

北海道大学 大学院理学研究院
附属ゲノムダイナミクス研究センター 概要
2021

Hokkaido University, Faculty of Science
Genome Dynamics Research Center

2021 年度概要の発行にあたって

当センターは、平成 20 年 11 月に実験生物共同利用部門、動物染色体共同利用部門、遺伝子実験共同利用部門の 3 部門で構成される教育研究共同利用施設として発足しました。各部門は各々、旧実験生物センター、旧理学部附属動物染色体研究施設、旧遺伝子実験施設から改組されてきた歴史をもっており、現在の当センターの主な活動として、近交系ラット・マウスの系統保存、生物系実験室・飼育室・実験機器類の維持管理と利用者への提供など、従来の機能を生かした支援事業を行ってきました。また、当センターの全教員が大学院理学研究院生物科学部門に所属し、その教育研究と当センターの運営を兼担しています。旧施設建物を使用しているため、実験生物共同利用部門はセンター東棟、その他の 2 部門はセンター西棟に分かれて研究支援活動を行っていますが、より効率的なセンター運営のために、一体化した建物と機能を構築していきたいという将来構想があります。

また、文部科学省のサポートにより、日本全国の研究機関に保管されている貴重な生物遺伝資源を災害による損失から守るため、大学連携バイオバックアッププロジェクト（IBBP）が進められており、当センターは全国に 7 つある大学サテライト拠点の 1 つとしてもその重要な役割を担っています。平成 23 年 3 月に起きた東日本大震災により、多くの研究機関で生物材料・遺伝資源が失われ研究の継続に支障をきたしました。IBBP は再びこのようなことが起こると我が国の国際的競争力にも悪影響を与えかねないとの危惧から、愛知県岡崎市の基礎生物学研究所を中核拠点として開始されたプロジェクトです。

さて、平成 30 年 9 月 6 日の北海道胆振東部地震により本学でも大規模停電が発生し、大きな被害をもたらしました。このような大規模自然災害に対する安定した教育研究環境を持続的に提供するための支援組織として当センターの重要性が再認識され、本年度から本センター両棟の改修工事が実施される運びとなりました。昨年度までに建物の改修計画の策定と各種実験施設と実験生物の移転が終了し、いよいよ本体建物の改修工事が始まる予定です。

最後になりましたが、令和 2 年度 10 月より山口淳二前センター長に代わり、私、理学研究院生物科学部門の小川が新たにゲノムダイナミクス研究センター長を拝命いたしました。今回の大規模改修を機に教育研究の共同利用施設として、より一層利用価値の高い支援の提供に努めてまいりますので、今後も引き続きご理解とご協力の程、よろしくごお願い申し上げます。

令和 3 年 6 月

大学院理学研究院

附属ゲノムダイナミクス研究センター長

小川 宏人

目次

- ・ 2021年度概要の発行にあたって
- ・ センター教職員・運営委員一覧、令和2年度活動報告 P 1
- ・ 実験生物共同利用部門運営状況 P 3
- ・ 遺伝子実験共同利用部門・動物染色体共同利用部門運営状況 P 27
- ・ 添付資料 P 37

ゲノムダイナミクス研究センター 教職員

センター長	教授	小川 宏人
実験生物共同利用部門	准教授	北田 一博
	准教授	加藤 徹
	助手	出口 善行
遺伝子実験共同利用部門	教授	増田 隆一
動物染色体共同利用部門	助教	吉田 郁也
センター職員	技術専門職員	小針 布実子 (東棟)
	研究支援推進員	小坂 あゆみ (西棟)
	事務補助員	岡村 栄理 (西棟)

ゲノムダイナミクス研究センター運営委員会

委員長	永井 隆哉	教授	理学研究院
センター長	小川 宏人	教授	理学研究院
	増田 隆一	教授	理学研究院
	加藤 徹	准教授	理学研究院
	北田 一博	准教授	理学研究院
	黒岩 麻里	教授	理学研究院
	小亀 一弘	教授	理学研究院
	藤田 知道	教授	理学研究院
	木村 敦	准教授	理学研究院
	貴島 祐治	教授	農学研究院
	川原 学	准教授	農学研究院

令和2年度 活動報告

- ・ 概要 2020 (年次報告) 発行 (6月)
- ・ 運営委員会開催 (1月)
- ・ 実験生物共同利用部門 新規利用者講習会
遠隔及び対面にて6月・10月・11月・12月・2月 計11回 開催

東棟

實驗生物共同利用部門

実験生物共同利用部門

当部門は、マウス、ラット、ウサギ、モルモットの哺乳動物に加え、キンカチョウやウズラ等の鳥類、メダカ等の魚類、イカ等の海産の無脊椎動物、コオロギやゴキブリ等の昆虫、またシロイヌナズナ等の実験植物から、野外採取された植物、さらに樹木に至るまで、様々な生物種を飼育・栽培できるよう整備を行っている共同利用施設です。近年は、マウス、ラットのみならず、コオロギにおいても遺伝子改変動物が飼養されており、法に準拠した飼育設備の整備にも心がけております。これらの共同利用に加え、マウスとラットの近交系の維持事業も行っております。

本施設の竣工は昭和56年であり、すでに築40年を経過しておりました。そのため、改修工事に係る概算要求を文部科学省に行ったところ、幸いなことに令和2年度および3年度の2年間にわたる予算をつけていただくことになりました。本年度においては、今後50年後の将来も勘案しながら、実験生物の飼育・栽培がより円滑に実施できるよう、ご援助いただきながら施設の設計を完了したところです。これも関係各所の多大なご助力があったからこそであり、ご支援をいただきましたことに感謝申し上げます。

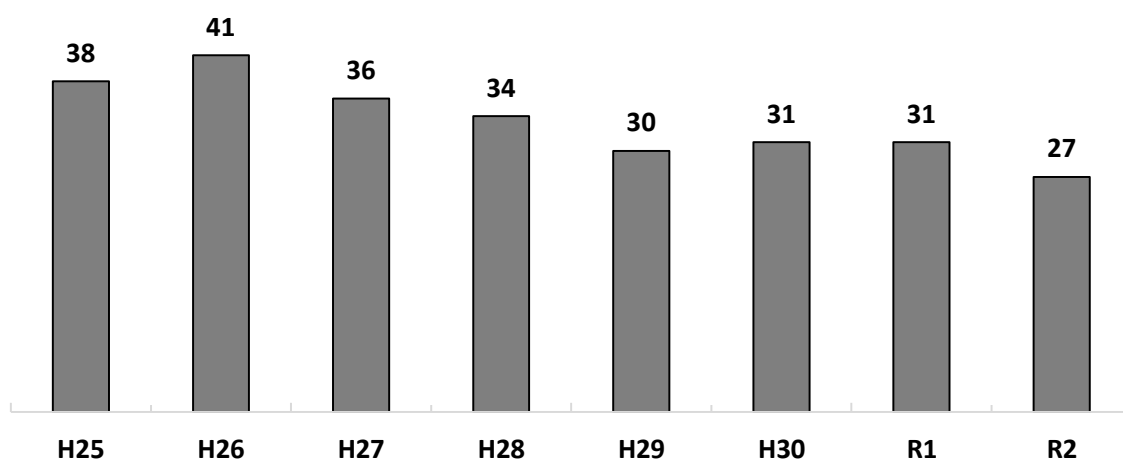
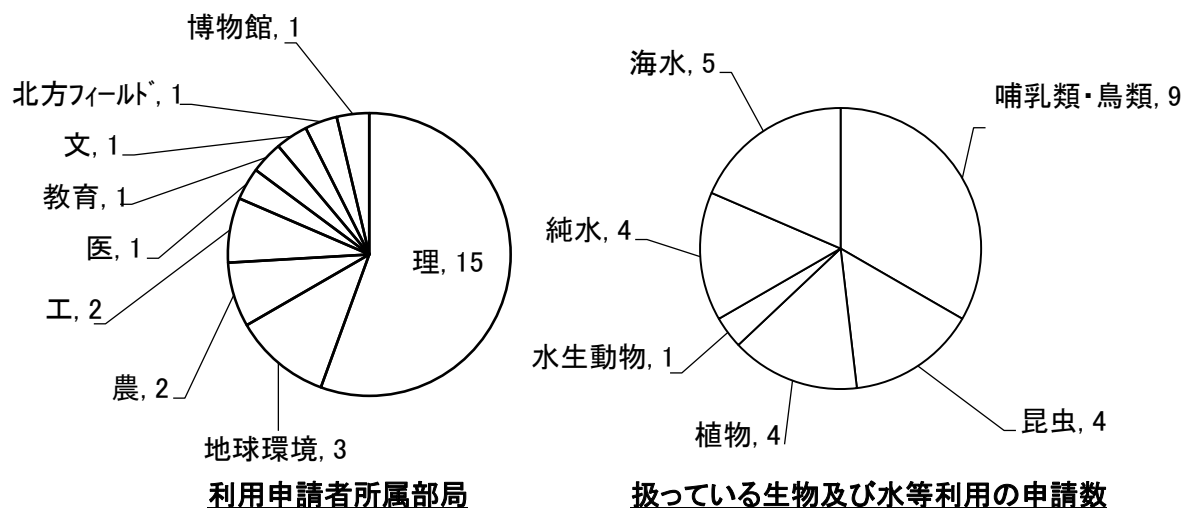
来年度からは、いよいよ、改修工事が始まります。改修工事の期間中には、現在飼育・栽培されている実験生物の仮移転が必須となります。仮移転期間中も滞りなく研究活動の実施が行えるよう、センター側としても最大限の対応準備を行ったところですが、利用者の方々におかれましても、何卒、ご協力をよろしくお願いいたします。

今後とも研究環境の向上と維持を目指して、研究及び実験の場を提供していく努力を続けてまいります。

令和2年度 実験生物共同利用部門 利用状況

所 属	利用者数
地球環境科学研究所	3
理学研究所	15
農学研究所	2
教育学研究所	1
工学研究所	2
医学研究所	1
文学研究所	1
北方生物圏フィールド科学センター	1
総合博物館	1
計	27

令和2年度利用者の内訳



利用申請数推移

系統保存リスト

マウス(8系統)			ラット(11系統)		
系統名	供給数	供給先	系統名	供給数	供給先
BALB/c			ACI		
BALB/cAn			ACI(S)		
BKH			ALB		
CBA			BN		
CBA/H-T ₆			KYN		
C57BL/6			LEA		
C3H			LEJ	♀22, ♂13	京都大学・NBRP「ラット」
LT/Sv			NIG-III		
			SDJ		
			TO		
			WKAH		

令和2年度 実験生物共同利用部門 保守営繕リスト

令和2年	4月	定期清掃(毎月) 環境衛生管理点検(毎月) 樹木冬囲い外し業務
	8月	1階洗浄室消毒器性能検査整備(オートクレーブ) 非常用発電機簡易点検
	10月	1階げっ歯類室PAC-1温水コイル修理 樹木冬囲い業務
	11月	1階げっ歯類室PAC-2温水コイル修理
令和3年	1月	1階げっ歯類室PAC-1温水コイル修理 1階温室パネルヒーター系統温水配管修理 2階R-1系統エアコン室外機修理

**令和2年度 ゲノムダイナミクス研究センター 利用者研究課題
(実験生物共同利用部門)**

所属	部門・分野等	職名	氏名	研究課題名
地球環境科学研究院	統合環境科学・自然環境保全	教授	露崎 史朗	火山における埋土種子集団の定量および生育実験
地球環境科学研究院	統合環境科学・環境適応科学	教授	沖野 龍文	海産藻類の二次代謝産物に関する研究
地球環境科学研究院	環境生物科学・陸域生態学	准教授	工藤 岳	マツヨイグサ属植物の送粉生態学に関する研究
理学研究院	物理学・量子物理学	准教授	松永 悟明	有機導体における物性測定
理学研究院	物理学・電子物性物理学	教授	河本 充司	分子性導体の合成
理学研究院	地球惑星科学・宇宙惑星科学	教授	高橋 幸弘	植物のBRDF自動計測システムの研究開発
理学研究院	生物科学・形態機能学	准教授	佐藤 長緒	高等植物の機能発現・環境応答制御機構
理学研究院	生物科学・行動神経生物学	教授	小川 宏人	フタホシオオロギの神経行動学的研究
理学研究院	生物科学・行動神経生物学	教授	水波 誠	昆虫の学習の神経機構
理学研究院	生物科学・行動神経生物学	准教授	北田 一博	新たな病態モデル動物の作出と原因遺伝子の同定
理学研究院	生物科学・行動神経生物学	准教授	和多 和宏	鳴禽類を用いた発声学習・生成とその脳内分子機構
理学研究院	生物科学・生殖発生生物学	教授	黒岩 麻里	哺乳類および鳥類における性決定・受精に関わる分子メカニズムの解明
理学研究院	生物科学・生殖発生生物学	准教授	荻原 克益	脊椎動物の生殖機能に関する研究
理学研究院	生物科学・生殖発生生物学	准教授	木村 敦	哺乳類の生殖にかかわるゲノム機能に関する研究
理学研究院	生物科学・生殖発生生物学	准教授	小谷 友也	卵母細胞形成と初期発生の分子機構解析
理学研究院	生物科学・多様性生物学	教授	小亀 一弘	藻類の系統進化学
理学研究院	生物科学・多様性生物学	准教授	柁原 宏	海産無脊椎動物の系統分類学的研究
理学研究院	生物科学・多様性生物学	准教授	加藤 徹	ショウジョウバエおよび植食性 TENTU の進化的研究
農学研究院	基盤研究・生物資源科学	教授	秋元 信一	サツポロフキバタの配偶行動と生殖隔離機構に関する研究
農学研究院	基盤研究・畜産科学	准教授	川原 学	マウス胚体外操作による個体発生に関する研究
教育学研究院	教育学・健康体育学	准教授	山仲 勇二郎	生物時計による行動リズムの支配様式と行動リズムから中枢時計へのフィードバック機構の解明
工学研究院	応用物理学・量子物性工学	教授	丹田 聡	低次元導体の電子状態の研究
工学研究院	機械・宇宙航空工学・熱流体システム	教授	田部 豊	燃料電池内水分挙動及び凍結現象の可視化観察
医学研究院	医歯学総合研究棟・中央研究部門	助教	山野辺 貴信	神経系における情報キャリアを明らかにする
文学研究院	人間科学・心理学	教授	和田 博美	ラットの超音波発声に及ぼす水酸化PCB及びPBDEの影響
北方生物圏フィールド科学センター	生物多様性領域・海産藻類適応機能	准教授	四ツ倉 典滋	コンブ類について、培養保存法の確立と種苗作出技術の開発
総合博物館	研究部・資料基礎研究系	准教授	阿部 剛史	紅藻ソノ属および近縁属に関する種生物学的研究

利用報告

大学院地球環境科学研究所

統合環境科学部門 自然環境保全分野

露崎 史朗

利用者: 範 瑞珊・梅村昌宏

センター東棟温室において、(1)火山遷移初期段階における埋土種子組成と植生間の比較と、(2)ワタスゲ実生成育と谷地坊主形成過程に関する実験を、以下の通り行った。

(1) 火山遷移初期段階における埋土種子組成と植生間の比較

火山噴火に代表される大規模攪乱後の遷移初期段階には、植生形成につれ埋土種子集団も発達する。しかし、遷移初期には、外来植物の侵入定着が顕著に認められることがあり、遷移が極相に向かわない偏向遷移となることもある。その要因の一つとして、外来種の埋土種子集団の発達が影響していることが考えられる。そこで、埋土種子組成を定量化し、埋土種子集団と現存植生との関連性を調べるために、有珠山の 2000 年噴火跡地(西山火口群)から噴火降灰物(テフラ)を採取し、温室において、発芽実験を行い埋土種子集団を定量的に測定した。

2020 年の春(6 月)および秋(10 月)に、西山火口群内の低植被地域において、毎回、112 個のテフラサンプルを、容量が 100 cm³ の採土管(深さ 5 cm)を用いて採取した。採取場所は、裸地、在来種のススキが優占する植生、外来種のユウゼンギクあるいはブタナが優占する植生である。採取サンプルは 2 週間ほど低温湿層処理を施し、厚さ 5 mm 以下にしてパーミキュライトを敷いたトレイ(16 cm × 23 cm, 深さ 6.5 cm)上に撒き出した。温室における春サンプルの発芽実験は 7 月 15 日に、秋サンプルの実験は 11 月 1 日に開始した。散水は、自動スプリンクラーで 1 日 7 回行った。発芽観察は、可能な限り毎日行い、発芽実生を記録した。観察は、春・秋サンプルともに 4 か月程度行った(秋サンプルは実験継続中)。発芽した実生については、種同定ができ次第、トレイから除去した。春サンプルからは、2109 個体の実生が 18 種から得られた。秋サンプルからは、978 個体の実生が 6 種から得られた。春・秋いずれのサンプルにおいても植生を問わず、在来種であるハハコグサが優占し、ついで在来種であるエゾヌカボ、メヒシバが多く認められた。一方、外来種で植生中に優占するユウゼンギク、ブタナの埋土種子は乏しかった。これらの結果は、外来種の侵入定着が埋土種子集団の発達を介さずに起こっていることを示唆している。今

後、これらの結果と野外調査結果を合わせ、植生-埋土種子関係を解析する予定である。なお、ハハコグサは、調査区域内では、ほとんど定着が認められておらず、本種における埋土種子集団の機能に関する興味ある課題が提示された。

(2) ワタスゲ実生成育と谷地坊主形成過程

谷地坊主形成には温度や降水量、土壌窒素(N)量等が関与するという仮説があるが、検証はなされていない。そこで、ワタスゲ(*Eriophorum vaginatum* L.)実生を用いて、谷地坊主形成の初期段階を再現することを目的に、温室において模倣実験を 2019 年秋に開始し 2020 年 7 月まで行った。方法および 2019 年度成果は前報(2020 年年度報告)に記した通りである。実験概要は以下の通り。プランター(18 cm × 58 cm × 15 cm)内に移植した実生に対して、施肥・盛土処理、施肥処理、盛土処理、無処理(対照)のいずれかの処理を施して成育実験を行った。施肥・盛土は最初の 2 か月は週に 1 度、それ以降は月に 1 度程度行い、その都度、実生の葉の最大長・枚数を計測した。これらの実生は、2020 年 7 月に回収しバイオマス測定した。サロベツ湿原泥炭採掘跡地に、当温室で成育させた実生を移植し、それらを温室における実生成育と比較した。実生の葉最大長・枚数ともに、温室の方が野外よりも高い値を示した。施肥により地上部、地下部両方でバイオマスが大きかった。しかしながら、盛土によるバイオマスの変化は検出されず、泥炭堆積による谷内坊主の形成の可能性は低いことが示唆された。

論文

- Végh, L. & Tsuyuzaki, S. (in press) Comparison of vegetation patch dynamics after the eruptions of the volcano Mount Usu, northern Japan, in 1977-78 and 2000, detected by imagery chronosequence. *Ecological Research*
- Hoyo, Y., Hoshino, Y. & Tsuyuzaki, S. 2020. Formation and establishment of neopolyploids from sterile hybrids in *Drosera* in a disturbed environment. *Folia Geobotanica* 55: 185-193
- Shishir, S., Mollah, T.H., Tsuyuzaki, S. & Wada, N. 2020. Predicting the probable impact of climate change on the distribution of the threatened *Shorea robusta* forest. *Global Ecology and Conservation* 24, e01250
- Tsuyuzaki, S. 2020. The seed germination of berry-producing ericaceous shrubs in relation to dispersal by hare. *Botany Letters* 167: 424-429
- Tsuyuzaki, S. & Zhang, X. 2020. Frond size, shape and fertility of *Thelypteris confluens* (Thunb.) C. V. Morton in wetlands disturbed by human activities in Hokkaido, northern Japan. *Flora*, 151630

学会発表

Végh L, Tsuyuzaki S. 2021. The effects of different forest types on soil characteristics after 40 and 110 years of volcanic eruptions on Mount Usu, Japan. 第 77 回日本生態学会 (岡山, ポスター)

統合環境科学部門 環境適応科学分野

沖野 龍文 (海水利用)

論文発表

Mehjabin, J. J., Liang, W., Petitbois, J. G., Umezawa, T., Matsuda, F., Vairappan, C. S., Morikawa, M. and Okino, T. (2020) Biosurfactants from marine cyanobacteria collected in Sabah, Malaysia. *Journal of Natural Products* 83: 1925-1930.

