



農学解析支援の更なる充実へ

# NGRC



# ニュース

No. 7

## CONTENTS .....

### 私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

「生命科学と情報科学の融合による農学研究の拠点形成」.....	3
生物資源ゲノム解析センターの運用実績.....	4
セミナー・勉強会.....	5
平成 27 年度 学内公募一覧.....	6
学内公募事業とその成果.....	10
ボルネオ産マメジカのミトコンドリア DNA 塩基配列を用いた系統分類の再検討.....	10
加齢とミトコンドリアの品質管理機構について.....	12
マウス始原生殖細胞における性特異的遺伝子発現制御.....	13
NAK/Nokh ラットの無眼球症の発症原因の解明.....	16
エミューにおける新規遺伝マーカーの開発と、それを用いた家畜育種学的研究.....	18
メタボリックシンドロームモデルマウスに対する桑葉及び絹の効果.....	20
ニホンウズラの抗菌ペプチドに関する分子免疫学的研究.....	22
NGS を用いたニホンウズラの機能的 <i>Mhc Coja</i> クラス IIB ( <i>CjIIB</i> ) 遺伝子の解析.....	24
味幹細胞を用いた新規培養系の確立とその性質決定.....	26
5-アミノレブリン酸によるがん温熱細胞死の分子機構解析.....	28
昆虫オプシンの大規模探索の手法開発とその実践.....	30
ダイズシストセンチュウの行動制御に関する研究.....	31
ナチュラルバリエーションを利用した植物の環境ストレス耐性の解明.....	32
そうか病罹病ジャガイモ塊茎における発現遺伝子のトランスクリプトーム解析.....	34
地震を被った樹木の遺伝子発現解析—東日本震災プロジェクト—.....	36
シアノバクテリアにおける DNA 複製制御の多様性進化.....	38
食酢醸造用酢酸菌におけるストレス応答性転写制御因子の機能解析.....	40
RNA-Seq 法による発酵性微生物における高温培養時の網羅的遺伝子発現解析.....	42
出芽酵母リボソーム構成因子の転写制御に関わる Hmo1/Fpr1 の機能の解明.....	44
<i>Nocardioides</i> sp. PD653 株における好氣的 HCB 脱塩素分解酵素遺伝子の探索.....	46
花に生息する嫌気性細菌に関する研究.....	48
メタゲノム解析による草木湖の微生物生態系の解明.....	50
出産が妊婦の腸内フローラへ与える影響.....	52
研究発表実績.....	54



## ●私立大学戦略的研究基盤形成支援事業……………

### 「生命科学と情報科学の融合による 農学研究の拠点形成」

#### ～非モデル生物も対象とする東京農大の研究支援～

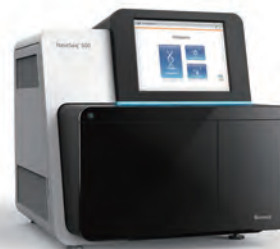
平成 25 年度より始まった私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「生命科学と情報科学の融合による農学研究の拠点形成」は、早くも 3 年目を終了する時期となりました。平成 20 年度の文科省支援事業において設置した生物資源ゲノム解析センターも足かけ 8 年目を迎えたこととなります。その間、高速 DNA シーケンサーの改良も進み、センターでは現在 5 台のシーケンサーを稼働させています。また、シーケンサーから生成されるデータ解析のためのサーバーも増設を行ってきました。さらに、研究に参加している多くのユーザーにも解析を行いやすい環境を整えるため、GUI 型の解析ソフトウェアをインストールした PC サーバーも備えています。このように、充実した高速 DNA シーケンサーの使用環境と稼働実績を有する施設は、特に農学系においては国内トップの施設といえるでしょう。

平成 27 年度も、生物生産学科、食品香粧学科、アクアバイオ学科、農学科、畜産学科、バイオセラピー学科、バイオサイエンス学科、生物応用化学科、醸造科学科、食品安全健康学科、国際農業開

発学科、生物生産技術学科と、オホーツク、厚木、世田谷の 3 キャンパスから利用があり、高速 DNA シーケンサーから得られるデータが、先生方の研究に欠かせないツールになってきていると感じております。また、このことは農学分野においてこの技術が非常に有効であることを示しており、本学がそれを先導しているといえるのではないのでしょうか。今後ますますの成果発表が期待されます。

引き続き、本学の研究推進支援に資する組織として、先生方のご協力を仰ぎながらゲノムセンターとしての実績を積んでいきたいと考えております。今後ともどうぞよろしくお願い申し上げます。

生物資源ゲノム解析センター長  
矢嶋俊介



## ●生物資源ゲノム解析センターの運用実績……………

東京農業大学生物資源ゲノム解析センターは、教員、博士研究員、技術員、事務員のスタッフが所属し、次世代シーケンサー（NGS）と呼ばれる DNA 解読機器を使った研究の推進・支援を行っています。スタッフは、NGS のためのサンプル調製や試薬の管理、装置の操作・保守、情報解析などを担当し、NGS 解析に関わる研究の体制を整えています。

当センターは、Illumina 社の次世代シーケンサー 5 台（HiSeq 2500、MiSeq 2 台、NextSeq 500、Genome Analyzer IIx）と、情報解析サーバー 10 台（総メモリー数約 6TB、総ハードディスク容量約 628TB）を所有しており、現在までに解析したサンプル数の累計は約 7400 サンプル、総塩基長は約 27Tbp に達します（図 1）。また、平成 28 年 1 月末現在、約 90 件の研究プロジェクトの塩基配列データが公開データベースに登録されており、今後さらに増える予定です。

平成 27 年度は、56 件の研究プロジェクトが登録されています。それらの解析目的別サン

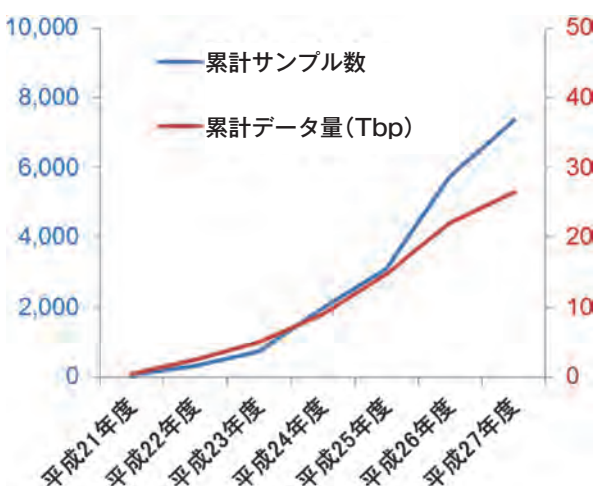


図 1 累計サンプル数（青）と累計データ量（赤）

プル数（図 2）をまとめると、RNA-seq が半分以上を占めており、リシーケンス解析、エピゲノム解析、de novo 解析、メタゲノム解析と続いています。RNA-seq 解析では、特に農学分野で重要な非モデル生物が多く研究されています。今年度に導入した NextSeq 500 は、特に RNA-seq に適しており、より一層 RNA-seq 解析が推進されると思われます。

NGS に関連する技術の進歩は非常に早く、様々なサンプル調製や解析の方法が開発されています。当センターでも年々技術を更新しており、例えば、昆虫などの微小生物からのナノオーダーの微量ゲノム DNA や RNA、数細胞からのピコオーダーの超微量 RNA のサンプル調製に対応することや、サンプル調製時のコスト削減により、大規模な RNA-seq や RAD-seq などにも対応してきました。また、データ解析でも必要に応じて、新しい解析技術を取り入れており、今後もその努力を続け、本学のゲノム解析の推進・支援を行っていきます。

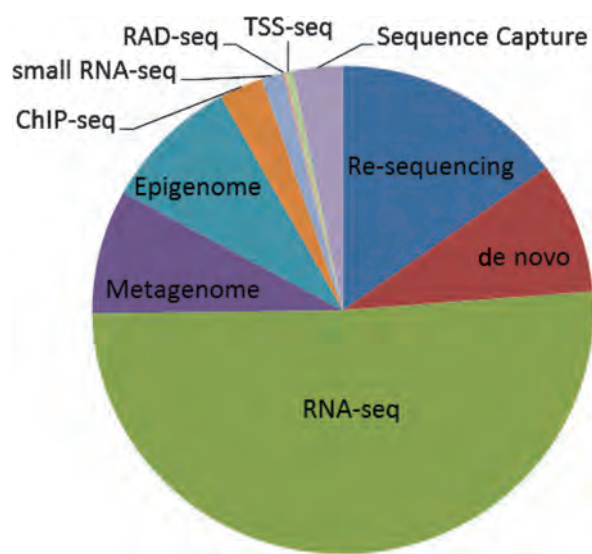


図 2 平成 27 年度解析手法別サンプル数

内山博允（生物資源ゲノム解析センター）

## ●セミナー・勉強会.....

研究者交流を目的としたセミナー・勉強会を行っています。今年度はセミナーとして国内から4名の講師の先生方をお招きし「NGSデータの入手からデータベースの構築まで」および国内外から2名の講師の先生方をお招きし「特別講演」を主催し、学内利用者、研究員の間で

最新の解析法や研究成果について情報交換会を行いました。また、学内利用者向けの勉強会として「CLC Genomics Work Benchハンズオンセミナー@農大」を主催し、CLC Genomics Work Benchの解析手法を学んでいただきました。



「NGSデータの入手からデータベースの構築まで」：左上から小松憲治先生（東京農業大学）、田中剛先生（農業生物資源研究所）、中村保一先生（国立遺伝学研究所）、花田耕介先生（九州工業大学）



「特別講演」：Matthew C. Lorincz先生（University of British Columbia）（左上）、Jafar Sharif先生（理化学研究所）（右上）



CLC Genomics Work Benchハンズオンセミナー@農大

## ●平成27年度 学内公募一覧 .....

1. 岩田 尚孝 (農学部 畜産学科)  
「老化がウシの妊孕性に与える影響とその制御に関する研究」
2. 松林 尚志 (農学部 バイオセラピー学科)  
「ボルネオ産マメジカのミトコンドリア DNA 塩基配列を用いた系統分類の再検討」
3. 村上 覚史 (農学部 畜産学科)  
「食品起因感染症原因菌制御のための次世代シーケンサーを用いた進化系統グループの解明」
4. 岩槻 健 (応用生物科学部 食品安全健康学科)  
「消化管幹細胞を用いた新規培養系の確立とその性質決定」
5. 和田 健太 (生物産業学部 生物生産学科)  
「次世代シーケンス解析に基づく眼球疾患モデル動物の発症原因遺伝子および修飾遺伝子の同定」
6. 和田 健太 (生物産業学部 生物生産学科)  
「エミューのゲノム情報の蓄積と、それを用いた家畜育種学的研究」
7. 岩田 尚孝 (農学部 畜産学科)  
「希少鳥類の保存に向けた鳥の iPS 細胞樹立の取り組み」
8. 伊藤 晋作 (応用生物科学部 バイオサイエンス学科)  
「トウダイグサ科植物の生産する生理活性ジテルペノイド生合成研究」
9. 伊藤 晋作 (応用生物科学部 バイオサイエンス学科)  
「ヒメツリガネゴケが生産するジベレリン様成長制御物質の生合成・シグナル伝達経路の解明」
10. 吉川 博文 (応用生物科学部 バイオサイエンス学科)  
「合成代謝経路構築によるシアノバクテリアでのバイオアルコール生産」
11. 半澤 恵 (農学部 畜産学科)  
「ニホンウズラの腸内細菌叢と免疫応答との相互作用」
12. 篠原 卓 (短期大学部 生物生産技術学科)  
「ジャボチカバの系統識別ができる高精度マーカーの開発」
13. 篠原 卓 (短期大学部 生物生産技術学科)  
「登熟期間中の高気温によって誘起されるエンドウ種子の生理障害 (Hollow Heart) 発生過程におけるトランスクリプトーム解析」
14. 小栗 秀 (生物産業学部 生物生産学科)  
「ホップの香気成分生合成に関与する遺伝子群のトランスクリプトーム解析」
15. 小栗 秀 (生物産業学部 生物生産学科)  
「そうか病罹病ジャガイモ塊茎における発現遺伝子のトランスクリプトーム解析」
16. 小栗 秀 (生物産業学部 生物生産学科)  
「チョウセンアサガオ果実に発現する遺伝子のトランスクリプトーム解析」
17. 桑山 岳人 (農学部 畜産学科)  
「ニワトリの就巢行動誘発制御遺伝子の特定」



18. 石川 森夫 (応用生物科学部 醸造科学科)  
「好塩性・好アルカリ性乳酸菌 *Marinilactibacillus psychrotolerans* の炭素源代謝関連酵素遺伝子群に着目した RNAseq によるトランスクリプトーム解析」
19. 佐々木 剛 (農学部 バイオセラピー学科)  
「分子遺伝学的手法を用いたニホンカワウソの系統学的位置づけ」
20. 田村 倫子 (応用生物科学部 食品安全健康学科)  
「耐糖性酵母 *Zygosaccharomyces mellis* の浸透圧耐性メカニズムに関する研究」
21. 中山 俊一 (応用生物科学部 醸造科学科)  
「RNA-Seq 法による発酵性微生物における高温培養時の網羅的遺伝子発現解析」
22. 中山 俊一 (応用生物科学部 醸造科学科)  
「醸造酵母のゲノム比較解析」
23. 中山 俊一 (応用生物科学部 醸造科学科)  
「醸造酵母の網羅的遺伝子発現解析による香気・呈味成分生合成機構の解明」
24. 入江 憲治 (国際食料情報学部 国際農業開発学科)  
「起源の異なる半矮性遺伝子 *sd-1* を持つイネ同質遺伝子系統における節間および穂のトランスクリプトーム解析」
25. 長島 孝行 (農学部 農学科)  
「メタボリックシンドロームモデルマウスに対する桑葉及び絹の効果」
26. 長島 孝行 (農学部 農学科)  
「アスコルビン酸産生欠損マウス (SMP30/GNL ノックアウトマウス) の各臓器における次世代 RNA シーケンスによる遺伝子発現の網羅的解析」
27. 夏秋 啓子 (国際食料情報学部 国際農業開発学科)  
「パイア輪点ウイルスおよび関連に見られる 2 バイオタイプの類別と宿主内での動態」
28. 川崎 信治 (応用生物科学部 バイオサイエンス学科)  
「①極限環境から単離された微細藻類の環境ストレス耐性機構に関する研究②花に共生する微生物叢のメタゲノム解析」
29. 千葉櫻 拓 (応用生物科学部 バイオサイエンス学科)  
「ヒト染色体複製開始領域におけるサイクリン A, E と Mcm7 の相互作用解析」
30. 千葉櫻 拓 (応用生物科学部 バイオサイエンス学科)  
「5- アミノレブリン酸によるがん温熱細胞死の分子機構解析」
31. 太治 輝昭 (応用生物科学部 バイオサイエンス学科)  
「ナチュラルバリエーションを利用した植物の環境ストレス耐性の解明」
32. 田中 尚人 (応用生物科学部 菌株保存室)  
「*Nocardioides* sp. PD653 株における好氣的 HCB 脱塩素分解遺伝子の単離・同定」
33. 小塩 海平 (国際食料情報学部 国際農業開発学科)  
「青葉アルデヒドによるトマト果実の代謝制御機構の解明」
34. 藤本 尚志 (応用生物科学部 醸造科学科)  
「メタゲノム解析による草木湖の微生物生態系の解明」
35. 林 隆久 (応用生物科学部 バイオサイエンス学科)  
「植物におけるキシログルカンの役割と進化」

36. 長島 孝行 (農学部 農学科)  
「昆虫オプシンの大規模探索の手法開発とその実践」
37. 遠藤 明仁 (生物産業学部 食品香粧学科)  
「出産が妊婦の腸内フローラへ与える影響」
38. 小林 万里 (生物産業学部 アクアバイオ学科)  
「核ゲノム散在性反復配列を用いたゴマフアザラシとゼニガタアザラシの交雑の実態解明に関する研究」
39. 田中 良明 (農学研究科 バイオサイエンス専攻)  
「RNA-seq を利用したトビイロウンカの表現型多型を発現する分子機構の解明」
40. 貝沼 章子 (応用生物科学部 醸造科学科)  
「酢酸菌における代謝経路および遺伝子発現制御に関する研究」
41. 坂田 洋一 (応用生物科学部 バイオサイエンス学科)  
「異なる重力環境で育成したヒメツリガネゴケにおける発現変動遺伝子の解析」
42. 佐々木 康幸 (応用生物科学部 バイオサイエンス学科)  
「微生物の一酸化窒素耐性に関わる遺伝子の解析」
43. 吉川 博文 (応用生物科学部 バイオサイエンス学科)  
「細胞における増殖停止期の生存戦略ならびに変異蓄積と進化に関する理論構築」
44. 尾畑 やよい (応用生物科学部 バイオサイエンス学科)  
「卵母細胞の発育機構に関与する新規因子の探索」
45. 吉川 博文 (応用生物科学部 バイオサイエンス学科)  
「耐熱化ザイモモナス菌の耐熱化機構の解析」
46. 坂田 洋一 (応用生物科学部 バイオサイエンス学科)  
「ヒメツリガネゴケを用いた低温順化プロセスの解析」
47. 三井 裕樹 (農学部 バイオセラピー学科)  
「資源・薬用となる野生植物の遺伝学的解析に向けた EST-SSR マーカーの効率的開発」
48. 伊藤 晋作 (応用生物科学部 バイオサイエンス学科)  
「ダイズシストセンチュウの行動制御に関する研究」
49. 田中 尚人 (応用生物科学部 菌株保存室)  
「乳酸菌の細胞壁合成制御のネットワーク解析」
50. 吉川 博文 (応用生物科学部 バイオサイエンス学科)  
「原始紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* のコヒーシオン ChIP-Seq 解析」
51. 佐々木 康幸 (応用生物科学部 バイオサイエンス学科)  
「放線菌における NO 応答遺伝子の解析」
52. 田中 尚人 (応用生物科学部 菌株保存室)  
「*Nocardioides* sp. PD653 株の好氣的 HCB 脱塩素分解遺伝子の探索」
53. 笠原 浩司 (応用生物科学部 アイソトープセンター)  
「出芽酵母リボソーム構成因子の転写制御に関わる Hmo1/Fpr1 の機能の解明」
54. 小林 久人 (生物資源ゲノム解析センター)  
「哺乳動物におけるゲノム刷り込み機構の解析」



55. 伊藤 晋作（応用生物科学部 バイオサイエンス学科）  
「植物寄生性線虫の宿主認識に関与する根圏微生物群の動態解析」
56. 長島 孝行（農学部 農学科）  
「野蚕の絹糸腺における発現遺伝子の網羅的解析」
57. 坂田 洋一（応用生物科学部 バイオサイエンス学科）  
「シロイヌナズナの ABA 応答における選択的スプライシング制御の解析」

## ●学内公募事業とその成果 .....

### ボルネオ産マメジカのミトコンドリア DNA 塩基配列を用いた系統分類の再検討

マメジカはマメジカ科という独立した科を持ち、ウシ科やシカ科などの反芻亜目の中で最初に分岐した原始的な反芻動物である。マメジカはアジア・アフリカの熱帯雨林に生息し、10種に分類されている。その内、ボルネオ島やマレー半島の種は、Lesser mouse-deer あるいは Lesser Oriental Chevrotain (*Tragulus kanchil*) と呼ばれている (Fig. 1)。*Tragulus kanchil* のミトコンドリア DNA は、Hassanin *et al.* (2012) によって報告されているが、アジア大陸のラオス産である。近年、分子生物学的解析により、スンダランドに由来するアジア大陸、スマトラ島、そしてボルネオ島に分布する種に関して、これまで同種と思われたものが別種として扱われることが増えてきている (たとえばオランウータンやウンピョウなど)。このことから、ボルネオ産 *Tragulus kanchil* は、ラオス産 *Tragulus kanchil* とは遺伝的に大きく異なる可能性が考えられた。

筆者らは 1998 年にボルネオ島のマレーシア・サバ州カビリ・セピロク森林保護区で捕獲した *Tragulus kanchil* の耳片をエタノールに浸漬したものを解析に用いた。試料からゲノム DNA を抽出し、HiSeq 2500 にて全ゲノムシーケンスした。3 頭のリードから *de novo assembly* によってそれぞれ 16,356 bp (x178.1)、16,329 bp (x313.0) および 16,312 bp (x205.3) の配列を得た。さらに、ラオス産の *Tragulus kanchil* ミトコンドリア DNA をリファレンスとして mapping したところ、16,331 bp、16,327 bp および 6,334 bp のコンセンサス配列を得た。両者の配列を比較したところ、coding sequence、tRNA、rRNA は 100% 一致した。そこで、Nikaido *et al.* (2012) にならい、12 個の H 鎖の coding sequence を利用して系統解析と分岐年代推定をおこなった。

最尤法による系統解析の結果、ラオス産 *Tragulus kanchil* と単系統群を作り、ミズマメジカ (*Hyemoschus aquaticus*) とは姉妹系統群となった (Fig. 2)。また、他の反芻亜目とは既報の通り、



Fig. 1. マメジカ

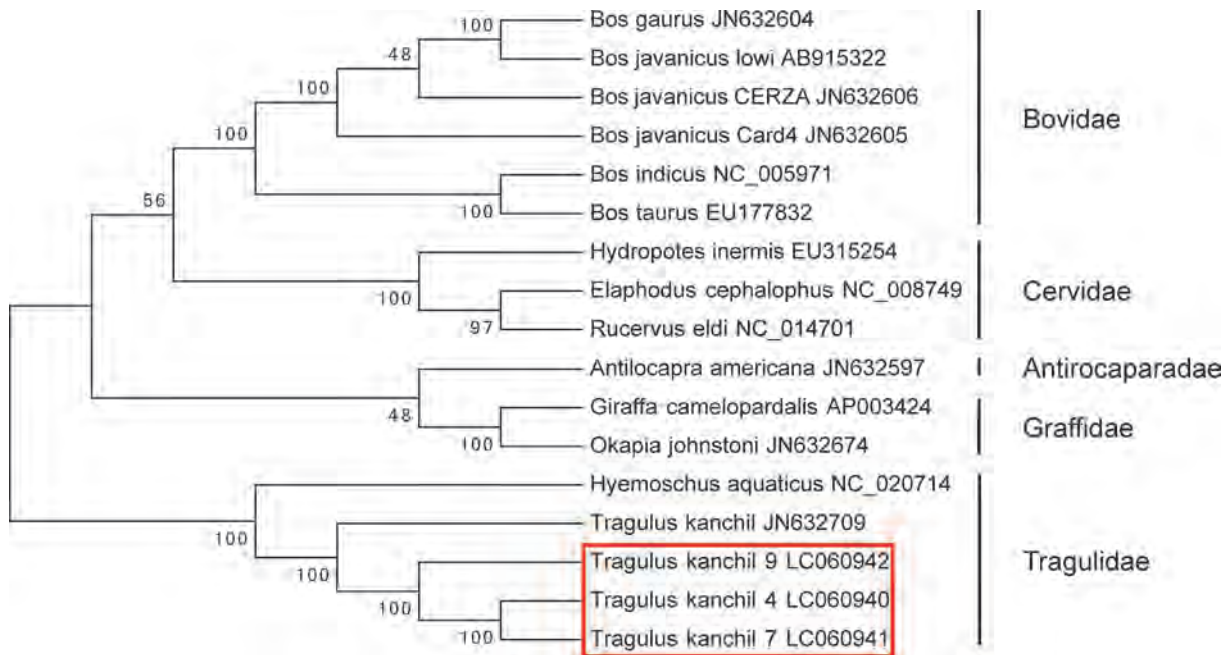


Fig. 2. ボルネオ産マメジカを含めた反芻亜目の系統関係  
\*赤枠：ボルネオ島のマメジカ

異なる群となった。

今後は、全ゲノムシーケンスのデータから核ゲノム由来のDNAを同定し、マメジカのより詳細な系統進化を明らかにしていく予定である。

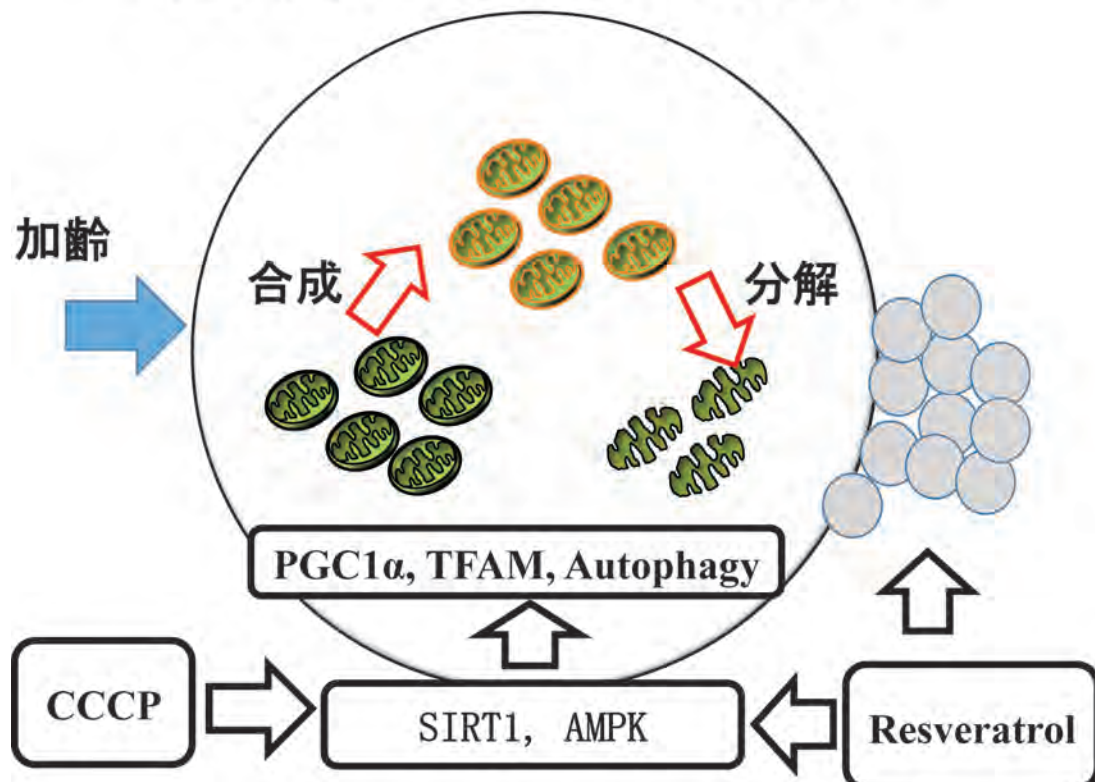
石毛太郎 (生物資源ゲノム解析センター)  
半澤 恵 (農学部 畜産学科)  
松林尚志 (農学部 バイオセラピー学科)



