

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
2022

Hokkaido University, Faculty of Science
Genome Dynamics Research Center

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2022

令和4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/>

2022 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。

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きました。2022 年 3 月末にてサテライト拠点は終了となりました。（文科省の IBBP は継続されます。）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、昨年度本センター両棟の改修工事が実施されました。それに伴いほとんどの建物設備は一新され、これまで以上に北海道大学全体に向けた共同利用施設としての機能が向上しました。また、これを機に本センターの機能をさらに充実させるため、旧来の実験生物の飼育栽培施設の提供に加え、災害時の生物試料のバックアップのために非常電源を備えたディープフリーザースペースの貸出と、各種生命科学研究機器の共同利用のサービスをはじめることになりました。かねてから構想していた、より効率的なセンター運営と研究支援活動のさらなる向上に向けて、大きな一歩を踏み出したのではないかと思います。今後も、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、引き続きご理解とご協力の程、よろしく願い申し上げます。

令和 4 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

- ・ 2022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3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 19
- ・ 添付資料 P 21

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
	研究支援推進員	小坂 あゆみ
	事務補助員	吉田 祥子

ゲノムダイナミクス研究センター運営委員会

委員長	村越 敬	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
	綿引 雅昭	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3年度 活動報告

- ・ 概要 2021（年次報告）発行（6月）
- ・ 運営委員会開催（11月）

東棟

実験生物共同利用部門

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、イカといった海産の無脊椎動物、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、野外採取してきた植物、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、関連法規に準拠した飼育設備の整備にも心がけております。

すでに築40年を経過しておりました当センターであります。今年度、無事に改修工事を終わることができました。今後50年後の将来に亘って、実験生物の飼育・栽培がより円滑に実施できるようになるのではと、期待しているところです。改修工事や仮移転飼育・栽培に当たっては、関係各所の多大なご助力がありました。ご支援をいただきましたことに感謝申し上げます。また、利用者の方々におかれましても、仮移転飼育・栽培に際して、多大なご協力をいただきました。ご協力をいただきましたことに感謝申し上げます。

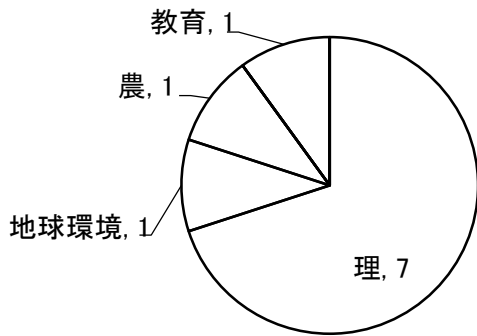
なお、センター改修工事中は、利用者が使用していたげっ歯類は医学部実験施設で、それ以外の小動物と植物についてはプレハブの仮飼育栽培施設で維持を行ってまいりました。したがって以下の令和3年度の利用者内訳はこれらの利用を含んでいます。なおセンターの改修を機に、これまで継続してきましたマウスとラットの近交系の維持事業について令和3年度以降中止することになりましたので、ご報告申し上げます。

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ので、よろしくご協力をお願いします。

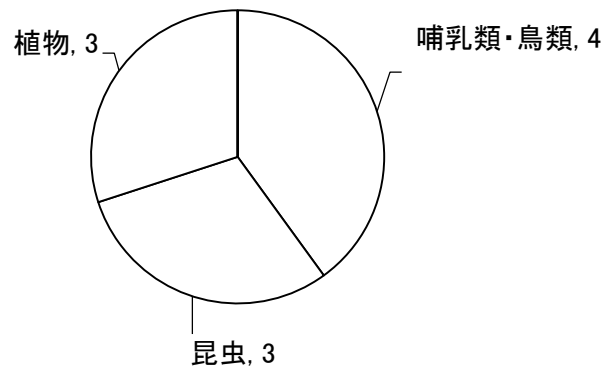
令和3年度 実験生物共同利用部門 利用状況

所 属	利用者数
地球環境科学研究所	1
理学研究所	7
農学研究所	1
教育学研究所	1
	10

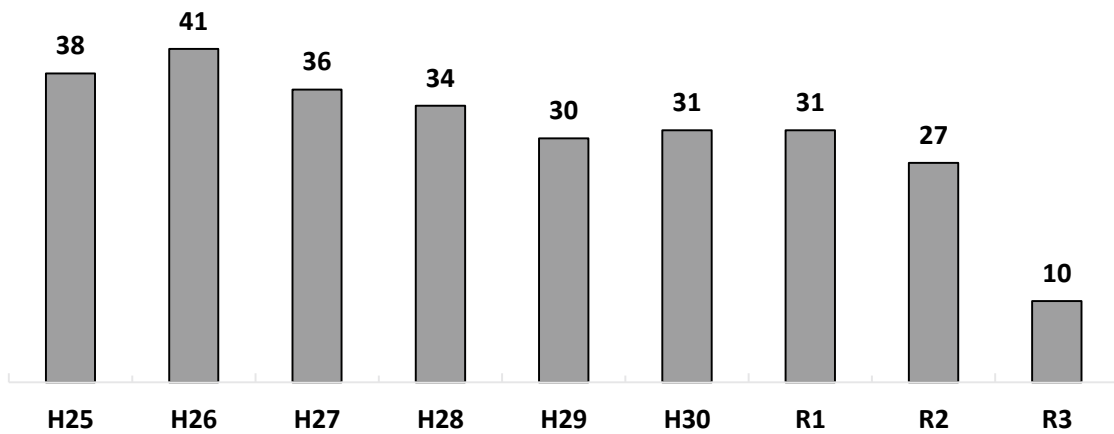
令和3年度利用者の内訳



利用申請者所属部局



扱っている生物及び水等利用の申請数



利用申請数推移

令和3年度 実験生物共同利用部門 保守営繕リスト

令和3年	4月	環境衛生管理点検 プレハブ棟(5月～毎月) 樹木冬囲い外し業務
	7月	ゲノム東棟ガラス塞ぎ工事
	10月	樹木冬囲い業務
令和4年	3月	ゲノム東棟(1階入室準備室)入退館システム工事

**令和3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	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	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	フタホシコ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	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	小谷 友也	卵母細胞形成と初期発生の分子機構解析
農学研究院	基盤研究・生物資源科学	教授	秋元 信一	サッポロフキバッタの配偶行動と生殖隔離機構に関する研究
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

