

### Ⅲ 研究分野の研究教育活動状況

#### 【遺伝子改変動物分野】

#### 1. 研究活動

##### 1-1 研究概要

遺伝子改変動物分野では、発生工学的手法を駆使して様々なタイプの遺伝子改変マウスを作出し、個々の遺伝子の生体内での機能を解明すると共に、ヒトの遺伝子変異に基づいたヒト疾患モデルマウスの開発を行っている。平成 25 年度は、教員 4 名の他に、博士課程大学院生 1 名、修士課程大学院生 1 名、医学類生 1 名の総勢 7 名が以下の研究を行った。また、学内外と遺伝子改変マウスの作出と解析の共同研究を精力的に進めると共に、技術職員によるマウス受精卵の凍結保存や受精卵移植、体外受精などの研究支援を行った。

##### 1) 糖転移酵素遺伝子ノックアウト (KO) マウスを用いた糖鎖機能の解析

糖鎖の生合成の鍵となる糖転移酵素遺伝子の KO マウスを作出することにより生体内の糖鎖をリモデリングして、細胞表面の糖鎖が細胞の増殖や分化、移動などに果たす役割を明らかにする。主なものとして、 $\beta$ -1,4-ガラクトース転移酵素( $\beta$ 4GalT)遺伝子群の KO マウスやシアル酸合成酵素 (GNE) 遺伝子点変異マウスの解析を行っている。25 年度の成果としては、(1)  $\beta$ 4GalT-1 欠損骨髄幹細胞 (HSC) は骨髄移植においてホーミングに障害があることを明らかにしたが、ガラクトースより末端に位置するシアル酸の役割について GNE 点変異マウスを用いて解析した。 $\beta$ 4GalT-1 欠損 HSC のホーミング活性が 1/10 以下に激減していたのに対して、GNE 点変異 HSC は半分程度に減弱しており、シアル酸もある程度寄与していることがわかった。(2) 脳神経系特異的  $\beta$ 4GalT-5 KO マウスと  $\beta$ 4GalT-6 KO マウスの解析を行った。両者ともラクトシルセラミド (LacCer) 合成酵素をコードすることが知られているが、それぞれの KO マウスの脳では LacCer 合成酵素活性は約半分に減少し、ダブル KO マウスでは完全に消失しており、LacCer 合成酵素は  $\beta$ 4GalT-5 と  $\beta$ 4GalT-6 にコードされていることが明らかとなった。現在ダブル KO マウスの脳神経機能の解析を進めている。(3) コンドロイチン硫酸の硫酸基転移酵素の KO マウスは新奇刺激への過剰反応が観察された。神経伝達物質のうち特定のものを介した神経伝達に問題がある可能性が示唆されたので、その分子機構を解析している。

##### 2) 発生過程や脳神経系におけるエピジェネティクス制御因子の機能解析

ヒストン修飾はクロマチン構造や DNA のメチル化を変化させて、遺伝子の発現をエピジェネティックに制御している。Jmjd3 はヒストン H3 の 27 番目のリジン (H3K27) を脱メチル化する活性を持ち、メチル化 H3K27 は遺伝子の発現を抑制する働きがあると言われている。Jmjd3 欠損マウスは出生直後に致死となり、胎仔の骨格形成に異常を生じ、胎盤の過形成が見られた。(1) Jmjd3

欠損胎仔では体軸形成を制御している Hox 遺伝子群の発現が減少しており、H3K27 のメチル化が Hox 遺伝子群の発現を制御していると考えられた。CRISPR/Cas9 法により H3K27 の脱メチル化活性だけを欠失した Jmjd3 変異マウスを作製して、その点を確認中である。(2) Jmjd3 欠損胎仔は胎盤の過形成を生じ、胎盤特異的なインプリント遺伝子の発現に異常が見られた。一部の胎盤特異的なインプリント遺伝子の発現は H3K27 のメチル化により制御されていることがわかった。(3) HP1 $\gamma$  はメチル化 H3K9 に結合するエピジェネティクス因子であるが、脳神経系特異的な HP1 $\gamma$  欠損マウスを作製して神経系でのヒストン修飾の役割について解析した。行動解析の結果、このマウスは低活動性を示すことがわかり、その異常に関わる神経伝達物質の同定を進めている。

## 1-2 研究成果リスト

### 1) 学術論文

- (1) Thundyil J, Manzanero S, Pavlovski D, Cully TR, Lok KZ, Widiapradja A, Chunduri P, Jo DG, Naruse C, Asano M, Launikonis BS, Sobey CG, Coulthard MG, Arumugam T. Evidence that the EphA2 receptor exacerbates ischemic brain injury. *PLoS ONE* 2013; 8: e53528.
- (2) Liu H-X, Lopatina O, Higashida C, Fujimoto H, Akther S, Inzhutova A, Liang M, Zhong J, Tsuji T, Yoshihara T, Sumi K, Ishiyama M, Ma W-J, Ozaki M, Yagitani S, Yokoyama S, Mukaida N, Sakurai T, Hori O, Yoshioka K, Hirao A, Kato Y, Ishihara K, Kato I, Okamoto H, Cherepanov SM, Salmina AB, Hirai H, Asano M, Brown DA, Nagano I, Higashida H. Displays of paternal mouse pup retrieval following communicative interaction with maternal mates. *Nature Commun* 2013; 4: 1346.
- (3) Nadanaka S, Zhou S, Kagiya S, Shoji N, Sugahara K, Sugihara K, Asano M, Kitagawa H. EXTL2, a member of the EXT family of tumor suppressors, controls glycosaminoglycan biosynthesis in a xylose kinase-dependent manner. *J Biol Chem* 2013; 288: 9321-9333.
- (4) Ohno R, Nakayama M, Naruse C, Okashita N, Takano O, Tachibana M, Asano M, Saitou M, Seki Y. A replication-dependent passive mechanism modulates DNA demethylation in mouse primordial germ cells. *Development* 2013; 140: 2892-2903.
- (5) Hase K, Nakatsu F, Ohmae M, Sugihara K, Shioda N, Takahashi D, Obata Y, Furusawa Y, Fujimura Y, Yamashita T, Fukuda S, Okamoto H, Asano M, Yonemura S, Ohno H. AP-1B-mediated protein sorting regulates polarity and proliferation of intestinal epithelial cells in mice. *Gastroenterology* 2013; 145: 625-635.
- (6) Cui H, Okamoto Y, Yoshioka K, Du W, Takuwa N, Zhang W, Asano M, Shibamoto T, Takuwa Y. Sphingosine-1-phosphate receptor 2 protects against anaphylactic shock through suppression of endothelial nitric oxide synthase in mice. *J Allergy Clin Immunol* 2013; 132: 1205-1214.

### 2) 学術発表 (共同研究は除く)

- (1) 川口隆之, 成瀬智恵, 柴田進和, 浅野雅秀 「胎盤特異的なインプリンティング遺伝子における Jmjd3 の機能解析」 第 60 回日本実験動物学会総会, つくば (2013. 5)

- (2) 吉原亨, 佐武寛之, 鈴木紘史, 神村栄吉, 沖野望, 伊東信, 徳田典代, 古川圭子, 古川鋼一, 浅野雅秀「ラクトシルセラミド合成に関わるガラクトース転移酵素群欠損マウスの行動解析と脳の組織学的・生化学的解析」第 60 回日本実験動物学会総会, つくば (2013. 5)
- (3) 吉原亨, 佐武寛之, 鈴木紘史, 神村栄吉, 沖野望, 伊東信, 徳田典代, 古川圭子, 古川鋼一, 浅野雅秀「ラクトシルセラミド合成に関わるガラクトース転移酵素群欠損マウスの行動解析と脳の組織学的・生化学的解析」日本動物心理学会第 73 回大会, つくば (2013. 9)
- (4) 佐武寛之, 吉原亨, 鈴木紘史, 神村栄吉, 沖野望, 伊東信, 徳田典代, 古川圭子, 古川鋼一, 浅野雅秀「ラクトシルセラミド合成に関わるガラクトース転移酵素 $\beta$ 4GalT-5 と-6 欠損マウスの行動解析を中心とした脳・神経機能の解析」第 36 回日本分子生物学会年会, 神戸 (2013. 12)
- (5) 吉原亨, 北川裕之, 浅野雅秀「テストバッテリー方式によるコンドロイチン硫酸鎖形成に関わる C6ST-1 トランスジェニックマウスの行動解析」第 36 回日本分子生物学会年会, 神戸 (2013. 12)

### 3) 研究交流 (共同研究)

#### 学内

- (1) 「ヒト 15 番染色体を保持したマウスの解析」(学際センター・ゲノム機能)
- (2) 「PYNOD の機能解析」(がん研・免疫炎症制御)
- (3) 「マウスの行動解析」(子どもこのころの発達研究センター)
- (4) 「アナフラキシーショックにおける SIP 受容体の解析」(医学系・血管分子生理学)
- (5) 「Pax2 遺伝子の腎臓における機能解析」(医学系・血液情報統御学)
- (6) 「分泌型 RAGE の解析」(医学系・血管分子生物学)
- (7) 「統合失調症モデルマウスの解析」(医学系・脳情報病態学)
- (8) 「ES 細胞の未分化維持に重要な遺伝子の解析」(医学系・再生分子医学)
- (9) 「アストロサイトによる脳機能制御」(医学系・神経分子標的学)
- (10) 「視床下部機能による行動制御」(医学系・分子神経科学・統合生理学)
- (11) 「肝臓におけるサイトカインの役割」(保健学系)

