

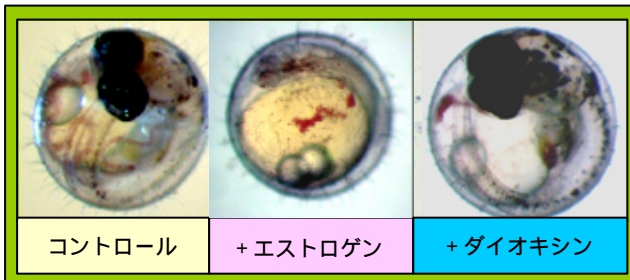
ライフサイエンス教育研究支援部・遺伝子実験担当

概要

本施設は、遺伝子実験に関する教育研究支援業務を担当する。平成元年 5 月から本格的に共同利用を開始した。平成 5 年度から「遺伝子工学トレーニングコース」予算に基づき、学内はもとより、有料で学外者に対しても公開し、遺伝子操作技術研修会を開催している。平成 10 年度から大学院先端物質科学研究科の協力講座として大学院生の教育・研究指導にも従事している。詳しくは、<http://home.hiroshima-u.ac.jp/cgswwww/>

専任教官の研究紹介

教授 山下一郎

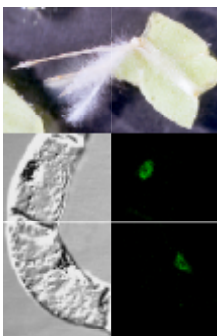


メダカの胚は透明であるため、直接、血管形成などをリアルタイムで継続的に観察できる。メダカの利点を活かしてダイオキシンやエストロゲンが血管形成に障害を起こすメカニズムについて研究している。血管障害には、ダイオキシン受容体とチトクローム P450 が関与することを明らかにした。また、エストロゲン受容体を過剰に発現することでエストロゲンに対して特異的に血管障害を引き起こす疾患モデルメダカを開発した。本メダカは環境ホルモンの簡易なバイオアッセイ法として、他に、医薬や食品分野における薬理効果のアッセイにも便利である。

(1) T. Kawamura, S. Omura, S. Sakai & I. Yamashita. No effects of estrogen receptor overexpression on gonadal sex determination and reversal in Medaka fish. *Zool. Sci.* 20: 43-47 (2003)

(2) 山下一郎「メダカの血管形成と環境監視への応用」*バイオサイエンスとインダストリー* Vol.61 No.12 印刷中

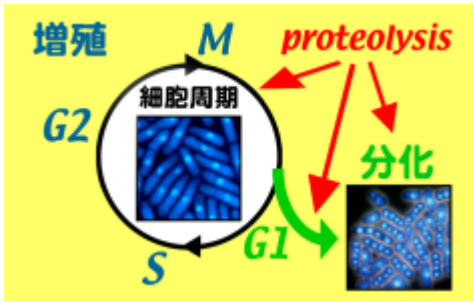
助教授 田中伸和



植物の発根機構の分子生物学的な解明をおこなうために、植物病原細菌(アグロバクテリウム)が持つ発根遺伝子(roI_B)を用いたアプローチを行っている。これまでに、RoI_Bタンパク質が植物 14-3-3 タンパク質と相互作用することを明らかにしたが、現在、14-3-3 タンパク質と相互作用する因子の単離を試みている。その中で植物の生長に関係しそうな候補因子が見つかってきており、詳細な解析を行っている。

上, 発根遺伝子(roI_B)導入で発生した根; 左下, タバコ培養細胞; 右下: RoI_B-GFP 融合タンパク質の細胞内局在部位(核)

助手 北村 憲司



増殖の適切な開始・停止制御は細胞の癌化とも密接に関係する重要な問題です。モデル生物である酵母を使い正常に増殖停止できなかった変異株を調べる事で、この過程には蛋白質分解が非常に重要な役割を持ち、増殖調節の破綻は細胞周期制御因子の分解不全に起因している事がわかりました。増殖制御の様々な局面でどのような分解系が機能しているのか、また実際にどのような蛋白質が分解される必要があるのかについて調べています。

