

藤田保健衛生大学総合医科学研究所 教授

岡崎 恒子

「哺乳類人工染色体の開発と個体の形質転換への利用」

1. 研究実施の概要

染色体が細胞の世代を通して安定に維持・継承されるためには、複製起点・セントロメア・テロメア（環状ゲノムの場合には不必要）の機能が必要とされる。これら三領域 DNA の研究には出芽酵母の系で人工染色体の形成能を指標とした解析法が確立しており、研究過程で構築された環状並びに線状の人工染色体は酵母細胞における遺伝子導入ベクターとして広く利用されている。研究代表者らは、明確な分離法の確立も構造決定もされていない哺乳類細胞の複製起点やセントロメアの解析に突破口を開く目的で、哺乳類細胞で安定維持される人工染色体（哺乳類人工染色体 MAC、ヒト人工染色体 HAC）を構築する研究に着手した。この研究で得られる HAC（MAC）は、宿主細胞の染色体外で維持継承される巨大容量を持つ新規クローニングベクターとしても利用価値が非常に高いと考えられた。当初は、哺乳類セントロメア DNA は巨大で複雑な繰り返し配列からなる取り扱い困難な配列として十分な研究がなかった。研究代表者らのグループでは、先ずヒトセントロメアの分子的構造の解析により CEN-DNA の候補配列を絞り、次いで CEN-DNA 活性を哺乳類細胞中での人工染色体の形成能で検定するという順序で解析を進めた。ヒト 21 番染色体セントロメア領域で二種類のアルファサテライト（アルフォイド）配列の存在を明らかにし、これら配列を酵母人工染色体（YAC）に組み込み（鎖長約 80kb）、このアルフォイド YAC をヒト培養細胞 HT1080 に導入したところ、一方の配列 {CENP-B 結合配列（CENP-B box）が存在する I-型アルフォイド配列} を組み込んだ YAC からのみ安定に維持される HAC が *de novo* に形成された。

本研究課題では、以上の研究成果を基に、哺乳類（ヒト）セントロメアの分子的構造の解析を更に進展させること、並びに、ヒト人工染色体の構築法の確立と細胞レベルならびに個体レベルでの利用技術の開発を目指した。

研究目標に応じて三研究グループを組織した。

基礎研究技術開発グループ

研究課題 1：哺乳類（ヒト）セントロメア・キネトコアの構造解析

依田欣哉研究チーム（名古屋大学生物分子応答研究センター）

哺乳動物細胞染色体セントロメア・キネトコア領域は数キロから数メガ塩基対に及ぶ長大な DNA を含む DNA/蛋白質複合体である。HeLa 細胞核を用いた *in vivo* 解析、及び精製蛋白を用いた *in vitro* 解析により以下の点を明らかにした。① *in vitro* 再構成系において CENP-A はヒストン H3 に代わってヒストン H4、H2A、H2B と共にヌクレオソームを構成する。② CENP-A を含むキネトコアクロマチンは選択的に I-型アルフォイド配列上に形成される。③ CENP-B はアルフォイド配列上に規則的に存在する CENP-B box 配列に結合し、セントロメアヌクレオソームを規則正しく整列させる。④ CENP-A ヌクレオソーム/CENP-B/CENP-C は複合体を形成し、アルフォイド DNA の繰り返しを反映する形でユニットを構成し、M 期にはこの複合体がキネトコア内層を構成する。また、方法論上の重要成

果として、①極めて特異性の高い抗 CENP-A モノクローナル抗体を得、②本抗体を用いた免疫沈降法によってセントロメア複合体 (CEN-complex) の単離・精製法を確立した。

岡崎恒子研究チーム (藤田保健衛生大学総合医科学研究所)

依田チームとの密接な共同研究により上記研究を行った。また横山茂之研との共同研究により CENP-B 蛋白が DNA 上の CENP-B box 配列に結合すると DNA は 60 度湾曲することを明らかにした。

舛本寛研究チーム (名古屋大学理学研究科)

