

植物細胞の分裂と分化 の研究

コインの裏と表か？

1. 葉の発生分化・形作り
2. 細胞質分裂の制御

名古屋大学大学院理学研究科
生命理学専攻 形態統御学講座
植物発生学
町田 泰則

新入生の講義の前に話したこと

1. 大学の先生：

高校までの先生は、県や市の採用試験に合格する必要がある。しかし、大学の先生にはそのような試験がない。大学では無資格の人が講義をしていますと言うと、学生は皆驚く！

では、どうやって大学の先生になったのでしょうか？と質問すると、だれも知らない。

我々の生命理学科では、研究が出来る人を選んでいる。世界レベルで著名な研究をした人、あるいはする可能性があると思じた人がなっている。

2. 大学の講義：

研究の現場にいる人が直接教えるのが大学の講義。また、学生が興味を持てば、すぐに研究の最前線に立つこともできる。教科書は用いずに独自の資料を作る人もいるし、同じ教科書を使用しても、人により異なる講義をする。そこに、大学の特徴がある。

4. 日本人（3つ）：日本語を話す；日本列島の周辺に住む；コメを食べる

HYMARP

1. 分子生物学研究施設

- * 千葉大学理学部生物学科入学当初は発生学を志望.
- * しかし、卒研では大腸菌の細胞分裂の研究をしていた松本信二先生（物理出身）のもとに.
- * 1973: 大学院では、**DNAの複製**の研究を希望し、**名古屋大学の分子生物学研究施設**、**岡崎令治先生**のもとに. その後、**恒子先生**.
この時、令治先生が、学生一院生時代には、オーガナザーの研究をやりきって（でも時代が早すぎた）、それから、DNAの複製の道に入られた。
研究はシャープに！ここは、不連続複製を研究するところです！
（しかし、）一つの研究をずーっとやれば良いというものではない！

岡崎令治先生



下村脩先生と一緒に



氷川丸デッキにて

論文

Proc. Natl. Acad. Sci. USA
Vol. 74, No. 7, pp. 2776-2779, July 1977
Biochemistry

リーディング ストランドも不連続的だ！

Discontinuous replication of replicative form DNA from bacteriophage ϕ X174

(nascent short pieces of both strands/RNA-linked DNA pieces/rolling circle mechanism)

YASUNORI MACHIDA, TUNEKO OKAZAKI, AND REIJI OKAZAKI*

Institute of Molecular Biology, Faculty of Science, Nagoya University, Nagoya, Japan 464

Communicated by Jerard Hurwitz, April 29, 1977

Volume 9 Number 18 1981

Nucleic Acids Research

反論の論文

Characterization of nascent DNA fragments produced by excision of uracil residues in DNA

Yasunori Machida^{1*}, Tuneoko Okazaki^{1**}, Tetsuo Miyake², Eiko Ohtsuka² and Morio Ikehara²

¹Institute of Molecular Biology, Faculty of Science, Nagoya University, Nagoya, Japan 464, and

²Faculty of Pharmaceutical Sciences, Osaka University, Osaka, Japan 565

Received 11 May 1981

岡崎令治先生逝去後の岡崎研究室のメンバー



藤山秋佐夫 玉野井冬彦 黒沢良和

篠崎一雄 関哲則 依田欣哉 町田泰則

小川徹 小原雄治

岡崎恒子先生

平野みえ

広瀬進

2. 1979年: Microbiology Medical School at **Stony Brook, NY** の **Professor Ohtsubo** のところで **DNA transposition** の研究

* DNA 複製(ゲノム安定性)から、DNA 組換え(ゲノム変化・変貌)の研究へ

相同組換えとTransposition :

<小川英行先生の集中講義1976年頃>

町田Q : Transposition て、こっちにあったDNA があっちに動いていくと
言うことですか？そんなことって理解できませんが、あるんでしょうか？

小川A : そうです。でも、とても不思議ですね、私にも何なのかわかりませ
ん。 **当時の組換えの専門家も知らないことだった！**

このようなことがあって、Ohstubo さんのところへ行くことにした。しかし、
実際には、まったく理詰めで決めたわけではなかった。

**Original の材料が大事です！ Sequence gel の写真を現像して、読まない
で帰る学生がいるんです、信じられない！ 病気には医者に行ってもー。**

朝倉 昌先生

大坪栄一 中村研三 鮎子 研三さん定年退任



2011

論文

Proc. Natl. Acad. Sci. USA
Vol. 79, pp. 277-281, January 1982
Biochemistry

大腸菌の IS1 はトランスポザーゼをコードする Factors determining frequency of plasmid cointegration mediated by insertion sequence IS1

(IS1 and Tn9 mutants/complementation analysis/amounts of IS1 proteins/position effect/preferential binding)

YASUNORI MACHIDA, CHIYOKO MACHIDA, HISAKO OHTSUBO, AND EIICHI OHTSUBO

J. Mol. Biol. (1984) 177, 229-245

Insertion Element IS1 Encodes Two Structural Genes Required for its Transposition

IS1 は2つ遺伝子をコードする

YASUNORI MACHIDA†, CHIYOKO MACHIDA† AND EIICHI OHTSUBO‡

Cell, Vol. 30, 29-36, August 1982, Copyright © 1982 by MIT

A Novel Type of Transposon Generated by Insertion Element IS102 Present in a pSC101 Derivative

ゲノム上のどこでもトランスポゾンの末端類似配列があれば
トランスポジションする

Yasunori Machida, Chiyoko Machida
and Eiichi Ohtsubo

ever, have no flanking IS element, but contain short
terminal inverted repeat sequences (see reviews by

J. Mol. Biol. (1984) 177, 247-267

Both Inverted Repeat Sequences Located at the Ends of IS1 Provide Promoter Functions

IS1の両末端は転写プロモーターとして機能する

CHIYOKO MACHIDA†, YASUNORI MACHIDA† AND EIICHI OHTSUBO‡

Cell, Vol. 34, 135-142, August 1983, Copyright © 1983 by MIT

0092-8674/83/080135-08 \$02.00/0

Repression of Cointegration Ability of Insertion Element IS1 by Transcriptional Readthrough from Flanking Regions

リードスルー転写はトランスポジションを抑制する

Chiyoko Machida,* Yasunori Machida,*
Hwa-Chain Wang, Kanji Ishizaki,† and
Eiichi Ohtsubo†

the terminal inverted repeats (which we have named *insR*
and *insL*) are essential for translocation of IS1 (Machida et
al., 1982a; Ohtsubo et al., 1981b).

中村研三さん、水野猛さんと出会う。

3. 1982年：つくば植物ウイルス研究所（木原均先生）へ

* 池田穰衛（室長）さんに、「植物をやりませんか」と呼ばれる。彼は、3歳年上で Adeno virus 複製を研究していた。彼には以前に2度会っていた。

* 植物なら何をしてもいいよ!

一方、この時、すでに Harvard の JS 教授のもとで二人とも採用してくれることが決まっていた。この時 33 歳、ポストドクは止めよう！自分の研究ができるならと、つくばへ。（海外自身が重要ではない）

植物の発生、分化をやりたい。しかしどうしたらいいんだ！

- ・アグロバクテリウムによるクラウンゴール腫瘍形成の仕組みの研究へ。植物では極めて稀な、増殖ホルモン（オーキシンとサイトカイニン）が上昇している腫瘍。これで発生や全能性の問題の周辺にいられるだろう。
- ・Transposition は続けよう。

Proc. Natl. Acad. Sci. USA
Vol. 81, pp. 7495-7499, December 1984
Genetics

オーキシンレベル低下の挿入変異体の原因であるトランスポゾンを発見

Nucleotide sequence of the insertion sequence found in the T-DNA region of mutant Ti plasmid pTiA66 and distribution of its homologues in octopine Ti plasmid

つくば大の学生さん

(crown gall tumors/transposable element/center region of T-DNA/virulence region)

YASUNORI MACHIDA*, MICHIHARU SAKURAI†, SHIGETO KIYOKAWA‡, AIKO UBASAWA§, YASUHIRO SUZUKI¶, AND JOH-E IKEDA

Department of Molecular Biology, National Institute of Agrobiological Resources, Tsukuba Science City, Yatabe, Ibaraki 305, Japan

Communicated by Hitoshi Kihara, July 19, 1984 (木原先生にCommunicateして頂く)

The EMBO Journal vol.6 no.6 pp.1799-1803, 1987

Base substitutions in transposable element IS1 cause DNA duplication of variable length at the target site for plasmid co-integration

標的部位の重複する長さはトランスポザーゼの性質による。遺伝子は1つ。

Chiyoko Machida and Yasunori Machida

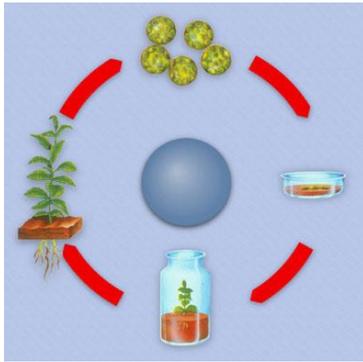
Department of Biology, Faculty of Science, Nagoya University, Furo-cho, Chikusa-ku, Nagoya 464, Japan

Communicated by T. Bickle

4. 1984年：名古屋大学理学部生物学科へ

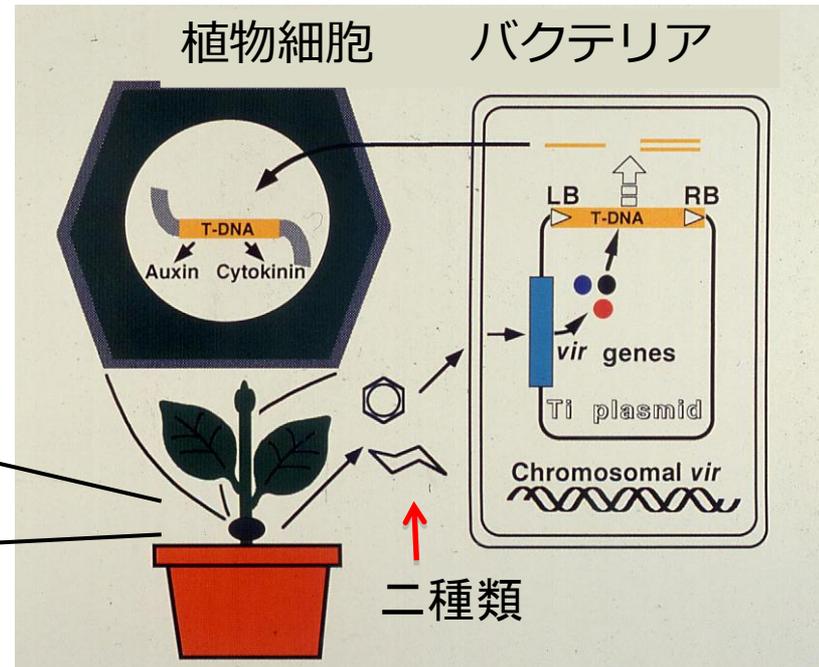
* 1983年、建部到先生に呼ばれる。植物細胞のプロトプラストの大量作製の技術確立して、ウイルスの感染機構を解明すると同時に、一つの体細胞から植物体全体を再生できること（分化全能性）を立証した。

* 何をやってもいいです。全能性にこだわることもない。



G. Melchers
(Pomato)

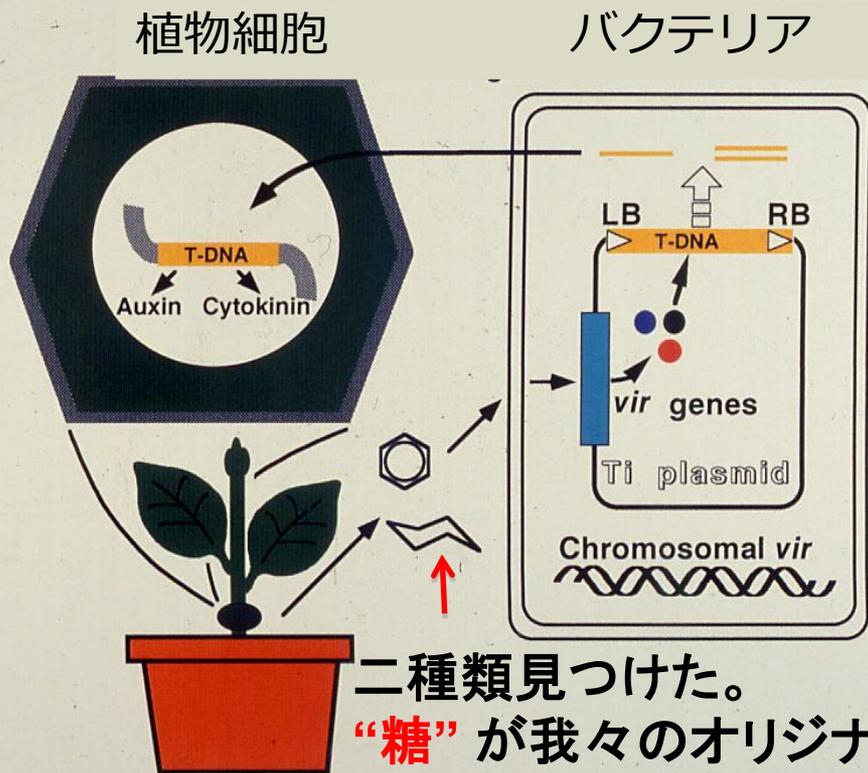
新奇な植物由来の物質によって誘導されるDNAの切り出しと転移



クラウンゴール
腫瘍



T-DNAの転移の仕組みを研究する



Mol Gen Genet (1987) 206:174-177

Short communications

VirD

The promoter proximal region in the *virD* locus of *Agrobacterium tumefaciens* is necessary for the plant-inducibile circularization of T-DNA

Akiko Yamamoto¹, Motoko Iwahashi¹, Martin F. Yanofsky², Eugene W. Nester², Itaru Takebe¹ and Yasunori Machida¹

高橋慶人
さんの研究

VirE

PCP 1996

Proc. Natl. Acad. Sci. USA
Vol. 85, pp. 3748-3752, June 1988
Biochemistry

The presence of inducing factor

Factor inducing *Agrobacterium tumefaciens* *vir* gene expression is present in monocotyledonous plants

(crown gall tumors/transferred DNA/tumor-inducing Ti plasmid/hydrophilic and high molecular weight inducer)

SHOJI USAMI, SHIGEHISA OKAMOTO, ITARU TAKEBE, AND YASUNORI MACHIDA*

Proc. Natl. Acad. Sci. USA
Vol. 87, pp. 6684-6688, September 1990
Biochemistry

Phenolics & monosaccharides

Control of expression of *Agrobacterium* *vir* genes by synergistic actions of phenolic signal molecules and monosaccharides

NOBUYOSHI SHIMODA*, AKIKO TOYODA-YAMAMOTO*, JUN NAGAMINE*, SHOJI USAMI†, MASATO KATAYAMA‡, YUJI SAKAGAMI‡, AND YASUNORI MACHIDA*§

THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY
© 1993 by The American Society for Biochemistry and Molecular Biology, Inc.

Vol. 268, No. 35, Issue of December 15, pp. 26552-26558, 1993
Printed in U.S.A.