センター利用者の研究紹介

生物圏科学研究科 教授 江坂宗春



植物の酵素遺伝子の発現調節機構について調べるとともに、有用酵素遺伝子を植物に導入し、有用な遺伝子組換え植物を作成することを目標としています。たとえば、現在、ビタミンの多い遺伝子組換え植物、ぐんぐん伸びるジャックと豆の木様植物、砂漠や海水でも育つ耐塩性植物、生け花用の枯れない植物など、夢の遺伝子組換え植物を作成可能かどうかを検討しています。特に、植物におけるビタミンCの細胞分裂の制御機能や環境ストレスに対する防御機能などを明らかにし、高成長で、栄養価も高く、環境ストレス抵抗性のビタミンC高含量遺伝子組換え植物を作成するための研究を行っています。今世紀の地球的課題である食糧問題、環境問題を解決していくための一助になることをめざして研究しております。

- (1) Kamigaki A, Mano S, Terauchi K, Nishi Y, Tachibe Y, Nito K, Kondo M, Hayashi M, Nishimura M, Esaka M. Identification of peroxisomal targeting signal of pumpkin catalase and the binding analysis with PTS1 receptor. *The Plant Journal*, 33 (1) : 161-175. (2003)
- (2) Kitabayashi M, Nishiya Y, Esaka M. Simple and efficient method for high fidelity PCR cloning using antibody-neutralizing technology. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 67(9): 2034-2037. (2003)

イモリ四肢再生の過程



写真は、有尾両生類であるアカハライモリの四肢再生の写真です。イモリの前肢は切断後、5日以内に傷修復を終え、10日後には未分化な細胞集団である再生芽の形成が起こる。3ヶ月もすると、元の前肢と区別がないほどの前肢が再生される。

多細胞生物の組織や器官は、高度な機能と秩序を持って個体の生命活動を維持しています。動物の組織や器官は、基本的に細胞と細胞外マトリックスで構成されています。さらにホルモンや増殖因子等がこれらに作用し、複雑な体を作り上げ維持しています。本研究室では、この複雑な組織・器官構築の分子機構を理解するために、特に動物が持つ組織を再構築する能力に注目して研究を行っています。再生現象には、脱分化と未分化細胞が重要な役割を果たしています。切断四肢では、分化した細胞（筋管細胞・軟骨細胞・皮膚線維芽細胞）が脱分化し、未分化な細胞集団である再生芽を形成します。再生芽細胞は、再度筋肉や骨や皮膚を作り四肢を再構築します。この不思議な再生の仕組みが理解できれば、再生医療に応用できると期待し、現在、分化した細胞が脱分化する仕組みを明らかにしようとしています。

(1) Kato, T., Miyazaki, K., Shimizu-Nishikawa, K., Koshiba K., Obara M., Mishima, H., and Yoshizato, K. Unique expression patterns of matrix metalloproteinases in regenerating newt limbs. *Dev. Dyn.* 226(2), 336-376. (2002).

利用状況

(平成 15 年 11 月 28 日現在)

総合科学部	9 名
理学研究科	47 名
医歯薬学総合研究科	7 名
生物圏科学研究科	44 名
先端物質科学研究科	20 名
原爆放射線医科学研究所	1 名
自然科学研究支援開発センター	18 名
学外者	67 名
合 計	213 名

