

## 遺伝子実験部

### 概要

本部門は、組換えDNA実験並びに遺伝子組換え生物実験に関する教育研究支援業務を担当している。本部門では従来より組換えDNA実験指針に準拠した教育訓練を行ってきたが、平成16年2月に遺伝子組換え生物の使用に関する法律（カルタヘナ法）が施行されたことを受け、組換えDNA実験安全委員会のメンバーとして実験計画書の審査や安全講習会の講師などを行うことで全学的な安全管理に携わり、遺伝子組換え実験のリスクマネージャーとして安全委員会を支えている。さらに、これに関連して、バイオセーフティ委員会、平成24年度からは動物実験委員会の委員として広島大学の生命科学系実験におけるコンプライアンスの徹底に寄与している。一方、平成12年度より中学校・高校の教員向けの遺伝子研修会を、平成16年度より高校生向けの遺伝子操作体験実習を行っており、近年ではサイエンスパートナーシップ・プログラムに協力し、多数の高校生の遺伝子教育に貢献している。

平成23年度から3年間、文部科学省特別経費として「設備サポート事業費」が配分されたことで、生命科学研究機器の東広島キャンパスにおける拠点としての役割が強化されている。特に、平成14年度に開始したDNA塩基配列決定サービスはその高品質な配列結果が大変好評で、毎年多くの依頼を受けており、平成20年度に開始した電子顕微鏡観察サービスの受託件数も順調に推移している。さらに、平成24年度よりMALDI-TOF-MSを利用して開始した質量分析サービスは、平成25年度に受託解析を加えることで、本部門の新たな主力サービスとして認知されており、今後の利用増加が見込まれる。その他、技術セミナー、生命科学フォーラム、トランスジェニック生物ワークショップなどを開催し部局を超えた情報交換の場も提供している。平成16年度に設置した遺伝子組換え動植物の飼育・培養設備（遺伝子実験施設2階）において、遺伝子科学研究開発部並びに関連研究科から採択された重点研究を推進している。

なお、平成26年12月より東広島実験動物集約管理施設の設置のための改修を行っており、平成27年7月半ばごろ施設点検が行われる予定である。

学部教育については、工学部の学内非常勤として第三類発酵工学講座の講義及び実習を受け持ち、学部4年生の研究指導を行っている。また、平成10年度より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・研究指導にも携わっている。

本部門の研究支援活動並びに教育研究活動の詳細については、本部門のホームページ(<http://www.hiroshima-u.org/>)をご参照いただきたい。

## 専任教員の研究紹介

教授 田中伸和

アラビノガラクトタンパク質 (AGP) は様々な機能を持つ植物特有の細胞表層プロテオグリカンであり、各種の外界シグナル物質の受容は複雑な構造を持つ糖鎖部分で行われると考えられている。我々は AGP 糖鎖構造を人為的に改変する方法を確立する研究を行っている。昨年度来、糖鎖を減少する手法として AGP 糖鎖を分解する酵素遺伝子を導入した多数のタバコ培養植物系統を作製し、その形質を観察してきた。その結果、糖鎖分解酵素遺伝子の発現量と酵素活性の強度はそれぞれの系統でほぼ相関していた。一方、AGP 糖鎖量は糖鎖分解酵素活性の強さと逆の相関を示し、糖鎖分解酵素が細胞外で AGP 糖鎖を特異的に分解していることが示唆された。さらに、AGP 糖鎖量の減少と培養植物系統の植物体再生能、再生植物の生育能、細胞増殖能の低下が相関していた。以上のことから、AGP 糖鎖分解酵素遺伝子の導入と発現により AGP 糖鎖量が減少し、植物体の再生、生育、増殖が抑制されると推定された。