利用報告

大学院地球環境科学研究院
環境生物科学部門 陸域生態学分野
工藤 岳
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、生物個体の全ゲノムが倍化する出来事であり、多くの植物の分類群で見られる現象である。分子系統学の知見によれば、全ての被子植物は共通祖先の倍数化に由来しており、維管束植物の35%が比較的最近の倍数化を経験しているとされ、倍数化が植物の種分化や多様化に大きく寄与してきたことが示唆されている。倍数化が生じた集団は祖先集団と異なる分布パターンを示す例が多く報告されており、さらに祖先集団よりも厳しい環境に生育することがしばしば確認されている。しかし、倍数化集団の成立・維持機構については不明な点が多い。また、倍数化した集団が無性生殖を獲得することもよく報告されているが、どのような生理的・生態的メカニズムを通して倍数化が無性生殖を促進するかについては、ほとんど不明である。本研究では、種内に異なる倍数性・繁殖タイプをもつキク科の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、倍数化の適応的意義について考察した。

調査地として2倍体集団、倍数化した4倍体集団を7集団ずつ北海道内で選定した。各集団について、7月から10月にかけて開花直前～開花終了直後の成熟した個体をおよそ100個体ずつランダムに選び、無性生殖器官である「むかご」の有無の観察とむかごの大きさの測定を行った。また、昨年度に北海道大学・ゲノムダイナミクス研究センター施設の実験圃場内へ移植された2倍体苦小牧研究林・4倍体天塩研究林・4倍体遠軽集団由来の個体について、4月から9月にかけて1週間毎にフェノロジー観察を行い、出芽開始日・開花開始日・開花終了日を記録した。この内、遠軽集団はほぼ全ての個体が大きなむかごを形成する高山型変種コモチミミコウモリの個体群だった。

(1) 各野生集団の観察の結果、4倍体は2倍体よりも集団中でむかごを形成する個体の割合が有意に高く、むかごの直径も有意に大きかった。(2) 圃場のフェノロジー調査の結果、4倍体コモチミミコウモリは雪解け後の出芽開始が他の個体群よりも遅い一方、早い開花開始日・開花終了日を示した。4倍体天塩個体群と2倍体苦小牧個体群の間には開花終了日に差がなかったが、出芽日と開花開始

日は天塩個体群で早かった。

倍数化した個体は、細胞サイズの巨大化や分裂組織の形態の変化が生じることが知られている。ミミコウモリ4倍体における高いむかご形成率・むかごの巨大化は、倍数化に伴う上記のような生理特性の変化が原因かもしれない。また、高いむかご形成能をもつコモチミミコウモリは、すべて4倍体であることが報告されている。この事実は、倍数化によるむかご形成能の上昇が高山帯への分布拡大に寄与した可能性を示唆する。

共通圃場におけるフェノロジーの集団間の違いは、各集団の自生地の環境条件を反映している可能性がある。コモチミミコウモリは出芽が遅い一方で、開花までの日数は非常に短かったが、これは積雪が多く生育期間の短い高山で種子結実を成功させるための戦略かもしれない。また、4倍体天塩集団は2倍体苦小牧集団よりも早い出芽・開花を示したが、これは4倍体集団の自生環境は主に針葉樹林帯であることが関係している可能性がある。針葉樹林は、林冠が季節を通して閉じているため、光合成に必要な光が林床で不足している環境である。針葉樹林に生育する4倍体では光獲得競争に対してより有利であると考えられる、早く成長と繁殖を開始する形質が選択されたのかもしれない。

研究従事者: 伊藤陽平

利用状況・研究成果

一斉開花・結実現象(以下一斉開花)は、花や種子の大量生産が同一集団内の多くの個体で数年間隔で同調して起こる現象である。一斉開花の発生は、資源収支と環境トリガーによって制御されていると予測される。つまり、植物の貯蔵資源量が繁殖に必要な閾値に達するまでの年数で最短の繁殖周期性が生じ、ある環境シグナルをトリガーに花芽形成が起こることで個体間の開花が同調する。同種内では類似した一斉開花特性を有する事例が多く報告されているが、異質な環境に分布する個体群間では内的・外的条件が異なり、一斉開花の周期性や同調性に種内変異が生じている可能性がある。

バイケイソウ(シュロソウ科)個体群は、数年間隔で一斉開花が起こる。本種は、冷温帯の幅広い標高域に分布しており、低地個体群(約5年間隔)と高山個体群(約2年間隔)では一斉開花の周期が異なるとの報告がある。また、根茎の成長痕から過去10年前後の開花履歴を追跡できる為、個体レベルの開花間隔を単年度の調査で把握できる。本研究は、標高の異なるバイケイソウ個体群での一斉開花周期の決定要因の解明を目的とする。

野外調査は 2019~2021 年に北海道内の低地・高山各 6 個体群で行った。各個体群で繁殖個体の割合を記録し、根茎の成長痕から開花間隔を計測した。繁殖個体の花、果実、花茎等の乾燥重量を測定して、繁殖に必要な資源量を算出した。生育環境の日射量と植物の展葉フェノロジー・光合成活性等から、年間の炭素固定量を推定した。3 年間での一斉開花の発生頻度は、低地個体群では 1 回以下であったが、高山個体群では 2 回以上観察された。高山個体の開花間隔（4 年程度）は低地個体（7 年程度）よりも顕著に短かった。高山個体群は低地個体群よりも繁殖個体の乾燥重量が小さかった一方で、生育環境の日射量が多く、個体の光合成活性と年間の炭素固定量が高かった。以上の結果から、高山個体群は低地個体群に比べ、繁殖に必要な資源量を短期間で蓄積できることが判明し、その結果、一斉開花の周期が短くなっていると推察された。

ゲノムダイナミクス研究センター圃場には、低地 5 個体群、高山 1 個体群から採取した根茎を移植した（各個体群より 15~20 個体）。野外調査により、バイケイソウ個体群の一斉開花周期は低地-高山個体群間で異なり、その原因として繁殖までの資源蓄積に関わる生理特性の違いが示唆された。しかし、その違いが遺伝的に固定された形質なのか、生育環境によって変化した可塑性の形質なのかの区別はできていない。そこで、次年度以降は共通圃場試験を行い、一斉開花の周期性変異に関わる生理特性と遺伝的分化の関連性の検証を試みる。具体的には、移植個体の展葉フェノロジーや光合成活性等の生理特性を測定し、既にデータを得ている自生環境の生理特性と比較することで検証を行う予定である。