#### 国内

- (1) 「プロテオグリカン合成酵素の解析」(神戸薬科大学・生化学)
- (2) 「HP1  $\gamma$  の脳神経系における役割」(理化学研究所・免疫・アレルギー総合科学研究センター)
- (3) 「AP-1B の機能解析」(理化学研究所・免疫・アレルギー総合科学研究センター)
- (4) 「脳神経系におけるガラクトース糖鎖の役割」(京都大学・医学研究科)
- (5) 「骨形成における EphA 遺伝子群の解析」(慶応大学医学部)
- (6) 「細胞死における AEP の役割」(東京医科歯科大学・難治疾患研究所)
- (7) 「ガングリオシドの生合成の解析」(九州大学生物資源環境科学府)

- (8) 「LacCer 合成に関わる糖転移酵素の解析」(名古屋大学・医学系研究科)
- (9) 「PGC における DNA 脱メチル化機構」(関西学院大)
- (10) 「CRISPR/Cas9 による遺伝子改変マウスの作製」(大阪大学・微生物病研究所)

#### 海外

- (1) 「脳虚血における EphA2 遺伝子の役割」(オーストラリア・School of Biomedical Sciences, University of Queensland)
- (2) 「PEV システムにおける HP1  $\gamma$  の機能」(英国・MRC Clinical Sciences Centre, Imperial College)
- (3) 「発ガンと転移における AEP の役割」(米国・The Scripps Research Institute)
- (4) 「神経膠腫形成における AEP の役割」(中国・Institute of Health Sciences, Chinese Academy of Sciences)
- (5) 「免疫系における HP1  $\gamma$  の機能」(米国・Harvard Medical School Beth Israel Deaconess Medical Center)
- (6) 「アルツハイマー病における AEP の役割」(米国・New York State Institute for Basic Research)
- (7) 「腎臓上皮組織形成機構の解析」(ドイツ・Max-Planck-Institute for Heart and Lung Research)

#### 4) 研究費

- (1) 浅野雅秀 (代表), 文科省科研費 基盤研究 B: ヒストン修飾を介した脳神経機能制御の解析と精神疾患モデルの開発, 5,100 千円
- (2) 浅野雅秀 (代表), 文科省科研費 挑戦的萌芽研究: 骨髄幹細胞の新規ホーミング分子の同定と糖鎖修飾による効率的骨髄移植法の開発, 800 千円
- (3) 成瀬智恵 (代表), 文科省科研費 基盤研究 C: ヒストン修飾によるインプリンティング遺伝子制御の解析と周産期致死疾患モデルの開発, 1,400 千円
- (4) 吉原亨 (代表), 文科省科研費 若手研究 B: 精神疾患モデルとしての糖鎖遺伝子改変マウスの解析, 900 千円
- (5) 杉原一司 (代表), 文科省科研費 基盤研究 C: 糖転移酵素ノックアウトマウス表現型と糖鎖機能を解明する方法論の開発と実証, 1,000 千円

#### 5) 受賞

- (1) 成瀬智恵: 日本実験動物学会第 25 回奨励賞. 「遺伝子改変マウスを用いた哺乳類の発生機構の研究」, 第 60 回日本実験動物学会総会, つくば (2013. 5)

## 2. 教育活動

### 1) 大学院教育

#### 授業科目

大学院医薬保健学総合研究科修士課程：動物実験学演習（医科学専攻）

大学院医薬保健学総合研究科：基礎系教育セミナーとフロンティア医学セミナー（初期総合カリキュラム）、先端医科学と Up-to-date セミナー（専攻共通科目）、遺伝子改変動物学特論（研究分野開設科目）、生命工学トレーニングコース（博士課程共通科目）

連合大学院小児発達学研究科：行動・情動神経科学，認知行動生物学演習

#### 博士論文指導

「ヒストン修飾因子の脳神経系での機能解析」坂西孝太

#### 修士論文指導

「LacCer 合成酵素欠損マウスの脳神経系機能の解析」佐武寛之

### 2) 学類教育

#### 授業科目

バイオテクノロジー（共通教育科目，分担）

動物実験と再生医学（医学類医学科，分担）

基礎配属（医学類医学科）

### 3) 動物実験基礎講習（新規利用者講習）：9回，283名（宝町と角間）

# 【ゲノム機能解析分野】

## 1. 研究活動

### 1-1 研究概要

ゲノム機能解析分野では、様々な研究分野とかがわり合う学際的な「遺伝子研究」推進し、マイクロアレイ等による包括的な発現解析や二次元電気泳動装置と質量分析計を用いたプロテオーム解析、バイオインフォマティクス等の先端的な研究技術の全学的な導入・活用支援を進めている。シロイヌナズナやイネ、ヒメツリガネゴケ、シャジクモ等の緑色植物において転写因子、キナーゼなどの重要な役割を担う遺伝子の構造と機能を明らかにする事で、病傷害ストレス応答の分子機構、世代交代システムの進化などの解明を目標とした研究を行っている。また、マウス ES 細胞やヒト iPS 細胞を用いた細胞生物学にヒト染色体工学技術を応用し、様々な疾患の発症機序の解明やエピジェネティック制御機構の解明にも取り組んでいる。主な研究テーマは以下のとおりである。

#### 1) シロイヌナズナを用いた赤かび病菌抵抗性の分子機構の解明 (西内)

ムギ類赤カビ病菌が産生するトリコテセンは、ファイトトキシンであり、宿主植物への感染過程で病原性因子として作用することが示唆されている。赤カビ病菌に罹病性であるシロイヌナズナに用いて、トリコテセン応答遺伝子を同定し、逆遺伝学的な解析を行っている。トリコテセン応答を制御する転写因子やシグナル伝達因子を多数同定し、その分子機構について解析を進めており、病原性因子としてのトリコテセン作用を抑制した植物を作出しており、現在は赤かび病菌に対する抵抗性について解析を行っている。トリコテセンはマイコトキシンとしても作用し、汚染された穀物は人畜の健康を脅かすことから、赤かび病菌抵抗性植物の作出により、トリコテセンを含まない作物の開発を目指している。

#### 2) 植物における迅速な全身的傷応答シグナル伝達機構の解明 (西内)

高等植物は傷ストレスを受けた時、転写因子などの初期応答遺伝子が傷を受けた葉だけでなく、無傷の葉でも迅速な発現誘導を示すことが知られている。器官間コミュニケーションのモデル実験系として、葉と根の間でシステミックな傷応答を示す遺伝子について、マイクロアレイを用いて解析し、根に傷を付けた時の葉で迅速な発現応答を示す多くの遺伝子を同定した。また、器官間のシステミックな傷応答にもジャスモン酸等が関与していることを明らかにし、さらに器官間傷応答遺伝子のプロモーター領域と蛍ルシフェラーゼ遺伝子との融合遺伝子を導入した形質転換植物を用いて、根と葉の間のシグナルの伝播の様子を明らかにしている。

#### 3) 適応形質進化解明に向けた非モデル生物ゲノム解析法の開発(西山)

イルミナ社などの新型シーケンサーでは、数十塩基の配列を一回の実験で数千万ないし数億個決定する事ができる。このようなシステムの登場により、従来のモデル生物以外でも、ゲノム解析を

行い、各生物固有の問題に取り組む事が可能になることが期待されている。しかし、個々の配列長が短いため従来のシーケンサーとは異なった解析法の開発が必要となる。このシステムを活用してゲノム配列のアセンブリーを行う鍵は、メイトペアライブラリーの調製法であり、十数 kb までのインサートを持つメイトペアライブラリー調製技術を確立した。これを用いてムシフグ、コモンフグ、カブトムシ、マイマイカブリ、イチジクカサンのゲノム解析において、それぞれ scaffold N50 1 Mb 以上の高品質なアセンブリ結果を得た。さらに、一方で PacBio RSII という長い距離読むことができるが塩基の読み取り精度が低いシーケンサーが登場した。このため、アセンブリー法においても変革が生じており、PacBio のみ、あるいは Illumina とのハイブリッド法などの検討を行っている。

#### 4) 陸上植物の世代交代進化の解明 (西山)

陸上植物の祖先は、1 倍体のみが多細胞性の体を持ち、受精して生じた接合子はすぐに減数分裂する緑藻類であり、そこから体細胞分裂をして多細胞性の 2 倍体を作る陸上植物が進化した。この 2 倍体の多細胞性の進化を解明するため、陸上植物に最も近縁なシャジクモ藻類のゲノム解析を推進し、2 倍体の多細胞化に伴ってどのような遺伝子が獲得されたかを特定する研究を行っている。まず、シャジクモ藻類のシャジクモ及びヒメミカヅキモのゲノム解読とアノテーションを進めている。

#### 5) 陸上植物最初期の系統関係の解明 (西山)

陸上植物進化の最初期に分岐した植物が何であるかという問題は、陸上植物の体制進化を理解する上で鍵となる問題点である。これまでの葉緑体にコードされているタンパク質のアミノ酸配列の解析ではセン類・タイ類・ツノゴケ類のコケ植物が単系統で維管束植物とわかれたと推定される一方、核酸レベルでの解析ではコケ植物のうちタイ類が最も基部で分岐しセン類が継いで分岐し、ツノゴケ類が維管束植物の姉妹群であるという見解もある。いずれも、十分に決定的な結果を示せてはいない。そこで、核ゲノムにコードされているタンパク質の配列を多数決定することによって系統関係を解明する研究を行っている。

#### 6) 神経細胞特異的なクロマチンダイナミクスを司る分子の同定 (堀家)

15q11-q13 領域はゲノム刷り込み遺伝子がクラスターを形成して存在している領域であり、その刷り込み遺伝子の発現異常によりプラダーウィリ症候群やアンジェルマン症候群を発症する。これまでの研究で、15q11-q13 領域における精神発達障害の発症機序の解明に取り組み、15q11-q13 領域の遺伝子発現制御には核内における遺伝子の配置が重要な意味を持っていることを見出してきた。近年、細胞核内では転写マシナリーが活性化している領域と不活性化している領域とが存在し、遺伝子が適切な場所に配置されることで、発現が制御されることが明らかになっているが、実