## 加齢とミトコンドリアの品質管理機構について

加齢に伴い、卵子のミトコンドリアの質や数が減少する。遺伝子発現解析により卵子や顆粒層細胞ではミトコンドリアの機能や酸化ストレス関連の遺伝子群の発現が変化する。細胞の内部ではミトコンドリアの品質を管理する機構が存在し合成と分解を行っている。ブタの卵子を脱共役剤にて処理すると ATP の極端な低下の後、AMPK や SIRT1 の活性化と活発なミトコンドリアの合成と分解が観察された。そこで SIRT1 を介したミトコンドリアの合成と分解に着目してレスベラトロールで卵子を処理したところ同様に活発なミトコンドリアの合成と分解が確認され卵子の能力が改善した。加齢ウシから採取した未発育な卵子の体外培養条件にレスベラトロールを添加すると顆粒層細胞の性状が退行卵胞様から正常な卵胞に近づくことが遺伝子解析で確認され、卵子中のミトコンドリアも増加する結果となった。一方で完全に発育した加齢ウシ卵子をレスベラトロール処理した場合、ミトコンドリアの分解が活性する一方で、合成が低調であることも示され、品質管理機構が加齢によって変化していることも明らかになった。

### ミトコンドリアの質改善 と 数の増加



加齢ウシの卵子ではミトコンドリアの質が低下し、数が減少する。卵子のレスベラトロール処理は SIRT1 の発現を増やしミトコンドリアの合成やオートファジー等を介した分解を亢進させ、結果ミトコンドリアを更新する働きがあり、卵子の質を改善する。またレスベラトロールは卵子周囲の細胞にも働き、長期培養を伴う卵子の体外発育を改善する。一方でミトコンドリアの品質管理機構は加齢に伴い、ミトコンドリアの合成が不活発になる等、変化する。

岩田尚孝（農学部 畜産学科）

## マウス始原生殖細胞における性特異的遺伝子発現制御

生殖細胞の起源となる始原生殖細胞 (PGC) は、胎齢 (E) 7.25 の尿膜基底底部において体細胞とは全く異なる細胞運命を秘めて出現することが知られている。PGC は、E13.5 までの移動期にかけてエピゲノム情報が消去され、多能性関連遺伝子の発現が活性化される。この未分化様の PGC は生殖巣に定着することで、体細胞の性に依存した性分化を起こすことが報告されている (図 1)。現在までに、生殖巣において多数の性分化を制御する因子が同定されているにもかかわらず、ゲノム全体の転写産物およびクロマチン修飾が性分化に伴い、どのような変遷をたどるか十分な理解が得られていない。本研究では PGC における性分化の分子機構を明らかにすることを目的として、RNA-seq および ChIP-seq 法を用いて性分化の起点となる E13.5 雌雄 PGC の網羅的転写産物ならびにエピゲノム解析を行った。

受精後 13.5 日の Oct4-ΔPE-GFP マウス胚の雌雄生殖隆起から細胞懸濁液を作製し、セルソーターを用いて RNA-seq および ChIP-seq に用いる PGC を採取した。RNA-seq ライブラリーの構築は、PGC の total RNA を鋳型に逆転写反応を行い、得られた cDNA ライブラリーにアダプター配列を付加することにより行った。ChIP-seq ライブラリーは、PGC のクロマチンを抽出後、断片化されたクロマチンを抗 H3K4me3 抗体もしくは抗 H3K27me3 抗体で免疫沈降し、ChIP ライブラリーおよび Input ライブラリーをそれぞれ作製した。これらの作製したライブラリーを HiSeq2500 シークエンサーに供試し、RNA-seq および ChIP-seq を行った。

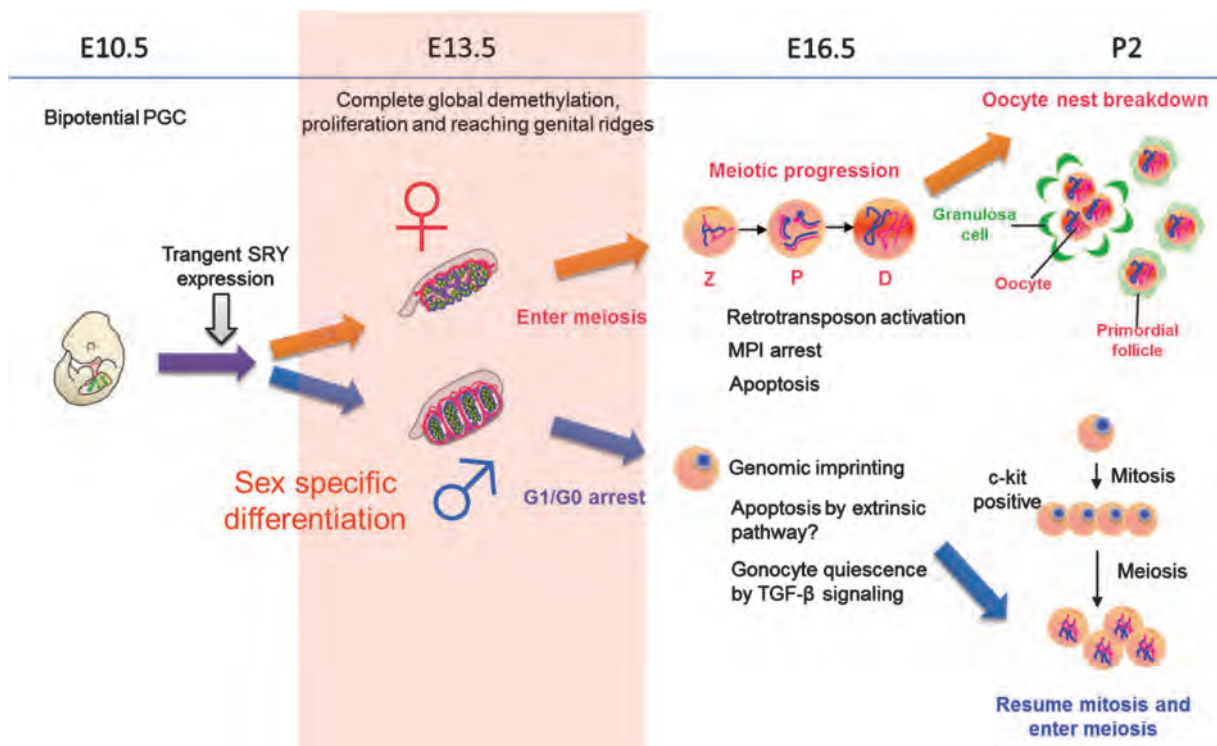


図 1. PGC の性特異的の分化機構

生殖巣到達後 (E13.5 以降)、雌性 PGC は減数分裂に移行し、雄性 PGC は出生まで有糸分裂を停止する。本研究において、次世代シーケンサーに供試したサンプルを赤で示した。

転写産物の性差に焦点をあて、雌雄間の発現変動遺伝子を抽出した結果、それぞれ 651 (Female specific expressed gene: FSG) ならびに 428 (Male specific expressed gene: MSG) の性特異的発現遺伝子群を同定した (図 2)。また、生物学的意義の検証の結果、FSG および MSG それぞれに多くの転写制御因子群が含まれていることが明らかになり、これらが雌雄 PGC の性特異的な細胞分化プロセスを支配する可能性が示唆された。

加えて、シングルセル RNA-seq データセットの階層的および非階層的クラスタリングの結果、雌雄 PGC 間で明確なクラスターが形成されていた。この結果は、E13.5 の PGC は単一細胞レベルで性特異的な運命決定を受けていることを示している (図 3)。興味深いことに、生殖細胞特異的遺伝子やハウスキーピング遺伝子は個々の PGC 間で発現量の差は検出されないのにも関わらず、アポトーシス関連遺伝子などの特定の遺伝子群には高い発現量のばらつきが認められた。従って、マウス PGC は高いヘテロ性を保有した細胞集団であることが考えられる。

さらに、これらの性特異的発現遺伝子群の転写が、どのようなエピゲノム修飾によって制御されているか解析した結果、転写開始点近傍の DNA メチル化レベルは、雌雄共に低メチル化 (< 3%) を示すのに

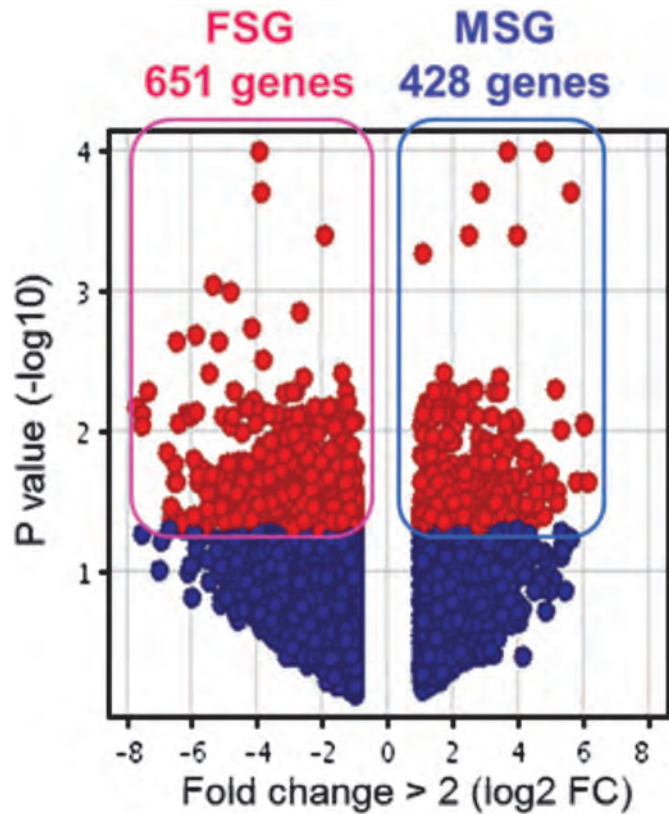


図 2. E13.5 雌雄 PGC における性特異的遺伝子群の検出

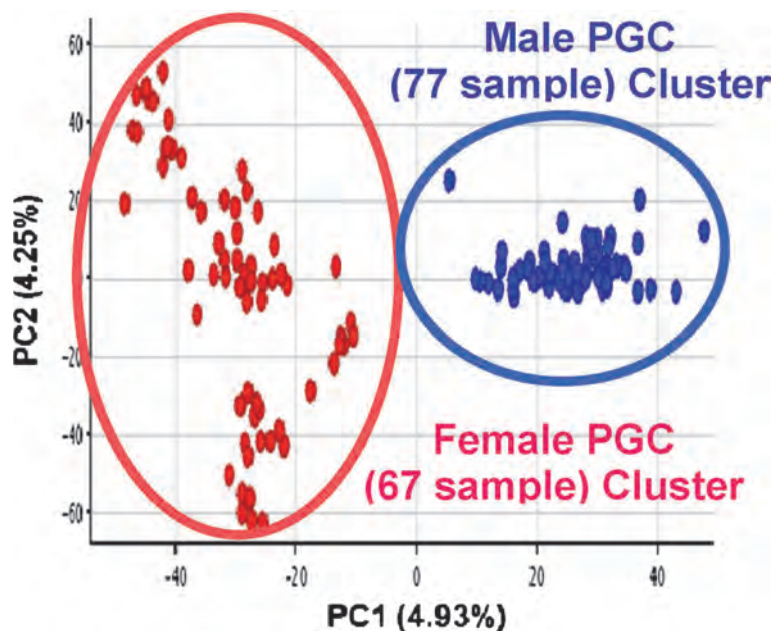


図 3. シングルセル RNA-seq 主成分分析結果



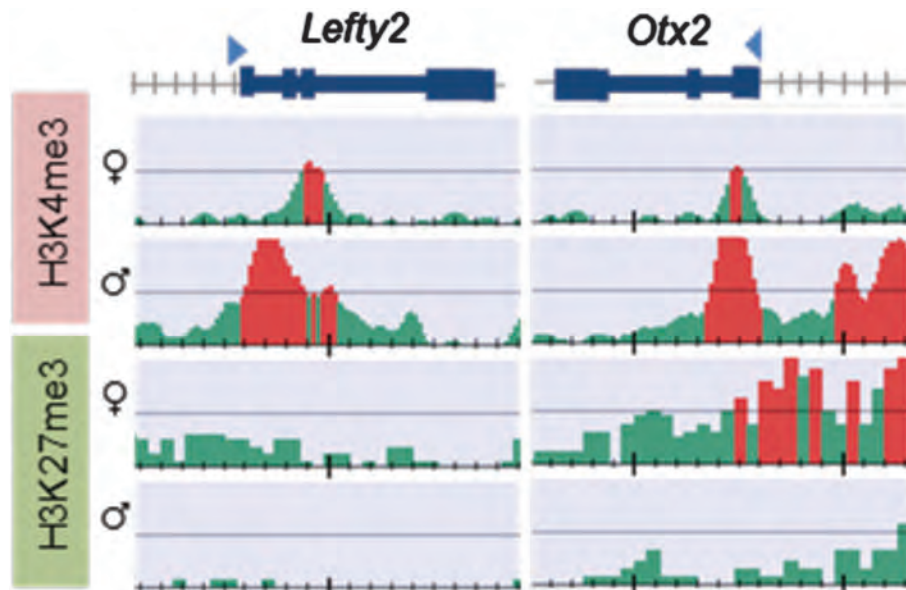


図 4. 雌雄 PGC Lefty2、Otx2 (MSG) 遺伝子座における H3K4me3、H3K27me3 の蓄積

対し、転写活性化マーカーである H3K4me3 と転写抑制マーカーである H3K27me3 のピークは相互に排他的な傾向が確認され、これらのクロマチン修飾が雌雄 PGC における FSG および MSG の発現を制御していることが示唆された (図 4)。これらの結果から、雌雄 PGC における性特異的な遺伝子発現機構は、DNA メチル化非依存的にクロマチン修飾を介して制御されていることが考えられる。しかしながら、本研究における ChIP-seq による解析結果からは、H3K4me3/H3K27me3 が共に存在する Bivalent な修飾状態および双方のピークが検出されないクロマチン領域も確認できたため、この性特異的な遺伝子発現機構について今後さらに詳細な解析が必要である。

坂下陽彦 (大学院農学研究科バイオサイエンス専攻)  
 川畑順子 (応用生物科学部 バイオサイエンス学科)  
 神長裕子 (応用生物科学部 バイオサイエンス学科)  
 小林久人 (生物資源ゲノム解析センター)  
 河野友宏 (応用生物科学部 バイオサイエンス学科)

## NAK/Nokh ラットの無眼球症の発症原因の解明

ヒト小眼球症は 10,000 人に 1 人の割合で発症し、そのほとんどの患者が視力を欠失する極めて重篤な先天性眼球疾患である。これまでに、いくつかの遺伝子の突然変異がその発症原因として同定されているものの、当該疾患にみられる病態の不均一性、発症に関与する複数の遺伝的要因、環境要因、ならびにそれらの相互作用の存在から、多くの症例において発症原因が明らかにされていない。そこで、ヒト小眼球症モデル動物を樹立し、その発症責任遺伝子を同定することは、ヒト小眼球症の発症メカニズムを解明する上で、重要な情報を提供することと考えられる。

我々はヒト小眼球症モデルとなり得る劣性の突然変異系統である *Nodai aphakia* (NAK/Nokh) が、他の系統との交雑個体が両眼または片眼性の無眼球および小眼球症などの不均一な表現型を示すこと、その主要な発症原因が第 16 番染色体に存在することを報告してきた (図 1)。しかしながら、第 16 番染色体の広範囲の領域がヘテロ接合性のハプロタイプを示す個体においても無眼球症が認められることから、第 16 番染色体の他にも NAK の無眼球症に関与する遺伝子が存在することと推測された。そこで本研究では、NAK と Brown Norway (BN) 系統との戻し交配個体における左右それぞれの眼球の表現型、および完全な眼球欠損個体を除外した個体群について連鎖解析を実施した。左眼の眼球重量を指標にした連鎖解析では、これまでの結果と同様に第 16 番染色体に、右眼では 14 番および 2 番染色体に 16 番染色体よりも高い LOD スコアを示すピークが検出され、特に 14 番染色体において最大の LOD スコアが認められた。また、眼球欠損個体を除外した戻し交配個体群では、16 番染色体に最も高い LOD スコアを検出したのに加えて、2 番、10 番および 14 番染色体にも比較的高い LOD スコアが認められた。以上の結果から、本研究では NAK において左右の無眼球症を引き起こす複数の遺伝子座、特に 14 番染色体に強い効果を有する遺伝子座の存在を確認し、さらに

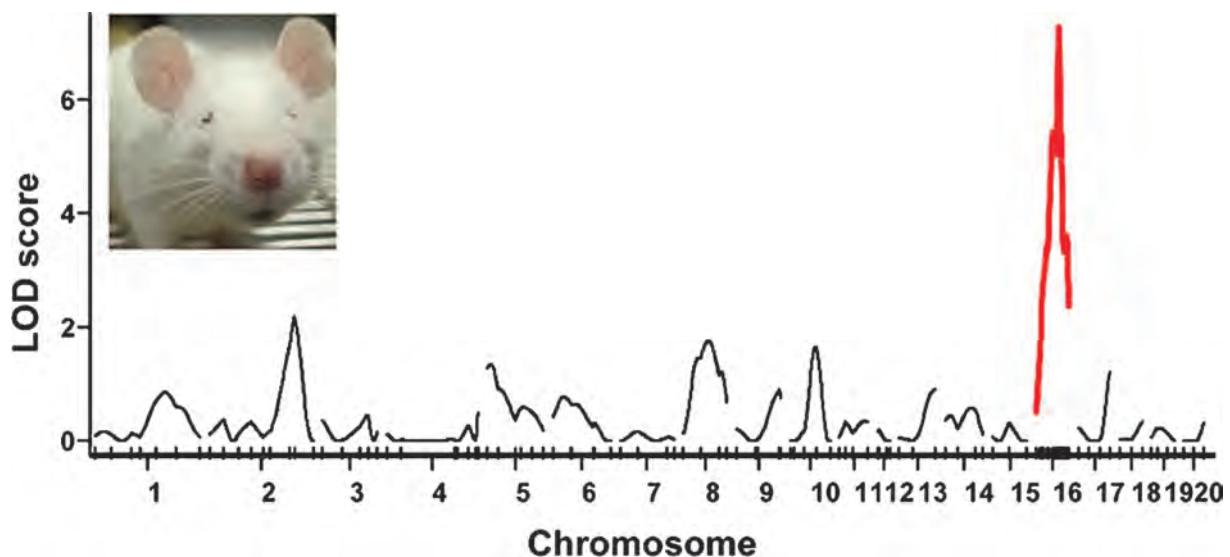


図 1. NAK/Nokh ラットの無眼球症原因遺伝子座

眼球重量を修飾する遺伝子が16番染色体に加えて、2番、10番および14番染色体に存在することを示唆した。現在はWGSにより検出された当該領域における突然変異と、NAKラットの表現型の関連性について解析を進めている。一方、これまでのRNA-seq解析ではNAKにおいて*Rax*および*Chx10*をはじめとする網膜の発生誘導因子に著しい発現量の低下が認められた。そこでSOX2、CHX10およびBrdUの免疫組織化学的解析を行った結果、NAKの網膜にはそれらのシグナルの著しい減少が認められた。このことから、NAKの無眼球症は網膜組織の発生異常に起因することと推測し、それを引き起こす遺伝子変異を引き続き検索している。

和田健太（生物産業学部 生物生産学科）

大久保咲（大学院生物産業学研究科生物生産学専攻）

宗形春花（生物産業学部 生物生産学科）

内山博允（生物資源ゲノム解析センター）



## エミューにおける新規遺伝マーカーの開発と、 それを用いた家畜育種学的研究

エミュー (*Dromaius novaehollandiae*) はダチョウに次いで2番目に大型の走鳥類であり、肉、皮下脂肪、卵などを生産する新規動物資源として注目されている (図1)。このため、オホーツクキャンパスの所在する網走市では、エミューによる新産業創出に期待が寄せられている。特に、エミューの脂肪から抽出される良質なオイルは市場価値が高く、エミュー産業の中心を担うだけでなく、他の家畜との差別化を図る上でも重要な素材である。一方、現状の飼育形態は自然繁殖による集団飼育である上に、一妻多夫および多妻多夫、ならびに雄が抱卵を担当する習性から、その遺伝的改良を行うための家系情報の取得は困難なものとなっている。

そこで本研究では、エミューオイル生産形質の効率的な遺伝的改良のための遺伝マーカーの開発を試みている。これまでに既存の6種のマイクロサテライトマーカーを用いたオホーツクエミュー集団の遺伝的多様性の評価、ならびに16種のエミュー新規マイクロサテライトマーカーを開発し、さらにオホーツク集団に他の家畜において生産形質との関連が示唆されている *LEPR* および *SCD* に非同義置換を伴う多型を検出してきた。現在は我々が独自に開発したマイクロサテライトマーカーの有用性を評価するとともに、*LEPR* および *SCD* の遺伝子型とオイル生産形質との関連を調査したいと考えている。

一方、我々はこれまでにエミューにおける新規マイクロサテライトマーカーの開発と系統選抜へ向けた個体識別法の確立に取り組んできたものの、そのゲノム情報を利用した家畜育種学的研究には、さらなる遺伝マーカーの単離が必要であると考えられた。そこで、エミューのゲノムシークエンスデータ (SRX252417 および SRX252416) でアセンブルを行い、得られた配列から QDD によりマ