業績リスト（研究成果発表）

- ・伊藤陽平:大雪山系におけるミヤマバイケイソウの一斉開花現象. 北海道高山植物保護ネット 2021 年度市民フォーラム「お花畑は、いま・・・2021」, 2021 年 11 月 20 日, zoom によるオンライン開催
- ・伊藤陽平・工藤岳:標高の異なるバイケイソウ集団の一斉開花周期の決定要因. 第 69 回日本生態学会大会, 2022 年 3 月 14 日, オンライン開催

大学院理学研究院

生物科学部門 形態機能学分野

佐藤 長緒

- 1) 植物ホルモンであるブラシノステロイドは、茎の伸長や葉面積の拡大をはじめとして、植物の成長促進に極めて重要な役割を担う。本研究では、脱ユビキチン化酵素 UBP12/13 が BRI1 と相互作用し、直接的に BRI1 のユビキチン化修飾を取り外すことを発見した。UBP12/13 を欠損する変異株では、過剰なユビキチン化修飾と液胞分解によって BRI1 量が減少し、その結果、植物個体サイズが著しく低下することが分った。[Luo et al, *EMBO rep.*, 2022]
- 2) 我々ヒトと同様に、栄養バランスの乱れは様々なかたちで植物の成長に悪影響を及ぼす。特に、代謝の根幹を担う糖（炭素源, C）と窒素（N）のバランスは重要で、C/N バランスの乱れは発芽阻害や葉の老化促進、バイオマス及び種子収量の低下に繋がることが知られている。しかし、こうした C/N バランス異常への適応メカニズムはほとんどわかっていない。本研究では、細胞内物質輸送制御因子である SNARE タンパク質 SYP61 が植物の C/N バランス異常耐性付与に重要な役割を果たすことを明らかにした。さらに、SYP61 の機能がユビキチン化という翻訳後修飾によって制御されている可能性を示した。[Hasegawa et al, *Plant Cell*, 2022]
- 3) C4 植物であるソルガムを用いて硫黄欠乏応答における翻訳制御を網羅解析により明らかにした。農学的に有用なソルガムを用いたリボソームプロファイリングは世界初の試みであり、データベースにはない多くの新規 ORF を同定するなど、情報学的にもインパクトのある研究となった。[Sotta et al, *Plant and Cell Physiology*, 2022]
- 4) バイオスティミュラントとして有用な乳酸菌抽出液に含まれるフェニル乳酸が、植物体内でフェニル酢酸に変換されることでオーキシン活性を示すことを明らかにした。[Maki et al, *Plant Biotechnol*, 2022]
- 5) バイオスティミュラントとして有用な乳酸菌抽出液に含まれるフェニル乳酸の化学構造を変化させることで、よりアズキでの発根促進活性の高い化合物の合成を行った。[Maki et al, *Plant Biotechnol*, 2022]
- 6) 窒素栄養不足の環境下では、成長相の転換を伴う個体レベルでの応答を引き起こすことが知られている。しかし、こうした代謝適応から成長相転換へと応答段階を移行する分子機構についてはよく分かっていない。本研究では、窒素応答性花成に関わる因子として FBH4 を同定し、窒素欠乏下

での花成誘導機構を明らかにした。[Sanagi et al, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2021]

7) 植物の硫黄代謝に関連する最近の知見を, O-acetylserine, S-adenosylmethionine, homocysteine, and serine に着目して解説した。[Watanabe et al., *Front. Plant Sci.*, 2021]

<原著論文>

Luo Y, Takagi J, Claus LAN, Zhang C, Yasuda S, Hasegawa Y, Yamaguchi J, Shan L, Russinova E and *Sato T (2022) Deubiquitinating enzymes UBP12 and UBP13 limit stabilize the brassinosteroid receptor BRI1. *EMBO reports*, in press (e53354)

Hasegawa Y, Huaranca Reyes T, Uemura T, Baral A, Fujimaki A, Luo Y, Morita Y, Saeki Y, Maekawa S, Yasudaa S, Mukuta K, Fukao Y, Tanaka K, Nakano A, Takagi J, Bhalerao RP, Yamaguchi J and *Sato T (2022) The TGN/EE SNARE protein SYP61 and the ubiquitin ligase ATL31 cooperatively regulate plant responses to carbon/nitrogen conditions in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, in press (koac014).

*Sotta N.†, Chiba Y.† (†co-first authors), Aoyama H., Takamatsu S., Suzuki T., Miwa K., Yamashita Y., *Naito S., *Fujiwara T. (2022) Translational Landscape of a C4 plant, *Sorghum bicolor*, under normal and sulfur deficient conditions, *Plant and Cell Physiology*, in press.

Maki Y*, Soejima H, Sugiyama T, Watahiki MK, Sato T and *Yamaguchi J (2022) 3-Phenyllactic acid is converted to phenylacetic acid and induces auxin-responsive root growth in *Arabidopsis* plants. *Plant Biotechnol.*, in press.

Maki Y, Soejima H, Sugiyama T, Sato T, Yamaguchi J, *Watahiki MK (2022) Conjugates of 3-phenyllactic acid and tryptophan enhance root-promoting activity without adverse effects in *Vigna angularis*. *Plant Biotechnol.*, in press.

Sanagi M, Aoyama S, Kubo A, Lu Y, Sato Y, Ito S, Abe M, Mitsuda N, Ohme-Takagi M, Kiba T, Nakagami H, Rolland F, Yamaguchi J, *Imaizumi T and *Sato T (2021) Low nitrogen conditions accelerate flowering by modulating the phosphorylation state of FLOWERING BHLH 4 in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*,

118: e2022942118.

<総説>

Watanabe M., Chiba Y., *Hirai Y. M.: Metabolism and regulatory functions of O-acetylserine, S-adenosylmethionine, homocysteine, and serine in plant development and environmental responses. (2021) *Front. Plant Sci.*, 12:643403.

