルイロスミレモ*Trentepohlia bosseae var. samoensis* (スミレモ科, アオサ藻綱). *植物研究雑誌* 89: 59-64.
- 井上侑哉・長谷信二・<u>坪田博美</u>. (2014) センボンウリゴケ (センボンゴケ科, 蘚類) の新産地 と日本国内での分布. *植物研究雑誌* 89: 189-192.
- Inoue, Y. & <u>Tsubota, H.</u> (2014) On the systematic position of the genus *Timmiella* (Dicranidae, Bryopsida) and its allied genera, with the description of a new family Timmiellaceae. *Phytotaxa* 181: 151–162.
- ◎坂本雄司・井上侑哉・<u>片桐知之</u>・<u>嶋村正樹</u>・<u>山口富美夫</u>. (2014) 蛇紋岩地で発見された日本新産の*Heteroscyphus inflatus* (Steph.) S.C.Srivast. & A.Srivast. に ついて. *蘚苔類研究* 11: 31–36.
 - Suzuki, T., Inoue, Y. & <u>Tsubota, H.</u> (2014) Notes on *Clastobryella tenella* and *Gammiella ceylonensis* (Sematophyllaceae, Bryopsida) in Japan. *Hattoria* 5: 101-113.
 - <u>坪田博美</u>・井上侑哉・中原-坪田美保. (2015) 考古資料に対するDNAバーコーディングの可能性. *厳島研究* 11: 13-23.
 - <u>坪田博美</u>・井上侑哉・中原-坪田美保・島本俊樹・松田伊代・内田慎治・向井誠二. (2014) 標本同定のツールとしてのDNAバーコーディングと分子系統解析 広島宮島で採集された標本の例 . *Hikobia* 16: 475-490.
 - <u>坪田博美</u>・井上侑哉・中原-坪田美保・内田慎治・向井誠二. (2015) 標本同定のツールとして のDNAバーコーディングー植物標本の例一. *広島大学総合博物館研究報告* 6:41-49.

<u>坪田博美</u>・中原-坪田美保・井上侑哉・内田慎治・向井誠二. (2014) 広島県の帰化植物5. ヒメムラサキハナナ. *Hikobia* 16: 491-497.

2. 総説・解説・短報・その他

溝渕 綾・半田信司・正田いずみ・中原-坪田美保・<u>坪田博美</u>. (2015) 葉上生の気生藻類*Phycopeltis* (スミレモ科,アオサ藻綱)の新たな生活型. *藻類* 63:73.

中原-坪田美保・半田信司・正田いずみ・溝渕 綾・原田 浩・<u>坪田博美</u>. (2015) 生葉上地衣類 *Strigula* (マンジュウゴケ属) に共生するスミレモ類は*Cephaleuros*ではなかった. *藻類* 63: 65. <u>坪田博美</u>. (2014) 宮島の自然一地形と地質および植生と動植物について一. *宮島自然植物実験 所ニュースレター* 22: 2-5.

<u>坪田博美</u>・内田慎治・吉野由紀夫・垰田 宏・豊原源太郎・関 太郎. (2014) 植物観察会の記録 (2012年4月-2013年2月). *宮島自然植物実験所ニュースレター* 22: 6-15.

内田慎治・向井誠二・坪田博美. (2014) 宮島の桜. 宮島自然植物実験所ニュースレター 22:1.

○著書

該当なし

○取得特許

該当なし

○講演

- 1. 国際会議での招待・依頼・特別講演 該当なし
- 2. 国際会議での一般講演 該当なし
- 3. 国内学会での招待・依頼・特別講演 該当なし
- 4. 国内学会等での一般講演

井上侑哉・<u>坪田博美</u>. 日本産閉鎖果蘚類コゴケ属ツボゴケ亜属(センボンゴケ科, 蘚類)の分子系統解析と胞子嚢の形態比較. 日本植物分類学会第14回大会(2015年3月5–9日, 福島).

井上侑哉・久保晴盛・<u>坪田博美</u>. 瀬戸内海島嶼部で見つかったイボスジネジクチゴケ(センボンゴケ科, セン類)について、中国四国植物学会第71回大会(2014年5月10-11日, 岡山).

井上侑哉・久保晴盛・<u>坪田博美</u>. イボスジネジクチゴケ(センボンゴケ科, 蘚類)の系統・分類学的研究. 日本蘚苔類学会第43回大会(2014年8月26-28日, 十和田).

- 井上侑哉・佐藤裕幸・<u>坪田博美</u>. 閉鎖果蘚類の系統的位置について. 日本進化学会第16回大会 (2014年8月21-24日, 高槻).
- ◎金 元熙・<u>出口博則・山口富美夫</u>・<u>坪田博美</u>. ウツクシツヤシメリゴケSchofieldiella micansの新産地と分子系統解析結果. 日本蘚苔類学会第43回大会(2014年8月26-28日, 十和田).

久保晴盛・松田伊代・谷川照樹・内田慎二・向井誠二・黒田有寿茂・豊原源太郎・坪田博美.

- GISと植物社会学的植生図を用いた森林の時系列的変化と生育立地の関係-広島県宮島のアカマツ二次林の例. 日本生態学会中国四国地区会第58回大会(2014年5月10-11日、岡山).
- 久保晴盛・向井誠二・<u>坪田博美</u>. 蘚苔類における生育適地モデルの作成と標本数の関係性. 日本蘚苔類学会第43回大会(2014年8月26-28日, 十和田).
- 溝渕 綾・半田信司・正田いずみ・中原-坪田美保・<u>坪田博美</u>. 葉上生の気生藻類*Phycopeltis* (スミレモ科,アオサ藻綱)の新たな生活型.日本藻類学会第39回大会(2015年3月21-22日,福岡).
- 中原-坪田美保・半田信司・正田いずみ・溝渕 綾・原田 浩・<u>坪田博美</u>. 生葉上地衣類*Strigula* (マンジュウゴケ属) に共生するスミレモ類は*Cephaleuros*ではなかった. 日本藻類学会第39 回大会 (2015年3月21-22日, 福岡).
- ◎小栗恵美子・正田いずみ・坂本雄司・井上侑哉・<u>片桐知之</u>・<u>嶋村正樹</u>. 日本産ゼニゴケ類の遺伝的多様性. 日本植物分類学会第14回大会(2015年3月5-9日、福島).
 - 大野彰洋・根平邦人・<u>坪田博美</u>. 広島城のタンポポ属植物の経年変化と識別. 中国四国植物学会第71回大会(2014年5月10-11日, 岡山).
 - 島本俊樹・<u>坪田博美</u>. 大気中から捕捉されたコケ植物. 中国四国植物学会第71回大会(2014年5月10-11日、岡山).
- ◎正田いずみ・半田信司・<u>嶋村正樹</u>・<u>坪田博美</u>. ミルイロスミレモ (スミレモ科, アオサ藻綱) の隔壁形成-独自の分裂様式による原形質連絡の獲得-. 日本藻類学会第39回大会 (2015年3月20-22日, 福岡).
 - 正田いずみ・溝渕 綾・半田信司・中原-坪田美保・<u>坪田博美</u>. 葉の組織内に生育する藻類 *Cephaleuros minimus* (スミレモ科, アオサ藻綱) の分子系統学的研究. 中国四国植物学会第 71回大会 (2014年5月10-11日, 岡山).
 - 関 太郎・久保晴盛・田窪遼一・新谷大吾・五十嵐美穂. 肱川上流域(愛媛県大洲市)における 水田コケ植物群落. 日本蘚苔類学会第43回大会(2014年8月26-28日, 十和田).
 - <u>坪田博美</u>・久保晴盛・内田慎治・向井美枝子・向井誠二. 10年間の観測データにもとづくサクラの開花フェノロジーに関する基礎研究-広島県廿日市市宮島の例-. 中国四国植物学会第71回大会(2014年5月10-11日, 岡山).
 - <u>坪田博美</u>・島本俊樹・久保晴盛・半田信司・井上侑哉・中原-坪田美保・正田いずみ・内田慎治・向井誠二. 大気中から捕捉された隠花植物とくにコケ植物. 日本植物学会第78回大会(2014年9月11日-14日, 川崎).

○研究助成金の受入状況

1. 科学研究費補助金

坪田博美

- ・若手研究(B)「分子マーカーを用いた日本列島のコケ植物の遺伝構造と空中のリソースに関する 研究」代表者:坪田博美 2,730千円 (研究代表者) 2011年4月28日-2015年3月31日
- 2. 共同研究・受託研究 該当なし
- 3. 寄附金・その他

坪田博美

寄附金

- ・笹川科学研究助成金 720千円 (正田いずみ)
- NPO法人 おおのの風 10千円
- ·一般社団法人 広島県環境保健協会 500千円
- ·一般社団法人 広島県環境保健協会 100千円
- •一般社団法人 宮島観光協会 30千円
- ・一般社団法人 広島地球環境情報センター 100千円 (井上侑哉)

○学会ならびに社会での活動

1. 学協会役員・委員

坪田博美

- ・環境省稀少野生動植物保存推進員(2005-)
- ・ヒコビア会・庶務幹事 (2006-)
- ・廿日市市宮島シカ保護管理に関する会議,専門委員(2009-)
- ·日本植物分類学会,編集委員 (2012-)
- ・日本蘚苔類学会,広報委員(2014-)

2. セミナー・講演会開催実績

坪田博美

- ・植物観察会. 2014年4月-2015年3月(毎月1回と特別回1回,勉強会1回,年間14回),広島県内・ その他、宮島自然植物実験所・ヒコビア会共催.
- ·野外学習, 2014年10月27日, 広島県廿日市市宮島町, 広島大学附属三原学園,

3. 産学官連携実績

坪田博美

- ・広島県保健協会共同研究(2006-)広島県廿日市市・広島県広島市(気生藻類の分子系統学的研究)
- ・国立科学博物館共同研究(2014-) 茨城県つくば市(地衣共生藻類の分子系統学的研究)
- 4. セミナー・講義・講演会講師等

坪田博美

- ·SSH事業講師. 安田女子中学高等学校. 2014年度. 広島市.
- ・SPP事業講師.「中高生の科学部活動振興プログラム」. AICJ中学・高等学校科学チャレンジ 同好会. 2014年度. 宮島, 廿日市市宮島町.
- ・鈴峯女子短期大学野外実習. 宮島の植物と自然の解説. 2014年10月5日. 廿日市市宮島町.
- ・新・みやじま紀行講師, 2014年5月21日, NPO法人おおのの風, 廿日市市宮島町,
- 7. その他

○国際共同研究

坪田博美

- ・Estebanez博士(スペイン・マドリッド自治大学)との蘚苔類の分子系統学的研究
- ・Mohamed教授(ブルネイ・ブルネイ大学)およびYong Kien Thai博士(マレーシア・マラヤ大

- 学) との蘚類の系統・分類学的研究
- ・Seppelt教授(オーストラリア・タスマニア博物館)およびDalton氏(オーストラリア・タスマニア大学)とのオーストラリアの蘚苔類に関する分子系統学的研究

○特記事項

1. 受賞

該当なし

- 2. 新聞・メディア報道
 - ・施設紹介. NHK趣味の園芸 (2月号) 2015年1月.
- 3. おもな施設利用・活動

教育・研修・講演会

- ・実習. 生物科学基礎実験Ⅲ(海藻実習). 2014年3月30-4月3日. (潮位等の関係で一部前年度 末に実施)
- ・実習. 教養ゼミ (植物コース). 2014年4月26-27日, 8月4-7日.
- ・野外観察会・講演会. 新・みやじま紀行. NPO法人おおのの風. 2014年5月21日.
- ・野外教育打合せ、広島女学院中高等学校、2014年6月6日、
- ·研修·野外教育. 宮島幼稚園保護者会. 2014年7月28-29日.
- ・野外研究. 広島県山岳連盟. 2014年9月24日.
- · 実習. 鈴峯女子短期大学. 2014年7月5-6日, 10月4-5日.
- ·野外教育. 広島大学附属三原小学校. 2014年10月27日.
- · 実習. 広島大学教育学部·教育学研究科. 2014年11月6日.
- ・野外観察,施設見学.広島城北学園ワンダーフォーゲル部.2014年11月8-9日.
- · 実習. 宮島生態学実習(補講). 2014年12月13-14日.
- ・実習. 広島大学総合科学部・総合科学研究科. 2014年12月20-21日.
- ・研修・野外教育. 西条農業高校. 2015年3月21-22日.

学会 • 調査 • 研究

- ・研究調査. Gradstein博士 (パリ自然史博物館). 2014年4月4-5日. 研究試料採集.
- ・研究調査. 広島大学総合科学部・広島大学生物圏科学研究科. 2014年6月25日, 8月4・12日, 10月2日, 12月2日. ヤマモガシ調査等.
- ・研究打合せ、広島県環境保健協会、2014年7月4日、
- ・打合せ. 広島市植物公園. 2015年2月3日.
- ・野外調査.環境省・宮島パークボランティアほか.2015年2月21日.
- •研究調查,施設見学.福山市立大学.2015年3月21日.

施設見学・施設利用・野外観察・その他

- ・野外観察・施設見学. 宮島七恵比寿の会. 2014年4月8日.
- ・施設見学. HARTアドベンチャセンター. 2014年4月30日, 5月4・5日, 10月27日
- ・施設利用. ウォンツ・メディカルウォーキング大会. 2014年5月11日.
- ・野外観察・施設見学. 朱樹会. 2014年5月21日.

- ・打合せ. 環境省. 2014年5月21日.
- ・打合せ. 廿日市市役所宮島支所. 2014年6月11・20・23日, 2015年1月14日, 2月10日, 3月30日
- ・打合せ. 近畿中国森林管理局広島森林管理署. 2014年6月26日, 2015年3月30日.
- ・野外観察会. 山口植物学会観察会. 2014年6月30日.
- ·打合せ. 三分一設計事務所. 2014年7月2日, 11月20日.
- ・打合せ他. 中国電力. 2014年7月10日, 2015年1月27日.
- ・打合せ. 宮島町観光協会. 2014年8月27日.
- ・施設見学, 研究室訪問. 信州大学学生. 2014年10月15日.
- ・施設見学・打合せ他. おおの自然観察の森. 2014年10月21日.
- ・打合せ. JR西日本. 2014年12月24日.
- ・野外観察・施設見学. 植物観察会. 2015年1月27日.
- ・施設見学・施設利用. 広島大学事務OB会. 2015年2月6-8日.
- ·取材. 中国新聞西広島支所. 2015年2月10·21日.
- ・打合せ. 廿日市市教育委員会. 2015年3月4日.

