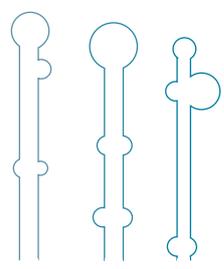




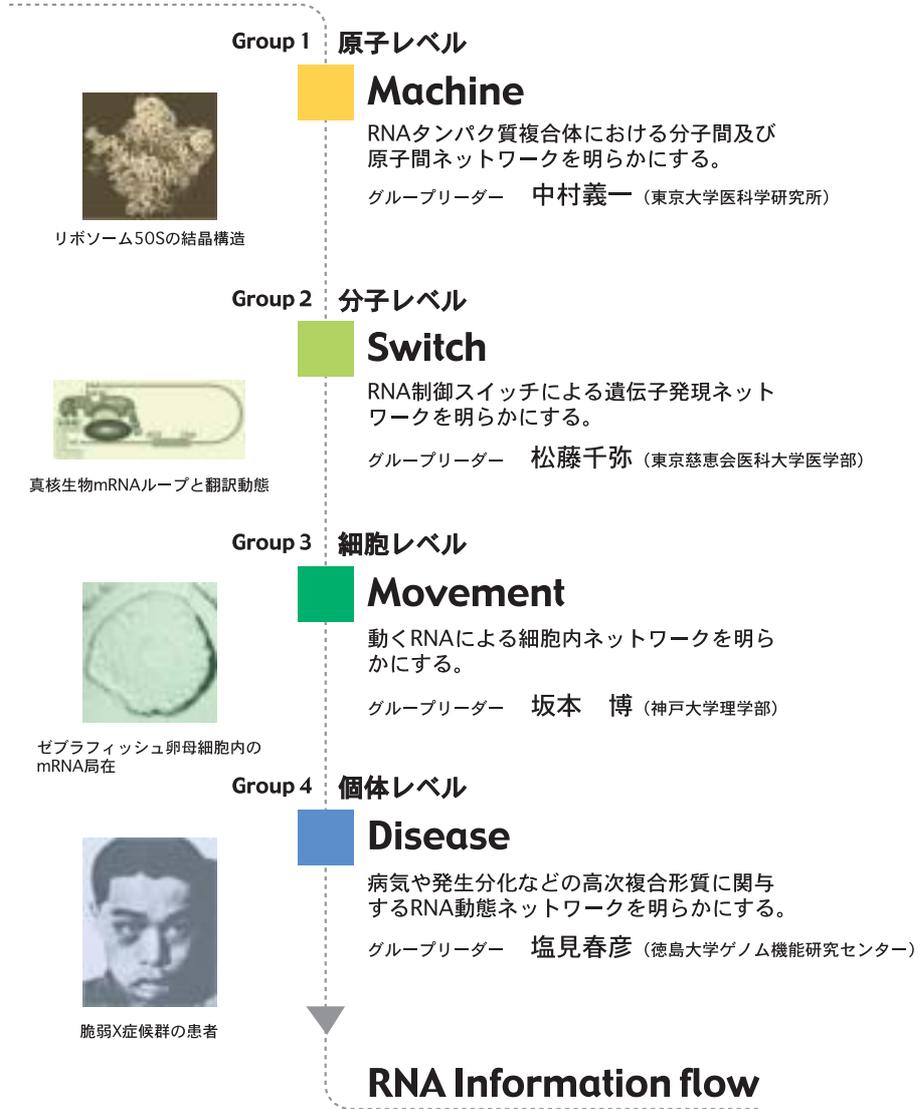
RNA Network Newsletter

Volume 2. Number 1 . August 2003



研究領域の階層性と計画研究グループ構成

RNA情報の流れ



小分子RNA (20-25塩基長)によるゲノム情報発現調節機構が注目されています。1998年の2本鎖RNAによる配列特異的な標的RNAの分解という現象 - RNAi - の発見から始まり、RNAi類似の現象が真核生物において広くゲノム情報の発現調節に関与していることが明らかとなりました。おそらく、There are more (RNAi-related) things in heaven and earth, Horatio, than are dreamt of in your philosophyということになるのでは。一方、線虫では20塩基長ほどのlin-4やlet-7という小分子RNAが標的mRNAにその相補性により結合し、標的mRNAの翻訳を抑制することで発生段階を進行させていくことが判っていました。RNAiとlin-4やlet-7の関与する反応は、どちらも極めて類似の複合体により実行されますが、この複合体の重要な構成成分がArgonauteファミリーと呼ばれる一群の蛋白質です。このファミリーメンバーが広く動植物においてRNAi関連のゲノム情報発現に関与することが次々と明らかになり、現在RNA研究分野において最も「HOT」な分子の一つになっています。もともとArgonauteは、シロイヌナズナにおいて花の器官や葉の背腹軸が失われた突然変異体に付けられた名前argonaute 1に由来します。この変異体の外形がArgonautに似ていることからこの名前が付けられました。□

Argonautは殻を持ったタコ的一种です。雌だけが殻をつくり、その中に卵を産み付け、孵るまでその入口に棲み卵を守り育てます。この名前はギリシャ神話に由来し、その意味は「Argoに乗って旅する者」、Jasonに率いられた英雄達が金羊毛を求めてKolchisへと航海する物語です。Argoはその時の船名。日本ではアオイガイ (Argonauta argo, 表紙の中の最も大きな殻) とタコブネ (A. hians, 裏表紙) が知られています。アオイガイは冬、季節風が吹く頃日本海側の海岸に漂着し、漂着物収集家 (beach combers) にとっては、一度は拾ってみたいアイテムだそうです。□

表紙デザインは生命誌研究館の工藤光子さんです。Argonautとlet-7 (前駆体) RNAの配列、そしてlet-7前駆体のヘアピン構造が作りだす造形と色合いがとても美しく、しかも清涼感があり、夏にふさわしいステキな表紙ができあがりました。(Newsletter編集人 塩見春彦) □

RNA ルネッサンス 中村義一	2
随筆：RNA and I 班研究から個人研究へ(略号使用をやめよう) 野本明男	3
連載 私の RNA 研究 (第2回) 志村令郎	4
随筆：RNA and I RNA ゲノムの不思議がみりよく 水本清久	7
困ったときの RNA 頼み 石川冬木	12
追悼 京極好正先生を悼む 嶋本伸雄	14
■みーていんぐりぼーと■ 班会議潜入記 三嶋雄一郎	15
ウィーン・ストックホルム漫遊記 坂本 博	18
若者達 徒然なるままに 三木大介	21
■海外からの便り■ 浅野 桂	23
■ RNA Update ■ 特集①：翻訳調節 岡野栄之&岡野ジェイムス洋尚, 椎名伸之, 武井延之, 山中伸弥, 中村 輝, 川崎一郎, 佐藤賢一, 柏原真一, 伊藤耕一, 和田 明, 今高寛晃, 水田啓子, 米澤一仁, 松藤千弥	26
特集②：モデル生物 櫻川真樹, 峯 一朗	67
特集③：行動, 社会性, RNA 桂 勲, 久保健雄&澤田美由紀, 吉田重人&岡ノ谷一夫, 山元大輔	72
Society 石田 仁, 菅原剛彦&長神風二	85
■ New Techniques ■ 私が没にしたひげ教授とのインタビュー 上田卓也	91
SSER 法の開発とリボソーム研究への応用 鈴木 勉	94
名 簿 特定領域研究, 研究者名簿	97

RNA Network Newsletter

Volume 2. Number 1. August 2003

CONTENTS

RNA ルネッサンス

中村 義一 (領域代表)

RNA 研究に強い「追い風」が吹いてきた。

2001年、ヒトゲノムの概要の解明は、ヒトの遺伝子の総数は4万未満で、これがどのように30万余のタンパク質を作り出せるのかという問題を提起した。その解が、mRNAの選択的スプライシングにあることが明らかになっ

た結果、RNAに対する認識が大きく変わり始めた。さらに今年4月のヒトゲノムの完読により、ヒトとハエでは遺伝子の数や配列にそれ程違いはないが、ヒトにはタンパク質を作らない noncoding RNA が圧倒的に多いことがわかった。つまり、ヒトの複雑さに深く関与するのは、noncoding RNA ではないのかと多くの科学者が予測するようになったのである。このようなゲノム研究の「外風」とともに、RNA研究の内部にも強い「内風」が吹いている。リボソームの結晶構造の解明、タンパク質とRNAとの分子擬態の発見、さらに新しい機能性RNAの発見など、新たなコンセプトを生み出す複数のブレークスルーが同時に進行しているのである。サイエンス誌は2002年に発表された科学上最も重要なブレークスルーとして、RNA干渉(RNAi)とそれに関連する現象を選んだ。このように、脇役からポストゲノムの桧舞台に躍り出たRNA研究だが、むしろ生命の誕生を触媒し、その根幹を支えてきたRNAの役割を深く洞察すれば、ようやく時代の進歩がRNAの重要性をキャッチアップしたと言うべきであろう。これは我々RNA研究者が共有する認識である。本特定領域研究がこのような「RNAルネッサンス」とも呼ぶべき時代に実施されていることは幸運であり重要である。

「RNAルネッサンス」は学術的なルネッサンスにとどまらず、新たなテクノロジーを

脇役からポストゲノムの桧舞台に躍り出たRNA研究だが、むしろ生命の誕生を触媒し、その根幹を支えてきたRNAの役割を深く洞察すれば、ようやく時代の進歩がRNAの重要性をキャッチアップしたと言うべきであろう

開拓し新産業を創成する可能性を秘めている。RNA創薬は、一時期、アンチセンスやリボザイムの利用によって大きな期待を集めた。しかし、多くの試みが頓挫し、期待は大幅に後退。このような時代を経て、RNAiが発見された。RNAiは1998年に線虫を使った実験で偶然に報告された遺伝子発現の新しい抑制機構だが、急速に研究が進み、今やRNAi

を利用した医薬品の開発に期待が集まっている。同時に、人工進化RNAを利用した新しい医薬品の開発研究も進んでいる。このように、「RNAルネッサンス」は学術分野のみならず工学分野でも進行し、RNA研究に強い応用の「風」も吹き始めている。

日本には1960年代から世界に誇る優れたRNA研究の実績が蓄積しており、本特定領域研究に至るまで継続的な文部(科学)省の学術支援が行われてきた。しかしながら、国内の公的な研究機関にはRNAを冠とする研究所・センターあるいは(おそらく)研究分野は存在せず、又、基礎から産業創成までを視野に入れた包括的なRNA研究推進のための政策もとられていない。「RNAルネッサンス」の今こ



the
Re
Nai
ss
An
ces

ロゴデザイン：工藤光子

そ、日本独自の RNA 研究を展開すべき好機ではなからうか。RNA の応用研究は、RNA を使った有用な医用分子を創製する「RNA ものづくり」が特徴である。「ものづくり」は日本のお家芸。日本の有機合成化学の高い技術力と連携すれば、RNA 医薬品、RNA チップ、RNA センサー、RNA バイオナノマシン等、優れた次世代型の「ものづくり」を可能にすることができる。研究者はもとより、政府ならびに産業界も「RNA ルネッサンス」を謳歌する時である。

「ものづくり」は日本のお家芸。日本の有機合成化学の高い技術力と連携すれば、RNA 医薬品、RNA チップ、RNA センサー、RNA バイオナノマシン等、優れた次世代型の「ものづくり」を可能にすることができる

プロフィール

1977 年京都大学大学院理学研究科修了、理学博士。1978 年より東京大学医科学研究所の助手、助教授を経て、現在、遺伝子動態分野教授。趣味スキー。

中村 義一
Yoshikazu NAKAMURA
(領域代表)

◆ 随筆：RNA and I ◆

班研究から個人研究へ

(略号使用をやめよう)

野本 明 男 (東京大学大学院医学系研究科)

わが国の RNA 研究者による努力もあり、世界的に RNA に関する研究の重要性が認識されるようになった。私のように何か昔から RNA が好きな人間にとっては喜ばしい風潮である。この風潮に乗って、特定領域研究「RNA 情報網」はいよいよ発展し、多くの優れた研究成果を挙げ、世界の RNA 研究をリードして欲しい。特に、研究班内の切磋琢磨により RNA 研究のスーパースターがぞくぞくと誕生することを強く望んでいる。少なくとも、多くの班員が、班研究から、大型の個人研究へと次々に雄飛していく姿をみたい。

10 年以上前に、私はどこの研究班からも声が掛からなくなり、研究費的に危機感を覚えたことがある。その時、相談した大先輩には、本当に自分の研究をやり通したければ、研究班を頼らず、自分一人で、世の中を説得して研究費を獲得するようといわれたことがある。「世の中を説得して」が大変である。研究班の中では通じる言葉が世の中では通じないことが多いからである。当 RNA 研究班が採択されたのは、中村領域代表とその周辺の僅かの研究者が世の中を説得するのに成功したからである。特定のミッションを与えられた研究班の中にいる大多数の班員はある意味でぬるま湯の中にいる状態といえよう。私は班

研究者は誰でも、自分の研究を認めて欲しいと思うものであり、認められて初めて自分の存在意義を感じるはずと思う。その割に、難解な発表をする人が大変多いのは何故だろう

員全員が領域代表と同じように世の中を説得出来るだけの力を持って欲しいと常日頃思っている。つまり、やさしい言葉で(素人に分かるように)、自分の研究が生命科学の中でどのような位置付けにあるか、この方面の研究の現在の状況は、その中で何を明らかにすることが重要であるか、その研究によってどのように将来が展開する可能性があるか、また何が何故面白いのかななどを説明しきれるようになって欲しい。

年齢が上がるにつれて、また世の中の評価ばやりのために、近頃目に見えて評価役をお引き受けすることが多くなった。評価者は、評価すべき研究が分からない時が一番困る。評価者はもっと勉強しろという意見もあるとは思いますが、それは無いものねだりである。RNA の分野だけで

はなくどの研究分野でも、研究分野は細分化され、各分野ごとに膨大な情報が急速に蓄積されている。個人の努力でそのような情報をカバーしきれないのは当然である。研究の世界がこのような状態にある時、多くの情報を正確に相手に伝えるには、専門用語や略号を多用しないと難しいことも確かであるが、それは研究室内での議論に留めるべきである。一歩研究室から出たらそのような言葉は通じないと考えるべきと思う。研究者は誰でも、自分の研究を認め

て欲しいと思うものであり、認められて初めて自分の存在意義を感じるはずと思う。その割に、難解な発表をする人が大変多いのは何故だろう。自分の研究に関する情報を他の人に分かるように伝えることは、正確な評価を得るために非常に重要な要件である。

時代の風潮に乗っている分野の研究内容を説明することは、周りにひな形があるだけに比較的容易である。現在まったく陽が当たっていない研究分野の場合、また本当にオリ



ジナルな研究で、白いキャンバスに初めて絵を描き始める状態のような分野の場合、その研究の重要性を説得することはより難しくなる。ともあれ、どんな場合でも、生命科学は現実の生命現象を捉え、それを統合的に理解する学問であり、日常の平易な言葉で常識的に理解出来るものであるとの認識から出発することが基本的に大切であると思っている。たまには専門用語と略号が溢れる狭い世界から出て、外から自分自身の研究を見直すことが必要と思う。そのことにより、新しい研究の方向性が見いだせるかもしれないし、研究班を脱して大型の個人研究へと意欲を燃やせる研究のきっかけが与えられるかも知れない。

プロフィール

1969年、東京大学薬学部卒業。1974年、東京大学大学院薬学系研究科博士課程修了、薬学博士。また、1986年、医学博士（東京大学）取得。米国ニューヨーク州立大学医学部博士研究員（Eckard Wimmer 教授）、北里大学助教授（薬学部公衆衛生学）、東京大学助教授（医学部 細菌学）、東京都臨床医学総合研究所部長（微生物研究部門）を経て、1991年より東京大学教授（医科学研究所ウイルス研究部）。現在、東京大学大学院医学系研究科教授（微生物学講座）及び同附属動物実験施設長（併任）。

野本 明男

Akio NOMOTO

(東京大学大学院医学系研究科)

◆ 連載 ◆

私の RNA 研究 (第2回)

志村 令郎

(日本学術振興会
ストックホルム研究連絡センター長)

4. 帰国そして失意の日々から tRNA 研究の事始めまで

その頃私は、アメリカのある大学からオファーを受けてアメリカに留まるか、或いはこの際帰国して日本で研究するかという決断を迫られることになった。いろいろと考えた末、別に就職する宛てなどなかったのであるが、1967年、東京で開催された国際生化学会で発表するのを兼ねて、日本へ帰ることにした。帰って来て、日本の大学に就職することの困難さを知ったのであった。当時の日本の大学にあった閉鎖的な構造、講座制の悪弊等に徹底的に打ちのめされて、日本の大学に抱いていた幻想は崩れ去り、日本のアカデミアの実体を身をもって知ったのである。私のように大学院の半ばで指導教授の系列からはみ出した者にとっ

て、当時の日本の大学は極めて厳しいものであった。多くの人から「アメリカへ行っていたのですか。結構ですね。」と言われて冷たくあしらわれることが多かったのである。日本の大学は今ほど国際化していなかった。

1968年、日本に失望し諦めてアメリカへ帰ろうと考えていた時、当時大阪大学理学部の助教授で、新設された京都大学理学部の生物物理学教室の教授予定者であった小関治男博士から、一緒に tRNA の分子遺伝学的研究をやらぬかという勧誘を受けた。小関博士とは、私が帰国した年の夏、香川県観音寺で行われていたフェージ講習会へセミナーに招かれた際にお目にかかっていた。小関博士はその直前、 Su^{+3} サプレッサー 遺伝子を組み込んだ形質導入

フェージを分離して、そのサプレッサー遺伝子が、チロシン tRNA の構造遺伝子で、しかもアンチコドン部位に一塩基変異が起こしたものであり、その変異の結果その遺伝子由来の tRNA は UAG コドンと対応できるようになったものであることを示していた。因みに同様な研究成果は、当時 MRC の John Smith と Sydney Brenner のポストドクであった Howard Goodman や John Abelson らによっても得られていた。

私は日本に帰ってから必ずしも RNA の研究をすることにこだわっていたわけではないが、この際、RNA フェージとは別の何か新しいことをやりたいと漠然と考えていた。ただ日本のアカデミアのあり方にひどく痛めつけられていたので、その勧誘は有難かったが、アメリカで出来るかも知れない研究に多少の未練もあった。しかし、小関博士から申し込まれた tRNA の分子遺伝学的研究というのは、tRNA 研究への新しいアプローチであったので私は大変に面白いと思ひ、研究する値打ちがあると思った。いろいろ考えた末、小関治男博士のお誘いをお受けすることにした。

こうして 1969 年 4 月から、新設の京大理学部生物物理学教室分子生物学講座の助教授になることになった。これから私の RNA 研究は新たな展開が起こることになった。京大に発令になった日から (実際は発令以前から)、それまで全く知らなかった当時の日本における学園紛争の中に巻き込まれることになった。新設で建物も無く (建設中)、連日、いわゆる団交に学部長の補佐として動員されて、研究はもとより勉強すらも、一年間ストップしてしまった。しかし当時の学生諸君の色々な主張を聞くことが出来たし、また幾つかの点で考えせられたこともあって、今振り返ってもそれ程無意味で不毛でもなかったし、寧ろ貴重な経験をしたと思っている。

理学部の紛争が終わり、研究が出来るようになったという喜びに満ち溢れて研究室に帰った。しかし当時は未だ研究室のセットアップが出来ていないため、実験をすることは殆ど不可能であった。それで毎日、小関博士と二人で何をしたら良いか、どんな問題があり、どのように解析していくか、その結果どのようなことが期待出来るか等のことを徹底的に話し合った。その後のこの研究室における研究の展開は、概ねその話し合ったことの路線に沿っていると行って過言でない。

5. tRNA の分子遺伝学的研究

まず、tRNA の機能に様々な欠損を持つ大腸菌の変異株を分離し、その tRNA を分離して、その機能の欠損と構造変化とを対応させようとした。遺伝的な解析が容易で機能のマーカーとして最も優れた tRNA は、言うまでも無くサ

プレッサー tRNA である。

それで取りあえず大腸菌の Su⁴³ サプレッサー遺伝子に突然変異を誘発させ、サプレッサー活性が高温感受性になった変異体を分離することによって、おそらく高温で失活するサプレッサー tRNA が得られるであろうと考えた。また色々なナンセンス突然変異をサプレッサー活性のパターンが、野生型の Su⁴³ サプレッサー遺伝子とは異なる突然変異体を分離すれば、おそらく受容するアミノ酸がチロシンから別のアミノ酸に変わった tRNA が得られるのではないかと考えた。この二つの突然変異体の分離が試みられ、確かにそのような変異体を分離することに成功したのであった。このような変異体の tRNA を分離してその構造変化と機能の解析をしようと思っても、その時の生物物理学教室の研究室では設備がなくて思うように実験が出来なかった。それで当時、国立がんセンター研究所の生物部長をされていた西村 暹博士にお願いして、彼の研究室で暫く実験させて頂くことにした。