HT1080 細胞中での HAC 形成能に基づいてセントロメア・キネトコア構造形成に必要な DNA 配列を限定した。CENP-B box を高い頻度で含む約 70kb の I-型アルフォイド DNA を YAC ベクターに組み込み、末端にヒトテロメア配列を付加し、この DNA を HT1080 細胞へ導入すると、効率よく HAC が形成された。アルフォイド DNA のサイズを短くした欠失シリーズを構築し HT1080 細胞へ導入したところ、30kb 以下の場合には HAC 形成効率が急激に低下した。一方、*in vitro* で I-型アルフォイド繰り返し単位を合成し 60kb の長さにしたものを HT1080 細胞へ導入したところ、HAC とセントロメア形成が効率よく起こった。合成アルフォイド DNA 中のすべての CENP-B box に CENP-B の結合能を失わせる塩基置換を導入すると、HAC 並びにセントロメア形成が起こらなくなった。以上の結果は、CENP-B box を含んだ I-型アルフォイド DNA の連続した繰り返しが新規セントロメア/キネトコア構造形成に必要且つ十分な構造であることを示している。また、CENP-B と CENP-C は直接相互作用することを明らかにした。

竹安邦夫研究チーム (京都大学大学院生命科学研究科)

走査型プローブ顕微鏡の一種である原子間力顕微鏡は、電子顕微鏡と同程度あるいはそれ以上の解像度を有し、しかも標本作成の過程で、固定、染色、脱水、等の処理が不要であるという利点を持つので、染色体構造の解析への利用を目指した。セントロメア DNA とコアヒストンとの相互作用、セントロメアクロマチン形成への CENP-A の役割、更にはクロマチン形成における CENP-B の効果等を解析した。

研究課題 2 : ヒト人工染色体の構築と利用技術の開発

岡崎恒子研究チーム (藤田保健衛生大学総合医科学研究所)

HAC は I-型アルフォイド配列 80kb 程度をもつ YAC を前駆体として当初構築されたが、50-100kb のアルフォイド配列をもつ BAC から構築できることを示し構築過程を容易化した。形成される HAC のサイズは数メガ塩基対に達し、前駆体 YAC 或いは BAC が多量体化していた。この情報をヒントに遺伝子の挿入された HAC を構築する方法として、前駆体アルフォイド YAC 或いは BAC と任意遺伝子が挿入された YAC 或いは BAC を混合した試料を用いる方法を確立した。この方法で独自制御領域を備えたヒト β -グロビン遺伝子

や GTP シクロヒドロラーゼ遺伝子 (GCH1) を取り込んだ HAC を構築した。GCH1 はビオプテリン合成の最初の遺伝子である。両遺伝子からは独自の制御領域に支配された発現がみられ、HAC 上のセントロメア領域による転写抑制は受けなかった。以上の結果から、HAC は染色体を傷つけず巨大遺伝子が挿入でき、細胞増殖過程で安定に維持される、哺乳類細胞の有用な新規ベクターといえる。

マウス胚導入グループ

研究課題：ヒト人工染色体を保有するマウス胚性幹細胞の作製及び人工染色体を保有するマウスの作出

岡崎恒子研究チーム（藤田保健衛生大学総合医科学研究所）

ヒト型遺伝子を正しい制御の下で様々なレベル発現できるモデル動物個体の作出に HAC を利用する技術の確立を目指して研究を行った。HT1080 細胞中で形成した GCH-HAC を細胞融合法によりマウス A9 細胞に移入し、そこから更に微小核細胞融合法によりマウス胚性幹細胞へと移入することに成功した。GCH-HAC 保有マウス胚性幹細胞を用いて HAC 保有キメラマウスを作出した。キメラマウスの各臓器には HAC が存在しており、発生を通じて HAC が安定維持されることが明らかになった。

基礎的遺伝子治療グループ

研究課題：遺伝子治療への HAC の利用を可能とする基礎研究開発

岡崎恒子研究チーム（藤田保健衛生大学総合医科学研究所）

HAC は巨大遺伝子を導入でき、宿主染色体を傷つけず、細胞中で安定に維持される点で遺伝子治療に通常使用されるウイルスベクターに勝る。独自制御領域をもつ β -グロビン遺伝子約 10 コピーを持つ HAC (β -グロビン HAC) を構築し、この HAC を HT1080 細胞から赤白血病細胞 K562 へ移入した。HT1080 細胞では発現しなかったグロビン遺伝子が K562 細胞中ではコピー数を反映し強く発現した。グロビン HAC によりグロビン発現量の低いサラセミア患者へのグロビン補完が有望なことを示唆している。HAC を高頻度に血液幹細胞に導入する技術の開発等により遺伝子治療への途が開けるであろう。GCH-HAC も瀬川病等への遺伝子活性補完の可能性を有する。