Phenole sensor & sugar-binding protein
Genetic Evidence for an Interaction between the VirA Sensor Protein and the ChvE Sugar-binding Protein of *Agrobacterium**

(Received for publication, July 9, 1993, and in revised form, August 20, 1993)

Nobuyoshi Shimoda, Akiko Toyoda-Yamamoto, Shinsuke Aoki, and Yasunori Machida‡

Proc. Natl. Acad. Sci. USA
Vol. 90, pp. 6562-6566, July 1993
Genetics

Target 配列周辺にSINEs 有り

Molecular characterization of a short interspersed repetitive element from tobacco that exhibits sequence homology to specific tRNAs

YASUSHI YOSHIOKA*, SHOGO MATSUMOTO†, SHOKO KOJIMA*, KAZUHIKO OHSHIMA‡, NORIHIRO OKADA‡, AND YASUNORI MACHIDA*§

Mol Gen Genet (1990) 224:309-316

Integration of *Agrobacterium* T-DNA into a tobacco chromosome: Possible involvement of DNA homology between T-DNA and plant DNA

Weak homology 有り

Shogo Matsumoto*, Yukihiro Ito, Tsuyoshi Hosoi, Yosuke Takahashi and Yasunori Machida

DNA rearrangement associated with the integration of T-DNA in tobacco: an example for multiple duplications of DNA around the integration target

Toshiharu Ohba^{1,†}, Yasushi Yoshioka¹, Chiyoko Machida²
and Yasunori Machida^{1,*}

the plant nuclear genome. Tumorous growth of the transformed cells is caused by the action of several genes

Transient Gene Expression in Plant Cells Mediated by *Agrobacterium tumefaciens*: Application for the Analysis of Virulence Loci

Yasushi Yoshioka¹, Yoshito Takahashi^{1,4}, Ken Matsuoka², Kenzo Nakamura², Jun Koizumi¹, Mineo Kojima³ and Yasunori Machida^{1,5}

高橋陽介さんの研究：タバコの *Par1* などのオーキシン誘導遺伝子を同定した。分化・脱分化に関わる遺伝子の同定を試みた。
研究した人々：黒田久夫、馬場晶子、田中利明、大林正也、若原裕二

当時の人々



1986



1987



1990

建部先生（1988年逝去）との思い出：アランと洋子さんを紹介された。

http://www.boston.com/ae/music/articles/2009/02/27/young_conductor_takes_a_leap/



建部 昇 Alan Gilbert 中村研三
(September 1, 2006 at Matsumoto)



2009より New York Phill Music Director

http://operachic.typepad.com/opera_chic/alan_gilbert/



Alan Mike Gilbert
Jennifer Yoko Takebe

小澤征爾さんの誕生日



斉藤記念オーケストラ

新しい人々

1. 坂野弘美さん (M1, 1989) : ぼくは先生のこれまでの研究はやりたくありません。オーキシンとかの増殖や分化に関わるホルモンの作用機作の研究をやりたい。

プロテインキナーゼに焦点をあててやります。OK!

本心 : もしはずれても、新しい細胞分裂因子はとれるだろう。
これ以外にも、種々の試みをしたが、うまく行かなかった。

2. 町田千代子さん (出産で一時的に中断した後1989復帰、さきがけ) : シロイヌナズナで発生分化の研究

単に変異体を獲って、遺伝解析から遺伝子ではいやだ。まずシステムを作る。
二つの組換え系を利用する。

味噌醤油酵母の R/RS 組換え系と Ac トランスポゾンの利用OK!

本心 : 回り道かも知れないが、その間にいいことを考えれば良い。

3. 吉岡泰さん (助手、1990) : T-DNA 転移や染色体への組込み機構を研究。
95-97: 留学、帰国後 Gene-trap で変異体、CRL (葉緑体)

4. 宇佐美昭二さん (助手、産総研から1992頃) : ホルモン応答キナーゼ

本心 : 細胞分裂と細胞分化を同時に研究したいと思うようになった。

論文 1

1. タバコの細胞増殖に関わっているプロテインキナーゼ **NPK1** の単離・同定

MOLECULAR AND CELLULAR BIOLOGY, Aug. 1993, p. 4745-4752
0270-7306/93/084745-08\$02.00/0
Copyright © 1993, American Society for Microbiology

Vol. 13, No. 8

Log-phase-specifically expressed MAPKKK

NPK1, a Tobacco Gene That Encodes a Protein with a Domain Homologous to Yeast BCK1, STE11, and Byr2 Protein Kinases

HIROHARU BANNO,¹ KEIKO HIRANO,¹ TOSHIHIDE NAKAMURA,¹ KENJI IRIE,² SATOSHI NOMOTO,² KUNIHICO MATSUMOTO,² AND YASUNORI MACHIDA^{1*}

Proc. Natl. Acad. Sci. USA
Vol. 92, pp. 8660-8664, September 1995
Biochemistry

The first report of wound-activated PK **Cutting activates a 46-kilodalton protein kinase in plants**

(wounding/protein kinase/tyrosine phosphorylation)

SHOJI USAMI, HIROHARU BANNO, YUKIHIRO ITO, RYUICHI NISHIHAMA, AND YASUNORI MACHIDA*

これら以外にも PK の研究をしたが、**NPK1** だけを選びさらに機能解析をした。

人々：坂野弘美、宇佐美昭二、村中俊哉、伊藤幸博、柴田渉、森部豊輝、尾下浩一、高田真典、井上俊逸

2. システムの開発とシロイヌナズナの研究

Nucleic Acids Research, Vol. 19, No. 23 6373-6378

味噌酵母の部位特異的組換え系がタバコ培養細胞で動く

Operation of an efficient site-specific recombination system of *Zygosaccharomyces rouxii* in tobacco cells

Hitoshi Onouchi, Kumi Yokoi, Chiyoko Machida, Hiroaki Matsuzaki², Yasuji Oshima², Ken Matsuoka¹, Kenzo Nakamura¹ and Yasunori Machida*

Proc. Natl. Acad. Sci. USA
Vol. 94, pp. 8675-8680, August 1997
Genetics

Ac トランスポズンは 35% が 200 kb 以内に転移する. 近くの遺伝子をたたける.
Characterization of the transposition pattern of the *Ac* element in *Arabidopsis thaliana* using endonuclease I-SceI

CHIYOKO MACHIDA*†‡, HITOSHI ONOUCHI*, JUN KOIZUMI*, SUSUMU HAMADA*, ENDANG SEMIARTI*, SATOMI TORIKAI*, AND YASUNORI MACHIDA*†§¶

Mol Gen Genet (1995) 247:653-660

© Springer-Verlag 1995

ORIGINAL PAPER

Hitoshi Onouchi · Ryuichi Nishihama
Mitsuko Kudo · Yasunori Machida · Chiyoko Machida

味噌酵母の部位特異的組換え系がシロイヌナズナでも

Visualization of site-specific recombination catalyzed by a recombinase from *Zygosaccharomyces rouxii* in *Arabidopsis thaliana*

これ以外にも GAL4 を使った系の開発なども行ったが、これらの研究過程で、興味深い変異体や遺伝子を見いだしたので、そちらを優先した。

研究した人々：町田千代子（さきがけ）、尾之内均、工藤光子、小泉順、鳥飼聡美、大林正也、横井久美、高木豪将、野村清人、

論文 2

3. Gene-trap から CRL 遺伝子の研究

The Plant Journal (2004) **38**, 448–459

doi: 10.1111/j.1365-313X.2004.02057.x

A mutation of the *CRUMPLED LEAF* gene that encodes a protein localized in the outer envelope membrane of plastids affects the pattern of cell division, cell differentiation, and plastid division in *Arabidopsis*

Tomoya Asano¹, Yasushi Yoshioka^{1,*}, Shunsuke Kurei¹, Wataru Sakamoto², Sodmergen³ and Yasunori Machida¹

Genes Genet. Syst. (2004) **79**, p. 207–212

A defect in *atToc159* of *Arabidopsis thaliana* causes severe defects in leaf development

Tomoya Asano, Yasushi Yoshioka*, and Yasunori Machida

*Division of Biological Science, Graduate School of Science, Nagoya University
Furo-cho, Chikusa-ku, Nagoya 464-8602, Japan*

Genes Genet. Syst. (2001) **76**, p. 189–198

Identification of a monofunctional aspartate kinase gene of *Arabidopsis thaliana* with spatially and temporally regulated expression

Yasushi Yoshioka*, Shunsuke Kurei, and Yasunori Machida

PCP
PLANT & CELL PHYSIOLOGY

Plant Cells Without Detectable Plastids are Generated in the *crumpled leaf* Mutant of *Arabidopsis thaliana*

Yuling Chen^{1,2}, Tomoya Asano³, Makoto T. Fujiwara⁴, Shigeo Yoshida⁵, Yasunori Machida¹ and Yasushi Yoshioka^{1,*}

¹Division of Biological Science, Graduate School of Science, Nagoya University, Furo-cho, Chikusa-ku, Nagoya, 464-8602 Japan

研究した人々：浅野智哉、くれい俊介、陳玉玲、金岡良和、加藤晴義、角田亜希子、北条健太郎、中村善紀、北辻彩夏

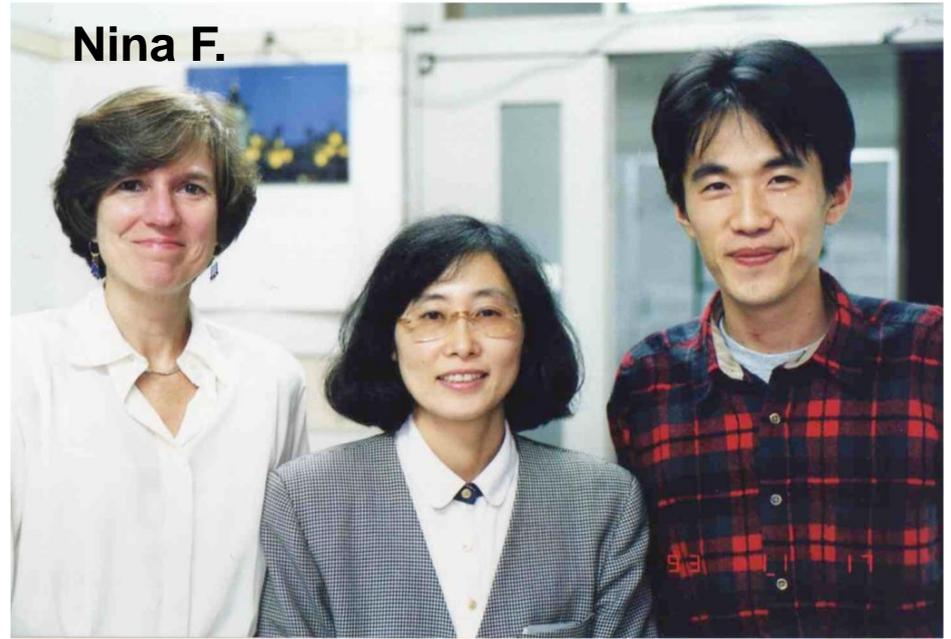
1995

秘書の奥村さん高橋君と結婚



1993

Nina F.



1994



1993

1998



1993



1997



1991



1996?



宇佐美さん花田さんと結婚

1997

97-99 : 町田は京都大へ

細胞分裂と細胞分化を同時に研究しよう

Q: この二つはコインの裏と表の様なものか？

酵母の細胞融合など



その後の展開 1: 細胞分裂

その後、1 & 2 の研究は4つに分かれた

1. タバコの細胞質分裂を制御する経路の解明

**NPK1 MAPKKK → NACK1 → 細胞質分裂制御 → カスケード → 基質
→ 上位制御系の解明と Formative cell division (Cell differentiation)**

人々：西浜竜一、征矢野敬、石川雅樹、笹部美知子、森清加代子、田中博和、高橋裕治、荒木智史、幸節健、中島麻理奈、平野敬子、中村英敏、山崎良子、伊藤真弓、日高美希子、諸田雅之、金原健、岩川秀和、佐渡山昌久、寺田瑞弥、北村さおり、伊藤雄貴、鈴木孝征、西村慎吾、村瀬陽典、中野理恵、春田剛史、南明希

論文

325 CEJES & DELEGOWEIAL 12:325-393 © 2001 PL Celli zbirni Hairoi Garozioy Ejes 1221 0800-3309/01 22:001 M.M.M. 862964-012

The NPK1 mitogen-activated protein kinase kinase kinase is a regulator of cell-plate formation in plant cytokinesis

NPK1 MAPKKK は細胞質分裂を制御

Ryuichi Nishihama,^{1,3,4} Masaki Ishikawa,^{1,4} Satoshi Araki,^{1,5} Takashi Soyano,¹ Tetsuhiro Asada,² and Yasunori Machida^{1,6}

The Plant Journal (1997) 12(1), 39–48

Possible involvement of differential splicing in regulation of the activity of *Arabidopsis* ANP1 that is related to mitogen-activated protein kinase kinase kinases (MAPKKKs)

NPK1 homolog は3つある。

Ryuichi Nishihama¹, Hiroharu Banno¹, Emi Kawahara¹, Kenji Irie¹ and Yasunori Machida^{1,2,*}

Introduction

It is generally accepted that the signal pathways known as

Cell, Vol. 109, 87–99, April 5, 2002, Copyright ©2002 by Cell Press

Expansion of the Cell Plate in Plant Cytokinesis Requires a Kinesin-like Protein/MAPKKK Complex

Critical regulator NACK1 の同定

Ryuichi Nishihama,^{1,4} Takashi Soyano,¹ Masaki Ishikawa,¹ Satoshi Araki,^{1,6} Hirokazu Tanaka,¹ Tetsuhiro Asada,² Kenji Irie,¹ Mayumi Ito,¹ Mizuya Terada,¹ Hiroharu Banno,^{1,5} Yoshiko Yamazaki,¹ and Yasunori Machida^{1,3}

phragmoplast appears midway between two daughter nuclei, with two antiparallel bundles of MTs being aligned such that the plus ends of the MTs overlie the Golgi-derived membranous vesicles carrying cell plate materials are then transported to

The Plant Journal (2002) 32, 789–798

The NPK1 mitogen-activated protein kinase kinase kinase contains a functional nuclear localization signal at the binding site for the NACK1 kinesin-like protein

Masaki Ishikawa¹, Takashi Soyano, Ryuichi Nishihama¹ and Yasunori Machida^{1,2,*}

NPK1-NACK1結合部位

NQK1/NtMEK1 is a MAPKK that acts in the NPK1 MAPKKK-mediated MAPK cascade and is required for plant cytokinesis
MAPKK と MAPK を同定し NACK-PQR 経路を確立
 Takashi Soyano,¹ Ryuichi Nishihama,¹ Kayoko Morikiyo,¹ Masaki Ishikawa,² and Yasunori Machida³

Mitotic Cyclins Stimulate the Activity of c-Myb-like Factors for Transactivation of G₂/M Phase-specific Genes in Tobacco*

CDKはM期遺伝子の転写因子をPして、活性化する

Satoshi Araki[§], Masaki Ito^{||}, Takashi Soyano[‡], Ryuichi Nishihama[‡], and Yasunori Machida[‡]

NPK1は個体でも分裂細胞で発現

The Expression Pattern of the Gene for NPK1 Protein Kinase Related to Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase Kinase (MAPKKK) in a Tobacco Plant: Correlation with Cell Proliferation

Marina Nakashima¹, Keiko Hirano¹, Seiko Nakashima,¹ Hiroharu Banno², Ryuichi Nishihama¹ and Yasunori Machida^{1,3}

シロイヌナズナにもNACK-PQ経路有り

HINKEL kinesin, ANP MAPKKKs and MKK6/ANQ MAPKK, which phosphorylates and activates MPK4 MAPK, constitute a pathway that is required for cytokinesis in *Arabidopsis thaliana*

Yuji Takahashi¹, Takashi Soyano^{1,2}, Ken Kosetsu¹, Michiko Sasabe¹ and Yasunori Machida^{1,*}

シロイヌナズナにもNACK-PQR経路有り
The MAP Kinase MPK4 Is Required for Cytokinesis in *Arabidopsis thaliana*

Ken Kosetsu,^a Sachihito Matsunaga,^b Hirofumi Nakagami,^{c,1} Jean Colcombet,^d Michiko Sasabe,^a Takashi Soyano,^{a,2} Yuji Takahashi,^a Heribert Hirt,^{c,d} and Yasunori Machida^{a,3}

Phosphorylation of NtMAP65-1 by a MAP kinase down-regulates its activity of microtubule bundling and stimulates progression of cytokinesis of tobacco cells

NRK1 MAPKの基質の一つはMAP65である

Michiko Sasabe,¹ Takashi Soyano,^{1,3} Yuji Takahashi,¹ Seiji Sonobe,² Hisako Igarashi,^{2,4} Tomohiko J. Itoh,¹ Mikiko Hidaka,¹ and Yasunori Machida^{1,5}

***Arabidopsis thaliana* MAP65-1 and MAP65-2 function redundantly with MAP65-3/PLEIADE in cytokinesis downstream of MPK4**
シロイヌナズナのMAP65-1とMAP65-2の機能は冗長的.