生物科学部門 行動神経生物学分野
小川 宏人

令和3年度研究成果

上記施設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い、本年度は以下の行動学的な研究成果を得た。

コオロギの気流誘導性逃避行動の運動状態による変化

本研究では、非拘束のコオロギを任意の方向に向けてトレッドミル上に固定できる無限平面装置を用いて、静止中か歩行中かという運動状態によってコオロギが逃避行動をどのように変化させるかを調べた。コオロギは静止中に気流刺激を受容すると、直ちに刺激方向と反対側へ逃避した。一方、運動中に気流刺激を受けると、ほとんどのコオロギは一旦運動を停止し、その後逃避行動を示した。逃避行動を起こす確率は、静止時に比べ運動中の方が高く、特に弱い気流刺激において顕著だった。また一時停止は、静止時に逃避行動を示さないような弱い刺激に対しても高い確率で生じた。これらの結果から、運動中の気流刺激に対する逃避運動の反応閾値は静止時よりも低く、さらに一時停止反応の閾値は逃避運動のそれよりもずっと低いと考えられる。次に逃避行動の反応潜時を比較したところ、刺激開始から逃避行動が起こるまでの潜時については、運動時のほうが静止時に比べて有意に長かった。しかし、一時停止してから行動を起こすまでの時間は静止時の反応潜時と変わらなかったことから、運動中の反応潜時が長くなったのは、一時停止するまでに時間がかかったためであると考えられる。また、刺激を受けてから一時停止するまでの潜時は、静止時の反応潜時よりもずっと短かった。一時停止反応の刺激閾値が低く、その潜時が短いことから、一時停止反応は逃避行動を起こす神経回路とは異なり、気流を受容する腹部の尾葉感覚系から脳を介さず直接運動を制御する胸部神経節を駆動している可能性が示唆された。

コオロギ尾葉上の毛状機械感覚子の部分的切除による気流誘導性逃避行動への影響

コオロギは、尾部に存在する尾葉と呼ばれる機械感覚器官によって周囲の気流を検出する。尾葉表面上に分布する機械感覚毛は、その基部の構造によって気流刺激に対して方向感受性を示す。感覚毛の選好方向は全方位に対して一様ではなく、尾葉の長軸に対して平行な方向を選好する感覚毛 (L-hair) と長軸に直角な方向を選好する感覚毛 (T-hair) に大別される。しかし、L-hair と T-hair がそれぞれ逃避行動のどのような側面に貢献しているのかは明らかになっていない。そこで、尾葉の特定領域の感覚毛を除去してその入力を方向特異的に遮断し、逃避行動に対する影響を調べた。片側の尾葉の感覚毛からの入力を全て遮断した結果、逃避反応確率は全刺激方位に対して減少したが、特に切除側からの刺激に対して大きく減少した。また、逃避した移動方向については、切除側からの刺激に対しても刺激の反対側に逃避していたが、刺激方位と逃避方向のズレが大きくなり、精度が低下した。これらの結果から、刺激角度の正確な検出には両側の尾葉からの入力が必要であることが分かった。次に、左右両側の尾葉の L-hair または T-hair を切除し、前後または側方に感受性を持つ入力を選択的に遮断した。その結果、T-hair 切除では特に側方からの刺激に対する反応性が、L-hair 切除では前後方向からの刺激に対する反応性がより大きく低下した。一方、逃避方向制御については、L-hair 切除によって精度が低下したが、T-hair 切除の影響は見られなかった。また、左右どちらかの側方を選好する T-hair だけを切除した結果、切除した側の側方刺激に対して反応確率が低下したが、逃避方向制御は切除の影響は見られなかった。したがって、L/T-hair は行動の誘発については検出する方向を分担しているが、移動方向の制御のための刺激方位の検出には両側尾葉、特に L-hair からの入力の統合が必要であると考えられる。

発表論文

- 1) Ifere, N.O., Sato, N., Shidara, H. and **Ogawa, H.** (2022)
Spatial perception mediated by insect antennal mechanosensory system.
Journal of Experimental Biology, 225: jeb243276.
- 2) Sato, N., Shidara, H. and **Ogawa, H.** (2022)
Action selection based on multiple-stimulus aspects in the wind-elicited escape behavior of crickets.
Helion, e08800.
- 3) Ando, N., Shidara, H., Hommaru, N. and **Ogawa, H.** (2021)
Auditory virtual reality for insect phonotaxis.
Journal of Robotics and Mechatronics, 33: 494-504.

国際会議発表

- 1) **Ogawa, H.**, Sato, N., and Shidara, H. (2021)
Roles of neural signals descending from and ascending to the brain in the cricket escape behavior.
50th Annual Meeting of Society for Neuroscience, Online meeting
- 2) Ifere, O. N., Shidara, H., Sato, N., and **Ogawa, H.** (2021)
Mechanosensory antennal inputs modulate cercal-mediated escape behavior in crickets.
50th Annual Meeting of Society for Neuroscience, Online meeting
- 3) Kiuchi, K., Shidara, H., Iwatani, Y., and **Ogawa, H.** (2021)
Cricket changes their wind-elicited escape behavior depending on locomotion states.
50th Annual Meeting of Society for Neuroscience, Online meeting

国内学会発表

- 1) Chida, H., Kai, K., Shidara, H., and **Ogawa, H.** (2021)
Morphological and electrophysiological properties of wind-sensitive interneurons in the cricket brain.
日本比較生理生化学会第 43 回大会, 2021 年 12 月 4~5 日, オンライン開催
- 2) Shirahata, K., Shidara, H., and **Ogawa, H.** (2021)
Subcellular heterogeneity in Ca²⁺ responses to airflow in the local non-spiking interneurons of crickets.
日本比較生理生化学会第 43 回大会, 2021 年 12 月 4~5 日, オンライン開催
- 3) 木内和秀, 設楽久志, 岩谷靖, **小川宏人** (2021)
コオロギ気流誘導性逃避行動は刺激時の運動状態によって変化する
日本動物学会第 92 回, 2021 年 9 月 2~4 日, オンライン開催
- 4) 加茂駿翼, 設楽久志, **小川宏人** (2021)
コオロギ尾葉の機械感覚子の部分的切除による気流誘導性逃避行動への影響
日本動物学会第 92 回, 2021 年 9 月 2~4 日, オンライン開催
- 5) 千田輝, 甲斐加樹来, 設楽久志, **小川宏人** (2021)
コオロギ脳内の気流応答性介在ニューロンの応答特性と形態
Neuroscience 2021—第 44 回日本神経科学大会—, 2021 年 7 月 28~31 日, 神戸国際会議場・オンライン併用 (神戸市)
- 6) 白旗洸太, 設楽久志, **小川宏人** (2021)
コオロギ局所ノンスパイキング介在神経における気流刺激に対する不均一な Ca²⁺ 応答
Neuroscience 2021—第 44 回日本神経科学大会—, 2021 年 7 月 28~31 日, 神戸国際会議場・オンライン併用 (神戸市)