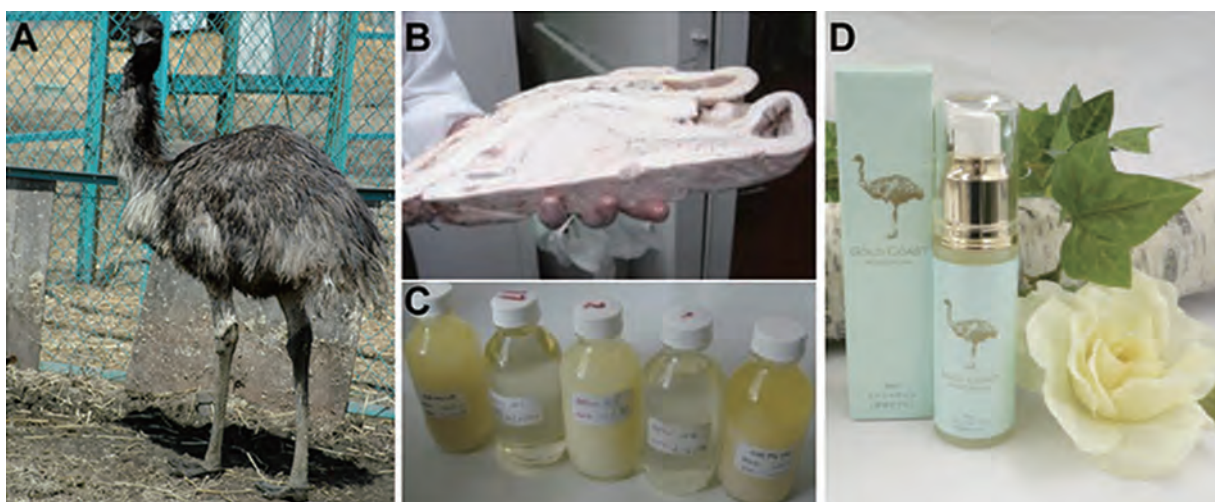


図1. エミューの最も経済的価値の高い生産物、エミューオイル。

(A) エミューの成長。(B) エミューの皮下脂肪。(C) 脂肪から精製されたオイル。(D) オイルを原料としたスキンケア商品。

マイクロサテライト領域の抽出を試みた。その結果、10回以上の繰り返しを有する253種のエミュー新規マイクロサテライトマーカーの候補を抽出した。今後はこれらの多型性を検証していきたい。さらに、オイル生産形質と関連するマーカーを検索するためのRAD-seq解析、およびエミュー脂肪組織に高発現する遺伝子の探索を目的としたRNA-seq解析についても計画しており、エミューのオイル生産形質の改善に向けたゲノム情報を蓄積したいと考えている。

和田健太（生物産業学部 生物生産学科）

下井 岳（生物産業学部 生物生産学科）

相馬幸作（生物産業学部 生物生産学科）

内山博允（生物資源ゲノム解析センター）

## メタボリックシンドロームモデルマウスに対する 桑葉及び絹の効果

国内の養蚕業が低迷するなかであって、養蚕、製糸は日本の伝統的な技術・文化であり、時代の流れに従って衰退させるのではなく、新たな用途の開拓によってその技術を次世代に生かさなければならぬ。そのために我々は、桑葉及び絹が以前から健康食品として使用されてきた背景に着目し、西洋型食餌（高シヨ糖、高脂質）によって誘発されたメタボリックシンドローム（MS）モデルマウスに桑葉及び絹を投与し、その糖代謝、脂質代謝などに関する作用を RNA シーケンスによって遺伝子レベルで網羅的に解析し、それらの効果を検証することを目的とした。

西洋型食餌（高シヨ糖、高脂質）によって誘発されたメタボリックシンドロームモデルマウスに桑葉及び絹を投与し、その糖代謝、脂質代謝などに関する作用を RNA シーケンスによって遺伝子レベルで網羅的に解析した。具体的には、C57BL/6J マウス（5 週齢：♂）を Normal（ND）群、ウエスタンダイエット（WD）群、WD 飼料をベースに桑葉粉末を 1% 配合した（ML1）群、シルクパウダーを 0.2% 配合した（SF02）群の 4 群に分け、約 80 日飼育し、飼育最終日にマウスを解剖、血液を採取、肝臓を摘出した。血液から血漿生化学的検査を実施し、肝臓の一部はカルノフスキー氏固定液、1.0% 四酸化オスミウムで二重固定後、エポキシ樹脂包埋して組織切片を作成した。さらに、肝臓から Total RNA を抽出し、定量と分解度を測定後、mRNA を分離した。各群 3 反復（個体）でライブラリを作製し、それぞれシーケンスを行い約 2000 万のリード配列を取得した。リード配列のトリミングを行い、マッピングされた配列により遺伝子の発現量を計算し、WD を基準とし遺伝子発現の結果を比較した。

その結果、WD 群は個体あたりの肝臓重量や血漿中の中性脂肪（TG）、総コレステロール（TCHO）、グルコース量（GLU）、肝逸脱酵素（GOT、GPT）において ND 群に比べ有意に高値を示し（ $P < 0.01$ ）、MS を誘発したといえる。一方、体重あたりの平均肝臓重量（肝重量）、中性脂肪（TG）値において ND 群に比べ WD 群では有意に増加（ $P < 0.01$ ）したが、WD 群に比べ ML1 群では肝重量と TG で、SF02 では肝重量と TCHO で有意な抑制（ $P < 0.01$ ）が見られた。さらに、肝臓の組織切片観察では、WD 群と比べ ML1 群、SF02 群には脂肪滴沈着の抑制が確認できた。RNA-seq では、統計的に有意（ $FDR < 0.05$ ）な発現変動遺伝子（DEG）について WD を基準に見てみると、ND とは 117、ML1 とは 64、SF02 とは 36 であった。それらの遺伝子を用い、Ingenuity Pathway analysis（IPA）によりパスウェイ解析を行ったところ、WD と比較すると全ての条件で脂質代謝に関わる遺伝子に変化があることがわかった。特に不活化している毒性機能を見てみると、ML1、SF02 でともに肝臓脂肪症を不活性化していると予測され、また肝臓の壊死や炎症も不活性化していることが予測された（図 1）。これらを解釈すると、おそらく WD と比べ脂肪肝になることを防いだことにより、肝臓のダメージが軽減されたのだと思われる。さらにインシュリン抵抗性を不活性化していることも予測された。ML1 と SF02 を比べると、肝臓脂肪症とインシュリン抵抗性のどちらに対しても ML1 の不活性化の傾向が大きかった。今後、桑葉と絹での DEG の差を含めた結果を詳細にみることにより、それぞれの効果のさらなる検証を行う。



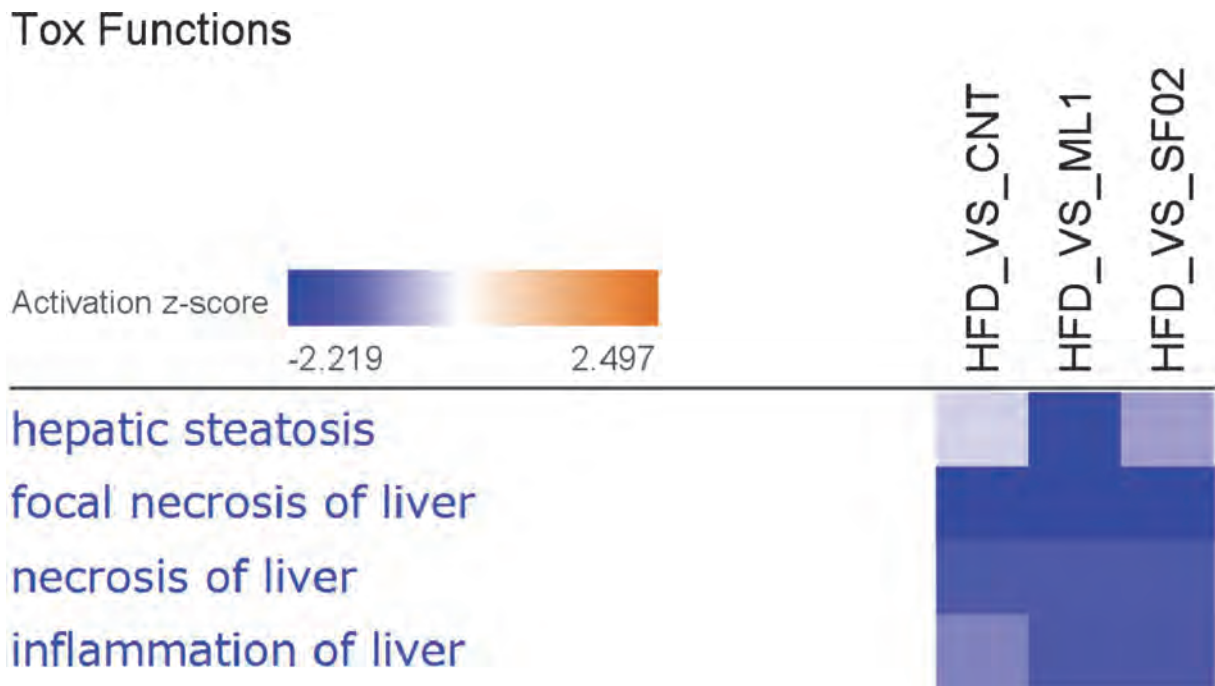


図1 IPAでの解析結果の一部。WD（図ではHFD）と比較すると、ND群（図ではCNT）と同様、ML1やSF02では、肝臓の脂質症、肝臓の壊死や炎症が不活性化していると予測された。

上原佳織（大学院農学研究科農学専攻）  
 内山博允（生物資源ゲノム解析センター）  
 若命浩二（北海道薬科大学薬学部）  
 小松健一（北海道薬科大学薬学部）  
 佐藤恵亮（北海道薬科大学薬学部）  
 中田章史（北海道薬科大学薬学部）  
 長島孝行（農学部 農学科）

## ニホンウズラの抗菌ペプチドに関する分子免疫学的研究

抗菌ペプチドは、自然免疫において微生物の細胞膜を破壊するペプチドであり、ディフェンシン (defensin) が植物から動物まで広く多細胞生物に存在する一方、NK リシン (NK-lysin, NKL)、カテリシジン (Cathelicidin, CATH) および Liver expressed antimicrobial peptide2 (LEAP2) は脊椎動物のみに存在するように、種・組織特異性の差異、また立体構造や電荷の多様性まで、極めて多様である。一方、様々な生物で抗菌ペプチドの遺伝的多様性と抗菌活性・抗病性との関係が示唆されている。ニホンウズラは日本で唯一家禽化された鳥類であり、ニワトリのパイロットバードとしても活用されている。そこで本研究はニホンウズラの主要な抗菌ペプチド群の分子免疫学的特性とその多様性を明確にし、家禽の抗病性向上の一助となすことを目的としている。

我々は、これまでに次世代シーケンサーなどによりニホンウズラの  $\beta$ -defensin, NK-lysin (NKL) の遺伝子構造を明らかにし、ニワトリと synteny を保ちつつも、多様性があることを明らかにしてきた。さらに、ニホンウズラ NKL は、抗菌活性領域のアミノ酸置換による net charge の変化に起因すると考えられる大腸菌に対する抗菌活性の差を見いだした。また、 $\beta$ -defensin には多様性があるこ

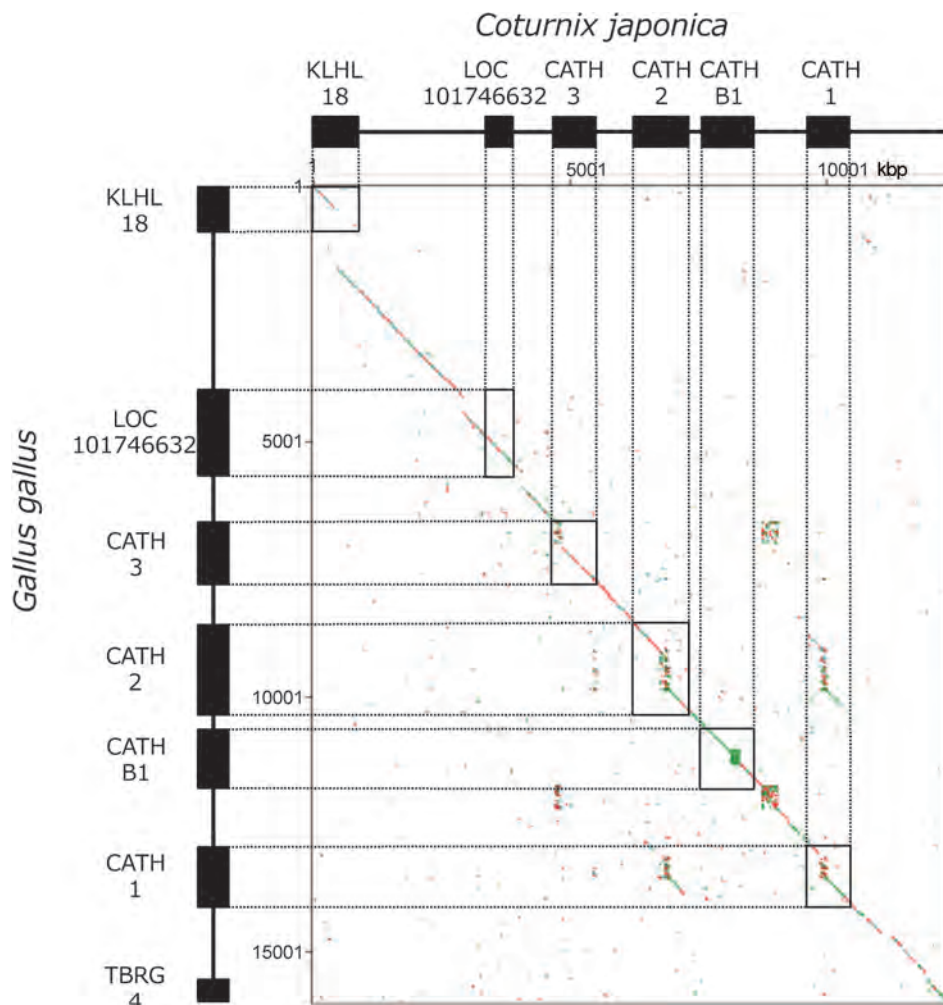


図1. ニホンウズラとニワトリ CATH 領域の HarrPlot 解析

とを確認している。

本年度は、LEAP2 および CATH 領域を同定した。

ニホンウズラ LEAP2 と周辺遺伝子の synteny はニワトリと同一であり、また抗菌活性領域のアミノ酸配列もニワトリと一致していることを確認した。さらに、99 個体の抗菌活性領域の多様性解析の結果、多型は認められなかった。すなわち、ニホンウズラ LEAP2 は、恒常性維持に重要であり、負の選択圧がかかっている可能性が考えられた。

ニホンウズラ CATH 領域は、図 1 に示したように約 13,000bp に 4 種の CATH が座位していた。そこで、5 個体の CATH 領域を amplicon sequence にて解析した。その結果、CATH 領域の synteny はニワトリと一致した (図 1)。さらに、ニホンウズラ 5 個体の塩基配列を比較したところ、CATH2 において抗菌活性領域に非同義置換を認めた。

今後は、 $\beta$ -defensin および CATH の多様性を amplicon sequence を用いて網羅的に解析する予定である。

石毛太郎 (生物資源ゲノム解析センター)

原ひろみ (農学部 畜産学科)

平野 貴 (農学部 畜産学科)

半澤 恵 (農学部 畜産学科)

## NGS を用いたニホンウズラの機能的 *Mhc Coja* クラス IIB (*CjIIB*) 遺伝子の解析

哺乳類および鳥類の主要組織適合性複合体 Major histocompatibility complex (*Mhc*) 領域には、獲得免疫においてリンパ球への抗原提示を担う *Mhc* クラス I およびクラス II 遺伝子をはじめ、免疫応答に関わる遺伝子群が極めて高い遺伝子密度で存在する。ニワトリでは *MhcB* ハプロタイプと感染症に対する抵抗性との関係が報告されている。しかるに *MhcB* 領域内の各遺伝子は強い連鎖関係にあるため、*BG1* アレルがマレック病感受性に関与することが明らかになったことを除き、疾患感受性に関与する責任遺伝子の同定には至っていない。そこで申請者らは、ニワトリと同じキジ科に属するニホンウズラ (*Coturnix japonica*, *Cj*) に着目し、ニワトリとニホンウズラ両種間の疾患感受性に差異を及ぼす原因を明確にし、家禽の抗病性向上に貢献することを目的としている。

本研究室では、ニホンウズラの *MhcCoja* 領域に Sequence Based Typing (SBT) により構築した 13 の DNA 多型マーカー、*TRIM* 亜領域：*HEP21*、*TRIM39.2*、*BTN1* および *BTN2*；Class II  $\beta$  (*CjIIB*) 亜領域：*DCB1-TAPBP-DBB1*；Class I (*CjI*) 亜領域：*DMB1*、*DMB2* および *TAP1-TAP2*、ならびに *CD1* 亜領域：*CD1.1* および *CD1.2* を構築した。これらマーカーの多様性を検索したところ、各 DNA 多型マーカーのアレルはいずれも 8 種類 (*DMB1* のみ 7 種類) と一定であるため、*MhcCoja* 領域は、ハプロタイプブロック (haplotype block、HTB) を形成して共進化してきたものと考えられる。しかるにハプロタイプ解析の結果、低頻度ながら HTB とは相反するアレルの組み合わせが確認され、特に *CjIIB* 亜領域は、その上流の *TRIM* 亜領域および下流の *CjI* 亜領域との間で組換えを起こしている可能性が示唆された。

*MhcCoja* 領域の *CjI* および *CjIIB* 遺伝子は、*MhcB* 領域が最小不可欠 MHC と呼称されるコンパクトな遺伝子構成を有することとは対照的に冗長な重複を示し、さらにハプロタイプ間に遺伝子座数の差異、即ち Copy number variation (CNV) が存在することが示唆されている。そのため現在の課題は、各ハプロタイプの遺伝子構造や各遺伝子座の機能性を明確にすることである。しかし重複遺伝子の塩基配列間の高い類似性のため、サブクローンのキャピラリーシーケンシングにより、各ハプロタイプの *MhcCoja* 領域の遺伝子構造を解析することが困難であった。これに対し、すべての *CjIIB* に共通なプライマーを用いて、抗原ペプチドと直接結合する超可変領域を含むエキソン 2 をカバーする領域を PCR 増幅し、これをクローニングした後、シーケンシングすること (PCR, Cloning, & Sequencing: PCS) により、5 つのハプロタイプ：*CjIIB-HT\*01* ~ *\*05* の *CjIIB* 遺伝子構成の一部と遺伝子座による転写量の多寡、主働遺伝子と微働遺伝子の存在、ならびに主働遺伝子の CNV を確認した。この際、各個体あたり 100 シーケンスを目標にデータを集積したが、遺伝子間の転写量の差をより正確に把握するためには、数 1000 シーケンスのデータを解析する必要がある。そこで本研究では、各 *CjIIB* 亜領域のハプロタイプ (*CjIIB-HT*) の cDNA を鋳型とした PCR 産物を次世代シーケンサー (Next generation sequence、NGS) で解析し、各 *CjIIB-HT* の機能的 *CjIIB* 遺伝子構成と転写量の多寡を明確にし、機能的な *CjIIB* 遺伝子群の基本的な特徴を明確にすることを目的とした。

まず、本法による機能的 *CjIIB* 解析の有効性を検証するため、*CjIIB* 亜領域が GenBank に登録済みのハプロタイプ *MhcCoja-HT\*01* (*Cj\*01*) コンティグマップ (180 kb) と同じ *DBB1\*01* アレルを有する *CjIIB-HT\*01* のホモ接合体であり、一方、その他のマーカーのアレルが互いに異なる 5 個体



を供試した。各個体の末梢リンパ球由来トータル RNA を鋳型として前述のエキソン 2 を増幅するプライマーにて PCR 増幅し、アンプリコンシーケンスにより機能的 *CjIIB* を検出した。NGS 解析の結果は、サブクローニングにより求めた機能的 *CjIIB* の種類と頻度に準じるものであり、供試した 5 個体いずれにおいても、*Cj\*01* に登録されている 2 座位の主働 *CjIIB* : *DAB1\*01* および *DBB1\*01*、ならびに 5 座位の微働 *CjIIB* : *DCB1\*01*、*DDB1\*01*、*DEB1\*01*、*DFB1\*01* および *DGB1\*01* 由来の塩基配列が確認された。さらに供試した 5 個体では、これら 7 種類とは異なる 5 種類の微働 *CjIIB* が検出された。従って本 NGS 法により、サブクローニングに頼る従来法より高い感度で *CjIIB* が検出可能であることが示唆された (図 1)。さらに *DBB1* 以外のローカスのアレル型が異なっているにもかかわらず、*CjIIB* 遺伝子構成が一致したことから、これら *CjIIB* 遺伝子群は *DBB1* の両側の DNA 多型マーカー、*BTN2* および *DMB1* の内側に座位することが示唆された。今後、同様の手法にて他 *CjIIB-HT* の機能的 *CjIIB* を解析する予定である。さらに、機能的 *CjIIB* を同定した後、それらをリファレンス配列として RNA-seq により各 *CjIIB* の発現量を確認する予定である。

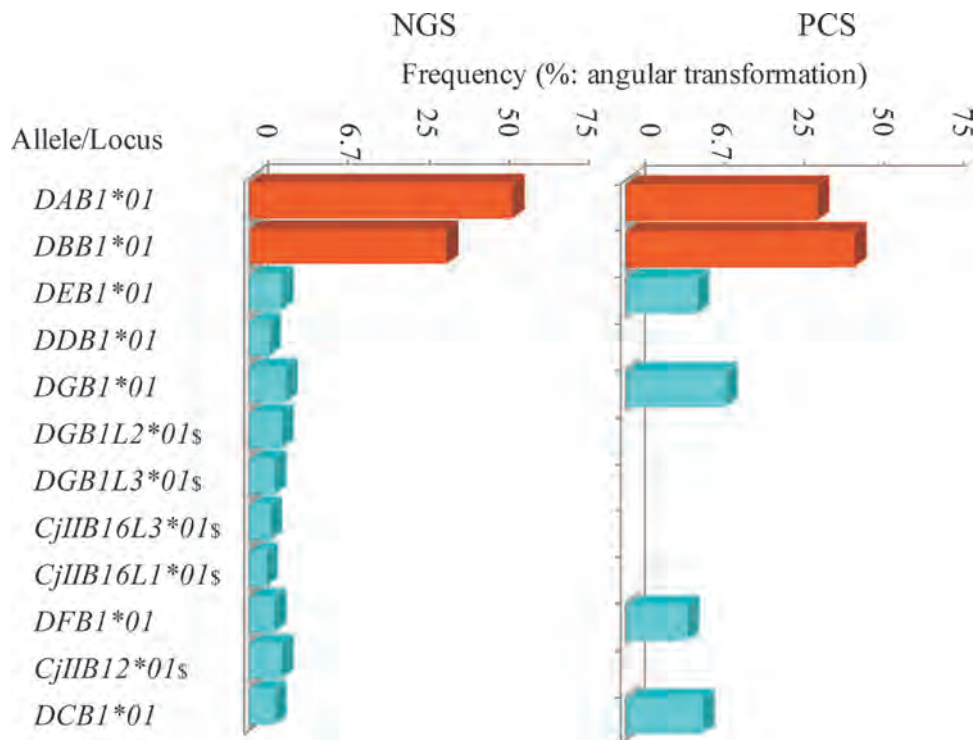


図 1. *CjIIB-HT\*01* 個体から次世代シーケンサー (NGS) およびサブクローニング (PCS : Hosomichi et al. 2006) によって検出された機能的 *CjIIB* の出現頻度の比較。\$ : NGS によって新規に検出された塩基配列

- 原ひろみ (農学部 畜産学科)
- 平野 貴 (農学部 畜産学科)
- 石毛太郎 (生物資源ゲノム解析センター)
- 鈴木進悟 (東海大学)
- 椎名 隆 (東海大学)
- 細道一善 (金沢大学)
- 半澤 恵 (農学部 畜産学科)

## 味幹細胞を用いた新規培養系の確立とその性質決定

味細胞は再生を繰り返す内胚葉由来の上皮細胞である。長年の研究で味細胞は 10～14 日で再生する事が分かっており味幹細胞の存在は疑う余地もなかったが、どこに味幹細胞が存在するかは謎であった。一方、この 10 年の間に消化管上皮細胞では幹細胞の研究が飛躍的に進み、クリプトに存在する幹細胞が Wnt の制御下に存在し、*in vitro* においても Wnt を主として他の増殖因子を組み合わせマトリゲル中で三次元幹細胞培養する方法（以下オルガノイド培養と呼ぶ）が確立された。この事で、これまで不可能であった幹細胞の観察や機能する消化管上皮の観察ができるようになってきている。

我々は、2007 に発生時期の味乳頭や味蕾基底部に組織の発生・再生に関与する Wnt 関連分子が多く発現する事を見出し、2013 年に世界で初めて味蕾幹細胞の存在部位を同定している。味蕾幹細胞は腸管と同じように Wnt 要求性の高い細胞であり、Wnt の下流に存在する膜タンパク質である Lgr5 を標識すれば幹細胞を分取できる事が分かった。そこで、Lgr5-GFP マウスを導入し有郭乳頭のトレンチにある GFP 陽性細胞を FACS により分取し、オルガノイド培養を試みている。その結果、味蕾幹細胞も消化管の上皮細胞と同様にオルガノイド培養系で増殖する事、その一方で自発的に味細胞へ最終分化する細胞も存在する事が分かった。しかし、どのような条件下で味細胞がより多く発現するかなど、効率の良い培養方法はまだ確立されていない。本研究では、味蕾幹細胞から成熟味細胞へ分化する際にどのような遺伝子発現変化が起こっているのかをトランスクリプトーム解析にて明らかにし、効率的な味細胞分化誘導系の構築に役立てる事を目的とした。