環境生物科学部門 陸生生態学分野

工藤 岳

研究従事者: 大嶋希美

利用状況・研究成果

動物媒の植物の場合、花の形態は動物の誘引効率に関わる。例えば、花の色によってどの昆虫が誘引されるかが違ってくるといった例がある。このうち、花の香りや蜜はポリネーターを誘引する主な信号の一つであると考えられている (Legenheum 1994)。本研究で対象とするマツヨイグサ属植物は基本的に夜咲きの植物である。これまで、マツヨイグサ属についての先行研究において、ポーランドのマツヨイグサ植物 5 種について、昼夜間で花蜜中の糖分量の変化と、昼夜間でのポリネーター変化昼間は膜翅目、夜間は鱗翅目が観察されたことが報告されている (Anton et al. 2017)。また、送粉者の羽音によって蜜の分泌を行うことが報告されている (Veits et al. 2019)。マツヨイグサ属植物のうちメマツヨイグサは、二年草、自家和合性の一花をつける植物である。この種においては、夜間のポリネーターについての報告例は多い。しかし、この種がつける一日花は昼ごろまでは咲いており、メインのポリネーターが昼夜間で変化していることが予想される。

昨年の調査においては、北海道石狩市、茨城県ひたちなか市、鳥取県米子市の 3 地点について、野外調査を行った。調査項目は、(1)花および植物個体の形態的特徴の比較、(2)開花フェノロジーおよび開花時間の測定を行い解析した。この結果、まず花サイズは高緯度になるほど大きくなった。一方、個体サイズは海岸地域で小さくなった。また、生産した個体あたりの種子生産量の推定値は、各地域内で開花開始時の個体サイズと正の相関があった。また個体の頂芽の花数は個体サイズに依

存したが、個体の総花生産数は個体の開花サイズに依存しなかった。さらに、開花フェノロジーは高緯度地域で早まる傾向にあり、一日の中の花の開花開始時間も高緯度地域で早いことが明らかになった。

今年度は、2018 年に石狩市はまなすの丘公園で採取した種子から作成した人工個体群と、上記の 3 か所の比較検証を行った。

(1) 花および植物個体の形態的特徴の比較

野外個体群における植物個体の花の大きさ、植物高については前年の 2019 年と大きく傾向は変わらなかった。一方で開花個体の地際直径については鳥取県米子市のみ 2020 年が 2019 年に比べて優位に大きいことが明らかになった。

(2) 開花フェノロジーと開花時間の測定

昨年の研究から、野外個体群 3 地点と札幌個体群において、各個体がいつ最初の花を咲かせるかを記録したところ開花フェノロジーは高緯度地域で早まる傾向にあり、一日の中の花の開花開始時間も高緯度地域で早いことが明らかになった。また、開花時間については札幌において定点カメラを設置し、7 月 1 日から 10 月 28 日までの各週で花の開花時間を測定した。この開花時間を説明変数、週を応答変数、ランダム効果を個体 ID として線形回帰を行い、この回帰線と各調査地点とのずれを測定した。この結果、石狩は札幌と大きく変わらなかったが、日立は札幌よりも遅く開花している傾向にあり、米子も同様であった。

この傾向は経年を変化しても野外において変化は見られなかった。移植個体群においては、茨城県ひたちなか市由来のもの、鳥取県米子市由来のものも生育不良だったため開花時間の実験圃場での計測はできなかった。このことから上記の傾向は遺伝的なものなのか、環境的なものなのかについての検証は不十分である。

以上の結果から、気象条件から、まず各地の形態的特徴は風力などの気象条件に応じて変化していると考えられる。また、高緯度地域では成長可能な時間が短いため、開花フェノロジーが前倒しかつ短くなると考えられる。生育可能な期間が限られるため、総種子生産量は頭打ちになる。一方で、夜間の送粉者だけでなく夕暮れ時の送粉者も利用するために、花のディスプレイサイズの増加や、開花時間の変更などが観察されるのではないかと示唆された。この考察については昨年より大きく変わってはいないが、上述の通り十分に検証するためには移植実験による比較検証が必要である。

研究従事者：塩谷悠希

利用状況・研究成果

染色体の倍数化は、ゲノム全体が複製される出来事であり、多くの植物の分類群で確認されている。一説によると全ての被子植物は共通の祖先種の倍数化に由来し、また維管束植物の35%が最近の倍数化を経験しているとされ、倍数化が植物の多様性の駆動力となっていることが示唆されている。倍数化の適応的な意義については、自家和合性の進化が促進されること、複製された遺伝子が新しい機能を獲得することなどが挙げられているが、倍数化集団の成立・維持機構については不明な点が多い。本研究では、種内に異なる倍数性タイプをもつ林床植物ミミコウモリ (*Parasenecio kamtschaticus*) を用いて、祖先集団・倍数化集団の繁殖特性を比較し、倍数化の適応的な意義を検討した。

調査地として2倍体集団、4倍体集団、そして栄養繁殖体のムカゴを形成する4倍体変種のコモチミミコウモリ集団(以下コモチ集団)を2集団ずつ選定した。2倍体集団として苫小牧研究林と野幌森林公園を、4倍体集団として天塩研究林と知床を、そしてコモチ集団として赤岳と丸瀬布を選んだ。各集団で形態形質(葉数、葉面積、地際直径、草丈、花数)を計測し、5集団で受粉実験(無処理、他家受粉、袋がけのみ、自家受粉)を行った。また、2倍体苫小牧研究林・4倍体天塩研究林集団からそれぞれ15株を北海道大学・ゲノムダイナミクス研究センター施設の実験圃場内に移植し、タイプ間交雑実験を行った。

(1)形態形質比較では、4倍体は2倍体やコモチ集団よりも葉面積、地際直径、草丈が大きくなる傾向があった。葉数と花数はタイプ間で明瞭な差は認められなかったが、花生産や葉サイズの個体サイズ依存性は、4倍体では2倍体やコモチ集団よりも小さいことが示された。以上の結果から、4倍体は葉や花の生産よりも垂直方向への伸長を優先する資源投資戦略をもち、さらに高い背丈や大きな葉面積を示すことから光獲得競争に有利な形質をもつことが示唆された。既に知られている倍数性の分布情報から、このような形質をもつ4倍体集団が針広混交林よりも薄暗い針葉樹林の林床で選択されてきた可能性が示唆された。(2)受粉実験の結果、どの集団も自家和合性が低いことが示された。また、タイプ間受粉の結果、2倍体と4倍体の間の和合性(交雑による種子生産)は低いことも示された。以上の結果から、2倍体と4倍体の間の繁殖干渉の存在にもかかわらず、4倍体が自家和合性の獲得をせずに分布を拡大していった可能性が示唆された。ミミコウモリが多年草・多回繁殖性

で一年草に比べ干渉の効果が現れにくいこと、2倍体と4倍体の間に交配前の隔離機構が存在することなどの要因がこのような分布拡大に寄与した可能性があり、今後の詳細な調査が必要である。

今後は、ゲノムダイナミクス研究センター施設に移植した個体を用い、以下の調査を行う予定である。1)交配前隔離を調べるために開花時期をタイプ間で比較する。2)圃場への移植を行った2020年の交雑実験の結果は、移植に伴う株へのダメージの影響が考えられるため、サンプル数を増やして追加のタイプ間交雑実験を行う。

学会発表

塩谷悠希, 工藤岳: 林床植物ミミコウモリの倍数性変異と繁殖特性. 2020年度日本生態学会北海道地区大会, 2020年12月12日, zoomによるオンライン開催.

大学院理学研究院

物理学部門 量子物理学分野

松永 悟明 (純水利用)

論文発表

Thermodynamic Investigation on Antiferromagnetic Ordered State of the Molecular π -d System λ -(BEDT-STF)(2)FeCl₄

Fukuoka, S; Minamidate, T; Matsunaga, N; Ihara, Y; Kawamoto, A

JOURNAL OF THE PHYSICAL SOCIETY OF JAPAN 7 073704 (2020)

学会発表

"Co-appearance of high-T_c superconductivity and ferromagnetism in Ca₂RuO₄ nanocrystals",

H. Nobukane, K. Yanagihara, Y. Kunisada, Y. Ogasawara, K. Isono, K. Nomura, K. Tanahashi, T. Nomura, T. Akiyama, and S. Tanda, The APS March Meeting 2021. March 15-19 2021, ONLINE

擬一次元有機導体(DMET-TTF)₂AuBr₂ の電子物性 III
飯田瑠平, 佐々木義明, 土屋智敬, 澤田賢志, 松永悟明, 河本充司, 野村一成. 日本物理学会 2020年秋季大会 (オンライン) 2020年9月8日~11日

π -d系物質 λ -(BEDT-STF)₂FeCl₄ の誘電特性

福岡脩平, 伊藤悠馬, 高橋仁徳, 松永悟明, 井原慶彦, 河本充司. 日本物理学会 2020年秋季大会 (オンライン) 2020年9月8日~11日

Fe_{1+x}Te の誘電率測定 III

横井千熙, 宮寄一誠, 金井恭佑, 市村晃一, 丹田聡, 松永悟明, 黒澤徹. 日本物理学会 2020年秋季大会 (オンライン) 2020年9月8日~11日

π -d 電子系の反強磁性共鳴

大島勇吾, Taehoon Lee, Hengbo Cui, 南館孝亮, 齋藤洋平, 河本充司, 松永悟明, 加藤礼三. 日本物理学会第 76 回年次大会 (オンライン) 2021 年 3 月 12 日~15 日

擬一次元有機導体(DMET-TTF) 2AuBr_2 の電子物性 IV 加藤大賀, 飯田瑤平, 佐々木義明, 土屋智敬, 澤田賢志, 松永悟明, 河本充司, 野村一成. 日本物理学会第 76 回年次大会 (オンライン) 2021 年 3 月 12 日~15 日

ナノスケール NbS_3 の輸送現象

福田雄太, 延兼啓純, 小野寺鴻敏, 迫田將仁, 中津川啓治, 江花昭哉 ショーン, 横井千熙, 寺西優太郎, 丹田聡. 日本物理学会第 76 回年次大会 (オンライン) 2021 年 3 月 12 日~15 日

ナノスケール TaSe_3 の電子輸送現象

小野寺鴻敏, 延兼啓純, 野村温, 福田雄太, 山谷和彦, 高柳滋, 丹田聡. 日本物理学会第 76 回年次大会 (オンライン) 2021 年 3 月 12 日~15 日

物理学部門 電子物性物理学分野

河本 充司 (純水利用)

論文

Kobayashi, T., Ishikawa, T., Ohnuma, A., Sawada, M., Matsunaga, N., Uehara, H., and Kawamoto, A. (2020) Spin-density wave in the vicinity of superconducting state in λ -(BETS) $_2\text{GaBr}_x\text{Cl}_{4-x}$ probed by ^{13}C NMR spectroscopy. *Physical Review Research* 2: 023075.

Fukuoka, S., Minamidate, T., Ihara, Y., and Kawamoto, A. (2020) Selective observation of sublattice magnetization in the molecular π -d system λ -(BEDT-STF) $_2\text{FeCl}_4$ studied by ^{13}C NMR. *Physical Review B* 101: 184402.

Ihara, Y., Yoshida, H., Arashima, K., Hirata, M., and Sasaki, T. (2020) Anisotropic magnetic excitations from single-chirality antiferromagnetic state in Ca-kapellasite. *Physical Review Research* 2: 023269.

Fukuoka, S., Minamidate, T., Matsunaga, N., Ihara, Y., and Kawamoto, A. (2020) Thermodynamic Investigation on Antiferromagnetic Ordered State of the Molecular π -d System λ -(BEDT-STF) $_2\text{FeCl}_4$. *Journal of the Physical Society of Japan* 89: 073704.

Ishikawa, H., Yajima, T., Matsuo, A., Ihara, Y., and Kindo, K. (2020) Nonmagnetic Ground States and a Possible Quadrupolar Phase in 4d and 5d Lacunar Spinel Selenides GaM_4Se_8 ($M = \text{Nb}, \text{Ta}$). *Physical Review Letters* 124: 227202.

Kanda, T., Arashima, A., Hirose, Y., Settai, R., Matsui, K., Nomura, T., Kohama, Y., Ihara, Y. (2020) Symmetry Lowering on the Field-Induced Commensurate Phase

in CeRhIn_5 . *Journal of the Physical Society of Japan* 89: 094709.

Sawada, M., Kawamoto, A., and Kobayashi, T. (2021) Enhancement of electron correlations and spin density wave fluctuations of the organic superconductor λ -(BETS) $_2\text{GaCl}_4$ under pressure proved by ^{13}C NMR. *Physical Review B* 103: 045112.

Ihara, Y., Matsui, K., Kohama, Y., Luther, S., Opherden, D., Wosnitza, J., Kühne, H., and Yoshida, H. (2021) Emergence of Frustrated Short-Range Order above Long-Range Order in the $S = 1/2$ Kagome Antiferromagnet $\text{CaCu}_3(\text{OD})_6\text{Cl}_2 \cdot 0.6\text{D}_2\text{O}$. *Journal of the Physical Society of Japan* 90: 023703.

Matsui, K., Kanda, T., Ihara, Y., Kindo, K., and Kohama, Y. (2021) Compact megajoule-class pulsed power supply for generating long-pulsed magnetic fields. *Review of Scientific Instruments* 92: 024711.

Fukuoka, S., Haruyama, K., Ihara, Y., and Kawamoto, A. (2021) Effects of Anion Substitution on Unconventional Antiferromagnetic Ground State of Molecular π -d system λ -(BEDT-STF) $_2\text{Fe}_x\text{Ga}_{1-x}\text{Cl}_4$. *Journal of the Physical Society of Japan* Accepted.

学会発表

国内学会

福岡脩平, 伊藤悠馬, 高橋仁徳, 松永悟明, 井原慶彦, 河本充司: π -d 系物質 λ -(BEDT-STF) $_2\text{FeCl}_4$ の誘電特性.

日本物理学会 2020 年秋季大会, 2020 年 9 月 11 日, オンライン開催.

井原慶彦, 松井一樹, 小濱芳允, 吉田紘行: ^2D -NMR 測定による $\text{CaCu}_3(\text{OH})_6 \cdot 0.6\text{H}_2\text{O}$ の短距離相関状態の研究.

日本物理学会第 76 回年次大会, 2021 年 3 月 12 日, オンライン開催.

林馨, 下橋正和, 井原慶彦, 神田朋希, 松井一樹, 小濱芳允, 木村健太, 木村剛: パルス磁場中 NMR 測定による $\text{Pb}(\text{TiO})\text{Cu}_4(\text{PO}_4)_4$ の磁場誘起磁気秩序状態の研究.

日本物理学会第 76 回年次大会, 2021 年 3 月 14 日, オンライン開催.

岡太耀, 河本充司, 澤田賢士, 石川貴子, 小林拓矢: λ -(BETS) $_2\text{GaBr}_x\text{Cl}_{4-x}$ ($x = 0.9$) の ^{13}C -NMR.

日本物理学会第 76 回年次大会, 2021 年 3 月 14 日, オンライン開催.

河本充司, 福岡脩平, 小川巧真, 伊藤悠馬, 伊藤有咲, 小林拓矢, 谷口弘三: λ -(BEST) $_2\text{GaCl}_4$ 塩の $^{69,71}\text{Ga}$ -NMR.

日本物理学会第 76 回年次大会, 2021 年 3 月 14 日, オンライン開催.

伊藤悠馬, 春山和希, 福岡脩平, 井原慶彦, 河本充司: λ -(BEDT-STF)₂Fe_xGa_{1-x}Cl₄ における磁気秩序の安定化.

日本物理学会第76回年次大会, 2021年3月14日, オンライン開催.

