

東京都立大学
理学研究科
生命科学年報

2022

生命科学専攻

<http://www.biol.se.tmu.ac.jp/>

目次

はじめに	1
概要	2
構成員一覧	4
2022 年度生命科学教室関係役員・委員	8
研究室紹介	
＜＜理学研究科生命科学専攻＞＞	
神経分子機能研究室	12
発生生物学研究室	16
細胞遺伝学研究室	18
分子遺伝学研究室	25
植物発生生理学研究室	31
細胞生化学研究室	40
進化遺伝学研究室	45
神経生物学研究室	54
植物環境応答研究室	58
環境微生物学研究室	62
動物生態学研究室	69
植物生態学研究室	73
動物系統分類学研究室	77
植物系統分類学研究室	86
＜＜応用生命科学領域＞＞	
幹細胞制御学研究室	89
分子神経病理学研究室	90
ケミカルバイオテクノロジー研究室	91
分子老化制御研究室	92
植物成長制御研究室	93
＜＜連携大学院＞＞	
三浦研究室	94
疾患エピゲノム遺伝研究室	95
その他の研究・事業	
小笠原研究	96
牧野標本館の業務	98
ショウジョウバエ系統保存事業	99
教育・研究関連資料	
学位取得者	100
生命科学教室セミナー・都立大バイオカンファレンス 2022	104
学会活動・研究集会の開催など	106

はじめに

生命科学科(学部)・生命科学専攻(大学院)の年報は1982年から毎年発行され、その教育ならびに研究活動について、(1)内容と成果を記録すること、(2)大学院進学や卒業研究での所属研究室を検討する際の資料となること、(3)構成員間の相互理解と研究協力に資すること、(4)大学内外に活動状況を紹介することを主な目的としている。

2022年度は、教授10名、准教授13名、助教10名が14研究室を構成し、教育・研究活動を行ってきた。また多くの特任教員、客員研究員、技術職員、事務職員によって支えられている。さらに、応用生命科学領域5研究室、人間健康科学研究科2研究室および連携大学院6研究室にもご参画いただき、学生の教育・研究にご協力いただいていた。50名超の卒業研究生、80名超の博士前期課程学生、40名超の博士後期課程学生を研究室に迎え入れ、研究を進めてきた。このうち留学生の割合は増加してきており、10%を上回っている。

研究交流会「都立大バイオカンファレンス」は、学外連携機関や化学専攻にもご参加いただき、対面形式で11月11日に開催した。約70題のポスター発表があり、多くの大学院生、教員が活発に議論した。さらに、ソウル市立大学との研究交流事業では、国立研究開発法人科学技術振興機構さくらサイエンスプログラムによる支援も得、1名の教員および10名の学生を本学に迎え入れるとともに、本学からも9名の学生がソウルを訪れた。また、2021年度から大学院博士前期課程の教育カリキュラム英語化推進事業に取り組んでおり、Isaac Planas-Sitja 特任教員の支援も受け、多くの大学院プログラムが英語で提供されるようになった。

学生有志による「卒業研究発表会」はポスター発表形式で2月3日に開催された。約50題の発表があり、活発な議論が行われた。生命科学科の英語課程は開設7年目を迎え、さまざまな取り組みを展開している

(<https://globalj.biol.se.tmu.ac.jp/>)。2月には10名の学部学生がThe State University of New York オネオンタ校(米国)を訪問し、研究発表してきた。3月には、「PRESENTATIONS in BIOLOGY」をテーマとし国内外から講演者を招待して「生命科学英語課程シンポジウム」を開催した。50名を超える参加者があり、盛況な会となった。

夏休みに高校生物教員向けの公開講座・実習を提供するなど、リカレント教育にも注力するとともに、社会に向けた研究成果の発信を続けてきた。牧野標本館の標本数は、57万点を超え、データベース化も進んでおり、研究者だけでなく、今後ますます社会に貢献できることを願っている。

長年にわたって本学科・専攻を支えてくださった林文男教授、黒川信准教授が3月に定年退職された。多くの優れた研究成果を挙げてこられ、また教育や大学の運営面でも大変大きな貢献をされてきた先生方で、最終講義からも未来への大事なメッセージをお伝えいただいた。今後の益々のご発展をお祈りする次第である。

新年度は、新たな教員を迎える計画もあり、高い水準の教育研究活動を維持し、また将来に向けてさらに発展できるよう、新制度・システムを皆で考え、実現したいと願っている。

2023年3月31日 2022年度生命科学科・専攻長 春田 伸

概要

1. 生命科学科・生命科学専攻の基本目標

- (1) 生命科学・基礎生物学分野の指導的な研究者・教育者・その他の専門家の養成を、学生と教員間のコミュニケーションを重視した大学院教育・大学教育を通じて行う。
- (2) 大学院教育と一体化した高度な研究活動により、学問分野および人類社会に貢献する。
- (3) 分子生物学から生態学や系統分類学までを含む基礎生物学の幅広い分野、動物・植物・微生物全ての生物材料を対象とした大学院教育・大学教育を行い、高度な専門性と幅広い知識・経験のバランスのとれた、国際的に活躍する専門家を養成する。
- (4) 研究トレーニングや、実験・実習科目を重視したカリキュラム編成で、実践的な教育を行う。
- (5) 生物学分野の社会人教育、高校教員リカレント教育、高校生対象のプレ大学教育に先導的に取り組み、地域および東京都に貢献する。

2. 組織構成

東京都立大学 生命科学科・生命科学専攻は、2022年4月1日現在 33名の教員、6名の職員（再雇用等の職員を含む）、および数名の臨時職員を擁し、14研究室に分かれて研究と教育活動を行っている。また、東京都の研究機関（東京都医学総合研究所、東京都健康長寿医療センター研究所）、および、理化学研究所と連携大学院協定を結んでいる。卒研究生、大学院生、研究生、教職員等、研究に携わっている者の総数は、200名を越える。

3. 研究活動

各研究室は、多くの研究テーマに取り組んでおり、その具体的内容は「研究室紹介」の項に紹介されている。全般的な特徴としては、研究材料が細菌から高等動植物まできわめて多様性に富んでいること、対象とする生命現象のレベルが分子から細胞・個体・集団・群集と多岐にわたること、研究室間の交流・協力が盛んに行われていることなどが挙げられる。組織として取り組んでいる研究・事業として、小笠原研究、牧野標本館の植物標本庫管理業務、ショウジョウバエの系統保存事業があり、「研究室紹介」の後に概要が紹介されている。

国際交流も活発で、毎年多くの研究者が出張や研修で海外に出かけている。外国人研究者の来訪も多く、共同研究やセミナーなどによる研究交流が行われた。国内外および教室内の研究者による研究紹介「生命科学教室セミナー」は月1回程度開かれており、本年報の最後に今年度の記録が載せられている。

4. 教育活動

生物学の広範囲な分野をバランスよくカバーする多彩な講義と充実した多くの実験実習などを特徴とする教育が行われている。また国際化対応として英語課程を設置しており、内部教員が担当するために細やかな対応の可能な点が特色である。日本語課程とも連携した学部（生命科学コース）の入試制度としては、一般選抜の他に、推薦入試（一般推薦、指定校推薦）、総合型選抜（ゼミナール入試、SAT/ACT・IB入試、科学オリンピック入試）、特別選抜（帰国子女入試、私費外国人留学生入試等）がある。2022年度の生命科学科の入学定員は60名であるが、それぞれの入学定員は一般選抜30名、ゼミナール入試15名、推薦入試11名、SAT/ACT・IB入試4名、その他若干名となっており、意欲の高い多様な学生の入学を図っている。

大学院生命科学専攻の定員は博士前期（修士）課程 40 名、博士後期課程 16 名である。大学院生の活動は各研究室での研究が中心であるが、それに加えて多くの講義、演習、セミナーから各人の興味に応じた履修が行われている。大学院生には、海外研究集会等への派遣制度があり毎年数名派遣されている。

5. 研究施設と設備

10 研究室は 8 号館の 2～5 階に位置し、2 研究室は 9 号館の 4 階に位置している。動・植物の系統分類学研究室は、これとは独立した牧野標本館・自然史研究棟に位置している。各研究室には、個別空調設備、温水や各種高圧ガスの集中配管、情報ネットワークシステムなど、基本的な設備が整っている。生命科学専攻には、多くの共通機器室が設備されて、各種の機器が研究室を越えて共同利用されており、機器やスペースの効率よい利用が図られていると共に、研究室間の交流の場ともなっている。また、ラジオアイソトープ (RI) 棟、温室・圃場、動物飼育棟、電子顕微鏡、情報処理施設など、共同利用のための設備が配備されている。8 号館に隣接した国際交流会館は、外国人研究者の宿泊や各種研究集会の開催など、国際交流・研究交流の場として活用されている。約 60 万冊の蔵書を有する図書情報センターでは、電子ジャーナルを含め 80 あまりの生物学関連の学術雑誌を閲覧できる。

6. 卒業研究の研究室配属

学部生は原則として最終年次に、いずれかの研究室に所属して 1 年間卒業研究（生物学特別研究）を行う。また、早期卒業をめざす学生には最終年次以前に特別研究が認められることがある。例年 1 月から 2 月にかけて希望研究室調査に基づき、配属研究室が決定される。配属希望研究室は、本年報のほか、授業や実習での教員からの情報、研究室訪問、上級生からの情報等さまざまな情報をよく検討した上で決めることとなる。

7. 大学院入試選考

博士前期（修士）課程の一般入試は、夏期（通常、8 月末～9 月上旬）と冬期（2 月上旬）の年 2 回行われ、4 月入学だけでなく、10 月入学の制度もある。博士後期課程の入試は、4 月入学は冬期（通常、2 月上旬）に、10 月入学は夏期（通常、8 月末～9 月上旬）に行われる。大学院願書出願に関する問い合わせは、理系学務課教務係（電話 042-677-1111 内線 3021）で受付けている。なお、希望者は過去の大学院入試問題を <http://www.biol.se.tmu.ac.jp/exam/> にて閲覧できる。

8. 場所と連絡先

東京都立大学のキャンパスは、多摩ニュータウン西部の八王子市南大沢に位置し、京王相模原線南大沢駅（新宿から橋本行きの特急で 32 分、新横浜から橋本経由で約 50 分）からすぐの丘の上にある。駅から約 200 m の広い歩行者用通路でキャンパスに入る。8 号館はそこから東に約 500m の 8 階建、三角屋根の建物である。生命科学専攻の事務室は、8 号館西側の入口から入り（そこが 2 階）、吹き抜けに面した左側すぐの 231 号室にある。本専攻への交通案内は <http://www.biol.se.tmu.ac.jp/access.html> に掲載されている。

〒192-0397 東京都八王子市南大沢 1-1

東京都立大学 大学院理学研究科 生命科学専攻

TEL: 042-677-2558（生命科学専攻事務室）

FAX: 042-677-2559（同事務室）

HP: <http://www.biol.se.tmu.ac.jp/>

構成員一覽表 (2022 年度)

	生命科学専攻 生命科学領域					
	神経分子機能	発生生物学	細胞遺伝学	分子遺伝学	植物発生生理学	細胞生化学
教授			坂井貴臣	加藤潤一 得平茂樹	岡本龍史	川原裕之
准教授	安藤香奈絵	福田公子 高鳥直士				
助教	浅田明子 齋藤太郎		朝野維起 武尾里美		古川聡子 木下温子	横田直人
職員						
特任 RA	●Elizabeth Zielinska		●相垣敏郎		○Kasidit Rattanawong	●高橋俊樹
大学院 博士課程	真野叶子 野澤菜緒子 大場俊弥 Grigorii Sultanakhmetov	照井宇夢	佐藤智士 Maximiliano Martinez Cordera 倉田裕斗 ▲萩原翠唯那 (R)高岸未聖 佐藤岳仁	城取良樹 永井敬大	渡辺選子 ◆Hanifah Aini Akter Nargis	萩原拓海 宮内真帆 岩佐康之 林 凌也
大学院 修士課程	野口まりえ 山本千尋 Limlingan Sophia 中嶋 翔 福地 葵 高杉菜々子 本間大貴	王 清揚	桑原舞衣 外山藍夏 ◆安田朱里 平石拓海 小口洋祐 中野日香理 船津七海 田 千佳	岩本大我 菊地望海 千村明日美 原田真生 有馬 樹 石森咲野 小島光咲 粕谷麻衣 小高優人	渡辺真史 赤木彩香	白井 詢 加藤夏子 全 学哲 新井涼太 中永早映 松村玲奈 吉田まゆり 古賀啓太 松若正篤 市村理沙子 小野歩美 及川沙南
卒研究生	田村有沙 榎本美優 高木翔平 阿部早織	江蔵瑠美 チン ジュンイ 上原里恵	赤瀬まりな 竹田真優	番馬直弥 上田裕一朗 谷口絵乃	滝 友菜 小野里佳 玉谷京輔 高澤瑞希 吉田夏緑 手捲萌乃 恩田伸乃佳	江川優花 太田晴香 山中祐季 史 京州 脊戸あすか 勝見起麟
研究生他	☆三浦ゆり ☆野中 隆 ☆久永眞市 ☆鈴木えみ子 ★上村伊佐緒 ★関川明生	☆丸山千秋 ☆鳩貝太郎 ★森 元	☆上野耕平 ☆相垣敏郎 ★Rogalski Felipe	★橋本昌征 ★岩館佑未 ★倉田竜明 ☆嶋田敬三	★Maryenti Tety ★戸田絵梨香 ★加藤紀夫 ★内海貴夫 ★大西由之佑	井上 梓 ☆長谷川成人 ☆松田憲之
その他	杉村久美子		田中久美子, 中 川英美子, 服部 智子, 石堂康代, 館 啓生	本多弘典	望月真枝 望月智子	植草由美

実習準備室：山本高之（技術系）

生命事務室：佐藤弘美・狩野真有・辰馬晴子・清水麻美・今井初恵（事務系）、山本光葉（大学院 GP 担当）、三好雅子（英語課程事務局）

生命科学専攻 生命科学領域							
	進化遺伝学	神経生物学	植物環境応答	環境微生物学	動物生態学	植物生態学	
教授	田村浩一郎			春田 伸	林 文男	鈴木準一郎	
准教授	高橋 文 野澤昌文	黒川 信 Adam Weitemier	鐘ヶ江 健 成川 礼		岡田泰和		
助教						立木佑弥	
職員	富田 唯					小椋 悟 小田史幸 小島英二 三浦幹夫	
特任 RA	○加藤雄大 小川佳孝		●鈴木貴久 ●池内昌彦 ●渡辺麻衣		○菅原弘貴 ○若宮 健		
大学院 博士課程	Lulecioglu 蔡 宇佳 Sultan ▲佐藤愛莉 ◆Singh Shikha ▲藤近敬子 ◆Agarwal Sheetal	榎本萌花 山本高之	星野宏季	◆Alam,MD Gahangr ◆He Miao	▲矢崎英盛 津吹 真		
大学院 修士課程	小川雅文 酒井杏花 Chen Yinjia 山本廉太 小林ちひろ Pertiwi 上岡瑠奈 Rahayu 田村珠雲 佐藤伶圭 熊谷颯之 植田泰地 井上柚香 井手 翼	鈴木宏和 津田啓佑	迫 凌輔 安田彩乃 米田彩乃 深澤茉愛	角濱日向 胡 睿熠 河野恵美 見取虎人	杉山実優 長縄 健 吉峯知歩 齊藤開斗 林部真奈	石原真路 尾崎麻衣 谷口 直 大村拓平 中野美希	
卒研究生	佐々木優基 松川 楓 内田友夏 萩野里奈 唐木書子 村井 陸 辻 愛莉紗	田坂早苗	内藤舞衣 鈴木咲里 西野真悠 長谷部愛佳	久野桃子	岸野紘大 川本高司 伊藤 文	梅田栄作 冨塚暖史 西川知里 山本美由	
研究生他	▲福富雄一 ★矢澤 徹 ★初見真知子 ★和多田正義	☆山本直樹 ★清水 晃 ★田口正敏 ★田中浩輔 ★新津修平 ★吉村 仁 ★近藤日名子	☆和田正三	☆原 孝彦 ☆石神明人 ☆瀬尾光範 ☆伊藤嘉浩 △坂庭真吾 ☆飯野隆夫 ★諸星 聖 ★西原亜理沙 ★伊知地 稔 ★佐藤 剛 ★広瀬節子	★村上勇樹 ★伊藤睦実 ★岡宮久規 ★岡田雅子 ▲井戸川直人	☆可知直毅 ★相川真一 ★畑 憲治 ★村尾未奈	
その他	梅木由紀子 小林由香利 市川泰子	小浜優子			菊江佳世子 崎山恵子	川本明子 永井未織	

▲特別研究員、△研究生、★客員研究員、☆客員教員、●特任教員、○特任研究員、*研究奨励奨学生、◆10月入学者 ■JSPS
外国人特別研究員、◇連携大学院生、□特別研究学生、その他は共同研究や事務等での年間滞在者

	生命科学専攻 生命科学領域		人間健康科学専攻	
	動物系統分類学	植物系統分類学	行動生理学	運動分子生物学
教授		村上哲明		
准教授	江口克之 Adam Cronin	角川洋子		
助教	吉田貴大	加藤英寿		
職員		持田幸良		
特任 RA	○菊地波輝 ●Francesco Ballarin ●Isaac Planas-Sitja 山田藍生	●藤原泰央		
大学院 博士課程	◆Diyona Putri ◆Nguyen Thi Thu Ha *塚本 将 ◆Ha, Ngoc Linh	片岡利文 ◆Phongphayboun Phonepaseuth	佐藤友香 ◆Ahmad, Taffiq ◆Lola, Alyssa Marie Albo 熊谷拓朗 ▲米岡克啓	吉田直美 ◆湯 堃 胡 騰 等々力 舞
大学院 修士課程	諸岡真希 ◆Ardika Dni Irawan 荒木 葵 加藤憶人 長井聡道 沓掛 丈	◆Bounsang Chouangthavy ◆Kiran Thapa Magar ◆AlexanderToshima 堺 琢人 竹中海斗 ◆Manolo Benitez	棚橋優花 山田明史 ◆甲田龍太郎 菅原峻太 山口万里花	杉本俊太郎 中野 昂 水原莉花子 小澤佳澄 土田竜貴 森岡 文 山口大成 朱 心和 古谷綾菜 土肥希虎 増田 駿 飯島夏菜子 棚田千礼菜 Aoriga Lema
卒研究生	戸田美緒香 三島智尋	野澤果南 岩渕咲来 木村桜子 長谷川夕夏	丸山拓実 直地竜之介	栗田大輝 栗田直史 松本花音 平岡詩乃
研究生他	★大西一志 ★中野隆文 ★島野智之 ★稲垣英利 ★野中 勝 ★菊池友則 ★Nguen Duc Anh ★Su Yong-Chao ★Phung Thi Thu Ha ★Rijal Satria ★小枝圭太 ★大林隆司 ★蛭田眞平	★Truong Xuan Lam ★Wendy Wang ★寺山 守 ★山崎健史 ★Dang Van An ★Nguyen Thi Phuong Lien ★Hsu Feng Chan ★Nguyen Thanh Luong ★Pham Dinh Sac ★廖 浩全 ★Nguyen Dac Dai ★Syaukani Syaukani ★久留島宏明	△加藤朗子 ★丸山厚吉 ★小栗恵美子 ★加藤僖重 ★渡邊謙太 ★瀬戸口浩彰 ★佐伯いく代 ★佐藤博俊 ★高山浩司 ★常木静河 ★山本 薫 ★須貝杏子 ★堀 清鷹 ★Yulianti Wita	
その他		【牧野標本館】 上田京子、加藤朗子、五味富恵、 小玉ゆかり、奥村美幸	△堅田優衣	

生命科学専攻 応用生命科学領域				
	幹細胞制御学 (東京都医学総合研究所)	ケミカルバイオ テクノロジー (理化学研究所)	分子老化制御 (東京都健康長寿医療 センター研究所)	植物成長制御 (理化学研究所)
教授	原 孝彦	伊藤嘉浩	石神昭人	
准教授				瀬尾光範
助教				
特任 RA				
大学院 博士課程	保屋野翔太	Mohammed A.R.Abosheasha 金 信雄 Mahmoud Hassan Mahmoud Othman	土志田裕太	
大学院 修士課程	山口昇馬	関戸翔平	祖父江郁也 前田菜々子 刑部紀亜 下田友貴	
卒研究生				
研究生他				
その他				

神経分子機能研究室（准教授・安藤香奈絵）、発生生物学研究室（准教授・高鳥直士）、細胞生化学研究室（教授・川原裕之）、細胞遺伝学研究室（教授・坂井貴臣）、分子遺伝学研究室（教授・加藤潤一）、植物発生生理学研究室（教授・岡本龍史）は、生命科学領域と応用生命科学領域を兼務

2022 年度生命科学教室関係役員・委員

1. 全学

基礎教育部会	岡本
大学院横断プログラム委員会	岡本
教務委員会	坂井
入試委員会部会（学部入試）	村上
教員養成カリキュラム委員会	鐘ヶ江・福田
学芸員委員会	黒川・江口・加藤(英)
FD 委員会	林
放射線安全部会	川原
環境安全部会	村上
高圧ガス保安管理部会	朝野
国際規制物質管理委員会	安藤
小笠原研究委員会	村上・江口・Cronin・加藤(英)
研究安全倫理委員会	川原・村上・斉藤
遺伝子組み換え実験安全主任者	川原・加藤(潤)
遺伝子組み換え実験責任者	川原
動物実験管理室	斉藤・川原・岡田
軍事的安全保障研究委員	村上
知的財産委員会	川原
利益相反マネジメント委員会	川原
ベンチャー支援審査会	村上
ABS アドバイザリー・チーム	村上・江口
キャリア支援委員会	田村
ダイバーシティ推進委員会	田村
FS・SPRING 事業・主任メンター	村上

2. 理学研究科・理学部

専攻長・コース長	春田
専攻長代理	川原
研究費評価配分委員会部会	春田
研究推進室長	田村
自己点検評価委員会	村上
大学院入試委員会	高鳥
入試委員会	岡本（入試制度）・福田（多様な入試）
教務委員会	坂井・野澤
図書委員会	安藤
広報委員会	坂井
人間関係についての相談チーム	高橋
FD 委員会部会	林
環境保全施設運営担当	村上
情報セキュリティー担当	田村・野澤
RI 運営委員会	川原
牧野標本館運営委員会	村上・江口
就職委員	鐘ヶ江
会計委員	武尾
厚生委員（互助組合評議員）	朝野
放射線管理室	川原・斉藤
高圧ガス保安管理室（学科責任者）	朝野
危険物保安管理室（溶媒委員）	古川

3. 生命科学教室

専攻長・学長補佐	川原・鈴木
将来計画委員会	川原・岡本・鈴木・坂井・得平
入試・教務連絡委員会	春田・野澤・鈴木・高鳥・福田
教務委員会（教養）	岡本・鐘ヶ江
（学部専門）	野澤・高橋
（学部実習）	浅田・加藤(英)・木下・立木・横田
（英語課程/留学・留学生支援）	安藤・Cronin・Weitemier
自主研究担当	福田・岡本・春田・林・坂井・村上・横田・武尾

実習改革担当	福田・春田・鈴木・江口・朝野・横田
教職課程・教員研修担当	福田・鐘ヶ江
担任	1年生 成川・朝野
	2年生 鐘ヶ江・浅田
	3年生 野澤・木下
	4年生 春田・立木
ゼミナール入試委員会	鐘ヶ江・川原・鈴木・成川・福田
毎週説明会担当	坂井・田村・岡本
大学院教務委員会	鈴木・安藤・福田
セミナー委員（バイオカンファレンス）	立木・吉田・木下・横田・岡田
大学院教育改革担当	鈴木・福田・春田・高橋
大学院入試委員	高鳥・成川・得平・Cronin・春田
応用生命分野連絡委員	川原
庶務委員会	高鳥・加藤(英)・古川・朝野・吉田・黒川
会計委員会	武尾・横田・野澤・加藤(英)・古川・立木
安全管理担当	黒川・岡田・朝野・吉田・春田
広報・公開行事担当	坂井・江口・朝野・高鳥・立木・黒川
図書委員会	安藤
放射線委員	川原・斉藤・朝野
電子情報委員会	田村・野澤・立木
牧野標本館運営委員会	村上・江口・加藤(英)・鈴木
圃場・温室委員会	鈴木・岡本・黒川・朝野・村上・鐘ヶ江・木下
動物施設委員会	高鳥・朝野・斉藤・岡田・林・黒川・Weitemier
LSM 管理委員会	高鳥・浅田・坂井・安藤
理工教育 GP	黒川・江口
外部評価準備委員会	村上・加藤(潤)・田村・春田・鈴木・岡本・坂井・川原・得平
日本生物学オリンピック運営検討委員	福田

神経分子機能研究室

Molecular Neuroscience Laboratory

1. 構成

安藤香奈絵 (准教授)、斎藤太郎 (助教)、浅田明子 (助教)、真野叶子 (D3)、野澤菜緒子 (D3)、大場俊弥 (D2)、Grigorii Sultanakhmetov (D2)、野口まりえ (M2)、山本千尋 (M2)、Sophia Limlingan (M2)、高杉菜々子 (M1)、中嶋翔 (M1)、福地葵 (M1)、阿部早織 (卒研究生)、榎本美優 (卒研究生)、高木翔平 (卒研究生)、田村有沙 (卒研究生)、久永眞一 (客員教授)、鈴木えみ子 (客員准教授)、三浦ゆり (都健康長寿医療セ、連携客員准教授)、野中隆 (東京都医学総合研究所、連携客員准教授)、上村伊佐緒 (客員研究員)、関川明生 (客員研究員)、高橋美由紀 (客員研究員)、高杉俊之 (客員研究員)、魏冉 (客員研究員)、杉村久美子 (秘書)

2. 研究紹介 Research focus

Our brains enable us to think, laugh, dance, love, and create. These functions rely on networks of neuronal cells processing and storing vast amounts of information. These brain neurons are not replaced for a lifetime and age with the individual. Aging is associated with a decline in brain functions and increases risks of neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease: However, it is not fully understood what the molecular basis of brain aging is and how to protect brain neurons from aging and neurodegenerative diseases. We tackle these questions by focusing on proteostasis and energy metabolism. Our experimental approaches include cellular, *Drosophila*, and mouse models, molecular biology, biochemistry, behavioral analysis, protein expression analysis, and imaging. We believe our study reveals genes and molecules that delay brain aging and a future cure for age-associated neurodegenerative diseases.



1) Mechanism underlying Alzheimer's disease and related tauopathies; how tau abnormality starts, and how to suppress tau toxicity

(Ando, Saito, Asada, Oka, Shinno, Oba, Sultanakhmetov, Noguchi, Yamamoto, Enomoto, Takaki, Tamura)

Accumulation of misfolded protein aggregates is a pathological hallmark of a number of neurodegenerative diseases, including Alzheimer's disease. Tau is a microtubule-associated protein and normally regulates microtubule stability in the neuronal axon. However, in Alzheimer's disease and other neurodegenerative diseases, tau is abnormally accumulated and thought to cause neuron loss. Thus, blocking tau accumulation is believed to be a promising approach to slowing down neuron loss in the diseased brain. Using cultured neurons, transgenic *Drosophila*, and transgenic mice as model systems, we are searching for the genes and pathways to counteract tau accumulation and tau-induced neurodegeneration.

Tau is hyperphosphorylated in disease brains. Among many kinases that phosphorylate tau, genetic, histological, and biochemical evidence suggest that abnormal activation of microtubule-affinity regulated kinase (MARK) 4 plays a triggering role in tau accumulation and toxicity. MARK4 belongs to an evolutionary conserved Ser/Thr kinase family (Par-1/MARK). We previously reported MARK4 enhances tau toxicity, and knockdown of fly Par-1 suppresses tau toxicity in a fly model. Mammals express four MARKs (MARK1-4), and Sultanakhmetov found that MARK4 enhances tau accumulation and toxicity the most. He is investigating whether deletion of MARK4 suppresses tau pathology and neurodegeneration in a tauopathy mouse model.

Abnormal activation of MARK4 has been reported in AD brains and is suspected of contributing to disease progression. We investigate regulatory mechanisms of MARK4 activity and their deregulation to understand Alzheimer's disease pathogenesis. Saito discovered a novel mechanism that leads to the

hyperphosphorylation of tau: he found that MARK4 activity is regulated via phosphorylation and binding proteins in a tissue-specific manner (manuscript in preparation). He developed a peptide that can allosterically block MARK4 activity in neurons, and **Oba** found this peptide mitigates tau toxicity.

How does MARK4 enhance tau toxicity more than other members? **Nakajima** found MARK4 can enhance the formation of a structure called stress granules, which has been associated with an early stage of tau aggregation. Tau proteins phosphorylated MARK4 are sequestered to stress granules, where they may form toxic oligomers (manuscript in preparation). **Oba**, in collaboration with **Miura**, is going to systematically identify post-translational modifications of tau with MARK4 overexpression to gain insight into the mechanisms underlying tau accumulation. These findings will help us understand disease pathogenesis and develop a novel MARK4 inhibitor to treat Alzheimer's disease and other tauopathies.

In addition to MARK4, we have identified modifiers of tau toxicity via biased and non-biased genetic screens. One of the suppressors is a molecular chaperone CCT, which **Enomoto** is studying the underlying mechanisms. **Tamura** analyzed the effects of genes that regulate mitochondria-ER contact sites on tau toxicity. **Asada** studied tau interaction with a regulator of vesicle trafficking CHMP2B, and found that CHMP2B may regulate the actin cytoskeleton. Further investigation of these novel modifiers will shed light on the mechanisms underlying abnormal tau accumulation in disease pathogenesis.

Once the toxic fibrils are formed, they propagate and spread throughout the brain. **Takaki**, in **Nonaka** laboratory, studies the mechanisms and strategies to prevent spreading of alpha-synuclein fibrils.

2) Role of mitochondria in neuronal proteostasis and aging (Shinno, Noguchi, Nozawa & Ando)

Mitochondria are the powerhouse of the cell and also intracellular signaling platforms. In neurons, mitochondria are actively transported and localized to meet energy demands. Aging lowers mitochondrial function and transport, contributing to age-dependent neuronal dysfunction and degeneration. Investigating the underlying mechanisms, **Shinno** found that genetic depletion of axonal mitochondria causes abnormal accumulation of proteins and disruption of autophagy (manuscript in preparation). With **Miura**, **Shinno** analyzed proteome and identified pathways upstream of autophagic dysregulation. **Nozawa** and **Noguchi** found that a mitochondrial boosting drug, 5-amynorebric acids hydrochloride (5-ALA-HCl) and sodium ferrous citrate (5-ALA-HCl+SFC), can extend lifespan and contract age-associated functional decline in flies (FEBS OpenBio, 2021). **Noguchi** also found that 5-ALA treatment suppresses tau toxicity in a fly model (manuscript in preparation). Since 5-ALA is found in food and is also available as a dietary supplement, these results may help us identify a diet that slows down aging.

3) The role of energy homeostasis in brain aging and neurodegenerative disease (Limlingan, Yamamoto, Abe, Saito & Ando)

The brain is an energy-demanding organ, and glucose is the primary energy source for neurons. During aging or under disease conditions such as diabetes, glucose transport into neurons is compromised. We previously reported that enhancing glucose uptake in neurons extends healthspan (Oka et al., iScience, 2021). **Abe** investigates if enhancement of glucose uptake in neurons also delay age-dependent reduction in memory. **Saito** and **Limlingan** investigate regulatory mechanisms for glucose uptake in neurons. **Yamamoto** fed high-sugar food to a fly model of AD to make it obese and found that the pathways in which obese condition enhances tau-induced neurodegeneration.

4) Mitochondrial disease and the effect of 5-ALA (Nozawa & Ando)

Mitochondrial respiratory chain defects are a significant cause of inherited disorders called mitochondrial diseases. Although they affect multiple organs and tissues, neurological deficits are prevalent, wide-ranging, and disabling for patients. **Nozawa** investigates a mitochondrial disease with transgenic *Drosophila* with Complex I deficiency. These flies show locomotor deficits and premature death. She found that feeding 5-ALA bypasses CI deficiency and promotes ATP production, thus correcting metabolic abnormalities and mitigating detrimental phenotypes in *Drosophila*. These results enhance our understanding of metabolic regulation and the pathogenesis of mitochondrial diseases (manuscript in preparation).

5) Regulation of neuroinflammation (Fukuchi, Saito, Ando)

Microglia are resident immune cells in the brain and protect neurons from external substances, stress, and infection. On the other hand, their chronic or excessive responses lead to neuronal damage. Microglial activation in neurodegenerative diseases and after virus infection has been suggested to facilitate neurodegeneration. However, it is not fully understood how microglial activation is regulated under disease

conditions. **Fukuchi** and **Saito** found that MARK2 in microglia suppresses its overactivation in response to pro-inflammatory stimuli, and Orf9b, a SARS-CoV-2 protein, suppresses MARK2 activity. **Fukuchi** investigates the roles of MARK2 in microglial activation in fly and mouse models of tauopathy.

6) Myelin regeneration and mitochondria (Takasugi, Saito, Ando)

Regeneration of myelin sheaths after central nervous system demyelination is essential to maintain neuronal functions, and the insufficiency of remyelination leads to axon degeneration in multiple sclerosis. Mitochondria play critical roles in remyelination. **Takasugi** found that the number of mitochondria in the glia reduces dramatically after injury. **Saito** and **Takasugi** investigate whether boosting mitochondrial functions with 5-ALA can enhance remyelination in cultured cells and *Drosophila*.

3. 研究発表 Publications

Research papers, peer-reviewed:

1. Im D.S, Joselin A, Svoboda D, Takano T, Rousseaux MWC, Callaghan S, Slack RS, Hisanaga S, Davis RJ, David S, Park DS, Qu D. (2022) Cdk5-mediated JIP1 phosphorylation regulates axonal outgrowth through Notch1 inhibition. BMC Biol. 20, 115
2. Takahashi M, Takasugi T, Kawakami A, Wei R, Ando K, Ohshima T, Hisanaga S. (2022) Valproic acid-induced anxiety and depression behaviors are ameliorated in p39 Cdk5 activator-deficient mice. Neurochem Res. 47, 2773-2779
3. Kikuchi K, Sakamoto Y, Uezu A, Yamamoto H, Ishiguro K, Shimamura K, Saito T, Hisanaga S, Nakanishi H. (2022) Map7D2 and Map7D1 facilitate microtubule stabilization through distinct mechanisms to control cell motility and neurite outgrowth. Life Sci Alliance 5, e202201390.
4. Hisanaga S, Krishnankutty A, Kimura T. (2022) In vivo analysis of the phosphorylation of tau and the tau protein kinases Cdk5-p35 and GSK3 β by using Phos-tag SDS-PAGE. J. Proteomics, 262, 104591
5. "How the daily feeding pattern is generated: the feeding/fasting periods are generated by peripheral CLOCK proteins and synchronized by neuronal molecular clocks" A. Maruko, K. M.Iijima, K. Ando* under review, iScience

Conference abstract

<国際学会>

1. Sultanakhmetov, G., Nakajima, S., Fukuchi, A., Asada, A., Saito, T., Ando, K. "Microtubule affinity-regulating kinase 4 implements pathological tau misbehavior through interaction with stress granules" Neuroscience 2022, San Diego, California, The United States of America (poster presentation)

<国内学会>

口頭発表

1. 福地 葵、中嶋 翔、斎藤 太郎、浅田 明子、安藤 香奈絵「MARK2 によるグリア細胞の免疫応答調節とその神経変性に対する役割」第 65 回日本神経化学学会大会 (2022 年 6 月、沖縄) (口頭発表)
2. Nakajima S, Fukuchi A, Grigorii Sultanakhmetov, Asada A, Saito T, Ando K, "Microtubule affinity-regulating kinase 4 induces stress granule formation and tau-induced neurodegeneration" 第 95 回日本生化学学会大会, (Sep 09, Nagoya) (口頭発表)
3. 安藤香奈絵 脳老化とミトコンドリア:神経軸索輸送の低下が引き起こすプロテオスタシス破綻: シンポジウム 1S08m 最新ミトコンドリア学のアンソロジー, 第 95 回日本生化学学会大会 (11 月、名古屋)
4. 真野 叶子、三浦 ゆり、鈴木 えみ子、飯島 浩一、安藤 香奈絵 「神経細胞内ミトコンドリア局在は翻訳開始因子 eIF2 を介してオートファジーを制御する」 第 95 回日本生化学学会大会 (11 月、名古屋) (口頭、ポスター発表)
5. 安藤香奈絵 'Understanding aging through metabolism and mitochondria in brain neurons'シンポジウム: メメント・モリ ~老化と死の設計図~ 第 45 回日本分子生物学会 (12 月、幕張)
6. 真野 叶子、三浦 ゆり、鈴木 えみ子、飯島 浩一、安藤 香奈絵 「神経細胞における加齢に伴うタンパク質恒常性低下とミトコンドリア局在の関係」 第 45 回日本分子生物学会 (12 月、幕張) (口頭、フラッシュトーク、ポスター発表)
7. 野口まりえ、野澤菜緒子、安藤香奈絵「タウによる神経変性に対する 5-アミノレブリン酸の保護的な効果:

- ショウジョウバエモデルでの解析」第 95 回日本生化学大会（11 月、名古屋）（口頭発表、ポスター発表）
8. 野澤菜緒子、野口まりえ、高橋究、石塚昌宏、安藤香奈絵「5-ALA+SFC はミトコンドリア複合体 I 欠損ショウジョウバエで ATP 産生を増加させる」 第 21 回日本ミトコンドリア学会（3 月、東京）（口頭発表）

ポスター発表

9. 斎藤 太郎、大場 俊弥、安藤 香奈絵「SARS-CoV-2 Orf9b とその派生ペプチドは神経細胞の Par-1/MARK 活性を抑制する」Neuro2022（7 月、沖縄）
10. Sultanakhmetov, G., Asada, A., Ando, K. “Microtubule affinity-regulating kinases contribute differently to tau-induced neurodegeneration” NEURO2022: The 45th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society; The 65th Annual Meeting of the Japanese Society for Neurochemistry; The 32nd Annual Conference of the Japanese Neural Network Society, Ginowan-shi, Okinawa, Japan (poster presentation)
11. 大場 俊弥、斎藤 太郎、安藤 香奈絵 「SARS-CoV-2 由来 Orf9b はタウのリン酸化を抑制し神経細胞死を緩和する」第 41 回日本認知症学会（11 月、東京）（ポスター発表）
12. 浅田 明子、伊藤 圭哉、斎藤 太郎、安藤香奈絵 「Cdk5 活性は神経細胞内の CHMP2B の局在を制御する」第 41 回日本認知症学会学術集会（11 月、東京）（ポスター発表）
13. 本間 大貴、斎藤 太郎、Limlingan Sophia、安藤 香奈絵 「MARK2 の活性は KA1 ドメインへの結合タンパク質によって細胞種特異的に制御される」 第 45 回日本分子生物学会年会（12 月、幕張）（ポスター発表）
14. 山本 千尋、安藤 香奈絵 「ショウジョウバエタウオパチーモデルに糖の過剰な摂取が与える影響はライフステージによって異なる」 第 45 回日本分子生物学会年会（12 月、幕張）（ポスター発表）
15. Takasugi, N., Asada, A., Saito T., Ando, K. 'Analysis of mitochondrial dynamics during glial regeneration after an injury in Drosophila ' The 45th Molecular Biology Society of Japan, Chiba, Japan, Dec 1, 2022 (Poster presentation)

Organizer

1. Kanae Ando, Symposium organizer, ‘Presentation in Biology’, Mar 2022, Tokyo Metropolitan University, Minamiosawa campus

発生生物学研究室

1. 構成

福田 公子 (准教授), 高鳥 直士 (准教授), 照井 宙夢 (D3), 王清揚 (D1), チンジュンイ (卒研)、江蔵留美 (卒研)

2. 研究紹介

本研究室では、脊索動物胚で細胞分化、形態形成がどのような機構で起こるのかを、分子レベル、細胞レベルおよび組織レベルで明らかにすることである。研究は、主として以下に述べる 1), 2) の課題の下で行われており、1) は福田、2) は高鳥が担当している。

1) 鳥類胚を用いた平滑筋分化機構の解明

鳥類胚には2つの胃があり、前方の胃である前胃は、腺胃ともよばれ、上皮は複合腺構造を作り、消化酵素の前駆体であるペプシノゲンや胃酸を産生する。一方、後方の胃である砂嚢は、消化酵素は分泌せず、前胃から分泌された酵素や胃酸と食物を貯め、咀嚼することで機械的消化に関わる。この咀嚼のために砂嚢では平滑筋が著しく発達し、筋胃とも呼ばれる。砂嚢の平滑筋は多くの平滑筋が単離できること、平滑筋としては珍しく収縮が Phasic 型であることなどから、平滑筋の生化学、生理学的な研究の材料としてよく使われている。砂嚢では、平滑筋の分化する前の間充織での増殖のみならず、平滑筋に分化した後も増殖能が高いとされる。薄い平滑筋層を持つ小腸とは何が違うのだろうか。可能性の一つは砂嚢と小腸の平滑筋は同様の増殖能を持つが、砂嚢には増殖促進因子があるため、増殖するというもので、もう一つは砂嚢の平滑筋は小腸の平滑筋と比べ、増殖能が元々高いというものである。これを明らかにするため、ニワトリ胚の砂嚢、小腸の平滑筋の培養を行った。砂嚢や小腸から平滑筋を取り出し、ピペッティングで数 100 個の細胞塊を作り、それを増殖刺激を与えるため、10%の FBS を入れ培地を入れたシャーレに撒いたところ、砂嚢平滑筋は細胞塊から這い出し、盛んに増殖し、7 日目ではシャーレにいっぱいになるコンフルエントの状態になった。これらの細胞は継代できたが、徐々に形態がスピンドル型から広がった形に変化し、核も大きくなった。これは平滑筋が脱分化して筋繊維芽細胞になったためと思われる。一方、小腸平滑筋は同様の条件ではあまり増殖せず、7 日目になっても細胞数は増えなかった上、形態も広がった筋繊維芽細胞状だった。このことから、砂嚢の平滑筋は他の領域の平滑筋とは違い、増殖因子に反応し、盛んに増殖する能力を持っていることがわかった。

2) ホヤ胚を用いた細胞極性に関する研究

a) 胚葉運命分離に必要な細胞極性に基づいて核を移動させる機構

胚葉形成は、動物胚発生の重要な初期過程である。中胚葉と内胚葉は中内胚葉細胞から作られる。しかし、中内胚葉細胞の子孫細胞のうち、どれが中胚葉になり、どれが内胚葉になるのか決めている機構の詳細は、多くの動物で不明である。私たちは脊索動物のホヤを材料に、中内胚葉細胞の娘細胞の一方が中胚葉、もう一方が内胚葉になる仕組みを調べている。昨年までの解析により、中・内胚葉運命が異なる細胞に分離されるには、(1) 中内胚葉細胞の核が、将来中胚葉細胞を作る側に移動すること、(2) 移動により Not 転写因子をコードする mRNA が中内胚葉細胞の、将来中胚葉になる側に局在すること、(3) JAK2 依存的に分裂装置が細胞の中心に移動して中内胚葉細胞が分裂すること、(4) 分裂装置の移動の際に、Not mRNA の局在が Wnt 遺伝子依存的に維持されることが重要であることが示唆されていた。また、mRNA の局在を作り出す細胞

核の移動方向を決める機構の概略は次のようなものであることが示唆された。1) 母性 p110 α が受精後の卵細胞質再配置により中胚葉側に偏る。2) 4細胞期に母性 p110 α が活性化され、予定中胚葉領域に PtdIns(3,4,5)P₃ が作られる。3) 4細胞期の PtdIns(3,4,5)P₃ によって引き起こされる細胞膜直下の変化を目印に、胚性の p110 α タンパク質が中胚葉領域に局在する。4) 16細胞期に胚性 p110 α が活性化され、PtdIns(3,4,5)P₃ を作り出す。5) これに向かって、核が移動する。2016年度は、局在した PtdIns(3,4,5)P₃ に向かって核が移動する機構に注目して解析を進め、核の中胚葉側と内胚葉側に対になる二つの微小管からなる構造を見出した。これらの構造が中心体であることが、構造に含まれるタンパク質の解析から示唆された。胚を三次元的に等方的に撮影し、中心体と核の位置の変化を詳細に解析した結果、中心体の一方が、中内胚葉細胞の決まった領域に移動すること、その後の中心体と核の相対的位置関係の変化により核が中胚葉側に移動することがわかってきた。隣接する細胞と中内胚葉細胞との間の細胞周期のズレに起因する、中内胚葉細胞の形態が mRNA の分配に重要である分裂溝の位置を制御することが統計的解析から示唆された。これらの結果に対して授与された日本遺伝学会第93回大会の Best Papers 賞に対する受賞講演を行なった。

3. 研究発表

学会・研究会発表

王清揚, 福田公子 (2022) Contribution of Convergent Extension in AIP Midline Cells to Foregut Elongation, 第55回日本発生生物学会, 金沢

照井宙夢, 高鳥直士 (2022) 「ホヤ初期杯における細胞分裂軸制御機構の解析」, 日本遺伝学会第94回大会, BP賞受賞に伴う招待講演, 札幌

高鳥直士, 立木佑弥 (2022) 「Wnt 依存的な mRNA の核に対する偏りによる中胚葉・内胚葉運命の分離」, 日本遺伝学会第94回大会, 札幌

4. その他の教育・研究活動

福田公子 (2022) 桐蔭学園中等教育学校 研究する人生の大事さ 8月1日 神奈川

福田公子 (2022) 桐蔭学園中等教育学校 課題研究支援: ニワトリの卵の中はどんな感じなの? ニワトリの発生 8月2日, 東京

福田公子 (2022) 東京都立国立高等学校 課題研究支援 「ニワトリ胚の発生実習」 8月4, 5, 6日, 東京

福田公子 (2022) 埼玉県立越谷北高校職員研究 生徒主体の課題研究、授業での探究に教員はどう関わるか 9月14日, 埼玉

福田公子 (2022) 東京都立晴海総合高等学校 課題研究中間発表会コメンテーター 9月22日, 東京

福田公子 (2022) 東京都科学技術高校 課題研究中間発表会コメンテーター 10月8日, 東京

福田公子 (2022) 東京都教育委員会 高校生のためのサイエンスウィーク 2022 課題研究支援「私たちの体がどうやってできてきたのか、研究してみよう。」 12月24, 25日, 東京