約 2 ヶ月間、高温感受性の tRNA の精製を試みた。アミノ酸受容活性が高温感受性であることがわかり、この性質を利用して、低温 (30 度) と高温 (42 度) とでアミノ酸の受容反応を行わせて、その都度、カラムで tRNA を精製して、問題のチロシン tRNA の変異体をかなりの純度で取得することに成功した。この tRNA の一次構造の変化は明らかにされていない。しかし、この tRNA の温度によるメルティングを、当時群馬大学に所属されていた矢吹真人助教授に解析して頂いたところ、野生型のチロシン tRNA に比べて異なるプロファイルを示し、野生型に比べてより低温で構造が変化する結果を得たので、おそらくステム部分に変異が起こっていたのではないかと想像している。一次構造が決定されなかったため、この研究は論文に発表されずお蔵入りとなったが、当時としては大変に興味ある研究であったと思っている。

もう一つの代表的な突然変異体は、ナンセンス変異のサプレッションのパターンが変化したもので、この変異については当時、小関博士が阪大にいた時の大学院生であった青野博之君が、国立がんセンター研究所の西村研究室で一次構造の変異を解明しようと頑張っていたが、なかなか思うように解析が進まなかった。丁度その頃、東京で RNA 関係の小規模な国際集会有り、当時 MRC の Sanger の研究室でポストドクとして研究後、ウイスコンシン大学の Assistant Professor になったばかりの James Dahlberg や、MRC でポストドクをした後、それぞれカリフォルニア大学サンディエゴ校と M I T に就職した John Abelson と Malcom Gefter の三人の若い研究者が来て、RNA の一次構造決定のために F. Sanger が開発したいわゆるサンガー法の講義とデモンストレーションを行った。この方法を目にし

て、強い衝撃を受けた。

この頃はヒッピーが全盛の時に、長髪でヒッピーまがいの彼ら三人が京都駅のプラットホームに降り立った時、迎えに出た小関博士と私は、「あの連中かな?」「多分そうかも?」と思わず顔を見合わせてつぶやいたことであった。これがその後長く付き合い、今でも極めて親しくしている John Abelson や Jim Dahlberg との最初の出会いであった。

これが切っ掛けになって、私はサプレッションパターンの変化した Su^{+3} tRNA のある変異体の塩基配列を解析するために、カリフォルニア大学サンディエゴ校 (UCSD) の John Abelson の研究室に行って一夏 (2ヶ月半) 過ごすことになった。今振り返っても、この夏は大変に素晴らしかった。空が青く澄んだ南カリフォルニア (La Jolla) で、朝から実験をして午後、時間待ちに Abelson らとビーチで泳いだりして遊び、また研究室に帰って実験をするという毎日、本当に楽しかった。研究の方は、テクニシャンだった Peter Johnson (前 Agouron 社長) の効率の良い助けもあって快調に進

み、一ヶ月もかからずに問題の tRNA のヌクレオチド配列を決定した。その結果、この変異体はチロシン tRNA (1型) の CCA 末端から4番めの G が A に変化していることが明らかになったのである。更に、当時 Abelson の研究室の客員研究員的な存在だった Annand Sarabhai とその奥さんだった Hildegard Lamfrom の協力によって、T4 フェージの頭部蛋白質 (遺伝子 32 の産物) のナンセンス変異をサプレッスさせて、そのアミノ酸配列を解析する実験から、その変異体 tRNA はチロシンの代わりにグルタミンを受容することが示された (困みに、私は後半の一ヶ月半を彼らの家に居候させてもらった)。



昨年12月10日のノーベル賞受賞式後にストックホルム市庁舎で行われた晩餐会の後、シドニー・ブレンナーと談笑。

この結果は、それまで tRNA とアミノアシル tRNA シンセターゼとの特異的な認識機構について、説得力のあるデータを提供することになった。それまでのこの問題に対するアプローチは、生化学的な手法、例えば tRNA 分子を生化学的に解剖手術して、それがアミノ酸受容にどのように影響するかを調べるような方法が主流であった。しかしこれらの方法に依る解析では、本当にアミノ酸の特異性の変化を検証しているのかどうか明確ではなく、説得力に乏しかった。我々のとったミスチャージの変異体を分離して解析する分子遺伝学的手法は、この点で極めて説得力があり、後年、tRNA のアイデンティティ (identity) の研究の草分けとなったと考えられている。

「ブレンナー博士受賞おめでとうございます。については私も将来ノーベル賞を取りたいと思っているのですが、どうしたら取れるか教えて下さい」「…三つあります…」

この研究をした直後、我々が雑用にかまけて論文書きを怠っていた時、ケンブリッジ MRC の John Smith のグループも、我々と同じ手法によって Su^{+3} のミスチャージの変異体を分離して解析した結果、我々と同じ結果を得た。Abelson からの連絡でそのことを知り、結局、話し合っただけで双方が同じ雑誌 (FEBS Letter)

と一緒に発表することにした。しかし彼らは先駆者であった我々に敬意を表して、我々の論文を先にしてくれた。古き良き時代であったといえる。

論文を出したけれども、当時私はこの手のアプローチに何となく懐疑的になっていた。それは tRNA とシンセターゼの特異的な認識機構の問題は、このような分子遺伝学的方法では限界があり、所詮、そのコンプレックス分子の原子レベルでの三次元構造を解明しなければ何も言えないのではないかと思ったのである。それもあって、この問題への更なる追求はせずに別な問題を考えたのである。それは tRNA の生合成を分子遺伝学的手法で研究することであった。

(第二話 完) —— (続く)

スウェーデン便り - (2) -

2002年のノーベル賞は、日本人が2人受賞したので、マスコミがストックホルムへ大挙してやって来て、時に過熱気味の取材でヒンシュクをかかった。それは兎も角、医学・生理学賞に Sydney Brenner が他の二人と共に受賞したのを、カロリンスカ研究所内のノーベルフォーラムにおける発表現場で聞いた時は本当に嬉しかった。授賞式と晩餐会に私も招かれて出席した。晩餐会の終わり近く、全受賞者の中から3人が挨拶をしたが、その時、Brenner の挨拶は圧巻だった。彼の挨拶は大体次のようなものであった。『私のノーベル賞受賞が発表された後、中国人の学生から「ブレンナー博士受賞おめでとうございます。については私も将来

ノーベル賞を取りたいと思っているのですが、どうしたら取れるか教えて下さい」という手紙を貰いました。それで私は返事を出しました。「Dear Chinese Student, 三つあります。第一には、研究する上で良い場所と良い指導者を選ぶことです。例えば場所はMRCのようなところ、そして John Sulston や Bob Horvitz (二人とも共同受賞者) のような人です。第二は、良い研究プロジェクトを選ぶことです。第三は、良い委員会 (Committee) にめぐり合うことです。」この話を例のブレンナー節でやったので場内爆笑であったが、彼の話の中にピリッと一味辛口の部分を感じた人は、

多くはいなかったのではないかと思う。ノーベルフォーラムでの記者会見のとき、私が「貴方は少なくとも30年前に貰っても良かったのではないか」というと「ヨシロウ。いいのだ。俺たちはフロンティアだったのだ」といった彼の言葉が印象的だった。

プロフィール
1999年より
日本RNA学会会長

志村 令郎
Yoshiro SHIMURA

(日本学術振興会ストック
ホルム研究連絡センター長)

◆ 随筆：RNA and I ◆

RNA ゲノムの不思議がみりよく

水本清久 (北里大学薬学部)

どうにもカルチャーショックの感が続くので、ためしに平成14年度1年間に学部長としてこなした業務をカウントしてみた。「議長を務めた学内会議81回、その他の学内会議84回、学外会議30回、各種レセプション・会合等70回(内、挨拶50回)、地方出張15回、学会・シンポジウム16回(招待講演3回)、講義26回、D論・M論審査22回等々」。おまけに、学部学生約1,000人、大学院生150人、教職員110人もいると、毎日必ず何かが起こる。私の脳の中でいままで学習に使われたことのない部分が無理矢理目覚めさせられているようだ。サイエンスはズルッと後ろの方へ置いてきぼりになりがち。私が不在の上に雑用も増えるから、ラボのメンバーへの被害も甚大(教授は達者で留守がいい?)。ストレス発散に、「良く効く」のがビール。寝不足の上に飲むとなると今度は物理的ストレスがかかる。結局上記の「業務」に加えて、出血性胃潰瘍で正月を挟んで入院というまでおまけで入った。それでも試験管は握りたい。

ところで私は、真核細胞における遺伝子発現の分子機構、とくにその酵素機構について研究をしている。タンパク質合成、RNA プロセッシング、転写の各素過程に興味をもち、とりわけ現在は mRNA キャッピングと転写との関連を、DNA ゲノムと RNA ゲノムの場合を対比しながら解析をしている。今回は、センダイウイルスという RNA ウイルスの mRNA キャッピングについて、私達が現在戸惑っている様子を紹介させていただくと同時に、そのパズル解きに皆さんのお知恵をぜひ拝借したいと思う。

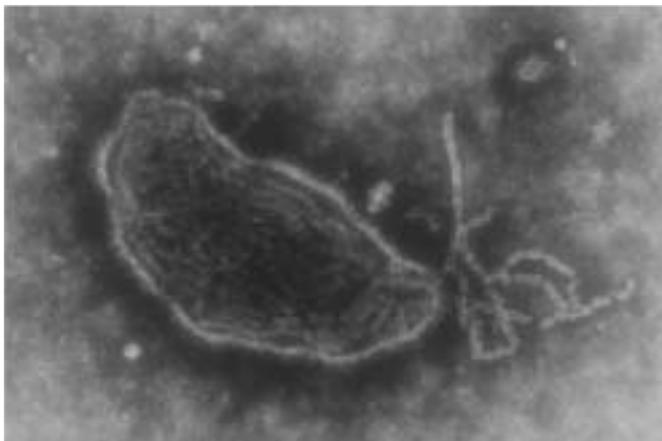
自己紹介と RNA との出会い

1975年のクリスマスの夜、誰もいないラボの窓から上層階三分の一ほどが雲に隠れたクライスラービルを眺めながら、その日の夕方から1人でラット40匹を decapitation してとった肝臓の細胞核を精製していた。場所はマンハッタン65丁目ロックフェラー大学 Fritz Lipmann 研 (F. Lipmann は、1953年に CoA の発見でノーベル賞受賞)。同研究室には江橋節郎先生、西塚泰美先生を始めとして多くの日本人先輩がいる。私が東大医科研から留学に出る時、上代淑人教授から、「Lipmann 先生はもうご高齢だから、君が日本からの最後の留学生になるだろう。だからしっかりとやってきたまえ。」と励まされ、おそろおそろ門をたたいたの思い出す(実は、私が最後ではなく、後に4人ほどの方が留学している)。留学に出る半年くらい前に、Lipmann 先生から手紙が来て「ミトコンドリアのペプチド鎖伸長因子」の研究をやらないかとの提案があった。当時、上代研で私は動物細胞の伸長因子 EF-1、-2 の研究をしていたので、勿論オーケーの返事をした。ところが、出発間近になってテーマ変更の提案があり、「細胞の mRNA キャッピング酵素の分離と反応機構の解析」というものだった。これが現在の仕事に繋がるきっかけとなる。当時、古市&三浦によって蚕のウイルス CPV mRNA にキャップ構造が発見(1974)された直後で、次々とウイルスや細胞の mRNA に存在することが報告されていた時期だった。Lipmann 先生はこの奇妙なトリリン酸橋を持つ構造にたいく興味をもったようである。

私が Lipmann 研に行ったときは、すでに古市泰宏さんがロシュの Shatkin の所で飛ぶ鳥を落とす勢いでウイルスのキャッピングの仕事がされている時だった。しかし、細胞のキャッピング酵素活性はまだ誰も *in vitro* で検出してなかったし、反応機構も皆目分かっていなかった。それから 1 人での苦戦が始まった。それが冒頭に書いた、ラット肝細胞核の実験である。細胞のキャッピング活性を検出すると言っても、直接の RNA 基質も不明だし、何を出発材料に使えばよいかもわからない。そこで思いついたのがラット肝臓の核。精製ラット肝細胞核を用いた *in vitro* 転写系で pol II 依存の転写が起こることはすでに確立されていたので、まずはそれを用いて pol II 転写を行い、もしキャップが付いていたらそこからスタートしようと思った。その時キャッピングのポジティブコントロールとして使ったのがレオウイルス。ロックフェラー大の Silverstein が持ってい

たものを分けてもらった。肝臓の 3 桁以上の転写/キャッピング活性を示すすばらしいものだった。これが RNA ウィルスとの初めての出会いだった。このあと、私はラット肝細胞核抽出液を用いてキャッピング酵素活性とキャップメチル化酵素活性のアッセイ系を確立し、初めてこれら酵素を部分精製することに成功した。

RNA との出会いは、もう少し遡って私が東理大修士の時、糸状菌の *Penicillium* から tRNA を精製し、それにアミノ酸受容活性があることを示した時が始めである。それを 1967 年の京都の生化学会で発表したのが私の学会デビューで、その時の座長が三浦謹一郎先生だった（先生は多分覚えていないでしょうが）。この後、東大医科研の上代研に移り、*Pseudomonas* の RNA ポリメラーゼ、次いで動物細胞のタンパク質合成系の仕事へと進んで行った。



SeV 粒子



SeV RNA

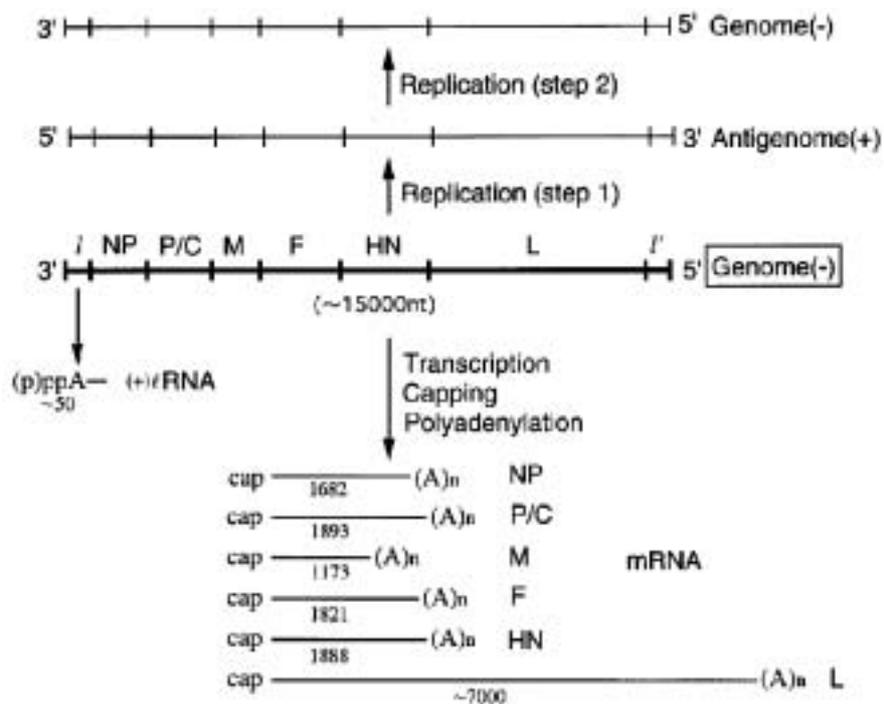


図 1 センダイウイルスゲノムの転写・複製

RNA ウイルスの RNA 依存 RNA ポリメラーゼに興味

4年近くいた米国から日本に戻るとき、Lipmann 先生から「キャッピングの仕事は君が立ち上げたものだし、こちらで続ける予定がないのですべて日本に持ち帰って良い」と言われ、医科研に戻って以降も、反応機構の解析、遺伝子のクローニング、pol II 転写開始との関連等の仕事へと発展し現在に至っている。

この頃から興味を持つようになったのがマイナス鎖 RNA ウイルスの転写-キャッピング系で、ウイルス RNA 依存 RNA ポリメラーゼによる転写におけるキャッピングと pol II 転写系におけるキャッピングで「何が共通で何が違うか」を知りたくなったのが始まりである。私達が今対象にしているのがパラミクソウイルス科に属するセンダイウイルス (SeV) である (図 1)。SeV ゲノムは 15 kb のマイナス極性 1 本鎖 RNA からなり、ウイルス粒子は N, P, M, F, HN, L タンパク質をそれぞれコードする 6 種類の mRNA の合成とプロセッシングを行うのに必要なすべての酵素を含んでいる。これらの mRNA は 5' 末にキャップ構造を、3' 末にポリ (A) 鎖をもつ。SeV RNA 依存 RNA ポリメラーゼは L と P タンパク質からなり、ウイルスゲノムの 3' 末端で転写を開始し、約 50 ヌクレオチドのタンパク質をコードしないリーダー RNA (le) に続いて 6 本の mRNA を鋳型ゲノムに並んでいる順、le-N-P-M-F-HN-L、で合成する。

私達はこれまでに、精製 SeV 粒子を用いた効率の良いかつ正確な *in vitro* 転写系を確立した。この系で合成されるウイルス mRNA は、感染細胞で合成されるのと同じキャップ構造 ($m^7\text{GpppAm}$) とポリ (A) 鎖をもち、正確な位置から転写されたものだった。私達はこの系を用いて、SeV mRNA 合成には宿主因子が必須であり、それがチューブリン、解糖系酵素のホスホグリセリン酸キナーゼ、エノラーゼ、および未同定の p24 の 4 因子からなることを明らかにしてきた。また、ウイルス mRNA キャッピングが宿主細胞の機構 (GMP 転移) とは異なる機構 (GDP 転移) で起こることを示した。今回はこれらの詳細については触れない。

ところで、これまで十数年にわたり SeV 転写の「極性」を説明するメカニズムとして次の 2 つのモデルが考えられてきたが、未だに明解な決着はついていない。

- 1) 3' 末 1 カ所で転写を開始して生じた前駆体 RNA のヌクレアーゼによるプロセッシング。
- 2) それぞれの mRNA 転写開始点からの RNA ポリメラーゼによる順次再開。
 - ① 1 分子のポリメラーゼがゲノム 3' 末にエンターし、順番に 6 本の mRNA 合成の開始と終結を行う。

- ② それぞれの遺伝子の転写開始点に異なるポリメラーゼ分子が結合し、上流の遺伝子の転写が終了すると玉突き式に次の遺伝子の転写を開始する。

それぞれの長所短所は色々なところで議論されてきており、近縁ウイルスの VSV (ラブドウイルス科) でも同様である。いずれにしろ生化学的な証明はほとんどなされていない。主な理由は、*in vitro* 転写では丸ごとのウイルス粒子を使わなければならない、再構成転写系が開発されていないからである。また、この分野で生化学者があまりいなかったこともあげられる。

センダイウイルスのキャッピングは何かへん

SeV mRNA GpppA キャップのトリリン酸橋の左側 2 つの P は GDP に由来し、残りの 1 つは RNA の AMP 残基に由来する (ウイルス粒子を用いた転写系におけるヌクレオチドラベリングの実験から)。これに対して、通常のキャッピング (すべての真核細胞、レオウイルス、ワクシニアウイルスなど) では、GMP が RNA の 5' ジリン酸末端に転移する ($\text{pppG} + \text{ppN-RNA} \rightarrow \text{GpppN-RNA} + \text{PPi}$)。後者では、*de novo* 開始をした RNA (pppN- または ppN-) のみがキャッピング酵素 (mRNA グアニル酸転移酵素活性 + mRNA 5'-トリホスファターゼ活性) の基質となる。この場合、反応は共通して「酵素-GMP」共有結合中間体を経る。

私達が調べた限りでは、*in vitro* で SeV 粒子のタンパク質の中に ^{32}P -標識グアニンヌクレオチドと特異的に共有結合するものは検出されず、また、いずれのタンパク質にも通常のキャッピング酵素の活性中心に存在する共通のモチーフはない。前駆体 RNA がヌクレアーゼでプロセッシングされるモデルでは、5' モノリン酸末端をもつ RNA が生成し、これが GDP でキャップされるという可能性も考えられる。しかし、SeV 粒子には外から加えた 5' モノリン酸末端 RNA 基質に GDP を転移する活性は全く検出されない。そのほかの様々な末端構造と様々な配列をもつ RNA を基質として調べても、ウイルス粒子あるいはウイルス RNP にキャッピング活性が検出されたことがない。さらに、mRNA にチェイスされるような mRNA 前駆体の存在は確認されていない。一方、各 mRNA が *de novo* 開始反応により生成するとすると、5' トリリン酸末端はモノリン酸まで水解される必要がある。しかし、*de novo* 開始で合成されるリーダー RNA はキャップされておらず、mRNA 種のみ特別なことが起こらなければならない。このようなことから、SeV mRNA のキャッピングは少なくとも転写と強く共役していると考えた方がよさそうである (これに対して、レオウイルス粒子やワクシニアウイルス粒子の場合は、外から加えた RNA 基質が容易にキャップされる)。