2. 研究構想

染色体が細胞の世代を通して安定に維持・継承されるためには、複製起点・セントロメア・テロメア（環状ゲノムの場合には不必要）の機能が必要とされる。研究代表者らは、哺乳類染色体の複製起点やセントロメアの分離と活性構造の決定を目指して、哺乳類細胞中で安定に維持・継承される人工染色体（哺乳類人工染色体 MAC、ヒト人工染色体 HAC）を構築する研究を 1980 年代後半に開始した。言うまでもなく、この研究で得られる人工染

染色体は宿主細胞の染色体外で維持継承される巨大容量を持つ新規クローニングベクターとして利用価値が高い。ヒト 21 番染色体セントロメアの分子的構造の解析により CEN-DNA の候補配列を絞り、次いで CEN-DNA 活性を哺乳類細胞中での人工染色体の形成能で検定するという順序で解析を進めた。ヒト 21 番染色体セントロメア領域の DNA 構造の解析から、CENP-B 結合配列を持つ I-型アルフォイド配列をセントロメア DNA の候補配列と推定し、80kb の I-型アルフォイド配列を YAC に組み込みヒト培養細胞 HT1080 に導入して、ヒト細胞で安定に維持される HAC を *de novo* に形成させることに成功した (1996 年)。1997 年に開始した本研究課題では、以上の成果を基に、哺乳類 (ヒト) セントロメア・キネトコアの分子的構造の解析を更に進展させること、並びに、HAC の構築法の確立と細胞レベルならびに個体レベルでの利用技術の開発を目指した。この研究目標に基づき三研究グループを組織し、4 研究室の恒常的参加を得て研究を進めた。

基礎研究技術開発グループ

課題 1 : セントロメア・キネトコアの構造解析

依田研究室 (責任者: 依田欣哉、名古屋大学生物分子応答研究センター)

岡崎研究室 (責任者: 岡崎恒子、藤田保健衛生大学)

舛本研究室 (責任者: 舛本寛、名古屋大学大学院理学研究科)

竹安研究室 (責任者: 竹安邦夫、京都大学大学院生命科学研究科)

課題 2 : HAC の構築と利用技術の開発

岡崎研究室 (責任者: 岡崎恒子、藤田保健衛生大学)

マウス胚導入グループ

岡崎研究室 (責任者: 岡崎恒子、藤田保健衛生大学総合医科学研究所): HAC を保有するマウス胚性幹細胞の作製及び HAC を持つマウスの作出。

基礎的遺伝子治療グループ

岡崎研究室 (責任者: 岡崎恒子、藤田保健衛生大学):