Michiko Sasabe,^{*} Ken Kosetsu, Mikiko Hidaka, Akinori Murase and Yasunori Machida

NACK1とNPK1の結合はCDKによるリン酸化で制御
Phosphorylation of a mitotic kinesin-like protein and a MAPKKK by cyclin-dependent kinases (CDKs) is involved in the transition to cytokinesis in plants

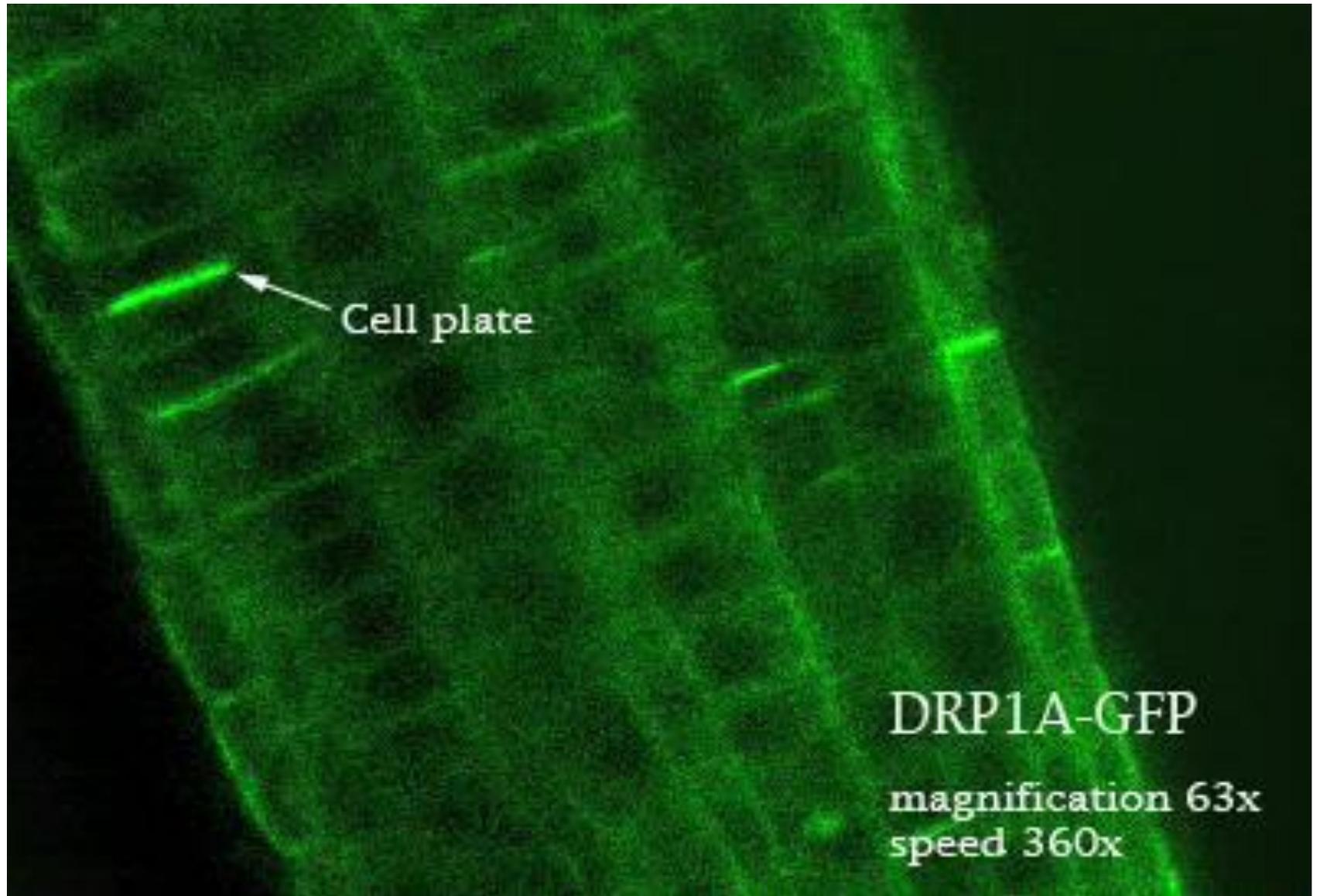
Michiko Sasabe^a, Véronique Boudolf^{b,c}, Lieven De Veylder^{b,c}, Dirk Inzé^{b,c}, Pascal Genschik^d, and Yasunori Machida^{a,1}

Cell accepted

Transcription factor triggered auxin signaling dependent module switches microtubule array orientation and cell division plane during formative cell divisions

MAP65の転写レベルが対象分裂を規定している.

Pankaj Dhonukshe^{1,*}, Daan Weits¹, Alfredo Cruz-Ramirez¹, Simon Tindemans², Eva Deinum², Kalika Prasad¹, Klementina Kakar¹, Ari Pekka Mähönen¹, Chris Ambrose³, Michiko Sasabe⁴, Guy Wachsmann¹, Marijn Luijten¹, Tom Bennett¹, Yasunori Machida⁴, Renze Heidstra¹, Geoff Wasteneys³, Bela Mulder^{2,5} and Ben Scheres¹.

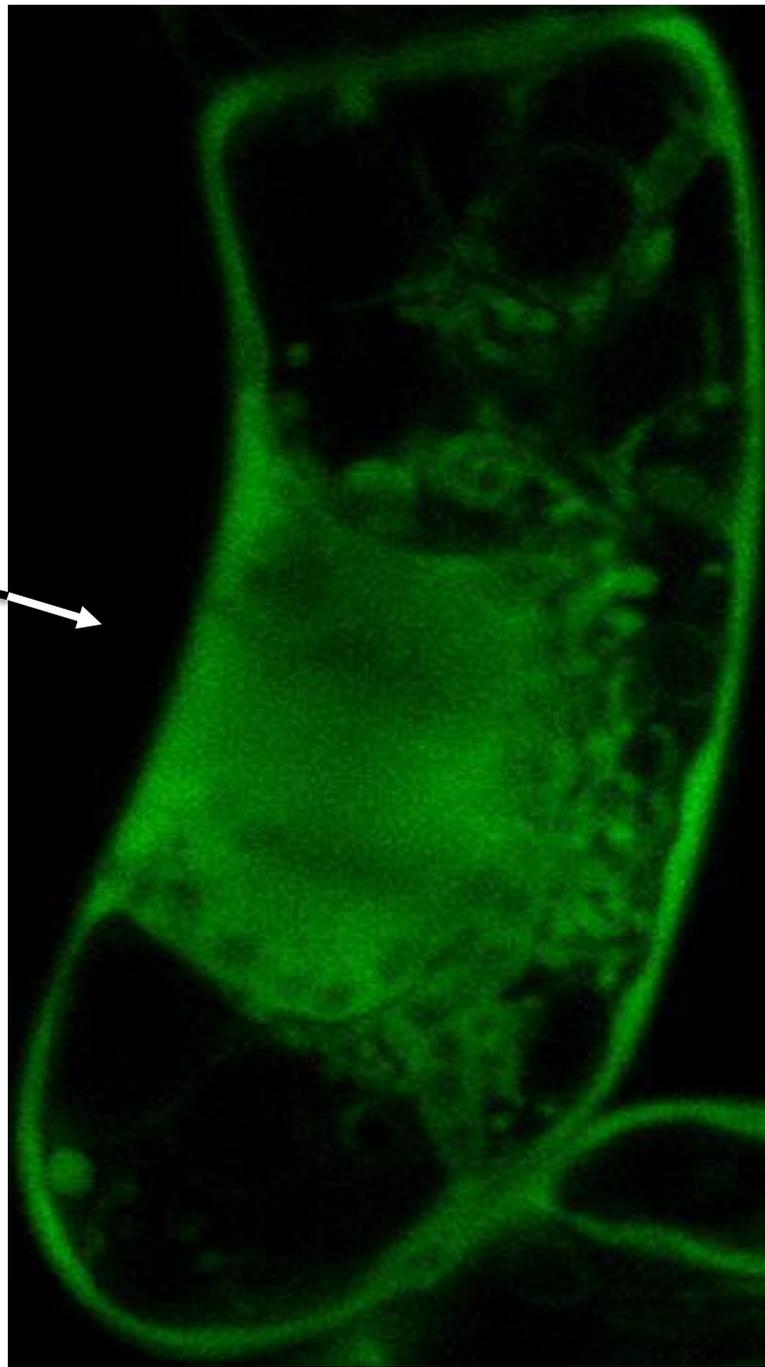


Cell plate

DRP1A-GFP

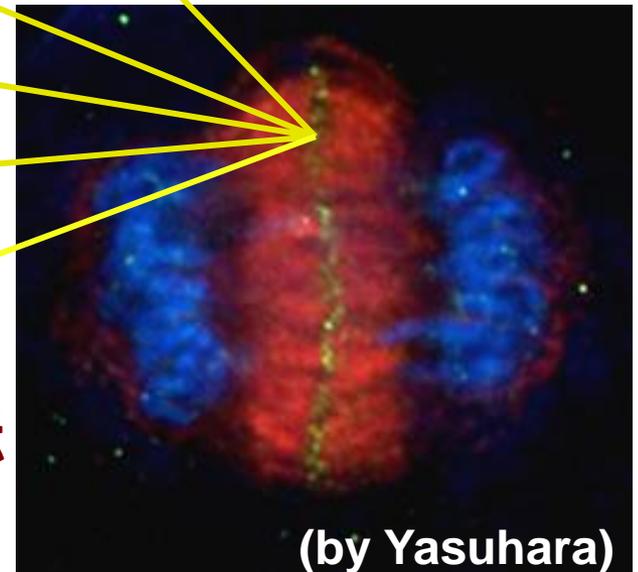
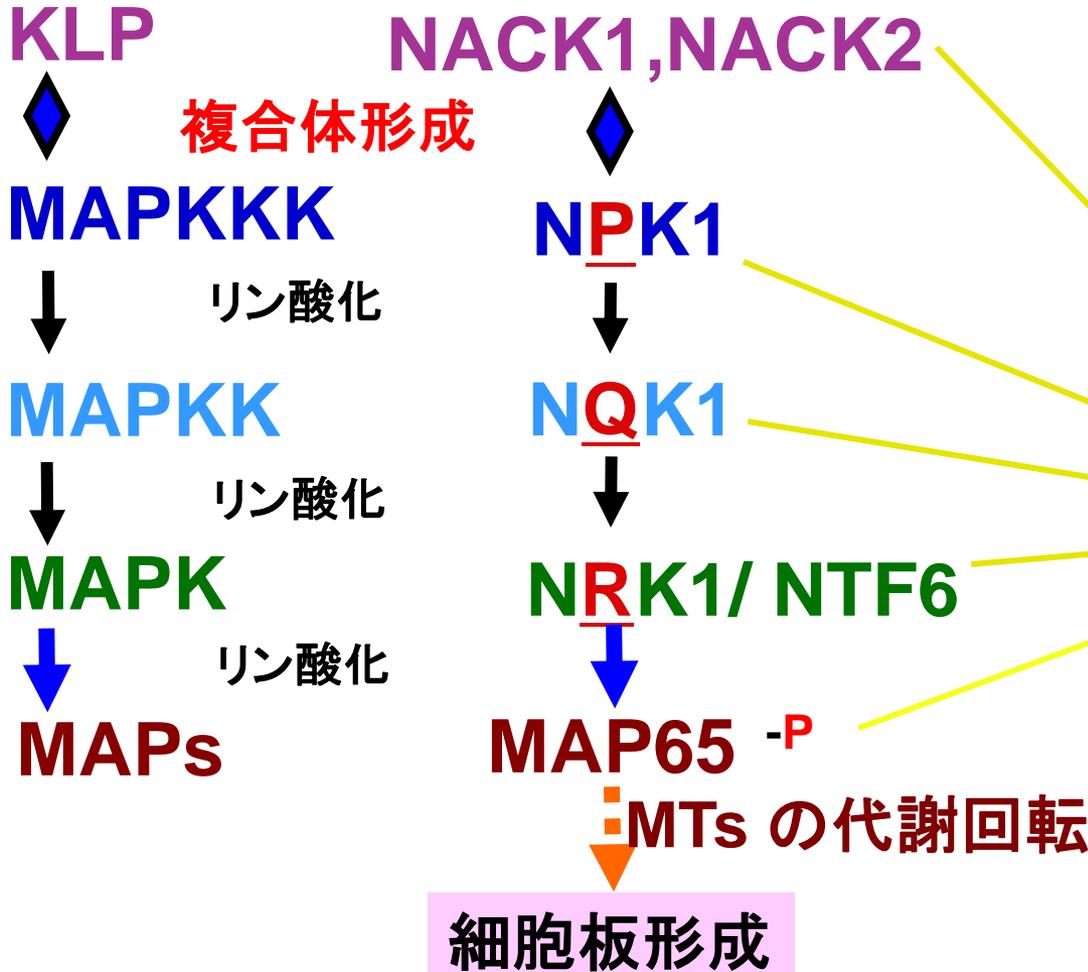
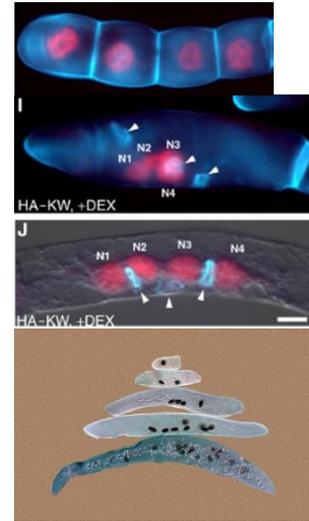
magnification 63x
speed 360x