両生類生物学講座/附属両生類研究施設

「発生」研究グループ

平成26年度構成員:矢尾板芳郎(教授),高瀬 稔(准教授),中島圭介(助教), 田澤一朗(助教)

○研究活動の概要

本研究グループは「種々の両生類を材料として、遺伝学と発生学との新領域を開拓する。」ことを目標として、昭和42年6月に最初の両生類研究施設の研究部門として創設された。それから半世紀余りの間に古典的遺伝学的手法や実験動物学的手法に重きを置く研究から、次第に遺伝子工学的手法、細胞生物学的手法なども取り入れて、両生類の発生を分子生物学的視点から考察する研究へと進んでいる。研究内容は以下の通りである。

1. 生殖細胞特異的なゲノム編集法の開発

本研究は両生類においてTALENを用いて生殖細胞特異的にゲノム編集を行う方法を開発するものである。目的の遺伝子変異が発生異常、致死もしくは不妊を誘導する場合、F0でそのような異常が生じ、それ以降の解析が不可能になる。しかし、この方法が確立すれば発生、成長、変態、性成熟、生殖等に関わる重要な遺伝子でも破壊されたホモ個体をF1で得ることができるようになり、遺伝子の機能解析が可能となる。

germ plasmを含む卵割球が将来生殖細胞に分化していくことがアフリカツメガエルで知られている。germ plasmで発現しているDEADSouth遺伝子のmRNAの3'UTRを, 緑色蛍光蛋白質mRNAに付加すると緑色蛍光蛋白質のmRNAが生殖細胞に限局し、緑色蛍光蛋白質そのものも生殖細胞に局在するようになる。この遺伝子の3'UTRを付加したTALEN mRNAを受精卵に注入すればTALEN mRNAは生殖細胞に限局しTALENタンパク質も生殖細胞に局在すると考えられる。

メラニン色素の合成に関わるチロシナーゼを標的とするTALEN mRNAにこのDEADSouth遺伝子の3'UTRを付加してネッタイツメガエルの受精卵に通常より少量注入する。体細胞でチロシナーゼの破壊が行われない程度まで注入するmRNAの量を減少させるためである。実際に行なった結果、生殖細胞の標的遺伝子が高率(85-100%)に変異を起こしたが、体細胞では低率にしか、変異が起きていなかった。論文としてまとめ、投稿した。

2. TALEN法の効率を初期胚において向上させる方法の開発

母親由来ではない胚自身の遺伝子の発現が始まるmid-blastula transition (MBT)よりも早い発生段階で100%の変異導入効率を得られる方法を開発する。100%近く変異が導入されたF0で観察することで、標的遺伝子の変異による形質の予測が可能となる。その結果、性成熟を待ち、次の世代を得る必要がなくなり、研究のスピードが格段に上がることが期待できる。また、初期発生に重要な遺伝子でノックアウトが可能になる。

アフリカツメガエルの卵母細胞を取り出し、TALEN mRNAを注入する。プロゲステロンで成熟させ、他の雌の腹腔に戻して産卵させ、受精させる(host transfer法)。この方法ではTALENを卵母細胞で発現させ数日間おくことができるので、TALENの発現量が高いときに受精させることが可能となり、高い変異導入効率を得ることが可能であると考えられる。

この方法では卵母細胞でのTALENの発現量は非常に低いという問題があった。しかし、TALEN mRNAにこのDEADSouth遺伝子の3'UTRを付加することにより、mRNAを注入した卵母細胞で TALEN蛋白質の高レベルの発現が観察された。このDEADSouth遺伝子の3'UTRを付加する方法と

host transfer法を組み合わせる事により受精初期からTALEN蛋白質の高発現が可能になり、初期胚での高率な標的遺伝子破壊が可能となった。論文としてまとめ、投稿した。

3. ツメガエル幼生の変態での尾の退縮におけるouro遺伝子の機能の再評価

井筒らが2009年にPNASに発表した「Ouro蛋白質を発現している尾が免疫系により拒絶されて退縮する。」という説は斬新なものであった。当時は私たちの研究室等は「変態クライマックス初期では尾の筋細胞が直接に甲状腺ホルモンに反応してアポトーシスをおこし、後半はそれに加えて細胞外基質分解酵素が甲状腺ホルモン応答遺伝子として誘導され、細胞が足場を失い、死んでいき、尾が退縮する。」と考えていた。本研究は、この2つの説が共に正しいのか、またその時は、どちらの効果が大きいのかを明らかにすることを目的とする。

Ouro1遺伝子とouro2遺伝子のどちらか一方のノックダウンで変態時の尾の退縮が抑制されると報告されている。ouro1遺伝子とouro2遺伝子に対するTALENを作成して、そのmRNAをネッタイツメガエルの受精卵に注入し、それらを交配して多くのF1を得た。遺伝子解析によって、両アレルのouro遺伝子が破壊されている幼生を同定して、変態時の尾の変化を観察したが、何らかの遅延も見つらなかった。TALEN法でFoxnI遺伝子が破壊された先天性胸腺欠損症の幼生も作製したが、尾の退縮の異常は見出せなかった。

4. レチノイド処理による無尾両生類幼生の尾部切断部におけるホメオティック肢形成過程の解析

20年程前, 脊椎動物のホメオティック変異が報告された。インドの無尾両生類の幼生の尾部を切断しレチノイドで処理すると, 尾ではなく, 後肢の様な構造 (ホメオティック肢) が生じた。この現象は, 実験によく使われる種では再現されなかったので, その解析はあまり進んでいなかった。しかし我々は, 本邦で容易に入手可能な無尾両生類を用いてホメオティック肢形成の再現に成功し, 現在この現象を研究することが可能である。

ホメオティック肢形成過程は殆ど観察されていない。そこで我々は先ずその詳細を明らかにすることにした。ホメオティック肢は尾部切断端から形成される再生体の上側,下側,あるいはその両方に生じる細胞塊から発達することがわかった。また,尾の上側よりも下側からの発生頻度が高かった。これら両事象間には正の相関が認められ,過剰肢発生メカニズムが尾部の上下で完全には独立していないことが示唆された。

5. 性転換機構の解析: ツチガエルおよびトノサマガエルの生殖腺に対する環境化学物質およびエストロゲンの影響

両生類では性ホルモン処理により性転換が誘導されることが古くから知られている。しかし、そのメカニズムに関してはほとんど解明されていない。一方、内分泌かく乱作用を持つ環境化学物質が生殖腺や生殖細胞の分化に影響することが知られている。これまで、ツチガエル(Rana rugosa)を用いて環境化学物質投与による生殖腺および生殖細胞への影響を組織学的に解析してきた。今回、環境化学物質であるビスフェノールA(BPA)曝露によるツチガエル精巣卵形成過程における遺伝子発現について解析したところ、ビテロゲニン(Vtg)AI遺伝子と一部に高い相同性を持つ遺伝子の発現を確認した。

また、トノサマガエル (*Pelophylax nigromaculata*) 幼生へのエストロゲン曝露による雄から雌への性転換について再現性を確認した。

6. 両生類生殖腺分化機構の解析:ネッタイツメガエルの全雄幼生集団作製の試みと予想される 性決定機構

性転換機構や性分化機構を解析する場合、性に関して汎用性のある遺伝子マーカーが得られていない種においては、全て雄または全て雌からなる幼生集団が有用なツールになる。ネッタイツメガエル(Silurana tropicalis)幼生にエストロゲンを投与すると、ほとんどが雌からなる集団が得られることから、雄から雌への性転換が誘導されることが考えられる。性決定機構がZZ/ZW型の場合、その雌(遺伝的雄の性転換個体)を用いた戻し交配により、全雄幼生集団が得られることが期待される。しかし、これまでのHU系統を用いた戻し交配の結果、雄が有意に多い幼生集団は得られたが、ほぼ全てが雄からなる幼生集団は得られなかった。そこで今回、アイボリー系統を用いてエストロゲン投与および戻し交配を行ったところ同様の結果が得られた。従って、ネッタイツメガエルの性決定機構はXX/XY型である可能性が考えられた。今後、ネッタイツメガエル性決定機構をさらに詳しく解析するために、卵核二倍発生法によって得られる幼生の性比の解析、および性転換個体を識別するための遺伝子マーカーの開発などが必要である。

7. ネッタイツメガエルの肝臓と尾における甲状腺ホルモン受容体遺伝子発現に対する環境化学物質およびエストロゲンの影響

これまで、弱いエストロゲン作用を持つBPAが甲状腺ホルモンT3による尾の退縮および尾の甲状腺ホルモン受容体(TR)遺伝子発現に対して阻害作用を持つことが報告されている。また、尾以外の器官もTR遺伝子を発現していることが報告されている。両生類のライフサイクルにおける環境化学物質影響を考えると、幼生と成体に共通して存在するTR遺伝子発現器官に注目する必要があると考えた。そこで、幼生期および変態完了後の肝臓に着目し、甲状腺ホルモン作用に対するBPAおよび人工エストロゲンであるエチニルエストラジオール(EE2)の影響について調べた。最初に、尾と同様に幼生期の肝臓のTR・遺伝子発現はT3によって誘導されることを確かめた。次に、BPAまたはEE2によりその誘導が阻害され、尾に比べて顕著であることを確かめた。しかし、変態完了後の肝臓ではT3によるTR・遺伝子発現の誘導作用が認められなかったことから、TR遺伝子発現が見られる他の器官についてさらに解析する必要がある。

○発表論文

- 1. 原著論文
- ©K. Nakajima and Y. Yaoita (3/2015) Development of a new approach for targeted gene editing in primordial germ cells using TALENs in *Xenopus*. Biology Open, 4(3): 259-266.
- ©K. Nakajima and Y. Yaoita (2/2015) Highly efficient gene knockout by injection of TALEN mRNAs into oocytes and host transfer in *Xenopus laevis*.

 Biology Open, 4(2): 180-185.
- OH. Hanada, K. Kashiwagi, K. Suzuki, I. Tazawa, T. Yamamoto, A. Kashiwagi. Suppression of anuran metamorphosis by synthetic chemical compounds. Frogs: Genetic Diversity, Neural Development and Environmental Influences. Nova Science Publishers, Hauppauge, New York (6/2014)
- 2. 総説・解説 該当なし

○著書

該当なし

○取得特許

該当なし

○講演

- 1. 国際会議での招待講演
- © Keisuke Nakajima and Yoshio Yaoita "The role of the thyroid hormone receptor during *Xenopus* metamorphosis" 8th International Symposium on Amphibian and Reptilian Endocrinology and Neurobiology, Okazaki, Japan (2014, 11.7-9)
- 2. 国際会議での一般講演
- © Keisuke Nakajima and Yoshio Yaoita "The development of TALEN methods to enhance the mutation efficiency and to perform genome editing preferentially in germ cells using *Xenopus*." 15th International Xenopus Conference, Pacific Grove, CA, USA (2014, 8.24-28, 300)
 - Minoru Takase "A study on the sex-determination system in the frog *Silurana tropicalis*."8th International Symposium on Amphibian and Reptilian Endocrinology and Neurology (ISAREN), Okazaki, Japan, 7-9, Nov. 2014
- 3. 国内学会での招待講演 該当なし
- 4. 国内学会での一般講演
- ◎<u>中島圭介</u>・<u>矢尾板芳郎</u> 「致死遺伝子のノックアウト問題の解決を目指して: TALEN による 生殖細胞優先的標的遺伝子破壊法の開発」 第9回 XCIJ-MA・第8回ツメガエル研究会ジョ イント研究集会、相模原市(2014年11月)
- ◎<u>中島圭介・矢尾板芳郎</u> 「TALEN を用いたネッタイツメガエル生殖細胞優先的ゲノム編集技術 第 37 回日本分子生物学会, 横浜市(2014 年 11 月)
- ◎中島圭介・<u>矢尾板芳郎</u> 「TALEN による生殖細胞特異的ゲノム編集法の開発」 第85回日本動物学会,仙台市(2014年9月)
- ◎中井裕也・中島圭介・矢尾板芳郎 「ツメガエルにおける ouro 遺伝子ノックアウト」 第85回日本動物学会,仙台市(2014年9月)
- ◎<u>田澤一朗・矢尾板芳郎</u> 「ヤマアカガエルにおけるホメオティック肢形成過程」日本動物学会 第85回大会,仙台市(2014年9月11日)
- ○<u>柏木昭彦</u>・柏木啓子・<u>花田秀樹</u>・<u>鈴木賢一</u>・<u>鈴木 厚・古野伸明・田澤一朗・倉林 敦・中島</u> <u>圭介</u>・竹林公子・小林里美・竹中純子・杉原麻美・<u>山本 卓</u>・住田正幸 「高品質な近交系 ネッタイツメガエルを用いた生物学の研究」第 61 回日本実験動物学会総会,第 48 回日本実 験動物学会技術者協会総会 日本動物科学技術さっぽろ 2014, 札幌コンベンションセンター, 札幌市(2014 年 5 月)
- ○<u>柏木昭彦</u>・柏木啓子・<u>花田秀樹</u>・<u>鈴木賢一</u>・<u>鈴木 厚・古野伸明・田澤一朗・倉林 敦</u>・<u>中島</u> <u>圭介</u>・竹林公子・小林里美・竹中純子・杉原麻美・<u>山本 卓</u>・<u>住田正幸</u> 「重要な実験動物 ——ツメガエル」第85回日本動物学会,東北大学,仙台市(2014年9月)
- ○柏木昭彦・柏木啓子・花田秀樹・鈴木賢一・鈴木 厚・竹林公子・古野伸明・田澤一朗・倉林

<u>敦・中島圭介</u>・小林里美・竹中純子・杉原麻美・<u>山本</u>卓・<u>住田正幸</u> 「近交系ネッタイツ メガエルを用いた生命科学」第 37 回日本分子生物学会,パシフィコ横浜,横浜市(2014 年 11 月)

○各種研究員と外国人留学生の受入状況

- 1. 外国人留学生 該当なし
- 2. 外国人客員研究員 該当なし
- 3. 研究員 該当なし

○研究助成金の受入状況

1. 科学研究費補助金

矢尾板芳郎

基盤研究(C)「ノックアウト効率の改善による初代完全ノックアウト動物の作製技術開発」100 千円(研究分担者)

基盤研究(C)「TALEN による両生類変態の分子機構の解明 ~ほ乳類の出生は変態か~」2,080 千円 (研究代表者)

中島圭介

基盤研究(C)「ノックアウト効率の改善による初代完全ノックアウト動物の作製技術開発」1,900 千円(研究代表者)

基盤研究(C) 「TALEN による両生類変態の分子機構の解明 ~ほ乳類の出生は変態か~」200 千円 (研究分担者)

田澤一朗

基盤研究(C)「TALEN による両生類変態の分子機構の解明 ~ほ乳類の出生は変態か~」200 千円(研究分担者)

- 共同研究 該当なし
- 3. その他 該当なし

○学界ならびに社会での活動

1. 学協会役員・委員

中島圭介

・文部科学省第3期NBRP「ネッタイツメガエル」課題管理協力者

髙瀬 稔

·公益法人日本動物学会中国四国支部会計委員

- 2. セミナー・講演会開催実績 該当なし
- 3. 産学官連携実績 該当なし
- 4. セミナー・講義・講演会講師等

髙瀬 稔

平成26年度 国際生物科学オリンピックチューター教育(生物分野)1人参加(国際生物科学オリンピック代表選抜者)「両生類の解剖」広島大学理学研究科附属両生類研究施設,2014年5月24日

その他
 該当なし

○国際共同研究

<u>矢尾板芳郎</u>・<u>中島圭介</u>

・ヴァージニア大学 (米国) 研究テーマ:「ネッタイツメガエルの遺伝子変異作製について」

○特記事項

<u>矢尾板芳郎・中島圭介</u>

・原著論文「Highly efficient gene knockout by injection of TALEN mRNAs into oocytes and host transfer in *Xenopus laevis*. Biology Open, 4(2): 180-185.」がXenopus生物学の国際総合情報ホームページ(Xenbase)の表紙に採用された

○大学院教育

- 1. 大学院生の国内学会発表実績
- <u>◎中井裕也</u>・<u>中島圭介</u>・<u>矢尾板芳郎</u> 「ツメガエルにおける *ouro* 遺伝子ノックアウト」第 85 回 日本動物学会,仙台市(2014 年 9 月)
- 2. 大学院生の国際学会発表実績 該当なし
- 3. 修士論文発表実績 該当なし
- 4. 博士学位 該当なし
- 5. TAの実績

中井裕也:生物科学基礎実験, 生物学実験A

6. 大学院教育の国際化 ← 国際化への対応等 <u>矢尾板芳郎</u>・<u>中島圭介</u>・<u>田澤一朗</u> 発生遺伝学演習を英語化

「進化多様性・生命サイクル」研究グループ

平成26年度構成員:住田正幸(教授,施設長[10月まで]),鈴木 厚(准教授),

倉林 敦(助教), Islam Mohammed Mafizul (特任助教),

竹林公子(研究員),

Hasan Mahmudul(研究員[4月のみ]

特任助教[グローバルキャリアデザインセンター所属:5月より])

○研究活動の概要

本研究グループでは、分子生物学的手法や交雑実験を用い、両生類における種の多様性やゲノムの分子進化プロセスの究明を目的とした研究を推進している。さらに、人工繁殖と精子凍結保存による絶滅危惧種の効率的な保全方法の確立を目指した研究や、新たなモデル両生類となりうる透明ガエルの実験的アプリケーションの開発を進めている。また、両生類初期胚を用いた誘導因子による形態形成機構、誘導因子に対する細胞応答制御機構と幹細胞からの細胞分化機構、およびツメガエルの比較ゲノム解析に関する研究を展開している。さらに、英米ツメガエルリソース拠点との共同研究、国際ツメガエルデータベース拠点との連携を行い、国際的なリソース拠点ネットワークの形成を推進している。国際連携活動は、文部科学省ナショナルバイオリソースプロジェクトの一環として行なっており、この他にcDNAと全ゲノムBACライブラリーを含む遺伝子リソース整備、実験技術講習会などの研究サポート・教育サービスも展開している。平成26年度の研究内容は以下の通りである。

1.沖縄・鹿児島県産絶滅危惧種両生類の累代飼育

絶滅危惧両生類の域外保全を目的とし、これまでに人工繁殖・飼育下繁殖に成功した、沖縄・ 鹿児島県産絶滅危惧種両生類について累代飼育を継続している。これまでに、アマミイシカワガ エルについては、F2が得られているが、それ以外の種については、F1子孫までの樹立に留まって いる。今後もF2以降の子孫獲得と長期維持を目的に飼育を継続する予定である。姉妹種であるオ ットンガエル・ホルストガエルの交配後隔離の程度を明らかにするために、精子形成および減数 分裂の観察を行い、その結果両者間雑種子孫の精子形成と減数分裂像には異常が見られず、交配 後隔離はほとんど発達していないことが示唆された。