- 7) Ifere Nwuneke Okereke, 設樂久志, 佐藤和, 小川宏人 (2021)
 コオロギの触角機械感覚系による障害物の空間知覚
 Neuroscience 2021—第44回日本神経科学大会—, 2021年7月28~31日, 神戸国際会議場・オンライン併用(神戸市)
- 8) 盧安華, 設樂久志, 福富又三郎, 岩谷靖, 小川宏人 (2021)
 コオロギ気流誘導性逃避行動に対する聴覚記憶の時間効果
 Neuroscience 2021—第44回日本神経科学大会—, 2021年7月28~31日, 神戸国際会議場・オンライン併用(神戸市)

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、コオロギが社会学習の能力を持つことを発見し、そのメカニズムについての解析を進めている。社会学習の訓練には、「デモンストレータ」室と「観察者」室からなる装置を用いた。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た。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かった。

報酬性の社会学習のメカニズムについて、2次条件付け仮説を提案した。この仮説によると、コオロギは飼育下での集団での飲水経験から他個体と水(報酬)との連合学習が起こり、訓練時に水場の他個体と水場の匂いの連合が起こることで、他個体がいた水場の匂いと水(報酬)の条件づけが起こるといふ仮説である。2次条件付けにおけるオクトパミンニューロンの働きについてのこれまでの知見を用い、報酬性社会学習および学習行動におけるオクトパミンニューロンの役割について

薬理的に解析した結果、2次条件付け仮説に合致する結果を得られた。しかし細部においては未解明の点が残っており、さらに詳細な解析が必要である。

罰性の社会学習のメカニズムについては、1次条件付けによって起こるとの仮説を提案した。すなわち死んだコオロギの匂いと水場の匂いと連合学習により、水場の匂いへの忌避反応が起こるといふものである。この仮説の薬理的な検証に着手し、それに合致する証拠が得られつつある。

生物科学部門 行動神経生物学分野
北田 一博

SDT (Spontaneously Diabetic Torii) ラットは、鳥居薬品株式会社研究所の篠原雅巳博士が長期飼育中の Sprague-Dawley 系ラットの中から多飲、多食、多尿、尿糖を呈するオス個体を発見し、1997年に系統確立された非肥満2型糖尿病モデルである(日本クレアのHPより引用)。腓島内毛細血管異常を契機とした進行性の線維化とβ細胞の脆弱性の両者が関与する膵インスリン分泌能力の減少に起因するものと考えられている(岩獣会報 Vol. 30 (No. 4), 119-124)。われわれは、その原因遺伝子を探索すべく、SDT ラットの reseq 解析を実施して、Sprague-Dawley の reseq データや糖尿病モデルを含む他の48系統の近交系ラットのゲノムを比較した。その結果、第3染色体上に約3Mbpにおよぶ領域で、糖尿病モデルラットであるGKラットと同一ハプロタイプをもつことが見いだされた。また、このハプロタイプは、頻度は小さいものの、現存の米国ハーラン社で販売されている Sprague-Dawley 集団にも見いだされた。したがって、SDT ラットも GK ラットも、糖尿病発症を指標として選抜されたモデルラットであり、その選抜により、同一祖先に由来するアレルが伝達された可能性も考えられる。病理所見からは、原因遺伝子は膵島で発現していることが想定される。現在は、その想定の下、約3Mbpの領域に存在する遺伝子を探索している。

生物科学部門 行動神経生物学分野
和多 和宏

研究結果

音声発声学習の感受性期の制御及び、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、その神経作用機序を進化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。ヒトの言語や鳴禽類小鳥の歌は、親など他個体から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、すなわち学習感受性期（臨界期）が存在す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。

現在、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、発声行動生成時に、歌神経核で発現誘導されるエピジェネティクス制御関連遺伝子群の人為的な発現量操作をアデノ随伴ウイルス発現系を用い、学習感受性期間における発声パターンの発達及び、歌モデル学習への影響を検証する実験を進めている。

論文発表

Hayase S, Shao C, Kobayashi M, Mori C, Liu WC, Wada K. (2021) Seasonal regulation of singing-driven gene expression associated with song plasticity in the canary, an open-ended vocal learner. *Molecular Brain* 14:160

James LS, Mori C, Wada K, Sakata JT. (2021) Phylogeny and mechanisms of shared hierarchical patterns in birdsong. *Current Biology* 31:1-13

Iwamoto M, Shibata Y, Kawasaki J, Kojima S, Li YT, Iwami S, Muramatsu M, Wu HL, Wada K, Tomonaga K, Watashi K, Horie M. (2021) Identification of novel avian and mammalian deltaviruses provides new insights into deltavirus evolution. *Virus Evolution* 7: veab003

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トゲネズミ属 3 種、アマミトゲネズミ (*Tokudaia osimensis*, $2n=25$, XO/XO)、トクノシマトゲネズミ (*Tokudaia tokunoshimensis*, $2n=45$, XO/XO)、オキナワトゲネズミ (*Tokudaia muenninki*, $2n=44$, XX/XY) 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、3 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、アマミトゲネズミとオキナワトゲネズミ 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。

アマミトゲネズミとトクノシマ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。また、オキナワトゲネズミは XX/XY 型の性染色体を持つが、一対の常染色体が性染色体と融合することで、最近に性染色体となった neo-X、neo-Y 染色体領域を持つ。そこで、トゲネズミ属のゲノム進化を研究するために、保管している凍結線維芽細胞からゲノム DNA および mRNA を抽出し、次世代シーケンサーによるゲノム配列の解読と RNA-seq 解析を行った。

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、仮設プレハブ棟でニホンウズラ (*Coturnix japonica*) を飼育している。本年度は、CRISPR/Cas9 システムを利用したゲノム編集によるノックアウトニホンウズラ胚の作出を試みるとともに、受精時における卵賦活化機構に関わる Ca^{2+} 受容体チャネルの解析を実施した。我々の先行研究において、ニホンウズラの生殖腺を性決定前、性決定時、性決定直後の 3 つの発生ステージに分け、雌雄別にサンプリングを行い RNA-seq 解析を行っている。発生ステージ間および雌雄間で RNA-seq データを比較し、本種の性決定に関わることが予想される W 染色体上の遺伝子と non-coding RNA を同定している。本年度において、ノ

ックアウトの対象としたのは、W染色体上の遺伝子3種類と non-coding RNA 2種類である。さらにこれらに加え、精巣分化に主要に働くことが知られている *SOX9* (SRY-box 9) 遺伝子とその精巣特異的エンハンサーの候補配列についてもノックアウトを試みた。