際にどのような分子が染色体ゲノムの核内配置や相互作用に関わり、遺伝子発現を制御しているのか明らかにされていない。そこで、ヒト染色体工学技術を用いたゲノム編集により、15q11-q13領域におけるクロマチンダイナミクスを司る分子の制御メカニズムの解明に取り組んでいる。

#### 7) 脂質代謝のマスター因子 KLF14 遺伝子の発現制御メカニズムの解明

7q32 刷り込み領域はラッセル・シルバー症候群や自閉症関連遺伝子の候補領域となっているが、その原因遺伝子の同定には至っていない。さらに最近、7q32 刷り込み領域に位置し母性発現の刷り込み遺伝子 *KLF14* 遺伝子上流に II 型糖尿病感受性多型も同定されたが、その多型が遺伝子発現にどのように影響を与えるのかは不明である。そこで、ヒト染色体工学技術を用いたゲノム編集により、7q32 刷り込みクラスターの遺伝子発現制御の解明に取り組んでいる。特に、クロマチンループ構造や核内配置の変化などを解析することにより、II 型糖尿病感受性多型が高次クロマチン構造に与える影響を検証している。

#### 8) 自閉症患者におけるオキシトシンレセプターのエピゲノム解析 (掘家)

自閉症は、社会適応能力の障害やコミュニケーション障害を主徴とする広汎性神経発達障害であり、その背景には強い遺伝素因があることは明らかであるが、未だその発症機序は明らかにされていない。こうした中、「オキシトシン」と呼ばれるペプチドホルモンが自閉症症状の軽減に有効であるという臨床報告がなされるようになった。オキシトシンは、もともと子宮収縮や乳汁分泌に関与する下垂体後葉ホルモンとして知られていたが、最近の研究で「他人への信頼」が増す効用があることが明らかとなっている。そこで、胎生期の環境因子暴露によりオキシトシンレセプターのプロモーター領域のエピゲノムが変化し、自閉症の発症に繋がっているのではないかという仮説をたて、国立大学法人金沢大学附属病院の自閉症患者におけるオキシトシンレセプターの DNA メチル化解析を行っている。これまでの研究の中で、自閉症患者とその家族で有意にメチル化状態の差が認められる CpG 部位を同定している。今後、マウス胎生期の環境因子暴露に伴い、マウス *Oxtr* 遺伝子プロモーター領域のメチル化状態がどのように変化するか明らかにする。

## 1-2 研究成果リスト

### 1) 学術論文

- (1) Fujita N, Nagata Y, Nishiuchi T, Sato M, Iwami M, Kiya T. Visualization of neural activity in insect brains using a conserved immediate early gene, Hr38. *Curr Biol*. 23: 2063-2070. (2013)
- (2) M. Mamunur Rahman, M. Azizur Rahman, Teruta Maki, Takumi Nishiuchi, Tomoya Asano, Hiroshi Hasegawa. A marine phytoplankton (*Prymnesium parvum*) up-regulates ABC transporters and several other proteins to acclimatize with Fe-limitation. *Chemosphere* 95: 213-219. (2013)



- (3) Nazifi E, Wada N, Yamaba M, Asano T, Nishiuchi T, Matsugo S, Sakamoto T. Glycosylated porphyrin-334 and palythine-threonine from the terrestrial cyanobacterium *Nostoc commune*. *Mar Drugs*. 11:3124-3154. (2013)
- (4) Asano T, Miwa A, Maeda K, Kimura M, Nishiuchi T. The secreted antifungal protein thionin 2.4 in *Arabidopsis thaliana* suppresses the toxicity of a fungal fruit body lectin from *Fusarium graminearum*. *PLoS Pathog*. 9:e1003581. (2013)
- (5) Saruyama N, Sakakura Y, Asano T, Nishiuchi T, Sasamoto H, Kodama H. Quantification of metabolic activity of cultured plant cells by vital staining with fluorescein diacetate. *Anal Biochem*. 441:58-62. (2013)
- (6) Shamma A, Suzuki M, Hayashi N, Kobayashi M, Sasaki N, Nishiuchi T, Doki Y, Okamoto T, Kohno S, Muranaka H, Kitajima S, Yamamoto K, Takahashi C. ATM mediates pRB function to control DNMT1 protein stability and DNA methylation. *Mol Cell Biol*. 33:3113-3124. (2013)
- (7) Kitamura K, Takahira K, Inari M, Satoh Y, Hayakawa K, Tabuchi Y, Ogai K, Nishiuchi T, Kondo T, Mikuni-Takagaki Y, Chen W, Hattori A, Suzuki N. Zebrafish scales respond differently to in vitro dynamic and static acceleration: analysis of interaction between osteoblasts and osteoclasts. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. 166:74-80. (2013)
- (8) Miyamoto H, Shimada E, Satoh T, Tanaka R, Oshima K, Suda W, Fukuda S, Nishiuchi T, Matsuura M, Mori K, Miyamoto H, Ohno H, Hattori M, Kodama H, Matsushita T. Thermophile-fermented compost as a possible scavenging feed additive to prevent peroxidation. *J Biosci Bioeng*. 116:203-208.
- (9) 西内巧, 赤かび病抵抗性に関わる植物の新規制御因子の機能解析, 日本植物病理学会植物感染生理談話会論文集, 48: 125-133. (2013)
- (10) Shibata TF, Maeda T, Nikoh N, Yamaguchi K, Oshima K, Hattori M, Nishiyama T, Hasebe M, Fukatsu T, Kikuchi Y, Shigenobu S Complete Genome Sequence of *Burkholderia* sp. Strain RPE64, Bacterial Symbiont of the Bean Bug *Riptortus pedestris*. *Genome Announcements* 1(4): e00441-13. (2013)
- (11) Sun J, Nishiyama T, Shimizu K, Kadota K. TCC: an R package for comparing tag count data with robust normalization strategies. *BMC Bioinformatics* 14:219. (2013)
- (12) Zimmer AD, Lang D, Buchta K, Rombauts S, Nishiyama T, Hasebe M, Van de Peer Y, Rensing SA, Reski R. Reannotation and extended community resources for the genome of the non-seed plant *Physcomitrella patens* provide insights into the evolution of plant gene structures and functions. *BMC Genomics* 14:498. (2013)
- (13) Kubo M, Imai A, Nishiyama T, Ishikawa M, Sato Y, Kurata T, Hiwatashi Y, Reski R, Hasebe M. System for stable  $\beta$ -estradiol-inducible gene expression in the moss *Physcomitrella patens*. *PLoS One* 8(9): e77356 (2013)
- (14) Hoepflinger MC, Geretschlaeger A, Sommer A, Hoeflberger M, Nishiyama T, Sakayama H, Hammerl P, Tenhaken R, Ueda T, Foissner I. Molecular and biochemical analysis of the first ARA6 homologue, a RAB5 GTPase, from green algae. *J Exp Bot* 64: 5553-5568. (2013)

## 2) 学術発表

- (1) 西内巧, 「赤かび病抵抗性に関わる植物の新規制御因子の機能解析」, 日本植物病理学会植物感染生理談話会, 2013 年 8 月
- (2) 江崎文一, 稲田真利, 東藍子, 西村秀希, 西内巧 「イネ科野生植物メリケンカルカヤ由来の SAMS 遺伝子と ABC transporter 遺伝子の Al ストレス耐性機構における機能解析」日本土壌肥料学会, 2013 年 9 月
- (3) 江崎文一, 東藍子, 高橋憲公, 西内巧, Kottapalli Jayarum 「イネ科メリケンカルカヤの Al 耐性機構と耐性関連の SAMS,ABC-transporter 遺伝子の解析」日本土壌肥料学会, 2013 年 9 月
- (4) 浅野智哉, 三輪晃敬, 前田一行, 木村真, 西内巧 「フザリウム属菌で保存されているレクチン様タンパク質(FFBL)の機能解析」第 9 回フザリウム研究会, 2013 年 10 月
- (5) Asano, T., Nishiuchi, T. "Two Raf-like MAPKKKs (MKD1 and EDR1) regulate cell death in *Arabidopsis thaliana*." 日本分子生物学会第 36 回年会, 2013 年 12 月
- (6) Hosokawa Kohei, Nishiuchi Takumi, Asano Tomoya, Espinoza Luis, Katagiri Takamasa, "Proteomic identification of soluble plasma HLA peptidomes in patients with aplastic anemia." 第 75 回日本血液学会, 2013 年 10 月
- (7) 三輪晃敬, 澤田有司, 平井優美, 佐藤和広, 西内巧 「ニコチンアミドモノヌクレオチドによる植物の病害抵抗性誘導の解析」第 55 回植物生理学会年会, 2014 年 3 月
- (8) 西山智明, 豊田敦, 鈴木穰, 坂山英俊. 「陸上植物に近縁な藻類シャジクモのゲノム解読」北陸植物学会 2013 年 6 月
- (9) Hiroe Namba, Yoshikazu Furuta, Tomoko F. Shibata, Tomoaki Nishiyama, Shuji Shigenobu, Desirazu N. Rao, Mitsuyasu Hasebe, Ichizo Kobayashi 「第三世代シーケンサー(PacBio 社) 1 分子リアルタイム(SMRT)シーケンシングでのメチローム解読による制限修飾系の認識配列の決定。」日本進化学会第 15 回つくば大会 2013 年 8 月
- (10) Yoshikazu Furuta, Hiroe Namba, Tomoko F. Shibata, Tomoaki Nishiyama, Shuji Shigenobu, Yutaka Suzuki, Sumio Sugano, Mitsuyasu Hasebe, Ichizo Kobayashi. 「DNA メチル化系の認識配列変換によるメチローム多様化: 種内複数株でのメチローム解読からの証拠。」日本進化学会第 15 回つくば大会 2013 年 8 月
- (11) 西山智明, 豊田敦, 鈴木穰, 坂山英俊. 「陸上植物に近縁な藻類シャジクモのゲノム解読。」NGS 現場の会第三回研究会 2013 年 9 月
- (12) 福島健児, Likai Mao, 今井飛将, 西山智明, 野澤昌文, 住川直美, 笠原雅弘, 柴田朋子, 重信秀治, Xiaodong Fang, 長谷部光泰. 「ゲノムに刻まれた食虫植物の進化。」NGS 現場の会第三回研究会 2013 年 9 月
- (13) 鎌田寛彬, 笠原雅弘, 長谷部光泰, 西山智明 「第二世代シーケンサーによる高密度の遺伝学的地図作成法 ヒメツリガネゴケへの適用例」NGS 現場の会第三回研究会 2013 年 9 月
- (14) 柴田朋子, 西山智明, 重信秀治, 長谷部光泰. 「1 分子シーケンサーを用いた非モデル生物の de novo ゲノム解析の現状」NGS 現場の会第三回研究会 2013 年 9 月

