

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
2023

Hokkaido University, Faculty of Science
Genome Dynamics Research Center

2023 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、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、令和 3 年度に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新たにはじめました。昨年度、新事業に合わせて 3 つの専門委員会を新たに組織し、利用審査や施設に関する審議をする体制を整えました。また、センターのウェブサイトも（まだ仮の形ですが）一新し、全学からの利用受付も開始しました。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、よろしくお願い申し上げます。

令和 5 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

- ・ 2023年度概要の発行にあたって
- ・ センター教職員・運営委員会・運営委員会専門委員会委員一覧 P 1
- ・ 令和4年度活動報告、保守営繕 P 2
- ・ 実験生物飼育栽培施設部門運営状況 P 3
研究機器等共同利用部門運営状況
生物試料保管部門運営状況
- ・ 添付資料 P 3 1

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
実験生物飼育栽培施設部門	准教授	北田 一博
	助手	出口 善行
研究機器等共同利用部門	教授	増田 隆一
	准教授	綿引 雅昭
生物試料保管部門	准教授	加藤 徹
	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
	綿引 雅昭	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	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

ゲノムダイナミクス研究センター運営委員会専門委員会

実験生物飼育栽培施設専門委員会			
委員長	木村 敦	教授	理学研究院
	北田 一博	准教授	理学研究院
	小谷 友也	准教授	理学研究院
	佐藤 長緒	准教授	理学研究院
	小川 宏人	教授	理学研究院

研究機器等共同利用専門委員会			
委員長	藤田 知道	教授	理学研究院
	小亀 一弘	教授	理学研究院
	増田 隆一	教授	理学研究院
	綿引 雅昭	准教授	理学研究院
	千葉由佳子	准教授	理学研究院

生物試料保管専門委員会			
委員長	小川 宏人	教授	理学研究院
	黒岩 麻里	教授	理学研究院
	和多 和宏	教授	理学研究院
	加藤 徹	准教授	理学研究院
	荻原 克益	准教授	理学研究院

令和4年度 ゲノムダイナミクス研究センター 活動報告

- ・ 概要 2022（年次報告）発行（7月）
- ・ 運営委員会開催（5月、7月、12月）

令和4年度 ゲノムダイナミクス研究センター 保守営繕

令和4年	4月	環境衛生管理点検（5月～毎月） ゲノム東棟木フェンス補修 樹木冬囲い解し作業
	6月	ゲノム東棟 ガラス室温室撤去工事 ゲノム東棟 ガラス温室2階 スイッチ取設工事 ゲノム東棟 2階 共通機器室(1)電源増設工事 ゲノム東棟 2階 植物栽培室(2)電源増設工事
	10月	樹木冬囲い作業
	11月	ゲノム東棟 2階 温室電気ヒーター電源工事
令和5年	3月	ゲノム東棟 1階 オートクレーブ定期点検(日本ボイラー協会)

東棟

實驗生物飼育栽培施設部門

研究機器等共同利用部門

西棟

生物試料保管部門

実験生物飼育栽培施設専門部門

実験生物飼育栽培施設部門は、令和3年度の理学研究院附属ゲノムダイナミクス研究センターの改修にともない、旧実験生物共同利用部門を引き継ぐかたちで令和4年度より設置されました。生物科学研究に用いる動植物その他の生物材料を飼育・栽培する施設を提供することを目的としており、生物材料を持ち込む際には、当部門に設置された実験生物飼育栽培施設専門委員会で審査を行います。令和4年度は、改修前の利用者を中心として生物材料の持ち込みがあり、専門委員会が合計11回開催されました。これによって、利用者が安全に生物科学研究を進められる環境を提供できたと考えております。また、専門委員会では、生物材料の飼育・栽培に必要な設備機器類の整備、管理業務、利用料金に関する審議も行っております。今後は新規の利用者も見込まれる中、充実した設備のもとで飼育・栽培を行えるようにより一層努めてまいりますので、引き続きのご協力をどうかよろしくお願いいたします。

実験生物飼育栽培施設専門委員会

委員長 木村 敦

研究機器等共同利用部門

R3年度の改修工事終了にともない、R4年度から各種生命科学研究機器類の共同用サービスを専門に担当する研究機器等共同利用部門が新しく立ち上がりました。ゲノムセンター東棟の2階に2つの共通機器室を確保し、共同利用機器をこちらで集約的にご利用いただけるよういたしました。汎用性の高い様々な機器を安価でご利用いただけます。また、ナノポアシーケンサーMinIONを新規導入しましたので、こちらもご利用をお待ちしています。

新しい利用料金や利用ルールにより、みなさまのより快適な研究活動の推進に少しでもお役に立てればと願っています。また、ご要望等ございましたら随時お知らせいただければ幸いです。研究機器等の共同利用部門として、みなさまの研究支援活動のさらなる向上をめざし、委員一同努めてまいります。

研究機器等共同利用専門委員会

委員長 藤田 知道

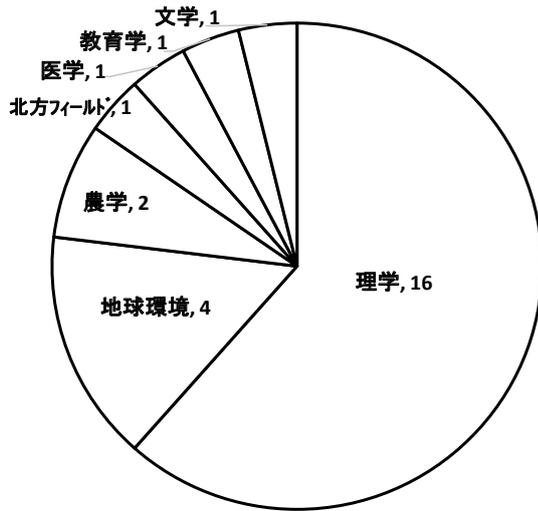
生物試料保管部門

当部門は、令和3年度の改修工事の主眼として新たに開始したサービスに関するものです。今回の改修工事では新しい自家発電装置が設置され、ゲノムセンター東棟の飼育栽培室と西棟の共通フリーザー室は電力喪失後72時間電力が供給されるようになりました。この設備を利用して、災害などの緊急の停電時に細胞・遺伝子・染色体などの生物研究材料の破損・損失を防ぐため、自家発電による電源と保管設備を提供します。利用希望者は2つの形態で利用を申請することができます。一つ目は研究者が保有するディープフリーザー等を非常用電源がひかれた共通フリーザー室に持ち込んで設置する形態です。フリーザーの大きさに合わせた設置料の他、定格電力ごとの電気代をお支払いいただきます。もう一つは、ゲノムセンターが用意した共同利用フリーザーに試料をお預かりする形態です。トレー単位の利用と1台専有の利用があります。またゲノムセンターには共同利用できる大型液体窒素タンクがあり、そちらにも凍結試料を保管することができます。まだ学内への周知が十分広まっていないためか、まだ利用者は少ないようなので、今後さらに本事業をアナウンスしていきたいと思えます。

なお、センターの部門体制の見直しに伴い、「動物染色体共同利用部門」は廃止され、外部からの生物試料の受入、保管、提供を行わないことになりました。また現在大型液体窒素タンク内に凍結保存されている細胞試料等については、貴重な試料はナショナルバイオリソースプロジェクト（NBRP）へ寄託し、それ以外は廃棄作業を進めることになりました。今後は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ていきます。

生物試料保管専門委員会
委員長 小川 宏人

R4年度 利用申請者所属部局

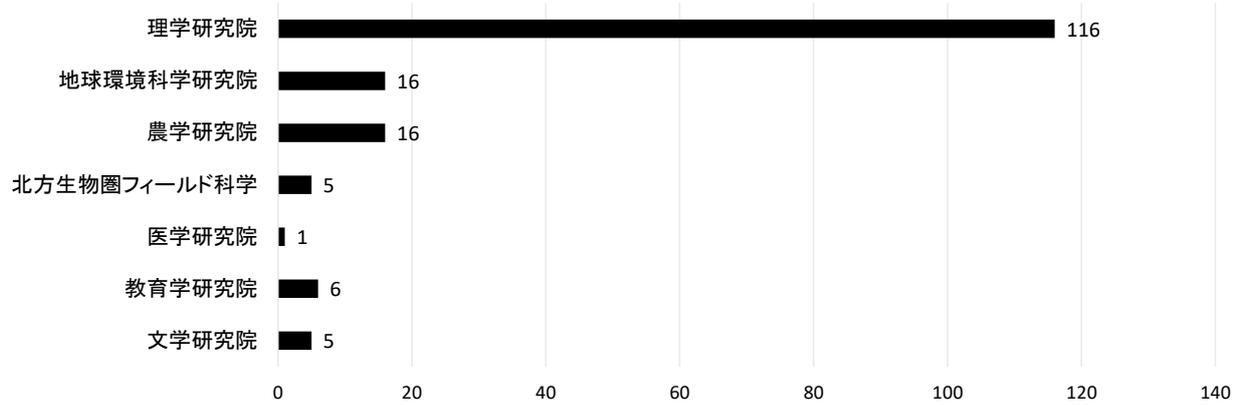


R4年度 利用申請内容

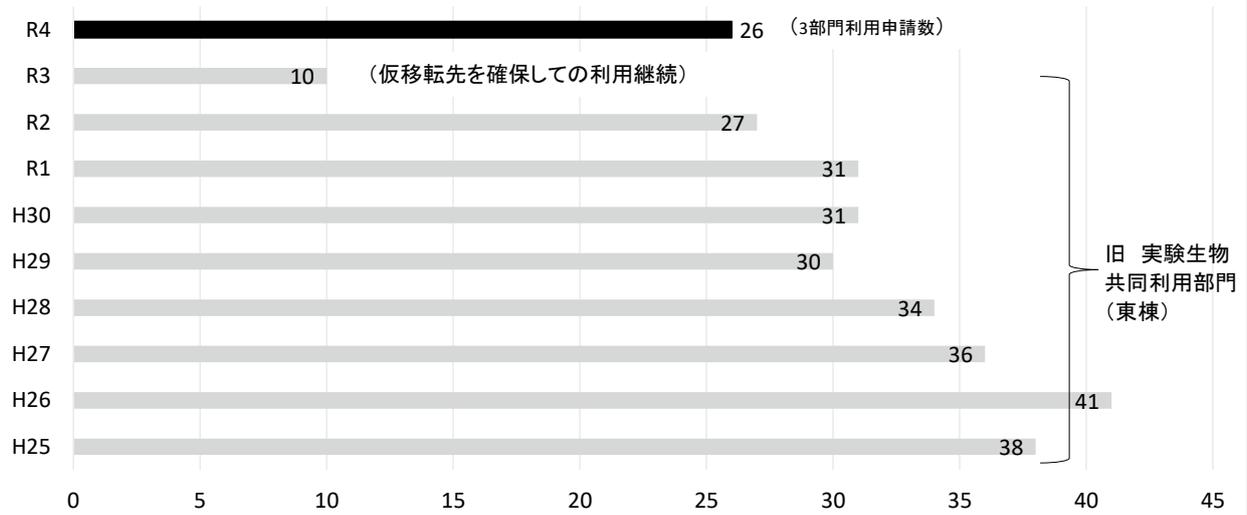


R4年度 部局別利用者名簿記載人数

計165名



利用申請数推移(過去10年)



共同利用機器一覧

機器設置場所	機器名・メーカー名・型番等
共通機器室 (1)	遺伝子銃チュービングプレップステーション BIO RAD
共通機器室 (1)	微量高速冷却遠心機 MR-150
共通機器室 (1)	微量高速冷却遠心機 MRX-150
共通機器室 (1)	エレクトロポレーションシステム (一式) BIO RAD
共通機器室 (1)	パルスフィールド電気泳動システムBio-Rad・Pulswave760
共通機器室 (1)	簡易型クリーンベンチ NK system MB-851
共通機器室 (1)	実体顕微鏡 Olympus SZ61
共通機器室 (1)	バイオシェーカー TAITEC BR-180LF
共通機器室 (1)	バイオシェーカー TAITEC 23FP
共通機器室 (1)	バイオシェーカー BR-3000LF
共通機器室 (1)	卓上パーソナルCO ² インキュベーター APC30D
共通機器室 (1)	卓上多本架遠心機 TOMY LC 06
共通機器室 (1)	高速冷却遠心機 (アングルローター付) TOMY Suprema21
共通機器室 (1)	ドラフトチャンバー DALTON DF-17CK (特)
共通機器室 (1)	ガス滅菌器 イオジェクト SA-N160
共通機器室 (1)	UVクロスリンカー Funakoshi FS-800
共通機器室 (1)	人工気象器 TOMY CLE-305
共通機器室 (1)	MinION Nanopore Protocol Mk1C
共通機器室 (2)	乾熱滅菌器 タバイ LC-110
共通機器室 (2)	CO ² インキュベーター エスペック BNA-111B
共通機器室 (2)	クリーンベンチ SHOWA S-1300
共通機器室 (2)	簡易型オートクレーブ TOMY LBS-245
P1A室	簡易型オートクレーブ TOMY BS-235
げっ歯類飼育室	小動物用麻酔器 夏目製作所 NARCOBIT-E II KN-10711
共通機器室 (2)	中央実験台 1500mm×750mm (半面) 1~12

令和4年度 ゲノムダイナミクス研究センター 利用者研究課題

所属	部門・分野等	職名	氏名	研究課題名
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・記憶に関する研究
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・行動神経生物学	准教授	北田 一博	神経系および生殖器系の疾患モデル動物の作製と疾患遺伝子の同定研究
理学研究院	生物科学・生殖発生生物学	教授	木村 敦	哺乳類の生殖に関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	教授	黒岩 麻里	脊椎動物における染色体進化と性決定メカニズムの研究
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・生殖発生生物学	准教授	荻原 克益	脊椎動物の卵巣に関する研究
理学研究院	生物科学・生殖発生生物学	助教	吉田 郁也	1ヘテロクロマチンの構造と機能に関する研究、2不活性X染色体の再活性化と胚性幹細胞の運命決定に関する研究
理学研究院	生物科学・多様性生物学	教授	増田 隆一	哺乳類の分子進化学的・集団遺伝学的研究
理学研究院	生物科学・多様性生物学	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	伊藤 秀臣	シロイヌナズナにおける高温活性型トランスポゾンの解析
理学研究院	生物科学・多様性生物学	准教授	加藤 徹	ショウジョウバエとザトウムシの進化に関する研究
理学研究院	生物科学・形態機能学	准教授	佐藤 長緒	植物の環境ストレス適応を制御する分子機構
理学研究院	生物科学・形態機能学	准教授	綿引 雅昭	植物の器官再生に関する分子遺伝学的研究
理学研究院	物理学・量子物理学	准教授	松永 悟明	低次元導体における物性測定
地球環境科学研究院	総合環境科学・自然環境保全	教授	露崎 史朗	キトサンオリゴマーによる発根作用に関する研究
地球環境科学研究院	総合環境科学・環境適応科学	教授	沖野 龍文	海洋生物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・生態遺伝学	教授	越川 滋行	昆虫の生態と進化に関する遺伝学的研究
地球環境科学研究院	環境生物科学・陸域生物学	准教授	工藤 岳	林床性草本植物の成長と開花周期に関する研究
農学研究院	基盤研究・畜産科学	准教授	川原 学	哺乳類個体発生に関与する分子群に関する研究
農学研究院	基盤研究・生物資源科学	准教授	吉澤 和徳	サッポロフキバツタの配偶行動と生殖隔離機構に関する研究
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	コンブ類の培養研究
医学研究院	生理系・生理学	助教	山野辺 貴信	神経細胞の特性に基づくスパイク列データ解析法の実験による検証
教育学研究院	教育学・健康体育学	准教授	山仲 勇二郎	哺乳類生物時計の構造と機能解析
文学研究院	人間科学・心理学	特任教授	和田 博美	日本で開発された自閉症マウスの超音波コミュニケーション研究

利用報告

大学院理学研究院

生物科学部門 行動神経生物学分野

小川 宏人

令和4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、神経生理学的実験を行い、本年度は以下のような研究成果を得た。