方法であるが、味蕾オルガノイド培養 Day 0、2、4、6、8、10、12、14 の各ポイントで RNA を抽出し、SMART-Seq v4 Ultra Low Input RNA Kit for Sequencing により完全長 cDNA 合成と増幅を行った。得られた cDNA を Covaris S2 により裁断し、KAPA Hyper Prep Kits for Illumina でライブラリを作製した。Illumina 社の HiSeq 2500 により 100bp のシングルリード配列を得て、遺伝子発現を網羅的に解析した。

これまでに主成分解析と Ingenuity Pathway Analysis (IPA) による Canonical Pathway 解析を行い、遺伝子発現の変化を網羅的に調べた。主成分解析からは、Day 0 から Day 2 の間での遺伝子発現の変動が大きい事が予想された (図 A)。一方、IPA の結果からは Day 0 から Day 2 の間よりも Day 2 から Day 4 の間で既に知られているパスウェイ (canonical pathway) の変動が大きく、その多くが非活性化されている事が分かった (図 B)。

今回の結果より、味幹細胞をソーティングし培養する事により、急速に遺伝子発現パターンが変化する事が分かった。今後、味幹細胞の維持や分化に関わる転写因子群や増殖因子群を探索し、*in vitro* において味幹細胞および味細胞の再生と分化をコントロールできるような研究にしていきたい。

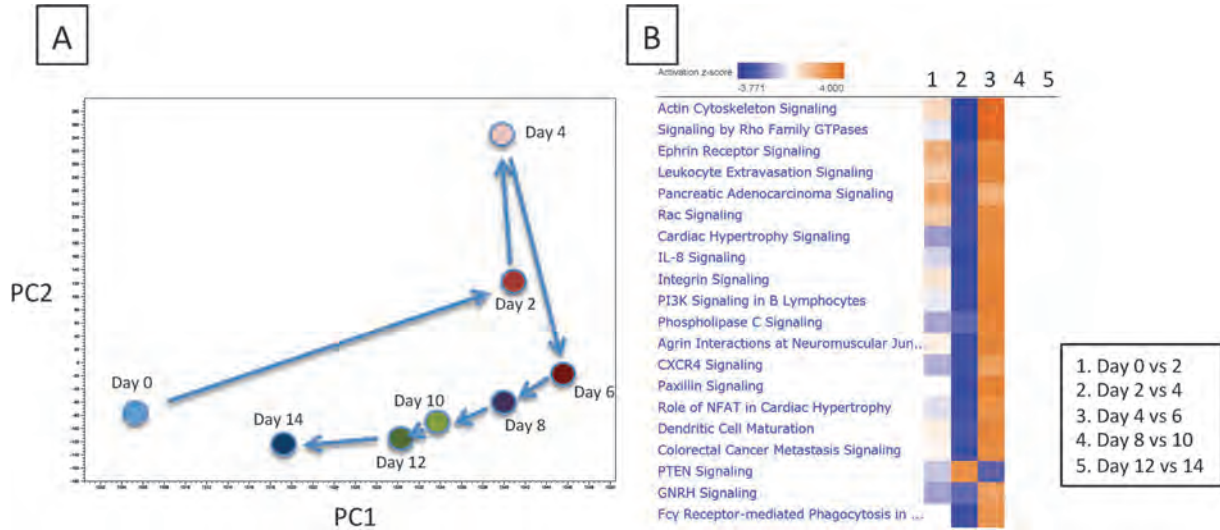


図 A および図 B

- A 主成分解析による各培養日数での遺伝子発現変化の比較
- B 隣接する培養日における既知パスウェイの活性・不活性化の推定

岩槻 健 (応用生物科学部 食品安全健康学科)

Peihua Jiang (Monell Chemical Senses Center)

内山博允 (生物資源ゲノム解析センター)

## 5-アミノレブリン酸によるがん温熱細胞死の分子機構解析

がんの温熱療法は副作用がほとんどない治療法であるが、効果が穏やかなため放射線・化学療法の補助療法に留まっていることが多く、非侵襲・低副作用という優れた点が相殺されている。そのため温熱療法の作用増強が望まれているが、安全・安価で有効な温熱増感剤は未だ開発されていない。一方、全生物に存在する天然アミノ酸であり、ヘムやシクロム等のテトラピロール化合物の共通前駆体である5-アミノレブリン酸(5-ALA)を投与すると、がん細胞特異的にヘム前駆体プロトポルフィリンIX(PpIX)が蓄積することが知られており、その光増感作用が光線力学療法(PDT)に利用されている。しかし、PDTは光照射の困難な部位や腫瘍深部に適用できないという問題がある。我々は5-ALAによる温熱増感作用の可能性を検証し、種々のヒトがん細胞株および正常細胞株を用いて検証した結果、数種のがん細胞株において5-ALAが温熱下で細胞死を増強すること(ALA温熱効果)を見出した。またその際、がん細胞内にPpIXが蓄積し、温熱下で細胞内の活性酸素種(ROS)生成が増加することが細胞死増強の要因であると示された。さらに、上記ALA温熱効果を示すがん細胞株は、担がんマウス実験において個体レベルでも顕著なALA温熱効果を示した(未発表データ)。このように5-ALAが温熱増感剤になりうるという知見は新規であり、前述の温熱療法・PDTの問題点を同時に解決する可能性を有することから、臨床応用上極めて有用と期待される。

しかしながら、5-ALAを添加してもPpIXを蓄積せず、ALA温熱効果を示さないがん細胞株もあり、細胞種によるPpIX蓄積やROS生成分子機構の違いの解明が必要であるが、それらのメカニズムは不明な点が多い。特に温熱処理によりPpIX蓄積を経てROSが生成される機構は全く未知である。42°Cという温熱によりPpIXが直接励起されることは考えにくく、がん細胞に広く認められるミトコンドリア機能や電子伝達系の異常を介して間接的にROS生成を増強している可能性、ROS除去に関わる因子群が抑制されている可能性等が考えられる。そこで本研究では、ALA温熱効果の違いを示すがん細胞株間において比較トランスクリプトーム解析を行い、ALA温熱効果と相関する因子、特にミトコンドリア機能・電子伝達系・ROS除去機能等に関わる因子の探索を行った。

ALA温熱効果を示すがん細胞株(HepG2)と示さないがん細胞株(U2-OS)を、5-ALA添加および温熱処理の有無の4群に分けて培養し、mRNA抽出・cDNA合成を行った後、生物資源ゲノム解析センターの次世代シーケンサー(HiSeq2500)を用いたRNA-Seq法により、網羅的に転写量を比較した。5-ALA添加および温熱処理の有無と相関して転写量に2倍以上および1/2以下の差がある遺伝子を選別し、解析ソフトウェアとしてIngenuity Pathway Analysis(IPA)、Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery(DAVID)、およびPANTHERを用いてデータ解析を行った。まず、37°C、5-ALA無添加の通常培養条件下において、U2-OS細胞に比べてHepG2細胞では、酸化的リン酸化・TCA回路に関わる遺伝子群の発現量が高く、細胞周期・p53シグナル経路に関わる遺伝子群の発現量が低いことが示された。次に、それぞれの細胞株において、通常培養条件下とALA温熱条件下(42°C、5-ALA添加)での発現量の増減が大きい遺伝子群を比較した(図1)。その結果、細胞間で共通な遺伝子は少なく、細胞株特異的に発現量が変動している遺伝子が多いことが分かった。さらに、ALA温熱効果を示すHepG2では、細胞周期・p53シグナル経路に関わる遺伝子群の発現量が増大し、酸化的リン酸化(呼吸鎖)・TCA回路に関わる遺伝子群が減少するのに対して、ALA温熱効果を示さないU2-OS細胞では、p53シグナル経路・呼吸鎖に関わる遺



伝子群が増大し、細胞周期に関わる遺伝子群が減少することが示された。これらより、ALA 温熱条件下において、HepG2 では呼吸鎖や TCA 回路の機能が大きく低下することにより、酸化還元バランスの異常を引き起こし、ROS が発生しやすくなるのではないかと推察される。

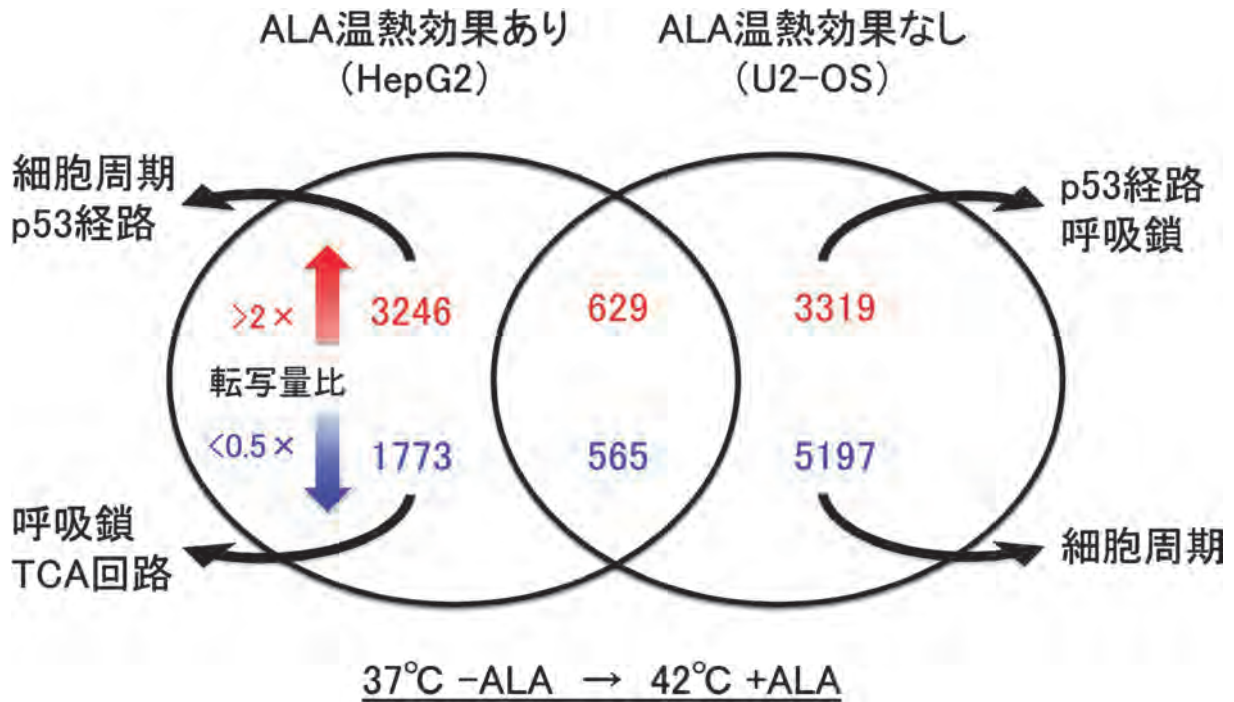


図1 がん細胞におけるALA 温熱条件下での遺伝子発現変化プロファイル

ALA 温熱効果を示す HepG2 細胞と示さない U2-OS 細胞において、通常条件下 (37°C-ALA) と比べてALA 温熱条件下 (42°C+ALA) で転写量が2倍以上または1/2以下に増減する遺伝子数を示す。黒色矢印は、それぞれの細胞で特異的に増減している遺伝子群のうち、上位を占めるものに関わる主要な細胞機能。

千葉櫻拓 (応用生物科学部 バイオサイエンス学科)

## 昆虫オプシンの大規模探索の手法開発とその実践

昆虫の多様性や進化を解明するため、次世代シーケンサー（NGS）を用いて昆虫のオプシン遺伝子の配列取得を行っている。特に、色覚の分子基盤である視物質の多様性とその進化過程を探索するため、多くの昆虫から色受容に関わるオプシン遺伝子に注目している。昆虫は多くの種が存在し、一部の昆虫では色覚の多様性が明らかになっているが、まだまだ特定の昆虫でしかオプシンの配列が明らかにされていない。その一つの要因は、従来の方法では時間と手間がかかり多くの種で比較を行うのは困難であるからである。従来のサンガー法によるオプシン遺伝子のクローニングは一度に網羅的な探索をすることは不可能であり、時間と手間がかかる上に、遺伝子を見落とす可能性がある。対して、NGSでのRNA-sequenceing（RNA-seq）では網羅的に発現遺伝子配列を得ることができ、それによりオプシン配列を得られ、さらに発現量の比較も同時に行うことができる。NGSを使った効率的かつ網羅的にオプシン配列を新規同定するための手法を確立し、実際に昆虫からオプシン遺伝子の配列を得て、各種公共データベースからオプシン配列を取り出したものと合わせ、昆虫オプシンの多様性と進化の一端を明らかにする。

今年度の結果として、最も種の多い甲虫目を重点的に解析した。昆虫は紫外、青、長波長の3タイプのオプシンが基本となっているが、甲虫では青オプシンが見つかっていない。我々は、いくつかの甲虫でオプシンを探索したところ、ナミテントウで青オプシンと思われる配列を見つけることができ、そこからコード領域の全長およびアミノ酸配列を取得した。その配列を用いて公共データベースから相同配列を検索したところ、同じ完全変態のチョウ目の昆虫の青オプシンが多くヒットした（図1）。これはナミテントウが青オプシンを失わずに持ち続けているということを示唆した。

一方、甲虫に限定して相同配列を検索しても類似性の高い配列は見つからなかった。これらのことから甲虫で初めての青オプシンを見つけた可能性が高い。

今後は、テントウムシの中での視覚オプシンの進化や、昆虫の視覚オプシンの全体像を見るために全ての目のレベルで解析を行うことを考えている。

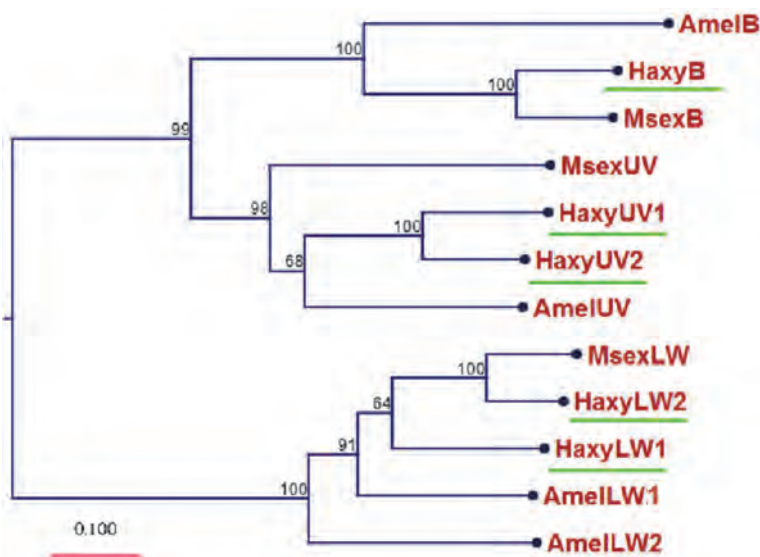


図1 アミノ酸配列での視覚オプシンの分子系統樹（NJ法）。ナミテントウの青、紫外2つ、長波長2つの視覚オプシンを同定した。Haxy: ナミテントウ、Amel: セイヨウミツバ、Msex: タバコスズメガ

内山博允（生物資源ゲノム解析センター）

長島孝行（農学部 農学科）

## ダイズシストセンチュウの行動制御に関する研究

ダイズシストセンチュウは日本を含む東アジア地域やアメリカ大陸など世界中で幅広く分布し、ダイズやインゲンマメ、アズキ等のマメ科作物の根に寄生する根寄生性線虫の一種です。アメリカでの統計によると、ダイズ生産において最大の減収要因として知られている害虫でもあります。この線虫の特徴として、孵化前にはシストと呼ばれる殻に覆われた状態で土壤中に存在しており、マメ科作物由来の孵化促進物質に応答して孵化する点が挙げられます。加えて、シストに守られた状態では、薬剤耐性等が高いため既存の農薬などによる防除が難しい害虫の一つとして考えられています。私たちは、ダイズシストセンチュウの孵化を制御することによって防除に役立てられないかと考え、現在はダイズシストセンチュウがどのようにして孵化するのか？また孵化に必要な遺伝子は何か？を明らかにするために研究を進めています。

現在までにダイズシストセンチュウの孵化促進物質として、グリシノエクレピンという物質がインゲン豆の根より単離、同定されていますが、その他に孵化を促進する物質は見いだされていません。そこで新たな孵化促進物質を見つけるためにケミカルライブラリーよりダイズシストセンチュウの孵化を促進する物質のスクリーニングを行いました。その結果、いくつかの化合物を孵化促進物質として得ることが出来、現在はこれらの化合物の孵化促進活性について解析を進めています。解析中の化合物の中で、特に化合物 A はダイズシストセンチュウ卵に処理後速やかに孵化を誘導し始めることが分かりました。グリシノエクレピンは卵に処理後、孵化を誘導するまでに3日程度を要することから、今回見いだした化合物 A はグリシノエクレピンとは異なった機構で孵化を促進している可能性が考えられます。そこで化合物 A もしくはグリシノエクレピンを処理し、ダイズシストセンチュウの経時的な遺伝子発現変動を、次世代シーケンサーを用いて網羅的に解析することで、化合物 A とグリシノエクレピンの孵化促進作用の違いや孵化に関わる遺伝子の取得が出来るのではないかと考え実験を行いました。現在はまだ解析途中であり候補遺伝子の取得には至っていませんが、ダイズシストセンチュウは完全なゲノムデータベースが公開されていないため、次世代シーケンサーによる解析結果は今後の研究にも非常に多くの知見を与えてくれるのではないかと期待しています。

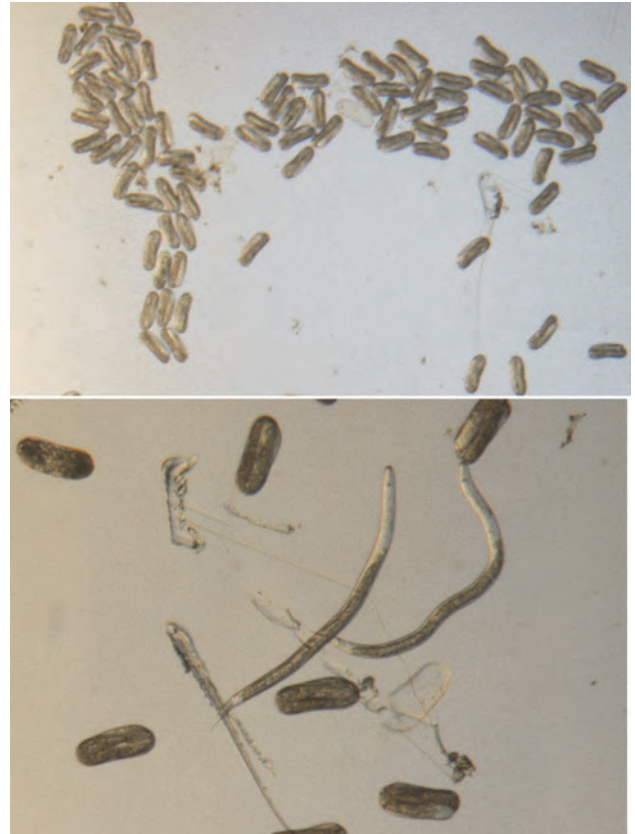


図 ダイズシストセンチュウ卵(上)と孵化した二期幼虫(下)

伊藤晋作 (応用生物科学部 バイオサイエンス学科)

## ナチュラルバリエーションを利用した 植物の環境ストレス耐性の解明

高温は作物の生長や収量に大きな影響を及ぼす重大なストレスです。地球規模では、ここ 30 年の温度上昇により、主要穀物である小麦やトウモロコシにおいて 3-5% も収量が減少したと報告されており (Lobell *et al.*, 2011 *Science*)、今後安定した食糧供給を望む上でも、植物の環境ストレス耐性の解明、耐性植物の作出が植物科学の重要な課題とされています。

これまでに多くの植物生理に関する分子レベルでの知見が、モデル植物のシロイヌナズナを中心に明らかとなってきました。高温ストレス応答に関しては、耐性に必須の遺伝子群の他、耐性を付与することの出来る遺伝子も明らかとなり、申請者らの研究を含め、いくつかの高温耐性植物が作出されています (Higashi *et al.*, 2013 *Molecular Plant*)。しかしながら、これらは、特に耐性を示さないモデル植物の耐性メカニズムに関与する遺伝子を導入したものであり、「(弱い) 野生型と比較して」というレベルにとどまっているのが現状です。

一方、自然界には高温に対して極めて高い耐性を示す植物が存在します。このような実際に高い耐性を示す植物のメカニズムは非常に興味深いものの、これまでに全く明らかとされていません。また、高温耐性については良いモデルとなる耐性植物自体がありませんでした。

先行研究において、シロイヌナズナ近縁の塩生植物 *Eutrema salsugineum* (以下 *E. salsugineum*) が、塩ストレス耐性同様、高温ストレスに対しても、植物個体レベルのみならず、細胞レベルでも非常に高い耐性を示すことを明らかにしました (図 1、2 左) (Higashi *et al.*, 2013 *Molecular Plant*)。 *E. salsugineum* はシロイヌナズナと同様、植物体が小さい、生活環が 3 ヶ月と短い、種子多産と遺伝学に向く形質を示すほか、シロイヌナズナと核酸レベルで 90% 以上の相同性を示すことから比較ゲノム解析が可能です (Taji *et al.*, 2004 *Plant Physiol*)。さらに *E. salsugineum* は 2012 年にゲノムシーケンスが公開されたほか、申請者らの先行研究において、*E. salsugineum* 由来の完全長 cDNA ライブラリーが作製・公開されるなど、ストレス耐性のモデル植物として広く研究に用いられています (Taji *et al.*, 2010 *BMC Plant Biology*)。現在、この完全長 cDNA を用いて、機能獲得型変異株スクリーニングとして開発された、Full-length cDNA Over-expressing gene (FOX) hunting を行い、耐塩性あるいは高温耐性付与遺伝子の探索を進めています。これまでに高温耐性付与遺伝子として、転写因子 *TsHsfA1d* を同定しました (図 1 : Higashi *et al.*, 2013 *Molecular Plant*)。この遺伝子の作物への応用性を確認するため、極矮性トマトである Micro-Tom に遺伝子導入し、トランスジェニックトマトを作出しました (図 2)。 *TsHsfA1d* を導入したシロイヌナズナにおいては、多くの高温ストレス誘導性遺伝子群の遺伝子発現を誘導することで、高温耐性が向上することが明らかとなっていますが、トマトにおいても *TsHsfA1d* が転写因子として機能するのが調べる必要があります。そこで本研究では、*TsHsfA1d* 過剰発現トランスジェニックトマトにおける遺伝子発現解析を目的に、RNAseq を行います。



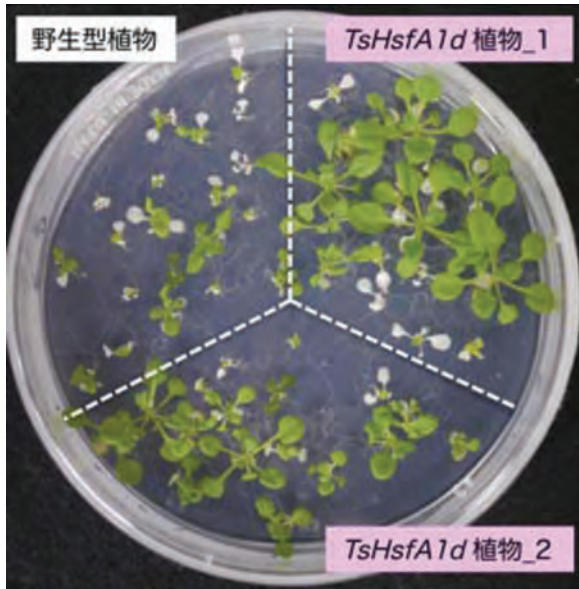


図1 *TsHsfA1d* 導入植物は野生型植物と比較して高温耐性 (42°C 70 min) を示す



図2 極矮性トマト: Micro-Tom に *TsHsfA1d* 遺伝子を導入したトランスジェニック植物

太治輝昭 (応用生物科学部 バイオサイエンス学科)