2.絶滅危惧種トラフガエルにおける集団構造の解明

バングラデシュでは乱獲等によりトラフガエルが野外で激減している。本種の保全を最終的な目標とし、バングラデシュ全域における本種群の遺伝的多様性と遺伝構造を明らかにすることを目的とした研究を実施し、本年度は集団解析用のマイクロサテライトマーカーを開発した。

3.バングラデシュ産トラフガエル類の交配後隔離

トラフガエルと最近本グループが記載したその近縁種 (ハマトラフガエル) 間の交配後隔離 (精子形成および減数分裂) を調査するため、繁殖子孫を維持し、性成熟を待った。今年度は性成熟まで至らなかった為、来年度以降に組織・核型解析を実施する。

4.絶滅危惧種における精子凍結保存法

絶滅危惧種の域外保全を行う上で、精子凍結保存は有効な手法である。昨年度から絶滅危惧種における精子凍結保存に関する研究を実施しているが、本年度もこれを継続した。

5.両生類皮膚粘液における細菌叢の解明

両生類の皮膚粘液には多様な細菌が存在し、様々な役割を果たしていると考えられるが、その細菌は生息場所や地域に依存するのか、あるいは種や系統に特異的なのかについてはほとんど知見がない。また、カエル・サンショウウオツボカビなどに耐性をもたらす細菌の存在が報告され、絶滅危惧保全の観点からも両生類皮膚粘液細菌叢の理解は重要である。両生類皮膚細菌叢国際プロジェクトに参加し、絶滅危惧種や外来種を中心に両生類皮膚粘液を採取し、上記の課題を明らかにする研究の実施を開始した。今後は環境DNA解析手法を用いて、日本産絶滅危惧両生類の皮膚に存在する細菌を明らかにして行く予定である。

6.透明ガエル「スケルピョン」の回復

ニホンアカガエルの黒 (グレーアイ)・虹色 (ブラックアイ) 色素細胞欠損二重突然変異体である,透明ガエル「スケルピョン」の表現型をもつ個体が秋頃に絶えた。この回復を図るため,グレーアイとブラックアイ劣性因子をもつ個体を用いて人工繁殖を行った。ブラックアイ・グレーアイの表現型を示す幼生が複数個体得られたが,そのほとんどが発生中に死亡した。これは,グレーアイとブラックアイ表現型個体を維持する為に連続した近親交配を行ってきたことが原因の可能性があり,スケルピョン回復の為には,繁殖時における野生個体の導入の必要性が示唆された。

7.フクラガエル糊粘液成分の解明

主にアフリカの乾燥地帯に分布するフクラガエルは、雌が大きく雄が小さいと言う性的二型を示し、また地中生活への適応から、前肢がとても短い。その結果、フクラガエルは雄が雌を腕で抱くという通常の抱接が難しい為、皮膚から糊を出し、その糊で接着することで抱接を行うという奇妙な繁殖生態を示す。この現象は60年前に知られていたが、これまでに糊物質が何であるかと言う点は不明であった。本研究では、糊物質とその対応遺伝子を明らかにすることを目的として研究を開始した。SDS PAGEの結果、糊粘液には多数の蛋白質が含まれ、還元・非還元状態で現れる蛋白質バンドの分子量が変化することが分かり、これらが糊物質候補と考えられた。現在、SDS PAGEで現れた蛋白質バンドを質量分析し、また、次世代シークエンサーにより、皮膚のRNA-Seqを行い、糊物質とその遺伝子の絞込みを行っている。

8.ヘビからカエルへの遺伝子水平伝播の系統地理学的起源の推定

捕食者であるヘビから被捕食者であるカエル類に水平伝播している奇妙な遺伝子(転移因子)を発見した。複数の大陸に分布する複数系統のカエル類について、この遺伝子の存在をサザンハイブリダイゼーションおよびPCR法で確認した所、この水平伝播は世界の多数の地域で、複数回独立に生じたことが示唆された。現在、世界多地域からヘビ・カエルサンプルを収集し、NGSを用いたアンプリコン解析によって、どの地域で、どのヘビ系統からどのカエル系統へ、何時頃水平伝播を生じたのか、と言う点についての解析を進めている。また、研究の過程で、ヘビからカエルだけでなく、ヘビからヘビへの水平伝播が生じた可能性も示唆された。

9. 神経誘導の保証機構に働くネットワークの解明

ヒト胎児先天異常の原因には大きく分けて環境要因と遺伝要因がある。同じ環境要因にさらされても重症化する場合,逆に症状が出ない場合などがあり,これは個々の遺伝要因が大きく関与することを示す。中枢神経系が環境要因・遺伝要因の変化に関わらず発生過程で確実に形成されるためには神経形成の保証機構が必要だと考えられ,保証機構の破綻が先天異常の発症につなが

る可能性が高い。竹林・鈴木は、FoxB1転写因子が関与する神経誘導の保証機構に着目し、FoxB1 と他の制御因子の協調作用を解析することで保証機構に重要な遺伝子ネットワークを明らかにすることを目的としている。これまでに、FoxB1転写因子と同様にBMPシグナルを抑制して神経を誘導するBiz転写因子が、複数の神経マーカーの発現においてFoxB1転写因子と協調作用を示すことがわかった。さらにFoxB1転写因子とは異なり、Biz転写因子とBMPシグナル伝達因子Smad1/5/8との結合が認められないため、両転写因子のBMPシグナルに対する作用点が異なる可能性が高いことが示唆された。現在、Biz転写因子の単独過剰発現によるBMPシグナル伝達因子Smad1/5/8各因子の発現レベル変化、タンパク質間の結合変化などについて培養細胞を用いて生化学的に解析をおこなっている。

10. 誘導因子の働きにより背腹と頭尾のパターン形成が調和する機構

初期発生過程において、背腹と頭尾の体軸が形成されると初めて胚の3次元座標が精確に決まり、基本的な体の体制(ボディープラン)が確立する。近年の研究から、様々な誘導因子によって体軸形成が制御されることが知られており、背腹軸は腹側化因子(Bone Morphogenetic protein, BMP)によって、頭尾軸は後方化因子(Wnt・FGF・レチノイン酸・Activin/Nodal)によって、それぞれ決定されている。胚が正常に発生するためには、背腹と頭尾の体軸形成が互いに調和しながら形成される必要があるが、この調和機構については、ほとんど理解が進んでいなかった。また、数学者Thompsonをはじめとする研究者によって、生物の多様な形態を、背腹軸と頭尾軸の調和機構の変化で説明しようとする試みがなされている。最近、当研究グループの鈴木・竹林の発見を含めて、体軸形成の調和機構に関する知見が得られつつある(Fuentealba et al. Cell 131, 980-993, 2007; Eivers et al. Science Signaling 4, ra68, 2011; Takebayashi-Suzuki et al. Developmental Biology 360, 11-29, 2011)。本研究では、アフリカツメガエル胚を用いた機能スクリーニングにより新たに単離したBiz(BMP inhibitory zinc-finger)が、背腹軸と頭尾軸の制御に関わることから、Bizの機能解析を通じて体軸形成の調和機構を明らかにした。

11. 誘導因子に対する細胞応答の制御と尾部オーガナイザー形成

受精卵を構成する個々の細胞は,受容した誘導因子に応答して,その分化運命を決定していく。 つまり、発生初期には幹細胞として様々な細胞に分化する能力を持ち、誘導因子に対する応答能 力も高いが、発生が進行するにつれて応答能力が制限される。しかしながら、多能性の幹細胞状 態から細胞応答が次第に制限されていく機構は明確ではない。鈴木・竹林は、この点に着目して 中胚葉や神経誘導の制御に働くTGF-betaシグナル伝達経路を抑制する遺伝子群をスクリーニング し, Oct-25転写因子を単離することに成功している (Takebayashi-Suzuki et al. Mechanisms of Development 124, 840-855, 2007)。その後の解析から,Oct-25はBMPシグナルを抑制して神経を誘導 するだけでなく、Activin/NodalやFGFのシグナルも調節することが可能で、より広域なシグナルに 対する細胞応答を制御することが示されている。今年度は、誘導因子に対する細胞応答をOct-25 が制御する機構を明らかにすることを目的として、Oct-25が発現を制御する遺伝子の機能解析を 行なった。マイクロアレイを用いた解析からFoxB1を既に単離しているので (Takebayashi-Suzuki et al. Developmental Biology 360, 11-29, 2011), 未解析の遺伝子に着目して機能解析を進めた結果, 初 期胚で過剰発現すると2次尾部構造を誘導する遺伝子を同定することができた。誘導された2次尾 部構造におけるマーカー遺伝子発現を調べると,体節(筋肉)持たない尾部構造が形成されてお り、同定した新規の尾部誘導因子は、尾部オーガナイザー形成に関与する一方で、尾部オーガナ イザー領域における細胞応答を部分的に抑制している可能性が示唆された。尾部オーガナイザー 領域は、幹細胞様の性質を長期に渡って維持することで新しい細胞を生み出し、尾部を伸長させ

ることが知られている。したがって、今回同定した新規尾部誘導因子は、幹細胞の維持、および 誘導因子に対する細胞応答能力を調節・制限する上で重要な役割を果たしていると考え、解析を 進めている。

12. アフリカツメガエルのゲノム解析、および異質倍数体のゲノム進化

アフリカツメガエル (Xenopus laevis) は、医学生物学研究において長年使われており、膨大な研究成果を生んできた。近年のゲノム科学の進展に伴い、アフリカツメガエルのゲノムを解読して、これまでの研究成果を活用・展開させる機運が高まり、米国エネルギー省・カリフォルニア大学・テキサス大学、および東京大学・遺伝学研究所・広島大学などによる国際共同研究が開始されている。アフリカツメガエルは異質4倍体であり、本研究により初めて動物の異質倍数体ゲノムが解読されることになる。既にゲノムが解読された2倍体ネッタイツメガエル (Xenopus (Silurana) tropicalis) との比較解析を行い、ゲノム・遺伝子進化のメカニズムが明らかになりつつある。両生類研究施設では、当研究グループの鈴木がプロジェクト開始当時からアフリカツメガエルゲノムBACクローンの複製作業・凍結保存・管理を行なっている。昨年度は、オリジナルプレート(350枚)からの複製・凍結保存作業(計1400枚;基礎生物学研究所IBBPセンターにおける共同作業)と海外リソース拠点への分譲作業(350枚)を行なった。今年度は、全ゲノムのカバー率を上げるために更に追加分150枚のオリジナルプレートからの複製・凍結保存作業(計450枚)を行なった。また、国際共同プロジェクトの推進において、国際スカイプビデオ会議のオーガナイズおよびゲノム解析に必須な遺伝子モデル改善作業等において中核的な役割を果たしている。

13.TGF-betaシグナル伝達経路の比較ゲノム解析とその進化

TGF-betaシグナル伝達経路は、Activin/Nodal/TGF-beta経路とBMP経路の2つに大別され、胚発生初期の中胚葉誘導、内胚葉形成、神経誘導や様々な組織・器官の形成に働く重要なシグナル伝達経路である。細胞内外において数多くの調節因子・シグナル伝達因子が同定されており、異質倍数体化を起こして4倍体となったアフリカツメガエルと祖先型の2倍体ゲノムを持つネッタイツメガエルとの比較ゲノム解析を行なうことで、ゲノム倍加に伴うシグナル伝達経路の変化や進化、環境適応など両生類固有の生存戦略の発達などにおいて重要な知見が得られると考えられる。当研究グループの鈴木は、TGF-betaシグナル伝達経路の構成因子を幅広く調べ、Nodal3遺伝子クラスター、Vg1遺伝子クラスター、ChordinなどのBMPアンタゴニスト遺伝子、Activin受容体遺伝子、Smadシグナル伝達因子に非常に興味深い変化を見出している。比較対象として、FGFシグナル伝達経路の構成因子についても解析を進めており、TGF-betaシグナル伝達経路にユニークな変化が起きていることが、より明確になりつつある。

14. 国際ツメガエルリソース拠点ネットワークの構築

実験モデル動物として優れた特徴を持つネッタイツメガエルおよびアフリカツメガエルのバイオリソースを国際的な枠組みで保存・提供するために、および両生類研究施設が国際的に貢献するために、当研究グループの鈴木が中心となり、両生類研究施設と英国・米国のツメガエルリソース拠点の国際連携を行なっている。特に、ネッタイツメガエルについては、文部科学省ナショナルバイオリソースプロジェクト(NBRP)の平成24年度新規採択課題としてサポートを受けており、鈴木・竹林は、国際ネットワークを活かした遺伝子リソースの整備・ネッタイツメガエル実験技術講習会の主催などのサービスを充実させている。昨年度は、米国ウッズホールで開催された研究室主宰者会議において、英米のリソース拠点とともに両生類研究施設NBRP事業の招待講演を行い、広島大学の貢献と拠点ネットワークの連携状況を説明した。今年度はさらに発展させて、

全世界のツメガエル研究者が一同に集う国際ツメガエル会議(米国カリフォルニア州アシロマで開催)において招待講演を行なった。特に、NBRP事業に止まらず、現在中核的な貢献を果たしているツメガエルゲノム解析におけるBACライブブラリーの国際共有・提供体制等についても紹介した。また、国際ツメガエル会議中に行なわれた、国際ツメガエルゲノムプロジェクト推進会議、国際ツメガエルゲノムプロジェクト/国際ツメガエルデータベース(Xenbase)連携会議、Xenbase ユーザー会議の3つのサブ会議に出席し積極的な意見やデータを提供して議論を行なった。日英米月例ビデオ会議(両生類研(鈴木)—英国リソース拠点(Guille博士)—米国リソース拠点(Horb博士))も継続し、日英米リソース拠点間の連携をさらに強化した。特に、今年度は日英米リソース拠点に国際ツメガエルデータベース拠点(Xenbase)を加えた4拠点国際ビデオ会議も開催して連携を加速させた。拠点間では、プラスミドDNAの共有化・共同解析ならびにカエル系統の共同解析も進行している。これらの活動が評価され、今年度から鈴木が国際ツメガエルデータベース(Xenbase)ツメガエル遺伝子命名委員会(Xenopus Gene Nomenclature Committee)委員および英国ツメガエルリソース拠点(EXRC)運営会議(Strategic Board Meeting)委員に招聘されている。

○発表論文

1. 原著論文

- Uno Y., C. Nishida, C. Takagi, T. Igawa, N. Ueno, <u>M. Sumida</u>, and Y. Matsuda (2015) Extraordinary diversity in the origins of sex chromosomes in anurans inferred from comparative gene mapping. Cytogenet. Genome Res., (in press)
- Igawa T., S. Komaki, T. Takahara, and M. Sumida (2015) Development and Validation of PCR-RFLP Assay to Identify Three Japanese Brown Frogs of The True Frog Genus *Rana*. Curr. Herpetol., 34: 89-94.
- Igawa T., M. Nozawa, M. Nagaoka, S. Komaki, S Oumi, T Fujii, and M. Sumida (2015) Microsatellite Marker Development by Multiplex Ion Torrent PGM Sequencing: A Case Study of the Endangered *Odorrana narina* Complex of Frogs. J. Hered., 106: 131-137.
- Kurniawan, N., T. H. Djong, T. Maideliza, A. Hamidy, M. Hasan, T. Igawa and M. Sumida (2014) Genetic divergence and geographic distribution of frogs in genus Fejervarya from Indonesia from mitochondrial 16S rRNA gene analysis. Treubia, 41: 1-16.
- - Shan, X., Y. Xia, R. Kakehashi, <u>A. Kurabayashi</u>, F.-D. Zou, X.-M. Zeng (2014) Complete mitochondrial genome of *Amolops mantzorum* (Anura: Ranidae). Mitochondrial DNA: 1-3.
- ©Haramoto, Y., T. Oshima, <u>S. Takahashi</u>, M. Asashima, Y. Ito, <u>A. Kurabayashi</u> (2015) Complete mitochondrial genome of "*Xenopus tropicalis*" Asashima line (Anura: Pipidae), a possible undescribed species. Mitochondrial DNA 25: 1-3.
- 総説・解説
 該当なし

○著書

該当なし

○取得特許

該当なし

○講演

- 1. 国際会議での招待講演
- ◎ Atsushi Suzuki, Akihiko Kashiwagi and Masayuki Sumida"National BioResource Project for Xenopus" 15th International Xenopus Conference 2014年8月24-28日 Asilomar Conference Center in Pacific Grove, California.
- 2. 国際会議での一般講演

Kimiko Takebayashi-Suzuki, Hidenori Konishi, Hitoshi Yoshida, Maya Okada, <u>Atsushi Suzuki</u> "Establishment of vertebrate body plan via coordinated regulation of dorsal-ventral and anterior-posterior patterning during early *Xenopus* embryogenesis" 15th International *Xenopus* Conference 2014年8月24-28日 Asilomar Conference Center in Pacific Grove, California.