GFP-NPK1



NACK-PQR 経路は、細胞板形成を正に制御している

タバコとシロイヌナズナ

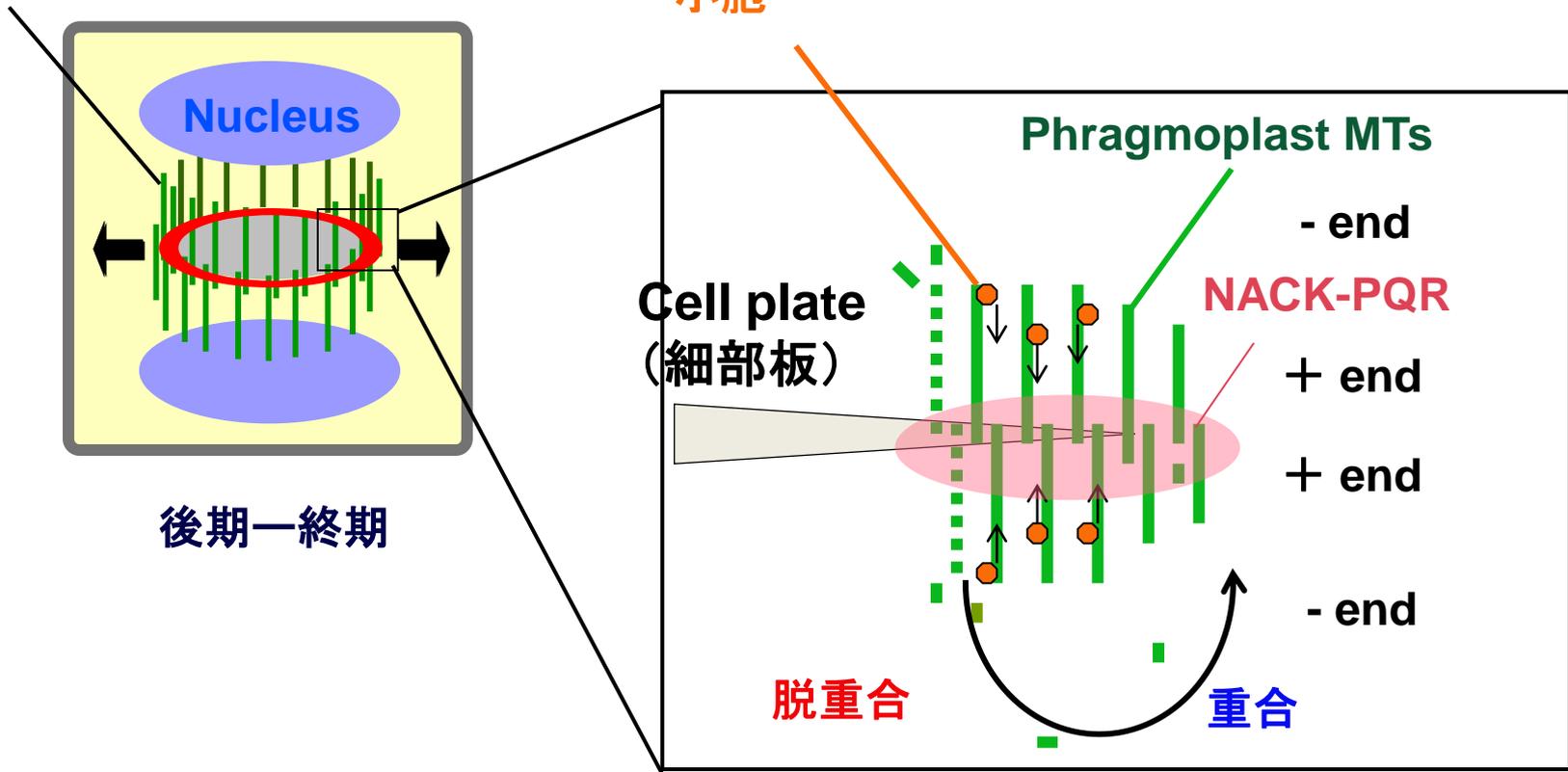


(by Yasuhara)

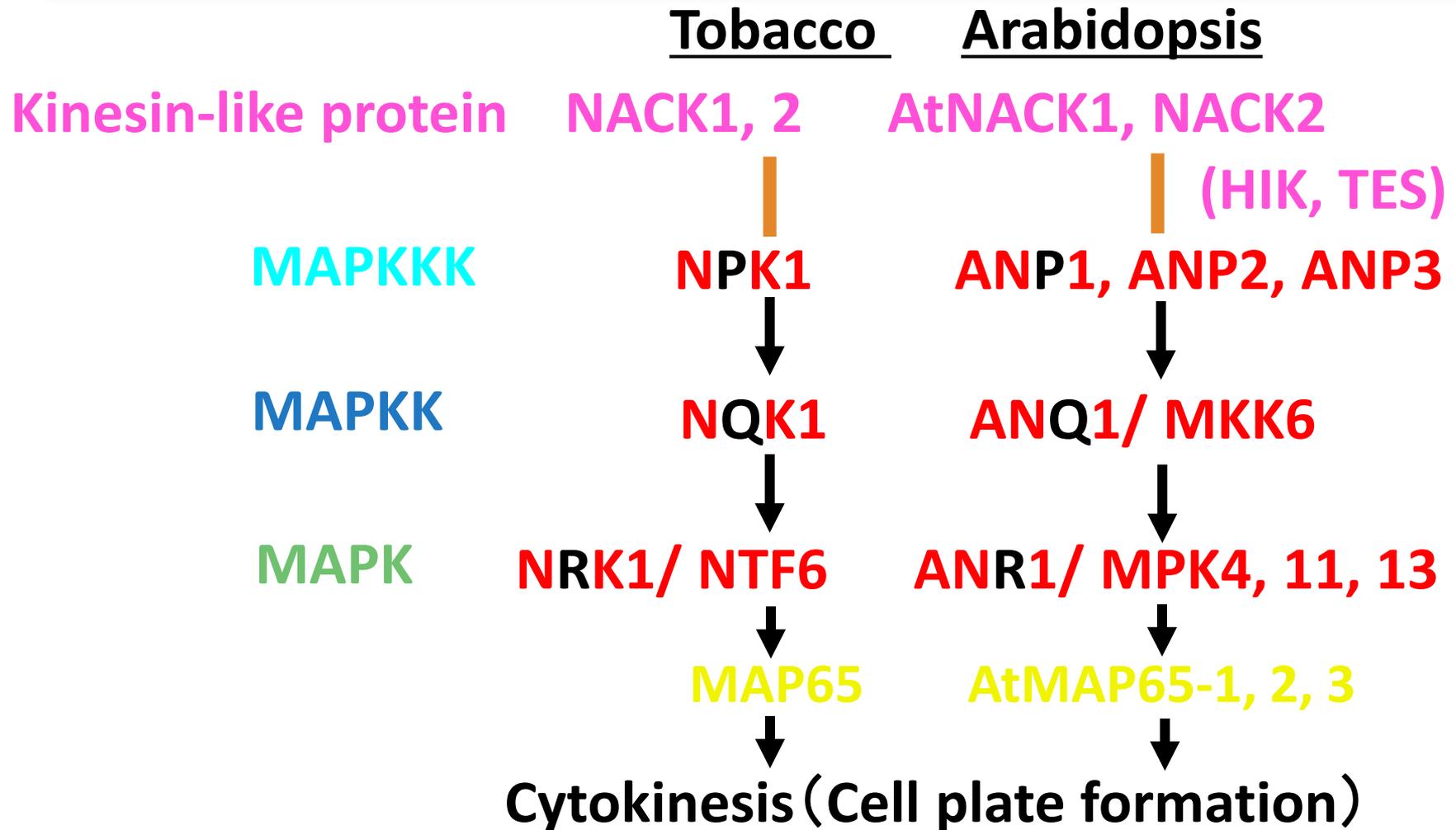
細胞板が拡大する仕組み

MT の活発なターンオーバー（代謝）が原動力で、NRK1 MAP キナーゼは、MTs の脱重合を誘導する

フラグモプラスト



The NACK-PQR pathway is conserved in tobacco and *Arabidopsis*, probably in all plant species

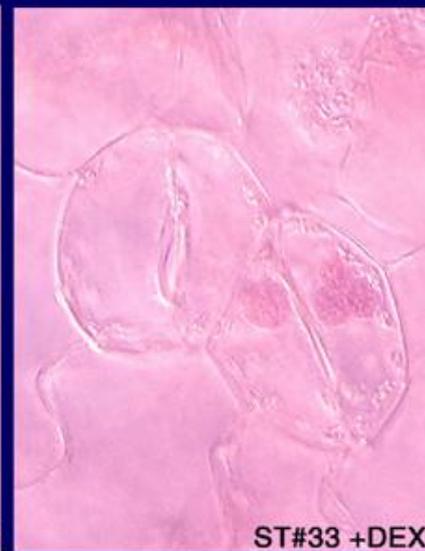
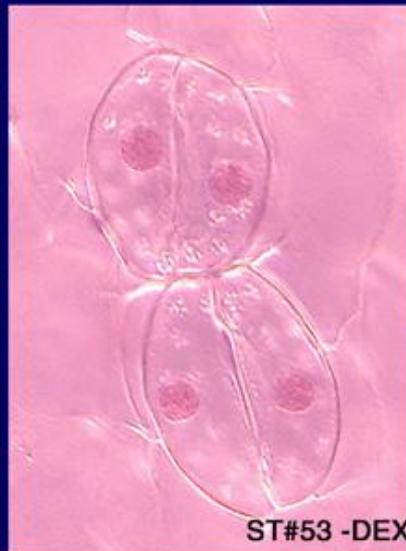


Nishihama et al. *PJ* 1997; Nishihama et al. *Cell* 2002; Soyano et al. *Genes Dev.* 2003;

Sasabe et al. *Genes Dev* 2006; Takahashi et al. *PCP* 2010; Kosestu et al. *Plant Cell* 2010;

Sasabe et al. *Plant Sig. Behav.* (2010)

Expression of NACK1ST results in generation of several arrayed stomata



Development of guard cells

196 3章 細胞・組織分化

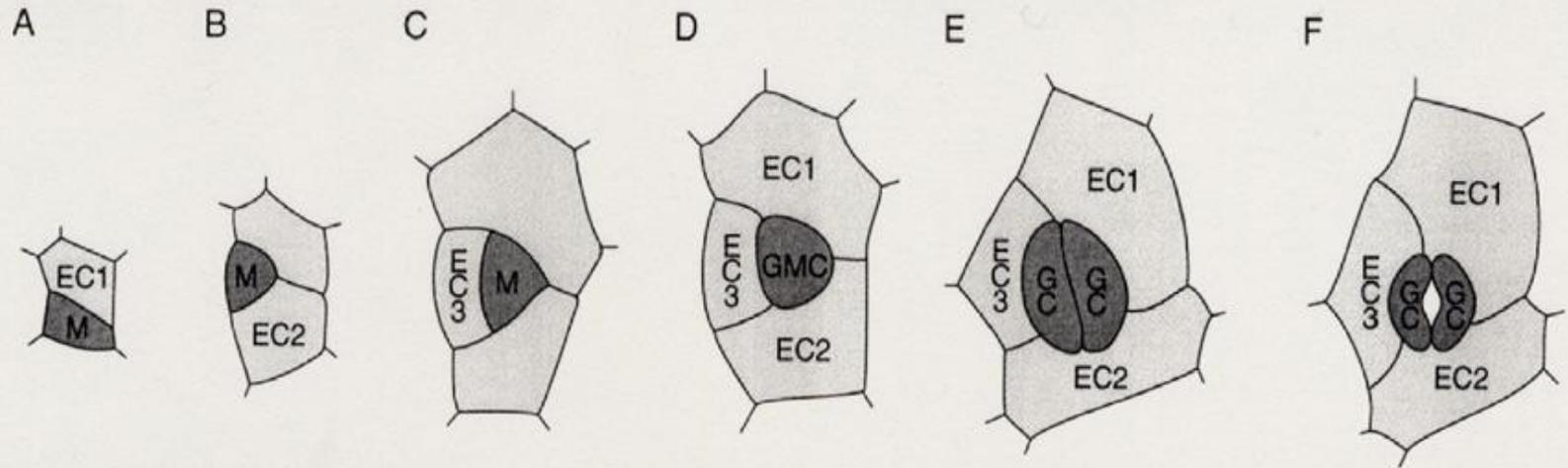
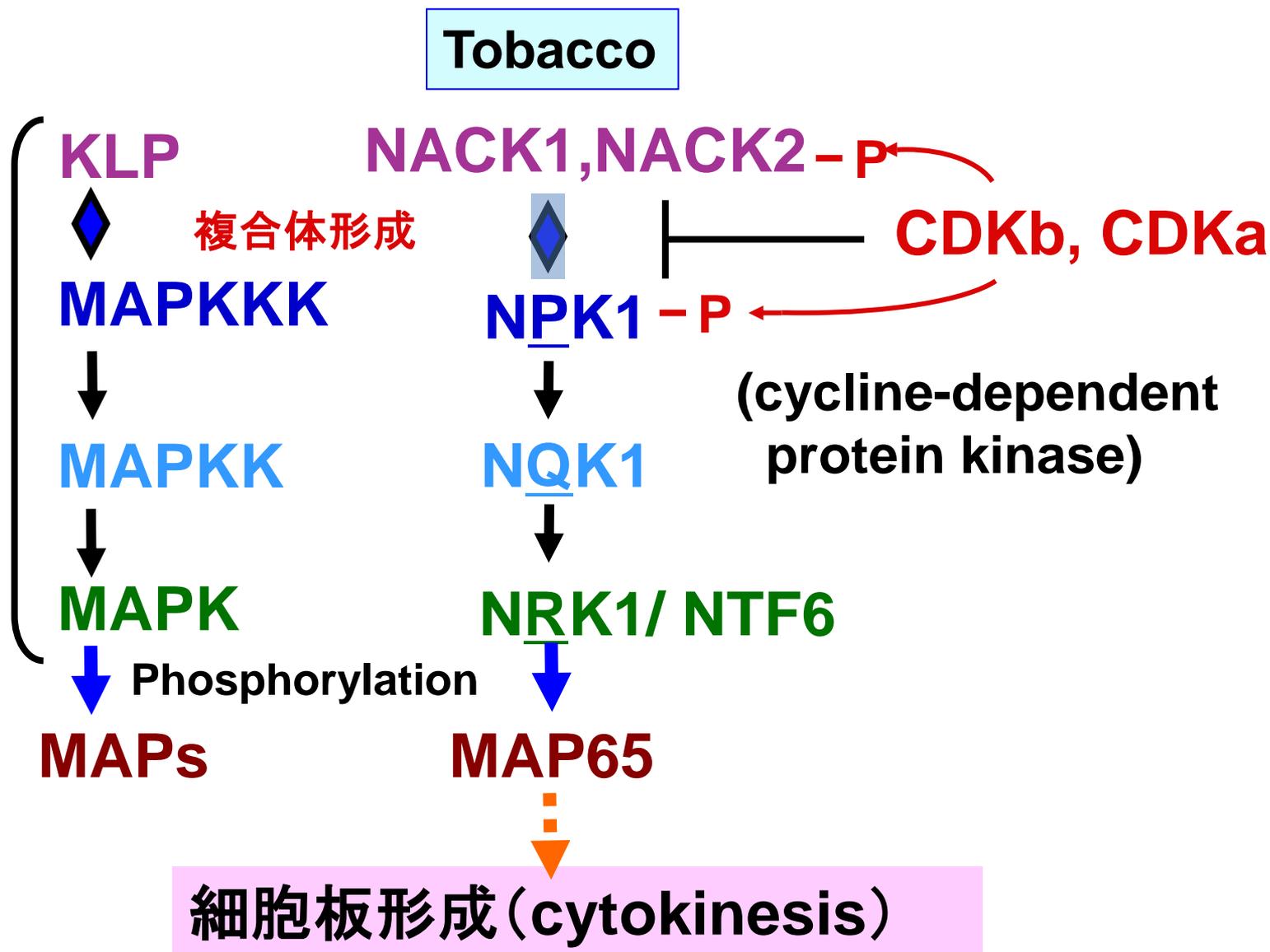
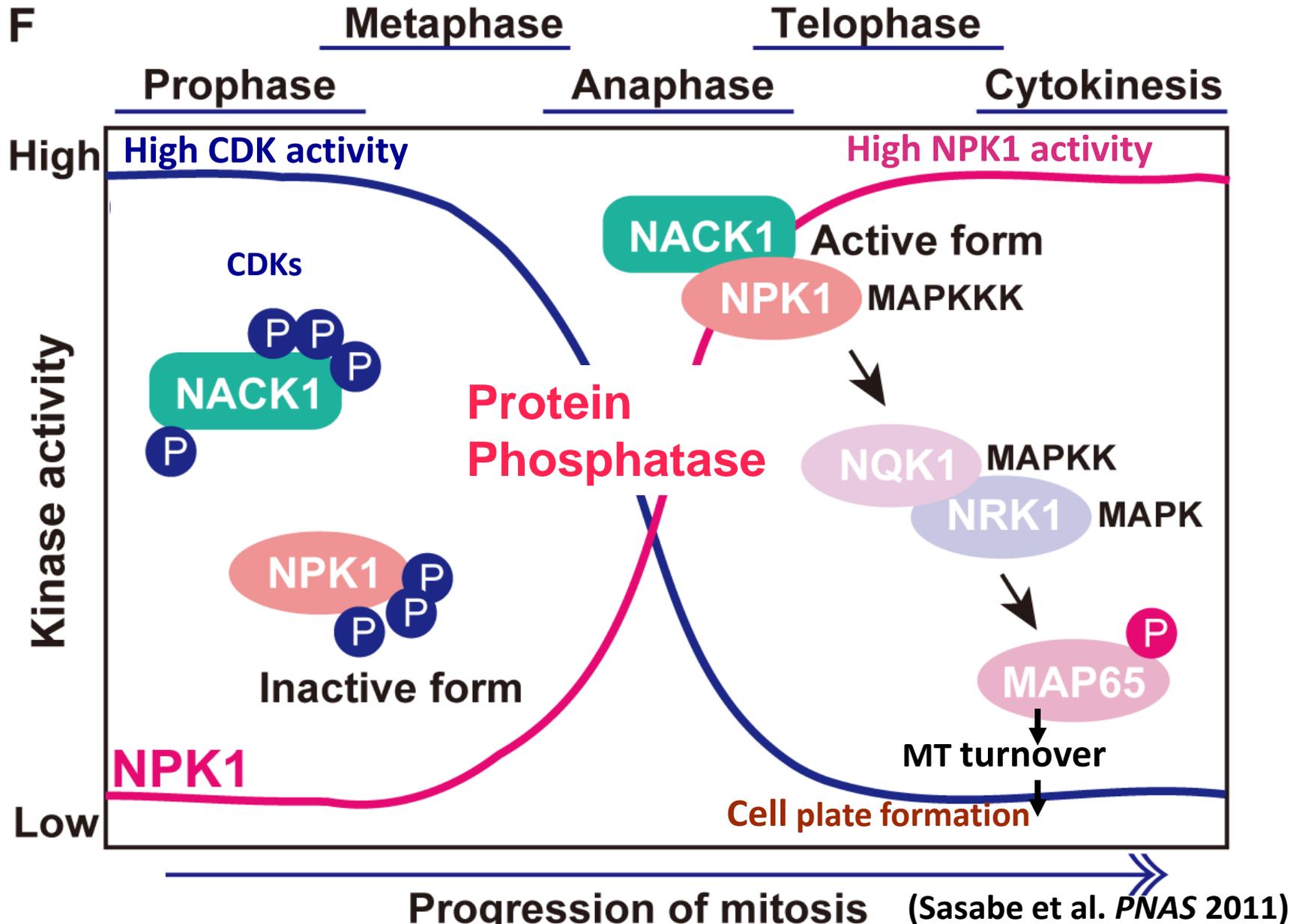