福田公子 (2022) 東京都教育委員会 高校生のためのサイエンスウィーク 2022 課題発表会 コメンテーター 1月8日, 東京

福田公子 (2023) 東京都科学技術高校 2年生課題研究発表会コメンテーター 2月18日, 東京

福田公子 (2023) 東京都科学技術高校 1年生課題研究発表会コメンテーター 3月16日 東京

福田公子 (2023) ベネッセ steam フェスタ 高校生課題研究発表会 社会人サポーター 3月18, 25日, Zoom

福田公子 (2023) 東京都立国分寺高校 課題研究発表会コメンテーター 3月20日 東京

細胞遺伝学研究室

1. 構成

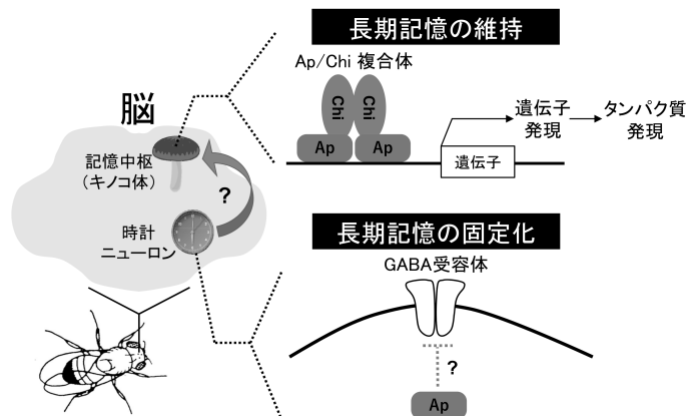
坂井貴臣（教授）、朝野維起（助教）、武尾里美（助教）、相垣敏郎（客員教授）、フェリペ・ロガルスキ（客員研究員）、佐藤智士（D3）、倉田祐斗（D2）、萩原翠唯那（D2）、佐藤岳仁（D1）高岸未聖（D1）、桑原舞衣（M2）、安田朱里（M1）、船津七海（M1）、田千佳（M1）、中野日香理（M1）、平石拓海（M1）、外山藍夏（M1）、小口洋祐（M1）

2. 研究紹介

1) 長期記憶における発生制御因子 *Apterous* の機能解析

動物は1日を通して様々な記憶を獲得している。インパクトのある出来事や同じ経験の繰り返しにより、獲得した記憶は脳で固定化されて長期記憶として保存される。しかし、長期記憶を固定化し維持する機構はまだ十分に理解されていない。我々はこれまで、ショウジョウバエ（以下、ハエ）の発生段階で翅や神経回路を形作るために必要な遺伝子として古くから知られている *apterous* 遺伝子 (*ap*) が長期記憶の獲得や維持に必要であることを明らかにしてきました。詳細は以下の通りである。

Apterous タンパク質 (*Ap*) は *Chip* タンパク質 (*Chi*) と複合体を形成し、転写因子として働く。体作りには *Ap/Chi* 複合体による転写が不可欠である。一方、長期記憶の獲得にはハエ脳の時計ニューロンで発現する *ap* が、また、長期記憶の維持には記憶中枢で発現する *ap* がそれぞれ必要である。また、時計ニューロンの *Chi* は長期記憶には関与しないものの、記憶中枢の *Chi* は *Ap* 同様に長期記憶の維持に必須であることから、*Ap/Chi* 複合体を介して記憶中枢で新たなタンパク質が提供され続けることにより、長期記憶が維持されると考えられる（下図参照）。



ap および *Chi* のノックアウト系統の記憶中枢の細胞を回収して遺伝子発現プロファイリングを実施することを目的として研究を行った。これまでにノックアウト系統が完成しており、さらに細胞回収の実験系の確立に向けた実験を進めてきた。(中野、坂井)

2) 長期記憶における時計ニューロンの役割

我々はこれまで、概日リズム形成に必須な *period* (*per*) 遺伝子が長期記憶の形成にも必要であることを報告してきた (Sakai et al., 2004; Sakai et al., 2012)。しかし、ハエ脳ではリズム中枢以外の多くのニューロンで *per* が発現しているにもかかわらず、概日リズム以外の役割が不明であった。そこで、脳で発現する 150 個の *per* 発現ニューロンのうち、どのニューロンが長期記憶を制御しているのかを明らかにする実験を開始した。*per* 発現ニューロンの一部もしくは数個のニューロンの神経活動を阻害する実験を行った結果、6 個の *per* 発現ニ

ニューロンで構成される LNd 細胞群のうち、少なくとも2つのニューロンが長期記憶に必須であることを我々は見出した。そして、LNd で発現する *per* の発現を抑制すると長期記憶を固定化できなくなることや、PER タンパク質の機能を阻害するドミナントネガティブフォーム(Per^{APAS})を LNd 特異的に強制発現すると長期記憶の固定化ができなくなることを確認した。よって、LNd で発現する PER は長期記憶の固定化に必要なことが明らかになった。一方、LNd からのシナプス伝達を阻害すると、長期記憶の固定化はできるものの長期記憶を維持することができなくなるが明らかになった。以上の結果から、LNd の一部の細胞は長期記憶の固定化と維持の制御に関与していると考えられる。これらの結果をまとめて *Genes to Cells* 誌に発表した。(鈴木、倉田、坂井)

3) 時計ニューロン LNd から放出される情報伝達物質の機能解明

時計ニューロン LNd からの神経伝達物質の放出を阻害すると長期記憶を維持できなくなることを我々は見出した (Suzuki et al., 2022)。そこで、LNd から放出される神経伝達物質を同定する研究を開始した。これまでに神経伝達物質オクトパミンの合成酵素が LNd に発現していることを抗体染色により確認した。一方、他の神経ペプチドの発現は確認されなかった。さらに、オクトパミン合成酵素遺伝子の発現を LNd 特異的に抑制すると長期記憶が消失することも明らかになった。

さらに、LNd からの神経伝達物質の放出阻害により睡眠・覚醒調節にも異常が生じることも明らかにした。現在、オクトパミン放出が睡眠調節にも関与するかどうかを明らかにする研究を進めている。(倉田、桑原、坂井)

4) 光による長期記憶維持システムの研究

動物にとって光は、色や形などの視覚情報を得るばかりでなく、概日リズムや睡眠、覚醒の制御など脳機能に働きかけて行動パターンの変容を生み出す重要な環境刺激である。我々はこれまでに、学習後に恒暗条件下で飼育したハエでは記憶を長期間維持できないこと、そして、転写因子 CREB が光依存的に活性化されることで記憶が維持されることを明らかにしてきた (Inami et al., 2020)。今年度は、光受容タンパク質である Rh7 や Cry が発現している LNV と呼ばれる時計ニューロンが長期記憶の維持に関与することを明らかにし、*Neuroscience Research* 誌に発表した。

次に、光依存的に長期記憶を維持しているニューロン、すなわち長期記憶維持ニューロンが脳のどこにあるのか、また、何個のニューロンで長期記憶を維持しているのか、を明らかにする研究を開始した。本年度は、ハエ記憶中枢に存在し、かつ、光依存的に CREB の転写活性が上昇する細胞を同定して細胞数を定量するために必要なトランスジェニック系統を複数作製した。さらに、明暗サイクル下で飼育したハエでは記憶中枢の一部のニューロンで CREB 活性を確認することができた。(佐藤岳人、中野、坂井)

5) Apterous により転写される長期記憶維持に必要な遺伝子の同定

キノコ体と呼ばれるハエの記憶中枢で発現する Apterous (Ap) および補因子 Chip (Chi) の発現は、長期記憶の維持に必須であることを我々は見出した (Inami et al., 2021)。よって、Ap/Chi 複合体を介してキノコ体で新たなタンパク質が提供され続けることにより、長期記憶が維持されると考えられる。そこで、Ap/Chi 複合体により転写調節される遺伝子を網羅的に同定し、長期記憶維持に必要な遺伝子を探索する研究を開始した。研究戦略は以下の通りである：(1) Ap および Chi のノックアウト系統を作製し、(2) 各ノックアウト系統および野生型の記憶中枢ニューロンで発現する遺伝子の発現量を比較する。(3) 各ノックアウト系統の記憶中枢ニューロンで発現量が減少する遺伝子を同定し、長期記憶維持に必要な遺伝子かどうかを検証する。現在、Ap および Chi のノックアウト系統を作製している。(中野、坂井)

6) 磁石を利用した記憶中枢ニューロンの回収技術の確立

ハエ記憶中枢には約 4000 個のニューロンが存在する。記憶中枢において CREB が発現するニューロンは多数存在するが、光により CREB 活性が上昇するニューロンはそれらの一部であることを我々はこれまでに明らかにしてきた (Inami et al., 2020)。一方、従来の研究手法では記憶中枢からランダムに抽出された細胞を対象に遺伝子発現解析が実施されているため、高精度な解析が困難であった。本研究では、記憶中枢の CREB 発現細胞の中から、光により CREB 活性が上昇するニューロン、つまり記憶維持に機能している細胞のみを回収する方法を確立することを目的とした。光により CREB 活性が上昇するニューロンに mCD::GFP を発現させ、さらに、ビオチン標識された mCD8 抗体を用いて記憶中枢ニューロンに磁性ナノビーズを付加し、磁石により mCD::GFP 陽性細胞のみを回収する方法を確立し、一定数の mCD::GFP 陽性細胞の回収に成功した。現在、細胞の回収効率を上げるための条件検討を行っている。(佐藤岳人、中野、坂井)

7) 過剰ストレスによる性機能障害のショウジョウバエモデル

哺乳類では、過度なストレスによるトラウマ記憶がオスの性的モチベーションを長期間低下させることが知られている。そこで、オスバエにストレスを過剰に与えた場合、求愛活性が低下するかどうかを検証した。その結果、「振動ストレス」もしくは「拘束ストレス」にさらされたオスバエでは、その後しばらくオスの求愛活性が抑制されることを見出した。そして、神経伝達物質ドーパミンの受容体のノックアウト系統や、細胞内シグナル分子である cAMP 合成酵素の突然変異系統では、ストレス誘発性の求愛抑制が見られないことを見出した。また、ドーパミンニューロンを人為的に活性化すると、その後オスの求愛活性が低下することも新たに見出した。これらの結果から、ストレス誘発性の求愛抑制現象にはドーパミンによる情報伝達および cAMP シグナル伝達経路が関与していることが明らかになった。(佐藤智士、外山、坂井)

8) 過剰ストレスが脳のドーパミンニューロンにおよぼす影響の検証

ストレス誘発性の求愛抑制現象にはドーパミンによる情報伝達に関与することから、過剰ストレスは脳のドーパミンニューロンを活性化し、ドーパミンの放出を促進している可能性がある。そこで、「拘束ストレス」後にドーパミンニューロンの Ca^{2+} レベルが上昇するかどうかを検証した。その結果、多くのドーパミンニューロンで Ca^{2+} レベルの上昇が確認された。よって、ハエが環境ストレスにさらされると脳ドーパミンニューロンを活性化することが明らかになった。(外山、佐藤智士、坂井)

9) 移動制限ストレスによる睡眠障害

近年、コロナ禍での行動制限はヒトにとってストレスになり、うつ様行動が見られるようになることが報告されつつある。行動制限ストレスが脳機能に及ぼす影響を明らかにするため、ハエを用いた研究を開始した。その結果、長時間の行動制限により、ハエの夜の睡眠量が大きく低下することが明らかになった。(安田、佐藤智士、坂井)

10) The roles of juvenile hormone epoxide hydrolase genes in *Drosophila*

Juvenile hormone epoxide hydrolase (JHEHs) are enzymes that inactivate juvenile hormone (JH) in insects. In *Drosophila*, *Jheh1* and *Jheh2* are upregulated under stress conditions. To understand the roles of these genes, we generated mutant flies deleted for *Jheh1* and *Jheh2*, and analyzed the phenotype. The mutant flies did not show any apparent defects under normal conditions. Therefore, we tested their viability under several stress conditions, such as

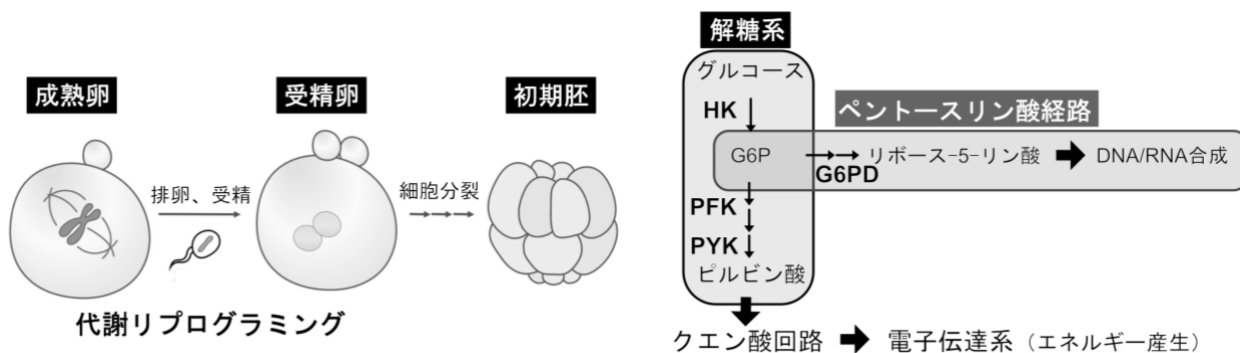
oxidative stress, desiccation, low nutrition, and high or low-temperature treatment. We found that the viability of the mutant was significantly reduced after cold shock. Metabolome analysis revealed that glycolytic metabolites were significantly decreased in the mutant flies. Glucose metabolism has been shown to be altered during adaptation to cold temperatures in *Drosophila*. Our results demonstrate that *Jheh1* and *Jheh2* are essential for survival in cold temperatures, possibly through regulating glucose metabolism (Rogalski, Sakai, Takeo, Aigaki).

11) 代謝酵素遺伝子の機能解析とヒト希少疾患に関連するバリエーションの検証

遺伝性の希少疾患を持つヒト患者のゲノム中に変異（バリエーション）が見つかった代謝酵素に注目し、ショウジョウバエでの遺伝子機能解析をおこなった。ピルビン酸カルボキシラーゼ（*PCB*）、アコニターゼ（*mAcon1*）、グルタミンアスパラギン酸トランスアミナーゼ（*GOT2*）について CRISPR/Cas9 法を用いてノックアウト個体を作製した。*PCB* 変異体は低酸素ストレスに対する感受性が高く、*GOT2* 変異体は代謝異常がみられた。また *mAcon1* 変異体は蛹期よりも前のステージで致死となった。さらにバリエーションの評価をおこなうため、患者と同じ変異を導入した系統を作製した。バリエーションを効率良く検証するための一つの手法として、CRISPR/Cas9 システムと Recombinase-Mediated Cassette Exchange (RMCE) を組み合わせた遺伝子変換の実験系を確立した（田、竹田、赤瀬、坂井、相垣、武尾）。

12) メタボロミクスと数理的アプローチによる受精卵の代謝プログラムの解析

受精卵には、いわゆる母性因子と呼ばれる mRNA やタンパク質だけでなく、新しい個体を構成するために必要な代謝物質も蓄えられており、胚発生に重要な役割を果たしていると考えられる。ショウジョウバエ卵のメタボロミクスと数理モデル解析により、受精前後でグルコース代謝のリプログラミングがおこること、解糖系から分岐する核酸合成経路が受精後に活発化することが推測された。この変化は未受精卵でもみられることから、代謝リプログラミングは受精や初期発生に伴っておこるものではなく、その前の排卵の段階で卵が活性化する時におこる可能性が考えられた（高岸、立木、坂井、相垣、武尾）。



13) ショウジョウバエ卵における解糖系とペントースリン酸経路の機能解析

卵形成過程もしくは受精卵の発生においてグルコース代謝がどのような機能を果たしているかを明らかにするため、解糖系の律速酵素をコードする 3 遺伝子（*HexA*, *pfk*, *pyk*）を卵特異的にノックアウトし、表現型解析をおこなった。*HexA*, *pyk* 変異により産卵数や孵化率が著しく低下し、卵形成過程で異常を示すことが明らかになった。一方 *pfk* を卵で欠損させると、胚期や幼虫期で多くの個体が死ぬことがわかった。このことから、母性代謝制御が卵形成過程や初期発生のみならず個体の発生や成長に重要な役割を果たしていると考えた。さらにペントースリン酸経路の機能を調べるため、*G6PD* 遺伝子のノックアウト系統を作製した（船津、高岸、坂井、相垣、武尾）。

14) ショウジョウバエを用いた核酸の寿命延長効果の解析

生体成分である核酸（DNA、RNA）の栄養学的寄与に関する知見は乏しい。核酸やアミノ酸を主成分とするサケ白子抽出物がショウジョウバエの寿命に与える影響を調べたところ、低濃度条件（0.5%）で約2倍の寿命延長効果を示すこと、過剰のアミノ酸摂取によりその効果が打ち消されることがわかった。さらに、高純度DNAを用いた寿命実験により、寿命延長成分がDNAであることを明らかにした。また、メタボローム解析により若齢個体と老齢個体において代謝状態が大きく異なること、この違いがDNA摂取によって抑えられることを見出した。以上の結果より、DNA摂取により生体内の代謝システムが安定し、その結果寿命延長効果がもたらされることが考えられた（武尾、相垣）。

15) 昆虫外骨格の硬化に関わる酸化酵素

マルチ銅オキシダーゼ2 (multicopper oxidase-2: MC02) は昆虫独自に進化した酵素で、通常の発生過程における外骨格の硬化・着色に機能する。これまでの研究から、MC02分子は活性がほとんどない前駆体として合成され、脱皮などに伴い活性化されるなど、厳密な機能制御メカニズムが存在すると考えられている。3令幼虫の外骨格中からMC02前駆体を抽出し酵素活性を調べた結果、ほとんど活性は見られなかったものの、市販のプロテアーゼを用いて人工的にプロセッシングを施すことで前駆体の *in vitro* 活性化に成功した。また、MC02遺伝子のノックダウンによって、通常生じる外骨格成分間の架橋反応が進まないことを示す結果も得られた。MC02とは別に、活性酸素種を発生するヘムタンパク質が外骨格成分間の架橋形成に機能することを示す結果が得られている。具体的には、大型昆虫が持つ大顎等に、この酵素の活性で作られる特有の架橋構造が存在することを示す結果が得られた（小口、萩原、坂井、朝野）。

16) 昆虫が飛ぶために必要な因子に関わる研究

昆虫の翅の根元や脚関節にあるゴム状マトリクスを形成するキチン結合性タンパク質について、これまで、そのタンパク質をコードする遺伝子のノックアウト系統作成や、ゲノム断片を用いた表現型回復実験などを行ってきた。今年度は、特異抗体を用いたイムノブロット解析によって、このタンパク質がポリマー化されることで不溶化することを確認できた（萩原、坂井、朝野）。

17) 昆虫の誕生や進化に関して

MC02遺伝子の獲得が昆虫の陸上適応に与えた影響に関する新仮説をすでに立てている。この仮説から類推されることとして、昆虫が海水環境にほとんど見られない理由を説明する新しい解釈を発表した。これとは別に、昆虫前脚の特殊化のメカニズム・進化について調べる目的で、二種のハエを用いた研究を現在進めている。カマ状前脚を持つカマバエについては、飼育方法を見直すことで次世代（卵・幼虫）を効率よく得る方法が確立できた。オス前脚が巨大化するテナガショウジョウバエについては、雌雄前脚の形状・色彩を数値化することで、雌雄の差をより客観的・定量的に評価する方法について検討したほか、ゲノム情報を取得するなどした（平石、坂井、朝野）。

3. 研究発表

誌上発表 (*, corresponding author)

1. Show Inami, Tomohito Sato, *[Takaomi Sakai](#). (2022) Circadian neuropeptide-expressing clock neurons as regulators of long-term memory: Molecular and cellular perspectives. *Frontiers in Molecular Neuroscience* 15 Article 934222.

2. Show Inami, *Takaomi Sakai. (2022) Circadian photoreceptors are required for light-dependent maintenance of long-term memory in *Drosophila*. *Neuroscience Research* 185 62-66.
3. Yuki Suzuki, Yuto Kurata, *Takaomi Sakai. (2022) Dorsal-lateral clock neurons modulate consolidation and maintenance of long-term memory in *Drosophila*. *Genes to Cells* Apr;27(4):266-279.
4. Hiroki Hamaguchi; Kitora Dohi; Takaomi Sakai; Masato Taoka; Toshiaki Isobe; Tsubasa S. Matsui; Shinji Deguchi; Yasuro Furuichi; Nobuharu L. Fujii, *Yasuko Manabe (2023) PDGF-B secreted from skeletal muscle enhances myoblast proliferation and myotube maturation via activation of the PDGFR signaling cascade. *Biochem Biophys Res Commun*. 639 169-175.
5. *Tsunaki Asano, Kosei Hashimoto, Craig R. Everroad. (2023) Eco-evolutionary implication for a possible contribution of cuticle hardening system in insect evolution and terrestrialisation. *Physiological Entomology* in press
6. Lai YT, Sasamura T, Kuroda J, Maeda R, Nakamura M, Hatori R, Ishibashi T, Taniguchi K, Ooike M, Taguchi T, Nakazawa N, Hozumi S, Okumura T, Aigaki T, Inaki M, Matsuno K. (2023) The *Drosophila* AWP1 ortholog Doctor No regulates JAK/STAT signaling for left-right asymmetry in the gut by promoting receptor endocytosis. *Development*. 150:dev201224. doi: 10.1242/dev.201224

書籍

Tsunaki Asano. (2022) Insect Multicopper oxidase-2: Molecular properties, roles in cuticle formation, and impacts on evolutionary success of insects. In: Sugumaran, M. (Ed.), *Advances in Insect Physiology*. vol. 62. Elsevier, 273-337.

口頭・ポスター発表

1. 坂井貴臣 (2022) 光により駆動するシグニラリティ細胞による長期記憶維持システムの解明 新学術領域「シグニラリティ生物学」第7回領域会議 6月14日 WEB開催
2. 佐藤岳仁、坂井貴臣 (2023) 光により駆動するシグニラリティ細胞による長期記憶維持システムの解明 新学術領域「シグニラリティ生物学」シンポジウム 東京 3月10日
3. 佐藤智士、坂井貴臣 (2022) ストレス誘発性の性機能障害のショウジョウバエモデルの確立 第45回日本神経科学大会 7月2日 沖縄 宜野湾 (WEB参加)
4. 倉田裕斗、坂井貴臣 (2022) 時計ニューロンLNdから放出される神経伝達物質は長期記憶に必須である 第45回日本神経科学大会 7月2日 沖縄 宜野湾 (WEB参加)
5. 船津七海、高岸未聖、坂井貴臣、相垣敏郎、武尾里美 (2022) Genetic analysis of glycolytic genes in *Drosophila* oocytes. 第15回日本ショウジョウバエ研究集会 名古屋 9月12-14日
6. 高岸未聖、船津七海、坂井貴臣、相垣敏郎、立木佑弥、武尾里美 (2022) Regulation of maternal metabolites at fertilization –Metabolomics and mathematical modeling of glycolysis. 第15回日本ショウジョウバエ研究集会 名古屋 9月12-14日
7. 竹田真優、田千佳、赤瀬まりな、坂井貴臣、柳久美子、要匡、相垣敏郎、武尾里美 (2022) Functional analysis of novel disease-related variants in human GOT2 using humanized *Drosophila*. 第15回日本ショウジョウバエ研究集会 名古屋 9月12-14日
8. 赤瀬まりな、麻田佳史、坂井貴臣、柳久美子、要匡、相垣敏郎、武尾里美 (2022) Genetic analysis of a human disease variant in the Pyruvate carboxylase using *Drosophila*. 第15回日本ショウジョウバエ研究集会 名古屋 9月12-14日

9. Miyuna Hagiwara, Toshiro Aigaki, Takaomi Sakai, Tsunaki Asano. (2022) The functions of a chitin-binding protein in flight and jumping of insects. Presentation (in oral) at Symposium of Functional Morphology and Biomechanics of Motion, In International Congress of Entomology (ICE2022) 7月18日 Finland Helsinki (WEB参加)
10. 萩原翠唯那、相垣敏郎、江藤義基、石川裕之、坂井貴臣、朝野維起 (2022) The functions of the gene for a chitin-binding protein in flight and jumping of insects. 第15回日本ショウジョウバエ研究会 (JDRC15) 9月13日 愛知 名古屋
11. Yosuke Oguchi, Takaomi Sakai, Tsunaki Asano (2022) Functions of multicopper oxidase-2 in cuticle formation. 第15回日本ショウジョウバエ研究会 (JDRC15) 9月13日 愛知 名古屋
12. Takumi Hiraishi, Takaomi Sakai, Tsunaki Asano (2022) Morphogenesis of the male-specific forelegs in the fruit fly, *Drosophila prolongata*, 第15回日本ショウジョウバエ研究会 (JDRC15) 9月13日 愛知 名古屋
13. 萩原翠唯那、相垣敏郎、坂井貴臣、朝野維起 (2022) 昆虫の飛翔及び跳躍に関する弾性タンパク質をコードする遺伝子の機能解析 第7回蚕糸・昆虫機能利用関東地区学術講演会 11月3日 水戸 茨城
14. 小口洋祐、坂井貴臣、朝野維起 (2022) ショウジョウバエ蛹殻形成時のMCO2活性化 第6回 関東昆虫学研究会 12月17日 東京 玉川 WEB開催
15. 平石拓海、坂井貴臣、朝野維起 (2022) 昆虫のカマ状前脚を作る仕組みの解明に向けて:カマバエの採集から幼虫飼育まで 第6回 関東昆虫学研究会 12月17日 東京 玉川 WEB開催
16. Yosuke Oguchi, Takaomi Sakai, Tsunaki Asano (2022) Activation of MCO2 during cuticle formation. The 2nd International Collaborative Workshop on Insect Cuticular Extracellular Matrix 12月26日 東京 府中
17. Takumi Hiraishi, Takaomi Sakai, Tsunaki Asano (2022) The first step to study on formation of mantis-like forelegs: collection and culture of the mantis fly, *Ochthera circularis*, The 2nd International Collaborative Workshop on Insect Cuticular Extracellular Matrix 12月26日 東京 府中
18. Miyuna Hagiwara, Toshiro Aigaki, Takaomi Sakai, Tsunaki Asano. (2022) The functions of the gene for a chitin-binding protein in flight and jumping of insects. The 2nd International Collaborative Workshop on Insect Cuticular Extracellular Matrix 12月26日 東京 府中
19. 小口洋祐、坂井貴臣、朝野維起 (2023) ショウジョウバエ蛹殻形成時のMCO2活性化 第67回日本応用動物昆虫学会年次大会 3月14日 大阪 枚方
20. 萩原翠唯那、相垣敏郎、江藤義基、石川裕之、坂井貴臣、朝野維起 (2023) 昆虫の飛翔及び跳躍に関する弾性タンパク質をコードする遺伝子の機能解析 第67回日本応用動物昆虫学会年次大会 3月14日 大阪 枚方
21. 平石拓海、坂井貴臣、朝野維起 (2023) テナガショウジョウバエのオスに特徴的な前脚巨大化に関する研究 第67回日本応用動物昆虫学会年次大会 3月14日 大阪 枚方
22. 朝野維起、橋本晃生 (2023) 昆虫学の重要問題＝「昆虫はなぜ海にいないのか」に関する新仮説 第67回日本応用動物昆虫学会年次大会 3月14日 大阪 枚方

招待講演

1. 坂井貴臣 「時計ニューロンが制御する光依存的な記憶維持機構」第41回日本認知症学会学術集会シンポジウム 東京国際フォーラム 2022年11月27日
2. Toshiro Aigaki 「Exploring the function of ingested nucleic acids in *Drosophila*.」22nd IUNS-ICN International Congress of Nutrition in Tokyo. New Frontier in Nucleic Acid Nutrition sponsored by FORDAYS Co., Ltd. 東京国際フォーラム 2022年12月8日

分子遺伝学研究室

1. 構成

加藤潤一（教授）、得平茂樹（教授）、城取良樹（D3）、永井敬大（D2）、岩本大我（M2）、菊地望海（M2）、千村明日美（M2）、原田真生（M2）、有馬樹（M1）、石森咲野（M1）、粕谷麻衣（M1）、小島光咲（M1）、小高優人（M1）、上田裕一朗（B4）、谷口絵乃（B4）、番馬直弥（B4）、橋本昌征（客員研究員）、倉田竜明（客員研究員）、岩館佑未（客員研究員）

2. 研究紹介

（1）加藤グループ

我々は分子レベルでの理解が最も進んでいるモデル生物である大腸菌を材料にして、「生命システムを支える基本的な遺伝子群の機能の解明」を目指し、生育に必須な全遺伝情報を同定していくつかの重要な機能未知必須遺伝子や潜在的に増殖、生存に重要な遺伝子の機能を明らかにしてきた。現在は我々が作製してきた多数の染色体広域欠失変異やゲノム縮小株群などのユニークなリソースを利用して、特に酸化ストレス耐性機構を中心に進めている。

1) 大腸菌ゲノム縮小株のゲノムシーケンス

我々はこれまでに大腸菌の野生株の染色体の約44%までを欠失させたゲノム縮小株群を作製してきたが、途中生育速度が著しく低下したΔ33a株、Δ37b株については、生育が改善された実験室進化（ALE）株（Δ33b株、Δ37c株）を単離してきた。これらのゲノム縮小株についてリシーケンシングをした結果から、まずゲノム縮小株を作製している時に多くの点突然変異（SNV）を含む突然変異が生じていたことがわかった。ゲノム縮小株は欠失させた遺伝子、領域のみで表すことが多いが、変異を含めて考える必要がある。またΔ33a株、Δ33b株にはΔ37b株、Δ37c、Δ41c株と比べて必須遺伝子のSNVが多いことがわかった。さらに独立に単離した5株のALE株、Δ37c株では、まず3コピーのメチオニンのtRNA遺伝子で1または2コピーの欠失が見られた。さらに興味深いことに5株全てで*hcaT*遺伝子のプロモーター領域に点突然変異が起こっていて、これらの変異によりその遺伝子の発現が増大していることがわかった。この結果からはこの遺伝子の発現増大がΔ37c株の生育改善に関与している可能性が考えられる。*hcaT*遺伝子はトランスポーターをコードすると推測されているが、突然変異株を使った実験により基質が3-フェニルプロピオン酸であることが示唆された。すでに報告されている知見からはタンパク合成の品質管理の面が改善されたのかもしれないが、我々の突然変異株を使った実験からは酸化ストレス存在下の定常期における生存に関与していることも示唆された。ゲノム縮小株群の解析からこれまでに明らかにされてこなかった潜在的な酸化ストレス耐性機構が同定される可能性がある。（小高、橋本、李、加藤）

2) 大腸菌の低分子量GTPase、YchFの生体内での機能

広く保存されている低分子量GTPaseのうち、大腸菌YchFのファミリーについては生体内での機能がまだよくわかっていない。生化学的な機能としては過酸化水素を分解除去するカタラーゼの活性調節に関与すること、またリボソームと相互作用して翻訳の開始因子であるIF3を介して翻訳にも関与していることが報告されている。これまでの我々の解析から大腸菌の*ychF*欠失株では、定常期からの再増殖に遅延が見られることがわかった。今回*ychF*欠失株の解析をさらに進めた結果、カタラーゼをコードする*katG*、*katE*遺伝子などの発現がプロモーターの種類に関わらず対数増殖期の後期または定常期の初期で低下することがわかった。その時のリボソームを調べたところ、Mg濃度を変化させた時のリボソームの安定性が低下していることが示唆された。また*ychF*欠失株でリボソームタンパク質をコードする*rpsF*遺伝子を過剰発現させると生育が

悪くなることを見出した。これらの結果から *yhcF* 遺伝子は生体内におけるリボソーム形成に関与している可能性が考えられた。(永井、小高、加藤)

(2) 得平グループ (微生物分子生理学グループ)

1) シアノバクテリアにおける糸状体および分化細胞の形成制御機構

シアノバクテリアには単細胞性のものであれば、数百個の細胞が連なった糸状体を形成するものもある。*Anabaena*や*Nostoc*属のシアノバクテリアは、数百個の細胞が一つにつながった糸状体を形成する。これらのシアノバクテリアは培地中の窒素化合物が不足すると、一部の細胞が窒素固定に特殊化したヘテロシストと呼ばれる細胞に分化する。糸状性のシアノバクテリアは、ヘテロシスト以外にも複数の分化細胞を形成することが知られている。アキネートはその一つで、低温や乾燥などの劣悪な環境下での生存を可能とする休眠細胞である。ヘテロシスト分化の制御機構はこの20年で徐々に明らかとなってきたが、アキネート分化の制御に関する知見はほとんど得られていない。

a) 糸状体の形成機構

糸状体は独立した細胞が単純にくっつくことで形成されるのではなく、細胞の間には物質や情報のやり取りを可能とする構造が存在している。細胞間連絡を可能とする構造がどのように作られているのかを明らかにすることを旨とし、まず糸状体の形成に異常のある変異体の単離を行った。糸状体を構成する細胞が少なくなる変異体 (short trichome; st変異体) を単離するため、研究室内での進化実験を行った。適切な選択圧のもと、st変異体が優占する条件で培養を繰り返し、糸状体を構成する細胞数が10個以下になったst変異体を得た。現在、単離した複数のst変異体のゲノム解析を行い、原因となった遺伝子の同定を進めている。また、単細胞性のシアノバクテリアには存在せず、糸状性のシアノバクテリアのみが持つ遺伝子についてもその破壊株を作製し、糸状体形成への影響を解析している。(石森、得平)

b) ヘテロシスト形成パターンの制御機構

Anabaena sp. PCC 7120は窒素化合物が培地中に存在すると、栄養細胞のみからなる糸状体を形成する。そして、窒素化合物が欠乏するとヘテロシスト分化が誘導され、およそ10~15細胞ごとに1個の細胞がヘテロシストとなる。栄養細胞のみからなる糸状体は均一な細胞から構成されており、その中から分化する細胞、しない細胞がどのように決められているのか、その仕組みは分かっていない。HetRはヘテロシスト分化のマスターレギュレーターとして働く転写因子であり、その発現が上昇した細胞がヘテロシストへと分化する。最近、窒素化合物が存在する培地で培養した栄養細胞のみからなる糸状体において、各細胞でのHetRの発現レベルが異なることが報告された。我々は、分化誘導前のHetRの発現レベルと将来ヘテロシストへと分化する細胞との間に関係があると考え、分化誘導前からヘテロシスト分化完了までの過程での*hetR*発現レベルの変動をGFPをレポーターとして顕微鏡下で一細胞レベルで経時的に観察する実験系を開発した。本実験系を用いて、ヘテロシストへと分化する細胞が選出される仕組みの解析を進めたところ、まず分化誘導前の*hetR*発現レベルはヘテロシストへと分化する細胞の決定に関与していないことが明らかとなった。また、将来ヘテロシストへと分化する細胞において*hetR*の発現が上昇するのは、転写制御によるものではなく、HetRの正の自己制御活性の制御による可能性が示された。なお、本研究は当専攻発生生物学研究室の高鳥准教授との共同研究である。(千村、得平)

c) ヘテロシスト多糖層の形成制御機構

ヘテロシストは窒素固定を行うために、細胞内を嫌氣的に保っている。ヘテロシスト特異的に形成される細胞外多糖層は、嫌氣的な細胞内環境の構築に必須の構造である。ヘテロシスト多糖層の形成に関与する遺伝子が数多く同定されているが、その形成制御機構は未だ解明されていない。*rhpV* (all4160)は、N末側に被リン酸化ドメイン、C末側に糖転移酵素ドメインをもつタンパク質をコードし、ヘテロシスト多糖層形成に必須の遺

伝子である。RhpVは多糖層形成の最初の反応を触媒すると考えられるため、その活性制御は多糖層形成において重要である。RhpVの活性がリン酸化により制御されていると考え、キナーゼとホスファターゼの同定を遺伝学および生化学的手法を用いて進めた。その結果、Alr3423 (RhpWと名付けた)がRhpVをリン酸化するキナーゼであり、HenR (All1086)が脱リン酸化するホスファターゼであることが明らかとなった。また、RhpVはリン酸化により不活性型となり、脱リン酸化により活性化することも明らかとなった。HenRにはシグナル受容ドメインが存在しており、何らかのシグナルによりHenR活性が制御されることで、RhpVのリン酸化状態が変化し、多糖層形成が制御されていると考えられる。また、RhpV, RhpWそしてHenRのホモログは*Anabaena* PCC 7120のゲノム中に複数存在しており、それらの機能解析も進めている。(原田、番馬、得平)

d) 異なる分化細胞を作り分ける制御機構

シアノバクテリアの中には乾燥やリン酸飢餓などの環境悪化を受けて、光合成を行う栄養細胞からアキネートと呼ばれる休眠細胞に分化するものがある。アキネートは孢子様の細胞であり、過酷な環境に耐えることができる。*Anabaena variabilis* ATCC 29413は、アキネートとヘテロシストの両方の分化細胞を形成することができるシアノバクテリアである。アキネートとヘテロシストは共に、多糖層と糖脂質層からなる特殊な外膜を細胞壁の外側に持っている。多糖層に含まれる多糖の組成はアキネートとヘテロシストで同一であり、同じ酵素を使って多糖が合成されている。また、糖脂質の合成酵素もアキネートとヘテロシストで同一であることが示されている。以上の知見と化石試料の解析から、ヘテロシストはアキネートを元にして新たに作りだされた分化細胞であると考えられている。アキネート分化の制御機構を解明し、二つの分化細胞を作り分ける方法を理解することで、多様な分化細胞からなる多細胞体を作りだされる仕組みの理解を目指す。

アキネート分化とヘテロシスト分化の制御機構の違いを調べるため、ヘテロシストの多糖層形成を制御する*henR*の*A. variabilis*におけるオルソログ遺伝子ava3723の破壊株を作製した。その結果、ava3723破壊株では、ヘテロシストの多糖層は形成されなくなるが、アキネートの多糖層は形成されることが示された。したがって、アキネートとヘテロシストの多糖層形成に関わる酵素群は共通しているが、形成を制御する機構が異なっていることが明らかとなった。今後は*henR*以外の多糖層形成制御遺伝子の破壊株を作製し、二つの分化細胞の形成への影響を評価していく。(粕谷、得平)

2) 極限環境への適応機構

シアノバクテリアは多様な生物群であり、その棲息域は海や湖沼などの水圏から土壌、砂漠などの陸域にまで広がっている。それぞれの種が様々な環境適応能力を発揮し、それぞれの生育環境に適応している。*Anabaena* や*Nostoc*属のシアノバクテリアには、土壌に棲息するものが知られている。それらの陸棲シアノバクテリアは非常に高い乾燥耐性能を持ち、100年以上の乾燥状態にも耐えることが報告されている。我々は*Anabaena* sp. PCC 7120を用いて、シアノバクテリアの乾燥耐性の分子機構の解明に取り組んでいる。これまでに転写因子OrrAが乾燥への応答・適応に中心的な役割を果たしていることを明らかにした。しかし、乾燥応答におけるシグナル伝達機構は、ほとんど分かっていない。また、乾燥という現象が分子レベルでどのようにして認識されるのか、そのシグナル受容の機構も明らかではない。

OrrAは二成分制御系のレスポンスレギュレーターであり、ヒスチジンキナーゼ(HK)からのリン酸基転移により活性が制御される。OrrAのリン酸化に関わるHKを同定するため、ゲノム上で*orrA*の近傍にある3つのHKとOrrAの関係について解析を進めた。3つのHKそれぞれの遺伝子破壊株を作製したところ、*all3764*にコードされるHKが乾燥応答に関わっていた。さらにAll3764によりOrrAがリン酸化されることが示され、OrrAの活性制御にAll3764が関与していることが明らかとなった。しかし、All3764自身もリン酸化により活性が制御されていると考えられるため、今後その活性を制御するHKを同定していくことで乾燥応答のシグナル伝達機構を解明すると共に、乾燥シグナル受容メカニズムを明らかにする。(有馬、得平)

OrrAは乾燥に応答して200個を超える遺伝子の発現を誘導するが、その中で*anaKa*遺伝子が乾燥耐性に必須の遺伝子であることが分かっている。しかし、*anaKa*遺伝子にコードされるタンパク質は機能未知であり、どのように乾燥耐性に寄与しているのかは分かっていない。*anaKa*遺伝子のホモログは、非常に高い乾燥耐性を持つ細菌*Deinococcus radiodurans*や0°C近くの低温でも増殖可能な好冷菌である*Psychrobacter*属の細菌など極限環境に生息する細菌に存在している。したがって、*anaKa*遺伝子は細菌が極限環境に適応する上で重要な役割を果たしていると考えられる。そこで、*anaKa*の機能解明を目指し、*anaKa*遺伝子破壊株が乾燥以外のどのようなストレスに感受性になるのかを探索した。様々なストレス条件下で破壊株を培養した結果、二価の金属イオンのキレート剤であるEDTA存在下で増殖能が低下することが明らかとなった。そこで、種々の金属の欠乏に応答する遺伝子の発現を調べた結果、*anaKa*遺伝子破壊株は恒常的に鉄欠乏状態になっていることが明らかとなった。今後、細胞内の鉄レベルと乾燥耐性の関係を明らかにしていくことで、*AnaKa*という機能未知タンパク質の機能を解明するとともに、シアノバクテリアの乾燥適応戦略を明らかにしていく。また、*D. radiodurans*の*anaKa*ホモログの機能解析を進め、極限環境への適応における*anaKa*の役割を明らかにしていく。(菊地、谷口、得平)

3) 機能未知光合成関連遺伝子の機能解析

シアノバクテリアや植物などの酸素発生型光合成生物に高度に保存された機能未知遺伝子(ここでは遺伝子Aとする)は単細胞シアノバクテリアである*Synechococcus elongatus*における必須遺伝子とされている。また、植物において遺伝子Aは核ゲノムにコードされているが、葉緑体への移送シグナルペプチドを含んでいる。さらに非光合成生物や非酸素発生型光合成細菌にはこの遺伝子のホモログは含まれないことから、遺伝子Aは酸素発生型光合成に関わる遺伝子であることが推測される。遺伝子Aの機能を明らかにするため、系統的に異なる3種のシアノバクテリアを用いてこの遺伝子Aの破壊株の作製を試みたが、組み換えが完全に起こった株は得られず欠損させることができなかった。このことから遺伝子Aはシアノバクテリアにおいて必須遺伝子であると考えられる。また遺伝子Aの発現抑制株を作製したところ、抑制株では光合成色素であるフィコビルンとクロロフィル量の減少が見られ、生育が抑制された。また、抑制株では光化学系I量が低下していることも明らかとなった。以上の結果から、遺伝子Aはシアノバクテリアの光合成機能に関与していると考えられる。現在、発現抑制株のより詳細な解析によって、遺伝子Aと光合成との関係の解明を進めている。(城取、得平)

4) シアノバクテリアを用いた大気からの有用物質生産

高い光合成能を有するシアノバクテリアは、大気中のCO₂から様々な有用物質を生産させるホストとして期待されている。これまでに遺伝子改変により、アルコールや炭化水素など燃料やプラスチック原料となる化合物を生産するシアノバクテリアが作り出されてきた。シアノバクテリアには炭素固定だけでなく、大気中の窒素ガスを取り込む窒素固定能を持つものがある。我々は窒素固定能を有するシアノバクテリアを生産ホストとして利用することで、大気中のCO₂とN₂を原料とした含窒素化合物の生産プロセスの開発を目指している。

含窒素化合物のモデルとして1,3-ジアミノプロパン(1,3-DAP)や1,5-ジアミノペンタン(1,5-DAP)などのジアミンを生産するシアノバクテリアを遺伝子改変により作製した。1,3-DAPは、シアノバクテリアの持つシデロホアの合成経路の中間体である。シデロホアは鉄欠乏条件下で合成されるが、中間体の1,3-DAPはすぐに次の代謝産物に変換されてしまうため通常は蓄積することはない。そこで、1,3-DAPを変換する酵素をコードする遺伝子を破壊し、1,3-DAPを代謝できない株を作製した。この株を鉄欠乏条件下で培養したところ、1,3-DAPの生産が確認された。また、リジンを1,5-DAPに変換する酵素をコードする大腸菌の*cadA*遺伝子を導入することで、1,5-DAP生産株を作製した。*cadA*を導入した株では1,5-DAPが合成されるようになったが、増殖が著しく阻害された。そこで、細胞内の1,5-DAPを細胞外へ排出するエキスポーターを共発現させたところ、生産量が

10倍近く増加した。現在、これらの結果をもとに窒素固定型のシアバクテリアを宿主としたジアミン生産株の作製を進めている。(岩本、上田、得平)

大気からのジアミン生産の効率を向上させるためには、窒素固定活性を強化する必要がある。窒素固定反応は窒素固定産物によるフィードバック制御を受けるため、その制御を解除することで窒素固定反応が促進されることが期待できる。そこで、窒素固定産物を速やかにアミノ酸ポリマーであるシアノフィシンに変換させることで、フィードバック阻害の解除に取り組んでいる。シアノフィシン合成を調節している制御タンパク質を改変することで、シアノフィシン合成が促進されるかを検討していく。(小島、得平)

3.研究発表

誌上発表

1. Nagao, R.* , Kato, K., Hamaguchi, T., Ueno, Y., Tsuboshita, N., Shimizu, S., Furutani, M., Ehira, S., Nakajima, Y., Kawakami, K., Suzuki, T., Dohmae, N., Akimoto, S.* , Yonekura, K.* , Shen, J-R.* (2023) Structure of a monomeric photosystem I core associated with iron-stress-induced-A proteins from *Anabaena* sp. PCC 7120. *Nat. Commun.* **14**:920.
2. Kimura, S., Sato, M., Fan, X., Ohmori, M., Ehira, S.* (2022) The two-component response regulator OrrA confers dehydration tolerance through regulation of the expression of *avaKa* in the cyanobacterium *Anabaena* sp. strain PCC 7120. *Environ. Microbiol.* **24**:5165-5173.
3. Nagao, R.* , Yokono, M., Ueno, Y., Nakajima, Y., Suzuki, T., Kato, K-H., Tsuboshita, N., Dohmae, N., Shen, J-R., Ehira, S.* , Akimoto, S.* (2022) Excitation-energy transfer in heterocysts isolated from the cyanobacterium *Anabaena* sp. PCC 7120 as studied by time-resolved fluorescence spectroscopy. *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.* **1863**:148509.
4. 得平茂樹, 渡辺智 (2023) 「コンタミ菌によって誘導されるスピルリナの形質転換」化学と生物 (印刷中)