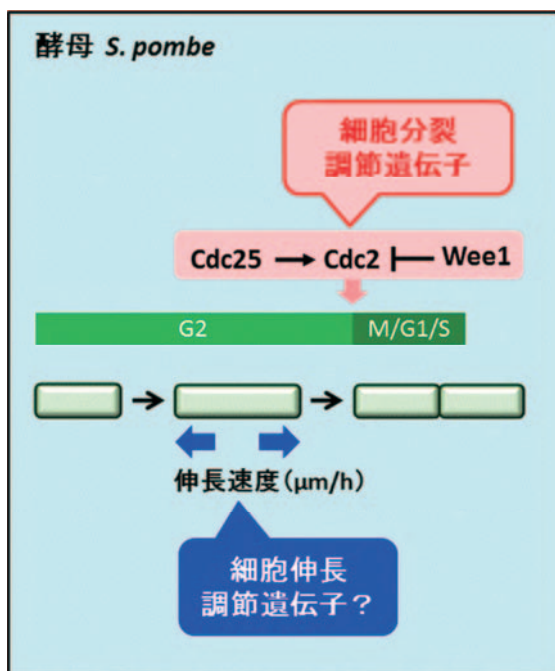
今後は、遺伝子発現誘導系を用いて任意に発現誘導できる AGP 糖鎖分解酵素遺伝子を導入したタバコ植物を作製し、酵素発現特異的に植物体の成長が抑制されるかを調べ、AGP 糖鎖と植物の発生、生育との関係を明らかにする予定である。

助教 北村憲司

分裂酵母の *ubr11* 変異株が示す細胞外オリゴペプチド利用不能形質の原因について調べた。*Ubr11* はヒトにも保存されたユビキチンリガーゼだが、分裂酵母の *ubr11* 変異株では DNA 結合蛋白質である *Upa1* 蛋白質が安定化しているために *Upa1* 蛋白質量が増大していた。*Upa1* はペプチド輸送体遺伝子の転写を抑制する機能を持ち、*ubr11* 変異株ではペプチド輸送体がほとんど発現していない事がペプチド利用不能の主な原因だった。細胞外にジペプチドが存在すると、*Ubr11* に依存して *Upa1* 蛋白質量が減ると共に、ペプチド輸送体遺伝子の発現量は亢進した。ペプチド利用の制御機構の理解に向け、*Ubr11* が *Upa1* を不活性化する仕組みの詳細を明らかにする事が、今後の課題である。

教授 山下一郎

細菌から動植物まで、倍数体細胞はサイズ(容積)が大きくなることが知られている。染色体の倍加による細胞サイズの増大は発生や器官形成に重要であるが、なぜ同質の遺伝子セットが倍加するだけで細胞サイズが大きくなるのかは長く不明である。本年は、酵母 *S. pombe* の一倍体(1N)と二倍体(2N)細胞において、細胞伸長と細胞分裂に関わる遺伝子を同定し、遺伝子産物の細胞内挙動を調べた。その結果、細胞分裂を調節する遺伝子として知られている *cdc25* 及び *wee1* が細胞伸長も調節していることを見出した。また、Cdc25p 及び Wee1p は 2N 特異的に細胞内局在性を調節されることで 2N 細胞の伸長速度を高めていることが明らかになった。



**利用状況** (平成 27 年 3 月 31 日現在)

総合科学研究科	25 名
教育学研究科	6 名
理学研究科	114 名
医歯薬保健学研究科	2 名
工学研究科	11 名
生物圏科学研究科	148 名
先端物質科学研究科	62 名
ナノデバイス・ハイブリッド融合科学研究所	2 名
サステナブル・テクノロジー・イノベーション実践研究センター	5 名
自然科学研究支援開発センター	12 名
学外者	3 名
合 計	390 名

**主な分析機器の利用**

		平成 24 年	平成 25 年	平成 26 年
FACS	(回数)	62	61	95
リアルタイム PCR	(回数)	4	81	145
冷却 CCD 蛍光顕微鏡	(時間)	477	48	82.5
透過型電子顕微鏡	(時間)	504	329	403
シーケンサー (セルフラン)	(ラン回数)	567	626	916
走査型電子顕微鏡	(時間)	20	5	3
TOF-MS	(時間)	—	120	764.5
オリンパス共焦点レーザー顕微鏡	(時間)	1402	743	845.5
カールツァイス共焦点レーザー顕微鏡	(時間)	—	—	444.5
ChemiDoc	(回数)	73	113	162