コオロギ脳内における気流感受性介在ニューロンの形態と応答特性

コオロギは短い気流刺激を受けるとそれを捕食者の接近と捉え、刺激と反対方向へ逃避する指向性の逃避運動を示す。先行研究によって、この移動方向の制御には脳から胸部神経節への下行性信号が必要であることが示されたことから、脳内の神経回路で GIs から伝送された気流の方向情報に基づく指向性運動の生成が行われると考えられる。この気流誘導性逃避運動に関与する神経回路を解明するため、コオロギ脳内の気流応答性ニューロンから細胞内電位記録を行い、気流刺激に対する反応特性を調べた。また記録した細胞を蛍光色素で染色し、その形態に基づいて上行性ニューロン (AsNs)、局所介在ニューロン (LNs)、下行性ニューロン (DsNs) に分類し、さらにその神経突起の両側性/半側性も加味して細胞を分類した。まず気流刺激に対する反応潜時に注目したところ、半側性の LIN の反応潜時は両側性の LIN より短い傾向がみられた。この結果から、脳において GI からの気流情報はまず半側性 LIN に入力されることが示唆された。また、気流応答における方向選択性について解析を行ったところ、細胞タイプごとに異なる特徴がみられた。GIs を含むほとんどの AsNs は軸索側からの刺激に高い選好性を示す傾向が見られた。一方、LNs は方向選択性が弱く、後方からの刺激に選好性示すものが多かった。また、DsNs の選好方向や方向選択性の鋭さは細胞によって様々だった。このような気流応答性ニューロンの細胞種類ごとの方向選択性の違いは感覚運動-連関の異なる過程を担当していることに起因していると考えられる。

コオロギ局所ノンスパイキング介在ニューロンの気流刺激に対する Ca²⁺ 応答の多様性

コオロギは周囲の気流変化を腹部の尾葉器官で受容し、気流刺激の様々な情報は最終腹部神経節 (TAG) 内の局所回路で処理され、複数の巨大介

在ニューロン (GIs) を含む上行性投射ニューロンによって上位中枢に伝えられる。GIs は気流刺激に対してそれぞれ異なる方向選択性を持ち、刺激方位を活動電位の発火頻度で表現している。一方、TAG 内には多くの局所介在ニューロンも同定されており、GIs の方向選択性の形成に関与していると考えられている。この局所介在ニューロンのうちスパイクを発生しない局所ノンスパイキング介在ニューロン (LNIs) は、緩電位変化の振幅として方向選択性を示すことが報告されている。我々は TAG の両側に枝を伸ばしている LNI を対象として、コオロギ尾葉に異なる角度から気流刺激を与えたときの膜電位応答と細胞内 Ca²⁺ 応答を計測した。その結果、LNIs は Ca²⁺ 上昇のみを示す細胞と上昇応答と減少応答の両方を示す細胞があるという多様性をもつ一方、刺激中と刺激後にそれぞれ Ca²⁺ 上昇応答のピークを示すという共通した特徴を示すことがわかった。また、同一の細胞内領域であっても、この2つの Ca²⁺ ピークはそれぞれ異なる方向選択性を示した。さらに、細胞内領域間における方向選択性の類似性を調べるために、方向選択性チューニングカーブを元にクラスタリング解析を行った。その結果、類似したクラスターが空間的に近い領域に集まる傾向が見られた一方で、その応答ピークの時間は細胞ごとに異なっていた。これらの結果は、LNIs が細胞内の各領域で局所処理を行っている可能性を示唆するとともに、細胞ごとに異なる役割を担っている可能性を示唆している。

令和4年度業績リスト

発表論文

- 1) Yamao, H., Shidara, H. and **Ogawa, H.** (2022) Central projections of cercal giant interneurons in the adult field cricket, *Gryllus bimaculatus*. *Journal of Comparative Neurology*, cne.25336.
- 2) Sato, N., Shidara, H. and **Ogawa, H.** (2022) Roles of neural communication between the brain and thoracic ganglia in the selection and regulation of the cricket escape behavior. *Journal of Insect Physiology*, 139:104381.

国際会議発表

- 1) Shirahata, K., Shidara, H., Sato, N., and **Ogawa, H.** (2022) Heterogeneity of Ca²⁺ responses to airflow stimulus in the local non-spiking interneurons of the insect. 51st Annual Meeting of Society for Neuroscience, On-site: San Diego Convention Center (San Diego, USA) / Online meeting
- 2) Ifere, O. N., Shidara, H., Sato, N., and **Ogawa, H.** (2022)

patial resolution of active mechano-sensing by cricket antennal system.
51st Annual Meeting of Society for Neuroscience,
On-site: San Diego Convention Center (San Diego,
USA) / Online meeting

- 3) Chida, H., Shidara, H., Sato, N., and **Ogawa, H.** (2022)
Firing response and morphology of wind-sensitive interneurons in the cricket brain.
51st Annual Meeting of Society for Neuroscience,
On-site: San Diego Convention Center (San Diego,
USA) / Online meeting

国内学会発表

- 1) Raza, H., Shidara, H., and **Ogawa, H.** (2022)
Analysis of leg movements for the initial oriented movements in escape response to airflow in crickets.
日本比較生理生化学会第 44 回大会, 2022 年 11 月 26~27 日, 高知大学 (高知市)
- 2) Inoue, R., Chida, H., and **Ogawa, H.** (2022)
Functional analyses of cercal giant interneurons in the wind-elicited escape behavior.
日本比較生理生化学会第 44 回大会, 2022 年 11 月 26~27 日, 高知大学 (高知市)
- 3) Ifere Nwunke Okereke, 設楽久志, 佐藤和, 小川宏人 (2022)
触角機械感覚系によるコオロギの空間認識
日本動物学会第 93 回早稲田大会, 2022 年 9 月 8~9 日, 早稲田大学 (東京都新宿区)
- 4) 千田輝, 設楽久志, **小川宏人** (2022)
コオロギ気流誘導性逃避運動を制御する脳内介在ニューロンの形態と活動特性
日本動物学会第 93 回早稲田大会, 2022 年 9 月 8~9 日, 早稲田大学 (東京都新宿区)
- 5) **小川宏人**, 木内和秀, 設楽久志, 岩谷靖 (2022)
運動状態によるコオロギ気流逃避行動の変化とその神経基盤
Neuro 2022—第 45 回日本神経科学大会・第 65 回日本神経化学会大会・第 32 回日本神経回路学会大会合同大会—, 2022 年 6 月 30 日~7 月 3 日, 沖縄コンベンションセンター (沖縄県宜野湾市)
- 6) 白旗洸太, 設楽久志, **小川宏人** (2022)
コオロギ局所ノンスパイキング介在ニューロンにおける気流刺激で誘導される細胞内 Ca²⁺動態の多様性
Neuro 2022—第 45 回日本神経科学大会・第 65 回日本神経化学会大会・第 32 回日本神経回路学会大会合同大会—, 2022 年 6 月 30 日~7 月 3 日, 沖縄コンベンションセンター (沖縄県宜野湾市)
- 7) Ifere Nwunke Okereke, 設楽久志, 佐藤和, **小川宏人** (2022)
Spatial resolution in object localization of antennal

mechansensory system in crickets.

Neuro 2022—第 45 回日本神経科学大会・第 65 回日本神経化学会大会・第 32 回日本神経回路学会大会合同大会—, 2022 年 6 月 30 日~7 月 3 日, 沖縄コンベンションセンター (沖縄県宜野湾市)

生物科学部門 行動神経生物学分野 水波 誠

1. コオロギ社会学習の一次条件付け説の検証
最近、私たちはコオロギには同種他個体の行動や存在から学習する社会学習する能力があることを発見した (蝦名ら、2020 年)。本研究では、蝦名らが報告したコオロギの嫌悪的な社会学習が、匂い (conditioned stimulus, CS) と死んだ他個体の匂い (嫌悪的 unconditioned stimulus, US) との一次条件付けによるとの仮説を立て、その検証を行った。最初の実験では、罰学習に関与するドーパミンニューロンからのシナプス伝達を薬理的に阻害すると記憶の形成及び読み出しが阻害され、この学習が一次条件付けによるとの仮説が支持された。さらに死体と水 (報酬) との条件付け訓練の後に、死体の忌避性を下げる revaluation の操作を行うと、学習した匂いに対する忌避性が失われた。これは死体の匂いが US であるとの仮説を支持した。本研究は、社会学習が 1 次条件付けで説明できることを初めて実験的に検証したものであり、社会学習のメカニズム解明に先鞭をつけるものである。
2. 報酬記憶と罰記憶が同時に形成されるメカニズムの解明
昆虫を含む多くの動物は、中性的な刺激 (条件刺激、conditioned stimulus) と報酬や罰 (無条件刺激、unconditioned stimulus, US) とを連合させるパブロフ型条件付けの能力をもつ。しかし自然環境では、ある刺激 CS が、忌避性の US と報酬性の US の両方と連合するような場合も多い。このような場合にどのような学習が起こるのかはほとんどわかっていない。コオロギの匂いと水や塩水との連合学習系を用いてこの問題に取り組んだ結果、ある刺激 CS を忌避と報酬の両方の性質をもつ US とを連合させると、報酬記憶と罰記憶が同時に形成されることがわかった。これは報酬記憶形成を担うオクトパミンニューロンと罰記憶形成を担うドーパミンニューロンの同時活性化によって実現していた。同時に形成された報酬記憶と罰記憶は競合し、CS への反応を決めていた。これらの結果は、パブロフ型条件付けのこれまで知られていなかった多能性を初めて明らかにしたものである。

R4 年度利用報告書

業績リスト

原著論文

- 1) Segi Y, Hashimoto K, Mizunami M. (2023) Dopamine neurons mediate reward signals in social learning in an insect. *iScience* (in press)
- 2) Terao K., Matsumoto Y, Beatriz A, Mizunami M. (2022). Spontaneous recovery from overexpectation in an insect. *Sci. Rep.* 12:9827.
- 3) Lyu H., Mizunami M. (2022). Conditioned taste aversion in the cricket *Gryllus bimaculatus*. *Sci. Rep.* 12:9751.
- 4) Tateishi K., Watanabe T., Nishino H., Mizunami M, Watahabe H. (2022). Silencing the odorant receptor co-receptor impairs olfactory reception in a sensillum-specific manner in the American cockroach. *iScience* 25:104272.

生物科学部門 行動神経生物学分野

和多 和宏

利用状況・研究成果

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。

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

Asogwa NC, Toji N, He Z, Shao C, Shibata Y, Tatsumoto S, Ishikawa H, Go Y, Wada K.*
Nicotinic acetylcholine receptors in a songbird brain. *Journal of Comparative Neurology* 530:1966-1991. 2022 doi: 10.1002/cne.25314.

学会発表

柴田ゆき野、田路矩之、辰本将司、石川裕恵、郷康広、和多和宏（口頭発表）：異種間ハイブリッドソングバードを用いた発声学習個体差の神経分子基盤、日本神経科学大会 第45回大会、2022年7月1日、沖縄

田路 矩之、柴田ゆき野、辰本将司、石川 裕恵、郷 康広、和多 和宏：鳴禽類における歌の種分化の神経分子メカニズム Neural molecular mechanisms of the song speciation in songbirds (ポスター発表), 日本神経科学大会 第45回大会, 2022年7月2日, 沖縄

田路 矩之、柴田ゆき野、辰本将司、石川 裕恵、郷 康広、和多 和宏：ソングバードの音声発声学習において生得および学習属性を象徴する細胞タイプ特異的トランスクリプトームシグネチャー（口頭発表），日本遺伝学会 第94回大会 2022年9月15日, 札幌

Y. Shibata, N. Toji, S. Tatsumoto, H. Ishikawa, Y. Go, K. Wada: Novel enhanced learning ability elicited by interspecific hybridization of songbirds (ポスター発表), Society for Neuroscience meeting, 2022年11月16日, San Diego

N. Toji, Y. Shibata, S. Tatsumoto, H. Ishikawa, Y. Go, K. Wada: Transcriptomic signatures in glutamatergic projecting neurons reveal species-specific vocal learnability in songbirds (ポスター発表), Society for Neuroscience meeting, 2022年11月16日, San Diego

生物科学部門 行動神経生物学分野

北田 一博

利用状況・研究成果

Ccdc175 は、脊椎動物に広く保存され、精巣特異的に発現する機能未知の遺伝子である。これまでに北田研では、ノックアウトマウスを作出し、雄のみが不妊になること、病理組織学的には精巣内で空胞変性と巨大多核細胞が観察され、減数分裂における染色体分配に関与する可能性が示唆されているが、その詳細な機能は未知のままである。

染色体分配に関わる可能性を考慮して、雄性不妊に加齢に伴う変化が生じるか否か、また、減数分裂時の染色体上に局在するか否かを検討した。前者については、2 か月齢から 1 年齢までの精巣を経時的に採取して病理学的観察を実施したが、この期間においては明瞭な際は観察されなかった。今後は、より広い範囲の月齢で観察する必要がある。また、後者については、特異抗体を作出して、減数分裂期の染色体上で免疫染色を実施したところ、パキテン期、ディプロテン期のテロメア上に局在することが観察された。今後は、テロメア上でどのような他のタンパク質を相互作用しているかを究明すべく、免疫沈降を実施して、共沈タンパク質の同定を実施していきたい。

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 (lncRNA) の解析も行っている。今年度は、精子形成における lncRNA の新たな機能を解明した。

マウス 9 番染色体上の *Prss/Tessp* 遺伝子座は精巣特異的な遺伝子が並んだユニークな遺伝子座で、精子形成において重要なゲノム領域である。我々はこの遺伝子座に 3 つの新規な lncRNA を発見して報告したが、そのうちの 1 つが *Start* (Steroidogenesis activating lncRNA in testis) である。*Start* は精巣特異的に発現し、精巣ではライディッヒ細胞と生殖細胞に発現する。これまでの研究によって、*Start* 欠損マウスではライディッヒ細胞におけるステロイド合成遺伝子 *Star* と *Hsd3b1* の発現が異常となり、結果としてテストステロンの合

成量が減少することを明らかにした。このことは、*Start* がライディッヒ細胞でテストステロン合成を調節する因子であることを示す。一方で、*Start* は生殖細胞のうち一次精母細胞でも発現するが、その機能は明らかでなかった。今回我々は、*Start* 欠損マウスの精巣において、精母細胞特異的な *Prss43/Tessp-3* 遺伝子の発現が 92% も減少することを発見した。精母細胞において *Start* の転写産物が核内に局在することから *Start* の転写調節活性を検証した。*Start* を含むゲノム断片を用いて、TK プロモーターに対する転写調節活性をレポーター解析で調べたところ、このゲノム断片がプロモーター活性を有意に上昇させることがわかった。このゲノム断片から *Start* の転写が確認されたためそのノックダウンを行ったところ、転写活性化レベルが有意に減少した。さらに、ゲノム断片をいくつかの領域に分けてレポーター解析を行ったところ、*Start* の転写が見られる場合に、プロモーター活性を上昇させることがわかった。これらのことから *Start* は転写活性化に寄与することが明らかとなった。そこで最後に、*Prss43/Tessp-3* プロモーターに対する活性を検討したところ、*Start* を転写するゲノム断片は *Prss43/Tessp-3* プロモーター活性も有意に上昇させ、その活性は *Start* のノックダウンによって有意に減少した。以上の結果より、*Start* は一次精母細胞で *Prss43/Tessp-3* 遺伝子の転写活性化に寄与することがわかった。ライディッヒ細胞で *Start* が細胞質に局在していることを考えると、*Start* は精母細胞とライディッヒ細胞で異なるメカニズムによって異なる遺伝子の発現を調節することになり、*Start* が多機能性の lncRNA であることが明らかとなった。

<論文発表>

1. Otsuka K., Yang H., Matsubara S., Shiraiishi A., Kurihara M., Satake H., and Kimura A.P. (2022) Evidence for a functional role of *Start*, a long noncoding RNA, in mouse spermatocytes. *PLOS ONE* 17(8): e0273279.