SeV キャップ形成は RNA 鎖切断と共役してる？

一つの提案

少し視点を変えて、反応のケミストリー（私のいい加減な？）をベースに考え直してみたいと思う。これから話をするモデルのポイントになることは、まずウイルス RNA ポリメラーゼがゲノム 3' 末にシングルエンターするかと仮定し（そう思うのが色々な状況証拠から妥当）、それが各遺伝子間ジャンクション（intergenic junction）とその周辺領域で合成途上の RNA 鎖の切断とキャッピングを共役して触媒すると言うものである。類似した考え方は Stewart Shuman がラブドウイルス科 VSV の転写において推察しているが証明はされていない。また、VSV と SeV では遺伝子間ジャンクションやその周辺の配列が大きく異なるので事情が大分違う。図 2 には SeV ゲノムの 7 つの遺伝子間ジャンクション付近の配列を示す。ジャンクションは 3 ヌクレオチドからなり GAA 配列が多い。R1 は mRNA 開始シグナルと考えられており、mRNA は最初の U に対応する A でスタートする。R2 は終結 / ポリ (A) 付加シグナルと考えられており、U5 のストレッチをポリメラーゼがスリッページしてポリ (A) 鎖が付加される。注目すべきことは、R1 の最初の UC と R2 の 3, 4 位の UC がすべての mRNA/mRNA ジャンクションで共通していることである。

さて、SeV ポリメラーゼが次のような行動をとることは可能だろうか？図 3 には、一例として、NP/P ジャンクションでの NP mRNA のポリ (A) 付加と P mRNA のキャップ

付加が行われる様子を示した。RNA 伸長を続けてきたポリメラーゼは NP の R2 を 4 文字目 (AUUC) まで読んだ所 (mRNA 配列で UAAG) で伸長を停止し、3' AG は鋳型上をスリッページして P 遺伝子 R1 の UC と塩基対を形成、同時に NP の R2 とジャンクション部分は 10 ヌクレオチドのループを形成する。ポリメラーゼ分子は mRNA がスリッページしても元の位置にとどまっている。このいわば strained conformation が、ループをまたいで対合している mRNA の ApA が GDP (あるいは GTP) の β -P によるアタックを受けるきっかけとなる。この GDP によるアタックは、arrested pol II が重合の逆反応としてピロリン酸 (PPi) によるホス

ホジエステル結合の求核攻撃を触媒 (nascent RNA の pyrophosphorolysis) し、5' トリリン酸末端をもつ RNA を生成する反応のアナロジーと捉えることができる。この場合、キャップ形成の活性中心はポリメラーゼのそれと同一と考えるが、もし GTP が基質となるとすれば別の活性中心 (キャッピング酵素) があると考

えてもよいだろう。今のところどちらが真の基質かは不明としておこう。この段階で、R2 付近で形成されていたループは解除される。このあと、ポリメラーゼは R2 の UC を再び読んでプライマーとして失われて AG を合成、次いで U5 ストレッチをスリッページしてポリ (A) 鎖を合成する。ポリ (A) 合成を終えるとポリメラーゼはジャンクション GAA をスキップして前方に進み、キャップのメチル化を触媒すると共に、生じた m⁷GppA をプライマーにして P mRNA を伸長する。なお最近、私達はウイルスポリメラーゼ自身にキャップメチル化酵素活性のあることを発見している。

これが単なる夢 (逆夢, 悪夢?) なのか正夢なのかは、これからの実験にかかっている。実は、ひそかに「やる気」を起こしている

	R2	IJ	R1
<i>le</i> /NP	a u a u g u c c u a	A A A	U C C C A G U U U C
NP/P	C A U U C U U U U U	G A A	U C C C A C U U U C
P/M	A A U U C U U U U U	G A A	U C C C A C U U U C
M/F	U A U U C U U U U U	G A A	U C C C A C U U U C
F/HN	U A U U C U U U U U	G A A	U C C C A C U U U C
HN/L	A A U U C U U U U U	G G G	U C C C A C U U A C
<i>L</i> / <i>le</i> '	C A U U C U U U U U	G A A	u g u u c u u c u g

図 2 センダイウイルスゲノムの intergenic junction 近傍の配列

R1: 下流遺伝子の転写開始シグナル

R2: 上流遺伝子の転写終結 / ポリ (A) 付加シグナル

IJ: intergenic junction

le, *le*': リーダー配列 (小文字)

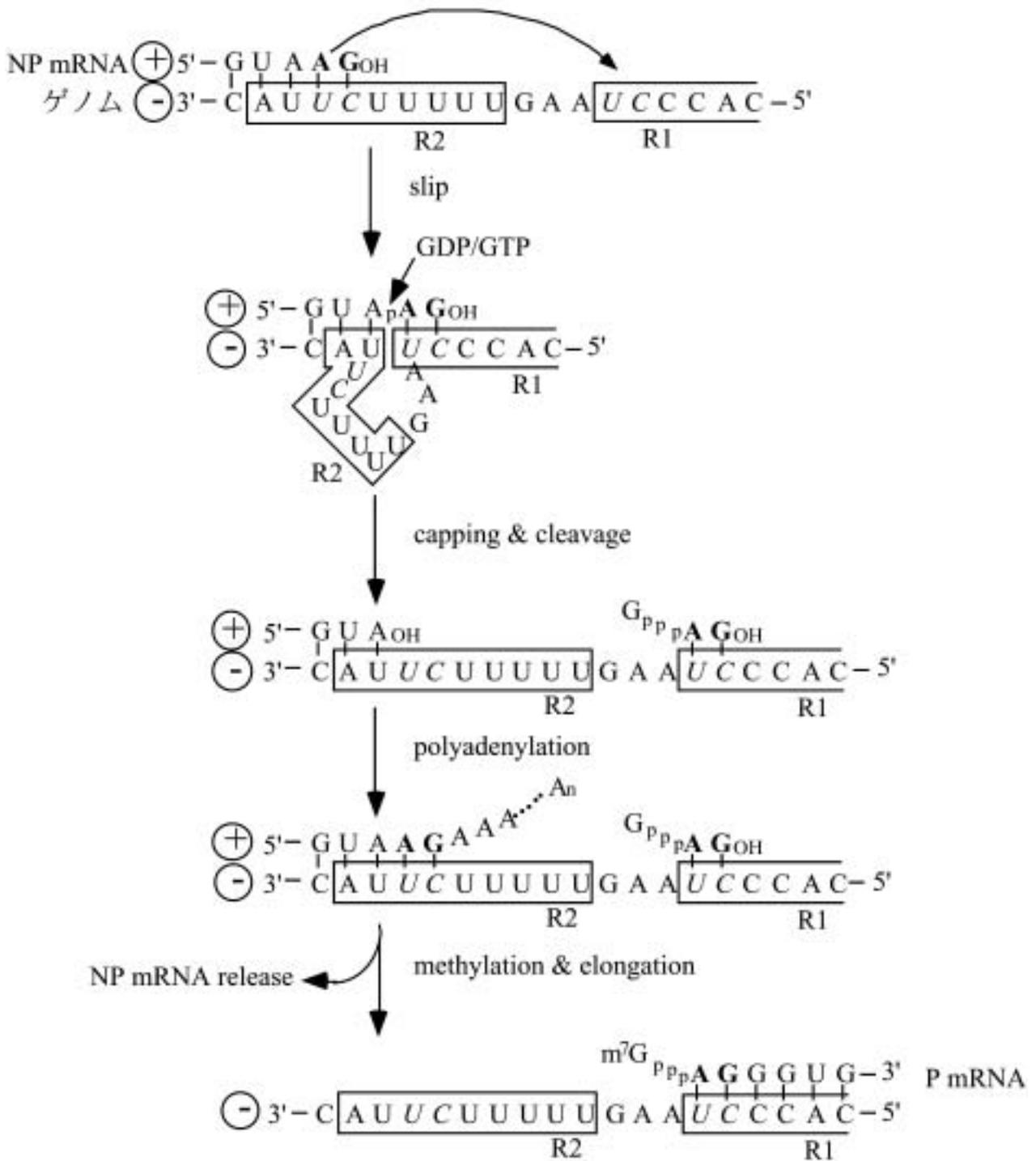


図3 NP/P ジャンクションにおけるモデル

このモデルは他の mRNA/mRNA ジャンクションについても同様に適用できる。また、Ie/NP ジャンクションについては、AAA の上流 5-7 ヌクレオチドの UCC から転写されてできる -AGG_{OH} がスリッパし NP R1 の最初の 3 ヌクレオチド UCC と塩基対を形成すると考えればよい(ゲノム鋳型側は 8 塩基のループを形成)。但しこの場合、Ie のジャンクション領域にはオリゴUがないので Ie RNA にはポリ(A)が付加されない。

おわりに

何かかっこいいエピローグで結びたいところだが、あまりその器量もないし、長くなってしまったので、唐突だがこちらで打ち切ることにして。SeV の転写/キャッピングの機構についてこれまでの色々な観察事実をもとにちょっと冒険してみた。この冒険は、塩見さんからニューズレターの原稿を依頼され、すでに締め切り日が過ぎてからのこの数日間で思いついたものである。書きながら次々

にモデルの不備に気づきハットすることしきりである。これを叩き台にディスカッションしていただければ幸いである。ぜひ皆様のお知恵を拝借したい。さて、冒険の夢から醒めない内に塩見さんに送ることにしよう。これが単なる夢（逆夢、悪夢？）なのか正夢なのかは、これからの実験にかかっている。実は、ひそかに「やる気」を起こしている。

RNA ウイルスゲノムには夢と冒険がいっぱいある。仲間、歓迎！



プロフィール
1965年 東京理科大学薬学部卒業, 1967年 東京理科大学薬学研究科修士課程修了, 1975年 理学博士(東京大学)。ロックフェラー大学リサーチアソシエート, 東京大学医科学研究所助教授を経て, 1991年より北里大学薬学部教授。2000年より同薬学部長, 薬学研究科長。この間, 1992-2001年 国立遺伝学研究所客員教授。

水本 清久
Kiyohisa MIZUMOTO
(北里大学薬学部)

◆ 随筆 : RNA and I ◆

困ったときの RNA 頼み

石川 冬木 (京都大学・大学院生命科学研究科)

染色体はその神秘の姿を間期細胞核で眼下にさらすことではない。細胞周期の約1割を占めるにすぎない限られた時間, その分裂期で染色体ははじめてその姿を人前に現す。しかもこの短時間のあいだに染色体はきわめて規則正しく動的に変化するので, M期染色体に虜になっている染色体研究者は多い。特に近年, 蛍光蛋白質発現細胞をライブ観察する技術が一般的になって, M期染色体を動画として鑑賞することができるようになると, 染色体研究者に限らず, 誰しもその一糸乱れぬ合目的な動きに感動するのではないだろうか。M期におこる染色体分配に代表されるように, 染色体の規則正しい複製と分配が生命連続性の根幹をなす。従って, 染色体が示す種々の動きは, 生物進化における適応現象の華といえる。このように, 染色体研究は, 構造と適応性の理解が醍醐味である。

生物構造の特徴の一つは, 構成成分の分布様式の二値化である。この「二値化」の本質は, その分子そのものの有無ではなく, 多くの場合, 重合体形成等による分子の異なる存在様式が二値化することである

開放系である生物は, 外界からエネルギーを吸収して系の乱雑さの増加を抑制する。しかし, 生物がもつ構造の特徴は, これだけにとどまらない。細胞は, その機能を遂行するために, 細胞内小器官などの機能分化した生体反応の場をもつ。これらの構造は独立して存在するために, その構成成分は正しい場所にあつて, その他の場所には存在しない。すなわち, 生物構造の特徴の一つは, 構成成分の分布様式の二値化である。この「二値化」の本質は, その分子そのものの有無ではなく, 多くの場合, 重合体形成等による分子の異なる存在様式が二値化することである。アクチン分子は細胞質内に広く分布するが, フィラメントを作るFアクチンと単量体として存在するGアクチンの分布の二相化が構造機能上重要である。このように, 液層に分散している状態と固相として存在する状態が(定義上)排他的であり, その二相が存在することが生物学的構造の基盤をなす。

染色体の構造

染色体に限らず, 細胞内外の構造は, 多種多数の分子の集合によって形作られる。よく教科書に書いてあるように,

アクチンの例のように, 多くの場合, 分子間相互作用によって固相状態の分子集合が形成される。しかし, その形

成機構は、種々であり、また、できあがる固相状態の進展方向も1次元から3次元まで種々である。最も代表的な生体内構造は生体膜であろう。この場合、リン脂質が水溶液中で示す両親媒性が構造形成の推進力である。一方、核内には膜成分がないために、この様式による構造形成は見られない。核内構造の特徴の一つは、分枝のない線状重合体であるDNAの軸方向に沿った1次元方向への伸長である。この1次元構造形成の分子基盤はまだ未解明な点が多いが、機能的にそれを示唆する例はいくつか知られている。その一つは、発生過程におけるHox遺伝子群の経時的発現パターンの変化である。体節の発生を決定するHox遺伝子は、一番前方のセグメントを制御するHox遺伝子が最も初期に発現し、その後、より後方のセグメントのHox遺伝子の発現が順次オンとなる。ところが、これらのHox遺伝子群は、染色体の座位において、制御するセグメントの前後軸上での順序、すなわち発現の順序と同じ順序で、物理的にDNA上に存在している。このことは、何らかの発現をオンあるいはオフにしている構造がDNA上で一次的に勾配をもって存在しており、その構造物の伸長あるいは短縮に従って発現が順次開始されると理解される。これによく似た例は、ヘテロクロマチンの位置効果現象であろう。古典的なヘテロクロマチンの位置効果は、ユークロマチンにある場合には正常に機能する遺伝子をショウジョウバエセントロメアなどのヘテロクロマチン近傍に置くと、その発現が抑制される現象をいう。重要なことは、遺伝子をヘテロクロマチンのより近傍に置くと発現抑制の程度が強くなり、やや離して置いた場合には弱いことである。このことは、染色体に沿ってヘテロクロマチンとユークロマチンの間には構造の勾配があり、遺伝子が勾配中のどの場所に存在するかによって、様々な位置効果が生まれるであろうことを示唆する。染色体の軸と線状DNAの軸は概ね一致すると考えられるので、この現象は、DNAに沿ったクロマチン構造の存在様式の勾配と理解される。実際、クロマチン免疫沈降法によって、特定のヘテロクロマチン蛋白質がDNA上で勾配をもった結合様式を示すことが解明されており、この現象をヘテロクロマチンのスプレッディングという。また、ヘテロクロマチン構成成分を過剰発現するとスプレッディングがより遠距離まで起こるので、スプレッディングの程度は構成要素の局所濃度の影響を受け、すなわち、蛋白質間あるいはDNA・蛋白質間相互作用に基づいているだろうことが示唆される。いかにスプレッディングがDNA上を拡がるかについてはいくつかの可能性がある。構造を構成する蛋白質が直接DNAと結合する場合もあれば、ヒストンを介したヌクレオソームとの相互作用を介して拡がる場合もある。

DNAは、細胞内で唯一の非常に安定な分枝を伴わない1次元構造体であると言ってよく、その軸上の1次元スプレッディングは染色体に特有な現象であると言ってよい。

このことから、Hox遺伝子の例で見たような表現型とDNA上の位置の投射関係が生まれる場合もある。このことは、ゲノム解析が進んだ現在、特に発生過程を理解する上で今後重要な課題となるであろう。

しかし、1次元方向に伸長する構造物は染色体構造にとどまらない。その代表例は細胞骨格である。特に、微小管形成機構は染色体構造形成機構の理解の上で非常に示唆的である。微小管が形成されるためには、セントロソームなどのMTOC (microtubule-organizing center) が必要である。MTOCでは、チューブリン単量体 ($\alpha \cdot \beta$ 二量体) のいわゆるニュクレエーションが起こるとされ、重合反応の開始のためには、単量体の局所濃度を高くすると同時に、結晶構造を作らせるときのように、核となる鑄型が必要とされる。一方、MTOCにおいて一度作られた微小管は、一般に数マイクロメートルの安定な構造物となるが、この安定性は、チューブリンが前後および横方向に沿って多価結合をすることで説明される。微小管の長さは動的に変化する。これは微小管のプラス末端においてチューブリンの重合反応と脱重合反応が交互に起こりうるからであり、この非平衡的挙動は、プラス末端における β チューブリンがGTP結合型とGDP結合型を確率論的に遷移するためと言われる。すなわち、微小管形成においては、構成成分の多価結合が基本となるが、その形成過程においては、微小管自身ではない鑄型構造によるニュクレエーションと微小管構成蛋白質の立体構造変化による動的不安定性の二段階が重要である。

同じようなことは染色体構造についても推測されているのであろうか。ヘテロクロマチンには、セントロメア、テロメア、リボソーム遺伝子などのように、固有の繰り返しDNA配列に恒常的にヘテロクロマチンが形成される構成的ヘテロクロマチンと、特に細胞分化に従って特定の細胞系譜が必要としない遺伝子群の発現を抑制するために形成される随意ヘテロクロマチンの二種類がある。このうち、構成的ヘテロクロマチンの形成機構については最近理解が進みつつある。一般に、ヘテロクロマチン構成要素の多くは、自身や他の蛋白質と複数の蛋白質間相互作用を行うことにより、多価結合に基づいた安定な構造体を作る。一方、構成的ヘテロクロマチンを新規に形成するにあたっては、セントロメア配列、テロメア配列などのDNAシス配列が必要である。これらの構成的ヘテロクロマチンシス配列は、それぞれのDNA結合蛋白質と結合し、シス配列の繰り返し性を反映したDNA結合蛋白質の存在様式の繰り返し性を生み出し、これが微小管におけるMTOCが果たす役割、すなわちニュクレエーションをもたらすのであろう。この仮説に基づけば、DNA結合蛋白質が作る構造体の界面の規則正しさが、蛋白質間相互作用に基づくヘテロクロマチン形成の鑄型を提供する。微小管は中空の管であるため、その鑄型構造はおそらく γ チューブリンリングにもとづく1次元

構造である。しかし、ヘテロクロマチン構造に同様な管状構造を想定する理由はなく、一般に、鋳型としては1次元よりも2次元のほうが有効に機能するため、DNA結合蛋白質が作る構造体界面は、DNAを取り囲む2次元構造をとるものと予想される。この2次元界面を鋳型として種々のヘテロクロマチン構成成分が蛋白質間多価相互作用によってリクルートされ、3次的に伸長するのであろう。このように、ヘテロクロマチンと微小管の立体構造上の次元に関するアナロジーは見かけだけのものであることが分かる。一方、特に随意ヘテロクロマチンの場合、ヘテロクロマチン構造も動的に構造変化するものと考えられる。微小管で理解されていることを援用すると、重合脱重合端における蛋白質の立体構造変化が重要であろう。しかし、注意しなければならないのは、微小管と対照的にヘテロクロマチンにおいては、構成成分の重合脱重合は2次元面で行われると予想されるので、ヘテロクロマチン構成蛋白質の翻訳後修飾や小分子結合による立体構造変化は、2次元的な広がり性を示す可能性がある。表面化学において、固体界面を形成する分子は、内部にある分子と異なる挙動、たとえば、協調再配置領域の形成、をとるといふ。今後、クロマチン構造の形成過程の理解にはナノテクノロジーの進展で明らかにされた界面現象を応用することが重要に思われる。

染色体の適応的機能

染色体構造の理解はようやく端緒がついたばかりであるとは言いながら、分子的理解の道筋が見えてきた雰囲気がある。それに対して、染色体挙動の適応性の理解はまった

く手がかりが得られていない。マクロな染色体の異なるドメインがあたかも意志があるかのように協調的に振る舞うのはなぜであろうか。空間的に連続したものであれば、場の変化、たとえばカルシウム濃度のパルス等によって異なるドメインの挙動を制御することも可能であろうが、多くの場合、適応的挙動に関与するドメインの特徴的な空間配置は確認されていない。そうであるならば、協調して機能すべき各ドメインに共通して作用する可溶性因子の存在を仮定する必要がある。その意味で植物や分裂酵母で明らかにされたRNAi機構のヘテロクロマチン形成への関与は刺激的である。RNAは立体構造を形成して単なる配列情報以上の分子認識を行いうる。また、RNAi機構の特徴の一つは情報増幅を行えることであり、これは機能的な二値化に非常に有効である

に熱いまざしを投げかけている。



プロフィール

1982年東京大学医学部卒業、1990年医学博士、米国Colorado大学Thomas R. Cech研究室留学を経て、1992年東京工業大学生命理工学部助教授、1998年同教授、2002年より京都大学大学院生命科学研究所教授。

石川冬木
Fuyuki ISHIKAWA

〔京都大学
大学院生命科学研究所〕

❖ 追悼 ❖

京極好正先生を悼む

鳴本伸雄 (国立遺伝学研究所)

「家族のことは、全く思い残すことはないが、仕事のことは、思い残すことばかり」というのが、京極好正先生が病院で死期を悟られたときに、奥様に感謝とともにのこされた、お言葉です。ご家族に恵まれ、最後までE-mail等で所長としての責務に答えるべく努力して居られた先生の、率直なお気持ちだったとおもいます。先生の弟子筋でもなく、

それほど多くのお仕事を手伝ったこともない私が、先生の追悼文を書くのは、差し出がましいことですが、私には先生に関する強い思い出があります。

10年以上前に、X線結晶学者と、当時タンパク質の機能ドメインにまで到達していた分子生物学者とを集めて、京

極特定発足前の研究会を行ったときのことでした。後に X 線結晶学の方からは、「お白州方式の悪夢」と言われるように、当時日本特有の歴史的事情から、酸化還元酵素の原子・電子の動きに集中していた X 線結晶学を、分子生物学に振り向けるために、X 線側は 10 分、分子生物側は 30 分という差別をつけて、新規タンパク質へのブリーフィングをしたことです。