口頭・ポスター発表

1. 小高優人、橋本昌征、謙一、加藤潤一 (2023) 大腸菌ゲノム縮小株群から単離した適応実験室進化株のゲノムシーケンス. 第96回日本細菌学会総会(姫路) 口頭発表(指定演題)、2023年3月
2. 小高優人、橋本昌征、李謙一、加藤潤一 (2023) 大腸菌ゲノム縮小株のゲノムシーケンスから同定された機能未知遺伝子の解析. 第17回日本ゲノム微生物学会年会(千葉) 口頭発表、2023年3月
3. 小高優人、橋本昌征、李謙一、加藤潤一 (2023) 大腸菌ゲノム縮小株のホールゲノムシーケンス. 第17回日本ゲノム微生物学会年会(千葉) ポスター発表、2023年3月
4. 岩本大我、得平茂樹 「シアノバクテリアを用いた大気からの合成繊維原料カダベリンの生産」日本農芸化学会2023年度大会, オンライン(広島), 2023年3月
5. 城取良樹、厚沢季美江、Egi Apdila Tritya、金子康子、栗井光一郎、得平茂樹 「Functional analysis of an essential gene in cyanobacteria that is conserved among oxygen-evolving photosynthetic organisms」第64回日本植物生理学学会年会, 仙台, 2023年3月
6. 菊地望海、得平茂樹 「シアノバクテリア *Anabaena* sp. strain PCC 7120 の乾燥耐性に必須の機能未知遺伝子 *anaKa* の機能解析」第17回日本ゲノム微生物学会年会, 千葉, 2023年3月
7. 岩本大我、得平茂樹 「シアノバクテリアを用いた大気からの合成繊維原料カダベリンの生産」第17回日本ゲノム微生物学会年会, 千葉, 2023年3月
8. 千村明日美、高鳥直士、得平茂樹 「多細胞性シアノバクテリアにおいて均質な細胞集団の中から分化する細胞が選出される仕組みの解析」藍藻の分子生物学2022, 千葉, 2022年12月

9. 原田真生, 松岡聡, 得平茂樹「シアノバクテリア *Anabaena* sp. strain PCC7120におけるヘテロシスト多糖層形成制御機構の解明」 藍藻の分子生物学2022, 千葉, 2022年12月
10. 有馬樹, 得平茂樹「シアノバクテリア *Anabaena* sp. PCC 7120におけるストレス応答性レスポンスレギュレーターOrrAの活性制御機構の解明」 藍藻の分子生物学2022, 千葉, 2022年12月
11. 粕谷麻衣, 得平茂樹「多細胞性シアノバクテリア *Anabaena variabilis* ATCC29413におけるアキネートとヘテロシストの多糖層形成」 藍藻の分子生物学2022, 千葉, 2022年12月
12. 千村明日美, 高鳥直士, 得平茂樹「多細胞性シアノバクテリアにおいて均質な細胞集団の中から分化する細胞が選出される仕組みの解析」 第35回日本微生物生態学会大会, 札幌, 2022年10月
13. 小高優人, 橋本昌征, 加藤潤一 (2023) 大腸菌ゲノム縮小株の適応実験室進化による新規酸化ストレス耐性機構の同定. 第16回細菌学若手コロッセウム (札幌) 口頭発表, 2022年8月

植物発生生理学研究室

1. 構成

岡本 龍史 (教授)、古川 聡子 (助教)、木下 温子 (助教)、Kasidit Rattanawong (特任助教)、渡辺 選子 (D3)、Tety Maryenti (D3)、Hanifa Aini (D3)、Nargis Akter (D2)、渡辺 真史 (M2)、赤木 彩香(M1)、小野 里佳 (B4)、恩田 伸乃佳 (B4)、高澤 瑞希 (B4)、滝 友菜 (B4)、玉谷 京輔 (B4)、手捲 萌乃 (B4)、吉田 夏緑 (B4)、瀬尾 光範 (連携客員准教授)、戸田 絵梨香 (客員研究員)、加藤 紀夫 (客員研究員)、内海 貴夫 (客員研究員)、大西 由之佑 (客員研究員)、森 稔幸 (客員研究員)

2. 研究紹介

種子の発芽、幼植物から成熟個体への成長、花芽の形成、雌雄生殖器官の発生、重複受精、種子の形成などのさまざまな発生・生理現象が被子植物の生活環においておきており、本研究室では、それらの中でも次世代の個体を残すことに密接に関連している、「受精」、「胚発生」および「花成」の過程に焦点を当て、主に下の2つの方向性で研究を推進している。

【植物の受精と胚発生過程を顕微鏡下で再現することで植物の発生原理を知り、そして新たな植物を創生する】

【植物の可塑的な発生プログラムを支える細胞の運命決定様式を探る】

1) 受精卵の初期発生機構 受精卵発生における雌雄ゲノムの分子機能

卵細胞は精細胞と融合することで受精卵へと変換し、発生に向けた細胞および発生プログラムが始動する。受精により両親のゲノムが会い、その両親ゲノムの協調的な働きによって発生に向けた遺伝子発現が始まり、また、卵細胞から受精卵への変換に伴って、活性酸素種 (ROS) のレベル変動やミトコンドリアの動態変化など様々な受精卵発生に必須な細胞マシナリーの駆動が始まる。

1-1) Functional analysis of OsASGR-BBML1, an initiation factors for zygotic development in rice (イネ受精卵発生を誘導する *OsASGR-BBML1* の機能解析) : In the fertilized eggs of angiosperms, nuclear fusion (nuclear union) of female and male gametes proceeds rapidly, new gene expression begins with the mixing of female and male genomes, and the development program of the fertilized egg begins. Previous studies using in vitro fertilization (IVF) have shown that *Oryza sativa* Aposporory-specific genome region (ASGR)-BABY-BOOM LIKE (BBML)1 (*OsASGR-BBML1*) belonging to the AP2/ERF family transcription factor plays an important role in the induction of the developmental program. *OsASGR-BBML1* has been identified as a paternal allyl-dependent gene in fertilized eggs, and ectopic transient expression of *OsASGR-BBML1* in egg cells causes fertilization-independent nuclear division and cell division. Previous studies in our laboratory have strongly suggested that *OsASGR-BBML1*, which is expressed only from paternally in fertilized eggs and encodes the AP2 transcription factor enzyme, is deeply involved in the induction of fertilized egg development. This year, we conducted using gametes isolated from the *bbm* triple mutant (*bbm1,2,3*) and wild-type rice plants, zygotes with several gamete combinations were produced by electro-fusion, and the development profiles of these zygotes were observed. The results indicated that the developmental state of *bbm* triple mutant zygotes is comparatively delayed in early developmental stages of zygotes and also development arrested after globular-like embryo stage. In addition, developmental state also delays when *bbm* from paternal side compare than *bbm* from maternal side. In future, we will analyze the transcriptome of fertilized eggs with or without expression of *OsASGR-BBML1* and compare them with the experimental data to further elucidate the developmental mechanism of *OsASGR-BBML1*. (Nargis, *大島、*光田、**越水、**矢野、***佐藤 (*産総研、**明治大、***遺伝研))

1-2) Dynamics of mitochondrial distribution during development and asymmetric division of rice zygotes (イネ受精卵におけるミトコンドリア動態およびその機能) : Mitochondria are highly dynamic organelles that actively move and change their localization along with actin filaments during the cell cycle. In this study, mitochondrial nucleoids of rice egg cells and zygotes were successfully stained by using N-aryl pyrido cyanine 3 (PC3), and their intracellular

localization and distribution were demonstrated. Mitochondria in rice egg cells were small and coccoid in shape and were primarily distributed around the nucleus. Upon gamete fusion, the resulting zygotes showed mitochondrial dispersion and accumulation equivalent to those in rice egg cells until 8 h after fusion (HAF). Around 12 HAF, the mitochondria started to disperse throughout the cytoplasm of the zygotes, and this dispersive distribution pattern continued until the zygotes entered the mitotic phase. At early prophase, the mitochondria redistributed from dispersive to densely accumulated around the nucleus, and during the metaphase and anaphase, the mitochondria were depleted from possible mitotic spindle region. Thereafter, during cell plate formation between daughter nuclei, the mitochondria distributed along the phragmoplast, where the new cell wall was formed. Finally, relatively equivalent amounts of mitochondria were detected in the apical and basal cells which were produced through asymmetric division of the zygotes. Further observation by treating the egg cell with latrunculin B revealed that the accumulation of mitochondria around the nuclear periphery in egg cells and early zygotes depended on the actin meshwork converging toward the egg or zygote nucleus. (Aini, *佐藤 (*名古屋大))

1-3) Sperm-derived mitochondrial stability in rice zygotes (イネ受精卵における雄性ミトコンドリアの運命) : Mitochondria is generally passed on to the offspring maternally in most angiosperms including rice. Our previous study for dynamics of mitochondrial distribution in rice gametes and zygotes indicated that rice sperm cell possessed mitochondria, and in the fused-egg cells, male mitochondria are scattered throughout the cytoplasm. In addition, our recent investigation showed that some of the mitochondria remained in the zygotes until 6 hours after fusion. These lead to the possibility that male mitochondria fuse with female mitochondria during zygotic development and some portion of male mitochondrial DNA might retain and pass onto the progeny. To examine this possibility, we analyzed the data obtained from genome sequencing of intra-specific hybrid rice plants between Kasalath (Indica) and Nipponbare (Japonica) and found that mitochondrial SNPs from paternal side were detected inside mitochondrial DNA of this intra-specific hybrid, and the existence of possible male mitochondrial SNPs was verified by cleaved amplified polymorphic sequence (CAPS) analysis. The transmission of male mitochondria-derived SNPs in progenies (F2 seedlings) by CAPS analysis are underway investigation. (Aini, Rattanawong)

2) 分子マーカーを用いたイネ受精卵初期発生機構の解析

被子植物においては、受精卵の第一分裂がその後の発生過程に重要な機能分化をもたらすと考えられているが、その詳細な分子メカニズムについては明らかにされていない。その要因の一つとして、受精卵および初期胚発生過程が組織の深部にあり、生理学的解析や発生過程の観察が困難であることが挙げられる。これまでの解析から、*in vitro* 受精系で作出された受精卵が通常の発生過程と同様に二細胞胚・球状胚へと成長することが形態的に確認されている。しかしながら、イネの胚発生段階の指標となる分子マーカーが少ないことから、*in vitro* 受精卵の発生における分子的な知見は非常に限られている。そこで本項目では分子マーカーを用いて *in vitro* 受精卵の発生様式を検証し、*in vivo* の発生と比較することにより、受精卵の第一分裂や初期胚発生機構に必要な分子機構の実態にせまることを目的として実験を行った。

2-1) イネの胚発生過程の 3 次元的定量解析：モデル双子葉植物であるシロイヌナズナでは、胚発生過程における細胞分裂パターンに規則性があり、初期胚の細胞系譜が詳細に解析されている。一方で単子葉植物の胚発生過程では、受精卵の非対称第一分裂以降の細胞分裂は比較的ランダムに行われているとされ、胚発生過程の予測及び細胞系譜の特定が非常に困難である。そこで、本項目では画像解析ソフト MorphoGraphX を用いて *in vivo* イネ胚を 3D モデリング化することにより、単子葉植物の初期胚発生パターンの解析を行った。これまでに複数のイネ胚について 3D モデルを作成し、細胞の形状や体積などの 3 次元定量データを取得している。その結果、胚発生の進行に伴い個々の細胞の体積が低下し、胚全体の体積は徐々に増大することが明らかとなった。さらにイネ胚の 3D モデルを作成したことにより、イネ初期胚は胚発生過程で大規模な細胞伸長や細胞移動が伴わず、異なる個体の胚を比較しても細胞系譜が追跡できる可能性が示唆された。(手捲)

2-2) 2 細胞胚における遺伝子発現プロファイル：双子葉植物において受精卵の第一分裂によって生じる 2 細胞の発生運命は明確に異なっており、この 2 細胞の間には遺伝子発現プロファイルも異なることが知られている。一方で、単子葉植物の初期胚発生における運命決定については、ほとんど知見が得られていない。

そこで、*in vitro* で作出した 2 細胞胚を細胞壁分解酵素で処理し、得られた細胞から回収した転写産物を用いて、シングルセルトランスクリプトーム解析を行った。得られたシークエンスデータをもとに発現変動解析をおこなった結果、2 細胞間で有意に発現が異なる遺伝子はごくわずかしか検出されなかった。この結果より、双子葉植物とは異なり、イネ初期胚における細胞運命はより後期の発生段階で決定することが示唆された。(木下)

3) イネ卵細胞の単為発生機構

単離卵細胞を低温処理後に培養すると低い確率であるが受精非依存的に分裂・増殖して植物体へと再分化することから、単離および低温処理などのストレスにより卵細胞における発生プログラムの抑制が解除され、自律的な分裂・発生が引き起こされると考えられている。また、卵細胞由来の植物体多くが二倍体または四倍体であることから、卵細胞の分裂・増殖の過程においてこの核内倍加が生じている可能性が高い。さらには、卵細胞における発生抑制機構に関与する転写因子の同定に向けた解析も進めている。

3-1) Basic mechanisms in parthenogenesis of isolated rice egg cells (イネ卵細胞における単為発生の基本メカニズム) : This study demonstrate that pretreatment with cold stress could induce parthenogenesis of isolated rice egg cells as cold-treated egg cells divided and regenerated into mature rice plants. Among the obtained egg-derived plants, various ploidy numbers were detected, including haploid (n) ($n = 4$), diploid ($2n$) ($n = 10$), tetraploid ($4n$) ($n = 12$) and aneuploid ($4n+$ or $5n-$) ($n = 2$). Next, the incidence of genome duplication during autonomous egg development was confirmed using modified DAPI staining. The amount of nuclear DNA was found to be doubled from haploid to diploid levels when the dividing egg cells progressed from 2-celled to 10-20-celled stages. Furthermore, due to the presence of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in Japonica (Nipponbare; NB) and Indica (Kasalath; KS) subspecies, the intersubspecific hybrid plants (NBKS hybrid) were created to test the hypothesis that whether genome duplication occurs during autonomous egg cell development, and that all the duplicated chromosomes in the diploid and tetraploid egg-derived plants would exhibit an identical array of homozygous SNPs, which resulted from an only single chromosome recombination event during meiosis. Genome sequencing for these egg-derived plants confirmed the same homozygous patterns of SNPs at all the investigated SNPs-containing loci, indicating that these plants are doubled and quadrupled haploids derived from the same egg cell. Transcriptome analyses of cold-treated egg cells demonstrated that parthenogenesis-related candidate genes, such as *OsASGR-BBML1* gene, and cell wall remodelling genes, including glycoside hydrolase family 1 gene, were upregulated, suggesting that the upregulation of development-promoting genes is induced in egg cells after cold temperature treatment. (Rattanawong、戸塚、*越水、*矢野 (*明治大))

3-2) イネ卵細胞における発生抑制機構の解明：卵細胞では分裂や発生の進行が抑制されているが、その発生機構は精細胞と受精することをトリガーとして解除され、受精卵内で発生誘導機構が新たに駆動し、発生が始まる。本項目では、キメラリプレッサー法を用いることで発生の抑制を制御することを試みた。キメラリプレッサー法とは転写因子に短い転写抑制ドメインを付加することで、その転写因子およびホモログの標的遺伝子群の発現を効率よく抑制する技術である。卵細胞内で発現し、かつ受精により発現レベルが抑制される転写因子 (Egg1~Egg7) キメラリプレッサーを発現する形質転換イネが前年度に作出されたことから、それらイネ植物体より卵細胞を単離し、発生過程を経時的に観察した。Egg1-①-1 のラインから単離した卵細胞 24 個のうち 4 個が細胞分裂を開始した。また、Egg1-⑤-2 のラインから単離した卵細胞 47 個のうち 1 個は植物体まで発生を進めたことから、LEC1 様の転写因子である Egg1 がイネ卵細胞の発生抑制に関与していることが示唆された。(滝、*高木、*高崎、**大島、**光田 (*埼玉大、**産総研))

3-3) 卵細胞の単為発生に関与する新規遺伝子の探索：先行研究より、*OsASGR-BBML* の異所的発現、ヒストン脱アセチル化酵素 (SAHA) 処理、そして低温処理はイネ卵細胞の自律的な分裂および発生を誘導することが示されている。本年度は、①*OsASGR-BBML* を異所的に発現させた卵細胞、②SAHA 処理をした卵細胞、③低温処理をした卵細胞で共通して発現が上昇している転写因子として *XMYB1* を特定した。さらに、*XMYB1* の発現カセットを持つプラスミドと GFP-ER 発現プラスミドをイネ卵細胞に共導入し、経時観察をおこなった。その結果、*XMYB1* 発現プラスミドおよび GFP-ER 発現プラスミドの共導入卵細胞 38 個中 5 個で GFP 蛍光が観察され、そのうち 3 個で核分裂が確認された。(滝、Kasidit)

4) 異質倍数性交雑受精卵の発生と再分化：イネ-コムギ交雑植物の作出、形質評価、および異種交雑機構の解明

イネおよびトウモロコシに加え、コムギ配偶子を用いた顕微授精法が近年確立され、3 大穀物すべてについて顕微授精系を用いた研究を行える環境が整いつつある。また、顕微授精法は、異質あるいは同質倍数性受精卵の任意的作出や、それら受精卵への直接的な物質導入など多面的な利用が可能な手法であり、新たな細胞育種技術となるポテンシャルを有している。本項目ではこれまでに単離配偶子であれば配偶子の「種」および「組み合わせ・数」を問わずに融合できるという顕微授精法の特徴を活かして多様なコムギ-イネ異質倍数性受精卵を作出し、それらの発生プロファイル解析を進めてきた。その結果、融合させる配偶子の組み合わせを最適化することにより、コムギ-イネ間の交雑不全を克服することに成功し、イネ遺伝資源をコムギに導入する可能性を切り拓いている。今年度はこのコムギ-イネ交雑植物のゲノム組成解析、形質評価、および異種交雑機構解析などを進めた。

4-1) イネ-コムギ交雑植物 (イネコムギ, *Oryzawheat*) の作出とイネコムギのゲノム組成解析：Hybridization drives speciation and generates biodiversity, and wide hybridization plays a pivotal role in enhancing and broadening the useful attributes of crops by crossing species from distant gene pools. Rice and wheat, the two most commercially important cereals, possess exceptional genetic resources that support their agricultural traits, however, the utilization of genetic resources through hybridization between wheat and rice has been ineffective given that wheat and rice belong to different subfamilies, Pooideae and Ehrhartoideae, respectively. Allopolyploid wheat-rice hybrid zygotes with various gamete combinations have recently been produced and developed into possible wheat-rice hybrid plants. Here we show that the hybrid plant, termed *Oryzawheat*, possess a "wheat" nuclear genome and a "wheat" + "rice" mitochondrial genome. The variations in the plastome are relevant from both agricultural and evolutionary perspectives, as the proper functioning of metabolism, cellular homeostasis, and environmental sensing highly rely on plastome activity. Moreover, impacts of plasmotypic variation are particularly pronounced under conditions of fluctuating and stressful environments, because and plasmotype serves as a reservoir of variations that are predominantly exposed under certain conditions. *Oryzawheat*, the first hybrid wheat possessing a heterogeneous cytoplasm across subfamilies, can provide a new horizon for utilizing inter-subfamily genetic resources among wheat and rice. (Maryenti, *石井, **越水, **矢野 (*鳥取大, **明治大))

4-2) *Oryzawheat* の形質評価に向けた発芽の最適温度と温度ストレス耐性の検討：これまでに、顕微授精法を用いてイネとパンコムギの雑種植物(イネコムギ, *Oryzawheat*)が作出され、複数の系統を得られている。イネコムギは、胚発生の初期段階でイネ染色体が脱落し、獲得される雑種は基本的にはパンコムギの表現型をしている。鳥取大学乾燥地研究センターの圃場で多数のイネコムギ系統の形質評価を行ったところ、イネコムギにはコムギとは異なる形質を示す系統があるほか、系統間差異もあることが確認された。さらに、これらイネコムギの種子を用いて高温耐性試験を行ったところ、少なくとも2つの系統のイネコムギにおいて高温耐性が獲得されていることが推定された。(高澤, *樽谷, *石井 (*鳥取大))

4-3) 発生様式の異なるコムギ-イネ交雑受精卵を用いた受精卵発生に関わる遺伝子の探索：先行研究より、コムギ-イネ交雑受精卵は配偶子融合の組み合わせにより、1) 核合一は進行するが第一分裂に至らない交雑受精卵、2) 初期分裂は進行するが多細胞胚期で発生が停止する交雑受精卵、3) 植物体まで発生する交雑受精卵など、発生様式が異なる受精卵が作出された。これらの結果から、1) の交雑受精卵では配偶子融合後活性化が起きていないこと、2) の交雑受精卵では核-細胞質の異種間不全が起きていることが推定されている。今年度は、発生停止段階の異なる交雑受精卵の遺伝子発現をトランスクリプトーム解析にて分析し、比較することで交雑における受精卵の活性化および細胞質-核の相互作用メカニズムの解明に向けた解析を進めた。(赤木, Maryenti)

5) 新たなイネ科植物の創出に向けて

世界の穀物生産の約9割はイネ、コムギ、トウモロコシのイネ科作物3種で占められている。地球温暖化による気候変動は世界中の農業に大きなダメージを与え、これら作物(穀物)をこれまでと同レベルの質・量で持続的に供給する余力は急激になくなりつつある。また、気候変動は今後さらに激しくなることが予測

されており、生育環境の変動への耐性能をもつ穀物の作出技術開発は、持続性のある作物生産において非常に重要である。気候変動耐性付与に向けて新たな形質を導入する必要があるが、同種および近縁種からの遺伝資源を用いても画期的な新奇形質の獲得に至る確率は低く、亜科・属レベルの種間距離での異種形質導入が望まれている。この遠縁間異種形質導入の方向性については大きく3つに分けることができる。一つは、1)「三大穀物間の交雑植物を作出することで、それらのもつ農業上の優良形質遺伝資源の相互利用を可能にする」ことである。二つめは、2)「栽培化の過程で野生形質を失っている現在の栽培作物に、様々な環境に生息・適応している野生系統の遺伝資源を導入する」という方向性である。もう一つは、3)「イネやコムギなどのC3植物に高い光合成能・環境耐性能・バイオマス生産能を保持するC4植物の形質の導入」である。

しかしながら、1)については、三大穀物のイネ、コムギ、トウモロコシは同じイネ科であるが、異なる亜科に属していることから交雑ができず、それら遺伝資源の相互利用は達成されていない。2)の野生系統の形質導入に関しては、耐病性や対塩性などの生物学的・非生物学的ストレスに耐性をもつ多様な野生イネが存在していることから、野生イネのもつ多様な遺伝資源の栽培イネへの導入が期待されているが、栽培イネ-野生イネ間では遠縁交雑が非常に困難であることが大きな障害となっている。3)のC3植物へのC4形質導入についても、亜科間交雑になることからこれまでにその報告はない。

本項目では、異種の配偶子を自在に融合可能な顕微授精法を用いることで、三大穀物間、野生イネ-栽培イネ間、およびC3植物-C4植物間における交雑不全をそれぞれ克服し、新たな作物の創出することを目的として研究を進めた。さらには、重要なイネ科作物であるサトウキビおよびエリアンサスに関しても *in vitro* 受精系の確立に向けた研究を進めた。

5-1) トウモロコシ-コムギ交雑植物 (トウモロコシコムギ, Zeawheat) およびパールミレット-コムギ交雑植物 (パールミレットコムギ, Cenchruswheat) の作出: 顕微授精法を用いて配偶子を適切な組み合わせで融合することで、トウモロコシ-コムギ、およびパールミレット-コムギ間の細胞質雑種の作出を試みた。交雑受精卵は問題なく発生・増殖・再分化し、植物体にまで成長した個体が得られた。交雑植物の形態はコムギと同様であった。また倍数性解析の結果より、これらの交雑植物のゲノムサイズがコムギとほぼ一致していたことから、トウモロコシ-コムギおよびパールミレット-コムギ交雑植物では、トウモロコシおよびパールミレットの核ゲノムの大部分がそれぞれ脱落していることが示唆された。(恩田、マリエンティ、*石井 (*鳥取大))

5-2) C4型光合成イネ科植物とイネの雑種創生: 先行研究では、イネとコムギによる異質倍数性受精卵が植物体まで発生することがわかっている。本研究では、C4型光合成イネ科植物であるエノコログサ、トウモロコシ、パールミレットとイネの配偶子を任意の個数融合することで、C4イネ科植物の遺伝資源を保持するイネの作出を試みた。イネ卵細胞-エノコログサ精細胞、イネ卵細胞-パールミレット精細胞を融合した組み合わせでは、それら交雑受精卵は増殖・発生し、植物体へと再分化した。現在、ゲノム組成等の解析を進めている。また、イネ受精に対してエノコログサまたはパールミレット卵細胞をさらに融合することで作成した細胞質雑種受精卵の発生能の観察を行ったところ、イネ受精卵-パールミレット卵細胞の組み合わせでは細胞塊で発生停止することがわかり、さらに約50%の確率でイネゲノムが脱落していた。現在、発生不全の原因究明および融合に用いる配偶子の「組み合わせ・数」を改変した異質倍数性受精卵の発生能の確認を行っている。(玉谷)

5-3) イネ栽培種-遠縁・近縁野生種間の交雑体および複二倍交雑体の作出: イネ野生種は、病原菌、高温、塩害などのストレスに対する高い耐性能を持つことから、イネ栽培種への有用遺伝子の導入が重視されている。また、近年、我々は *in vitro* 受精系により作出したイネ受精卵の発生過程において、ゲノム倍加が比較的高頻度で起こることを見いだした。本研究では、イネ栽培種とさまざまな遠縁・近縁野生種の受精卵を作製し、交雑体および複二倍交雑体の作出を試みた。作出されたすべての異種交雑体のフローサイトメトリー解析を行なったところ、すべての交雑組み合わせにおいて8.3%~100% (栽培種-近縁野生種間では平均49.1%, 栽培種-遠縁野生種間では平均49.3%) の割合でゲノム倍加が確認され、またSSRマーカーを用いたPCR解析と推定ゲノム量から複二倍体であることが強く示唆された。今後は、作出された異種交雑体のゲノム解析および形質解析を進める予定である。(小野、*佐藤 (*遺伝研))

5-4) Establishment of IVF system in sugarcane (サトウキビ *in vitro* 受精系の確立): Based on the collaboration with JIRCAS, we intermittently received sugarcane spikes containing mature flowers of different varieties from Ishigaki,

Okinawa. Using the same procedure as reported in rice, egg and sperm cells of sugarcane, *Saccharum* spp., could be isolated from ovaries and anthers, respectively. In addition, the isolation of functional gametes from the flowers was found to be possible in sugarcane spikes after cold storage. Using in vitro fertilization procedure, the isolated gametes were then fused together via electrofusion and the resultant zygotes divided into two-celled embryos within 2-3 days after fertilization in N6Z medium. The embryos developed further into cell masses and subsequently formed several white cell colonies in callus induction (CI) medium, which regenerated into calli with multiple leafy shoots and roots in regeneration (RE) medium. However, multiple subcultures and switching between solid and liquid forms of media were found to be crucial in the regeneration process as the toxic metabolites produced by regenerating calli, highly accumulated in the media, needed to be washed off. Subsequently, the calli could regenerate into plantlets in hormone-free (HF) medium and mature sugarcane plants were obtained after transferred to the soil. In addition to the production of intraspecific sugarcane zygotes, in this study, multiple interspecific and intergeneric hybrids were produced by fusion between gametes from different sugarcane hybrids and related germplasm, i.e. *Miscanthus* and *Erianthus*. Developmental profiles of the hybrids were monitored and the developed calli were amplified in CI and regenerated in RE media. Several interspecific/intergeneric hybrids developed into mature plants under controlled environmental conditions. Quantification of nuclear DNA indicates that genome sizes of the hybrids exhibited approximately 1.5 time larger than those in parental lines, while genome doubling appears to certainly occur in the hybrid with the presence of *Miscanthus* genome as the hybrid showed twice as much the genome size as the parents.

(Rattanawong, *寺島、**ツジラット (*JIRCAS 国際農林水産業研究センター、**コンケン畑作物研究センター))

6) 花成にともなう茎頂メリステムの形態変化解析

花成は植物が栄養成長から生殖成長に転じる過程であり、配偶子形成の第一段階として重要な意義を持つ。先行研究により、花成に際し茎頂メリステムの形態、および遺伝子発現パターンが大きく変動することが知られている。そこで本項目では花成における茎頂メリステムの形態変化に着目し、分子遺伝学的解析を試みる。昨年度は、遺伝学的知見が数多く報告されているシロイヌナズナのマーカー遺伝子の発現を観察するための顕微鏡観察基盤およびソフトウェアを整備した。今年度は、この観察基盤およびソフトウェアを用いて茎頂メリステムにおける植物ホルモンシグナルの動態を解析した。

6-1) 花成における茎頂メリステムのサイズとアイデンティティ転換：栄養成長相から生殖成長相への転換期である花成に際して、茎頂メリステムが増大する現象が幅広い被子植物種知られているものの、これまでに茎頂メリステムのサイズと花成の関係性について明確に示されていない。本項目ではシロイヌナズナの茎頂メリステムが増大する *clv* 変異体を用いて、茎頂メリステムの増大が花成に与える影響を分子遺伝学的に明らかにすることを目的とした。今年度は、前年度までに作出した *clv* 変異体背景のレポーターラインと、アラビノシル化 CLV3 ペプチドを用いた生理学的アッセイの手法を用いて、茎頂メリステムのサイズが花芽形成決定遺伝子の空間的発現パターンに及ぼす影響を検証した。その結果、*clv* 変異体背景では花芽形成決定遺伝子である *LFY* および *API* が早期に発現上昇することが明らかとなった。一方で、アラビノシル化 CLV3 ペプチドを高濃度で含む培地中で生育した場合には、茎頂メリステムのサイズが低下するとともに、花芽形成決定遺伝子 *API* の発現する個体の割合が低下することが見出された。以上の結果より、花成の進行と茎頂メリステムサイズの間には一定の相関があることが示唆された。(渡辺真)

6-2) 成長相転換に伴うメリステムサイズの変化が葉序に及ぼす影響：葉序とは、植物が茎の周りに描く葉の配列様式のことをいい、植物ごとにそれぞれ固有の葉序パターンを持っている。これらの葉序を決定づける要素の1つとして、理論研究からメリステムサイズが知られている。メリステムサイズが大きな個体では、オーキシン輸送による葉原基の位置制御に乱れが生じ、正常な葉序から逸脱する例が報告されている。一方、栄養成長期から生殖成長期への転換に伴い、メリステムサイズが増大するドーミングという形態変化が知られている。そこで、ドーミングによるメリステムサイズ増大が葉序に影響を与える可能性を検証するため、シロイヌナズナの野生型 Col-0 および *Ler* 系統を用いて経時的に葉序を計測した。その結果、いずれの系統においても成長相を通じて葉序の連続性が保持されていることが示された。一方で、発芽直後からメリステムサイズが増大する表現型を示す *clv1*、*clv2* 変異体では、一定の割合で葉序に乱れが生じる個

体が見られた。また、これらの個体の葉序の乱れ方には、成長相の転換との明らかな関連は見られなかった。以上の結果より、ドーミングによるメリステムサイズの増大は葉序には影響がなく、成長相を通じて葉序パターンが頑健に保持されるメカニズムが存在する可能性が示唆された。(吉田)

6-3)シロイヌナズナ茎頂メリステムにおけるオーキシン応答レポーターマーカーの発現パターン解析：植物の茎頂メリステムにおいては、オーキシンやサイトカイニンなどの植物ホルモンが細胞の分裂と分化のバランスを適切に保つことが知られている。これまでの予備的な観察から、花成にともないオーキシンの応答レポーターマーカーである *DR5rev::3xVENUS* の発現パターンが大きく変動する可能性が示唆された。そこで、経時的にサンプリングした *DR5rev::3xVENUS* の茎頂メリステムを共焦点レーザー顕微鏡で観察し、そのレポーター発現パターンを3次元的に定量解析した。定量解析の結果、*DR5rev::3xVENUS* の発現パターンは発生ステージによらず一定であり、花成の影響を受けないことが示唆された。予備的な知見と矛盾する結果が得られたことから、栽培条件やサンプリング条件を検討し再解析を行う予定である。(木下)

7) 新病害の同定及び植物病原微生物のライフサイクルの解析

新病害に関しては、都市緑化植物の病害の一例として、前年に引き続き実態調査とキヅタの新病害と新たにホテイアオイについて研究を行っている。今年度は、調査および野外での採集を行うことができなかったため、調査面での大きな進展は得られなかった。菌のライフサイクルの解析に関しては、完全世代のみしか通常観察されないネギ黒渋病菌 *Mycosphaerella allicina* を用い、不完全世代を形成する条件の検討を開始した。今年度は、人工培地上での子嚢核形成について、ALP 培地 (2000 Furukawa & Kishi) での核形成の確認とクチナシ葉抽出成分の効果について検討した。また、従来の方法では検定できない主観雑種の病原性の検討の系を作成した。(古川)

3. 研究発表

誌上発表

Ichikawa M., Kato K., Toda E., Kashihara M., Ishida Y., Hiei Y., Isobe S., Shirasawa K., Hirakawa H., Okamoto T., Komari T. (2023) Whole-genome sequence analysis of mutations in rice plants regenerated from zygotes, mature embryos, and immature embryos. *Breeding Sci.*, in press.

Maryenti T., Kato N., Ichikawa M., Okamoto T. (2022) In vitro fertilization system using wheat gametes by electric fusion. *Methods Mol. Biol.* 2484: 259-273.

Toda E., Kato N., Higashiyama T., Okamoto T. (2023) Genome editing approaches using reproductive cells/tissues in flowering plants. *Frontiers in Genome Editing* 4: 1085023.

Toda E., Kiba T., Kato N., Okamoto T. (2022) Isolation of gametes and zygotes from *Setaria viridis*. *J. Plant Res.* 135: 627-633.

Zhang Y., Maruyama D., Toda E., Kinoshita A., Okamoto T., Mitsuda N., Takasaki H., Ohme-Takagi M. (2023) Transcriptome analyses uncover reliance of endosperm gene expression on *Arabidopsis* embryonic development. *FEBS Lett.*, in press.

木下温子 (2022) 「イメージングで明らかになる茎頂メリステムにおける生理活性物質の時空間的パターン」、*植物科学最前線* 13:99

木下温子 (2022) 「花成におけるジベレリンの役割」、*植物の生長調節* 57(2):114-122

テティ マリエンティ、石井 孝 佳、岡本 龍史 (2022) 「コムギ-イネ間の生殖的隔離克服によるイネ遺伝資源のコムギへの導入」、*アグリバイオ* 2022 年 7 月号、pp 65-69.

テティ マリエンティ、恩田伸乃佳、樽谷英賢、石井孝佳、岡本龍史 (2023) 「イネコムギとトウモロコシコムギ：三大穀物間における遺伝資源の相互利用」、*バイオインダストリー*、印刷中

学会・セミナー等での発表

Aini H., Sato Y., Uno K., Higashiyama T., Okamoto T. "Dynamics of mitochondrial distribution during development and asymmetric division of rice zygotes" 26th International Conference on Sexual Plant Reproduction (June 2022,

Prague, Czech Republic)

- Maryenti T., Ishii T., Okamoto T. “Development and regeneration of wheat–rice hybrid zygotes produced by in vitro fertilization system” 26th International Conference on Sexual Plant Reproduction (June 2022, Prague, Czech Republic)
- Rattanawong K., Koiso N., Toda E., Kinoshita A., Tanaka M., Tsuji H., Okamoto T. “Redox interplay of ROS-level dynamics and glutathione metabolism upon gamete fusion and subsequent zygotic development in rice” 26th International Conference on Sexual Plant Reproduction (June 2022, Prague, Czech Republic)
- Aini H., Sato Y., Uno K., Higashiyama T., Okamoto T. “Dynamics of mitochondrial distribution during development and asymmetric division of rice zygotes” 12th International Conference for Plant Mitochondrial Biology 2022 (May, Malmö, Sweden)
- 木下 温子、マリエンティ テティ、ハニファ アイニ、岡本 龍史「イネ in vitro 受精卵の発生過程における細胞運命決定機構の解析」日本植物学会第 86 回大会 (9 月、京都)
- 渡辺 真史、岡本 龍史、木下 温子「シロイヌナズナ *clavata* 変異体における花芽分裂組織決定遺伝子の発現パターン解析」日本植物学会第 86 回大会 (9 月、京都)
- Aini H., Rattanawong K., Tanaka M., Tsuji H., Okamoto T. “Dynamics of male mitochondria in rice zygotes and possible retention of male mitochondrial DNA in rice” The 64th Annual meeting of the Japanese Society of Plant Physiologist (March, Sendai)
- Maryenti T., Koshimizu S., Ishii T., Yano K., Okamoto T. “Inter-subfamily hybridization of mitochondrial DNA between wheat and rice in Oryzawheat” The 64rd Annual Meeting of the Japanese Society of Plant Physiologists (March Sendai)
- Rattanawong K., Totsuka K., Koshimizu S., Yano K. and Okamoto T. “Autonomous development and regeneration of rice egg cells in a fertilization-independent manner” The 64th Annual Meeting of the Japanese Society of Plant Physiologists (March, Sendai)
- 渡辺 真史、岡本 龍史、木下 温子「メリステムサイズによる花成制御機構の解析」第 64 回日本植物生理学会年会 (3 月、仙台)
- Rattanawong K., Terajima Y., Sakuanrangsirikul S. and Okamoto T. “Establishment of in vitro fertilization system in sugarcane and the creation of interspecific/intergeneric hybrids between sugarcane and sugarcane-related germplasm” 日本育種学会第 143 回講演会 (3 月、静岡)
- 小野 里佳、戸田 絵梨香、手塚 拓海、縣 歩美、木下 温子、佐藤 豊、岡本 龍史「顕微授精法を用いたイネ栽培種–遠縁・近縁野生種間の交雑体および複二倍交雑体の作出」日本育種学会第 143 回講演会 (3 月、静岡)
- 恩田 伸乃佳、マリエンティ テティ、石井 孝佳、岡本 龍史「顕微授精法を用いたトウモロコシコムギ (Zeawheat) およびパールミレットコムギ (Cenchruswheat) 交雑植物の創生」日本育種学会第 143 回講演会 (3 月、静岡)
- マリエンティ テティ、越水 静、石井 孝佳、矢野 健太郎、岡本 龍史「顕微授精法で作成したイネコムギ (Oryzawheat) のゲノム組成」日本育種学会第 143 回講演会 (3 月、静岡)
- 吉田 夏緑「メリステムのサイズ変化が葉序に及ぼす影響」新学術領域研究「植物の周期と変調」第 3 回若手 WS (10 月、三島)
- 渡辺 真史「シロイヌナズナ *clavata* 変異体における花成関連遺伝子の発現パターン解析」新学術領域研究「植物の周期と変調」第 3 回若手 WS (10 月、三島)
- Aini H. “Partial retention of sperm-derived mitochondrial DNA in rice plant” TMU Bio-conference 2022.
- Maryenti T., Akagi A., Takasaw M. 「The production of oryzawheat hybrids and its investigation of nuclear-cytoplasmic interaction by transcriptomic analyses and environmental stress responses evaluation」東京都立大学バイオカンファレンス 2022
- Rattanawong K., Taki Y., and Akter N. “Investigation of fertilization-independent development of rice egg cells” 東京都立大学バイオカンファレンス 2022

- 小野 里佳、恩田 伸乃佳、玉谷 京介「顕微授精法を用いたイネ科雑種植物創生とその発生:亜科間遺伝資源利用にむけて」東京都立大学バイオカンファレンス 2022
- 古川 聡子「クローナル植物イタドリの生理的統合と病原菌の植物個体内拡散」東京都立大学バイオカンファレンス 2022
- 渡辺 真史、吉田 夏緑「Phyllotaxis development patterns and floral transition in meristem size mutants」東京都立大学バイオカンファレンス 2022

細胞生化学研究室

1. 構成

川原裕之 (教授)、横田直人 (助教)、高橋俊樹 (特任助教)、萩原拓海 (D3)、宮内真帆 (D3)、岩佐康之 (D3)、林 凌也 (D3, 連携大学院)、白井詢 (M2)、中永早映 (M2)、吉田まゆり (M2)、全学哲 (M2)、松若正篤 (M2, 連携大学院)、松村玲奈 (M1)、小野歩美 (M1)、及川沙南 (M1)、新井涼太 (M1)、加藤夏子 (M1)、古賀啓太 (M1)、市村理沙子 (M1)、太田晴香 (B4)、山中祐季 (B4)、勝見麒麟 (B4)、脊戸あすか (B4)、江川優花 (B4)、史京州 (B4)、

2. 研究紹介

当研究室は、「細胞内タンパク質の代謝機構とその生物学的意義」をキーコンセプトに、細胞内でのタンパク質運命決定のメカニズムを探る基礎研究から、医療を含めた様々な応用研究へ新領域を開拓することを目指して、研究に励んでいる。当研究室では、現在、上記コンセプトに合致する3つのテーマ、1) プレエンブティブ品質管理を介した膜タンパク質の選択的分解機構、2) ユビキチン化を介した低分子量Gタンパク質の新しい機能制御、3) RNA結合タンパク質を介した細胞周期の調節機構、を主なターゲットに研究を進めている。加えて、各テーマにおける個々の遺伝子機能を詳細に解析するために、4) CRISPR/Cas9を用いた遺伝子改変を利用した研究、5) BAG6複合体構成タンパク質の発現調節機構の解明も進めている。これらの研究の概要と現状について記載する。

(1) プレエンブティブ品質管理を介した膜タンパク質の選択的分解機構

タンパク質合成に至る遺伝子発現プロセスには、mRNA スプライシングの不良や各種オルガネラへの配送異常など、多岐にわたるリスク要因が存在しています。正常な立体構造の形成に失敗した不良ポリペプチド群は、本来は分子内部にパッキングされるべき疎水性残基がタンパク質の分子表面に露出し、細胞質で凝集しやすい傾向を持ち得ます。これら不良構造をとった新合成タンパク質の多くは、生成した直後にその異常性が認識され、分解系にターゲットされるのですが、不良ポリペプチドの認識・分解がうまくいかないと、その蓄積・凝集体形成から、神経変性疾患や免疫異常など種々の病理的現象が誘導されます。このように、新合成不良タンパク質の認識・分解系は、私たちの体の恒常性維持にきわめて重要ですが、その分子メカニズムにはいまだ不明な点が多く残されています。

細胞質リボソームで新合成された膜タンパク質 (あるいはインスリンなどの分泌タンパク質) は、そのN末端にシグナル配列を持ち、シグナル配列認識粒子 (SRP) とトランスロコンの働きを介して、粗面小胞体内腔へと輸送されます。一方、意外なことに、このプロセスの成功効率は必ずしも高くありません。特にストレス条件下では、シグナル配列の認識不良などが誘起され、シグナル配列をN末端に保持したまま (正常な小胞体内プロセッシングを受けないまま) の不良膜/分泌タンパク質が「細胞質」に蓄積します。これら凝集性の高い不良タンパク質の蓄積を防ぐため、新しい「細胞質性」分解経路の存在が予見され、「プレエンブティブ (pre-emptive: 予防的)」なタンパク質品質管理と命名されました。

私たちは、プレエンブティブ品質管理の中心的な因子として BAG6 を初めて見出しました。BAG6 とそのコファクターUBQLN4は、不良インスリンなどをはじめとする新合成不良タンパク質を認識し、プロテアソーム依存的分解系に導くのです。BAG6は、ヒト第6染色体MHCクラスIII領域にコードされるユビキチン様タンパク質として1990年に記載されていたものの、長らく機能不明の遺伝子産物として注目を集めることはありませんでした。私たちは、2005年にプロテアソームの結合因子としてBAG6を見つけてから実験を続けてき

た結果、BAG6 が不良構造を持つ新合成ポリペプチドを特異的に認識して、これらをプロテアソーム系にリクルートする役割を持つことを世界で初めて見出したのです。

ヒトゲノムにコードされた全ポリペプチドの約 1/3 が、膜タンパク質（あるいは分泌タンパク質）です。健康な我々の細胞でも、膨大な数量の不良ポリペプチドが日常的に産生され、BAG6（プレエンブティブ品質管理）の顧客として処理されていることがわかってきました。一方、このシステムがうまく働かないと、神経変性疾患や知的障害、1型・2型糖尿病、免疫疾患、発癌リスクの上昇など、多くの病態と関係することもわかっています。現在、研究室では、BAG6 を中心としたプレエンブティブ品質管理機構の作動メカニズムと生物学的意義について、研究を進めています。

（2） ユビキチン化を介した低分子量 G タンパク質の新しい機能制御

BAG6 の機能を解している過程で、私たちは低分子量 G タンパク質群が、プレエンブティブ品質管理システムの新しい標的となっていることを見つめました。

Rab ファミリー低分子量 G タンパク質は、メンブレントラフィックを制御する単量体 GTPase です。Rab タンパク質は、GTP 結合型と GDP 結合型をサイクルすることにより、その立体構造や機能、細胞内局在が変化します。低分子量 G タンパク質の活性制御は、ヌクレオチド交換（GTP-GDP 交換サイクル）から説明され、世界中の教科書にもそのように記載されています。一方、出発オルガネラと到着（目的）オルガネラが物理的に隔たる Rab ファミリー G タンパク質の場合、到着地で不活性化（GTP 加水分解）された GDP 型 Rab タンパク質が、その後どのような運命をたどるのかは、ほとんど理解されていませんでした。さらに、GDP 型の蓄積が小胞輸送に重篤な障害を引き起こすことが、かねてより種々の Rab ファミリータンパク質について報告されていました。これらの結果は、細胞質の GDP 型 Rab タンパク質は低い量的水準に抑えられ、GTP 型に平衡が偏っている可能性を示唆しています。

一般に、GTP 型（あるいは野生型）Rab ファミリー G タンパク質は長い半減期を示します。そのため、Rab ファミリー G タンパク質の選択的分解に関連した研究は、これまでほとんど存在しませんでした。ところが、私たちは最近、低分子量 G タンパク質の一つ Rab8a が、GDP 型特異的にプロテアソームによる急速分解を受けることを見つけたのです。重要なことに、GDP 型 Rab8a の分解は、BAG6 を中核としたプレエンブティブ品質管理システムが担っていることが判明しました。BAG6 は、GDP 型 Rab8a タンパク質を認識し、これをポリユビキチン化することで、プロテアソーム依存的分解系に導いています。これらの知見は、低分子量 G タンパク質 Rab8a に、タンパク質分解を介した全く新しい制御システムが存在することを示しています。

低分子量 G タンパク質 Rab8a は、主にゴルジ-エンドソーム間の小胞輸送を制御しています。そこで、これらのオルガネラに局在するタンパク質群をマーカーに、BAG6 がメンブレントラフィックに与える影響を検討したところ、BAG6 ノックダウンによって、Rab8a のクライアントとして知られるオルガネラに重篤な異常が生じることも見つけました。真核生物ゲノムにコードされる 100 種を超える低分子量 G タンパク質は、GTPase ドメインにおいて高いアミノ酸配列の相同性を示します。これらの低分子量 G タンパク質は、その機能異常が多くの疾患と結びつくことが報告されており、私たちは BAG6 の機能不全時に誘導されるオルガネラ恒常性の破綻が、多くの病態と直結する可能性に着目し、これらの実験を進めています。

（3） RNA 結合タンパク質を介した細胞周期の調節機構

mRNA の品質管理は、遺伝子発現の量的・質的制御と密接に関連しています。私たちは、モデル生物線虫を用いて、卵減数分裂の進行を司る新しい RNA 結合タンパク質を同定してきました。それが、CCCH 型 zinc-finger タンパク質 ZFP36 ファミリーです。最近、私たちはヒト細胞に発現する ZFP36 が、細胞増殖の制御、特に G1 期から S 期への進行のプロセスに重要な役割を果たしていることを見出しました。例えば、ZFP36 ファミリー

タンパク質が機能できないと、細胞は DNA 障害チェックポイントの実行に異常を生じます。ZFP36 ファミリータンパク質の量は、細胞周期依存的な変動を示し、G1/S 期で極大を示すのですが、シスプラチン処理などで DNA に障害が生じた条件下では、ZFP36 ファミリータンパク質の発現はさらに増強されます。増大した ZFP36 ファミリータンパク質は、G1 サイクリン mRNA 群の蓄積を抑制し、G1/S 期停止を促します。最近、ZFP36 ファミリータンパク質が、これまで知られていた細胞質だけでなく、核内にも多く蓄積すること、その蓄積は G1/S 期にピークを示すこともわかりました。今後、ZFP36 ファミリータンパク質の新しい核内機能が見つかることを期待しています。

(4) 新しい遺伝子組換え系を用いた細胞現象の解明

上記テーマにおける各課題を解決するためには、個々の遺伝子の機能を明らかにする必要がある。これまでは、siRNA による目的遺伝子のノックダウンを手段の一つとして用い、機能解明を目指してきた。しかし、この手法は、対象の遺伝子の発現を完全に抑えられないこと、異なる標的に対して効果を発揮している可能性が排除しきれないこと等の問題を抱えており、より厳密な解析を求める上で、遺伝子組換えによる遺伝子機能破壊法を行うことが求められていた。昨年度、FLAG タグを UBL4A の N 末端側にノックインすることに成功した。今年度は、BAG6 複合体を形成するタンパク質の発現量をより定量性高く計測するためにナノルシフェラーゼ遺伝子由来の配列を BAG6 並びに TRC35 遺伝子の N 末端側へノックインした細胞株の作出を行った。また、BAG6 をノックダウンさせた細胞は致死になるのに対し、BAG6 をノックダウンした細胞は生存可能である。これは、BAG6 の機能を他のタンパク質や、経路が補償していることを強く示唆する。そこで、BAG6 のノックアウト細胞のタンパク質、mRNA の発現量解析を行い、新しいタンパク質品質管理機構の解明を試みている。

(5) BAG6 複合体タンパク質構成タンパク質の発現調節機構の解明

BAG6 の機能解析をすすめる過程において、BAG6 のノックダウン (KD) が TRC35 の減少を、逆に TRC35 の KD が BAG6 の減少を誘導することを見出した。この現象は、作出した BAG6 ノックアウト細胞でも観察されたことから、複合体の構成因子量が厳密に制御されていることを示唆する。BAG6 の過剰発現は、不良タンパク質分解に影響を与え、TRC35 の過剰発現は BAG6 複合体の細胞内局在をかく乱することからも、BAG6 複合体構成タンパク質のストイキオメトリーの維持は重要であると考え、研究を進めている。

今年度は BAG6 と協働して働く RNF126 に着目して研究を進めた。RNF126 遺伝子の KD ならびに KO を行い解析したところ、BAG6 ノックダウンにより観察される TRC35 分解に影響を与えないことが明らかになった。一方で、過剰発現させた TRC35 は速やかに分解されるが、RNF126 遺伝子のノックダウンはその分解を抑制することが明らかになった。以上の結果から TRC35 の発現量調節は従来提唱されてきた RNF126 以外のユビキチン化酵素により分解を受けている可能性ならびに翻訳調節を介して行われている可能性が考えられた。

(6) ノンストップ変異体分解とプレエンブティブ品質管理機構の関係についての研究

終止コドンの変異は本来翻訳されることがない 3'UTR 領域の翻訳を引き起こす。3'UTR に新たな終止コドンが存在しない場合は NSD (non-stop decay) と呼ばれる mRNA 品質管理機構を介し、不良 mRNA ならびにタンパク質の分解が誘導される。しかし、ある一定の割合で本来の終止コドンの下流に別の終止コドンが生じるため C 末端側に 3'UTR 配列由来のペプチドが付加された形でタンパク質が合成される。いくつかのタンパク質では上述のノンストップ変異体が生じることが知られているが、これらの多くはユビキチンプロテアソーム系によって速やかに分解される。しかし、その分子メカニズムはほとんど明らかにされていない。そ

ここで、本年度は BAG6 複合体を介した分解機構がこれらノンストップ変異体の分解に関与するか否かについて着目し研究を進めた。その結果、SMAD4 のノンストップ変異体の分解に BAG6 や RNF126 を介したプレエンブティブ分解系が関与することが明らかになった。一方、Rab39b ノンストップ変異体では上述の分解系とは異なる分解メカニズムが関与している可能性が示唆された。以上の結果はノンストップ変異体の分解には複数の経路が関与していることを示唆する。

3. 研究発表

欧文原著論文

1. Miyauchi, M., Matsumura, R., and Kawahara, H. (2023) BAG6 supports stress fiber formation by preventing the ubiquitin-mediated degradation of RhoA. *Mol. Biol. Cell.* 34: doi: 10.1091/mbc.E22-08-0355.