**利用申請者と研究テーマ**

- 利用申請者の研究発表論文はセンター・ホームページに掲載しています。

利 用 申 請 者	研 究 テ ー マ	共 同 研 究 者
総合科学研究科 平野 哲男	骨髄性白血病における非コード性 RNA の役割	2

彦坂 暁	トランスポゾンの転移活性と進化に関する研究 及び無腸動物と藻類の共生に関する研究	2
斎藤 祐見子	摂食うつ不安に関連する GPCR シグナリング解析	8
石原 康宏	中枢神経系におけるステロイドホルモンの役割の解明	3
佐藤 明子	ショウジョウバエ網膜を用いた細胞生物学研究	3
浮穴 和義	神経ペプチドの機能解析	3
	脳内因子の機能解明	3
石田 敦彦	FDCD の基礎的研究	2
高原 輝彦	環境中の DNA を利用した生物モニタリング手法の開発	1
教育学研究科		
松原 主典	天然生理活性物質に関する研究	2
富川 光	無脊椎動物の系統分類学的研究	4
理学研究科		
菊池 裕	再生を制御するエピジェネティック機構の解明	1 1
濱生 こずえ	細胞分裂のメカニズム解明	1 2
	細胞分裂と運動に関する研究	7
小原 政信	新奇グロビン蛋白質の機能解明	3
植木 龍也	ホヤによる高選択的金属濃縮の研究	4
森下 文浩	軟体動物の神経ペプチドの構造と機能に関する分子生物学的研究	2
鈴木 克周	生物界を超えた遺伝子伝達機構の研究	1 3
山口 富美夫	コケ植物の系統と種分化	2
泉 俊輔	植物生体内における分子の動態・状態変化を主に酵素科学的・生化学的に取り扱う	8
	生体高分子の相互作用解析、質量分析法	2
坂本 尚昭	ウニを用いた遺伝子発現制御機構の解析	1 9
中坪 敬子	アリールスルファターゼの機能解析	2
坂本 敦	変動環境と植物の成長生存戦略	1 2
三浦 郁夫	両生類の性決定と色彩発現	1
鈴木 厚	初期発生の分子機構	4
高瀬 稔	両生類におけるホルモン作用機構の解析	1
矢尾板 芳郎	両生類の変態の分子機構	1
草場 信	葉老化制御の分子遺伝学的研究	1

	葉緑体機能改変を用いたステイグリーン植物の創出	1
	キク属遺伝資源を用いた遺伝学研究	1
安井 金也	ナメクジウオの進化発生学的研究	3
田川 訓史	半索動物ギボシムシの再生及び分子発生生物学的・ゲノム科学的研究	4
山口 信雄	ホヤ金属濃縮	1
平谷 篤也	混合自己組織化単分子膜の混成評価	2
白石 史人	温泉堆積物の地球微生物学	5
灰野 岳晴	機能性超分子集合体の構築	2
医歯薬学総合研究院 茶山 一彰	B型肝炎ウイルスの複製と関連する新奇宿主遺伝子の探索	2
工学研究院		
滝島 繁樹	ポリマーブレンド・アロイ材料の開発	4
定金 正洋	新規染色剤によるウイルス観察	1
池田 篤志	リボソーム工学	2
金田一 智規	分子生物学的手法を用いた環境微生物群集の解析	4
生物圏科学研究科		
古澤 修一	ニワトリの NALT の解析	4
堀内 浩幸	鳥類におけるゲノム編集技術の確立	8
江坂 宗春	ストレス耐性植物の作出に関する研究	1 2
矢中 規之	栄養素と疾病に関する研究	1 2
水田 啓子	細胞増殖制御の分子機構	6
国吉 久人	ミズクラゲ幼生の変態に関する研究	3
小山 寛喜	甲殻類の筋肉に関する研究	1
豊後 貴嗣	ニワトリの遺伝解析	3
都築 政起	家禽の遺伝解析	4
西堀 正英	資源動物の分子進化学的解析および有用遺伝子の探索	8
堀 貫治	海藻レクチンの機能解析	1 1
田辺 創一	乳酸菌による腸炎抑制効果の検証	5
河合 幸一郎	エリユスリカ亜科の生態と系統進化の関係について	5
上 真一	クラゲ類の増殖に関わる生態生理学的研究	1