生物科学部門 形態機能学分野

佐藤 長緒

- 1) 植物が糖/窒素 (C/N) 栄養バランスに応答する分子機構について, 細胞内リン酸化シグナル伝達ネットワークについて網羅的に解析した研究。シロイヌナズナを材料に, リン酸化プロテオーム解析を実施し, これまでにない大規模な C/N シグナル伝達ネットワークの情報が得られた。また, 栄養シグナルと細胞死制御に関わる新規受容体型キナーゼ LMK1 を単離した。[Li et al, *Frontiers in Plant Science* 2020]
- 2) AtNOT1 の変異株が雄性配偶体致死となるのは, 花粉の形成阻害が原因であることを明らかにした。ヘテロ接合体を用いた解析から, 花粉形成時の負の発現制御に関わっている可能性を示した。[Motomura et al, *Plant and Cell Physiology* 2020]
- 3) シロイヌナズナのホウ素濃度に応答した最小 uORF による翻訳制御を網羅解析により明らかにした。[Sotta et al, *Plant Journal* 2021]
- 4) モデル作物種であるトマトの果実を用いたプロテオーム解析手法に関して執筆した。果実における代謝酵素の活性制御に関わる 14-3-3 タンパク質の標的因子について, 当研究室で実施したハイスループットかつ網羅的なプロテオーム解析手法について解説した。[Luo et al, “Plant Proteomics: Methods and Protocol, Third Edition” 2020]

<原著論文>

- Li, X., Sanagi, M., Yu, L., Nomura, Y., Stolze, S.C., Yasuda, S., Saijo, Y., Schulze, W.X., Feil, R., Lunn, J.E., Stitt, M., Nakagami, H.*, Sato, T.* and Yamaguchi, J. (2020) Protein phosphorylation dynamics under carbon/nitrogen-nutrient stress and identification of a cell death-related receptor-like kinase in Arabidopsis. *Frontiers in Plant Science*, 11: 377
- Motomura K.†, Toshihiro Arae T.†, (†co-first authors) Uramoto A. H., Suzuki Y., Takeuchi H., Suzuki T., Ichihashi Y., Shibata A., Shirasu K., Takeda A., Higashiyama T., Chiba Y.* (2020) AtNOT1 is a novel regulator of gene expression during pollen development. *Plant Cell. Physiol.* 61: 712-721
- Sotta N.†*, Chiba Y.† (†co-first authors), Miwa K., Takamatsu S., Tanaka M., Yamashita Y., Naito S.*, Fujiwara T.* (2021) Global analysis of

boron-induced ribosome stalling reveals its effects on translation termination and unique regulation by AUG-stops in Arabidopsis shoots. *Plant J.* in press

<総説>

Luo, Y., Lu, Y., Yamaguchi, J. and Sato, T. (2020) Chapter 21, Proteome analysis of 14-3-3 targets in tomato fruit tissues. In “Plant Proteomics: Methods and Protocol, Third Edition” (edited by J.V. Jorrin Novo, L. Valledor, and M.A. Castillejo) *Methods in Molecular Biology*, Springer Protocol, Humana Press, 2139: 289-296

生物科学部門 行動神経生物学分野

小川 宏人

令和2年度研究成果

実験生物共同利用部門で飼育したフタホシコオロギ (*Gryllus bimaculatus*) を材料として, 神経生物学の実験を行った。

コオロギは, 腹部末端の尾葉と呼ばれる機械感覚器官で空気流振動を受容し, 短い気流刺激に対して素早く遠ざかる歩行行動を示す。この行動は気流を捕食者の接近と捉え, 捕食から逃れようとする逃避行動であると考えられている。また, オスコオロギの発する誘引歌に対してメスは音源に近付いていく接近行動 (音源定位) を示す。我々はこれまでに, 気流感覚情報処理の神経機構と気流誘導性逃避行動, 及び音源定位行動に関する神経行動学的研究を行ってきた。本年度は以下の気流誘導性逃避行動に関する研究成果を得た。

気流逃避行動に対する触角を介した機械感覚入力の影響

感覚器官などを能動的に動かして情報を得たり, 自ら放った音波の反射から物体を知覚したりすることをアクティブセンシングと呼ぶ。コオロギは頭部の触角を自発的に動かして物体に接触させ, その機械感覚入力から物体に定位することは報告されているが, 触角の各ティ部センシングによって周囲の空間を知覚しているかは不明であった。そこで, コオロギが触角を使って積極的に接触できるような場所に, 形状の異なる物体を設置し, 気流刺激に対する逃避行動への影響を調べた。

その結果, コオロギは, 物体の形状や位置に応じて, 障害物との衝突を回避するように逃避行動の移動経路を変えた。気流刺激による逃避行動は, 触角ではなく腹部尾葉器官を介して引き起こされることから, コオロギは触角を介さない別の刺激による行動であっても, 触角で知覚した物体の空間情報によって行動を変容しうると考えられる。この結果はコオロギが触角のアクティブセンシ

グによって周囲の物体に関する空間認識をしていることを示唆するものである。また、コオロギの前に壁を置き、コオロギのアンテナの片側で壁を検知するようにした場合、後ろからの刺激に対する逃避行動は、壁と反対側に大きく偏った。しかし、壁のない反対側のアンテナを切除すると、この衝突を避けるための経路変化はみられなくなった。以上の結果から、壁に触れていない側の触角からは単に入力がないのではなく、障害物が「ない」という情報を提供していることが示唆された。本研究により、コオロギはアンテナシステムを用いた能動的なセンシングにより、物体の有無などの空間情報を認識できることが示された。

気流誘導性逃避行動の行動選択と運動制御における脳-胸部神経節連絡の機能の解明

コオロギでは、気流刺激の強度や角度の情報は最終腹部神経節内で抽出され、そこから巨大介在ニューロン (GIs) によって脳や胸部神経節に運ばれる。これらの高次神経中枢で行動選択や運動制御に影響する気流刺激の情報処理が行われていると考えられるが、脳や胸部神経節がどのような役割を持つかは不明である。そこで、腹側縦連合神経束を異なる位置で切断して脳や胸部神経節への上行性信号 (感覚情報入力) や脳からの下行性信号 (運動司令出力) を遮断し、逃避行動における各高次中枢の機能を調べた。まず、左右の縦連合を脳-胸部神経節間で切断すると逃避行動が消失したため、気流逃避行動を行うには脳と胸部の神経連絡が必須であることが分かった。次に、第4-最終腹部神経節間または脳-胸部神経節間で縦連合を片側だけ切断した。前者では脳・胸部神経節共に片側の上行性信号が失われ、後者では胸部神経節脳へは両側性の上行性信号が維持されているが、脳に対しては上行性信号と胸部への下行性信号がそれぞれ片側遮断されている。その結果、胸部神経節への両側性の上行性信号入力があれば下行性信号が片側だけでも **running** することができたが、**jumping** には脳への両側性の上行性信号入力が必要であった。また、移動方向や移動速度、距離の制御には脳からの下行性信号が必要であった。さらに、**running** と **jumping** に先行して脳から送られる下行性信号を細胞外記録によって調べたところ、**jumping** の際には **running** より行動開始直前に急激な下行性信号の活動増加が生じることが確認された。これらの結果から、脳で決定された選択結果に基づいて異なる運動司令が胸部神経節に送られていると考えられる。

発表論文

1) Hommaru, N., Shidara, H. Ando, N and **Ogawa, H.**

(2020). Internal state transition to switch behavioral strategies in cricket phonotaxis behavior. *Journal of Experimental Biology*, 223: jeb229732.

2) Maekawa, T., Ohara, K., Zhang, Y., Fukutomi, M., Matsumoto, S., Matsumura, K., Shidara, H., Yamazaki, S., Fujisawa, R., Ide, K., Nagaya, N., Yamazaki, K., Koike, S., Miyatake, T., Kimura, K., **Ogawa, H.**, Takahashi, S. and Yoda K. (2020). Deep learning-assisted comparative analysis of animal trajectories with DeepHL. *Nature Communications*, 11: 5316.

国内学会発表

1) 佐藤和, 設楽久志, **小川宏人** (2020) . コオロギ気流逃避行動における行動選択の神経基盤. 日本動物学会第91回, 2020年9月4~5日, オンライン開催

2) 木村響, 福富又三郎, **小川宏人**, 根東知央, 日高幹也, 岡田二郎, 河端雄毅 (2020) . なぜコオロギは音を聞くと空気流刺激に対する逃避行動を変化させるのか: 捕食者シミュレーションによる逃避成功判定. 日本動物学会第91回, 2020年9月4~5日, オンライン開催

3) **小川宏人**, 林田賢樹, 甲斐加樹来, 設楽久志 (2020) . コオロギ脳内ニューロンにおける聴覚刺激と機械感覚刺激に対する多感覚応答の方向選択性. *Neuroscience 2020*-第43回日本神経科学大会-, 2020年7月29日~8月1日, オンライン開催

生物科学部門 行動神経生物学分野 水波 誠

1. コオロギの嗜好性および忌避性社会学習のメカニズムの探索

私達は、コオロギが他個体の行動を観察することで自ら直接経験することなく学習する社会学習の能力を持つことをすでに発見している。この学習現象についての解析を行った。

社会学習の訓練に用いた装置は、「デモンストレータ」室と「観察者」室からなり、両室は網で仕切られている。デモンストレータ室には異なる匂いを発する小容器が2つ置かれ、一方には水が、他方では塩水をおかれた。この部屋に3日間絶水させたデモンストレータコオロギを入れ、5分間自由に探索させ、その行動を「観察者」室に入れた観察者コオロギに網越しに観察させた。デモンストレータコオロギは水のある容器を訪問すると、長時間滞在して飲水したが、塩水の容器を訪問し塩水に口をつけると、直ちに後ずさりして容器から離れた。観察訓練の前後で観察者コオロギの2つの匂いの相対的な嗜好性をテストし、匂い嗜好性に変化があるかを調べた結果、観察者コオロギデモンストレータコオロギが長時間滞在し水を飲

んだ水源の匂いへの嗜好性は、訓練後には訓練前よりも有意に高くなることがわかった。一方、デモンストレータとして死んだコオロギを水源に置くと、観察者コオロギのその水源の匂いへの嗜好性は、訓練後には訓練前よりも有意に低くなった。

これらの社会学習に関わる連合過程について示唆を得る目的で、学習後に水を十分に飲ませ、水の報酬としての価値引き下げた状態で匂い嗜好性テストを行う行動実験などを行った。その結果、生きたデモンストレータにより嗜好性の社会学習は水（無条件刺激）と他個体（条件刺激 1）と匂い（条件刺激 2）が結びつく 2 次条件付けによって起こることが示唆された。一方他の実験結果から、死んだデモンストレータによる忌避性社会学習は、匂いの条件刺激と死体の無条件刺激が結びつく 1 次条件付けによって起こると示唆された。

これらの仮説の検証が次の課題となるが、その検証のためには報酬情報や罰情報を伝えるオクトパミンニューロンやドーパミンニューロンの受容体阻害剤を用いた薬理実験が必要である。これまでの実験系ではそのような実験は非常に困難であるので、新たに実験方法の改良を進めた。その結果、薬理実験のための実験系をほぼ確立しつつある。

原著論文

- 1) Ebina H., Mizunami M. (2020). Appetitive and aversive social learning with living and dead conspecifics in crickets. *Sci, Rep.* 10:9340.

著書

- 1) 水波誠(2020)、動物の事典、末松他編「感覚器」を担当、朝倉書店

生物科学部門 行動神経生物学分野 北田 一博

ヒトゲノムには 2 万個程度の遺伝子が存在するが、そのうち約 2,000 個の遺伝子が精子形成に関与すると報告されている (Csilla Krausz, *et. al*, *Nature Review Urology*, 2018)。しかし、その多くは機能解析が進んでおらず、不妊症の病因・病態を解明するうえで障害となっている。昨年、剖検にて ICR マウスの同一リッター内で、雄において精巣萎縮を示す複数の個体を偶然に見出した。病理組織学的検索では円形精子細胞の蓄積と巨大多核細胞の出現が観察され、第一減数分裂期の染色体分配に何らかの異常を呈していることが推察された。今年度においては昨年度に引き続き、異常個体由来するゲノム DNA の Reseq 解析を継続した。

昨年までは、翻訳領域に存在する 263 個の indel

を同定したが、今年に入って米国の Hsd:ICR のエクソームシーケンス解析がデータベース上に登録されたことから、日本の ICR に由来する本系統と比較した。263 個の indel のうち 182 個 (68.2%) の indel が正常な Hsd:ICR にも存在し、それらは候補変異から除外された。この 182 個の indel は dbSNP データベースに登録されておらず、ICR 系統にユニークな indel だと判断された、その多くは、抗体遺伝子や嗅覚受容体遺伝子等の多重遺伝子に存在するか、indel が最終エクソンに存在した。

続いてミスセンス変異を同定するため、GATK パッケージを用いて C57BL/6J との間の変異をコール、既に dbSNP データベースに登録されている変異を除外したところ、719 個の翻訳領域内のミスセンス変異が検出された。上記と同様な絞り込みを実施したところ、346 個 (48.1%) のミスセンス変異が Hsd:ICR ゲノムにも認められことから候補から除外され、さらに 21 日齢の精巣で高発現する遺伝子を指標にしたところ、最終的に 7 個の候補遺伝子の絞り込みに成功した。それら候補遺伝子のゲノム編集を開始した。

本研究の副産物として、実験動物としてよく用いられる ICR 系統の確立・分与されて経緯の情報が得られた。すなわち、まずクローズドコロニー系として ICR が確立されて、その後日米欧に分配された経緯が推測されたことは、興味深い。

生物科学部門 行動神経生物学分野 和多 和宏

研究結果

音声発声学習の臨界期制御及び、種特異的な発声パターン生成に関わる遺伝子群を明らかにし、その脳内分子機能を神経行動学的に検証することを目的として研究を進めている。ヒトの言語や小鳥の歌は、親など他個体の発声パターンをまねることで後天的に獲得される。この発声学習には、学習が効率よく進む時期、すなわち学習臨界期（感受性期）があることが知られている。発声学習を含む感覚運動学習は、動物自ら行動生成することで獲得される学習様式である。その自発的行動により脳内ではエピジェネティクス制御因子を含む遺伝子群が神経活動依存的に発現誘導され、神経可塑性などの神経回路の機能特性の変化が起こる。しかし、多くの学習行動が、「いつ・どのように・どれだけ」生成されるかは、動物個体ごとに大きな違いが生じる。この行動生成の時期・質・量の違いを「個体の学習行動履歴」として、脳内でモニターし、個体ごとにユニークな脳内遺伝子発現に還元する神経分子メカニズムが存在すると考えられる。本研究では、鳴禽類ソングバードの発声

学習を学習行動モデルとして、「自ら声を出す」という自発的行動が、その後に獲得される音声パターンや学習臨界期間の個体差にどのような影響を与えるのか、自発学習行動依存的エピジェネティクス制御の観点から研究を進めている。そのため、実験生物共同利用部門で飼育・繁殖した動物個体を用いて、神経行動学的研究を実施している。

今年度は、発声学習臨界期でのエピジェネティクス動態を明らかにする目的で、歌神経核でのオープンクロマチン領域の学習臨界期前後の変化を検証した。その結果、運動系歌神経核において、ATAC-seq シグナルとして検出されるオープンクロマチン領域のピークの大きさが、同じ日齢にも関わらず、同種個体間で異なるという『オープンクロマチン領域の個体差』の存在を発見した。さらに、この個体差を示すオープンクロマチン領域内には個体間 SNPs が高い頻度で存在することに気が付いた。実際、この ATAC ピークの個体差に対応するように、約 15~20%の割合で、近傍に存在する遺伝子の転写発現レベルに個体差が生じていることも明らかになった。

論文発表

James LS, Davies R Jr, Mori C, Wada K, Sakata JT. (2020) Manipulations of Sensory Experiences During Development Reveal Mechanisms Underlying Vocal Learning Biases in Zebra Finches. *Developmental Neurobiology* 80:132-146.

James LS, Sun H, Wada K, Sakata JT. (2020) Statistical learning for vocal sequence acquisition in a songbird. *Scientific Reports* 10:2248.

生物科学部門 生殖発生生物学分野 黒岩 麻里

私たちが研究対象としているアマミトゲネズミ (*Tokudaia osimensis*) とオキナワトゲネズミ (*Tokudaia muenninki*) は、その性染色体と性決定の分子メカニズムにユニークな特徴をもつ。そこで、トゲネズミ属の性染色体進化の過程および性決定分子メカニズムを明らかにすることを目的として、2種の凍結線維芽細胞を本センター西棟にて保管している。また、2種の BAC ライブラリーを作製し、同じく西棟にて保管している。保管している BAC ライブラリーは、アマミトゲネズミが 384 ウェルプレート 255 枚、オキナワトゲネズミが 384 ウェルプレート 420 枚である。これらの BAC ライブラリーは独立行政法人 理化学研究所 免疫・アレルギー科学 総合研究センター (神奈川県横浜市) で作成、保存されていたものである。希少なサンプルを日本各地に分散させ、災害時の損失を

最小限に抑える目的からも、当センターにて保管している。

アマミトゲネズミは哺乳類でありながら Y 染色体を消失しており、雌雄ともに XO 型 ($2n=25, XO/XO$) という大変珍しい核型をもつ。また哺乳類の性決定遺伝子である *SRY* (sex determining region on Y) 遺伝子も消失している。しかし、一部の Y 染色体の遺伝子は、X 染色体長腕末端部に転座することで、現在も残されていることがわかっている。本年度は、これら Y 遺伝子配列を利用して BAC ウォーキングを行い、X 染色体上に残されている元 Y 染色体領域の全配列と元 Y 遺伝子について明らかにした。

また、鳥類における生殖発生学研究を展開することを目的として、ゲノム東棟でニホンウズラ (*Coturnix japonica*) を飼育している。本年度は、本種における性決定および性分化関連遺伝子の同定、各遺伝子の発現様式の確認を行った。また、複数の発生段階にある初期生殖腺において RNA-seq 解析を実施し、得られたデータを雌雄間で比較し、発現様式のプロファイリングを行なった。その結果、性分化関連遺伝子は共通の発現パターンをとることが明らかとなった。

さらに、上述の鳥類研究と並行して、CRISPR/Cas9 システムを利用したゲノム編集ニホンウズラの作出も手がけた。細胞周期 G1 関連タンパク質であるサイクリン D1 をコードする遺伝子上に gRNA ターゲット配列を選定し、顕微授精法を駆使して作出した 1 細胞期の受精卵にその sgRNA および Cas9 mRNA を投与した。その後の表現型解析から、ほぼ全ての胚がステージ V と呼ばれる卵割期で発生停止を呈することが分かった。さらなるプロテオーム解析から、ステージ V 以降の発生に必要な不可欠である retinoblastoma タンパク質の分解にサイクリン D1 が関与することが明らかとなった。

論文発表・学会発表等

1. Okuno M*, Miyamoto M*, Itoh T, Seki M, Suzuki Y, Mizushima S, Kuroiwa A. (2020) Expression profiling of sexually dimorphic genes in the Japanese quail, *Coturnix japonica*. *Scientific Reports* 10:20073. *Equally contribution.
2. Matsuzaki M, Hirohashi N, Tsudzuki M, Haqani MI, Maeda T, Mizushima S, Sasanami T. (2021) Longer and faster sperm exhibit better fertilization success in Japanese quail. *Poultry Science* 100:100980.
3. Matsuzaki M, Hirohashi N, Mizushima S, Sasanami T. (2021) Effect of sperm surface oligosaccharides in sperm passage into sperm storage tubules in Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Animal Reproduction Science in press*.
4. Kuroiwa A: Unique genome evolution of the

Y-absent mammal in genus *Tokudaia*. The workshop "Biological fate determination by multidimensional genome changes", The 43rd Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan. Organizer and Presenter: Kuroiwa A, 3rd Dec, 2020, Online.

5. 黒岩麻里: Y 染色体と SRY 遺伝子をもたない哺乳類種の性決定メカニズム化 (招待講演), 第 92 回日本遺伝学会年会, ワークショップ「マウス遺伝学からみるクロマチン制御機構」, 2020 年 9 月 18 日, くまもと県民交流館パレア, 熊本.
6. 水島秀成, 黒岩麻里: ウズラ胚の母性-胚性遷移期におけるサイクリン D の役割, 第 6 回北大・部局横断シンポジウム, 2020 年 10 月 19 日, オンライン開催.
7. 水島秀成: 鳥類多精受精における主精子選択と余剰精子排除メカニズムに関する研究, 第 21 回日本畜産学会若手企画シンポジウム, 2020 年 11 月 13 日, オンライン開催.
8. 水島秀成, 塚田光, 笹浪知宏, 小野珠乙, 黒岩麻里: ウズラ初期胚における DAZL (deleted in azoospermia-like) の発現解析, 第 44 回鳥類内分泌研究会, 2020 年 12 月 12 日, オンライン開催.
9. 市川佳伸, 松崎芽衣, 水島秀成, 笹浪知宏: ウズラの精子-卵子相互作用における Annexin6 の役割, 日本家禽学会 2021 年度春季大会, 2021 年 3 月 27 日, オンライン開催予定.
10. 松崎芽衣, 水島秀成, 広橋教貴, 堀内浩幸, 笹浪知宏: ウズラの精子表面の糖鎖が精子貯蔵管への精子侵入へ果たす役割, 日本家禽学会 2021 年度春季大会, 2021 年 3 月 27 日, オンライン開催予定.

