

「形とはたらき」研究領域活動・事後評価報告書

－平成 12 年度終了研究課題－

領域総括 丸山 工作

1. 研究領域の概要

生物、無生物などに見られる多様な形とその意義、できかた、相互作用、系の形成、環境への適応などの「はたらき」を研究する。例えば、「形」を利用した分子認識、分子集合体の構築、それら集合体による高次構造の形成、できあがった高次構造の機能、高次構造の究極な「形」である生命、動植物でみられる寄生、共生、擬態などによる系の形成、環境への適応に関する研究などを含む。

2. 研究課題、研究者名

[別紙一覧表参照](#)

3. 選考方針

選考は「形とはたらき」領域に設けた選考会議でおこなう。会議は領域総括および選考アドバイザー（領域アドバイザー、7名）により構成し、領域総括が統括する。

基本方針は以下の通りとする。

選考方法は、書類選考、面接選考および総合選考とする。

(1)独創的な発想に恵まれ、活気に富み、自ら研究を実施するものを優先する。より具体的には、実績がなくてもアイデアがすばらしい人、チャレンジする人に優先して機会を与える。

(2)基礎的な研究(理論的研究を含む)を対象とする。

4. 選考の経過

1応募課題につき担当選考アドバイザー2 名が書類審査し、書類選考会議において面接選考の対象者を選定した。続いて面接選考および総合選考により、採用候補者を選定した。

選考	書類選考	面接選考	採用者数
対象数	249 人	22 人	10 人

5. 研究実施期間

平成 9 年 10 月～平成 12 年 9 月

6. 領域の活動状況

領域会議 7 回、さがけ研究報告会 1 回(東京)を開催し、研究進捗状況の報告と討論、研究交流を図った。また領域総括は研究者を訪問し、研究実施場所の調査と研究進捗状況の把握を行った。

7. 評価の手続き

領域総括が個人研究者からの報告・自己評価を基に必要に応じて領域アドバイザーの協力を得て行った。また、一般公開の研究報告会において産官学の参加研究者から研究成果に対する意見、評価を受け、それらを参考にした。

(評価の流れ)

平成 12 年 9 月	研究終了
平成 12 年 11 月	研究報告会開催
平成 13 年 1 月まで	研究報告書及び自己評価提出
平成 13 年 2 月	領域総括による評価

8. 評価項目

- (1) 外部発表(論文、口頭発表等)、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況
- (2) 得られた研究成果の科学技術への貢献

9. 研究結果

25 倍という高倍率のもとに選ばれた 1 期生 10 人は、文字通り一騎当千の面々である。どんなに良い提案内容であっても努力に比例して成果があげられる計画ははずしたので、3 年後にどうなるかわからない人たちもいたが、予想を上回る成果をあげ、私ども選考委員すべては彼らの結果とこれからの発展を祝福した。

なかでも絶滅生物を CG で再現するプランは、科学研究に値するかどうかで判断が別れたが、その夢と意欲を買うことにした。2 年もたたないうちに流体力学に裏打ちされたバーチャル・リアリティの世界が創出され、国際的な評価を受けるに至った。また、ランダムな配列のペプチドを進化させて機能をもたせる進化の実験的研究も成否の可能性が疑われたが、リスクに賭けることにした。予想通り難航したが、目のつけどころよく、ようやく“進化する”機能ペプチドの創出につながった。それからショウジョウバエの分子遺伝学者が、少年時代から夢見ていたアサガオの遺伝子地図を作りたいと提案してきた。江戸時代の変異株種子 700 種類を保存しているという。アサガオ農場が開園され、3 年でアサガオをモデル植物化する目処がついた。江戸の園芸を先端科学とする話である。

あとの 7 人については後述する個別の見解に譲る。私どもはさきがけ研究 21「形とはたらき」1 期生 10 人すべてを心から誇りとしたい。彼等の 10 年、20 年後を楽しみにしている。

10. 評価者

領域総括 丸山 工作 大学入試センター理事長

領域アドバイザー氏名

岩槻 邦男	放送大学 教授
佐藤 矩行	京都大学大学院理学研究科 教授
鈴木 正昭	岐阜大学工学部 教授
瀬高 信雄	無機材料研究所 顧問
星 元紀	慶應義塾大学理工学部 教授
柳田 敏雄	大阪大学大学院医学系研究科 教授
吉里 勝利	広島大学理学部 教授

・(参考)

(1) 外部発表件数

	国内	国際	計
論文	3	34	37
口頭	105	39	144
その他	25	12	37
合計	133	85	218

(2) 特許出願件数

国内	外国	計
2	0	2

(3) 受賞等

第10回有機合成化学協会東レ研究企画賞(1997)

第3回ロレアル賞奨励賞(2000)

(4) 招待講演

国際 21 件

国内 25 件

「形とはたらき」領域 研究課題名及び研究者名

研究者名 (参加形態)	研 究 課 題 名 (研究実施場所)	現 職 (応募時所属)
蟻川 謙太郎 (兼任)	色受容ユニットの配列パターンと視覚機能 (横浜市立大学理学部)	横浜市立大学理学部 教授 (同上 助教授)
上島 励 (兼任)	軟体動物の特異な遺伝現象に関する基礎的研究 (東京大学大学院理学系研究科)	東京大学大学院理学系研究科 講師 (同上)
宇佐見 義之 (兼任)	絶滅した生物の生態をコンピューターを用いて再現する (神奈川大学工学部)	神奈川大学工学部 助手 (同上)
大久保 達也 (兼任)	Moleculics を実現する空間の形状制御 (東京大学大学院工学系研究科)	東京大学大学院工学系研究科 助教授 (同上 講師)
久保 由治 (兼任)	機能集積型高次構造を有する人工レセプター (埼玉大学工学部)	埼玉大学工学部 助教授 (同上)
小守 壽文 (兼任)	骨形成過程に関わる遺伝子群の解明 (大阪大学大学院医学系研究科)	大阪大学大学院医学系研究科 助手 (同上)
西川(清水)慶子 (兼任)	形の作り直しー再生現象の分子生物学的解析Ⅱ (広島大学理学部)	科学技術振興事業団地域結集型共同 研究事業 特別研究員 (神奈川科学技術アカデミー生体シグナル 伝達プロジェクト 非常勤研究員)
仁田坂 英二 (兼任)	アサガオ (<i>Ipomoea nil</i>) のモデル植物化に関する研究 (九州大学大学院理学研究院)	九州大学大学院理学研究院 助手 (同上)
武藤 悦子 (専任)	微小管を介した情報伝達の一分子イメージング (科学技術振興事業団 さきがけ研究21 武藤研究室)	理化学研究所 上級研究員 (科学技術振興事業団柳田生体プロジェクト 研究員)
四方 哲也 (兼任)	ランダム配列からの機能性蛋白質の創出 (大阪大学大学院工学研究科)	大阪大学大学院工学研究科 助教授 (同上 助手)

研究課題別研究評価

1. 研究課題名：色受容ユニットの配列パターンと視覚機能

2. 研究者名：蟻川 謙太郎

3. 研究のねらい：

昆虫は世界をどのように見ているか？この質問にさまざまな角度から取り組みながら、視覚メカニズムに関する理解を深めることを目指した。特に複眼の構造と視覚機能の関連を考えながら研究を進めた。研究のポイントは色覚におき、研究対象にはチョウ類を選んだ。

4: 研究結果及び自己評価

研究結果

- 1) 求蜜行動中のアゲハの色覚と色恒常性: 本研究で導入した人工気象室を使い、色紙と蜜を結びつけて学習させる方法で、アゲハに色覚を証明した。さらに照明光の波長分布特性を調節し、アゲハに色恒常性があることを証明した。
- 2) 網膜の細胞構成: 複眼は約 12,000 個の個眼から成り、個眼ひとつには9個の視細胞がある。アゲハ複眼で同定されていた5種の色受容細胞の個眼内分布を徹底的に調べ、アゲハ複眼には色受容細胞の組合せの違う3タイプの個眼があることを明らかにした。
- 3) 個眼における蛍光の起源: 3タイプの個眼のうち1つは紫外照射下で蛍光を放つ(蛍光個眼)。蛍光の由来は 3-OH レチノールであることが分った。さらに、複眼に 3-OH レチノールをリガンドとする新規レチノール結合タンパク質を同定した。
- 4) 蛍光個眼と紫受容細胞: 蛍光個眼には、分光感度が鋭い紫受容細胞がある。この特異な分光感度の生成機構を検討した。紫外受容細胞が 3-OH レチノールが紫外線吸収フィルターの影響を受け、紫受容細胞になっていることが分った。
- 5) 視物質重複発現とA細胞と蛍光個眼: 分子生物学的実験から、蛍光個眼には緑受容型と赤受容型の2種の視物質 mRNA をもつ細胞があることが分った。生理実験の結果、この細胞の分光感度は異常に幅広いことが分り、これをA細胞と名づけた。
- 6) 視葉板ニューロンの反応特性: 視細胞の情報を最初に受け取る視葉板ニューロンの活動を細胞内誘導する実験系を確立した。

自己評価

上記の1)―5)までの研究結果は、いずれも視覚生理学と神経行動学の分野に新しい展開を与えるもので、非常に重要な貢献ができたと考えている。

色恒常性が示されたのはミツバチに次いでアゲハが2種目である。また網膜の細胞構成については、アゲハはショウジョウバエと並んで最も理解の進んだ昆虫となった。いずれも色覚研究には不可欠な知見である。しかし実はミツバチには網膜の知見が、ハエには行動の知見が欠けている。両者がそろったのはアゲハが初めてである。色覚機構にはヒトと昆虫に多くの共通点があると考えられるので、アゲハの微小な神経系(微小脳)での研究は、ヒト色覚系の理解に繋がることが期待される。