3. 国内学会での招待講演

<u>鈴木 厚</u>「ナショナルバイオリソースプロジェクト・ネッタイツメガエル」 第47回日本発生生物学会・日本ツメガエル研究会総会 (2014年5月 名古屋) <u>鈴木 厚</u>「ナショナルバイオリソースプロジェクト・ネッタイツメガエル」 第9回XCIJ-MA・第8回日本ツメガエル研究会ジョイント研究集会 (2014年11月 相模原) <u>倉林 敦</u>「非モデル両生類の利用可能性:透明ガエルを中心に」日本実験動物技術者協会平成 26年度関西支部秋季広島大会 (2014年11月 サテライトキャンパスひろしま 広島)

- 4. 国内学会での一般講演
 - Mahmudul Hasan, June-Shiang Lai, <u>Masayuki Sumida</u> 「Morphological and molecular comparisons of two-striped grass frogs(Anura: Ranidae) from Bangladesh and Taiwan.」日本爬虫両棲類学会 第53 回大会 2014年11月8-9日 神戸山手大学 神戸
- ◎Nasrin Sultana, Takeshi Igawa, Masafumi Nozawa, <u>Mohammed Mafizul Islam</u>, Mahmudul Hasan, Mohammad Shafiqul Alam, Md. Mukhlesur Rahman Khan, <u>Masayuki Sumida</u>

 「Fine scale genetic divergence among Hoplobatrachus tigernus from Bangladesh and neighboring countries elucidated by mitochondrial genes and microsatellite markers.」日本爬虫両棲類学会 第53

 回大会 2014年11月8-9日 神戸山手大学 神戸
- ◎渡辺 愛・井川 武・<u>柏木昭彦・鈴木 厚・倉林 敦</u>・藤井 保・<u>住田正幸</u> 「次世代モデルリソース・ネッタイツメガエル7系統における近交度及び遺伝的関係」 日本爬虫両棲類学会 第53回大会 2014年11月8-9日 神戸山手大学 神戸
- ◎ Mohammed Mafizul Islam, Ryosuke Kakehashi, Shohei Oumi, Seiki Katsuren, Atsushi Kurabayashi, Masayuki Sumida 「Cryopreservation of sperm using endangered and near-threatened frogs from the Ryukyu Archipelago: an ex situ conservation effort.」日本爬虫両棲類学会 第53回大会 2014年11月8-9日 神戸山手大学 神戸
 - 小巻翔平・井川 武・林思民・東城幸治・Min Mi-Sook・<u>住田正幸</u>「東アジア産トノサマガエル 種群の遺伝子浸透」日本爬虫両棲類学会 第53回大会 2014年11月8-9日 神戸山手大学 神戸
- ◎<u>倉林</u> 敦・住田正幸・大島一彦・Miguel Vences「ヘビからカエルへの遺伝子水平伝播:発見の 経緯と発生頻度の地理的相違」日本爬虫両棲類学会 第53回大会 2014年11月8-9日 神戸山手

大学 神戸

- Atsushi Suzuki and Kimiko Takebayashi-Suzuki "Establishment of vertebrate body plan via coordinated regulation of dorsal-ventral and anterior-posterior patterning during early *Xenopus* embryogenesis" 第 47回日本発生生物学会 2014年5月27-30日 愛知県名古屋市
- 吉田和史・岡田麻耶・竹林公子・上野直人・<u>鈴木 厚</u>「神経形成に関わるXOct-25転写因子の下 流因子の解析」第38回日本分子生物学会年会 2014年11月25-27日 神奈川県横浜市
- 竹林公子・小西秀典・吉田和史・岡田麻耶・<u>鈴木 厚</u>「胚発生初期に背腹と頭尾のパターン形成が調和するしくみ」日本動物学会中国四国支部・県例会 2015年3月3日 広島県東広島市
- 吉田和史・岡田麻耶・竹林公子・上野直人・<u>鈴木 厚</u>「モルフォゲンシグナルの統合に働く新しい尾部オーガナイザー因子の同定と解析」日本動物学会中国四国支部・県例会 2015年3月3日 広島県東広島市

○各種研究員と外国人留学生の受入状況

1. 外国人留学生

博士後期課程 文部科学省国費留学生 (Sultana Nasrin、バングラデシュ)

- 2. 外国人客員研究員 該当なし
- 3. 研究員 該当なし

○研究助成金の受入状況

1. 科学研究費補助金

基盤研究(B)「絶滅危惧両生類における遺伝的多様性評価と保全のための包括的研究」 3.510千円(研究代表者 住田正幸)

- 挑戦的萌芽研究「光る透明ガエルの作出:非モデル両生類への遺伝子導入法の確立とNGSによる発現解析」1,040千円(研究代表者住田正幸)
- 基盤研究(B)「ヘビからカエルへの遺伝子水平伝播:起源系統と発生地域の解明および媒介生物の特定」5,070千円(研究代表者 倉林 敦)
- 挑戦的萌芽研究「フクラガエルが生殖行為に用いる「糊状物質」の特性と成分の解明および人工繁殖の試み」1,430千円(研究代表者 倉林 敦)
- 基盤研究(C)「神経誘導の保証機構に働くネットワークの解明」1,040千円 (研究代表者 竹林公子, 研究分担者 <u>鈴木 厚</u>)
- 2. 共同研究
 - 鈴木 厚 平成26年度基礎生物学研究所 共同利用研究 個別共同利用研究

「Xenopus laevis ゲノムプロジェクト完成に向けたFISH解析およびBACライブラリーの効率的な利用に向けた検討」

3. 補助金

文部科学省第3期NBRP「ネッタイツメガエルの近交化・標準系統の樹立・提供」中核機関 (H26年度) 11,410千円 (課題代表者 住田正幸 11月以降 柏木昭彦)

○学界ならびに社会での活動

1. 学協会役員・委員

住田正幸

- · 生物遺伝資源委員会委員(国立遺伝学研究所)
- ・ナショナルバイオリソースプロジェクト運営委員会委員長会議委員
- ・文部科学省第3期NBRP「ネッタイツメガエルの近交化・標準系統の樹立・提供」 課題管理者(10月まで)
- ・国際両生爬虫類学会(World Congress of Herpetology) 執行委員

鈴木 厚

- ・文部科学省ナショナルバイオリソースプロジェクト 課題管理協力者
- ・日本ツメガエル研究集会 組織委員
- ・国際ツメガエルデータベース(Xenbase) ツメガエル遺伝子命名委員会(*Xenopus* Gene Nomenclature Committee)委員
- ・英国ツメガエルリソース拠点(EXRC) 運営会議(Strategic Board Meeting)委員
- ・国際誌論文レビューサービス:5誌7件 (Developmental Biology, PLOS ONE, International Journal of Developmental Biology, Zoological Science, Proceedings of the Japan Academy, Series B)

倉林 敦

- ・文部科学省第3期NBRP「ネッタイツメガエル」課題管理協力者
- ・国際誌論文レビューサービス: 2誌2件 (BMC Research Notes, Amphibia-Reptilia)

竹林公子

- ・文部科学省ナショナルバイオリソースプロジェクト 課題管理協力者
- 2. セミナー・講演会開催実績
 - <u>住田正幸・倉林 敦</u> 細胞のかたちと機能プロジェクト研究センター2014年度第1回セミナーの 開催 講演者: Miguel Vences 教授 (ブラウンシュバイク工科大学・ドイツ) 2014年4月10日
 - <u>鈴木 厚</u>・竹林公子 細胞のかたちと機能プロジェクト研究センター2014年度第4回セミナーの 開催 講演者:三川 隆 教授 (University of California, San Francesco) 2014年10月6日
 - <u>鈴木 厚</u> 細胞のかたちと機能プロジェクト研究センター2014年度第8回セミナーの開催 講演者: 田崎 啓 博士 (Center for Regenerative Therapies Dresden, Technische Universitat Dresden, Germany) 2014年12月22日
 - <u>倉林</u> 敦 細胞のかたちと機能プロジェクト研究センター2014年度第9回セミナーの開催 講演者: Miguel Vences 教授 (ブラウンシュバイク工科大学・ドイツ) 2015年3月6日

3. 産学官連携実績

第61回日本実験動物学会総会,第48回日本実験動物学会技術者協会総会 日本動物科学技術さっぽろ2014におけるナショナルバイオリソースプロジェクト(NBRP)ポスター展示 「高品質な

近交系ネッタイツメガエルを用いた生物学の研究」<u>柏木昭彦</u>・柏木啓子・<u>花田秀樹</u>・<u>鈴木賢</u>
一・<u>鈴木 厚</u>・<u>古野伸明・田澤一朗・</u>倉林 敦・<u>中島圭介</u>・竹林公子・小林里美・竹中純子・ 杉原麻美・山本 卓・住田正幸(2014年5月,札幌コンベンションセンター,札幌市)

- 第85回日本動物学会仙台大会におけるナショナルバイオリソースプロジェクト(NBRP)ポスター展示 動物学ひろば「重要な実験動物―ツメガエル」<u>柏木昭彦</u>・柏木啓子・<u>花田秀樹</u>・<u>鈴木厚・古野伸明・田澤一朗・倉林敦・中島圭介</u>・竹林公子・小林里美・竹中純子・杉原麻美・山本卓・住田正幸(2014年9月,東北大学,仙台市)
- 第37回日本分子生物学会におけるナショナルバイオリソースプロジェクト(NBRP)ポスター展示 「近交系ネッタイツメガエルを用いた生命科学」<u>柏木昭彦</u>・柏木啓子・<u>花田秀樹</u>・<u>鈴木</u> <u>賢一</u>・<u>鈴木 厚</u>・竹林公子・<u>古野伸明</u>・<u>田澤一朗</u>・<u>倉林 敦</u>・<u>中島圭介</u>・小林里美・竹中純子・杉原麻美・山本 卓・住田正幸 (2014年11月, パシフィコ横浜, 横浜市)
- 4. セミナー・講義・講演会講師等

鈴木 厚

- ・施設訪問者見学者対象 NBRPオープンラボの概要説明 16件
- ・広島県立教育センター主催「第18回生物教材バザール」教材の提供および解説 (2014年5月 東広島)
- ・「ゲノム・遺伝子から見た発生の仕組み~ゲノム学・発生学が支える私たちの健康~ 兵庫県赤穂市立有年中学校「理科おもしろ実験教室」における講演,およびツメガエル卵受 精実験等の生物実験教室開催(2014年7月 赤穂)
- ・「両生類を用いた中胚葉誘導・神経誘導の研究と再生医学への応用」名古屋大学医学部にお ける講義 (2014年12月 名古屋)

倉林 敦

- ・「両生類系統学研究2題:パプアヒメアマガエル類の分布拡大ルートについての新仮説・ヘビ からカエルへの遺伝子水平伝播」名古屋市立大学
- ・第106回 システム自然科学研究科セミナー および 第33回 生物多様性研究センター セミナー (2014年7月 名古屋市立大学 名古屋)

竹林公子

- ・施設訪問者見学者対象 NBRPオープンラボの概要説明 16件
- ・広島県立教育センター主催「第18回生物教材バザール」教材の提供および解説 (2014年5月 東広島)
- 5. その他

○国際共同研究

住田正幸

- ・バングラデシュ農業大学(学部間協定締結校) 研究テーマ:「バングラデシュのカエル類の種多様性と遺伝的多様性に関する研究」
- ・国立台湾師範大学台湾 研究テーマ:アジアの両生類の多様性

鈴木 厚

・米国エネルギー省、カリフォルニア大学、テキサス大学ほか 研究テーマ:「アフリカツメガエルゲノムプロジェクト」

- ・英国ポーツマス大学,英国ガードン研究所および米国ウッズホール海洋生物学研究所 研究テーマ:「ネッタイツメガエルリソースの系統解析」
- ・英国ポーツマス大学および米国ウッズホール海洋生物学研究所 研究テーマ:「国際ツメガエルリソースの国際拠点形成」

倉林 敦

・ブラウンシュバイク工科大学 (ドイツ)・ビショップ博物館 (アメリカ)・南オーストラリア 博物館 (オーストラリア)

研究テーマ:ヘビからカエルへの遺伝子水平伝播

・ブラウンシュバイク工科大学(ドイツ)・コネチカット大学(アメリカ)・ノースウェスト大学(南アフリカ)

研究テーマ:フクラガエルが生殖行為に用いる糊状物質の解明

・ブラウンシュバイク工科大学(ドイツ)

研究テーマ:両生類皮膚粘液に存在する細菌類の進化と分布の解明

・ビショップ博物館

研究テーマ:パプアヒメアマガエルの種インベントリー

· 中国科学院成都生物研究所

研究テーマ:無尾類のミトコンドリアゲノムの進化

竹林公子

・英国ポーツマス大学および米国ウッズホール海洋生物学研究所 研究テーマ:「国際ツメガエルリソースの国際拠点形成」

○特記事項

鈴木 厚

•名古屋大学医学部 非常勤講師 (発生学)

鈴木 厚・竹林公子

・近畿大学工学部 学部生に対するツメガエル受精実験と講義の指導(2014年5~8月)

<u>鈴木 厚・柏木昭彦・古野伸明</u>・柏木啓子・<u>花田秀樹・田澤一朗・倉林 敦・中島圭介</u>・竹林 公子・小林里美・杉原麻美・竹中純子・宇都武司・難波ちよ・[外部講師:荻野 肇・越智陽城] ・ナショナルバイオリソースプロジェクト ネッタイツメガエル実験技術講習会 開催 (2015年3月)

倉林 敦

・TV番組写真提供・取材協力:2件(テレビ朝日『怒り新党』,テレビ東京『テレビ東京 あり えへん∞世界』)

○大学院教育

- 1. 大学院生の国内学会発表実績:5件
- Nasrin Sultana, Takeshi Igawa, Masafumi Nozawa, Mohammed Mafizul Islam, Mahmudul Hasan, Mohammad Shafiqul Alam, Md. Mukhlesur Rahman Khan, Masayuki Sumida

 Fine seels genetic divergence among Henlehetzschus tigerrus from Pangledech and neighboring.

「Fine scale genetic divergence among Hoplobatrachus tigernus from Bangladesh and neighboring countries elucidated by mitochondrial genes and microsatellite markers.」 日本爬虫両棲類学会 第53 回大会 2014年11月8-9日 神戸山手大学 神戸

◎<u>渡辺 愛</u>・井川 武・<u>柏木昭彦</u>・<u>鈴木 厚</u>・<u>倉林 敦</u>・藤井 保・<u>住田正幸</u> 「次世代モデルリソース・ネッタイツメガエル7系統における近交度及び遺伝的関係」 日本爬虫両棲類学会 第53回大会 2014年11月8-9日 神戸山手大学 神戸

- <u>小巻翔平</u>・井川 武・林思民・東城幸治・Min Mi-Sook・<u>住田正幸</u>「東アジア産トノサマガエル 種群の遺伝子浸透」
- <u>吉田和史</u>・岡田麻耶・竹林公子・上野直人・<u>鈴木 厚</u>「神経形成に関わるXOct-25転写因子の下 流因子の解析」第38回日本分子生物学会年会 2014年11月25-27日 神奈川県横浜市
- <u>吉田和史</u>・岡田麻耶・竹林公子・上野直人・<u>鈴木 厚</u>「モルフォゲンシグナルの統合に働く新しい尾部オーガナイザー因子の同定と解析」日本動物学会中国四国支部・県例会 2015年3月3日 広島県東広島市
- 2. 大学院生の国際学会発表実績 該当なし
- 3. 修士論文発表実績:1名 渡辺愛子
- 4. 博士学位:2名 小巻翔平・掛橋竜祐
- 5. TAの実績:4名 渡辺愛子・坂本詩織・吉田和史・岡田麻耶
- 6. 大学院教育の国際化 ← 国際化への対応等 該当なし

「遺伝情報・環境影響」研究グループ

平成26年度構成員:柏木昭彦(特任教授),古野伸明(准教授),三浦郁夫(准教授), 花田秀樹(助教),柏木啓子(研究員)

○研究活動の概要

本研究グループの両生類を用いた研究活動は以下の通りである。(1)ネッタイツメガエルの近交化・標準系統の樹立・提供,(2)化学物質の影響,(3)卵形成および卵成熟機構の解明,(4)性決定機構の解明,(5)精子の凍結保存法開発