- (15) 若江亨祥, 青山慧, 王哲, 喜多村晃一, 劉光炎, アハサン・モハメド・モンジュルル, 中村充宏, 京哲, 柗元巖, 西山智明 「APOBEC3 は HPV ゲノムに hypermutation を導入する」 村松 正道. NGS 現場の会第三回研究会 2013 年 9 月
- (16) 孫建強, 西山智明, 清水謙多郎, 門田幸二. 「TCC: 頑健な正規化法を実装した発現変動解析用 R パッケージ」 NGS 現場の会第三回研究会 2013 年 9 月
- (17) Yoshikazu Furuta, Hiroe Namba, Tomoko F. Shibata, Tomoaki Nishiyama, Shuji Shigenobu, Yutaka Suzuki, Sumio Sugano, Mitsuyasu Hasebe, Ichizo Kobayashi. 「DNA メチル化系の認識配列変換によるメチローム多様化：種内複数株でのメチローム解読からの証拠」 NGS 現場の会第三回研究会 2013 年 9 月
- (18) 西山智明, 豊田敦, 鈴木穰, 坂山英俊. 「陸上植物に近縁な藻類シャジクモのゲノム解読」 日本植物学会第 77 回大会 2013 年 9 月
- (19) 市川千紘, 城座佳希, 西山智明, 壁谷幸子, 長谷部光泰, 小藤累美子. 「ヒメツリガネゴケの *scr* 欠失体と *shr* 欠失体は同じ表現型か？」 日本植物学会第 77 回大会 2013 年 9 月
- (20) 片山なつ, 西山智明, 厚井聡, 倉田哲也, 山田敏弘, 今市涼子, 加藤雅啓. 「カワゴケソウ科の劇的な形態進化を引き起こした遺伝子進化」 日本植物学会第 77 回大会 2013 年 9 月
- (21) 南野尚紀, 恵良厚子, 砂田麻里子, 西山智明, 西浜竜一, 河内孝之, 中野明彦, 上田貴志. 「ゼニゴケ RAB21 ホモログの機能と進化的意義の解析」 日本植物学会第 77 回大会 2013 年 9 月
- (22) 関本弘之, 平野直子, 大槻涼, 川井絢子, 土金勇樹, 西山智明, 阿部淳. 「シャジクモ藻類ヒメミカヅキモの有性生殖制御」 日本植物学会第 77 回大会 2013 年 9 月
- (23) 北川宗典, 綾部美晴, 豊岡公德, 佐藤繭子, 西山智明, 寺内真, 木村泰三, 村田隆, 佐藤良勝, 長谷部光泰, 藤田知道. 「細胞の分化状態に応じた原形質連絡を介する分子輸送制御」 日本植物学会第 77 回大会 2013 年 9 月
- (24) Yoshikazu Furuta, Hiroe Namba, Tomoko F. Shibata, Tomoaki Nishiyama, Shuji Shigenobu, Yutaka Suzuki, Sumio Sugano, Mitsuyasu Hasebe, Ichizo Kobayashi. 「第三世代シーケンサー(PacBio 社)の 1 分子リアルタイム(SMRT)シーケンシングによるメチローム解読と『エピジェネティクス駆動進化』仮説」 日本遺伝学会第 85 回大会 2013 年 9 月
- (25) Yoshikazu Furuta, Hiroe Namba, Tomoko F. Shibata, Tomoaki Nishiyama, Shuji Shigenobu, Yutaka Suzuki, Sumio Sugano, Mitsuyasu Hasebe, Ichizo Kobayashi. “Methylome decoding by PacBio RS in closely related *H. pylori* strains: DNA methyltransferases change sequence specificity through movement of domains” CHRO 2013: 17th International Workshop on *Campylobacter*, *Helicobacter* and Related Organisms. September 2013.
- (26) Ichizo Kobayashi, Hiroe Namba, Tomoko F. Shibata, Tomoaki Nishiyama, Shuji Shigenobu, Yutaka Suzuki, Sumio Sugano, Mitsuyasu Hasebe, Yoshikazu Furuta. “Methylome diversification through changes in the sequence specificity of DNA methyltransferases” Infectious Disease Genomics and Global Health, Wellcome Trust Conference Centre, Cambridge, UK October, 2013
- (27) Yoshikazu Furuta, Hiroe Namba, Tomoko F. Shibata, Tomoaki Nishiyama, Shuji Shigenobu, Yutaka

- Suzuki, Sumio Sugano, Mitsuyasu Hasebe, Ichizo Kobayashi. “Methylome diversification through changes in the sequence specificity of DNA methyltransferases” 第 36 回日本分子生物学会年会 2013 年 12 月
- (28) 孫建強, 西山智明, 清水謙多郎, 門田幸二. 「様々な実験デザインに対応した頑健な RNA-seq 発現変動解析パイプライン TCC の開発。」 第 36 回日本分子生物学会年会 2013 年 12 月
- (29) Minoru Kubo, Tomoaki Nishiyama, Daniel Lang, Olaf Faustmann, Mitsuyasu Hasebe, Ralf Reski. 「Single cell transcriptomics to analyze plant reprogramming.」 第 36 回日本分子生物学会年会 2013 年 12 月
- (30) Tomoaki Nishiyama, Atsushi Toyoda, Yutaka Suzuki, Asao Fujiyama and Hidetoshi Sakayama. “Genome Sequencing of the Charophycean Green Alga, *Chara braunii*.” Plant & Animal Genomes XXII, January 2014
- (31) 西山智明, 豊田敦, 鈴木穰, 藤山秋佐夫, 坂山英俊 「陸上植物に近縁な藻類シャジクモ: 2.3Gb ゲノムの解読・アセンブリー」 生命情報科学若手の会第 5 回研究会 検見川 2014 年 2 月
- (32) 古田芳一, 南波宏枝, 柴田朋子, 西山智明, 重信秀治, 鈴木穰, 菅野純夫, 長谷部光泰, 小林一三 「PacBio RS を用いたピロリ菌メチロームの種内比較解析」 ゲノム微生物学会 2014 年 3 月
- (33) Yosuke Tamada, Tetsuya Kurata, Yuji Hiwatashi, Yukiko Kabeya, Tomoaki Nishiyama, Takashi Murata, Mitsuyasu Hasebe “Epigenome Analysis of the Cell-Fate Determination and Transition” 第 55 回日本植物生理学会年会 2014 年 3 月
- (34) 藤原ひとみ, 大西美輪, 坂山英俊, 石崎公庸, 関本弘之, 西山智明, 七條千津子, 深城英弘, 三村徹 「植物細胞リン酸輸送機構とその進化について」 第 55 回日本植物生理学会年会 2014 年 3 月
- (35) 南野尚紀, 恵良厚子, 金澤建彦, 砂田麻里子, 西山智明, 西浜竜一, 河内孝之, 中野明彦, 上田貴志 「ゼニゴケ RAB21 の機能とその進化的意義の解析」 第 55 回日本植物生理学会年会 2014 年 3 月
- (36) 小宮あゆみ, 阿部淳, 川井絢子, 鈴木穰, 豊田敦, 藤山秋佐夫, 大槻涼, 土金勇樹, 西山智明, 関本弘之 「ヒメミカヅキモの-型細胞特異的遺伝子 *CpMinus1* の解析」 第 55 回日本植物生理学会年会 2014 年 3 月
- (37) Minoru Kubo, Tomoaki Nishiyama, Daniel Lang, Olaf Faustmann, Taku Demura, Mitsuyasu Hasebe, Ralf Reski “Transcriptome analysis of plant reprogramming at single cell level” 第 55 回日本植物生理学会年会 2014 年 3 月
- (38) 西山智明, 豊田敦, 鈴木穰, 藤山秋佐夫, 坂山英俊 「シャジクモのゲノム解読」 日本植物分類学会第 13 回大会 2014 年 3 月
- (39) 古田芳一, 南波宏枝, 柴田朋子, 西山智明, 重信秀治, 鈴木穰, 菅野純夫, 長谷部光泰, 小林一三 「DNA メチル化系の認識配列変換によるエピゲノム多様化: PacBio マシンによる全メチローム解読からの証拠」 日本農芸化学会 2014 年度大会 2014 年 3 月 \*トピックス賞
- (40) Tomoaki Nishiyama, Atsushi Toyoda, Yutaka Suzuki, Asao Fujiyama and Hidetoshi Sakayama.