## そうか病罹病ジャガイモ塊茎における 発現遺伝子のトランスクリプトーム解析

ジャガイモは南米を起源とするナス科の植物です。多くは4倍体 ( $2n=4x=48$ ) です。16世紀に南米からヨーロッパへ伝えられて広く栽培されるようになり、現在の生産量は全世界で年間3億7千万トン（2014年）の主要作物の一つとなっています。日本では約250万トンを生産し、そのうちの78%を北海道で生産しています。人類の発展を支えてきたジャガイモの不作は、時に社会に大きな影響を及ぼしました。19世紀アイルランドにおいて、ジャガイモ疫病の蔓延が原因となった飢饉が有名な例です。作物としての重要性から、ジャガイモのゲノムの解読は、その耐病性の向上や優良品種の開発に役立つと期待され、全ゲノム配列は2011年に発表されています。ジャガイモそうか病（英名：common scab）は、土壌放線菌であるストレプトマイセス属菌の感染によってジャガイモの塊茎周皮に直径1～2cmのかさぶた状の病斑が形成される植物病害です（写真）。そうか病の発生は世界中に見られ、北海道でも地域差はありますが栽培面積の2～4割に発生が認められるとされています。本病は、イモの収量やでんぷん含量の大きな低下を引き起こすものではありません。しかし、病斑は食用・加工用ジャガイモの商品価値を損なうことから、その対策が必要です。ジャガイモの生産地域である網走に立地する生物産業学部では地域農業の課題の一つにジャガイモそ

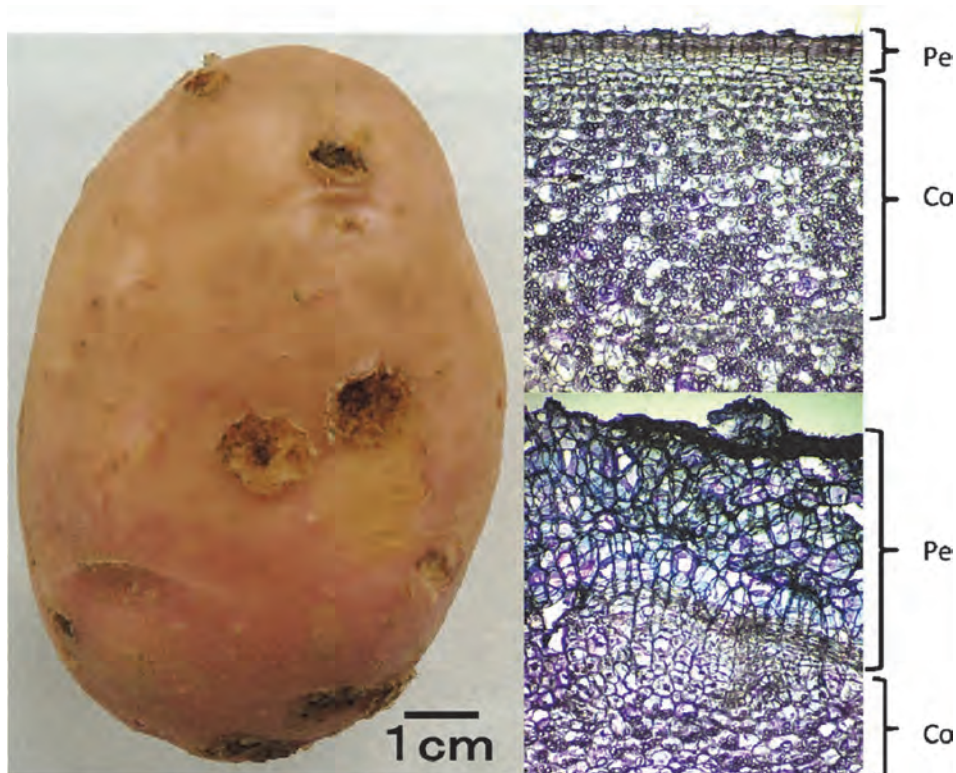


図1 そうか病罹病ジャガイモ塊茎

そうか病は塊茎表面にかさぶた状の病斑が生じる植物病害である（左）。正常な塊茎の断面（右上）に比べて、病斑の断面（右下）では周皮（Pe）が肥厚し、最外層のコルク層の発達が見られる。また、その下の皮層（Co）の細胞がいびつに並んでいる（トルイジンブルー染色）。

うか病の克服をとりあげ、これまでに、土壌 pH 調整や施肥法の工夫により生産圃場においてその発生を効果的に抑制する防除法を確立してきました。一方、そうか病の感染過程の解明は、より効果的な防除や、耐病性品種の開発などにつながる可能性があります。そうか病菌の感染に伴うジャガイモ側のタンパク質や遺伝子の変化はあまりわかりません。本研究では、そうか病に感染したジャガイモ塊茎において、どのような遺伝子群の働きが活発化しているのか、あるいは、どのような遺伝子群の働きが抑制されて感染に至っているのかを発現遺伝子を網羅的に同定するトランスクリプトーム解析により明らかにすることを目指しています。

小栗 秀 (生物産業学部 生物生産学科)

吉田穂積 (生物産業学部 生物生産学科)

## 地震を被った樹木の遺伝子発現解析 —東日本震災プロジェクト—

2011年3月に発生した東北地方太平洋沖地震は、津波や原発事故といった大惨事を引き起こした。地震の揺れを受けとめた樹木はどのように応答したのか、基礎的な研究データの集積を目的として研究を進めてきた。

高等植物においてキシログルカンは細胞壁が形成される過程で、セルロースマイクロフィブリルを架橋し、植物の成長や環境応答に関与している。キシログルカナーゼ (AaXEG2) を構成発現させた組換えポプラでは、主幹の上部先端を水平方向に引っ張り、減衰振動させると、組換えポプラで揺れが長く続き、周波数及び減衰定数 ( $\tan \delta$ ) は小さくなった。このことからキシログルカンを制振動性を与えると考えた。

そこでポプラに地震を模した揺れを定期的に加え、ポプラの茎の応答を明らかにすることを目的に研究をスタートした。植物材料には、ハイブリッドポプラ (T89) とアラビを用いた。

キシログルカナーゼ (AaXEG) を発現させた組換えポプラは、震度6弱で死滅した。その条件下で耐性を示す野生株ならびにキシログルカン 4- $\beta$ -グルコシルトランスフェラーゼ (AtCSLC4) 又は 6- $\alpha$ -キシロシルトランスフェラーゼ (AtXXT1) を単発現させたものは、震度6強で死滅した。しかしながら、AtCSLC4 と AtXXT1 を共発現させたものは、震度6強でも成長し続けた。

驚いたことに、野生株ポプラのひこばえを震度6弱の横揺れを繰り返す条件下で育成させると、6時間以内にキシログルカン合成酵素活性が増大した。同時に、キシログルカンどうしをつなぎ換える XET 活性が増大した。茎の切片に  $[^3\text{H}]\text{XXXG}$  を与えると、木部に取り込まれることが示された。2週間、震度6弱の横揺れを15分間、次に15分間静止を繰り返して育成させると、木部のキシログ

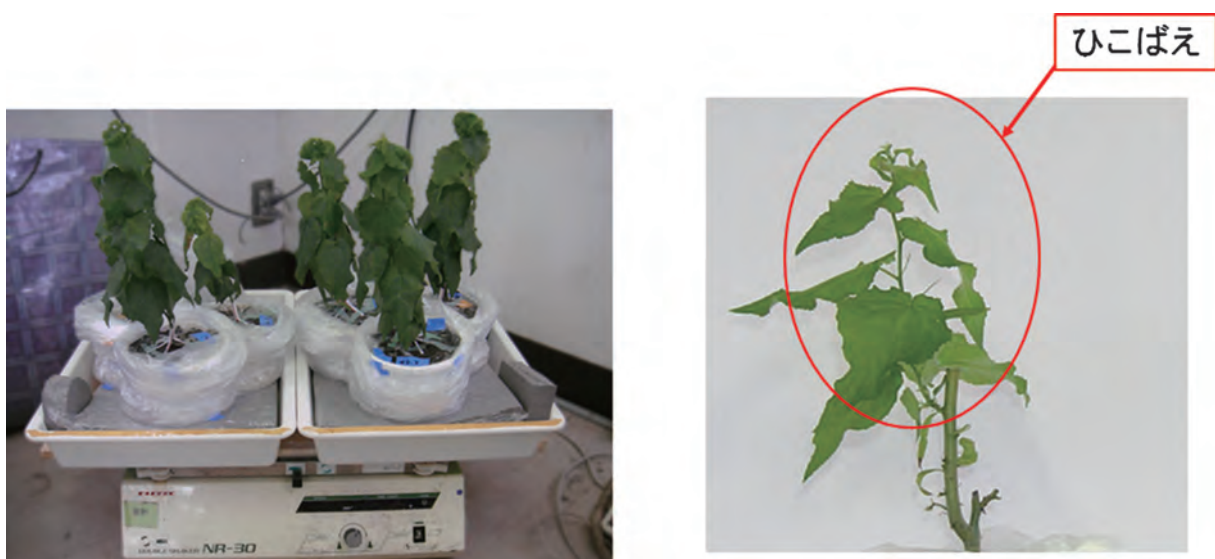


図 震度6弱条件下におけるポプラの振動実験



ルカン量が大幅に増加した。キシログルカンの増加は、木部切片の免疫蛍光染色によっても、特異的な 4,6-Glc の測定による糖鎖のメチル化分析によっても認められた。

野生株ポプラのひこばえを用い、震度 6 弱条件下における mRNA の網羅的な発現解析を行った。次世代シーケンサーを用いた遺伝子発現解析から、キシログルカン 4- $\beta$ -グルコシルトランスフェラーゼファミリー、6- $\alpha$ -キシロシルトランスフェラーゼファミリー、そしてキシログルカン XTH ファミリー等の発現が増大した。引き続き、東北地方太平洋沖地震の被害を受けた樹木・草本植物の環境応答を分子レベルで明らかにすることを目指す。

林 隆久（応用生物科学部 バイオサイエンス学科）

海田るみ（応用生物科学部 バイオサイエンス学科）

## シアノバクテリアにおける DNA 複製制御の多様性進化

真核、原核生物問わず、DNA 複製は種を維持する上で欠かすことができない、重要なプロセスです。原核生物では DnaA というイニシエータータンパク質が主要な複製開始制御因子であり、*dnaA* 遺伝子は現在ゲノム解読されているほぼ全ての原核生物に保存されています。このことから DnaA 依存的 DNA 複製開始機構は起源が古く、その重要性は極めて高いことが分かります。

シアノバクテリアは約 30 億年前に誕生したと考えられており、光合成により地球に初めて酸素をもたらした原核生物です。シアノバクテリアは長い年月をかけ、多種多様な形態、または葉緑体（シアノバクテリアが細胞内共生して誕生）へと進化し、現存しています。本研究では、この多様なシアノバクテリア間において、複製開始機構の保存性を解析しました。

その結果、*Synechococcus* sp. 7942 株においては *dnaA* 遺伝子が必須であり、他の原核生物と同様の複製開始点 (*oriC*) から DnaA 依存的に開始されることが分かりました (図 1A、WT)。しかし、*dnaA* 遺伝子を欠損した変異体において次世代シーケンスを用いて replication-sequencing 解析した

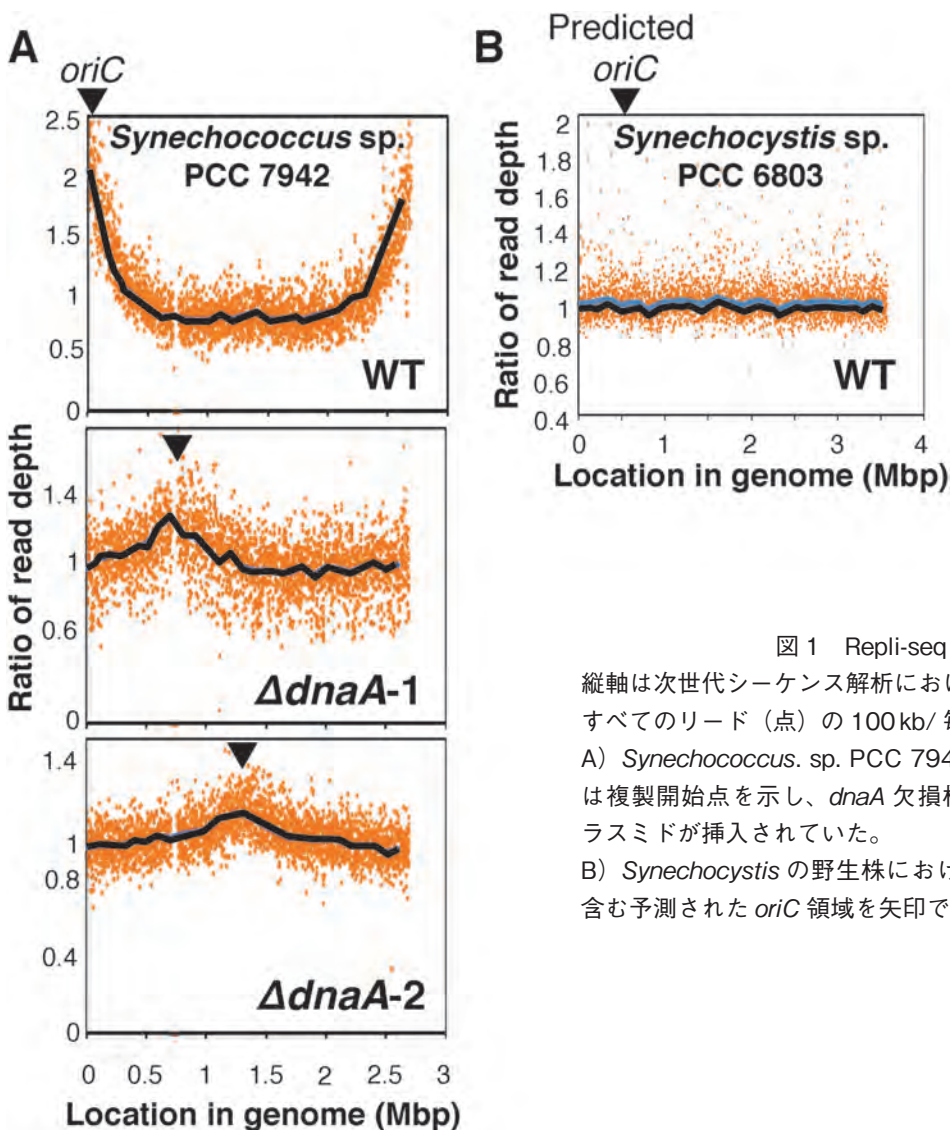


図 1 Repli-seq 解析の結果

縦軸は次世代シーケンス解析におけるリード量の相対値であり、すべてのリード (点) の 100 kb/ 毎のアベレージを実線で示す。A) *Synechococcus* sp. PCC 7942 における結果である。矢印は複製開始点を示し、*dnaA* 欠損株においては複製開始点にプラスミドが挿入されていた。

B) *Synechocystis* の野生株における結果である。*dnaA*-box を含む予測された *oriC* 領域を矢印で示す。

ところ、本来の複製開始点とは異なる領域から複製していることが明らかとなりました（図 1A、 $\Delta$  dnaA-1 及び  $\Delta$  dnaA-2）。さらに詳細な解析の結果、この新たな複製開始領域にはこのシアノバクテリアが持っているプラスミド DNA が挿入されており、その複製開始機構を利用し複製していることも分かりました。

次に別の種（*Synechocystis* sp. PCC 6803、*Anabaena* sp. PCC 7120）において、同様に複製開始機構の解析を行ったところ、驚いたことに、この 2 種において *dnaA* 遺伝子は必須ではなく、さらに予測された DNA 複製開始点からも複製していませんでした（図 1B）。以上の結果は、DNA 複製開始点の複数性、非同調性を示唆しており、これまで知られている原核生物の DnaA タンパク質依存的な DNA 複製機構とは明らかに異なる複製開始機構の存在を示唆していました。

本研究では、DnaA タンパク質の必須性がシアノバクテリア間で大きく異なることを明らかにしました。また、植物の葉緑体はシアノバクテリアの細胞内共生によって生じたと考えられていますが、葉緑体のゲノムには *dnaA* 遺伝子がそもそも保存されておらず、また植物の核ゲノムにも *dnaA* 遺伝子の痕跡は見つかっていません。以上のことから、もともと DnaA 非依存的な DNA 複製開始機構を獲得したシアノバクテリアのほうが細胞内共生に有利だったのではないかと可能性を提唱しました（Ohbayashi *et al.*, 2015, *ISME J*）。このように、シアノバクテリア間や葉緑体での DNA 複製制御機構の違いを比較することで、葉緑体の誕生に至るまでの進化の過程がさらに明らかになることが期待されます。

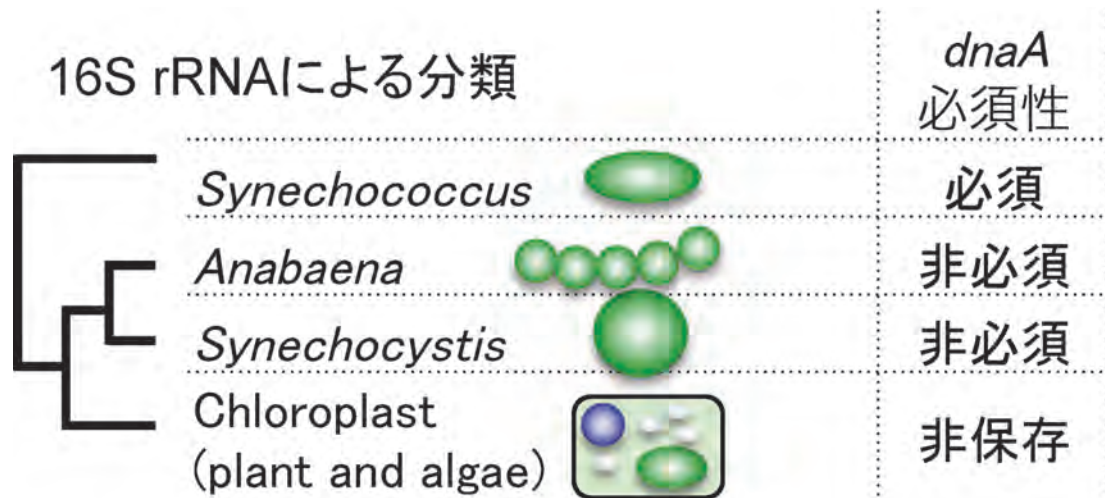


図 2 本研究まとめ

本研究で用いたシアノバクテリアと現存する葉緑体の 16S rRNA 配列による系統樹と、本研究により明らかになった *dnaA* 遺伝子の必須性を示す。葉緑体を持つ全ての生物（葉緑体ゲノム、核ゲノム）に *dnaA* 遺伝子は保存されていない。

大林龍胆（応用生物科学部 バイオサイエンス学科）  
 渡辺 智（応用生物科学部 バイオサイエンス学科）  
 兼崎 友（生物資源ゲノム解析センター）  
 吉川博文（応用生物科学部 バイオサイエンス学科）

## 食酢醸造用酢酸菌におけるストレス応答性 転写制御因子の機能解析

食酢の醸造は、酢酸菌による酢酸発酵により行なわれる。酢酸発酵は、酢酸菌の細胞膜上に存在するアルコール/アルデヒド脱水素酵素とそれに連動する電子伝達系の働きによるエネルギー代謝の一種であるが、これに伴い、菌体外のエタノールは酸化されて酢酸に変換される。酢酸菌は、この特有の生理により、宿命的に常に菌体外のエタノールや酢酸のようなストレス化合物と共存することとなるが、他の細菌と異なり、これらの化合物存在下でも良好な生育を示す。これは、酢酸菌がこのような物質によって引き起こされるストレスに対して耐性を有しているからと考えられ、このことが酢酸発酵成立の大きな要因となっていることが指摘されている。

酢酸菌のこのような発酵時ストレス耐性については種々の解析がなされているが、我々は分子シャペロンおよびそれらの制御因子の関与の観点から検討を加えてきた。現在までに、GroE、DnaK、GrpE、ClpB 等の主要な分子シャペロンおよびそれら遺伝子の転写開始因子 RpoH の酢酸発酵における重要性を明らかにしている。我々は更に、他の菌において RpoH の上流の転写制御因子と報告されている RpoE について現在検討を行っており、ストレス応答シグマ因子系による発酵時ストレス耐性メカニズムの全体像を明らかにすることを試みている。

RpoE は  $\sigma^E$  或いは  $\sigma^{24}$  と呼ばれ、RNA ポリメラーゼのシグマ因子の一つである。一般に ECF (Extracytoplasmic function) シグマ因子として、細胞表層ストレス対応機能で知られているが、細胞死とも関係しており、幅広く外部環境変化に対する細胞状況の適正化に関与していることが示唆される。本因子の発現は、他のシグマ因子と異なり、転写レベルでの制御に加えて、アンチシグマ因子やアンチアンチシグマ因子を介した複雑な翻訳後制御も受けていることが知られており、このことから本因子の細胞生理における重要性が推測される (図 1)。

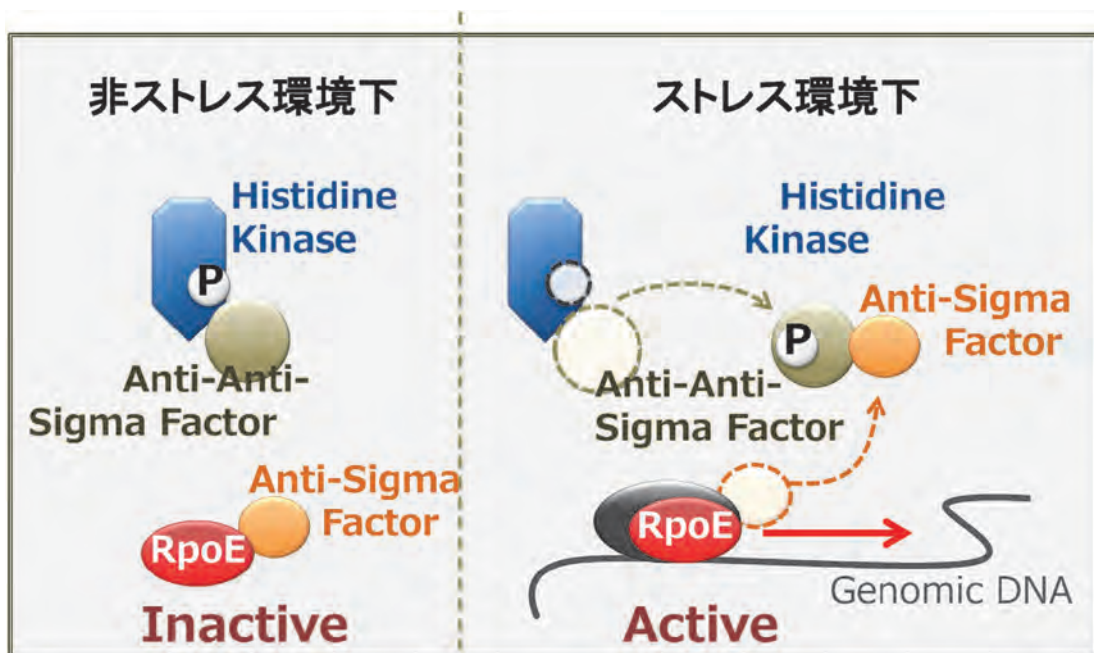


図1  $\alpha$ -プロテオバクテリアにおける RpoE の翻訳後制御



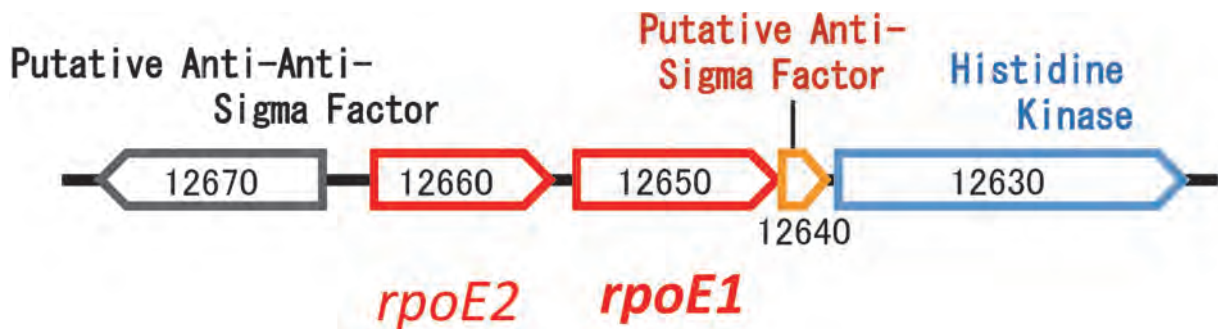


図2 *A. pasteurianus* NBRC3283 株ゲノム上の *rpoE* および関連因子遺伝子群の配置

*Acetobacter pasteurianus* は、伝統的な静置発酵での食酢醸造に用いられる酢酸菌であるが、本菌においては RpoE は二つ存在し (*rpoE1*、*rpoE2*)、ゲノム上にタンデムに配置されている (図 2)。その周辺にはアンチ・アンチアンチシグマ因子や関連のヒスチジキナーゼの遺伝子も、一部 *rpoE1* とオペロンを形成する形で配置しており、これらの因子が協調して *rpoE* の翻訳後制御を行っていることが容易に予想される。二つある RpoE のうち、RpoE1 が通常の RpoE に相当すると考えられ、RpoE2 の機能については未知である。我々は、本菌における RpoE1 の生理的役割について解析を行い、本因子が、特に酢酸発酵後の酢酸蓄積条件下において、菌体の生存率に重要な関与を持っていることを見出した。また、これは、①本因子が一般的な RpoE として振舞うことに加え、②本菌では欠損している RpoS (定常期シグマ因子) の代替を行っていること、および③重要なストレス関連シグマ因子である RpoH を直接支配しているという理由により、非常に多くの遺伝子を制御していることによるということも解明した。現在は、次のステップとして、RpoE1 が直接・間接に支配している遺伝子を具体的に明らかにすることを目的とし、*rpoE1* 破壊株を作製して、親株と破壊株の間での発現遺伝子の違いについて RNA-seq 法を用いて解析を行っている。予想通り、菌体外に酢酸が蓄積する時期から、親株・破壊株間の発現量に差を生じる遺伝子が多数観察され、それら遺伝子の中には上流に RpoE 結合性の推定プロモーター配列を持つものも多く確認された。これにより特定された RpoE 支配下の遺伝子群には、ストレス応答関連遺伝子群に留まらない多様な遺伝子が含まれており、現在、これらの遺伝子を RpoE1 支配の直接性・間接性、および機能の面から整理を行っている。これにより、RpoE に始まる一連の大きなストレス応答カスケードが明らかとなり、酢酸発酵に関連する本菌生理の重要な一端が解明されると考えている。