色覚機構解析の第一歩として、6)の視葉板ニューロンの解剖学的・生理学的実験を始めた。視葉板ニューロンの分光感度は、入力細胞である視細胞の性質と配置が把握されて初めて厳密に解析できるので、アゲハで新しい知見が得られる可能性は非常に高い。本研究では、視葉板細胞構成のおおまかな

検索を行ない、同時に視葉板ニューロン活動の記録法を確立することができた。ここについては、今後の研究の中心課題のひとつとして精力的に取り組みたいと考えている。本研究の期間中に何かひとつでも新しい知見を発掘し、中枢機構の解析について具体的なきっかけがつかめれば、更によかったと思う。

5. 領域総括の見解:

昆虫の視覚のメカニズムという基礎的なテーマで、形態学、生理学、生態学、生化学、分子生物学と広範な手法をシステムティックに駆使してみごとな成果に結実した。すなわち、アゲハに色覚があることの確証である。3つのタイプの個眼の存在を明らかにし、その1つは 3-OH レチノールにより蛍光を発することを突きとめた。これは新発見である。他のタイプについての研究が進展すれば、昆虫の色覚の全容が理解されることであろう。国際的にも高く評価されている。

6. 論文など: 36 件

Kinoshita M, **Arikawa K** (2000) Colour constancy of the swallowtail butterfly, *Papilio xuthus*. J Exp Biol, 203:3521–3530.

Kitamoto J, Ozaki K, **Arikawa K** (2000) UV receptors and violet receptors express identical mRNA encoding an UV-absorbing opsin: Identification and histological localization of two mRNAs encoding short wavelength-absorbing opsins in the retina of the butterfly, *Papilio xuthus*. J Exp Biol, 203:2887–2894.

Arikawa K, Scholten DGS, Kinoshita M, Stavenga DG (1999) Tuning of photoreceptor spectral sensitivities by red and yellow pigments in the butterfly *Papilio xuthus*. Zool Sci, 16: 17–24

Kinoshita M, Shimada N, **Arikawa K** (1999) Colour vision of the foraging swallowtail butterfly *Papilio xuthus*. J Exp Biol, 202:95–102

Arikawa K, Mizuno S, Scholten DGW, Kinoshita M, Seki T, Kitamoto J, Stavenga DG (1999) An ultraviolet absorbing pigment causes a narrow-band violet receptor and a single-peaked green receptor in the eye of the butterfly *Papilio*. Vision Res, 39:1–8

Kitamoto J, Sakamoto K, Ozaki K, Mishina Y, **Arikawa K** (1998) Two visual pigments in a single photoreceptor cell: Identification and histological localization of three mRNAs encoding visual pigment opsins in the retina of the butterfly *Papilio xuthus*. J Exp Biol, 201:1255–1261

ほか

受賞: 1件(第3回ロレアル奨励賞)

招待講演: 国際学会 12 件, 国内学会 13 件

研究課題別研究評価

1. 研究課題名: 軟体動物の特異な遺伝現象に関する基礎的研究

2. 研究者名: 上島 励

3. 研究の狙い:

後生動物のミトコンドリア DNA(mtDNA)は約 16kbp の環状ゲノムで、37 種類の遺伝子をコードしている。後生動物の mtDNA ゲノム構造は保守性が高く、ゲノム上の遺伝子の配置は動物門を超えて保存されていることが知られている。しかし、軟体動物(特に、腹足類)は例外で、mtDNA のゲノム構造が大きく変化していることが研究者らによって発見された。ゲノム構造の多様性が高い軟体動物は、mtDNA ゲノムの分子進化を研究する絶好のモデルといえる。本研究では、1) 軟体動物の mtDNA ゲノム構造が、どのようにして多様化したのか、その分子進化過程を明らかにし、2) ゲノム構造の変異性がなぜ一部の動物群だけで高くなるのか、その要因を解明することを目指した。

4. 研究結果および自己評価:

腹足類の主要な高次分類群全てについて、mtDNA の全ゲノム構造または部分的構造を決定し、ゲノム構造の変異性を明らかにした。また、分岐分類学的な解析を行い、腹足類の遺伝子配置は、最も原始的な特徴を残す「古腹足類型」から、「新生腹足類型」、「ミズシタダミ」の中間段階を経て、最後に「高等異鰓類」が進化したことを示した。腹足類におけるゲノム構造の大規模な再配置は、コードされている遺伝子の逆位や転座が徐々に蓄積することによって、段階的に生じたと考えられる。この mtDNA 遺伝子配置の分子進化過程は、形態学的特徴から推定された腹足類の系統分岐パターンと合致し、ゲノム構造の変化が系統解析の有効な分子マーカーであることを裏付けた。

次に、化石記録と系統関係からゲノム構造の進化速度を推定した。腹足類の mtDNA ゲノム構造は約 5 億年に渡ってほとんど変化しない分類群がある一方で、約 5 千万年の間に急激に再配置が起こる場合もあり、ゲノム構造には分子時計が全く成立しないことを示した。これは、ゲノム構造の経時的進化過程を示した初めての例である。

さらに、2 種のクルマガイ類について mtDNA の全ゲノム構造を決定し、クルマガイ類の mtDNA は腹足類の中で最も特殊化したゲノム構造をしていること、および遺伝子配置の変化速度が著しく速くなっていることを発見した。クルマガイ類を含めて、遺伝子配置が大きく変化している腹足類のゲノム構造、塩基組成等を詳細に比較したところ、遺伝子配置の変化速度と関連している特徴を発見し、ゲノム複製時の fidelity の低下およびゲノムサイズの縮小化に伴うプロモーター領域の消失がゲノム構造の再配置を促進する重要な要因であるという仮説を提唱した。このモデルは他の分類群のデータとも整合し、オルガネラゲノム進化の一般的なモデルになると期待される。

mtDNA ゲノム構造の多様性と進化過程を明らかにするという当初の目的は、腹足類についてはほぼ達成されたので、今後は、この仮説の妥当性を証明するために、DNA polymerase の fidelity を直接比較すると共に、ゲノム構造の変化速度が著しく速くなっているクルマガイ類等について近縁種を中心にさらに多くのデータを集め、また核ゲノム構造との関連についても検討を行いたいと考えている。

二枚貝類についても、いくつかの分類群について mtDNA ゲノム構造解析を行った。二枚貝類では同属別種の間で、遺伝子配置のみならず遺伝子組成も大きく変化する場合があり、ゲノム構造の多様性は腹足類をはるかに凌駕することを発見した。今後は二枚貝類については、さらに多くのデータを集め、ゲノム進化の詳細な解析を行う予定である。なお、原始的な分類群では祖先的な遺伝子配置が残っており、遺伝子配置の変化速度の遅い分類群では塩基置換速度も遅いなど、腹足類から推定されたモデルと合致するデータも得られており、上記の仮説を支持するデータが得られるものと期待している。

5. 領域総括の見解:

軟体動物の形態学と遺伝子配列決定法を習得した後、軟体動物のミトコンドリア DNA 配列パターンが他の生物に比して大きく変化しており、それが系統進化とともに起こっていることを明らかにした点で、まことにユニークである。生物進化から見ても有意義な発見といえる。より効果的な発表方法 — 専門誌だけでなくもっと一般に知られる科学誌への投稿 — を心がけてほしい。

6. 主な論文等:

- (1) S. Yokobori, T. Ueda, G. Heldmaier-Fuchs, S. Paabo, R. Ueshima, A. Kondow, K. Nishikawa and K. Watanabe (1999). Complete DNA sequence of the mitochondrial genome of the acidian *Halocynthia roretzi* (Chordata, Urochordata). *Genetics* 153:1851–1862.
- (2) A. Kurabayashi and R. Ueshima (2000) Complete sequence of the Mitochondrial DNA of the Primitive Opisthobranch gastropod *Pupa strigosa*: Systematic Implication of the Genome Organization. *Mol. Biol. Evol.* 17(2):266–277.
- (3) A. Kurabayashi and R. Ueshima (2000). Partial mitochondrial genome organization of the heterostrophan gastropod *Omalogyra atomus*. and its systematic significance. *Venus* 59(2): 7–18.
- (4) Y. Noguchi, K. Endo, F. Tajima and R. Ueshima (2000) The mitochondrial genome of the branchiopod *Laques rubellus*. *Genetics* 155: 245–259.
- (5) Y. Shimizu and R. Ueshima (2000) Historical biogeography and interspecific mtDNA introgression in *Euhadra peliomphala* (the Japanese land snails). *Heredity* 85: 84–96
- (6) 稲葉明彦, 上島 励 (1999), 軟体動物研究法. 軟体動物学入門(下巻), 波部忠重, 奥谷喬司, 西脇三郎共編. サイエンス社
- (7) 奥谷喬司, 太田秀, 上島 励編 (1999) 水産無脊椎動物の最新学 東海大出版会
- (8) 上島 励 (2000) 動物系統分類学の新展開—分子系統学の現在と未来—. 動物系統分類学、追補版:1–13. 中山書店
- (9) 中山剛, 上島 励 (2000) 単細胞生物から多細胞生物への進化. 遺伝, 別冊 12: 134–154
- (10) 上島 励 (2000) 軟体動物. 生物の種多様性 5 巻 無脊椎動物の多様性と系統 (節足動物を除く): 169–192 .裳華房

国際会議招待講演

Rei Ueshima; Extensive mitochondrial genomic rearrangement and gastropodan phylogeny, International Symposium on Biodiversity. Nara, 3–5 Dec. 1999