1. NBRP事業 ネッタイツメガエルの近交化・標準系統の樹立・提供

両生類研究施設は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構(AMED)主催のナショナルバイオリソースプロジェクト(NBRP)事業に参画、良質なネッタイツメガエルを研究者や教育関係者に提供している。ネッタイツメガエルは前途有望な次世代のモデル動物で、アフリカツメガエルにはない注目に値する特徴を備えている。科学界に登場してからの日は浅いため、実験動物としては開発途上の状態にある。NBRP事業の目的は、ネッタイツメガエルを標準モデル動物として確立すること、および実験用リソースとしての価値を高めることである。兄妹交配による近交化が順調に進んでいることはマイクロサテライトマーカー解析から明らかになっている。品質改良を重ねた結果、Nigerian H、GoldenおよびIvory Coastはすでに標準系統としての十分に優れた特質を有している。この事業は、ネッタイツメガエルの現有数およそ8000匹、毎年の提供数が7000匹を越えるまでに順調に成長している。ゲノム編集法やトランスジェニック法による遺伝子組換えネッタイツメガエルを作出し、環境化学物質のスクリーニング法の開発等にも役立てている。また、精子凍結のための簡便で確実な方法の開発や、雌性発生2倍体法による同質遺伝子個体群の作製にも着手している。

2. 生活関連物質の影響 実験にはツメガエル類が不可欠

ごく微量の日用品や医薬品が多くの国々の水系で検出されており、ヒトや野生生物への健康被害が懸念されている。それらの物質の中には脂質性の非常に高いものもあり、各種の臓器・組織内での濃縮を指摘する研究者も多い。また半減期の長い物質の場合、長期にわたる影響も考えられる。

私達はツメガエル類の変態アッセイを用いて甲状腺ホルモン作用をかく乱する生活関連物質のためのin vivoおよびin vitroスクリーニングシステムを開発している。そのために、LC50値を求め、さらにはオタマジャクシの生存・成長・変態への影響や甲状腺ホルモン受容体介在性遺伝子発現への影響、臓器への生物濃縮等について多方面から調べている。生活関連物質の生物に対する影響に関する研究には、ネッタイツメガエルとアフリカツメガエルが有用である。

3. アセチル-L-カルニチンは甲状腺ホルモン誘導および変態期のオタマジャクシ尾部短縮を抑制する

無尾両生類の変態時に見られるオタマジャクシの尾部消失にミトコンドリア膜透過遷移(MPT) が重要な役割を果たしている。L-カルニチンがβ酸化およびエネルギー生成のために遊離脂肪酸 (FFAs)をサイトゾルからミトコンドリアマトリックスに移動させることはよく知られている。以前に私達が行った研究から,L-カルニチン処理はFFAsレベルを減少させ, T_3 およびFFAによって誘導されたMPTを抑制することがわかった。昨年度の研究では,L-カルニチンと同じく脂肪酸酸 化に関与するアセチルーL-カルニチン(ALC)に焦点を当てて,ツチガエルオタマジャクシの T_3 誘

導による尾部短縮、およびアフリカツメガエルオタマジャクシの自然状態での尾部短縮の影響を調べた。 T_3 処理されたオタマジャクシの尾部アポトーシスの指標であるDNAラダー像の形成およびカスパーゼー3、カスパーゼー9活性の増加がALCを添加することによって抑えられることがわかった。また、ALCはアフリカツメガエルオタマジャクシの内在性甲状腺ホルモンによって制御される自然変態を抑制し、同時にカスパーゼやフォスフォリパーゼ A_2 活性、DNAラダー像の形成を減少させることも明らかになった。以上の結果は、FFAs活性の増加がMPT開始を促し、無尾両生類の変態時におけるオタマジャクシ尾部のアポトーシスによる細胞死を制御するシグナル伝達を活性化するという、私達がこれまでに得てきた結論を支持するものである。

今後も引き続いて、両生類の変態におけるオタマジャクシ尾部アポトーシスの分子機構を調べていく予定である。

4. 除草剤パラコート誘起培養カエル白血球細胞の染色体損傷に対するフェノール系抗酸化剤の機能かく乱

複数の化学物質による化学的変化が生物に与える影響はよくわかっていない。フェノール系抗酸化剤であるビタミンEおよびブチル化ヒドロキシトルエンは脂質過酸化を抑制し、それによって染色体損傷の増加を抑えると考えられている。しかしながら、パラコートによって誘起された培養カエル白血球細胞の染色体損傷を抑制することはせず、むしろ染色体損傷を増加させた。このようなことから、パラコートの共存下にあるビタミンEおよびブチル化ヒドロキシトルエンは本来の働きである坑酸化作用をかく乱され、パラコートの電子ドナーとなることがわかった。

5. 人工ヌクレアーゼ (CRISPR/CAS) のアフリカツメガエル初期胚への応用

最近、人工ヌクレアーゼによって遺伝子を破壊・改変、場合によっては挿入することができるようになり、ゲノム編集が急速に身近になってきた。それにより、今まで遺伝学が使えなかった生物種にも光が当たるようになった。しかしながら、その改変技術法であるZNF,TALEN法はそれなりに難しく、汎用的でなかった。しかし、2012年に全く新しいタイプの、より手軽で効率的な人工ヌクレアーゼ(CRIPR/CAS)システムが報告された。そこでアフリカツメガエルに来仕手CRISPR/CAS法によるゲノム編集を、メラニン合成酵素であるTyrosinase遺伝子に対して行った。その結果、モザイク状のアルビノが生じた。そのような個体でTyrosinase遺伝子に変異が入っている事を確かめた。以上の結果から、CRIPR/CAS法はアフルカツエガエルに対して有効なゲノム編集のツールとなる事が示された。

6. ネッタイツメガエルMvt-1遺伝子の初期発生における機能解析

生物の細胞周期($G1 \rightarrow S \rightarrow G2 \rightarrow M \rightarrow G1$ …)はCDK/サイクリン複合体により調節されている。CDK/サイクリン複合体がG1期,G2期で活性化されることにより細胞周期がS期,M期にそれぞれ進行する。ツメガエル卵母細胞はG2期で停止しており,ホルモン刺激によりCDK/サイクリン複合体が活性化され,M期に進行し卵成熟を起こす。タンパク質リン酸化酵素であるMyt1は,ホルモン刺激を受けるまでCDKをリン酸化することで活性を抑制し,細胞周期(卵成熟)を抑制すると考えられている。Myt1遺伝子は卵母細胞だけでなく初期胚でも発現しているが,初期発生での機能は知られていない。また近年利用が増大しているネッタイツメガエルのMyt1遺伝子はまだクローニングされていない。そこで,ネッタイツメガエルMyt-1遺伝子のクローニングと初期発生における機能解析を行っている。一昨年クローニングしたネッタイツメガエルのMyt1遺伝子の初期発生における機能解析のため,Myt1にさまざまなアミノ酸変異を導入し,活性化型,ドミナントネガティブ(DN)型および機能欠失型の変異体を作製した。野生型およびこれらの変異体からMRNA

を合成し、ツメガエル初期胚へ顕微注射し初期卵割のパターンや初期発生に対する影響を調べた。その結果、野生型や機能欠失型の場合はほとんど影響が見られなかったが、活性化型、DN型の場合は初期卵割の遅れ(=細胞周期の抑制)が観察された。この結果は、卵成熟におけるMyt-1遺伝子の機能と一致する。ただ、DN型は卵割が速くなる事が期待されたが、他のグループの結果から、結果的に問題ない事も分かった。したがってMyt-1遺伝子は、ツメガエルの卵成熟だけでなく初期発生の過程でも、細胞周期の抑制因子として機能していることが示唆された。

7. 卵成熟および初期発生におけるサイクリンB2の2極紡錘体形成における機能

MPFはサイクリンBとCdc2の複合体であり、M期を引き起こす普遍的な因子である。MPFが活性化すると核膜崩壊、染色体凝縮、紡錘体の形成が起こり、M期が開始する。サイクリンBはMPFの調節サブユニットであり、多くの種でサブタイプが複数存在し、また、それぞれのサブタイプの細胞内局在も違っている。しかしながらその機能に違いがあるかどうか報告はほとんどない。ツメガエルの卵母細胞や胚ではサイクリンB1とサイクリンB2が主に発現しており、機能差を解析する良い系である。今までに、この系を用いて、サイクリンB1でなくサイクリンB2が正常な紡錘体の形成に関与することを明らかにした。また、サイクリンB2のN末端から約90アミノ酸から120アミノ酸までに2極の紡錘体を形成するのに働く領域があることがわり、この領域がNES (Nuclear export signal)として働くことや、そのNESの機能と2極の紡錘体の形成能が関係していないことが明らかになった。さらに、そのCRS領域のC末側の7アミノ酸が最近、2極の正常な紡錘体の形成能に関与する事が明らかになった。また、正常なサイクリンB2は認識するが、B2のN末端には反応しない特別な抗体を作製する事で、正常はサイクリンB2が紡錘体の極を作る領域に局在する事、また、その局在がサイクリンB2のNESを過剰発現させる事で乱され(実際、サイクリンB2のCRSをもったN末は正常なサイクリンB2の同在場所と同じ場所に局在している)、これがCRS過剰発現による2極紡錘体の形成異常を引き起こす原因であると推定された。

8. 卵形成における卵特異的細胞周期調節遺伝子の発現調節機構と機能解析

卵の分化機構を研究する為には、卵特異的に発現する遺伝子に着目し、その卵特異的な発現調節機構を解明することがきわめて重要であると考えられる。卵は、減数分裂や受精後に特殊な細胞分裂を行う。例えば、減数分裂では、DNA複製をスキップした2回の連続した分裂をするが、そのために、Mosという卵特異的な細胞周期調節因子を発現しており、この発現がDNA複製のスキップのため必須であることを報告した。また、受精後、卵は最初の一回を除き、G1,G2期のない細胞分裂(卵割)を中期胞胚まで行うが、そのためには、卵特異的な細胞周期調節因子であるWee1Aの発現が必須である。もし、体細胞特異的なWee1Bが発現すれば受精後の卵割は失敗する。よって、これらの卵特異的な細胞周期調節因子の発現調節機構の解明は、卵への決定・分化の機構解明につながる。現在、ネッタイツメガエルのMosとWee1Aのプロモーター領域と思われる部分(翻訳開始点より10kbo上流まで)をクローニングし、GFPの上流に挿入したtransgenic ガエル作製用のベクターを構築した。このコンストラクトや、プロモーターにいろんな欠失を導入したコンストラクトでtransgenic ガエルを作製し、卵特異的な発現に必要な領域を特定する。また、これらの遺伝子のノックアウトも行いたい。ZNFを用いて、mosの遺伝子破壊を試みてpositiveな結果を得ている。このようにして卵特異的な細胞周期調節因子の発現調節機構と機能の解析を行う。

9. mTOR情報伝達系の解析

炎症は、生体の損傷に対する組織の反応であり、その反応の一部にはmTOR (mammalian target of rapamycinの略。ほ乳類などの動物の細胞内シグナル伝達に関与するタンパク質キナーゼ。最初に

rapamycinの標的タンパク質として見つかったのでこの名前がついた)情報伝達系が関与している。この情報伝達系の研究を進めている。炎症に関与するmTOR情報伝達系に関与するタンパク質や、その相互作用を調べる事でこの情報伝達系の全貌を解明しようとしている。その結果、mTOR伝達系にEgo1, Ego3とGtr1,Gtr2のタンパク質が関与していることがわかった。また、それらのタンパク質が相互作用するのに必要な領域や、必須なアミノ酸を同定した。

10. 両生類の生活環に対する過重力と強磁場影響

最近の宇宙開発の流れは、短期での宇宙空間での滞在から宇宙空間での生活や火星への移住、などが挙げられる。しかし、宇宙環境中にヒトが長期間置かれたときの健康影響についてはまだよくわかっていない。宇宙環境影響のモデル生物種として、両生類は地上および宇宙空間における各種の実験に用いられてきた。過重力の実験ではアフリカツメガエルの受精卵を2Gまたは5Gに曝露した。また強磁場の実験では11T(-1400T²m⁻¹)、15T(0 T²m⁻¹)、12T(+1200 T²m⁻¹)を若いネッタイツメガエルオタマジャクシに印加した。過重力に曝された胚には多様な異常が認められたが、もっとも多いのが小頭症や小眼症であった。こうした頭部障害を持つ個体では頭部形成に関わるWnt遺伝子の発現が抑えられていること、頭部前方は特に過重力に対する感受性が高いこと、などが明らかになった。強磁場に曝されたオタマジャクシには回転運動や、容器底面で横たわるなどの異常行動が認められた。また頭部への異常も多く観察された。現在、それらの強磁場での仕事を纏めている。

11. XY型とZW型生決定システムにおける生殖腺性差構築機構のちがい

ツチガエルには性決定機構がXX/XY型とZZ/ZW型の地域集団が存在する。それゆえ,2つの性決定メカニズムの違い,および両者間における生殖腺性差構築機構の違いを調べる上で最適な研究材料である。本種のZW型およびXY型集団では,性染色体上にSOX 3遺伝子が存在する。この遺伝子は真獣類の精巣決定遺伝子SRYの元祖遺伝子として知られているが,ツチガエルのZW型集団ではZW幼生メスの未分化生殖腺において,一方,XY型集団ではXY幼生オスで高い発現が観察されている。そこで,SOX 3遺伝子のZW卵巣およびXY精巣の分化決定機能を検証するため,昨年度に引き続き,遺伝子導入による機能誘導実験とTALEN法ゲノム編集を用いた機能阻害実験を行った。まず,TALEN法によって昨年度,ZWオス1個体を得たが,今年度はさらに精巣をもつZW2個体を得た。その1個体は右が精巣,左が卵巣であり,精巣の組織ではSOX3遺伝子のおよそ半数にmutationが生じていたが,卵巣組織では検出されなかった。一方,XY集団では機能阻害の効果は見られなかった。しかし,Y-SOX3遺伝子をXX受精卵に導入した実験では,XX2個体が精巣を形成した。以上の結果から,SOX3はZW型集団において卵巣決定,XY集団では精巣決定の初期因子として機能することが示唆される。

12. 性染色体の若返り

Y染色体やW染色体は、構造変化によってひとたびXないしZ染色体との乗り換えが阻害されると、遺伝子退化やトランスポゾンの蓄積が誘導され、ヘテロクロマチン化を伴い矮小化へと向う。ツチガエルのいくつかの集団では、性染色体が形態的に分化しており、とくに、近畿地方ではXY型とZW型の地域集団が近接している。私達が琵琶湖を取り巻く集団を調べたところ、そこでは過去に西のZW集団と東のXY集団がすでに交雑を起こし、その結果、新たに進化したZW型集団であることがわかった。この集団の性染色体の分子マーカーを調べたところ、元のW染色体は検出されず、代わりにXY集団のX染色体が新たにW染色体として進化していることがわかった。さらに、この新しいW染色体には致死遺伝子が存在していなかった。従って、致死遺伝子が蓄積した元の

W染色体はこの集団では消失し、代わりに致死遺伝子を持たないX染色体がW染色体として進化したことがわかった。これは性染色体の若返り現象として捉えることができる。これまでに知られている性染色体の退化、消失とは逆方向への進化機構である。

13. 精子凍結保存法の開発

多数の両生類を飼育するには莫大な時間と労力を要する。これを解消する有力な方法の一つに精子の凍結保存があり、メダカでは簡便で確実なガラス化保存法がすでに確立されている。この凍結保存と解凍復活技術をカエルに応用したところ、ネッタイツメガエル、アフリカツメガエル、トノサマガエル、アマガエル、チョウセンスズガエルで良好な成果が得られている。今後は、遺伝子組換え体や突然変異体等にも広げていく予定である。

○発表論文

1. 原著論文

Xia, Y., Zheng, Y., Miura, I., Wong, PB., Murphy, RW., Zeng, X. (2014) The evolution of mitochondrial genomes in modern frogs (Neobatrachia): nonadaptive evolution of mitochondrial genome reorganization. BMC Genomics 15:691.

<u>Hanada, H.</u> (2014) Disruption of vitamin E and butylated hydroxytoluene antioxidant function in response to paraquat-induced chromosomal damage in cultured anuran leukocytes. Biology and Medicine, http://dx.doi.org/10.4172/0974-8369.1000222.

- OHanada, H., Kashiwagi, K., Suzuki, K., Yamamoto, T. and Kashiwagi, A. (2014) Suppression of anuran metamorphosis by synthetic chemicals. Frogs: Genetic Diversity, Neural Development and Environmental Influences. p.73-88. (Nova, Sweden).
- ONakade, S., <u>Sakuma, T.</u>, Sakane, Y., <u>Hara, Y., <u>Kurabayashi, A.</u>, Kashiwagi, K., <u>Kashiwagi, A.</u>, <u>Yamamoto, T.</u> and <u>Obara, M.</u> (2014) Homeolog-specific targeted mutagenesis in *Xenopus laevis* using TALENs.(in press) In Vitro Cellular & Developmental Biology—Animal</u>
 - Sekiguchi, T., Kamada, Y., <u>Furuno, N.</u>, Funakoshi, M. and Kobayashi, H. (2014) Probing the amino acid residures required for Gtr1p-Gtr2p complex formation and its interactions with the Ego1p-Ego3p complex and TORC1 components in yeast. Gene to Cell 19, 449-463

2. 総説 • 解説

<u>三浦郁夫</u> (2015) オオサンショウウオの遺伝的地域分化 -西側の集団は過去に一度絶滅を経験 したという仮説- SUZUKURI 44: 10-11.