<招待講演>

1. 木村敦「マウス精子形成における長鎖非コード RNA の機能と作用機構」第 46 回日本比較内分泌学会大会・学術企画委員会主催シンポジウム：内分泌で制御される器官の発生、再生、分化の科学（東京大学農学部・弥生講堂、2022 年 10 月 30 日）
2. 木村敦「マウス精巣長鎖非コード RNA の意義を求めて」第 8 回生殖若手の会（東京都・明治大学駿河台キャンパス、2022 年 9 月 11 日）

<学会発表>

1. 佐藤丈生、佐藤優衣、山本雄広、渡辺健宏、松原伸、佐竹炎、木村敦「PTBP2 はマウス精巢で長鎖非コード RNA の *Tesra* を介して *Prss42/Tessp-2* プロモーター活性を制御する / PTBP2 regulates *Prss42/Tessp-2* promoter activity via a long noncoding RNA, *Tesra*, in the mouse testis」第 45 回日本分子生物学会年会（千葉県・幕張メッセ、2022 年 11 月 30 日～12 月 2 日）
2. 楊紅、大塚海、松原伸、白石慧、武井夏海、佐藤優衣、寺尾美穂、高田修治、小谷友也、佐竹炎、木村敦「*Start* はマウス精巢の多機能長鎖非コード RNA です / *Start* is a multifunctional long noncoding RNA in the mouse testis」日本動物学会第 93 回早稲田大会（東京都・早稲田大学・早稲田キャンパス、2022 年 9 月 8 日）
3. 佐藤丈生、木村敦「精巢特異的長鎖非コード RNA である *Tesra* ノックアウトマウスの生理的解析」日本動物学会第 93 回早稲田大会（東京都・早稲田大学・早稲田キャンパス、2022 年 9 月 8 日）

生物科学部門 生殖発生生物学分野 黒岩 麻里

令和 4 年度利用状況・研究の成果

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。

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特徴をもつ。また哺乳類の性決定遺伝子である *Sry* (sex determining region on Y) 遺伝子を完全に消失しており、*Sry* なしにどのようにして性を決定しているのか、長年の謎であった。我々は、アマミトゲネズミのゲノム配列を解読し、*de novo* アセンブリ解析を行い、

オスのドラフトゲノム配列を構築した。さらに、雌雄のゲノム配列のリードをドラフトゲノム配列にマッピングして SNVs (single nucleotide variations) および CNVs (copy number variants) を検出することにより、性差を持つゲノム領域をスクリーニングした。その結果、*Sry* 遺伝子の標的遺伝子である *Sox9* の約 430 kb 上流に、オス特有的な重複配列を同定し、この重複配列中に存在するシス因子が *Sry* 遺伝子なしに *Sox9* 遺伝子の転写を制御していることを明らかにした。本成果は、世界で初めてとなる、*Sry* 遺伝子に依存しない哺乳類の性決定メカニズムの発見となった。さらに、アマミトゲネズミで同定された重複配列をゲノム編集によりノックインしたマウスを東棟のげっ歯類飼育室に導入し、表現型解析を行っている。

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、東棟でニホンウズラ (*Coturnix japonica*) を飼育している。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 mRNA-seq 解析を行っている。発生ステージ間および雌雄間で mRNA-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 染色体上のタンパク質コード遺伝子と non-coding RNA を同定している。本年度は、これら遺伝子および non-coding RNA について発現解析を行うとともに、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た。

さらに今年度より、独立行政法人環境再生保全機構の委託を受け、研究プロジェクト「化学物質の鳥類卵内投与による性分化異常評価手法の開発とテストガイドライン化に向けた提案」に参画し、化学物質がニホンウズラ生殖細胞の性分化に与える影響を解析している。ゲノム棟飼育雌雄個体を交配させ、それより得られた受精卵にジエチルスチルベストロール (DES) またはエチルエストラジール (EE) を投与し、発生初期における始原生殖細胞 (PGC) の特性に与える影響を評価した。DES の投与により、孵卵 2 日における血液循環 PGC 数がオスのみにおいて激減することがわかり、その後の生殖腺定着 PGC 数も減少していた。一方の EE 投与群においては、メスの PGC において生殖細胞に発現するタンパク質の発現が部分的に消失する結果となった。

論文発表・学会発表等の業績リスト

1. Ichikawa, Y., Matsuzaki, M., Mizushima, S., Sasanami, T. (2022) Possible involvement of annexin A6 in preferential sperm penetration in the germinal disk region. *Reproduction and Fertility*, 3:

- 152-161.
2. Terao, M⁺, Ogawa, Y⁺, Takada, S., Kajitani, R., Okuno, M., Mochimaru, Y., Matsuoka, K., Itoh, T., Toyoda, A., Kono, T., Jogahara, T., Mizushima, S., Kuroiwa, A. (⁺equally contribution) (2022) Turnover of mammal sex chromosomes in the Sry-deficient Amami spiny rat is due to male-specific upregulation of Sox9. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2022 119:e2211574119.
 3. Kuroiwa, A. Spectrum of Sex Chromosomes in Mammals. “Spectrum of Sex” (eds: Tanaka M, Tachibana M), Springer (Singapore). 2022.
 4. Ichikawa, Y., Mizushima, S., Hirohashi, N., Sasanami, T. (2023) Egg development after in vitro insemination in Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Journal of Poultry Science*, 60:jpsa.2023001.
 5. 宮田満, 黒岩麻里:「宮田満のバイオ・イメージング～緊急対談: バイオのあの話題はこれからどうなる?!」バイオインダストリー協会, 2022年6月29日, オンライン.
 6. Mizushima, S., Sasanami, T., Ono, T., Kuroiwa, A.: Two isoforms of DDX4 and their differential expression during early embryo development of Japanese quail. 26th World Poultry Congress, June 2021-11th August, 2022, E-poster online release.
 7. 黒岩麻里:「消えゆく Y 染色体の運命」, 日本動物学会第 67 回早稲田大会 公開講演会「環境と教育の未来～動物学からのメッセージ」, 2022 年 9 月 10 日, 早稲田大学国際会議場 井深大記念ホール, 東京都新宿区.
 8. 光川祥一郎, 水島秀成, 黒岩麻里:「アマミトゲネズミにおける精巢特異的エンハンサーを介した SOX9 遺伝子制御の研究」, 日本動物学会第 67 回早稲田大会, 口頭発表, 2022 年 9 月 10 日, 早稲田大学, 東京都新宿区.
 9. 木村優希, Matiz Luisa, 水島秀成, 黒岩麻里:「古顎類エミューにおける性決定および性分化関連遺伝子の発現解析」, 日本遺伝学会第 94 回札幌大会, 口頭発表, 2022 年 9 月 15 日, 北海道大学工学部, 札幌
 10. 光川祥一郎, 水島秀成, 黒岩麻里:「アマミトゲネズミ精巢特異的エンハンサーを介して SOX9 を制御する転写因子の同定」, 日本遺伝学会第 94 回札幌大会, 口頭発表, 2022 年 9 月 15 日, 北海道大学工学部, 札幌.
 11. 水島秀成, 黒岩麻里:「ニホンウズラの雌雄生殖腺分化における SOX9 の役割」, ニホン家禽学会 2022 年度秋季大会, 2022 年 9 月 17 日, オンライン.
 12. Luisa MATIZ, Shusei MIZUSHIMA, Takehiko ITOH, Asato KUROIWA: “Loss of Y chromosome changes the configuration of X inactivation center in genus *Tokudaia*”, Poster presentation, the 73rd Annual Meeting of the Society of Chromosome Research in 2022, 14th October, online.
 13. Puntakarn URUNANONT, Shusei MIZUSHIMA, Takehiko ITOH, Asato KUROIWA: “SRY structure and function of the Okinawa spiny rat, *Tokudaia muenninki*, revealed by *in silico* and *in vitro* analysis”, Poster presentation, the 73rd Annual Meeting of the Society of Chromosome Research in 2022, 14th October, online.
 14. 光川祥一郎, 水島秀成, 黒岩麻里:「Sry 遺伝子をもたない哺乳類種における精巢特異的エンハンサーを介した Sox9 遺伝子制御の研究」, 第 45 回日本分子生物学会年会, ポスター発表, 2022 年 11 月 30 日, 幕張メッセ 国際展示場, 千葉.
 15. 木村優希, Matiz Luisa, 奥野未来, 伊藤武彦, 水島秀成, 黒岩麻里:「古顎類エミューにおける性決定および性分化関連遺伝子の発現解析」, 第 45 回日本分子生物学会年会, ポスター発表, 2022 年 11 月 30 日, 幕張メッセ 国際展示場, 千葉.
 16. Matiz Luisa, Yuta Mochimaru, Kentaro Matsuoka, Takehiko Itoh, Shusei Mizushima, Asato Kuroiwa: “Loss of the Y chromosome and the configuration of the X inactivation center in the genus *Tokudaia*”, Poster presentation in the 45th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan. 30th November, Makuhari Messe, International Exhibition Hall, Chiba.
 17. 黒岩麻里:「Sry 遺伝子に依存しない哺乳類の性決定メカニズムの解明」, 第 45 回日本分子生物学会年会, ワークショップ「有性生殖における染色体・クロマチン・核動態」, 2022 年 12 月 2 日, 幕張メッセ 国際展示場, 千葉.
 18. 水島秀成, 黒岩麻里:「内分泌攪乱物質の卵黄内投与が初期胚のウズラ始原生殖細胞に与える影響」, 第 46 回鳥類内分泌研究会, 2022 年 12 月 10 日, オンライン
 19. 黒岩麻里:「Y 染色体の運命」, 映像情報メディア学会 メディア工学研究会(ME) 特別セッション 1 (北海道発 産官学・地域連携, ダイバーシティ特別セッション①), 2023 年 2 月 22 日, 北海道大学情報科学研究院, 札幌.

生物科学部門 生殖発生生物学分野

小谷 友也

ほぼ全ての多細胞生物は、卵と精子を受精させることで次世代を生み出す。卵母細胞は受精後の発生を進行させるため、多くの物質をその形成過程で蓄える。近年の研究で卵母細胞が持つ転写産物が網羅的に解析され、一万種類を超える mRNA を卵形成過程で蓄積することが示された。さらに、二千から三千の mRNA は転写後に翻訳を

抑制され、受精後の発生過程で時期特異的に翻訳されることが明らかとなってきた。しかし、受精後に翻訳される mRNA はどのように卵母細胞に蓄えられるのか、どのように翻訳を開始するのかはほとんど分かっていない。

Pou5f3 タンパク質は受精後の卵割期に活発に翻訳され、その後の背腹領域の形成・中胚葉細胞の分化・接合体性遺伝子の発現に重要な転写因子として研究されてきた。しかし、*pou5f3* 遺伝子がいつ転写され、どの時期にタンパク質となるかは定かではない。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、新規に作製した抗 Pou5f3 抗体を用い、ゼブラフィッシュの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 3 時間（胞胚期）から発現量が大幅に上昇することが示された。さらに、蛍光 *in situ hybridization* の結果から、*pou5f3* mRNA が卵細胞質で顆粒状構造を形成して分布すること、この構造と数が卵形成初期から受精後 6 時間（原腸胚期）まで維持されることが明らかになった。これらの結果から、*pou5f3* mRNA は卵形成過程で不活性な顆粒構造を形成し、受精後に活性型の顆粒へと変化すると推測された。

上記の仮説を検証するため、Puromycylation 法を用いゼブラフィッシュ胚における翻訳部位の検出を試みた。この手法が脊椎動物胚に用いられるのは初めてとなるが、我々は膜透過処理を施したゼブラフィッシュ胚に Puromycin を取り込ませ、リボソームによって活発に翻訳が起こる部位の検出に成功した。興味深いことに、この翻訳部位と *pou5f3* mRNA の顆粒は受精卵ではほとんど重ならなかったが、受精後 3 時間の胚では共局在するように変化した。さらに、Pou5f3 タンパク質が翻訳される部位を Puro-PLA 法を用いて検出した。その結果、Pou5f3 の翻訳部位は受精卵ではほとんど検出されず、受精後 3 時間の胚で数多くのシグナルが検出された。これは、*pou5f3* mRNA は翻訳を抑制されて卵母細胞に蓄えられ、受精後に翻訳が活性化することを支持する。受精後 3 時間の胚において、これら Pou5f3 の翻訳部位は *pou5f3* mRNA の顆粒と共局在することが示された。すなわち、受精後の *pou5f3* mRNA の顆粒構造は、翻訳の場となっていることが示された。それでは、翻訳抑制型の RNA 顆粒はどのようにして翻訳活性化型の RNA 顆粒となるのであろうか。この疑問に答えるため、我々は RNA 顆粒の状態を Hexanediol を用いて解析した。この試薬は、液相分離によって形成された液滴を分散させる効果を持ち、反対に、固相状態の顆粒には影響を与えないことが分

かっている。ゼブラフィッシュ胚をこの試薬で処理したところ、受精卵の *pou5f3* RNA 顆粒は影響を受けなかったが、受精後 3 時間の胚の RNA 顆粒はほとんどが消失した。さらに、この処理によって受精後 3 時間の胚の Pou5f3 翻訳部位が消失した。以上の結果から、卵母細胞と受精卵における *pou5f3* mRNA の顆粒状構造は固相様の状態で翻訳を抑制し、卵割期に液相様の顆粒となり翻訳を活性化するという新規の mRNA 制御機構の存在が示された。

発表論文

Sato K, Sakai M, Ishii A, Maehata K, Takada Y, Yasuda K, Kotani T. (2022) Identification of embryonic RNA granules that act as sites of mRNA translation after changing their physical properties. *iScience*, 25, 104344.

学会発表

フィエロ ルディビン, 高田裕貴, 小谷友也 : Translational control of *pou5f3* mRNA after fertilization by shortening the 3'-end sequences in zebrafish. 日本動物学会北海道支部第 66 回大会, 2022 年 3 月 19 日, (web 開催)

高田裕貴, 山本雄広, 小谷友也 : マウス初期発生における新規の母性 mRNA 転写後制御機構. 日本発生生物学会第 55 回金沢大会, 2022 年 6 月 2 日, 金沢文化ホール (金沢市)

佐藤圭祐, 前畑香織, 安田恭大, 小谷友也 : ゼブラフィッシュ初期発生における *pou5f3* mRNA 翻訳の時空間制御機構. 日本発生生物学会第 55 回金沢大会, 2022 年 6 月 2 日, 金沢文化ホール (金沢市)

Ludivine FIERRO, Yuki TAKADA, Tomoya KOTANI : Translational control of *pou5f3* mRNA through shortening the 3'-end sequences during early development in zebrafish. 日本発生生物学会第 55 回金沢大会, 2022 年 6 月 2 日, 金沢文化ホール (金沢市)

佐藤圭祐, 前畑香織, 安田恭大, 小谷友也 : ゼブラフィッシュ初期発生における RNA 顆粒構造の維持と相転移による翻訳制御機構. 日本動物学会第 93 回早稲田大会, 2022 年 9 月 8 日, 早稲田大学・早稲田キャンパス (新宿区)

眞田崇弘, 高田裕貴, 小谷友也 : マウス胚発生において hnRNP D と Patl2 は母性 mRNA の翻訳を制御する. 日本動物学会第 93 回早稲田大会, 2022 年 9 月 8 日, 早稲田大学・早稲田キャンパス (新宿区)

Ludivine FIERRO, Yuki TAKADA, Keisuke SATO, Takahiro SANADA, Anna ISHII, Tomoya KOTANI : Shortening mRNAs, in particular *pou5f3*, regulate their translation during the maternal to zygotic transition. IGP, The 8th International Life-Science Symposium for young scientists,

2022年11月4日, 北海道大学 (札幌市)

Ludivine FIERRO, Yuki TAKADA, Keisuke SATO, Tomoya KOTANI : Zebrafish *pou5f3* mRNA shortening as a translational regulation process, but not clearance, in the early development. 第3回フランス合同ミーティング, 2022年11月7日, フランス・ストラスプール (ストラスプール)

眞田崇弘, 高田裕貴, 小谷友也 : マウス初期発生における hnRNP D と Patl2 による母性 mRNA の翻訳制御. 第45回日本分子生物学会年会, 2022年12月2日, 幕張メッセ (千葉市)