貝沼章子 (応用生物科学部 醸造科学科)

石川森夫 (応用生物科学部 醸造科学科)

吉川博文 (応用生物科学部 バイオサイエンス学科)

兼崎 友 (生物資源ゲノム解析センター)

## RNA-Seq 法による発酵性微生物における 高温培養時の網羅的遺伝子発現解析

*Clostridium* 属細菌は偏性嫌気性で孢子形成能を有するグラム陽性の桿菌である。この中にはセルロース分解能が高い種や糖質よりブタノールを生産する種が存在する。これまでにセルロース分解菌と中温性ブタノール生産菌 N1-4 の混合培養により、セルロースを主構成成分とする植物バイオマスである稲わらから直接的にブタノールを生産する培養系を構築した (1)。さらに、セルロース分解に関与するセルラーゼ活性の向上によりさらなる生産効率の上昇も明らかにしており、本培養系によるブタノール生産効率を高めるためにセルラーゼ活性の向上が求められる。高温域が至適温度であるセルラーゼ活性を向上させる方法の一つは培養温度の高温化であるが、ブタノールを生産する菌株の中でも高いブタノール生産能を有する *C. saccharoperbutylacetonicum* は 37°C 以上で培養すると生育と発酵能が低下する。そのため、その温度感受性機構を明らかにすることで耐熱化した育種株への知見を得ることが可能となる。

これまでに行ったメタボローム解析と生理学的解析から *C. saccharoperbutylacetonicum* の 37°C での生育能と発酵能の低下は、解糖系の代謝物をはじめとする生育に必要な一次代謝物の多くが低下しており、これは孢子形成が誘導されることが原因であった (図 1)。一方、不足する代謝物の中で

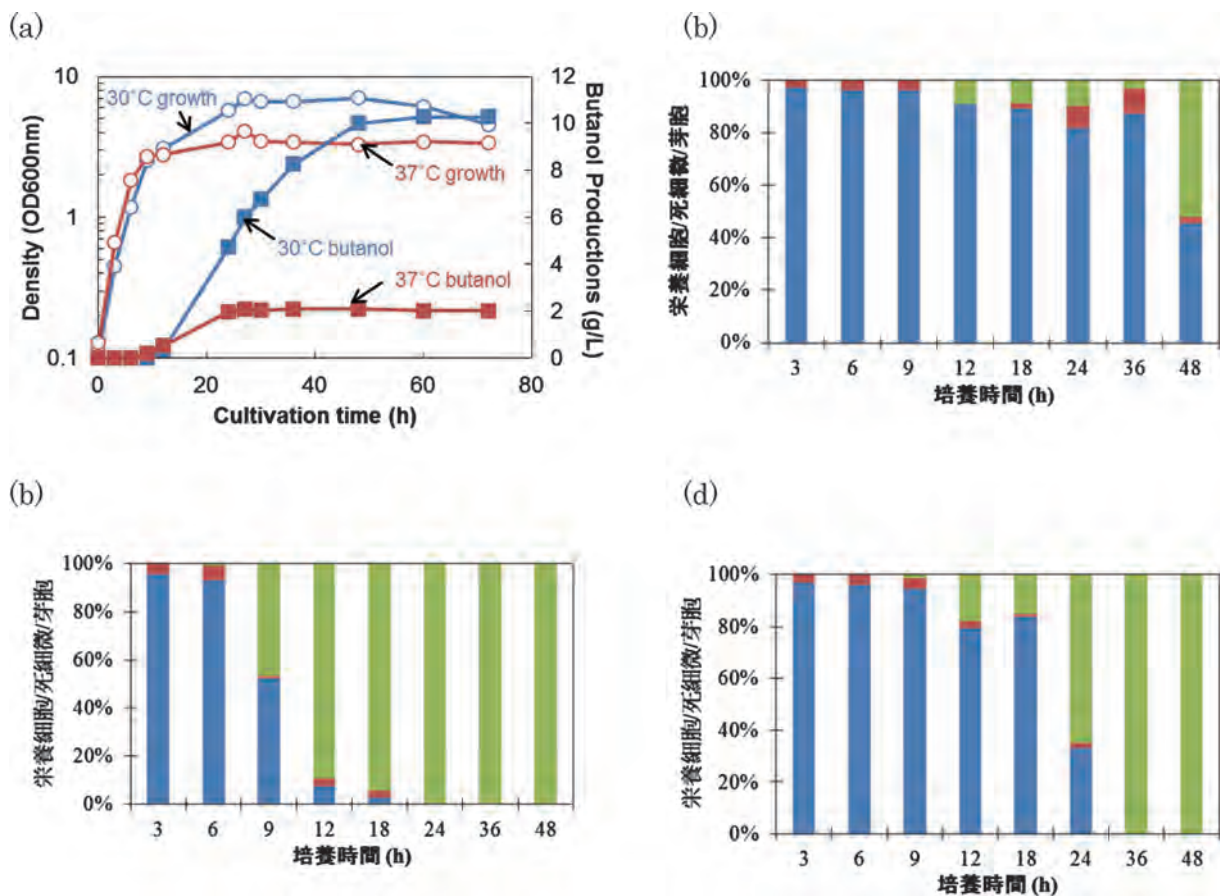


図 1 ブタノール生産と孢子形成の相関。(a) 30°Cと37°Cでの生育とブタノール生成量の経時変化。(b) 30°C培養時の孢子形成の経時変化。(c) 37°C培養時の孢子形成の経時変化。(d) アデニン添加 37°C培養時の孢子形成の経時変化。

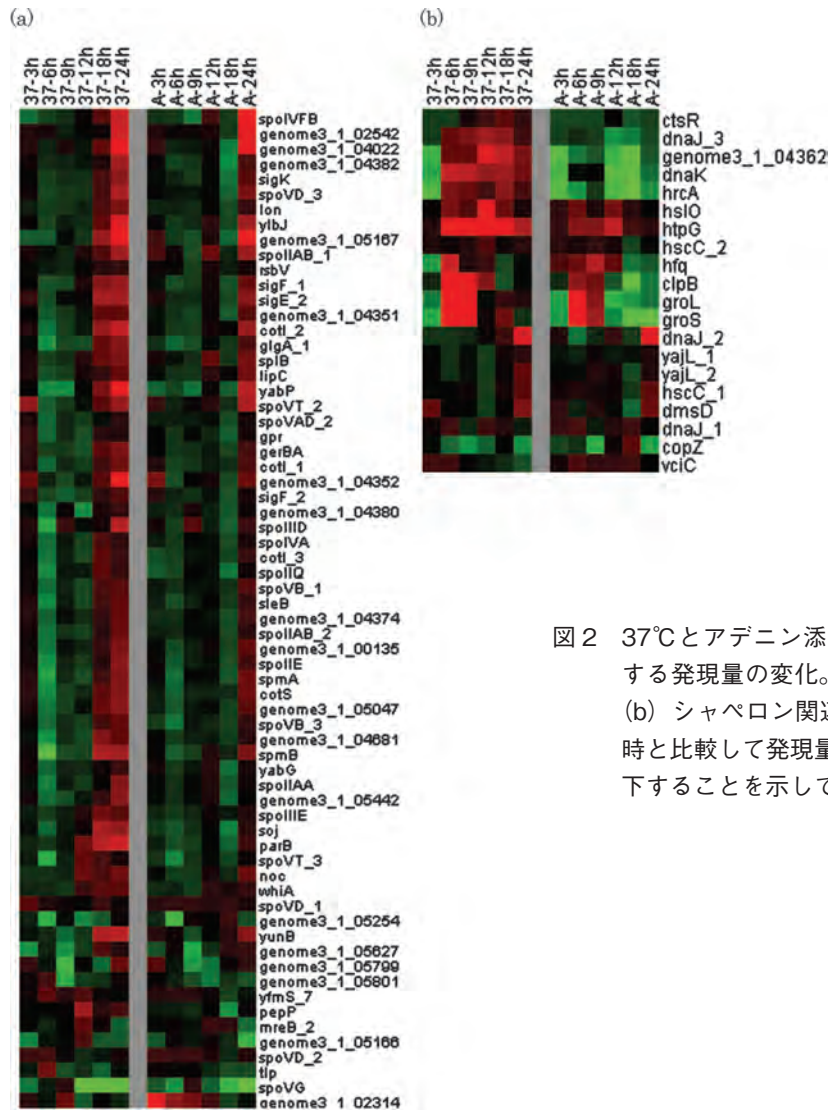


図2 37°Cとアデニン添加37°C培養時の30°Cに対する発現量の変化。(a) 胞子形成関連遺伝子。(b) シャペロン関連遺伝子。赤色は30°C培養時と比較して発現量が多く、緑色は発現量が低下することを示している。

もアデニンを添加すると37°C培養時において胞子形成が引き起こされず生育・発酵能が維持されていた。そこで、30°C、37°C、37°Cにアデニンを添加し培養した菌体からRNAを抽出しRNA-Seq法により網羅的な転写解析を行い、温度感受性機構とアデニン添加時の耐熱化機構について調べた。

30°Cと37°C培養時の転写量を比較したところ、胞子形成に関連する遺伝子発現が増加するが、アデニンを添加することでその発現量が抑制されることが明らかとなり、37°Cで胞子形成が誘導されるのに対してアデニン添加により胞子形成が抑制されることと一致した(図2)。また、興味深い発見として、37°Cではシャペロンの発現が誘導されるのに対してアデニン添加ではdnaK、dnaJ等のシャペロンの発現が抑制されていた。このことは、アデニンを添加することで37°Cという熱ストレスに対して感知しなくなることを示唆している。以上のことから、網羅的な遺伝子発現解析により胞子形成が転写レベルで誘導されることが明らかとなり、37°Cでの胞子形成能を抑制した育種株を取得することで高温域でのブタノール生産が可能となることを見出した。

## 引用文献

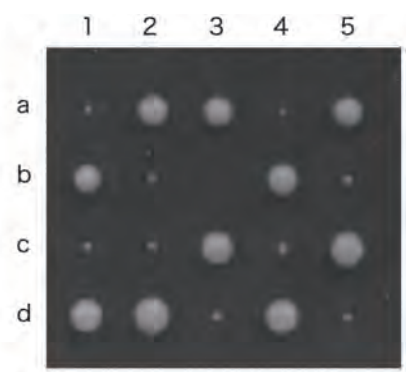
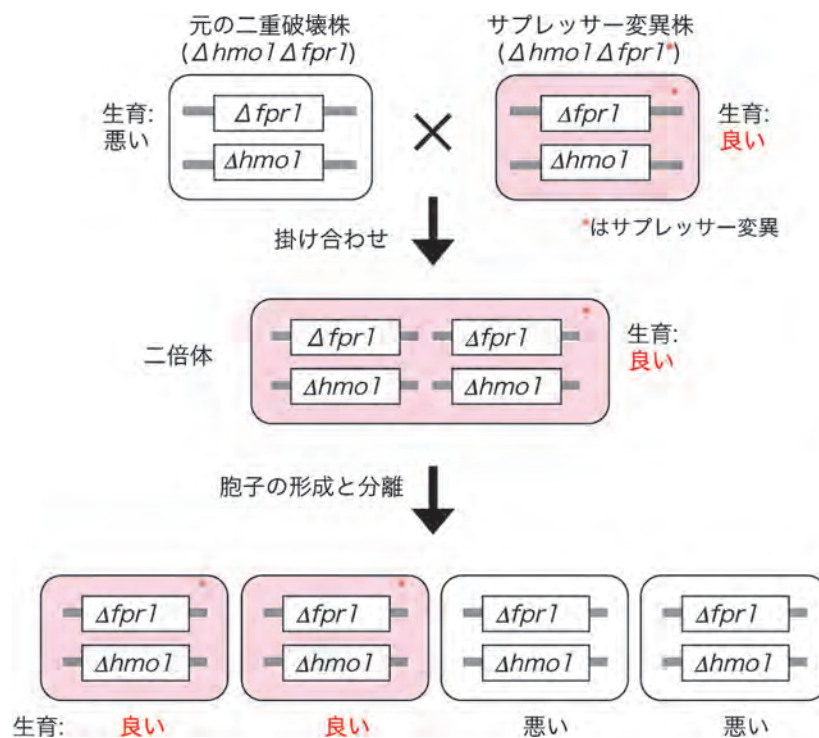
1. Kiyoshi et al. *Bioresour Technol.* 186: 325-8. 2015



## 出芽酵母リボソーム構成因子の転写制御に関わる Hmo1/Fpr1 の機能の解明

出芽酵母 Hmo1 は、リボソームタンパク質遺伝子のプロモーターや、35S rRNA 遺伝子のプロモーター、及びコーディング領域全体に結合し、これら標的遺伝子の染色体構造や転写に重要な役割を果たすと考えられているが、具体的な働きについては不明な点が多い。HMO1 遺伝子破壊 ( $\Delta hmo1$ ) は単独では致死ではないものの、FPR1 遺伝子破壊 ( $\Delta fpr1$ ) と合成致死になることが報告されている。Fpr1 タンパク質は栄養飢餓をミミックする薬剤ラパマイシンと結合した状態で、栄養環境に対するリボソーム合成制御の司令塔である TORC1 複合体に結合し、そのキナーゼ活性を阻害することによりリボソーム構成因子の合成を抑制することが知られているが、薬剤のない本来の状況でのリボソーム合成への関与は不明である。

$\Delta hmo1$  株と  $\Delta fpr1$  株を掛け合わせて四分子解析を行った結果、これらの二重破壊株 ( $\Delta hmo1 \Delta fpr1$ ) は過去の知見に反し致死ではなかったものの、野生株、及び各単独破壊株に比べ著しい生育遅延を示し、両者が細胞の生育にとって極めて重要な役割を協調的に担っていることが再確認された。興味深いことにこの二重破壊株からは生育が  $\Delta hmo1$  株並に回復したサプレッサー変異株が高頻度に出現する。そのうち一株についてゲノムを解読したところ、3 番染色体の末端約 23 kbp が欠失し、代わりに重複した 15 番染色体の末端約 115 kbp に融合した形になっていることが明らかとなった。このサプレッサー変異株を元の二重破壊株と掛け合わせたところ、生育回復の形質は優性だったことから、その原因は 3 番染色体末端の欠失ではなく 15 番染色体末端の重複にあることが示唆された。



$\Delta hmo1 \Delta fpr1$  株と、そこから生じたサプレッサー変異株を掛け合わせて四分子解析を行った結果、生育の良い株と悪い株が2:2に分離し、生育回復の原因が染色体上の一カ所に起こった変異に起因することが示唆された。ゲノム解読の結果サプレッサー変異株では3番染色体末端が欠失し、重複した15番染色体末端に融合していることが明らかとなった(写真は5個の胞子囊から分離したそれぞれ4つの胞子のセットa-dの生育を示す)。



このサプレッサー変異株の15番染色体の重複領域を5つの領域に分けてプラスミドに挿入し、元の二重破壊株に形質転換することにより生育を回復させる領域を限局した。これを繰り返し、最終的にリボソームタンパク質遺伝子の一つ *RPL25* が二つに増えたことが生育回復の原因であることが明らかとなった。RNA-seq 解析の結果、*RPL25* は二重破壊株と野生株を比較して、生育に必須な遺伝子の中で最も転写量の低下が大きかったことから、 $\Delta hmo1 \Delta fpr1$  二重破壊株の生育異常の原因が *RPL25* 遺伝子の転写の低下にあることが強く示唆された。Hmo1 が *RPL25* を始め多くのリボソームタンパク質遺伝子の転写に関わっていることについては既に報告済みであるが、そこに Fpr1 がどのように関わっているかについては全く不明である。我々はそれを明らかにすることが、これら両因子が関与する未知のリボソームタンパク質遺伝子の転写制御機構の発見に繋がるものと考え、現在は他のサプレッサー変異株の原因遺伝子の解析を継続して行っている。

笠原浩司 (応用生物科学部 アイソトープセンター)

石毛太一郎 (生物資源ゲノム解析センター)

吉川博文 (応用生物科学部 バイオサイエンス学科)

## **Nocardioides sp. PD653 株における 好氣的 HCB 脱塩素分解酵素遺伝子の探索**

人為起源の非天然化合物に暴露された微生物の中には分解能を進化・適応するものが存在し、この進化・適応における分子機構として代謝酵素遺伝子の獲得が重要であるとされています。

これまでの研究で地理的・分類学的に離れた微生物から遺伝子レベルで類似した代謝酵素遺伝子群が発見されており、このような一連の遺伝子群の伝搬にはプラスミドやトランスポゾンといった可動性遺伝因子が重要な役割を果たしていると考えられています。過去にも多くの非天然化合物に対する代謝酵素遺伝子群がこの因子上に存在することが報告され、遺伝子の水平伝搬・再編成の結果、様々な分解活性を示す微生物が出現していることが示唆されています。その中には難分解性で人体に有害である有機ハロゲン化物（PCBs、HCHs、PCP 等）を分解する細菌も存在し、分解代謝メカニズムの詳細な研究が行われてきました。本研究では有機ハロゲン化物の殺菌剤である Hexachlorobenzene ( $C_6Cl_6$  : HCB) の分解に関わる代謝酵素遺伝子群の単離・同定を目的としています。

HCB は 1940 年代に開発された有機塩素系殺菌剤であり、環境中での高い残留性、生物濃縮、生態系への影響から 2001 年にストックホルム条約で残留性有機汚染物質（POPs）に指定された有害化学物質です。筆者らは、HCB を好氣的に脱塩素分解する世界初の野生型細菌として *Nocardioides* sp. PD653 株を単離しました（図 1）。HCB は Pentachlorophenol（PCP）を経由し、無機化されます（図 2）。これまで様々な細菌が PCP 分解菌として単離され、特に *Sphingobium chlorophenolicum* ATCC 39723 株において分解代謝に寄与する各種代謝酵素遺伝子が解明されています。

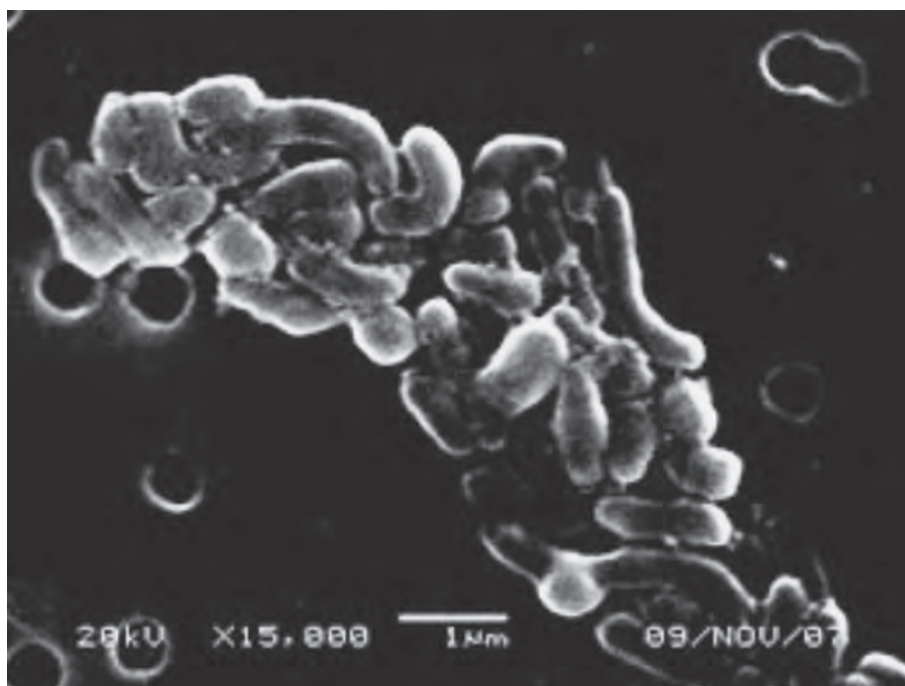


図 1 *Nocardioides* sp. PD653 株の SEM

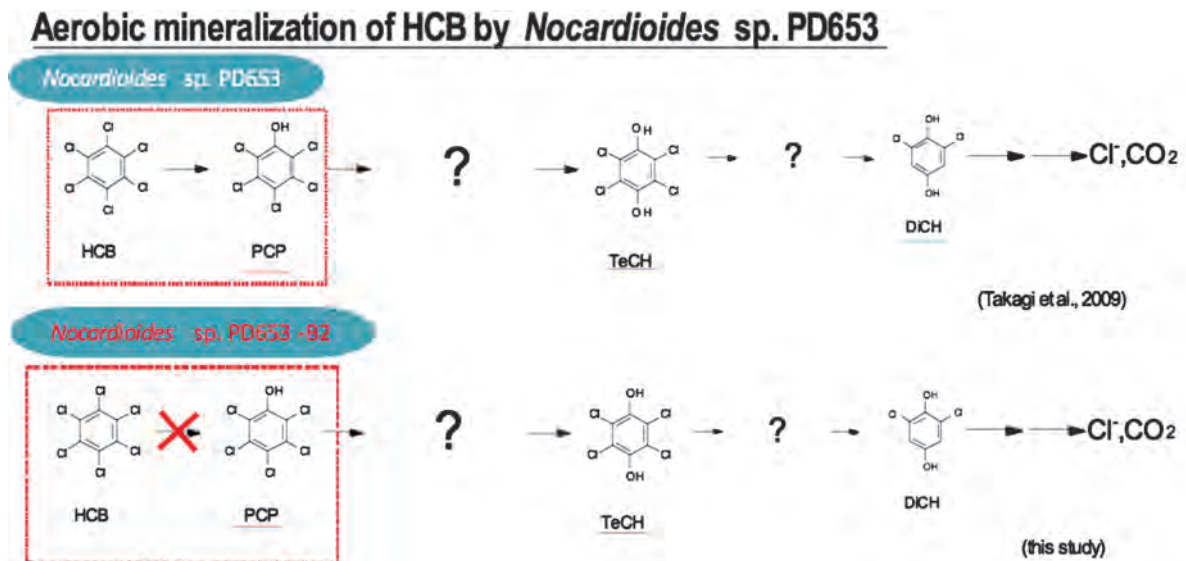


図2 好気条件下における PD653 株の HCB 分解代謝経路

PD653 株においても PCP の中間代謝物として共通の Tetrachlorohydroquinone (TeCH)、Dichlorohydroquinone (DiCH) が生成 (図2) することから類似の分解メカニズムが寄与していることが示唆されています。しかし PD653 株を含め、微生物による HCB の脱塩素分解反応に関わる酵素遺伝子は同定されていません。これを明らかにすることは人為起源の HCB に対して PD653 株が分解能を獲得するための遺伝子の進化・適応機構の解明にとって重要なデータとなると同時に、HCB 汚染に対する細菌を用いたバイオレメディエーション技術開発のための基礎研究という意味でも重要な知見となります。