この会は、限られた参加者ではありましたが、大きな転換点に当たっていたと思います。京極先生との議論の中で生み出されたアイデアでした。利害を共有する中での批判には良く耳を傾け、批判をうまく生かすが、利害の外にいるものの批判は、人格的攻撃ととらえて、全く耳を貸さない、日本人の性（さが）を利用したすぐれた企画だったと今でも思っています。もちろん、摩擦は承知の上でしたが、京極先生には、人徳のせいで恨みは行かず、私がほとんどの恨みを引き受けることになったような気がします。いつか、先生をとっちめてやろうと思っていたのですが、この世では、その機会を逃してしまいました。

ご葬儀で、京極先生が洗礼名を持って居られたことを知りました。カソリックの信仰では、この世の業で、この世界的に認められてしまったものは、天国の宝にはなりません。

その意味でも、先生の宝は、最後に残された言葉の前半だったと思います。万が一、そう遠くない時期に、先生にふたび会える幸せに恵まれたなら、あの会を楽しく思い出すと共に、やっぱりとっちめてしまうでしょう。先生、そのときは御覚悟を。

本特定領域研究総括班評価グループの一人であられた産業技術総合研究所京極好正前生物情報解析研究センター長（大阪大学名誉教授）は、2003年2月27日にご逝去されました。ここに謹んでご冥福を祈ります。

中村 義一



プロフィール

1978年京都大学大学院博士課程修了、理学博士。アルバートアインシュタイン医科大学ポスドク、広島大学助手、国立遺伝研助教授を経て1996年より教授。

嶋本 伸雄

Nobuo SHIMAMOTO

(国立遺伝学研究所)

◆ みーていんぐりぼーと① ◆

班会議潜入記

三嶋 雄一郎

〔神戸大学自然科学研究科
RNA 情報発現研究室〕

今年の1月に、特定領域研究「RNA 情報発現系の時空間ネットワーク」の第一回合同班会議が開催されました。今回の班会議は同伴者が認められていましたので、学生ながら私も会議に潜り込ませていただきました。班会議は初めてだったので、いろんな事が新鮮で、非常にいい経験になりました…とここまでは良かったのですが、ひよんなことからニュースレターに班会議のレポートを書く事になってしまいました。班会議があったのは数カ月も前の事ですので、ハッキリ言って記憶があんまり残っていません。せめて前もって分かっていたらしっかりとノートを書いたのに。泣きごを言ったところでどうしようもありませんので、かすかな記憶をたどって感想を書いてみようと思います。

まだ班会議に参加した事のない皆さんに、その雰囲気伝われば幸いです。

会議は静岡県の三島で行われました。三島駅の改札を出てふと周りを見渡すと、すでに RNA 関係の先生方が勢ぞろいしています。先輩の神さん (News letter Volume.1 Number 1. p50 参照) と、「あ、〇〇先生だ」「あそこにいるのは××さん」などと言いながら歩いているうちに、会場である東レの研修センターに到着しました。実は私はこの施設を他の学会で2回ほど訪れた事があったのですが非常に素晴らしい施設です。客室も広くてきれいですし、プールや浴場もあります。さらには飲み会につかえるようなラウンジもありま

す。周りにはコンビニもないので車がない場合は少々
不便を感じますが、おかげで会期中は合宿のような(?)雰
囲気でした。

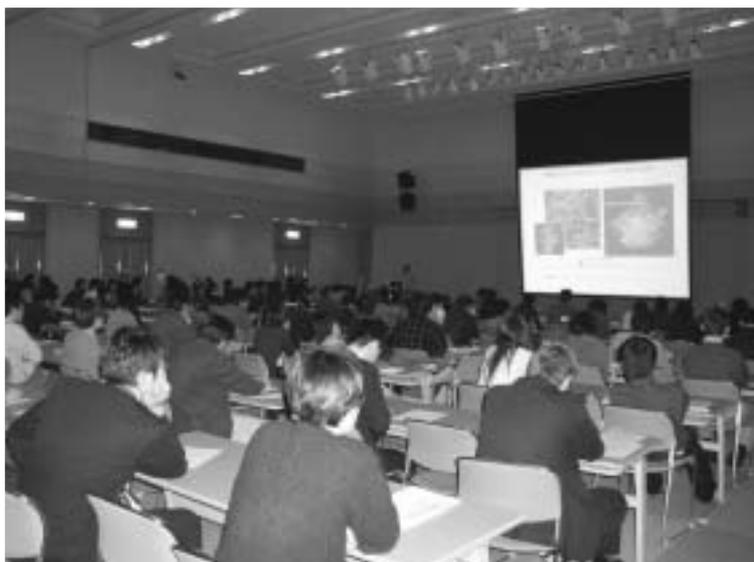
手続きを済ませて会場に入り、周りを
見渡しました。やはり学生は少ないよう
でスタッフ格の人がほとんどです。しか
も研究成果が評価・審査される場とあっ
て、学会とはちがう緊張感が漂っている
ように感じました。あわてて観光気分
になりかけていた気持ちを切り替え、席に
着きました。しばらくすると開会の挨拶
があり、早速発表が始まります。一口で
RNA といってもその研究対象は様々で
す。私のバックグラウンドは発生生物学
ですので、普段はあまり触れる事のない
研究分野の発表は非常に勉強になりまし
た。個々の発表内容については残念ながら（思い出せない
ので）詳しく述べる事はできませんが、RNA というキー

今後の採択の参考にするために、
公募班員の研究に厳しい目が向
けられるのは当然の事と思いま
す。しかし、5年という長い期
間採択が決まっている計画班員
の研究にこそ、本来厳しい目が
向けられるべきなのではないで
しょうか。素人目から見ると、
公募研究に厳しく計画班員の研
究には優しいような雰囲気を感じ
てしまいました

ワードのもと、分子メカニズムから高次生命現象まで幅広
い研究が集められていました。これは非常に大事であると思
います。現在までの生物学は、例えば分子生物学は分子

生物学で、発生生物学は発生生物学で、
というように個々の研究分野が独立して
進んできた。しかしこれから先は、これ
ら独立な研究分野を有機的につなげてい
くことが必要とされてきます。そういつ
た意味で本特定は、現在の生物学のニー
ズに応えるものであると強く感じました。

また、公募班員の方は来年度以降の採
択がかかっているという事で、発表から
はその熱意や意気込みが伝わるものが多
く、刺激を受けました。（個人的には、い
つも陽気な奈良先端大の影山裕二先生が、
発表が近づくにつれて無口で神妙な面持
ちになっていったのが印象に残っています。）しかし同時に、
プレゼンテーションの技術について考えさせられる事にも



班会議風景



松藤さん



岡田さん



運営スタッフ



中村代表

なりました。研究費獲得の場、審査の場では、研究内容の質はもちろんですが、発表技術の差が目立ってしまいます。すばらしい研究内容を他者にもすばらしく伝える技術は、学会発表の時よりも必要とされると感じました。質疑応答に関しても、研究の結果だけでなくその意義を問うようなものが多く、学会との違いを感じました。特に公募研究者の発表に対しては各班長の方の厳しい質問が続き、研究者同士の「真剣勝負」を肌で感じる事ができました。

2日目の夜には、懇親会が行われました。その中であった、領域代表の中村義一先生をはじめ、先生方の話は印象に残りました。日本のRNA研究の創世記からこの分野を支え、動かしてきた方々の話からは並々ならぬ熱意が伝わってきました。これはサイエンスの社会に限ったことではないですが、「最近の若者は元気がない」とか「やる気がない」という言葉がよく聞かれます。私はそのような意見には反感を感じていたのですが、今回ばかりは認めざるを得ませんでした。日本のRNAの分野を盛り上げていこうという情熱、そしてサイエンスに対する情熱は私の想像以上に大きなものであり、今の私に足りないものだと思感させられました。さらに懇親会後の2次会にも少し参加させていただいたのですが、お酒もほどよく入りその勢いはさらに増して、圧倒されっぱなしでした。(しばらくして私は中座したのですが、最後までいた神さんの話では、昼間の発表以上にヒートアップする場面もあったそうです。)

さて、「刺激を受けた」ばかりでは面白くありませんので、ここでいくつか意見を述べさせていただきたいと思います。発表は各10分、質疑は2分との事でしたが、これが少々意外でした。科学研究費=税金を使って研究した成果の発表・評価する場ですので、もうちょっと時間をかけて行うことが望ましいのではないのでしょうか。人数も多くタイトなスケジュールなのは確かなのですが、全体的に時間に追われている気がしました。そのせいか発表自体もイントロダクションが短い場合が多く、初めて聞く研究内容や普段



懇親会初期



懇親会中期



懇親会後期

なじみのない分野に関しては、残念ながら十分には理解できませんでした。もちろん、この会議自体学生や素人を対象にしたものではなく専門家による評価の場であると言われてしまえばそれまでなのですが、より多くの人間の意見・評価を取り入れるためには、ゆとりある開催形式も必要とされるのではないのでしょうか。また、計画班員と公募班員



新・坂本研。前列右から2番目、坂本さんと藤原俊伸さんに挟まれているのが筆者。後列左から3番目が井上邦夫さん。

の違いも少し気になりました。今後の採択の参考にするために、公募班員の研究に厳しい目が向けられるのは当然の事だと思います。しかし、5年という長い期間採択が決まっている計画班員の研究にこそ、本来厳しい目が向けられるべきなのではないでしょうか。素人目から見ると、公募研究に厳しく計画班員の研究には優しいような雰囲気を感じてしまいました。

今回の会議に参加する事になって、私がまず最初に考えた事は「班会議とはどんな場だろう?」ということでした。もちろん名前は聞いた事がありますし、どういう目的の集まりかも理解しています。しかし実際に参加する機会は学会と比べると少ないため、我々学生のような、参加した事がない者にとってはその雰囲気などは見当が付きません。

そのためかどこか閉鎖的なイメージを持ってしまいますし、身近なものとして感じにくい部分があります。しかしながら、将来サイエンスの分野で生きていくのであれば、日本の科学研究費の現場について知る事は非常に重要ではないかと思えます。また、今自分が関わっている研究分野が、日本においてどのように動いているのかを知る事も大事ではないかと思うのです。私にとって今回の班会議はそういった事を肌で感じる非常にいい機会となりました。他の班会議については知らないので比較はできませんし、学生の参加には賛否両論あるかもしれませんが、私の意見としては今後も学生が参加する機会を認めていただければ、と思います。同時に、日本のRNAの分野は、RNA学会も含めて非常に学生に寛容であることも感じています。先生方のそのような計らいに、我々若者が積極的に参加していくことで応えなければならないと思いました。

なんだかまとまりのない文章になってしまいましたが、班会議の雰囲気は伝わったでしょうか。偉そうな事を書き連ねましたが、私も今回の会議に「参加」できたとは言いがたく、タイトルどおりの「潜入」に終わってしまいました。次回参加する機会があれば、もっと積極的に「参加」できればと思っています。

プロフィール

2001年に大阪市立大学理学部生物学科卒業後、奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科博士前期課程に入学。2003年に同課程を修了、現在神戸大学自然科学研究科博士後期課程1年に在籍。

三嶋雄一郎

Yuichiro MISHIMA

神戸大学自然科学研究科
RNA情報発現研究室

◆ みーていんぐりぼーと② ◆

ウィーン・ストックホルム漫遊記

坂本 博 (神戸大学理学部)

今年で第8回目となるRNA Society年会は7月1日～6日の期間、ウィーンで開かれました。神戸大からは、私と助教授の井上邦夫さん、助手の藤原俊伸さんのスタッフ3人が参加しました。出発の数日前になって関空発の便がキャンセルされ成田発の便に変更されたので、早朝から伊

丹に行かなくてはならず、3人もかなりのお疲れモードでウィーンに到着、ホテルに荷物を置いた後、早速中心街から北東にある学会会場のCongress Centerに行きました。例のごとく、Cold Spring Harborスタイルの学会なので、ウェルカムレセプション、夕食の後に夜7時半から最初の

セッションが始まりました。その日のセッションの内容もかなり影響しましたが、ご想像の通り睡魔との闘いに苦戦しました。今年の学会には日本から多くの方々が参加したので、学会の詳しい内容は他の方々が次回のニュースレターに紹介すると思いますし、鬼(?)の塩見編集長から通告された今回の原稿締め切りも迫っているので(帰国後数日間で写真付き完全原稿。実は私の原稿は次回のニュースレター用だと誤解していました)、ここでは学会の雰囲気やウィーンの街、そして学会終了後に訪問したストックホルムの街についての私なりの印象をショートレポートします。

まずは学会での口頭発表。ちょっと辛口ですが、私が興味あるものはおそらくほとんどが既に論文として発表された内容ばかりのようでした。RNA 業界も競争が激しくなってきたことの現れかもしれませんが、この学会に来る意味がだんだんと薄れてきたかなとも感じられました。また、時間を守らない発表者、それをそのまま放っておく座長が目立ち、いい意味でおおらか、悪い意味でいい加減の印象。それに、会場のマイクが聞き取りにくいやら、学会が始まってからポスター発表のやり方を変える(当初発表者のアルファベット順だったのを、 $3n$, $3n + 1$, $3n + 2$ のポスター番号別にしたのは一応合理的)など、年会運営にもいろいろと問題があるようでした。ポスターはトピックごとに分類して期間中ずっと貼っておくスタイルだったので良かったと思います。私は参加していませんでしたが、4日目夜のリボソームのセッションでは、なにやら一騒動あったとのこと、興味のある方はセッション参加者に聞いて下さい。全体としては、大きな学会には絶えずつきまとうことですが、RNA Society 年会では多数の参加者が様々な分野の仕事を発表するので、視点が広がりすぎの感が否めません。この傾向は何年も前から続いています。この際全体としての学会は2、3年に1回程度にして、参加者数が限定された個別のテーマを扱うサテライトミーティングをもっと増やして、共通の興味を持つ研究者間の議論の場を増やした方が良いのではないかと思います。最後に、今回の年会がセッティングした催し物としては、2日目の夜にウィーン市庁舎での晩餐会(生演奏、ウィナーワルツのアトラクション付)、5日目の夜に近郊のホイリゲ(ワイン居酒屋)での夕食会があり、それぞれそれなりに楽しみました。ウィーンに行く直前にメールで市庁舎での晩餐会には是非セミフォーマルでとのお達しが来ていたので、その場でほとんどの

私が興味あるものはおそらくほとんどが既に論文として発表された内容ばかりのようでした。RNA 業界も競争が激しくなってきたことの現れかもしれませんが、この学会に来る意味がだんだんと薄れてきたかなとも感じられました

人がスーツやドレス姿だったのは、この学会始まって以来のことでした。

次は、ウィーンの街の印象。学会参加者はホテルから学会会場へのアクセスのために1週間市内の地下鉄や路面電車を自由に使えるパスをもらいました(年会運営にいろいろ文句をつけましたが、これはマルです)。最初は地下鉄、路面電車の両方で全くパスをチェックされないのとまど

いしましたが、後で聞くと時々一斉にチェックされるようで、その時にパスや切符を持っていないとかなりの罰金を支払うはめになるとのことでした。つまり、自動改札システムを発達させた日本とは根本的に発想が違って、ウィーンでは基本的には個人の良心に依存している交通管理システムなのです。設備にあまりお金がかからないこのシステムには驚くとともに感心しました。このパスを使って学会の合間にウィーンを中心街に行く機会がありました。リンクと呼ばれる旧城壁の内側の

シュテファン大聖堂を中心とした街は観光客でにぎわっていましたが、日本の夏休み前だったせいか日本人観光客はほんの一握りでした。少し路地に入ると有名なフィガロハウスなど古い町並みが息づいていて、やや歩きにくい昔からの石畳が印象的でした。少し歩いてウィーン美術史美術館を見学したのですが、ハプスブルク家のきらびやかな財宝には本当に圧倒されました。また、お昼に定評のある店(実はお土産を購入したワイン屋さんの紹介)で食べたウィナーシュニツェルというカツレツみたいな料理は美味でした。皆さんも機会がありましたら是非ご賞味あれ。



年会が主催したウィーン市庁舎での晩餐会。シャンデリアがきれい。

さて次はストックホルムの街の印象。私や井上さんの恩師である日本学術振興会ストックホルム研究連絡センター所長の志村令郎先生を訪問するために、学会が終わってその日のうちにウィーンからストックホルムに井上さん、藤原さんと一緒に移動しました。当日ストックホルムのホテルに着いたのは夜9時ぐらいたったのですが、さすがに北欧の夏、太陽は沈んでおらず、まだまだ明るいのに驚かされました。その晩の食事は近くのカフェの屋外テーブルでとり、気が付いたら夜の11時前なのにまだ完全に暗くなっておらず、時間感覚が麻痺しそうでした。翌日はカロリンスカ研究所構内にある研究連絡センターの志村先生を訪問し、医学生理学賞の審査が行われるノーベルフォーラムの建物などを見学しました。その後は市内に戻りノーベル賞受賞式後の晚餐会や舞踏会が開かれるストックホルム市庁舎内のブルーホール（実際にはブルーではなくて煉瓦色）やゴールドデンホール（こちらは本当にゴールドデン）、また少し離れたところにあるノーベルミュージアムを見学するという完全なお上りさんコースを満喫しました。印象的だったのは、ストックホルムの町並みが中心部を除いて建物の高さがそろっていてそれぞれが調和していて大変美しいものだったことです。また、ウィーンと違って、ほとんどの人が英語を話すことができるのは大助かりでした。その一方で、道路標識、地下鉄、バスの案内などはすべてスウェーデン語で書かれており、英語表記は特別の場所にしかないというところに、スウェーデン王国のプライドを感じ



カロリンスカのノーベルフォーラム前にて。
左から、筆者、志村先生、井上さん、藤原さん。

ました。私たちの滞在中、ストックホルムは湿度も低く大変良い天気でした。例年ストックホルムの短い夏は大変過ごしやすい天候だそうですが、10月以降の冬の重苦しさの代償なのでしょう。ストックホルム滞在中のことで忘れてはいけないことは、志村先生のご自宅近くの湖に面したレストランで私たち3人が先生においしいワインと夕食をご馳走になったこと、また奥様の手料理もご馳走になったことです。志村先生と奥様に感謝。

帰りはストックホルムからウィーン経由で無事関空に朝8時に到着。梅雨の終わりのむっとした湿気にうんざりしながら我が家へ帰り、シャワーを浴びて大学へ。溜まったメールを整理して返事を出すのに夕方までかかってしまいました。私にとってのはじめてのヨーロッパの旅は大変良い印象でしたが、帰国後の時差ぼけに勝てずに書いた原稿なので、あまりそれが伝わっていないかもしれません。乱筆乱文、どうぞご容赦下さい。



ノーベル賞授賞式後の晚餐会が開かれるストックホルム市庁舎内のブルーホール。

プロフィール

1986年京都大学大学院理学研究科修了、理学博士。
京都大学理学部助手（1986年）、神戸大学理学部助教授（1992年）を経て、2000年より神戸大学理学部生物学科教授。趣味は釣り、お酒。

坂本 博

Hiroshi SAKAMOTO

（神戸大学理学部）

◆ 若者達 ◆

徒然なるままに

三木大介

〔奈良先端科学技術大学院大学
バイオサイエンス研究科〕

4月7日、夕方の4時頃、実験を行っていた私に一人の後輩が声をかけてきた。「三木さん、電話。塩見さんとおっしゃられる方から。」私は、びっくりした。なぜラボヘッドが、わざわざ私みたいな一学生に電話をかけてくるのだろうか？なんか、まずいことでもやったっけか…。受話器を取るまでのわずかな間だったが、頭の中は「塩見さんにお会いしたのは、過去二回。RNA学会と分子生物学会で。そういえば分生では、わざわざ私のポスターまで見に来ていただいたんだっけ。そのときには…、えーと、んーと…」、やっぱり理由はとんと分からなかった。結局お電話は、これを書いてほしい、という依頼だったのだが話の内容は全く覚えておらず、えらく緊張したことのみが記憶に残っている。

個人的な思いやスタイルが全面にでているエッセイみたいなものを書いてほしいということだったのだが、さて何を書くべきかと思ひ、過去のNEWSLETTERを開いてみた。ほっほう、神さん(Vol.1, No.1)か、えーどれどれ、……。えらい哲学的なこと書いてある、こんなの俺には無理。私は、あっさりとし神さんのようなスタイルをあきらめた。ちなみに神さんとは、奈良先端大で同じということもあり顔見知りの中ではあったのだが、それほど深く話をしたことがあるでもなく、読んだ後に「神さんって外見も結構知的な感じだが、中身もなんかすごい」と、こんな人と私が同格でものを書いても良いのか不安に駆られた。しかし私はそういった意味でのあきらめは、ものすごく早いのでさっさと以下のスタイルで書くことに決めた。

まず自己紹介を。私は奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科の植物分子遺伝学講座に所属しており、イネを実験材料としRNAiの分子メカニズムについての研究を行っている。RNAiに類似した(ほぼ同じ)現象で、ジーンサイレンシングというものがある。今から15年前に形質転換タバコにおけるジーンサイレンシングが初めて報告された。RNAiが最初に報告されたのが98年であるから、その当初はメカニズムについても植物のほうがよく理解されていた。私が研究を始めた時も、RNAiではなく、イネを用いたジーンサイレンシングの研究がテーマであった。まあ私は98年からジーンサイレンシングに関わる研究を