生物科学部門 生殖発生生物学分野 荻原 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)一脳下垂体一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 メダカを作出、解析を行うことを目的としている。

MT2-MMP 欠損メダカは、最終的に1系統作出で

きた。この系統はフレームシフトにより途中で終始コドンが入る変異をもっている。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判明しているが、排卵数の減少が確認され、また、胚発生時に目の形成や血管網の形成に異常を来す表現型が確認された。さらに、これらの形成に関与する遺伝子の発現量の有意な減少も明らかとなった。今後は、MT2-MMP とこれらの遺伝子の関係性について詳細に解析していく予定である。一方、nPR 欠損メダカについても最終的に1系統作出できた。今後詳細な解析を進めていく予定である。

(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。この濾胞組織は排卵後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。これまでの解析から、排卵の16~20時間後に濾胞組織は分解、除去されると考えていたが、今回より詳細な解析を実施したところ、排卵後24時間前後で分解、除去されることが明らかとなった。また、その分解に先立って顕著なアポトーシスも観察された。今後は、濾胞組織分解の分子機構に迫る研究を実施する予定である。

(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すると estradiol-17 β (E2)とアクチビンの量が有意に増加することが判明している。今回の解析から増加したアクチビンの効果により濾胞内でE2の合成に関与するアロマターゼの発現が有意に上昇することでE2産生が促進されることが明らかとなった。今後は、E2産生の促進と濾胞選択

の関係性について詳細に解析を行っていく予定である。

論文

1. Ogiwara K., Fujimori, C., Takahashi T. The PGE2/Ptger4b pathway regulates ovulation by inducing intracellular actin cytoskeleton rearrangement via the Rho/Rock pathway in the granulosa cells of periovulatory follicles in the teleost medaka. (2022) Mol. Cell. Endocrinol. 111816. doi: 10.1016/j.mce.2022.111816.
2. Takahashi T., Ogiwara K. (2022) cAMP signaling in ovarian physiology in teleosts: A review. Cell. Signal. 110499. doi: 10.1016/j.cellsig.2022.110499.
3. Takahashi T., Ogiwara K. (2022) Signal pathway of LH-induced expression of nuclear progesterin receptor in vertebrate ovulation. Gen. Comp. Endocrinol. 12;321-322:114025.
4. Ogiwara K., Hoyagi M., Takahashi T. (2021) A central role for MP/EPAC/RAP/PI3K/AKT/CREB signaling in LH-induced follicular Pgr expression at medaka ovulation. Biol. Reprod. 105(2):413-426. DOI: 10.1093/biolre/iaob077.
5. Takahashi T., Ogiwara K. (2021) Roles of melatonin in the teleost ovary: A review of the current status. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol, 19: 254:110907. DOI: 10.1016/j.cbpa.2021.110907.

学会発表

上野愛莉、渡邊弥也、荻原克益

「マウス濾胞選択におけるアクチビン、 17β -estradiol の関与」
日本動物学会北海道支部第 66 回大会、2022 年 3 月 19 日、オンライン

上野愛莉、渡邊弥也、荻原克益

「Activin A と 17β -Estradiol によるマウス濾胞選択の制御」
日本動物学会第 93 回大会（東京）、2022 年 9 月 8-10 日

近藤祥子、荻原克益

「メダカ卵巣内排卵後濾胞組織の分解時期の特定と分解機構」
日本動物学会第 93 回大会（東京）、2022 年 9 月 8-10 日

荻原克益、近藤祥子、高橋孝行

「TGF β 3 によるメダカ排卵実行酵素 MMP15 発現タイミングの制御機構」

日本動物学会第 93 回大会（東京）、2022 年 9 月 8-10 日

塚本真生、荻原克益

「両者の間にコミュニケーションは存在するか、それとも独立して進行するか？」
日本動物学会第 93 回大会（東京）、2022 年 9 月 8-10 日

生物科学部門 多様性生物学分野

増田 隆一

利用報告書・研究成果

(1) フィンランドにおけるクズリの主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) 遺伝子の多様性研究
フィンランドとの共同研究として、ボトルネックを経験したクズリ (食肉目イタチ科) 集団における主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) クラス II *DRB* 遺伝子の多様性を分析した。その結果、遺伝的多様性の低下と 2 つの分集団 (北集団と東集団) への分化が見られた。これは、既報のマイクロサテライト分析のデータと矛盾しない。また、他のイタチ科を含めた *DRB* 遺伝子の分子系統解析により、種を超えた多型 (trans-species polymorphism) が示され、平衡進化のもとに進化していることが示唆された。さらに、正の選択も見られた。以上の結果により、フィンランドのクズリ集団は過去に起こったボトルネックの影響を大きく受けているものと考えられた (発表論文 1)。

(2) フィンランドにおけるヨーロッパハリネズミの都市集団の集団構造に関する研究

フィンランドとの共同研究として、ヘルシンキ都市域に出没するハリネズミ集団について、ミトコンドリア DNA 分析ならびにマイクロサテライト DNA 分析による集団遺伝学的研究を行った。まず、ミトコンドリア DNA 分析により、ヘルシンキ集団は、エストニア集団と近縁であることが示された。これは、南部からヘルシンキへの自然分布の北上を示すのか、または、人為的な導入によるものと考えられた。一方、マイクロサテライト分析により、ヘルシンキ集団における遺伝的多様性の低下が認められた。さらに、集団内で地理的な遺伝分化は見られなかった。これは、都市部へ侵入した集団の創始者効果によるものと考えられる。ヘルシンキ周辺のハリネズミが、自然分布によるものか人為的な導入によるものかを明らかにするためには、今後、さらに広域の集団について分析が必要である (発表論文 2)。

利用報告書・業績リスト

【発表論文・著書】

1. Sugiyama, Y., Nishita, Y., Lansink, G.M.J., Holmala, K., Aspi, J., and Masuda, R. (2022) Diversity of the MHC class II *DRB* gene in the wolverine (Carnivora: Mustelidae: *Gulo gulo*) in Finland. PLOS ONE 17(5): e0267609. (DOI: 10.1371/journal.pone.0267609)
2. Osaka, M., Pynnönen-Oudman, K., Lavikainen, A., Amaike, Y., Nishita, Y., and Masuda, R. (2022) Genetic diversity and phylogeography of urban hedgehogs (*Erinaceus europaeus*) around Helsinki, Finland, revealed by mitochondrial DNA and microsatellite analyses. Mammal Research 67: 99-107.
3. 増田隆一 (2022) はじめての動物地理学 — なぜ北海道にヒグマで、本州はツキノワグマなの？, 岩波書店.
4. 増田隆一・金子弥生 編著 (2022) 知られざる食肉目動物の多様な世界 — 東欧と日本 —, 中西出版.

【講演・学会発表】

1. 増田隆一：“うんち学への招待”。「北海道 to the future プロジェクト presents 北海道大学・HBC（北海道放送）子どもSDGs大学」, 2022年8月9-10日, 北海道大学学術交流会館（札幌市）.
2. 増田隆一 企画者・講演：“ブルガリアの哺乳類, 自然, 文化”。「自由集会 ワークショップ『知られざる食肉目動物の世界 ~ 東欧と日本』」. 日本哺乳類学会2022年度大会（オンライン）, 2022年8月29日, 三重大学主催.
3. 増田隆一：“うんち学入門 生き物にとって「排泄物」とは何か”。「第20回消化管先進画像診断研究会（GAIA）特別講演（オンライン）」, 2022年9月17日, 消化管先進画像診断研究会主催.
4. 増田隆一：“ヒグマ学とうんち学 ~ 動物の進化と多様性を探る ~”。「第46回湧別町民大学（湧別町民大学実行委員会主催）」, 2022年11月24日, 湧別町文化センター（北海道湧別町）.
5. 増田隆一：“うんち学入門 生き物にとって「排泄物」とは何か”。「公益財団法人日本下水道新技術機構・設立30周年記念講演会」, 2023年3月13日, 文京シビックホール（東京）.
6. 箕田眞琴, 天池庸介, 浦口宏二, 増田隆一：札幌都市ギツネの集団遺伝構造とその変遷.

日本動物学会北海道支部第67回大会, 2023年3月18日, 旭川公民館（旭川市）.

7. 富田龍太郎, 遠藤優, 天池庸介, 永野惇, 浦口宏二, Alexei V. Abramov, 増田隆一：RAD-seq 解析による日本列島のアカギツネ (*Vulpes vulpes*) 集団の移動史に関する研究. 日本動物学会北海道支部第67回大会, 2023年3月18日, 旭川公民館（旭川市）.

生物科学部門 多様性生物学分野

柘原 宏（海水利用）

論文

- Abato, J., Yoshida, R., and Kajihara, H. (2022) Histology-free description and phylogenetics of *Tetrastemma parallelus* sp. nov. (Nemertea: Eumonostilifera) from Japan. Journal of Natural History 56: 1265–1277.
- Hookabe, N., Kajihara, H., Chernyshev, A.V., Jimi, N., Hasegawa, N., Kohtsuka, H., Okanishi, M., Tani, K., Fujiwara, Y., Tsuchida, S., and Ueshima, R. (2022) Molecular phylogeny of the genus *Nipponnemertes* (Nemertea: Monostilifera: Cratenemertidae) and descriptions of 10 new species, with notes on small body size in a newly discovered clade. Frontiers in Marine Science 9: 906383.
- Hookabe, N., Motobayashi, H., Jimi, N., Kajihara, H., and Ueshima, R. (2022) First record of the decapod-egg predator *Ovicides paralithodis* (Nemertea, Carcinonemertidae) from the snow crab *Chionoecetes opilio* (Decapoda, Brachyura). Parasitology International 89: 102567.
- Kajihara, H., Abukawa, S., and Chernyshev, A.V. (2022) Exploring the basal topology of the heteronemertean tree of life: establishment of a new family, along with turbotaxonomy of Valenciniidae (Nemertea: Pilidiophora: Heteronemertea). Zoological Journal of the Linnean Society 196: 503–548.
- Oya, Y., Tsuyuki, A., and Kajihara, H. (2022) Descriptions of two new species of *Armatoplana* (Polycladida: Stylochoplanidae) from the coasts of Japan, with their phylogenetic positions in Leptoplanoidea. Zootaxa 5178: 433–452.
- Oya, Y., Nakajima, H., and Kajihara, H. (2022) A new symbiotic relationship between a polyclad flatworm and a mantis shrimp: description of a new species of *Emprostopharynx* (Polycladida: Acotylea) associated with *Lysiosquilla maculata* (Crustacea: Stomatopoda). Marine Biodiversity 52: 46.
- Shiraki, S. and Kakui, K. (2022) Observations on predation in *Paranthura japonica* Richardson, 1909 (Isopoda: Cymothoidea: Paranthuridae). Zoological Science 39: 270–274.

- Tsuyuki, A., Oya, Y., and Kajihara, H. (2022) Two new species of the marine flatworm *Pericelis* (Platyhelminthes: Polycladida) from southwestern Japan, with an amendment of the generic diagnosis based on phylogenetic inference. *Marine Biology Research* 17: 946–959.
- Tsuyuki, A., Kohtsuka, H., Hookabe, N., and Kajihara, H. (2022) First record of *Bulaceros porcellanus* Newman & Cannon, 1996 (Platyhelminthes, Polycladida, Cotylea) from Japanese waters, with a revision of the generic diagnosis based on morphology and molecular phylogeny. *Plankton and Benthos Research* 17: 147–155.
- Tsuyuki, A., Oya, Y., and Kajihara, H. (2022) Reversible shifts between interstitial and epibenthic habitats in evolutionary history: Molecular phylogeny of the marine flatworm family Boniniidae (Platyhelminthes: Polycladida: Cotylea) with descriptions of two new species. *PLOS ONE* 17: e0276847.

生物科学部門 多様性生物学分野
伊藤 秀臣 (機器利用)

発表論文

- Niu Y, Chen L, Kato A, Ito H. Regulatory mechanism of a heat-activated retrotransposon by DDR complex in *Arabidopsis thaliana*. *Front. Plant Sci.* DOI10.3389/fpls.2022.1048957 (2022).
- Ito H. Environmental stress and transposons in plants. *Genes Genet. Syst.* 97:169-175 (2022).
- Nozawa K, Masuda S, Saze H, Ikeda Y, Suzuki T, Takagi H, Tanaka K, Ohama N, Niu X, Kato A, Ito H. Epigenetic regulation of ecotype-specific expression of the heat-activated transposon *ONSEN*. *Front. Plant Sci.* DOI 10.3389/fpls.2022.899105 (2022)
- Meng Y, Ma X, Li J, Ito H, Oracz K, Cai J, Shao C. The novel activity of Argonautes in intron splicing: A transcriptome-wide survey in plants. *Journal of Plant Physiology* 270:153632 (2022)

学会発表

DDR 複合体による熱活性型レトロトランスポゾンの制御機構

牛小蛭, 陳露, 加藤敦之, 伊藤秀臣

日本遺伝学会 2022年9月14日 日本遺伝学会

生物科学部門 多様性生物学分野
加藤 徹

利用状況・研究成果

カプトシヨウジョウバエ亜科の系統関係: カプトシヨウジョウバエ亜科内部の系統関係を分子系統

学的解析によって明らかにすることを目的とし、8 遺伝子の塩基配列を決定した。これに既知の配列情報を加え、最尤法とベイズ法により分子系統樹をそれぞれ構築した。その結果、得られた系統樹において、*Stegana* 属がもっとも外側で分岐し、その内側に *Amiota* 属と *Phortica* 属からなるクレードと、*Leucophenga* 属からなるクレードが位置した。また、*Stegana* 属と *Phortica* 属における属内の系統関係については、先行研究と同様の結果が得られたが、*Amiota* 属と *Leucophenga* 属における属内の系統関係については、本研究で独自の樹形が示された。

北海道と本州で発見された *Lordiphosa* 属シヨウジョウバエの形態と遺伝分化: これまでの野外調査から、層雲峡 (北海道) および扇沢 (長野県) という地理的に離れた 2 地点で、ヨーロッパ原産の *Lordiphosa nigricolor* とよく似たシヨウジョウバエが発見されている。これら両地点で採集されたシヨウジョウバエの形態的特徴を調査した結果、両地点の間では形態的差異が認められなかった一方、*L. nigricolor* と両地点の間では、雄の生殖器の形態に違いが認められた。また、ミトコンドリア *COI* 配列の多型を調べたところ、両地点の間で顕著な遺伝分化が認められなかった一方、*L. nigricolor* と両者の間には、ある程度の遺伝分化が認められた。従って、これらの結果から、上記 2 地点で発見されたシヨウジョウバエは、*L. nigricolor* とは別の同一未記載種と判断される。

博物館標本を用いたウスバキチョウの系統地理: ウスバキチョウは、ロシア東部からアラスカにかけての寒冷な地域に分布し、いくつかの亜種に分類される。これらウスバキチョウの亜種を対象に、*COI* 遺伝子を用いて遺伝分化を調査した。東大博物館には、尾本恵一氏が寄贈した乾燥標本が保存されており、それを材料とした。そして、2 亜種 3 個体について *COI* 配列を決定することができ、これに既知 (3 亜種) の配列情報を加えて比較したところ、亜種間の違いはほとんど認められなかった。このことは、ウスバキチョウの亜種は分岐してから時間が経っておらず、*COI* 配列に変異が蓄積していないことを示唆する。

マザトウムシの 2 型形成要因の探索とその維持のための戦術の解明: 北海道産のマザトウムシにはオスに二型が存在することに注目し、生態調査と行動観察を基盤とする研究を行っている。今年度は、北海道内の函館、渡島、桧山以外の地域のマザトウムシの採集を行ない、その結果、室蘭と野付以外の 16 地点で個体が採集できた。また、羊ヶ丘で定期採集した試料について、各個体の体長と触角長、触肢腿節長を計測した結果、メスはすべ

ての形質で正規分布を示すが、オスは2山型の分布を示した。そして、大きな個体は成体が出始める6月から現れるが、成体が出る終盤となる11月12月には全く現れなかった。さらに、室内実験により、オス間闘争の行動観察を行った結果、同じケースで複数等飼育している場合にはオス間闘争が見られなかったものの、1週間個別の容器に入れてから同じ容器に移すと闘争が観察できた。そして、負けた個体は2度目の戦いにおいてより短い時間で逃走したことから、loser effectが生じている可能性が示唆された。

論文発表

Toda, M.J., Takano, K.T., Katoh, T., Xiao, L., Gao, J.J., and Yafuso, M. (2022) Coexistence mechanisms of *Colocasiomyia* species (Diptera: Drosophilidae) sharing inflorescences of *Alocasia odora* (Araceae) as a host plant: Comparison between two- and three-species systems. *Entomological Science* 25: e12506.