筆者らはさらに PD653 株の培養過程で生じた PD653-B2 株を単離しました。PD653-B2 株は HCB を PCP に変換する初発脱塩素分解能を欠失しています。我々はこの原因が分解酵素遺伝子の欠失・変異によるものという仮説を立て、PD653 株および PD653-B2 株のドラフトゲノム解析を行いました。解析結果に基づき HCB 初発脱塩素分解に関与する候補遺伝子の絞り込みを行っており、97 個の変異遺伝子が集中した領域が PD653-B2 株のゲノム上に存在することを明らかにしました。現段階では組換え大腸菌を用いた候補遺伝子の評価を進めています。

この成果により、初発 HCB 脱塩素分解酵素遺伝子を含め分解代謝に寄与する酵素遺伝子群の同定につながると期待しています。

高木和広 (国立研究開発法人 農業環境技術研究所)

田中尚人 (菌株保存室)

兼崎 友 (生物資源ゲノム解析センター)

伊藤虹児 (大学院農学研究科農芸化学専攻)

## 花に生息する嫌気性細菌に関する研究

嫌気性細菌であるビフィズス菌の多くは動物の腸管内に生息するが、例外として O<sub>2</sub> 耐性能の高いビフィズス菌がミツバチの腸管から単離された報告例がある。そこで我々はミツバチ腸内に生息する嫌気性細菌が花に由来する可能性を推定した。糖源が豊富な蜜を含む花には特有の微生物叢の存在も推定されることから、2006 年から花に生息する嫌気性細菌の解析を行っている。その結果、花から嫌気培養法にて出現するコロニーが多数検出され、花に特有の嫌気微生物叢の存在が強く推定された。またその過程で動物からは単離報告例のない新種の嫌気性乳酸菌が単離され、*Lactobacillus floricola* と *Lactobacillus ozensis* と命名した。本研究では花に生息する嫌気性細菌の生態分布の解明と新たな微生物資源の探索を目的としている。

花試料は 2006 年から 2015 年にかけて群馬県、長野県や北海道などの国立公園で許可を得て採取している。特に近年は、調査当初から興味深い菌叢の存在が推定されたミズバショウに着目し、ミズバショウ自生地を中心に調査を進めている（図）。採取した花は全体、あるいは部位ごとに培養法に供し、得られた嫌気性菌のコロニーをランダムに選択し、微生物種の同定を行っている。また、2010 年度からはゲノムセンターとの共同研究として、次世代シーケンサーを用いた網羅的な微生物叢の解析を行っている。

国立公園など人の生活圏外で採取した花からはグラム陽性の乳酸生成細菌類やグラム陰性の嫌気性菌などが主に単離され、多いもので花 1 輪あたり  $10^4 \sim 10^8$  ものコロニーが得られた。また、ミズバショウからは年度や地域性を問わず *Carnobacterium* 属細菌に分類される乳酸菌が多く単離され、



図 写真は左：ミズバショウ（長野県）、右：ザゼンソウ（北海道利尻島）。  
国立公園等で許可を得て採取し、細菌叢の解析を行っている。



両者が共生関係にある可能性が推定された。メタゲノム解析では、培養法で得られた結果との相関性が得られ、花には豊富で多様な嫌気性細菌叢が存在することが明らかになりつつある。今年度の成果としては、我々が単離した上記2新種の嫌気性乳酸菌が、花の蜜に集まる昆虫の腸管においても主要な菌叢を形成することが判明し、昆虫の健全な腸内環境の形成に重要な影響をおよぼす菌である可能性が推定された。これら嫌気性菌が花に生息する意義の解明を目的として、生理学的な特性の解析と共に、採取地環境の微生物生態系の解析を同時に進めている。

川崎信治 (応用生物科学部 バイオサイエンス学科)

石毛太一郎 (生物資源ゲノム解析センター)

板橋貴智 (大学院農学研究科バイオサイエンス専攻)

平井昂二郎 (大学院農学研究科バイオサイエンス専攻)

新村洋一 (応用生物科学部 バイオサイエンス学科)

## メタゲノム解析による草木湖の微生物生態系の解明

近年、環境中に生息する微生物群集のゲノムを培養に依存することなく、網羅的に解析する環境メタゲノム解析が行われるようになりました。本解析は海洋や土壌の複合微生物群集の網羅的解析に応用されてきています。しかしながら、淡水資源として重要な位置づけにあるダム湖に対して環境メタゲノム解析を行った例はありません。そこで群馬県の草木湖について真正細菌をターゲットとした16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンシングを行いました。2015年4月～9月の表層水（水深0.5m）、中層水（水深40m）、底層水（水深60～80m）の解析結果を図1に示します。棒グラフのパーセントは総リード数に占める割合で存在比の目安になります。4月の表層、5月の底層は

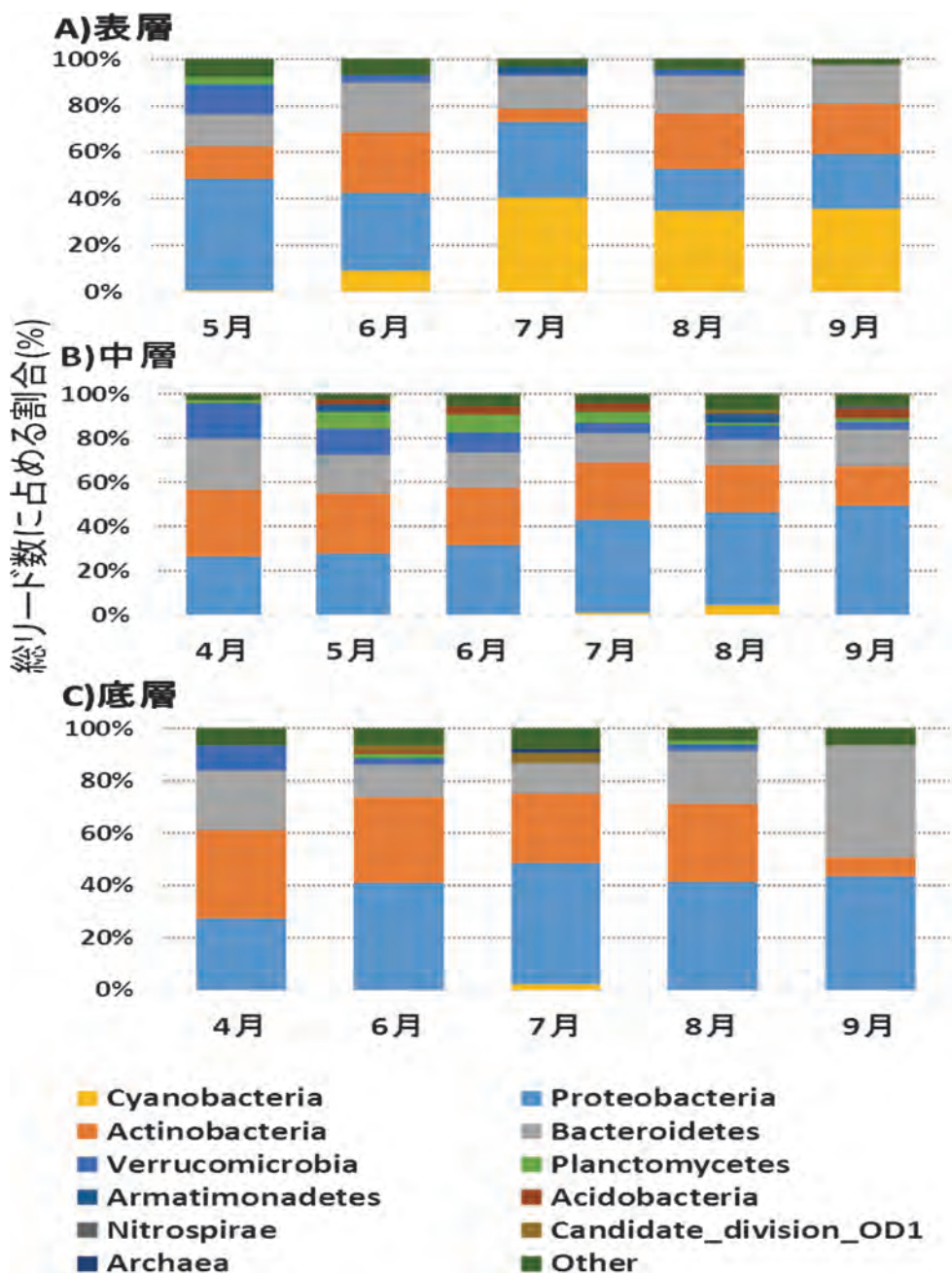


図1 各水深における門レベルによる微生物相の評価

PCRの増幅がみられず、解析することが出来ていません。7月、8月、9月の表層においてCyanobacteria門が多く検出されています(図1A)。この時顕微鏡観察において、ピコシアノバクテリア(細胞径0.2~2 $\mu$ mのシアノバクテリア)や*Pseudanabaena*属が観察されており、これらに対応すると考えられます。表層において化学合成生物ではProteobacteria門およびActinobacteria門が多く検出されています。綱レベルで見ると、Proteobacteria門ではBetaproteobacteria綱、Actinobacteria門ではActinobacteria綱が主要でした。中層および底層ではCyanobacteria門の割合が低下し、化学合成生物で微生物群集が構成されていました。中層は全ての層の中で最も多様性に富んでおり(rarefaction curveによる評価)、Proteobacteria門とActinobacteria門で総リード数の55~68%を占めました(図1B)。綱レベルでは、Proteobacteria門ではBetaproteobacteria綱が、Actinobacteria門ではActinobacteria綱が主要でした。底層は、4~8月は中層と同様にProteobacteria門とActinobacteria門の割合が大きかったのですが、9月においてBacteroidetes門の割合が高まりました(図1C)。Bacteroidetes門の中ではFlavobacteriia綱が主要でした。

半年程度の結果ではありますが、微生物群集構造が少しずつ明らかになってまいりました。今後、さらにデータを蓄積し、化学合成生物の群集構造の水深方向の変化、季節変化を主座標解析を用いて定量的に評価していきたいと思えます。草木湖では水温および溶存酸素の鉛直分布が時期によって大きく変化します。また、ピコシアノバクテリアを含む藍藻綱、緑藻綱、珪藻綱といった植物プランクトンの種組成や細胞数が時期によって大きく変化します。このような化学合成生物を取り巻く環境要因と、化学合成生物の群集構造の推移を注意深く考察し、群集構造の変化が何に起因しているのか、また、主要な植物プランクトンの減少に関わる細菌が存在するのか等、微生物間の相互作用についても解析したいと考えております。

藤本尚志 (応用生物科学部 醸造科学科)

渡辺 智 (応用生物科学部 バイオサイエンス学科)

石毛太一郎 (生物資源ゲノム解析センター)

兼崎 友 (生物資源ゲノム解析センター)

菊地英夫 (独立行政法人水資源機構)

## 出産が妊婦の腸内フローラへ与える影響

ヒトの消化管には 1000 種類にも及ぶ細菌が生息しており、その細胞数は我々の体細胞数よりも 10 倍以上多く、その中でも特に大腸には内容物 1g あたり  $10^{11-12}$  細胞もの細菌が棲みついている。また、これらの細菌が保持する遺伝子数を合計すると、宿主である我々が保持する遺伝子よりも 100 倍多い遺伝子を腸内細菌は保有していることが知られている。このような多様かつ多量の細菌の腸内における活動は、宿主であるヒトの健康状態に大きな影響を及ぼすことが知られている。腸内細菌が我々宿主に与える影響とは、例えば消化・吸収を助ける、ビタミンを合成し宿主に供給する、外来性の食中毒細菌が腸内で定着・増殖するのを防ぐ、宿主の免疫調節を行う等の、宿主であるヒトにとって正の影響と共に、腐敗物質、毒素、発がん物質の産生などの負の影響も及ぼすことが知られている。そのため、腸内環境を適切な状態に保つことが、健康な生活を送る上で非常に重要である。

従来、我々ヒトは母体内に無菌の状態が存在し、生まれる際に産道で初めて微生物感染すると考えられていた。しかし近年の研究により、プラセンタ、羊水等の母体内サンプルから様々な細菌が検出され、胎児は母体内で様々な微生物的刺激を受けていることが明らかになった。これらの細菌がどのような経路でそれぞれの環境まで到達したのかは未だ明らかではないが、ヒト体内での細菌の分布を考慮すると、母体の腸内環境が一つの大きな供給源になっていることが想像される。また、胎便（生まれたばかりの乳児が最初に出す便）の細菌フローラはプラセンタの細菌フローラと相関性が見られるとの報告もあることから、胎児の時点でプラセンタを介して母親から細菌を受け取っている可能性が考えられる。また、子供は生まれてからも母親と接している中で、母親から様々な細菌を受け取り、成長と共に母親の腸内フローラに近似していくことが知られている。乳児の異常な腸内環境の発達は乳児疝痛やアレルギーの発症等、様々な健康リスクと密接に関係することから、母親が正常な腸内フローラを保持しておくことが重要であることが容易に推察される。しかしその一方で、乳児の腸内フローラの変遷については盛んに研究されているものの、その供給源となる母体の腸内フローラの変動についてはそれほど明らかにされていない。特に、出産は母体にとって大きな負荷がかかることから、大きな腸内フローラの変動があることも予想される。そこで本プロジェクトでは出産前後の母親の腸内フローラを解析し、出産がどのように母親の腸内フローラに影響を与えるのか、明らかにすることを目的とした。本研究の結果、出産後では Actinobacteria 門細菌が有意に増加しており、この Actinobacteria 門の増加は主に *Bifidobacterium* 属の増加によることが明らかになった。*Bifidobacterium* 属細菌は乳児の健康な成育のために最も重要な腸内細菌だと考えられており、今回の結果は非常に興味深い。今後は乳児の生後の健康状態等の医学的情報を含めて解析していくことで、母親の腸内フローラと乳児の健康とのかかわりについて明らかにしていく。

なお、本研究はトゥルク大学病院及びトゥルク市衛生局内倫理審査委員会の承認のもと、実施された。



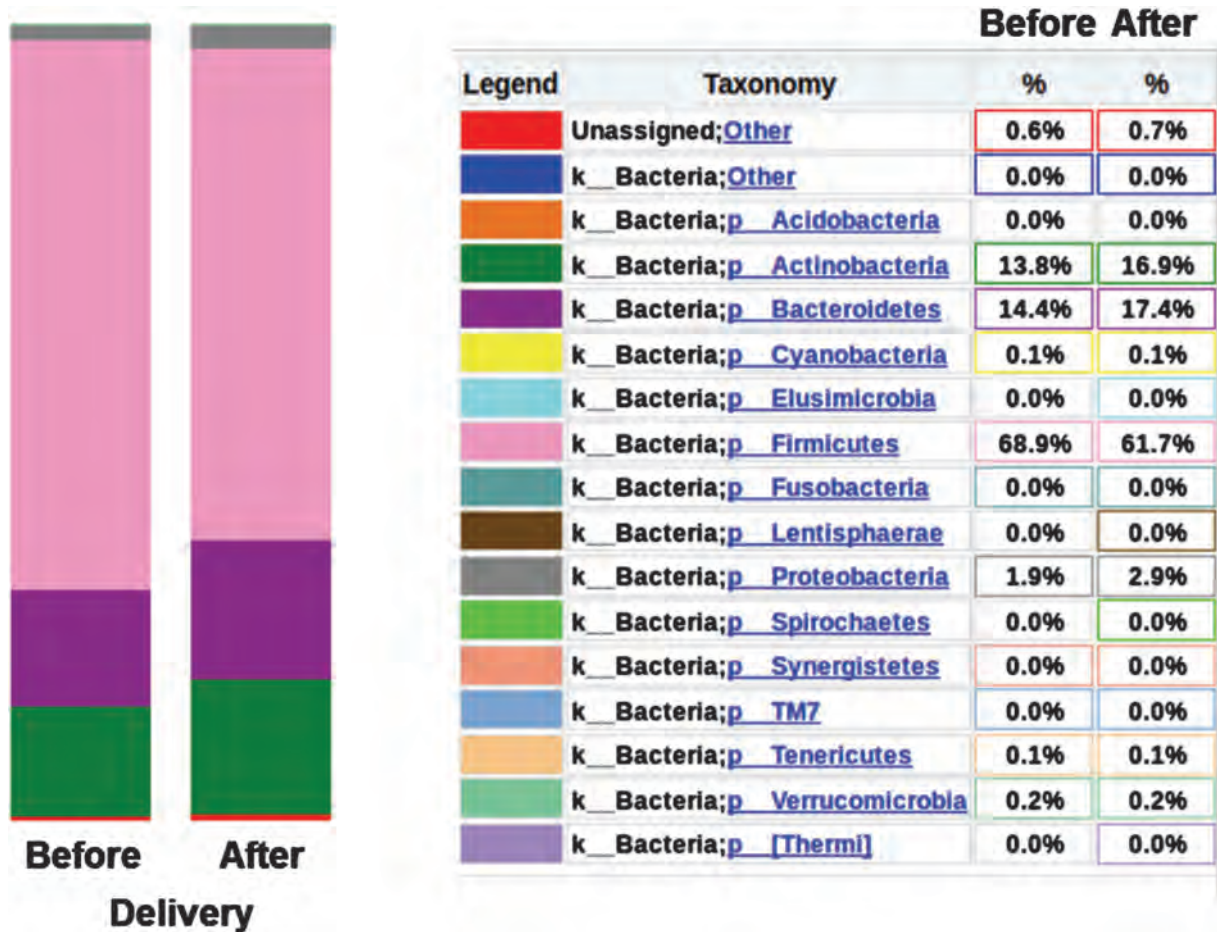


図. 出産前後の腸内フローラの変動（門レベルの解析）

遠藤明仁（生物産業学部 食品香粧学科）

石毛太郎（生物資源ゲノム解析センター）

Himanshu Kumar（Functional Foods Forum, University of Turku, Finland）

Seppo Salminen（Functional Foods Forum, University of Turku, Finland）

Samuli Rautava（Department of Pediatrics and Adolescent Medicine, Turku University of Hospital, Finland）

Erika Isolauri（Department of Pediatrics and Adolescent Medicine, Turku University of Hospital, Finland）

## 研究発表実績

### ●論文発表

Ohbayashi R, Watanabe S, Ehira S, Kanesaki Y, Chibazakura T, and Yoshikawa H.

Diversification of DnaA dependency for DNA replication in cyanobacterial evolution.

*ISME J. in press*, doi: 10.1038/ismej.2015.194. (2016)

Saruhashi M, Kumar GT, Arai K, Ishizaki Y, Hagiwara K, Komatsu K, Shiwa Y, Izumikawa K, Yoshikawa H, Umezawa T, Sakata Y, and Takezawa D.

Plant Raf-like kinase integrates abscisic acid and hyperosmotic stress signaling upstream of SNF1-related protein kinase2.

*Proc Natl Acad Sci U S A. in press*, doi: 10.1073/pnas.1511238112. (2016)

Akanuma G, Yoshizawa R, Nagakura M, Shiwa Y, Watanabe S, Yoshikawa H, Ushio K, and Ishizuka M.

EliA is required for inducing the stearyl alcohol-mediated expression of secretory proteins and production of polyester in *Ralstonia* sp. NT80.

*Microbiology. in press*, doi: 10.1099/mic.0.000225. (2016)

Akuzawa S, Nagaoka J, Kanekatsu T, Kanesaki Y, and Suzuki T.

Draft genome sequence of *Oceanobacillus picturae* Heshi-B3 that was isolated from fermented rice bran with aging salted mackerel, which was named Heshiko as traditional fermented seafood in Japan.

*Genome Announc. in press*, doi: 10.1128/genomeA.01621-15. (2016)

Ishige T, Hara H, Hirano T, Kono T, and Hanzawa K.

Effect of a single polymorphism in the Japanese quail NK-lysin gene on antimicrobial activity.

*Anim Sci J.* 87: 143-146. (2016)

Yano K, Masuda K, Akanuma G, Wada T, Matsumoto T, Shiwa Y, Ishige T, Yoshikawa H, Niki H, Inaoka T, and Kawamura F.

Growth and sporulation defects in *Bacillus subtilis* mutants with a single *rrn* operon can be suppressed by amplification of the *rrn* operon.

*Microbiology.* 162: 35-45. (2016)

Asaji S, Suzuki S, Hosomichi K, Shiina T, Hara H, Hirano T, and Hanzawa K.

The presumption of recombinant region by haplotype analysis of Japanese quail major histocompatibility complex (Mhc Coja) region.

*DNA Polymorphism.* 23: 55-58. (2015)

Endo A, Tanizawa Y, Tanaka N, Maeno S, Kumar H, Shiwa Y, Okada S, Yoshikawa H, Dicks L, Nakagawa J, and Arita M.

Comparative genomics of *Fructobacillus* spp. and *Leuconostoc* spp. reveals niche-specific evolution of *Fructobacillus* spp.

*BMC Genomics.* 16: 1117. (2015)

Fujimoto N, Mizuno K, Yokoyama T, Ohnishi A, Suzuki M, Watanabe S, Komatsu K, Sakata Y, Kishida N, Akiba M, and Matsukura S.

Community analysis of picocyanobacteria in an oligotrophic lake by cloning 16S rRNA gene and 16S rRNA gene amplicon sequencing.

*J Gen Appl Microbiol.* 61: 171-176. (2015)

Fujiwara T, Kanesaki Y, Hirooka S, Era A, Sumiya N, Yoshikawa H, Tanaka K, and Miyagishima SY.

A nitrogen source-dependent inducible and repressible gene expression system in the red alga

*Cyanidioschyzon merolae*.

*Front Plant Sci.* 6: 657. (2015)

Ishige T, Gakuhari T, Hanzawa K, Kono T, Sunjoto I, Sukor JR, Ahmad AH, and Matsubayashi H.

Complete mitochondrial genomes of the tooth of a poached Bornean banteng (*Bos javanicus lowi*; Cetartiodactyla, Bovidae) .

*Mitochondrial DNA*. doi: 10.3109/19401736.2015.1033694 (2015)

Ishige T, Hara H, Hirano T, Mannen H, Kono T, and Hanzawa K.

Basic characterization of avian  $\beta$ -defensin genes in the Japanese quail, *Coturnix japonica*.

*Anim Sci J.* in press, doi: 10.1111/asj.12436. (2015)

Ishihara A, Ohishi K, Yamada T, Shibata-Hatta M, Arai-Kichise Y, Watanabe S, Yoshikawa H, and Wakasa K.

Biochemical and molecular characterization of orange- and tangerine-colored rice calli.

*Plant Biotechnology.* 32: 193–203. (2015)

Itami N, Shirasuna K, Kuwayama T, and Iwata H.

Resveratrol improves the quality of pig oocytes derived from early antral follicles through sirtuin 1 activation.

*Theriogenology.* 83: 1360–1367. (2015)

Itami N, Shiratsuki S, Shirasuna K, Kuwayama T, and Iwata H.

Mitochondrial biogenesis and degradation are induced by CCCP treatment of porcine oocytes.

*Reproduction.* 150: 97–104. (2015)

Ito S, Nozoye T, Sasaki E, Imai M, Shiwa Y, Hatta M, Ishige T, Fukui K, Ito K, Nakanishi H, Nishizawa N, Yajima S, and Asami T.

Strigolactone regulates anthocyanin accumulation, acid phosphatases production and plant growth under low phosphate condition in *Arabidopsis*.

*PLoS One.* 10: e0119724. (2015)

Kanesaki Y, Imamura S, Matsuzaki M, and Tanaka K.

Identification of centromere regions in chromosomes of a unicellular red alga, *Cyanidioschyzon merolae*.

*FEBS Lett.* 589: 1219–1224. (2015)

Kubo N, Toh H, Shirane K, Shirakawa T, Kobayashi H, Sato T, Sone H, Sato Y, Tomizawa S, Tsurusaki Y, Shibata H, Saitsu H, Suzuki Y, Matsumoto N, Suyama M, Kono T, Ohbo K, and Sasaki H.

DNA methylation and gene expression dynamics during spermatogonial stem cell differentiation in the early postnatal mouse testis.

*BMC Genomics.* 16: 624. (2015)

Nagamori I, Kobayashi H, Shiromoto Y, Nishimura T, Kuramochi-Miyagawa S, Kono T, and Nakano T.

Comprehensive DNA methylation analysis of retrotransposons in male germ cells.