また受精時における卵の賦活化は、精子-卵の融合時に精子から放出されるホスホリパーゼ Czeta 1 (PLCZ 1) により誘導される一過性の細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇とクエン酸シンターゼ (CS) 及びアコニターゼ 2 (ACO2) によるスパイラル様 Ca^{2+} オシレーションの2つの型によって惹起される。排卵直後の卵に発現する Ca^{2+} 受容体として、イノシトール三リン酸受容体タイプ 1 (ITPR1) とタイプ 3 (ITPR3)、およびリアノジン受容体タイプ 3 (RYR3) を単離し、一過性の Ca^{2+} 上昇には ITPR1 と ITPR3 が、スパイラル様 Ca^{2+} オシレーションの惹起には RYR3 がそれぞれ関与することを突き止めた。

論文発表・学会発表等の業績リスト

1. Okuno, M., Mizushima, S., Kuroiwa, A., and Itoh, T. (2021) Analysis of Sex Chromosome Evolution in the Clade Palaeognathae from Phased Genome Assembly. *Genome Biology and Evolution* 13:evab242.
2. Mizushima, S., Sasanami, T., Ono, T., Kansaku, N., Matsuzaki, M., and Kuroiwa, A. (2021) Cyclin D1 gene expression is essential for cell cycle progression from the maternal-to-zygotic transition during blastoderm development in Japanese quail. *Developmental Biology* 476:249-258.
3. Oka, K., Bono, H., Kuroiwa, A., Fujioka, S., Shimizu, A., Katsu, Y., and Miura, K. (2021) Diversification of mineralocorticoid receptor genes in a subterranean rodent, the naked mole-rat. *Journal of Molecular Endocrinology*, 66:299-311.
4. Mizushima, S., Sasanami, T., Ono, T., Kansaku, N., and Kuroiwa, A. (2022) Inositol-1,4,5-trisphosphate receptor-1 and -3 and ryanodine receptor-3 may increase ooplasmic Ca^{2+} during quail egg activation. *Journal of Poultry Science* 59:175-181.
5. 河合薫, 黒岩麻里: 日経ビジネス対談「やがて男はいなくなる? 消えゆく Y 染色体とおじさん社会」日経ビジネス編集部企画 2021 年 4 月 27 日, 日経ビジネスサイトにてオンライン配信
6. 黒岩麻里: 「Y 染色体消失と性決定の多様性」, 日本進化学会第 23 回東京大会, シンポジウム「動物の性決定システムの進化」, 2021 年 8 月 20 日, オンライン開催.
7. 黒岩麻里: 「私たちの性の多様性—多様な性のあり方の理解を深めるために—」, 令和 3 年度 福井ライフ・アカデミー ふるさと未来講座「現代社会」, 2021 年 8 月 27 日, オンライン開催.
8. 水島秀成, 笹浪知宏, 小野珠乙, 神作宜男, 松崎芽衣, 黒岩麻里: ウズラ初期胚の母性-胚性遷移期における *retinoblastoma* 分解シグナリング解析. 日本動物学会第 92 回大会, 2021 年 9 月 3 日, オンライン開催.
9. 黒岩麻里: 「Y 染色体の役割と運命-Y をもたない哺乳類の性決定」, 染色体学会第 72 回年会市民公開講座「みんなに知ってもらいたい、最新の染色体研究」, 2021 年 9 月 18 日, オンライン開催.
10. 程田大智, 水島秀成, 奥野未来, 伊藤武彦, 黒岩麻里: ニホンウズラ (*Coturnix japonica*) における W 染色体遺伝子の機能解析. 染色体学会第 72 回年会ポスター発表, 2021 年 9 月 17 日, オンライン開催.
11. 木村優希, 水島秀成, 奥野未来, 伊藤武彦, 黒岩麻里: エミュー (*Dromaius novaehollandiae*) における性分化関連遺伝子の解析. 染色体学会第 72 回年会ポスター発表, 2021 年 9 月 17 日, オンライン開催.
12. 水島秀成, 塚田光, 笹浪知宏, 小野珠乙, 黒岩麻里: ウズラ *DAZL* (deleted in azoospermia-like) mRNA の 3'-UTR に結合するタンパク質の解析. 第 45 回鳥類内分泌研究会, 2021 年 12 月 4 日, オンライン開催.
13. 笹浪知宏, 松崎芽衣, 高塚夢々, 水島秀成: 精子貯蔵管への精子侵入を阻害するタンパク質. 第 45 回鳥類内分泌研究会, 2021 年 12 月 4 日, オンライン開催.
14. 光川祥一郎, 水島秀成, 黒岩麻里: アマミトゲネズミ精巣特異的エンハンサーを介して *SOX9* 発現を制御する転写因子の同定. 日本動物学会第 66 回大会口頭発表, 2022 年 3 月 19 日, オンライン開催.
15. パンタカーン・ウルナーノン, 水島秀成, 黒岩麻里: オキナワトゲネズミ (*Tokudaia muenninki*) SRY タンパク質の構造と機能についての *in silico* 解析. 日本動物学会第 66 回大会口頭発表, 2022 年 3 月 19 日, オンライン開催.
16. 木村優希, Luisa Fernanda Matiz Ceron, 水島秀成, 黒岩麻里: エミュー (*Dromaius novaehollandiae*) における性分化関連遺伝子の発現解析. 日本動物学会第 66 回大会口頭発表, 2022 年 3 月 19 日, オンライン開催.
17. 笹浪知宏, 松崎芽衣, 水島秀成: ウズラの精子

表面で精子貯蔵管への精子侵入に関与するタンパク質. 日本家禽学会 2022 年度春季大会, 2022 年 3 月 29 日, オンライン開催.