生物科学部門 生殖発生生物学分野 萩原 克益

脊椎動物の生殖器官の機能に関する研究

(研究目的) 脊椎動物の生殖活動は, 視床下部 (脳) - 脳下垂体 - 生殖腺からなる生殖内分泌系により調節され, 卵巣でつくられる卵と精巣でつくられる精子の合体 (受精) により新しい個体ができる。当研究室では, 卵巣, 精巣等における様々な現象を分子レベルで解析し, そのメカニズムを解明することを目的に研究を進めている。現在は, 脊椎動物の卵巣機能 (特に卵子形成や排卵) に関連する未解明な課題に取り組んでいる。

(経過・結果)

当研究室では, 実験材料としてメダカやマウスを用いて研究を行っている。メダカは, 排卵実行に必要な不可欠な酵素 (排卵酵素) がすでに同定されており, さらに生体外で排卵現象を観察できる培養系が利用可能なことから, 排卵研究に適した

実験動物である。メダカを用いた排卵関連研究として以下の 2 テーマについて研究を行っている。また, マウスを用いた研究テーマとして以下の研究を行っている。

(1) 排卵関連遺伝子欠損メダカの作製

メダカ排卵に重要な役割を担うことが判明している MT2-MMP は, 排卵の直前に急激に誘導されることが明らかとなっている。また, 核内プロゲステロン受容体 (nPR) は黄体形成ホルモン LH により誘導され, MT2-MMP を含む様々な排卵関連遺伝子の発現誘導に関与する核内転写因子として機能することが当研究室の研究から明らかとなっている。この研究課題は, 上記 2 種の排卵関連遺伝子について CRISPR-Cas9 システムを利用し MT2-MMP および nPR knockout メダカを作成, 解析を行うことを目的としている。

MT2-MMP 欠損メダカについては, フレームシフトにより途中で終始コドンが入る変異メダカが 2 系統得られており, 1 系統についてはホモメダカの作出まで終了している。この系統は, 予想に反して不妊の表現型は示さず, 正常に排卵が起きることが確認された。しかしながら, 野生型やヘテロメダカと比較して排卵数が減少する傾向が確認されたので, 今後より詳細な解析を行う予定である。また, 胚発生時にもある割合で異常を来す個体が確認されており, これについてもより詳細な解析を進める予定である。一方, nPR 欠損メダカについては, 一部アミノ酸欠失が起こる変異が導入された変異メダカが 2 系統, フレームシフトにより途中で終始コドンが入る変異メダカが 1 系統得られている。そのうち, アミノ酸欠失メダカ 1 系統とフレームシフトメダカ 1 系統については, ホモメダカの作出まで作出が進んでおり, 今後詳細な解析を行う予定である。なお, これらの欠損メダカについては, 無排卵の表現型を示す個体が確認されるなど興味深い結果が得られている。

(2) メダカ排卵後の残留濾胞組織の迅速分解機構

卵母細胞は濾胞内で成長し, 受精可能な状態になると排卵される。濾胞は卵母細胞と卵母細胞を囲む濾胞細胞層から成り, 排卵時, 卵母細胞のみが排卵され, 卵巣内には濾胞細胞層 (濾胞組織) が取り残される。この濾胞組織は中央部へと引き込まれながら, 徐々に分解され, 最終的に消失するが, 毎日排卵をするメダカでは, この分解, 除去機構が哺乳類などと比較して, ずっと早い。本研究課題では, この迅速な分解, 除去機構の詳細を明らかにすることを目的としている。排卵の 16~20 時間後に濾胞組織は除去されるが, この際, アポトーシスが関与することが示唆されていたことから, 今年度はこのアポトーシスに関与する caspase に関して解析を行った。

qRT-PCR 解析の結果から、メダカ卵巣には、5種の caspase mRNA の発現が確認され、この中で発現量の高い3種について、リコンビナントタンパク質を作製し、これらを抗原として特異的抗体の作製を試みた。その結果、3種すべてについて特異的抗体が作製できたので、これらを用いて、卵巣内でのタンパク質発現を調べた。Western blot 解析から、1種の caspase についてはその発現が確認できたが、他の2種については検出できなかった。この2種については、検出感度以下の発現量もしくは発現していない可能性が考えられる。今後も解析を行い、卵巣に発現する caspase の特定を進める。

(3) 濾胞選択機構の解明

哺乳類の卵巣には、原始濾胞とよばれる濾胞が多数ストックされている。この原始濾胞の一部(数十個~百個程度)が何らかの刺激により成長を開始し、最終的に1~10個程度の卵子が排卵される。成長を開始した濾胞の大部分は、途中で成長を停止し、アポトーシスにより死滅する。この過程が濾胞選択であるが、生き残る濾胞とアポトーシスにより死滅する濾胞はどのように選別されているのか、その分子機構を明らかにすることが本研究の目的である。

100個前後の卵子を排卵させることができる薬剤(PMSG/hCG等で過排卵を誘導するとマウスの場合、10-20個程度が排卵される)を用いて排卵を誘導したマウスの卵巣と通常過排卵を誘導したマウスの卵巣を用いて解析を行った結果、estradiol-17 β とアクチビンの量が通常過排卵誘導マウスの卵巣と比較して有意に上昇していること明らかとなった。この結果は、濾胞選択に上記因子が関与していることを示唆する。現在、上記因子が上昇する理由について解析を行っている。

論文

1. *Hagiwara A., **Ogiwara K., Sugama N., Yamashita M., #Takahashi T (2020). Inhibition of medaka ovulation by gap junction blockers due to its disrupting effect on the transcriptional process of LH-induced Mmp15 expression. *Gen. Comp. Endocrinol.* 288:113373. doi: 10.1016/j.ygcen.2019.113373. (*: These two authors are equally contributed to this work. #: These two are co-corresponding authors.)

学会発表

荻原克益、荻原茜、洲鎌なつ、山下正兼、高橋孝行
Gap junction blockers によるメダカ排卵の阻害—LH 誘導性の排卵酵素 MT2-MMP の発現誘導における Gap junction の関与 第91回日本動物学会(オンライン)、2020年9月4-5日

荻原克益、高橋孝行

メダカ排卵酵素 MT2-MMP の発現誘導における Gap junction の関与 第6回北海道大学部局横断シンポジウム(オンライン)、2020年10月19日

生物科学部門 生殖発生生物学分野 木村 敦

<研究課題名>

哺乳類の生殖に関わるゲノム機能に関する研究

<利用状況・成果>

当研究室では、哺乳類の生殖におけるゲノム機能を解明することを目的として、生殖器官における遺伝子発現調節機構を調査している。具体的には卵巣、精巣、胎盤で発現するさまざまな遺伝子がどのようなメカニズムで制御されているのかを分子レベルで調べており、必要に応じて遺伝子の機能解析も行っている。また、多くのゲノム配列から転写される long noncoding RNA の解析も行っている。今年度は、精子形成において新たなタイプの多機能性ゲノムを発見し、解析した。

我々はこれまでマウスの精子形成で転写活性化を担う多機能性ゲノムとして、プロモーターとエンハンサーの活性を併せ持つ dual promoter-enhancer に着目した研究を進めており、網羅解析の結果などから一次精母細胞における重要性を示唆するデータを得ている。今回我々は、この研究過程において、一次精母細胞で別なタイプの多機能性ゲノム「dual enhancer-silencer」を発見した。マウス18番染色体上の *Kctd16* 遺伝子のイントロンに存在するこのゲノム領域を、我々は DES-K16 と名づけた。Chromatin immunoprecipitation-sequencing データの解析から、DES-K16 はマウス一次精母細胞で H3K4me1、H3K27ac、H3K27me3 という3つのヒストン修飾が極めて高いレベルで検出される領域として同定された。このうち H3K4me1 と H3K27ac は一般にエンハンサーに見られるヒストン修飾であるのに対し、H3K27me3 はサイレンサーに見られる修飾である。そこで、DES-K16 の転写調節活性を *in vitro* レポーター解析によって調べたところ、2つの細胞種においていずれもエンハンサー活性を示した。次に、マウス一次精母細胞由来の GC-2spd(ts)細胞において、CRISPR/Cas9 を用いたゲノム編集法によって DES-K16 配列を欠失させた。その結果、驚くべきことに、近傍の *Yipf5* 遺伝子の発現が減少すると同時に、ゲノム編集前の細胞やコントロールの細胞でまったく検出されなかった *Kctd16* 遺伝子の発現が DES-K16 の欠失によって活性化していた。つまり、DES-K16 は GC-2spd(ts)細胞において *Yipf5* 遺伝子のエンハンサーとして機能すると同時に *Kctd16* 遺伝子のサイレンサーとし

ても機能することがわかった。この転写調節活性は、減数分裂過程で一次精母細胞において、*Yipf5* 遺伝子の発現が上昇し、*Kctd16* 遺伝子の発現が減少することとも一致していた。したがって、DES-K16 は一次精母細胞でエンハンサーとしてもサイレンサーとしても機能する dual enhancer-silencer であることが示唆される。これまで報告のあった dual enhancer-silencer はすべて、そのエンハンサー活性とサイレンサー活性を異なる種類の細胞・組織でそれぞれ発揮するのに対し、DES-K16 は1つの細胞種で両方の活性を示す点で新たなタイプの多機能性ゲノムである。これまでに得られた dual promoter-enhancer のデータを合わせて考えると、一次精母細胞の転写調節において多機能性ゲノムが重要な役割を果たすことが考えられる。

<論文発表>

1. Bandara T.A.M.K., Otsuka K., Matsubara S., Shiraishi A., Satake H., and Kimura A.P. (2021) A dual enhancer-silencer element, DES-K16, in mouse spermatocyte-derived GC-2spd(ts) cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **534**: 1007-1012.
2. Mayama S., Hamazaki N., Maruyama Y., Matsubara S., and Kimura A.P. (2020) Transcriptional activation of the mouse *Scd2* gene by interdependent enhancers and long noncoding RNAs in ovarian granulosa cells. *J. Reprod. Dev.* **66**: 435-444.
3. Takahashi N., Kimura A.P., Ohmura K., Naito S., Yoshida M., and Ieko M. (2020) Knockdown of long noncoding RNA *Dreh* facilitates cell surface GLUT4 expression and glucose uptake through the involvement of vimentin in 3T3-L1 adipocytes. *Gene* **735**: 144404.

<学会発表>

1. 佐藤丈生、佐藤優衣、寺尾美穂、高田修治、木村敦「マウス精巣特異的な long noncoding RNA である *Tesra* ノックアウトマウスの表現型解析」日本動物学会北海道支部第 65 回大会（オンライン開催、2021 年 3 月 20 日）

生物科学部門 生殖発生生物学分野 小谷 友也

生殖細胞は 2 回の連続した細胞分裂、減数第一分裂と第二分裂を正常に進行することで形成される。卵母細胞は減数分裂を第一分裂前期で停止し、多くの因子を蓄積する。近年の研究から、1 万種類を超える mRNA が成長過程で蓄積されること、これらのなかで千種類以上の mRNA は翻訳を抑制されタンパク質を合成しない状態で存在することが明らかとなってきた。これら mRNA は減数分裂と胚発生のそれぞれに決められた時期に翻訳され、受精可能な卵の形成と初期発生を進行させる。減

数分裂における翻訳制御のメカニズムは、主に両生類卵母細胞を用いた生化学的解析によって研究されてきた。しかし、mRNA 分子が卵細胞質で実際にどのように制御を受けるかはほとんど分かっていない。

我々は翻訳を抑制された cyclin B1 と *Mad2* mRNA が卵細胞質で顆粒状の構造をとること、減数分裂の第一分裂においてこの顆粒構造が消失し、翻訳が活性化することを示してきた。これは、減数第一分裂で翻訳される数百種類の mRNA の翻訳制御機構のモデルとなりうる。一方で千種類近くの mRNA は減数第二分裂で翻訳されるが、これら mRNA がどのように翻訳を制御されるのかについては不明であった。

Emi2 タンパク質は減数分裂の第一分裂終了後に蓄積し、第二分裂への移行と第二分裂での分裂装置形成、および、中期での減数分裂の再停止に必須の因子である。本研究で我々は、マウス卵母細胞において *Emi2* mRNA が cyclin B1 mRNA と同様に翻訳を抑制され、顆粒状の構造をとることを明らかにした。これら mRNA は異なる顆粒を形成した。さらに、*Emi2* mRNA の翻訳抑制は cyclin B1 mRNA とは異なり、減数分裂の第二分裂（減数分裂再開後 12~18 時間）で解除されることを明らかにした。興味深いことに、RNA 結合タンパク質の HuR と HuB は cyclin B1 と *Emi2* mRNA の両方に結合したが、同じく RNA 結合タンパク質の Pumilio1 は cyclin B1 mRNA と結合するものの、*Emi2* mRNA とは結合しないことを示した。試験管内で mRNA に結合するタンパク質を網羅的に解析した結果、*Emi2* mRNA に特異的に結合する候補タンパク質を 71 種類同定した。我々はこの中で *Tdrd3* タンパク質に焦点を当て、このタンパク質が *Emi2* mRNA と直接結合すること、卵細胞質で *Emi2* の RNA 顆粒と共局在することを示した。

Tdrd3 の機能を解析するため、マウス卵母細胞に抗 *Tdrd3* 抗体を微量注入し、減数分裂を再開させた。これらの卵母細胞では、第二分裂の初期における *Emi2* タンパク質の合成が阻害されたものの、その後タンパク量はコントロールの卵母細胞と同程度となった。これは、抗体によって *Tdrd3* の機能が部分的に阻害されたためと考えられる。次に我々は TRIM-Away システムと抗 *Tdrd3* 抗体を用い、卵母細胞における *Tdrd3* タンパク質を特異的に分解した。*Tdrd3* をノックダウンした卵母細胞は、減数第一分裂を正常に進行するものの、第一分裂終了後に前核を形成し、なおかつ、第二分裂の紡錘体を形成することができなかった。興味深いことに、*Tdrd3* のノックダウンは第二分裂における *Emi2* タンパク質の合成を著しく低下させたが、第一分裂における cyclin B1 と *Mad2* タンパク質の合

成に影響を与えなかった。以上の結果から、Tdr3 は第二分裂における *Emi2* mRNA の翻訳を促進すること、*Emi2* タンパク質の合成を介して減数第二分裂を正常に進行させる因子であることが明らかとなった。

発表論文

Takei N, Takada Y, Kawamura S, Sato K, Saitoh A, Bormann J, Yuen WS, Carroll J, Kotani T. (2020) Changes in subcellular structures and states of pumilio1 regulate the translation of target *Mad2* and cyclin B1 mRNAs. *Journal of Cell Science*, 133: jcs249128.

Takada Y, Lyyappan R, Susor A, Kotani T. (2020) Posttranscriptional regulation of maternal *Pou5f1/Oct4* during mouse oogenesis and early embryogenesis. *Histochemistry and Cell Biology*, 154: p609-620.

Balboula AZ, Schindler K, Kotani T, Kawahara M, Takahashi M. (2020) Vitrication-induced activation of lysosomal cathepsin B perturbs spindle assembly checkpoint function in mouse oocytes. *Molecular Human Reproduction*, 26: p689-701.

学会発表

武井夏海, 山本雄広, 小谷友也: マウス卵母細胞における RNA 顆粒を介した *Emi2* mRNA の翻訳制御: RNA 結合タンパク質の種類の違いによる翻訳時期の調節. 第 6 回北大・部局横断シンポジウム, 2020 年 10 月 19 日, 北海道大学医学部学友会館フ ラテホール (web 開催)

生物科学部門 多様性生物学分野

小亀 一弘 (海水利用)

発表論文

Santiañez, W.J.E. Al-bader, D., West, J.A., Bolton, J.J. and Kogame, K. (2020) Status, morphology, and phylogenetic relationships of *Iyengaria* (Scytosiphonaceae, Phaeophyceae), a brown algal genus with a disjunct distribution in the Indian Ocean. *Phycological Research* 68: 323–331.

Poza, A.M., Santiañez, W.J.E., Croce, M.E., Gauna, M.C., Kogame, K. and Parodi, E.R. (2020) Cryptic haploid stages in the life cycle of *Leathesia marina* (Chordariaceae, Phaeophyceae) under *in vitro* culture. *Journal of Phycology* 56: 1349-1361.

Hoshino, M., Ino, C., Kitayama, T. and Kogame, K. (2020) Integrative systematics approaches revealed that the rare red alga *Schimmelmannia* (Schimmelmanniaceae, Acrosymphytales) from Japan is a new species: the description of *S. benzaiteniana* sp. nov. *Phycological Research* 68: 290-297.

学会発表

猪野千尋, 星野雅和, 阿部剛史, 四ツ倉典滋, Klochkova, N., 小亀一弘: 北海道産紅藻クシベニヒバ属 (*Ptilota*) の系統分類学的研究, 日本藻類学会第 45 回大会, 2021 年 3 月 16, 17 日, 東京海洋大学 (東京都)

星野 雅和, 北山 太樹, 小亀 一弘: 真正紅藻ヒビロウド属 (*Dudresnaya*) の系統分類, 日本藻類学会第 45 回大会, 2021 年 3 月 16, 17 日, 東京海洋大学 (東京都)

Dy, M.J.C, Hoshino, M., Abe, T., Yotsukura, N., Klochkova, N., Lee, K.M., Boo, S.M. and Kogame, K.: A new species of *Colpomenia* (Scytosiphonaceae, Phaeophyceae) from Hokkaido, Japan and Magadan, Russia, The 12th International Phycological Congress (IPC 12), March 22-26, 2021, Chile (online)

生物科学部門 多様性生物学分野

柁原 宏 (海水利用)

論文

Hookabe, N. and Kajihara, H. 2020. Taxonomic reappraisal of *Lineus longifissus* Auct. (Nemertea: Pilidiophora) from Japan for the first time in 122 years. *Zoological Science* 37: 467–475.

Jimi, N., Minokawa, T., Miura, T., and Kajihara, H. 2020. Meiobenthic polychaete *Dinophilus* sp. cf. *gyrociliatus* (Annelida: Dinophilidae) from Japan with SEM observation and DNA barcodes. *Species Diversity* 25: 213–218.

Okamoto, N., Oya, Y., and Kakui, K. 2020. A new species of *Zeuxo* (Crustacea: Peracarida: Tanaidacea) from Japan, with remarks on carapace pigmentation as a potentially useful taxonomic character. *Marine Biology Research* 16: 411–422.