*Cell Rep.* 12: 1541–1547. (2015)

Nagatomo H, Akizawa H, Sada A, Kishi Y, Yamanaka K, Takuma T, Sasaki K, Yamauchi N, Yanagawa Y, Nagano M, Kono T, Takahashi M, and Kawahara M.

Comparing spatial expression dynamics of bovine blastocyst under three different procedures: *in-vivo*, *in-vitro* derived, and somatic cell nuclear transfer embryos.

*Jpn J Vet Res.* 63: 159–171. (2015)

**Nagatomo H, Kohri N, Akizawa H, Hoshino Y, Yamauchi N, Kono T, Takahashi M, and Kawahara M.**

Requirement for nuclear autoantigenic sperm protein mRNA expression in bovine preimplantation development.

*Anim Sci J. in press*, doi: 10.1111/asj.12538. (2015)

**Nishijima Y, Kanesaki Y, Yoshikawa H, Ogawa T, Sonoike K, Nishiyama Y, and Hihara Y.**

Analysis of spontaneous suppressor mutants from the photomixotrophically-grown *pmgA*-disrupted mutant in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803.

*Photosynth Res.* 126: 465-475. (2015)

**Okubo S, Tada T, Shimoi G, Soma K, and Wada K.**

Genetic structure of the domestic Emu population in Abashiri on the basis of mitochondrial and microsatellite DNA polymorphism.

*J Agric Sci Tokyo Univ Agric.* 60: 40-43. (2015)

**Sakashita A, Kawabata Y, Jincho Y, Tajima S, Kumamoto S, Kobayashi H, Matsui Y, and Kono T.**

Sex specification and heterogeneity of primordial germ cells in mice.

*PLoS One.* 10: e0144836. (2015)

**Shiwa Y, Atarashi H, Tanaka N, Okada S, Yoshikawa H, Endo A, Miyaji T, and Nakagawa J.**

Genome sequences of three strains of *Lactobacillus paracasei* of different origins and with different cholate sensitivities.

*Genome Announc.* 3: e00178-15. (2015)

**Sugiyama M, Kawahara-Miki R, Kawana H, Shirasuna K, Kuwayama T, and Iwata H.**

Resveratrol-induced mitochondrial synthesis and autophagy in oocytes derived from early antral follicles of aged cows.

*J Reprod Dev.* 61: 251-259. (2015)

**Takahashi G, Gurumurthy CB, Wada K, Miura H, Sato M, and Ohtsuka M.**

GONAD: Genome-editing via Oviductal Nucleic Acids Delivery system: a novel microinjection independent genome engineering method in mice.

*Sci Rep.* 5: 11406. (2015)

**Uchiyama J, Kanesaki Y, Iwata N, Asakura R, Funamizu K, Tasaki R, Agatsuma M, Tahara H, Matsushashi A, Yoshikawa H, Ogawa S, and Ohta H.**

Genomic analysis of parallel-evolved cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803 under acid stress.

*Photosynth Res.* 125: 243-254. (2015)

**Watanabe S, Ohbayashi R, Kanesaki Y, Saito N, Chibazakura T, Soga T, and Yoshikawa H.**

Intensive DNA replication and metabolism during the lag phase in cyanobacteria.

*PLoS One.* 10: e0136800. (2015)

**Yanase H, Araya-Kojima T, Shiwa Y, Watanabe S, Zendo T, Chibazakura T, Shimizu-Kadota M, Sonomoto K, and Yoshikawa H.**

Transcriptional regulation of xylose utilization in *Enterococcus mundtii* QU 25.

*RSC Adv.* 5: 93283-93292. (2015)

**Yoshizawa Y, Wada K, Shimoi G, Kameyama Y, Wakabayashi Y, Fukuta K, and Hashizume R.**

A 1-bp deletion in *Fgf5* causes male-dominant long hair in the Syrian hamster.

*Mamm Genome.* 26: 630-637. (2015)



## ●学会・セミナー等での発表

## ○国内

2015年5月25-26日

## 第9回日本エピジェネティクス研究会（東京）

小林久人、坂下陽彦、若井拓哉、小池佐、佐野賢、河野友宏  
 マウス生殖細胞・初期胚のDNAメチローム解析

2015年5月28-30日

## 第62回日本実験動物学会総会（京都）

大久保咲、内山博允、石原真吾、橋詰良一、吉川欣亮、和田健太  
 無眼球症ラット NAK/Nokh における RNA-seq 解析  
 和田健太、松島芳文、多田智記、吉澤康博、長谷川清香、島貫碧、渡部桂、吉川欣亮  
 発生過程の水晶体におけるトランケート型 PITX3 の発現はマウスの小眼球、無水晶体症を引き起こす

2015年5月30-31日

## 第56回日本卵子学会（宇都宮）

坂下陽彦、田島紫雲、川畑順子、神長裕子、小林久人、河野友宏  
 マウス始原生殖細胞における DNA メチル化非依存的な性特異的遺伝子発現機構

2015年7月1-3日

## NGS 現場の会第四回研究会（つくば）

石毛太郎、覚張隆史、半澤恵、松林尚志  
 ボルネオ島に生息するバンテンおよびマメジカの MtDNA の解析  
 内山博允、石毛太郎、岡田潔、矢嶋俊介  
 NGS によるアズキマメゾウムシ類の化学感覚に関わる遺伝子の探索  
 兼崎友  
 シアノバクテリア研究室株のリシーケンス解析と表現型の差異に関わる原因遺伝子の同定  
 川原玲香、神作宜男、河野友宏、桑山岳人  
 比較ゲノム解析によるニワトリの就巢性発現に関わる変異の探索と絞り込み

2015年7月3-4日

## 第29回モロシヌス研究会（神戸）

高橋剛、長谷川清香、吉川欣亮、和田健太  
 マウス劣性白内障を引き起こす Mip の新規ミスセンス変異  
 和田健太、渡部桂、松島芳文、吉澤康博、設楽浩志、清末優子、吉川欣亮  
 PH ドメイン蛋白質 PHLDB1 の欠失に起因するマウス水晶体脱臼白内障

2015年7月11日

## 第12回北海道実験動物研究会（札幌）

高橋剛、Channabasavaiah B Gurumurthy、和田健太、三浦浩美、佐藤正宏、大塚正人  
 ex vivo 処置を介さない CRISPR/Cas9 系による遺伝子改変マウス作製法「GONAD」の開発  
 宗形春花、大久保咲、内山博允、橋詰良一、吉川欣亮、和田健太  
 新規無眼球症ラット NAK/Nokh の発症原因の探索

2015年8月27-28日

## 2015年グラム陽性菌ゲノム機能会議（大津）

阿部清孝、兼崎友、渡辺智、善藤威史、千葉櫻拓、門多真理子、園元謙二、吉川博文  
 キシロース資化能をもつ好熱性乳酸菌 *Enterococcus faecium* QU 50 株のゲノム解析  
 大坂夏木、高田啓、多喜乃雄太、兼崎友、渡辺智、千葉櫻拓、吉川博文  
 枯草菌における栄養状態に応じた新規 GTP 制御機構の解析  
 河村富士夫、名取陽祐、渡辺正樹、渡辺智、兼崎友、児玉裕司、奥田光美、赤沼元気、吉川博文  
 目的遺伝子の翻訳に特化したリボソーム  
 高橋宏輝、細村匡太郎、渡辺智、朝山宗彦、兼崎友、吉川博文、朝井計

シアノバクテリア由来の RNA ポリメラーゼの枯草菌での異種発現系の構築

高松美沙樹、山下園加、佐藤絢、兼崎友、朝井計、吉川博文

枯草菌主要シグマ因子と RNA ポリメラーゼの新規機能解析

多喜乃雄太、高田啓、兼崎友、渡辺智、千葉櫻拓、吉川博文

枯草菌の栄養状態に応じた脂質合成制御機構の解析

吉田早希、植木典子、兼崎友、吉川博文、朝井計

枯草菌の選択的シグマ因子群の役割について

#### 2015年9月6-8日

##### 日本植物学会第79回大会（新潟）

小田しおり、重信直人、兼崎友、渡辺智、千葉櫻拓、笠原浩司、三角修己、吉川博文

新規単離極限環境紅藻の Mn 耐性関連遺伝子の探索

宮澤和己、重信直人、兼崎友、渡辺智、千葉櫻拓、吉川博文

単細胞紅藻 *Galdiera sulphuraria* SG 株における糖添加時の細胞応答の解析

#### 2015年9月7-8日

##### 第30回日本放線菌学会大会（富山）

松田研一、長谷部文人、富田武郎、兼崎友、志波優、吉川博文、新家一男、葛山智久、西山真

アミノ基キャリアタンパク質を指標とした新規天然化合物の探索

#### 2015年9月9-10日

##### 日本家禽学会2015年度秋季大会（江別）

布目三夫、中野幹治、只野亮、三木（川原）玲香、河野友宏、藤原哲、葺澤圭二郎、水谷誠、松田洋一

マイクロサテライト DNA および mtDNA を用いた家禽ニホンウズラの由来に関する集団遺伝学的解析

#### 2015年9月11-12日

##### 日本畜産学会第120回大会（江別）

朝治桜子、鈴木進悟、平野貴、原ひろみ、椎名隆、半澤恵

次世代シーケンサーによるニホンウズラの機能的 MHC クラス II $\beta$  遺伝子座の同定

石毛太一郎、原ひろみ、平野貴、半澤恵

ニホンウズラ Liver expressed antimicrobial peptide 2 (CjLEAP2) の遺伝学的解析

#### 2015年9月17-20日

##### 第108回日本繁殖生物学会大会（宮崎）

小池佐、神長祐子、若井拓哉、水谷英二、小林久人、若山清香、坂下陽彦、三浦史仁、伊藤隆司、河野友宏

体細胞クローンマウス精子の DNA メチル化異常の検出

小林久人、小池佐、坂下陽彦、田中啓介、河野友宏

小規模およびシングルセルショットガンバイサルファイトシーケンス解析による生殖細胞系列における反復配列特性の解明

宗像祥久、川原玲香、白砂孔明、桑山岳人、岩田尚孝

アクリルアミドゲル上での培養はブタ初期胎状卵胞の顆粒層細胞数を増加させ卵子の発育能力、脂質含量およびヒストンのアセチル化状態を向上させる

#### 2015年10月17-20日

##### 日本微生物生態学会第30回大会 第7回日本-台湾-韓国微生物生態学国際シンポジウム（土浦）

板橋貴智、上野一輝、石毛太一郎、平井昴二郎、岩田絢子、田川可琳、千葉誠、新村洋一、川崎信治

花に生息する嫌気性細菌に関する研究

#### 2015年10月26-28日

##### 第67回日本生物工学会大会（鹿児島）

阿部清孝、兼崎友、渡辺智、善藤威史、千葉櫻拓、門多真理子、園元謙二、吉川博文

キシロース資化能をもつ好熱性乳酸菌 *Enterococcus faecium* QU 50 株のゲノム解析

阿部達明、石川森夫、松原拓哉、兼崎友、Andres-Barrao Cristina、吉川博文、小泉幸道、貝沼(岡本)章子

RNA-seq 法による *Acetobacter* 属酢酸菌二属のグルコース存在下における代謝戦略の比較解析

今井健太郎、石川森夫、吉田将也、山本有紀、松原拓哉、兼崎友、吉川博文、小泉幸道、貝沼（岡本）章子  
*Acetobacter* 属二属における基幹代謝経路の動作機序の比較解析

**2015年11月7-8日**

**日本動物遺伝育種学会第16回大会（神戸）**

小林久人

次世代シーケンサーを利用した新しい農学研究分野の開拓

**2015年12月1-4日**

**第38回日本分子生物学会年会 第88回日本生化学会大会合同大会（神戸）**

朝治桜子、鈴木進悟、平野貴、原ひろみ、椎名隆、半澤恵

次世代シーケンサーによるニホンウズラの機能的 MHC クラス II  $\beta$  遺伝子座の同定

小林久人、小池佐、坂下陽彦、田中啓介、河野友宏

小規模およびシングルセルショットガンバイサルファイトシーケンス解析による生殖細胞系列における反復配列特性の解明

千葉櫻拓、桑村晴奈、佐藤匠、飯田友貴、高橋究、小倉俊一郎、中島元夫、田中徹、吉川博文

がん温熱増感剤としての5-アミノレブリン酸

Maria Ulfah、川原玲香、Achmad Farajallah、Ben Dorshorst、Alison Martin、河野友宏

セキショクヤケイおよびアオエリヤケイゲノムの 遺伝的特徴とインドネシア在来家禽との系統関係の解析

**2015年11月30日-12月1日**

**日本ウマ科学会第28回学術集会（東京）**

覚張隆史、石毛太郎、菊地大樹、丸山真史、曹龍、王煒林、鶴間和幸、米田穰、太田裕樹、河野友宏、半澤恵

東アジア遺跡出土馬の古代 DNA 分析における方法論的改善とその応用

**2015年12月5日**

**第19回バイオ治療法研究会学術集会（東京）**

上原佳織、若命浩二、小松健一、佐藤恵亮、中田章史、長島孝行、内山博允、高成準、三浦健人

ライチ低分子ポリフェノール（オリゴノール）のメタボリックシンドロームモデルマウスに対する効果

**2015年12月11-13日**

**第40回日本比較内分泌学会大会 日本比較生理生化学会第37回大会合同大会（広島）**

内山博允、菅野晃平、長島孝行、矢嶋俊介

甲虫の青受容オプシンの発見

**2015年12月12-13日**

**第13回日本機能性食品医用学会学術総会（福岡）**

上原佳織、若命浩二、小松健一、佐藤恵亮、中田章史、長島孝行、内山博允

メタボリックシンドロームモデルマウスに対する桑葉の効果

**2016年3月4-5日**

**第10回日本ゲノム微生物学会年会（東京）**

高松美沙樹、兼崎友、佐藤絢、渡辺智、千葉櫻拓、吉川博文

枯草菌の転写開始点に依存した新規熱ショック応答機構のゲノムワイドな検証

**2016年3月5-8日**

**日本植物分類学会第15回大会（富山）**

田中啓介、大竹留未、吉田沙樹、篠原卓

ライブラリー濃縮技術と MiSeq を利用した高出力、低コストなマイクロサテライト領域検出方法の開発

**2016年3月16-18日**

**第50回日本水環境学会年会（徳島）**

清水千佳、藤本尚志、渡辺智、大西章博、鈴木昌治、兼崎友、石毛太郎、菊地英夫、岸田直裕、秋葉道宏

草木湖における微生物群集の鉛直分布

**2016年3月17-19日**

**日本農薬学会第41回大会（松江）**

伊藤晋作、野中詩織、細井昂人、勝山勉、内山博允、近藤竜彦、佐々木康幸、矢嶋俊介  
ダイズシストセンチュウの孵化機構に関する研究

**2016年3月18-20日**

**第57回日本植物生理学会年会（盛岡）**

海田るみ、坂本由理奈、勇達也、佐藤瑛梨奈、山崎稜太、馬場啓一、西尾伸也、西田幸次、太治輝昭、坂田洋一、林隆久

シロイヌナズナのキシログルカングルコシルトランスフェラーゼとキシロシルトランスフェラーゼの共発現ポプラ

坂本由理奈、大平莉加、荒川諒平、永峰茉奈、田中啓介、亀山昭彦、矢追克郎、海田るみ、太治輝昭、坂田洋一、林隆久

ポプラにおけるキシログルカンの機能

**2016年3月20-24日**

**第63回日本生態学会大会（仙台）**

石毛太郎、覚張隆史、半澤恵、松林尚志

密猟されたボルネオバンテンの歯髄から完全長ミトコンドリア DNA の決定

**2016年3月26-29日**

**日本昆虫学会第76回大会 第60回日本応用動物昆虫学会大会合同大会（大阪）**

内山博允、菅野晃平、田島晴菜、長島孝行、矢嶋俊介

RNA sequencing による甲虫の視覚オプシン探索

**2016年3月26-29日**

**日本薬学会136年会（横浜）**

廣瀬浩平、若命浩二、小松健一、中田章史、佐藤恵亮、高成準、上原佳織、内山博允、長島孝行

低分子化ライチポリフェノールのメタボリックシンドロームモデルマウス肝臓の遺伝子に与える影響の網羅的解析

**2016年3月27日-29日**

**第66回日本木材学会大会（名古屋）**

海田るみ、坂本由理奈、太治輝昭、坂田洋一、林隆久、馬場啓一、西尾伸也、西田幸次

ポプラにおけるキシログルカンの機能解析

坂本由里奈、勇達也、佐藤瑛梨奈、大平莉加、山崎稜太、海田るみ、太治輝昭、坂田洋一、林隆久、馬場啓一、高田直樹、谷口亨、亀山昭彦、矢追克郎

ナズナのキシログルカン 4- $\beta$ -グルコシルトランスフェラーゼと 6- $\alpha$ -キシロシルトランスフェラーゼを共発現するポプラ

林隆久、大平莉加、荒川諒平、永峰茉奈、坂本由理奈、海田るみ、太治輝昭、坂田洋一、田中啓介、馬場啓一  
地震に対するキシログルカンの効果

**2016年3月27-30日**

**日本畜産学会第121回大会（東京）**

石毛太郎、原ひろみ、平野貴、半澤恵

ニホンウズラ Cathelicidin (CjCATH) の遺伝学的解析

和田健太、内山博允、大久保咲、小嶋恵理、原歩、藤井裕康、下井岳、相馬幸作

NGS データを用いたエミューのマイクロサテライト領域の抽出

**2016年3月27-30日**

**日本農芸化学会2016年度大会（札幌）**

阿部達明、石川森夫、松原拓哉、兼崎友、吉川博文、小泉幸道、貝沼（岡本）章子

RNA-seq 法による酢酸菌 *Acetobacter pateurianus* NBRC3283 株のグリセリン利用時における転写挙動の解析



佐藤契太、石川森夫、原田佳子、勝間田憲子、兼崎友、吉川博文、小泉幸道、貝沼（岡本）章子  
 RNA-seq 法による酢酸菌 *Acetobacter pasteurianus* NBRC3283 株の RpoE レギュロンの解析  
 長嶋雄大、小俣翼、田邊義和、石毛太郎、久保田恵理、豊島拓樹、広瀬優、新村洋一、川崎信治  
 過酷な生育環境から単離した真核微細藻類がもつ新奇な環境ストレス耐性機構の解析  
 新村梨恵、松谷峰之介、石川森夫、矢吹岳、海野祥子、志波優、鈴木治夫、平川英樹、吉川博文、松下一信、  
 小泉幸道、貝沼（岡本）章子  
 ゲノム情報を用いたアプローチによる酢酸菌 *Komagataeibacter* 属の分類学的位置付けの検証  
 野中詩織、細井昂人、内山博允、近藤竜彦、佐々木康幸、浅見忠男、矢嶋俊介、伊藤晋作  
 o-phenanthroline によるダイズシストセンチュウの孵化促進  
 平井昂二郎、板橋貴智、石毛太郎、岩田絢子、田川可琳、千葉誠、新村洋一、川崎信治  
 花に生息する嫌気性細菌に関する研究  
 細井昂人、近藤竜彦、内山博允、佐々木康幸、矢嶋俊介、伊藤晋作  
 ダイズシストセンチュウの硝酸イオンへの誘引

## ○国際

**2015年3月29日-4月3日**

**DNA methylation (Z1) - Keystone Symposia (Keystone, CO, USA)**

Kobayashi H.

DNA methylome analysis in mouse germ cells and early embryos.

**2015年8月2-6日**

**15th International Symposium on Phototrophic Prokaryotes (Tubingen, Germany)**

Kanesaki Y, Ohbayashi R, Watanabe S, and Yoshikawa H.

Identification of the associated genes for substrain-specific phenotypes of a cyanobacterium, *Synechococcus elongatus* PCC 7942.

Ohbayashi R, Watanabe S, Ehira S, Kanesaki Y, Chibazakura T, and Yoshikawa H.

Variety of dependency on DnaA protein for DNA replication among cyanobacterial lineages.

Watanabe S, Ohbayashi R, Kanesaki Y, Chibazakura T, and Yoshikawa H.

Cell division-uncoupled DNA replication and metabolism in cyanobacteria *Synechococcus elongatus* PCC 7942.

**2015年8月5-7日**

**International Conference on Biosciences 2015 (Bogor, Indonesia)**

Ulfah M, Kawahara-Miki R, Martin A, Dorshorst B, Sano S, Perwitasari D, Jakaria J, Muladno M, Farajallah A, and Kono T.

Breed determination of Indonesian black chickens based on geographical distribution and genetic diversity.

**2015年10月17-21日**

**American Society for Reproductive Medicine 2015 Annual Meeting (Baltimore, USA)**

Kono T, Sakashita A, Kawabata Y, Jincho Y, Tajima S, Kumamoto S, and Kobayashi H.

Profiling of gender-specific gene expression in female and male primordial germ cells in mice.

**2015年11月2-4日**

**1st International Caparica Conference on Pollutant Toxic Ions and Molecules (Lisbon, Portugal)**

Ito K, Tanaka N, Kanesaki Y, Okada S, and Takagi K.

Exploration of genes involved in the aerobic dechlorination of Hexachlorobenzene in *Nocardioides* sp. PD653.

**2015年11月8-11日**

**29th International Mammalian Genome Conference (Yokohama, Japan)**

Takahashi G, Hasegawa S, Kikkawa Y, and Wada K.

The recessive congenital cataract in nat mice caused by mislocalization of the MIP.

**2015年11月11-14日**

**Epigenetics 2015 (Tasmania, Australia)**

Sakashita A, Kawabata Y, Jincho Y, Kumamoto S, Kobayashi H, and Kono T.

Epigenetic landscapes for regulating gender specific cell fate and transcriptional heterogeneity in mouse primordial germ cells.

**2015年11月14-15日**

**Ovarian Club VI Meeting (Barcelona, Spain)**

Abe T, Kobayashi A, Shirasuna K, Kuwayama T, and Iwata H.

Supplementation of culture medium with resveratrol increases developmental rate to the blastocyst stage concomitant with increase in ATP content and decrease in lipid content.

Shiratsuki S, Shirasuna K, Kuwayama T, and Iwata H.

Low oxygen tension changes the metabolism and proliferative activity of bovine granulosa cells.

Takeo S, Abe T, Shirasuna K, Kuwayama T, and Iwata H.

Maternal aging affects mitochondrial turnover in bovine oocytes.

**2015年11月30日-12月4日**

**8th Plant Biomechanics International Conference (Nagoya, Japan)**

Kaida R, Sakamoto Y, Ohira R, Tanaka K, Baba K, Nishida K, Nishio S, and Hayashi T.

Occurrence of xyloglucan in poplars for standing stems as land plants.

**2015年12月6日-11日**

**International Conference on the Lens 2015 (Kona, HI, USA)**

Wada K, and Kikkawa Y.

Identification of genetic mutation of the transcription factor encoding genes for lens development in mice.

**2015年12月17日**

**3rd International ALA and Porphyrin Symposium (Honolulu, HI, USA)**

Chibazakura T, Toriyabe Y, Kawakami M, Kuwamura H, Iida T, Sato T, Takahashi K, Kamiya A, Ogura S, Abe F, Nakajima M, and Tanaka T.

5-aminolevulinic acid as a potent sensitizer for hyperthermia of cancer.

**2016年2月17-19日**

**International Symposium on "Epigenome dynamics and regulation in germ cells" (Kyoto, Japan)**

Kobayashi H, Koike T, Sakashita A, Tsuno H, Kumamoto S, Wakai T, Sano S, and Kono T.

DNA methylome analysis in mouse germ cells and early embryos.

Koike T, Wakai T, Jincho Y, Sakashita A, Kobayashi H, Mizutani E, Wakayama S, Miura F, Ito T, and Kono T.

DNA methylation errors in cloned mouse sperm by germline barrier evasion.

**●その他**

○マスメディア

2015年8月

ケナガマンモスの全ゲノム解読の研究がNewton別冊に紹介されました。

○著書

大崎智弘、千葉櫻拓

22 超音波力学療法、温熱療法

ポルフィリン ALA学会(編) 現機能性アミノ酸 5-アミノレブリン酸の科学と医学応用 (現代科学創刊

45) pp. 117-123. 東京化学同人 (2015)

○招待講演

**2015年9月25-27日**

**第10回最先端動物遺伝育種セミナー（富士宮）**

石毛太郎

次世代シーケンサーの概要 ～農大ゲノムセンターの例から～

川原玲香

東京農業大学における次世代シーケンシング解析例の紹介

○受賞

**日本畜産学会奨励賞**

石毛太郎

ニホンウズラの抗菌ペプチドに関する分子免疫学的研究