外部発表 27 件 (論文 5 件、総説、解説等 5 件、口答発表: 国際会議 2 件、国内会議 15 件)

研究課題別研究評価

1. 研究課題名: 絶滅した生物の生態をコンピューターを用いて再現する

2. 研究者名: 宇佐見義之

3. 研究の狙い:

本研究では数理学的研究を基盤におき、簡約化した形の流体力学、力学と進化アルゴリズムを用いて、生物の基本的な体のデザインに対応する運動を計算した。そのうちのいくつかを特に絶滅した生物にあてはめて、これらの生態を数理的に再現することを試みた。また数理的運動に基づく古代生物の生態を電子空間に再現し、仮想現実システムを構築することに取り組んだ。この目標を実現するために、技術的な開発を併せて行った。

4. 研究結果及び自己評価:

研究結果

- 1) 簡単な流体力学と進化アルゴリズムにより、プログラムのコーディング量と計算量を少なくして、水中遊泳生物の可能な動きを計算する方法を開発した。
- 2) ルールから生物の体を発生させるアルゴリズムを独自に考案し、ヒレを使って泳ぐ生物の可能な形態をある範囲で全て生成し、上記1)を用いてその可能な運動様式を計算した。その結果、遊泳速度としては、アノマロカリス様の生物が最も速いことを見出した。
- 3) 歩行運動についても様々な形態の生物の運動が計算できるルーチンを開発した。すなわち生物の運動を部分の運動と全体運動に分け、部分の運動の力の合算によって全体が運動する、とするモデルを考え自由度の大幅な低減によってプログラム量と計算量を少なくした。
- 4) 上記3)の方法を用いて、様々な形態の生物の歩行様式の計算を行った。生物の体を直方体のブロックの重ね合わせで表現し、この組み合わせを様々に変えて歩行運動を計算した。その結果直線の生物では要素の数を増やすに従い少数個から急速に運動能力が発達することがわかった。このことは、形態の変化のうちある方向の変化が、能力を急速に増大することを示す。
- 5) 上記3)、4)の方法で脚を使って地面を歩く昆虫型生物の動きを計算した。
- 6) これらの計算結果を組み込み、カンブリア紀に生存した生物群の仮想現実システムの構築を行った。ここでいう仮想現実システムとは、上記の計算結果を生物の運動にあてはめ、それらをリアルタイムで計算しながら表示し、システムに参加した人が自由に海底を移動しこれらを観察できるシステムを指す。多数の種と多くの個体をリアルタイムで表示するには高速のグラフィックコンピューターが必要であり、中程度のグラフィックコンピューター(700万円)を購入し、このプログラムを実行した。多くの個体を入れた結果としては、やはり、1億円程度のスーパーグラフィックコンピューターが必要であることが判明した。また投影装置としても、それだけで1億円程度する装置が販売されていることが判った。このプログラムはそのままこのような高額な環境で実行できるものであり、そのような機会あれば多数のカンブリア紀の生物が生存する仮想現実空間を再現したいと思っている。
- 7) 仮想現実システムを作る上で、上記6)のような方向では高額の装置が必要であることが判明した。為、方向を少し変えることにした。すなわち、個体数をそれほど増やさなくても良いから、パソコンで実行できるような多くの人が体験できる方向の探求と、それらのインターネットによる公開、また大画面投影装置を自力で低価格で作成する方向である。また多数の個体を入れる場合でもリアルタ

イム性の追求ではなく、アニメーションを作成し古代の世界を再現する方向にも進んだ。

- 8) 大画面投影装置は、最初に画面を2つに投影する方法をテストしてから、最終的にパソコンの出力を2つのモニターに表示し、更にこれらを2分割することにより4画面へ滑らかにつながるような方法を考え、この装置を実際に神奈川大学内に作成した。この装置の作成に要した費用は僅かに6百万円であり、通常このような大画面の装置はそれだけで最低4千万円、普通は1億円程度の購入が必要であったので非常にローコストで大画面の出力装置を作成することに成功したと言える。

自己評価

- (a)理論的な研究としては、様々な形態の生物の遊泳・歩行運動を計算するルーチンの開発に成功したと言える。多自由度の運動を計算するには3N次元の連立方程式を解かねばならず、また、その運動方程式はそれほど単純ではないので、様々な形態の生物の運動を計算することは、不可能ではないが、大規模なプロジェクトでなければ実現不可能である。
- (b)上記(a)は、現在産業規模が拡大しているコンピューターグラフィックスの作成時に、自動的に自然なモーションを生成するルーチンの開発へ結びつくものである。この分野ではクリエイターとアニメーターが多大な時間を費やしてCGを作成しているが、力学法則に基づいて自動的に生物の動きを生成するルーチンは有用であることが判った。実際、さががけ後、経済産業省系法人マルチメディアコンテンツ振興協会から助成を受け、モーションを自動的に作成するルーチンを開発中である。
- (c)理論的なことに戻ると、並進・回転は計算でき、これによる能力の評価は可能となったが、「制御」という要素を計算することができなかった。前進する為にはどのような形態が最適で、どのような方法で前進するかはわかるようになったが、脚やヒレがどのように存在すると生存上有利で、他との競合に勝って生き残ることができるようになるかまでは判らなかった。すなわち、ここで解いたのは1体問題であり、多体が競合して生存競争した時どちらが残るかという生物としての多体問題を解くまでには至らなかった。その原因は、このプログラムの作成にはそれなりに時間を費やして途中まで計算を行ったが、さががけの期間中には有意な結果と言えるところまで持っていけないと判断したので、途中で打ち切ってしまったからである。これをやるには、授業を含めて他のことは一切やらないで、プログラム作成だけに集中して半年から1年くらいやる機会があったら、なんとかかなりそうに思えた。
- (d)多体問題へ進まなくても、1個体の運動だけでも、いまだ未解決の問題があるので、今後時間があって機会があったら、是非そちらの問題を解決したい。特に解いてみたい問題は四肢動物で海に戻った海棲爬虫類、プレシオサウルス類の遊泳形態である。これら4つのヒレを使って泳ぐ大きな動物は現存しないので、どのように泳いでいたかは実に興味ある問題である。これまでの方法を使って通りの計算を行ったが、できれば古生物学からわかっている条件や、流体力学の効果を取り入れて、なるべく精緻な議論を行いたいと思っている。
- (e)学問的にはさががけの最終段階と終了後に、古生物学、特に中生代の海棲爬虫類の研究者と共同で、これらの生態を解明し、かつそれらをリアルに再現する方向に進んでいる。ここでは実際に骨の様子を観察し、できればそこから筋肉の様子を再現し、さらに古生物学、生体運動学の知見を取り入れて、なるべく精緻に古代の生物の生態の再現に取り組む方向へ進んでおり、個人的な学問経歴としては数理アルゴリズムの問題だけで済ますことなしに良い方向へ進んでいると思っている。特に海棲爬虫類のオクチオサウルス類に多大な関心を持っているので、研究としては、この方面の研究へ進めようと考えている。またイクチオサウルス類の研究者とも交流を持つようになった。
- (f)さががけの予算で構築した仮想現実の装置は、本研究の中で最も成果を挙げたものである。当初は、具体的にこのような形になるとは予想していなかったが、3年の試行錯誤の結果、途中でアイデアが

浮かび、かつそれを実行できるだけの予算もあり、試作を2度行った結果最終的に現在のような形になった。この装置はさきがけ研究中と、終了後も神奈川大学内で運転され、いくつかのメディアで紹介されただけでなく、大学の案内や、受験生への大学紹介などにも利用されつづけている。これらは大学の見学コース内に組み込まれ、施設と内容面で訪問者の関心を大きく集めている。

(g)これらの内容をインターネットで公開する作業も、さきがけ終了後に続けており2001年には公開し、かつその後も充実させる予定である。

(h)総じて、理論的にある範囲の計算を行い部分的な成果を挙げた。また、技術面でアイデアを出し、人が関心を持つようなシステムを作成し、どちらかということこちらの方向で大きな前進があった。

この作業の最終目標は、さきがけ開始時もまた終了した現在も不変であり、「古代の地球の生態を仮想現実として現代に再現する装置を作ること」である。ただ、さきがけ開始時は単なる希望であったこの言葉が、終了後は実現へ向けて一歩前進し、技術的な可能性や、予算・人材面での見積もりが不可能でないようなところまで来ることができたように思える。この目標を実現するためには技術的な問題もあるが、なによりも予算を獲得しなければならない。この考えを実現する予算の獲得方法として、現在では、これらの作業の事業化を模索するようになった。これには当面、(i)自動モーション法プラグイン販売、(ii)4面分割仮想現実システム販売、(iii)古代生物コンテンツ販売、が考えられる。(i)、(iii)は可能だが収入はそれほど多くはない。(ii)は成功すればかなり大きくなると思われるが、施設・技術面で大きな初期投資が必要でありリスクである。

そこで現在考えているのはこれまで作った内容を web 化しインターネット上に自然史博物館を作り、その内容を充実させアクセスする人数を増やすことである。閲覧者が1万人程度では、人気のあるサイト程度で終わるが、これが10万人から100万人のオーダーになった時点でビジネスチャンスが生まれる。現在最も注力していることは、インターネット上の自然史博物館を充実させ、これを無料で公開し、閲覧者を増やし、その閲覧者を対象にビジネスを展開することである。このビジネスは一時的に古代生物からはずれて、交流ラウンジの拡大のようなものになるかもしれない。しかしあくまで私の目標は古代地球の再現であり、このようなビジネスを展開し収入を確保して、古代生物を仮想現実として再現するシステムを作りたいと考えている。そのような中で、単なるビジネスではなく、古生物について研究したり、それを再現する研究などを合わせて行うような連合体を作ることが目標である。

このようなことを行った経験はないので、まず95%くらいは失敗に終わると考えているが、それでも残りの5%にかけてこのようなことを模索し、必ずこの目標を達成するよう努力するつもりである。幸い、さきがけの勢いを借りて、マルチメディア振興協会の助成を得ることができ、その機会に KGT 社と共同で、「インターネット自然史博物館」を作成するようになった。KGT 社とは現在共同開発を行い、事業化に向けて常時アイデアを出し合い、様々な事業化を模索しているところである。

5. 領域総括の見解:

化石でしか残っていない絶滅生物の運動をバーチャル・リアリティの形で再現しようとする本研究は、空想の世界にすぎないとの批判もあったが、IT 社会への科学の参加の見地から採用した。その成果はいわゆるディズニーランドのファンタジーとは異なり、流体力学に基づいた科学的推理からみごとに復元されたもので、コンピューター・グラフィクスを駆使した成果はアメリカのスミソニアン・インスティテュションでも大いに注目された。さきがけ研究にまさにふさわしい成果で、これからの発展が期待される。今後は商業ベースに乗っていくものと思われる。

6. 主な論文等:

Usami Y. et.al. "Reconstruction of Extinct Animals in the Computer", Artificial Life VI, (MIT Press 2000).