ビオプテリン代謝異常疾患への HAC の利用法 {協力 一瀬宏教授、藤田保健衛生大}。

血液細胞への HAC の導入法と遺伝子発現

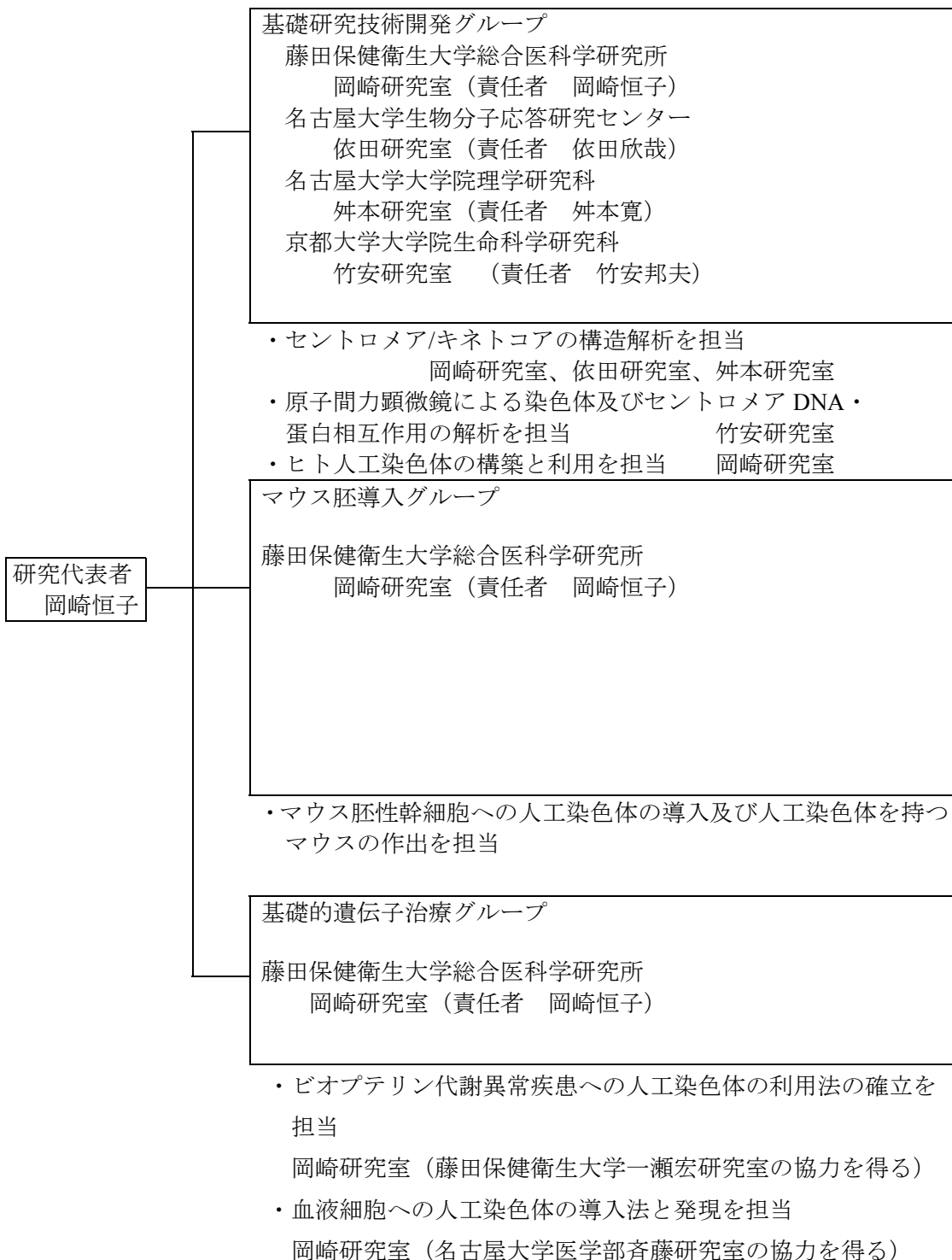
基礎研究技術開発に重点を置いた解析を先行させた。「セントロメア・キネトコアの蛋白と DNA 構造」の解析をすすめ、並行して「HAC の形成に必須な DNA 構造」を解析し、「I-型アルフォイド配列の重要性」を確認した (依田、岡崎、舛本、竹安グループ)。HAC はアルフォイドを持つ YAC のみならずアルフォイドを持つ BAC を前駆体としても構築出来た。「HAC は前駆体が多量体化」した構造であった。この構造解析の結果をもとに「独自の制御領域を持つ巨大遺伝子が挿入された HAC の構築法」の確立を目指した。アルフォイドを持つ前駆体 YAC と目的遺伝子を持つ YAC との混合試料、或いはアルフォイドを持

つ前駆体 BAC と目的遺伝子を持つ BAC との混合試料を HT1080 細胞に導入する方法によって、巨大な目的遺伝子を持つ HAC を形成する技術を確立出来た。この方法を用いて β グロビンクラスター全領域を持つ HAC や GTP シクロヒドロラーゼ 1 (GCH1) 全遺伝子領域を持つ HAC の形成に成功した。このように、HAC を「哺乳類細胞における巨大遺伝子の挿入が可能な新規ベクター」として利用する途を拓くことが出来た (岡崎グループ)。HAC を持つマウス個体の作出のために、先ず HAC が最初に形成される HT1080 細胞から「HAC を種々の細胞に移入する方法」を確立し、この過程で「マウス胚性幹細胞にも HAC を移入」する計画をたてた。遺伝子保有各種 HAC でマウス胚性幹細胞への移入を試みたが、先ず「GCH1-HAC を持つマウス胚性幹細胞の樹立」に成功した。次に、ヒト型遺伝子からの転写が組織特異的な制御を受け、しかも様々なレベル発現可能な「マウス個体の作出」を目指した。第一例として GCH1-HAC を持つマウス胚性幹細胞を用いて「キメラマウスの作出」に成功した。HAC はマウス個体発生過程で安定に維持された (岡崎グループ)。HAC 保有個体の作出法の第一歩は踏み出せたので、今後はトランスジェニックマウス作出へ挑戦する。