学会発表

Fuga Matsui, Nobuo Tsurusaki, Toru Katoh: Mate guarding behavior conditionally changed in *Phalangium opilio*, a phalangiid species with male dimorphism. 33rd European Congress of Arachnology, Greifswald Germany, 4-9 September 2022.

Fuga Matsui, Toru Katoh: Seasonal male dimorphism dynamics of *Phalangium opilio* (Opiliones: Phalangiiidae). 22nd International Congress of Arachnology, CE033, Montevideo Uruguay, 5-11 March 2023.

生物科学部門 形態機能学分野

佐藤 長緒

1. 窒素は植物の成長に欠かせない重要な栄養素である。植物は自身が生育する環境から得られる窒素栄養量に応じて、細胞内の代謝や物質輸送を柔軟に変化させることでホメオスタシスを維持し、自身の成長を最適化している。こうした窒素欠乏応答においては、グローバルな遺伝子発現制御が重要な役割を果たすことが分かっており、それに関わる転写因子も報告されている。その一方で、こうした窒素欠乏時の遺伝子発現制御に関わるクロマチンリモデリング機構についてはほとんど分かっていない。本研究では、窒素欠乏応答に関わるクロマチンリモデリング因子としてヒストンシャペロンNAP1を同定した。NAP1の機能欠損株(NAP1;1/1;2/1;3三重変異株)では、窒素欠乏時に遺伝子発現が上昇する硝酸輸送体NRT2.1やアミノ酸リサイクルに重要な細胞質

型グルタミン合成酵素Gln1;4の発現レベルが野生型よりも低下していた。また、NAP1の機能欠損株では、窒素欠乏時の側根形成も抑制されていた。加えて、NAP1の機能欠損株では、窒素欠乏時の葉の老化も抑制されていた。これらの結果から、ヒストンシャペロンNAP1は、窒素欠乏時の遺伝子発現制御に関与し、植物の成長制御に重要な役割を果たすことが示唆された。

2. ユビキチン化は、ユビキチンという76アミノ酸残基から成る小さなタンパク質の付加による、可逆的な翻訳後修飾の一種である。ユビキチン化の中でも、K48鎖やK11鎖による修飾はプロテアソーム分解の標識となるのに対して、K63鎖は、DNA修復やエンドサイトーシスなど、多様なシグナルとして働く。ユビキチンシグナルは、標的にユビキチンを付加するユビキチンリガーゼとそれを除去する脱ユビキチン化酵素の活性のバランスにより制御されている。しかし、植物において脱ユビキチン化酵素の機能はあまりよく分かっていない。本研究では、シロイヌナズナの脱ユビキチン化酵素UBP12/13の機能解析を行い、UBP12/13が植物のC/N栄養バランス応答に関与することを見出した。さらに、UBP12/13は、C/N応答制御因子である膜局在型ユビキチンリガーゼATL31と相互作用すること、ATL31が形成するK63鎖型ユビキチン鎖を分解する活性があることが分かった。遺伝学的解析から、UBP12/13はATL31の機能制御を介して、植物C/N応答を制御することが示唆された。

<原著論文>

Jie L, Sanagi M, Luo Y, Maeda H, Fukao Y, Chiba Y, Yanagisawa S, Yamaguchi J, Takagi J, *Sato T (2023) Histone chaperone NUCLEOSOME ASSEMBLY PROTEIN 1 proteins affect plant growth under nitrogen deficient conditions in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Biotechnology* in press.

Luo Y, Yasuda S, Takagi J, Hasegawa Y, Chiba Y, Yamaguchi J, *Sato T (2022) Deubiquitinating enzymes UB12 and UB13 regulate carbon/nitrogen-nutrient stress responses by interacting with the membrane-localized ubiquitin ligase ATL31 in *Arabidopsis*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 636: 55-61.

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*, 23: e53354

Hasegawa Y, Huarancca 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*, 34:1354-1374.

*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*, 63: 592-604.

*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 Biotechnology*, 39 : 111-117.

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 Biotechnology*, 39 : 173-177.

<総説>

眞木美帆, *佐藤長緒 (2022) 窒素栄養に応答した植物の花成制御, *生化学*, 94(6): 892-895.

生物科学部門 形態機能学分野
綿引 雅昭

Kalanchoe 属は比較的乾燥した土壌で生育する多肉植物であり, アフリカおよびマダガスカル島が起源と考えられている。Kalanchoe 属には有性生殖のみをおこなうものもあるが, 基本的には無性芽によりクローン繁殖することで生態学的ニッチを得ている。観葉植物としても人気があり育種の対象ともなっている。本研究では北大植物園から9種のカランコエ属植物および不死鳥を分与いただき, さらに園芸品種としてのコダカラベンケイソウとキンチョウを入手した。それらはガラス

温室にて順調に生育し, 特に冬季はセンターによる人工照明による補光とより適した温度管理のためのビニール温室を設置いただいたことで当初心配された低温障害は回避できた。また, ガラス温室の植物は適宜自研究室の人工気象機に移動し実験に供与している。

Kalanchoe 属は比較的乾燥した土壌で生育する多肉植物であり, アフリカおよびマダガスカル島が起源と考えられている。Kalanchoe 属には有性生殖のみをおこなうものもあるが, 基本的には無性芽によりクローン繁殖することで生態学的ニッチを得ている。観葉植物としても人気があり育種の対象ともなっている。本研究では北大植物園から9種のカランコエ属植物および不死鳥を分与いただき, さらに園芸品種としてのコダカラベンケイソウとキンチョウを入手した。それらはガラス温室にて順調に生育し, 特に冬季はセンターによる人工照明による補光とより適した温度管理のためのビニール温室を設置いただいたことで当初心配された低温障害は回避できた。また, ガラス温室の植物は適宜自研究室の人工気象機に移動し実験に供与している。

学会発表

Guo Yuhan and Masaaki K. Watahiki (2023) In planta transformation of Kalanchoe species and live imaging of gene expression.第64回日本植物生理学会年会, 2023年3月15日, 東北大学川内キャンパス.

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

Rikumaru Saito, Youhei Iida, Takuya Kobayashi, Hiromi Taniguchi, Noriaki Matsunaga, Shuhei Fukuoka, and Atsushi Kawamoto (2022)

Magnetic state in the quasi-two-dimensional organic conductor lambda-(BEST)(2)FeCl4 and the path of pi-d interaction

PHYSICAL REVIEW B 105, 165115

学会発表

"Superconductor-insulator transition in a two-dimensional ruthenate",

H. Nobukane, K. Yanagihara, Y. Kunisada, Y. Ogasawara, K. Isono, K. Nomura, K. Tanahashi, T. Nomura, and S. Tanda,

Localisation 2022

August 25-30 2022, Sapporo, Japan

"High-Tc superconductivity in 2D ruthenates: Relation

to charge and spin density wave",
H. Nobukane, K. Yanagihara, Y. Kunisada, Y. Ogasawara, K. Isono, K. Nomura, K. Tanahashi, T. Nomura, and S. Tanda,
International Research School and Workshop on Electronic Crystals (ECRYS2022)
August 8-20 2022, Cargese, France

λ -(BEST) 2FeCl_4 における π -d 相互作用の研究
齋藤陸丸, 飯田瑤平, 小林拓矢, 谷口弘三, 松永悟明, 福岡脩平, 河本充司

日本物理学会 2023 年春季大会
2023 年 3 月 22 日~25 日 オンライン開催

擬一次元有機導体(DMET-TTF) 2AuBr_2 の STM 分光

中西陽太, 熊谷誌元, 延兼啓純, 市村晃一, 河本充司, 松永悟明

日本物理学会 2023 年春季大会
2023 年 3 月 22 日~25 日 オンライン開催

擬一次元有機導体(DMET-TTF) 2AuBr_2 における超伝導と磁場誘起スピン密度波

加藤大賀, 飯田瑤平, 澤田賢志, 延兼啓純, 松永悟明, 河本充司, 野村一成
日本物理学会 2023 年春季大会
2023 年 3 月 22 日~25 日 オンライン開催

大学院地球環境科学研究院 統合環境科学部門 自然環境保全分野 露崎 史朗

利用者: 戸倉清一・Parvin Begum・Piya Mandal
センター東棟温室において、(1) 樹木成長に与えるキトサンの影響に関する実験と、(2) 火山灰下に発達した埋土種子集団保存状況の定量化に関する研究における発芽条件設定を、以下の通り行った。

(1) 樹木成長に与えるキトサンの影響

カニ殻・エビ殻は、キチンを主成分とするが大量に廃棄されている。キトサンは、キチンの化学構造の一部を変化させることで作ることでできる無毒かつ環境中で容易に分解される物質である。したがって、キトサンが農業において土壌改良剤や成長促進剤として活用できれば、大きく環境負荷を低減することができる。これまでの実験室における実験から、キトサンが発根およびシュート成長を促進する可能性が示された。そこで、キトサンの植物成長への効果を有用植物において検証することを目的に、実験規模を拡大し温室において実験を行うこととした(継続中)。

用いた実験材料は、砂防工事において大量に使用されるヤナギ類(2 種 *Salix sachalinensis* と *S. triandra*)、果樹利用されるリンゴ 2 種(*Malus sylvestris* と *M. domestica*)、ブドウ 1 種(*Vitis vinifera*) である。ヤナギ枝は、北大構内に自生するものから採取した。ブドウ枝は北大農場に、リンゴ枝は札幌市内大谷地樹木園に植栽されている個体から採取した。これらの枝を、挿木用に加工後、土壌条件を変えたポットに移植し成育を測定している。キトサンについては、ポット内の土壌中に、高分子量(H)と低分子量(L)の 2 種類のキトサンオリゴマーを 100, 1000, 10000 倍に希釈した溶液を加え成育させている(継続中)。なお低分子量のキトサンは pH 操作により高分子量のキトサンが分離できた。挿木は、土壌栽培および水耕栽培により成育させた。コントロール(キトサン無添加)と比較して、キトサン処理の方がヤナギとリンゴにおいて根とシュートの成長が早くなった。ブドウは、開葉していないため未計測である。予備的報告ではあるが、H/L ともにキトサン処理が、ヤナギとリンゴの成長を助長していることが示唆された。今後、植物や成育条件を変え、より詳細なキトサンの効果を調べる予定である。

(2) 埋土種子集団測定方法の条件設定

有珠山では 1977-78 年に山頂部で大規模噴火を起こし、火口原では 1-3 m の軽石・火山灰を主体とする噴火降灰物が堆積した。これまで、本地域において、噴火から 10, 20, 30 年後に噴火降灰物下にある噴火前の土壌(旧表土)を採取し、温室における撒出実験と遠心浮上法による土壌からの種子抽出を行い、埋土種子の生存状況を調べている。その結果、エゾノギシギシなどの種子が 30 年以上の間にわたり、高い生存数で埋土していることが明らかになっている。そこで、噴火 45 年後にあたる本年に、これらの再測定を行うことを計画している。

ゲノムダイナミクスセンターは、昨年度までに大規模改修があり、温室の環境条件設定が、これまでと異なる可能性があり、実験開始前に確認と調整を行っておくことが望ましい。そこで、散水・温度・光等の条件の確認を兼ね、土壌からの撒出実験を温室で行っている(実験中)。実験には、地球環境科学研究院周辺の裸地、草地、森林から採取した土壌を用いた。予報的ではあるが、いくつかの興味ある発芽パターンが確認されている。例えば、カタバミは、裸地で発芽が顕著であるが草地・森林では全く認められない。草地では、風散布種子の発芽が著しい。森林では、植生では出現していない種の発芽が認められている。

この実験中に、温度・散水・光条件は実験に適した範囲内で調整できることが確認でき、速やか

に本実験に移行できる展望を得た。今後、融雪に有珠山旧表土を採取し、温室において15年前の方法に準ずる形で撒出実験を行う予定である。

業績リスト

論文

- 樋口正信・露崎史朗. 2023. トサノゼニゴケ(ゼニゴケ科)北海道に産す. 植物研究雑誌 98: 103-105
- Tsuyuzaki, S., Saito, T. & Arakawa, R.S. 2022. The occurrence patterns of gut bacteria in a post-mined peatland, northern Japan. *Mires and Peat* 28, Article 29. doi: 10.19189/MaP.2021.OMB.StA.2194
- Tsuyuzaki, S., Kwon, T., Takeuchi, F., Otaki, M. & Sawada, Y. 2022. Differences in C, N, $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ among plant functional types after a wildfire in a black spruce forest, interior Alaska. *Canadian Journal of Forest Research* 52: 1-8. doi: 10.1139/cjfr-2021-0134
- Végh, L. & Tsuyuzaki, S. 2022. Differences in canopy and understory diversities after the eruptions of Mount Usu, northern Japan - impacts of early forest management. *Forest Ecology and Management* 510, 120106. doi: 10.1016/j.foreco.2022.120106

学会発表

- 趙新雪・露崎史朗. 2022.9.16.
谷地坊主の定着促進効果は低茎草本群集の発達より低下する(京都, 口頭)

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

- Phan, C.-S., Mehjabin, J. J., Anas, A. R. J., Hayasaka, M., Onoki, R., Wang, J., Umezawa, T., Washio, K., Morikawa, M. and Okino, T. (2022) Nostosin G and spiroidesin B from the cyanobacterium *Dolichospermum* sp. NIES-1697. *Journal of Natural Products*, 85: 2000-2005.
- Ishikawa, T., Washio, K., Kaneko, K., Tang, X. R., Morikawa, M., and Okino, T. (2022) Characterization of vanadium-dependent bromoperoxidases involved in the production of brominated sesquiterpenes by the red alga *Laurencia okamurae*. *Applied Phycology*, 3: 120-131.

環境生物科学部門 生態遺伝学分野 越川 滋行 (機器利用)

発表論文

- Futahashi, R., Koshikawa, S., Okude, G., Osanai-Futahashi, M. (2022) Diversity of melanin synthesis genes in insects. *Advances in Insect Physiology* 62: 339-376.

Hayashi, Y., Oguchi, K., Nakamura, M., Koshikawa, S., Miura, T. (2022) Construction of a massive genetic resource by transcriptome sequencing and genetic characterization of *Megasyllis nipponica* (Annelida: Syllidae) *Genes & Genetic Systems* 97: 153-166.

古関将斗, 越川滋行 (2022) 昆虫の翅模様の進化発生生物学. 生体の科学 73: 364-367.

柄澤匠, 越川滋行 (2022) ショウジョウバエの翅の模様形成メカニズムとその進化. 科学(岩波) 92: 992-996

学会発表

柄澤匠, 齊藤奈美歩, 越川滋行: ミズタマショウジョウバエの翅の新しい模様形成に必要な cis 制御配列の特定.

日本動物学会第 93 回早稲田大会, 2022 年 9 月 10 日, 早稲田大学 (東京都新宿区)

丹伊田拓磨, 越川滋行: 地下浅層に生息するチビゴミムシのオプシン遺伝子と走光性.

日本昆虫学会第 82 回大会, 2022 年 9 月 4 日, 信州大学 (松本市)

柄澤匠, 齊藤奈美歩, 越川滋行: cis 制御領域における Smad の結合配列の獲得が新しい遺伝子発現のパターンを生み出した.

日本進化学会第 24 回大会, 2022 年 8 月 5 日, プラサヴェルデ (沼津市)

Koseki, M., Koshikawa, S. Development of Gal4/UAS system for elucidating the mechanism of the wing color pattern formation of *Drosophila guttifera*.