小池 一彦	単細胞性藻類のリボゾーマル RNA 遺伝子の解析	8
長沼 毅	環境中の微生物における小サブユニット rRNA 遺伝子および分子系統分	6
清水 典明	遺伝子増幅の分子機構	6
	動物細胞内での遺伝子増幅機構	2
和崎 淳	植物の低リン耐性に関わる遺伝子の解析	3
大塚 攻	海洋生物の系統と分類に関する研究	3
冲中 泰	魚類ウイルスの感染メカニズムの解明	1
中井 敏博	魚介類の感染症	8
富山 毅	魚類個体群生態学	2
上田 晃弘	植物の環境ストレス耐性向上の試み	1 1
	植物及び細菌の環境ストレス応答	3
海野 徹也	海洋生物の遺伝的多様性	1 1
富永 るみ	植物表皮細胞分化の研究	6
先端物質科学研究科		
荒川 賢治	放線菌の二次代謝生合成および生産制御機構の解析	9
岡村 好子	マリンメタゲノムの有効利用	5
	燃油を生産する光合成細菌	3
秋 庸裕	機能性脂質の生合成及び発酵生産に関する研究	1 0
河本 正次	免疫応答に関する分子細胞生物学的研究	1 1
中の 三弥子	糖鎖解析	6
土屋 英子	出芽酵母の染色体構造変換に関する研究	2
中島田 豊	共生系によるアルギン酸分解機構の解析	2
	合成ガス資化性好熱性細菌 <i>Morella thermoacetica</i> の外来遺伝子発現強化に関する研究	2
山田 隆	高等植物の分子生物学的研究	6
水沼 正樹	真核生物の細胞極性制御および寿命制御に関する研究	2
上野 勝	テロメアの研究	1
廣田 隆一	バクテリアのリン代謝機構の解析	2
川北 龍司	HUT 株の品質管理としての菌株の再同定	1
岩下 和裕	麹菌の分子生物学	2
ナノデバイス・ハイ融合科学研究所		
岩坂 正和	DNA 塩基結晶の蛍光観察	2

サステナブル・デベロップメント 実践研究センター	舟橋 久景	プラスミド DNA 塩基配列決定と細胞内 mRNA の蛍光顕微観察	3
	土居 秀幸	環境 DNA による生物モニタリング手法の開発	2
自然科学研究支援開発 センター	山下 一郎	染色体の倍数性による細胞サイズの調節	1
		無腸動物と内部共生藻の共生機構	2
	田中 伸和	外来異種遺伝子導入による植物の機能変化の研究	6
	北村 憲司	蛋白質分解による細胞機能制御	2
	松嶋 亮人	環境中の微生物の同定	1

## 教育研究支援活動

### A. 新規利用者講習会

講師	自然科学研究支援開発センター	山下 一郎
	〃	田中 伸和
	〃	北村 憲司
受講者（新規利用者対象）	162名（広島大学教員・学生）	
開催日	平成26年4月7日、4月15日、4月16日 6月6日、6月9日、6月11日 7月10日、7月15日、8月8日 8月21日、9月16日、9月19日 9月25日、10月21日、10月27日 11月4日、11月20日、12月1日 平成27年2月3日、3月2日、3月18日	
開催場所	自然科学研究支援開発センター (RI 総合部門、遺伝子実験棟)	