遺伝子治療への利用を可能とする基礎研究においては、従来のウイルスベクターとは異なり、「本来の制御領域を持つ遺伝子を HAC ベクターに入れて遺伝子機能を相補させる」系の開発を目指している。先ず、遺伝子を持つ HAC を「遺伝子発現に適した細胞中に移入」し、期待される転写制御がみられるかを確認する。この目的に沿って、HT1080 (繊維芽細胞) 中で形成された β グロビン-HAC を遺伝子発現が期待される赤白血球細胞 K562 に導入し、 β グロビン遺伝子の発現が HT1080 中では押さえられているが後者では正常に行われることを確認した。第一段階はクリアしたので、今後は HAC を血液幹細胞に効率よく導入できるような技術の開発により、遺伝子治療への HAC の使用に途を拓く必要がある。GCH1-HAC については瀬川病等のビオプテリン代謝異常疾患へ利用の可能性があり胚性幹細胞へ移入したのち神経細胞への分化を試みつつある。

3. 研究の実施体

(1) 体制



4. 研究期間中の主な活動

(1) ワークショップ・シンポジウム等

年月日	名称	場所	参加人数	概要
平成 12 年 3 月 27 日	研究チーム 合同会議	藤田保健衛生大学総 合医科学研究所 1 階会議室	14 名	平成 11 年度における進歩 状況と問題点の報告・今後 の方針の検討
平成 12 年 5 月 12 日	研究打ち合 わせ	藤田保健衛生大学総 合医科学研究所 1 階会議室	10 名	研究に関する検討会
平成 12 年 6 月 23 日	研究打ち合 わせ	藤田保健衛生大学総 合医科学研究所 1 階会議室	10 名	研究に関する検討会
平成 12 年 7 月 28 日	研究打ち合 わせ	藤田保健衛生大学総 合医科学研究所 1 階会議室	10 名	研究に関する検討会
平成 12 年 10 月 20 日	研究打ち合 わせ	藤田保健衛生大学総 合医科学研究所 1 階会議室	10 名	研究に関する検討会
平成 12 年 12 月 5 日	研究打ち合 わせ	藤田保健衛生大学総 合医科学研究所 1 階会議室	10 名	進歩状況と問題点の報 告・今後の方針の検討
平成 13 年 5 月 25 日	研究打ち合 わせ	藤田保健衛生大学総 合医科学研究所 1 階会議室	9 名	研究に関する検討会
平成 13 年 7 月 27 日	研究打ち合 わせ	藤田保健衛生大学総 合医科学研究所 1 階会議室	8 名	研究に関する検討会
平成 13 年 9 月 28 日	研究打ち合 わせ	藤田保健衛生大学総 合医科学研究所 1 階会議室	9 名	研究に関する検討会

5. 主な研究成果

(1) 論文発表 (国内 7 件、海外 22 件)

海外

1. K. Yoda, S. Ando, A. Okuda, A. Kikuchi and T. Okazaki: In vitro assembly of the CEN-P B/ α -satellite DNA/core histone complex: CENP-B causes nucleosome positioning. *Genes to Cells*, 3, 533-548 (1998)
2. M. Ikeno, B. Grimes, T. Okazaki, M. Nakano, K. Saito, H. Hoshino, N. I. McGill, H. Cooke and H. Masumoto: Construction of YAC based mammalian artificial chromosomes. *Nature Biotech.*, 16, 431-439 (1998)
3. H. Masumoto, M. Ikeno, M. Nakano, T. Okazaki, B. Grimes, H. Cooke and N. Suzuki: Assay of centromere function using a human artificial chromosome. *Chromosoma*, 107, 406-416 (1998)