64th Annual Drosophila Research Conference, 2023 年 3 月 1 日, Sheraton Grand Chicago Riverwalk (Chicago) and Online

環境生物科学部門 陸域生物学分野 工藤 岳

研究従事者: 伊藤陽平

利用状況・研究成果

多年生植物の一部では、数年間隔で大量の花・種子生産を行い、その繁殖タイミングが個体間で同調する一斉開花現象が知られている。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。バイケイソウは、冷温帯の幅広い標高域に分布しており、低地個体群と高山個体群では一斉開花の周期が異なるとの報告がある。本種は根茎の成長痕から過去数年～十数年間の開花履歴を推定できるため、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した。

昨年度までの野外調査から、バイケイソウの一斉開花周期は、高山個体群において（約 4 年間隔）低地個体群（約 7 年間隔）よりも有意に短いことが示された。そして、その原因として繁殖までの資源蓄積に関わる生態形質の違い（展葉日数、光合成能力、個体サイズ、花果実生産など）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的形質なのかの区別はできていない。そこで、低地個体群、高山個体群から採取した根茎を共通圃場に移植して、一斉開花の周期性変異に関わる生態形質と遺伝的分化の関連性の検証を試みた。

2021 年度に低地 5 個体群、高山 1 個体群から各個体群 15～20 個体の根茎を採取して、北海道大学ゲノムダイナミクス研究センター圃場に移植した。そして、2022 年に生態形質を測定した。移植個体の展葉フェノロジーは高山個体群は低地個体群よりも約 15 日遅れて進行していたが、展葉日数は低地－高山個体群間で明瞭な違いは見られなかった。また、移植個体のサイズは高山個体群は低地個体群よりも有意に小さいことが示された。来年度は、年間の資源蓄積量の決定に大きく関わる光合成能力を測定し低地と高山個体群間で比較する予定である。

業績リスト

（査読つき論文）

・ Yohei Ito, Gaku Kudo. 2022. The selective advantage of a mast flowering in *Veratrum album* subsp. *oxysepalum*: implications of the predator satiation hypothesis. *American journal of botany*, Wiley, 109: 2082–2092

（研究成果発表）

・ 伊藤陽平: 気候変動と野生植物：バイケイソウの一斉開花現象, 研究成果で SDGs に貢献する発表会 in チカホ, 2022 年 12 月 17, 18 日, 札幌駅前通地下歩行空間

・ 伊藤陽平・工藤岳：バイケイソウ個体群間の開花同調性とその規定要因. 第 70 回日本生態学会大会, 2023 年 3 月 18 日, オンライン開催

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。比較ゲノム研究の結果から、全ての被子植物は共通祖先の倍数化に由来し、維管束植物の 35% が比較的最近の倍数化を経験していることが示唆されている。このような倍数化の普遍性は、この出来事が植物の種分化や多様化に大きく寄与してきた可能性を示している。また、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。本研究では、種内に異なる倍数性・繁殖特性をもつキク科林床植物のミミコウモリ (*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。

一昨年に北海道大学・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、昨年同様、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。さらに、2 倍体苦小牧研究林と 4 倍体天塩研究林から移植した個体間で交雑実験を行い、異なる倍数性間の和合性を検証した。最後に、移植された個体から葉片をサンプリングし、野外の 28 個体群の葉片サンプルと合わせて DNA 抽出を行い、サンガー法によって核 ITS・ETS 領域の塩基配列を決定した。配列をアライメントした後、NJ 法による系統樹作成を行い各個体群の成立過程を推定した。

(1) 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出芽日・開花終了日に差がなかったが、開花開始日は天塩個体群でやや早かった。(2) 交雑実験の結果、2 倍体同士・4 倍体同士の他家受粉では 25-50% の結実を示したのに対し、異なる倍数性間での交雑ではほとんど果実が実らなかった。

(3) 系統解析の結果、道北の 4 倍体の一部と高山コモチミミコウモリの一部に共有された変異があり、これらの個体群間で近縁性が支持された。

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。また交雑実験では2倍体・4倍体間で受粉してもほとんど結実しなかった。このことは、倍数体間で生殖隔離が発達しており、野外の異なる倍数性集団間の排他的な分布は、非適応な3倍体形成ではなくニッチ選好性の違いが原因であることを示唆している。系統解析の結果から、コモチミミコウモリの一部は道北4倍体から起源した可能性が示唆された。コモチミミコウモリの全ての個体群が道北単一起源であるかを検証するために、複数の座位を使用したマイクロサテライトマーカーによる解析などが今後必要になると考えられる。

(研究成果発表)

・塩谷悠希・工藤岳：キク科ミミコウモリにおける倍数化の生態的意義。第70回日本生態学会大会，2023年3月18日，オンライン開催

大学院農学研究院

基盤研究部門 畜産科学分野

川原 学

哺乳類初期胚を構成する細胞(割球)は、胚内に腔所(胞胚腔)が生じる胚盤胞期というステージで、内部細胞塊(ICM)および栄養外胚葉(TE)に分化し、それぞれ将来胎子および胎盤を主に形成する。マウス胚において、胚内で相対的に内側および外側に位置する割球がそれぞれICMおよびTEに分化する。そして、Hippoシグナルと呼ばれるリン酸化カスケードに応じて異なる遺伝子発現になることでTEおよびICMそれぞれの細胞系列への分化が調整されている。

我々は過去に、Hippoシグナル関連キナーゼLats2がTE/ICM分化の過渡期にある桑実期胚の外側細胞の頂端膜に局在化していることを突き止めていた。Hippoシグナル活性が細胞極性と深い関係があることから、Lats2局在と細胞極性の関係を探るべく極性マーカーの一つであるERMタンパク質Ezrinとの局在関係を調べることとした。その結果、Lats2とEzrinは桑実期胚の外側細胞頂端膜に共局在することが明らかになった。さらに、EzrinをはじめとするERMファミリータンパク質(Ezrin、RadixinおよびMoesin)が共通して有するFERMドメインとの結合部位に相当するLats2配列N末端側の1塩基を置換したLats2^{L83K}は、外側

細胞頂端膜への局在が観察されなくなったことから、Lats2の頂端膜への局在化はFERMドメインを有するERMファミリータンパク質との相互作用が関与していることが初期胚で明らかになった。以上の結果から、EzrinがLats2局在化の直接の制御因子である可能性が極めて高いと考えられた。今後は、Ezrinを含むERMタンパク質とLats2の相互作用を阻害する薬剤添加条件のもとでLats2局在を観察し、さらにLats2-Ezrin細胞内局在制御について探求する予定である。

基盤研究部門 生物資源科学分野

吉澤 和徳

研究従事者：菅野良一

令和4年度「利用状況・研究成果」

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以下のような優れた点を持つ。1) 性決定が雄XO、雌XXであるXOレース集団が北海道西部に、雄neo-XY、雌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(雄の交尾活力と雌の交尾拒否力)が地域集団間で大きく異なる。本種の雌は未交尾でも交尾拒否行動を示し、雌の交尾拒否力が強い集団は雄の交尾活力も強く、雌の交尾拒否力が弱い集団は雄の交尾活力も弱い。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雄と交尾活性が弱い集団の雌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特異な体色を持つ黒色型の体色2型が存在する(図1)。

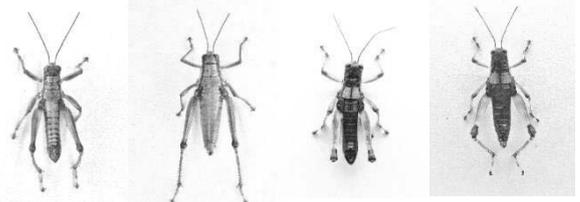


図1 サッポロフキバツタの緑色型と黒色型(左より緑色型雄・雌，黒色型雄・雌)

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事を中心に研究を進めている。これまでの知見では、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されてい

た。しかしながら本年度までの調査によって、図2の灰色部分、東西に約8キロ、南北に約60キロの範囲に黒色型の雄と雌が、黒い線で囲われた東西約35キロ、南北約110キロの範囲に、黒色型の主に雄と、緑色型の雄と雌が分布している事が明らかになった(図2)。

本種は飼育下では孵化率が低い事に加え、孵化幼虫を成虫まで飼育する事が難しく、体色型間の交雑からどのような体色の成虫が生じるか不明であった。本年度はこれまで飼育環境を微調整した結果、体色型間の交雑卵から、雄23頭、雌19頭の成虫を得る事ができた。これらのF1の体色は、黒色型♂×緑色型♀と緑色型♂×黒色型♀のどちらの組み合わせでも、雄は全てが黒色型、一方雌は19頭中18頭のほぼ全てが緑色型となった。この結果から、緑色型がほとんど分布していなかった留萌市の北側では黒色型集団が徐々に分布を拡大していき、元々緑色型集団が分布した留萌市の東側では、黒色型と緑色型が交雑しながら徐々に黒色型が浸透していている可能性が考えられた。

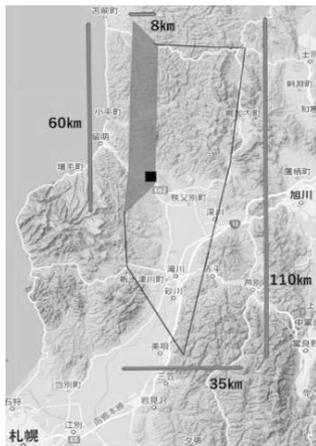


図2 黒色型の分布域。黒い四角はこれまで黒色型が分布していると考えられていた地域。灰色部分は黒色型の雌雄が確認できた範囲。黒線内は黒色型の主に雄と、緑色型の雌雄が確認できた範囲。(地図はGoogle Mapより引用)

更に、黒色型集団として留萌集団を、緑色型集団として札幌市南区豊滝の集団を用いて、雄雌1頭ずつを組み合わせた交配実験を行い、自然交配させた際の雌の受精嚢内の精子数と(排出された精子と考えられる)生殖器外部に付着した精子数を計測した(図3)。留萌集団の雌は、自集団の雄との交尾でも他集団の雄との交尾でも約240分で交尾を打ち切る事によって、他集団の雄が渡せている精子数は少ない傾向が見られた。豊滝集団の雌は、他集団の雄との交尾では明らかに精子を多く排出している一方で、貯精嚢内に他集団の雄の精子を多く取り込んでいる個体も複数存在した。このような交尾時間や精子排出量の集団差が、黒色型集団の分布の拡大にどのように影響しているか、今後、実験に使用する集団数を増やして検討を行う。

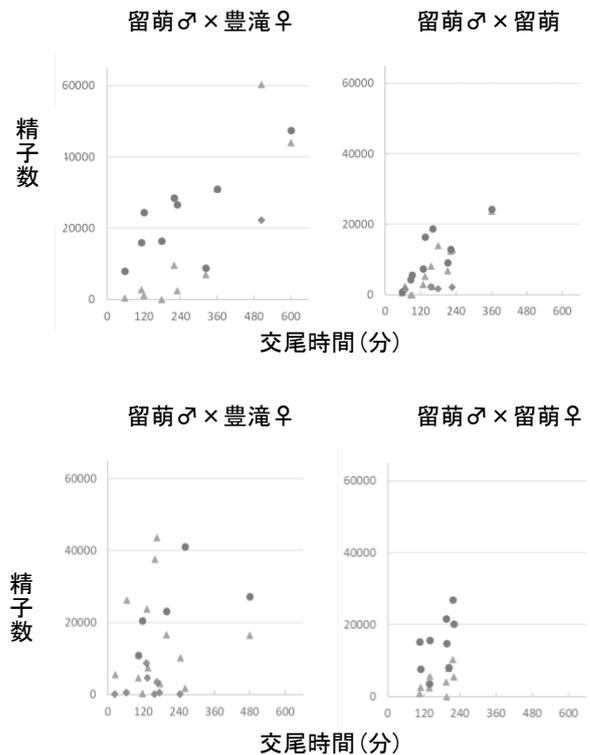


図3 交尾時間と精子数の関係。同じ交尾時間上にあるマークは、同一の雌個体から採取された生殖器外部に付着していた精子数(△)と受精嚢内の精子数を示す(○と◇。◇は特に受精嚢内の精子数が生殖器外部に付着していた精子数より少なかった場合)

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)

論文発表

Yotsukura, N., Liu, C., Terai, M., Klimova, A., Galanin, D., Klochkova, N., Suzuki, T. (2022) Genetic relations among wild populations of *Saccharina japonica* in the western North Pacific. *Regional Studies in Marine Science* 53:102357, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2022.102357>.

Sudo, Y., Yamada, S., Higa, Y., Notoya, M., Yotsukura, N. (2022) Evaluation of the morphological characteristics and culture performance of *Cladosiphon okamuranus* strains. *Aquaculture Research* 53: 5996-6006, DOI: 10.1111/are.16068.

学会発表

四ツ倉典滋：昆布研究の現状と課題。日本応用藻類学会第20回記念大会，2022年9月3日，宮城大学（仙台市）+オンライン

江端弘樹・四ツ倉典滋・吉田省子・秋野秀樹・鶴島暁・小松正・佐伯恵太・森山裕史・舟橋正浩・川下浩一：海藻を教材にした新しい学びの形 ～こんぶ Day の取り組み～. 日本藻類学会第 47 回大会, 2023 年 3 月 21-22 日, オンライン

大学院医学研究院

生理系部門 生理学分野

山野辺 貴信 (海水利用)

スパイク列と呼ばれる電位列のどの統計量が神経系における情報キャリアか明らかとなっていない。神経回路網理論によればユニットへの入力にネットワーク構造が反映され、ユニットの活性化関数に神経回路モデルの情報キャリアが依存する。情報キャリアの候補には様々なものがある。例えば、スパイク頻度が情報キャリアであるとする **rate coding** やスパイク発生時刻列が情報キャリアであるとする **temporal coding** は、活性化関数が、出力が連続的に変化するシグモイド関数、0 か 1 かの階段関数であればそれぞれ神経回路モデルで実現される。

実験にもとづく神経細胞モデルの基本構造はキルヒホッフの電流保存則で決まり、一般に「膜電位の時間微分」は「イオンチャンネルによる電流」+「入力電流」を膜容量で割ったものとなる。従って、ネットワーク構造を反映した入力電流がイオンチャンネルの確率的非線形特性に影響を与え、膜電位変化が起こるといふ上記のような構造となる。よって入力電流から出力スパイク列への変換過程の同定が情報キャリアを調べる際に必須となる。このような問題意識のもと、今年度は以下の 3 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。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** モデルなどを扱う必要がある。確率的 **Stuart-Landau** 方程式の場合、**FitzHugh-Nagumo** モデルと比べ非線形性が穏やかである。このため、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られた。しかし、確率的 **FitzHugh-Nagumo** モデルなどの神経細胞モデルの場合、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、漸近展開の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られないことが分かった。この漸近展開を行うため、確率的神経細胞モデルのドリフト項と拡散項を入

力すれば、高次の漸近展開を計算するプログラムの開発を試みた。その結果、モデルの次元には依存するが、高次の漸近展開が計算できるようになった。

2. 神経細胞の電位を生成する実体はイオンチャンネルであるが、そのイオンチャンネルの確率的開閉が、スパイク生成、さらには神経系における情報処理に与える影響が調べられてきている。イオンチャンネルノイズの定式化は **Fox** と **Lu** (1994) によるものが知られている。イオンチャンネルの開閉確率に関するマスター方程式から **Fokker-Planck** 方程式導出、そこから最終的に確率微分方程式の形でイオンチャンネルノイズモデルが提案された。近年、このイオンチャンネルモデルは精査され、様々な欠点があることを指摘されている。特にモデリングの要であるイオンチャンネルノイズの分散に関する欠点を克服する方法を **Sorbonne** 大学の確率論の専門家と検討した。

3. **ゲノムダイナミクス研究センター** の改修工事に伴い、実験動物のイカを飼育するために利用している円形水槽に不具合がないか調査するために、ヤリイカの飼育を行った。センターの御協力の下、修正を行い、水槽システムでヤリイカの飼育が可能であることを確認した。また、令和 5 年度を行う予定の実験準備を行った。