Pages 173-177.

Usami Y et.al.. “Digital Lost-World Project”. SICE (2000).

Usami Y. “Reconstruction of Extinct Animals in the Computer II”, MRSJ, to appear in 2001.

解説

宇佐見義之他、“デジタルロストワールド計画＝5億年前の生態系を再現する”、日本ファジイ学会誌 11(1999)545.

宇佐見義之他、“デジタルロストワールド; 古代の生態系をコンピュータで再現する”、関西連合情報学会シンポジウム原稿集(2000).

宇佐見義之、“古代の生態系を CG で再現する”、(「生物の形の多様性と進化」、裳華房、印刷中。

特許

宇佐見義之、JST、“画面分割による仮想現実システム”、(2000-44516)

研究課題別研究評価

1. 研究課題名: Molecuics を実現する空間の形状制御

2. 研究者名: 大久保達也

3. 研究の狙い:

階層は異なるが、電子や光子を操作する「場」とそれに基づく「手法」が発明されると、それに対応する学問領域 〇〇〇〇ics が誕生し、その成果は我々の社会に大きな影響を及ぼして来た。これに学び、分子一つ一つを操作し、集積させ、その結果として反応や機能を制御するためには、「場」としての分子サイズの空間とそのネットワークが必要なのではないかと考えた。本研究では、分子サイズの空間とそのネットワークの形の制御に主眼をおいて研究を進め、新領域 Molecuics 開拓のための基盤をつくることを目的とする。

4. 研究結果及び自己評価:

研究結果

本研究は、分子サイズの空間のネットワーク形成、すなわち「形」づくりに関する部分 i) 及び ii) とこれらの空間にイオンや分子を集積することにより新規な「はたらき」を創出する部分 iii) より構成される。

- i) 高温高压水熱育成法により、ミリメートルレベルでソーダライト単結晶を育成する方法を確立した。……論文 1)
- ii) 上述のソーダライト単結晶を基板として、水熱合成法によりカンクリナイトを合成した。試行錯誤により特異な構造体が形成される条件を見いだすことが出来た。詳細な構造解析の結果、本例はゼオライト薄膜のヘテロエピタキシャル成長の最初の例であることを明らかにした。……論文 2)、3)
- iii) ゼオライトの特徴を活かし、その空間中にイオン、分子を集積することにより、最高の量子発光収率で Nd^{3+} を光らせることに成功した。……論文 4)

自己評価

「さきがけ研究」提案時に「分子サイズの空間とそのネットワークの形の制御に主眼をおいて研究を進め、Molecuics 実現のための基盤をつくることを目指す」ことを目標とし、具体的に i) センチメートルサイズのゼオライト単結晶の合成、ii) ゼオライト薄膜のエピタキシャル成長による細孔ネットワークの創出、iii) ネットワークの構築 を目的として掲げた。

当初、単結晶育成手法の確立に時間がかかり、センチメートルまで単結晶を育成するには至らなかった。しかし、ミリメートルの結晶を用いれば以後の研究を進める上で問題はないと考え、この課題の検討はその段階で停止した。提案時に目的をミリメートルサイズですべきであったと考えた。エピタキシャル成長に関しては、系統的に条件を探る手法を確立し、カンクリナイトについて当初の計画を実現することができた。合成、評価いずれに関しても、これまでに検討されたことがない、全く初めての系であった。そのため、すべて trial and error により、手法を確立して行かなければならなかったため、かなりの時間を要したが、疑問の余地なき結果を残すことができたと考ええる。最も単純な 0 次元のケージ構造と 1 次元のチャンネル構造の接合例であるが

、将来的な分子サイズの空間のネットワーク構築へ向けた第一歩と位置づけることができる。またネットワーク構築に関しては、2000 年 11 月の研究報告会には間に合わなかったが、この秋冬の検討により、3 次元細孔を有するチャバザイトに関して、極めて有望な結果を得ている。現在構造解析を進めている段階である。これが確認できれば、ソーダライト(0 次元)—カンクリナイト(1 次元)—チャバザイト(3 次

元)の組み合わせでナノ空間のネットワーク構築が可能になるものとする。当初の予定以外に、イオンと分子の集積による光機能発現の検討を行い、非常に興味深い知見を得ることができた。この成果も、今後につながる結果であるとする。

またさがけ研究の波及的成果として、「水熱法を用いた LiV_2O_4 単結晶の合成と幾何学的フラストレーションによる特異な物性の発現」(**Phys. Rev. Lett.**, vol.85, p.1052, 2000)や「新規ゼオライト構造 GUS-1 の合成とその構造解析」(**Chem. Commun.**, p.2263, 2000)などがあげられる。これらの成果は、さがけ研究での研究基盤がなければ得られなかったものである。

5. 領域総括の見解:

ミリメートルの大きさのソーダライト単結晶を基板としてゼオライト薄膜成長による細孔ネットワークを作成、新しい反応や機能を制御する場を創出した。その実際の成果はこれからであるが、新しい分子反応制御系として大いに期待される。若い世代の化学者の熱い創造精神が伝わってくる。

6. 主な論文等:

- 1) Tsuyoshi Shiraki, Toru Wakihara, Masayoshi Sadakata, Masahiro Yoshimura, and Tatsuya Okubo, Millimeter-sized sodalite single-crystals grown under high-temperature, high-pressure hydrothermal condition, **Microporous and Mesoporous Materials**, in press.
- 2) Tatsuya Okubo, Toru Wakihara, Jacques Plévert, Sankar Nair, Michael Tsapatsis, Yoshifumi Ogawa, Hiroshi Komiyama, Masahiro Yoshimura and Mark E. Davis, Heteroepitaxial connection of zeolites, **Angew. Chem.**, in press.
- 3) Toru Wakihara, Jacques Plévert, Sankar Nair, Michael Tsapatsis, Shigehiro Yamakita, Yoshifumi Ogawa, Hiroshi Komiyama, Masahiro Yoshimura, Mark E. Davis and Tatsuya Okubo, Heteroepitaxial connection of zeolites with different pore structures, submitted to **Stud. Surf. Sci. Catal.**
- 4) Yuji Wada, Tatsuya Okubo, Munenori Ryo, Toru Nakazawa, Yasuchika Hasegawa, Takayuki Kitamura, Shozo Yanagida, Strongest emission of Nd^{3+} in organic fluid achieved by encapsulation in cavity of nano-sized zeolite, **J. Am. Chem. Soc.**, 122, 8583 (2000).

その他

国際会議 5 件

国内会議 招待講演、依頼講演 3件、 その他一般口頭発表 11 件

研究課題別研究評価

1. 研究課題名:機能集積型高次構造を有する人工レセプター

2. 研究者名:久保 由治

3. 研究の狙い:

生体という高度に維持された組織体は複雑系における精密な認識と協調によって達成されている。本研究では、天然のレセプターに迫る”認識空間”を合成分子を通して構築し、そこへ多彩な化学的・物理的機能を連携させ、新しい分子システムに拡張することを検討した。

4. 研究結果及び自己評価:

1)物質入力情報の処理・信号化(分子センサー)

天然のレセプターの動作概念を低分子で再現し、そこへ読み出し機能としてクロモフォアを連結できれば分子センサーと成り得る。当該研究プロジェクトの開始前に、不斉情報を肉眼で識別できる人工レセプター分子の合成に成功していたので、その分子骨格をもとに系を発展させようとした。しかしながら、比色不斉認識を発現させるためには、3 点の認識部位と色素基を収束的に分子内連携させなければならない。これは合成経路を極めて煩雑にし、ついには目的物の合成に失敗した。結局、分子システムが複雑(アート)になっていくと材料として進化させられなくなった。この反省を受けて、根本的に設計戦略を変更し、できる限りシンプルな分子システムで生体重要化学種のセンシングを行うことを目指した。その結果、チオウロニウム基が生体重要オキソアニオン類と強い親和性を発現し、かつその電子欠損性と蛍光団とを適切に分子内で組み合わせることで、その蛍光特性を光誘起電子移動過程を用いて制御できることを見いだした。この特性の利用は、単純な構造ながらオキソアニオン類を認識できる蛍光センサー材料の開発を導いた。これをプロトタイプに発展させ、たとえばキラリティー導入による不斉認識センサーや脂質ユニットの結合から達成される単分子膜の開発など、実用を目指した検討をおこなっている。