口頭発表

1. Hiroyuki Kawahara, Jun Shirai, Sae Nakanaga, Toshiki Takahashi (2022) Pre-emptive quality control machinery supports vesicular trafficking by ubiquitinating GDP-bound Rab-family small GTPases. 23rd TMIMS international Symposium, New Frontiers in Ubiquitin Proteasome System. December 6, 2022, TMIMS Auditorium
2. 川原 裕之, 白井 詢, 中永 早映, 高橋 俊樹 (2022) 「ユビキチン化を介したRabファミリー低分子量Gタンパク質の新しい制御機構」日本生化学会 第95回全国大会シンポジウム「ユビキチン・プロテアソーム研究のニューフロンティア」名古屋国際会議場 2022年11月11日(金)
3. 宮内 真帆, 川原 裕之(2022) 「低分子量Gタンパク質RhoAのユビキチン化を介したストレスファイバー制御の新規メカニズム」日本生化学会 第95回全国大会 名古屋国際会議場 2022年11月11日(金)
4. 白井 詢, 高橋 俊樹, 川原 裕之 (2022) 「低分子量Gタンパク質のユビキチン化を介したエクソソーム分泌の新機構」日本生化学会 第95回全国大会 名古屋国際会議場 2022年11月11日(金)

ポスター発表

5. 白井詢、高橋俊樹、川原裕之(2022) 「細胞内輸送ネットワークの新規制御機構を介したエクソソーム分泌調節メカニズムの解明」 TOBIRA Conference お茶の水ソラシティー 2022年6月10日 (金)
6. 高橋俊樹, 川原裕之(2022) 「GDP型Rabタンパク質分解制御因子の同定とその生理的意義の解明」第95回日本生化学会大会 名古屋国際会議場 2022年11月10日(金)
7. 岩佐康之, 川原裕之 (2022) 「NMD由来不良タンパク質の代謝におけるユビキチン系の役割」第95回日本生化学会大会 名古屋国際会議場 2022年11月10日(金)
8. 中永早映, 高橋俊樹, 川原裕之(2022) 「リソソーム酸性化を制御するv-ATPaseの新規輸送制御機構の解明」第95回日本生化学会大会 名古屋国際会議場 2022年11月10日(金)

9. 全学哲, 川原裕之, 高橋俊樹(2022) 「Rab3サブファミリータンパク質の安定性比較と調節機構の解明」第95回日本生化学会大会 名古屋国際会議場 2022年11月10日(金)
10. 白井詢, 高橋俊樹, 川原裕之(2022) 「低分子量Gタンパク質のユビキチン化を介したエクソソーム分泌の新機構」第95回日本生化学会大会 名古屋国際会議場 2022年11月10日(金)
11. 小野歩美, 白井詢, 川原裕之, 横田直人(2022) 「X連鎖精神遅滞を引き起こすRab39bの新規分解機構の解明」第95回日本生化学会大会 名古屋国際会議場 2022年11月10日(金)

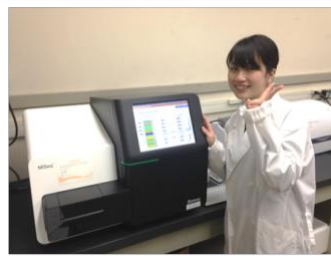
進化遺伝学研究室

1. 構成

田村浩一郎(教授), 高橋 文(准教授), 野澤昌文(准教授), 富田 唯(職員), 福富雄一(学振 PD), 加藤雄大(特任研究員), 小川佳孝(RA), ルレジオール スルタン(D5), シン シカ(D4), アガーワル シータル(D3), 佐藤愛莉(D3), 蔡 宇佳(D3), 藤近敬子(D2), 山本廉太(M2), 熊谷颯之(M2), 小川雅文(M2), 酒井杏花(M2), 田村珠雲(M2), 井上柚香(M2), 小林ちひろ(M2), 上岡瑠奈(M2), 陳 胤佳(M2), ペルティウィ ラハユ(M2), 井手 翼(M1), 佐藤伶圭(M1), 植田泰地(M1), 村井 陸(卒研究生), 内田友夏(卒研究生), 唐木書子(卒研究生), 佐々木優基(卒研究生), 辻 愛莉紗(卒研究生), 萩野里奈(卒研究生), 松川 楓(卒研究生)

2. 研究紹介

本研究室では, 適応進化, 種分化, 染色体進化の遺伝機構の解明を目指し, ショウジョウバエを材料として次世代DNAシーケンサーを活用したゲノムレベルの研究を行っている。また, それらの基盤となる分子進化・分子系統解析のための理論的研究や解析ソフトウェアの開発も行っている。教員の田村, 高橋, 野澤は生命情報研究センターにも所属している。



次世代 DNA シーケンサー



高性能コンピューター

1) アカショウジョウバエ低温耐性の遺伝機構と温帯への適応進化のメカニズム

熱帯から温帯に分布を急速に広げたアカショウジョウバエは, 低温耐性が向上している。低温環境への適応進化のメカニズムを明らかにするため, 実験進化学的手法に加え, 集団ゲノム, トランスクリプトーム, 表現型など多面的な解析を行っている。

i) ケージ集団を用いた人為選択性実験による低温耐性向上の分子機構

日本に生息するアカショウジョウバエは, 台湾由来であることが分かっている。そこで, 台湾で採集した 250 系統からケージ集団を構築し, 低温による人為選択を行うことで, 台湾から日本への移住に伴う低温耐性向上の再現実験を行っている。これまでに (1)pool-Seq によって得られた 0, 11, 21, 31, 41, 51 世代目の集団のゲノム配列から, F_{ST} や主成分分析を用いて集団間の関係を調べている。今年度は, 低温による人為選択を続けた 5 集団に共通して起きているゲノムの変化と, 関連している遺伝子の



ケージ集団を用いた進化実験

探索を行った結果, 第 2 染色体右腕に頻度が大きく変化した領域があり, その中に脂肪酸伸長酵素遺伝子 *FASN3* が含まれることを見いだした。(小川佳, 田村浩) (2)人為選択の効果は, 低温順化の効果を上回るのか, 低温順化とは関係ない生得的な低温耐性を向上させるのかを明らかにするため, 新たに低温順化させずに低温による人為選択を継代的に行う進化実験を開始した。(辻, 田村浩) (3)低温による人為選択は, 成虫のみならず成虫体内の生殖細胞にも作用する可能性がある。そこで, 人為選択集団と対照実験集団について, 親個体の低温処理後 2~4 日間の産卵数, 孵化率, 孵化後の幼虫が成虫に育つ成熟率を調べた。その結果, 対照実験集団では, 低温処理によって次世代の出生個体数は減少するが, 人為選択によってその程度が軽減されたことが分かった。また, 産卵数と孵化率については順化によって低温処理の影響が緩和されたが, 成熟率では緩和の効果は見られず, 親の低温順化の効果は次世代の卵の孵化まで及ぶが, 幼虫以降の発生過程には及ばないことが分かった。(田村珠, 田村浩) (4)低温耐性の向上は, 代謝率の上昇による場合があることが分かっている。そこで, 人為選択による低温耐性向上

のメカニズムを明らかにするため、人為選択集団から確立された複数の系統について、低温耐性およびその代謝との関連を調べた。その結果、低温耐性による人為選択の効果は、低温順化による低温耐性向上とそれ以外の要因による低温耐性の両方に及んだこと、人為選択や低温順化によって低温耐性は一定の水準に向上するが、代謝率には影響は見られず、低温耐性と代謝率の関係は見いだせなかった。(井手, 田村^珠, 田村^浩)

ii) 低温順化による低温耐性向上の分子機構解明のための遺伝子発現調節機構

これまでの研究により、熱帯から温帯に移住したアカショウジョウバエは、低温順化によって低温耐性が大きく向上することが分かっている。低温適応の遺伝基盤を明らかにするため、低温順化によるトランスクリプトームの変化、またその系統間変異を RNA-Seq によって解析している。その結果、(1)低温順化によって生じるトランスクリプトームの変化の多様性は高いが、今年度はデータを精査した結果、系統間で共通して変化する遺伝子を見いだすことができた。(シン, 田村^浩) (2)温帯のショウジョウバエ種において、選択的スプライシングによる mRNA のアイソフォームに温度依存的な差異が知られている概日リズム遺伝子 *timeless (tim)* について、熱帯から温帯に移住したアカショウジョウバエで低温順化に伴ってどのような変化が生じるかデジタル PCR を用いて調べている。本年度は日長が低温順化に及ぼす影響を調べ、低温によらず短日条件によっても低温順化することが分かった。(アガーワル, 田村^浩) (3)低温ストレスによるエピジェネティック効果を検証するため、低温順化の効果が大きく異なる 2 系統について低温ストレスによるトランスクリプトーム変化の比較解析を行った。その結果、世代を超えるエピジェネティック効果は見いだせなかったが、遺伝子発現の変化が低温順化や低温ストレス応答に関与していること、またそれらが成虫の日齢や系統間で異なることが分かった。(小林, シン, 田村^浩) (4)ケージ集団を用いた人為選択実験によってアレル頻度が大きく変化した脂肪酸伸長酵素遺伝子 *FASN3* について低温順化による発現変動をデジタル PCR を用いて調べた結果、低温順化による低温耐性向上と *FASN3* の発現変動の間に相関が見いだされた。(松川, アガーワル, 田村^浩)

iii) アカショウジョウバエ野外集団に関する集団遺伝学的解析

アカショウジョウバエは、低温耐性の向上によって台湾から日本に移住した。そこで台湾と日本の自然集団のゲノムを比較し、日本への移住に伴う低温適応のメカニズムの解明を試みている。(1)西日本で 1991 年, 2011 年, 2020 年に採集された集団に台湾で 2016 年に採集された集団を加え、pool-seq によって集団の全ゲノム配列を決定した。そして、それら集団間の系統関係を調べ、日本集団の遺伝的構成は移住が始まった 1980 年代後半からどのように変化してきたのかを明らかにした。その結果、2016 年の台湾集団に遺伝的に最も近い日本集団は 1991 年のもので、2011 年, 2020 年の集団がそれに続いた。この結果から、台湾から日本へのアカショウジョウバエの移住は 1980 年代後半に限られ、その後、日本集団は独自の進化を遂げたこと、その要因となった遺伝子は、ゲノム変異の主成分分析によって農薬に対する耐性に関わることが示唆された。(上岡, 小川^佳, 田村^浩) (2)日本と台湾で採集したそれぞれ 50 系統のゲノム DNA 塩基配列を決定し、両集団の遺伝的構成および連鎖不平衡を調べている。今年度は SnpEFF を用いて一塩基多型 (SNP) のゲノム内分布の特徴を調べたところ、ハプロタイプテストの外れ値のほとんどは遺伝子間領域に由来することが示唆された。また、SNPkit ツールにより LD 崩壊が示され、日本集団のゲノムは台湾集団より高い連鎖不平衡にあることが示唆され、日本集団にボトルネックまたは自然選択の兆候が示唆された。(ルレジオール, 小川^佳, 田村^浩) (3)日本集団の 10 系統, 台湾集団の 10 について低温耐性を測定した結果、両集団においても低温耐性にかかなりの系統差があることが分かったが、両集団間では平均して差はほとんど見られず、台湾においてすでに低温に適応していた可能性が示唆された。(村井, 井手, 田村^浩)

2) アカショウジョウバエのネオ Y 染色体における遺伝的多様性獲得の進化機構

アカショウジョウバエは、姉妹種のテングショウジョウバエでは常染色体として存在する第 3 染色体が性染色体と融合してできたネオ X・ネオ Y 染色体を持つ。ショウジョウバエでは雄で減数分裂組換えが起こらないことから、ネオ Y 染色体には組換えによる遺伝的多様性獲得の機会がなく、遺伝的多様性はネオ X 染色体より低いと期待される。しかし、実際はネオ Y 染色体にはネオ X 染色体と同等の遺伝的多様性があることが分かっている。そこで、(1)Nanopore シーケンサーを用いたネオ X・ネオ Y 染色体の比較ゲノム解析を行い、ネオ X・ネオ Y 染色体間の組換えを検証した。その

結果、進化過程ではネオX・ネオY染色体間に数多くの組換えが起こったことが示唆された。(井上, 小川^佳, 田村^浩) (2)そこで、雄では組換えが起こらないアカショウジョウバエでネオX・ネオY染色体間の組換えが起こった遺伝機構を明らかにするため、アカショウジョウバエとテングショウジョウバエの F₁ 雑種を作製し、アカショウジョウバエで戻し交配した BC₁ での減数分裂組換えを調べた。BC₁ では性染色体不分離によってネオY染色体を持つ雌個体(ネオX・ネオY・X)が多数生じ、そこでネオX・ネオY染色体間の組換えが起こることが分かった。進化過程でネオX・ネオY染色体が生じて集団中に固定するまでの間、性染色体不分離雌が生じ、そこでネオY染色体が組換えによって遺伝的多様性を獲得したことが示唆された。(植田, 田村^浩) (3)現在、ネオX染色体とその起源となった融合前の常染色体とX染色体のヘテロ個体での性染色体不分離の遺伝機構を調べるため、FISH 法を用いてX染色体とネオX染色体の偽常染色体領域の存在を検証している。(萩野,¹ 初見, 田村^浩:¹ 客員研究員)

3) 分子進化解析に関する理論的研究およびバイオインフォマティクス

分子進化解析において、表現型と遺伝型の関連性を見つけるため、非中立変異を検出することは重要な課題である。分散共分散行列を分子系統樹の代わりに用いることによって、系統推定に依存しない進化確率法を開発している。本年度は、遺伝病に関わる変異のデータセットを用い、コード領域周辺の領域の病原変異予想能力を検証したところ、主流な方法ではほぼ検出できない有害な変異を見つけることに成功した。また、同義突然変異解析のためコンベースの方法を導入した。さらに、変異率の座位間差異を考慮する改良を行った。(蔡, 田村^浩)

分子進化・分子系統解析のためのソフトウェア(MEGA)の開発を行っている。本年度は、高速計算法の開発による大規模配列データへの対応を進め、MEGA12 公開の準備を進めた。(田村^浩,² Kumar:² テンプル大学)

4) オウトウショウジョウバエ(*Drosophila suzukii*)とその近縁種における産卵基質選択機構の進化

D. suzukii は他のショウジョウバエが利用しない、落下前の若い果実に産卵する。他個体利用の痕跡に含まれる微生物の影響を分析したこれまでの研究により、利用後の基質に付着した微生物が *D. melanogaster* および *D. suzukii* の近縁種である *D. biarmipes* の産卵を促進するのに対し、*D. suzukii* の産卵を抑制することが明らかとなっていた。これらの選好性の進化機構を詳細に明らかにするため、今年度は *D. suzukii* に最も近縁な *D. subpulchrella* を加えた4種の複数系統において、ショウジョウバエの共生細菌として知られる酢酸菌 *Acetobacter* と *Gluconobacter* 単一種に対する産卵選好性を調査した。その結果、*Acetobacter* に対する選好性の差が *Gluconobacter* よりも種間で大きく、*D. subpulchrella* と *D. suzukii* において選好性は段階的に変化したことが示唆された。同様に摂食場所として *Acetobacter* に対する選好性を調査した結果、系統間で種間差が見られなかったことから、産卵時における酢酸菌に対する選好性は独立して進化してきたことが示唆された。また、産卵時の選好性に関与する遺伝基盤を探索するため、*D. suzukii* と *D. subpulchrella* の産卵管をサンプルとしたトランスクリプトーム解析の結果から、機械刺激受容に着目して *ppk22* を候補遺伝子とした。今年度は機能解析のための系統作成を試み、*D. suzukii* と *D. subpulchrella* の *ppk22* の機能欠損系統と、発現箇所を可視化する *D. subpulchrella* のレポーター系統の作成に成功した。(佐藤^愛, 山本, 高橋^文,³ Yew:³ ハワイ大学)



5) *Drosophila suzukii* と *D. subpulchrella* における雄生殖器形態の違いの背景にある遺伝的基盤の解明

D. suzukii は他の多くのショウジョウバエと異なり新鮮で硬い果実に産卵するためメスの産卵管が長く伸長している。この産卵管は交尾の際にも用いられるためオスの生殖器も産卵管に合わせた形状になっており、近縁種との形状の違いが機械的隔離に寄与している可能性がある。*D. suzukii* とその近縁種 *D. subpulchrella* の間で得られた戻し交雑個体 182 個体について雄生殖器の複数の形態形質の測定を行いそれらの QTL 解析を行った。

QTL 解析と雄生殖器を含む腹部先端を用いた RNA-seq の結果から *surstylus* の形態の種間差に関わる候補遺伝子を 31 遺伝子特定した。このうち 13 個の遺伝子に対して *D. melanogaster* の GAL4-UAS システムを用いた RNAi

ノックダウンを行い *surstylus* の形態に異常が見られるかスクリーニングを行った。GAL4ドライバーは、先行研究により成虫原基での発現誘導が確認されている *NP6333-Gal4* 系統、及び熱ショックにより誘導される *hsp-GAL4* 系統を使用した。結果、今回のスクリーニングでは *surstylus* の形態に大きな異常がみられる系統は確認されなかった。

pregonite はフック状の形をしており、メスの産卵管の背側にあるクチクラのポケット状構造に引っかかることで、交尾安定化の役割を果たしていると考えられている。先行研究において、*D. subpulchrella* では *pregonite* が機能していることに対し、*D. suzukii* では機能していないことが示唆された。この2種における *pregonite* の形態差の遺伝的背景を明らかにするため、2種の *pregonite* に形態的差が観察される蛹期の発生段階の前後である APF 48 h と APF 62 h における腹部先端組織を用いた RNA-seq と QTL 解析の結果から候補遺伝子を絞り込んだ2種間の *pregonite* の形態的差に関与する候補遺伝子は計 414 個選出され、候補遺伝子に対して *in situ* ハイブリダイゼーション法を用いた発現部位の確認を行うことでさらなる候補遺伝子の絞り込みを試みた。(熊谷, 酒井, 田中,⁴ 上村, 高橋文:⁴ 慶應義塾大学)

6) *Drosophila suzukii* 雄の前脚特異的な形態進化メカニズムの解明

D. suzukii と近縁種である *D. subpulchrella* は、交尾器形態の不適合により機械的な生殖的隔離が引き起こされていることが示唆されている。この2種は交尾器接合開始時に雄が雌の腹部を把持する行動が見られるが、この雄が把持してから交尾器が接合するまでの時間は *D. suzukii* の方が *D. subpulchrella* よりも長い。また *D. suzukii* と *D. subpulchrella* において、交尾開始時に雄が雌を掴む際に使用する前脚の長さを測定したところ、*D. suzukii* の雄の方がより長い前脚を持っていることが分かった。雄前脚の長さの種間差に関わる遺伝子を探索するため、この2種の戻し交雑個体をもちいた QTL 解析を行い、X 染色体上の約 1.5 Mb を候補遺伝子が含まれている可能性のある領域として特定した。この領域中の遺伝子のうち、脚の正常な発生に関わることが知られている *Lim1* について抗体染色による発現解析を行ったが、種間で *Lim1* の発現に明確な違いを見出すことはできなかった。(山本, 高橋文,⁵ 小嶋:⁵ 東京大学)

7) The evolution of wing pigmentation pattern in *Drosophila suzukii* and its closely related species

We investigate the evolutionary process of the wing pigmentation pattern diversification in *D. suzukii* and its closely related species. We quantified the wing spot position and size along the longitudinal vein 1 (L1) and 2 (L2) within 20°C and 25°C. The spot of *D. subpulchrella* is located closer to the proximal end of the wing and larger compared to the spots of the other two species. To identify the genomic regions involved in the wing spot size differences between *D. suzukii* and *D. subpulchrella*, we performed QTL analysis using these two backcross individuals and found about 0 Mb and ~2.5 Mb on the X chromosome as a region that may contain the candidate gene. These regions consisted of strong candidate genes *yellow (y)*, *silver (svr)*, *optomotor-blind (omb)* and *tan (t)*. I visually inspected the *yellow* knockout mutant strains of both species and found that the differences in the wing spot phenotype between the two species are not likely to be due to the *yellow* gene (Pertiwi, 田中, 山本, 高橋文).

8) *Drosophila triauraria* の生殖休眠における誘導の強さの違いと時計遺伝子の関連解析

D. triauraria は先行研究において、北海道由来 (ONMA20-3) の系統は越冬のため温度や日長変化の感知によって卵巣の発達を抑制する生殖休眠を誘導するが、熊本由来の系統 (OEB12) では生殖休眠を誘導しないことが示されている。系統間に違いをもたらす遺伝的背景として時計遺伝子の SNPs も関連している可能性が考えられているが、検証されていない。生殖休眠における系統間の違いと時計遺伝子の関連について明らかにするため、ONMA20-3 と OEB12 の羽化直後の未交尾雌を 12 度または 15 度で、短日条件 (8L16D) または長日条件 (16L8D) におき、生殖休眠の誘導率を観察することで本実験研究下における生殖休眠条件を確立した。次に 12 度で、短日条件 (8L16D) または長日条件 (16L8D) の環境条件にそれぞれ羽化直後から 7 日間おいた個体を 4 時間おきに回収し、頭部を用いて qPCR を行い、6 個の時計遺伝子の振動パターンが得られた。加えて、先行研究や系統間に振動パターンの違いがあった時計遺伝子 *timeless* に関して *D. triauraria* におけるアイソフォームの配列の特定を行った。

1つのアイソフォームに関して系統間で3'UTRの長さが大きく異なることが明らかになった。さらに上述の時計遺伝子の振動パターンを観察した条件と同様の条件で、アイソフォーム毎に1日の振動パターンをそれぞれ観察した結果、複数のアイソフォームで振動パターンに系統間の違いが観察された。これらを踏まえ、両系統の *timeless* をCRISPR-Cas9システムを用いてノックアウトすることを考え、gRNAベクターおよび蛍光マーカーをノックインするベクターも得られた。(藤近, 高橋⁵⁾)

9) ショウジョウバエを用いた性および性染色体の進化に関する研究

我々は性染色体の一生を分子レベルで詳細に追跡することで、生物進化や多様性の一端を解明することを目指している。そのために、ユニークな性染色体を持つ多様なショウジョウバエを用いて研究を進めている。

i) ネオ X 染色体における即時遺伝子量補償の検証

遺伝子量補償とは X 染色体の数が雌雄で異なることによる遺伝子発現量の不均衡を解消するメカニズムである。ショウジョウバエではオスの X 染色体上の遺伝子発現が 2 倍になる。誕生直後の XY 染色体は相同遺伝子を多く保持するが、進化過程で Y 染色体は多くの遺伝子を消失する。Y 染色体の遺伝子消失と X 染色体の遺伝子量補償の関係性を調べるために、多くの機能遺伝子を持つミランダショウジョウバエ (*D. miranda*) のネオ Y 染色体(常染色体と性染色体が融合して生じた新しい性染色体)上の遺伝子を重イオンビームで破壊し、ネオ X 染色体の相同遺伝子の発現量が上昇するかを検証した。その結果、ネオ Y 染色体上のシングルコピー遺伝子には欠失が有意に入りにくいことが分かった。この結果は、ネオ X 染色体上の遺伝子に即時遺伝子量補償は作用せず、ネオ Y 染色体のシングルコピー遺伝子を消失した個体に有害であった可能性を示唆する。(小川^雅,⁶ 常泉,⁶ 阿部, 野澤:⁶ 理研仁科センター)

ii) 性染色体から常染色体への転換時における遺伝子量補償

性染色体は進化過程で常染色体に戻ることもある。X 染色体が常染色体に転換すると、オスも元 X 染色体を 2 本持つ。このとき遺伝子量補償が作用したままだとオスで遺伝子の過剰発現が起こる恐れがあるため、X 染色体の常染色体への転換には元 X 染色体の遺伝子発現低下が必要であると予想した。そこで、ネオ X 染色体を持つ *D. miranda* とその近縁種でネオ X 染色体に相同な常染色体を持つウスグロショウジョウバエ (*D. pseudoobscura*) の雑種を作出し、ネオ Y 染色体を近縁種の常染色体で置き換えることでネオ X 染色体を 2 本持つオスを模倣した。その結果、雑種では不和合によると思われる異常な遺伝子発現パターンが観察されたが、遺伝子クラスタリングによって不和合の影響を受けづらい遺伝子群を抽出したところ、ネオ X 染色体の遺伝子発現量は有意に低下していた。(小川^雅, 野澤)

現在、雑種不和合の影響をより完全に排除して X 染色体の常染色体転換を模倣するため、CRISPR-Cas9 法を用いて X 染色体を 2 本持つオスの作成を試みている。(小川^雅, 佐藤^信, 野澤)

iii) ネオ性染色体におけるヒストン修飾の進化

性染色体誕生後、Y 染色体には転写抑制型のヒストン修飾が蓄積することが知られている。そこで、Y 染色体の初期進化において抑制修飾が蓄積する要因を明らかにするため、*D. miranda* およびアカショウジョウバエ (*D. albomicans*) のネオ性染色体と、これら 2 種それぞれの近縁種、*D. pseudoobscura* とテングショウジョウバエ (*D. nasuta*)、における相同常染色体の遺伝子機能、転移因子の量、ヒストン修飾の程度を比較した。その結果、転移因子が挿入していないネオ Y 染色体上の機能遺伝子と非機能遺伝子の間で、抑制型修飾の程度に有意差はみられなかったが、転移因子が挿入している機能遺伝子は転移因子が挿入していない機能遺伝子に比べて抑制型修飾が上昇していた。したがって、Y 染色体への抑制型ヒストン修飾の蓄積は転移因子の挿入に起因する可能性が高いと考えられる。(陳, 野澤)

iv) ヒゲジロショウジョウバエにおける Y 染色体消失過程の解明

Y 染色体は多くの種において退化しているが、オス化や生殖に関わる重要な遺伝子が存在するため通常は消失しない。しかし、当研究室ではヒゲジロショウジョウバエ (*D. lacteicornis*) が Y 染色体を持つオスと持たないオスの多型状態にあることを発見した。そこで、Y 染色体を持つ系統と持たない系統を比較することで Y 染色体を消失し得た遺

伝的背景および進化過程の解明を目指している。これまでに Y 有オスおよび Y 無オスのゲノム配列を決定し、Y 染色体の配列約 1 Mbp を同定した。また、トランスクリプトーム配列の決定と発現量解析を行い、この約 1 Mbp の配列上に 7 個の発現遺伝子を同定した。これらの相同遺伝子は *D. melanogaster* では常染色体に存在していた一方で、*D. melanogaster* の Y 染色体上の遺伝子は *D. lacteicornis* において第 3 染色体右腕に存在していた。これらの結果は、*D. lacteicornis* と *D. melanogaster* の Y 染色体が相同ではなく、*D. lacteicornis* が一度 Y 染色体を消失したのちに起源の異なる Y 染色体を再獲得した可能性を示唆する。(佐藤⁶, 小川⁷, 小川⁸, 初見⁹, 野澤¹⁰)



Y 染色体を持つオス



Y 染色体を持たないオス

D. lacteicornis のオスの核型多型

また、本種が分布する西表島と石垣島での広範な採集を行い、合計約 190 系統の単一メス系統を確立した。今後これら系統の網羅的な核型観察を行い、Y 染色体の有無の地理的分布を明らかにする計画である。(加藤⁷, 和多田⁷, 野澤⁷ 客員研究員)

v) ノハラカオジロショウジョウバエを用いた Y 染色体の毒性の検証

Y 染色体では蓄積した転移因子が加齢とともに発現し、個体に悪影響を及ぼす『Y 染色体の毒性仮説』が提唱されている。しかし、毒性を直接検証した研究は行われていない。そこで、Y 染色体の有無が多型状態にあるノハラカオジロショウジョウバエ (*D. triauraria*) において当研究室が発見した Y 染色体を持つ系統と持たない系統を比較し、Y 染色体の毒性を分子および表現型レベルで検証することを目指している。今年度は 2 系統のオスゲノム配列を決定し、Y 染色体配列約 1 Mbp を同定し、転移因子のアノテーションを行った。また、幼虫、蛹、成虫、精巣、卵巣を用いて実施した RNA-seq の結果からトランスクリプトーム解析を進めている。さらに、転移因子の発現量推定のために rRNA 除去法の 1 つである Ribo-pop 法の条件検討を行った。現在、Y 染色体以外の遺伝的背景を均一にした系統の作成を進めている。(内田¹¹, 野澤¹²)

vi) アサヒナショウジョウバエにおける B 染色体の機能および性染色体との関連

通常の染色体が安定的に次の世代へと受け継がれていく一方、メンデルの遺伝の法則に従わない B 染色体とよばれる不安定な染色体も存在する。B 染色体は真核生物の約 10% に存在し、アサヒナショウジョウバエ (*D. asahinai*) もその一種である。B 染色体は性決定に関わるとする報告や、ショウジョウバエの Y 染色体は B 染色体に由来するという報告もある。そこで本研究では、*D. asahinai* の B 染色体に機能はあるのか、B 染色体と Y 染色体の間に進化的関連はあるのかを明らかにすべく研究を進めている。本年度は B 染色体を持つ系統と持たない系統のゲノム配列を決定・比較し、B 染色体配列約 950 kbp を同定した。また、幼虫、蛹、成虫、精巣、卵巣を用いて RNA-seq を行い、トランスクリプトームを決定した。その結果、B 染色体上に 25 個の発現遺伝子を同定した。なかには雄特異的な発現を示す遺伝子もみつけた。(唐木¹³, 野澤¹⁴)

vii) *Drosophila obscura* における性比異常現象の解明

雌雄の比が一方の性に偏る現象を性比異常とよぶ。近年、当研究室では *D. obscura* においてメスに偏った性比異常(オス:メス=約 1:4)を発見した。そこで、本研究ではこの性比異常現象の原因因子(distorter)の同定を目指している。性比異常を示す系統(SR 系統)と示さない系統(通常系統)の間で交配実験を行ったところ、SR 系統由来の X 染色体をもつオスが親となったときのみ、次世代で性比異常が起こることが分かった。したがって、distorter は X 染色体上に存在すると考えられる。また、SR 系統のメスと通常系統のオスの交配で得られた F₁ オスを戻し交配した結果、性比異常がより顕著となった(オス:メス=約 1:430)。この結果は、SR 系統に存在する性比異常の(部分的)抑制因子が通常系統には存在しないため、F₁ オスでは distorter の影響がより強く表れたと解釈できる。現在、SR 系統に特異的なゲノム領域の探索や、RNA-seq による系統間の発現変動遺伝子の検出などを行っている。(加藤¹⁵, 陳¹⁶, 野澤¹⁷)

viii) ヤンバルアサヒナショウジョウバエが雑種起源である可能性の検証

異なる 2 種が交雑することによって新たな種が生じることを雑種種分化とよぶ。ヤンバルアサヒナショウジョウバエ (*D.*

neoasahinai)も表現型や分布域から近縁種 *D. lacteicornis* と *D. asahinai* の雑種である可能性が提唱されている。そこで本研究では、遺伝的観点から本種が雑種起源であるかを検証した。3 種計 25 系統および外群種 2 種 5 系統のゲノム配列を決定して系統解析と主成分分析を行った結果、本種が雑種起源であることを示す証拠は得られなかった。しかし、染色体 100 kbp ごとにウィンドウ解析を行ったところ、第 3 染色体左腕の一部の領域に、種分化後に *D. asahinai* との遺伝子交流を行っていた痕跡が見つかった。(佐々木,⁷和多田,野澤)

10) ミズタマシヨウジョウバエを用いた模様形成メカニズムの解析

動物の模様は、形態進化の研究や発生におけるパターン形成メカニズムの研究のモデルとして用いられている。本研究では、ミズタマシヨウジョウバエ (*Drosophila guttifera*) の翅のユニークな水玉模様を用い、どのように新奇なパターンの模様が出現したのか、どのように模様のできる範囲が決まる (パターン形成がなされる) のかについて迫ろうとしている。前者の問いについては、自身の先行研究から挙げられた模様形成候補遺伝子の機能解析を行うためのトランスジェニック系統作成を行った。また、後者の問いについては、温度と模様形成範囲の関係性を調べた上で、温度変化によって模様形成範囲が可塑性を示すと明らかにした。(福富)

3. 研究発表

誌上発表

Sato, A., Yew, J. Y., Takahashi, A. Effect of acetic acid bacteria colonization on oviposition and feeding site choice in *Drosophila suzukii* and its related species. *bioRxiv*.

Fukutomi Y, Takahashi A, Koshikawa S (2023) Thermal plasticity of wing spot size in *Drosophila guttifera*: investigating the relevance to Wingless morphogen. *bioRxiv*.

Iizuka T, Nozawa M, Ikee K (2023) Direct link between convergent evolution at sequence level and phenotypic level of septal pore cap in Agaricomycotina. *bioRxiv*

Tanaka KM[†], Takahashi K[†], Rice G, Rebeiz M, Kamimura Y, Takahashi A (2022) Trichomes on female reproductive tract: rapid diversification and underlying gene regulatory network in *Drosophila suzukii* and its related species. *BMC Ecol. Evol.* 22:93. ([†]Equal contribution)

Gao J-J, Barmina O, Thompson A, Kim BY, Suvorov A, Tanaka K, Watabe H, Toda MJ, Chen J-M, Katoh TK, Kopp A (2022) Secondary reversion to sexual monomorphism associated with tissue-specific loss of *doublesex* expression. *Evolution* 76: 2089-2104.

Kageyama D, Harumoto T, Nagamine K, Fujiwara A, Sugimoto TN, Jouraku A, Tamura M, Katoh TK, Watada M (2023) A male-killing gene encoded by a symbiotic virus of *Drosophila*. *Nat. Commun.* 14: 1357.

野澤昌文 (2022) 性染色体進化の新モデル *実験医学* 40:1417-1418.

口頭・ポスター発表

Fukutomi Y, Sato A, Pertiwi R, Takahashi A, Shigenobu S, Koshikawa S (2023) Transcriptome analysis in *Drosophila guttifera* reveals candidate genes involved in the specification of a novel color pattern by the Wingless morphogen. 64th Annual *Drosophila* Research Conference (Chicago)

Fukutomi Y, Delaney EK, Watada M, Kopp A (2023) Abdominal pigmentation in the *Drosophila montium* species subgroup as a model for investigating the molecular basis of sex-limited polymorphisms and the evolution of dominance. 64th Annual *Drosophila* Research Conference (Chicago)

Tamura K (2022) Dating the origin and evolutionary history of pathogenic viruses from massive sequences. 24th Annual SESJ Meeting (Shizuoka)

Lulecioglu S, Ogawa Y, Tamura K (2022) Genomic divergence of *Drosophila albomicans* in Japan via migration from Taiwan. 24th Annual SESJ Meeting (Shizuoka)

- Singh S, Kimura T, Nozawa M, Tamura K (2022) Evolution of gene expression for cold acclimation in *Drosophila albomicans*. 24th Annual SESJ Meeting (Shizuoka)
- Cai Y, Tamura K (2022) EPuCov: a phylogeny-free evolutionary probability method for testing neutrality at amino acid and nucleotide sites. 24th Annual SESJ Meeting (Shizuoka)
- Pertiwi R, Tanaka KM, Takahashi A (2022) Genetic basis of the wing spot position differences between *Drosophila suzukii* and *Drosophila subpulchrella*. JDRC 15 (Nagoya)
- 近藤朋希, 小川佳孝, 田村珠雲, 井手翼, 田村浩一郎 (2022) アカショウジョウバエにおける低温適応進化の実験進化学的解析 日本進化学会第 24 回大会 (静岡)
- 上岡瑠奈, 小川佳孝, 田村浩一郎 (2022) アカショウジョウバエ自然集団の低温耐性獲得に伴うゲノムの経年変化 日本進化学会第 24 回大会 (静岡)
- 田村珠雲, 井手翼, 田村浩一郎 (2022) アカショウジョウバエにおける生殖細胞とその発生に対する低温の効果 日本進化学会第 24 回大会 (静岡)
- 井手翼, 田村珠雲, 田村浩一郎 (2022) 人為選択系統を用いたアカショウジョウバエの低温耐性と代謝の関連解析 日本進化学会第 24 回大会 (静岡)
- 近藤朋希, 小川佳孝, 田村珠雲, 井手翼, 田村浩一郎 (2022) アカショウジョウバエ低温適応の実験進化学的解析 日本遺伝学会第 94 回大会 (北海道)
- 上岡瑠奈[1], 小川佳孝[1], 田村浩一郎 (2022) アカショウジョウバエ自然集団の低温耐性獲得に伴うゲノムの経年変化 日本遺伝学会第 94 回大会 (北海道)
- 小林ちひろ, 田村浩一郎 (2022) アカショウジョウバエの低温耐性獲得におけるエピジェネティック効果の検証 日本遺伝学会第 94 回大会 (北海道)
- 田村珠雲, 井手翼, 田村浩一郎 (2022) アカショウジョウバエにおける低温選択の世代間効果 日本遺伝学会第 94 回大会 (北海道)
- 井手翼, 田村珠雲, 田村浩一郎 (2022) アカショウジョウバエの人為選択集団における低温耐性と代謝の関連 日本遺伝学会第 94 回大会 (北海道)
- 植田泰地, 小川佳孝, 田村浩一郎 (2022) 性染色体不分離によるアカショウジョウバエのネオ Y 染色体の遺伝的多様性獲得の検証 日本遺伝学会第 94 回大会 (北海道)
- 藤近敬子, 高橋文 (2022) ショウジョウバエの生殖休眠の地域系統差に時計遺伝子は関与しているのか? 日本進化学会第 24 回大会 (静岡)
- 山本廉太, 高橋文 (2022) オウトウショウジョウバエとその近縁種間の異なる交尾姿勢に関わる雄の前脚形態進化の遺伝基盤の解明 日本進化学会第 24 回大会 (静岡)
- 酒井杏花, 田中健太郎, 藤近敬子, 高橋文 (2022) オウトウショウジョウバエにおける雄交尾器 *pregonite* の形態進化の背景にある遺伝機構の変化を探る 日本進化学会第 24 回大会 (静岡)
- 熊谷颯之, 酒井杏花, 藤近敬子, 田中健太郎, 上村佳孝, 高橋文 (2022) オウトウショウジョウバエにおける雄生殖器 *surstylus* の機能および遺伝的基盤の解明 日本進化学会第 24 回大会 (静岡)
- 川口也和子, 岡村悠, 佐藤愛莉 (2022) 一般シンポジウム S2 全ゲノム情報で紐解く非モデル生物研究 日本進化学会第 24 回大会 (静岡)
- 藤近敬子, 高橋文 (2022) オウトウショウジョウバエを用いた生殖休眠誘導時に発現変動する遺伝子の解析 ワークショップ「遺伝学若手の会ワークショップ」 日本遺伝学会第 94 回大会 (北海道)
- 酒井杏花, 田中健太郎, 藤近敬子, 高橋文 (2022) オウトウショウジョウバエにおける雄交尾器 *pregonite* の形態進化の遺伝基盤 日本遺伝学会第 94 回大会 (北海道)
- 藤近敬子, 高橋文 (2022) Comparison of oscillation pattern among strains with different degrees of induction of

reproductive diapause in *Drosophila triauraria* 第 29 回日本時間生物学会学術大会 (栃木)

佐藤愛莉, 高橋文(2022) 新鮮な果実を好むショウジョウバエ:産卵場所の好みはどのように変化したのか? ワーク
ショップ虫の会まじめ版 9:多様なスケールの昆虫研究を議論しよう(生態から分子まで) 第 45 回日本分子生物
学会年会(千葉)招待講演

小川雅文, 常泉和秀, 阿部知子, 野澤昌文 (2022) 重粒子線照射によるショウジョウバエ Y 染色体の部分破壊:遺
伝子量補償の即時性の検証に向けて 日本遺伝学会第 94 回大会, 札幌

小川雅文, 野澤昌文 (2023) 種間雑種で性染色体の進化過程を明らかにする 学術変革(B)「性染色体サイクル」
第 1 回領域会議, 八王子

陳胤佳, 野澤昌文 (2022) ショウジョウバエにおける性染色体化がヒストン修飾の進化に与える影響 日本遺伝学会
第 94 回大会, 札幌

佐藤侑佳, 小川雅文, 小川佳孝, 初見眞知子, 野澤昌文 (2022) ショウジョウバエにおける Y 染色体消失過程の解
明~Y 染色体遺伝子の転座と獲得に着目して 日本遺伝学会第 94 回大会, 札幌

佐藤侑佳, 小川雅文, 小川佳孝, 初見眞知子, 野澤昌文 (2023) ショウジョウバエにおける Y 染色体消失過程の解
明~Y 染色体遺伝子の転座と獲得に着目して 学術変革(B)「性染色体サイクル」第 1 回領域会議, 八王子

内田友夏, 野澤昌文 (2023) ショウジョウバエを用いた Y 染色体の毒性の検証 学術変革(B)「性染色体サイクル」
第 1 回領域会議, 八王子

唐木書子 (2023) アサヒナショウジョウバエにおける B 染色体の機能および性染色体との関連 学術変革(B)「性染
色体サイクル」第 1 回領域会議, 八王子

佐々木優基, 和多田正義, 野澤昌文 (2023) *Drosophila neoasahinai* が雑種起源である可能性の検証. 学術変革(B)
「性染色体サイクル」第 1 回領域会議, 八王子

加藤雄大 (2023) *Drosophila obscura* の性比異常現象における原因因子の探索 学術変革(B)「性染色体サイクル」
第 1 回領域会議, 八王子

野澤昌文 (2022) 多様なショウジョウバエを用いて解明する性染色体の進化過程と遺伝基盤 生命科学 4 プラットフ
ォーム「支援説明会・キックオフシンポジウム」, 東京(招待講演)