○著書

該当なし

○取得特許

該当なし

○講演

1. 国際会議での招待講演

- Kashiwagi, A. EXTEND 2010 公開セミナー「Development of Screening System for Thyroid Hormone Disrupting Substances Using *Xenopus* Metamorphosis Assay」(2015年1月,浜離宮朝日ホール、東京)
- ◎Atsushi Suzuki, Akihiko Kashiwagi and Masayuki Sumida"National BioResource Project for Xenopus" 15th International Xenopus Conference 2014年8月24-28日 Asilomar Conference Center in Pacific Grove, California.
 - Miura I. A double sex-determining gene in the frog. IAE seminar, university of Canberra, 6th March 2015 University of Canberra, Canberra, Australia
 - Miura I. Functional analyses of Sox3 for sex determination in XY and ZW systems in the frog. Mini-workshop, 4th March 2015, University of Canberra, Canberra, Australia.

2. 国際会議での一般講演

OSuzuki, K., Kashiwagi, K., Sakuma, T., Kashiwagi, A., Mochii, M. and Yamamoto, T.

A novel function of keratin in fin formation in *X. laevis*.

15th International *Xenopus* Conference 2014年8月24-28日 Asilomar Conference Center in Pacific Grove, California.

3. 国内学会での招待講演

- <u>柏木昭彦</u> Cryopreservation Conference 2014 「両生類における遺伝資源を凍結保存するための統合的な技術開発」(2014年10月, 岡崎コンファレンスセンター, 岡崎市)
- <u>三浦郁夫</u> オオサンショウウオの遺伝学的解析 ~極端に小さい地域差が示す進化の道筋~ 安佐動物公園共同研究発表会(10月12日 2014年 安佐動物公園,広島市)
- <u>三浦郁夫</u> カエルのオスとメスはどのように決まるのか 染色体学会市民公開講演会 ゲノムと性 -オスとメスを決めるからくり- (10月25日(土)2014年 倉敷市芸文館 アイシアター)
- 三浦郁夫 脊椎動物 (両生爬虫類) の性決定 第 13 回爬虫類・両生類の臨床と病理に関する ワークショップ -特集-両生類・爬虫類の系統,進化と・・・ (11 月 22 日(土) 麻布大学 相模原市)

4. 国内学会での一般講演

- ○<u>柏木昭彦</u>・柏木啓子・<u>花田秀樹</u>・<u>鈴木賢一</u>・<u>鈴木 厚</u>・<u>古野伸明</u>・<u>田澤一朗</u>・<u>倉林 敦</u>・<u>中島</u> <u>圭介</u>・竹林公子・小林里美・竹中純子・杉原麻美・<u>山本 卓</u>・<u>住田正幸</u> 「高品質な近交系ネ ッタイツメガエルを用いた生物学の研究」第61回日本実験動物学会総会,第48回日本実験動 物学会技術者協会総会 日本動物科学技術さっぽろ2014(2014年5月,札幌コンベンションセ ンター,札幌市)
 - 北村友哉・渡部 稔・吉留 賢・<u>古野伸明</u> ネッタイツメガエルMyt-1遺伝子のクローニングと 初期発生における機能 中国四国地区生物系三学会合同大会 岡山理科大 (2014, 5月10日 ~11日)
 - 三浦郁夫・尾形光昭・長谷川嘉則・大谷浩己 ツチガエルW染色体のSOX3遺伝子はメスを決定 する 日本進化学会第16回大会 (2014年8月22日 大阪)
- ○<u>柏木昭彦</u>・柏木啓子・<u>花田秀樹</u>・<u>鈴木賢一</u>・<u>鈴木 厚</u>・<u>古野伸明</u>・<u>田澤一朗</u>・<u>倉林 敦</u>・<u>中島</u> <u>圭介</u>・竹林公子・小林里美・竹中純子・杉原麻美・<u>山本 卓</u>・<u>住田正幸</u> 動物学ひろば「重要な実験動物——ツメガエル」第85回日本動物学会 要旨・ポスター発表

(2014年9月, 東北大学, 仙台市)

- ○<u>佐能正剛</u>・中村直樹・<u>鈴木賢一</u>・柏木啓子・<u>花田秀樹</u>・<u>山本</u>卓・新海 正・杉原数美・藤本成明・北村繁幸・<u>柏木昭彦</u>・<u>太田 茂</u> 環境化学物質におけるカエル甲状腺ホルモン作用のアゴニストおよびアンタゴニスト活性、フォーラム2014衛生薬学・環境トキシコロジー(2014年9月19-20日、つくば市)
- ○坂根祐人・<u>佐久間哲史</u>・鈴木美有紀・柏木啓子・ <u>柏木昭彦</u>・<u>坂本尚昭</u>・<u>山本 卓</u>・ <u>鈴木賢一</u> 「アフリカツメガエルにおけるTALENを用いた標的遺伝子の改変」 第4回ゲノム編集研究 会(2014年10月6日-7日,広島市)
- ○<u>柏木昭彦</u>・笹土隆雄・柏木啓子・<u>花田秀樹</u>・関 信輔・<u>鈴木賢一</u>・<u>山本 卓</u>・成瀬 清「両生類における遺伝資源を凍結保存する為の統合的な技術開発(ネッタイツメガエル・アフリカツメガエルを始めとカエル及び,各種両生類)」2014年10月23日, Cryopreservation Conference (2014年10月23日 岡崎市), 口頭発表およびポスター発表
- ○笹土隆雄・柏木啓子・<u>花田秀樹</u>・関 信輔・<u>鈴木賢一</u>・<u>山本 卓</u>・成瀬 清・<u>柏木昭彦</u>「アフリカツメガエル(*Xenopus laevis*), ネッタイツメガエル(*X. tropicalis*)を始めとする様々なカエルの精子凍結法の開発」Cryopreservation Conference (2014年10月23日岡崎市)
 - 三浦郁夫・尾形光昭・長谷川嘉則・大谷浩己 XY型とZW型ツチガエルにおけるSOX 3遺伝子の 性決定に関する機能解析 染色体学会第65回年会 (2014年10月24日 倉敷市)
 - 尾形光昭・<u>三浦郁夫</u> ツチガエルのXY型とZW型の人工交雑 日本爬虫両生類学会第5回大会 (2014年11月8日 神戸市)
- ○渡辺 愛・井川 武・<u>柏木昭彦</u>・<u>鈴木 厚</u>・<u>倉林 敦</u>・藤井 保・<u>住田正幸</u> 「次世代モデルリソース・ネッタイツメガエル7系統における近交度及び遺伝的関係」 日本爬虫両棲類学会 第53回大会 2014年11月8-9日 神戸山手大学 神戸
- ○<u>柏木昭彦</u>・柏木啓子・<u>花田秀樹</u>・<u>鈴木賢一</u>・<u>鈴木 厚</u>・竹林公子・<u>古野伸明</u>・<u>田澤一朗</u>・<u>倉林</u> <u>敦</u>・<u>中島圭介</u>・小林里美・竹中純子・杉原麻美・<u>山本 卓</u>・<u>住田正幸</u> 「近交系ネッタイツメガエルを用いた生命科学」第37回日本分子生物学会(2014年11月, パシ フィコ横浜, 横浜市)
- ○笹土隆雄・柏木啓子・<u>花田秀樹</u>・関 信輔・<u>鈴木賢一</u>・山本 卓・成瀬 清・<u>柏木昭彦</u>「アフリカツメガエル(*Xenopus laevis*), ネッタイツメガエル(*X. tropicalis*)の簡便な精子凍結法の開発」第 37 回分子生物学会年会(2014 年 11 月 27 日横浜市)

○各種研究員と外国人留学生の受入状況

- 1. 外国人留学生 該当なし
- 2. 外国人客員研究員 該当なし
- 3. 研究員 該当なし

○研究助成金の受入状況

1. 科学研究費補助金 三浦郁夫

科学研究費新学術領域研究(公募,代表)4,500千円

「XY 型と ZW 型システムにおける生殖腺性差構築機構の違い」

科学研究費挑戦的萌芽研究(代表) 600 千円

「XY 型から ZW 型へ性決定機構の進化

柏木昭彦

平成26~27年度IBBP共同科学研究

「両生類における遺伝資源を凍結保存するための統合的な技術開発」3,000千円(代表) 花田秀樹

平成26~27年度IBBP共同科学研究

「両生類における遺伝資源を凍結保存するための統合的な技術開発」3,000千円(分担) 柏木啓子

平成26~27年度IBBP共同科学研究

「両生類における遺伝資源を凍結保存するための統合的な技術開発」3,000千円(分担) 柏木昭彦・佐能正剛・柏木啓子・花田秀樹・鈴木賢一

平成26~28年度科学研究費基盤C(一般)

「ツメガエル発達過程における化学物質の動態変化と環境毒性影響」400千円(分担)

2. 共同研究

該当なし

3. 補助金

文部科学省第3期NBRP「ネッタイツメガエルの近交化・標準系統の樹立・提供」中核機関 (H26年度) 11,410千円 (課題代表者 住田正幸 11月以降 柏木昭彦)

○学界ならびに社会での活動

1. 学協会役員・委員

柏木昭彦

- · 生物遺伝資源委員会委員(国立遺伝学研究所)
- ・文部科学省第3期NBRP「ネッタイツメガエルの近交化・標準系統の樹立・提供」 課題管理者(11月から)
- ・山陽女子短期大学臨床検査学科客員教授
- 安田女子短期大学非常勤講師
- · 広島大学総合博物館客員研究員

三浦郁夫

- ·(財)染色体学会·理事
- ・(財) 染色体学会・学会賞選考常任委員
- Editorial Board of Asian Herpetological Research (編集委員)
- Editorial Board of Sexual Development (編集委員)
- · Editorial Board of Chromosome Science (編集委員)
- Editorial Board of Dataset Papers in Biology (編集委員)
- ・キャンベラ大学 (豪州) 非常勤准教授

古野伸明

・文部科学省ナショナルバイオリソースプロジェクト 課題協力者

花田秀樹

- 日本動物学会中四国支部、会計監查
- ・文部科学省ナショナルバイオリソースプロジェクト 課題協力者 柏木啓子
- ・文部科学省ナショナルバイオリソースプロジェクト 課題協力者
- ・ネッタイツメガエルの作出・維持・管理

2. セミナー・講演会開催実績

柏木昭彦

NBRP-メダカ・NBRP-ネッタイツメガエルによる合同国際トレーニングコース「Experimental techniques using medaka and Xenopus—The merits of using both」(2014年9月,10月,基礎生物学研究所,岡崎市)オーガナイザー

柏木昭彦

日本動物学会第85回仙台大会2014シンポジウム ナショナルバイオリソースプロジェクト (NBRP)シンポジウム「ネッタイツメガエル」――ツメガエルを用いた機能ゲノム科学研究―― 共済:NBRP広報企画ワーキンググループ (2014年9月,東北大学,仙台市)オーガナイザー 柏木昭彦

NBRP「ネッタイツメガエル」運営委員会開催(2014年11月パシフィコ横浜,横浜市)

三浦郁夫

基礎研究を畜産技術開発につなげるトランスーレーショナル型研究拠点-日本型(発)畜産・酪農技術開発センター 特別セミナー 「精子と卵子の膜融合のメカニズム」 10月17日(金) 30名 広島大学,東広島 オーガナイザー

3. 産学官連携実績

<u>柏木昭彦</u>・柏木啓子・<u>花田秀樹</u>・<u>鈴木賢一</u>・<u>鈴木 厚</u>・<u>古野伸明</u>・田澤一朗・<u>倉林 敦</u>・ 中島圭介・竹林公子・小林里美・竹中純子・杉原麻美・山本 卓・住田正幸

「高品質な近交系ネッタイツメガエルを用いた生物学の研究」第61回日本実験動物学会総会, 第48回日本実験動物学会技術者協会総会 日本動物科学技術さっぽろ2014 (2014年5月, 札幌 コンベンションセンター, 札幌市) ポスター発表

柏木昭彦

第 85 回日本動物学会仙台大会 2014 シンポジウム ナショナルバイオリソースプロジェクト (NBRP)シンポジウム開催 「ネッタイツメガエル」――ツメガエルを用いた機能ゲノム科学研究―― オーガナイザー 共済: NBRP 広報企画ワーキンググループ (2014 年 9 月, 東北大学, 仙台市) 講演者: 山本 卓, 荻野 肇, 安岡有理, <u>鈴木賢一</u>

柏木昭彦・柏木啓子・花田秀樹・鈴木賢一・鈴木 厚・古野伸明・田澤一朗・倉林 敦・

<u>中島圭介</u>・竹林公子・小林里美・竹中純子・杉原麻美・<u>山本 卓</u>・<u>住田正幸</u>

第85回日本動物学会仙台大会 動物学ひろば「重要な実験動物——ツメガエル」第85回日本動物学会 要旨・ポスター発表(2014年9月,東北大学,仙台市)

<u>柏木昭彦</u>・柏木啓子・<u>花田秀樹</u>・<u>鈴木賢一</u>・<u>鈴木 厚</u>・竹林公子・<u>古野伸明</u>・<u>田澤一朗</u>・<u>倉林</u> 敦・中島圭介・小林里美・竹中純子・杉原麻美・山本 卓・住田正幸

「近交系ネッタイツメガエルを用いた生命科学」第37回日本分子生物学会 (2014年11月パシフィコ横浜,横浜市) 展示・ポスター発表

<u>柏木昭彦・花田秀樹</u>・柏木啓子・<u>鈴木賢一</u>・宮本 圭

NBRP-メダカ・NBRP-ネッタイツメガエルによる合同国際トレーニングコース開催 オーガナイザーおよび講師「Experimental techniques using medaka and Xenopus—The merits of using both」(2014年9月,10月,基礎生物学研究所,岡崎市)

4. セミナー・講義・講演会講師等

柏木昭彦

第13回未病臨床セミナー「化学物質が及ぼす内分泌かく乱作用」(2014年12月,国民宿舎みやじま社の宿,世日市市)

柏木昭彦

NBRP-メダカ・NBRP-ネッタイツメガエルによる合同国際トレーニングコース

[Experimental techniques using medaka and Xenopus—The merits of using both]

(2014年9月, 10月, 基礎生物学研究所, 岡崎市) 講師

柏木昭彦

山陽女子短期大学臨床検査学科客員教授 前期「生物学」・後期「遺伝子・染色体検査学」を 担当

柏木昭彦

安田女子短期大学非常勤講師 前期「人間と環境」を担当

柏木昭彦・古野伸明・三浦郁夫

教養授業『カエルから見た生命システム』を担当

三浦郁夫

カエルの遺伝学 先導科学考究 総合研究大学院大学 11月18日 (火) 神奈川県三浦郡葉山町 修士および博士課程後期学生対象

三浦郁夫

遺伝と進化学のエッセンス 放送大学面接授業 放送大学福山学習センター11月11-12日 福山市 放送大学学生対象

三浦郁夫

The Amphibian Genetics Lecture to 3 year conservation ecology students on 'Genetic Variation and Genetic Markers' 2nd March 2015, University of Canberra,

Canberra, Australia キャンベラ大学学部3年生対象

花田秀樹

広島大学生物科学科セミナー, 'Acetyl- L-Carnitine Suppresses

Thyroid Hormone-Induced and Spontaneous Anuran Tadpole Tail Shortening 2014年 5月

花田秀樹

NBRP-メダカ・NBRP-ネッタイツメガエルによる合同国際トレーニングコース

Experimental techniques using medaka and Xenopus—The merits of using both

(2014年9月, 10月, 基礎生物学研究所, 岡崎市) 講師

花田秀樹

東広島サムエル保育園(東広島市高屋)にて保育園児らを対象にしたカエルに関する講演を 行った。2014年7月8日

柏木啓子

NBRP-メダカ・NBRP-ネッタイツメガエルによる合同国際トレーニングコース

Experimental techniques using medaka and Xenopus—The merits of using both

(2014年9月, 10月, 基礎生物学研究所, 岡崎市) 講師

柏木啓子

ナショナルバイオリソースプロジェクト ネッタイツメガエル実験技術講習会講師(2015年3月)