行っており、かれこれ5年になる。現在ではRNAiが全盛期となったが、研究を始めた当初ジーンサイレンシングはまだマニアックな現象で、よく「なぜジーンサイレンシングなどをテーマにしたのですか」と聞かれた。ジーンサイレンシングという現象を私が初めて知ったのは、確か学部3年生のおわり頃だったと思う。現在では私の先輩であるが、その当時は全く知らない人の書かれた日本語の総説を読んで、であった。小難しく理解できたのは5割も無かったと思うが、「これはおもしろそうだ」という直感はあった。4年生の夏に院試を受け、現在に至る。しかし、大学院入学当時、ボスはたいへんだったと思う。訳の分からないM1がやってきて、たいして勉強もしていないくせに「サイレンシングのテーマをやらせてほしい。そうでないのならやめる。」というのだから、相当嫌だったのではないだろうか。結局、嫌な顔を私に見せることなくテーマを設定してくれたボスには、非常に感謝している。

あの総説がなければ、もし読んでいなければ、もしくは読む時期がもっと遅ければ、今の私は無いだろう。全く違う場所で、違う研究をしながら「あー、RNAiっておもしろそうだなー」と思っていたかもしれない。研究やその成果発表は、タイミングが非常に重要である。これはやっている当人たちにとっては当然のことであるが、その情報によって動く後続の人たちにとっても重要である。私の所属していた明治大学農学部は、学部3年生になった4月から研究室に配属される。だから私がまがりなりにも、英語で書かれた論文というものを読み(読ませ)始めたのは、学部3年生(96年)の時からである。96年というのを思い出されるであろうか？そう、クローン羊のドリーである。ずっと植物以外の生物とは無縁だった私も、やはり研究者を目指す端くれとして当然出ですぐの論文をコピーして読み始めた。何とかがんばって、一通りは読んだし、先輩や知り合いの先生にも聞いた。しかし、バックボーンの無さか、頭の悪さか、内容がちっとも分からなかったのである。内容というより研究のおもしろさといった方がよいかもしれない。その原因の一番は、(英語で書かれた)サイエンティフィックな論文の読み方を知らなかったということだと思う。ドリーほど有名な話であれば、かみ砕いた分かりやすい日本語の解説文が至る所にあるのであろうが、

そういった物は Science, Nature 級の中でも有名な研究に限られる。日本語で書かれた研究成果も、細胞工学・蛋白核酸酵素・実験医学などいろいろあり内容も充実していると思うが、基本的に難しい。私は今、学部生の方々にそういったことをどう考えているのか聞いてみたいが、コンタクトをとる機会がほぼ無いので無理である。若い世代の理系離れが言われているが、仕方ないかもしれないと思うこともある。ドリーほど新しく、世界中がわっと沸くような研究成果はそうそうあるものではなく、地道な研究がほとんどである。だから一般の方々にとって研究というものに触れたり、理解したりすることが非常に少ないことが理系離れを助長しているのかもしれない。研究者が一般の方々に向けた文章を書いても、評価が低いもしくは評価されないことが、そういった文章の少ない原因であろうことは想像に難くない。今、私のいる奈良先端科学技術大学院大学では、高校生を招いて実験をやってもらったり、大学を一般の方々に開放し研究についての宣伝をしたりといったことをやっている。そういった場を見て私が思うことは、結構多くの方がサイエンスに興味を持っている、特に我々の両親ぐらいより上のご年輩の方々に多い、ということである。まあ、11年前にいきなり空き地を開拓し、どどーんと7階建てのビルを林立させ、明け方まで煌々と明かりの消えることのない先端大を見て、「いったい何をやっておるのだ」という興味の持ち方かもしれないが、ちょっとそれは横においておく。こられた方々は、実に興味深げにさまざまなことをふんふんと聞いていく。

今我々研究者（たまごを含む）の研究費は、元を正せば一般の方々の税金がほとんどである。もし彼らが、「研究な



趣味のバイクツーリング仲間と、カツオの本場高知へ行ったときの写真。右に移っている方に無理矢理お願いして、カツオのたたきを作らせてもらっています。学部生の時は、体育会系のスキューバダイビングをやっている部の主将を務め、現在でも体育会系の考え方しかしない。すべて、気力と体力とちょっとしたアイデアで乗り切れると考え実行するので、後輩からは煙たがられる。

「研究者なんて税金を湯水のように使うだけ使う人種だから、そんなやくざな職業に就くのはだめ」

なんていうのはよく分からないから、そういうのに使う税金払うのはたーい！！とか言い出したら、我々の研究は全くできなくなってしまう。当然のことながら、彼らは自分の子供に「研究者なんて税金を湯水のように使うだけ使う人種だから、そんなやくざな職業に就くのはだめ」と言うだろうし、いわれた子供も研究に対する興味を持つことがより少なくなるだろう。ここまで極端なことは起きないと思うが、長い目で見た場合、一般の方々に「研究っていうのは、こういったところがおもしろいんですよ」と、ものすごく分かりやすくオープンにすることは絶対に必要だと思う。そうすることで、若手研究者の裾野も広がるだろうし、ひいては研究者社会の安定性につながると思っ

ている。そうは言っても、なかなか理想通りには行かないものなんですけどね。私がおもっとあると良いと思うのは、中学生や高校生をターゲットにした、研究を分かりやすく紹介したような本などである。現在、増えてきているが数は少ないし、堅く面白味に欠ける。興味を持ってもら

えるような文章というのはごく少数だと思う。それだけ易しくかみ砕いて書くことはものすごく難しいし、ほとんど研究者としての評価の対象にならないようなものを書いている時間は無い、というのもよく分かる。しかし、若い世代の理系離れを政治家だけに対策を任せるのではなく、ほんのちょっとした広報活動を少しずつ始めなければならない時期がそろそろ来るのではないかと思う。そういえば昔、瀬名秀明さんの書かれた小説「パラサイト・イヴ」ってありましたよね。あのようなサイエンスの素の現場が垣間見えるような小説もよいコマーシャルだと思うし、実際瀬名秀明さんの著書にはサイエンスを広報する目的と思われるものも多い。今回書かせていただいているからといって、別におもねるわけではないのだが、私はこの NEWS-LETTER、もっと一般の方々の目に触れるようにした方がよいと思う。研究に関する部分は難しいが、エッセイの部分は研究者がどういった考えで研究をとらえているのか、一般の方々に知っていただく意味でもものすごくよいと思っている。

ベーシックなサイエンスは、分野外や一般の方々に理解していただくのはたいへん難しい。だからといって広報活動をやらなくてもよいとは思わないし、世論を味方に付けることは非常に重要だと思う。私自身、勉強不足で知らなかったのだが、「専門的な研究を映像化して分かりやすくする」といったことをやっている一般企業などもあるらしい。個人的な希望では、こういったことをしてくれるような企業が増え、それを受け入れる土壌が固まっていくことを強く望むしだいである。

最後に

まず、私の文章を読んでいただいたすべての方々にお礼を申し上げます。こういったタイプの文章を書くことは全く初めてで、こういった感想を抱かれているのか、また自分の今まで人に言ったこともないような考えをひけらかしてしまっただけに気恥ずかしさを感じます。が、なかなかこのような考えを人と話し合う機会もないので、あえて書いてみました。第一線で活躍しておられる先生方からは、「理想論ばかりいいやがって。この馬鹿」と言われそうですが、これからの自分の長い研究者生活を考えたときの、現在の学生という立場から見た将来性への危惧でもあります。

プロフィール
 明治大学農学部農学科農学専修卒。98年、奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科入学。植物分子遺伝学講座にて、イネを用いたジーンサイレンシングおよびRNAiの分子機構の研究を行う。03年3月、博士後期課程を単位認定退学。4月、同講座にて技術補佐員。

三木 大介

Daisuke MIKI

〔奈良先端科学技術大学院大学
 バイオサイエンス研究科〕

◆ 海外からの便り ◆

シュードノット、 イニシエーション-コンプレックス、 ロバストネス

浅野 桂 (カンザス州立大学生物学部)

題名は、今時はやりのテレビアニメのキャラ達の唱える呪文ではありません。私が研究生活の中で出会ってきた重要な生命現象を解くキーワードです。

シュードノット

私の研究歴は、東京大学理学部生物化学科（東大生化）の溝渕研究室で、大腸菌に寄生するプラスミドの複製機構の研究をはじめたことにさかのぼります。私がこの研究を始めた頃（1987年）は、70-80年代の分子生物学を引っ張ってきたプラスミド複製機構研究が山を越えたと思われる（だいたい）頃で、東大生化の学部生の間でのこの研究課題に対する人気はお世辞にも高いとはいえませんでした。しかし研究室紹介の時間に溝渕先生が黒板に書いたRNAの関わる制御モデルが大変印象的で、迷わず溝渕研の門を叩きました。そして研究生活の転機は、研究室に配属されてすぐの実験で訪れました。

Pregenomic時代の当時は、宝酒造のシークエンスキットとアクリルアミドケルを使ってDNAシークエンスを行っ

ていました。ある日練習（下記参照）に疲れて寝込んでしまい短時間の泳動を長時間してしまい、読むべき部分をバッファーに流してしまいました。捨てるのは惜しかったのでゲルを乾燥し、X線フィルムにとって現像し、確認のつもりで塩基配列を読みました。ところがそこに1塩基置換があったのです。

研究テーマは、コリシンIbプラスミドという低コピー数プラスミドの複製制御領域にある複製変異を同定するというもので、図1左にあるように、複製に必要なタンパク質RepZの上流読取り枠で、これまた複製に必要なRepY領域の点変異を探していたわけで、RepY領域下流のプライマーからRepY領域を読むべきところ、そこを流してしまい、さらに上流のステムループ部（負の制御因子でアンチセンスRNAであるところのInc RNAの標的部位）を読んでいて、そのループ部に変異が見つかったのです。これは何だということ、さっそくその抑圧変異を分離したところ、なんとRepY領域に1塩基置換が見つかりました。じつはその抑圧変異部のすぐ近傍にもRepYの複製不能点変異があり、その抑圧変異もIncのループ部に見つかりました。Inc

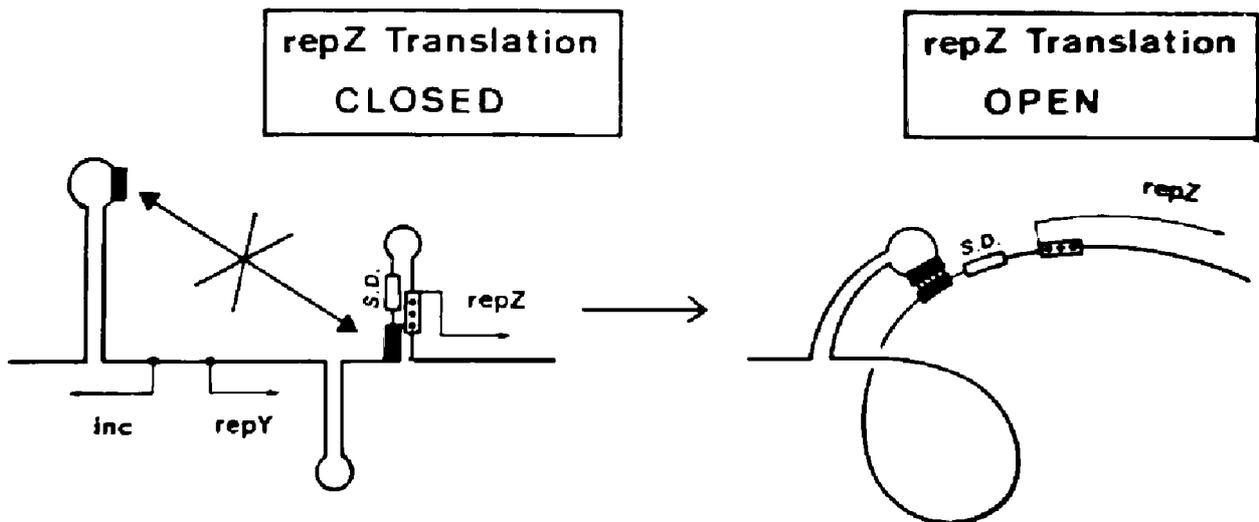


図1 ColIb複製タンパク質 RepZの複製制御モデル

(左) RepZ mRNA 先導領域の RNA 構造。RepZ 開始コドン（中に点3つ）と SD 配列を白抜きボックスで示す。黒ボックスはシュードノット形成に必要な相補性領域で、互いに 107 塩基はなれている。RepY は 29 アミノ酸の上流読み取り枠で、RepZ 開始コドンの 8 塩基下流で終わる。inc はアンチセンス Inc RNA と相補的な標的領域。

(右) repY の翻訳終結過程と共役して形成されるシュートノット。これによってステムループによって隠されていた repZ 開始シグナルが開かれる。左の状態より不安定でただちに壊されることを示唆するため曲線で描いた。

ループと RepY の変異領域は互いに相補的で、塩基対合すると、Inc ステムとともにシュードノットを作ります (図 1 右)。ところが当時 (翌年 1988 年) は、Cell 誌でシュードノットが生物学的に重要と証明する論文が発表される 1 年前で、不勉強でもあった私はすでにこの構造に名前が付いていることも知りませんでした (シュードノットについては松藤先生の本誌 1 巻 45 - 47 ページのすばらしい総説を御覧下さい)

これが日本で最初に発見されたシュードノットだったかは不明ですが (ちなみにすくなくとも当時の生化学事典にはプソイドノットとあり、不自然なので、1989 年の分子生物学会年会ではシュードノットと翻訳して発表しました)、この「相補性相互作用」が抑圧変異解析からみつかったとき、直感的にこれが RepY の翻訳過程によって誘導されると同時に、Inc RNA の真の標的だと思い、その旨溝渕先生に申し上げたところ、「その通りや」と先生特有の大阪弁で肩を叩かれ、のせられてしまったのが全てのはじまりでした。1988 年の分子生物学会年会で、「ColIb プラスミドの複製と調節 II: repRNA 内の重要な相補性領域」の演題で研究成果を発表したときの緊張感、そして感動と興奮は今でも忘れられません。図 1 はこの発表当時のモデルです。

大学ではなく、大学の柔道部を卒業したと思っていた当時の私は 1 年留年の末苦勞して大学院に進学し、詰めの実験を行い、勇んで Cell に投稿しましたが、「3 番めのシュードノットはいらない」との理由で reject されました。幸い同じ原稿を JBC に発表することができました (*J. Biol. Chem.* 266, 3774; *EMBO J.* 17, 5201 もぜひ御覧下さい)。

イニシエーション- コМПレックス

向こう見ずにも、「真核生物でもこんなきれいな仕事をしたい」と考え、博士取得後、アメリカに渡りました。1994 年、あの中村教授 (すくなくとも本誌ではこれ以上の形容詞は不要でしょう) のすすめでカリフォルニア大学デービス校の John Hershey 教授の研究室にいき、翻訳開始因子 eIF3 のクローニングのプロジェクトをはじめました。よりによって、10 から 12 のサブユニットからなるともいわれるヒト eIF3 のクローニングをはじめたのは、漠然とリボソームに近いタンパク質の仕事をしたと考え、eIF3 が最初に 40S リボソームに結合すると考えられていたからです。そこに山があるからみたいな感覚ではじめ、無謀だと周りのポストドクや院生からは冷笑されましたが、幸い当時は EST プロジェクトが始まっていた頃で、翻訳開始因子は発現量が高いため、ごく初期のパブリックナリリリースでほとんどの eIF3 サブユニットをコードする cDNA を手に入れることができ、2 年間で今は 11 とされるサブユニットのうち 8 のサブユニットをクローニングし、ささやかながら 3 つの JBC 論文 (*J. Biol. Chem.* 272, 27042 など) してまとめることができました。偶然に恵まれていたものの、だれもやっていないような、リボソームに近い仕事をしたという漠然とした感覚は実は大変大事で、目先のきいたリン酸化などの仕事より、こちらを選んで良かったと思うのは、このテーマこそが現在に至るリボソーム開始複合体研究のきっかけを私に与えてくれたからです。その後、NIH の Alan Hinnebusch 博士の研究室で、eIF3、eIF2、eIF1、eIF5 からなる開始因子複合体 (multifactor complex = MFC) の形成が生体内 (vivo) での翻訳開始反応に重要であることを発見し、研究室を構える礎となりました (*Genes Dev.* 14, 2534)。

ロバストネス

さて、渡米当初の私の向こう見ずな期待は、その後の真核生物研究の中で見事打ち砕かれました。ツーハイブリッドや試験管内の結合アッセイから明らかになったタンパク質相互作用を、相互作用領域のモチーフに変異を導入することで壊していくという古典的な方法で解析しようとしてしましました。ところが試験管内でその相互作用は壊せても、生体内に導入しても思うように強い表現型としてあらわれないという大きな矛盾がしばしば立ちはだかったのです。真核生物を研究しておられる方ならどなたも御存じだと思いますが、大抵の反応は冗長 (redundant) で、2重3重のバックアップがあり、一つの反応または相互作用を潰しただけでは、強い表現型 (致死など) としてあらわれないのです。そこで真核生物を遺伝学的に研究するためには、何重もの変異を組み合わせ、わずかな表現型の違いを、化学的物理的な知識または技術によって解釈し、時には実験によってより明確にしていくセンスが重要になってくるのだと思います。真核生物とはそのように頑丈(ロバスト)に作られているということだと思います。

大抵の反応は冗長 (redundant) で、2重3重のバックアップがあり、一つの反応または相互作用を潰しただけでは、強い表現型 (致死など) としてあらわれないのです。そこで真核生物を遺伝学的に研究するためには、何重もの変異を組み合わせ、わずかな表現型の違いを、化学的物理的な知識または技術によって解釈し、時には実験によってより明確にしていくセンスが重要になってくるのだと思います

では、細菌などの原核生物の制御は弱い弱かということ、そんなことはありません。違う方法でロバストネスを獲得しているのだということ、最近情報生物学を専門とする親友 (現在、九州工科大学の倉田博之助教授) から聞き、大変感銘を受けました。このロバストネスは、システム科学のれっきとした概念で、正と負のフィードバック制御をもつ発現系は、環境の変動だけでなく、細胞内の遺伝子変異に対して大変強いということだそうです。原核生物の遺伝子発現制御では遺伝子の発現幅が、真核生物よりも1桁も2桁も大きいことが普通です。コリシン Ib プラスミドでも、Inc RNA は、RepZ 発現を1000倍以上も押さえ、Inc RNA が発現しないでシュードノット形成を遺伝学的に阻害すると、RepZ 発現は1000倍以上落ちます。したがって、この場合も発現制御はロバストであり、RepZ 発現、ひいてはプラスミドのコピー数が、環境の大きな変動にも関わらず一定に保たれるのだと予測されます。これはコリシン Ib のような低コピー数で保たれるプラスミドの生存 (または繁栄) にとっては特に必須のことだと考えられます。最後に、前出の倉田博士によれば、生物のロバストネスは一般に、(1)遺伝子の冗長性、(2)正と負のフィードバック制御に由来しており、基本的仕組みは人工物と同じであるにとらえてよいようです。

アメリカでの研究生活

以上のように、行き当たりばったりの考えで渡米し、研究生活を送るうち、おそまきながら、アメリカやヨーロッパの独立ポジションに応募をはじめ、最初にオファーのあったカンザス州立大学で2001年1月から研究室をもつことができました。現在、NIHの正規のグラントを得て、ポスドク3人、院生1人、技官1人と研究をしています。彼等の働きのおかげで、研究室から最初の論文を今年8月の MCB に出すことができました (He et al., *Mol. Cell. Biol.* **23**, No. 15, in press)。また、もう一報の論文を投稿したばかりです。

なんとかここまで来ることができたのは、さまざまな幸運のほか、何より、良い指導者に恵まれたからにほかなりません。特に、競争が激しかった Hinnebusch 研究室で、マイペース型の私を忍耐強く見守り、高く評価してくれた Alan Hinnebusch 博士の推薦 (大学だけでなく、一流研究者世界への適切な紹介) がなかったら、いくらたくさん論文を書いても独立し、ましてやそれなりの研究室を持つことは無理だったと思います。ただ、

今から振り返ってみて、もっと幸運だったのは、最初の渡米生活を John Hershey 教授のもとではじめられたことだったと思います。日本人や日本人学生に対して理解のある教授のもとで、多少のわがままを大目に見てもらい、英語力も含め研究者としての資質を養うことができなかつたら、ポスドク間の競争が激しい NIH の研究室で、Hinnebusch 博士と良好な人間関係を築くのは難しかったのでは、と思います。

そしてもう一つの幸運は、すばらしい家族に恵まれたこ



カンザスの浅野家。左から雅代、美月(1歳)、筆者、泉美(4歳)

とだったと思います（渡米した年に結婚しました。写真参照）。学生時代の研究は、若さと集中力で乗り切れますが、研究をなりわいとして選ぶと、仕事の上で煮詰まってしまうこともあります。それを忘れられるのは、家族がいて、時には長期休暇を取って気分転換ができたからだったと思います。我が家のアメリカ地図に、これまでに家族で旅行した道路をマークしましたが、デービス（サンフランシスコ近郊）を中心に西海岸、NIHのあるメリーランドから南部にかけての旅行、さらにデービスからメリーランド、そしてカンザスへと引っ越しは車で行ない（大陸横断4分の3往復？）、だいたい埋め尽くされてきました。カンザスはアメリカ大陸部のほぼ中央ですので、コロラド、テキサスなどには行ってみたいと思っています。