### B. サイエンスパートナーシッププロジェクト（SPP）

「コメの品種をDNAで見分ける」（広島県立祇園北高等学校）

#### 1. 講義・説明

- ① DNAについて
- ② コメについて



③ 実験の説明

・コメの品種をPCRで鑑定

④ 今回の実験はどのように応用されているか

2. 見学

① 分子生物学に用いられる機器

② 遺伝子組換え生物

3. 実験

① 3種類のコメの品種を鑑定する

コメの品種のマーカー遺伝子のDNAをPCR法で増幅し、電気泳動を行って、  
品種の鑑定を行う。

講師： 自然科学研究支援開発センター 田中伸和

TA： 先端物質科学研究科大学院生2名、生物圏科学研究科大学院生1名、工学部発  
酵工学講座学生3名、生物生産学部学生1名、合計7名

受講者： 広島県立祇園北高等学校理数科生徒  
1年生 40名

開催日： 平成26年9月4日（木） 10：00-15：30

開催場所： 自然科学研究支援開発センター・RI 総合セミナー室

**C. スーパーサイエンスミュージアム**

第7回講座「おいしいお米をDNAで見分ける」

講師： 自然科学研究支援開発センター 田中伸和

受講者： 小学5-6年生（16名）および父兄

開催日： 平成26年7月7日（日） 9：00-12：00

主催： スーパーサイエンスミュージアム実行委員会

共催： 広島市こども文化科学館

開催場所： 広島大学自然科学研究支援開発センター・遺伝子実験棟 P2 実験室

**D. 遺伝子組換え生物等使用実験に関する安全講習会**

講師： 自然科学研究支援開発センター 田中伸和

受講者： 広島大学遺伝子組換え実験従事者

実施日： 平成26年4月11日（金）、9月29日（月）

主催： 広島大学組換えDNA実験安全委員会

開催場所： 理学研究科E102 講義室

## E. 施設見学

- 日時：平成 27 年 1 月 9 日（金）

見学内容：DNA シーケンサーによる塩基配列決定、共焦点レーザー顕微鏡

見学者：広島大学教育学部 生物教材内容論 III 受講者 23 名

引率者：富川光（教育科学研究科 准教授）

## F. 授業

- 日時：平成 27 年 1 月 8 日

実験内容：ランの共生プロトコームの微細構造を電顕で観察し、2つの真核生物の共存する現象を理解する。

利用者：広島大学総合科学部 自然環境実験 D 履修者 2 名

担当教員：久我 ゆかり（総合科学研究科 教授）

- 日時：平成 27 年 1 月 22 日、23 日

実験内容：ショウジョウバエ網膜の微細構造を電子顕微鏡で観察する

利用者：広島大学総合科学部 生命科学実験 D 履修者 4 名

担当教員：佐藤 明子（総合科学研究科 准教授）

## G. 技術セミナー

- 第 56 回遺伝子技術セミナー

一分子リアルタイムシーケンサーPacBio RS II

講師 トミーデジタルバイオロジー株式会社 北爪 美和子

受講者 45 名（広島大学教員、学生）

開催日 平成 26 年 5 月 20 日

開催場所 自然科学研究支援開発センターRI 総合セミナー室

- 第 57 回遺伝子技術セミナー

ライカ スペクトル共焦点レーザー顕微鏡 TCS SP8 & マクロ蛍光 Imaging System テクニカルセミナー「イメージングのブレークスルー技術」および実機デモンストレーション

講師 ライカマイクロシステムズ株式会社 五十嵐 健  
森下 達治

受講者 20 名（広島大学教員、学生）

開催日 平成 26 年 6 月 17 日・18 日・19 日

開催場所 自然科学研究支援開発センター遺伝子実験棟

●第58回遺伝子技術セミナー

IVIS Imaging System テクニカルセミナー

講師 住商ファーマインターナショナル株式会社 担当者  
 受講者 12名 (広島大学教員、学生)  
 開催日 平成26年11月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棟

H. DNAシーケンシングサービス

・相互利用：セルフラン依頼件数 (サンプル数)

	総	教	理	工	生	先	サ	自	医	合計
H26	5(80)	24(800)	134(3760)	-	257(9392)	27(448)	5(176)	-	-	452(14656)
H25	4(64)	13(448)	32(896)	-	239(8336)	6(160)	3(112)	-	-	297(10016)

・依頼測定：依頼件数 (サンプル数)

	総	教	理	工	生	先	サ	自	医	合計
H26	5(44)	-	182(874)	-	55(716)	42(179)	11(46)	16(72)	-	311(1931)
H25	4(64)	-	157(799)	-	67(867)	73(405)	10(64)	22(87)	-	333(2286)

・依頼測定：内容別依頼件数 (サンプル数)

	1. 泳動+解析	2. 精製+泳動+解析	3. 反応+精製+泳動+解析	4. プレートラン	合計
H26	91(394)	55(489)	163(1016)	2(32)	311(1931)
H25	117(470)	77(724)	132(988)	7(104)	333(2286)

I. 電子顕微鏡観察受託サービス

・受託サービス依頼件数

【平成26年度】

	総	教	理	工	生	先	自	H26	合計
試料作製, 観察 <sup>※1</sup>	-	-	15 (41)	-	1 (8)	-	1 (2)	17	(51)
観察補助 <sup>※2</sup>	8 (20)	-	2 (4)	5 (3)	5 (20)	6 (31)	-	26	(78)
技術講習 <sup>※2</sup>	2 (6)	-	2 (5)	10 (35)	1 (2)	-	-	15	(48)