“Genome Sequencing of the Charophycean Green Alga, *Chara braunii*” Ectocarapus 2014. March 2014

- (41) 堀家慎一, Yasui DH, 押村光雄, LaSalle JM, 目黒-堀家牧子 「父性発現遺伝子 MAGEL2 の遺伝子発現制御における染色体ダイナミクスの役割」第7回日本エピジェネティクス研究会年会, 奈良県新公会堂, 奈良, 2013年5月30~31日
- (42) 堀家慎一 「MeCP2 is required for chromatin higher-order structure and dynamics at the imprinted 15q11-q13 locus.」酵母からのエピジェネティクス研究へのメッセージ, グランディア芳泉, あわら, 2013年9月2~4日
- (43) 堀家慎一【招待講演】 「神経疾患のジェネティクスとエピジェネティクス」日本心理学会第77回大会, 札幌コンベンションセンター, 札幌, 2013年9月19~21日
- (44) Horike S. 「MeCP2 is required for chromatin higher-order structure and dynamics at the imprinted 15q11-q13 locus.」 Epigenomics of Common Diseases, Wellcome Trust Conference Centre, Wellcome Trust Genome Campus, Hinxton, Cambridge, UK 2013年11月7~10日
- (45) 堀家慎一, 岡田源作, 棟居俊夫, 東田陽博, 横山茂, 目黒-堀家牧子 「自閉症発症機序におけるエピゲノムの重要性~オキシトシンレセプタープロモーター領域のDNAメチル化解析~」日本人類遺伝学会 第58回大会, 江陽グランドホテル, 仙台, 2013年11月20~23日
- (46) 堀家慎一, Yasui DH, 押村光雄, LaSalle JM, 目黒-堀家牧子 「15q11-q13領域の遺伝子発現制御における染色体ダイナミクスの役割」第31回染色体ワークショップ・第12回核ダイナミクス研究会, ホテルおかだ, 箱根, 2013年11月25~27日
- (47) 堀家慎一, Yasui DH, LaSalle JM, 目黒-堀家牧子 「Long non-coding RNA, UBE3A-ATS is essential for long-range gene regulation and chromosome territory in 15q11-q13 imprinted locus.」第36回日本分子生物学会年会, 神戸ポートアイランド, 神戸, 2013年12月3~6日

### 3) 研究交流 (共同研究)

学内

相手部局	研究課題
医薬保健研究域医学系	EBV 関連血球貪食症候群における EBV 感染 T 細胞の解析
	統合失調症の病態生理におけるカンナビノイドの重要性についての研究
	神経細胞死における活性化アストロサイトの役割
	脳脊髄液中の Aβオリゴマー化抑制物質の検討
	次世代シーケンサーによるウイルス変異の検出解析
医薬保健研究域薬学系	アポトーシスイメージング薬剤の開発と評価
	遺伝情報維持の分子メカニズムに関する解析
がん進展制御研究所	がん抑制遺伝子 Rb によるがん幹細胞化抑制の分子機構の解明
	細胞死と炎症のクロストークに関与する因子の探索
	ヒストンのメチル化制御に関わる因子の機能解析
	<i>in vitro</i> がん幹細胞モデルの解析

理工研究域 自然システム学系	カイコガの性フェロモン情報を伝達・処理する神経回路の同定と解析（他関連2課題）
	シアノバクテリアの紫外線吸収物質の化学構造解析（他関連2課題）
	鉄制限下で発現する植物プランクトン膜タンパク質の解析
	枯草菌及び緑色硫黄細菌 ferredoxin-NADP+酸化還元酵素の反応機構解析
	ヒメツリガネゴケにおける GRAS 遺伝子の解析
環日本海域環境研究センター	魚のウロコを骨モデルとして用いた磁場・重力・ホルモン応答に関する研究
学際科学実験センター	エピジェネティクス制御因子の発生過程での機能解析

国内

相手機関	研究課題
理化学研究所	オオムギの赤かび病抵抗性に関わる代謝産物の探索
京都大学大学院 農学研究科	シロイヌナズナの炭疽病菌に対する感染応答遺伝子の探索
名古屋大学大学院 農学研究科	ムギ類赤かび病菌の病原性因子の機能解析
京都府立大学 生命環境科学研究科	植物病原糸状菌感染における植物の基本的抵抗性発現機構の解明
千葉大学大学院 融合科学研究科	植物 RNA サイレンシングの研究
岡山大学 資源植物科学研究所	シロイヌナズナで解明された赤かび病抵抗性遺伝子のオオムギへの応用展開
	シロイヌナズナの遺伝子発現における転写調節機構の解明
石川県立大学	いもち病菌の感染に対するイネ応答の分子機構の解明
富山大学大学院 地球生命環境科学専攻	シロイヌナズナの生活環における重力の影響の解明
日環科学(株)	好熱菌発酵産物の経口投与が齧歯類の消化器系の遺伝子発現に与える影響評価
基礎生物学研究所	ヒメツリガネゴケの転写産物解析・遺伝学的地図の作成
	フクロユキノシタのゲノム解読
	1分子シーケンサーのデータ解析
農業生物資源研究所	ネムリユスリカのゲノム解析
神戸大学	陸上植物の系統解析, シャジクモのゲノム解析
東京大学	ピロリ菌のメチローム解析
遺伝学研究所	シャジクモの RNA-seq 解析
日本女子大学	ヒメミカヅキモのゲノム解析
国立科学博物館・日本女子大学・大阪市立大学	カワゴケソウ科植物の RNA-seq による進化解析

国外

相手機関	研究課題
ボン大学	光形態形成における包括的な遺伝子発現解析
リーズ大学, フライブルグ大学	ヒメツリガネゴケの詳細な遺伝学的地図の作成
フライブルグ大学	単一細胞トランスクリプトーム解析法の開発
ザルツブルグ大学	シャジクモ ARA6 ホモログの解析
チューリヒ大学	フタバガキ科植物のゲノム解析

#### 4) 研究費

- (1) 西内 巧 (代表), 文科省科研費, 基盤研究 C, 「植物の病害抵抗性を制御する新規 MAPK カスケードの確立と防除技術への応用展開」, 1,000 千円
- (2) 西内 巧 (代表), 受託研究 (A-Step 探索タイプ・科学技術振興機構), 「分解酵素を用いた植物のカビ毒汚染低減化のための基盤技術の開発」, 1,700 千円
- (3) 西内 巧 (分担), 受託研究 (農水次世代ゲノム基盤プロジェクト), 「オオムギ赤かび病抵抗性遺伝子の単離と機能解明」, 2,000 千円
- (4) 西内 巧 (代表), 共同研究 (株)日環科学, 「好熱性微生物及び発酵産物が植物の免疫活性等に与える遺伝学的影響評価」, 420 千円
- (5) 西内 巧 (代表), 共同研究 (株)フローラ, 「天然植物活力液の作用機構の解析」, 5,000 千円
- (6) 西山智明 (代表), 文部省科学研究費, 新学術領域研究「複合適応形質進化」, 「非モデル生物におけるゲノム解析法の確立」, 17,400 千円
- (7) 西山智明 (代表), 文部省科学研究費, 挑戦的萌芽研究, 「次世代シーケンサーを用いた系統解析の革新」, 1,500 千円
- (8) 西山智明 (分担), 文部省科学研究費新学術領域研究「複合適応形質進化」, 「複合適応形質進化の遺伝子基盤解明」(総括班), 400 千円
- (9) 西山智明 (代表), 文科省科学研究費, 基盤研究 B, 「シャジクモ概要ゲノムの解読と遺伝学的地図の同時構築による陸上植物進化の解明」, 3,900 千円
- (10) 西山智明 (分担), 文科省科学研究費, 基盤研究 C, 「シダ類の頂端細胞型シュートを形成する遺伝子の機能解析」, 350 千円
- (11) 西山智明 (分担), 文科省科学研究費基盤研究 C, 「シャジクモ藻類のゲノムから探る植物多細胞体制の起源と進化過程」, 350 千円
- (12) 西山智明 (分担), 文科省科学研究費 挑戦的萌芽萌芽研究, 「単細胞生物から多細胞生物への進化における鍵因子の探索」, 100 千円
- (13) 堀家慎一 (代表), 文科省科学研究費, 基盤研究 C, 「神経細胞特異的なクロマチンダイナミクスを司る分子の同定」, 1,600 千円
- (14) 堀家慎一 (代表), 文科省科学研究費, 新学術領域研究「非コード RNA」, 公募研究「インプリント長鎖非コード RNA の核内動態とクロマチンダイナミクスの解析」, 3,900 千円

- (15) 堀家慎一（代表），財団法人 ノバルティス科学振興財団 研究奨励金，「高次な精神発達制御を司るゲノムインプリンティング遺伝子の生物学的意義と機能の解明」，1,000 千円
- (16) 堀家慎一（代表），財団法人 先進医薬研究振興財団 精神薬療分野 一般研究助成，「オキシトシンレセプターのエピゲノム異常と自閉症～胎児期ビスフェノール A 暴露の影響の検討～」，1,000 千円
- (17) 堀家慎一（代表），財団法人 パブリックヘルスリサーチセンター 科学研究助成金，「胎生期のビスフェノール A 暴露に伴うオキシトシンレセプターのエピゲノム異常と自閉症」，1,000 千円
- (18) 堀家慎一（代表），共同研究 石川県，「ウシ体外受精胚の遺伝子レベルでの品質評価」，420 千円
- (19) 堀家慎一（代表），受託事業 日本学術振興会，研究成果の社会還元・普及事業「命をつなぐ染色体～遺伝子の運び屋である染色体を観察しよう～」，394 千円
- (20) 堀家慎一（分担），厚生労働科学研究費，障害者対策総合研究事業（神経・筋疾患分野），「レット症候群の早期診断と治療を目指した統合的研究」，1,000 千円

## 5) 特許

- (1) 西内 巧，浅野智哉，高原浩之，「カビ毒低減機能を有する植物の作成方法とその利用」特願 2014-012581，出願日平成 26 年 1 月 27 日

## 2. 教育活動

### 1) 大学院教育

#### 授業科目

大学院自然科学研究科生命科学専攻（後期課程）：

「ゲノム機能学」，「植物分子生物学」（西内巧）

大学院医薬保健学総合研究科（後期課程）：

「遺伝子工学基礎技術コース」（西内巧，堀家慎一，西山智明）

大学院自然科学研究科生物科学専攻（前期課程）：「環境生命システム学」（分担，西内巧）

医薬保健学総合研究科修士課程：「動物実験学演習」（分担，堀家慎一）

大阪大学・金沢大学・浜松医科大学・千葉大学・福井大学連合小児発達学研究科：

「運動生体管理学」（分担，堀家慎一），「協調運動障害特論」（分担，堀家慎一）

医薬保健学総合研究科博士課程：「遺伝子改変動物学特論」（分担，堀家慎一）

#### 主任指導

大学院自然科学研究科生命科学専攻（後期課程）1 名（西内巧）



## 2) 学類教育

理工研究域自然システム学系「生理学1」(分担, 西内巧)