4. M. H. Sato, K. Ura, K. I. Hohmura, F. Tokumasu, S.H. Yoshimura, F. Hanaoka & K. Takeyasu: Atomic Force Microscopy Sees Nucleosome Positioning and Histone H1-induced Compaction in Reconstituted Chromatin. *FEBS Lett.*, 452: 267-271 (1999)
5. S. Akita, H. Nishijima, Y. Nakayama, F. Tokumasu & K. Takeyasu: Carbon Nanotube Tips for a Scanning Probe Microscope: Their fabrication and properties. *J. Phys. D: Appl. Phys.*, 32: 1044-1048 (1999)
6. H. Nishijima, S. Kamo, S. Akita, Y. Nakayama, K.I. Hohmura, S.H. Yoshimura & K. Takeyasu: Carbon-nanotube Tips for Scanning Probe Microscopy: Preparation by a Controlled Process and Observation of Deoxyribonucleic Acid. *Appl. Phys. Lett.*, 74: 4061 – 4063 (1999)
7. C. Yoshida, F. Tokumasu, K.I. Hohmura, J. Bungert, N. Hayashi, T. Nagasawa, J.D. Engel, M. Yamamoto, K. Takeyasu, K. Igarashi: Long-range interaction of *cis*-DNA elements mediated by architectural transcription factor Bach1. *Genes to Cells*, 4: 643 – 655 (1999)
8. K. Yoda, S. Ando, S. Morisita, K. Houmura, K. Hashimoto, K. Takeyasu and T. Okazaki: Human centromere protein A (CENP-A) can replace histone H3 in nucleosome reconstitution *in vitro*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97, 7266-7271 (2000)
9. N. Sugata, S. Li, W. C. Earnshaw, T. J. Yen, K. Yoda, H. Masumoto, E. Munekata, P. E. Warturton and K. Todokoro: Human CENP-H multimers colocalize with CENP-A and CENP-C at active centromere-kinetochore complexes. *Human. Molec. Genet.*, 9, 2919-2926 (2000)
10. S. H. Yoshimura, C. Yoshida, K. Igarashi and K. Takeyasu: AFM proposes a ‘Kiss and Pull’ mechanism for enhancer function. *J. Electron Microscopy*, 49: 407 – 413 (2000)
11. K. I. Hohmura, Y. Itokazu, S. H. Yoshimura, G. Mizuguchi, Y. Masamura, K. Takeyasu, Y. Shiomi, T. Tsurimoto, H. Nishijima, S. Akita and Y. Nakayama: AFM with carbon nanotube resolve the subunit organization of protein complexes. *J. Electron Microscopy*, 49: 415 – 421 (2000)
12. S. H. Yoshimura, R. L. Ohniwa, M. H. Sato, F. Matsunaga, G. Kobayashi, H. Uga, C. Wada and K. Takeyasu: DNA phase transition promoted by replication initiator. *Biochemistry*, 39: 9139 – 9145 (2000)
13. Y. Shiomi, J. Usukura, Y. Masamura, K. Takeyasu, Y. Nakayama, C. Obuse, H. Yoshikawa and T. Tsurimoto: ATP-dependent structural change of the eukaryotic clamp loader protein, RFC. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 97, 14127-14132 (2000)
14. Y. Tanaka, O. Nureki, H. Kurumizaka, S. Fukai, S. Kawaguchi, M. Ikuta, T. Okazaki, S. Yokoyama: Crystal structure of the CENP-B protein • DNA complex: The DNA-binding domains of CENP-B induce kinks in the CENP-B box DNA. *EMBO J.* 20, 6612-6618 (2001)
15. Sakaue, S. H. Yoshimura, K. Takeyasu and K. Yoshikawa: Histone core slips along DNA and prefers positioning at the chain end. *Phys. Rev. Lett.*, 87, 078105 (2001)
16. S. Ando, H. Yang, N. Nozaki, T. Okazaki, K. Yoda: CENP-A/B/C chromatin that contains the I-Type α -satellite array constitutes the pre-kinetochore in HeLa cells. *Mol. Cell. Biol.* 22, 2229-2241 (2002)
17. M. Ikeno, H. Inagaki, K. Nagata, M. Morita, H. Ichinose, T. Okazaki: Generation of human artificial chromosomes expressing naturally controlled guanosine triphosphate cyclohydrolase I gene. *Genes to Cells*, 7, 1021-1032 (2002)
18. J. Kikuchi, J. Iwahara, T. Kigawa, Y. Murakami, T. Okazaki, S. Yokoyama: Solution structure determination of the two DNA-binding domains in the *Shizosaccharomyces pombe* Abp1