5. その他

花田秀樹

系統維持班のカエルの維持管理を行うと同時に施設見学者に対して系統維持班のカエルについて説明している

花田秀樹

NBRP「ネッタイツメガエル」運営委員会会場設定 (2014年11月, パシフィコ横浜, 横浜市) 花田秀樹

日本動物学会第85回仙台大会2014シンポジウム ナショナルバイオリソースプロジェクト (NBRP)シンポジウム「ネッタイツメガエル」開催協力者(2014年9月,東北大学,仙台市)

施設見学者に対してNBRPネッタイツメガエルの詳細を説明している。

柏木啓子

NBRP「ネッタイツメガエル」運営委員会会場設定および書記 (2014年11月, パシフィコ横浜, 横浜市)

柏木啓子

日本動物学会第85回仙台大会2014シンポジウム ナショナルバイオリソースプロジェクト (NBRP)シンポジウム「ネッタイツメガエル」開催協力者(2014年9月,東北大学,仙台市)

○国際共同研究

三浦郁夫

- ・キャンベラ大学 (豪州) Dr. Tariq Ezaz 性決定と性染色体の進化に関する研究
- ・成都生物学研究所(中国)Dr. Xiaomao Zeng ツチガエルの進化に関する研究
- ・Leibniz-Institute of Freshwater Ecology and Inland Fisheries IGB Germany Dr. Matthias Stöck カエルの系統進化に関する研究

○特記事項

該当なし

○大学院教育

1. 大学院生の国内学会発表実績

<u>北村友哉</u>,渡部 稔,吉留 賢,<u>古野伸明</u> ネッタイツメガエルMyt-1遺伝子のクローニングと 初期発生における機能 中国四国地区生物系三学会合同大会 岡山理科大(2014,5月10日~11日)

- 2. 大学院生の国際学会発表実績 該当なし
- 3. 修士論文発表実績 該当なし

- 4. 博士学位 ← 学位授与実績 該当なし
- 5. TAの実績 北村友哉(生物科学概説A)
- 6. 大学院教育の国際化 ← 国際化への対応等 <u>古野伸明</u> 分化制御学演習を英語化

リーディングプログラムによる特任教員

平成26年度構成員:高橋秀治(特任准教授)

○研究活動の概要

1. アフリカツメガエルのゲノム解読

Xenopus laevisは異質倍数体(4倍体)であるためゲノムが複雑であり、最も利用され多くの発見に寄与してきたにもかかわらず全ゲノムが解読されていない。これを解読して倍数化後におこる現象を明らかにすることと、ポストゲノムの研究においても研究に寄与できる環境を整えることを目的とし日米ゲノムコンソーシアムが組織され解読を行っている。このゲノムには次世代シーケンサでは解読不可能な領域が含まれておりこれらを明らかにすることも本研究の目的としている。25年度もゲノム解読に利用しているXenopus laevis J系統(近交系)の直接の子孫を研究室で維持・継代し、研究に使用した。また要望に応じて提供している。

両生類では、これまで2倍体のXenopus tropicalis のゲノムが解読されている。Xenopus laevisは異 質倍数化して時間がさほどたっていないことからゲノム上の2つの遺伝子は94%程度の相同性を 持ち解読自体が難しい。日米のコンソーシアムでは次世代シーケンサで100b paired endからの情報 をもとにアセンブルを行い、Scaffoldを構築した。さらにBacやFosmidライブラリーを構築しこれ らのエンドシーケンスデータ及びこれらを用いたFISHデータからScaffoldの検証を行ってきた(当 研究室分担)。さらにGene modelの作成及び同祖遺伝子の網羅的発現レベル解析を行うため各発 生ステージや各組織からRNAを抽出し、次世代シーケンサを用いてRNA-seq(100b paired end)を 進めてきた(当研究室担当)。これらのゲノム・遺伝子発現解析には日本で開発され、当研究室 で維持されているXenopus laevis純系J系統を使用している。その他にもGene modelの検証,3番染 色体2セットの検証、W及びWW個体の作製も担当した。ホモロジーの非常に高い遺伝子のリピー ト構造で構成され次世代シーケンサでは解読が不可能であるnodal遺伝子クラスター領域(Xenopus tropicalisでも解読されていない)も担当し、Fosmid libraryを作製してスクリーニングを行い、サ ンガー法で解析している。今年度, nodal3領域については全貌が解明した。nodal5領域に関しては タンデムリピート構造の両端の配列を明らかにした。また、および siamois遺伝子クラスターにつ いても担当し、その構造、機能、発現パターンを明らかにしている。現在、日米コンソーシアム の努力により、全ゲノムとGene model構築およびgene modelがほぼ完成している。今後は生物学的 解析を行い倍数化ゲノムの進化などの理解にもつなげたいと考えている。また,曽木発生に関わ る遺伝子の研究、純系モデル両生類を利用した放射線照射研究、遺伝子編集技術を利用した疾患 モデル研究なども行っている。

2. 初期発生に関与する遺伝子の解析

初期発生は誘導、細胞分化、細胞の移動など多彩な現象が見られ、そこでおこる遺伝子発現ネットワークの解読は幹細胞を利用した再生医療研究に大きく寄与している。本研究では初期発生の詳細な遺伝子ネットワークを明らかにすることを目的にしている。

両生類初期胚は初期発生を理解する上で、他の動物胚に無い利点を持っている。卵のサイズが大きく操作が行いやすいことや大量の胚を集めることが可能であること等である。この特徴を生かし、初期発生に関与する遺伝子の解析を行っている。26年度はインシュリン関連遺伝子であるInsulin3 の解析を行い、この Insulin3 と IGF が、インスリンレセプターやIGFレセプターを介さずに、直接 WNT のリガンド自体とそのレセプターを阻害することによって Wnt シグナルを阻害し、頭部神経形成を促進していることを明らかにした。

また、米国との共同研究で次世代シーケンサを利用した ChIP-seq のためのサンプル大量調整の

条件検討を行い良好な結果を得ている。初期発生に関わる転写因子の網羅的解析を行い転写ネットワークの解明を試みている。また東京大学との共同研究で ChIP-seq, RNA-seq を用いた頭部形成に関わる遺伝子の解析を行った。この研究により頭部形成の初期遺伝子発現メカニズムが明らかになった。

〇発表論文

- 1. 原著論文
- ⊚Haramoto Y, Oshima T, <u>Takahashi S</u>, Asashima M, Ito Y, <u>Kurabayashi A</u>. Complete mitochondrial genome of "Xenopus tropicalis" Asashima line (Anura: Pipidae), a possible undescribed species. Posted online on February 25, 2015. (doi:10.3109/19401736.2015.1018213)
 - Haramoto Y, Oshima T, <u>Takahashi S</u>, Ito Y. Characterization of the insulin-like growth factor binding protein family in Xenopus tropicalis. Int J Dev Biol. 2014;58(9):705-11. doi: 10.1387/ijdb.150032yi.
 - Ninomiya H, Mizuno K, Terada R, Miura T, Ohnuma K, <u>Takahashi S</u>, Asashima M, Michiue T. Improved efficiency of definitive endoderm induction from human induced pluripotent stem cells in feeder and serum-free culture system. In Vitro Cell Dev Biol Anim. 2015 Jan;51(1):1-8. doi: 10.1007/s11626-014-9801-y.
 - Yasuoka Y, Suzuki Y, <u>Takahashi S</u>, Someya H, Sudou N, Haramoto Y, Cho KW, Asashima M8, Sugano S2, Taira M9. Occupancy of tissue-specific cis-regulatory modules by Otx2 and TLE/Groucho for embryonic head specification. Nat Commun. 2014 Jul 9;5:4322. doi: 10.1038/ncomms5322.
- 総説・解説
 該当なし

○著書

該当なし

○取得特許

該当なし

○講演

- 1. 国際会議での招待講演 該当なし
- 2.国際会議での一般講演
 - Yuuri Yasuoka, Yutaka Suzuki, <u>Shuji Takahashi</u>, Haruka Someya, Norihiro Sudou, Yoshikazu Haramoto, Ken Cho, Makoto Asashima, Sumio Sugano, Masanori Taira "Genomics Study of the Spemann-Mangold Organizer: Occupancy of Tissue-Specific cis-Regulatory Modules by Otx2 and TLE/Groucho for Embryonic Head Specification." 15th International Xenopus Conference、Asilomar (California, USA)(2014 年 8 月 24 日~30 日)
 - Yoshikazu Haramoto, Tomomi Ooshima, <u>Shuji Takahashi</u>, Makoto Asashima, YUzuru Ito "Comparative analysis of insulin-like growth factor binding proteins." 15th International Xenopus Conference、Asilomar (California, USA)(2014 年 8 月 24 日~30 日)

3. 国内学会での招待講演 該当なし

4. 国内学会での一般講演

原本悦和·<u>高橋秀治</u>(広島大)·小沼泰子·伊藤弓弦·浅島 誠 "Functional analyses of a novel insulin-like factor"第47回日本発生生物学会,名古屋(2014年5月27日~30日)

今井紗綾・桐ケ谷嘉章・安岡有理・鈴木 穣・<u>高橋秀治</u>・浅島 誠・菅野純夫・平良眞規 "内胚葉系列の分化を担う発生準備エンハンサーの形成メカニズムの解析" (今井, 口頭・ポスター発表)第37回分子生物学会年会,横浜(2014年11月25日~27日)

佐藤夢子・柴野卓志・儘田博志・南 航平・細野枝里菜・岡田 甫・<u>高橋秀治</u>・浅島 誠・平良眞規 "眼の初期発生における転写活性調節に関わる細胞周期依存的なOtx2のリン酸化修飾の役割" (佐藤, ポスター発表) 第 37 回分子生物学会年会, 横浜 (2014 年 11 月 25 日~27日)

○各種研究員と外国人留学生の受入状況

- 1. 外国人留学生 該当なし
- 2. 外国人客員研究員 該当なし
- 3. 研究員 該当なし

○研究助成金の受入状況

1. 科学研究費補助金

高橋秀治

科学研究費補助金·基盤研究C 2014年 100万円 (研究代表)

- 補助金
 該当なし
- 3. 共同研究

高橋秀治

日米アフリカツメガエルゲノムコンソーシアム 自治医科大学(嶋崎晴雄) AIST(浅島 誠,伊藤弓弦,原本悦和,二宮裕将) 東京大学(道上達男) 東京工業大学(田中利明)

4. その他 該当なし

○学界ならびに社会での活動

1. 学協会役員・委員

高橋秀治

- ・XCIJ日本ツメガエル研究集会 (XCIJ-JXM) 運営委員会委員
- ·Xenopusゲノムプロジェクト (XGP) 推進委員会委員
- 2. セミナー・講演会開催実績 該当なし
- 3. 産学官連携実績 該当なし
- 4. セミナー・講義・講演会講師等 該当なし
- 5. その他 該当なし

○国際共同研究

高橋秀治

- ・日米アフリカツメガエルゲノムコンソーシアム
- ・スウェーデン Ludwig Institute for Cancer Research Ltd (Jan M. Stenman)
- ・米国カリフォルニア州立大学 アーバイン校 (Ken Cho)

○特記事項

該当なし

○大学院教育

- 1. 大学院生の国内学会発表実績 該当なし
- 2. 大学院生の国際学会発表実績 該当なし
- 3. 修士論文発表実績 該当なし
- 4. 博士学位 該当なし
- 5. TAの実績 該当なし

6. 大学院教育の国際化 ← 国際化への対応等

高橋秀治

第4回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国際シンポジウム開催 2014年2月14-15日 国際交流委員会委員,第3回国際シンポジウムWGメンバーとしてシンポジウム運営に参加

植物遺伝子資源学講座/植物遺伝子保管実験施設

平成26年度構成員:草場 信(教授),谷口研至(准教授)

○研究活動の概要

本施設は昭和52(1977)年,文部省令により広島大学理学部に設置された系統保存施設であり,遺伝的に多様な植物群の保存およびそれら保存系統を用いた生命現象の解析を行っている。キク科植物・ソテツ類の野生系統および様々な種の突然変異体を研究材料とし,ゲノム進化の研究,分子細胞遺伝学的研究,さらに様々な植物機能の分子メカニズムの研究を行っている。

本施設は、平成14年よりナショナルバイオリソースプロジェクトに広義キク属中核拠点として参加しており、広義キク属系統の収集・保存・提供を行っている。これまで、キク属にはモデル植物と呼べる種が確立されていない。そこでキク属のモデル植物として二倍体種であるキクタニギク(Chrysanthemum seticuspe)を選定した。ほとんどのモデル植物は自家和合性であるが、キク属は自家不和合性であり、モデル植物として利用しにくい面があったが、平成22年度に野生集団から自家和合性キクタニギク系統を発見するが出来た。平成26年度も引き続き、この系統の純系化を進め、自殖6代目の系統まで育成した。自家和合性系統を用いてBACライブラリー作成を開始しており、今後、全ゲノム塩基配列決定などについても視野に入れて研究を進めていく。

キク属は種間の交雑が可能で子孫を得ることが出来る。そこで自家和合性キクタニギク系統を用いて、キク属種間に存在する遺伝変異の原因遺伝子を単離することを目指し、様々なキク属二倍体野生種との交雑集団を作成している。本年度はリュウノウギクと自家和合性キクタニギクのF2及びBC1F1系統の作成を行った。両種は花序形態等に異なる特徴を持つことから、今後このような形質がどのように遺伝するのかを解析していく予定である。

また本施設では、突然変異体を用いた植物機能の分子メカニズムの解析を進めている。平成26年度は赤色光受容体を介する暗黒誘導性老化制御機構の解析を進めた。赤色光受容体PhyBにより分解されるbHLH型転写因子PIF5の突然変異体は暗黒処理による老化が遅延する。このことは暗黒による老化は明条件下ではPhyBを介したPIF5の分解により制御されていることを示す。次にPIF5の直接の標的遺伝子はいくつか知られているが、その中でどの因子がPIF5の老化制御に関与しているかを探索した。その中でAtHB2というHD-Zip型転写因子の遺伝子発現が老化によって高まることを見出した。そこでAtHB2の過剰発現体を作成したところ、老化の促進が観察された。このことよりPIF5は暗黒処理時にAtHB2の発現を高めることで老化を促進すると考えられた。

○発表論文

- 1. 原著論文
- Nakano, M., Yamada, T., Masuda, Y., Sato, Y., Kobayashi, H., Ueda, H., Morita, R., Nishimura, M., Kitamura, K., and Kusaba, M. (2014) A green-cotyledon/stay-green mutant exemplifies the ancient whole-genome duplications in soybean. Plant Cell Physiol. 55: 1763-1771
- 2. 総説・解説
- 3. 著書

○講演

- 1. 国際会議での招待・依頼・特別講演
- 2. 国際会議での一般講演
- 3. 国内学会での招待・依頼・特別講演
- ◎中野道治,谷口研至,草場信『ナショナル・バイオリソース・プロジェクト・広義キク属』2014年11月25日-27日,第37回日本分子生物学会年会,横浜.
- 4. 国内学会での一般講演
 - 井上良平,宮田麗華,山谷浩史,高木優,<u>草場信</u>; Phytochrome Interacting Factor 4・5による 葉老化制御機構の解析,第56回日本植物生理学会年会,東京農業大学世田谷キャンパス,東京都,2015年3月16日
 - 上田浩晶・<u>草場信</u>;シロイヌナズナにおけるストリゴラクトンを介した葉老化制御の解析,第 56回日本植物生理学会年会,東京農業大学世田谷キャンパス,東京都,2015年3月18日
 - 上田浩晶・<u>草場信</u>;エチレン合成とストリゴラクトン合成の二段階制御を介した葉老化促進, 日本育種学会第127回講演会,玉川学園大学,東京都,2015年3月21日

○各種研究員と外国人留学生の受入状況

【外国人留学生】

【研究員・特任助教(外部資金雇用)】

- ・ 中野 道治
- ・上妻 馨梨

【外国人客員研究員】

○研究助成金の受入状況

- 1. 科学研究費補助金
- ・基盤(B)「ポストハーベストステイグリーンの分子基盤と新しい育種利用」<u>草場 信</u>(代表) 3.200千円
- ・基盤研究(C)「栽培ギクの起源の解明」谷口研至(代表)600千円・草場 信(分担)200千円
- ・若手研究(B)「キク属野生種を用いた遺伝解析基金の構築と花序形態の分子遺伝学研究」 中野道治(代表)800千円
- 2. 戦略的創造研究推進事業
- ・「葉緑体機能改変によるステイグリーン植物の創出」草場 信(分担)8,600千円
- 3. 研究開発施設共用等促進費補助金
- ・文部科学省ナショナルバイオリソースプロジェクト「広義キク属」草場 信(代表) 5.820千円