図3 シロイヌナズナ孔辺細胞発達の概念図

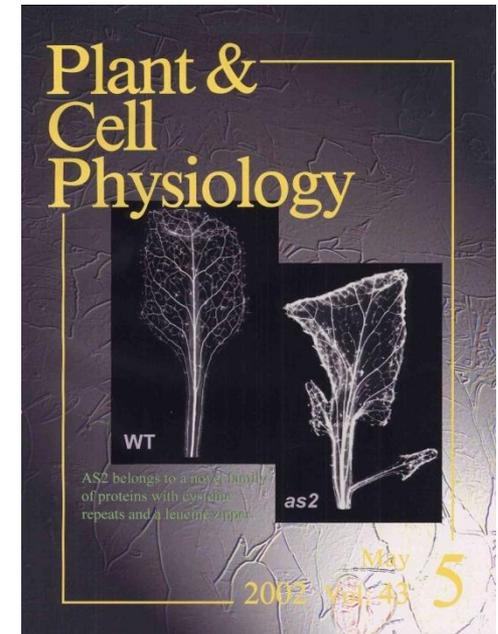
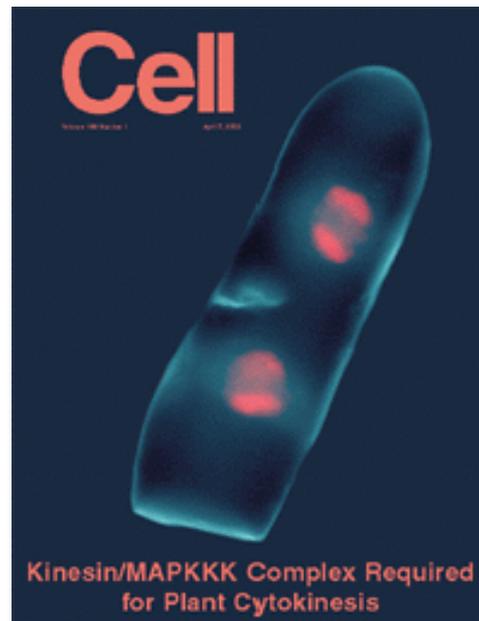
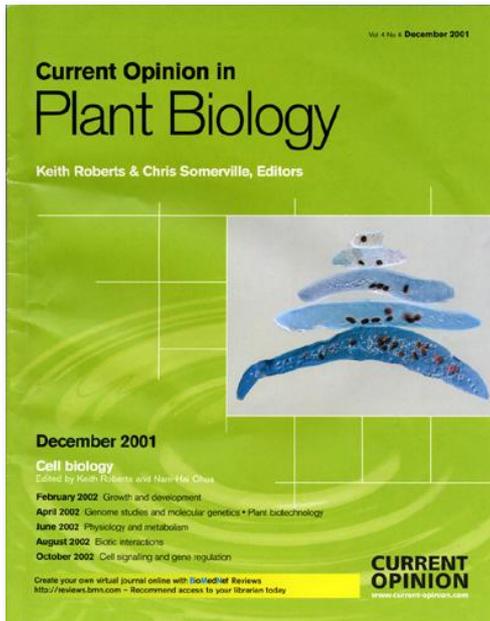
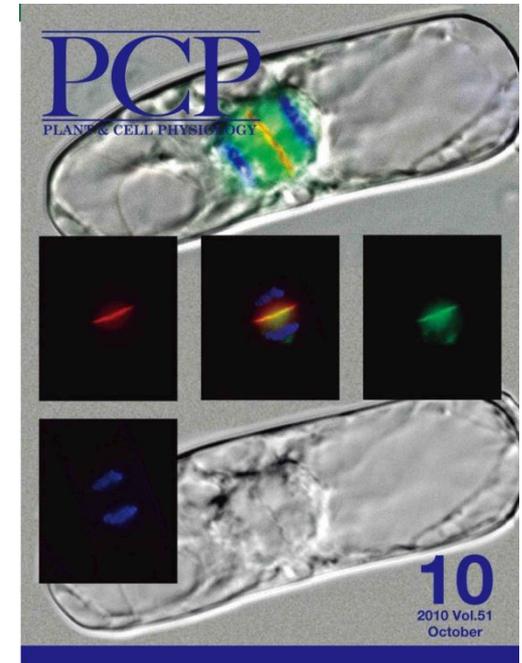
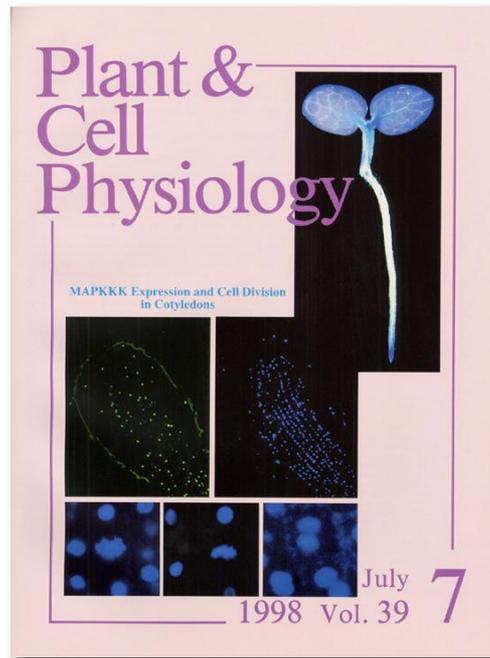
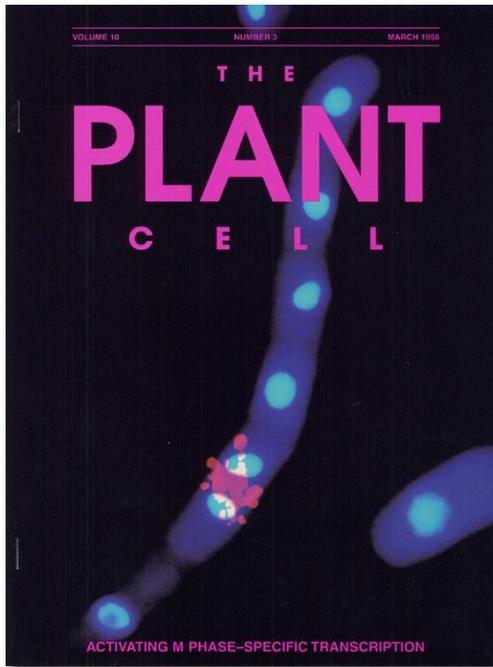
CDKs のリン酸化によるNACK1 と NPK1 複合体形成に対する



Current overview of the regulatory system by the NACK-PQR pathway for plant cytokinesis



細胞分裂装置の因子が細胞分化を制御
しているかもしれない



その後の展開 2-1 : 細胞分化 : 表皮細胞分化の制御系

2. *Ac* システム →

2-1. *ABNORMAL-LEAF-SHAPE1 (ALE1)* (表皮分化 : 新奇)

→ *ALE2* & *ACR4*

人々 : 田中博和 (1996) 、尾之内均、渡辺勝、田中俊洋、渡辺大輔、勝又靖貴、廣江知紀、高田望、岡屋精一郎、福谷孝介、中村善紀、

葉の形態異常の変異体が分離され、*Ac* 因子でタギングされていた。



葉が融合
↓
表皮異常

ale1 は葉の変異体か？ 子葉を含む初期の葉の形態異常

Development 128, 4681-4689 (2001)
Printed in Great Britain © The Company of Biologists Limited 2001
DEV0386

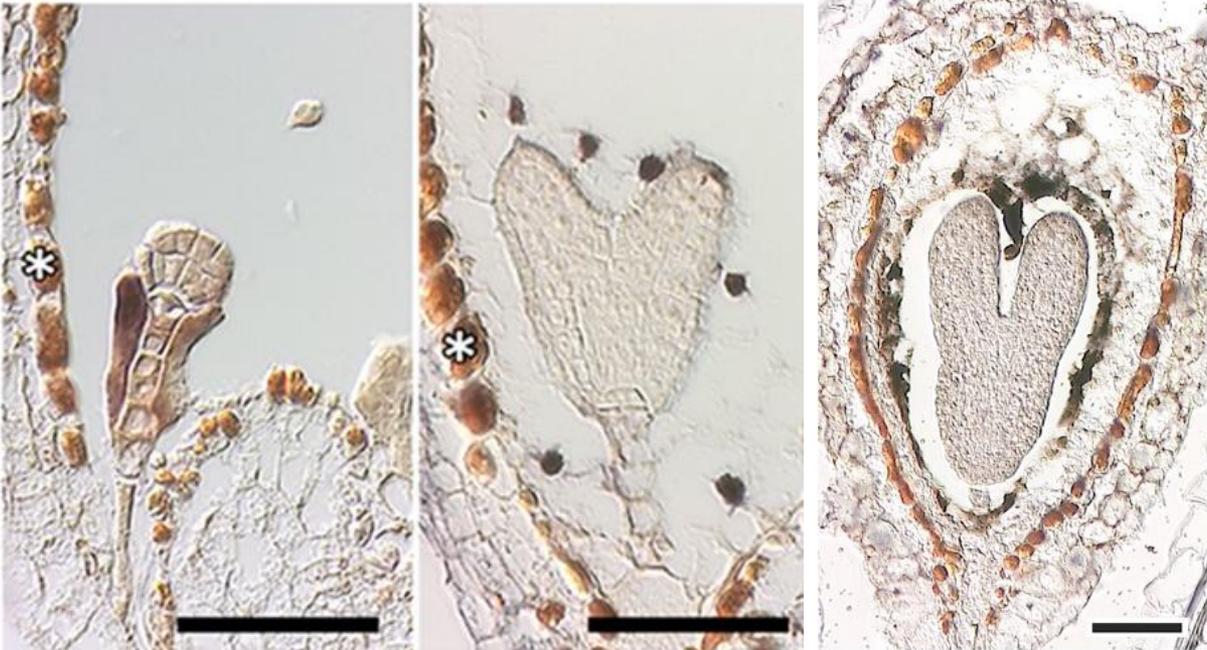
4681

A subtilisin-like serine protease is required for epidermal surface formation in *Arabidopsis* embryos and juvenile plants

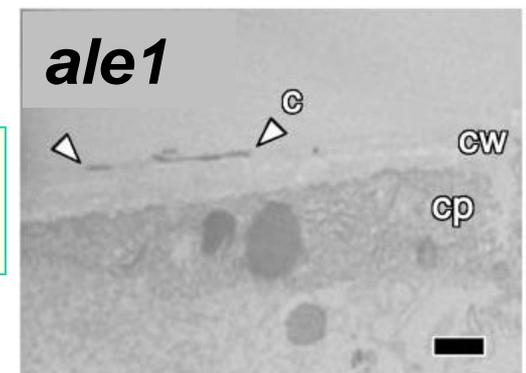
Hirokazu Tanaka¹, Hitoshi Onouchi^{1,*}, Maki Kondo², Ikuko Hara-Nishimura^{2,‡}, Mikio Nishimura², Chiyoko Machida^{1,§} and Yasunori Machida^{1,¶}

原因遺伝子は、分泌型ズブチリシン様のプロテアーゼをコード (KEX2, フリンなどの生理活性ペプチドを作る)