生物科学部門 多様性生物学分野

加藤 徹

当研究室では、さまざまな野生ショウジョウバエ種を対象に、系統学研究や集団遺伝学研究を行っている。また、飼育可能なショウジョウバエについては、野外で採集した個体を実験生物棟内で継代飼育し、研究に利用している。

1) Hirtodrosophila 属ショウジョウバエ 3 種の生態的特性と遺伝分化

Hirtodrosophila trilineata, *H. trivittata*, および *H. ussurica* の 3 種は、形態的によく似たキノコ食性のショウジョウバエである。先行研究では、これらの寄主選好性が異なる可能性が指摘されているものの、その詳細は不明である。そこで、これら 3

種の食性に関する基礎情報を収集すべく、成虫個体野外で採集し、消化管の内容物を調べた。その結果、消化管はキノコの孢子で満たされていたことから、成虫は孢子を利用資源としていることが明らかとなった。また、3種のCOI遺伝子の塩基配列を決定し、系統解析を行ったところ、*H. ussurica* は他の2種とはクレードを形成せず、別のショウジョウバエ種と姉妹群を形成した。

2) *Drosophila quinaria* 種群のショウジョウバエの単系統性の検証

D. quinaria 種群は、ショウジョウバエ属の中でもキノコ食の種が多く含まれる分類群である。従来、この種群は単系統群であると考えられてきたが、近年の分子系統学研究から、個々の遺伝子系図を重視した解析法を用いると、必ずしも単系統群にならないことが指摘されている。そこで、*D. quinaria* 種群の単系統性を詳細に検証することを目的に、タクソンサンプリングと配列情報を増やして系統解析を行った結果、どの解析法を用いても、*D. quinaria* 種群は単系統的にまとまり、本種群の単系統性が強く支持された。さらに、コドン1番目と2番目の塩基のみを解析に用いた際には、従来と同じタクソンサンプリングで系統解析を行っても同様の結果が得られたことから、個々の遺伝子系図を重視した解析法は、他の解析法に比べ、コドン3番目の塩基組成の影響を受けやすい可能性が示唆された。

- ## 3) ショウジョウバエのキノコ毒耐性の検証：
- Drosophila* 属 *quinaria* 種群に属するショウジョウバエは、他のショウジョウバエにとって有毒なキノコ由来の毒である α アマニチンに耐性を持つ事が知られている。しかしながら、この形質が *quinaria* 種群の系統で特異的に獲得されたものか、あるいは他のショウジョウバエ系統でも獲得されているかは不明である。この問題を明らかにするため、当施設で継代飼育を行っている *quinaria* 種群および他のグループのいくつかのショウジョウバエについて、 α アマニチンを含む餌で成虫を飼育し、2週間後の生存率を比較することでキノコ毒耐性の評価を行った。その結果、*quinaria* 種群とは系統的に離れた非キノコ食の種でも、 α アマニチンに耐性を持つものが認められたことから、この形質が *quinaria* 種群だけで特異的に獲得されたわけではないことが示唆された。

誌上発表

1. Toda, M.J., Banziger, H., Sati, P.C., Rajendra, F.S., Suwito, A., Katoh, T. (2020) Taxonomy and evolution of asymmetric male genitalia in the subgenus *Ashima* Chen (Diptera: Drosophilidae: *Phortica* Schiner), with descriptions of seven new

species. *Zootaxa* 4789:1-54.

大学院農学研究院

基盤研究部門 生物資源科学分野

秋元 信一

研究従事者：菅野良一

短翅性で移動能力に乏しい、サッポロフキバタ *Podisma sapporensis* 及び、ミカドフキバタ *Parapodisma mikado* を材料に用い、集団間の配偶行動の分化の進化プロセスや、生殖隔離機構の解明に取り組んでいる。特にサッポロフキバタは、これらの研究の材料として、以下の2点において特異的である。1) 性決定システムの2型が異所的に安定的に存在する。北海道西部には、オス XO、メス XX で性決定する XO レース集団が、北海道東部にはオス neo-XY、メス neo-XX で性決定する neo-XY レース集団が分布する。2) 交尾活性(オスの交尾活力とメスの交尾拒否力)が地域集団で異なる。本種のメスはオスに対して交尾拒否行動を示すが、メスの交尾活力が強い集団はオスの交尾活力も強く(交尾活性強)、メスの交尾拒否力が弱い集団はオスの交尾活力も弱い(交尾活性弱)。そのため、集団間交配をさせると、交配前隔離やランダム交配はほとんど見られず、交尾活性が強い集団のオスと交尾活性が弱い集団のメス間の交尾が頻繁に生じ、非対称な交配パターンになる。

更に本種には性決定システムの2型とは関係なく、体色において、北海道内に広く分布する一般的な緑色型と、特異な体色を持つ黒色型の2型も存在する。黒色型は、緑色型の地域集団間に見られる色彩や黒色条の有無などの僅かな変異とは著しく異なる(下図)。以前は留萌市周辺のごく狭い範囲にのみ分布する特異な体色変異集団と考えられていたが、我々の調査によって南北に45キロ、東西に30キロ程の範囲に分布することが明らかになった。行動実験の結果、両体色型の間には交尾前隔離は存在しなかった。そのため昨年度から、体色が異なる集団間交配で得られた卵から孵化率や成虫の体色を調べ、体色2型が存在する理由を検証している。

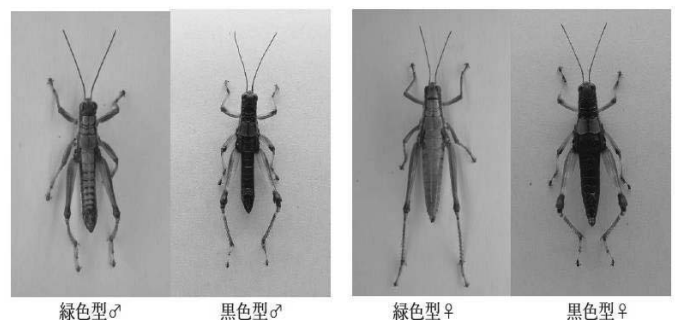
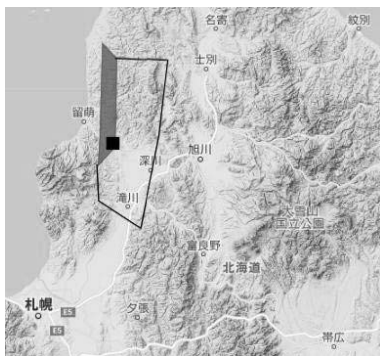


図1 サッポロフキバツタの緑色型と黒色型の体色の違い

現在まで、サッポロフキバツタの越冬卵の最適な保存方法、孵化条件は確立されておらず、同集団同士の雌雄の組み合わせでの孵化率も20~30%と低い。昨年度は、黒色型♂と緑色型♀の組み合わせでは孵化率は17%、緑色型♂と黒色型♀の組み合わせでは7%だった。オスとメスのどちらの体色がF1の体色に影響を及ぼすか明らかではないが、緑色型♂と組み合わせた時の黒色型♀の卵の孵化率の低さが、黒色型集団が広がっていない事に影響を及ぼしている可能性が考えられた。サッポロフキバツタの幼生の体色は茶色~黒色で、成虫の体色は最終羽化後まで分からない。しかしながら、昨年度は得られた孵化幼虫が成虫まで育たず、体色が異なる集団間交配でどちらの体色が出現するかは分からなかった。

本年度は成虫に至るまでの飼育技術を確認し、雌雄のどちらがF1の体色に影響を与えているのかを明らかにし、黒色型が維持されているメカニズムの解明を目指した。しかしながら、コロナ禍で県をまたぐ移動の自粛要請が出され、東京滞在中だった研究従事者が北海道へ移動できず、ゲノムダイナミクス研究センター内での飼育実験が行えなかった。そこで越冬卵を東京へ移送し、気温や日長条件などが調整できない状態で飼育実験を継続した。このような条件下でも昨年度同様緑色型♂と黒色型♀の組合せの卵が最も孵化率が低く、また幼生の生存日数も最も少なく、この組み合わせには何かしらの交尾後接合後隔離が存在する可能性が示唆された(2年卵の可能性があるため、正確な孵化率は2021年の春に判明)。



研究従事者が北海道への移動が可能になった後に、黒色型集団の分布域を更に詳細に調査した。その結果、これまでの知見より南北方向に約2倍近い範囲に、黒色型が生息する可能性が示唆された(左図)。今後は更に緑色型と黒色型が接している地域を探索し、その地域の体色型間の行動実験や交配実験を加える事で、明瞭な体色2型が維持されているメカニズムを明らかにする。

図2 サッポロフキバツタの黒色型の予想分布域。黒い四角は留萌市周辺の特異な体色変異集団と考えられていた時の分布域。灰色の四角形内は本年度の調査で明瞭な黒色型を確認した範囲。枠線内は離散的に黒色型が見られ分布の可能性のある範

図。(Google My Map を引用)

基盤研究部門 畜産科学分野
川原 学

マウスの初期胚は、桑実期を経て胚盤胞期というステージに達する。胚盤胞期胚は内部細胞塊(ICM)と栄養外胚葉(TE)に分化しているが、ICM/TE分化に重要なのがHippoシグナルのエフェクター因子YAP1の細胞内局在である。桑実期の内側の細胞ではHippoシグナルが活性化しており、YAP1は細胞質に局在することでICMに分化し、外側の細胞ではHippoシグナルが不活性化し、YAP1は核に局在することでTE特異的遺伝子の転写を促進し、TEに分化する。そこでHippoシグナルの上流因子であるNF2に着目した。NF2は細胞膜と細胞骨格に結合および架橋しており、腫瘍抑制因子として広く知られている。しかし、培養体細胞と異なり、初期胚における役割はほとんど明らかになっていない。したがって本年度は、初期胚発生におけるNF2の役割を検証することを目的とした。

野生型*Nf2*と蛍光タンパク質であるGFPのDNAをPCR法により融合した(以下、*Nf2WT-GFP*)。この*Nf2WT-GFP*を鋳型にして1.細胞膜局在に重要なドメイン内のLeuをProに置換した変異体(*Nf2L64P-GFP*)、2.NF2のリン酸化状態を制御する518番目のSerをAlaに置換した脱リン酸化変異体(*Nf2S518A-GFP*)、3.同SerをGluに置換したリン酸化変異体(*Nf2S518E-GFP*)のコンストラクトを構築した。これらコンストラクトからmRNAを体外転写し、マウス2細胞期胚に導入した。対照区としてGFP単独のmRNAを用いて、桑実期におけるNF2の局在を共焦点レーザー顕微鏡で調べた。また、YAP1抗体で免疫染色を実施し、同様にHippoシグナルの活性状態への影響を調べた。

まずNF2WT-GFPの細胞内局在は培養体細胞の過去の知見と一致し、細胞膜近傍で確認された。リン酸化状態の異なるNF2S518A-GFPとNF2S518E-GFPも同様に細胞膜近傍に局在しており、NF2のリン酸化は細胞内局在に影響を与えないことが明らかになった。しかし、NF2L64P-GFPは細胞質全体に局在しており、細胞膜近傍での強いシグナルは確認できなかった。YAP1の免疫染色ではGFP、NF2WT-GFPは共に過去の知見と同様に、内側の細胞で細胞質、外側の細胞で核局在だった。NF2S518A-GFPでは外側の細胞でYAP1の細胞質局在が核と同程度まで増加しており、Hippoシグナルは活性化していた。逆に、NF2S518E-GFPとNF2L64P-GFPでは内側の細胞でYAP1が強く核に局在していたことからHippoシグナルは不活性化

していた。以上の結果の背景として、AMOT という Hippo シグナル関連分子との相互作用が考えられる。NF2は細胞膜上でAMOTと結合することでHippoシグナルが活性化することが知られているが、培養体細胞の知見ではNF2の518番目のSerがリン酸化されていることでAMOTとの結合が阻害されることも報告されている。したがって、NF2S518E-GFP、NF2L64P-GFPはいずれも細胞膜上でのAMOTとの結合が阻害されたことでHippoシグナルが不活性化したと推察された。以上より、マウスの初期胚発生においてNF2は細胞膜に局在している状態で、リン酸化状態の変化によりHippoシグナルの活性を制御していることが示唆された。

論文発表

Kohri N, Akizawa H, Iisaka S, Bai H, Yanagawa Y, Takahashi M, Komatsu M, Kawai M, Nagano M, Kawahara M. Trophectoderm regeneration to support full-term development in the inner cell mass isolated from bovine blastocyst. *Journal of Biological Chemistry*. 2019; 294(50): 19209-19223.

大学院教育学研究院

教育学部門 健康体育学分野

山仲 勇二郎

研究テーマ

生物時計による行動リズムの支配様式と行動リズムから中枢時計へのフィードバック機構の解明

当研究室では、習慣的な運動が概日リズムの発振中枢である視床下部視交叉上核(Suprachiasmatic nucleus: SCN)に対してどのように作用し、末梢臓器の概日リズムおよび行動リズムに与える影響を明らかにする研究を進めている。R2年度は、時計遺伝子 *Period1* のプロモーター下流にホタルの発光タンパク質 *Luciferase* 遺伝子を導入したトランスジェニックマウス (*Period1-luc* マウス) を用いて以下の実験を行った。マウスは、回転輪がついていないケージで個別に飼育し、24時間周期の明暗サイクル(LD)で2週間、マウスの自発行動リズムを測定した後、恒常暗環境(constant darkness: DD1)で4週間行動リズムをフリーランさせた。その後、恒常暗環境下でマウスに輪回し運動(New cage with a running-wheel: NCRW)を1日3時間、24時間周期で負荷し、行動リズムが輪回し運動スケジュールに同調したのを確認した後、再び恒常暗でフリーランさせた(DD2) (右図: *Per1-luc* マウス行動リズムの測定例)。習慣的な輪回し運動が生物時計の階層構造(中枢時計、末梢時計、行動リズム)に与える影響を検証するため、LD、DD1、NCRW、

DD2で *Per1-luc* マウスから脳および末梢組織(肝臓、骨格筋)を採取した。マウスの視交叉上核は前後長が約500-600 μ mであり、吻側部と尾側部では異なる機能をもつことが報告されている。そこで、本実験では、SCNの吻側部 or 尾側部を含む150 μ mの冠状断切片を作成し、*Per1-luc* リズムを測定した。また、摂食・睡眠覚醒に関わる脳部位である弓状核(Arcuate Nucleus: ARC)、肝臓、腹直筋の *Per1-luc* リズムを測定した。今後、各条件で測定した行動リズムとSCN(吻側、尾側)、ARC、肝臓、腹直筋の *Per-Iluc* リズムの位相関係(時間関係)の解析し、習慣的な運動が生物時計の回創造に与える影響を明らかにしていきたい。

大学院工学研究院

応用物理学部門 量子物性工学分野

丹田 聡 (純水利用)

学術論文

Yasuzuka, S., Uji, S., Sugiura, S., Terashima, T., Nogami, Y., Ichimura, K., and Tanda, S. (2019) "Highly Isotropic In-plane Upper Critical Field in the Anisotropic *s*-Wave Superconductor $2H$ -NbSe₂", *Journal of Superconductivity and Novel Magnetism* 33: 953-958 (2020).

学会発表

横井千熙, 宮寄一誠, 金井恭佑, 市村晃一, 丹田聡, 松永悟明, 黒澤徹: Fe_{1+x}Te の誘電率測定. 日本物理学会第75回年次大会, 2020年3月16-19日, 名古屋大学東山キャンパス (名古屋市).

横井千熙, 宮寄一誠, 金井恭佑, 市村晃一, 丹田聡, 松永悟明, 黒澤徹: Fe_{1+x}Te の誘電率測定 II. 日本物理学会第2020年秋季大会, 2020年9月8-11日, オンライン.

エネルギー環境システム部門

応用エネルギーシステム分野

田部 豊 (純水利用)

発表論文

西田尚功, 田部豊, 善当哲也, 日原颯也, 近久武美 (2020) レドックスフロー電池における構造・運転条件影響の集約主要因子を用いた性能評価. 日本機械学会論文集, 86巻888号, 20-00108: 1-13.

学会発表

日原 颯也, 西田 尚功, 田部 豊: レドックスフロー電池における性能損失要因の実験的評価. 第57回日本伝熱シンポジウム, 2020年6月(講演論文集のみ).

有澤 慧紀, 田部 豊: PEFC ガス拡散層の表面親水処理による水排出と電池性能の改善. 第 57 回日本伝熱シンポジウム, 2020 年 6 月 (講演論文集のみ).

平井 賢, 田部 豊: 水輸送現象を考慮した PEFC 氷点下起動特性向上. 第 57 回日本伝熱シンポジウム, 2020 年 6 月 (講演論文集のみ).

矢田 溪佑, 田部 豊: 酸素輸送抵抗低減を目指した PEFC グラフェン触媒層に関する検討. 第 57 回日本伝熱シンポジウム, 2020 年 6 月 (講演論文集のみ).

平井 賢, 植村 豪, 田部 豊: 水輸送・凍結現象が PEFC 氷点下起動時のドライアウトおよび劣化に及ぼす影響. 日本機械学会熱工学コンファレンス, 2020 年 10 月 10 日, 北海道大学 (札幌市 (オンライン)).

Zhan, J., Uemura, S., and Tabe, Y.: Effect of Generated Water on Power Increase after PEFC Cold Startup. 日本機械学会熱工学コンファレンス, 2020 年 10 月 10 日, 北海道大学 (札幌市 (オンライン)).

矢田 溪佑, 植村 豪, 田部 豊: PEFC 触媒層へのグラフェン導入によるアイオノマープリー化と酸素輸送抵抗評価. 日本機械学会熱工学コンファレンス, 2020 年 10 月 11 日, 北海道大学 (札幌市 (オンライン)).

有澤 慧紀, 植村 豪, 田部 豊: PEFC ガス拡散層の表面親水処理による発電性能向上と水排出メカニズム. 日本機械学会熱工学コンファレンス, 2020 年 10 月 11 日, 北海道大学 (札幌市 (オンライン)).