○学界ならびに社会での活動

1. 学協会役員・委員

草場 信

・日本植物生理学会・代議員

- ·日本育種学会 · 常任幹事
- · Journal of Plant Research · Editorial board
- ・広島バイオテクノロジー推進委員会理事
- ·生物遺伝資源委員会委員(国立遺伝学研究所)

谷口 研至

- 染色体学会常任理事
- Asian Chromosome Colloquim Organizer
- · 近畿大学原子炉利用共同研究運営委員会委員
- 2. セミナー・講演会開催実績

草場信

講演者:樋口洋平先生(東京大学農学生命科学研究科) 「キクの電照栽培を可能にしたアンチフロリゲンによる花成制御機構」 (2014年11月10日,広島大学)

3. 産学官連携実績

草場 信

- ・広島県教育委員会広島県教育センター主催 第18回教材生物バザール参加
- 4. セミナー・講義・講演会講師等
- 7. その他

1-4-3 各種研究員と外国人留学生の受入状況

【平成26年度研究員】

- ・柏木啓子(研究員)(平成26年4月1日から平成27年3月31日まで)
- ・竹林公子(研究員)(平成26年4月1日から平成27年3月31日まで)
- ・梶豪雄(研究員)(平成26年4月1日から平成26年12月31日まで)
- ・Mahmudul Hasanl (広大特別研究員) (平成26年4月1日から平成26年4月30日まで)

【平成26年度外国人客員研究員】

なし

【平成26年度外国人留学生】

- · 金 元熙(大韓民国)(博士課程後期10月入学)
- ・SULTANA NASRIM (バングラデシュ) (博士課程後期4月入学) (文部科学省国費留学生)
- ・ROMAIDI (インドネシア) (博士課程後期10月入学)
- ・MOROV ARSENIY ROMANOVICH (ロシア) (博士課程後期10月入学)
- ・Jose David Orgaz(スペイン) (研究生)

1-4-4 研究助成金の受入状況

平成26年度の実績は下記の表に示す。詳細は1-4-2の各研究グループの項で具体的な課題と研究 経費が示されている。

項目	研 究 種 目	件 数
	特定領域研究	0
	新学術領域研究	5
	基盤研究(S)	1
	基盤研究(A)	0
到兴西尔弗 巴比重要	基盤研究(B)	0
科学研究費助成事業 科学研究費補助金	基盤研究(C)	0
付子切九負佣功並	挑戦的萌芽研究	0
	若手研究(A)	0
	若手研究(B)	0
	研究活動スタート支援	0
	特別研究員奨励費	3
到受研究弗里比重要	基盤研究(C)	11
科学研究費助成事業 学術研究助成基金助成金	挑戦的萌芽研究	5
于附如元朔风室壶朔风壶	若手研究(B)	4
科学研究費助成事業基盤研究(I	3)一部基金	5
受託研究		1
受託事業		0
共同研究		2
寄附金		10
補助金		4

その他	0

1-4-5 学界ならびに社会での活動

平成26年度の実績は下記の表に示す。詳細は各研究グループの項で具体的な役職等の名称が示されている。

種別	1.学会	2.政府・中 央省庁関連 審議委員等	3.大学共同 利用機関	4.地方自治体 (審議会委 員,理事等)		6.財団・法人 関係(1,2 を除く)(理 事,評議員等)	7.その他(研 究科,機構) 社会活動
	36	16	0	3	12	5	18

1-5 その他特記事項

特になし

2 生物科学科

2-1 学科の理念と目標

生物科学科は、平成5年「生命の多様性を生み出す普遍法則と情報の探求」と「フロンティアを拓き基礎科学に貢献する独創的人材の育成」を教育・研究目標として生まれた。生物科学分野における中四国の拠点的存在を目指し、分子レベルから個体・集団レベルまで広く基礎生物学の諸分野をカバーしたバランスのとれた教育・研究を指向している。生物科学科では、 生物学の知識経験をもち、基礎的研究や応用的開発に従事する技術者、産業界における実務や理科教育などあらゆる関連分野の第一線で活躍できる人材の育成を目指している。

2-2 学科の組織

・生物科学科の教員

生物科学科は、生物科学専攻および数理分子生命理学専攻の生物系の教員により構成されている。生物科学科授業科目担当教員(平成27年3月末現在)および平成26年度の非常勤講師を次にあげる。

平成26年度 生物科学科教員組織

職	氏 名	所属
教 授	井出博	数理分子生命理学専攻生命理学講座
	小原 政信	生物科学専攻動物科学講座
	菊池 裕	生物科学専攻動物科学講座
	草場 信	生物科学専攻植物遺伝子資源講座
	坂本 敦	数理分子生命理学専攻生命理学講座
	鈴木 克周	生物科学専攻植物生物学講座
	住田 正幸	両生類生物学講座
	高橋 陽介	生物科学専攻植物生物学講座
	矢尾板芳郎	両生類生物学講座
	安井 金也	生物科学専攻多様性生物学講座
	山口富美夫	生物科学専攻植物生物学講座
	山本 卓	数理分子生命理学専攻生命理学講座
准教授	植木 龍也	生物科学専攻動物科学講座
	坂本 尚昭	数理分子生命理学専攻生命理学講座
	島田 裕士	数理分子生命理学専攻生命理学講座
	嶋村 正樹	生物科学専攻植物生物学講座
	鈴木 厚	両生類生物学講座
	高瀬 稔	両生類生物学講座
	田川 訓史	生物科学専攻多様性生物学講座
	谷口 研至	生物科学専攻植物遺伝子資源講座
	坪田 博美	生物科学専攻多様性生物学講座
	濱生こずえ	生物科学専攻動物科学講座

古野 信明 両生類生物学講座 三浦 郁夫 両生類生物学講座

講 師 守口 和基 生物科学専攻植物生物学講座 助 教 伊藤 岳 生物科学専攻植物生物学講座

倉林 敦 両生類生物学講座

高橋 美佐 数理分子生命理学専攻生命理学講座

田澤 一朗 両生類生物学講座 中島 圭介 両生類生物学講座

中坪 敬子 数理分子生命理学専攻生命理学講座 中野 敏彰 数理分子生命理学専攻生命理学講座

花田 秀樹 両生類生物学講座

深澤壽太郎 生物科学専攻植物生物学講座

穂積 俊矢 生物科学専攻動物科学講座

森下 文浩 生物科学専攻動物科学講座

山本 真司 生物科学専攻植物生物学講座

特任助教 片桐 知之 生物科学専攻植物生物学講座

武藤 彰彦 生物科学専攻動物科学講座

平成26年度非常勤講師

平岡泰(大阪大学大学院生命機能研究科・教授)

授業科目名:「染色体ダイナミクスの生細胞蛍光イメージング」

石崎 公庸(神戸大学大学院理学研究科・准教授)

授業科目名:「植物ゲノム学」

芳賀 永 (北海道大学大学院先端生命科学研究院・教授)

授業科目名:「細胞と細胞外環境の力学的相互作用が生み出す協同現象」

伊村 智(国立極地研究所研究教育系生物圏研究グループ・教授)

授業科目名:「極域生態学」

高橋 俊雄(公益財団法人サントリー生命科学財団・研究員)

授業科目名:「生理活性ペプチドの生物学」

平成26年度の生物科学科に関わる人事異動

	発 令	氏 名		異動	内 容
	年月日	Į		現所属等	新所属等
				生物科学専攻	生物科学専攻
1	26. 4. 1	嶋村 正樹	昇任		
				助教	准教授
				生物科学専攻	生物科学専攻
2	26. 4. 1	山本 真司	更新		
				特任助教	特任助教
3	26 / 1	伊藤 岳	更新	生物科学専攻	生物科学専攻
3	26. 4. 1	伊藤 岳	史利		

				特任助教	特任助教
				生物科学専攻	生物科学専攻
4	26. 4. 1	武藤 彰彦	更新		
				特任助教	特任助教
				生物科学専攻	生物科学専攻
5	26. 4. 1	木根原匡希	更新		
				特任助教	特任助教
				生物科学専攻	生物科学専攻
6	26. 4. 1	片桐 知之	更新		
				特任助教	特任助教
	26 (10			生物科学専攻	
7	26. 6.10 (26.6.9限り退職)	細谷 浩史	辞職		
				教授	
				生物科学専攻	大学院医歯薬保健学研究院
8	26.10. 1	木根原匡希	配置換		基礎生命科学部門
				特任助教	特任助教
	26.12. 1			生物科学専攻	広島大学グローバル推進室
9	(27.3.31まで)	小原 政信	併任		
				教授	
				生物科学専攻	生物科学専攻
10	26.12.31	山本 真司	辞職	the term tell	TI +U / For I++ Uni
				特任助教	助教(年俸制)
	26 12 21	/n #	er de welch	生物科学専攻	生物科学専攻
11	26.12.31	伊藤 岳	辞職	Ht. / T H. Ab	以 <i>本。(左传出</i>)
				特任助教	助教(年俸制)
10	27.1.1		F2 III	生物科学専攻	生物科学専攻
12	27. 1. 1	山本 真司	採用	特任助教	助教(年俸制)
12	27 1 1	丹茲 丘	松田	生物科学専攻	生物科学専攻
13	27. 1. 1	伊藤 岳	採用	特任助教	助教(年俸制)
				附属両生類研究施設	功权 (平序间)
14	27. 3.31	住田 正幸	定年退職	門周巴規明九旭以	
14	21.3.31	正田 上羊	左十 赵帆	 教授	
15	27. 3.31	谷口 研至	定年退職	日利尼内及区1 水自大吹旭以	日沙田田以及四丁四日大奶地区
13	27. 3.31		人工地概		特任准教授
					14 124 124/4/

生物科学科の運営

生物科学科の運営は、生物科学科長を中心にしておこなわれている。副学科長が補佐を行う。 また、生物科学科の円滑な運営のために各種委員会委員が活動している。平成26年度の学科長、 副学科長および各種委員会委員の一覧を次にあげる。

	平 成 26 年 度
学科長	矢尾板
副学科長	井出
庶務	伊藤・中島・中野
入学者選抜方法検討委員会委員	島田
教務委員	学科長(矢尾板)・安井・濱生・草場・山口・島田・井出
学生実習委員	坂本(尚)・穂積・森下・深澤・嶋村・中野・古野
HP委員	濱生・嶋村・中野
日韓理工学生チューター	該当無し

2-3 学科の学士課程教育

2-3-1 アドミッション・ポリシーとその目標

【アドミッション・ポリシー】

大学において、生物学を学ぶために必要な基礎学力を有し、かつ生命現象に関する課題を主体的に探求し解決する熱意を持ち、将来、研究者あるいは高度な専門性を持つ技術者として社会で活躍することを目指す学生を求めている。

【教育目標】

生物科学科では、生物現象を物質レベルから集団レベルまで多角的に捉えることができる人材の育成を目標としている。生物現象を理解し探求するには、動物・植物・微生物についての知識と生態学・生理学・生化学・遺伝学等の基礎技術を習得し、学際領域にわたる幅広い分野に対する理解を深めることが必要である。生物科学科では、生物学の知識経験をもち、基礎的研究や応用的開発に従事する技術者、産業界における実務や理科教育などあらゆる関連分野の第一線で活躍できる人材、英語によるプレゼンテーション能力を併せもつ国際人の資質を備えた人材などの養成を目的に教育を行う。

2-3-2 学士課程教育の理念と達成のための具体策

現代生物科学の成果を取り入れた講義および実習を通じて、新しい生物学の幅広い知識や考え 方を基礎生物学とともに修得させることを教育目標とする。また、生体高分子や、細胞、組織お よび器官の操作法など先端的技術を修得させ、研究者および高度な専門性を持つ技術者の育成を 目指す。

専門の実験・実習は少人数教育体制をとり、きめ細かい教育を実施する。2年次生と3年時次生は、専用の実験室において基礎から高度な実験を微生物から幅広い系統群の動植物を実験材料として分子レベルから個体・生態レベルまでの内容で構成し実施する。附属臨海実験所と附属宮島自然植物実験所の設備と周辺の自然環境を潤沢に活用した実習、ならびに日本各地へ出かけて野外実習を行う。さらに、生物科学科では4年次の卒業研究を、研究への興味、知識・技術を身につけるための極めて貴重な期間と位置づけ、きめ細かな研究指導を行う。

これらのカリキュラムは、充実したチューター制度と1年次から3年次までの実験・実習の実施ならびに各研究室での効果的な卒業研究指導によって支えられている。

2-3-3 学士課程教育の成果とその検証

生物科学科の教育の中で最も重視している卒業研究において十分な成果が認められている。1 研究室あたり3~4名によるきめ細かい指導により、高い教育効果が得られている。卒業生から は、研究は大変で苦しい時もあったが、研究室で熱心な指導を受けることが出来た、それによっ て高度な実験技術や深い知識が得られ、また発表技術等も身に付いて、社会に出てから大変役立 っているとの高い評価を得ている。

年2回実施される授業評価アンケートの結果を分析し、次年度の授業改善に役立てている。生物科学科授業科目では、「授業の予習・復習」や「質問や発言による授業への積極的参加」の設問に対して、評価点が低いという問題があるため、今後改善の必要がある。

平成26年度在籍学生数とチューター

【1】生物科学科の在籍学生数(平成26年5月1日現在)

入学年度	在籍学生数
平成26年度	36 (8)
平成25年度	39 (14)
平成24年度	37 (12)
平成23年度	33 (9)
平成22年度	5 (1)
平成21年度	1 (0)
合 計	151 (44)

()内は女子で内数

【2】チューター

入学年度	チューター
平成26年度	濱生,深澤,坂本(尚),三浦
平成25年度	草場,井出,穂積,田澤
平成24年度	安井,守口,坂本(敦),鈴木(厚)
平成23年度	細谷,谷口,山本(卓)
平成22年度	植木,高橋(陽),中野
平成21年度	島田,鈴木(克),森下

2-3-4 卒業論文発表実績(個人情報保護法に留意)

平成 26 年度 卒業論文題目一覧

卒 業 論 文 題 目 名
細胞系譜に依存しない遺伝子発現におけるヒストンメチル基転移酵素の研究
X線が誘発する DNA-タンパク質クロスリンク損傷の定量
ニホンジカによる種子散布に関する基礎研究
ゼニゴケ造卵器からの排出物とその精子誘引能について

DNA の物理的性質に基づいた Ars インスレーターの作用メカニズムの解析

葉緑体変異体 cvo3 の光合成機能解析

転写因子 IDD ファミリーによる GA 20-酸化酵素遺伝子 AtGA20ox1 の転写制御機構の解析

TALEN を用いたウニ胚での遺伝子発現ライブイメージングの試み

軟体動物腹足類における D型アミノ酸含有神経ペプチドの探索:フリシン様ペプチド前駆体をコードする cDNA のクローニング

O-GlcNAc 転移酵素 SPY による転写因子 IDD ファミリーの制御機構の解析

アグロバクテリウムによる DNA 輸送に関与する植物細胞表層の認識の解析

ストレス耐性を誘導するアラントインにより活性化されるシロイヌナズナ遺伝子の網羅的解析

抗がん剤が誘発する DNA-タンパク質クロスリンク損傷の定量

花成における転写因子 GAF1 の標的遺伝子の同定

葉老化におけるシロイヌナズナ HOOKLESSI の機能解析

ファンコニ貧血原因遺伝子ノックアウトマウス細胞のアルデヒド感受性

形質転換に有用な特性を持つアグロバクテリウムの探索と解析

悪性黒色腫と繊維芽細胞間の相互作用に及ぼす酸化ストレスの効果

ゲノム編集及びトランスジェニック技術を用いたアフリカツメガエル再生現象の可視化

葉老化過程における ETHYLENE INSENSITIVE3 の発現解析

シロイヌナズナにおけるアラントインの成長促進作用とその原因遺伝子の探索

日本産広義ゼニゴケ(Marchantia polymorpha L.)の分類学的再検討

ゼニゴケの中心体と極形成体の微細形態学的研究韓国

ヒメギボシムシにおけるリアルタイム PCR の条件検討

哺乳動物細胞における TALE タンパク質を用いた転写制御技術の開発

Agrobacterium による *vir* 遺伝子誘導物質 *p*-coumaryl alcohol の分解と利用に関する研究

Protein disulfide isomerase 遺伝子 *CYOI* の高発現によって惹起されるシロイヌナズナの Stay green 化の解析

高等動物培養細胞におけるミオシンⅡ調節軽鎖1スプライシングバリアントの機能解析

細胞質分裂時における Zipper-interacting protein kinase の活性制御機構の解析

広宿主域型 pBBR プラスミドを用いた高等植物細胞への新たな遺伝子導入系の試み

ナンジャモンジャゴケの粘液毛と共生菌の形態学的研究

細胞質分裂での二重リン酸化ミオシンⅡ調節軽鎖の局在に関する研究

2-4 その他特記事項

特になし