2)レセプターの薬理学的作用をモデル化した分子デバイス動作原理の提案

天然のレセプターの作用機序について考える場合、アゴニスト・アンタゴニストを含む薬理学的作用は重要である。この作用を低分子で再現したら、どのような分子材料が提案できるか興味を持ち、金属イオンの競争的結合を刺激入力として、“off-on-off”と複雑な出力信号を発信できる分子システムを開発した。これは、天然のレセプターにおけるシグナル情報の処理を踏襲するもので、分子デバイスの一形態を示すことから、ナノテクノロジーを含む次世代材料の設計指針に寄与できるものと思われる。しかし残念なことに、小生らが最初に提案した概念はなかなか受け入れられなかった。これは、レセプターの薬理学的作用を分子材料に置き換えた例が他になかったことによる。事実、投稿論文に対する審査意見が割れて掲載に苦労した。やっと Chemical Communications に発表してほっとした時に、アメリカ化学会の Chemical & Engineering News や「現代化学」誌の「FLASH 欄」で本研究を取り上げられたのには複雑な思いをした。今後も自己の哲学を持って、ナノスケール材料化学にチャレンジしていく所存である。

3)NLO 活性レセプター

近年光による情報処理が注目される中で、光波を分子レベルで制御できる人工レセプターの開発は興味ある研究対象である。そこで、非線形光学(NLO)特性が波長や屈折率などの光の属性を操作することに着目し、そこへ物質認識機能を連携させる”NLO 活性レセプター”を提案した。本研究には、ハイパーレイリー散乱法(理化学研究所)という特殊な評価方法を採用しなければならなかったが、分子レベルで光波を操作したり物質認識情報を光波を用いて読み出したりするなど新しい応用が期待できる。非線形光学材料の科学とホスト-ゲスト化学の学際領域に新領域を築ききっかけをつくったものと思われる。

4)大環状クラウンエーテルに基づく分子性機能制御システム

3)の研究で用いた大環状クラウンエーテル誘導体は配座変換の柔軟性という特徴を有する。これは、

機能制御分子システムの合成基体になりえることを示すもので、さらなる合成を施し、カチオンとアニオンの協同認識を発現させる multi-site レセプターに発展させた。

5) 機能集積化を目指して: 分子性アロステリーを利用した不斉転写制御の試み

機能を集積させて生命現象に近い化学プロセスを構築したい欲求は有機合成化学者にもある。分子生物学のセントラルドグマにおいてその根幹をなすのは正確な遺伝情報の保持・発現・伝達に基づく機能素子(タンパク質)の合成で、その一連の情報伝達が周辺のタンパク質によって精密に調節されている。このことを情報媒体として不斉を用いて自分なりの分子システムでアプローチしてみたいと考え、アロステリーに基づく不斉転写制御を試みている。最近になって、ようやく不斉情報をアキラルな分子システムに転写して、その不斉情報を分子上に長く記憶できることに成功した。その機構を物理化学的に解析して、不斉を分子上で任意に操る技術を開発したい。そして、不斉分子触媒などに発展させていくのが今後の目標である。

5. 領域総括の見解;

生体情報伝達系で最初に機能するレセプターを人工的に創出しようという新しい試みで、蛍光センサーの開発に成功した点は高く評価できる。またアゴニスト・アンタゴニスト系を低分子物質で構築しようと、金属イオンのキレート剤を用いて出力信号を発信する分子システムを考案した。このような野心的取り組みは、化学の応用面から将来が大いに期待される。

6. 主な論文等;

- 1) Houbrechts, S.; Kubo, Y.; Tozawa, T.; Tokita, S.; Wada, T.; H. Sasabe, H. "Second-order nonlinear optical properties of functionalized ionophores: cation-steered modulation of the first hyperpolarizability" *Angew. Chem. Int. Ed.*, **39**, 3859-3862 (2000).
- 2) Tozawa, T.; Misawa, Y.; Tokita, S.; Kubo, Y. "A regioselectively bis(thiourea)-substituted dibenzodiazia-30-crown-10: a new strategy for the development of multi-site receptors" *Tetrahedron Lett.*, **41**, 5219-5223 (2000).
- 3) Kubo, Y.; Tsukahara, M.; Ishihara, S.; Tokita, S. "A simple anion chemosensor based on a naphthalene-thiouronium dyad" *Chem. Commun.*, 653-654 (2000).
- 4) Kubo, Y.; Obara, S.; Tokita, S.; "Effective signal-control (off-on-off action) by metal ionic inputs on a new chromoionophore-based calix[4]crown" *Chem. Commun.*, 2399-2400 (1999).
- 5) Kubo, Y.; Murai, Y.; Yamanaka, J.; Tokita, S.; Ishimaru, Y. "A new biphenyl-20-crown-6-derived zinc(II) porphyrin dimer with a potentially heterotropic allostery" *Tetrahedron Lett.*, **40**, 6019-6023 (1999).
- 6) Kubo, Y. "Chromogenic receptors as hyper-structured molecules" *Hyper-structured Molecules III: Chemistry, Physics and Applications*, Gordon and Breach Sci. Pub., in press.
- 7) 久保 由治 "チオウロニウム基を有する新規な化合物および前記化合物のアニオン種認識蛍光センサー"平成 12 年 特許願第 2000-40785.

取材等

- 1) "Calixcrown acts as ion-sensitive switch" *Chemical & Engineering News*, American Chemical Society, December 13, 1999, p.35.
- 2) "金属イオンの結合で Off-On-Off と色が変わる分子"現代化学 FLASH 欄、2000 年 4 月号、P.14 (東京化学同人)。

受賞

第 10 回(1997 年度)有機合成化学協会東レ研究企画賞

外部発表 33 件(論文 5 件、総説 1 件、特許 1 件、口頭発表:国際会議 8 件、国内会議 18 件)

研究課題別研究評価

1. 研究課題名： 骨形成過程に関わる遺伝子群の解明

2. 研究者名： 小守 壽文

3. 研究の狙い：

骨は骨芽細胞によって直接形成されるもの(膜性骨化と言い頭蓋骨等にかかる)と、軟骨を経て骨に置き変わるもの(内軟骨性骨化と言い四肢骨、肋骨等にかかる)がある。したがって、骨形成を理解するためには、軟骨細胞・骨芽細胞の分化およびそれらの細胞からの基質産生に関わる遺伝子群を明らかにする必要がある。転写因子 Cbfa1 は、そのノックアウトマウスより骨形成、特に骨芽細胞分化に必須な因子であることを明らかにできたが、この因子の軟骨形成における働きを検討するとともに、骨形成過程で転写調節している遺伝子群を同定し、骨形成過程を分子レベルで解明することを目指した。

4. 研究結果及び自己評価

1) Cbfa1 による骨芽細胞分化

骨格系形成細胞(骨芽細胞、軟骨細胞、脂肪細胞、筋細胞、線維芽細胞、腱細胞)は共通の間葉系幹細胞より分化していくと考えられている。Cbfa1 ノックアウトマウスには成熟骨芽細胞は全く出現せず完全に骨を欠損する。この Cbfa1 ノックアウトマウスの間葉系細胞が骨芽細胞分化のどの段階でブロックされているかを調べるために、胎生期 18.5 日の胎仔の頭蓋冠の細胞を *in vitro* で培養し、その分化能を検索した。その結果ノックアウトマウスの頭蓋冠由来間葉系細胞は、骨芽細胞分化能を完全に失っていたが、骨芽細胞以外の骨格系形成細胞(脂肪細胞、軟骨細胞)に分化しうる多分化能を持った細胞であることがわかった。このことは、これらの間葉系細胞が非常に未熟な分化段階にあること、すなわち Cbfa1 が骨芽細胞系列への分化決定の初期に関わっていることを示唆している。また、脂肪細胞に自然に分化しており、Cbfa1 が脂肪細胞分化に対しては抑制的に働いていることを示唆している。Cbfa1 が骨芽細胞分化のどの段階に重要であるかを明らかにできたが、ここからさらに進んで、骨芽細胞系列への分化決定に関わる Cbfa1 のターゲット遺伝子を同定するまでには至らなかった。さらに、間葉系の各細胞系列の分化決定において、それらに関わる転写因子がどのように相互作用しているかを明らかにすることも今後の課題である。

2) Cbfa1 による軟骨細胞分化

Cbfa1 ノックアウトマウスは軟骨による骨格形成は起こしていたが、その軟骨は幼若な軟骨細胞によって構成されており軟骨細胞の成熟が阻害されていることを明らかにした。そこでこの軟骨細胞分化の障害が、骨芽細胞分化障害の二次的な結果として現れているか、あるいは Cbfa1 は軟骨細胞分化にも必要な因子であるかを明らかにするため、軟骨細胞に分化成熟する ATDC5 細胞株及びニワトリの軟骨細胞を用い *in vitro* で検討した。Cbfa1 に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドは ATDC5 細胞株の分化を著明に抑制し、Cbfa1 をニワトリの軟骨細胞にレトロウイルスを用いて強制発現させると軟骨細胞の成熟を強力に誘導、またドミナントネガティブ型(DN) Cbfa1 を強制発現させると軟骨細胞分化を完全に抑制した。したがって、Cbfa1 が軟骨細胞分化に重要な因子であることが *in vitro* で明らかにできた。さらに生体内でも Cbfa1 が軟骨細胞の分化に働いているかを明らかにするために、軟骨細胞に特異的に発現するⅡ型コラーゲンプロモーターを用いた Cbfa1 トランスジェニックマウス(Tg)を作製した。同時に Cbfa1 の機能を抑制するために、DN Cbfa1 Tg も作製した。Cbfa1 Tg では、軟骨細胞は早期から成熟肥大化し、骨に置き換えられる所謂内軟骨性骨化が促進し、逆に DN Cbfa1 Tg では、軟骨細胞の成熟及び内軟骨性骨化が抑制された。したがって、Cbfa1 は骨芽細胞分化因子であるとともに軟