野澤昌文 (2022) Y 染色体を失ったヒゲジロショウジョウバエはいかにして性の消滅を回避したのか? 学術変革(B)
「性染色体サイクル」キックオフシンポジウム, 八王子

野澤昌文 (2023) ヒゲジロショウジョウバエの Y 染色体消失を可能とした進化経路の推定 学術変革(B)「性染色体
サイクル」第 1 回領域会議, 八王子



神経生物学研究室

1. 構成

黒川 信(准教授)、Adam Weitemier (准教授)、山本高之 (D3)、近藤日名子(D3・秋期入学、RA)、榎本萌花 (D3)、鈴木宏和 (M1)、津田啓佑 (M1)、田坂早苗 (卒研)、山本直樹 (客員教授)、田中浩輔(客員研究員)、田口正敏(客員研究員)、新津修平 (客員研究員)、清水晃 (客員研究員)、吉村仁 (客員研究員)

2. 研究紹介

本研究室の主テーマは動物の行動や学習の神経機構を解明することである。黒川グループは主に水産無脊椎動物の軟体動物 (アメフラシ、モノアラガイ、コノハマドリガイなど)、節足動物 (クルマエビ、ザリガニ、昆虫など) を実験材料に用いながら様々なサブテーマで研究を進めている。Weitemier グループは哺乳類 (マウス) の脳機能研究を行っており、ノックアウトマウスを用いた行動学的、神経組織学的研究も進めている。これらの研究は、電気生理学的、神経化学的解析を中心に薬理学、組織学、免疫細胞化学などの手法を用いて進められる。また、神経生物学教育用シミュレーターの開発研究にも取り組み、インターネット上で公開した。黒川は島しょ地域をフィールドとした研究として火山災害研究センターの一員として「防災+島づくりの視点をもった災害リテラシーUP プログラムの構築<D2>」に参画している。

1) 軟体動物を用いた研究

a) **摂食行動と消化管の神経支配機構**：動物の消化管に普遍的に存在し、多様なニューロンから構成される消化管神経系(腸管神経系)は、脳・中枢神経系と関連しながら運動、分泌、吸収などの生理機能を自律的に制御する。一方、動物の消化管の構造と機能は体制や食性等に応じて多様に分化しており、個々の消化管においても部域特異的な大きな変化が起きている。我々は系統進化的視点から食性の異なる各種の軟体動物後鰓類を実験材料に消化管神経系の自律的な神経機構を明らかにするとともに、それと中枢神経系との関連機構にも注目して研究を進めてきた。(近藤・黒川)

b) **モノアラガイの沈水行動**：有肺目モノアラガイ (*Lymnaea stagnalis*) は、水面に逆さまの姿勢で張り付き、水面下を移動する行動 (upside-down gliding)をとる。一方、軟体部に接触刺激を与えると、体全体を殻に引き込む逃避反射 (whole-body withdrawal reflex) を示すが、upside-down gliding 中の場合は、引き込み反射に続き、水底まで直接沈み込む「沈水行動」を示す。この時、呼吸孔から空気放出が起こるが、呼吸行動時の空気放出とは異なるインパルスの発火パターンが細胞外誘導で得られた。沈水行動時の空気放出の神経回路を明らかにするため、細胞内誘導による単一ニューロンレベルの解析を進めた。(榎本・黒川)

c) **盗葉緑体現象による光合成と動物行動**：の仲間は捕食するハネモなどの藻類から「盗葉緑体現象」により取り込んだ葉緑体を持ちて光合成を行い、栄養や酸素を得ている。この光合成活動と、行動や内臓機能、特に心臓循環機能の関係を調べた。その結果、光強度および波長に依存した逃避行動の発現や心拍変化を見出した。

後鰓類囊舌目のコノハマドリガイ(*Elysia ornate*) は海藻から葉緑体を“盗み”光合成をさせエネルギーを得る。葉緑体を取り込まれ体全体に広がる中腸腺細管の運動の光応答などを調べ、盗葉緑体生活を送るためにこの動物が具える生理機構を考察した。(田坂・黒川)

2) 節足動物等を用いた研究

a) **十脚類の尿コミュニケーション**：ザリガニは尿を顎脚の運動により水中に拡散させることで、尿内物質

を用いて他個体とのコミュニケーションを行うことが明らかにされている。しかし、放尿のしくみやその神経制御については不明な点が多かった。本研究で、解剖学的に脳神経節から開口部に向かう小神経を同定し、その電気刺激により開口部の運動を惹起出来たことから脳神経による神経制御の存在が示唆された。

(米満・黒川)

b) 十脚類のモノアミン受容体の発現：十脚甲殻類クルマエビ (*Marsupenaeus japonicus*) において、ドーパミン2受容体様およびオクトパミン β -2R受容体様の配列を特定し、各サブタイプの発現解析を行った。ドーパミン2様受容体は主に腸で、オクトパミン様受容体は心臓及び中秋神経系での発現が確認された。それらの生体機能との関連性を明らかにするため、それらの完全長の塩基配列、分布及び発現量の解析し、詳細な発現マップの作成を進めている。(田中・黒川)

c) 膜翅目昆虫クモバチ科におけるデイ器官 (Day's organ) の組織形態学的研究：昨年度に引き続き、デイ器官の組織・機能形態学的研究を進めている。デイ器官とは、クモバチ科オスの腹部節間膜に存在する微小孔によって形成された器官をいう。この器官は、ある種のフェロモンを産生する構造と考えられているが、その詳細な機能は未だ不明である。現在、この構造について組織形態学的な観察を用いて、節間膜上の微小孔と連続すると考えられる組織が分泌組織であるかどうか検証を進めている。今年度は、ハナナガヒメクモバチにおける腹部節間膜クチクラ表面に、上皮組織と接続していると思われる複数の微小孔構造を確認することができた。今後は連続準薄切片を作成ながら節間膜表面から上皮組織への三次元構築を行い、詳細な立体構造について調べる予定である (清水・新津・黒川)

3) 哺乳類 (マウス) を用いた研究

a) MARK4 ノックアウトマウスを用いた行動解析 (鈴木・Weitemier)

Behavioral analysis in MARK4 null mice: Microtubule Affinity Regulatory Kinase (MARK) alters microtubule dynamics by phosphorylating microtubule-binding proteins and inhibiting their binding. Due to this, MARK4 is now considered a risk gene in the phosphorylation of tau, the cause of Alzheimer's disease. However, the role MARK4 in behavioral regulation is not understood. To understand if MARK4 regulates behavior, we have conducted several behavioral tests. The results show interesting differences between MARK4 and control mice in emotional regulation, consistent with changes in monoamine system neurotransmission. In the future, we will investigate the neuronal basis of these behavioral phenotypes (Suzuki & Weitemier)

b) 空間行動タスクにおけるマウスの学習戦略 (津田・Weitemier)

Learning strategies by mice in spatial tasks: The 8-arm radial arm maze and the Barnes maze require memory of spatial information (i.e. the surroundings) for successful completion. However, the strategies, or use of information to solve the tasks may differ depending on learning stage and cognitive ability. For example, rodents may use a cognitive map of the whole arena and experimental room to locate a goal reward or escape hatch, or they may focus memory of their own actions toward local cues in relation to the whole arena – keeping a “checklist” of what they just did so they do not repeat it unnecessarily. While this has been studied in rats, little is known about the strategies that mice use to solve these tasks. Moreover, quantitative evaluation is difficult due to the tendency of experimenters to subjectively judge the complex behavioral patterns of animals as they reach their goal. We are currently developing quantitative evaluation methods to detect behavioral strategies in spatial memory experiments. We are investigating brain activation patterns connected to performance on these tasks, and will validate our approach using P301S mice, a mouse model of neurodegenerative disease. (Tsuda & Weitemier)

c) P301S マウスにおける MARK4 とノルエピネフリン枯渇の関係 (Weitemier・安藤の共同研究)

The interaction of MARK4 and norepinephrine depletion in P301S mice: The integrity of the norepinephrine

system has been shown to influence the progression of cognitive symptoms in neurodegenerative disease models. Recent investigations have also implicated one member of the MARK protein family, MARK4, as a potential contributor to tau hyperphosphorylation in Alzheimer's disease. To investigate whether the influence of MARK4 on neurodegenerative symptoms in P301S mice interacts with norepinephrine, we are testing cognitive abilities and pathological markers in mice on a MARK4 null-P301S cross mice with or without norepinephrine depletion. (Weitemier [collaboration with Dr. Kanae Ando]).

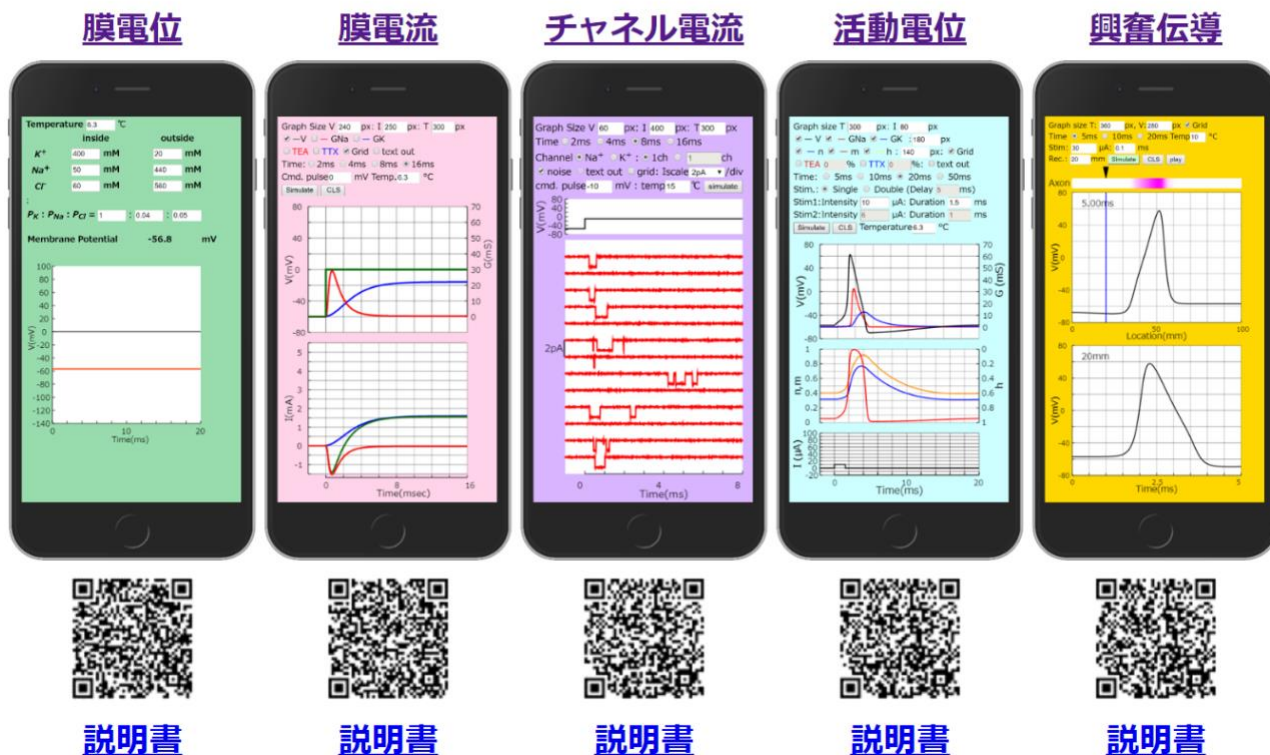
d) 今年度は、培養系ミクログリア細胞の活性化及び電位依存性 Na チャネルの制御における神経伝達物質再取り込み阻害薬の役割を詳細に解析した。また、中枢神経系の細胞核スプライシング制御因子 RBM10 の機能と発現をマウス及びアメフラシなどのモデル動物で検討した。(山本直・Weitemier・黒川)

4) その他の研究

深い学びのための神経のシミュレーションの開発：高等学校や大学学部の神経生理学の学習における、生徒・学生の深い学びのための、新規の神経生物教育用のシミュレータを開発・公開した。プログラム言語として JavaScript を用いることで、パーソナルコンピュータのみならず、学習者自身が所有するスマートフォンやタブレット端末のブラウザ上でも QR コード (右図) の読み込みや、URL(https://www.biol.se.tmu.ac.jp/neurobio/neuron/sim/index_j.html)の入力のみで、アプリのインストールなどは不要で、誰でも無料で簡便に実行できるものとするのができた。膜電位、膜電流、チャネル電流、活動電位、興奮伝導に関する 5 種類の独立したシミュレータを開発し、細胞神経生物学のあらゆる基礎的で重要な現象のシミュレーションを可能にした (下図)。これらのシミュレータは多くの大学の神経生物学実習や高校の授業で導入され、学生へのアンケート調査の結果、理解を深め、学習意欲を向上させ、神経生理学の学習に有用であることが実証された。(山本高・黒川)



ニューロンのシミュレータ



3. 研究発表

誌上発表

- Niitsu S, Kamito T. (2022) Early cellular development induced by ecdysteroid in sex-specific wing degeneration of the wingless female winter moth. *Cell & Tissue Research* 387, 29–38.
- Niitsu S, Maeda D. (2022) Discovery of *Psyche casta* (Pallas, 1767) (Psychidae, Psychinae) in Japan. *Lepidoptera Science* 73, 7–11.
- Shimizu A, Broad G, Yoshimura J, Pitts JP. (2022) First records of the spider wasps *Ctenocerus* Dahlbom and *Paraclavelia* Haupt from Asia, with discussions on the systematics of Ctenocerinae (Hymenoptera: Pompilidae). *European Journal of Taxonomy* 845: 101–131.
- Nakatani Y, Yaguchi M, Ogino K, Noguchi R, Yamamoto N, Amano T. (2022) Duloxetine ameliorates lipopolysaccharide-induced microglial activation by suppressing iNOS expression in BV-2 microglial cells. *Psychopharmacology (Berl)*. Oct;239 (10):3133-3143.
- Nakatani Y, Ishikawa K, Aoki Y, Shimooki T, Yamamoto N, Amano T. (2023) Inhibitory effect of atomoxetine on Nav1.2 voltage-gated sodium channel currents. *Pharmacol Rep*. Mar 14.
- T. Yamamoto, M. Kurokawa and A. Weitemier (2023) Smartphone-enabled Web-based simulation of cellular neurophysiology for laboratory course and its effectiveness. *Journal of Undergraduate Neuroscience Education* (in press)
- 黒川信 (共著) 「磯焼け」と火山島からの栄養 鈴木毅彦・市古太郎編著 伊豆諸島の自然と災害 古今書院 2023年3月

口頭・ポスター発表

- 近藤日名子、可知直毅、黒川信、市古太郎 (2022) 伊豆大島公立小・中学校での防災教育2019-2022 ～その時自分に何ができるか～ 2022年次日本島嶼学会沖永良部島大会 2022年10月
- 黒川信・近藤日名子・米満和貴 (2022) Motor control on the outlet of urine expulsion in the crayfish, *Procambarus clarkii*. 第44回日本比較生理生化学会大会 (高知)
- 伊藤慎、田中浩輔 (2022) Comparison of expression about octopamine and dopamine receptors in some organs of *Marsupenaeus japonicus* 2022年度日本比較生理生化学会大会 (高知)
- 新津修平 (2022) 蛾類における翅の退化—退行的な形態進化の多様性とその発生メカニズム 昆虫 DNA 研究会第18回研究集会 (松本・ハイブリッド開催)
- 新津修平 (2022) 鱗翅目昆虫における翅退化をもたらす発生的な共通原理を探る 日本昆虫学会第82回大会 (松本)
- 新津修平 (2022) カバシタムクゲエダシヤクの翅の退化現象とその生態学的特性 日本鱗翅学会関東支部 2023春のつどい (東京)

その他の教育・研究活動

- 黒川信 代表 (2021-2022) 東京都立大学教育改革推進事業【B】個人提案型支援プログラム「学外体験・実習型講義でのICTの活用——事前学習効果の向上と履修動機付けを支援する取り組み——」
- 黒川信、近藤日名子 分担 (2017-2022) 火山災害研究センター「防災+島づくりの視点をもった災害リテラシーUPプログラムの構築<D2>」
- 黒川信 (2022) 東京都専門性向上研修 理科【I】No. 4341
- 黒川信 他 (2022) プレミアムカレッジ・アディショナル科目 (春季集中)「東京の「離島」を学ぶ：伊豆大島の自然と社会と文化」

植物環境応答研究室

1. 構成

鐘ヶ江 健、成川 礼、池内 昌彦（特任教授）、渡辺 麻衣（特任助教）、鈴木 貴久（特任助教）、星野 宏季（D2）、迫 凌輔（M2）、安田 彩乃（M2）、深澤 茉愛（M1）、米田 彩乃（M1）、西野 真悠（B4）、長谷部 愛佳（B4）、内藤 舞衣（B4）、鈴木 咲里（B4）

2. 研究紹介

本研究室では光情報によって制御される植物や藻類・シアノバクテリアの発生や生理現象の光受容から信号伝達、現象発現までの素過程を、細胞生物学、生理学、分子生物学、生化学、生物物理学などの手法を用いて解析している。植物の光応答機構を解明するために、多様な光環境で生育するさまざまな植物を材料として、光受容体の分子内・細胞内シグナル伝達機構と光シグナルに応答した遺伝子発現変動の解析、さらにRNA修飾などの転写後調節による新たな光環境応答の分子機構の解明を目指している。また、本研究室では、シアノバクテリアを対象として、植物のフィトクロムと似て非なる光受容体であるシアノバクテリオクロムという光受容体群の光感知機構を解明することを目指している。特に、シアノバクテリオクロムが感知する光の波長を決める色調節機構の解明を進め、変異導入によってその吸収波長を改変する研究を進めている。

シロイヌナズナ CIF5 とクリプトクロムとの相互作用の検証

ホウライシダの青色光受容体クリプトクロム結合因子として我々が同定した CIF (Cryptochrome Interacting Factor) の相同遺伝子が、モデル植物シロイヌナズナにおいても見出されている。これらの遺伝子がコードするタンパク質は CIF と高い類似性を示すが、実際にシロイヌナズナのクリプトクロムと結合するかどうかは明らかになっていない。そこで、シロイヌナズナの CIF ホモログの一つである AtCIF5 について、シロイヌナズナクリプトクロム CRY1 および CRY2 との相互作用が存在するかどうかを検証している。タンパク質間相互作用は、酵母two-hybrid法と *in vitro* 転写/翻訳産物によるプルダウン法の2法による試験を計画している。今年度はそれぞれのタンパク質発現ベクター/カセットの構築を進め、AtCIF5、CRY1、CRY2 タンパク質の発現を誘導できることを確認した。現在それぞれの発現タンパク質を用いた *in vivo*、*in vitro* での相互作用試験を進めている。(鈴木咲、内藤、安田、鐘ヶ江)

シロイヌナズナ HAKAI タンパク質の機能解明

シロイヌナズナの AtCIF5 は HAKAI として知られ、RNAメチル化複合体の構成要素であることが示されている。最近クリプトクロム欠損変異体の RNAメチル化レベルが野生型と比べて有意に差があると報告されたことから、クリプトクロムを受容体とする光形態形成調節において RNA修飾を介した転写後調節機構の存在が考えられている。そこで HAKAI がこのシグナリング経路に関与している可能性を検証するため、HAKAI 変異体シロイヌナズナを用いて光生理応答および mRNAメチル化変動の解析を行なっている。クリプトクロム (CRY2) による制御が知られる胚軸伸長抑制について HAKAI 変異体の光応答性を調べた結果、HAKAI 変異体は青色光下で胚軸伸長抑制が弱まることが明らかになった。現在は RNA-seq 解析とリアルタイム PCR による遺伝子発現解析を行ない、HAKAI が胚軸伸長抑制に関わる分子生物学的機構の解明を進めている。(安田、鐘ヶ江)

Acaryochloris 属のシアノバクテリアの光受容・光捕集の解析

Acaryochloris 属のシアノバクテリアは、赤色光を吸収するクロロフィル *a* ではなく、長波長の遠赤色光を吸収するクロロフィル *d* を光合成反応中心色素として保持している。光合成のエネルギーとして長波長の光質を利用しているため、感知する光質も長波長化している可能性を考え、実際にビリベルジン (BV) を結合し遠赤色光を感知するシアノバクテリオクロムを発見した (Narikawa et al. 2015 *Sci. Rep.*)。一方、*Acaryochloris* は橙色光を捕集し、その光エネルギーを光合成反応中心に伝達するフィコビリソーム超複合体を有するが、BV の代謝産物で短波長の光質を吸収するフィコシアノピリンを結合して機能する。以上より、*Acaryochloris* は開環テトラピロールを共通の色素として、長波長の遠赤色光を感知する一方で、短波長の橙色光を捕集する機能を併せ持つ。我々はこれまで、開環テトラピロール色素合成酵素に着目し、その機能分化に関する研究を推進してきたが (Miyake et al. 2020 *FEBS J.*)、その機能分化に重要なアミノ酸残基を同定した (英文原著論文 1)。また、これまでの解析によって、橙色光で長期間継代培養することで、フィコビリソームを不可逆的に高蓄積する株の取得に成功しているが、これらの株の DNA リシーケンス解析を進めた。その結果、プラスミドシャッフリングというユニークな現象が起こり、フィコビリソーム関連遺伝子群が高コピーのプラスミドに搭載されることで、フィコビリソームが高蓄積するという分子機構が解明された。来年度に英文原著論文として報告する予定である。さらに、*Acaryochloris* 属であるにもかかわらず、クロロフィル *d* を保持せず、クロロフィル *a*・*b* を用いて光合成を行う *A. thomasi* という種が近年発見された。この種がどのような光質を感知しているかを解明するために、橙色光、青色光、赤色光で培養した細胞の分光特性を解析した。その結果、橙色光と青色光でフィコビリソームとクロロフィル *b* の量の変動する可能性を見出した。(渡辺、西野、池内、成川)

ビリベルジン結合型シアノバクテリオクロムの解析

我々はこれまで、*Acaryochloris* に着目することで、BV という長波長の遠赤色光を吸収する哺乳類内在性の開環テトラピロール色素を結合して光受容体として機能するシアノバクテリオクロムを発見・開発してきた (Narikawa et al. 2015 *Sci. Rep.*, Fushimi et al. 2019 *PNAS*)。これらは、哺乳類内在色素であり、動物組織への浸透性が高い BV を結合することから、動物細胞での応用利用性に長けた分子群である。中でも、AnPixJg2_BV4 は 4 つのアミノ酸変異を導入することで BV 結合能力を付与し、結晶構造も決定された分子である。さらに、AnPixJg2_BV4 の色素近傍アミノ酸に着目し、部位特異的に飽和変異を導入することで、色素結合効率が向上した変異体、さまざまな熱緩和速度を示す変異体、ユニークな色調節機構を有する変異体の作出に成功している。来年度はこれらの研究成果を英文原著論文として報告する予定である。さらに、光遺伝学ツールの開発のために、AnPixJg2_BV4 を土台として円順列変異体を作成した。(鈴木貴、長谷部、成川)

新規シアノバクテリオクロムの探索・改変

シアノバクテリオクロムは、その配列が多様化することで、様々な分光特性を有するものが知られている。ほとんどのシアノバクテリオクロムは第一の Cys と呼ばれる Cys 残基を持ち、いくつかについては、さらに第二の Cys とよばれる Cys 残基を持つ。我々は最近、例外的に第一の Cys を欠き第二の Cys のみを保有するシアノバクテリオクロムが緑色光の強度を感知するセンサーとして機能することを見出している (Fushimi et al. 2016 *Biochemistry*)。我々は、この例外的なシアノバクテリオクロムの構造を決定し、そのユニークな分光特性の分子基盤の解明を目指し研究を進めている。さらに、第一の Cys、第二の Cys、それらの周辺残基において、ユニークな配列特徴を有する分子群を探索し、それらの解析を進めることで、ユニークな分光特性を有する分子の同定を目指している。そのうちの一つの分子について、原著論文として今年度に報告した (英文原著論文 2)。実際に、これまでに報告例のない橙色光と青色光の間で光変換する分子の同定に成功している。さらに、温度依存性を示す AM1_1499g1 という分子の特定のアミノ酸残基に着目し飽和変異を導入する

ことで、温度依存性の分子基盤を解明する研究を推進した。(星野、米田、成川)

緑藻から見出されたデュアルクロムの解析 (成川)

先行研究にて、フィトクロムの光受容領域とクリプトクロムの光受容領域とを併せ持った分子・デュアルクロムの分光特性を解析し、それぞれが橙/遠赤色光と青色光を感知していることを報告している (Makita et al. 2021 *Nat. Commun.*)。このフィトクロムが赤色光ではなく橙色光を感知する分子基盤を解明するために、典型的なフィトクロム配列の比較に基づいた変異体の作出やキメラ分子の作出を進めた。まだ橙色光を吸収する色調節機構は解明できていないため、来年度も引き続き研究を進める。(深澤、成川)

3. 研究発表

英文原著論文

1. Hosino, R., Narikawa, R.* (2023) Novel cyanobacteriochrome photoreceptor with the second Cys residue showing atypical orange/blue reversible photoconversion. *Photochem Photobiol Sci.* 22 (2): 251-261
2. Miyake, K., Kimura, H., Narikawa, R.* (2022) Identification of significant residues for intermediate accumulation in phycocyanobilin synthesis. *Photochem. Photobiol. Sci.* 21 (4): 437-446
3. Priyadarshini, N., Steube, N., Wiens, D., Narikawa, R., Wilde, A., Hochberg, G.K.A., Enomoto, G. (2023) Evidence for an early green/red photocycle that precedes the diversification of GAF domain photoreceptor cyanobacteriochromes. *Photochem. Photobiol. Sci.* Online Published
4. Takemura, H., Choi, J.H., Fushimi, K., Narikawa, R., Wu, J., Kondo, M., Nelson, D.C., Suzuki, T., Ouchi, H., Inai, M., Hirai, H., Kawagishi, H. (2023) Role of hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase in the metabolism of fairy chemicals in rice. *Org. Biomol. Chem.* 21 (12): 2556-2561

英文総説・書籍

1. Hoshino, H., Miyake, K., Narikawa, R. (2022) Cyanobacterial Photoreceptors and Their Application. *Cyanobacterial Physiology: From Fundamentals to Biotechnology*, Editors: Kageyama, H., and Waditee-Sirisattha, R., ELSEVIER, Chapter 15, 201-210

日本語総説

1. 星野 宏季、三宅 敬太、成川 礼 (2022) シアノバクテリオクロムの結合色素多様性 *生化学* 94 (3), 348-359
2. 三宅 敬太、鈴木 貴久、成川 礼 (2022) *Acaryochloris marina* というユニークなシアノバクテリアに着目した光利用戦略解明の研究と応用利用の展望 *植物の生長調節* 57 (1), 38-49

口頭・ポスター発表

1. 安田彩乃、鐘ヶ江健 (2023) 光形態形成における新規クリプトクロム相互作用因子 CIF5 の役割 第 64 回日本植物生理学会年会 (仙台)
2. 三宅敬太、樫本友則、迫凌輔、佐藤繭子、豊岡公德、兼崎友、岩崎渉、成川礼 (2023) プラスミドを介した *Acaryochloris marina* MBIC 11017 の橙色光環境への適応 第 17 回日本ゲノム微生物学会年会 (かずさ)
3. 成川礼 (2022) 光合成微生物のもつ多様な光受容体の色調節機構を理解し改変する 第 45 回日本分子生物学会年会 (幕張)

4. 成川礼 (2022) シアノバクテリオクロムの発見と改変に関する最近の話題 藍藻の分子生物学 2022 (かずさ)

環境微生物学研究室 Environmental Microbiology

1. 構成 Members

春田伸（教授）、飯野隆夫（連携客員教員）、花田智（客員教員）、磯部一夫（客員教員）、諸星聖（客員研究員）、西原亜理沙（客員研究員）、広瀬節子（客員研究員）、佐藤剛（客員研究員）、Joval N. Martinez（客員研究員）、坂庭真吾（研究生）、MD Gahangir Alam (D3)、何苗 (D2)、角濱日向 (M2)、胡睿熠 (M2)、河野恵美 (M2)、見取虎人 (M2)、久野桃子 (B4)

2. 研究紹介 Research

微生物は地球上の物質循環や生態系保全の面で極めて重要な役割を果たしている。本研究室では、土壌や水圏、熱水など様々な自然環境における微生物の生理的・生態学的特性の解析を通して、微生物群集の機能および成立・維持機構の解明を目指している。環境中の微生物活性の測定や環境 DNA の解析に加え、新たな培養戦略の開発により、未知微生物（機能）の探索を進めている。微生物群集の動態を明らかにするため、個々の微生物の生理学的性質だけでなく、生物間の相互作用を包括的に捉えようとしている。

1) 新規微生物/微生物機能の探索 Exploration of novel microorganisms and microbial functions

1-a. 河床礫バイオフィームから分離した新規好気性光合成細菌

Characterization of a novel aerobic anoxygenic photosynthetic bacterium isolated from epilithic river biofilms

多摩川の礫上バイオフィームから好気性細菌 S08^T 株を分離し、その生理学的、系統学的解析を行った。S08^T 株は有機物を含む栄養寒天平板上にピンクベージュ色のコロニーを形成し、バクテリオクロフィル *a* に典型的な近赤外領域の 798 nm と 866 nm に吸収極大を示した。16S rRNA 遺伝子塩基配列に基づいた系統解析により *Roseomonas* 属と考えられ、最近縁種は *Roseomonas lacus*（相同性 98.2%）であった。主な脂肪酸として C16:0、C18:1 2-OH、summed feature 8 (C18:1 ω7c/C18:1 ω6c)、主なキノンとしてユビキノン-9 を持っていた。主な極性脂質としてジフォスファチジルグリセロール、フォスファチジルグリセロール、フォスファチジルエタノールアミン、フォスファチジルコリンと 1 種類のアミノ脂質を含んでいた。ゲノム DNA の GC 含量は 70.6% であった。S08^T 株と他の *Roseomonas* 基準株との average nucleotide identity とデジタル DNA-DNA ハイブリダイゼーション値はすべて、種の定義のカットオフ値よりはるかに低かった。これらの結果から、*Roseomonas* 属の新種 *Roseomonas fluvialis* を提案した。基準株は S08^T 株 (=DSM 111902^T, =NBRC 112025^T) である。これまでに *Roseomonas* 属には 50 種が報告されており、その多くが光合成色素を生産しないが、S08^T 株は *Roseomonas* 属細菌の中でバクテリオクロフィル *a* の生産が確認された 2 例目の光合成細菌である。(広瀬、諸星、花田)

1-b. 温泉微生物マットのメタゲノム解析から見出した新規細菌

A novel bacterium in the FCB group superphylum from Nakabusa Hot Springs, Japan

Terrestrial hot springs are extreme environments that often harbor highly novel lineages. Here, we reconstructed a high-quality metagenome-assembled genome (2.2 Mb with 94% completeness and 0.8% contamination) of a bacterium distantly related to the closest relatives, *Rhodothermus marinus* DSM 4252 (80.78% 16S rRNA gene sequence identity) from a slightly alkaline, sulfidic hot spring (72–73°C) in Nakabusa, Japan. The taxonomy and potential metabolism of the novel organism (NKB10) were discussed.

A concatenated alignment of 38 ribosomal proteins, NKB10 was found in *Fibrobacterota* / *Chlorobiota* /

Bacteroidota (FCB) group to form a distinct lineage falling between the phyla *Bacteroidota* and *Rhodothermaeota*. In NKB10, *Rhodothermia*, and *Cytophagia*, complete gene sets were found for glycolysis, the TCA cycle, gluconeogenesis, complex I, complex II, alternative complex III, complex IV, complex V and aa3-type terminal oxidase, which indicated the capacity for heterotrophs and aerobic respiration. NKB10 encoded more peptidases than carbohydrate-active enzymes (140 vs 49, respectively), unlike *Rhodothermaeota* / *Cytophagia* members that possess more of the latter, suggesting potential differences in organotrophic preferences. NKB10 and some *Cytophagia* members did not encode complete gene sets for flagella and chemotaxis, but key genes for gliding motility. Taken together, NKB10 represents a thermophilic lineage of the FCB group superphylum sharing some physiological traits with neighboring phylogenetic groups (何、河野、西原)

1-c. 温泉微生物マットのメタゲノム解析から見出した窒素固定硫酸還元細菌

Genomic characterization of novel N₂-fixing sulfate-reducing bacteria in Nakabusa Hot Springs

Thermophilic N₂ fixing organisms and their enzymes have not been studied well. In this study, sulfate-reducing diazotrophs were explored using molecular-based methods through the analyses of the reconstructed metagenome-assembled genome (MAG) from Nakabusa Hot Springs.

A gene set related to N₂ fixation (*nifHDKE*) was assembled from the MAG, CHA-01. 16S rRNA gene sequence found in CHA01 was 96.0% identical to that of a thermophilic sulfate reducing bacterium, *Thermodesulfovibrio yellowsonii*. Phylogenetic analyses based on concatenated 28 single-copy ribosomal genes showed that CHA-01 was classified as genus *Thermodesulfovibrio* and distinct from known species. Further metabolic reconstruction analysis showed that CHA-01 possessed the capacity for chemolithoautotrophic sulfate-reducing metabolisms. Our results suggest that CHA-01 is a novel species of the genus *Thermodesulfovibrio* and possibly fixes N₂ by H₂-oxidizing sulfate reduction. (久野、西原)

1-d. 新規好熱性窒素固定硫酸還元細菌の探索

Exploration of N₂-fixing sulfate-reducing bacteria from Nakabusa Hot Springs

N₂-fixation by sulfate-reducing bacteria at over 65°C has not been demonstrated yet. In this study, N₂-fixing ability was detected in the culture enriched from Nakabusa Hot Springs and candidate N₂-fixing sulfate-reducing bacteria were identified.

A piece of the microbial mats from Nakabusa Hot Springs was cultivated at 65°C in a nitrogen compound free medium containing lactate as a carbon source and sulfate as an electron acceptor under an N₂:H₂:CO₂ atmosphere. After repetitive subcultivations, the enrichment culture was established. Nitrogenase activity was detected using acetylene reducing assay and *nifH* gene, which encode nitrogenase reductase, was found by PCR amplification. DNA sequence of the *nifH* gene fragment was closely related to those of sulfate-reducing bacteria in the genus *Thermodesulfovibrio*. However, N₂ fixing ability of any species in the genus *Thermodesulfovibrio* has not been demonstrated yet. Our results strongly suggest that sulfate-reducing bacteria in the genus *Thermodesulfovibrio* have the ability to fix N₂ at 65°C. (久野、西原)

1-e. 始原的 *Synechococcus* シアノバクテリアの比較ゲノム解析

Comparative genomic analysis of deeply branching cyanobacteria of the genus *Synechococcus*

単細胞性の好熱性シアノバクテリアは73°Cで生育する株も報告されているが、系統解析研究が少ない。1996年に米国イエローストーン国立公園のOctopus Springから分離された*Synechococcus* sp. C9株のゲノム情報を取

得し近縁系統と比較することで、好熱性の始原的なシアノバクテリアの系統関係を明らかにすることを目的とした。

DNBSEQプラットフォームを用いてゲノム塩基配列情報を取得した。近縁の好熱性シアノバクテリア株 JA-3-3AbおよびJA-2-3B'a(2-13)と比較すると、ゲノムサイズは類似していたが近縁の中温性株PCC7336株とは異なっていた。C9株とこれら既報の近縁好熱性株との16S rRNA遺伝子塩基配列の相同性は89%、Average Nucleotide Identity (ANIb)は67%で、また、中温性株とはそれぞれ87%、65%であった。以上の結果から、C9株はこれらと異なる別の系統であることが示唆された。49のコアタンパク質のアミノ酸配列に基づく系統解析の結果、C9株は好熱性株JA-3-3AbやA-2-3B'a(2-13)とは独立した系統であり、またC9株を含む*Synechococcus*系統群は*Gloeobacter*から分岐した始原的な窒素固定シアノバクテリア系統であると考えられた。C9株はモリブデン型窒素固定遺伝子として*nifXNE*, *nifBSUHDKVZ*を保有していたが、近縁株と異なり*nifT*遺伝子を欠失していた。*nifT*は窒素固定能に必須ではないが、活性の調節に関与していると考えられている。(河野、Martinez、佐藤)

1-f. 硫酸還元細菌のアンモニアを電子源とした増殖

Growth of sulfate reducing bacteria on ammonium as the electron source

Ammonium is a thermodynamically valuable electron source, but microbial reactions that oxidize ammonium without using O₂ have yet to be identified. I collected sediment samples from Onikobe Hot Springs (Miyagi) and anaerobically cultivated the sediment samples in an autotrophic medium containing NH₄⁺ and SO₄²⁻ at 55°C. After the repetitive subcultivations, a sulfate-reducing bacterium, strain WS belonging to the genus *Thermodesulfomicrobium*, was isolated from the enrichment culture. When NH₄⁺ in the medium was replaced with NO₃⁻, which did not work as the electron source but worked as the nitrogen source, no growth was observed. This result indicates that NH₄⁺ supported the growth of this strain as the electron source and nitrogen source. During the growth on NH₄⁺, production of NO₂⁻, NO₃⁻, and gaseous compounds was not detected. I found that the addition of a NO-related radical scavenging reagent stimulated the growth. These results suggested that the isolated strain WS possibly oxidized NH₄⁺ to NO. (Alam)

1-g. 糸状性酸素非発生型細菌のアンモニアを電子源とした増殖

Growth of filamentous anoxygenic photosynthetic bacteria on ammonium as the electron source

It has long been estimated that ammonium could work as the electron source for anoxygenic photosynthesis. I examined the growth capability of a filamentous anoxygenic photosynthetic bacterium, *Chloroflexus aggregans* strain NA9-6 in an inorganic medium containing NH₄⁺ as the sole electron source. Strain NA9-6 showed the growth in the 15 mM NH₄⁺-containing medium at 55°C in the light. However, production of NH₂OH, NO₂⁻, NO₃⁻, and gaseous compounds was not detected. A NO-scavenging reagent did not affect the initial growth on NH₄⁺ but increased the final growth yield. These results suggested that strain NA9-6 possibly oxidized NH₄⁺ to NO. (Alam)

2) 種間相互作用 Interspecies interaction

2-a. 2種細菌の共培養による鉄腐食

Anaerobic microbial iron corrosion

本研究では、嫌氣的に鉄を腐食する微生物機能を探索した。天然ガス回収設備の鉄管を通る鹹水から分離された *Desulfocurvus* 属硫酸還元細菌 NT185 株、*Oleidesulfobivrio* 属硫酸還元細菌 NT118 株、*Methanococcus* 属メタン生成アーキア NT103 株、*Shewanella* 属細菌 NT181 株を用いて2種共培養効果を評価した。人工海水培地に主要な電子源として鉄片を入れ、嫌氣的に培養し、溶出する鉄イオン量を測定した。*Shewanella* 属細菌 NT181 株と硫酸還元細菌との組み合わせにおいて、顕著な溶出鉄イオン量の増加が見られた。また、

Shewanella 属細菌 NT181 株と他の硫酸還元細菌 (*Pseudodesulfovibrio* sp., *Desulfobaculum* sp., *Salidesulfovibrio* sp.) との組み合わせでも高い溶出鉄イオン量が検出された。*Shewanella* sp. NT181 株と硫酸還元細菌のこれら共培養系ではいずれも腐食産物は黒色を呈していたことから、腐食産物には硫化鉄が含まれ、硫酸還元細菌による硫化水素の生成が考えられる。*Shewanella* sp. NT181 株が鉄片から電子を受容し、その電子を硫酸還元細菌に受け渡すことで鉄腐食が促進された可能性が考えられる。(見取、飯野)

2-b. 糸状性滑走細菌と *Thermosynechococcus* 属単細胞性シアノバクテリアの種間相互作用

Cell aggregation of a unicellular cyanobacterium was induced by filamentous gliding bacteria

A thermophilic unicellular cyanobacterium, *Thermosynechococcus*, is widely found in microbial mats developed in hot water stream at geothermal alkaline hot springs. However, isolated strains of *Thermosynechococcus* do not show the ability to form cell aggregates under growing conditions. In this study, I examined the effects of co-cultivation with filamentous anoxygenic photosynthetic gliding bacteria in the genus *Chloroflexus*, which co-exist with *Thermosynechococcus* at hot springs.

Thermosynechococcus sp. NK55a and *Chloroflexus aggregans* MD-66^T were co-inoculated into an inorganic medium. After incubation at 55°C for 24 hours under illumination, tight cell aggregates were formed in the culture. The cell aggregates formed by the co-cultivation were dispersed by treating with cellulase. The presence of extracellular cellulose in the cell aggregates and the removal of the cellulose by cellulase were also detected by microscopic analysis using a cellulose-staining dye. Transcriptional analysis showed that the transcriptional level of a cellulose synthase gene, *cesA*, of *Thermosynechococcus* sp. NK55a in the co-culture with *C. aggregans* MD-66^T was higher than in the monoculture. Cellular activities including the cell surface movement of *C. aggregans* MD-66^T probably change the metabolisms of *Thermosynechococcus* sp. NK55a. (河野)

2-c. 土壌での植物遺体分解に対する細菌の影響

Bacterial contributions to plant litters decomposition in soils

Decomposition of plant litters in soils is a complex microbial process. Fungi are thought to be the primary decomposer in soils, preferably at acidic pH. However, normally soil pH is weakly acidic, pH 5 ~ pH 6. In this study, I examined effects of pH on plant litter decomposition in soil microbial cultures. Soils were collected at our campus in Hachioji, inoculated into the culture medium with rice straw, and cultivated at 25°C. Higher degree of the rice straw decomposition was detected at pH 6 comparing with pH 4. During the cultivation, fungal and bacterial growth in the medium and on rice straw was observed at both pH and bacteria grew better at pH 6. When I applied bactericidal antibiotics, the degradation efficiency at pH 6 was reduced. These results imply that bacteria also contribute to plant litters decomposition. (久野)

3) 細菌の生存戦略、環境中での生理生態 Survival strategy and ecophysiology

3-a. 好熱糸状性細菌の細胞集塊形成を促進する細胞外シグナル因子の同定

Identification of extracellular signaling molecules promoting the formation of cell aggregates of a thermophilic filamentous bacterium, *Chloroflexus aggregans*

Chloroflexus aggregans is a thermophilic, multicellular filamentous bacterium. This bacterium forms non-adhesive cell aggregate through its active gliding motility. Previous studies indicated that unidentified compounds in its cell-free culture supernatant accelerated the cell aggregate formation of *C. aggregans* strain NBF. In this study, I characterized the extracellular signaling molecule accelerating the aggregate formation in this thermophilic bacterium.