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
行動 (睡眠覚醒) と多くの生体の機能には、約 24 時間を 1 周期とする概日リズム (サーカディアンリズム) が存在し、概日リズムは生物時計機構によって発振、制御されている。ヒトを含め哺乳類の生物時計機構は、間脳視床下部視交叉上核 (suprachiasmatic nucleus: SCN) に存在する中枢時計と、視交叉上核外の脳部位および肝臓、骨格筋などの末梢臓器に存在する末梢時計からなる、階層性多振動構造である。生物時計が発振するサーカディアンリズムを調節可能な環境因子は同調因子と呼ばれ、哺乳類の生物時計の主要な同調因子は外界の昼夜変化 (自然光、高照度光) である。習慣的な運動は昼夜変化の存在しない恒常暗環境でも中枢時計が発振する行動リズムを同調 (非光同調) させることが過去に報告されているが、恒常暗環境下で行動リズムが運動スケジュールに非光同調した際の、行動リズム、中枢時計、末梢組

織における時計遺伝子発現リズムの時間関係は明らかになっておらずさらなる研究の余地が残されていた。我々は、哺乳類の主要な時計遺伝子である *Period1* のプロモーターの下流にホタルの生物発光酵素であるルシフェラーゼを導入したトランスジェニックマウス (*Per1-luc* マウス) を用いて、通常の飼育環境下である 12 時間明期 12 時間暗期の 24 時間明暗サイクル、明暗サイクルの存在しない恒常暗環境、そして恒常暗環境下で 24 時間周期の運動スケジュールを与える 3 つの条件で、*Per1-luc* マウスの行動リズムと *Per1-luc* マウスから採取した SCN、弓状核、肝臓、骨格筋を培養し、時計遺伝子発現リズムを比較した。なお、SCN は活動開始を制御する Evening 振動体と活動終了を制御する Morning 振動体が含まれることが報告されている吻側 SCN (Evening 振動体) と尾側 SCN (Morning 振動体)、2 枚の冠状断切片を作成し、*Per1-luc* リズムを測定した。その結果、マウスの行動リズムが恒常暗下での運動スケジュールに同調 (非光同調) し、運動スケジュールに同調するタイミングが恒常暗下でのフリーラン周期に依存すること、活動時間の長さが昼夜変化の存在する条件に比べ恒常暗条件下で延長し、運動スケジュールに同調した際には再び短縮すること、運動スケジュールに同調した際の活動時間が運動のタイミングに依存して変化すること、活動の開始位相と終了位相では運動スケジュールへの同調に要する期間が異なることを明らかにした。さらに、行動リズムと視交叉上核、肝臓の時計遺伝子発現リズムの時間関係は、昼夜変化の存在する条件下から恒常暗条件下では異なりましたが、恒常暗下で運動スケジュールに同調した条件では昼夜変化の存在する条件と同様の時間関係に回復 (再統合) されることを世界で初めて明らかにした。ただし、弓状核については、運動スケジュールに同調した際に、昼夜変化に同調した条件に比べて大きく前進していた。これらの結果は、習慣的な運動は恒常暗下で変化した行動リズム、中枢時計、末梢時計の時計遺伝子発現リズム間の時間関係を再統合し、昼夜変化による光同調と同様に行動リズムと中枢・末梢時計間の時間関係を維持することが可能であることを遺伝子レベルで明らかにした。さらに、運動を行うタイミングに応じてマウスの活動時間が変化したことから、運動時刻に応じて行動リズムにおける活動開始を制御する Evening 振動体と活動終了を制御する Morning 振動体、2 つの振動体間の相互協調を変化させる可能性を新たに提示した。R4 年度は、ゲノムダイナミクス研究センターで実施してきた研究成果を論文として発表した (Sato & Yamanaka 2023)。また、習慣的な運動が中枢時計である SCN 内の神経ネットワーク

に与える影響を明らかにするため、明暗サイクル条件下と恒常暗下で運動スケジュールに同調したマウスから SCN を採取し、高感度 CCD カメラを用いて測定した single cell imaging データの測定と解析を進めている。

業績リスト

論文発表

Sato, R. Y., & Yamanaka, Y. (2023). Nonphotic entrainment of central and peripheral circadian clocks in mice by scheduled voluntary exercise under constant darkness. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. (in press).

学会発表

山仲勇二郎, 佐藤蓮: 生物時計の非光同調機構にみられる性差の検討. 第 102 回北海道医学大会・日本生理学会北海道地方会. 2022 年 9 月 8 日 (旭川市)

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

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と社会性の研究

本研究ではヒト 15 番染色体 q11-13 が重複する遺伝子変異と同等の変異を持ったマウス (7H)、およびヒト 14 番染色体の *chd8* 遺伝子欠損と同等の変異を持ったマウス (*chd8*) を対象に、社会的場面での超音波コミュニケーションを研究した。

実験 1 新生仔マウスの超音波コミュニケーション

目的: 新生仔マウスを母親から分離して超音波発声を測定し、自閉症マウスの超音波コミュニケーションを明らかにした。

方法: 被験体は 7H マウス 12 匹、ワイルドタイプ 21 匹、*chd8* マウス 19 匹、ワイルドタイプ 28 匹。生後 4、7、10、13、16、19 日の計 6 回、母仔分離を行って 5 分間超音波発声を測定した。

結果と考察: 7H マウスは超音波の発声回数が爆発的に増大した。しかも 1 回の発声が 15~100 ミリ秒と長く、2~3 音節から成り、周波数を複雑に変化させる発声の頻度が増加した。*chd8* マウスも発声回数や音節数に増大が認められたが、散発的であった。

7H マウスは脳内各領域でセロトニンの減少が確認されている。7H マウスは、セロトニンの低下により不安傾向が高まっているところへ母仔分離によってさらに不安が高まり、母親を呼び寄せ

るために爆発的に超音波発声を増大させたのではないかと考えられる。母仔分離という突然の変化に対しパニック用の反応を示したのかもしれない。

実験2 非接触型レジデント-イントルーダー場面における成熟マウスの超音波コミュニケーション

目的： 成熟マウス（レジデント）が飼育されているケージに別の成熟マウス（イントルーダー）を入れると、超音波コミュニケーションが起こる（レジデント-イントルーダー実験）。本実験ではレジデントとイントルーダーが♀-♀、♂-♀、♂-♂の3場面を設定し、成熟マウスの超音波発声を測定して自閉症マウスの超音波コミュニケーションを明らかにした。

方法： 被験体は7Hマウス10匹、ワイルドタイプ18匹、chd8マウス18匹、ワイルドタイプ27匹。本実験ではレジデントは自分のケージに入れられたまま供された。イントルーダーは広口ガラスビンに入れ、ビンの開口部を下にしてレジデントのケージの上に置いた。レジデントは金網のケージ蓋を通してイントルーダーの臭いを嗅ぐことができた。レジデントの超音波は蓋を通してマイクで収集できるが、イントルーダーの超音波はガラスビンに遮られた。この方法により、レジデントの超音波を5分間記録した。測定は8日間連続で行った。

結果と考察： ♀-♀の7Hペアは超音波の発声回数が減少した。1回の発声が15ミリ秒以下の短い発声や周波数変化のないFlat型の発声頻度が増加した。♂-♀および♂-♂の7Hペアの発声には変異が見られなかった。♂-♀のchd8ペアは周波数を変化させる発声頻度が増加した。また♂-♂のchd8ペアは2音節の発声や周波数を変化させる発声の頻度が減少した。♀-♀のchd8ペアの発声には変異が見られなかった。

7Hの♀-♀ペアでは発声回数が減少し、短く周波数変化のない単純な発声の頻度が増加した。これらの変異は新生仔に見られた変異とは正反対であった。7Hマウスの脳内セロトニンは成熟後も減少したままで、不安の高い状態が続いていると思われる。しかし成熟マウスは行動的対処（嫌な物を避ける、逃げる）が可能になる。行動的に対処できるため、パニック用の発声が生じないのではないかと考えている。7Hマウスではレジデントが♀の場合に超音波に変異が生じ、chd8マウスではレジデントが♂の場合に変異が生じた。遺伝子変異の影響が表現型として発現する上で、性差があるのではないかと考えられる。

【論文発表】

1. 岩谷 優 (2022) 母仔分離場面におけるヒト型自閉症モデルマウスの超音波発声-クロモ

ドメインヘリカーゼDNA結合タンパク質8欠損マウスと7番染色体6.3Mb重複マウスの研究-。令和4年度北海道大学文学部卒業論文。

2. 橋本光太郎 (2022) 社会的相互交渉場面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-非接触型レジデント-イントルーダー課題を用いた研究-。令和4年度北海道大学文学部卒業論文。

【学会発表】

1. Wada, H: Ultrasonic communications in the autism model mice (duplication of 15q11-13) upon social interaction. 24th Biennial Meeting of the International Society for Developmental Neuroscience, 8 May 2022, Vancouver, Canada.
2. Wada, H: Acoustic alterations of ultrasonic vocalization in the autism model mice (duplication of 15 q11-13) upon maternal isolation. 17th International Child Neurology Congress, 5 October 2022, Antalya, Turkey.

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候補者選考内規
- 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運営委員会
実験生物飼育栽培施設専門委員会内規
- 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運営委員会
研究機器等共同利用専門委員会内規
- 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運営委員会
生物試料保管専門委員会内規
- 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利用内規

○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、植物その他の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。

(部門)

第3条 センターに、次に掲げる部門を置く。

- (1) 実験生物飼育栽培施設部門
- (2) 研究機器等共同利用部門
- (3) 生物試料保管部門

(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（第7条において「研究院」という。）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（平成21年4月1日海大達第112号）

この規程は、平成21年4月1日から施行する。

附 則（平成27年4月1日海大達第132号）

この規程は、平成27年4月1日から施行する。

附 則（令和4年7月1日海大達第128号）

この規程は、令和4年7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。

(専門委員会)

第9条 運営委員会に、専門的事項を審議及び調査検討するため、次に掲げる専門委員会を置く。

- (1) 実験生物飼育栽培施設専門委員会
- (2) 研究機器等共同利用専門委員会
- (3) 生物試料保管部門専門委員会

2 専門委員会に関し必要な事項は、委員会が別に定める。

(庶務)

第10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11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。

附 則

この内規は、令和4年5月25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運営委員会実験生物
飼育栽培施設専門委員会内規

令和4年5月25日

ゲノムダイナミクス研究センター運営委員会決定

(設置)

第1条 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7条第1項第1号の規定に基づき、ゲノムダイナミクス研究センター運営委員会に実験生物飼育栽培施設専門委員会（以下、「委員会」という。）を置く。

(任務)

第2条 委員会は、生物科学研究に用いる動植物その他の生物材料を飼育・栽培する施設を提供することを目的とし、そのために必要な設備機器類の整備、管理業務、利用料金に関する審議を行う。

(組織)

第3条 委員会は、次に掲げる者の内から5名の委員をもって組織する。

- (1) ゲノムダイナミクス研究センター運営委員会委員長（以下、「運営委員会委員長」という。）が指名したゲノムダイナミクス研究センター運営委員会委員の教授又は准教授
- (2) その他運営委員会委員長が必要と認めた者

(任期)

第4条 前条の委員の任期は、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、運営委員会委員長が指名する委員をもって充てる。

- 2 委員長は、委員会を招集し、その議長となる。

(議事)

第6条 委員会は、委員の3分の2以上が出席しなければ議事を開くことができない。

- 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7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。

(雑則)

第8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、委員会が定める。

附 則

- 1 この内規は、令和4年5月25日から施行する。
- 2 この内規の施行後最初に委嘱される第3条第1号及び第2号の委員の任期は、第4条第1項の規定にかかわらず、令和5年3月31日までとする。

○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研究機器等共同利用専門委員会内規

令和4年5月25日

ゲノムダイナミクス研究センター運営委員会決定

(設置)

第1条 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7条第1項第2号の規定に基づき、ゲノムダイナミクス研究センター運営委員会に研究機器等共同利用専門委員会（以下、「委員会」という。）を置く。

(任務)

第2条 委員会は、生物科学研究に用いる共同利用機器類を提供することを目的とし、そのために必要な設備機器類の整備、管理業務、利用料金に関する審議を行う。

(組織)

第3条 委員会は、次に掲げる者の内から5名の委員をもって組織する。

- (1) ゲノムダイナミクス研究センター運営委員会委員長（以下、「運営委員会委員長」という。）が指名したゲノムダイナミクス研究センター運営委員会委員の教授又は准教授
- (2) その他運営委員会委員長が必要と認めた者

(任期)

第4条 前条の委員の任期は、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、運営委員会委員長が指名する委員をもって充てる。

- 2 委員長は、委員会を招集し、その議長となる。

(議事)

第6条 委員会は、委員の3分の2以上が出席しなければ議事を開くことができない。

- 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7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。

(雑則)

第8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、委員会が定める。

附 則

- 1 この内規は、令和4年5月25日から施行する。
- 2 この内規の施行後最初に委嘱される第3条第1号及び第2号の委員の任期は、第4条第1項の規定にかかわらず、令和5年3月31日までとする。

○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生物試料
保管専門委員会内規

令和4年5月25日

ゲノムダイナミクス研究センター運営委員会決定

(設置)

第1条 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7条第1項第3号の規定に基づき、ゲノムダイナミクス研究センター運営委員会に生物試料保管部門専門委員会（以下、「委員会」という。）を置く。

(任務)

第2条 委員会は、緊急時における細胞・遺伝子・染色体などの研究材料の破損・損失を防ぐため、自家発電による電源と保管設備を提供することを目的とし、そのために必要な設備機器類の整備、管理業務、利用料金に関する審議を行う。

(組織)

第3条 委員会は、次に掲げる者の内から5名の委員をもって組織する。

- (1) ゲノムダイナミクス研究センター運営委員会委員長（以下、「運営委員会委員長」という。）が指名したゲノムダイナミクス研究センター運営委員会委員の教授又は准教授
- (2) その他運営委員会委員長が必要と認めた者

(任期)

第4条 前条の委員の任期は、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、運営委員会委員長が指名する委員をもって充てる。

- 2 委員長は、委員会を招集し、その議長となる。

(議事)

第6条 委員会は、委員の3分の2以上が出席しなければ議事を開くことができない。

- 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7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。

(雑則)

第8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、委員会が定める。

附 則

- 1 この内規は、令和4年5月25日から施行する。
- 2 この内規の施行後最初に委嘱される第3条第1号及び第2号の委員の任期は、第4条第1項の規定にかかわらず、令和5年3月31日までとする。

理学研究院附属ゲノムダイナミクス研究センター利用内規

令和4年5月25日
ゲノムダイナミクス研究センター運営委員会決定

(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の共同利用設備・機器等の利用に関し、必要な事項を定めるものとする。

(定義)

第2条 この内規において「共同利用設備・機器等」とは、北海道大学における生物科学分野の研究の進展に寄与することを目的として、ゲノムダイナミクス研究センター東棟に設けられた飼育栽培スペースと設備、消耗品等、同東棟内共通機器室に設置された共同利用機器、同西棟に設けられた共通フリーザー室スペース、共同利用ディープフリーザー、大型液体窒素タンクをいう。

(利用の範囲)

第3条 共同利用設備・機器等の利用を申請することができるのは、北海道大学の教員とする。

2 前項の申請に基づき、共同利用設備・機器等を利用できるのは、北海道大学の教職員および学生とする。

(利用の申請及び許可)

第4条 共同利用設備・機器等を利用しようとする者は、別記様式第1号の利用申請書（この条及び次条において「申請書」という。）および別記様式2号の利用者名簿をゲノムダイナミクス研究センター長（以下「センター長」という。）に提出し、その許可を受けなければならない。

2 センター長は、前項の申請書の提出があったときは、ゲノムダイナミクス研究センター運営委員会専門委員会の審査を経て、利用の目的が適当であると認められるときはこれを許可し、別記様式第3号の利用許可書を交付するものとする。

(利用期間)

第5条 共同利用設備・機器等の利用期間は、原則として1年以内とするが、更新を申請することができる。

2 前項の利用期間を更新しようとする場合には、あらためて前条に規定する申請書を提出し、その許可を受けなければならない。

(利用料)

第6条 共同利用設備・機器等の利用の許可を受けた者（以下「利用代表者」という）は、経費の振替により、別表1に定める利用料（電気、水道等の維持管理費を含む。以下「利用料」という。）を納付しなければならない。