骨細胞の分化因子であることを証明することができた。さらに Cbfa1 は成長軟骨と永久軟骨の性格を決定づける上でも重要な働きをしていることを明らかにした。すなわち、Cbfa1 の過剰発現は本来永久軟骨になるべき軟骨をも成長軟骨化し、DN Cbfa1 で正常の Cbfa1 の機能を阻害すると、本来の成長軟骨でも永久軟骨の形質を保持した。しかし、軟骨細胞分化に関わる Cbfa1 の直接のターゲット遺伝子を同定するには至らず、今後の課題である。

3) 軟骨への血管侵入

Cbfa1 ノックアウトマウスでは下腿、前腕の一部でのみ肥大軟骨細胞が見られたが、そこでも軟骨への血管侵入が全く見られなかった。そしてこれらの石灰化肥大軟骨細胞に、本来発現すべきオステオポンチン、骨シアロ蛋白、コラゲナーゼ3の発現を認めなかった。これらの遺伝子はそのプロモーター領域に Cbfa1 結合配列を持ち、Cbfa1 のターゲット遺伝子であることをルシフェラーゼアッセイを用いた *in vitro* の実験でも明らかにした。このことは Cbfa1 がこれらの発現を直接調節し、軟骨への血管および骨芽細胞、破骨細胞の侵入に対し重要な働きを有していることを示唆している。Cbfa1 はそのターゲット遺伝子の転写調節において多くの他の因子(TGF- β 、PDGF、IL1- β)との相乗効果が見られた。今後 Cbfa1 と相互作用し協調的に働く転写因子も同定していきたい。

5. 領域総括の見解:

転写因子遺伝子 Cbfa1 をノックアウトしたマウスが骨形成をしないことを発見し、Cbfa1 が骨芽細胞の初期分化に機能していることを示した研究は、生物学、医学上大変有意義である。さらに、Cbfa1 が軟骨分化因子であることを明らかにした。Cbfa1 が直接制御する遺伝子の同定が期待される。

6. 主な論文等:

- ・T. Komori. A fundamental transcription factor for bone and cartilage. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 276 : 813-6, 2000.
- ・H. Enomoto, M. Enomoto-Iwamoto, M. Iwamoto, S. Nomura, M. Himeno, Y. Kitamura, T. Kishimoto, and T. Komori. Cbfa1 is a positive regulatory factor in chondrocyte maturation. *J. Biol. Chem.* 275: 8695-8702, 2000.
- ・H. Kobayashi, Y. H. Gao, C. Ueta, A. Yamaguchi, and T. Komori. Multilineage differentiation of *Cbfa1*-deficient calvarial cells in vitro. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 273:630-636, 2000.
- ・M. Inada, T. Yasui, S. Nomura, S. Miyake, K. Deguchi, M. Himeno, M. Sato, H. Yamagiwa, T. Kimura, N. Yasui, T. Ochi, N. Endo, Y. Kitamura, T. Kishimoto, and T. Komori. Maturation disturbance of chondrocytes in *Cbfa1*-deficient mice. *Dev. Dyn.* 214: 279-290, 1999.

研究課題別研究評価

1. 研究課題名: 形の作り直しー再生現象の分子生物学的解析

2. 研究者名: 西川 慶子

3. 研究の狙い:

有尾両生類(イモリなど)は成体においても優れた再生力を持ち続ける。事故などで器官を失ってしまえば、それを取り戻すことができない我々ヒトとは対照的である。体の形作りのために必要な遺伝子の種類は、ヒトでもイモリでもほとんど同じであるにもかかわらず、なぜイモリには優れた再生力が備わっているのだろうか？これが本研究で明らかにしたい問題である。私は、イモリの優れた再生力の原因の一つには、脱分化という特殊な過程を経て幹細胞様の細胞(再生芽細胞)を作り出すことにあると考える。脱分化の過程および脱分化によって作り出された再生芽細胞の性質を調べ、将来の再生工学への新しい道をひらくことを目指す。

4. 研究結果及び自己評価:

研究結果

1) 再生芽細胞の形成過程で特異的に発現する遺伝子のクローニングとその発現の解析

再生芽細胞は切断端の筋管に由来すると考えられている。そこで再生芽細胞が脱分化によって生みだされる仕組みを明らかにするために、切断端付近の筋管で発現の変化する遺伝子をディフアレンシャルディスプレイを用いて網羅的に調べた。その中で興味深い発現パターンを示した遺伝子について詳しい解析を行った。この遺伝子の発現は未切断肢筋では無く、切断後に増加し、切断後 22 日目には未切断肢と同レベルまで低下した。塩基配列から、ヒトで既にクローニングされている *rad* (*ras* associated with diabetes) のイモリホモログ (*newt rad*; *nrad*) であることがわかった。レチノイン酸を用いた実験などから、*nrad* は再生過程で脱分化とよく一致した発現パターンを示し、筋管の脱分化と深い関わりを持つ遺伝子であることが示唆された。

2) 負の分化制御因子 *Id* をマーカーとした再生芽細胞の性質の解析

イモリの再生芽細胞が持つ幹細胞としての機能を明らかにするためのもう一つのアプローチとして、完全な再生を行なう動物(イモリ)と、不完全な再生しかできない動物(ツメガエル)との間で再生芽細胞の性質の比較を行なった。両者の再生芽細胞の違いは、多分化能を有し幹細胞的な機能を持つ細胞(イモリ)と一方向にしか分化しない細胞(ツメガエル)と考えられる。イモリとツメガエルの再生芽細胞の性質を比較するためのマーカーとしては負の分化制御因子である *Id* に着目し、*Id2* と *Id3* をクローニングした。再生芽における遺伝子の発現を調べると、両動物とも正常肢では *Id2* と *Id3* の発現は低く、初期-中期の再生芽では発現が非常に高いことがわかった。さらに、発現の局在を調べると *Id3* は両動物とも前軟骨凝集塊で特に高く、両動物の初期-中期の再生芽の性質はよく似ていることがわかった。ところが、再生過程の後期まで解析すると興味深いことが明らかになった。イモリでは、指伸長期においても高い *Id3* の発現が認められた。一方、同時期のツメガエルにおいては、*Id3* の発現は未切断肢のレベルまで低下していた。*Id3* の発現が前軟骨凝集塊で高いことから、ツメガエルでは軟骨の分化がより早く進むのだろう。イモリは *Id* を再生過程の後期まで発現し続けることによって、再生芽細胞は幹細胞的な機能を発揮し形態形成を円滑に行なうと予想された。

自己評価

応募時に提案した内容は、再生過程での脱分化とその維持に関わる神経由来因子の解析であった。しかし神経由来因子にこだわるよりは、脱分化そのものを中心に研究をすすめた方がより本質的であると考え、少し路線を変更した。結果的にはこの変更が功を奏して、有意義な成果を得る

ことができた。ディファレンシャルディスプレイ(DD)によって脱分化に関わる遺伝子をクローニングするという、いわばバクチ的な研究であったが、予想外にうまくいった。通常 DD は、目的の遺伝子がとれないことが多いといわれている。これに関しては、方法の改良から自分で行ったことが好結果を導いたと思う。現在は、改良した方法で他のさきがけ研究者と共同研究を始めるまでになっている。以上の結果は投稿した雑誌でも高く評価され、表紙に選ばれている。また、再生力に優れた動物と劣る動物を比較する際に Id に着目したことも、よいアイデアだったと思う。Id は発生過程の初期で細胞が未分化なときに発現していることは知られているが、逆行性の分化(脱分化)での役割については考えられていなかった。最近オリゴデンドロサイト前駆細胞が、培養下で 2 型アストロサイトを経て神経幹細胞へ逆行分化するときに、Id4 が関与することが示唆されている。イモリの脱分化とどんな関係があるか楽しみである。全体的には 3 年間という期間で研究室の立ち上げから始めて、良くやったと思う(とは言え 100 点満点とはとてもいえないが)。再生は 1-2 ヶ月かかる現象なので、時間が足りなかったというのも正直な気持ちである。

5. 領域総括の見解:

イモリの肢を切断すると、やがて肢が再生してくるが、その際に作用する遺伝子の同定を困難なディファレンシャルディスプレイ法で行い、ヒトの遺伝子 *rad* のホモログであることを突きとめた。これはみごとな成果であり、組織再生のメカニズム研究の一里塚となろう。さらに再生能の低いカエルと、高いイモリとの比較が行われている。これからの発展が楽しみである。

6. 主な論文等:

1. K. Shimizu-Nishikawa, I. Tazawa, K. Uchiyama and K. Yoshizato (1999) Expression of the helix-loop-helix type negative regulators of differentiation during limb regeneration in urodele and anuran. *Dev. Growth Differ.* 41, 731-743.

2. K. Shimizu-Nishikawa, S. Tsuji, and K. Yoshizato (2000) Identification and characterization of new *rad* (*ras* associated with diabetes), a gene specifically expressed in regenerating limb muscle. *Dev. Dyn.* (in press).