First, I examined the cell-density dependency of the secretion in *C. aggregans* NBF. Cell-free supernatants collected from the cells incubated in 10 mM Tris-HCl buffer (pH 8.0) with different cell densities showed similar cell aggregation-promoting activity per cell, indicating the secretion was not enhanced by high cell density. Next, I applied a cation exchange column chromatography and a size exclusion chromatography to purify the active compound from the culture supernatant. Mass spectrometric analysis of the active fraction showed a signal at m/z 453.34693 as proton adduct form. The aqueous solution of the sample showed absorption at around 220 and 280 nm, and elemental analysis indicated the sample was composed of carbon, hydrogen, and other elements than nitrogen. FTIR spectrum suggested that the sample does not contain C=O, O-H, and S-H bonds but likely contains C-O and P=O bonds. These results propose a possible chemical formula, $(\text{H}_2\text{PO}_4)(\text{C}_{18}\text{H}_{26})\text{O}(\text{H}_2\text{PO}_4)$, as a phosphorylated unsaturated hydrocarbon. These results indicate that the compound differed from known extracellular signaling molecules of mesophilic bacteria. The chemical properties suggest that the compound was synthesized via a biosynthetic pathway for terpene, such as carotenoids. (角濱)

3-b. 好熱性光合成細菌 *Chloroflexus aggregans* の高温での増殖に与える他細菌の影響

Thermal tolerance of a thermophilic anoxygenic photosynthetic bacterium *Chloroflexus aggregans*

Chloroflexus aggregans は酸素非発生型光合成細菌で、基準株 MD66^T の増殖至適温度は 55°C と報告されている。本研究では、*C. aggregans* の増殖可能温度域が他種細菌の共存によって拡大するかを検証した。*C. aggregans* MD66^T 株を従属栄養培地を用いて光嫌気条件で培養すると、61°C でも初期増殖は見られたが、その後、細胞密度は減少していった。一方、同属他種の *Chloroflexus aurantiacus* J-10-fl^T 株は 61°C でも安定に生育した。これら 2 種細菌を 61°C で混合培養したところ、*C. aggregans* も *C. aurantiacus* と同様に増殖した。*C. aurantiacus* を 61°C で培養しその培養上清を回収した。*C. aurantiacus* 培養上清を含む培地で *C. aggregans* を培養したところ、61°C でも 55°C とほぼ同様の増殖が観察された。ただし、興味深いことに、*C. aurantiacus* を 55°C で培養した培養上清からはこのような作用は見られなかった。*C. aurantiacus* J-10-fl^T 株の 61°C 培養上清に *C. aggregans* MD66^T 株の 61°C での生育を向上させる成分が含まれると考えられた。(坂庭)

3-c. 好熱性発酵細菌 *Caldicellulosiruptor diazotrophicus* の窒素固定特性

N₂-fixing ability of a thermophilic fermentative bacterium *Caldicellulosiruptor diazotrophicus*

Caldicellulosiruptor diazotrophicus in the phylum *Firmicutes* was reported to grow well at 70°C. The molecular phylogenetic analysis indicated that the nitrogenase of *C. diazotrophicus* is an ancient type. In this study, the N₂-fixing activity of *C. diazotrophicus* strain YA01^T was characterized. As with conventional nitrogenases, *C. diazotrophicus* cells showed the reduction activity of acetylene to ethylene. The temperature profile was determined for the acetylene reduction activity. The larger amount of ethylene was detected at 60°C incubation comparing with 50°C and 70°C incubation. The effects of potential inhibitors, NH₄⁺ on the acetylene reduction activity of *C. diazotrophicus* were examined. After cultivation under N₂-fixing conditions, NH₄Cl solution was anaerobically injected into the vials, and acetylene was injected to start the reaction. The results indicated that the acetylene reduction activity of *C. diazotrophicus* was highly sensitive to ammonium. (胡)

3. 研究発表

誌上発表 Publications

Hirose, S., T. Asano, M. Hamada, S. Morohoshi, T. Kunihiro, and S. Hanada. *Roseomonas fluvialis* sp. nov., an aerobic bacteriochlorophyll *a*-containing freshwater bacterium isolated from river epilithic biofilm. International Journal of

Systematic and Evolutionary Microbiology (2023) in press

- Alam, Md. G. and S. Haruta. Whole-genome sequence of *Thermodesulfomicrobium* sp. strain WS, isolated from Onikobe geothermal field in Japan. *Microbiology Resource Announcement*, 12: e01321-22 (2023)
- Muramatsu, S., S. Hirose, T. Iino, M. Ohkuma, S. Hanada, and S. Haruta. *Neotabrizicola shimadae* gen. nov., sp. nov., an aerobic anoxygenic phototrophic bacterium harbouring photosynthetic genes in the family *Rhodobacteraceae*, isolated from a terrestrial hot spring. *Antonie van Leeuwenhoek*, 115:731-740 (2022)
- Kawai, S., M. Ishikawa, S. Hanada, and S. Haruta. *Hydrogenophilus thiooxidans* sp. nov., a moderately thermophilic chemotrophic bacterium unable to grow on hydrogen gas, isolated from hot spring microbial mats. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 72:005355 (2022)
- Kono, M., J. N. Martinez, T. Sato, and S. Haruta. Draft genome sequence of the thermophilic unicellular cyanobacterium *Synechococcus* sp. strain C9. *Microbiology Resource Announcement*, 11:e0029422 (2022)
- Saini, M.K., S. Yoshida, A. Sebastian, E. Hara, H. Tamaki, N.T. Soulier, I. Albert, S. Hanada, M. Tank, and D.A. Bryant. *Elioraea tepida*, sp. nov., a moderately thermophilic aerobic anoxygenic phototrophic bacterium isolated from the mat community of an alkaline siliceous hot spring in Yellowstone National Park, WY, USA. *Microorganisms*, 10:80 (2022)

著書 Books

- Haruta, S., Kakuham, H., Fukushima, S., and Morohoshi, S. Motility assays of *Chloroflexus*. In: *Methods in Molecular Biology "Bacterial and Archaeal Motility"*. Minamino, T., Miyata, M., and Namba K. (eds.) Springer Nature (2022)

口頭・ポスター発表 Presentations

- 河野恵美、J. N. Martinez、佐藤剛、春田伸「始原的 *Synechococcus* シアノバクテリアの比較ゲノム解析」日本微生物資源学会第 28 回大会、野田、2022【ポスター賞受賞】
- Thiel, V., S. Kawai, A. Garcia-Costas, N. Tolic, J. Wood, J. N. Martinez, M. Lichtenberg, E. Trampe, M. Kühl, M. Tank, S. Haruta, A. Nishihara, S. Hanada, D. M. Ward, D. A. Bryant. Anoxygenic phototrophic *Chloroflexota*-uncovering metabolic flexibility by *in-situ* omics analyses. 17th International Symposium on Phototrophic Prokaryotes, Liverpool (UK) 2022
- 見取虎人、春田伸、大熊盛也、飯野隆夫「細菌 2 種混合系による嫌氣的鉄腐食」第 35 回日本微生物生態学会、札幌、2022
- 河野恵美、春田伸「Floc formation of *Thermosynechococcus* cyanobacterial cells was induced by filamentous gliding bacteria」第 35 回日本微生物生態学会、札幌、2022
- 坂庭眞吾、春田伸「高熱性光合成細菌 *Chloroflexus aggregans* の高温での増殖に与える他細菌の影響」第 35 回日本微生物生態学会、札幌、2022
- He, M., M. Kono, S. Haruta, V. Thiel, Y. Okazaki, M. K. Nobu, H. Tamaki, A. Nishihara「Metabolic Potential of a Novel Bacterium in the FCB Group Superphylum from Nakabusa Hot Spring, Japan」第 35 回日本微生物生態学会、札幌、2022
- 西原亜理沙、久野桃子、河野恵美、Joval N. Martinez、春田伸「Genomic characterization of novel N₂-fixing sulfate-reducing bacteria in Nakabusa hot springs」第 35 回日本微生物生態学会、札幌、2022
- Alam, Md. Gahangir, S. Haruta「Isolation of ammonium-oxidizing sulfate-reducing bacteria from terrestrial hot springs」第 35 回日本微生物生態学会、札幌、2022

- 角濱日向「好熱性細菌 *Chloroflexus aggregans* の細胞凝集促進因子の同定」日本生物工学会第 17 回学生発表討論会、東京、2022
- 河野恵美「糸状性滑走細菌との種間相互作用によって引き起こされる *Thermosynechococcus* 属単細胞性シアノバクテリアの細胞凝集形成」第 43 回関東地区生態学関係修士論文発表会、柏、2023
- 河野恵美「シアノバクテリアと糸状性酸素非発生型光合成細菌との種間相互作用」、光合成微生物の光応答戦略解明とその応用利用（光応答プロジェクト、代表・成川礼）キックオフ研究セミナー、八王子、2023

動物生態学研究室

1. 構成

林 文男 (教員)、岡田泰和 (教員)、菅原弘貴 (特任研究員)、若宮 健 (特任研究員)、YU Pei (9月まで D3)、矢崎英盛 (D3)、津吹 真 (D3)、杉山実優 (M2)、吉峯知歩 (M2)、長縄 健 (M2)、齊藤開斗 (M2)、林部真奈 (M1)、岸野紘大 (卒研)、川本高司 (卒研)、伊藤 文 (卒研)、井戸川直人 (学振特別研究員)、村上勇樹 (客員研究員)、伊藤睦実 (客員研究員)、岡宮久規 (客員研究員)、岡田雅子 (客員研究員)

2. 研究紹介

動物生態学研究室では、生態学、行動学、進化生態学、生態発生学、社会生物学、保全学などの研究を行っている。研究対象は、陸生、水生を問わず、小型哺乳類、鳥類、爬虫類、両生類、昆虫類、ダニ類、その他の無脊椎動物など多岐にわたっている。研究手法は、野外調査や野外における操作実験はもちろん、飼育下での実験、分子マーカーを用いた解析、分子系統樹の作製、次世代シーケンサーや定量 PCR による遺伝子発現解析、発生・生理学的解析、蛍光染色による組織観察など、最新のものを取り込んだ多面的なアプローチに基づく研究をめざしている。皆で議論しながら、各自が自由に研究できる雰囲気を大切に、既成の枠に縛られることなく、新しい考え方や技術などを積極的に取り入れている。以下に、2022 年度に実施あるいは発表された研究の一部を紹介する。

(1) 脊椎動物を対象にした研究

(a) 哺乳類

多くの齧歯類は針葉樹の種子を食す。しかし、餌の嗜好性は種や個体群、あるいは生息環境や経験によって異なると予想される。そこで、アカネズミとヒメネズミが、針葉樹の種子に含まれるテルペン類に対して、どのような反応を示すのかを調査している。テルペン類に対する忌避反応はこれら 2 種間で差がみられたが、さらに、広葉樹林と針葉樹林に生息する同種個体群間でも比較を行っている。その違いが経験によるものか、生得的なものなのかについても検討の必要がある。

(b) 両生類

近年のメタゲノム解析技術の進歩によって、幅広い分類群で共生腸内細菌叢が個体の生存に重要な役割を果たしていることが知られてきている。両生類であるアイフィンガーガエルの幼生について、栄養卵とそれ以外の餌を与えた場合の成長速度を比較した結果、栄養卵で高い成長率を示した。また、腸内の細菌叢解析の予備実験として、消化管の各部位（胃、小腸、大腸）から DNA を抽出し、細菌 16S rRNA 遺伝子の V3-V4 領域の PCR 増幅を行った結果、大腸で当該サイズのバンドが明瞭に観察できた。今後、腸内細菌叢がこのカエルの消化、吸収、成長過程にどのような影響を及ぼすのかを確かめる必要がある (16)。

(2) 無脊椎動物を対象とした研究

一般的に、エダシャク亜科の蛾は一様に茶色あるいは緑の蛹を作るが、トンボエダシャク類の蛹は黄色の地色に黒い斑紋を有している。これらの蛹の色が警告色であるかどうかを明らかにするために、同属のウメエダシャク、ヒロオビトンボエダシャク、トンボエダシャクの蛹化場所、蛹の毒性（不味さ）、蛾の一般的な捕食者であるトカゲの学習能力に関する調査を行った。その結果、これら 3 種ともトカゲに忌避された。繰り返しトカゲに与えると、蛹に対する捕食の意欲が低下していった（おそらく学習効果のため）。蛹化場所については、ウメエダシャクとヒロオビトンボエダシャクでは地上高木の枝や葉のよく目立つところであるの

に対し、トンボエダシャクでは地上近くの糸で紡いだ葉の隙間の中であった。目立つ場所で蛹化するウメエダシャクとヒロオビトンボエダシャクの蛹は黄色がよく目立つが、葉の隙間で蛹化するトンボエダシャクでは、蛹がより黒化しており、警告色と隠蔽色の中間的な機能をもつのではないかと推定された (7)。

近縁な2種が同所的に生息するようになると、両種の間は何が起こるだろうか。近縁な2種間で交雑が起こると雑種集団に置き換わるかも知れない。一方、雑種形成が不適応だと、交雑が防止されるように形質置換が生じる可能性が高い。さらに近縁とは言え、交雑が生じない2種であれば、両種はそれぞれ共存可能である。雑種集団では2種の特徴が消失し、形質置換では2種の特徴が際立ち、交雑することがなければ2種の特徴はそのまま維持される。ニホンカワトンボとアサヒナカワトンボは近縁な2種であるが、それぞれが単独で生息する地域と同所的に生息する地域がある。これら2種には雌雄ともに繁殖行動と関連する翅の色彩多型が知られており、その組み合わせが地域ごとに異なる。そこで、日本各地の単独生息地域と同所的な生息地域から採集された個体の形態を調べ、核DNAによる種の同定を行い、ミトコンドリアDNAによるハプロタイプ共有率を計算した結果、2種間で交雑している地域、形質置換が生じている地域、共存地域が存在することがわかってきた (14)。

オオツノコクヌストモドキはオス同士がメスをめぐる闘争を行い、オスでのみ大顎などの誇張形質が発達する。これまでに、インスリン様ペプチド2 (ILP2) が大顎サイズを制御することが知られていたが、RNAiによる遺伝子ノックダウン後、行動や生理状態を調べる実験から、ILP2は体サイズの制御や、幼虫から成虫に持ち越される脂肪量、オスの闘争行動など、非常に多面的な機能を持つことが明らかになった (28)。また、武器発達を司る遺伝子の機能スクリーニングから、メスで高発現する遺伝子の中に、武器形成に関わる遺伝子が存在することが明らかになってきた (22)。

単為生殖は家族集団の血縁度を高めるため、包括適度の観点から社会性昆虫に高い利益をもたらさう。しかし、単為生殖のみを行なう絶対単為生殖種はきわめて少なく、そのような種的生活史の解明は、社会性昆虫の繁殖システムの多様性と進化の理解に寄与する。本研究では、オスが発見されていないキロヒメアリの個体レベルと巣レベルにおける繁殖システムと、その帰結としてもたらされる社会構造を調べた。まず、本種の女王が産雌性単為生殖で未交尾のまま次世代の子を産むことを多角的な検証により確かめた。また、女王が飛翔能力をもたない無翅型であることを記載し、本種の巣レベルの繁殖が女王の歩行による短距離分散で行なわれることを示した。さらに、本種の集団遺伝構造には巣ごとの分化がみられず、また異なる巣の個体どうしに敵対的な行動が認められないことも明らかになった。一連の結果から、社会性昆虫における個体レベルと巣レベルの繁殖システムの新たなパターンを提示するとともに、アリの社会進化における新たなシナリオを提起した (15)。

多細胞生物の父母由来ゲノム間には利害対立が潜在し、どちらか片方の親のゲノムが優先的に発現する場合がある。社会性昆虫では、このような利害対立の様相が子世代へのゲノム共有率に応じて変化することが予想されている。沖縄本島に生息する一回交尾種のトゲオオハリアリをモデルとし、父母ゲノム対立の理論検証を行うために、沖縄本島の複数地点から採集した本種の人工交配コロニーを作成し、父母識別が可能なサイトを特定すると同時に、子世代の遺伝子発現データ (RNA-seq) を利用して子世代における父母アリの片親発現の実態を調べた (25)。

(3) その他

以上の他、スカシヒロバカゲロウの幼虫の防御行動、ドクガ類における擬態進化、ミズカゲロウ類とシロカゲロウ類の系統分類、カエル類におけるアリ類の捕食行動などに関する調査・研究が行われた。

3. 研究発表

誌上発表

1. Futamura, R., Furusawa, C. and Okamiya, H. (2022) Winter gifts for river ecosystems: a massive supply of earthworms in early winter. *Ecology and Evolution*, 12: e9620.
2. Furusawa, C. and Okamiya, H. (2022) Gathering in an empty house: arthropod assemblages overwintering in abandoned hornet nests. *Ecosphere*, 13: e4074.
3. Hayashi, T., Hayashi, K., Hayashi, N. and Hayashi, F. (2023) Optimal pit site selection for antlion larvae: relationship between prey availability and pit maintenance costs. *Journal of Ethology*, 41: 59–72.
4. Ito, T., Sasaki, T., Takahashi, C., Sugawara, H. and Hayashi, F. (2023) The family Hydroptilidae Curtis (Trichoptera) in the Ogasawara Islands, northern Pacific, with particular reference to adaptive radiation in the oceanic islands. *Zootaxa*, 5231: 141–164.
5. Jiang, Y., Yue, L., Yang, F., Gillung, J. P., Winterton, S. L., Price, B. W., Contreras-Ramos, A., Hayashi, F., Aspöck, U., Aspöck, H., Yeates, D. K., Yang, D. and Liu, X. (2022) Similar pattern, different paths: tracing the biogeographic history of Megaloptera (Insecta: Neuropterida) via mitochondrial phylogenomics. *Cradistics*, 38: 374–391.
6. Liu, X., Hayashi, F. and Letardi, A. (2022) A new species of the fishfly genus *Ctenochauliodes* van der Weele (Megaloptera: Corydalidae) from Vietnam. *Oriental Insects*, 56: 160–170.
7. Tsubuki, M. and Hayashi, F. (2023) Pupal warning coloration of three species of *Cystidia* (Lepidoptera: Geometridae: Ennominae) in relation to their pupation sites. *Insects*, 14: 382.
8. Yokoi, K., Wakamiya, T., Bono, H. (2022) Meta-analysis of the public RNA-Seq data of the Western honeybee *Apis mellifera* to construct reference transcriptome data. *Insects*, 13: 931.
9. Yoshida, N., Morinaga, S., Wakamiya, T., Ishii, Y., Kubota, S., Hikosaka, K. (2022) Does selection occur at the intermediate zone of two insufficiently isolated populations? A whole-genome analysis along an altitudinal gradient. *Journal of Plant Research*. 136: 183-199.
10. Yu, P., Liu, X. and Hayashi, F. (2022) Functions of egg-coating substances secreted by female accessory glands in alderflies, fishflies and dobsonflies (Megaloptera). *Insects*, 13: 766.
11. Yu, P., Cao, C., Liu, X. and Hayashi, F. (2023) Adults of alderflies, fishflies, and dobsonflies (Megaloptera) expel meconial fluid when disturbed. *Insects*, 14: 86.
12. Yu, P., Iwanami, T., Yazaki, H., Tsubuki, M., Saito, K. and Hayashi, F. (2023) Cost of defensive spraying by larval *Osmylus hyalinatus* (Neuroptera: Osmylidae) for post-larval development. *Journal of Ethology*, 41: 129-139.
13. Zheng, Y., Hayashi, F. Price, B. W. and Liu, X. (2022) Unveiling the evolutionary history of a puzzling antlion genus *Gatzara* Navás (Neuroptera: Myrmeleontidae: Dendroleontinae) based on systematic revision, molecular phylogenetics, and biogeographic inference. *Insect Systematics and Diversity*, 6: 4.

口頭・ポスター発表

14. 林 文男 (2022) カワトンボ属 2 種の翅の複雑な色彩多型を交雑から読み解く. シンポジウム「DNA から紐解く昆虫の不思議な世界—繁殖生殖の進化—」. 日本昆虫学会第 82 回大会 (松本).
15. 井戸川直人、後藤彩子、土畑重人 (2023) “子” の顔が見てみたい: アリ幼虫の形態と機能の多様性. 日本応用動物昆虫学会第 67 回大会 (大阪).
16. 伊藤 文、岡田泰和 (2022) アイフィンガーガエル *Kurixalus eiffingeri* の共生腸内細菌叢とその機能. 日本爬虫両棲類学会第 61 回大会 (那覇).

17. 香月雅子、石川 謙、神村 学、松尾隆嗣、若宮 健 (2023) RNAi によって生じたフェモラータオオモモブトハムシの構造色変化. 日本応用動物昆虫学会第 67 回大会 (大阪).
18. 川本高司、岡田泰和 (2023) ヤマヨツボシオオアリのサブカースト間における脂肪量及び脂肪体の比較. 日本応用動物昆虫学会第 67 回大会 (大阪).
19. 岸野紘大、岡田泰和 (2023) トゲオオハリアリの老齡ワーカーの繁殖ポテンシャルは生涯維持されるのか. 日本応用動物昆虫学会第 67 回大会 (大阪).
20. 岡田泰和、若宮 健、藤井健太、藤岡春菜 (2022) 全コロンイートランスクリプトームによるアリの分業メカニズムの分子生理基盤解析. 日本動物学会 2022 年大会 (東京).
21. 岡田泰和、杉山実優、新美輝幸、山口勝司、重信秀治 (2023) オオツノコクヌストモドキの武器形成遺伝子の解析 I : 網羅的発現解析による探索. 日本応用動物昆虫学会第 67 回大会 (大阪).
22. 杉山実優、岡田泰和 (2023) オオツノコクヌストモドキの武器形成遺伝子の解析 II : 遺伝子機能スクリーニング. 日本応用動物昆虫学会第 67 回大会 (大阪).
23. 津吹 真, 林 文男 (2022) 鱗翅目幼虫に共通の黒/白/赤模様は捕食者の学習を介した警告色の収斂か. 日本動物行動学会第 41 回大会 (福岡).
24. 若宮 健、田村桃歌、丸山真一郎、岡田泰和、河田雅圭 (2022) ニホンミツバチのゲノム多様性および関連する表現型形質の探索. 日本進化学会第 24 回大会 (沼津).
25. 若宮 健、土畑重人、岡田泰和 (2023) トゲオオハリアリの遺伝子発現における父母ゲノム対立の検証. 日本応用動物昆虫学会第 67 回大会 (大阪).
26. 矢崎英盛, 林 文男 (2022) 蛾において性限定擬態が進化するための前適応. 日本進化学会第 24 回大会 (沼津). 学生優秀口頭発表賞受賞
27. Yazaki, H. and Hayashi, F. (2022) Sexual dimorphism in coloration of *Numenes* moths: possible mimicry to the different models between sexes. XXVI International Congress of Entomology, Helsinki, Finland.
28. 吉峯知歩、藤岡春菜、香月雅子、岡田泰和 (2023) オオツノコクヌストモドキにおけるインスリン様ペプチドの多面的機能解析. 日本応用動物昆虫学会第 67 回大会 (大阪).
29. Yu, P. and Hayashi, F. (2022) Diverse functions of egg covering materials in Megaloptera. XIV International Symposium of Neuropterology, Brazil (Online).

その他の出版物、受賞など

30. 矢崎英盛 (2022) 国際昆虫学会議・第 26 回ヘルシンキ大会参加記. 昆蟲 (ニューシリーズ), 25: 177-180.
31. 2022 年度日本哺乳類学会論文賞受賞: Tamura, N., Ito, M. and Hayashi, F. (2021) Different responses of endemic and alien tree squirrels to tree seed chemicals. *Mammal Study*, 46: 237-250.
32. 日本進化学会第 24 回大会学生優秀口頭発表賞受賞: 矢崎英盛, 林 文男 (2022) 蛾において性限定擬態が進化するための前適応.



図 1. ヒロオビトンボエダシャクのオス。この種の蛹は枝に付いて、警告色としてよく目立つ色をしている。

植物生態学研究室

1. 構成

鈴木準一郎、立木佑弥、石原真路 (M2)、尾崎麻衣 (M2)、谷口直 (M2)、大村 拓平 (M1)、中野 美希 (M1)、梅田栄作 (卒研)、富塚暖史 (卒研)、西川知里 (卒研)、山本美由 (卒研)、可知直毅 (客員教員)、畑憲治 (客員研究員)、Jeremy T. Lundholm (客員研究員)

2. 研究紹介

本研究室では、高等植物を中心とする生態現象をさまざまな時間的・空間的スケールで多角的にとらえることをめざしている。そのために、フェノロジー観察、植生調査、個体群統計、成長解析、野外実験、栽培実験、数理・統計モデル、分子マーカーを用いた遺伝的解析、脂肪酸分析、生理的特性の測定などの手段で、キャンパス内の緑地、温室や圃場や人工気象室、小笠原の海岸草原や乾性低木林、八ヶ岳の針葉樹林、東京大学秩父演習林、富士山、ヨーロッパの半自然草原、各地のササ群集などの場所で研究を行っている。対象としている生物も、モデル植物であるシロイヌナズナをはじめとする各種の草本植物や木本植物、植食性の昆虫など多岐にわたる。野外で植物が繰り広げる生態現象の多様性を反映して研究内容も多彩である。詳しい研究紹介は植物生態学研究室のホームページ (<http://www.biol.se.tmu.ac.jp/plantecol/>) に掲載されている。ここでは、卒業研究および修士論文について研究課題と概要を紹介する。

1) ササタケ類の一斉周期に関する地理的傾向創出機構

タケササ類は長寿命の一回繁殖型植物であり、大規模に同調して開花することが知られている。一斉開花の周期は種によって数年から 120 年と大きなばらつきがあるが、地理的スケールでみると熱帯から温帯へと分布を北上するに従い開花周期が長くなる傾向がある。どのようにしてこの地理的傾向が創出されたのかは未解決であるが、興味深いことにクローナル成長の形質である地下茎が長く、水平方向に広く展開する性質を呈す種ほど、開花周期も長くなることが指摘されている。そこで、この相関関係が進化的に創出されるのかを調べるために、開花周期と地下茎の長さの 2 つを進化形質とした進化シミュレーションを構築した。地下茎による水平方向へのクローナル成長を扱うため、連続的な 2 次元空間で稈を単位としたエージェントベースモデルを構築した。タケササ類の生活史を考慮し、発芽後、一定期間クローナル成長を行った後に開花枯死するとした。今後は、地下茎長と開花周期の進化について、パラメータ依存性を検討した後、環境不均質性など、地理的スケールでの依存性を評価していく (梅田栄作：卒業研究)。

2) ベイツ型擬態における種間相互作用と進化-生態フィードバック

ベイツ型擬態では、Mimic (無毒な種) は Model (有毒な種) と同所的に存在することで、捕食者から捕食されにくくなるという恩恵を受けていると考えられる。しかし、Mimic が Model と異所的に分布している事例が複数報告されている。この問題はベイツ型擬態における未解決問題の一つである。先行研究では、Mimic と比較して Model の環境収容力が十分に小さい地域では、Mimic の存在を区別できない捕食者によって、Model もまた捕食されてしまうことで、Model の絶滅が起こり、結果的に環境収容力の高い Mimic のみが生息するようになることが数理モデルによって示されている。しかし、この研究では Mimic の表現型の進化を考慮していない。本研究では、2 種の表現型を明示し、Mimic の表現型進化を考慮した数理モデルを新たに作成した。これを解析したところ、Model の環境収容力が十分に小さくても Model の絶滅は起こらず、両種が共存できることが分かった。Model が少なくなった場合には、Mimic は、擬態が捕食回避の役割を果たさ

なくなり、捕食リスクが高くなるためむしろ隠蔽的な形質が適応的になる。Mimic が隠蔽的になれば捕食者は Model と Mimic の区別がつくようになるため、Model は自身のもつ毒により、捕食を免れ、絶滅を回避できると考えられる（冨塚暖史：卒業研究）。

3) 種子重量が地上部と地下部の重量比に与える影響のエノコログサを用いた解析

地上部と地下部での物質の分配は、植物が環境の資源に応答する機構の一つである。成長初期の物質分配は、その後の成長や生存に影響する。資源獲得能力が不十分な実生の成長は、種子の貯蔵物質に依存し、その量によって物質分配が変化することが知られている。実生は地下部を先に発達させ、成長につれて地上部への分配が増加する。草本植物の種間比較によれば、種子重量の大きい種で地上部への分配が大きいことが知られている。種子の重量は種内の個体間や個体内でも変異が大きい、同種内での種子重量と地上部と地下部の重量比(R:S 比)の関係は知られていない。そこで、種子重量と実生の R:S 比を測定し、同一種内での初期の物質分配への種子重の影響を明らかにした。先行研究より、地上部への分配は、重い種子で軽い種子よりも大きいと予想した。1粒ずつ秤量したエノコログサの種子を、東京都立大学南大沢第二圃場のビニールハウス内で播種、栽培し、発芽から24日後に植物を刈り取り、地上部と地下部に分けて乾燥させ、秤量し R:S 比を求めた。予想とは異なり、種子重量と R:S 比の間に有意な相関は見られなかった。重い種子ほど、地上部重量が大きい傾向は見られたが、分散も大きかった。本実験では、栽培期間が長く、種子の貯蔵物質の影響が見られなくなった可能性がある（西川知里：卒業研究）。

4) イタドリ *Fallopia japonica* 地上茎断片における節の有無および長さの再成長への影響

イタドリは侵略的外来種として英国では大きな問題となっており、多くの駆除方法が検討されている。植物体の断片化処理もその一つである。しかし、植物断片が再成長すれば、拡散を助長する可能性もある。そのため、地下茎を対象に植物体断片からの再成長の可能性は検討されてきたが、地上茎を対象とした研究は進んでいない。そこで本研究では、イタドリ地上茎断片の節数と長さとし生重量が再成長に与える影響を検討し、断片化処理に有効な断片サイズの提言を目指した。側芽・頂芽を切除した異なる長さの地上茎断片を用い、2つ栽培実験を行った。実験1では地上茎が再成長能力を有することを確認した。10cmで1節の断片でも50%確率で植物体が再生し、24cmで4節の断片では、再生率は100%となった。実験2では節の有無と異なる長さで再成長の有無を検討した。節がない場合には、植物体の再成長は見られなかった。節が1の場合は、長さとともに再生率は増加し、2cmで16%、6cmで83%が植物体を再生した。生重量でも節があれば、重い断片ほど再生率は増加した。以上より、節を含まず、長さも重さも小さいと再成長の可能性は極めて低いことが明らかになった。イタドリの地上茎を断片化処理する場合には、長さを2cm未満にまで破碎することが重要である（山本美由：卒業研究）。

5) 異なる土壤水分条件下で生育した雌雄異株植物アオキの生物量の雌雄比較

雌雄異株植物では、成長や生殖への資源分配が雌雄間で異なることが多い。この違いは、環境への応答の雌雄差によるとされるが、その応答パターンは必ずしも一定ではなく、さらなる検討が必要である。そこで、異なる環境下でアオキの成長を測定し、環境応答の雌雄での違いを議論した。土壤水分量によって、アオキの成長に雌雄差が見られるという仮説を土壤水分量と性を2要因とする栽培実験で検討した。また、植物の光合成や成長特性と密接に関連する気孔密度を、東京都立大学南大沢キャンパス内の松木日向緑地内に生育するアオキで計測した。アオキの成長量は土壤水分量に雌雄とも依存し、土壤水分量が少ないと雌では成長量が著しく小さいか枯死し、雄では一定の成長を示し枯死もしない、と予測した。そこで、開花し雌雄を識別可能なアオキ個体より枝を2021年7月に採集し、挿し木し栽培した。2021年11月から2022年12月まで

土壌水分量を3段階とする給水処理を実施し、生残したアオキを刈り取った。土壌水分量はアオキの生残と生物量と葉面積に有意に影響した。土壌水分量が少ないほど枯死個体が多かった。雌雄で生残率の有意差は見られなかったが、予測とは異なり雄で枯死しやすい傾向が見られた。雄では、高さ成長が有意に大きく、生物量の増加は有意に小さかった。個体重あたりの葉の重量である葉重比には有意な性差が見られ、性と生物量、および土壌水分量と生物量の交互作用も有意だった。個体重あたりの葉面積である葉面積比では性と生物量および性と土壌水分量と生物量の交互作用が有意だった。個体の葉面積あたりの成長速度である純同化率は土壌水分量が多いほど有意に高かった。以上より、アオキでは性差および土壌水分量による生物量の違いが見られ、雌の生残率が高く、雄で低い傾向にあり、生物量は土壌水分量で有意な差が見られた。

松木日向緑地内の5地点に生育するアオキで、その気孔数を雌雄と地点間で比較した。また、2021年12月から2022年12月まで1ヵ月に2回、各地点で土壌水分量を測定した。単位葉面積あたりの気孔数には、地点間で有意な差があり、地点と雌雄の交互作用も有意だった。各地点の微地形には差は見られなかったが、気温、降水量に対する土壌水分量の変化は地点によって等しいとはいえなかった。以上から、アオキの気孔数は生育場所の影響を受け、その影響の現れ方には雌雄間で違いが見られる可能性がある(尾崎麻衣:修士論文)。

6) チュウゴクザサ更新初期の個体群動態を規定する生態学的要因

ササタケ類は長寿命一回繁殖型のクローナル植物であり、地下茎を介したクローナル成長を続けた後に広範囲で一斉に開花・枯死する。その後、発生した実生個体群により更新し、数十年かけて元の個体群へと回復していく。長いものでは120年に一度という長周期で起こるササタケ類の一斉開花はこれまで生態学者の興味を惹いてきた。しかし、発芽後のササ個体群回復初期過程に関する知見は、開花時の知見に比べて乏しく、どのような生態学的プロセスが個体群動態を規定するのかはほとんど知られていなかった。

本研究では、2007年に一斉開花枯死した京都市左京区大見のチュウゴクザサ個体群を対象に、一斉枯死後の個体群回復過程を解析し、個体群動態を規定する生態学的要因の定量化を行った。2008年の発芽から2022年の間で9回に渡り調査を行い稈の空間情報、遺伝的個体識別情報、高さを記録してきた。稈の出生数、死亡率を応答変数とし、局所密度、稈高、マイクロサテライト反復数に基づくホモ接合度を説明変数とした一般化線形モデルを構築した。稈を単位とした個体群動態モデルを出生死亡過程から構築し、個体群増殖率を導出した。

この個体群では、発芽後数年間は地下茎を介したクローナル成長が限定的であったが、発芽から4年目以降に旺盛な地下茎の伸長が見られ、稈密度が急増した。稈密度は6年目に最大となり、その後減少した。一方、平均稈高は発芽から15年間、単調に増加した。稈の死亡要因については、1)発芽直後に近交弱勢が有意に作用し、その後数年間は作用が見られなくなるものの、稈密度が劇的に増加したタイミングで再び有意に作用した。2)稈密度が高まると、密度が有意に作用し死亡率が高くなった。3)相対的に小さい稈の死亡率が有意に大きかった。一方、クローナル成長による新規稈生産数については、密度が小さいときは、稈密度が高くなるほど生産数も高まるが、密度が十分に高くなると生産数が減少した。これらのプロセスにより、稈密度が極端に十分に高くなると、稈密度が減少することが示唆された。さらには、密度効果とクローナル成長による分布拡大の相互作用により、発芽初期には不均質であった稈の空間分布が均質化することが見いだされた(谷口直:修士論文)。

上記以外の継続中の研究課題は、植物生態学研究室のホームページ(<http://www.biol.se.tmu.ac.jp/plantecol/>)に紹介されている。

3. 各種活動

- 2022年4月5日に、NHK WORLD-JAPAN「Science View」において、The Mystery of the Dying Bamboo に立木が出演し、一斉開花の進化理論について解説した。
- 2022年11月11日に、東京都立大学8号館で開催されたバイオカンファレンス2022で、ポスター発表を行った。ポスターの発表者とタイトルは、大村拓平、立木佑弥、鈴木準一郎「土壌資源分布が垂直方向で異なる環境下でのカキドオシの根の空間分布の変化、Root biomass responses to vertically heterogeneous nutrient distribution in a clonal plant, *Glechoma hederacea*.」
谷口直(都立大)、松尾歩(GENODAS)、富松裕(山形大)、岡野邦宏(秋田県立大)、陶山佳久(東北大)、齋藤智之(森林総研)、柴田昌三(京都大)、鈴木準一郎(都立大)、蒔田明史(秋田県立大)、立木佑弥(都立大)「チュウゴクザサ更新初期過程に影響を与える生態学的要因について、Factors affecting regeneration process after mass flowering in a dwarf bamboo (*Sasa tyuhgokensis*).」
富塚暖史、鈴木準一郎、立木佑弥「送粉者誘引への利他的投資の進化に空間構造が与える影響、The effect of spatial structure on the evolution of altruism in floral display.」
中野美希、古川聡子、立木佑弥、鈴木準一郎「クローナル植物イタダリの生理的統合と病原菌の植物個体内拡散、Physiological integration in a clonal plant, *Fallopia japonica*, and the spread of pathogens within a plant.」
だった。
- 2023年3月19日に、日本生態学会第70回大会(仙台)フォーラム「転換契約って何? 日本のOpenScienceの推進と学会誌の転換」にて鈴木がEcological Researchの編集長としてコメンテーターを務めた。
- 2023年3月19日に、日本生態学会第70回大会(仙台)フォーラム「野外調査に初めて行く人のための安全講習」にて鈴木がコメンテーターを務めた。
- 2023年3月20日に、日本生態学会第70回大会(仙台)フォーラム「Ecological Researchで特集企画(Special Features)を出版しよう」を鈴木がEcological Researchの編集長として主催した。

4. 研究発表

誌上発表

- Fukano, Y., Tachiki, Y., Kasada, M., & Uchida, K. (2022). Evolution of competitive traits changes species diversity in a natural field. *Proceedings of the Royal Society B*, 289(1983), 20221376.
- Fukano, Y., Uchida, K., & Tachiki, Y. (2023). Urban-rural gradients: how landscape changes drive adaptive evolution of plant competitive traits. *Evolutionary Ecology*, 37, 215–232.
- Suzuki, S.N, Kachi, N., & Suzuki, J.-I. (2023) Variation in abundance of trees originating from sapling banks facilitates the coexistence of two *Abies* species in a wave-regenerated forest. *Ecological Research*, 38, 167–176.

その他の出版物

- Suzuki, J.-I. (2022) Message from the new Editor-in-Chief. *Ecological Research*, 37, 4.

その他、日本生態学会第70回大会(仙台)、2022年度日本数理生物学会年会などで計8件の発表を行った。口頭発表の詳細は研究室ホームページ (<http://www.biol.se.tmu.ac.jp/plantecol/>) に掲載されている。

動物系統分類学研究室

1. 構成

本研究室は、1) 系統分類学・系統地理学研究グループと、2) 動物行動学・進化生態学研究グループによって構成される。

1) 系統分類学・系統地理学研究グループ

江口克之、吉田貴大、Francesco BALLARIN (特任助教)、菊地波輝 (特任研究員)、Jih-Rong LIAO (JSPS 外国人特別研究員)、山田藍生 (D3)、塚本将 (D3)、HA Ngoc Linh (D3)、片岡利文 (D1)、Phongphayboun PHONEPASEUTH (D1)、Irawan Ardika Dani (M2)、加藤億人 (M1)、杓掛丈 (M1)、荒木葵 (M1)、長井聡道 (M1)、Bounsanong CHOUANGTHAVY (M1)、Alexander TOSHIMA (M1)、Kiran Thapa MAGAR (M1)、戸田美緒香 (B4)、小林陽允 (インターンシップ研修生)、塚賀員 (インターンシップ研修生)、蛭田眞平 (客員研究員)、稲垣英利 (客員研究員)、伊藤文紀 (客員研究員)、三谷奈保 (客員研究員)、中野隆文 (客員研究員)、野中勝 (客員研究員)、大林隆司 (客員研究員)、坂巻祥孝 (客員研究員)、島野智之 (客員研究員)、砂村栄力 (客員研究員)、寺山守 (客員研究員)、山崎健史 (客員研究員)、Adrian RICHTER (客員研究員)、DANG Van An (客員研究員)、Hau-Chuan LIAO (客員研究員)、HSU Feng-Chuan (客員研究員)、NGUYEN Dac Dai (客員研究員)、NGUYEN Duc Anh (客員研究員)、NGUYEN Thanh Luong (客員研究員)、NGUYEN Thi Phuong Lien (客員研究員)、PHAM Dinh Sac (客員研究員)、PHUNG Thi Hong Luong (客員研究員)、Rijal SATRIA (客員研究員)、SU Yong-Chao (客員研究員)、TRUONG Xuan Lam (客員研究員)、Wendy WANG (客員研究員)

2) 動物行動学・進化生態学研究グループ

Adam Cronin、Isaac Planas-Sitja (特任助教)、Nguyen Thi Thu Ha (D3)、諸岡真希 (M2)、堺琢人 (M1)、竹中海斗 (M1)、Manolo Benitez (M1)、三島智尋 (B4)

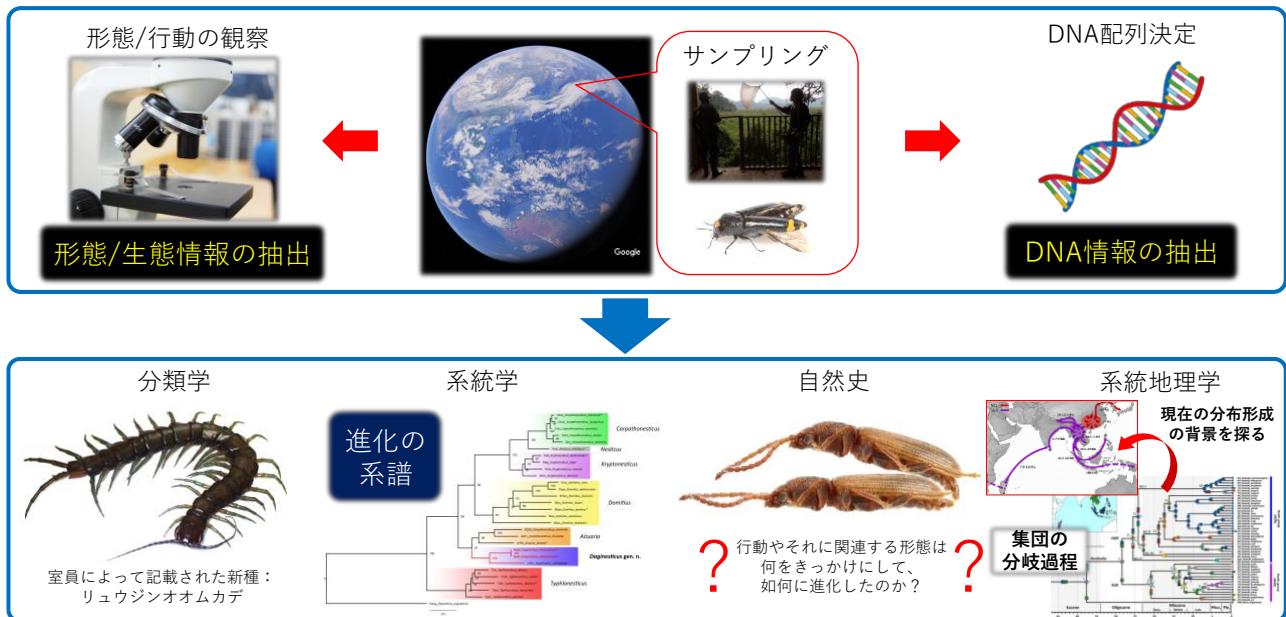
2. 研究紹介

1) 系統分類学・系統地理学研究グループの研究概要

我々研究グループは、日本だけでなく、東南アジア (特にインドシナ地域) に生息する陸上無脊椎動物の様々な分類群を対象として、研究に取り組んでいる。分類学は今まで種同定が困難であった分類群について、誰でも同定できる状態に整理することで、生物学のすそ野を広げる学問である。我々は、研究対象の無脊椎動物について、調査地域でどのような種が分布しているのかを調べ (種相の解明)、新分類群 (新種や新属) を発見すれば、それらを記載し、分類学的な基盤を作っている。また、系統学は対象分類群の進化の系譜を明らかにする学問である。DNA 配列や形態情報を使って、研究対象の系統関係を明らかにすることで、従来知られていた分類体系の更新や、形態・生態の進化に迫っている。正確な系統関係を推定するために、次世代シーケンシングによって得られる縮約ゲノム情報を用いた系統解析にも取り組んでいる。同様の手法で、対象分類群が、地域間でどの程度遺伝的に離れているかを調べることで、生物集団の分岐過程や空間分布形成の背景を明らかにしている (系統地理学)。また、研究の進んでいない分類群に注目していると、未知なる興味深い生態が判明することもある。その生態や関連する形態の多様性・進化史を明らかにすることで、その分類群の生き様を解き明かしている。ほかにも、東京都や東京都下の自治体と連携して、外来種の防除に関する基礎研究も行っている。研究活動の詳細 (前年度以前) に関しては、各 PI の URL も参照されたい。

- 江口克之 : <https://www.researchgate.net/profile/Katsuyuki-Eguchi-2>
<https://researchmap.jp/antist2007/>

- 吉田貴大 : <https://amamiikitai.wixsite.com/yoshida>
<https://www.researchgate.net/profile/Takahiro-Yoshida-6>
- Francesco Ballarin : <https://www.researchgate.net/profile/Francesco-Ballarín-2>
- 菊地波輝 : <https://www.researchgate.net/profile/Namiki-Kikuchi>



A) アリ類の系統分類学的、多様性生物学的研究

- 東部インドシナ半島とその周辺地域におけるナミバラアリ属 *Acanthomyrmex* の種多様性、系統地理、および進化史の解明を目的としたこれまでの研究のまとめを行い博士學位論文を執筆した。2023年3月にはベトナム中北部・北西部においてアリ類の多様性探索を目的とした野外調査を行った。結果として稀なムカシアリ亜科 *Leptanilliane* に属するいくつかの興味深い種が得られ、とくに極めて情報が少ないナギナタアリ *Opamyрма hungvuong* の生態に関する新しい知見を得ることができた。後者については来年度中での論文発表を目指して研究・執筆作業を進める予定である。【山田】

B) 東アジア産ヒメバチ科ヒメバチ亜科(膜翅目)の系統分類学的研究

- ヒメバチ亜科はヒメバチ科に含まれる最も属・種数の多い一群で、全てが鱗翅目の寄生者と考えられている。東アジア地域での多様性解明は比較的遅れていると考えられ、日本からは270種程度が記録されているが、ヨーロッパ地域の既知種数の半分に満たない。また、分類の遅れにより、寄主情報の蓄積がほとんどなされていないのが現状である。本研究では、日本を中心とした東アジア地域での多様性を解明し、系統分類学的に整理することを目的としている。今年度は、ヒメバチ亜科ウワバヒメバチ属 *Stenichneumon* の日本産種について、標本に基づく新分布記録・新寄主記録をまとめ、種への検索表を付した論文として発表した。【菊地】

C) 甲虫の分類学・系統学・自然史

- カミキリムシ科(鞘翅目)の分子系統解析: 外部形態は酷似しながら28SrRNAの部分配列によっては明瞭に区別できる日本産 *Leiopus* 属の2種、ゴマダラモモブトカミキリ (*L. stillatus*) とニセゴマダラモモブトカミキリ (*L. masaoi*) の分布調査を進めた。*Leiopus stillatus* の28SrRNA配列はフォッサマグナを挟んで非連続的な東西二系統に分かれ、これまで太平洋側の境界は相模川とされていたが、東丹沢大山の本種が東系統に属することが判明した。西丹沢犬越路の本種は西系統に属することが知られていたため、両系統の境界は丹沢山塊の中に存在することになった。また従来ブナ帯との強い結びつきが示唆されてきた *L. masaoi* が、ブナ帯とは遠く離れた北海道幌加内町から確認された。【野中】
- ヒラタムシ上科の自然史研究: これまでの研究に引き続き、生息環境への適応に着目した進化的研究

を進めた。本年度でも、二次元環境への適応と交尾行動の関係について、チビヒラタムシ科・ヒラタムシ科・ホソヒラタムシ科の樹皮下生活者を中心に観察を進め、新たな交尾姿勢をする分類群が発見された。野外調査は小笠原、八丈島、宮古島、与那国島などで実施し、本上科の未記載種や未記録種を複数発見したほか、これまで未知だった特殊な生息環境を解明することができた。また、オオキノコムシ科 *Toramus* 属の幼虫の脱皮殻保持行動に関する日本語の解説記事を出版した。加えて、葉鞘環境に生息すると考えられる *Synoemis* 属 (ホソヒラタムシ科) の1新種をブラジルから記載した。これは本属の新世界からの初めての記録でもある。【吉田】

- そのほかの甲虫の分類学的研究: 世界のヒラタムシ上科のチェックリスト作成プロジェクトに携わり、アメリカの研究者とともに、ホソヒラタムシ科とチビヒラタムシ科のチェックリストをアップデートした。また、樹皮下で生活するヤセアトキリゴミムシの幼虫について、形態記載を行い、幼虫が野外でヒメヒラタムシ (ホソヒラタムシ科) の蛹を摂食していた観察事例とともに論文を出版した。【吉田】
- Integrative taxonomy of Laotian ambrosia beetle (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae: Xyleborini): This research approach will be revised the species recognition and classification of the ambrosia beetle based on morphological characteristics and confirmed by molecular phylogenetic analyses. In this study, I am on an examination of the morphological characteristics of several specimens of ambrosia beetle that belong to several genera and will be finished by the next semester. After all, genera were assigned, then species level will be identified and confirmed by molecular phylogenetic analyses later. I expected that several species of ambrosia beetle will be the first recorded for the first time in Laos and some of them could be possible new for science. 【Chouangthavy】
- Diversity of beetle family Curculionidae and Bostrichidae (Coleoptera) in two National Protected Areas in Lao PDR captured with different trapping methods: In the present study, four different trapping methods were applied including window traps, pitfall traps, beating, light traps while additional specimens were directly hand collected from plants during the study period in 2018 and 2019. We recorded on three subfamilies (Scolytinae, Platypodinae and Bostrichinae), 236 beetle specimens were obtained, 123 from Dong Hua Sao NPA and 113 from Hin Nam No NPA, composing of 44 species from 24 genera. The Scolytinae were predominant in terms of species richness and abundances. Our results contribute towards improved understanding of insect species diversity and approaches for conserving biological resources in Lao PDR. 【Chouangthavy】

D) クモ・ダニ類の多様性生物学的研究

- Biogeography and diversity of ground and subterranean spider fauna in Eastern Asia and Europe: My research involves the study of diversity, biogeography, systematic, and evolution of European and Asian spiders (Arachnida, Araneae) dwelling on ground and subterranean environments. During the course of the last year, I mainly focused on working on systematic problems involving Eurasian taxa. Consequently, I have published articles describing new spider species from Europe and Japan and discussing the boundaries of some genera. In addition, I have continued working on some wider projects which were started in the previous years. In order to acquire new data, additional field work has been carried-out surveying forests and subterranean environments in numerous localities in mainland Japan and in several islands of the Ryukyu archipelago. I aim to use the results of these collections for researches on the diversity, origin and distribution of the endemic Japanese spider fauna. Taxonomic and phylogeographic analyses of previously-collected spider samples are also currently in progress and new species are under description. They include several new species from Japanese caves and new species of money-spiders (Fam. Linyphiidae) from the Ryukyus. I am also continuing to study the impact of invasive spider species in Europe and Japan and carrying-out ecological analysis of the functional traits of the Eurasian subterranean spider species.