【平成 25 年度】

	総	教	理	工	生	先	自セ	H25 合計
試料作製, 観察※ <sup>1</sup>	-	-	12 (17)	-	4 (9)	-	-	16 (26)
観察補助※ <sup>2</sup>	-	-	-	-	-	7 (32)	-	7 (32)
技術講習※ <sup>2</sup>	-	-	-	3	-	-	-	3

※1 ( ) は依頼サンプル数 ※2 ( ) は時間

J. 質量分析 (MALDI-QIT-TOF/MS) 受託サービス

- ・初心者向け技術講習会 (質量分析) (マトリックス支援レーザー脱離イオン化四重極イオントラップ飛行時間型質量分析装置利用における前処理および利用講習)

講師 自然科学研究支援開発センター 石原 波

受講者 計 9 名

(広島大学院生、学部生、研究員)

開催日 第 1 回：平成 26 年 4 月 22 日 - 25 日

第 2 回：平成 25 年 5 月 20 日 - 23 日

第 3 回：平成 26 年 6 月 17 日 - 20 日

開催場所 自然科学研究支援開発センター遺伝子実験棟 P2 実習室

- ・質量分析装置 (MALDI-QIT-TOF/MS) 相互利用者数

	生 圏	理 学	先 端	工 学	医 菌 薬	原 医	総 科	自 然 七	合 計
平成 26 年度	5	21	9	0	3	0	10	3	51
平成 25 年度	5	12	5	0	2	0	1	1	26

- ・質量分析装置 (MALDI-QIT-TOF/MS) 依頼件数 ( ( ) はサンプル数)

平成26年度

依頼内容	生 圏	理 学	先 端	工 学	医 菌 薬	原 医	総 科	自 然 七	合 計
MS 分析		8(13)	4(4)		4(4)		2(2)	3(6)	21(29)
MS/MS 分析		1(2)							1(2)
Mascot 検索		2(5)							2(5)
測定補助		1	1				2	1	5
測定相談		11	2				6	1	20

平成25年度

依頼内容	生	圈	理	学	先	端	工	学	医	菌	薬	原	医	総	科	自	然	セ	合	計
MS 分析																				3(7)
MS/MS 分析																				0
Mascot 検索																				2(4)
測定相談	1		4							1					1					7

#### K. 機器利用講習

機器名	総	教	理	工	生	先	端	自	医	受	講	者	開	催	回	数	講	師
										数	合	計	催	回	数			
DNA シーケンサー ABI 3130xl	3	2	12	0	18	4	-	-	-	39			19 回 (H26. 4/16, 4/24, 4/25, 5/1, 5/8, 5/13, 5/29, 6/3, 6/11, 6/12, 8/21, 9/16, 9/19, 10/27, 10/29, 10/30, 12/1, 12/8, H27. 3/18)			彦坂 (自セ)		
共焦点レーザー顕微鏡 FV-1000	-	-	15	-	-	-	-	-	-	15			1 回 (H27. 5/9)				坂本 (olympus)	
共焦点レーザー顕微鏡 LSM700	9	2	19	7	30	3	-	2	-	72			6 回 (H26. 3/5, 4/24, 4/25, 7/3, 9/8, 9/9)			山口 (zeiss)		
透過型電子顕微鏡 JEM-1400	2	-	1	3	5	3	-	-	-	14			5 回 (H26. 9/16, 10/16, 11/14, 11/20, H27. 1/14)			小池 (技セ)		
質量分析装置 MALDI-QIT-TOF/MS	7	-	3	-	-	-	-	-	1	11			6 回 (H26. 5/13, 5/14, 5/15, 5/16, 8/7, 11/20)			石原 (技セ)		
質量分析装置 AXIMA CFR plus	-	-	9	8	-	2	-	-	-	19			4 回 (H26. 6/11, 6/12, 6/13, 6/26)			石原 (技セ)		

#### L. 外部委員等

- とっとりバイオフロンティア遺伝子組換え実験安全委員会委員 (田中)
- (独) 水産総合研究センター瀬戸内海区水産研究所遺伝子組換え実験安全委員会委員 (田中)
- NBRP 酵母遺伝資源運営委員会委員 (北村)