しかし、**ALE1** は胚形成時に胚乳で発現していた。

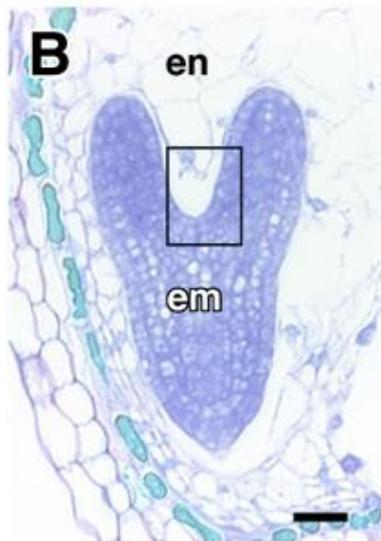
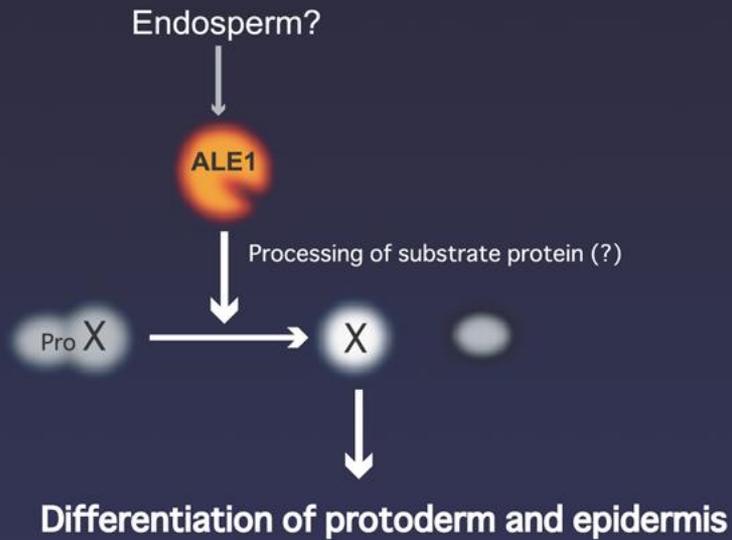


クチクラが無い！

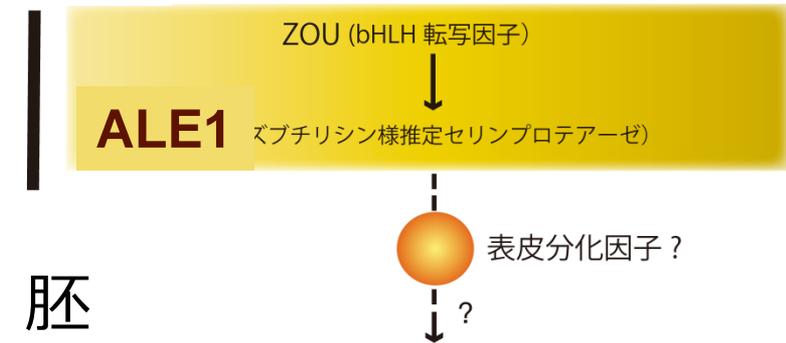


ALE1 遺伝子は表皮細胞の分化、特にクチクラ形成に関与している。

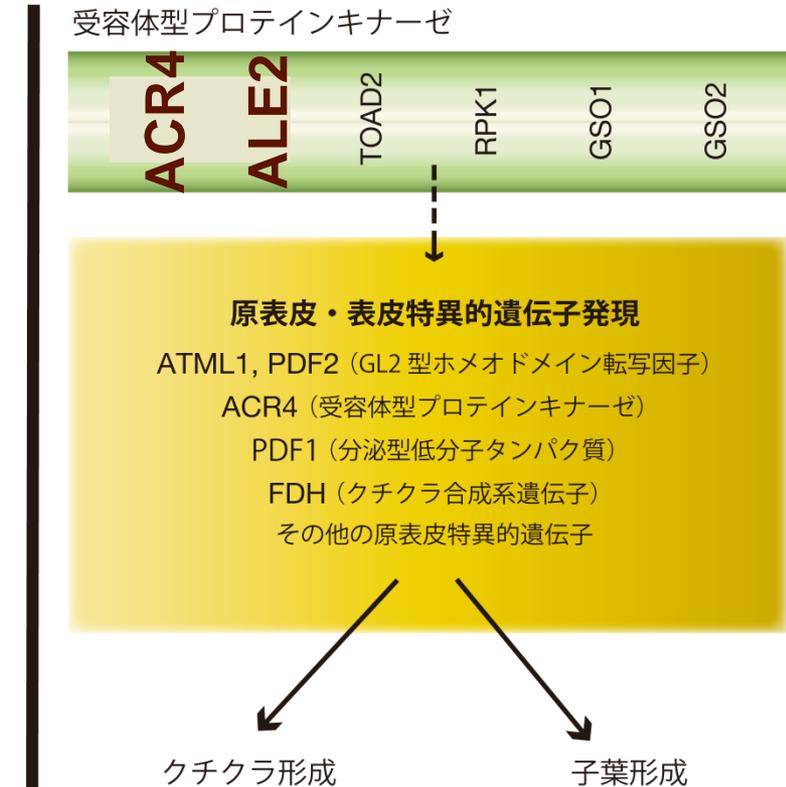
A working hypothesis



胚乳



胚



ACR4, a Putative Receptor Kinase Gene of *Arabidopsis thaliana*, that is Expressed in the Outer Cell Layers of Embryos and Plants, is Involved in Proper Embryogenesis

ACR4 受容体キナーゼの同定

Hirokazu Tanaka, Masaru Watanabe, Daisuke Watanabe, Toshihiro Tanaka, Chiyoko Machida, Yasunori Machida¹

The ACR4 receptor-like kinase is required for surface formation of epidermis-related tissues in *Arabidopsis thaliana*

ACR4 は表皮分化に重要

Masaru Watanabe¹, Hirokazu Tanaka², Daisuke Watanabe¹, Chiyoko Machida² and Yasunori Machida^{1,*}

TECHNICAL ADVANCE **表皮細胞の変異体を同定する新手法**

A new method for rapid visualization of defects in leaf cuticle reveals five intrinsic patterns of surface defects in *Arabidopsis*

Toshihiro Tanaka¹, Hirokazu Tanaka^{2,3}, Chiyoko Machida^{2,3}, Masaru Watanabe¹ and Yasunori Machida^{1,*}

ALE2 は表皮分化を通して

Novel receptor-like kinase ALE2 controls shoot development by specifying epidermis in *Arabidopsis*

Hirokazu Tanaka^{1,*}, Masaru Watanabe², Michiko Sasabe², Tomonori Hiroe², Toshihiro Tanaka², Hirokazu Tsukaya³, Masaya Ikezaki², Chiyoko Machida¹ and Yasunori Machida^{2,1}

その後の展開 2-1 : この流の中から2つの新奇遺伝子を同定

浜田 進、工藤光子

石川貴章

Mutations in the *WUSCHEL* gene of *Arabidopsis thaliana* result in the development of shoots without juvenile leaves

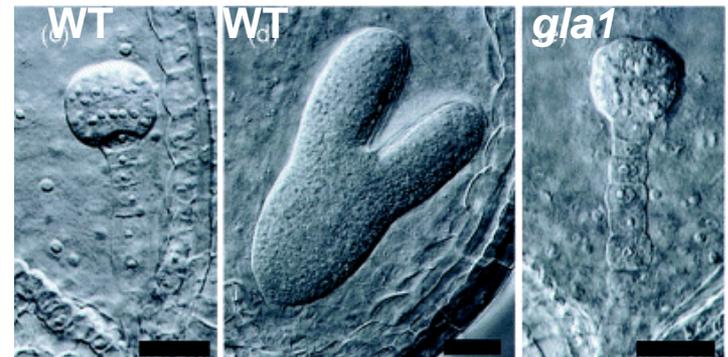
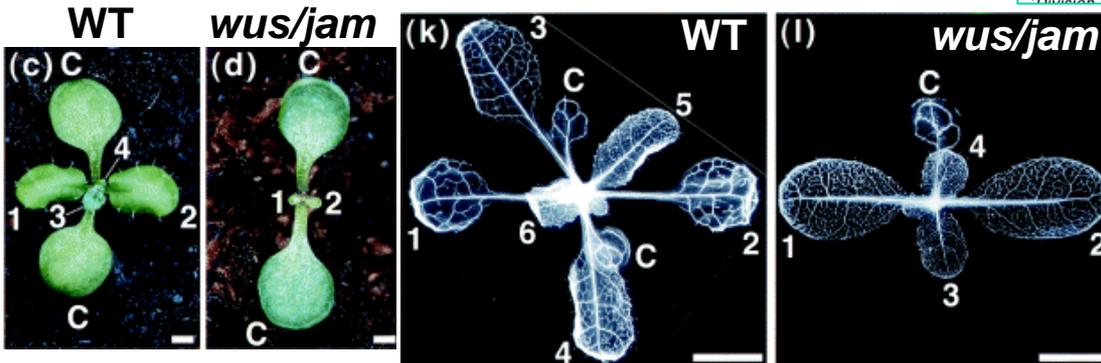
幹細胞遺伝子 *WUSCHEL* を見つけた. 幼若葉形成に必要.

Susumu Hamada¹, Hitoshi Onouchi¹, Hirokazu Tanaka¹, Mitsuko Kudo¹, Yao-Guang Liu, Daisuke Shibata², Chiyoko Machida¹ and Yasunori Machida^{1,*}

The *GLOBULAR ARREST1* gene, which is involved in the biosynthesis of folates, is essential for embryogenesis in *Arabidopsis thaliana*

葉酸の生合成酵素遺伝子の変異体は---

Takaaki Ishikawa¹, Chiyoko Machida², Yasushi Yoshioka¹, Hidemi Kitano³ and Yasunori Machida^{1,*}
¹Division of Biological Science, Graduate School of Science, Nagoya University, Chikusa-ku, Nagoya 464-8602, Japan



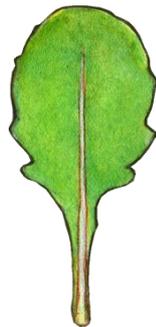
その後の展開：細胞分化：葉の表側分化の制御系

2. Ac システム →

2-2. *ASYMMETRIC LEAVES2 (AS2)* (葉分化：変異体30年前)

→ 多くの遺伝子（裏側化の制御因子、ある種の細胞分裂因子、核小体関連因子）と協調的に働く → 多能性幹細胞維持遺伝子と裏側化遺伝子の抑制 → **epigenetic & Cell division**

人々：町田千代子、Endang Semiarti、岩川秀和、上野宜久、小笠原史朗、相馬徹平、池崎仁弥、松本貴充、川端真一、杉山将宏、石橋奈々子、（中田恵子）、松村葉子、島田明子、柿本麻有、（渡辺ゆか）、安川沙織、Luo Lilan、前智之、矢島正幹、林里香、（清水良憲）、Pretiwi Prunaningrum、小島晶子（中）、岩崎まゆみ（中）、中川彩美（中）、氣多澄江（中）安藤沙友里（中）



WT

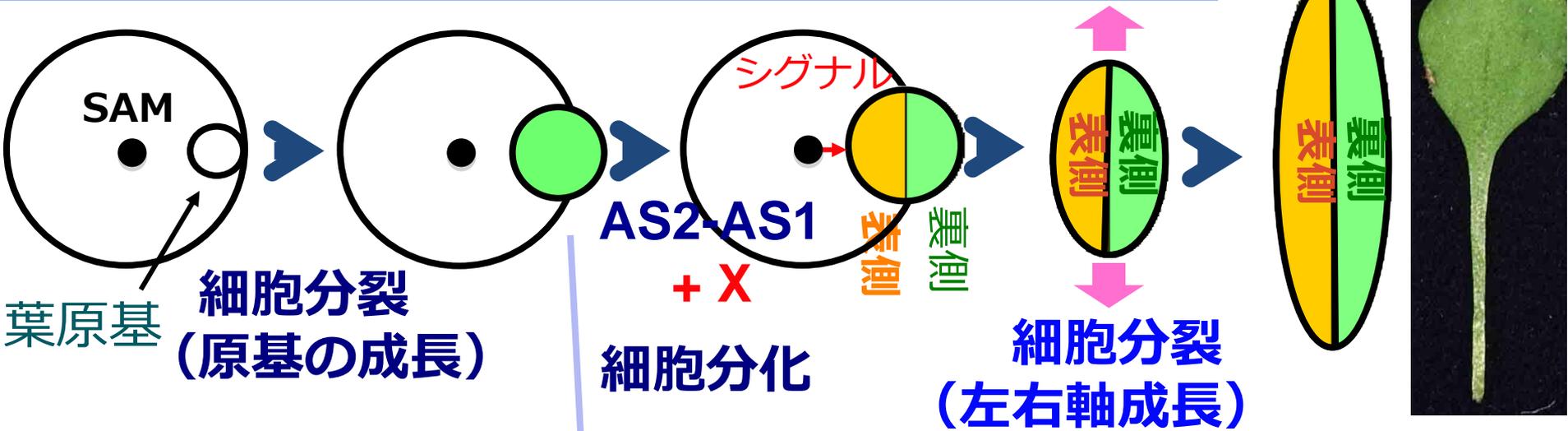


as2

多面発現的表現型
裏・表と再生能力

(Illustrated by Moeko Machida)

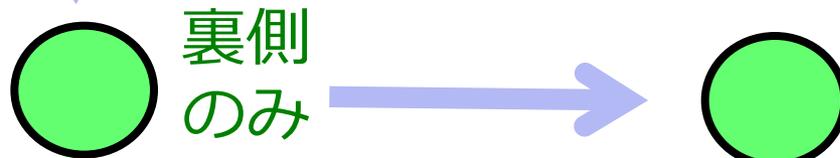
AS1-AS2 は、葉の向背軸決定に関わる遺伝子の発現を、上位から制御している



細胞分裂と細胞分化がカップルして進行していく

表側の因子に異常
(*as2* or *as1* + *x*)

- X* は複数ある
- ・ 変異体解析
 - ・ ケミカルバイオロジー



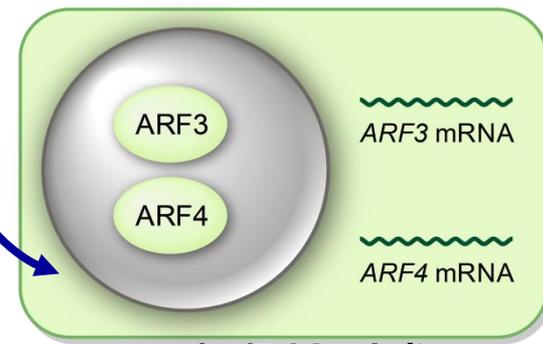
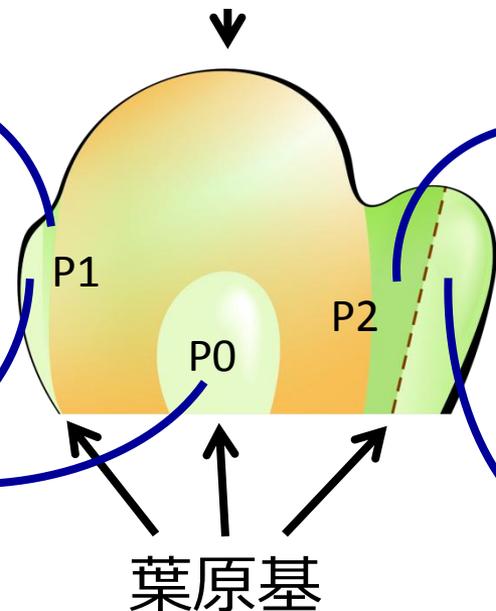
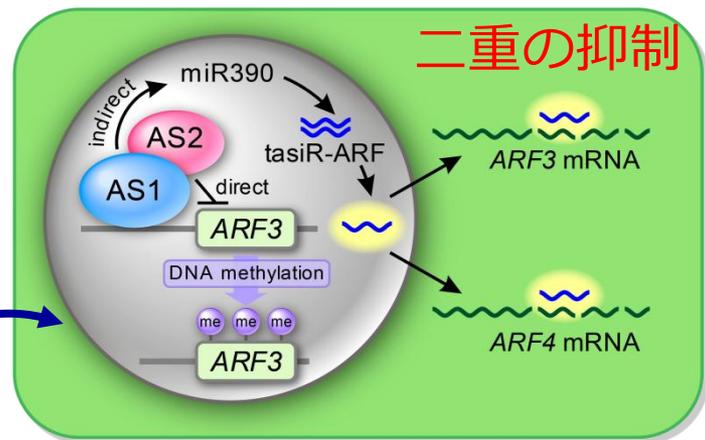
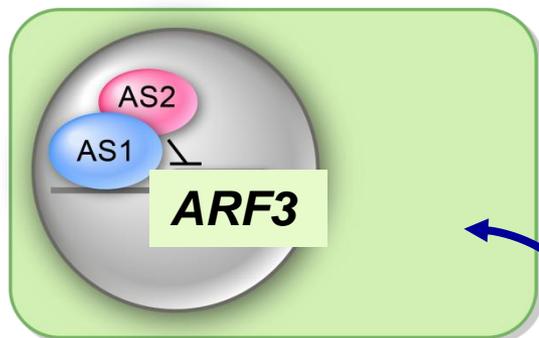
棒状や
はす状の葉