その他 総説 3 件、学会発表 8 件、招待講演 3 件(国内学会 2 件、国際学会 1 件)、取材 3 件(テレビ、雑誌、新聞各 1 件)

研究課題別研究評価

1. 研究課題名: アサガオ(*Ipomoea nil*)のモデル植物化に関する研究

2. 研究者名: 仁田坂 英二

3. 研究の狙い:

本研究のねらいは、日本独自の園芸植物であり、古典遺伝学的知見が蓄積しているアサガオを、シロイヌナズナ(*Arabidopsis thaliana*)のような分子生物学におけるモデル植物とすることを見据えて、そのための基礎的な研究環境を整備することである。そのため以下の項目について研究を行った。

4. 研究成果及び自己評価:

(1) 突然変異系統の更新・解析

アサガオの突然変異体の多くは *Tpn1* ファミリーと呼ばれるトランスポゾンによって誘発されており、遺伝学的解析や遺伝子クローニングを行う上でも非常に貴重な遺伝子資源である。国立遺伝学研究所の系統は1991年を最後に更新されていなかったが、ほとんど全ての系統更新を終え、この際に各系統の突然変異形質の写真記録を行った。

(2)連鎖地図の作製

戦前の交配実験に基づいて作製されていた連鎖地図(古典地図)は今後、アサガオのゲノム解析を行なっていく上であまりに不完全である。そのため、分子マーカー、特に400以上の AFLP マーカーを用いて古典地図上の表現型マーカーも含む15の連鎖群からなる連鎖地図をほぼ完成した。

(3)トランスポゾンによるクローニング系の開発

Tpn1 ファミリーの全容を明らかにするため、多数クローニングし、塩基配列を決定したところ、*Tpn* の内部配列はどれも高等植物の遺伝子と高い相同性があり、アサガオの進化過程において、内部にアサガオの遺伝子を取り込んできたのだと考えられる。*Tpn* はコピー数が非常に多いため、*Tpn* の各グループの内部配列を用いたサザン法や、ウイングの部分のプライマーを利用した AFLP 法の変法、RDA 法を利用して遺伝子クローニングを試みた。

(4)形態形成遺伝子のクローニング

形態形成遺伝子をクローニング・解析するため、シロイヌナズナの突然変異体と相同な表現型を示すアサガオの突然変異体について、遺伝子の相同性を利用して遺伝子を単離する戦略と、(3)のようにトランスポゾンを利用して遺伝子クローニングを行う戦略を試みた。前者の方法では、花が八重咲きになる突然変異体である、牡丹(duplicated)、芍薬(peony)、分裂組織が巨大化する吹詰(fukitsume)の原因遺伝子、またはその候補を単離した。またシロイヌナズナで葉の横軸方向の分裂を制御している *IAN*(*Ipomoea nil* s AN), および A 機能ホメオティック遺伝子である *AP2* のアサガオの相同遺伝子を単離したが、これらについては突然変異形質と対応づけられてはいない。

後者の戦略では、子葉・本葉・花と植物体全体が細くなる立田(maple)遺伝子の体細胞復帰変異体を材料に原因遺伝子の候補領域を単離した。

(5)アサガオとその近縁種の進化的解析

アサガオの属する *Ipomoea* 属は全世界で約 500 種から構成され、この属には一年生草本から多年生

草本、木本まで存在し、非常に多岐にわたっている。またアサガオとその近縁種は交配可能で、アサガオの遺伝学をもちいて、種分化の過程で固定した変異を解析することができる。そのため、適応進化のモデル系としても有用である。アサガオ種内と近縁種およびサツマイモを含む *Ipomoea* 属の 14 種について葉緑体遺伝子の *matK* を指標にして系統関係を解析した。また(2)で交配親に用いたアメリカアサガオで固定している形質のマッピングを行った。

自己評価

(1)に関して、系統更新・記録は予想より早く2年でほぼ完了し、今後必要な、大量栽培や種子の寿命に関して重要な知見が得られた。それぞれの系統の表現型マーカーの同定などは多くの労働を必要とするため、これからの部分も多いが、現存の突然変異体の全容がわかり今後の解析の方向性も明らかにできた。(2)連鎖地図もほぼ当初の予定通りに進み、現在出版準備している。また、この連鎖地図から今まで知られていなかった多くの知見が得られた。今後より正確な共優性マーカーを用いた連鎖地図に切り替えていく予定である。(3)に関して、Tpn1 ファミリーが他の生物には見られない特殊な構造をしていることが明らかになったことは予想以上の成果であった。(4)も含めて、このトランスポゾンを用いたクローニングは、そのコピー数の多さのため容易ではなく、今後工夫していく必要があるが、Tpn1 ファミリーの主だったグループの20種類以上の完全な塩基配列を決めたため、今後の遺伝子クローニングに向けて重要な基礎データが得られたと思う。また、シロイヌナズナより複雑なゲノム構成をもつアサガオでは相同遺伝子が重複していることが多く、これも遺伝子同定を難しくしている原因である。(5)では解析した種に関しては系統樹を作製できた。時間的制約から解析した種数が少ないため、もっとはっきりしたことを言うためにはより多くの種について解析をする必要がある。計画で入れていた、形質転換法については今回はほとんど実験ができなかった。

5. 領域総括の見解:

江戸時代から多数の突然変異株が得られているアサガオの系統的な遺伝子解析を3年間でほぼ仕上げ、全ゲノム配列が明らかにされているシロイヌナズナとともにアサガオをモデル植物にした業績は高く評価される。この研究によって日本の伝統的園芸植物が遺伝子標準生物の一つになりつつある。さきがけ研究がそのきっかけとなったことをうれしく思っている。

6. 主な論文等:

E. Nitasaka. Molecular cloning of a floral homeotic gene duplicated in *Ipomoea nil*. submitted.

仁田坂英二 アサガオの系統保存. ライフサイエンスのための系統保存とデータベース(中辻憲夫編、共立出版) 63-67 (2000)

米田芳秋、仁田坂英二 “アサガオ画像データベース”(財)遺伝学普及会編(2000)

仁田坂英二 “伝統の朝顔Ⅲー作り手の世界” 国立歴史民俗博物館編(2000)

仁田坂英二 “伝統の朝顔Ⅱー芽生えから開花まで” 国立歴史民俗博物館編(2000)

仁田坂英二 “朝顔の形態形成突然変異体(変化朝顔)の歴史と展望” 細胞工学別冊 植物の形を決める分子機構 12, 16-23 (1999)

E. Nitasaka. Linkage maps of the Japanese morning glory I. Gene. Genet. Sys. 74, 334 (1999)

S. Kawasaki and E. Nitasaka. The structures of *Tpns*, transposable elements of the Japanese morning glory. 74, 333 (1999)

仁田坂英二 “江戸園芸文化の粋、変化朝顔、種子のできない一年草” biohistory 7(2), 12-13 (1999)

研究課題別研究評価

1. 研究課題名： 微小管を介した情報伝達の一分子イメージング

2. 研究者名： 武藤 悦子

3. 研究の狙い：

私は ATP 存在下で、モーター蛋白キネシンが、微小管上数 μm という広い範囲にわたって協同的に結合することを見出した。このことはキネシンが運動中に、相互作用している微小管の側に、キネシンに対する親和性を増加するような状態変化がおきていることを意味している。本研究の第 1 の狙いは、微小管に蛍光色素を標識し、その状態変化を蛍光スペクトルの変化として検出することのできる実験系を作ること、そしてこのことを利用して最終的には、微小管の状態変化を 1 分子顕微鏡下で視覚化できるようにすることである。つまり一言でいえば、微小管の状態変化を「見る」ことのできる実験系をつくることにある。そして第 2 の狙いは、状態変化を起こしている時の微小管に一体何が起きているのか、その実体に迫りたい。そのための 1 つのアプローチは外界からの電場、磁場などによって Perturbation を与え、微小管の状態変化に変調を与える試み（結果の(3)）であり、もう 1 つのアプローチは協同的結合の詳細な解析による、正確な現象の記述（結果の(4)）である。

4. 研究結果及び自己評価

研究結果

(1) チューブリンのリジン残基に蛍光修飾をした場合、クアマリンやフルオレセインなどの色素では、微小管の状態変化に伴って蛍光強度の減少が観察され、一方、NBD やダンシル、ピンポなどの色素では蛍光強度の増加が観察された。しかしいずれの場合も蛍光強度の変化はわずかであり、イメージングに利用できるよう顕著なスペクトル変化は認められなかった。これらの複数の蛍光色素から得られたデータを総合的に考察した結果、キネシンの運動に伴って、蛍光色素の導入されたリジン残基の周囲の環境は疎水的に変化しているらしいことが明らかになった。

(2) リジン残基に導入した蛍光色素では、顕著なスペクトル変化を得ることができなかったのも、チューブリン分子の β 鎖 C 末近傍にあるグルタミン酸残基に、特異的に蛍光色素を導入する方法を新たに開発した。このサイトに蛍光色素ダンシルを導入した場合、キネシン分子の rigor 結合に伴って蛍光スペクトル強度が増加するのが観察された。しかし ATP 存在下でキネシンとの相互作用に伴って起こる微小管の状態変化については、残念ながらこれまでにいかなる色素においてもスペクトル変化は認められていない。

(3) 「外部から Perturbation を与えることによって、キネシンによって誘導される微小管の状態変化に、何らかの変調を起こすことができないだろうか？」という意図から、微小管に様々な周波数と電圧の電場を与え、キネシンの運動に与える影響を調べたが、少なくともこれまでに試した範囲では電場の影響は全く現れなかった。