【Ballarin】

- 関東山地に生息するホラヒメグモ科ホラヒメグモ属の系統解析および未記載種の記載：ホラヒメグモ科は、多くの種が土壌中および洞窟などの暗黒・湿潤な空間に依存して生息するクモ目の科である。そのなかでも *Nesticus* 属は、全世界で 126 種、日本各地からは 46 種が記載されているが、国産種の種分類は主に形態に基づいて行われている。本研究では、分子系統解析ならびにその結果と生殖器形態との比較を用いて、多くの石灰岩地帯および鍾乳洞を胚胎する関東地方西部の山地（関東山地）に生息するホラヒメグモ類の未記載種・隠ぺい種の記載を行うとともに遺伝的構造を明らかにすることを目的とする。本年度は関東山地の洞窟 19 ヶ所および周辺の沢など湿潤な環境へ調査に行き、約 150 個体のサンプルを得た。また、そのうち未記載と見られた 2 形態種の標本より DNA を抽出し、ミトコンドリア DNA 上の COI 領域を PCR にて増幅し、既知種の同領域の配列と比較することで系統解析を行った。その結果、現状で少なくとも 1 種は未記載種であろうと推測されたため、記載論文を作成中である。【長井】
- Integrative species delimitation in spider mites by phylogenomics, morphometrics and niche modeling: Spider mites (Acari: Tetranychidae) are a notorious mite family worldwide, with some species being plant pests in agriculture (e.g., *Tetranychus urticae*), causing huge economic losses. The *Tetranychus urticae* complex is a long-standing issue among acarologists with misidentification and taxonomical status often questioned due to its small size and few morphological characters that make identification to the species level difficult (e.g., *T. urticae*, *T. telarius*, and *T. cinnabarinus*). In addition, *T. urticae* has two main color forms, red and green. Although ketolase are involved in color determination, the potential genetic basis of the difference in body color between the two forms remains to be further explored. The study aims to test the validity of an integrated approach to clarify the species boundaries and speciation continuum among *T. urticae* and related species, including molecular (genomics), morphological (XGBoost), and ecological (ENM) analyses as well as conventional morphological examination. Last year (2022.11~2022.3), a spider mite survey was conducted in Ishigaki and Yonaguni to investigate the occasional occurrence of two forms of *T. urticae* in past records. In addition, several field collections were conducted near Tokyo. Occurrence data for ENM studies were also prepared. The collection of spider mite will be continued in the next year, and in addition to this study, we can also explore other taxonomic issues. Through this project, I will be able to effectively using cutting-edge techniques such as genome-wide sequencing to provide a good model of “modernized invertebrate taxonomy”. This research allows us to propose integrated species delimitation and identification protocols that can be extended not only the taxonomy of spider mites, but also to other microarthropods that have important functions in soil ecosystems, and important taxa as pests or biocontrol agents in agricultural ecosystems. 【Liao】
- 琉球列島における林床棲ハエトリグモ類の種相と地理的遺伝構造の解明：琉球列島の森林、特に林床層において、無脊椎動物相の解明は不十分であり、クモのような小型の節足動物においては未記載種の存在が期待される。そこで対象分類群として、クモ目の中で最も種数の多いハエトリグモ科を選び、琉球列島の林床の種相を調べた。鹿児島県大隅半島、屋久島、奄美大島、沖縄本島、久米島、石垣島、西表島、与那国島の 8 地域で採集を行い、全 19 種が確認された。そのうち 1 種が日本初記録種、3 種が未記載種であった。これらについての記載論文は準備中である。また、地理的遺伝構造の解明のため、琉球列島全域から採集された、2 つの属、マミジロハエトリ属 *Evarcha* とアリハエトリグモ属 *Synagelides* のそれぞれについて、これから系統樹を作成し、それを琉球列島の地形と照らし合わせることで、その遺伝構造の形成要因を推察していく予定である。【荒木】

E) 多足類の分類学的、多様性生物学的研究

- 日本・台湾産ナガズジムカデ科の系統地理学的研究：ナガズジムカデ科は世界で 11 属が知られている。

そのうち、日本・台湾では9属が知られ、うち3属が当該地域に固有である。本研究は、ナガズジムカデ科の系統ならびに分散、それに伴う種分化の歴史の解明を目的としている。本年度は、核・ミトコンドリア遺伝子による系統解析の結果、ナガズジムカデ科の各形態種に多くの隠蔽種が存在していることが明らかとなった。また、日本にて筆者により発見された9属目の属の新種記載論文が出版された。プレスリリース：<https://www.tmu.ac.jp/news/topics/34929.html>【塚本・島野・江口】

- Complete characterisation of Scolopendrid centipedes of Sri Lanka: In this study I plan to conduct a complete taxonomic characterisation of Scolopendrid centipedes of Sri Lanka through both morphological and phylogenetic analysis. During the past six months I have been completing the phylogenetic analysis section of the baseline study that was conducted in Sri Lanka by myself during the years 2021 and 2022. 【Toshima】
- 日本産コムカデの系統分類学的研究: コムカデ綱コムカデ目は世界で220種余りが知られている。日本にはこのうち3属3種と、種は未確認の2属が生息するとされている。種が未確認の2属について調査が必要である上、そもそも調査報告が数件しかなく過小評価の可能性がある。また3属3種はヨーロッパを模式産地としており、3種の実態についても再検討する必要がある。本研究は日本産コムカデの種分類を網羅的に行うことを目的としている。本年度はホシザキグリーン財団の支援のもと、豊田ホテルの里ミュージアムと共同で、島根県各地から650個体程度のコムカデを新たに収集した。採集されたコムカデについてCOI遺伝子による分子系統解析と形態による属同定を行った結果、島根県内には少なくとも2科5属76暫定種のコムカデが生息していることが明らかになった。また、日本で初の記録となるScolopendrelloides属の生息も確認された。この結果はコムカデが知られているよりも種多様性の高いグループであることを強く支持した。今後は日本各地でのコムカデ調査を継続するとともに、本調査で発見されたコムカデの詳細な観察を行い、種記載にむけて研究を進めていく。【沓掛】
- 東・東南アジア産タマヤスデ類の系統分類学的・系統地理学的研究: 分子(ゲノム)系統解析と形態観察を組み合わせた統合的な手法によってタマヤスデ属(*Hyleoglomeris*)を中心としたタマヤスデ類の種多様性の解明を進めている。日本からは12種のタマヤスデ属が知られている(そのうちの1種は本年度に我々研究グループによって新種として記載・命名された。しかし、未記載種がさらに少なからず存在することを示唆する予備的結果を得ている。本年度は本州や四国、琉球列島、ベトナムを中心としてタマヤスデ類の最終を進める一方、分子系統解析や形態観察を進めた。【Nguyen DA・江口】

F) ナメクジ類の分類と系統地理

- 日本産ヤマナメクジ(*Meghimatium fruhstorferi*)とナメクジ(*Meghimatium bilineatum*)の分類と地理的遺伝構造の解明: ヤマナメクジとナメクジはナメクジ科*Meghimatium*属に属する日本の在来種であり、台湾、韓国、中国にも生息している。ナメクジ科では信頼できる種の分類形質が少ないことや分子系統学的な研究が乏しいことから分類学上の問題がある。また陸産貝類は地理的種分化が起りやすいため、ナメクジも地理的距離によって種内の遺伝的差異が生まれやすいと考えられる。本研究では形態学的情報と分子系統学的情報によるヤマナメクジとナメクジの分類の再検討を主な目的とし、地理的遺伝構造についても解明を試みた。本年度採集した約180個体中およそ50個体について、ミトコンドリアCOI遺伝子領域を用いて分子系統解析を行った。ナメクジは採集地に関わらず遺伝的な違いはほぼ見られなかった。一方ヤマナメクジは遺伝的な違いが大きく、ヤマナメクジと考えられている集団はさらなるグループに分かれる可能性が示唆された。【戸田】

G) ヒル類の系統分類学的研究

- DNA-based species delimitation of terrestrial leeches and comparison of terrestrial leech faunas among study sites West Sumatra, Indonesia: In this research, I aimed to discriminate the biodiversity of terrestrial leeches and compare terrestrial leech faunas in West Sumatra, Indonesia. We analyzed morphological and molecular

data in combination to delimit the *Haemadipsa* genus using different approaches. Morphologically, they revealed that five distinct groups, at least in this region, are potentially new species of *Haemadipsa*. Moreover, genetically based on the nuclear gene Histon H3 and mtCO1 strengthened proved that sequence-based species delimitation methods strongly supported the molecular dataset of the *Haemadipsa* group, including the Genbank database separated into five distinct groups, using a phylogenetic tree, coalescent ASAP (Assemble Species by Automatic Partitioning) and bPTP (Bayesian implementation of the Poisson Tree Processes model), and pairwise analysis of sequences. At the same time, the molecular approach proved the potential of the new species *Haemadipsa* group from west Sumatra and it proved the usefulness of the genetic approach in determining systematic species 【Ardika】

H) その他の研究活動、アウトリーチ活動

- 本学理学研究科と以下の研究機関との部局間学術協定締結において、本学側連絡担当教員として、中心的な役割を果たした： Tribhuvan 大学（ネパール；新規）。【江口】
- 生命科学専攻動物系統分類学研究室、植物系統分類学研究室と、ベトナム生態学生物資源研究所を中核とした研究プロジェクト（2020年度学長裁量枠戦略的研究プロジェクト、代表：村上哲明）の最終年度の活動として、3回のオンライン国際セミナーを共同企画運営した。【江口】
- ナショナルバイオリソースプロジェクト第5期（FY2022～FY2026）分担事業「アジアにおける ABS 関連実務事例の研究に基づく、多様性生物学分野での遺伝子資源取得・利用に対する支援活動」・分担課題管理者として、名古屋議定書にかかる国内指針への対応に関する相談・支援窓口を設置し、国内（学内を含む）の研究・教育機関や個人への助言やサポート、講演会を行なった。【江口、菊地、Ballarin】
- 東京都八丈町のアンジロヒラフシアリ対策プロジェクトに外部専門家として参加し、本種の防除のための基礎研究を八丈町、森林総合研究所とともに行なった。 <https://www.tmu.ac.jp/news/topics/34709.html> 【砂村・寺山・小林・沓掛・Ballarin・江口】
- 東京都立大学 2022 年度オープンユニバーシティ「種の多様性と進化を学ぶ ～「虫」を例に～」の講師を務めた【江口・吉田・Ballarin】
- 北大総合博物館昆虫サロン（オンライン、6月28日）日本蝶類科学学会（大岡山、11月20日）、TMU-UOS Life Science Conference（Seoul、2月10日）、都市有害生物管理学会（オンライン、3月25日）で招待講演をおこなった。【吉田】
- 東京都下の高等学校教員からの依頼に応じて、生物教育する助言やサポートを行なった。【江口】

2) 動物行動学・進化生態学研究グループの研究概要

A) Complex Systems Biology 【Cronin】

- *Empirical Studies of Collective Behavior* Building on the previous study by intern Purbayan Ghosh, we started more experiments with *Camponotus yamaokai* on looking at how group composition influences collective performance. These data are being combined with modelling studies at present 【Cronin・Sakai】
- *Modelling collective effects of personality* A new collaboration was initiated with the laboratory of Nir Gov in Israel to combine modelling with empirical data and explore the mechanics of collective behaviour using ants as a model system 【Cronin・Sakai】

B) Ecology and Evolution of Social Insects 【Cronin】

- *Invasion biology of Technomyrmex* The first paper comparing inter-island variation among invasive populations was published in *Animals*, and Diyona Putri successfully defended her PhD. A second paper, which will incorporate phylogeographic data and ecological niche modelling is in preparation 【Putri・Cronin】
- *Bee ecology and evolution* The data from our gene expression experiment on *Lasioglossum baleicum* provided

good data and results will be presented at the IUSSI meeting in California in 2022. We will need to repeat the experiment using frozen samples as RNAlater seems not up to the task. RAD-Seq data from colleagues in Taiwan are being analysed as part of Ha Nguyen's PhD thesis 【Cronin・Nguyen】

- *Social Immunity* Our study of immune activity in social and solitary *Lasioglossum baleicum* bees continues. Transcriptome analyses failed on our first trial as RNAlater did not provide sufficient preservation. We thus plan to repeat this work using frozen samples in 2022. Ha Nguyen developed a new method to analyse individual immune responses in *Ceratina* bees and the first results from these analyses are now being written up for publication 【Cronin・Nguyen】
- *Co-evolutionary dynamics of reproductive strategies* This work has been completed and the manuscript is currently in review in *Oikos* 【Planas-Sitja・Cronin】

C) Ecosystem and Evolutionary Ecology 【Cronin】

- *Pollinator networks in Ogasawara* The Ogasawara field study was completed successfully in 2021 despite many limitations of COVID. The very large data are now being collated and the first paper from this work prepared 【Quitian・Cronin】
- *Evolutionary ecology of Green Anoles* As an extension of our pollinator study, we began work on Green Anoles in 2021 as these lizards cause the pollinator decline that is the focus of the main project. We collected many lizards at different times and islands, and are now analysing morphological variation and undertaking a comparative analysis of diet using meta-barcoding methods 【Morooka・Cronin】

3. 研究発表

1) 系統分類学・系統地理学研究グループ

<誌上発表>

1. Mizuno R, Eguchi K, Satria R, Dang AV, Bui TV, Phuong LTH, Ito F. 2023 (online first). Colony composition, phasic reproduction, caste dimorphism, and prey preferences of the Oriental non-army doryline ant *Yunodorylus eguchii* (Borowiec, 2009) (Hymenoptera: Formicidae: Dorylinae). *Insectes Sociaux*.
2. 江口, 寺山, 砂村, 高須. 2023. 住民の力を結集して「スーパー難防除外来アリ」アシジロヒラフシアリを叩け:八丈島での挑戦. *ペストコントロール(日本ペストコントロール協会機関紙)*, 2023年1月号, 19-24. 【招待論文】
3. Ballarin F, Eguchi K. 2022. Taxonomic notes on leptonetid spiders from the Ryukyu Archipelago with the description of two new species and the first record of the genus *Longileptoneta* from Japan (Araneae: Leptonetidae). *Zootaxa*, 5213, 371-387.
4. 小栗, 杓掛, 江口. 2022. 生物多様性を捉える. *理科教室*, 2022年11月号 (No.815), 40-49. 【招待論文】
5. Satria R, Eguchi K. 2022. A new species of the genus *Myrmecina* Curtis, 1829 (Hymenoptera: Formicidae: Myrmicinae) from Sumatra. *Far Eastern Entomologist*, 463, 1-7.
6. Kuroda M, Susukida M, Sakamoto K, Tsukamoto S, Nguyen DA, Oguri E, Eguchi K. 2022. A new species of the genus *Hyleoglomeris* Verhoeff 1910 from Central Japan (Diplopoda: Glomerida: Glomeridae). *Acta Arachnologica*, 71, 115-124.
7. Ha NL, Lam TX, Ishikawa T, Jaitrong W, Lee CF, Chouangthavy B, Eguchi K. 2022. Three new species of the genus *Biasticus* Stål, 1867 (Insecta, Heteroptera, Reduviidae, Harpactorinae) from Central Highlands, Vietnam. *ZooKeys*, 1118, 133-180.
8. Tsukamoto S, Shimano S, Eguchi K. 2022. Two new species of the dwarf centipede genus *Nannarrup* Foddai,

- Bonato, Pereira & Minelli, 2003 (Chilopoda, Geophilomorpha, Mecistocephalidae) from Japan. *ZooKeys*, 1115, 117-150.
9. 江口, 村上, 菊地, Ballarin F. 2022. NBRP 第 5 期の下での ABS 支援事業の継続のご報告. 日本分類学会 連合ニュースレター, No. 39, 1-2.
 10. Kuroda M, Eguchi K., Oguri E, Nguyen DA. 2022. Two new cave *Hyleoglomeris* species (Glomerida, Glomeridae) from northern Vietnam. *ZooKeys*, 1108, 161-174.
 11. Sunamura E., Terayama M., Fujimaki R, Ono T, Buczkowski G, Eguchi K. 2022. Development of an effective hydrogel bait and an assessment of community-wide management targeting the invasive white-footed ant, *Technomyrmex brunneus*. *Pest Management Science*, 78, 4083-4091.
 12. Ballarin F., Eguchi K. 2022. Rediscovery of the troglobitic midget-cave spiders *Masirana glabra* (Komatsu, 1957) with redescription of the male and first description of the unknown female (Araneae: Leptonetidae). *Acta Arachnologica*, 71, 53-58.
 13. Liao HC., Terayama M., Eguchi K. 2022. Revision of Taiwanese and Ryukyuan species of *Pristepyris* Kieffer, 1905, with description of a new species (Hymenoptera, Bethyridae). *ZooKeys*, 1102, 1-42.
 14. Vu TH, Eguchi K., Le XS, Nguyen TTA, Nguyen DA. 2022. A new species and a new record of the genus *Otostigmus* Porat, 1876 (Chilopoda: Scolopendromorpha: Scolopendridae) in Vietnam. *Zootaxa*, 5129, 60-76.
 15. 寺山, 砂村, 藤巻, 小野, 江口. 2022. 八丈島における侵略的外来種アシジロヒラフシアリ *Technomyrmex brunneus* (膜翅目: アリ科)の分布の拡大. 昆虫 (ニューシリーズ), 25(2), 55-59.
 16. 江口, 塚本, Ballarin, 沓掛, 薄田. 2022. 台湾原産の不快害虫であるヤンバルトサカヤスデ *Chamberlinius hualienensis* Wang, 1956 (オビヤスデ目ヤケヤスデ科) の東京都本土における初確認. 衛生動物, 73(2), 59-61.
 17. Ballarin F. & Pantini P. (2022). An unexpected occurrence: discovery of the genus *Cybaeopsis* Strand, 1907 in Europe with the description of a new species from Italy (Arachnida, Araneae, Amaurobiidae). *Zoosystematics and Evolution*, 98(2): 377–385. Doi: <https://doi.org/10.3897/zse.98.90858>
 18. Ramirez M.J., Magalhaes I.L.F., Pizarro-Araya J., Ballarin F., Marusik Y.M. & Eskov K.Y. (2022). A new species of the spider genus *Tekellina* Levi, 1957 from Chile, with a broadened definition of the family Synotaxidae (Arachnida, Araneae). *Zoologischer Anzeiger*, 301: 76–90. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jcz.2022.08.005>
 19. Mammola, S., Pavlek, M., Huber, B. A., Isaia, M., Ballarin, F., Tolve, M., ... & Cardoso, P. (2022). A trait database and updated checklist for European subterranean spiders. *Scientific Data*, 9(1), 1–13. Doi: <https://doi.org/10.1038/s41597-022-01316-3>
 20. Petri I., Ballarin F., & Latella L. (2022) Seasonal abundance and spatio-temporal distribution of the troglolytic harvestman *Ischyropsalis ravasinii* (Arachnida, Opiliones, Ischyropsalididae) in the Buso del Valon ice cave, Eastern Italian Prealps. *Subterranean Biology*, 42, 151–164. Doi: <https://doi.org/10.3897/subtbiol.42.81486>
 21. Lin YS, Liao JR., Shiao SF, Ko CC. 2023. Lanternflies (Hemiptera: Fulgoridae) of Taiwan. *Zoological Studies* 62:07.
 22. Nonaka M., Yuzawa N. & Imura M. 2022. Molecular Phylogenetic Analysis of the Japanese Species of the Genus *Leiopus* (Coleoptera, Cerambycidae) Based on the 28S Ribosomal RNA Sequence. *Elytra, New Series*, 12(2), 137–145.
 23. Chouangthavy B. 2023. Diversity of beetle family Curculionidae and Bostrichidae (Coleoptera) in two National Protected Areas in Lao PDR captured with different trapping methods. *Proceedings of the Zoological Society*, in press.

24. Bento M., [Yoshida T.](#), Fonseca, C. R. V. d. 2022. A new species of *Synoemis* Pascoe, 1863 (Coleoptera, Cucujoidea, Silvanidae): the first record of the genus in the New World. *Neotropical Entomology*, 423–426.
25. Alencar J. B. R., Bento M., [Yoshida T.](#), Fonseca C. R. V. d., Baccaro F. B. 2022. Modeling potential invasion of stored-product pest *Cryptamorpha desjardinsii* (Guérin-Méneville, 1844) (Coleoptera: Silvanidae) with emphasis on newly recorded areas. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 25(2), 101891.
26. [Yoshida T.](#) 2022. Larval Morphology of *Mochtherus luctuosus* Putzeys (Coleoptera: Carabidae: Lebiinae: Lebiini: Pericalina) with Notes on Their Biology. *ESAKIA*, 55, 11–15.
27. [吉田貴大](#). 2022. オオキノコムシ科幼虫における脱皮殻の保持. *昆虫と自然*, 57(10), 26–29.
28. 児玉 洋, [吉田貴大](#). 2022. 橋本氏あやの台のナラ枯れ被害木より得られたチビヒラタムシ科と種ごとの個体数比率. *KINOKUNI*, (102), 3–6.

<口頭発表>

1. [Yoshida T.](#) Natural history of beetles living in dead leaves and under bark of dead trees. TMU-UOS Life Science Conference, University of Seoul, Seoul. 2023年2月10日.
2. [吉田貴大](#). 地味で小型な甲虫の研究の魅力. 北大総合博物館昆虫サロン, オンライン. 2022年6月28日. 【招待講演】
3. [吉田貴大](#). 地味で小さな甲虫の魅力的な自然史. バタフライズフォーラム (日本蝶類科学学会), 東京工業大学, 東京. 2022年11月3日. 【招待講演】
4. [吉田貴大](#). ヒラタムシ類 (甲虫目: ヒラタムシ上科) の生きざま. 都市有害生物管理学会第44回大会, オンライン. 2023年3月25日. 【特別講演】

<ポスター>

1. [Ardika D. I.](#) DNA-based Species Delimitation of Terrestrial Leeches and Coparison of Terrestrial Leech Fauna Among Study Site West Sumatera, Indonesia. TMU-UOS Life Science Conference, University of Seoul, Seoul. 10th, Feb. 2023.
2. [Alexander A.P.P.T.](#) Uncovering the diversity and distribution of Scolopendrid centipedes in Sri Lanka. TMU-UOS Life Science Conference, University of Seoul, Seoul. 10th Feb. 2023

2) 動物行動学・進化生態学研究グループ

<誌上発表>

1. [Putri, D.](#), Yokozawa, M., Yamanaka, T. & [Cronin, A.L.](#) (2021). Trait plasticity among invasive populations of the ant *Technomyrmex brunneus* in Japan. *Animals*, 11, p.2702
2. [Planas-Sitjà, I.](#), Deneubourg J-L & [Cronin, A. L.](#) (2021). Variation in personality can substitute for social feedback in coordinated animal movements. *Communications Biology*, DOI: 10.1038/s42003-021-01991-9

<口頭発表>

1. [Qutián, M.](#), [Planas-Sitjà, I.](#), Traveset, A., Tierney, S. M. & [Cronin, A. L.](#) (2021). Sayonara bees: impacts of invasive species on pollination interaction networks of the Ogasawara Islands. European Congress of the International Union for the Study of Social Insects, Toulouse, France, October/November 2021.

植物系統分類学研究室

1. 構成

村上哲明、角川洋子、加藤英寿、藤原泰央（特任助教）、佐藤有香（D2）、Ahmad Taufiq（D2）、Lola Alyssa Marie Albo（D2）、米岡克啓（D1）、棚橋優花（M2）、山田明史（M2）、甲田龍太郎（M2）、菅原峻太（M1）、山口万里花（M1）、野澤果南、岩渕咲来（卒研究生）、木村桜子（卒研究生）、長谷川夕夏（卒研究生）、加藤朗子（研究生）、丸山厚吉（客員研究員）

2. 研究紹介

本研究室では、維管束植物と高等菌類を対象とした系統分類学的研究及びこれと密接に関連する植物地理学的、進化生物学的研究を行っている。そのために肉眼から走査電子顕微鏡レベルにいたる形態の比較、解剖学的観察、染色体の比較解析、DNA塩基配列・マイクロサテライトマーカの解析、昆虫や菌類と植物の相互作用の解析など、様々な手法を駆使している。また、広い視野にたつて植物の多様性を捉えるため、国内外での現地調査や標本資料の収集も進めている。国内では特に小笠原および伊豆諸島における植物の種分化や保全に関する研究を行っている。なお、牧野標本館は本研究室が主体となって管理運営を行っている。

以下に構成員の研究を具体的に紹介する。

1) 維管束植物と高等菌類の系統分類学的研究

近年、野生生物からでも容易に得られるようになった DNA の塩基配列情報を最大限に活用した系統分類学、系統地理学、進化学の研究を行っている。具体的には、コバノイシカグマ科やオシダ科のシダ植物の分子分類学的研究やシダ植物の配偶体相の調査、キノコの隠蔽種や新産種の探索等を行った。

ユノミネシダ（コバノイシカグマ科）は世界中の熱帯、亜熱帯、温帯に広く分布するシダ植物の種である。これまで、この種は単一の広域分布種だと考えられてきた。ところが屋久島の複数のユノミネシダ集団において、葉緑体 *rbcL* 遺伝子の塩基配列が少なくとも 11 塩基異なる 2 つの DNA タイプが見つかった。二つの DNA タイプは日本に広く分布しており、根茎の鱗片と葉の形態にも両 DNA タイプ間で違いが見られた。この DNA タイプと形態形質の対応は、屋久島の同所的集団で確認でき、さらに日本各地とオセアニアで採取されたサンプルでも確認できたことから、両 DNA タイプは互いに交配することのない別の生物学的種であると結論した（村上）。

シダ植物の配偶体は形態的特徴に乏しく、その形態から種を識別することは困難であり、どのような種の配偶体がある地域に生育しているか（配偶体相）はよくわかっていなかった。そこで、関東の奥秩父山系でシダ植物の配偶体マットを多数採集し、*rbcL* 遺伝子など葉緑体 DNA の塩基配列を決定することによって種を同定した。その結果、その孢子体が日本国内では 50 年以上前に 2 度採集されただけの幻のシダであるイトシシラン *Haplopteris mediosora*（イノモトソウ科シシラン類）の独立配偶体を発見した。さらに、奥秩父に 2 系統のイトシシランの独立配偶体が見られ、一つは台湾、もう一つはヒマラヤ地域のものと同じゲノム構成をもつことが明らかになった。もし、これら遠く離れた二つの地域に由来する独立配偶体が共に奥秩父に現在、生育しているのならば、とても興味深い（米岡・藤原・村上）。

日本産ヤマハハコ属植物として 3 種 7 変種が報告されていた。一方で、これらは形態にのみにもとづく分類群なので、その遺伝的背景は未解明である。さらに最近、伊豆大島から葉の形態と開花期によって互いに区別できるものの、従来のだの変種とも形態が一致しないヤマハハコ（広義）の 2 型が報告された。また、御蔵島でも、形態が伊豆大島産のものとも異なるヤマハハコ（広義）の存在が確認された。そこで、核およ

び葉緑体 DNA の分子系統解析、MIG-seq 解析、形態の計測と多変量解析を行った。その結果、伊豆大島の 2 型はそれぞれ、ヤマハハコとカワラハコに含まれ、遺伝的・形態的・生態的に明瞭に分化していることが示された。一方、御蔵島のヤマハハコ（広義）は、いずれの変種からも遺伝的にも大きく分化しており、形態的にも明確に異なっていたので、新分類群である可能性が高い（片岡・藤原・加藤・村上）。

2) 種分化・多様性に関する研究

小笠原固有変種のオオハマボス（サクラソウ科）と広域分布する基準変種のハマボスについて、花形態の計測と訪花昆虫の観察を行った。その結果、オオハマボスには主に夜間に大型のガ類が、ハマボスには昼間にハチやハエ、チョウ類などの様々な昆虫が訪花していた。その原因として、2 変種間の花形態の違いが関与している可能性が示唆された（棚橋・加藤）。

3. 研究発表

<誌上発表>

- Fujiwara, T., B.-H. Quang, S. Tagane, N. Murakami and E. Oguri (2023) *Leptochilus ornithopus* (Polypodiaceae), a new hemiepiphytic fern species from central highlands of Vietnam. *Phytotaxa* 584: 149–160.
- Fujiwara, T., K. Yoneoka, Z. Liang, A. Ebihara, H. Schneider, N. Murakami and Y. Watano (2022) *Lepisorus rufofuscus* sp. nov. (Polypodiaceae), a new fern species segregated from *L. angustus* Ching. *Acta Phytotax. Geobot.* 73: 171-182.
- Fujiwara, T., P.-K. Khine, K. Hori., T. Shin, N. Murakami and H. Schneider (2022) *Lepisorus medioximus* (Polypodiales, Polypodiaceae), a new species from Shan State of Myanmar. *PhytoKeys* 201: 23-34.
- Noda, H., Nishimura, A., Kato, H., Naiki, A., Xiao, W., Martinez, M., ... & Takayama, K. (2022) Multiple origins of two *Ochrosia* (Apocynaceae) species endemic to the Bonin (Ogasawara) Islands. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 171, 107455.
- Setsuko, S., Sugai, K., Tamaki, I., Takayama, K., and Kato, H. (2022) Contrasting genetic diversity between *Planchonella obovata* sensu lato (Sapotaceae) on old continental and young oceanic island populations in Japan. *Plos one*, 17(9), e0273871.
- Sugai, K., Setsuko, S., Nagamitsu, T., Murakami, N., Kato, H., & Yoshimaru, H. (2023) Environmental and genetic effects on phenotypic differences between *Elaeocarpus photiniifolia* (Elaeocarpaceae) ecotypes in dry and mesic habitats on a Japanese oceanic island. *Plant Species Biology*.
- Yoneoka, K., K. Hori, T. Kataoka, T. Fujiwara, A. Ebihara and N. Murakami (2023) Hidden diversity of ferns: *Haplopteris mediosora* have survived as independent gametophytes in Japan, *Acta Phytotax. Geobot.* 74: 1-15.
- Yulianti, W., S. Kato, T. Fujiwara, H. Kato and N. Murakami (2022) The current hybridization between the endemic *Morus boninensis* Koidz. and the invasive *Morus australis* Poir. in the Ogasawara Islands. *Ogasawara Research* 48: 217-235.
- Yulianti, W., Katoh, S., Sugita, N., Kokubugata, G., Kato, H., & Murakami, N. (2022). Microsatellite Markers Reveal Genetic Differentiation of an Invasive Mulberry, *Morus australis* Poir.(Moraceae), among the Island Groups in Japan and its Introduction to the Ogasawara Islands. *Acta Phytotaxonomica et Geobotanica*, 73(1), 1-18.

[学会発表]

米岡克啓・藤原泰央・山本武能・内貴章世・海老原淳・村上哲明（2023）「日本の亜熱帯地域に生育するシダの独立配偶体—南太平洋地域に分布するシダ植物は八重山諸島へ到達しうる—」日本植物分類学会第 22 回大会（2023 年 3 月 1-5 日、オンライン&千葉大学）

- 片岡利文・米岡克啓・藤原泰央・廣田峻・陶山佳久・矢原徹一・村上哲明 (2023) 「アポイハハコの正体」 日本植物分類学会第 22 回大会 (2023 年 3 月 1-5 日、オンライン&千葉大学)
- 常木静河・鈴木節子・加藤英寿・村上哲明 (2023) 「小笠原産タブノキ属植物の多様化と分化に関する考察」 日本植物分類学会第 22 回大会 (2023 年 3 月 1-5 日、オンライン&千葉大学)
- 山田明史・米岡克啓・菊地波輝・藤原泰央・村上哲明 (2023) 「ブナの種子食昆虫相：日本海側と太平洋側の地域間比較」 日本植物分類学会第 22 回大会 (2023 年 3 月 1-5 日、オンライン&千葉大学)
- 山口万里花・米岡克啓・片岡利文・菊地波輝・吉田貴大・藤原泰央・村上哲明 (2023) 「ネコノメソウ属ホクリクネコノメ群 3 種の同所的生育地における訪花昆虫調査」 日本植物分類学会第 22 回大会 (2023 年 3 月 1-5 日、オンライン&千葉大学)
- 藤原泰央・丸岡道行・岡 武利・村上哲明・綿野泰行 (2023) 「兵庫県但馬地方で発見された新種の 6 倍体ノキシノブ」 日本植物分類学会第 22 回大会 (2023 年 3 月 1-5 日、オンライン&千葉大学)
- 後藤祐奈・伊東拓朗・藤井伸二・加藤英寿・井上正隆・柿嶋聡・村上将希・田金秀一郎・牧 雅之 (2023) 「隔離分布種ハクサンボクにおける分子系統地理学的解析」 日本植物分類学会第 22 回大会 (2023 年 3 月 1-5 日、オンライン&千葉大学)
- 田淵千捺・鈴木節子・葉山佳代・庄子恭平・矢後勝也・加藤英寿・高山浩司・須貝杏子 (2023) 小笠原諸島固有のシマザクラ属 3 種における遺伝的多様性と遺伝構造. 日本植物分類学会第 22 回大会 (2023 年 3 月 1-5 日、オンライン&千葉大学)
- 常木静河・鈴木節子・加藤英寿・村上哲明 (2023) 小笠原産タブノキ属植物の多様化と分化に関する考察. 日本植物分類学会第 22 回大会 (2023 年 3 月 1-5 日、オンライン&千葉大学)
- 大澤剛士・加藤英寿 (2023) 保全、教育、研究、交流の場となる大学敷地内の緑地. 日本生態学会第 70 回大会 (2023 年 3 月 17-20 日、オンライン&仙台)
- 鈴木節子・成田智史・玉木一郎・須貝杏子・永野惇・伊原徳子・加藤英寿・井鷲裕司 (2023) 集団動態解析によって明らかとなった小笠原諸島ムラサキシキブ属の適応放散的種分化. 日本生態学会第 70 回大会 (2023 年 3 月 17-20 日、オンライン&仙台)
- 甲田龍太郎・藤原泰央・綿野泰行・村上哲明 (2022) “Investigating the hybrid origin of *Microlepidia pseudostrigosa* and their relatives in Japan” 日本植物学会第 86 回大会 (2022 年 9 月 15-19 日、オンライン&京都)
- 棚橋優花・渡邊謙太・山本薫・村上哲明・加藤英寿 (2022) 「広域分布種サクラソウ科ハマボスの花形態とポリネーターの関係」 日本植物学会第 86 回大会 (2022 年 9 月 15-19 日、オンライン&京都)
- 米岡克啓・藤原泰央・片岡利文・堀清鷹・棚橋優花・海老原淳・村上哲明 (2022) 「旧世界ホウビシダ属の配偶体における形態の多様化と独立性の獲得」 日本植物学会第 86 回大会 (2022 年 9 月 15-19 日、オンライン&京都)
- 村上哲明 (2022) 「国立沖縄自然史博物館構想とビッグデータ多様性生物学」 日本動物学会第 93 回 (早稲田) シンポジウム [国立沖縄自然史博物館ができたあかつきには] (2022 年 9 月 9 日)

[その他の教育・研究活動]

展示

企画展「未来につなぐ植物標本」. (2022 年 11 月 14 日~12 月 8 日、牧野標本館別館・TMU ギャラリー)

応用生命科学領域 幹細胞制御学研究室

(公財) 東京都医学総合研究所、幹細胞プロジェクト

1. 構成

原 孝彦 (プロジェクトリーダー)、北島 健二 (主席研究員)、種子島 幸祐 (主席研究員)、鈴木 輝彦 (主席研究員)、高木 理子 (博士1年)、保屋野 翔太 (博士1年)、斎藤 理佐 (修士2年)、真貝 美奈子 (修士2年)、佐々木 紫保 (修士2年)、関 文哉 (修士1年)、安藤 輝 (修士1年)、高橋 陸 (修士1年)

2. 研究紹介

造血幹細胞の発生・自己複製・系統決定の分子メカニズムを、ES/iPS 細胞の *in vitro* 分化誘導系や遺伝子改変マウスを用いて解明し、血液再生医療技術や白血病薬の開発に活用している。また、がん免疫や肥満性糖尿病に関与するケモカイン CXCL14 の作用機序を明らかにし、それを創薬に結びつける研究も行っている。主な研究テーマと 2022 年度の進捗状況は、以下のとおりである。

- 1) マウス ES 細胞や胎仔を用いた、造血幹細胞発生の分子メカニズム (進行中)
- 2) ヒト iPS 細胞から、造血幹細胞や免疫担当細胞を体外産生する方法の開発
ヒト iPS 細胞の造血系オルガノイド培養系では FLT3 発現が欠落していることを発見した。
- 3) 急性 T リンパ芽球性白血病に対する治療薬の創出
T-ALL 細胞を特異的に死滅させる化合物の薬効発揮に必要な十分な酵素を突き止めた。
- 4) RNA ヘリケース DDX1 の生理的機能と癌幹細胞との関係解明
DDX1 が特定の RNA splicing に必須であることを見出した。
- 5) CXCL14 の生理的機能解明とがん免疫療法開発への応用
休眠期の皮膚において、CXCL14 が黄色ブドウ球菌の過増殖を抑えていることを証明した。
- 6) 免疫系ヒト化マウス系統の開発 (進行中)

3. 研究発表

誌上発表 *Corresponding author

1. K. Kitajima*, M. Shingai, H. Ando, M. Hamasaki, and T. Hara*. An interferon- γ /FLT3 axis positively regulates hemopoietic progenitor cell expansion from human pluripotent stem cells. *Stem Cells*, 40: 906-918, 2022. (doi.org/10.1093/stmcls/sxac052) *Co-corresponding author.
2. K. Tsujihana, K. Tanegashima, Y. Santo, H. Yamada, S. Akazawa, R. Nakao, K. Tominaga, R. Saito, Y. Nishito, R. Hata, T. Nakamura, I. Murai, Y. Kono, M. Sugawa, M. Tanioka, G. Egawa, M. Doi, T. Isa, K. Kabashima, T. Hara*, and H. Okamura*. Circadian protection against bacterial skin infection by epidermal CXCL14-mediated innate immunity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 119: e2116027119, 2022. (doi.org/10.1073/pnas.2116027119) *Co-corresponding author.
3. T. Suzuki, S. Takagi, and T. Hara*. Multiple gene transfer and all-in-one conditional knockout systems in mouse embryonic stem cells for analysis of gene function. *Frontiers in Cell Dev. Biol.*, 10: 870629, 2022. (doi: 10.3389/fcell.2022.870629)

応用生命科学領域 分子神経病理学研究室

公益財団法人 東京都医学総合研究所

1. 構成

長谷川成人、野中隆、亀谷富由樹、鈴木元治郎、鈴掛雅美、高松芳樹、大谷麗子、田平万莉奈、木村妙子、池田研二、河上緒、勇垂衣子、高瀬未菜、高木翔平、菅野舜介、佐藤祐太、樽谷愛理（協力研究員）、森啓（客員研究員）、久永眞市（客員研究員）

2. 研究紹介

当研究室ではアルツハイマー病(AD)、レビー小体型認知症(DLB)、筋萎縮性側索硬化症(ALS)などの認知症や神経疾患の発症、進行の機構解明を目標に研究に取り組んでいる。以下に今年度の成果の概略を紹介する。

1) パーキンソン病、レビー小体型認知症患者脳に蓄積する α シヌクレイン線維の構造解析

パーキンソン病 PD 患者 1 例、パーキンソン病認知症 PDD 患者 2 例、そして DLB 患者 3 例から α シヌクレイン線維を調製し、英国 MRC LMB と共同でクライオ電顕解析を実施した結果、 α シヌクレインの 31 番目のグリシンから 100 番目のロイシンまでが 3 層に折り畳まれ、積み重なって線維を形成していることが明らかとなった。また患者脳の不溶性タンパク質の翻訳後修飾を質量分析で解析している（田平、亀谷、長谷川）。

2) 老化によって蓄積する新規アミロイド TMEM106B の構造解析

これまでクライオ電顕解析に使われていた患者脳、あるいは健常者試料から、クライオ電顕解析によって新規アミロイドが蓄積していることが明らかとなった。孤発性および遺伝性の患者 22 人と対照者 3 人の試料を解析した結果、リソゾーム膜貫通タンパク質の TMEM106B が加齢依存的に蓄積していることが判明し、3 種類の構造をとって蓄積していることがクライオ電顕解析により解明された（樽谷、亀谷、長谷川）。

3) タウ、 α シヌクレイン、TDP-43 蓄積モデルの構築、解析

タウ、 α シヌクレイン、TDP-43 の蓄積病態を細胞、ショウジョウバエ、マウスで再現するため、リコンビナント蛋白を線維化して導入する細胞モデルや、マウス脳に直接接種するモデルなどを構築し、免疫組織染色や生化学、電顕解析している（野中、鈴木、鈴掛、高松、木村、勇、高瀬、高木、菅野、佐藤、長谷川）。

4) 前頭側頭葉変性症患者に蓄積する TDP-43 線維の構造解析

TDP-43 が蓄積する疾患は ALS だけでなく、前頭側頭葉変性症などいくつかのタイプが知られている。疾患脳に蓄積する TDP-43 の構造が異なることによって病態が異なる可能性が考えられ、いくつか病理の異なるタイプの疾患脳から TDP-43 を精製して解析している（河上、池田、田平、亀谷、長谷川）。

3. 研究発表

1. Yang Y, et al, Structures of α -synuclein filaments from human brains with Lewy pathology. *Nature*. 2022 Oct;610(7933):791-795.
2. Schweighauser M, et al. Age-dependent formation of TMEM106B amyloid filaments in human brains. *Nature*. 2022 May, 605(7909):310-3148.
3. Tarutani A, Adachi T, Akatsu H, Hashizume Y, Hasegawa K, Saito Y, Robinson AC, Mann DMA, Yoshida M, Murayama S, Hasegawa M. Ultrastructural and biochemical classification of pathogenic tau, α -synuclein and TDP-43. *Acta Neuropathol*. 2022 Jun;143(6):613-640.
4. Awa S, Suzuki G, Masuda-Suzukake M, Nonaka T, Saito M, Hasegawa M. Phosphorylation of endogenous alpha-synuclein induced by extracellular seeds initiates at the pre-synaptic region and spreads to the cell body. *Sci Rep*. 2022 Jan 21;12(1):1163.