福井県立大学「生物学1」(分担, 西内巧)

共通教育科目 生物学実験(分担, 西内巧, 西山智明)

共通教育科目前期「遺伝子・ゲノム・神経・時間・生命～生命科学最前線～」

(分担, 堀家慎一)

医学類3年後期「基礎配属」2名受入(堀家慎一)

## 3) 講習会・説明会・実習等

第23回生命工学トレーニングコース「遺伝子工学・基礎技術」

参加者学内20名

講習会・セミナー

年月日	内容	参加人数	担当
平成25年5月29日	マイクロアレイ解析ソフト(GeneSpring) ハンズオントレーニング	12	西内
平成25年5月29日	マイクロアレイ解析ソフト(GeneSpring 及びIPA)ランチョンセミナー	22	西内
平成25年12月24,25日	マイクロアレイ解析(個別対応)	2	西内
平成26年1月22日	マイクロアレイ解析ソフト(IPA) ハンズオントレーニング	18	西内
平成26年2月24日	バイオインフォマティクスセミナー トランスクリプトームデータ解析	52	西山
平成26年3月5-6日	マイクロアレイ解析(トレーニング)	7	西内

## 【トレーサー情報解析分野】

### 1. 研究活動

#### 1-1 研究概要

トレーサー情報解析分野では、人の一生の間に起こりうるアルツハイマー病や広汎性発達障害（自閉症スペクトラム等）、ストレスが関係している可能性の高い精神機能疾患（うつ病、パニック障害、PTSD等）などの高次脳機能疾患のメカニズムに基づいた神経機能変化を可視化することにより、それらの早期診断法や重症度診断さらに、治療効果判定法の確立を目指した研究を行っている。また、癌の特徴的分子機構に基づく変化を可視化することにより、癌に対する薬剤の感受性の予測（標的分子の発現の有無）や治療効果早期判定が可能な分子イメージング剤の開発を目指している。さらに、我々が開発した放射性分子イメージング剤を利用した共同研究を進めている。平成25年度の成果を以下に記載する。

#### 1) コリン作動性神経系の可視化によるアルツハイマー病の早期診断

アルツハイマー病の早期診断として $^{11}\text{C}$ PIBのようなアミロイドイメージング剤の臨床研究が行われているが、早期診断に有用であるという報告が多くあるが、認知症状と画像集積の相関が低いことや、老人斑（アミロイド）の減少が認知症状の改善に繋がらないという報告などもあり、治療効果判定としては不向きであると思われる。そこで、我々は記憶・記憶及び認知機能に深く関わっているコリン作動性神経系に着目し、アルツハイマー病で見られるコリン作動性神経系の機能低下を可視化するイメージング剤の開発を行ってきた。昨年までに、前シナプスに存在する小胞アセチルコリントランスポーター（VACHT）のイメージング剤として vesamicol を基本構造とする類縁体である *o*- $^{125}\text{I}$ iodo-*trans*-decalinvesamicol ( $^{125}\text{I}$ OIDV)がインビトロだけでなくインビボにおいても脳内の VACHT に選択的に集積していることがインビボ阻害実験及び *ex vivo* オートラジオグラフィ実験により、確認している。また、高い VACHT 親和性を有する Vesamicol 類は光学活性体である(-)体が VACHT に対して非常に高い親和性かつ高い選択性を有することが知られている。そこで、本年度は、光学活性体である(-)-OIDV を放射性ヨウ素標識し、*in vitro* 及び *in vivo* 実験により、VACHT イメージング剤としての評価を行った。まず、キラルカラムを用いた HPLC により OIDV の光学異性体分離を行い、X線結晶構造解析により、絶対構造を決定し、比旋光度測定により旋光性((+),(-))を決定した。*in vitro* 薬物阻害実験により、光学異性体である(-)-OIDV, (+)-OIDV の VACHT 親和性を調べた。その結果、(-)-OIDV は(+)-OIDV より優れた VACHT 親和性・選択性を示すと共に、*in vivo* においても、(+)-OIDV より、高い脳集積性及び蓄積性を示した。さらに、臨床応用されている  $^{123}\text{I}$  で標識した(-)- $^{123}\text{I}$ OIDV の標識にも成功し、同様の結果が得られた。今後、小動物用 SPECT-CT による撮像を行う予定である。

また、PET 用 VACHT イメージング剤として *o*- $^{11}\text{C}$ methyl-*trans*-decalinvesamicol ( $^{11}\text{C}$ OMDV)

についても、現在同様に、光学分割を行っているところである。

## 2) 自閉症の発症の原因探索及び早期診断・治療法の開発研究

自閉症はコミュニケーション障害や固執した反復的・常同的行動様式等の症状を呈する先天性の脳の機能障害と考えられており、知的障害を伴うものや伴わないもの等、その症状の程度はさまざまであることから自閉症スペクトラムや広汎性発達障害とも呼ばれている。この障害には高い遺伝性が認められるが、未だ原因遺伝子の解明には至っていない。一方、これまでに、自閉症患者においてセロトニントランスポーター (SERT) に有意な変化があることが報告されている。我々は PET を用いた分子イメージング手法により、非侵襲的に脳内の神経化学的变化を画像化することで、自閉症の早期診断並びに重症度診断が可能になると考えている。

本年度は昨年度と同様、自閉症モデルマウスと野生型マウスにセロトニントランスポーターイメージング剤である [<sup>11</sup>C]DASB を投与し、小動物用 PET-CT を用いて、脳内動態をダイナミックスキキャンにて同時に撮像して、自閉症モデルマウスと野生型マウスの脳内動態のデータを蓄積することにした。現在のところ、自閉症モデルマウスの個体差の影響はまだ大きく、さらに、撮像の工夫や数多くのデータを収集していく必要があると考えられた。また、自閉症モデルマウスの実際の行動解析を行うと共に、自閉症モデルマウスの環境による因子も症状に影響を与える可能性が高いことから、環境の違いによる変化も調べていくことが重要であると思われる。

## 3) がんの早期診断を目的とした $\sigma$ -2 受容体イメージング研究

現在、がん (悪性腫瘍) は日本で死因の約 3 割を占めており、団塊世代に代表される高齢者の増加は、今後、がん罹患率の増加につながると予想されている。がん克服には早期発見・早期治療が極めて重要であり、PET や SPECT を用いた画像診断法は、体への負担が少なく (非侵襲的)、小さな早期がん細胞でも見つけることが出来る。一方、シグマ ( $\sigma$ )-2 受容体は、乳がんや膵がんなど多種の固形腫瘍細胞において発現が見られ、特に増殖期では静止期と比べ、最大 10 倍の  $\sigma$ -2 受容体が過剰発現していることが明らかにされている。即ち、 $\sigma$ -2 受容体は増殖期の固形腫瘍細胞の重要なバイオマーカーであり、 $\sigma$ -2 受容体イメージングは、がんの早期発見や増殖能診断に有効な手段となる可能性を意味している。

Vesamicol は、 $\sigma$  受容体と VACHT に親和性を有することが知られている。今年度、我々は vesamicol 類縁体 *p*-iodo-*trans*-decalinvesamicol (PIDV) を新規に合成し、*in vitro* スクリーニングにおいて、PIDV が  $\sigma$ -2 受容体に対して高い親和性と選択性を示すことを明らかにした。ヒト乳がん由来の細胞 MCF-7 (Michigan Cancer Foundation-7) は  $\sigma$ -2 受容体を多く発現していることが知られている。そこで、[<sup>125</sup>I]PIDV と培養した MCF-7 を用いて *in vitro* 薬物細胞内取込実験を行い、PIDV の高い  $\sigma$ -2 受容体親和性と選択性を確認した。現在、*in vivo* 実験による PIDV の更なる評価と、PIDV をリード化合物とする新規化合物の開発研究を行っている。

## 1-2 研究成果リスト

### 1) 学術論文

- (1) Ogawa K, Kanbara H, Kiyono Y, Kitamura Y, Kiwada T, Kozaka T, Kitamura M, Mori T, Shiba K, Odani A. Development and evaluation of a radiobromine-labeled sigma ligand for tumor imaging. *Nuclear Medicine and Biology* 2013, 40(4), 445-450. May.
- (2) Kadowaki S., Munekane M., Kitamura Y., Hiromura M., Kamino S., Yoshikawa Y., Saji H., Enomoto S., Development of new zinc dithiosemicarbazone complex for use as oral antidiabetic agent. *Biological Trace Element Research*, 2013, 154, 111-119. July.
- (3) Shiba K, Kitamura Y, Kozaka T, Uno I, Shimizu K, Masumoto K, Hirota M, Higaki S, Miyoshi H, Saze T, Sakama M, Yanaga M. Decontamination of radioactivity from contaminated vegetables derived from the Fukushima nuclear accident. *Radiation Measurement*, 2013, 55, 26-29. August.
- (4) Ogawa K, Ohtsuki K, Shibata T, Aoki M, Nakayama M, Kitamura Y, Ono M, Ueda M, Doue T, Onoguchi M, Shiba K, Odani A. Development and evaluation of a novel <sup>99m</sup>Tc-labeled annexin A5 for early detection of response to chemotherapy. *PLoS ONE* 2013 Dec 4;8(12):e81191.
- (5) Ogawa K, Ishizuka A, Takai K, Kitamura Y, Kiwada T, Shiba K, Odani A. Development of novel radiogallium-labeled bone imaging agents using oligo-aspartic acid peptides as carriers *PLoS ONE* 2013 Dec 31;8(12):e84335.
- (6) Kozaka T, Uno I, Kitamura Y, Miwa D, Azim MA, Ogawa K, Shiba K. Regional brain imaging of vesicular acetylcholine transporter (VAcHT) using *o*-[<sup>125</sup>I]iodo-*trans*-decalinvesamicol as a new potential imaging probe. *Synapse*. 2014, 68, 107-113. March
- (7) Oshima N., Akizawa H., Zhao S., Zhao Y., Nishijima K., Kitamura Y., Arano Y., Kuge Y. and Ohkura K., Design, synthesis and biological evaluation of negatively charged <sup>111</sup>In-DTPA-octreotide derivatives. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 2014, 22, 1377-1382, March.