生物科学部門 生殖発生生物学分野 小谷 友也

多くの多細胞生物は、卵と精子を融合（受精）させることで次世代を生み出す。メスが形成する配偶子・卵母細胞は、その形成過程で発生の進行に重要な多くの物質を蓄える。近年の研究で、卵母細胞に蓄えられる転写産物は一万種類を超えることが明らかとなってきた。これらのうち、半数近くの mRNA は翻訳を抑制され卵母細胞に蓄えられる。受精卵は、受精後の発生現象を進行するため、二千から三千の mRNA の翻訳を開始する。しかし、受精後に初めて翻訳される mRNA がいつ、どこで、どのように翻訳されるかは大部分が不明であった。

Pou5f1/Oct4 タンパク質は生殖細胞と初期胚で特異的に発現する転写因子として同定され、多くの動物において発生に必須であることが示されてきた。特に、マウスにおけるノックダウンと過剰発現の実験から、*Pou5f1/Oct4* タンパク質の発現量は厳密に制御される必要があることが示されてきた。しかし、*Pou5f1/Oct4* 遺伝子がいつ転写され、どの時期にタンパク質となるのかは定かではない。我々は、組織・細胞特異的な mRNA の発現を高感度に検出する *in situ hybridization* 法と、*Pou5f1/Oct4* タンパク質を特異的かつ高感度に検出できるモノクローナル抗体を用い、卵形成と初期発生におけるそれぞれの発現を詳細に解析した。その結果、卵形成のごく初期に mRNA の転写が開始されること、一方で、タンパク質は受精後の 2 細胞期に始めて核内に蓄積することが示された。さらに、卵形成過程では mRNA の翻訳活性が低いこと、その活性は受精後に上昇することを示すに至った。すなわち、*Pou5f1/Oct4* mRNA は転写後に翻訳のレベルで制御を受けることが明確となった。

卵成熟過程における翻訳制御機構の研究から、翻訳を抑制された mRNA が持つ Poly(A)鎖は 10~20 塩基と短く、翻訳が開始する直前に Poly(A)鎖が伸長することが示されてきた。この Poly(A)鎖の再伸長は、翻訳を活性化する因子の集積を促進すると考えられている。*Pou5f1/Oct4* mRNA の Poly(A)鎖について解析した結果、卵形成期において約 60 塩基の Poly(A)配列を持つこと、興味深いことに、卵成熟期に数塩基まで Poly(A)鎖が削られることが明らかとなった。翻訳活性が最も高い 2 細胞期に、再び Poly(A)鎖の伸長が見られた。さらに詳細な配列解析から、Poly(A)鎖の短縮は mRNA の 3'末

端配列の短縮を伴っていることが明らかとなった。具体的には、3'非翻訳領域の 9~14 塩基が消失し、その後再び Poly(A)鎖が伸長した。レポーター mRNA を用いた解析から、削除される 3'末端の配列に翻訳を抑制する働きを持つ配列が存在すること、3'末端が短くなることで翻訳活性が上昇することが示された。さらに、全長と短縮後の mRNA それぞれに結合するタンパク質を抽出し、質量分析で網羅的に同定した結果、結合タンパク質が大きく変化することが示唆された。短縮後の mRNA に特異的に結合した *Gemin5* と *Dhx9* タンパク質に対する抗体を作製し、マウス卵母細胞における発現を確認した。この抗体を用い、それぞれのタンパク質をノックダウンした結果、2 細胞期における *Pou5f1/Oct4* タンパク質の翻訳が阻害された。従って、mRNA の短縮に伴い *Gemin5* と *Dhx9* が *Pou5f1/Oct4* mRNA に結合し、翻訳を活性化すると考えられる。以上の成果は、受精後に翻訳される mRNA が新規の翻訳制御を受けることを示す。

発表論文

Takei N, Sato K, Takada Y, Iyyappan R, Susor A, Yamamoto T, Kotani T. (2021) *Tdrd3* regulates the progression of meiosis II through translational control of *Emi2* mRNA in mouse oocytes. *Current Research in Cell Biology*, 2: 100009.

Otsuka K, Matsubara S, Shiraishi A, Takei N, Satoh Y, Terao M, Takada S, Kotani T, Satake H, Kimura A.P. (2021) A testis-specific long noncoding RNA, *Start*, is a regulator of steroidogenesis in mouse Leydig cells. *Frontiers on Endocrinology*, 12: 665874.

学会発表

佐藤圭祐, 小谷友也: ゼブラフィッシュ初期発生における *pou5f3* 翻訳の時空間制御機構の解析. 日本動物学会北海道支部第 65 回大会, 2021 年 3 月 20 日, (web 開催)

高田裕貴, 小谷友也: 3'非翻訳領域末端の短縮による母性 *Pou5f1/Oct4* mRNA 新規翻訳制御機構の解明. 日本動物学会第 92 回米子大会, 2021 年 9 月 3 日, とっとりコンベンションビューロー, (web 開催)

佐藤圭祐, 小谷友也: ゼブラフィッシュ初期発生に重要な *pou5f3* mRNA 翻訳の時空間的制御機構. 日本動物学会第 92 回米子大会, 2021 年 9 月 3 日, とっとりコンベンションビューロー, (web 開催)

武井夏海, 佐藤圭祐, 高田裕貴, Iyyappan Rajan, Susor Andrej, 山本雄広, 小谷友也: マウス卵母細胞

における Tdrd3 を介した *Emi2* mRNA の時期特異的な翻訳制御. (第 44 回日本分子生物学会年会, 2021 年 12 月 2 日, パシフィコ横浜 (横浜市))

高田裕貴, 山本雄広, 小谷友也: マウス卵形成および胚発生における母性 mRNA の 3' 非翻訳領域の短縮を介した新規翻訳制御機構. 第 44 回日本分子生物学会年会, 2021 年 12 月 2 日, パシフィコ横浜 (横浜市)

佐藤圭祐, 前畑香織, 酒井萌子, 高田裕貴, 安田恭大, 小谷友也: 脊椎動物の初期発生における mRNA の時空間翻訳制御機構. 第 44 回日本分子生物学会年会, 2021 年 12 月 2 日, パシフィコ横浜 (横浜市)

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ツタ *Podisma sapporensis* とミカドフキバツタ *Parapodisma mikado* を材料に, 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ツタは, これらの研究材料として優れた点を多く持つことが明らかになってきた. 1) 性決定がオス XO, メス XX である XO レース集団が北海道西部に, オス neo-XY, メス neo-XX である neo-XY レース集団が北海道東部に異所的に安定的に分布する. 2) 交尾活性 (オスの交尾活力とメスの交尾拒否力) が地域集団間で大きく異なる. 本種のメスは未交尾でも交尾拒否行動を示し, メスの交尾拒否力が強い集団はオスの交尾活力も強く, メスの交尾拒否力が弱い集団はオスの交尾活力も弱い. その為, 集団間で配偶者選択実験を行うと, 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る非対称な交尾前隔離が生じる. 3) 交尾活性が弱い集団の雌は他集団の雄と容易に交尾をするが, その後, 精子を排出する隠蔽的雌選択を行う. 4) 北海道内に広く分布する一般的な体色の緑色型と, 留萌市周辺に分布する黒化した特異な体色を持つ黒色型の体色 2 型が存在する.