最後になりましたが、私の研究室では、大学院生、ポスドクを問わず、常時人材募集中です。一般にアメリカでは

研究室の人材の回転が速く、成果を上げた人はすぐにより良いポジションに移ってしまいます。ポスドクを考えておられる方には、カンザスの私の研究室は、次の本当の挑戦をしたい人たちへの、良いステップになると思います。大学院生は、日本と違い、大学生への教育を手伝うことでかなりいい給料（年間20000ドル前後）を貰って勉強し、やはり両海岸のより良い大学でポスドクに進む人が多いです。私の研究室を考えておられなくても、一般にアメリカでの研究機会等について興味がありましたらぜひ kasano@ksu.edu まで気軽にメール下さい。

プロフィール

1994年東京大学大学院修了、理学博士。カリフォルニア大デービス校、国立保健研究所（NIH）で研究従事後、2001年1月より現職、Assistant Professor。

浅野 桂

Katsura ASANO

（カンザス州立大学生物学部）

RNA Update

特集：翻訳調節①

翻訳調節二刀流

岡野 栄之

岡野ジェイムス洋尚

（慶應義塾大学医学部生理学教室）

哺乳類の神経系を構成する神経細胞、グリア細胞、オリゴデンドロサイトは、全て神経幹細胞と呼ばれる共通の stem cell から分化して形成される。これらの細胞の分化過程には転写因子をはじめとする多くのタンパク質が関わり、時間的・空間的にきわめて複雑な遺伝子発現の調節ネットワークが存在している。神経細胞分化のプロセスには、必要なタンパク質を、必要な場所で、必要な量、決まった順番で、必要な期間だけ、ドンピシャのタイミングで発現させることが必要とされ、これが狂うと正常な脳ができなくなってしまう。いったいこの厳密かつ複雑なタイムテーブルを誰がどのように決めているのだろうか？その情報はゲノムのどこにどのように書き込まれているのだろうか？ちょっと突飛かと思われるかもしれないが、私たちは翻訳調節がその鍵を握っているかもしれないと考えている。神経系に発現し、細胞分化を調節していると考えられる二つの RNA 結合タンパク質 Musashi と Hu の機能解析を通して、この謎の真相に迫っていききたい。

Musashi による翻訳調節

昨今、ちまたでも知名度がうなぎ登りの武蔵、いや Musashi が世に（RNA World に）出るきっかけとなったのは、アメリカ東海岸のある研究室で、外感覚器と呼ばれる器官に毛を二本持つショウジョウバエの変異体が発見されたことに始まる。日本人であったこの発見者は、自分の子供が生まれたかのごとく歓喜し、そのミュータントに日本的な名前をと、二刀流になぞらえて Musashi と命名した。この発見者はタフで強面であったが、思い入れのある Musashi ミュータントにはとりわけ優しかった。ショウジョウバエ Musashi の研究はその後着々と進み、Notch シグナルの正の介在分子である転写抑制因子 TTK69 の mRNA の 3'UTR に結合し、その翻訳を抑制していることが明らかとなった。実際、Musashi ミュータントにおいては、抑制されるべき TTK69 の発現が異所性に起こることが、この変異体の形質を生み出していることが示された。このことにより Musashi はショウジョウバエの外感覚器における神経前駆細胞の非対称性分裂の極性を翻訳調節によって決定し

ていることが示された。Musashi による翻訳調節の分子メカニズムを解明するというのが目下の目標である。

マウスの Musashi が発見されたときにも、例の発見者は二人目の子供が生まれた時のように喜んだ。すぐにモノクロ・ポリクロ抗体を作って発現解析をするという熱の入れようだった。予想通りマウス Musashi は、神経前駆細胞の分裂が活発な胎生期神経管の脳室壁周辺部位に強い発現が認められ、Musashi が神経を生み出す能力のある細胞において、神経細胞への分化決定過程に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。また細胞生物学的な解析により、Musashi が神経幹細胞に強く発現していることも確認された。マウス Musashi の機能を明らかにするために、SELEX 法による結合配列の検索が行われ、その情報をもとに下流遺伝子の同定が試みられた。その結果、Musashi は哺乳類の神経系の細胞の非対称性分裂にかかわると考えられている m-Numb の mRNA の 3'UTR に特異的に結合し、その発現を翻訳調節によって制御していることがわかった。m-Numb は、神経幹細胞の未分化性の維持に必要である Notch シグナルを抑制すると考えられており、Musashi は m-Numb の発現を抑制することにより Notch シグナルを活性化し、結果として神経幹細胞の形質維持に働いていると考えられる。現在、この翻訳調節機構の解明のため、Musashi 結合タンパク質の検索が行われている。また m-Numb だけが唯一の標的分子であるとは考えにくく、新たな下流遺伝子の

検索も重要である。さらに生体における Musashi の機能をより詳細に解析するために、Musashi-1 と Musashi-2 のノックアウトマウスが作成された。またこれらのマウスからダブルノックアウトマウスも作成され解析が進められており、近々、学会において紹介できるものと考えている。

Hu の神経細胞における機能

脊椎動物において臓器特異的に発現する RNA 結合タンパク質はいくつか知られているが、その中でも Hu は代表的な分子である。といっても Hu ファミリーと呼ばれる 4 つのタンパク質のうち HuB, HuC, HuD は神経細胞特異的に発現するのに対し、HuR (我々は HuA と呼んでいるが) は、他のメンバーと最も配列相同性が低いうえ、ほぼ全ての臓器で発現していることが知られている。もともと Hu は傍腫瘍性脳脊髄炎 (PND) という自己免疫疾患の患者の血清中に出現する自己抗体の標的抗原として米国メモリアル・スローンケタリング癌研究所神経内科グループにより同定された。このグループを率いるポズナー博士は、肺小細胞癌を持つ患者において、癌細胞に発現する抗原 (実はこれが Hu だった!) を攻撃する患者自身の免疫機構が働いたとき、癌組織が縮小する一方で、脳の神経細胞がごとごとく破壊されて死に至る症例があることを発見した。彼らはこの患者の血清中に神経細胞と肺小細胞癌の細胞の両方を認識する自己抗体が存在することに気づき、この血清を使って発



岡野研究室。中央スーツ姿が岡野栄之、その右隣しゃがんでいるのが岡野ジェームス洋尚。

現スクリーニングを行った結果、HuD がクローニングされたのである。その後の解析により、Hu は中枢・末梢の全ての神経細胞、および肺小細胞癌においても全ての症例で発現が認められた。おもしろいことに、同研究室のポストドクをしていた Robert Darnell 博士が別のタイプの PND 患者血清を用いて、やはり神経特異的 RNA 結合タンパク質である Nova-1 を同定している。余談であるが Robert Darnell 博士の奥さんも科学者で、FMR1 の結合配列を同定して一昨年 Cell に論文を載せた人である。ちなみにこの Robert Darnell 博士は、STAT をはじめて同定した James Darnell 博士の次男であり、さらに STAT を命名したのは実は James Darnell 博士ではなく、彼の奥さん（弁護士）だったそうである。家族団らんの食卓で STAT や Nova, FMR1 の話しが交わされていたと想像するだけで、私などは食事が喉に詰まりそうな気がするのだが。

ところで Hu タンパク質のおもしろいところは、発生過程において未熟な神経細胞が成熟した神経細胞へと分化していく過程で、その発現が上昇していくことである。そして成熟した脳における Hu の発現は神経細胞にのみに限局しており、グリア細胞やオリゴデンドロサイトには全くみられない。これらの知見は、Hu が神経分化のプロセスや神経細胞の形質維持に何らかの役割を担っているのではないかという考えに発展し、実際に実験で確かめてみようということになった。東北大学の犬隅典子先生の研究室の技術を借りて、電気穿孔法による胎生 9.5 日目のマウス脳室への遺伝子導入実験を行ってみたところ、HuB, HuC を強制発現させた神経管周囲の細胞において神経細胞特異的マーカー分子の時間的・空間的な異所性発現が観察された。このことにより Hu が生体内において未分化な細胞に対して神経分化誘導能を有することが明らかとなり、やっぱり Hu はおもしろい！という見解に至った。ではその分子メカニズムはどうなっているのだろうか？ Hu の標的の下流遺伝子として AU-rich element と呼ばれる配列を UTR にもつ複数の mRNA が候補としてあげられている。これには Neuro-filament-M, GAP-43 など細胞骨格関連分子、p21, p27, c-fos, c-myc といった細胞分裂の制御に関わる因子が含まれ、それらの mRNA の 5' もしくは 3' UTR に結合して、mRNA の翻訳効率や安定性を調節していると考えられている。これらの知見から考えて、Hu は神経前駆細胞の細胞分裂を止めると同時に、神経突起伸長など神経分化プロセスを開始するシグナルとして働いているのではないだろうか。すでに HuB および HuD のノックアウトマウスが作成されて解析が進められており、Hu の生

そしてシャープな ON-OFF の調節、多くの異なる因子の同期的制御、発現量の微調整などの実現は、RNA 結合タンパク質が担う翻訳調節・mRNA 安定性制御など転写後におこるイベントのコントロールによってのみ可能ではないだろうか

体における機能の解明が今後期待される。

神経分化過程における転写後調節の重要性

ひとつの考えとして、Hu や Musashi は神経発生に関わる調節因子群の発現を転写後調節によって制御し、細胞分裂から神経分化の過程をつつがなく推し進めるタイムキーパーの役割をしているのではないだろうか。神経分化の過程においては、さまざまな転写因子群・シグナルトランスダクション関連因子・神経栄養因子受容体・細胞骨格タンパク質など多くのタンパク質の発現が上がったり下がったりするが、それらの順番や発現量、さらにはその ON-OFF のタイミングまでもがきわめて厳密に規定されていることが最近わかってきた。逆に言えばそのシナリオが少しでも乱れると、分化のプロセスが止まって細胞死に至ったり、最終的にできる神経細胞の数が変わってしまったり、異所性に変な細胞が出現したりする。胎生期において、おそろしく速いスピードで進行するこの神経分化プロセスのなかで、集約的に複数のタンパク質の発現タイミングと発現量を調節しているオーケストラの指揮者のような因子があってもおかしくはない。そしてシャープな ON-OFF の調節、多くの異なる因子の同期的制御、発現量の微調整などの実現は、RNA 結合タンパク質が担う翻訳調節・mRNA 安定性制御など転写後におこるイベントのコントロールによってのみ可能ではないだろうか。このような観点から、我々は Musashi や Hu といった翻訳調節を制御する RNA 結合タンパク質が、神経幹細胞から神経細胞への分化過程をオーケストレイトする重要な調節因子ではないかと考えている。

岡野ラボホームページ <http://web.sc.itc.keio.ac.jp/physiol/okano/>

プロフィール

1983 年慶應義塾大学医学部卒業、医学博士。慶應義塾大学医学部助手、大阪大学蛋白質研究所助手、ジョンズ・ホプキンス大学医学部研究員、東京大学医科研究所助手、筑波大学医学系教授、大阪大学医学部教授を経て、2001 年より現職。

岡野 栄之

Hideyuki OKANO

(慶應義塾大学医学部生理学教室)

プロフィール

1993 年東京慈恵会医科大学博士課程修了。医学博士。1990 年より 2001 年までロックフェラー大学留学、ポストドク、リサーチアソシエイト。2001 年より現職。専任講師。

岡野ジェイムス洋尚

Hiroataka James OKANO

(慶應義塾大学医学部生理学教室)

神経シナプス可塑性における翻訳の時空間制御

椎名伸之

〔国立遺伝学研究所構造遺伝学センター〕
〔総合研究大学院大学〕

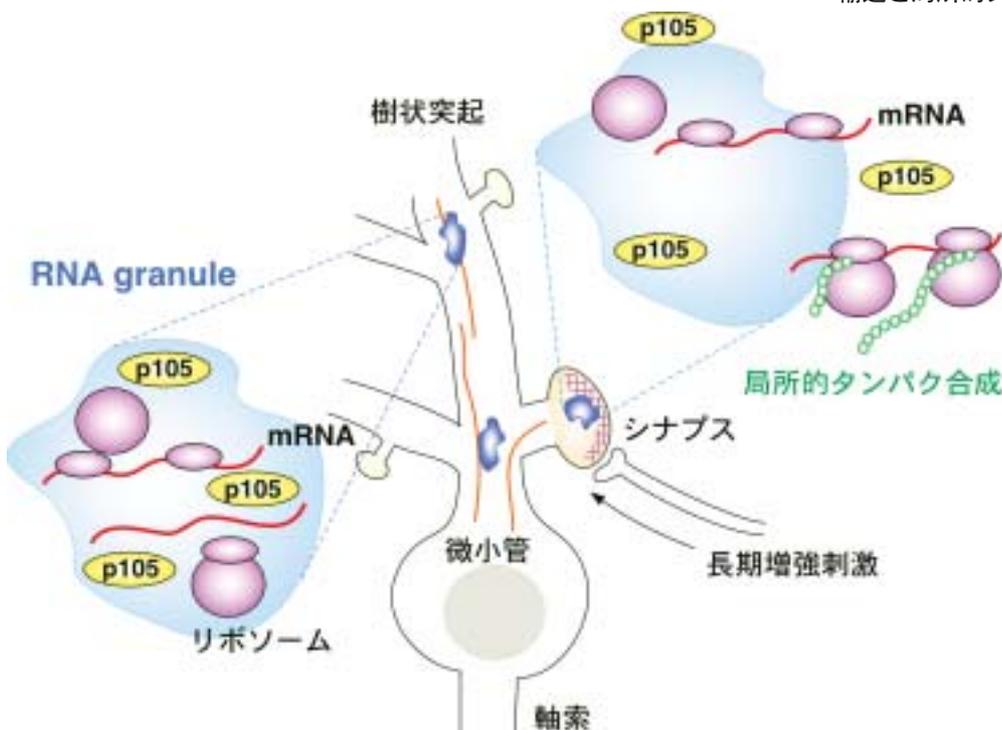
RNA 輸送粒子との出会い

私は大学院、ポスドク時代を通じて微小管構築の制御機構の研究をおこなってきた。その後、細胞極性をキーワードに微小管をレールとして中心体に集積するタンパク質の同定・解析をおこなった。その過程で同定されてきたタンパク質の一つが、現在解析をおこなっている p105 という新規タンパク質である。p105 は培養細胞に発現すると細胞質に大きな固まりを形成した。この固まりは確かに中心体にも集積していたが、むしろ大多数が細胞質に散らばっていた。興味深いことにこの固まりは、微小管とアクチン依存的に細胞膜の直下まで輸送されることが分かった。このことから、p105 が形成する固まりは、微小管依存的に輸送はされるが、中心体とはあまり関係がないだろうと考えた。それではこの固まりの実態は何なのか？唯一の手がかりは免疫電顕で、p105 が形成する固まりは、細胞質がぎゅっと濃縮したような高電子密度のアモルファスな構造であると

いうことだけだった。その電顕像が何を意味しているのか理解できないまま、1年以上が経過した。

ちょうどその頃学術雑誌上では、ショウジョウバエ初期胚の前後軸形成における mRNA の微小管依存的輸送および局所的翻訳が脚光を浴びていた。私も大変興味を持ってそれらの仕事に注目した。その時に mRNA 輸送粒子の電顕像を目にした。その像は大変驚いたことに p105 の免疫電顕像に非常に良く似ていた。粒子の中にはリボソームが濃縮している、ということだった。p105 の固まりが高電子密度だったのは、リボソームが濃縮しているからだということがすぐに確認された。この電顕像がブレークスルーとなって、p105 が形成する固まりが中枢神経特異的な RNA 輸送粒子 (RNA granule) であることが明らかになってきた。

神経樹状突起における mRNA の輸送と局所的タンパク合成



mRNA の輸送はショウジョウバエの初期胚のみならず、様々な生物システムで報告されている。神経細胞においても樹状突起へ mRNA が輸送されることが知られている。そしてこれらの mRNA が樹状突起において局所的にタンパク合成されることも明らかになってきた。このような神経樹状突起における mRNA の輸送・局所的翻訳の生物学的意義については、以下のようなモデルが考えられている。

神経細胞は細胞どうしがシナプスによって結合し、

ネットワークを形成している。シナプス結合においては基本的に軸索側（プレシナプス）から樹状突起側（ポストシナプス）へ向かって神経伝達物質が放出されて信号が伝えられる。このシナプス結合は一つの細胞に数千個以上存在するといわれ、学習などによってその結合強度や伝達効率が個々のシナプスにおいて調節されると考えられている。そのような個々の調節によって、増強されるシナプス結合と抑圧されるシナプス結合が選別され、一つの細胞内に多様なシナプスを形成できる可変性（可塑性）が生み出されるわけである。ではどのようなメカニズムで個々のシナプスが調節されているかといった時に、mRNAの樹状突起への輸送と局所的翻訳がモデルの一つとして挙げられている。すなわち、mRNAが樹状突起へ輸送され、全てのポストシナプス付近に局在するようになる。このときmRNAからタンパクへの翻訳は抑制されている。ここに特定のシナプスに長期増強刺激が入ると、そのシナプス局所において翻訳が活性化される。このようにして刺激依存的な特定のシナプスに局限したタンパク合成が起きると考えられている。そしてその輸送されるmRNAがシナプス結合やシナプス伝達に関わるものであれば、個々のシナプスを調節することが可能となるわけである。

以上のような神経樹状突起におけるmRNAの輸送と局所的タンパク合成のモデルを支持するデータが最近多く報告されるようになってきた。輸送に関しては、mRNAとリボソームで主に構成される粒子状の複合体が形成されることが知られている。この粒子はRNA granuleと呼ばれている。RNA granuleは樹状突起を微小管依存的に輸送され、その輸送にはstaufenというタンパク質が必須であることが報告された。また、RNA granuleによって輸送されるmRNAについては、CaMキナーゼII α やtrkBなど、シナプス長期増強に深く関わるものが報告されている。CaMキナーゼII α mRNAの輸送には、その3'UTRが必要十分であり、この部分でRNA granuleに結合すると考えられる。また局所的タンパク合成に関しては、CaMキナーゼII α mRNAの3'UTRにGFPを融合したものを海馬神経に発現させると、長期増強刺激依存的に樹状突起内の局所でタンパク合成が起きることが可視化された。このような翻訳制御の分子メカニズムとしては、長期増強刺激によってNMDA受容体が活性化し、その下流で翻訳抑制因子であるCPEBがリン酸化されることによって翻訳抑制が解除されることが報告された。形態学的な観察からは、長期増強刺激によってRNA granuleからリボソームやmRNAがこぼれ出すことが示された。RNA granuleは翻訳inactiveであり、そこから離れることが翻訳開始に必要なと考えられている。

形態学的な観察からは、長期増強刺激によってRNA granuleからリボソームやmRNAがこぼれ出すことが示された。RNA granuleは翻訳inactiveであり、そこから離れることが翻訳開始に必要なと考えられている

mRNAの輸送と局所的タンパク合成が、シナプス可塑性や学習のような高次機能に必須であることもいくつか報告されている。海馬神経スライスを電極刺激すると、タンパク合成依存的に初期長期増強が引き起こされるが、これは細胞体が存在しなくても樹状突起のみで引き起こされることが示されている。すなわち、初期長期増強には樹状突起における局所的タンパク合成で十分だということである。また最近、CaMキナーゼII α mRNAの3'UTRを欠失したマウスが作成された。このマウスではCaMキナーゼII α mRNAは樹状突起に輸送されなくなる。そしてこのマウスでは、長期増強さらには学習記憶も損なわれていたのである。

RNA granuleの新規構成因子 p105

RNA granuleの重要性が次第に認識されるようになってきたが、その構成因子については同定が遅れている。そのような状況の中で、私たちが同定したp105タンパク質がRNA granuleの全く新しい構成因子であることが明らかになってきた。まず、p105タンパク質の発現が脳と生殖器官に特に高いことが分かった。

脳の中でも特に海馬と大脳新皮質の樹状突起特異的にgranule状に存在していた。そのgranuleにはリボソームが濃縮しており、また、前出のstaufenも局在していた。このことからp105 granule= RNA granuleであることを確信した。このgranuleにはFMRPも局在しており、granuleの中で翻訳制御がなされると考えられた。また微小管依存性、アクチン依存性のモーターも存在し、granuleが細胞骨格上をシナプスマで輸送されることがわかった。さらにこのgranuleに



は CaM キナーゼ II α , trk B, BDNF, CREB といったシナプス長期増強に深く関与する mRNA が含まれていることが明らかになった。現在, p105 の RNA granule における機能解析もおこなっており, p105 が granule の形成に関与すること, また翻訳を抑制することを示唆するデータが得られてきている。今後さらに RNA granule の新規要素の同定なども含めて, RNA granule が記憶・学習という高次機能にどのように関わっているのか明らかにしていきたいと考えている。

偶然から RNA granule の研究に携わることになり, RNA 研究とも接点を持つことになったが, それというもこの

研究分野にたいへんな魅力を感じたからに他ならない。RNA 研究に関しては初心者で, RNA 特定や学会はとても勉強かつ刺激になっている。最後にこの研究は, 行き着く先のわからない研究を鼓舞して下さった徳永万喜洋教授と電頭のスぺシャリストでもある新倉和美氏との共同でおこなっている。