(利用の停止)

第7条 センター長は、次の各号のいずれかに該当する場合には、共同利用設備・機器等の利用許可を取り消し、又は利用を中止させることができる。

- (1) 利用代表者、利用代表者と共同して共同利用設備・機器等を利用する者又は利用代表者の指導監督の下に共同利用設備・機器等を利用する者（第9条において「利用者」という。）が、この内規又は北海道大学が定める安全、衛生及び管理に関する諸規程に違反し、又は違反するおそれがあると認められる場合
- (2) 利用代表者が、利用申請に当たり虚偽の申告をしていることが発覚した場合
- (3) 管理上、やむを得ない事由が生じた場合

(原状回復)

第8条 共同利用設備・機器等のうち、飼育栽培スペースおよび共通フリーザー室スペース（以下「利用スペース」という）を利用する利用代表者は、その利用を終了したとき（前条第1号又は第2号の規定により利用を取消し、又は利用を中止させた場合を含む。）は、直ちに当該利用スペースを原状に回復して返還しなければならない。ただし、センター長が特に認めた場合は、この限りではない。

(損害賠償)

第9条 利用代表者は、利用者がその責に帰すべき事由により共同利用設備・機器等を滅失、破損又は汚損したときは、その損害を賠償しなければならない。

2 共同利用設備・機器等の故障や事故等により、飼育栽培している生物体や保管する生物試料が死滅した場合でも、その理由にかかわらず利用者は損害に対する賠償を請求することはできない。

(立入)

第10条 共同利用設備・機器等の管理を担当する教員及び職員は、その管理上必要と認める場合には、利用スペースに立ち入り、当該利用スペースの利用状況について調査することがある。

2 前項の規定により利用スペースに立ち入る場合には、事前に利用代表者に通知するものとする。ただし、緊急の場合はこの限りでない。

(内規の改正)

第11条 この内規の改正（利用料の変更を含む）は、ゲノムダイナミクス研究センター運営委員会専門委員会の発議に基づき、ゲノムダイナミクス研究センター運営委員会の議を経て、センター長が行う。

(事務)

第12条 共同利用設備・機器等の利用に関する事務は、ゲノムダイナミクス研究センター事務において処理する。

(雑則)

第13条 この内規に定めるもののほか、共同利用設備・機器等の利用に関し必要な事項は、センター長が別に定める。

附 則

この内規は、令和4年5月25日から施行し、令和4年6月分として請求する利用料から適用する。

附 則

この内規は、令和4年8月1日から施行し、令和4年6月分として請求する利用料から適用する。

附 則

この内規は、令和4年10月28日から施行する。

別表 1 (第 6 条関係)

1. 実験生物飼育栽培施設部門

飼育栽培スペース(室内, 月単位利用)

室名, 設備名	室面積(m ²)	月額利用料金	備考
小生物飼育室(1)	14.1	¥24,000	単価 ¥1,700/m ² /月
小生物飼育室(2)	14.1	¥24,000	
小生物飼育室(3)	14.1	¥24,000	
小生物飼育室(4)	14.1	¥24,000	
小生物飼育室(5)	13.0	¥22,100	
小生物飼育室(6)	6.3	¥10,700	
小生物飼育室(7)	12.3	¥20,900	
培養室(1)低温向け	11.9	¥20,200	
培養室(2)低温向け	14.7	¥25,000	
培養室(3)	14.7	¥25,000	
培養室(4)	14.7	¥25,000	
植物栽培室(1)	15.8	¥26,900	
植物栽培室(2)	16.7	¥28,400	
植物栽培室(3)	10.8	¥18,400	
植物栽培室(4)	14.0	¥23,800	
植物栽培室(5)	9.4	¥16,000	
昆虫育成室	15.2	¥26,200	
小型魚類飼育室	15.4	¥30,000	小型魚類用飼育装置込み
げっ歯類飼育室 (1)	14.2	¥32,700	単価 ¥2,300 /m ² /月
げっ歯類飼育室 (2)	15.1	¥34,700	
げっ歯類飼育室 (3)	15.1	¥34,700	
げっ歯類飼育室 (4)	13.8	¥31,700	
げっ歯類飼育室 (5)	14.1	¥32,400	
げっ歯類飼育室 (6)	17.0	¥39,100	
げっ歯類飼育室 (7)	14.6	¥33,600	
げっ歯類飼育ラック		¥2,000/台	平棚仕様
ウサギ飼育ケージ		¥1,600/ケージ	
1 階ガラス温室 A~D		¥4,000/区画	11 月~4 月は暖房費¥2,000/ 区画が別途
2 階ガラス温室東, 西		¥1,000/テーブル	11 月~4 月は暖房費¥500/ テーブルが別途
大型水槽		¥13,000	海水で使用する場合、500L の海水料金が別途
円形水槽		¥13,000	
P1A 実験室	16.1	¥29,000	単価 ¥1,800/m ² /月 マニピュレータ、顕微鏡の 利用料込
冷凍処分費		¥1,000	上記飼育栽培スペースの利 用者に限る

各室 20A ブレーカー分の電源使用料金は室料金に含む。ただしブレーカーを追加する場合は ¥1,000/10A・月を別途

飼育栽培スペース利用に関する消耗品、サービス等

品名	単価
げっ歯類区画内消耗品 (餌、床敷、他)	実費
動物焼却処分料	実費
冷凍処分費*	¥1,000/月
海水	実費 (10L 単価) (納入費から設定)
純水	¥100/L

*は飼育栽培スペース利用者のみ

飼育栽培スペース(屋外、年単位利用)

場所	面積	年間利用料金
圃場	約 10m ²	¥7,350/区画
林、植込区	約 10m ²	¥7,350/区画

2. 研究機器等共同利用部門

共同利用機器(月単位利用)

利用機器名	設置場所	月額利用料金
<ul style="list-style-type: none"> ● 遺伝子銃 チューピングプレッ プステーション ● 微量高速冷却遠心機 2台 ● エレクトロポレーションシステ ム (一式) ● パルスフィールド電気泳動シス テム ● 簡易型クリーンベンチ ● 実体顕微鏡 ● 大型バイオシェーカー 2台 ● 小型バイオシェーカー ● 卓上 CO2 インキュベーター ● 卓上多本架遠心機 ● 高速冷却遠心機 (アングルロー ター付) ● ドラフトチャンバー ● ガス滅菌器 ● UV クロスリンカー ● 人工気象器 ● MinION 	共通機器室 1	<p>¥500/台 (4台まで) ¥2,500 (5台以上一律)</p> <p>センター利用者は以下の機器は無 料で使用可</p> <ul style="list-style-type: none"> ● 一般冷蔵庫 (各共通機器使用時の試料の一 時保管のみ) ● 製氷機 ● 純水製造装置 (純水の料金¥100/L は別途)

<ul style="list-style-type: none"> 乾熱滅菌器 CO₂インキュベーター クリーンベンチ 簡易型オートクレーブ 	共通機器室 2	
<ul style="list-style-type: none"> 簡易型オートクレーブ 	P1A 室	
<ul style="list-style-type: none"> 小動物用麻酔器 	げっ歯類飼育室	
<ul style="list-style-type: none"> 中央実験台 (半面) 	共通機器室 2	¥2,000

3. 生物試料保管部門

共通フリーザー室(月単位利用)

内容	内訳	月額利用料金	備考	
フリーザー設置料*	約 10m ²	¥1,000/区画	2m ² /区画, 単独電源を専有	
フリーザー稼働料*	定格電力	850-950W	¥4,500	600W フリーザーのコンプレッサー稼働率 35%, 20 円/kW・h とし て算出
		750-849W	¥4,000	
		650-749W	¥3,500	
		550-649W	¥3,000	
		450-549W	¥2,500	
		350-449W	¥2,000	
		250-349W	¥1,500	
	-249W	¥1,000		
フリーザー貸出料	MDF-394-PJ	¥17,500	内容量約 309L, 専有	
	CLN-50CD1	¥21,000	内容量約 507L, 専有	
フリーザー内スペース貸出料	標準トレー (TN-3550C)	¥1,000/本	CLN-50C1 台に 21 本	
	フリーズボックストレー (TF-3550C)	¥700/本	CLN-50C1 台に 30 本	
	細胞保管用トレー	¥700/本	細胞保管用フリーザー MDF-594-PJ に 23 本	

*持ち込みフリーザーを共通フリーザー室に設置する場合, 設置料+定格電力ごとの稼働料が必要。ただし年単位で使用する場合は, 10ヶ月分とする。

大型液体窒素タンク(月単位利用)

内容	内訳	月額利用料金	備考
凍結試料保管料	ラック単価	未定*	液体窒素料金を含むラックごとの専有

*大型液体窒素タンクへの凍結試料の受入を開始するまでに決定する。

別記様式第1号（第4条関係）

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 利用申請書

ゲノムダイナミクス研究センター長 殿

年 月 日

ゲノムダイナミクス研究センター利用内規を確認し、下記の通りセンターの利用を申請します。
利用にあたり、利用内規と関連する法律、規定を遵守します。

申請者（経費の支払責任者）

所属 _____ 署名 _____
氏名 _____
電話（内線） _____ e-mail _____

利用者（実験）代表者（実験内容および利用内容を把握している方：申請者の場合は省略可）

所属 _____ 署名 _____
氏名 _____
電話（内線） _____ e-mail _____

利用部門（利用を希望するすべての部門に○をつけてください。）

- ・ 実験生物飼育栽培施設部門 (・ 新規 ・ 継続)
- ・ 研究機器等共同利用部門 (・ 新規 ・ 継続)
- ・ 生物試料保管部門 (・ 新規 ・ 継続)

研究課題名

研究の概要：

※以下について記入

関連する動物実験許可番号	
関連する遺伝子組換え実験承認番号	
使用を希望する飼育栽培スペース	
使用を希望する共同利用機器台数	
使用を希望する試料保管設備	

センター記載

受理年月日

受理番号

使用期間 年 月 日 ~ 年 月 日

別記様式第2号 (第4条関係)

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

_____年度 利用者名簿

- 利用部門 実験生物飼育栽培施設部門 (東棟)
 研究機器等共同利用部門 (東棟)
 生物試料保管部門 (西棟)

月 日 提出

	氏名	所属	職・学年	新規・継続	センター 欄
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
20					
21					
22					
23					
24					
25					
26					
27					
28					
29					
30					

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 利用許可書

年 月 日付けで申請されたゲノムダイナミクス研究センターの利用について、下記の条件を付して許可します。

所属部局・職名	
申請者（経費の支払責任者）	
使用期間	年 月 日 ～ 年 月 日
<p><input type="checkbox"/> 実験生物飼育栽培施設部門 使用する飼育栽培スペース：</p> <p><input type="checkbox"/> 研究機器等共同利用部門 使用する共同利用機器（水等を含む）：</p> <p><input type="checkbox"/> 生物試料保管部門 使用する試料保管設備（フリーザー設置スペース，ラック使用を含む）：</p> <p style="text-align: center;">上記の使用を許可します。</p> <p style="text-align: right;">年 月 日</p> <p style="text-align: 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長 ○○ ○○ （公印省略）</p>	
許可番号	○○○○
備考：	

実験生物搬入申込書

提出日： 年 月 日

責任者名： _____

所 属： _____

連 絡 先： _____

※三種（系統）以上を搬入する場合は各項目の行および番号を追加してください。

生物種（系統名）： ① ②

個体数：
① _____ ② _____

由来（譲渡元または採集地）： ① ②

遺伝子改変の有無：

ある ない

搬入予定年月日： _____ 年 _____ 月 _____ 日

なお、げっ歯類を搬入する場合は、本書式に加えて微生物モニタリング検査書を提出すること。

備考欄：

--

専門委員会記入欄：

共同利用機器等利用申込書

提出日： 年 月 日

責任者名： _____

所 属： _____

連絡先： _____

利用を希望する機器にチェック☑し、使用期間（利用申請期間を超えないこと）を記入してください。

共同利用機器（月単位利用）

設置場所	利用機器名	使用を希望する期間
共通機器室 (1) GE-223	<input type="checkbox"/> 遺伝子銃チューピングプレッステーション BIO RAD	年 月 日 ~ 年 月 日
	<input type="checkbox"/> 微量高速冷却遠心機 MR-150	年 月 日 ~ 年 月 日
	<input type="checkbox"/> エレクトロポレーションシステム（一式）BIO RAD	年 月 日 ~ 年 月 日
	<input type="checkbox"/> 簡易型クリーンベンチ NK system MB-851	年 月 日 ~ 年 月 日
	<input type="checkbox"/> 実体顕微鏡 Olympus SZ61	年 月 日 ~ 年 月 日
	<input type="checkbox"/> 高速冷却遠心機（アングルローター付）TOMY Suprema21	年 月 日 ~ 年 月 日
	<input type="checkbox"/> ドラフトチャンバー DALTON DF-17CK（特）	年 月 日 ~ 年 月 日
	<input type="checkbox"/> 微量高速冷却遠心機 MRX-150	年 月 日 ~ 年 月 日
	<input type="checkbox"/> UVクロスリンカー Funakoshi FS-800	年 月 日 ~ 年 月 日
	<input type="checkbox"/> MinION Nanopore Protocol Mk1C	年 月 日 ~ 年 月 日
	<input type="checkbox"/> 人工気象器 TOMY CLE-305	年 月 日 ~ 年 月 日
	<input type="checkbox"/> バイオシェーカー TAITEC BR-180LF	年 月 日 ~ 年 月 日
	<input type="checkbox"/> バイオシェーカー TAITEC 23FP	年 月 日 ~ 年 月 日
	<input type="checkbox"/> バイオシェーカー BR-3000LF	年 月 日 ~ 年 月 日
	<input type="checkbox"/> 簡易型オートクレーブ LBS-245	年 月 日 ~ 年 月 日
<input type="checkbox"/> 卓上多本架遠心機 TOMY LC 06	年 月 日 ~ 年 月 日	
共通機器室 (2) GE-224	<input type="checkbox"/> 乾熱滅菌器 タバイ LC-110	年 月 日 ~ 年 月 日
	<input type="checkbox"/> CO ₂ インキュベーター エスベック BNA-111B	年 月 日 ~ 年 月 日
	<input type="checkbox"/> クリーンベンチ SHOWA S-1300	年 月 日 ~ 年 月 日
	<input type="checkbox"/> 簡易型オートクレーブ TOMY LBS-245	年 月 日 ~ 年 月 日
P1A室	<input type="checkbox"/> 簡易型オートクレーブ TOMY BS-235	年 月 日 ~ 年 月 日
共通機器室 (2)	<input type="checkbox"/> 小動物用麻酔器 夏目製作所 NARCOBIT-E II KN-10711	年 月 日 ~ 年 月 日

共通機器室 (2)	<input type="checkbox"/> 中央実験台 1500mm×750mm（半面）	No. 年 月 日 ~ 年 月 日
-----------	---	-----------------------------

備考欄：

専門委員会記入欄：

生物試料保管申込書

提出日： 年 月 日

責任者名： _____

所 属： _____

連 絡 先： _____

利用形態：（該当に☑を記入してください。）

- 資料委託
 持ち込みフリーザー設置

※試料委託の場合は以下について記入してください。

組 織：	細 胞：	その他：
------	------	------

試料の由来生物種：

試料由来生物の遺伝子改変：（該当に☑を記入してください。）

- ある ない

●試料委託の場合

委託先設備：（該当に☑を記入してください。）

- ディープフリーザー
 大型液体窒素タンク

委託量： _____

使用を希望するトレイ形式と台数：（該当に☑を記入してください。）

- 標準トレイ 台
 フリーズボックストレイ 台
 細胞保管トレイ 台

●持ち込みフリーザー設置の場合（複数台の場合は行を追加して記入してください。）

フリーザー型式：	定格電力量：	設置床面積：
	w	m ²

※フリーザーの仕様書（コピー）を併せて提出願います。

搬入予定日： 年 月 日 **年単位での使用を希望する** （希望する場合に☑）

備考欄：

専門委員会記入欄：

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2023

令和5年7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/>