- protein by a combination of dipolar coupling and diffusion anisotropy restraints. *J. Biomol. NMR*, 22, 333-347 (2002)
19. H. Yoshimura, K. Hizume, A. Murakami, T. Sutani, K. Takeyasu and M. Yanagida.:
Condensin Architecture and Interaction with DNA: Regulatory Non-SMC Subunits Bind to SMC Heterodimer and Restrains its Assembly on DNA. *Current Biology*, Vol.19, 508—513 (2002)
 20. H. Shige, S. H. Yoshimura, K. Hizume, H. Maruyama, J. Kim, H. Wada and K. Takeyasu:
Structural analysis of reconstituted nucleosomes and chromatin fibers by atomic force microscopy. *Arch. Histology Cytology* (In Press).
 21. S. H. Yoshimura, K. Hizume, Y. Murayama, J. Kim, K. Takeyasu: Nano-biology in Japan: Application of nano-technology to genome research. *Advance in Nano-technology* (In press).
 22. J. Ozeki, M. Nakano, M. Okada, H. Masumoto: CENP-B box is required for *de novo* centromere chromatin assembly on human alphoid DNA. *J. Cell Biol.* (In press).

国内

総説 (セントロメアと人工染色体関係のみ記載)

1. 池野正史、岡崎恒子：セントロメアの分子的構造と機能—ヒトを中心に—
臨床化学 25, 127-137 (1998)
2. 池野正史、岡崎恒子：哺乳動物の人工染色体。生体の科学、 50, 602-611 (1999)
3. 舛本寛：哺乳動物人工染色体、日本生化学会編：バイオサイエンスの新世紀 生命工学 15, 23-32 (2002)
4. 吉村成弘、竹安邦夫：遺伝子のナノ構造生物学。生化学 (2001)
5. 吉村成弘、竹安邦夫：原子間力顕微鏡と分子生物学の接点 ～遺伝子のナノバイオロジー～。電子顕微鏡 36, 182-188 (2001)
6. 吉村成弘、竹安邦夫：ゲノムの高次構造を作る役者たち 数理科学 468, 38-43 (2002)
7. 日詰光治、吉村成弘、竹安邦夫：ビジュアルバイオロジー1 核酸から核へ — “遺伝子のかたち”を探る旅 実験医学増刊 20, 121-130 (2002)

(2) 特許出願 (国内 3件、海外 手続中3件)

1. 発明者：依田欣哉、野崎直仁、岡崎恒子
発明の名称：CENP-A蛋白質の抗体、及びその製法
出願番号：特願 2002-23587
出願日：2002年1月31日
国際特許出願手続き中
2. 発明者：岡崎恒子、池野正史、伊藤俊英
発明の名称：哺乳類人工染色体
出願番号：特願 2002-258114

出願日：2002年9月3日

国際特許手続き中

3. 発明者：岡崎恒子、池野正史、伊藤俊英、鈴木伸卓

発明の名称：哺乳類人工染色体

出願番号：特願 2002-338865

出願日：2002年11月22日

国際特許手続き中

(3) 新聞報道等

①新聞報道

Japan Times、The NIKKEI WEEKLY、日経、中日、朝日、東京、上毛、
2000年1月-2月 UNESCO-L'Oreal Helena Ruinstein 賞に関する記事

読売新聞 時代を開いた女性たち 2002年3月5日-14日（後単行本となる）

②受賞（岡崎恒子）

ユネスコーロリアル・ヘレナルビンスタイン賞 2000年1月

生命科学の分野で優れた業績をあげた女性科学者として

紫綬褒章 2000年11月 分子生物学に対する貢献

③その他

NHK 教育テレビ 心の時代 9月29日（11月再放送）

生命の根源を見つめて