応用生命科学領域 ケミカルバイオテクノロジー研究室

特定国立研究開発法人理化学研究所 開拓研究本部 伊藤ナノ医工学研究室

1. 構成

伊藤嘉浩（主任研究員）、Shin Woong KIM（D3）、Mahmoud Hassan Mahmoud OTHMAN（D3）

2. 研究紹介

当研究室では、化学的手法と生物工学的手法を融合させた新しい生命科学技術の方法論ケミカルバイオテクノロジーの確立を目指しています。方法論として、コンビナトリアル・ケミストリー、進化分子工学、高分子工学、ハイブリッド材料工学、遺伝子・タンパク質工学、微細加工技術、ナノテクノロジーなどの手法を用い、新しい材料を生み出し、その性能を評価するとともに、再生医療、人工臓器材料、ドラッグ・デリバリー・システム、ナノメディシン、分子イメージング、バイオチップ、バイオエレクトロニクス、人工酵素、人工抗体への応用展開を図っています。

1) ナノメディシン、生体材料学

医薬を患部に効率よく送達するドラッグデリバリー技術は、現在盛んに研究されるようになってきている核酸やペプチドからなる中分子医薬について欠かせません。これらは体内循環中に分解されやすく持続的な効果が得にくいからです。そこで、これらを内包して患部に届けるための細胞サイズより小さなナノサイズのキャリア（運搬体）が注目されています。本研究室では、サイズや形状が制御されたナノキャリアを化学合成してドラッグデリバリーへの応用を研究しています。

2) 人工抗体（アプタマー）、進化分子工学

抗体は生命科学研究にとってなくてはならない生体高分子です。もともとは動物の免疫反応によって作られるものですが、試験管内でも進化分子工学という手法を用いて作成可能となりました。しかし、天然由来の高分子だけでは高性能の抗体を得ることは困難です。本研究室では有機化学的手法と進化分子工学手法を融合してこれまでになかった全く新しいセンシング機能、触媒機能、医薬機能をもつ機能性分子に関する研究を行っています。

3. 研究発表

論文発表

1. Mahmoud Hassan Mahmoud Othman, Yoshihiro Ito, and Jun Akimoto, "Synthesis and characterization of polyethylene glycol-grafted photoreactive polyethylene glycols for antibiofouling applications", *Polymers*, 15, 184 (2023)
2. Mahmoud Othman, Yoshihiro Ito, and Jun Akimoto, "Mild-temperature-induced recombination of crosslinking structure in hydrogel using phenylboronic-acid-functionalized 3D nanoparticle crosslinkers", *ACS Appl. Polym. Mater.*, 4, 5047-5055 (2022)

学会発表

1. Mahmoud H. Othman, Yoshihiro Ito, Jun Akimoto, "Synthesis of thermally degradable and highly efficient self-healing hydrogel using dynamic covalent 3D nanoparticle crosslinkers" 71st Symposium on Macromolecules, Sapporo, Japan (Oral presentation, 2022)

応用生命科学領域 分子老化制御研究室

独立地方行政法人 東京都健康長寿医療センター研究所

1. 構成

石神 昭人（研究部長、チームリーダー）、佐藤 綾美（研究員）、土志田 裕太（研究員）、滝野 有花（非常勤研究員）、前田 菜々子（修士2年）、祖父江 郁也（修士2年）、刑部 紀亜（修士1年）、下田 友貴（修士1年）

2. 研究紹介

1) 加齢指標タンパク質 SMP30 の機能解明

加齢に伴い私たちの身体機能は低下し、様々な故障も増加します。このような加齢現象の背後には身体を構成する様々な分子や臓器機能の変化が存在します。私たちは、加齢に伴い発現が変化する種々の遺伝子群やタンパク質群を解析することにより、高齢者が有する身体機能の不全を早期に、しかも正確に検知し、抑制するための方法論の開発を目指しています。今までの研究から、加齢に伴い減少する生体分子、加齢指標タンパク質 SMP30 を発見し、老化における重要性を明らかにしてきました。

2) 老化とビタミン C

今までの研究から、SMP30 はビタミン C 生合成に必須の酵素、グルコノラクトナーゼであることがわかりました。SMP30 遺伝子を欠損したマウスは、ヒトと同様にビタミン C を体内で合成できません。また、ビタミン C が不足したマウスは、寿命が短く、早期に死亡します。私たちは、コラーゲン繊維の構築や活性酸素種の消去など、多様な働きをもつといわれるビタミン C の生理機能をひとつひとつ明らかにすることにより、ビタミン C の抗老化作用を解明していきます。

3) シングルセル解析による老化関連遺伝子、老化細胞の同定

近年、老齢動物の組織には、細胞の機能が衰えた「老化細胞」の存在が明らかになってきました。この老化細胞を特定し、個々の老化細胞の性質を調べることは、複雑な老化機構の解明に繋がります。私たちは、1細胞発現解析(Nx1-seq: Next generation 1 cell sequencing)を用いて老化関連遺伝子を1細胞レベルで包括的に探索、同定します。私たちが定義する「老化関連遺伝子」とは、老化の機構に直接関与する遺伝子だけでなく、間接的に発現変動する、老化機構に直接関与しない遺伝子も含まれます。また、同定した老化関連遺伝子を指標にして老齢動物の組織に存在する老化細胞を同定し、その機能低下の機構を解明します。

3. 研究発表

誌上発表

1. Takisawa S, Takino Y, Lee J, Machida S, Ishigami A. Vitamin C Is Essential for the Maintenance of Skeletal Muscle Functions. *Biology (Basel)*. 2022 Jun 23;11(7):955.
2. Hung YL, Sato A, Takino Y, Ishigami A, Machida S. Influence of oestrogen on satellite cells and myonuclear domain size in skeletal muscles following resistance exercise. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2022 Oct;13(5):2525-2536.
3. Palko SI, Saba NJ, Mullane E, Nicholas BD, Nagasaka Y, Ambati J, Gelfand BD, Ishigami A, Bargagna-Mohan P, Mohan R. Compartmentalized citrullination in Muller glial endfeet during retinal degeneration. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2022 Mar 1;119(9):e21218751

応用生命科学領域 植物成長制御研究室

国立研究開発法人 理化学研究所

1. 構成

瀬尾光範、鈴木洋弥、菅野裕理

2. 研究紹介

私たちは、種子休眠、発芽、ストレス応答に代表される植物の適応反応の制御機構を明らかにする研究を行っています。これらの生理作用に重要な役割を果たすことが知られているアブシシン酸 (ABA)、ジベレリン (GA)、ジャスモン酸 (JA)、オーキシシン (IAA) などの植物ホルモンに着目し、最近は特に輸送体の同定と機能解析に重点を置いて研究を進めています。また、植物ホルモンの生理機能を明らかにするためには、その生体内での量を正確に測定することが必要です。私たちの研究室では、液体クロマトグラフィータンデム質量分析法 (LC-MS/MS) を用いた高感度ホルモン定量に関して世界トップレベルの技術を有しています。また最近では、生きた植物細胞ひとつから、植物ホルモンを定量する技術の開発にも取り組んでいます。

1) 植物ホルモン輸送体の同定

これまでの研究で、シロイヌナズナ NPF5.1 は葉の維管束組織や葉肉細胞において細胞内に ABA を取り込むことで、維管束組織から孔辺細胞へと輸送される ABA の量を抑制する、つまり気孔の閉鎖を抑制する因子であることが明らかになっていました。今年度は、同タンパク質がシロイヌナズナの種皮で発現し、種子内における ABA 代謝と種子発芽の制御にも関与していることを明らかにしました。

2) 植物ホルモンの質量分析

本年度も当研究室独自の課題に加え、他研究機関・大学などとの多くの共同研究により、ABA、GA、JA、IAA、サイトカイニン、サリチル酸といった植物ホルモンを、様々な植物材料から分析しました。また、生きた植物細胞の内容物を顕微鏡下で特殊なガラスキャピラリーを用いてサンプリングし、直接質量分析を行う一細胞質量分析技術の開発を進めています。さらには、nanoLC-MS を用いることで、超微量組織から複数の植物ホルモンをこれまで以上に高感度に分析する手法の開発も進めています。

3) 種子機能に関する研究

多くの種子は、母体植物上で形成された直後には吸水してもすぐに発芽しません。このような種子の性質を、休眠性といいます。休眠性は植物が乾燥や極度の高温、低温などの過酷な環境を乗り越えるために必要です。しかしながら ABA の生合成に欠陥を持つ変異体種子の休眠性は、野生型に比べて低いことが知られています。私たちはこれまでに、植物ホルモンであるエチレンに対して非感受性になる変異が ABA 欠損による休眠性の低下を緩和できることを明らかにしています。本年度はトランスクリプトーム解析により、エチレン情報伝達の下流で種子休眠の制御に関与する遺伝子群の同定を進めました。

3. 受賞

Clarivate Analytics Highly Cited Resercher 2022

4. 研究発表 (一部のみ)

Shimizu, T., Kanno, Y., Watanabe, S., Seo, M. "Arabidopsis NPF5.1 regulates ABA homeostasis and seed germination by mediating ABA uptake into the seed coat" *Plant Signal. Behav.* 17, 2095488 (2022)

Delfin, J., Kanno, Y., Seo, M., Kitaoka, N., Matsuura, H., Tohge, T., Shimizu, T. "AtGH3.10 is another jasmonic acid-amido synthetase in *Arabidopsis thaliana*" *Plant J.* 110, 1082-1096 (2022).

Zheng, L., Otani, M., Kanno, Y., Seo, M., Yoshitake, Y., Yoshimoto, K., Sugimoto, K., Kawakami, N. "Seed dormancy 4 like1 (SFL1) of *Arabidopsis* is a key regulator of phase transition from embryo to vegetative development" *Plant J.* 112, 460-475 (2022)

連携大学院 三浦研究室

(地独法) 東京都健康長寿医療センター研究所 老化機構研究チーム・プロテオーム

1. 構成

三浦ゆり (研究副部長)、津元裕樹 (主任研究員)、梅澤啓太郎 (研究員)、川上恭司郎 (研究員)、横堀 暁 (明治薬科大学大学院・修士2年)、丹羽悠紀 (芝浦工業大学・4年)

2. 研究紹介

生体を構成する様々な分子の中で、実際に生命活動に携わっているのはタンパク質である。酵素反応、細胞内外への物質の輸送、エネルギー代謝、分子の認識など、タンパク質は生命を維持するうえで重要な機能を担っている。そこで私たちの研究室では、タンパク質の発現変化や翻訳後修飾の変化を網羅的に解析する「プロテオーム解析」を用いて、老化や疾患の病態メカニズムやバイオマーカーを明らかにする研究を行っている。

老化研究においては、ゲノム情報の解明により著しい進展を遂げている分子遺伝学レベルの研究に比べ、タンパク質レベルの研究は進んでいない。これは、タンパク質がリン酸化や糖鎖など、様々な分子修飾 (翻訳後修飾) を受けており、こうした修飾がタンパク質の機能に大きな影響を与えるからである。そこで、タンパク質の機能を支える分子修飾 (翻訳後修飾) の役割と老化あるいは老年病との関わりを明らかにするため、*O*-GlcNAc 修飾や糖鎖修飾に着目している。*O*-GlcNAc 修飾とは、タンパク質のセリン・スレオニン残基に *N*-アセチルグルコサミンが一つ結合した分子修飾であり、糖尿病など様々な疾患に関与することが報告されている。そこで、*O*-GlcNAc タンパク質を標的としたプロテオーム解析を行い、これらの疾患の病態解明を行う。また、健康長寿者の血漿タンパク質の糖鎖解析から、健康長寿マーカーを探索する研究も行っている。ヒト長寿モデルである 105 歳以上の超百寿者について糖鎖解析を行い、抗炎症性の糖鎖が健康長寿の特徴であることを明らかにした。さらに、長期縦断的コホート研究も行い、健康長寿に関連するタンパク質や老化関連疾患のバイオマーカー探索をめざしている。

12. 研究発表

_Miura, Y., Tsumoto, H., Masui, Y., Inagaki, H., Ogawa, M., Ideno, Y., Kawakami, K., Umezawa, K., Kabayama, M., Akagi, Y., Akasaka, H., Yamamoto, K., Rakugi, H., Ishizaki, T., Arai, Y., Ikebe, K., Kamide, K., Gondo, Y., Endo, T.: A characteristic *N*-glycopeptide signature associated with diabetic cognitive impairment identified in a longitudinal cohort study, *Biochim. Biophys. Acta, -General Subjects*, 1867, 130318, (2023)

_Umezawa, K., Tsumoto, H., Kawakami, K., Miura, Y.: A Chemical probe for proteomic analysis and visualization of intracellular localization of lysine-succinylated proteins, *Analyst*, 148 (1), 95-104, (2023)

_Ueda, Y., Miura, Y., Tomishige, N., Sugimoto, N., Murase, M., Kawamura, G., Sasaki, N., Ishiwata, T., Ozawa, T.: Mechanistic insights into cancer drug resistance through optogenetic PI3K signaling hyperactivation, *Cell Chem. Biol.* 29, 1576-1587, (2022)

_Kawakami, K., Fujita, Y., Kato, T., Horie, K., Koie, T., Umezawa, K., Tsumoto, H., Miura, Y., Katagiri, Y., Miyazaki, T., Ohsawa, I., Mizutani, K., Ito, M.: Diagnostic potential of serum extracellular vesicles expressing prostate-specific membrane antigen in urologic malignancies, *Scientific Reports*, 11, 15000, (2021)

_Imae, R., Many, H., Tsumoto, H., Miura, Y., Endo, T.: PCYT2 synthesizes CDP-glycerol in mammals and reduced PCYT2 enhances the expression of functionally glycosylated α -dystroglycan, *J. Biochem.* 170, 183-194, (2021)

_Hishida, S., Kawakami, K., Fujita, Y., Kato, T., Takai, M., Inuma, K., Nakane, K., Tsuchiya, T., Koie, T., Miura, Y., Ito, M., Mizutani, K.: Proteomic analysis of extracellular vesicles identified PI3K pathway as a potential therapeutic target for cabazitaxel-resistant prostate cancer, *The Prostate*, 81, 592-602, (2021)

連携大学院 疾患エピゲノム遺伝研究室

特定国立研究開発法人 理化学研究所 横浜事業所 生命医科学研究センター

1. 構成

井上梓 (チームリーダー)、小塚智沙代 (基礎科学特別研究員)、ハイリャン・メイ (特別研究員)、松若正篤 (修士2年)、公文麻美 (テクニカルスタッフ)

2. 研究紹介

当研究室では、DNA を収納するヒストンタンパク質の翻訳後修飾などのエピゲノム情報が、どのように世代を超えて伝承されるかについて研究している。特に、環境によるエピゲノムへの作用に着目し、生殖細胞のエピゲノム情報の変化が次世代の形質にどのように影響するかに興味を持っている。このために、マウスを用いた遺伝学や分子生物学といった常法に加え、最先端の超微量核酸解析、バイオインフォマティクス、生殖工学などの幅広いアプローチを用いている。具体的な研究テーマは以下のとおりである。

(1) エピゲノム伝承機構に関する研究

ゲノムは、細胞分裂時に母細胞から娘細胞に受け継がれる。このとき、娘細胞でも母細胞の性質が保たれるように、エピゲノム情報も一緒に受け継がれる。細胞分裂を通じてエピゲノムが維持されることで、細胞は分裂後も元の機能を発揮できる。しかし、配偶子 (卵と精子) から胚へと世代が切り替わるタイミングでは、エピゲノム情報のほとんどが一旦消去されると考えられてきた。ところが、近年の我々の研究により、卵のヒストン修飾の一部は消去されずに、次世代の胚において遺伝子発現を制御することがわかってきた。現在、このような世代を超えるヒストン修飾が、卵の形成過程においてどのように確立され、どのように伝承され、そしてどのような機能を発揮するかについて研究を進めている。

(2) 環境による伝承性エピゲノムへの作用

エピゲノムは生活習慣や環境によって変化することが知られている。では、親世代の生活習慣や環境により、卵や初期胚のエピゲノムは変化するだろうか。そうであれば、親の環境がゲノム変異によらずに次世代の形質に影響するという、獲得形質の遺伝に類似した現象が起こる可能性がある。このような仮説に基づいて、個体環境や卵巣内・卵管内の微小環境が卵・初期胚のエピゲノムにどのように影響するか研究している。

3. 研究発表

誌上発表

1. Inoue A. (2023) Noncanonical imprinting: Intergenerational epigenetic inheritance mediated by Polycomb complexes. *Curr Opin Dev Genet.* 78:102015, 1-9
2. Hayashi R, Inoue A. (2023) Low-input CUT&RUN for Mouse Oocytes and Preimplantation Embryos. *Methods Mol Biol* 2577:83-92.
3. Matoba S, Kozuka C, Miura K, Inoue K, Kumon M, Hayashi R, Ohhata T, Ogura A, Inoue A. (2022) Noncanonical imprinting sustains embryonic development and restrains placental overgrowth. *Genes & Development*, 36(7-8), 483-94.
4. Mei H, Kozuka C, Hayashi R, Kumon M, Koseki, H, Inoue A. (2021) H2AK119ub1 guides maternal inheritance and zygotic installation of H3K27me3 in mouse embryos. *Nature Genetics*, 53, p539-550, 2021.

その他の研究・事業

小笠原研究

1. 研究の経過

小笠原諸島は東京の南約1000～1200 km(北緯27°45'～24°14')の太平洋上に散在する海洋島である。進化の実験場と言われる特異な自然をもつため、2011年6月にユネスコにより日本で4番目の世界自然遺産地として登録された。小笠原研究は、この群島が1968年6月26日にわが国へ返還されて以来、東京都立大学における特色ある研究のひとつとなっている。小笠原では、父島の小笠原研究施設を拠点として、自然科学から人文・社会科学まで多彩な研究が行われている。1976年度からは東京都立大学小笠原研究委員会によって運営・推進されている。2005年度に都立大学が首都大学東京に改組された後、2007年度までは、2004年度の委員会が暫定的に本学の小笠原研究の対外的な窓口として活動してきたが、2008年度から首都大学東京(2020年度に東京都立大学に改称)の全学委員会となった。本専攻では植物系統分類学、植物生態学、動物生態学、進化遺伝学などの研究室が小笠原に生息・分布する生物を対象にした研究を行ってきた。また、他大学の研究者との共同研究や文部科学省の科学研究補助金による研究、環境省の地球環境研究推進費による研究なども行われ、東京都に属しながら大洋中に孤立して存在する海洋島という特殊な条件を生かしたユニークな研究成果が数多く得られている。なお、研究予算については、2005年度から2007年度までは傾斜配分研究費(全学枠)により措置され、2008年度からは企画財務課から配当を受け理系管理課が管理を所管している。

1989年と1990年度にわたって東京都が行った小笠原自然環境現況調査を都立大学が受託し、小笠原研究委員会が窓口となって大規模な調査を実施し1991年秋に報告書を刊行した。1997～1999年度には、環境庁の未来創造型基礎研究推進費による「亜熱帯域島嶼の生態系保全手法の開発に関する基礎研究」の一部を受託し、島嶼生態系における生物多様性とその維持機構について研究が行われた。また、1999年度には牧野標本館(自然史科学講座)、地理学科との共同研究として、東京都特定研究「小笠原諸島の固有植物の保全に関する研究」が、さらに2003年度には、総長特別研究費による「人と自然の共生をめざした小笠原の人文・自然に関する総合研究」が実施された。また、2005～2009年度には、植物系統分類学研究室と植物生態学研究室が、独立行政法人森林総合研究所からの受託研究として「小笠原諸島における侵略的外来植物の影響メカニズム解明とその管理手法に関する研究」を実施した。2008～2011年度には、植物系統分類学研究室が科学研究費基盤研究(A)「ユビキタスジェノタイプングによる生物多様性ホットスポットの包括的生物保全」(代表者：井鷲裕司)で小笠原の植物を分担した。また、2010～2013年度には、基盤研究(A)(海外学術)「小笠原諸島の植物相の起源を分子植物地理学的にさぐる」(代表者：村上哲明)を、2013～2015年度には、科学研究費基盤(A)「外来生物駆除後の海洋島の生態系変化：環境不均質性を考慮した管理シナリオの提案」(代表者：可知直毅)の研究が、2014～2016年度には、環境省環境総合推進費による「絶滅危惧植物の繁殖成功に配慮した域内保全手法の開発」(代表者：可知直毅)が、2014～2017年度には、基盤研究(B)「外来生物の侵入による海洋島送粉生態系のレジームシフトとその進化・生態的影響」(代表者：加藤英寿)が実施された。さらに、2016～2018年度には、科学研究費基盤(A)「外来生物駆除後の海洋島の生態系変化：環境不均質性を考慮した管理シナリオの提案」(代表者：可知直毅)の研究が、2017～2020年度には、科学研究費基盤(B)「海外の起源地との比較による小笠原固有植物の性表現と送粉共生系の進化の解明」(代表者：村上哲明)が、2019年～2021年度には、科学研究費基盤(B)「海洋島における外来生物の侵略性：植物の栄養利用

特性と生態系の土壌特性との相互作用」(代表者: 可知直毅)が実施された。2021年度からは科学研究費基盤(B)「気象データと古文書の分析に基づく小笠原諸島 父島・母島の気候変動の復元」(代表者: 松山 洋)の研究が進行中である。2022年度の特筆すべき活動として、東京都小笠原支庁との連携協定に基づき、東京都が実施しているオガサワラカワラヒワの域外保全事業に貢献したことがあげられる。

小笠原諸島を調査地として2021年度に実施された生物系の研究として、各教員や特任研究員、海外特別研究員、客員研究員等による研究の他、博士課程3名(特別研究学生3)、修士課程6名(植物系統分類2、動物系統分類3、特別研究学生1)、卒研究生1名(植物系統分類1)、研究生1名(植物系統分類)による研究が行われた。また、厚生労働省東京検疫所と理学研究科との連携協定に基づき、父島の港湾衛生調査を継続実施した。

2. 小笠原研究施設

小笠原返還後間もない1971年度から、東京都総務局所管の総合調査室を借用して都立大学父島研究室が開設され、本学の小笠原研究の拠点として活用されてきた。この研究室は1990年度末に正式に都立大学に移管され、1991年度に全面改築を行い、1992年3月末に完工した。施設の敷地面積は770m²、建物の延べ床面積は547m²で、実験室、標本作製室、資料室、セミナー室、展示ホールなどを備えている。2007年度に全面改修を行い、2008年度に東京都から本学に移管された。施設の日常的な管理業務は、南大沢キャンパス理系管理課庶務係が担当している。



本学の研究者との共同研究の場合には他大学の研究者もこの施設を利用している。その人数は約90名にのぼっており、海外の研究者も含め、研究交流の場として活用されている。また、全学の教養科目「自然と社会と文化: 小笠原コース」の教育拠点としても活用されている。2022年度の延べ利用者は171名、延べ利用日数は1533日であった。

なお、本施設の利用等については小笠原研究委員会のホームページ(<https://ogasawara.fpark.tmu.ac.jp>)を参照されたい。

3. 研究成果の発表

小笠原研究委員会は、次の二つの印刷物を発行している。一つは「小笠原研究年報」で、研究の概要や小笠原に関係する記事が掲載され、毎年1回の発行である。2022年度は、No.46として5篇の報文が掲載された。

もう一つは1978年度に創刊された「小笠原研究」(Ogasawara Research)で、英文を含む専門性の高い研究報告や資料的価値が高い総説等が掲載される。2022年度はNo.49として、2021年7月と9月に実施された西之島の総合学術調査の成果を紹介する6編の特集論文と2編の一般投稿論文が掲載された。

なお、2006年度以後の小笠原研究年報とOgasawara Researchは、東京都立大学の機関リポジトリ「みやこどり」(https://tokyo-metro-u.repo.nii.ac.jp/?page_id=30)の「本学研究紀要」としてPDF版が公開されている。

牧野標本館の業務

自然科学は証拠主義に基づいている。ある名前で呼ばれている生物はどのような形態的特徴を具えているか、地球上のどこに分布しているか、というような情報の証拠となるのが学術標本であり、植物学においては、最も効率のよい保存方法として「さく葉標本」(以下、標本と略す)が国際的に採用されてきた。この学術標本を主に収集保管し、教育・研究のために運用するのが植物標本館(ハーバリウム)である。

牧野標本館は、日本の植物分類学の基礎を築いた牧野富太郎博士の没後に寄贈された、旧牧野邸に残されていた未整理標本(牧野標本)約40万枚をもとにして1958年に設立された。このうち、重複標本を除いた約16万点余の整理済み牧野標本が、標本館に収納され、残りの重複標本は国内外の標本館との標本交換に利用され、10万点以上の貴重な標本を得るのに役立ってきた。また、牧野標本館を兼務する植物系統分類学研究室および関係者による国内外での標本の採集も活発に行われ、標本館の充実に貢献してきた。その結果、2023年3月末日の時点で整理済みの標本点数は50万点を超え、維管束植物標本471,170点、コケ類標本41,649点、地衣類標本1,166点、藻類標本28,484点、菌類492点、その他未整理標本約10万点に達している。総標本点数や特に学術的価値が高いタイプ標本数では、国内で東京大学、国立科学博物館、京都大学につぐレベルにあり、国際記号MAKとして認知された植物標本館の一つである。

牧野標本館を最も特色づける標本には、牧野博士が発表した新種などのタイプ標本約800点があり、日本産植物の分類学的研究に欠くことのできない資料である。牧野博士自身やその研究協力者により、全国からまんべんなく収集された標本は、植物の自然分布の証拠としてなくてはならないものである。絶滅に瀕し、現在では見ることが困難な植物も多数含まれ、貴重な研究資料となっている。このほか、共立薬科大学から寄贈された故桜井久一博士のコケ類標本2万点、故東道太郎氏寄贈の藻類標本約1万点、ロシアのコマロフ植物研究所標本館から交換標本として贈られてきたシーボルト氏採集の標本約2,500点なども、当館の特色ある標本である。

牧野標本館の標本は学内で行う教育・研究に利用されてきたばかりではなく、外来研究者にも標本の閲覧の便宜をはかるとともに、標本貸出等の要望に対応して、広く国内外の植物学研究者に活用されてきた。1991年の東京都立大学八王子移転に伴って設置された牧野標本館本館に加えて、2018年2月には本館の2.5倍もの収蔵容積を有する別館が完成した。またこれに併せて本館の一部を改装し、展示室も設置された。

2022年度には、跡見学園、神代植物公園植物多様性センター、横須賀市自然・人文博物館からの寄贈、藤井氏、倉俣氏ら個人の方々の寄贈があり、現在整理中である。

牧野標本館の研究サービスの実績は、以下のとおりである。

標本寄贈：国内発送9件、 標本交換：国内発送0件、国内受入0件、国外発送0件、国外受入0件。

標本貸出：国外0件、国内3件。来訪者(のべ人数)：国内103人、国外0人。

さらに当館は植物標本の広範な利用に対応するため、所蔵標本をデジタル化して公開する活動を進めている。現在、維管束植物のタイプ標本やシーボルトコレクション、東京都産の維管束植物標本の画像とラベル情報を、インターネットで検索・閲覧することができる(<http://www.biol.se.tmu.ac.jp/herbarium/>)。

また、植物標本を活用した教育普及活動の一環として、植物標本作製講座や講演会・企画展示などを随時開催している。

ショウジョウバエ系統保存事業

東京都立大学のショウジョウバエ系統保存は、昭和 37 年に東京都の事業として認定された。事業は動物飼育担当技術職員（富田唯）、および理学部生命科学科の進化遺伝学、細胞遺伝学両研究室の構成員によって遂行されている。認定以来、構成員による採集などにより毎年保存している系統数は拡充されている。世界でも有数のショウジョウバエ供給の事業所として、国内外の需要に応えている。

東京都立大学の系統保存の特色は、100 種以上のショウジョウバエ種を維持していることである。各種について多くの野生系統及び突然変異系統を維持しているが、それ以外にも分析中の多くの未確定系統があり、それらを加えると維持系統の総数は 3,000 を越える。

系統維持している種数			キイロショウジョウバエの系統	
<i>Dorsilopha</i>	亜属	1 種	野生型純系系統	4 系統
<i>Drosophila</i>	亜属	43 種	突然変異系統	136 系統
<i>Sophophora</i>	亜属	66 種	地域由来系統	
			日 本	11 地域
			外 国	19 地域

毎年多くの系統を国内外の教育・研究機関に分譲しているが、過去 5 年間の実績は次のとおりである。

	分 譲 先				分譲系統数合計
	大学・研究機関		高等（中）学校		
	国内	国外			
2018 年	15	4	16	120	
2019 年	25	3	36	180	
2020 年	1	0	10	25	
2021 年	6	2	14	120	
2022 年	3	0	19	71	

教育・研究関連資料

学位取得者

修士（理学）

2022年度3月修了

- 井上 柚香 ゲノム解析によるアカショウジョウバエの Neo-Y 染色体における減数分裂組換えの検証
主査：田村浩一郎 副査：野澤昌文・岡田泰和
- 岩本 大我 シアノバクテリアを用いた大気からの合成繊維原料カダベリンの生産
主査：得平茂樹 副査：春田伸・成川礼
- 小川 雅文 ショウジョウバエの性染色体進化における遺伝子量補償の即時変化の検証（英文）
主査：野澤昌文 副査：高橋文・岡田泰和
- 尾崎 麻衣 異なる土壌水分条件下で生育した雌雄異株植物アオキの生物量の雌雄比較
主査：鈴木準一郎 副査：林文男・村上哲明
- 角濱 日向 細胞外低分子量物質による好熱性滑走細菌 *Chloroflexus aggregans* の細胞集塊形成促進作用（英文）
主査：春田伸 副査：飯野隆夫・得平茂樹
- 上岡 瑠奈 アカショウジョウバエの日本列島移住後の動態に関する集団ゲノミクス
主査：田村浩一郎 副査：高橋文・村上哲明
- 菊地 望海 シアノバクテリア *Anabaena* sp. strain PCC 7120 の乾燥耐性に必須の機能未知遺伝子 *anaKa* の機能解析
主査：得平茂樹 副査：春田伸・成川礼
- 熊谷 颯之 オウトウショウジョウバエにおける雄外部生殖器官 *surstylus* の機能および遺伝的基盤の解明
主査：高橋文 副査：田村浩一郎・岡田泰和
- コ エイ 好熱性発酵細菌 *Caldicellulosiruptor diazotrophicus* の窒素固定活性に関する研究（英文）
主査：春田伸 副査：飯野隆夫・得平茂樹
- 河野 恵美 糸状性滑走細菌との種間相互作用によって引き起こされる *Thermosynechococcus* 属単細胞性シアノバクテリアの細胞凝集形成（英文）
主査：春田伸 副査：飯野隆夫・成川礼
- 小林 ちひろ アカショウジョウバエの低温適応におけるエピジェネティック効果の検証
主査：田村浩一郎 副査：野澤昌文・岡田泰和
- 齊藤 開斗 日本産ミズカゲロウ科およびシロカゲロウ科（脈翅目）の分類・系統・生態（英文）
主査：林文男 副査：岡田泰和・江口克之
- 酒井 杏花 オウトウショウジョウバエとその近縁種間の雄交尾器 *pregonite* 形態差に関する遺伝学的研究
主査：高橋文 副査：野澤昌文・高鳥直士
- 白井 詢 Rab ファミリー低分子量 G タンパク質のエピキチン化を介したエクソソーム分泌制御の新機構（英文）
主査：川原裕之 副査：岡本龍史・坂井貴臣

- 杉山 実優 オオツノコクヌストモドキを用いた武器形成遺伝子の探索：RNAiによる機能スクリーニング
主査：岡田泰和 副査：林文男・高橋文
- 祖父江 郁也 老化関連遺伝子の探索と組織学的解析
主査：石神昭人 副査：福田公子・春田伸・安藤香奈絵
- 棚橋 優花 広域分布種ハマボスとその小笠原固有変種オオハマボスにおける花形態と訪花昆虫の関係
主査：村上哲明 副査：林文男・江口克之
- 谷口 直 チュウゴクザサ更新過程初期の個体群動態に影響する生態的要因の解析
主査：鈴木準一郎 副査：野澤昌文・村上哲明
- 田村 珠雲 アカショウジョウバエにおける低温選択の発生過程への効果
主査：田村浩一郎 副査：高橋文・福田公子
- 千村 明日美 多細胞性シアノバクテリア *Anabaena sp. strain PCC 7120* におけるヘテロシスト分化に伴う遺伝子発現変動のシングルセル解析
主査：得平茂樹 副査：岡本龍史・高鳥直士
- 全 学哲 Rab3 サブファミリータンパク質の安定性を調節する機構の解明
主査：川原裕之 副査：春田伸・安藤香奈絵
- 陳 胤佳 ショウジョウバエにおける転移因子とヒストン修飾がネオ性染色体に及ぼす影響（英文）
主査：野澤昌文 副査：田村浩一郎・坂井貴臣
- 中永 早映 V-ATPase の局在に寄与する Rab ファミリー低分子量 GTPase の分解機構解明（英文）
主査：川原裕之 副査：福田公子・安藤香奈絵
- 長縄 健 無尾目における種特異的な捕食行動：アリ類に対する生得的及び学習忌避（英文）
主査：岡田泰和 副査：林文男・Adam Linc Cronin
- 野口 まりえ 5-アミノレブリン酸はミトコンドリア機能の改善により神経変性疾患関連タンパク質タウによる神経細胞死を抑制する（英文）
主査：安藤香奈絵 副査：川原裕之・Adam Weitemier
- 迫 凌輔 プラスミドを介した *Acaryochloris marina* MBIC11017 の光環境への適応
主査：成川礼 副査：春田伸・得平茂樹・鐘ヶ江健
- 原田 真生 シアノバクテリア *Anabaena sp. strain PCC 7120* におけるヘテロシスト多糖層形成制御機構の解明
主査：得平茂樹 副査：鐘ヶ江健・高鳥直士
- 前田 菜々子 たばこ煙によるエピジェネティクス変化に対するビタミン C の作用
主査：石神昭人 副査：福田公子・春田伸・安藤香奈絵
- 松若 正篤 マウス卵および初期胚におけるヒストン H3K27me2 修飾の動態および機能解析
主査：川原裕之 副査：坂井貴臣・高鳥直士・井上梓
- 見取 虎人 *Shewanella* 属細菌と硫酸還元細菌の共培養による鉄腐食
主査：春田伸 副査：飯野隆夫・成川礼
- 諸岡 真希 小笠原諸島における *Anolis carolinensis* の適応的变化（英文）
主査：Adam Linc Cronin 副査：村上哲明・林文男・春田伸・高橋文
- 安田 彩乃 シロイヌナズナの胚軸伸長抑制機構における HAKAI の役割
主査：鐘ヶ江健 副査：岡本龍史・成川礼

- 山田 明史 ブナの種子食昆虫の種相と食害頻度
主査：村上哲明 副査：林文男・江口克之
- 山本 千尋 糖の過剰摂取がタウオパチーモデルショウジョウバエでの神経細胞死に与える影響 (英文)
主査：安藤香奈絵 副査：川原裕之・Adam Weitemier
- 山本 廉太 オウトウショウジョウバエの雄における前脚形態進化の遺伝基盤の解明
主査：高橋文 副査：野澤昌文・岡田泰和
- 吉田 まゆり 細胞内構造不良タンパク質の高感度検出法の検討
主査：川原裕之 副査：得平茂樹・成川礼
- 吉峯 知歩 オオツノコクヌストモドキにおけるインスリン様ペプチドの多面的機能の解析
主査：岡田泰和 副査：林文男・高橋文
- 渡辺 真史 シロイヌナズナ *clavata* 変異体における花成の表現型および花成関連遺伝子群の発現様式
主査：岡本龍史 副査：村上哲明・鐘ヶ江健
- ペルティウィー ラハユ オウトウショウジョウバエとその近縁種における翅の色素沈着パターンの進化
(英文)
主査：高橋文 副査：田村浩一郎・村上哲明

博士 (理学)

2022年度課程博士 (9月修了)

- アボシェエシャ モハメド アブデルハミド ラマダン
siRNA デリバリーを目指した両親媒性ポリペプチド由来ナノキャリアの開発 (英文)
主査：伊藤嘉浩 副査：加藤潤一・福田公子
- マリエンティ テティ コムギ-イネ雑種の人為的作出に関する一研究：生殖的隔離の克服と細胞質ゲノムの共存 (英文)
主査：岡本龍史 副査：福田公子・野澤昌文
- ユ ペイ 脈翅目の幼虫と広翅目の成虫 (昆虫綱：脈翅上目) による化学防御スプレーの効果とコスト (英文)
主査：林文男 副査：岡田泰和・黒川信

2022年度課程博士 (3月修了)

- アラム モハメド ガハンギール 硫酸還元細菌および酸素非発生型光合成細菌に見出したアンモニアを電子源とする増殖能 (英文)
主査：春田伸 副査：得平茂樹・飯野隆夫
- 塚本 将 日本および台湾産ナガズジムカデ科 (ムカデ綱：ジムカデ目) の系統分類学的研究 (英文)
主査：江口克之 副査：村上哲明・高橋文
- 津吹 真 鱗翅目の幼虫および蛹に見られる2つの擬態環：黄色地に黒すじ模様の警告色種群と赤黒/白模様の警告色種群 (英文)
主査：林文男 副査：江口克之・黒川信
- 野澤 菜緒子 ショウジョウバエを用いた老化とミトコンドリア欠損に対する 5-ALA+SFC の効果 (英文)
主査：安藤香奈絵 副査：川原裕之・坂井貴臣

オスマン ハッサン マフムード マフムード

生医学応用を目指した温度応答性と光反応性高分子の開発 (英文)

主査: 伊藤嘉浩 副査: 川原裕之・野村琴広・相垣敏郎

宮内 真帆

低分子量Gタンパク質RhoAのユビキチン化を介したストレスファイバー制御の新規メカニズム (英文)

主査: 川原裕之 副査: 岡本龍史・安藤香奈絵

矢崎 英盛

蛾類における特異な警告色擬態: 異なる発育段階での擬態および雌雄で異なるモデルへの擬態 (英文)

主査: 林文男 副査: 高橋文・岡田泰和

2022年度論文博士 (3月修了)

山田 藍生

東部インドシナとその周辺地域におけるナミバラアリ属 *Acanthomyrmex* (膜翅目アリ科フタフシアリ亜科) の非飛翔性女王の反復進化を伴う多様化 (英文)

主査: 江口克之 副査: 村上哲明・高橋文

2022 年度 生命科学教室セミナー

第 1 回(2022/04/22)

「時」を生み出す分子メカニズム

吉種 光 (東京都医学総合研究所、東京大学 大学院理学系研究科 生物科学専攻)

第 2 回(2022/07/01)

Evolution of olfactory receptors tuned to mustard oils in herbivorous Drosophilidae

松永光幸 (東京大学大学院・新領域創成科学研究科・複雑理工学専攻・能瀬研究室)

第 3 回(2022/07/22)

マルチスケールで” やっかいな” 生物の適切な管理を実現する

大澤剛士 (東京都立大学 都市環境科学研究科 観光科学域)

第 4 回(2022/08/12)

Ocean Connections: Freshwater Pearly Mussels & American eels in Central New York

Paul H. Lord (Biol Dep't, Perna Science, SUNY)

第 5 回(2022/08/25)

心臓の代謝と再生をつなぐメカニズム

木村 航 (国立研究開発法人理化学研究所 生命機能科学研究センター 心臓再生研究チーム チームリーダー)

第 6 回(2022/09/05)

[CANCELED] AI Modeling of Microbial Intelligence

Hyun-Seob Song (Department of Biological Systems Engineering, Department of Food Science and Technology, Nebraska Food for Health Center, University of Nebraska-Lincoln)

第 7 回(2022/10/14)

樹皮下キクイムシの加害様式

高木悦郎 (都市環境学部 観光科学科)

第 8 回(2022/11/21)

Simultaneous profiling of 3D genome structure and DNA methylation in single human cells

Dongsung Lee (Department of Life Science, University of Seoul, Seoul, Republic of Korea)

第 9 回(2022/12/16)

Systematics, Taxonomy and Evolution of the Australian cycad-associated weevils (Coleoptera: Curculionidae)

Hsiao Yun (Australian National Insect Collection / The Australian National University)

第 10 回(2023/01/19)

サンゴと藻類の共生：サンゴの高温環境適応

高橋俊一 (琉球大学熱帯生物圏研究センター)

第 11 回(2023/03/10)

Searching for Sparks

黒川 信 (理学部生命科学科)

第 12 回(2023/03/10)

生命科学教室のこと、動物生態学研究室のこと、自身の研究のこと

林 文男 (理学部生命科学科)

都立大バイオカンファレンス 2022

バイオカンファレンスは平成 17 年度に採択された文部科学省の補助事業「魅力ある大学院教育イニシアティブ」の活動の一環として、首都大学東京（当時）の生命系分野、東京都の研究機関、海外との人的交流促進を目的として開始された。平成 22 年度からは時勢に応じてその内容を変更しつつ、専攻長の企画のもと生命科学専攻の各委員が連携して自主的に開催している。コロナ禍により、研究交流の機会が極端に減少している本年は、大学院生を主体とした研究活動を活性化するため、11 月 11 日（金）、東京都立大学南大沢キャンパスにおいて、感染症対策をとりながら対面でのミニ講演会とポスター発表が開催された。

ミニ講演会は「URA って何？研究管理のスペシャリストから学ぶ大学院生活の心得」と題して、十津川剛氏（東京都立大学 URA・産学連携専門課長／上席 URA）による「URA という仕事」、大友朝子氏（東京都立大学 URA）による「研究成果を社会還元するには」、黒木奈津子氏（東京都立大学 URA）による「博士後期課程学生への URA 支援について」の三つの講演があり、その後は演者とパネリストの藤近敬子氏（進化遺伝学研究室 D2）を加えて総合討論が行われた。これらの講演に加え、大学院生や研究員らによるポスター発表（67 件）が行われた。

学会活動など

- 安藤香奈絵 Galen Medical Journal, Editorial Board
- 安藤香奈絵 Scientific Reports, Editor
- 安藤香奈絵 日本認知症学会 代議員
- 安藤香奈絵 日本神経化学会 評議員
- 安藤香奈絵 日本生化学会 評議員
- 福田公子 東京都立国分寺高等学校 理数教育重点校評価委員会 評価委員
- 福田公子 東京都立晴海総合高等学校 理数教育重点校評価委員会 評価委員
- 福田公子 東京都立科学技術高等学校 SSH 推進委員会 委員
- 福田公子 グローバルサイエンスキャンパス推進委員会委員
- 加藤潤一 日本ゲノム微生物学会 評議員
- 岡本龍史 Seed Biology, Senior Editor
- 岡本龍史 Frontiers in Plant Sciences, Associate Editor
- 得平茂樹 日本光合成学会幹事
- 木下温子 日本植物学会ダイバーシティ推進委員
- 木下温子 日本植物学会選挙管理委員
- 川原裕之 国際学術誌 The Journal of Biochemistry, Editorial Board
- 田村浩一郎 日本進化学会 国内渉外理事・代議員
- 田村浩一郎 日本進化学会 設立代表理事
- 田村浩一郎 日本遺伝学会 評議員
- 田村浩一郎 Molecular Biology and Evolution, Associate Editor
- 田村浩一郎 Life, Evolutionary Biology Section Editor-in-Chief
- 田村浩一郎 iDarwin, Core Editor
- 田村浩一郎 北海道大学低温科学研究所 共同利用・共同研究拠点課題等審査委員会委員
- 高橋 文 日本進化学会 代議員
- 高橋 文 日本遺伝学会 評議員
- 高橋 文 日本遺伝学会 男女共同参画推進特別委員
- 高橋 文 Molecular Biology and Evolution, Associate Editor
- 高橋 文 Genes and Genetic Systems, Associate Editor
- 高橋 文 iDarwin, Associate Editor
- 野澤昌文 日本進化学会 ウェブ担当
- 野澤昌文 日本進化学会 代議員
- 野澤昌文 日本進化学会第24回沼津大会 口頭発表賞（ポスドク）審査員
- 野澤昌文 埼玉県立熊谷高校 SSH 運営指導委員会副委員長
- 野澤昌文 科学技術・学術政策研究所 科学技術専門家ネットワーク・専門調査員
- 野澤昌文 iDarwin, Associate Editor
- 野澤昌文 Frontiers in Genetics, Associate Editor
- 黒川 信 都立新宿高校・都立大島海洋国際高校・都立大島高校学校運営連絡協議会委員
- 成川 礼 日本植物学会 ダイバーシティ委員長

成川 礼 日本光合成学会 常任幹事

成川 礼 Phycological Research, Associate Editor

成川 礼 Scientific Report, Associate Editor

成川 礼 Frontiers in Plant Sciences, Associate Editor

成川 礼 東京都立国分寺高等学校 理数教育重点校評価委員会 評価委員

春田 伸 日本微生物生態学会 評議員

春田 伸 Microbes and Environments Senior Editor

春田 伸 Frontiers in Microbiology Associate Editor

春田 伸 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry Editor

春田 伸 環境バイオテクノロジー学会 理事

鈴木準一郎 Clonal Plant Workshop, Scientific committee

鈴木準一郎 国際学術誌「Population Ecology」 Associate Editor

鈴木準一郎 国際学術誌「Ecological Reseqarch」 Editor-in-Chief

鈴木準一郎 日本生態学会 野外安全管理委員会委員

立木佑弥 日本生態学会誌 編集委員

立木佑弥 日本生態学会 将来計画専門委員会委員

立木佑弥 日本生態学会 大会企画委員会委員

立木佑弥 日本数理生物学会 運営委員

岡田泰和 日本進化学会 評議員

江口克之 日本分類学会連合広報出版委員会 委員 (ニュースレター担当)

江口克之 日本分類学会連合国立自然史博物館新設ワーキンググループ 委員

江口克之 日本分類学会連合 ABS 問題対策ワーキンググループ 委員

江口克之 日本昆虫学会 編集理事 (和文誌担当)

江口克之 日本昆虫学会誌「昆蟲 (ニューシリーズ)」 編集委員長・ABS アドバイザー (兼務)

江口克之 日本昆虫学会将来問題検討委員会 委員

江口克之 日本土壌動物学会誌「Edaphologia」 ABS アドバイザー

江口克之 日本原生生物学会 ABS アドバイザー

江口克之 ナショナルバイオリソースプロジェクト第5期分担事業「牧野標本館 ABS 学術支援チーム」 分担課題管理者 (分担機関代表者)

Adam Cronin 国際学術誌「Asian Myrmecology」 Editor-in-chief

Adam Cronin 国際学術誌「Insectes Sociaux」 Editor

Adam Cronin 「Ogasawara Research」 Expert Group and Editorial Committee 小笠原研究委員会・専門部会員

吉田貴大 日本昆虫学会誌 「昆蟲 (ニューシリーズ)」 副編集長

吉田貴大 日本昆虫学会 大会支援委員会 委員

吉田貴大 日本昆虫学会 電子化推進委員会 (委員) 兼: ウェブサイト管理ワーキンググループ

吉田貴大 日本昆虫学会 代議員

吉田貴大 日本昆虫学会 将来問題検討委員会・委員

吉田貴大 日本甲虫学会 大会事務局員

吉田貴大 日本甲虫学会誌 「Elytra New Series」 編集幹事

村上哲明 日本植物分類学会 会長・ABS 問題対応委員会委員長・APG 編集委員

村上哲明 日本学術会議 連携会員、進化学分科会・委員長、IUBS 分科会・副委員長

村上哲明 日本シダ学会 代表
村上哲明 東京都植物研究会 会長
村上哲明 国際生物科学連合 (IUBS) Exective Committee Member (理事)
村上哲明 日本分類学会連合 ABS 問題対策 WG 座長・国立自然史博物館新設 WG 委員
村上哲明 日本進化学会 日本分類学会連合担当
村上哲明 牧野標本館 ABS 学術支援チーム (2022 年度ナショナルバイオリソースプロジェクト) 委員
村上哲明 日本学術振興会 審査会等委員
村上哲明 藤原ナチュラルヒストリー財団 評議員
村上哲明 日野グリーンファンド 理事
村上哲明 千里文化財団松下幸之助花の万博記念賞選考委員会 委員長
村上哲明 市村清新技術財団 植物研究助成審査委員会 委員
村上哲明 国立科学博物館 筑波実験植物園運営委員会 委員
村上哲明 環境省 ABS 指針フォローアップ検討会 委員
村上哲明 環境省 ABS の実施に係る技術検討会 委員
村上哲明 大阪公立大学附属植物園 過去に学び未来を拓く植物多様性保全研究・教育拠点運営委員会 委員
加藤英寿 林野庁 小笠原諸島森林生態系保護地域保全管理委員会アドバイザー
加藤英寿 林野庁 国有森林生態系の修復事業にかかる検討委員
加藤英寿 環境省 希少野生動植物種保存推進員
加藤英寿 環境省 小笠原世界自然遺産地域科学委員会・陸産貝類保全ワーキンググループ委員
加藤英寿 環境省 西之島の価値と保全にかかる検討委員会委員
加藤英寿 東京都 南島モニタリング調査・植生回復調査検討会委員
加藤英寿 東京都 神代植物公園植物多様性センターアドバイザー一会議委員

研究集会の開催など

Kanae Ando 生命科学科英語課程主催公開シンポジウム ‘Presentation in Biology’ Tokyo Metropolitan University, Minamiosawa campus, 2022 年 3 月 14 日

得平茂樹 研究集会「ラン藻ゲノム交流会」世話人代表、東京都立大学南大沢キャンパス、2022 年 7 月 2 日

田村浩一郎 日本進化学会第 24 回大会、シンポジウム「Evolutionary informatics in the era of sequence data deluge」企画者、プラサヴェルデ（沼津）、2022 年 8 月 6 日

野澤昌文 学術変革（B）「性染色体サイクル」キックオフシンポジウム、領域代表、東京都立大学（ハイブリッド開催）、2022 年 8 月 26 日

春田伸 Research meeting: Principle of Microbial Ecosystems 2023– ecological modeling for microbial communities –企画・主催者、東京都立大学南大沢キャンパス、2023 年 3 月 14 日

吉田貴大 日本甲虫学会第 12 回大会 大会事務局員 明星大学（オンライン） 2022 年 12 月 10-11 日

吉田貴大 The 34th General Assembly of the IUBS, supporting member, Chuo University (Online), March 9–12 吉田貴大 第三回オンライン基礎昆虫学会議 運営補佐 オンライン 2021 年 2 月 27 日

Isaac Planas-Sitjà, Adam L Cronin, 岡田泰和 Association for the Study of Animal Behaviour (ASAB) Winter Meeting 2022 Japan Hublet, 6th Dec, 2022

東京都立大学 理学研究科 生命科学年報 2022

発行所 東京都立大学 理学研究科 生命科学専攻
(編集 庶務委員・加藤英寿)
〒192-0397 東京都八王子市南大沢 1-1
TEL 042 (677) 1111 (代表)

発行年月日 2023年3月31日
印刷所 株式会社 相模プリント