プロフィール

1996年東京大学大学院理学系研究科生物化学博士課程修了, 博士(理学)。日本学術振興会特別研究員, ERATO 月田プロジェクト細胞分裂軸グループリーダーをへて, 2000年より現所属, 助手。

椎名伸之

Nobuyuki SHIINA

国立遺伝学研究所構造遺伝学センター
総合研究大学院大学

RNA Update

特集：翻訳調節③

神経細胞における翻訳調節

武井延之

(新潟大学脳研究所分子神経生物学)

図形や数式といった抽象的な事象を理解し(理解せずの場合も多いが)おぼえたり, 自転車の乗り方や水泳といった一連の運動を習得したりする「学習」過程や, それを忘れずにいて, 時間がたった後でも思い出したり, 体が自然に動くといった「記憶」という過程は, 脳内の神経細胞がネットワークを作り, その回路が機能的に組み換えられることによっておこると考えられている。こういった変化は大きく言って神経可塑性という言葉で表されている。神経細胞が情報を伝達する接点であるシナプスは一つの細胞あたり 1000 個ほどあるとされている。神経細胞は一般的に増殖しないので, 多くの場合, 神経の可塑性はこのシナプスの機能的・形態的变化によって担われていると考えられている。このなかで, 新規の蛋白合成を必要とするような, 言い換えれば可塑的变化の為に機能分子の数を増やして対応するタイプのものが知られるようになってきた。

一つの神経細胞に多数あるシナプスは, 一斉に変化を起こすわけではなく, なんらかの入力があつたシナプスが変化を起こしている。神経細胞は複数の樹状突起と一つの軸索をもつ複雑な形をしているが, この複雑な空間でどのようにして特定の部位だけに可塑的变化がおこるのだろうか? さまざまなアプローチでいくつものモデルが提唱されているが, そのなかの一つに刺激を受けたシナプス近傍

で新しく蛋白を合成して, シナプス伝達の効率に関与するような機能分子の量を増やすというメカニズムが考えられている。樹状突起にはリボゾームがあることは比較的古くから電顕的に観察されていたし, CaMKII (calcium/calmodulin-dependent protein kinaseII) や Arc など神経可塑性に必要な分子の mRNA が局在することも報告されている。また局所での蛋白合成がシナプスの可塑性に必要なことは脳のスライスで細胞体と樹状突起をナイフで切断した標本でも起こる可塑的变化(電気生理学的に観察できる)が, 蛋白合成阻害剤によって押さえられることによって示されている。これまでの知見で足りないものは, ここで起こる蛋白合成がどのように制御されているか, つまり翻訳調節の機構ということになる。

私は以前から神経系での液性因子, 神経栄養因子の脳における作用の研究をしている。一般的に言えば液性の蛋白による細胞間コミュニケーションに興味があるわけだが, 神経系においては神経の活動に伴って神経回路で情報がやりとりされるしくみの一環としての面白さがある。

神経栄養因子の古典的な作用としては神経細胞の分化, 成熟, 生存維持の促進が良く知られているが, 最近になって神経栄養因子には発生/発達過程における作用だけでは

なく、成熟した脳でも神経伝達の調節などを通じてシナプスの可塑性を制御していることが明らかになってきた。

ここで神経の可塑性というキーワードで神経栄養因子と翻訳調節が繋がったわけである。考えてみればもともと遺伝子発現や蛋白合成は growth factor 研究の王道とも言える。今まで神経系でほとんど研究がされていなかったのは翻訳機構そのものがよくわかっていなかったことと、局所的翻訳調節の生理的意義に関する概念が熟していなかったことによると思われる。

神経細胞の局所的翻訳機構で解明すべき点は以下のものがある。

- ・局所的な翻訳活性化の機構
 - 何が刺激となって活性化するのか？
 - どのような機構か
 - (局所特異的／神経特異的／普遍的)？
- ・局所的蛋白合成の標的分子
 - どのような蛋白が合成されるか？
 - 何に依存するか (mRNA / 選択的翻訳調節)？
- ・mRNA および翻訳因子の局在化機構
 - 刺激応答性が構成的か？
 - mRNA 結合蛋白の種類と働き

さらにこれに加えて、

局所的翻訳活性化 (蛋白合成の増加) がどのようにシナプス可塑性に関わっているのか？

ということが私達の興味を中心となっている。

今までにわかってきたことは、神経栄養因子のなかでも BDNF (brain-derived neurotrophic factor) が大脳皮質ニューロンの局所的翻訳を活性化すること、そのメカニズムとしては翻訳開始の複数のステップと翻訳伸展を促進することなどがあげられる。また培養神経細胞では BDNF によって eIF4E (eukaryotic initiation factor 4E) や 4EBP1 (4E-binding protein 1), p70S6K などの翻訳開始に関する分子のリン酸化や伸展因子である eEF2 (eukaryotic elongation factor 2) の脱リン酸化といった活性化が起るが、これらの指標は、神経可塑性の代表的パラダイムである海馬スライスの長期増強や、空間学習によって同様に活性化される。また長期増強や空間学習は蛋白合成阻害剤 (アニソマイシンなど) や後述するラパマイシンで抑制される。これらのことから、神経活動 → BDNF (神経活動で発現, 放出とも昂進する) → 翻訳活性化 / 蛋白合成 → 神経の可塑的变化という過程を考えている。

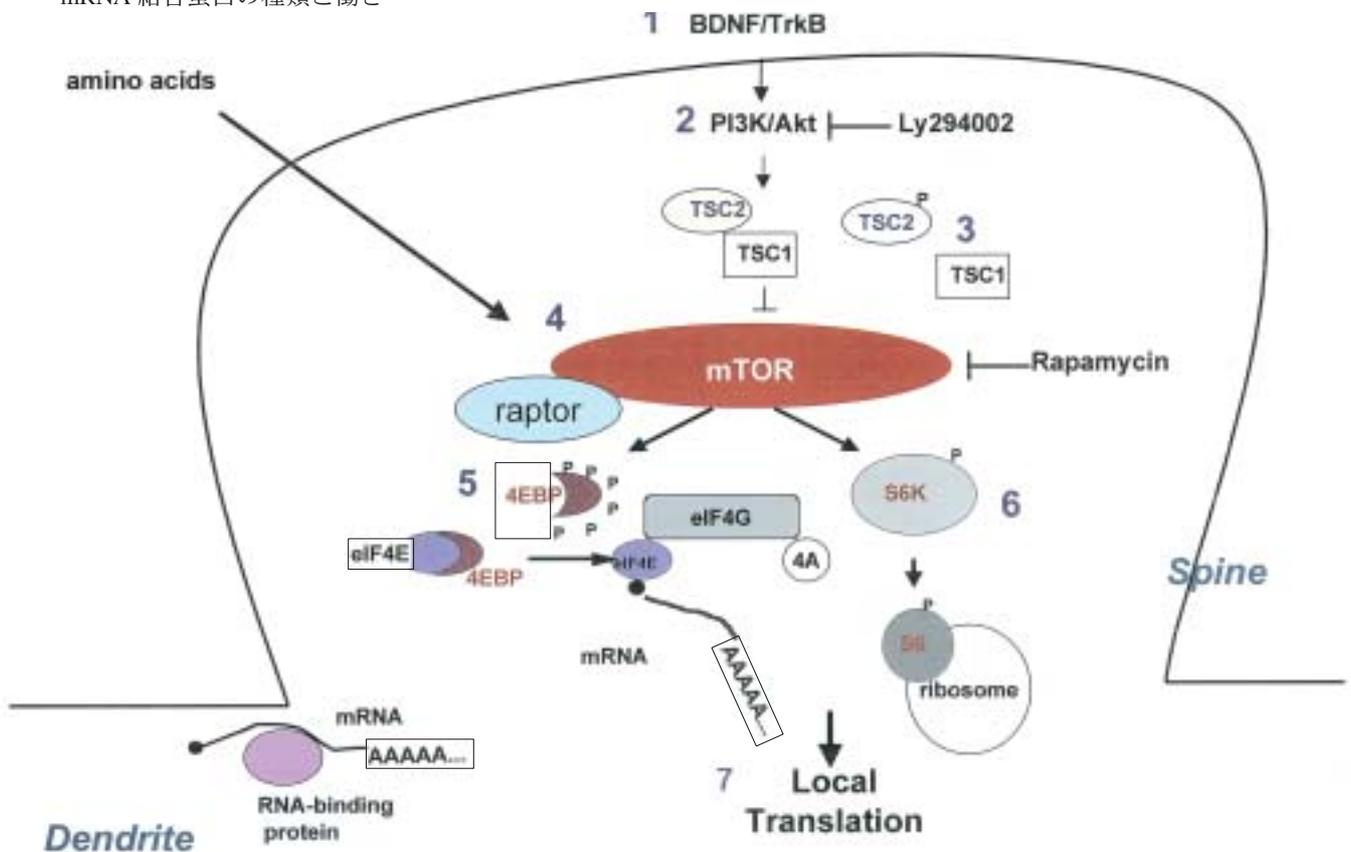


図1: シナプス領域での BDNF による翻訳活性化

- 1) シナプス間で放出された BDNF が TrkB 受容体を活性化。
- 2) PI3K/Akt の活性化。
- 3) tuberin のリン酸化とそれに伴う mTOR 抑制の解除。
- 4) mTOR のリン酸化と活性化。
- 5) 4EBP1 のリン酸化と eIF4E からの解離。
- 6) p70S6K および S6 のリン酸化。
- 7) 5, 6 の経路の活性化により翻訳開始の活性化 - 蛋白合成の亢進。



ラボのメンバー。研究所恒例の夏のソフトボール大会でのスナップ。
1が真中で偉そうなのが武井。2がボスの那波教授。3が一緒にやっているポスドクの稲村。4は眼科の大学院生、関（無事卒業した）5は実験助手の石井（carrier upして転職）。番号で示した人たちと主に一緒にやっています。ちなみにソフトボールは3連覇中。

神経細胞においてラパマイシンがBDNFによる蛋白合成の促進を押さえたり、神経可塑性を抑制したりすることから、ラパマイシンの標的である mTOR (mammalian target of rapamycin) の重要性が示唆された。従来 mTOR の活性化はアミノ酸などの栄養素によって規定されていると考えられている。神経細胞では BDNF は mTOR を活性化するが、これはおそらく神経系にはアミノ酸の量が多く、活性化されやすい状態にあるのではないかと推測される。BDNF はどうやって mTOR 活性化のトリガーとなるのだろうか？昨年、結節硬化症 (tuberous sclerosis) の原因遺伝子 TSC1,2 の産物 hamartin と tuberin が Akt の下流で p70S6K の活性化を調節して細胞のサイズを変化させているという報告が相次いでなされた。tuberin と hamartin は mTOR の抑制因子であり、リン酸化されることで mTOR からはずれ、結果的に mTOR を活性化しているようだ。神経細胞の樹状突起上で、BDNF は tuberin のリン酸化を介して mTOR を活性化し、翻訳開始のメカニズムを駆動して新規蛋白の合成を促していることがわかってきた (図 1)。

次ぎのステップとしては、神経活動に伴ってこれら一連の反応が脳内で起こることを明らかにすると共に、翻訳因

子や調節因子、mRNA がシナプス領域に運ばれていくメカニズムについて少しでも知見が得られればと考えている。

塩見さんから「武井さん RNA ニュースレターに神経の翻訳の話しをなんか書いてくれませんか」と例のソフトな口調で頼まれ、いつものように「はいはい」と安請け合いをしてしまったあげく、すでにメキりを過ぎ、Gordon Research Conference (GRC) から帰る飛行機のなかで原稿を書いています (往きにも書いてたがかわらなかった)。RNA ニュースレターは塩見さんから送ってもらっていて、拾い読みをしていたのですが、書くにあたって 1,2 号を読み返していると皆さんレベルの高い RNA 業界の仕事 (RNA ニュースレターだから当たり前だけど) を書かれていて、困ったことになったと思っています。ちなみに参加していた GRC は「Neurotrophic Factors」で、2年置きに開かれ 5 回めですが、今回初めて神経細胞の軸索と樹状突起における蛋白合成の演題が (私達を含め) いくつか発表されていました。細胞の特定部位での反応を分子レベルで解析するには困難が伴い、なかなか決定的な実験が難しいので、何か新しい系の開発が急務だと感じています。

細胞の特定部位での反応を分子レベルで解析するには困難が伴い、なかなか決定的な実験が難しいので、何か新しい系の開発が急務だと感じています

昨年5月にはEMBOのサポートで「Translational Control in Development and Neurobiology」というワークショップがスペインのマジョルカ島で開かれ、場所に誘われて(?)アプライしたところ話しをさせてもらいました。神経系ではRichterらのCPEBの話と突起上での翻訳をGFPのイメージングで見る仕事などが発表されていましたが、まだまだDevelopmentの分野に比べると少数派で、現象面に片寄った印象でした。このmeeting reportはTrends Cell BiolとMol. Cellに載ったので目にされた方もいるかと思いません。これからさらに注目の集まる分野で、競争もさらに激しくなることが予想されます。神経可塑性という非常に興味深い現象を翻訳調節という分子の言葉で明らかにしていきたいと考えています。また神経系に特異的なメカニズムなどを見出せば、普遍的な翻訳機構の解明にフィードバックすることもできると思われしますので、翻訳の専門家の人たちとの共同研究などによって神経系での翻訳メカニズムとRNAの役割について少しでも貢献できればと思います。実際、数年前からこの仕事を始めて、はじめは面識

もない先生方にいろいろお願いして助けてもらっています。「RNA情報網」の名簿を見ると皆さん参加されていて心強い限りです。これからも共同研究の輪を広げて(助けてもらえばいいかもしれませんが)、楽しく研究をしていきたいと思っています。この短く拙い文章を読んで神経系に興味や疑問をもたれた方、連絡お待ちしております。

プロフィール

1983年上智大学文学部心理学科卒業, 1988年上智大学大学院理工学研究科生物学専攻博士後期修了, 三菱化成生命科学研究所ポスドク, 国立精神・神経センター神経研究所研究員, 京都工芸繊維大学繊維学部応用生物学科助手, ウプサラ大学バイオメディカルセンター神経科学部門ポスドクを経て, 1998年新潟大学脳研究所分子神経生物学分野講師, 1999年より助教現任に至る。

武井 延之

Nobuyuki TAKEI

(新潟大学脳研究所)
分子神経生物学

RNA Update

特集：翻訳調節④

APOBEC1, NAT1 そして Post America Depression

山中 伸 弥

(奈良先端科学技術大学院大学)
遺伝子教育研究センター

プロローグ

私は1981年に神戸大学に入学しましたが、ラグビーに熱中してしまい、入学したのが医学部かラグビー部かよくわからない日々を過ごしました。生化学の講義や実習にはほとんど参加せず、西塚、高井、貝淵といった大先生に直接指導していただくチャンスのみすみす逃しました。6年間で卒業でき、医者になれたのが今でも不思議でなりません。初めて研究を肌で感じたのは、5回生の時、基礎配属実習で3ヶ月間法医学教室に所属した時です。死体は語る!という先生の言葉につられ、この時はまじめに研究室に通いました。当時、法医学教室

生化学の講義や実習にはほとんど参加せず、西塚、高井、貝淵といった大先生に直接指導していただくチャンスのみすみす逃しました

の中心研究テーマはアルコール代謝でした。私たちははすずんで実験台となり、アルコールを静脈注射していただき、血中アルコール濃度を時間ごとに測定しました。飲むのとは違って注射すると血中濃度が急速に上がり、すぐく気持ちがよかったことを覚えていますが、どうやって濃度を測定したのかはあまり覚えていません。

1987年に卒業後は、自分が何度もお世話になった整形外科に何の迷いもなく進みました。医学は科学の一つと考えられていますが、この研修医の2年間はひたすら肉体労働者として働きましたので、研究の思い出はありません。

研修医を終了後は、薬理学の大学院に進みました。犬の胸を開いて心臓から出た大動脈に血流計のプロープを取り付け、薬剤の効果をみるという体力のいる実験でしたが、結構頭も使いました。血液中のプロスタグランディンやトロンボキサン濃度を HPLC と RIA により測定し、生化学的な手法も少し覚えました。遺伝子工学が急速に普及していた時代でしたが、薬理学教室には PCR の機械もありませんでした。3年間そんな感じの実験を続けた結果、薬の効果だけを観察する動物実験に限界を感じ、何が何でもトランスジェニックマウスやノックアウトマウスを作ってみたくなりました。

医師か研究者か？

大学院に入学した頃は、終了後は臨床医に戻るつもりで、週1回は外来や手術をしていました。しかし、最終学年の頃になると研究を続けるか臨床に戻るかずっと迷い出しました。その頃感じた研究者の魅力は、1. 世界を相手にできる、2. 頑張れば正しく評価される、3. 自由である、といったものでした。一方、医師にも未練があったのは、1. 毎日、人の役にたっているように感じられる、2. BMW に乗れる(?)、3. 私が臨床医で活躍するのを楽しみにしながら父親が逝った、からでしょうか。かなり悩みましたが、研究で成果を上げれば多くの患者さんの福音となり、父親も満足するだろうと自分に言い聞かせ、BMW はぐっと我慢して、ポスドクとしてアメリカに留学しようと決心しました。

留学 ～ APOBEC1 との出会い

薬理学教室の先輩が教授の紹介で留学してきたのは遺伝子工学とは無縁のラボばかりでした。トランスジェニックやノックアウトマウスを使えるラボは、自分で探すしかありませんでした。Science や Nature の広告欄を見て、手紙を書きまくりました。最初に返事をくれたのが UCSF の Thomas Innerarity でした。電話で20分くらいインタビューして採用が決まりました。おまえはよく働くかと聞かれて、日本人はみんなよく働くかと答えたのが良かったみたいです。Tom も私もずっとぶん大胆だったなと思います。彼のプロジェクトの一つがアポ蛋白 B の RNA エディティングでした。初めて聞く言葉でしたが、調べてみると、mRNA の中央部のシチジンがウリジンへと変換され停止コドンができる結果、遺伝子にコードされているものより短いタンパク質ができるというものでした。いかにも分子生物学の最前線という感じがしたので、このプロジェクトに参加させてもらうことにしました。私と RNA との関わりはこうして深く考えることなしに始まりました。その後、第1希望や第2希望のラボからも来てくれたとの連絡がありましたが、後の祭りでした。



Tom と娘 (1998年 奈良にて)

1993年4月より家内と3歳、1歳の娘を引き連れて、サンフランシスコへ乗り込みました。渡米前の3ヶ月ほど、遺伝子工学を猛勉強しましたが、シークエンスも自分ではしたことがないという状態でした。渡米してすぐ、他のラボがエディティングを行う酵素 APOBEC1 のクローニングを行い、Science に発表しました。変異体を作って調べた結果、APOBEC1 は大腸菌のシトシン脱アミン化酵素と同じ機能ドメインを持つことがわかりました。

そして念願通り、APOBEC1 を過剰発現するトランスジェニックマウスを作ることになりました。正常マウスの肝臓では、アポ B の mRNA は約50%がエディティングされていますが、過剰発現により100%のエディティングを誘導し、脂質代謝への影響を見るのが目的でした。いろいろ苦労しましたが、トランスジェニックマウスが3ライン誕生しました。ある日一緒に仕事をしていたテクニシャンが "Shinya, we've got a lot of pregnant mice, but I'm afraid they are all male."