### 2) 著書

- (1) 柴 和弘, 核医学テキスト (絹谷清剛 編集) (分担執筆) 放射性医薬品 15-23頁 2013; 4.15(発行) 中外医学社 東京

### 3) 学術発表

- (1) 北村陽二, 小川数馬, 小阪孝史, Mohammad Anwar-Ul Azim, 鵜野いずみ, 三輪大輔, 中島美由紀, 御船正樹, 斎藤寛, 榎本秀一, 柴 和弘. <sup>111</sup>In 標識八臭素化ポルフィリン誘導体の腫瘍診断薬としての検討. 第8回日本分子イメージング学会学術集会 (横浜赤レンガ倉庫1号館, 横浜市) 2013年5月30~31日
- (2) Mohammad Anwar-Ul Azim, 小阪孝史, 鵜野いずみ, 三輪大輔, 北村陽二, 小川数馬, 絹谷清剛, 川井恵一, 柴 和弘. Syntheses and in vitro evaluation of OBBV as a potential  $\sigma$ -1 receptor imaging probe. 第8回日本分子イメージング学会学術集会 (横浜赤レンガ倉庫1号館, 横浜市) 2013年5月30~31日

- (3) 水谷明日香, 西 弘大, 小林正和, 松成一朗, 宮崎吉春, 柴 和弘, 川井恵一. 小動物用 SPECT-CT 装置におけるラット用高感度ピンホールコリメータの開発. 第8回日本分子イメージング学会 学術集会 (横浜赤レンガ倉庫1号館, 横浜市) 2013年5月30~31日
- (4) 西 弘大, 水谷明日香, 小林正和, 松成一朗, 宮崎吉春, 柴 和弘, 川井恵一. マウス用超高分解能ピンホールコリメータの性能評価とマウス脳 SPECT イメージング. 第8回日本分子イメージング学会学術集会 (横浜赤レンガ倉庫1号館, 横浜市) 2013年5月30~31日
- (5) Kozaka T, Miwa D, Uno I, Kitamura Y, Azim MA, Ogawa K, Kinuya S, Kawai K, Shiba K. The development of potential vesicular acetylcholine transporter (VACHT) PET imaging probes. 2013 SNMMI 60th annual meeting. June 8-12, 2013, Vancouver Convention Centre, Vancouver, BC, Canada
- (6) Uno I, Kozaka T, Kitamura Y, Miwa D, Azim MA, Ogawa K, Kawai K, Taki J, Kinuya S, Shiba K. In vivo evaluation of radioiodinated *o*-iodo-*trans*-decalinvesamicol (OIDV) as a vesicular acetylcholine transporter (VACHT) imaging agent. 2013 SNMMI 60th annual meeting. June 8-12, 2013, Vancouver Convention Centre, Vancouver, BC, Canada.
- (7) Wakabayashi H, Taki J, Inaki A, Shiba K, Kinuya S. Early prediction of myocardial remodeling by Tc-99m Annexin-V uptake in a rat model of myocardial ischemia and reperfusion. 2013 SNMMI 60th annual meeting. June 8-12, 2013, Vancouver Convention Centre, Vancouver, BC, Canada.
- (8) Wakabayashi H, Inaki A, Blankenberg F, Taki J, Matsunari I, Shiba K, Kinuya S. Correlation between Tc-99m-Annexin-V and left ventricular remodeling in rats with ischemia and reperfusion. 2013 SNMMI 60th annual meeting. June 8-12, 2013, Vancouver Convention Centre, Vancouver, BC, Canada.
- (9) Nishi K, Kobayashi M, Matsunari I, Miyazaki Y, Shiba K, Kawai K, Kinuya S. Development of ultra-high-resolution pinhole collimator for small animal SPECT with CZT detector. 2013 SNMMI 60th annual meeting. June 8-12, 2013, Vancouver Convention Centre, Vancouver, BC, Canada.
- (10) Yoji Kitamura, Kazuma Ogawa, Takashi Kozaka, Mohammad A. Azim, Izumi Uno, Daisuke Miwa, Narumi Nishimura, Kaname Hatakenaka, Miyuki Nakashima, Masaki Mifune, Yutaka Saito, Shuichi Enomoto, and Kazuhiro Shiba : In vivo evaluation of radiomeal-octabromoporphyrin complex as a tumor imaging agent, 第 23 回金属の関与する生体関連反応シンポジウム SRM2013(武蔵野大学, 東京都), 2013 年 6 月 28 日
- (11) 鵜野いずみ, 小阪孝史, 三輪大輔, 北村陽二, Mohammad Anwar-ul Azim, 小川数馬, 川井恵一, 柴 和弘. VACHT イメージング用<sup>125</sup>I]OIDV のジアステレオマー分離と in vivo 脳内動態変化. 第11回次世代を担う若手のためのフィジカル・ファーマフォーラム, 清水テルサおよび三保園ホテル(静岡市), 2013年8月29~30日
- (12) 三輪大輔, 小阪孝史, 鵜野いずみ, 北村陽二, Mohammad Anwar-ul Azim, 河村和紀, 小川数馬, 川井恵一, 柴 和弘. 脳内小胞アセチルコリントランスポーター (VACHT) の PET イメージングプローブ<sup>11</sup>C]OMDV の開発. 第11回次世代を担う若手のためのフィジカル・ファーマフォーラム, 清水テルサおよび三保園ホテル (静岡市), 2013年8月29~30日
- (13) 滝 淳一, 若林大志, 稲木杏史, 柴 和弘, 松成一朗, 絹谷清剛. 心筋アポトーシスと虚血再灌流後の左室リモデリングの関係 Tc-99m-annexin V イメージングによる検討. 第53回日本核医学会学術総会, 福岡国際会議場 (福岡), 2013年11月8-10日

- (14) 西 弘大, 水谷明日香, 小林正和, 高橋浩太郎, 宮崎吉春, 松成一朗, 柴 和弘, 川井恵一.  
小動物 PET-CT 装置を用いた複数同時撮像における X線 C T 現弱補正法の基礎的検討. 第53回  
日本核医学会学術総会, 福岡国際会議場 (福岡), 2013年11月8-10日
- (15) 水谷明日香, 西 弘大, 小林正和, 宮崎吉春, 松成一朗, 柴 和弘, 川井恵一. 小動物 SPECT-CT  
装置における超高感度ピンホールコリメータの開発と評価. 第53回日本核医学会学術総会, 福  
岡国際会議場 (福岡), 2013年11月8-10日
- (16) 北村陽二, 小阪孝史, 鶴野いずみ, 三輪大輔, Mohammad Anwar-Ul Azim, 柴 和弘. 鉛イン  
ソールの土壤中 Cs-137に対するしゃへい効果の検討. 日本放射線管理学会 第12回学術大会 北  
海道大学, 学術交流会館 (札幌), 2013年12月27日~29日
- (17) Mohammad Anwar-Ul Azim, 小阪孝史, 鶴野いずみ, 三輪大輔, 北村陽二, 小川数馬, 川井  
恵一, 清野 泰, 柴 和弘. *In vivo* evaluation of radiobromine-labeled *o*-bromo-*trans*-decalinvesamicol  
(OBDV) as a potential VAcHT imaging probe. 第13回放射性医薬品・画像診断薬研究会 京都ガー  
デンパレス (京都), 2013年12月14日
- (18) Mohammad Anwar-Ul Azim, Takashi Kozaka, Izumi Uno, Daisuke Miwa, Yoji Kitamura, Kazuma  
Ogawa, Keiichi Kawai, Akira Makino, Yasushi Kiyono, Kazuhiro Shiba. Evaluation of radiolabeled  
*o*-bromo-decalinvesamicol (OBDV) as a PET ligand for the Vesicular Acetylcholine Transporter  
(VAcHT). International Workshop on Molecular Functional Imaging for Brain and Gynecologic  
Oncology. ユアーズホテルフクイ (福井), 2014年3月3-4日
- (19) Azim M. A., Kozaka T, Uno I, Miwa D, Kitamura Y, Ogawa K, Kawai K, Kiyono Y, Shiba K.  
[<sup>77</sup>Br]OBDV revealed the potentiality of [<sup>76</sup>Br]OBDV as a new VAcHT PET imaging probe for the  
early diagnosis of AD. 日本薬学会第134年会 ホテル日航熊本 (熊本), 2014年3月27日~30日
- (20) 北村 陽二. 生理活性放射性金属キレート化合物. 日本薬学会 第134年会 シンポジウム  
Metal-based Drugs 研究の新展開 (熊本大学, 熊本県), 2014年3月28日.