大学院医学研究院

医歯学総合研究棟 中央研究部門
山野辺 貴信

神経回路理論によれば素子の出力関数の特性に依存し、情報キャリアが決まる。スパイクは神経細胞が過渡状態にあるときに生じるため、スパイク生成は過去の神経活動に依存することが報告されている (Segundo et al. Neuroscience 1994, Yamanobe et al. Biosystems 1998)。また、神経細胞は、拡散過程で近似されるイオンチャネルノイズ、シナプス小胞の自発的放出によるジャンプノイズなどを持つ確率的な挙動をする素子でもある。これらのノイズにより神経細胞の応答特性が変わることも予想される。そこで、各神経細胞において過渡応答特性とノイズの影響を反映した出力関数の特性を実験的に求めることが、情報キャリアを解明する

ために必要であると考えられる。実験で神経細胞の出力関数を調べる方法を構築するため、確率的神経細胞モデルの発火活動がどのような確率過程であるか知ることが重要である。特に、確率過程の性質を決める推移確率密度の計算およびその評価が重要となり、これを突破口にして神経細胞モデルの生理学的な指標が計算できるようになる。このような問題意識のもと、今年度は以下の2つのテーマに関して研究を実施した。

1. これまで Stuart-Landau 方程式に確率項を加えたモデル (確率的 Stuart-Landau 方程式) のように、比較的扱いやすい数理モデルを用いその挙動を調べてきた。今年度は、さらに、一般の神経細胞モデルの入出力特性を調べるため、確率項を加えた確率的 FitzHugh-Nagumo モデルおよび確率的 Morris-Lecar モデルを用いた。確率的 Stuart-Landau 方程式の場合、今回取り組んだモデルと比べ非線形性が穏やかなので、推移確率密度を漸近展開で近似し、その第一項であるガウス関数を用いた近似でも十分にその統計的大域挙動を捉えることができた。しかし、確率的 FitzHugh-Nagumo モデルや確率的 Morris-Lecar モデルの場合は、活動電位が起こるかどうかが決める閾値付近のダイナミクスが原因で、漸近展開第一項を用いた近似ではモデルの統計的大域挙動を捉えきることができないことが分かった。そこで、漸近展開法の高次の項まで計算し、推移確率密度の近似を試みた。さらに、イカ軸索スパイク列データから得られる情報と推移確率密度をどのように結びつけるか検討した。

2. 漸近展開による推移確率密度の近似精度を最小二乗誤差で定量化するため、漸近展開によるものと、モンテカルロシミュレーションによる推移確率密度の密度比が必要になる。素朴な発想では漸近展開による推移確率密度とモンテカルロシミュレーションによる推移確率密度のそれぞれのサンプルから密度関数を用い、最小二乗誤差を計算することになる。しかし、杉山 (統計数理、2010) が指摘するように、確率密度の推定は困難な問題であることが知られており、これを回避することが望ましい。そこで我々は杉山 (統計数理、2010) らが提案した、個々の確率密度の推定を回避し密度比を推定する方法を用い、最小二乗誤差を計算し、漸近展開から得られる推移確率密度の精度を評価した。

学会発表

1. Takanobu Yamanobe, Approximation of transition density of the conductance based neuronal model with noise, 第 58 回日本生物物理学会年会,

2020年9月16日～9月18日, Gメッセ群馬(オンライン開催), 群馬

2. T. Yamanobe, Approximation of transition density of the Morris-Lecar model including a diffusion term, 12th FENS Forum of Neuroscience, July 11-15, Belin (online), (2020)

大学院文学研究院

人間科学部門 心理学分野

和田 博美

研究テーマ1

臭素系難燃剤デカブロモジフェニールエーテル (BDE-209) がラットの社会性発達に及ぼす影響

臭素系難燃剤BDE-209は可燃物を燃えにくくし、火災の延焼を防ぐことができる。しかし脳神経系の発達に必須の甲状腺ホルモンを攪乱することから、認知機能の発達を阻害する可能性が指摘されている。そこで妊娠ラットにBDE-209を投与し、出生したラットの超音波コミュニケーションとBDE-209の作用機序を明らかにする研究を行った。**方法:** 妊娠15日～出産後21日目まで、母ラットにBDE-209を摂取させた。投与量は0(統制群)、500mg/kg/day(低投与群)、1000mg/kg/day(高投与群)とした。生後4、7、10、13、16、19、22日目に乳仔ラットを母子分離し、超音波発声を5分間測定した。生後22日目に離乳させて個別飼育した。生後43～45日目の3日間、高投与群と統制群それぞれの群内で同性・同腹の3匹を1つのケージに入れて15分間の仲間遊びを行い、動画を録画した。また生後32～34日目に採血を行い、脳と肝臓も採取した。

結果と考察: BDE-209に曝露された乳仔ラットは、母親の注意を引く周波数変調型の発声を減少させた。BDE-209は意思伝達機能を低下させ、乳仔ラットの生存を脅かす可能性がある。思春期ラットの仲間遊びでは不快な情動を示す発声が増加し、激しい攻撃性を示すboxing, wrestling, pinningが減少した。これらの結果は一貫して、BDE-209がコミュニケーションを介した社会的相互行動を阻害することを示している。

高投与群では脳内神経伝達物質セロトニンが増加した。セロトニンは情動や攻撃性の調整に関わっており、セロトニンが増加すると仲間遊び行動は抑制されることが示されている。BDE-209はセロトニンに作用して仲間遊びを阻害し、不快な情動状態を引き起こしてコミュニケーションにも影響すると考えられる。

研究テーマ2

ヒト型自閉症モデルマウスの超音波コミュニケーション

自閉症スペクトラム障害の患者には、他者とのコミュニケーションがうまくできないなどの障害が認められる。遺伝子の変異が原因の一つと考えられていることから、ヒトと同様の遺伝子変異をマウスで再現してモデル動物を作製し、自閉症の発症メカニズムや病態を解明する研究が進んでいる。本研究では15番染色体q11-13が重複するマウスを対象に、社会的場面でのコミュニケーションを研究した。

方法: 被検体は生後約7カ月齢の雌マウス(C57BL6/J)で、居住者-侵入者パラダイムを用いて重複を持たないワイルド型ペア(n=5)、父親由来の重複を持つヘテロ型ペア(n=6)の超音波コミュニケーションを測定した。居住者-侵入者パラダイムでは、ペアの一方(居住者)が飼育されているケージに、もう一方のマウス(侵入者)を入れる。通常、居住者の方が侵入者より優位となり、侵入者(劣位)を威圧したり攻撃したりする。本研究では1日1回10分間連続10日間、居住者-侵入者パラダイムを行った。

結果と考察: 超音波コミュニケーションを解析したところ、ヘテロ・ペアはshort型発声(長さが15ミリ秒以下)が増加し、down型発声(発声中に2kHz以上周波数が低下)が減少した。周波数が変化しないフラット型の発声や15ミリ秒以下の発声も増加した。さらに居住者-侵入者パラダイムの後半6,7,8,10日目では、ヘテロ・ペアは単音節の発声も増加した。ヘテロ・ペアは社会的コミュニケーション場面で、単音節で周波数変化のないフラットな短い発声を行うことがわかった。このような単純な発声は、複数の音節から構成され周波数変化を伴う発声(周波数変調型発声)と比較して、他個体の注意や興味を引きにくい。15番染色体q11-13が重複することで、社会的コミュニケーションに支障の起こる可能性が考えられた。

【学会発表】

1. 張 頤、和田博美. Effects of group housing on chronic stress-induced emotional behavior in female rats. 第6回北海道大学部局横断シンポジウム, 2020年10月19日, オンライン開催.
2. 木立航輔、和田博美. レジデント-イントルーダーパラダイムにおけるヒト型自閉症モデルマウスの超音波コミュニケーション. 第6回北海道大学部局横断シンポジウム, 2020年10月19日, オンライン開催.

北方生物圏フィールド科学センター
生物多様性領域 海産藻類適応機能分野
四ツ倉 典滋 (海水利用)

発表論文

Hu, Z.M., Shan, T.F., Zhang, J., Zhang, Q.S., Critchley, A.T., Choi, H.G., Yotsukura, N., Liu, F.L., Duan, D.L. (2020) Kelp aquaculture in China: a retrospective and future Prospects. *Aquaculture* <https://doi.org/10.1111/raq.12524>.

Jie, Z., Yotsukura, N., Jueterbock, A., Hu, Z.M., Assis, J., Nagasato, C., Yao, J., and Duan, D. (2021) Detecting no natural hybridization and predicting range overlap in *Saccharina angustata* and *Saccharina japonica*. *Journal of Applied Phycology* 33: 693-702.

Yotsukura, N., Unjo, K., Hashimoto, Y., Kawai, T., and Katsuyama, Y. (2021) Method for creating laminarialean kelp colonies using seawater that contains naturally derived polymers. *Regional Studies in Marine Science* <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2021.101663>.

学会発表

猪野千尋, 星野雅和, 阿部剛史, 四ツ倉典滋, Klochkova, N., 小亀一弘: 北海道産紅藻クシベニヒバ属 (*Ptilota*) の系統分類学的研究. 日本藻類学会第45回大会 (オンライン東京・2021), 2021年3月, 東京海洋大学 (東京都港区) .

西棟

遺伝子実験共同利用部門

動物染色体共同利用部門

遺伝子実験共同利用部門

当部門では、遺伝子組み換え実験に必要なクリーンベンチや安全キャビネット等の設備を備えており、継続的に活用されてきました。遺伝子組換え実験が一般化したことから利用者は減少しましたが、研究過程で一定期間一時的に必要なものの研究室で準備するには負担となるような機器や、研究室の立ち上げ時に機器が整うまでの期間、もしくは故障機器の補修完了までに利用できる各種遺伝子解析機器を全学に提供してきました。しかし、全体的に設備等の老朽化が進み、さらに平成 28 年 9 月には大規模な漏水事故が発生しており、その対策のために、令和 3 年度には全面的な改修工事が行われています。

平成 23 年 3 月に起きた東日本大震災により、多くの研究機関で生物材料・遺伝資源が失われ研究の継続に支障をきたしました。再びこのようなことが起こると我が国の国際競争力にも悪影響を与えかねないとの危惧から、日常的に研究用生物遺伝資源の保管を行う文部科学省プロジェクト「大学連携バイオバックアッププロジェクト (IBBP)」が愛知県岡崎市の基礎生物学研究所を中核拠点として開始され、当センターは北海道地区のサテライト拠点としてこのプロジェクトに参加しています。

動物染色体共同利用部門

動物染色体共同利用部門では、細胞培養設備として、クリーンベンチ、CO₂ インキュベーター、遠心機などを、また細胞保存設備としては、専用の-85℃ディープフリーザーおよび大型液体窒素凍結保存容器を備えています。当部門では、系統分類学、進化学的に利用価値が高いと思われる初代培養細胞類：哺乳類 (9 目 22 科 62 種 6 亜種)、鳥類 (19 目 37 科 76 種)、爬虫類 (2 目 6 科 8 種) と、発生学や生化学、細胞遺伝学などの実験に用いられる各種培養細胞株を凍結保持しており、必要に応じて内外の研究者への分与を行っています。これらの細胞のうち多くのものは旧理学部附属動物染色体研究施設において樹立、あるいは収集されたものであり、同施設の統廃合後は、主に西田千鶴子先生のご努力によって維持されてきたものです。このような歴史的に貴重な細胞を今後も供与可能な状態で維持し続けるとともに、学内での先端的な研究に用いられた各種培養細胞類や生物試料を地道に収集、保存していくことも今後の課題です。

昨年度から開始したセンター改組事業にともなって、4 月初旬に大型液体窒素凍結保存容器を仮設プレハブへと移転して運用を開始しました。老朽化した液体窒素タンクの運搬は、ある意味、綱渡りのなところがありましたが、施設職員や業者の皆さまのご尽力で無事に引越を終えられたのは幸いでした。今年度、新設される施設建物には緊急時における自家発電機能を備えたディープフリーザー室が設置されます。平常時における試料保管に関するバックアップ場所の提供や、電源喪失時における試料避難場所の確保などを通じて、生物学的試料保全の場を提供したいと考えています。

令和 2 年度 遺伝子実験共同利用部門・動物染色体研究部門 保守営繕リスト

- ・ 定期清掃 (毎月)
- ・ 令和 2 年 9 月 全学停電に伴う仮設動力設備工事

共同利用機器・設備

設備および機器名	メーカー名・型番等
培養室 (10m ² ・14m ²)	
P1実験室	
P2実験室 (安全キャビネット)	
低温実験室 (4℃)	
細胞保存室	
液体窒素式凍結保存容器	太陽日酸・DR-1000
RI・蛍光バイオイメージャー	FUJI FILM・FLA-7000
化学発光撮影装置	ATTO・EZ-Capture
ゲル撮影装置	ATTO・AE-6932
ゲル撮影装置	ATTO・AE-6920
遺伝子導入装置 (エレクトロポレーター)	Bio-Rad・Gene Pulser
遺伝子導入装置 (エレクトロポレーター)	SHIMADZU・GTE
遺伝子導入装置 (遺伝子銃)	Bio-Rad・Helios Gene Gun
ルミノメーター	ATTO・AB-2200
植物培養チャンバー (コイトロン) (3台)	KOITO・HNL-10A(2台), HNB-10A(1台)
植物インキュベーター (人工気象器)	TOMY・CLE-305
大型恒温振とう培養機 (バイオシェーカー)	TAITEC・BR-300LF
大型恒温振とう培養機 (バイオシェーカー)	TAITEC・BR-180LF
小型恒温振とう培養機 (バイオシェーカー) (2台)	TAITEC・BR-23FP
小型超遠心機	Beckman・TL-100
小型超遠心機	Hitachi・Himac CS100
超遠心機 (2台)	Hitachi・55P-72
高速冷却遠心機 (2台)	TOMY・RS-18IV(1台), Suprema21(1台)
微量高速冷却遠心機 (5台)	TOMY・MR-150, MRX-150, MX-100, MX-107, MX-307(各1台)
PCR装置	ASTEC・PC701
PCR装置	ASTEC・PC708
PCR装置	Takara・Thermal Cycler Dice Touch
定量PCR装置	Takara・Thermal Cycler Dice Real Time System II
パルスフィールド電気泳動装置	Bio-Rad・Pulswave760
プロテティング装置 (泳動式・セミドライ式) (2台)	ATTO・AE-6670
UVクロスリンカー	Funakoshi・FS-800
分光光度計	SHIMADZU・UV-160
分光光度計	Beckman・DU-65
微量分光光度計	Thermo Scientific・NanoDrop 2000
(水平気流型) クリーンベンチ (2台)	SHOWA・S-1300
(水平気流型) クリーンベンチ	Hitachi・PCH-1303BS
実体顕微鏡	Olympus・SZ61
超音波破碎装置	TOMY・UD-201
大型オートクレーブ	TOMY・FLS-1000
中型オートクレーブ	TOMY・LSX-500
小型オートクレーブ	TOMY・BS-245
小型オートクレーブ	SANYO・MLS-2400
乾熱滅菌機 (3台)	Yamato・SK601(2台), SG-62(1台)
超低温冷凍庫 (-80℃) (4台)	SANYO・MDF-392, SANYO・MDF-493, PHC・MDF-394-PJ(2台)
ドラフトチャンバー	DALTON・DF-C(特)
校正用分銅内蔵型電子天秤	A&D・FZ-2000i
セルソーター	Bay bioscience JSAM

令和2年度 ゲノムダイナミクス研究センター 利用者研究課題
(遺伝子実験共同利用部門・動物染色体共同利用部門)

所属	部門・分野等	職名	氏名	研究課題名
理学研究院	化学・有機・生命化学	教授	坂口 和靖	癌抑制タンパク質p53および関連因子の構造機能相関
理学研究院	生物科学・行動神経生物学	教授	水波 誠	フタホシコロギの学習および性決定の研究
理学研究院	生物科学・行動神経生物学	准教授	北田 一博	新たな病態モデル動物の作出と原因遺伝子の同定
理学研究院	生物科学・行動神経生物学	准教授	和多 和宏	鳴禽類を用いた発声学習・生成とその脳内分子機構
理学研究院	生物科学・生殖発生生物学	教授	黒岩 麻里	XO型トゲネズミにおけるゲノム解析
理学研究院	生物科学・生殖発生生物学	准教授	木村 敦	哺乳類の生殖にかかわるゲノム機能に関する研究
理学研究院	生物科学・生殖発生生物学	助教	吉田 郁也	哺乳類不活性X染色体の再活性化機構の解析
理学研究院	生物科学・多様性生物学	教授	増田 隆一	哺乳類および鳥類の分子進化と遺伝的多様性に関する研究
先端生命科学 研究院	生命機能科学研究・生物情報解析科学研究	教授	出村 誠	蛋白質の立体構造解析に関する研究
情報科学研究院	生命人間情報科学・バイオインフォマティクス	教授	遠藤 俊徳	分子進化解析によるアメリカのヒョウタンの伝播経路の推定
総合博物館	研究部・資料開発研究系	准教授	江田 真毅	現生および遺跡出土の動物質資料の塩基配列の決定

令和2年度 利用状況

所属	利用者数
大学院理学研究院	8
大学院先端生命科学研究院	1
大学院情報科学研究院	1
総合博物館	1
合計	11

利用報告

大学院理学研究院

化学部門 有機・生命化学分野
坂口 和靖 (機器利用)

○論文発表

Nakagawa N., Sakaguchi S., Nomura T., Kamada R., Omichinski J. G., and Sakaguchi K. (2020)
The tetramerization domain of the tree shrew p53 protein displays unique thermostability despite sharing high sequence identity with the human p53 protein.
Biochemical and Biophysical Research Communications 521: 681-686.

○学会発表

鎌田瑠泉, 工藤風樹, 重信秀治, 坂口和靖: 好中球サブタイプ多様化における Ser/Thr ホスファターゼ PPM1D の機能解明.
第 93 回日本生化学会大会, 2020 年 9 月 14 日, web 開催

坂口周弥, 中川夏美, 鎌田瑠泉, James G. Omichinski, 坂口和靖: p53 ファミリー四量体形成ドメインの脊椎動物の進化における安定化機構.
第 93 回日本生化学会大会, 2020 年 9 月 14 日, web 開催

Shuya Sakaguchi, Natsumi Nakagawa, Rui Kamada, James G. Omichinski, and Kazuyasu Sakaguchi: Changes in structure and stability of p53 family tetramerization domain in vertebrate evolution.
第 57 回ペプチド討論会, 2020 年 11 月 9 日, web 開催

Yuna Nunokawa, Shuya Sakaguchi, Tatsuya Sakaguchi, Rui Kamada, and Kazuyasu Sakaguchi: Effects of oligomerization through coiled-coil on biological activities.
第 57 回ペプチド討論会, 2020 年 11 月 9 日, web 開催

Itsumi Tani, Yui Oikawa, Shogo Ito, Rui Kamada, and Kazuyasu Sakaguchi: Control of nucleolar formation via nucleolar protein nucleophosmin by PPM1D phosphatase.
第 57 回ペプチド討論会, 2020 年 11 月 10 日, web 開催

Junya Imaizumi, Yuma Omata, Natsumi Nakagawa, Rui Kamada, and Kazuyasu Sakaguchi: Analysis of mechanism for novel anti-antibiotic peptide r-Pep2 against Escherichia Coli.
第 57 回ペプチド討論会, 2020 年 11 月 10 日, web 開催

Sae Uno, Toshiki Tsukamoto, Nozomi Kimura, Rui Kamada, and Kazuyasu Sakaguchi: Effects of Ser/Thr

phosphatase PPM1D on adipocyte differentiation and lipid droplet formation.