利用申請者と研究テーマ

利 用 申 請 者	研 究 テ ー マ	共 同 研 究 者
総合科学部		
清水 典明	ヒト培養細胞を用いたレポーター遺伝子(GFR)の発現の定量	2
山崎 岳	DNA シークエンス	3
平野 哲男	DNA 塩基配列決定サービスの利用	1
手島 圭三	タンパク質の部位特異的変異導入の確認	3
理学研究科		
細谷 浩史	FACS 使用による細胞周期調節のメカニズムに関する研究	3
吉里 勝利	無尾両生類の体制変換機構の解明	4
小坂 敏和	DNA シークエンス	4
鈴木 克周	細胞分化における遺伝子発現の調節機構	1
松崎 雅広	光合成細菌の遺伝子の転写制御機構	3
赤坂 甲治	ウニ初期胚における遺伝子発現制御機構の研究	7
月向 邦彦	DNA シークエンスの決定	5
平田 敏文	植物のシグナル伝達機構の解明	8
寺東 宏明	遺伝子損傷の突然変異性と修復に関する研究	1
住田 正幸	カエルミトコンドリア DNA の rRNA の二次構造の解析	2
鈴木 厚	カエル胚の遺伝子解析	2
谷口 研至	植物遺伝子のシークエンス	2
生物圏科学研究科		
江坂 宗春	植物遺伝子の発現様式の解析	14
水田 啓子	酵母細胞の FACS 測定	1
飯島 憲章	魚類の組換え体ホスホリパーゼ A2 の作成と抗菌ペプチドの cDNA クローニング	2
永松 康德	毒素タンパク質受容体分子の解析	1
国吉 久人	DNA シークエンシング	1
堀内 浩幸	ニワトリ免疫機構の解析	13
具島 健二	DNA シークエンシング	2

利 用 申 請 者	研 究 テ ー マ	共 同 研 究 者
先端物質科学研究科 柿菌 俊英 重田 征子 新川 英典 藤江 誠 水沼 正樹	カロテノイド高生産変異株のスクリーニング DNA 塩基配列決定 細胞の分析 細胞増殖の測定 放線菌遺伝子の構造解析 植物の培養 DNA 塩基配列決定	5 2 8 1 4 1 1
原爆放射線医科学 研究所 原田 浩徳	AML-1 遺伝子の共調遺伝子同定後のデータベ ース検索	1
自然科学研究支援 開発センター 稲田 晋宣 山下 一郎	核酸の塩基配列の決定 細胞分化における遺伝子発現の調節機構	1 16

教育研究支援活動

A . 第 1 8 回公開学術講演会

遺伝子科学のフロンティア

クロマチン構造の形成とエピジェネティクス

理研・発生再生科学総合研究センター 中山 潤一

神経細胞の入力受容装置・樹状突起のパターン形成

京都大学・ウイルス研究所 上村 匡

植物ゲノミクスと応用研究

かずさ DNA 研究所 柴田 大輔

ゲノムの彼方へ～発生生物学から進化生物学へ～

徳島大学・工学部 野地 澄晴

参加者 162 名

開催日 10 月 17 日

開催場所 自然科学研究支援開発センター

(旧アイソトープ総合センター)

B. 組換えDNA実験指針講習会

講師	自然科学研究支援開発センター	山下 一郎
	"	田中 伸和
受講者 (新規利用者対象)	32名 (広島大学教官・学生)	
開催日	5月20日、6月10日、7月22日、10月27日	
開催場所	自然科学研究支援開発センター (遺伝子実験施設)	

C. 遺伝子操作技術研修会

第1回 基礎技術コース

(組換えDNA技術講習会(基礎))

組換えDNA実験の基礎的技術とその原理を習得する。また、安全性に対する考え方とそれに基づく実験上の注意事項について理解を深める。

組換えDNAの作成

大腸菌コンピテント細胞の作成と形質転換

プラスミドDNAの精製

ノーザン・ハイブリダイゼーション

PCR法

講師	自然科学研究支援開発センター	山下 一郎
	"	田中 伸和
	"	北村 憲司
受講者	20名 (広島大学教官・学生7名; 学外者13名)	
開催日	8月4日~8月8日	
開催場所	自然科学研究支援開発センター (遺伝子実験施設)	

第2回 高等技術コース

(組換えDNA技術講習会(アドバンス))