現在は体色 2 型が安定的に存在するメカニズムを解明することを中心に研究を進めている. これまで知見では, 黒色型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, 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り, 20 年程で急速に分布範囲を広げている可能性も考

えられた. 昨年度までの実験で, 異なる体色型間の交配では, 緑色型オスと黒色型メスの組み合わせで得られた卵は, 黒色型オスと緑色型メスの組み合わせで得られた卵よりも孵化率が低いことが明らかになり, この孵化率の違いが体色型の分布域の拡大や縮小に影響している可能性が考えられた.

本年度は, 緑色型オスと黒色型メスの組合せで得られた卵の孵化率の低さが, 交尾活力の集団間差や隠蔽的雌選択から生じているか, あるいは体色型間に何らかの不和合性が存在するかを検証することを目的とした. 緑色型集団をこれまで実験に用いてきた交尾活力が中程度の下川市の集団から, 交尾活力が強い手稲山集団と, 交尾活力が弱い札幌市南区豊滝の集団に変更し, 黒色型集団との交配実験を行い, 交尾行動の解析と精子輸送量および孵化率を調べることにした. 交配行動の解析に用いる未交尾成虫を得る為, 留萌 (黒色型), 手稲 (緑色型), 豊滝 (緑色型) から 80~160 頭の幼虫を採集し, 実験室内で飼育した. しかしながら, 各集団から一定数の未交尾成虫を得て, 交尾実験を開始した段階で, 研究従事者の視界に異変が生じ, 緊急手術および加療が必要となってしまった (重度の網膜剥離). 視力が戻るのか, 加療がどのくらいかかるのか不明だった為, 本年度は本意ながら全ての実験を中断し, 材料を処理せざるを得なかった.

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
哺乳類の生物時計機構は, 視床下部視交叉上核 (Suprachiasmatic nucleus) に局在する中枢時計と視交叉上核外脳部位および全身の末梢組織に存在する末梢時計からなる階層的多振動体構造である. SCN の主要な同調因子は, 明暗サイクルであるが恒常暗下における習慣的な運動スケジュールがマウスの行動リズムを同調させることが報告されている. しかし, 恒常暗下での運動スケジュールに行動リズムが同調した際の SCN および末梢時計の時計遺伝子発現リズムについては明らかにされていない. 当研究室では, 本研究では雄性の C57BL/6-Tg(*Period1-luc*) マウスを用いて, マウスの自発活動リズムが①LD12:12 明暗サイクルに同調, ②恒常暗下でフリーラン, ③恒常暗下で 1 日 3 時間の回転

輪のついた新しいケージに移す新奇環境暴露スケジュールに同調、の3条件下でSCN(吻側・尾側)、弓状核、肝臓、骨格筋を採取し、生物発光測定装置を用いて *Per1-luc* リズムを測定した。各組織における培養翌日の *Per1-luc* リズムのピーク位相をリズム指標として、行動リズムの活動開始・終了位相および中枢・末梢時計間の位相関係を解析した。その結果、明暗サイクル同調時と新奇環境暴露スケジュール同調時におけるSCNの *Per1-luc* リズムのピーク位相はいずれも主観的明期(マウスの休息期)にみられた。肝臓および骨格筋のピーク位相は、主観的暗期(マウスの活動期)にみられた。行動リズム位相とSCN、肝臓、骨格筋の *Per1-luc* リズムの位相関係は明暗サイクル下と新規環境暴露スケジュール同調時で有意な差は認められなかった。一方、弓状核の *Per1-luc* リズム、明暗サイクル下および恒常暗でのフリーラン条件下では主観的暗期にピーク位相がみられたが、新奇環境暴露同調時に明暗サイクルおよび恒常暗条件に比べ、有意に位相前進し主観的明期にピーク位相がみられた。本研究により、恒常暗下での習慣的な運動スケジュールがマウスSCNの同調因子として作用し、明暗サイクル同調時におけるSCNと行動リズム、肝臓、骨格筋の末梢時計間の位相関係を維持した状態で同調することを明らかにした。

さらに、高感度CCDカメラと実体顕微鏡を組み合わせた高感度発光イメージングシステムをセットアップし、一細胞レベルでの発光イメージング測定系を確立した。本システムを用いて、明暗サイクル下、恒常暗下、新規環境暴露スケジュール同調時におけるSCNを冠状断スライスと水平断スライスをそれぞれ作成し、一細胞レベルでの時計遺伝子発現リズムの測定を行った。今後は、SCNの領域別の時計遺伝子発現リズムを解析することで習慣的な運動がSCNに与える影響を明らかにしていく予定である。

学会発表

山仲勇二郎, 佐藤蓮: Non-photoc entrainment of the circadian clock in mice by scheduled exposures to a novel environment with a running-wheel. 第99回日本生理学会, 2022年3月17日(仙台市)

佐藤蓮, 山仲勇二郎: 恒常暗下での習慣的な新奇環境暴露によるマウス視交叉上核における時計遺伝子 *Period1* リズムの同調. 第16回環境生理学プレコングレス, 2022年3月15日(仙台市)

佐藤蓮, 山仲勇二郎: 恒常暗下での周期的な新奇環境暴露がマウス行動リズムと中枢時計と末梢

時計の時計遺伝子 *Period1* 発現リズムに与える影響. 第101回北海道医学大会・日本生理学会北海道地方会, 2021年9月11日(札幌市)

西棟

遺伝子実験共同利用部門

動物染色体共同利用部門

「センター改修工事中のため、利用者なし」

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ました。

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的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画してきました。令和 4 年度以降、サテライト拠点は廃止されますが、IBBP 自体は継続されますので、引き続き、全国的な研究用生物遺伝資源の保管をサポートしていく予定です。

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、-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います。これらの細胞については、今後、細胞バンクへの寄託を通じて、より広く、かつ容易に資源を利用して頂けるような形にすることを予定しています。また、今年度から行われる「電源等喪失時における生物試料の退避・一時保管施設の整備事業」と連携して、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、保存していく体制を整えることも今後の課題です。

センター改修工事の終了にともなって、今年度の 5 月には、大型液体窒素凍結保存容器を、仮設プレハブから西棟保管室へと再び移転しなければなりません。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すが、関係各位のご協力を得て、無事に移転を終了させたいと思っています。先に述べましたとおり、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。

資料

- ・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

令和3年度はセンター改修工事のため、一部を除き利用を休止していました。

※令和4年度はセンターの事業を大幅に変更するため、利用手引きも改定される予定です。

また、センター規定、内規についても改定されることが決定しました。

(令和4年6月15日現在)

以下の資料は令和3年度までのものですので、ご注意ください。

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。