第 57 回ペプチド討論会, 2020 年 11 月 10 日, web 開催

鎌田瑠泉, 工藤風樹, 坂口和靖: 好中球多様性における Ser/Thr ホスファターゼ PPM1D の機能解明.
第 43 回日本分子生物学会年会, 2020 年 12 月 3 日, web 開催

Rui Kamada, Fuki Kudoh, Shuji Shigenobu, and Kazuyasu Sakaguchi: Ser/Thr phosphatase PPM1D regulates neutrophil differentiation and heterogeneity.
第 14 回プロテインホスファターゼ国際カンファレンス, 2020 年 12 月 10 日, 神戸大学医学部シスメックスホール (神戸市) /web 開催

Itsumi Tani, Shogo Ito, Yui Oikawa, Rui Kamada, and Kazuyasu Sakaguchi: Control of nucleolar formation via phosphorylation of nucleolar protein nucleophosmin.
第 14 回プロテインホスファターゼ国際カンファレンス, 2020 年 12 月 10 日, 神戸大学医学部シスメックスホール (神戸市) /web 開催

Sae Uno, Toshiki Tsukamoto, Nozomi Kimura, Rui Kamada, and Kazuyasu Sakaguchi: Functions of Ser/Thr phosphatase PPM1D on Adipocyte Differentiation.
第 14 回プロテインホスファターゼ国際カンファレンス, 2020 年 12 月 10 日, 神戸大学医学部シスメックスホール (神戸市) /web 開催

坂口周弥, 中川夏美, 鎌田瑠泉, James G. Omichinski, 坂口和靖: p53 ファミリーの四量体構造とヘテロ多量体の脊椎動物における進化.
化学系学協会北海道支部 2021 年冬季研究発表会, 2021 年 1 月 26 日, web 開催

崎谷愛未, 鎌田瑠泉, 池内和忠, 谷野圭持, 坂口和靖: 生細胞蛍光プローブ Triazapentalene 誘導体を用いた生細胞の刺激応答解析.
化学系学協会北海道支部 2021 年冬季研究発表会, 2021 年 1 月 26 日, web 開催

生物科学部門 多様性生物学分野 増田 隆一

主な研究成果は以下の通りである。

(1) 古代 DNA 分析を導入した動物地理学に関する研究

サハリン出土ヒグマ遺物の古代 DNA 分析により、サハリンヒグマのミトコンドリア DNA 系統が clade 3a1 であり、沿海地方のヒグマ集団と同じ系統であることが判明した (発表論文 1)。一方、北海道には近縁ではあるが別の clade 3a2 が分布し、北海道ヒグマが長期にわたって地理的に隔離され

ていることが示唆された。

また、ウラル山脈周辺から出土したアナグマ遺物の古代 DNA 分析により、更新世末期から完新世にかけて、ヨーロッパアナグマの分布域がウラル東部から西方のヴォルガ河域へ後退する一方、アジアアナグマの分布域が東方から西方へ進出したことが示された（発表論文 2）。

古い博物館標本を含めた系統地理学的解析により、東ユーラシアに分布するシベリアイタチにはミトコンドリア DNA の南方系統と北方系統が広く分布し、極東域では重複分布していることが明らかとなった（発表論文 3）。さらに、イイズナについて東ユーラシア集団の分子系統を分析し、西ユーラシアの既報データと比較することにより、ユーラシア全域の系統地理的特徴を把握することができた（発表論文 4）。

日本に外来種として分布拡散しているハクビシンの詳細なミトコンドリア DNA 分析により、列島内における分布拡大のルートを推定することができた（発表論文 5）。

(2) 食肉類の主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) の分子進化学的研究

免疫システムにおいて病原体などの抗原の認識を担う MHC 遺伝子には高い多様性が見られるため、そのデータは野生動物集団の集団遺伝的特徴やその保全生物学においても重要な情報をもたらす。日本列島を含む東アジアに特異的に分布するタヌキにおいて、MHC class I *DRB* 遺伝子の対立遺伝子を単離し、その分子進化学的特徴を解析した。その結果、分布の広域にわたって分布する対立遺伝子、特定地域のみ分布する対立遺伝子が得られた。これらの対立遺伝子における抗原結合部位について、同義置換に対する非同義置換の割合を調べると、1 より大きな値をとることが明らかとなり、正の選択を受けて進化したことが示された。その遺伝的多様性は、遺伝子座間組換え、病原体駆動による正の選択、地理的障壁などによって維持されてきたことが示唆された。一方、タヌキ MHC class II *DRB* の対立遺伝子はイヌ科において単系統であり、タヌキの種の分岐が古く独自の進化を経てきたことが考えられた（発表論文 6）。

日本固有種であるニホンテンについて、MHC class II *DRB* の対立遺伝子を単離し、その分子進化学的特徴を解析したところ、正の自然選択と遺伝子座間組換えにより維持されてきたことが示された。対立遺伝子の分子系統を調べたところ、単系統群は形成されず、他のイタチ科動物種の対立遺伝子を含むクラスター中に分散しており、イタチ科動物種間で種を超えた多型（trans-species polymorphism）が起きていることが示された。これは、イタチ科における属および種の分化以降も、

DRB 対立遺伝子の種々の系統が平衡選択により維持されていることを示している（発表論文 7）。

論文発表

1. Mizumachi, K., Spassov, N., Kostov, D., Raichev, E.G., Peeva, S., Hirata, D., Nishita, Y., Kaneko, Y., and Masuda, R. (2020) Mitochondrial haplogrouping of the ancient brown bears (*Ursus arctos*) in Bulgaria, revealed by the APLP method. *Mammal Research* 65: 413-421.
2. Kinoshita, E., Kosintsev, P.A., Abramov, A.V., Solovyev, V.A., Saveljev, A.P., Nishita, Y., and Masuda, R. (2020) Holocene changes in the distributions of Asian and European badgers (Carnivora: Mustelidae: *Meles*) inferred from ancient DNA analysis. *Biological Journal of the Linnean Society* 129: 594-602.
3. Ishikawa, K., Abramov, A.V., Amaike, Y., Nishita, Y., and Masuda, R. (2020) Phylogeography of the Siberian weasel (*Mustela sibirica*), based on a mitochondrial DNA analysis. *Biological Journal of the Linnean Society* 129: 587-593.
4. Sato, T., Abramov, A.V., Raichev, E.G., Kosintsev, P.A., Väinölä, R., Murakami, T., Kaneko, Y., and Masuda, R. (2020) Phylogeography and population history of the least weasel (*Mustela nivalis*) in the Palearctic based on multilocus analysis. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* 58: 408-426.
5. Endo, Y., Lin, L.K., Yamazaki, K., Pei, K.J.C., Chang, S.W., Chen, Y.J., Ochiai, K., Yachimori, S., Anezaki, T., Kaneko, Y., and Masuda, R. (2020) Introduction and expansion history of the masked palm civet, *Paguma larvata*, in Japan, revealed by mitochondrial DNA control region and cytochrome *b* analysis. *Mammal Study* 45: 243-251.
6. Bartocillo, A.M., Nishita, Y., Abramov, A.V., and Masuda, R. (2020) Molecular evolution of MHC class II *DRB* exon 2 in Japanese and Russian raccoon dogs, *Nyctereutes procyonoides* (Carnivora: Canidae). *Biological Journal of the Linnean Society* 129: 61-73.
7. Hosotani, S., Nishita, Y., and Masuda, R. (2020) Genetic diversity and evolution of the MHC class II *DRB* gene in the Japanese marten, *Martes melampus* (Carnivora: Mustelidae). *Mammal Research* 65: 573-582.
8. 増田隆一 (2020) 哺乳類学の最前線で活躍するにはどうしたらよいか. *哺乳類科学* 60: 377-384.

学会発表

1. 増田隆一：“ひぐま学への招待”. 第29回先端科学移動大学（道民カレッジ連携講座），2020年11月14日，旭川市大雪クリスタルホール国際会議場大会議室（北海道旭川市）。

2. Ryuichi Masuda: Our joint studies between Japan and Russia since 1997: Zoogeography and population genetics of mammals between the Eurasian Continent and Japanese Islands, In “Online Seminar on JSPS International Programs for Russian Scholars and PhD Students ” by Moscow State University-Hokkaido University Joint Office in Moscow, November 30, 2020.
 3. 遠藤優, 長田直樹, 間野勉, 増田隆一: 全ゲノム解析による北海道のヒグマの集団形成史の解明. 日本動物学会第91回大会(オンライン), 2020年9月4日.
 4. 杉山優里, 西田義憲, Jouni Aspi, Gerhardus Lansink, 増田隆一: クズリ(*Gulo gulo*)のフィンランド集団におけるMHC class II *DRB*遺伝子の多様性. 日本動物学会北海道支部第65回大会(オンライン), 2021年3月20日.
 5. 鈴木和, 西田義憲, 天池庸介, Alexei Abramov, 増田隆一: ミトコンドリアDNA分析によるアルタイイタチ(*Mustela altaica*)の系統地理. 日本動物学会北海道支部第65回大会(オンライン), 2021年3月20日.
 6. 遠藤優, 長田直樹, 間野勉, 増田隆一: 雌雄の移動能力差によるヒグマの集団形成史. 日本動物学会北海道支部第65回大会(オンライン), 2021年3月20日.
- Ishimori, K., Kinjo, M., Komatsuzaki, T., Maenaka, K., Yao, M. (2020) Biophysical Research in Hokkaido University, Japan. Biophysical Reviews 12(2): 233-236
- Yamamoto, A., Tsukamoto, T., Suzuki, K., Hashimoto, E., Kobashigawa, Y., Shibasaki, K., Uchida, T., Inagaki, F., Demura, M., Ishimori, K. (2020) Spectroscopic Characterization of Halorhodopsin Reconstituted into Nanodisks Using Native Lipids. Biophysical Journal 118(11): 2853-2865
- Shibata, Y., Kurokawa, T., Aizawa, T., Gong, JP. (2020) Bactericidal effect of cationic hydrogels prepared from hydrophilic polymers. Journal of Applied Polymer Science 137(48): e49583
- Haque, S., Kikukawa, T., Tamaoki, N. (2020) Photoisomerization of azobenzene units drives the photochemical reaction cycles of proteorhodopsin and bacteriorhodopsin analogues. Organic & Biomolecular Chemistry 18(32): 6312-6327
- Komatsu, Y., Wada, Y., Izumi, H., Shimizu, T., Takeda, Y., Aizawa, T. (2020) ¹H NMR metabolomic and transcriptomic analyses reveal urinary metabolites as biomarker candidates in response to protein undernutrition in adult rats. British Journal of Nutrition 125(6): 633-643
- Murabe, K., Tsukamoto, T., Aizawa, T., Demura, M., Kikukawa, T. (2020) Direct Detection of the Substrate Uptake and Release Reactions of the Light-Driven Sodium-Pump Rhodopsin. Journal of the American Chemical Society 142(37): 16023-16030
- Matsuo, J., Kikukawa, T., Fujisawa, T., Hoff, D. W., Unno, M. (2020) “Watching” a Molecular Twist in a Protein by Raman Optical Activity. The Journal of Physical Chemistry Letters 11(20): 8579-8584
- Kojima, K., Yoshizawa, S., Hasegawa, M., Nakama, M., Kurihara, M., Kikukawa, T., Sudo, Y. (2020) Lokiarchaeota archaeon schizorhodopsin-2 (LaSzR2) is an inward proton pump displaying a characteristic feature of acid-induced spectral blue-shift Scientific Reports 10(1): 20857
- Kusama, K., Miyagawa, M., Ota, K., Kuwabara, N., Saeki, K., Ohnishi, Y., Kumaki, Y., Aizawa, T., Nakasone, T., Okamatsu, S., Miyaoka, H., Tamura, K. (2020) Cordyceps militaris Fruit Body Extract Decreases Testosterone Catabolism and Testosterone-Stimulated Prostate Hypertrophy. Nutrients 13(1): e50
- Nakamizo, Y., Fujisawa, T., Kikukawa, T., Okamura, A., Baba, H., Unno, M. (2021) Low-temperature Raman spectroscopy of sodium-pump rhodopsin from *Indibacter alkaliphilus*: Insight of Na⁺ binding for active Na⁺ transport Physical Chemistry Chemical Physics 23: 2072-2079
- Yokoyama, Y., Yano, S., Kurita, R., Karasawa, M.,

大学院先端生命科学研究院

生命機能科学研究部門

生物情報解析科学研究分野

出村 誠 (機器利用)

【学術論文】

Penkhrue, W., Jendrossek, D., Khanongnuch, C., Pathom-Aree, W., Aizawa, T., Behrens, R.L., Lumyong S. (2020) Response surface method for polyhydroxybutyrate (PHB) bioplastic accumulation in *Bacillus drentensis* BP17 using pineapple peel. PLOS ONE 15(3): e0230443

Yasuda, S., Akiyama, T., Nemoto, S., Hayashi, T., Ueta, T., Kojima, K., Tsukamoto, T., Nagatoishi, S., Tsumoto, K., Sudo, Y., Kinoshita, M., Murata, T. (2020) Methodology for Further Thermostabilization of an Intrinsically Thermostable Membrane Protein Using Amino Acid Mutations with Its Original Function Being Retained. Journal of Chemical Information and Modeling 60(3): 1709-1716

Komatsu, Y., Shimizu, Y., Yamano, M., Kikuchi, M., Nakamura, K., Ayabe, T., Aizawa, T. (2020) Disease Progression-Associated Alterations in Fecal Metabolites in SAMP1/YitFc Mice, a Crohn's Disease Model. Metabolomics 16(4): 48

Aizawa, T., Demura, M., Gohara, K., Haga, H.,

Tanaka, H., Takahashi, H., Kikukawa, T., Sonoyama, M., Takenaka, K. (2021) Effects of salt and gel network structures on purple membrane stacking in hydrogels immobilized with poly(vinyl alcohol). *Journal of Applied Physics* 129: 014701

【学会発表】

Yi Wang, Rina Hiramane, Chisato Toyokawa, Tomoyasu Aizawa: Bactericidal Mechanisms Of An α -Defensin, Cryptdin-4: Effect Of Peptide Redox And Culture Condition Of *E. coli*. 第 20 回日本蛋白質科学会年会, 2020 年 7 月 28 日, オンライン.

Hao Gu, Koki Onuma, Hiroaki Ishida, Yasuhiro Kumaki, Takashi Tsukamoto, Takashi Kikukawa, Makoto Demura, Hans J. Vogel, Tomoyasu Aizawa: Development of Expression of Recombinant Small Peptides Through Calmodulin-fusion Protein System. 第 20 回日本蛋白質科学会年会, 2020 年 7 月 28 日, オンライン.

Tomona Iizuka, H el ene S en echal, Pascal Poncet, Tomoyasu Aizawa: Gene Identification Of An Allergen Peptide From Cypress Pollen Using Next Generation Sequencer And Its Over Expression For Analysis. 第 20 回日本蛋白質科学会年会, 2020 年 7 月 28 日, オンライン.

Yuchi Song, Tomoyasu Aizawa: Enhancement Of The Expression Level Of Recombinant α -defensin Derived From Mouse By Inclusion Body Formation In The *E. coli* Cytoplasm. 第 20 回日本蛋白質科学会年会, 2020 年 7 月 28 日, オンライン.

谷昊, 大沼幸暉, 加藤貴純, 石田博昭, 熊木康裕, 塚本卓, 菊川峰志, 出村誠, Vogel Hans J., 相沢智康: Expression and Purification of Intact Small Peptides through a Novel Calmodulin-Fusion Protein System. 第 58 回日本生物物理学会年会, 2020 年 9 月 16 日, オンライン.

王一, 耿偉銘, 平峰里菜, 豊川千怜, 相沢智康: Antibacterial mechanism of an α -defensin, cryptdin-4 in redox status under aerobic and anerobic conditions. 第 58 回日本生物物理学会年会, 2020 年 9 月 16 日, オンライン.

宋雨遲, 耿偉銘, 闫少男, 楊文典, 王一, 相沢智康: A method for producing recombinant cryptdin by enhancing inclusion body formation. 第 58 回日本生物物理学会年会, 2020 年 9 月 16 日, オンライン.

鄭靖康, 飯塚友菜, 陸小双, 相沢智康: NMR Studies on Cup s 7, an Novel Allergen from Cypress Pollen. 第 58 回日本生物物理学会年会, 2020 年 9 月 16 日, オンライン.

菊川峰志: Photoreaction analysis of microbial rhodopsin

by flash photolysis techniques. 第 58 回日本生物物理学会年会, 2020 年 9 月 17 日, オンライン.

相沢智康: Development and application of novel overexpression systems of antimicrobial peptides. 第 58 回日本生物物理学会年会, 2020 年 9 月 18 日, オンライン.

谷昊, 加藤貴純, 石田博昭, 熊木康裕, 塚本卓, 菊川峰志, 出村誠, Vogel Hans J. 相沢智康: カルモジュリン融合タンパク質システムを使用した安定同位体標識セクロピン P1 の大量発現と NMR 構造解析. 第 59 回 NMR 討論会, 2020 年 11 月 19 日, G メッセ群馬 (高崎市) .

大学院情報科学研究所

生命人間情報科学部門

バイオインフォマティクス分野

遠藤 俊徳

栽培種・古代ヒョウタンの分子系統解析

起源と伝播経路解明の分子系統解析のため、アジア、ヨーロッパ、アフリカ、アメリカの栽培種と野生種 (*Lagenaria abyssinica*, *L. sphaerica*, *L. breviflora*) の合計 48 標本について、RAD-seq によって配列取得・解析し SNP を得た。多くの標本は地域固有の純系に近いものと期待されており、SNP の解析結果からも一部を除いて高い近交係数が確認できた。前年までの解析から、アフリカを起源地としてアジアに伝わったヒョウタンが日本付近を経由してアメリカ大陸へ渡ったという単一モデルを考えていたが、SNP の主成分分析の結果は、より複雑な伝播経路を暗示していた。そこで、RAD-seq のデータでは十分な解像度が得られないと判断し、日本の在来種を追加して全ゲノム解析を行うこととした。日本の在来種については、農業生物資源ジーンバンクからヒョウタンおよびユウガオの在来種および育成種の種子を入手し、RAD-seq に用いた種と併せ 60 サンプルについて DNA 抽出と NGS 解析を行っている。

古代ヒョウタンについては、滋賀県の粟津湖底遺跡から発見された約 1 万 1 千年前のものと推定される種子標本、愛媛県の新谷古新谷遺跡・新谷森ノ前遺跡 (愛媛県今治市) から発見された弥生～古墳時代頃と推定される果皮標本を入手し、これらの全長ゲノム DNA 決定を行うことを目的に DNA 抽出を進めた。古代遺跡は水浸(粟津湖底)および乾燥(新谷)の状態で残留 DNA という観点からは保存状態が悪く、通常の手法による DNA 抽出は極めて難しかったが、新しく改良した方法により比較的高収量で DNA を得ることができた。DNA

品質チェックの結果、前者の DNA は分解が進んでいたが、後者は高品質の DNA が確認された。これらについて、NGS 解析を行った。その結果、最大で全長の 5%程度に相当する断片を得ることができた。マッピングの結果、解読された配列は 11 本ある染色体のうち 8 番染色体に集中しており、他の染色体にマッピングされたものは少なかった。マッピング不可能な配列の大半はフェージ由来の配列に一致しており、バクテリアによる腐食とそれに続くフェージ感染によって DNA の多くが失われたと考えられる。古代 DNA は新たにゲノム解読した在来種と併せて次年度に解析を行う予定である。

(発表論文)

Hiro Takahashi, Noriya Hayashi, Yuta Hiragori, Shun Sasaki, Taichiro Motomura, Yui Yamashita, Satoshi Naito, Anna Takahashi, Kazuyuki Fuse, Kenji Satou, Toshinori Endo, Shoko Kojima, Hitoshi Onouchi. (2020) Comprehensive genome-wide identification of angiosperm upstream ORFs with peptide sequences conserved in various taxonomic ranges using a novel pipeline, ESUCA. *BMC Genomics* 21, 260

Hiro Takahashi, Shido Miyaki, Hitoshi Onouchi, Taichiro Motomura, Nobuo Idesako, Anna Takahashi, Masataka Murase, Shuichi Fukuyoshi, Toshinori Endo, Kenji Satou, Satoshi Naito & Motoyuki Itoh (2020) Exhaustive identification of conserved upstream open reading frames with potential translational regulatory functions from animal genomes. *Scientific Reports* 10, 16289

(研究発表)

渡部 大, 湯浅 浩史, 長田 直樹, 里村 和浩, 遠藤 俊徳

RAD seq データに基づいたヒョウタンの分子系統の地理的分布

第 74 回日本人類学会大会, 2020 年 10 月 31 日, オンライン (山梨大) .