「cDNAのクローニングと組織特異的mRNAの検出」

メダカ受精卵からトータルRNAを単離

ダイオキシン受容体cDNAのプライマーの設計

RT-PCR、5'-RACE、3'-RACE法によるcDNAのクローニング

シーケンシング

in situハイブリダイゼーション法による組織特異的mRNAの検出

~ vasa mRNAの生殖細胞における発現 ~

～ VEGF 受容体 mRNA の血管内皮細胞における発現～

講師	自然科学研究支援開発センター	山下 一郎
	”	田中 伸和
	”	北村 憲司
受講者	12 名 (広島大学教官・学生 5 名; 学外者 7 名)	
開催日	8 月 18 日～8 月 22 日	
開催場所	自然科学研究支援開発センター (遺伝子実験施設)	

D. 遺伝子研修会「中学校・高校でできる遺伝子実習」

1. 講義 最新の遺伝子学 ,
「遺伝子実験操作技術の歴史と基礎理論」
(1)遺伝子組換え技術に用いる道具の開発
(2)組換え DNA の作製法
(3)遺伝子組換え作物の作製法
「組換え DNA 実験指針」
2. 実習 中学・高等学校で使える遺伝子実験
(1)遺伝子を発現させる
(2)遺伝子物質を観る

	講師	自然科学研究支援開発センター	山下 一郎
		”	田中 伸和
		”	北村 憲司
第一回	受講者	25 名 (広島県の中学、高校の理科教員)	
	開催日	7 月 10、11 日	
	開催場所	自然科学研究支援開発センター (遺伝子実験施設)	
第二回	受講者	23 名 (広島県の中学、高校の理科教員)	
	開催日	8 月 30、31 日	
	開催場所	自然科学研究支援開発センター (遺伝子実験施設)	

E. 3 年次学生実習「遺伝子組換えメダカと植物」

1. 講義
「遺伝子組換えメダカ概論」

「遺伝子組換え植物概論」

2. 実習

- (1)メダカDNAの調製
- (2)PCR法
- (3) in situ ハイブリダイゼーション法
- (4)タバコ培養細胞のプロトプラスト調製
- (5)GFPレポーター遺伝子の導入と発現
- (6)植物細胞における組織特異的な遺伝子発現

講師	自然科学研究支援開発センター	山下 一郎
	”	田中 伸和
	”	北村 憲司
受講者	10名(工学部3年次学生)	
開催日	平成16年3月1日～3月5日	
開催場所	自然科学研究支援開発センター(遺伝子実験施設)	

F. 生命科学フォーラム

- 第一回：平成15年10月24日 遺伝子実験施設1階セミナー室
講演者：小原 政信 (理学研究科・生物科学専攻)
座長：矢尾板 芳郎 (理学研究科・生物科学専攻)
演題：アデノウイルスベクターによる肝線維症の進展阻止に関する研究
- 第二回：平成15年11月25日 遺伝子実験施設1階セミナー室
講演者：山田 隆 (先端物質科学研究科・分子生命機能科学専攻)
座長：柿園 俊英 (先端物質科学研究科・分子生命機能科学専攻)
演題：クロロウイルスにまつわる謎解き
- 第三回：平成15年12月19日 遺伝子実験施設1階セミナー室
講演者：矢尾板 芳郎 (理学研究科・生物科学専攻)
座長：小原 政信 (理学研究科・生物科学専攻)
演題：両生類の変態における幼生の尾の退縮の分子機構

G. DNAシーケンシングサービス

平成14年度	38件 294サンプル
平成15年度(11月28日現在)	86件 474サンプル

H . 技術セミナー

リアルタイムPCR法による遺伝子発現解析

開催日	平成15年12月4日
開催場所	自然科学研究支援開発センター(遺伝子実験施設)
講師	自然科学研究支援開発センター 山下 一郎
	” 田中 伸和
	” 北村 憲司
	ロシュダイアグノスティックス(株) 石川 喜和