(4) キネシンコートしたビーズが微小管と相互作用する様子について、さらに詳細な統計的解析を行った結果、以下のことが明らかになった。

(4-a) ATP 存在下では、微小管上を動いているキネシンビーズの近傍数 μm の範囲で、新たなキネシンの結合が起こりやすくなっている。

(4-b) ATP が無い時あるいは AMPPNP 存在下では、キネシンビーズの微小管への結合はランダムに起きている。

(4-c) ATP 存在下、協同的結合は微小管上に既に結合しているキネシンの + 側で起こり易い

(4-d) 一方キネシンが微小管上を動いている時には、協同的結合はその + 側と一側で大体 2:1 の確率で起きている（一側の結合は履歴による）。

自己評価

当初の目的であったイメージングに関しては、期待するほどの顕著なスペクトル変化を示す色素を見つけることができずに終わってしまった(結果の(1),(2)参照)。しかしリジン残基に蛍光色素を修飾した場合、複数の蛍光色素で、微小管の状態変化に伴って色素周辺の疎水性傾向が強くなるという結果が得られているので、やはり微小管には何らかの変化が起きているのだと考えられる。さきがけの期間の中では分子生物学的手法による分子改変にまで手を出す余裕がないと考えたので、手近なリジン残基あるいはグルタミン残基をそのまま利用して、とにかく手に入る色素は全て試してみたわけだが、結局それほど簡単にはいかなかった。今後はもっとじっくりチューブリンの発現系を作るところから取り組んで、分子改変によりチューブリン上の色々な場所で蛍光修飾を試み、時間はかかってもスペクトル変化をクリアーに検出できる実験系を作っていきたい。

一方キネシンの協同的結合の詳細な解析からは、これまで不可思議に思われた事実や、わからなかった点が解決され、微小管のダイナミズムを統一的に理解することができたと思う(結果(4)参照)。「数 μ mに及ぶ状態変化」や「数秒に及ぶ履歴」は、一見これまでの常識からはかけ離れているように思えるが、この2つの特徴にこそ現象のメカニズムを解く鍵があるように思えてならない。1つの可能性としては、大沢らが昔 Polyelectrolyte の理論的研究で示唆したように、そして Cantiello らが直接アクチンで検出したように、高分子ポリマーの表面にあるカウンターイオンの動きが何らかのメカニズムで整流されて、その結果ポリマー表面に非線形の電流が流れているのではないだろうか? 電場による Perturbation の実験は大した成果が得られなかったわけだが(結果(3)参照)、実験のやり方がまずかった可能性も十分に考えられるので、今後はこの分野の研究者と緊密に連絡を取り合って、なお慎重に可能性を調べていきたい。最後に(4-c)、(4-d)の結果は、微小管とキネシンの相互作用ポテンシャルに異方性があることを示しており、近年提唱されているキネシンのブラウン運動モデルとも関連して、この異方性ポテンシャルがキネシンの運動を一方向に導いている可能性も考えられ、今後の展開が大変興味深い。

5. 領域総括の見解

蛍光ラベル法によってモーター蛋白質キネシン分子の微小管上の運動を追跡して、ATP 存在下でキネシンが動いている近傍で他のキネシンが微小管に結合しやすくなることを実証した。これはキネシンと微小管チューブリンの相互作用によると考えられ、蛋白質のダイナミックな構造変化からみて大変興味深い発見である。ただし、その分子構造変化の解明は容易ではない。

6. 主な論文等

- 1) Miyamoto Y, Muto E, Mashimo T, Iwane AH, Yoshiya I, and Yanagida T. Direct inhibition of microtubule-based kinesin motility by local anesthetics. *Biophys.J.* **78**:940-9 (2000)
- 2) Nishiyama M, Muto E, Inoue Y, Yanagida T, and Higuchi H. Sub-steps within the 8nm step per ATPase cycle of single kinesin molecules. *Nature Cell Biology.*, in press..
- 3) Inoue Y, Iwane AH, Miyai T, Muto E, and Yanagida T. Movement of single one-headed kinesin molecules along microtubules. Submitted.
- 4) Muto E, Miyamoto Y, Funatsu T, Harada Y, Iwane AH, Ishijima A, and Yanagida T. Long-range cooperative binding of kinesin to a microtubule in the presence of ATP. Submitted.

研究課題別研究評価

1. 研究課題名： ランダム配列からの機能性蛋白質の創出

2. 研究者名： 四方哲也

3. 研究のねらい：

通常の高分子に比べて、タンパク質はその高い機能性で特徴づけられる。このタンパク質機能の進化のルールを発見するために、ランダムなアミノ酸配列を持つポリペプチドを用いて、試験管内とコンピュータ内で進化実験を行った。

4. 研究結果及び自己評価

研究の方法と結果：

ランダムなアミノ酸配列を持ったポリペプチド(140残基)を遺伝子工学の手法を用いて多種類合成了。すると、約50%ぐらいが大腸菌で発現し、10%が可溶性であった。いくつかの物性を調べてみると、かなり多様性があることがわかった。

ランダムなアミノ酸配列には多様な性質があることがわかったので、その一部(10数アミノ酸残基)を天然タンパク質カタラーゼのC末端に連結するランダム伸張変異を開発した。比較のために、従来のランダム点変異法も同じ酵素に行った。その結果、野生型酵素よりも高機能の変異型カタラーゼが現れる頻度が、開発されたランダム伸張変異法は、ランダム点変異法に比べて、10倍高いことがわかった。このことは、以下のルールで理解できる。天然タンパク質は現在までの進化過程である程度最適化されているので、配列空間上の山の頂上に近いところに存在する。よって、ランダム点突然変異を加えても、多くの変異型タンパク質はその機能が下がる。しかし、ランダム伸張変異ではアミノ酸配列空間に新たな次元を加えることになる。新しく足された次元の空間は進化によって探索されていない処女地なので、野生型酵素は必ずしも頂上には存在しない。よって、野生型酵素より優れた変異型酵素が容易に得られるのである。

天然タンパク質が比較的短い時間に一定の形に折り畳まれるのは、そのアミノ酸配列が特別で、その最安定構造に近づくにしたがってエネルギーが下がる特別なエネルギー局面を持つためである、とされている。果たして、進化の過程でそのような配列が生まれてくるのだろうか。コンピュータの中に初期ポリペプチドとしてランダム配列を用意して、変異と選択を加えた。その結果、基質結合能だけの簡単な選択でタンパク質全体の高次構造が出来上がることがわかった。このことはスプリングラスモデルなどでも示せるので、高自由度連結系は低自由度の選択によって秩序化する、というルールと言える。

基質結合能だけでタンパク質全体の構造が出来ることがわかったので、ランダム配列(140アミノ酸)のポリペプチドを提示したファージのライブラリーを調製した。そして、エステラーゼ反応の遷移状態アナログ 4-carboxybutyl-phosphonate (CAII) を基質として結合能による選択を行った。その結果、この基質と結合能があるポリペプチドが得られた。そしてさらに、変異と選択を3世代繰り返すことによって、結合能が天然抗体の約半分程度にまで進化した。塩基配列決定の結果より、ランダム配列から数個のアミノ酸置換で結合能をもったタンパク質が進化することがわかった。

自己評価：ランダム配列

100アミノ酸のランダム配列は 20^{100} 種類ある。この中から、非常に少ない種類の機能性タンパク質を選び出すと考えると、この研究は無謀に思える。しかしながら、幾つかの計算より、「進化は比較的創りやすい物を作ってきた」と仮定して研究してきた。そのことが理論的にも実験的にも示せたことは感動である。任意に選んだ配列から、任意に選んだ機能を進化させられたことは、タンパク質進化の問題だけでなく、人工タンパク質創造にも道をつなげたと思う。一方で、選択系の確立にほぼ2年半を費やして

しまい、1)機能を最高まで高めること、2)得られた機能性タンパク質の構造情報を得ること、の時間が無くなってしまった事は残念に思う。

5. 領域総括の見解:

蛋白質のアミノ酸配列の進化については系統的な解析のみが行われ、なぜそのような配列がつけられたのかについては何も触れられなかった。本研究は、一度基質との結合部位ができれば、あとはランダムな配列を加えていくうちに酵素活性が上昇する場合のあることを実証した世界的にみて最初の蛋白質進化の実験的研究である。これからの発展を大いに期待したい。

6. 論文リスト

- 1). Aoki, K., Motojima, F., Taguchi, H., Yomo, T. & Yoshida, M. (2000) The Journal of Biological Chemistry, 275, 13755-13758
- 2). Nakashima, T., Ishiguro, N., Yamaguchi, M., Yamauchi, A., Shima, Y., Nozaki, C., Urabe, I. & Yomo, T. (2000) J.Biosci.Bioeng., 90, In Press.
- 3). Matsuura, T., Miyai, K., Trakulnaleamsai, S., Yomo, T., Shima, Y., Miki, S., Yamamoto, K. & Urabe, I. (1999) Nature Biotechnology, 17, 58-61
- 4). Yomo, T., Saito, S. & Sasai, M. (1999) Nature Structural Biology, 6, 743-6
- 5). Doi, N., Yomo, T., Itaya, M. & Yanagawa, H. (1998) FEBS Lett, 427, 51-4
- 6). Matsuura, T., Yomo, T., Trakulnaleamsai, S., Ohashi, Y., Yamamoto, K. & Urabe, I. (1998) Protein Eng., 11, 789-95
- 7). Yamauchi, A., Yomo, T., Tanaka, F., Prijambada, I.D., Ohhashi, S., Yamamoto, K., Shima, Y., Ogasahara, K., Yutani, K., Kataoka, M. & Urabe, I. (1998) FEBS Lett, 421, 147-51
- 8). Yomo, T., Prijambada, I.D., Yamamoto, K., Shima, Y., Negoro, S. & Urabe, I. (1998) Ann N Y Acad Sci, 864, 131-5