総合博物館

研究部 資料開発研究系

江田 真毅 (機器利用)

【論文】

Eda, M. (in press) The osteological microevolution of red junglefowl and domestic fowl under the domestication process. *Quaternary International*. <https://doi.org/10.1016/j.quaint.2020.10.001>

Eda, M., Morimoto, M., Mizuta, M. and Inoué, T. (2020) ZooMS for birds: discrimination of Japanese archaeological chickens and indigenous pheasants using collagen peptide fingerprinting. *Journal of*

Archaeological Science: Reports 34: 102635. <https://doi.org/10.1016/j.jasrep.2020.102635>

Eda, M., Yamasaki, T., Izumi, H., Tomita, N., Konno, S., Konno, M., Murakami, H., and Sato, F. (2020) Cryptic species in a vulnerable seabird: short-tailed albatross consists of two species. *Endangered Species Research* 43: 375-386. <https://doi.org/10.3354/esr01078>.

太田 晶・服部 薫・外山雄大・牛島夏未・江田 真毅・泉 洋江・大泰司紀之 (2020)「根室市長節に漂着したラッコ骨格の記録」根室市歴史と自然の資料館紀要 32: 43-48.

以下の複数部門利用グループの報告は、実験生物共同利用部門を参照。

大学院理学研究院

生物科学部門 行動神経生物学分野

水波 誠

生物科学部門 行動神経生物学分野

北田 一博

生物科学部門 行動神経生物学分野

和多 和宏

生物科学部門 生殖発生生物学分野

黒岩 麻里

生物科学部門 生殖発生生物学分野

木村 敦

資料

- ・センター 利用手続きフローチャート（平成 23 年度以降）
- ・北海道大学大学院理学研究院附属ゲノムダイナミクス研究センター
実験生物共同利用部門 施設利用の手引き
（別表 1 共同利用機器リスト 平成 25 年 4 月以降）
（別表 2 実験用動物供給細則）
- ・北海道大学大学院理学研究院附属ゲノムダイナミクス研究センター規程
- ・北海道大学大学院理学研究院附属ゲノムダイナミクス研究センター運営委員会内規
- ・北海道大学大学院理学研究院附属ゲノムダイナミクス研究センター長選考内規

センター利用手続きフローチャート

- ① 事前に利用可能機器やスペースの空き状況を確認して下さい。

センターウェブサイト <https://www.sci.hokudai.ac.jp/gdynamics/>

問い合わせ先（センター事務） e-mail：cepa@sci.hokudai.ac.jp（内線 3580）



- ② **利用申請書**・**利用者名簿**をセンターウェブサイトよりダウンロードする。
（全部門共通フォーマットです。）

注) 実験生物共同利用部門（東棟） 利用者のうち新規の方と、継続利用であるが申請内容に変更のある方は、上記の他「**東棟利用申請書**」の提出が必要です。



- ③ 各様式に必要な事項を記入する。



- ④ 記入済みの各様式を経費の支払責任者の e-mail アドレスからセンター事務 e-mailへの添付にて提出する。

注) 所属機関・部局にて取得したメールアドレスであること。



- ⑤ 利用許可書を受け取る。



- ⑥ 利用開始。

注 1) 入館登録のため、個人 ID も別様式にて提出していただきます。

注 2) 実験生物共同利用部門（東棟） 利用者は、事前に「**東棟新規利用者講習会**」の受講が必要です。

北海道大学大学院理学研究院附属ゲノムダイナミクス研究センター
実験生物共同利用部門（東棟）施設利用の手引き

1. 利用申請

- (1) 当部門（東棟）飼育室・実験室等の利用を希望する時は、電話か電子メールで必ず事前にご連絡ください。
- (2) 研究室ごとに利用申請書及び利用者名簿へ必要事項を記入し、提出していただきます。
利用許可書（単年度）を経費の支払責任者宛に発行いたします。
- (3) 遺伝子組換え実験や動物実験を行う方は学内のルールに従って申請を行い、その許可番号または承認番号を上記（2）利用申請書に記載する必要があります。
- (4) 新規利用者が当部門の入館システムへ登録を希望される場合は、理学研究院の定める書式での申請もお願いします。また、当部門主催の利用者講習会の受講も義務付けておりますので、忘れずに受講してください。
- (5) 利用申請手続きは随時受け付けます。
- (6) 継続して利用される場合の年度毎の更新手続きは不要です。ただし、上記（2）において提出した内容に変更や追加が生じた場合には必要書類の再提出していただきますので、職員の指示を仰いでください。
- (7) 上記（6）において利用者名簿に新たに追加された者は（4）に該当しますので、同様の手続き及び利用者講習会の受講をお願いします。
- (8) 利用を終了される場合には提出書類はありませんが、撤退される2週間前までに連絡をお願いします。利用料金は月単位である点にご注意ください。

2. げっ歯類飼育室

- (1) げっ歯類飼育室に入室の際は、防疫上、必ず白衣を着用し専用の上履きへ履き替えてください。
- (2) げっ歯類飼育室への動物の搬入・搬出は、飼育部担当職員の指示に従ってください。
- (3) (実験用動物の供給)
当部門では、ラット・マウス等の実験用動物の供給を行っております。供給希望者は、別表2の「実験用動物供給細則」に従った必要手続を済ませてください。
- (4) (動物の飼育)

動物の給餌・給水・床敷の交換は、利用者が行ってください。

(5) (エサ、床敷)

飼育に必要なエサ及び床敷は利用者が用意してください。ただし、当部門でもげっ歯類用のエサ1袋10kg、床敷1袋10kgを実費でお分けできます。

(6) (微生物モニタリング表の提出)

飼育室における伝染病蔓延を予防するため、外部の機関から搬入した動物を飼育する場合は、搬入する動物が当部門の「標準作業手順書」に規定する病原体に感染していないことを証明する書類(微生物モニタリング表)を予め提出してください。ただし、搬入前1年以内に同じ機関から同種の動物を搬入した際に微生物モニタリング表を提出した場合には、改めて提出する必要はありません。

(7) (げっ歯類処置室の利用)

げっ歯類飼育室の利用者は、当部門内で飼育する動物への実験的処理を行うために処置室を利用することができます。利用したい場合は事前に空き状況を担当者に確認し、利用希望日時と処置内容を担当者へお伝えください。

3. ガラス室・圃場

(1) 建物1,2階に付属したガラス室、及び屋外に圃場が用意されています。利用を希望する際には事前に担当職員と利用方法を打ち合わせたくうえで利用申請をしてください。

(2) 利用区域の除草や清掃は利用者各自で行ってください。農具類の貸出も行っていますので、利用の際には職員へ申し出てください。

(3) 栽培廃棄物は学内の廃棄物処理方法に従って処分してください。

4. 水槽室

(1) 水槽室には、温度コントローラー付の水槽が用意されています。また、飼育水として井水(雑用水)と海水を利用できます。

(2) 利用者は、半年に一度、水槽と排水溝の掃除並びに濾過砂の洗浄を行ってください。また、水槽の利用が終了した場合も同様です。

5. 共同利用

(1) 利用者は、当部門を利用して行う実験・研究の遂行上、必要と認められる作業について、共同利用機器(別表1参照)を利用することができます。希望者は申請書「利用機器」欄に

付記し、利用方法を職員に確認してからご利用ください。

- (2) 部門内での飼育・実験のため一時的に飼料調整室を利用することができます。使用後は掃除・ゴミ処理等を行い、元の状態に戻してください。
- (3) 飼育・実験に用いた脊椎動物の死体は、専用フリーザーに廃棄し記録簿へ数量等を記入してください。
- (4) 利用者が随時利用場所を清掃できるよう、掃除道具の貸し出しを行っております。職員にご相談いただくか、2階廊下にあるロッカーの掃除道具をご使用ください。
- (5) 安全キャビネット、CO₂インキュベータ等が設置してある共同利用室を利用する場合、利用申請書への記載が必要です。実験に必要な消耗品は利用者が用意し適切に廃棄してください。設置機器類の利用時間や場所等に関しては利用者同士が話し合い調整してください。新たに機器等を利用室に持ち込む場合、前もって職員までお知らせください。

6. 空調等の異常・トラブル

- (1) 各室にある空調制御盤は所定の設定値にセットされていますので、変更を希望する場合は必ず申し出てください。
- (2) 各室の警報設定温度（上限・下限）は当部門職員の方で設定しますが、利用している部屋について特に希望がある場合にはご相談ください。
- (3) 室温の異常を知らせる警報盤が、1階玄関ホールと2階東側廊下中央及び2階東側廊下の北端に備わっています。警報が鳴っているときは職員へ連絡願います。
- (4) 職員不在の時間帯に警報が鳴っていたりトラブルに遭遇したりした際は、理学部2号館の防災センター（内線2660）へ伝えてください。

7. 停電

- (1) 当部門には停電による生物及び実験系への影響を最小限に食い止めるため、空調などへの必要最低限の機器の運転を保証する自家発電装置が備わっています。
- (2) 自家発電装置は一時的な電力供給しかできませんので、事前に停電が知らされている場合は停電前に必ず各機器の電源を切ってください。
- (3) 停電には断水が伴う場合があります。給水・給湯及びトイレの使用はご遠慮ください。
- (4) 緊急に停電が発生すると数秒後に自家発電装置が作動します。数分経っても通電しない等のトラブルがあった場合には至急職員へ連絡願います。（職員不在時は6.（4）と同様に対

応してください。)

8. 純水、超純水、海水

- (1) 当部門では、純水 (RO)、超純水 (ミリ Q)、海水のみの提供も行っています。希望者は価格を確認し、利用申請書を提出してください。
- (2) 使用の際には必要量分の容器を持参し、所定の用紙に記入してご利用ください。

9. 経費

- (1) 空調、その他諸設備の維持・管理のための諸経費の一部と共通消耗品の費用として別に定める料金を利用者に負担していただきます。なお、利用料金は年度始めから3ヶ月毎に徴収させていただきます。

10. その他

- (1) 入館する際に登録 IC カードを必ず携帯して下さい。
- (2) 当部門内は土足禁止ですので、専用の上履きをご利用ください。
- (3) 利用者が発注した機器修繕・物品を直接当部門へ納品する際は、事前に納品業者と納品日を職員へ連絡し、搬入や作業の日時の調整を行ってください。
- (4) 当部門内での物品の扱いについては、以下の点に御注意ください。
 - ・ 物品には全て所有者・所属講座などを分かりやすい場所に明記してください。
 - ・ 備品番号がつかない器具・機器・消耗品についても所属が分かるように講座名等をご記入ください。
 - ・ 大きな資材や物品を出し入れする際には、事前に職員へ連絡し、適宜申請書の書き換えを行ってください。
 - ・ 申請の際に利用場所として明記されていない場所（例えば自分の使用場所以外の部屋・廊下・玄関等）に一時的にでも物品を設置する場合には、職員までご連絡ください。
- (5) 利用を終了する際には、部屋・機器等を元の状態に戻し、職員の確認を受けてください。
- (6) 当部門運営費の一部は、皆様からの利用料金によって賄われています。光熱水料は運営費総額の多くを占めており、当部門を運営するうえで負担となっております。当部門を共同利用施設としてより一層活用するためにも、電気・水道等の無駄使いをなくし、省エネルギー化を心掛けてください。

別表 1

共同利用機器

オートクレーブ（共同実験室）
乾熱滅菌機（共同実験室）
製氷器（飼料調整室）
CO₂ インキュベータ（共同実験室）
安全キャビネット（共同実験室）
-80℃フリーザー（中廊下）

別表 2

実験用動物供給細則

1. 実験生物共同利用部門におけるマウス・ラットの供給については、この細則の定めるところによる。
2. 実験用動物は、原則として研究実験用に供給する。
3. 実験用動物の飼育経費の負担は、次のとおりとする。

ハツカネズミ	系統、性別、週齢の		
(マウス)	指定有り	1 頭当たり	600 円
	指定無し	1 頭当たり	300 円
	妊娠個体	1 頭当たり	2,800 円

ドブネズミ	系統、性別、週齢の		
(ラット)	指定有り	1 頭当たり	1,350 円
	指定無し	1 頭当たり	700 円
	妊娠個体	1 頭当たり	6,600 円

4. 供給の申込みは、予めげっ歯類飼育部の担当職員と打合せを行い、所定の用紙に必要事項を記入の上、行うこと。
5. 3. に規定する費用の請求は、実験生物共同利用部門の利用料の請求に合わせて行う。供給に際して必要となる費用については、申込者が負担する。

北海道大学大学院理学研究院附属ゲノムダイナミクス研究センター規程

平成20年11月1日

海大達第150号

(趣旨)

第1条 この規程は、国立大学法人北海道大学組織規則（平成16年海大達第31号）第27条の7第4項の規定に基づき、北海道大学大学院理学研究院附属ゲノムダイナミクス研究センター（以下「センター」という。）の組織及び運営について定めるものとする。

(目的)

第2条 センターは、北海道大学の研究者に対して、遺伝子及び染色体に関する研究を行うための施設及び設備を提供するとともに、動物、植物その他生物材料の供給を行うことにより、生物科学分野の研究の進展に寄与することを目的とする。

(共同利用部門)

第3条 センターに、次に掲げる共同利用部門を置く。

- (1) 動物染色体共同利用部門
- (2) 遺伝子実験共同利用部門
- (3) 実験生物共同利用部門

(職員)

第4条 センターに、センター長その他必要な職員を置く。

(センター長)

第5条 センター長は、北海道大学大学院理学研究院の専任の教授又は准教授をもって充てる。

- 2 センター長は、北海道大学大学院理学研究院長（以下「研究院長」という。）の監督の下に、センターの業務を掌理する。
- 3 センター長の任期は2年とする。
- 4 センター長は、再任されることができる。
- 5 センター長の選考は、研究院長が推薦する候補者から、総長が行う。
- 6 センター長候補者の選考については、研究院長が別に定める。

(運営委員会)

第6条 センターに、センターの共同利用に関する事項その他のセンターの運営に関する重要事項を審議するため、運営委員会を置く。

- 2 運営委員会の組織及び運営については、研究院長が別に定める。

(雑則)

第7条 この規程に定めるもののほか、センターの組織及び運営に関し必要な事項は、研究院の教授会の議を経て、研究院長が別に定める。

附 則

- 1 この規程は、平成20年11月1日から施行する。
- 2 この規程の施行後、最初に任命されるセンター長の任期は、第5条第3項の規定にかかわらず、平成22年3月31日までとする。

附 則

この規程は、平成21年4月1日から施行する。

附 則

この規程は、平成27年4月1日から施行する。

北海道大学大学院理学研究院附属ゲノムダイナミクス研究センター運営委員会内規

(趣旨)

第1条 この内規は、北海道大学大学院理学研究院附属ゲノムダイナミクス研究センター規程（平成20年海大達第150号）第6条第2項の規定に基づき、北海道大学大学院理学研究院附属ゲノムダイナミクス研究センター運営委員会（以下「委員会」という。）の組織及び運営について定めるものとする。

(審議事項)

第2条 委員会は、北海道大学大学院理学研究院附属ゲノムダイナミクス研究センター（次条第1項において「センター」という。）の共同利用に関する事項その他のセンターの運営に関する重要事項を審議する。

(組織)

第3条 委員会は、次に掲げる者をもって組織する。

(1) センター長

(2) センターの業務を兼務する北海道大学大学院理学研究院の教授及び准教授（国立大学法人北海道大学特任教員就業規則（平成18年海大達第35号）第3条第2号に該当する特任教員を含む）

(3) その他理学研究院長が必要と認めた者 若干名

2 前項第3号の委員は、理学研究院長が委嘱する。

(任期)

第4条 前条第1項第3号の委員の任期は、1年とする。ただし、補欠の委員の任期は、前任者の残任期間とする。

2 前項の委員は、再任されることができる。

(委員長)

第5条 委員会に委員長を置き、理学研究院の副理学研究院長のうちから、理学研究院長が指名する者をもって充てる。

(委員会の招集及び議長)

第6条 委員長は、委員会を招集し、その議長となる。

2 委員会は、委員長が必要と認めた場合に招集するものとする。

3 委員の3分の1以上の求めがある場合には、委員長は委員会を招集しなければならない。

(議事)

第7条 委員会は、委員の過半数の出席がなければ議事を開き、議決することができない。

2 委員会の議事は、出席委員の過半数をもって決するものとする。

(委員以外の者の出席)

第8条 委員会が必要と認めたときは、委員会に委員以外の者の出席を求め、説明又は意見を聴くことができる。

(庶務)

第9条 委員会の庶務は、理学・生命科学事務部において処理する。

(雑則)

第10条 この内規に定めるもののほか、委員会の運営に関し必要な事項は、委員会が別に定める。

附 則

この内規は、平成20年12月4日から施行する。

附 則

この内規は、平成23年4月1日から施行する。

北海道大学大学院理学研究院附属ゲノムダイナミクス研究センター長候補者選考内規

(趣旨)

第1条 この内規は、北海道大学大学院理学研究院附属ゲノムダイナミクス研究センター規程（平成20年海大達第150号）第5条第5項の規定に基づき、北海道大学大学院理学研究院附属ゲノムダイナミクス研究センター長候補者（以下「候補者」）の選考に関し、必要な事項について定めるものとする。

(候補者の選考)

第2条 候補者の選考は、次のいずれかに該当する場合に行う。

- (1) センター長の任期が満了するとき。
- (2) センター長が辞任を申し出て、総長が認めたとき。
- (3) センター長が欠けたとき。

(候補者の選考)

第3条 候補者は、理学研究院の専任の教授及び准教授のうちから、理学研究院長が指名する者をもって充てる。

(教授会の報告)

第4条 理学研究院長は、前条の規定により指名された候補者について、北海道大学大学院理学研究院教授会に報告するものとする。

附 則

この内規は、平成20年12月4日から施行する。

附 則

この内規は、平成27年4月1日から施行する。

北海道大学 大学院理学研究院
附属ゲノムダイナミクス研究センター 概要2021

令和3年6月発行

〒060-0810 札幌市北区北10条西8丁目
〔Tel〕 011-706-3580 〔Fax〕 011-706-2984
〔E-mail〕 cepa@sci.hokudai.ac.jp
〔URL〕 <https://www.sci.hokudai.ac.jp/gdynamics/>