予定表側領域

成熟しつつある表側領域

多能性幹細胞集団



裏側領域

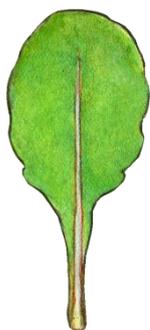
裏側領域



WT



as2



as2 arf3 arf4



as2 + 5-aza-2'-dC
(or + 複数変異体)



as2 + 5-aza-2'-dC
+ *arf3 arf4*

(Illustrated by Moeko & Chiyoko Machida)

as2 の分化再生異常の原因

WT (Col-0)



0%

12.3%

Shoots
地上部

根

as1-1



3.2%

1.2%

Shoots
地上部

根

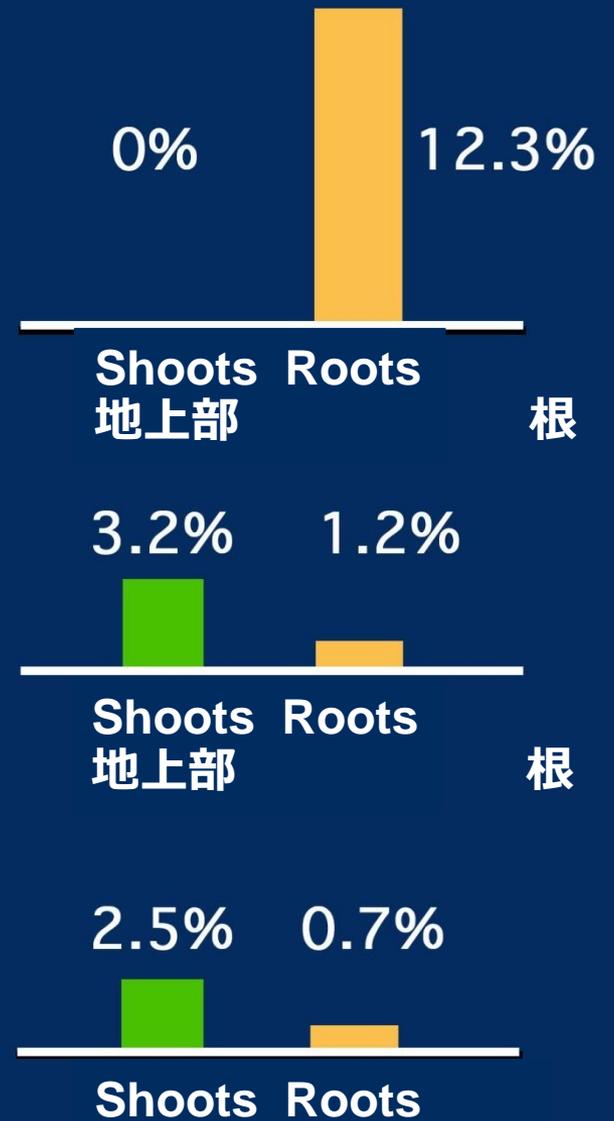
as2-1



2.5%

0.7%

Shoots
Roots



AS1 and AS2 repress independently at least three groups of genes

- ・マイクロアレー
- ・ChIP
- ・ChIP-on-Chip

Myb Plant-specific nuclear protein
AS1 AS2

Direct

Direct

Indirect

class 1 *KNOX*
BREVIPEDICELLUS
(*BP*)

Auxin Response Factor3
(*ARF3*)

YAB5

Semiarti, et al. 2001;
Guo et al., 2008;
Ikezaki et al. 2010;
Iwasaki et al. unpublished

Iwakawa et al. 2007
Iwasaki et al., unpublished

as1, *as2* 変異体: *BP* と *ARF3* mRNA レベル ↑

Q: 表現型の原因はどちらか? すべての人が地上部形成は*BP*の上昇と考えた. 強力なプロモーターを利用した異所的過剰発現から

as2 の分化再生異常の原因

WT (Col-0)



0%

12.3%

Shoots
地上部

Roots
根

as1-1



ARF3↑

3.2%

1.2%

KNOXs
BP↑

as2-1



Shoots
地上部

Roots
根

2.5%

0.7%

Shoots

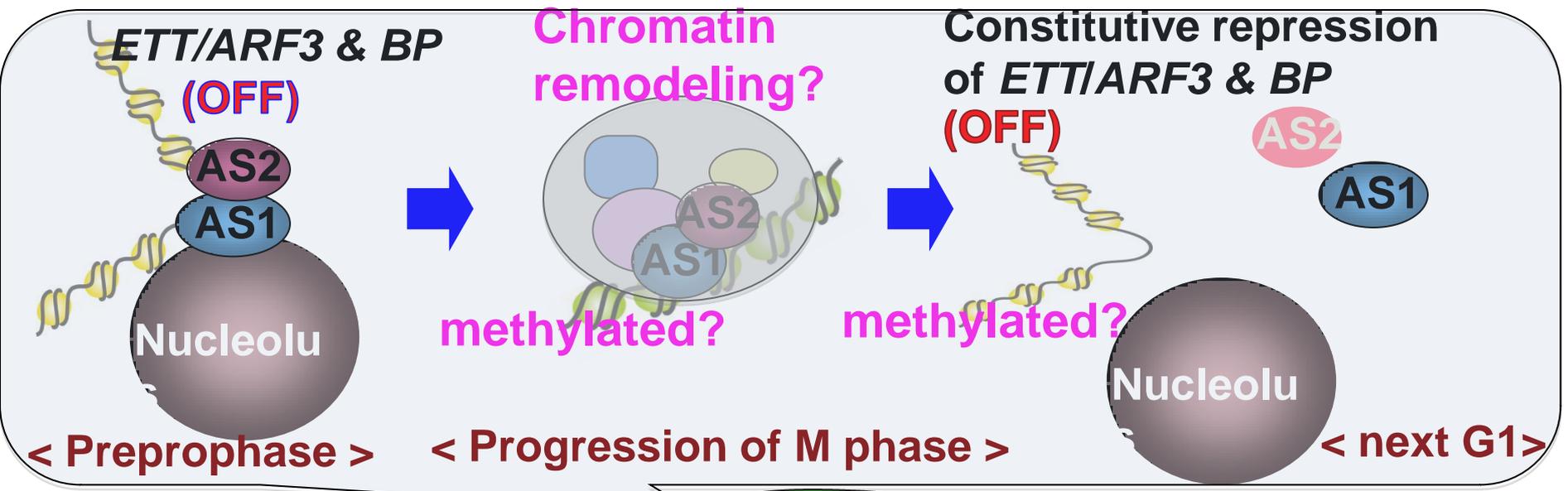
Roots



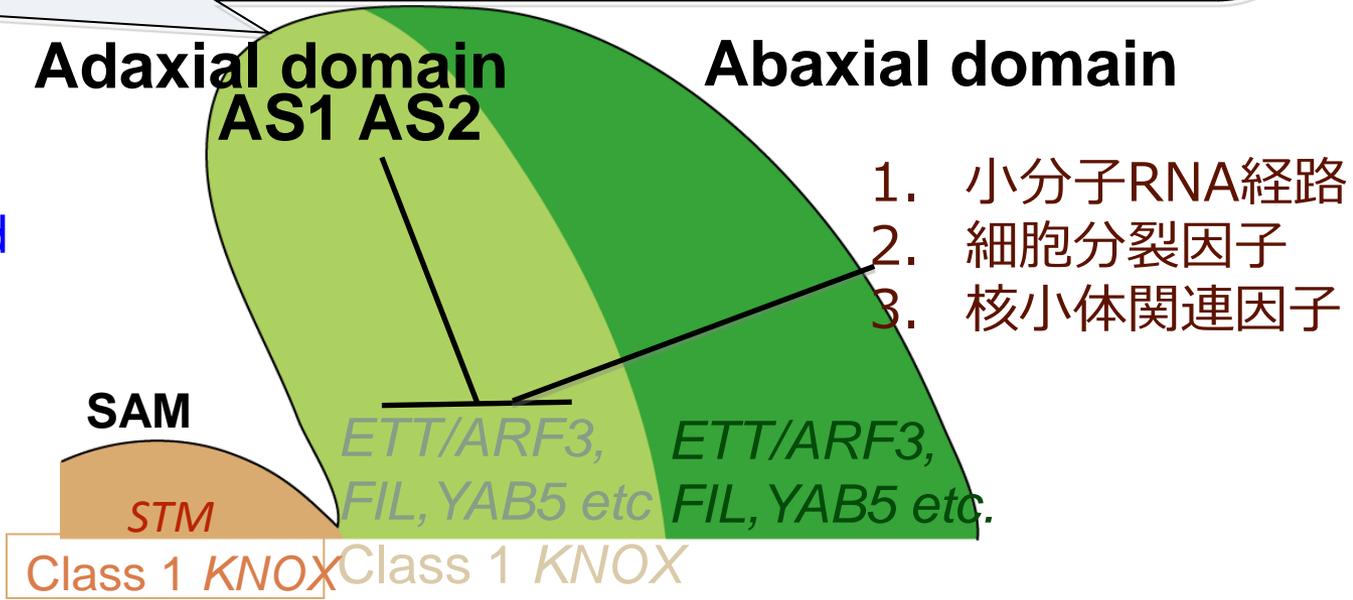
強い強制的発現から生体内で起こっていることを 予測することは難しい

- 特に発生分化には正と負のフィードバック制御が働くので、out put の背景を理解をすることを困難にしている。
- 時には重大な間違いをする。

Model for repression of *ETT/ARF3* and *BP* by AS2 body

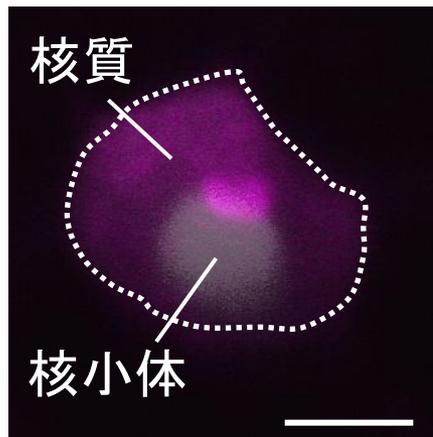


Our unpublished data showed that in *as1* and *as2*, the level of DNA methylation on *ARF3* gene decreased.



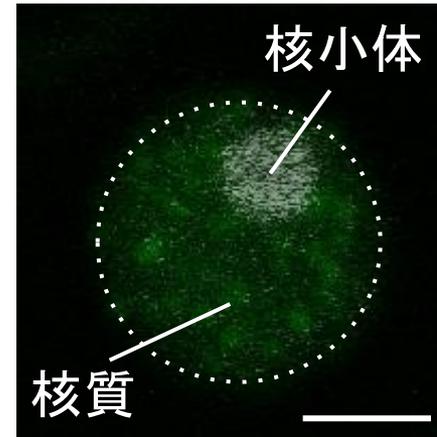
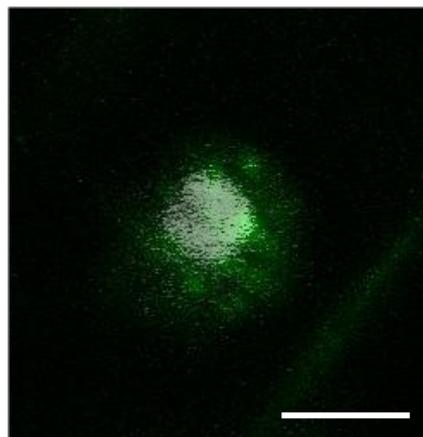
AS2、AS1タンパク質は核小体の周辺部のAS2 body に共局在する

AS2-YFP



Ueno *et al.*, 2007

GFP-AS1

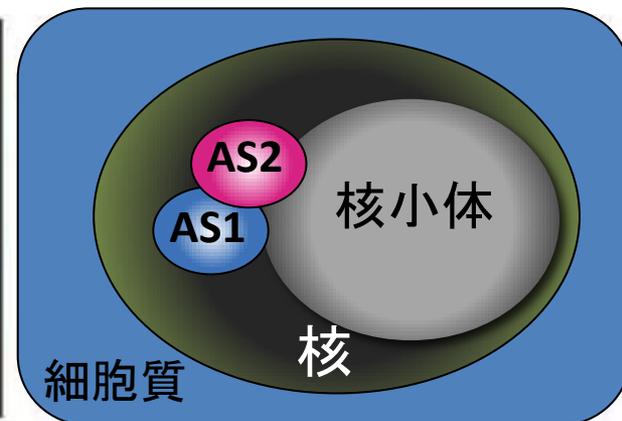


(Photo by Ishikawa)

Scale bars = 2 μ m

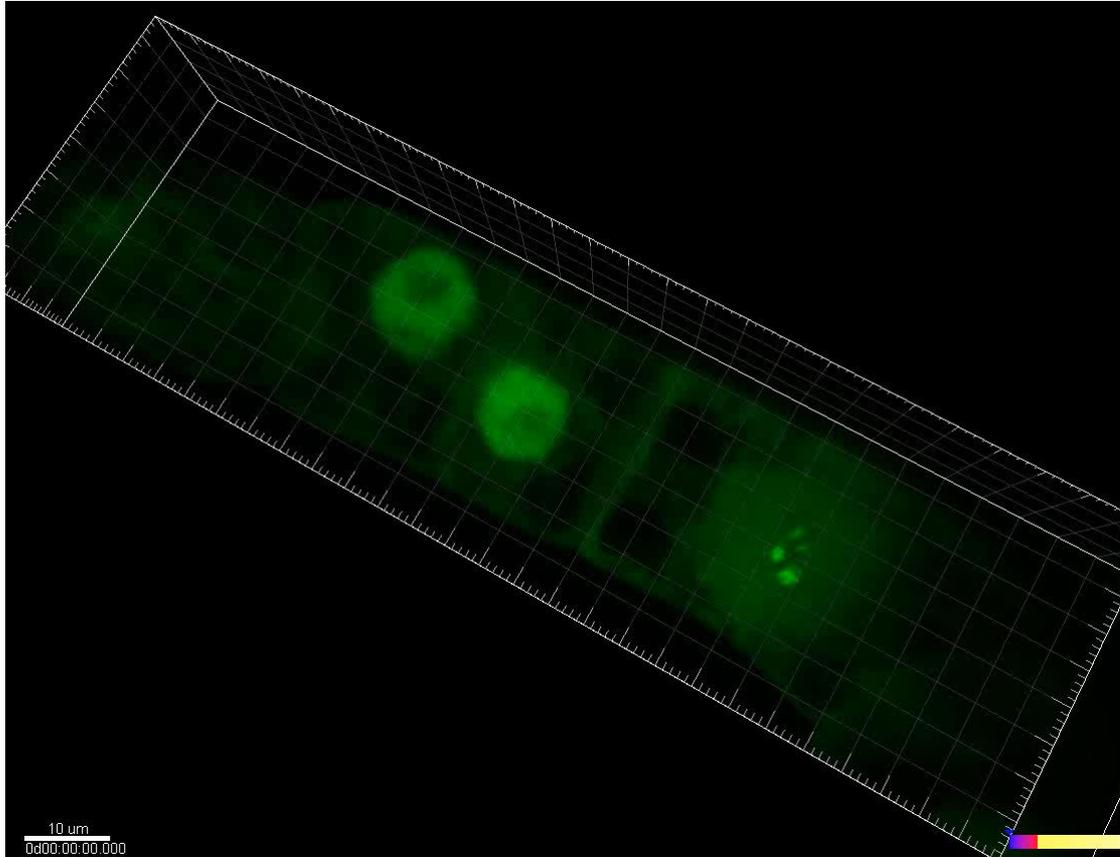
AS2は AS1 を AS2 body にリクルートする

Cajal body marker とは不一致



1. 間期にはわずかな細胞だけ、M 期に入ると100 % の細胞がAS2 body を形成した。

2. 染色体の分配と呼応するように、対をなして存在していた。



3. AS2 body は M 期中期頃に、二つに分かれ、いっせいに分かれていった。



Q:

1. いかにして、BP & ARF3 を抑え続けるか。

1. AS2 body は抑制に役割を果たしているか。それとも、AS2 body は分配にだけ機能しているのか？

3. 分配には正確な仕組みが働いていると思われる。

これらには、細胞周期 M 期の進行が関わっている可能性がある。

4. AS2 body の実体は何か？ どんな蛋白質を含むのか。RNA 分子は存在しているのか？

多細胞生物の発生分化においては、コインの裏・表の問題はそんなに単純なことではなく、互いに深く連関しているだろう。

Development 128, 1771-1783 (2001)
Printed in Great Britain © The Company of Biologists Limited 2001
DEV0348

The **ASYMMETRIC LEAVES2** gene of *Arabidopsis thaliana* regulates formation of a symmetric lamina, establishment of venation and repression of meristem-related homeobox genes in leaves

as2 表現型と下流に KNOXs

Endang Semiarti^{1,2}, Yoshihisa Ueno¹, Hirokazu Tsukaya³, Hidekazu Iwakawa¹, Chiyoko Machida¹ and Yasunori Machida^{1,*}

Plant Cell Physiol. 43(5): 467-478 (2002)
JSPF © 2002

AS2 遺伝子単離と特徴

Rapid Paper

The **ASYMMETRIC LEAVES2** Gene of *Arabidopsis thaliana*, Required for Formation of a Symmetric Flat Leaf Lamina, Encodes a Member of a Novel Family of Proteins Characterized by Cysteine Repeats and a Leucine Zipper

Hidekazu Iwakawa¹, Yoshihisa Ueno¹, Endang Semiarti^{1,4}, Hitoshi Onouchi^{1,5}, Shoko Kojima², Hirokazu Tsukaya³, Mitsuyasu Hasebe³, Teppei Soma¹, Masaya Ikezaki¹, Chiyoko Machida² and Yasunori Machida^{1,6}

The Plant Journal (2007) 51, 173-184

doi: 10.1111/j.1365-313X.2007.03132.x

Expression of the **ASYMMETRIC LEAVES2** gene in the adaxial domain of *Arabidopsis* leaves represses cell proliferation in this domain and is critical for the development of properly expanded leaves

発現領域と下流遺伝子の同定

Hidekazu Iwakawa^{1,2}, Mayumi Iwasaki¹, Shoko Kojima^{1,2}, Yoshihisa Ueno², Teppei Soma², Hirokazu Tanaka², Endang Semiarti^{2,4}, Yasunori Machida² and Chiyoko Machida^{1,3,*}

The Plant Cell, Vol. 19: 445-457, February 2007, www.plantcell.org © 2007 American Society of Plant Biologists

Histone Deacetylases and **ASYMMETRIC LEAVES2** Are Involved in the Establishment of Polarity in Leaves of *Arabidopsis*

核小体局在 HDAC と協調的に ---

Yoshihisa Ueno,^a Takaaki Ishikawa,^{a,b} Keiro Watanabe,^c Shinji Terakura,^a Hidekazu Iwakawa,^{a,b} Kiyotaka Okada,^{c,d} Chiyoko Machida,^{b,d} and Yasunori Machida^{a,1}

the plant journal



The Plant Journal (2009) 58, 525-537

doi: 10.1111/j.1365-313X.2009.03797.x

Characterization of genes in the **ASYMMETRIC LEAVES2/LATERAL ORGAN BOUNDARIES (AS2/LOB)** family in *Arabidopsis thaliana*, and functional and molecular comparisons between AS2 and other family members

AS2 と他のメンバーの比較

Yoko Matsumura^{1,2}, Hidekazu Iwakawa¹, Yasunori Machida² and Chiyoko Machida^{1,3,*}

the plant journal



The Plant Journal (2010) 61, 70-82

doi: 10.1111/j.1365-313X.2009.040

Genetic networks regulated by **ASYMMETRIC LEAVES1 (AS1)** and **AS2** in leaf development in *Arabidopsis thaliana*: **KNOX** genes control five morphological events

as2 表現型における KNOXs の貢献

Masaya Ikezaki¹, Mikiko Kojima², Hitoshi Sakakibara², Shoko Kojima^{3,4}, Yoshihisa Ueno¹, Chiyoko Machida^{3,4} and Yasunori Machida^{1,*}

Elongator HAT と協調的に ---



ASYMMETRIC LEAVES2 and Elongator, a Histone Acetyltransferase Complex, Mediate the Establishment of Polarity in Leaves of *Arabidopsis thaliana*

Shoko Kojima^{1,2}, Mayumi Iwasaki^{2,5}, Hiro Takahashi^{1,2}, Tomoya Imai¹, Yoko Matsumura^{1,3}, Delphine Fleury^{4,6}, Mieke Van Lijsebettens⁴, Yasunori Machida³ and Chiyoko Machida^{1,2,*}

Advance Publication by J-STAGE

http://www.jstage.jst.go.jp

Plant Biotechnology

DOI: 10.5511/plantbiotechnology.11.1101a

Original Paper

花器官形成における役割

Roles of the **ASYMMETRIC LEAVES2** gene in floral organ development in *Arabidopsis thaliana*

Sumie Keta,¹ Hidekazu Iwakawa,^{2,a} Masaya Ikezaki,³ Endang Semiarti,⁴ Shoko Kojima,¹ Yasunori Machida,³ Chiyoko Machida^{1,2,*}



ASYMMETRIC-LEAVES2 and an ortholog of eukaryotic NudC domain proteins repress expression of *AUXIN-RESPONSE-FACTOR* and class 1 *KNOX* homeobox genes for development of flat symmetric leaves in *Arabidopsis*

AS2 は NudC 様蛋白質と協調的に ---

Nanako Ishibashi¹, Kyoko Kanamaru², Yoshihisa Ueno¹, Shoko Kojima³, Tetsuo Kobayashi², Chiyoko Machida³ and Yasunori Machida^{1,4}

¹Division of Biological Science, Graduate School of Science, Nagoya University, Chikusa-ku, Nagoya 464-8602, Japan

Plant Mol Biol

as2 をベルベリンで処理すると葉は棒状化する

Berberine enhances defects in the establishment of leaf polarity in *asymmetric leaves2* and *asymmetric leaves1* of *Arabidopsis thaliana*

Ayami Nakagawa^{1†}, Hiro Takahashi^{1,2†}, Shoko Kojima^{1,2}, Nobuo Sato¹, Kazuomi Ohga², Byung Yoon Cha³, Je-Tae Woo^{2,3}, Kazuo Nagai^{2,3}, Gorou Horiguchi⁴, Hirokazu Tsukaya⁵, Yasunori Machida⁶ and Chiyoko Machida^{1,2} *

AS2 bodies は細胞周期 M 期に形成、分配される
Arabidopsis ASYMMETRIC LEAVES2 protein required for leaf morphogenesis consistently forms speckles during mitosis of tobacco BY-2 cells via signals in its specific sequence

Lilan Luo · Sayuri Ando · Michiko Sasabe · Chiyoko Machida · Daisuke Kurihara ·

その後の展開 4

3. T-DNA がコードする 6b 遺伝子の機能解明

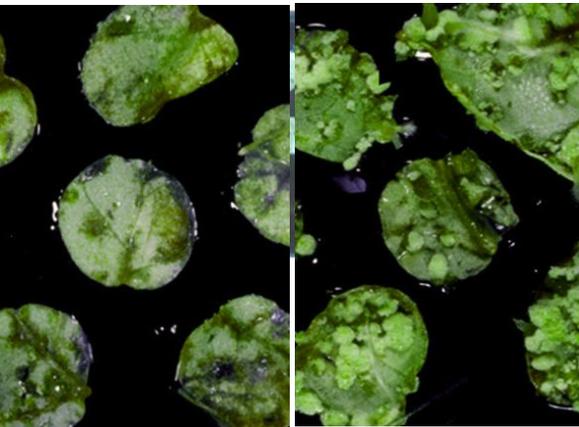
H3 シャペロン

酸性アミノ酸 208



- 6b

+ 6b



T-DNA of Ti plasmid



tms1

tms2

tmr

6b/tml

Auxin

synthesis

Cytokinin

synthesis

?

6b の発現の影響

個体レベル

植物個体の上に小さい腫瘍や

テラトーマの形成

葉柄が長く向軸側に湾曲した葉の形成

細胞レベル

Hormone-free 培地で細胞分裂を誘導

北倉佐恵子、寺倉伸治、上野宜久、塚越啓央
中村研三、田上英明、饗場弘二、我彦弘悦



マイクロアレー解析：多くのオーキシン誘導遺伝子の転写レベルが $\frac{1}{2}$ 以下に減少

推測

脱分化・再生にはオーキシン誘導遺伝子のクロマチンの再構成が重要かも知れない。

分子機構は不明であるが、今回同定された遺伝子の中から重要そうなものに焦点を当てて研究すれば、道は開けるかもしれない。

論文

The Plant Cell, Vol. 14, 451–463, February 2002, www.plantcell.org © 2002 American Society of Plant Biologists

The Protein Encoded by Oncogene *6b* from *Agrobacterium tumefaciens* Interacts with a Nuclear Protein of Tobacco

相互作用分子 **SIP1** を同定

Saeko Kitakura,^a Tomomichi Fujita,^{a,1} Yoshihisa Ueno,^a Shinji Terakura,^a Hiroetsu Wabiko,^b and Yasunori Machida^{a,2}

Plant Cell Physiol. 47(5): 664–672 (2006)
doi:10.1093/pcp/pcj036, available online at www.pcp.oupjournals.org
JSPF © 2006

Oncogene *6b* from *Agrobacterium tumefaciens* Induces Abaxial Cell Division at Late Stages of Leaf Development and Modifies Vascular Development in Petioles

個体でも細胞分裂が異常である

Shinji Terakura¹, Saeko Kitakura¹, Masaki Ishikawa^{1,4}, Yoshihisa Ueno¹, Tomomichi Fujita^{1,5}, Chiyoko Machida², Hiroetsu Wabiko³ and Yasunori Machida^{1,*}

¹ Division of Biological Sciences, Graduate School of Science, Nagoya University, Chikusa-ku, Nagoya 464-8602, Japan

J Plant Res (2008) 121:425–433
DOI 10.1007/s10265-008-0160-1

REGULAR PAPER

核小体蛋白質と相互作用

Interaction between *Agrobacterium tumefaciens* oncoprotein *6b* and a tobacco nucleolar protein that is homologous to TNP1 encoded by a transposable element of *Antirrhinum majus*

Saeko Kitakura · Shinji Terakura · Yasushi Yoshioka · Chiyoko Machida · Yasunori Machida

The Plant Cell, Vol. 19: 2855–2865, September 2007, www.plantcell.org © 2007 American Society of Plant Biologists

An Oncoprotein from the Plant Pathogen *Agrobacterium* Has Histone Chaperone-Like Activity^{WJ}

ヒストンシャペロン活性あり

Shinji Terakura,^a Yoshihisa Ueno,^a Hideaki Tagami,^b Saeko Kitakura,^c Chiyoko Machida,^c Hiroetsu Wabiko,^d Hiroji Aiba,^a Léon Otten,^e Hironaka Tsukagoshi,^f Kenzo Nakamura,^f and Yasunori Machida^{a,1}

生命現象



細胞分裂 と その他の生命活動

遺伝学、生化学、構造生物学、細胞生物学を駆使して攻めて行く。
システム生物学は？



2002 3 19



2003 3 25





2009

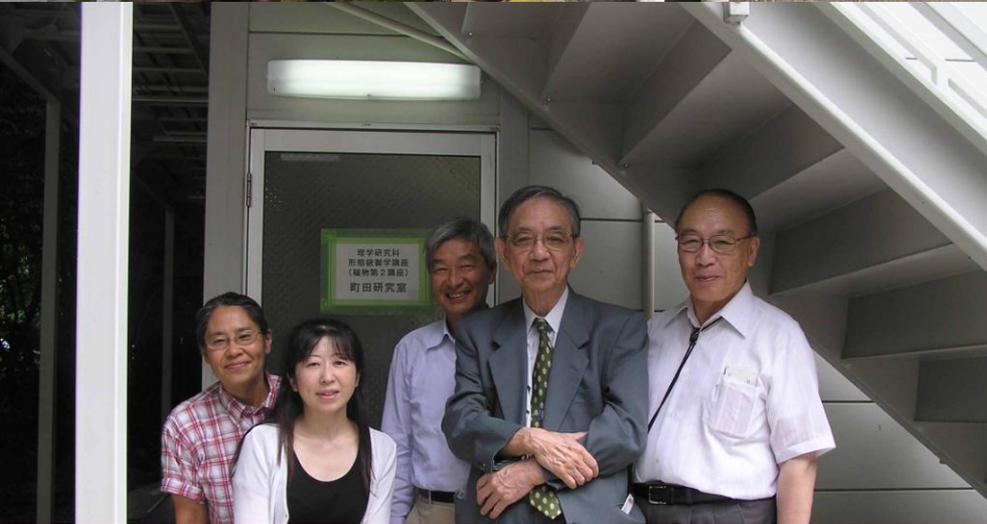


At graduation, March 2011

秘書：奥村ひとみさん
大谷千穂さん



技術員：花田和美さん
村中美紀さん



生物事務室の田中さん、澤田さん
(2008年遺伝学会のおり)





最近少し絵のことが分かってきたような気がします。
奥村土牛（67 歳）

一枚の葉が手に入れば、宇宙を手にいれたことになる。
（安田 鞞彦さんから小倉遊亀さんへ）

<研究費> 感謝

- 学振奨励研究員、内藤記念奨励金
- 特定研（高木康敬先生：九大）
- 重点（建部到先生、駒嶺穆先生；大野孝司先生；小川英行先生；高橋万右衛門先生；原田宏先生；山田康之先生；西本毅治先生；須藤和夫先生；中村研三先生；岡田清孝先生）
- 特定（福田裕穂先生）
- 特定（自身の申請を6年間採択して下さった審査員の方々）
- 未来開拓学術推進事業（駒嶺穆先生）
- 生研センター
- 21世紀COE
- 一般研究、基盤研究

<研究基盤と環境>

名古屋大学理学研究科、遺伝子実験施設（杉浦先生には実験機器なども頂きました）

<論文発表>

Mary-Dell Chilton, Nam-Hai Chua, Barbara Hohn, Gerd Jürgens, Dirk Inzé, Pascal Genschik, Heri Hirt, Léon Otten,