#### 4) 研究交流 (共同研究)

学内

相手 部 局	研 究 課 題
医学系・バイオトレーサー診療学	心筋間質の病態変化の画像化
保健学系・量子医療技術学	ストレス性精神疾患の進行・治療指針予測用 分子イメージング法の開発
薬学系・臨床分析学 医薬保健学総合研究科 ・バイオトレーサー診療学	核医学癌診断・放射線内用療法を目的とした RI 標識シグマリガンドの評価
薬学系・臨床分析学	抗体の新規レニウム標識法の開発研究
保健学系・量子医療技術学	脳神経機能分子イメージング剤の開発研究

国内

相手機関	研究課題
放射線医学総合研究所	アセチルコリントランスポーターイメージング剤のポジトロン標識合成研究
理化学研究所	分子イメージングプローブの開発
千葉大学	新規ペプチド放射性医薬品の開発
北海道医療大学	腎集積を低減したペプチド放射性医薬品の開発
京都大学	新規画像診断薬としてのポルフィリン誘導体の開発
岡山大学	糖尿病治療薬としての新規ジチオセミカルバゾン誘導体の開発

## 5) 研究費

- (1) 柴 和弘 (代表), 文部省科学研究費 基盤研究(C): アルツハイマー病の早期診断を目的としたコリントランスポーターイメージング剤の開発, 1,100 千円
- (2) 柴 和弘 (分担), 文部省科学研究費 基盤研究(C): 虚血心筋障害, リモデリングにおける心筋間質の病態と血管新生の画像化に関する研究, 100 千円
- (3) 柴 和弘 (代表), 受託研究費: 脳神経機能疾患などの発症前診断及び治療効果判定用 PET 分子イメージングの高度化研究, 11,700 千円
- (4) 北村 陽二 (代表), 科学研究費補助金 若手研究 (B): 放射性金属-八臭素化ポルフィリンを用いた新規核医学診断・治療薬剤の開発と応用, 1,200 千円
- (5) 北村 陽二 (分担), 厚生労働科研費 (食品の安全確保推進): 食品添加物の規格の向上と使用実態の把握等に関する研究, 1,000 千円
- (6) 北村 陽二 (分担), 科学研究費補助金 基盤研究 (C): アルツハイマー病の早期診断を目的としたコリントランスポーターイメージング剤の開発, 100 千円
- (7) 小阪孝史 (代表), 科学研究費補助金 若手研究 (B): 脳内  $\sigma-1$  受容体イメージングによる老化及びストレス性疾患の客観的評価に関する研究 1,100 千円
- (8) 小阪孝史 (分担), 科学研究費補助金 基盤研究 (C): アルツハイマー病の早期診断を目的としたコリントランスポーターイメージング剤の開発, 100 千円

## 2. 教育活動

### 1) 大学院教育

授業科目

- 連合大学院小児発達学研究所: 行動・情動神経科学 (小児発達学専攻)  
 認知行動生物学演習 (小児発達学専攻)  
 機能画像解析学 (小児発達学専攻 分担)

大学院医薬保健学総合研究科：学際医学セミナー

トレーサー実験法，トレーサー実験法実習（初期総合プログラム）

大学院自然科学研究科（後期課程）：放射活性物質機能解析学（生命科学専攻）

放射活性物質情報解析学（生命科学専攻）

病態生理機能解析学（生命科学専攻）

生体機能分子解析学（生命科学専攻）

修士論文指導

「小胞アセチルコリントランスポーター(VAChT)イメージング剤 OIDV の立体異性体による影響に関する研究」 鵜野 いずみ（医薬保健学総合研究科保健学専攻）

## 2) 学類教育

授業科目

臨床化学特論（医薬保健学域保健学類 分担）

放射性同位元素検査技術学演習（医薬保健学域保健学類 分担）

放射線衛生管理学実験（医薬保健学域保健学類 分担）

卒業論文指導

「VAChT イメージング剤としての OIDV の BBB 透過性向上の検討」

畠中香奈芽（保健学類検査技術科学専攻）

「自閉症モデルマウスにおける脳内セロトニントランスポーターの分布の検討」

西村 成美（保健学類検査技術科学専攻）

## 3) 共通教育

授業科目

放射能・放射線と人間（総合科目，分担）

## 4) 新規・継続登録者安全講習会

新規登録者安全講習会 12回（詳細は「IV 研究施設の活動状況」を参照）

継続登録者安全講習会 10回（詳細は「IV 研究施設の活動状況」を参照）

## 5) R I 取扱基礎講習会

R I 取扱基礎講習会（実習）4回（詳細は「IV 研究施設の活動状況」を参照）



## 【機器分析分野】

### 1. 研究活動

#### 1-1 研究概要

ラジカルC-C結合形成反応は、種々の有機化合物を合成するうえで非常に有用な反応である。しかし、ラジカルという化学種は非常に反応性が高く、通常のイオニックな反応では困難な箇所に新しく化学結合を形成できるといった利点がある反面、その反応性の高さ故に反応の制御が難しいといった問題が依然として残されている。また、これまでラジカル反応剤として、毒性が強く反応後の除去が困難な有機スズ化合物が汎用されてきたことも大きな問題である。我々は、ラジカルC-C結合形成反応におけるこれら2つの問題点の解決を目指して、各種ラジカル発生法の中から一電子酸化によるラジカル発生法に着目し、これを用いた新規ラジカルC-C結合形成反応の開発研究を行っている。

#### 1) セリウム触媒と酸素を用いた酸化的ラジカルC-C結合形成反応の開発研究

酸化的ラジカルC-C結合形成反応に用いられる一電子酸化剤として、 $\text{Mn}(\text{OAc})_3$ やCAN(硝酸二アンモニウムセリウム)をはじめとする各種金属酸化剤が知られているが、いずれも目的の反応を行うためには化学量論量(通常は2当量)を必要とすることから、環境及びコスト面での課題の解決が望まれている。我々は、比較的低毒性で安価であるCe触媒と、酸化剤としてコスト面や環境面で理想的な酸素(空気)とを組み合わせた新規な酸化的ラジカルC-C結合形成反応の開発研究を行っている。

一般に、Ce(III/IV)レドックス対の標準酸化還元電位が大きいこと(  $E^0 = 1.61 \text{ V}$  ), Ce(IV)の一電子酸化力は強く、古くから合成化学に用いられているCANも非常に強い酸化剤である。そのイメージから、反応の触媒化に必要なCeの3価から4価への再酸化には強い再酸化剤が必要であると錯覚しやすいが、CANほどの強い酸化力を求めなければ酸素でも十分に再酸化が可能である。実際、Ce(III/IV)レドックス対の酸化還元電位は、周りの環境(キレーションやpHなど)の影響を受けやすく、適切な配位子がキレーションした状態や高pH条件下では酸化還元電位が低下し、酸素(空気)によって3価から4価への速やかな酸化が起こることが知られている。このことは、用いる配位子の構造やpH条件をうまく設定することで、Ce触媒の活性(4価の酸化力と3価からの再生力)がチューニング可能であることを示唆している。

このような考えのもと、触媒として酢酸セリウム(III)、キレーション配位子としてジエタノールアミン、酸化剤として酸素を用いて*N*-ヒドロキシカルバメートを反応させたところ、ニトロソカルバメートが生成し、反応系内にあらかじめ1,3-ジエンを共存させた場合にはニトロソDiels-Alder反応が進行することが明らかとなった。銅触媒と酸素を用いた同様の反応が、別グループによって最近報告されているが、より無害なCe触媒を使用できることが確認できたため、更

なる収率の改善，反応速度の向上，用いる触媒の低減化について検討中である。

## 2) 銅(II)反応剤を用いた 1,3-ジカルボニル化合物とアリルシラン類の酸化的カップリング反応に関する研究

先に述べたように，酸化的ラジカル C-C 結合形成反応に用いられる一電子酸化剤として，Mn(III)や Ce(IV)などの金属酸化剤が知られており，Cu(II)反応剤もそのような酸化剤の一つである。しかし，これまで Cu(II)は，Mn(III)や Ce(IV)を用いる反応において補助役として共存させる形で用いられ，反応の収率向上に重要な役割を果たすことが多いものの，Cu(II)反応剤単独で可能な酸化的ラジカル C-C 結合形成反応はほとんど報告されていなかった。

そこで我々は，Cu(II)のカチオン性を高めて反応性を向上させれば，Cu(II)反応剤のみでも Mn(III)や Ce(IV)と同様の反応が可能になるものと考え，研究を行っている。

1,3-ジカルボニル化合物とアリルシランを Ce(IV)や V(V)で処理すると，1,3-ジカルボニル化合物の活性メチレンやメチン炭素上でアリル化が進行することが知られていることから，同様の反応を Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>・3H<sub>2</sub>O のみを用いて検討したところ，低収率ではあるものの，反応が進行することが確認できた。種々の Cu(II)反応剤を用いて更に検討した結果，Cu(BF<sub>4</sub>)<sub>2</sub>の無水物が他のものに比べて格段に良い結果を与え，反応溶媒はアセトニトリルが最適であることを見出した。また，調製が難しく，再現性に課題があった Cu(BF<sub>4</sub>)<sub>2</sub>の無水物の調製法に改良を加え，短時間で再現性良く調製することを可能にした。この手法で調製した Cu(BF<sub>4</sub>)<sub>2</sub>を用いた場合，1,3-ジカルボニル化合物のアリル化反応の収率が更に向上することが判明した。

## 2. 教育活動

### 1) 大学院教育

授業科目

大学院有機化学 V (医薬保健学総合研究科創薬科学専攻・博士前期課程 2 年)

### 2) 学類教育

授業科目

有機化学 IV (医薬保健学域・薬学類／創薬科学類 2 年，必修)

有機化学演習 IV (医薬保健学域・薬学類／創薬科学類 2 年，必修)

有機機器分析 (医薬保健学域・薬学類／創薬科学類 3 年，薬学類必修，創薬科学類選択)

有機化合物の扱い方を学ぶ (医薬保健学域・薬学類／創薬科学類 2 年，必修，分担)

卒業論文指導

「Cu(II)反応剤を用いた 1,3-ジカルボニル化合物とアリルシラン類の酸化的カップリング反応」

鈴木康祐 (医薬保健学域・創薬科学類)