と訳のわからないことを言ってきました。見に行くと、本当にオスのマウスが今にも産まんばかりのおなかになっていました。何匹かを解剖したところ、肝臓がグロテスクに腫れ上がっていました。組織を見たところ、肝細胞癌でした。3ラインすべて調べましたが、全例で肝細胞の異形成を認め、多くは肝細胞癌を発症していました。脂質代謝を調べるつもりが、癌の研究に足をつっこむ結果となってしまいました。

NAT1 の同定

発癌の原因として、過剰発現した APOBEC1 が基質特異性を失い、癌遺伝子や癌抑制遺伝子の RNA 配列を変えてし

まったからではないかと仮説を立てました。これを証明するために、実際にトランスジェニックマウスの肝臓でエディティングを受けている RNA の探索を始めました。エディティングされた RNA だけを PCR で増やす方法はないかと必死で頭を絞りました。そしてある日シャワーを浴びているときに、当時開発されて間もないディフェレンシャルディスプレイを応用する方法を思いつきました。その瞬間、「よっしゃー！」と叫んだのを覚えています。すぐに実験に取りかかり、ゲルを10枚ほど流しました。直ちにトランスジェニックマウスの肝臓からだけ増えるバンドが見つかりました。これを切り出し、シークエンスしたところ、いくつかの EST クローンとほぼ同じ配列でした。しかし EST の配列は C であるのに、PCR 産物では T になっているところが複数見つかりました。正常マウスの肝臓から同じ場所を増やすと C でした。遺伝子の DNA 配列も C でしたので、確かにエディティングされているようでした。全長配列を決定し詳しく調べたところ、トランスジェニックマウスの肝臓においては4000塩基中で100箇所以上のシトシンがエディティングされていることが確認されました。この遺伝子を Novel APOBEC1 target #1 (NAT1) と命名しました。

NAT1 タンパク質は翻訳開始因子 eIF4G に類似していることがわかりました。翻訳開始は全く未知の分野でした。文献を調べるとカナダの Sonenberg 教授が第一人者であることがわかりました。Tom はすぐ Sonenberg に電話しました。その結果、なんと彼らも同じ遺伝子を見つけて調べているらしいということがわかりました。その1,2週間後にたまたまサンフランシスコで翻訳調節のミーティングがあり、Sonenberg がやってきました。彼が持参した配列と NAT1 を比べると100%一致しました。大御所がコンペティターになったわけですから大変なことなのですが、私は自分のシークエンスが正確であったことに喜びを感じていました。彼はその後も非常に紳士的であり、データをコミュニケーションしながら、ほぼ同時に論文発表することができました。その頃彼らも私たちが NAT1 は eIF4G と拮抗して、タンパク質翻訳をグローバルに抑制する因子であると考えていました。

NAT1 の機能を調べるためにノックアウトマウスの作成に着手しました。上の子供が小学生になるのにあわせて家族は帰国してしまいましたので寂しくなりましたが、仕事はずいぶんはかどりました。ターゲティングベクターができた頃、大阪市大の薬理学教室の助手にというお話をいただきました。ES細胞で相同組み換えがとれ、インジェ

クションしてもらおうのを見届けて、帰国の途につきました。

Post America Depression (PAD)

帰国してしばらくすると、ヘテロマウスが生まれたという知らせがあり、日本に送ってもらいました。けっしてきれいとは言えない飼育スペースでマウスと格闘する日々が始まりました。週2回、ケージ交換や洗浄、床敷きの詰め替えをすべて自分で行いました。アメリカでの恵まれた日々と比べて、とても悲しい気分になりました。帰国する前、ポスドク仲間のオランダ人が Post America Depression (PAD) に気をつけろといていましたが、その意味が実感できませんでした。多くのセミナー、ポスや同僚とのディスカッション、英語でのコミュニケーションなど刺激に満ちた環境に4年近くどっぷりつかった後、突然それらの刺激がほとんどない環境に移ったわけで、精神医学的に見てもかなり危険な状態であったと思われます。なんとか NAT1 の仕事だけは終わらせようと解析を続けました。ホモ変異のマウスは発生初期で致死となりました。解剖学の前田光代先生に協力して頂き、組織解析を行った結果、原腸形成期の細胞分化が異常であることがわかりました。また ES 細胞レベルでもホモ変異にしましたが、細胞増殖や総タンパク質合成は影響されませんでした。当初考えたグローバルな翻訳抑制因子ではないことを示す結果でした。一方、NAT1 ホモ変異 ES 細胞は分化能が障害されていました。

アメリカでの恵まれた日々と比べて、とても悲しい気分になりました。帰国する前、ポスドク仲間のオランダ人が Post America Depression (PAD) に気をつけろといていましたが、その意味が実感できました

マウスは発生初期で致死となりました。解剖学の前田光代先生に協力して頂き、組織解析を行った結果、原腸形成期の細胞分化が異常であることがわかりました。また ES 細胞レベルでもホモ変異にしましたが、細胞増殖や総タンパク質合成は影響されませんでした。当初考えたグローバルな翻訳抑制因子ではないことを示す結果でした。一方、NAT1 ホモ変異 ES 細胞は分化能が障害されていました。

マーカー遺伝子の発現を調べると、分化のある経路は抑制されているが、他の経路は正常であることを示していました。NAT1 は特定タンパク質の発現調節をしていると考えられました。



ソフトボール大会にて完投。一番年寄りが筆者（中央キャップ）。

奈良へ – PAD からの回復

NAT1 の仕事に目処がついてくると、PAD がますます悪化してきました。もう研究はやめて整形外科医に戻ろうとほぼ決心していた頃、実験医学か細胞工学かの広告で奈良先端大の助教授公募が目につきました。これが最後のチャンスと思って応募しました。最終候補者の一人としてセミナーに呼んでいただいたとき、充実した研究環境に驚かされました。運良く採用していただき、1999年の12月に赴任しました。環境が変わり、PADからも回復しました。奈良でも引き続きNAT1が翻訳調節する標的RNAの同定を試みっていますが、苦戦しています。前任地では、設備がないとか、人がいないとか言い訳ができましたが、奈良では言えません。一日も早くNAT1の謎を解きたいと思います。

またNAT1の研究を通してES細胞が持つ分化多能性や高い増殖能に大変興味を持ちました。現在NAT1とは別のプロジェクトとして、ES細胞で特異的に発現する遺伝子の同定と機能解析を行っています。その中にはRNA結合ドメインを持つものも複数含まれています。NAT1に加えてこれらRNA結合タンパク質がES細胞の増殖や分化において果たす役割も解析しているところ です。

プロフィール

1987年神戸大学医学部卒業、整形外科医として研修の後、大阪市大医学部で学位取得。その後、米国Gladstone InstituteのThomas Innerarity教授の下、RNAエディティングの研究に従事。1999年より現所属、動物分子工学部門助教授。

山中伸弥 Shinya YAMANAKA

〔奈良先端科学技術大学院大学
遺伝子教育研究センター〕

RNA Update

特集：翻訳調節⑤

RNAの細胞内局在と翻訳を制御する巨大RNP顆粒

中村 輝

〔理研 発生・再生科学総合研究センター〕
〔生殖系列研究チーム〕

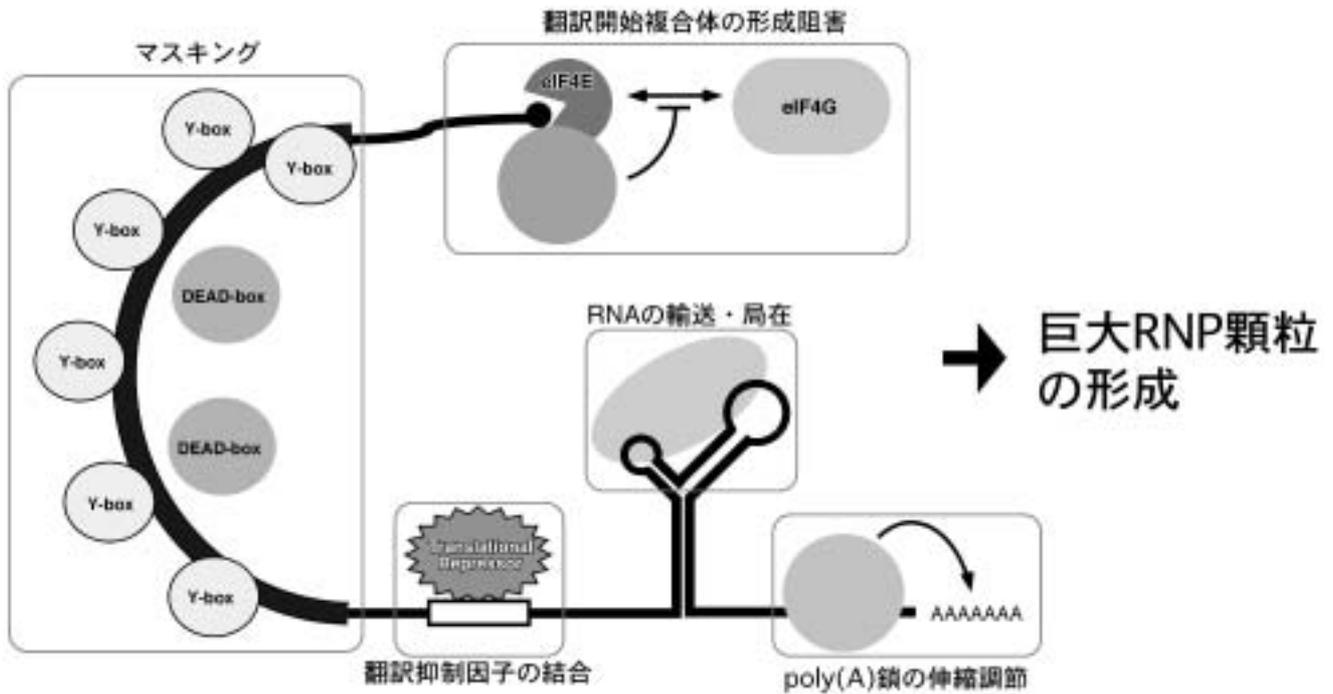
翻訳制御は、遺伝子発現制御の中でも特に重要な分子機構の1つである。とくに、転写が停止している初期胚発生や精子形成において、主要な遺伝子発現制御は翻訳レベルで行われている。このような翻訳制御は、しばしばRNA局在と共役して、タンパク質の生産を空間的に限局させている。

RNAの局在化と翻訳制御の過程は、転写、RNAプロセッシング、核外輸送、マスキング、輸送・局在、アンカーリング、翻訳活性化といくつかのステップに分けることが出来る。ごく最近まで、これらそれぞれの過程は、独立した事象として研究されてきた。実際には、独立した事象として研究するしか術がなかったという方が適切だろう。しかし、これら転写から翻訳までの諸過程は、相互に連携する連続した過程であると認識されるようになってきている。転写とRNAプロセッシング、そして核外輸送とが相互に連携した連続過程であり、*in vivo*においては不可分の反応であることはもはや疑う必要もないだろう。同様に、局在化RNAの細胞内輸送と翻訳制御とは、連携した過程と考えられる。

ショウジョウバエ初期胚におけるRNA局在化と翻訳制御

mRNAの輸送・局在化と翻訳制御の研究は、ショウジョウバエにおいて比較的良く進んでいる。ショウジョウバエ胚発生における体軸形成や生殖細胞形成は、卵内に局在する母性mRNAによって制御されている。ショウジョウバエの生殖細胞形成に必要な因子は、生殖質と呼ばれている後極の細胞質に局在している。現在までに生殖質に局在するRNAは、10種以上単離・同定されている。これらの中でも、*oskar* mRNAは、生殖質が形成される卵母細胞後極に、最初に局在するRNAである。後極に局在した*oskar* mRNAは、タンパク質へと翻訳され、そこに数多くのRNAやタンパク質がアッセンブルされることにより生殖質が形成される。すなわち、*oskar* mRNAの局在化と局在した領域での翻訳が、生殖質形成のkey eventだと考えられている。

しかし、RNAの局在だけでは、翻訳産物を特定の細胞内領域に限局するには十分ではない。まず、局在化RNAは、細胞質中を輸送され最終目的地に局在する。細胞質中には、翻訳因子や翻訳装置が多量に存在する。従って、これら



これらはすべて相互に連携しているはずである

mRNA は、輸送上において翻訳が抑制されている必要がある。また、局在化 RNA は、*in situ hybridization* などで可視化すると、非常に効率よく局在しているように見える。ところが実際には、局在していない RNA の方が遙かに多いことが判明している。例えば、初期胚に存在する *oskar* mRNA プールの内、実に 82% は局在していないと見積もられている。従って、局所的なタンパク質生産を実現するためには、局在していない大多数の mRNA の翻訳を厳密に抑制する機構と、局在した領域でのみ翻訳抑制を解除する機構が必要である。

oskar mRNA の翻訳制御機構

oskar mRNA の翻訳を抑制する因子の 1 つとして Bruno が単離されている。Bruno は、*oskar* mRNA の 3' UTR に特異的に結合する卵巣タンパク質として単離された。Bruno 結合配列を欠失した *oskar* mRNA は、卵形成過程における翻訳が抑制されず、生まれた胚は致死となる。しかし、3' UTR に結合する Bruno が、どの様にして 5' 側から開始される翻訳を抑制しているのかについては良くわかっていない。

最近、5' キャップ結合タンパク質 eIF4E と poly(A) 鎖結合タンパク質 PAB とが、翻訳開始因子の 1 つである eIF4G を介して会合することがわかってきた。5' キャップ構造と

poly(A) 鎖とは、翻訳レベルに対して相乗的に影響を与えることから考えて、eIF4E-eIF4G-PAB を介した mRNA の環状化が、翻訳を効率良く進める上で重要であると予想されている。哺乳類卵母細胞では、細胞周期に関わる *cyclinB* や *c-mos* mRNA の翻訳が、poly(A) 鎖の細胞質内での伸縮によって制御されていることが知られている。*oskar* mRNA の翻訳もまた、poly(A) 鎖の伸長によって制御されていることが示唆されている。しかし、ショウジョウバエ *in vitro* 翻訳系において Bruno は、poly(A) 鎖を持たない mRNA の翻訳も抑制する。従って、Bruno は poly(A) 鎖の制御とは別のステップで *oskar* mRNA の翻訳を抑制していると考えられている。

初期胚に存在する *oskar* mRNA プールの内、実に 82% は局在していないと見積もられている。従って、局所的なタンパク質生産を実現するためには、局在していない大多数の mRNA の翻訳を厳密に抑制する機構と、局在した領域でのみ翻訳抑制を解除する機構が必要である

卵形成過程における *oskar* mRNP 複合体

私たちは、全く別の方向性から、*oskar* mRNA の局在化と翻訳制御に関与する RNP 複合体を同定した。私たちは、タンパク質の細胞内分布を指標とした分子スクリーニングから、卵形成過程において、1 μ m 程度の巨大な顆粒を形成して細胞質中に散在しているタンパク質として Me31B を同定した。Me31B は、DEAD-box 型タンパク質であったことから、この顆粒に mRNA が存在していることが期待された。実際、各種母性 RNA をプローブとした蛍光 *in situ hybridization* と抗 Me31B 抗体を用いた 2 重染色の結果から、Me31B の顆粒中には、*oskar* mRNA を含む多種の局在化 mRNA が存在

していることが明らかとなった。一方、局在しない mRNA のシグナルは、Me31B の顆粒には観察されなかった。私たちは、*me31B* の突然変異体を単離し、Me31B を欠く卵巣では *oskar* mRNA が輸送途上から翻訳されていることを見いだした。すなわち Me31B は *oskar* mRNA の翻訳抑制に関わるタンパク質であると考えられた。さらに私たちは、Me31B 複合体の構成タンパク質の 1 つとして、Exuperantia (Exu) タンパク質を同定した。Exu の分子機能については不明な点が多い。しかし、*exu* 突然変異体では、*oskar*, *bicoid* mRNA の輸送が異常となることから、Exu は母性 RNA の輸送・局在化に関わっていると考えられている。さらに、GFP-Exu 融合タンパク質が、Me31B と同様に巨大な細胞質顆粒を形成して、微小管系に依存して細胞質中を輸送されることが報告されている。以上の結果は、Me31B の顆粒が、RNA の輸送・局在化と翻訳に関わるタンパク質を含んだ母性 RNP 複合体であることを示している。

翻訳されない RNA は巨大な顆粒を形成している

Me31B の顆粒は不定形であり、その大きさはしばしば 1 μm にも達する。これは、リボゾームなどと比べて遙かに巨大である。しかし、このように巨大な RNP 顆粒の存在は、ショウジョウバエ卵形成過程に限った話ではない。現在までに、様々な細胞において、局在化する RNA や RNA 局在化に関わるタンパク質が、巨大な細胞質顆粒として観察されることが報告されている。なぜ RNP 顆粒はこのように巨大なのか？ RNP 顆粒の大きさを考えると、1 つ 1 つの顆粒は何百、何千という RNP 複合体が集合した構造物と考えられる。実際私たちは、Me31B 顆粒中には *oskar* mRNA ばかりでなく多種の局在化 RNA が存在していることを明らかにしている。ではなぜ、局在化する RNA は集合しなければならないのだろうか？

ひょっとしたら局在化する RNP 顆粒は、scaffold 分子を介してアッセンブルされているのかもしれない。残念ながらそのような scaffold 分子は、未だ同定されていない。しかし、いくつかの知見から、RNP 顆粒の輸送が、ER などの膜系やミトコンドリアなどオルガネラの輸送とリンクしていることが示唆されている。例えば、カエルの卵母細胞において、生殖質へと局在化する mRNA は、ミトコンドリアとともに輸送される。また、*Vg1* mRNA の輸送に関わる RNA 結合タンパク質の 1 つである Vera は、ER 分画に濃縮される。さらに、2 本鎖 RNA 結合タンパク質である mStaufen は、局在化 RNP 顆粒の構成タンパク質と考えられるが、同時に rER とも共局在していることが報告されている。そして、遺伝学的解析から、ER や膜小胞の輸送や融合を制御するタンパク質が、*oskar* mRNA の輸送・局在化に関わることが報告されている。最後に、Me31B 顆粒は、電子顕微鏡下で観察される sponge body と呼ばれる細胞質領域に対

応すると考えられる。Sponge body は膜に包まれていない電子密度の比較的高い細胞質領域であるが、しばしば、膜系構造物を内含していることが報告されている。

あるいは、翻訳をマスクする必要のある RNA は、積極的に顆粒にパッケージされるのかもしれない。このようなアイデアを支持する事象がいくつか報告されている。例えば、多くの動物の生殖質には、生殖顆粒と呼ばれる RNA に富む特異的な構造物が観察される。ショウジョウバエの生殖顆粒は、直径 0.2 ~ 0.5 μm の大きさがあり、生殖細胞形成の時期になるとその周りにポリソームを発達させる。このような知見から、生殖顆粒は、生殖細胞の形成に必要な因子を mRNA として貯蔵して、タンパク質産物が必要となる時期まで翻訳や分解から保護している場所であると予想されている。また、出芽酵母において、mRNA 分解に関わる各種タンパク質は、分解中の mRNA とともに細胞質内で顆粒を形成する。さらに、ストレス環境下におくことで翻訳が不活化された mRNA は、細胞質内で顆粒を形成する。輸送過程の mRNA においても、個々の mRNA 種特異的な翻訳抑制だけでは不十分であり、巨大な顆粒を形成することにより mRNA と翻訳装置との接触を物理的に阻害することが必要なのかもしれない。

RNA の輸送・局在化と翻訳とを制御する場の構成タンパク質

Me31B 顆粒中には、翻訳抑制に関わる Me31B タンパク質と RNA 輸送に関わる Exu タンパク質が存在している。このことは、Me31B 顆粒こそが、母性 RNA の輸送・局在化と翻訳を連携して制御する“場”であることを示唆している。すなわち、Me31B 顆粒には、RNA の輸送・翻訳を制御する数多くのタンパク質が存在していると予想される。



中村グループ。右から 3 人目、ポタンダウンの腕まくりが筆者。

おそらく局在化 RNA は、この顆粒にアッセンブルされることによって、輸送・局在と翻訳との制御を受けるのだろう。そのようなアイデアのもとに、私たちは、顆粒を構成する新規タンパク質の同定とその機能の解析を進めている。私たちは、数多くのタンパク質が Me31B とともに免疫沈降されてくることを見いだしている。研究はまだデータ収集の途上であるが、これら共沈するタンパク質の中には、翻訳開始因子 eIF4E や Bruno、新規の eIF4E 結合タンパク質が存在する。さらに、この eIF4E 結合タンパク質の突然変異体では、oskar mRNA の翻訳制御が異常となることも見いだしている。今後の課題は、これらタンパク質間の連携機構を解明することである。

最後に

色々な総説を調べたところ、局在化 RNA に関する最初の報告は、1983 年のホヤ初期胚における β アクチン mRNA とのことらしい。つまり、RNA 局在の研究はわずか 20 年の歴史ということになる。この 20 年の間に、局在化 RNA が、多くの動物の初期胚で見つかり、胚発生に必須の機能

を持っていることが明らかにされた。そして、RNA 局在が、動物初期胚発生ばかりでなく、出芽酵母の接合型制御や体細胞の運動性に関わることがわかった。さらには、神経細胞における記憶学習との関連までもが予想されるようになってきた。現在では、RNA 局在と翻訳制御による細胞の動態制御は、普遍的かつ必須の転写後調節機構の 1 つとして認識されていると思う。これからの研究は、今まで行なわれてきた局在化 RNA の同定、局在・翻訳制御領域の同定といった研究をもとに、局在と翻訳制御に関わるトランス因子の同定と因子間の関係プレーの解析の方向に進むと思われる。本特定領域研究の期間中に、RNA 局在と翻訳の制御機構に関する理解がさらに進むことを期待している。

プロフィール

1994 年筑波大学大学院博士課程修了、博士 (理学)。日本学術振興会特別研究員 (筑波大)、海外特別研究員 (カナダ McGill 大学)、カナダ Medical Research Council 研究員 (同)、筑波大学ポスドク、同講師を経て、2002 年 7 月より現所属。チームリーダー、兼科技団・さきがけ研究員。

中村 輝

Akira NAKAMURA

理研 発生・再生科学総合研究センター 生殖系列研究チーム

RNA Update

特集：翻訳調節⑥

線虫の「生殖顆粒」

川崎 一郎

国立遺伝学研究所 生物遺伝資源情報研究室
科学技術振興事業団さきがけ研究 21
「認識と形成」領域研究員

1 はじめに

多細胞動物において子孫の産生は専ら生殖系列と呼ばれる特殊な細胞系譜によって営まれている。生殖系列は個体を形成する細胞系譜である体細胞系列とは幾つかの点で根本的に異なっている。第一に生殖系列では二倍体の親細胞から半数体の配偶子を形成するために減数分裂が起きる。第二にこうして作られた配偶子によって後の世代が次々に作られていくことから、生殖系列は世代を越えて存続する唯一の細胞系譜だといえる。第三に配偶子の接合 (受精) により全能性を持つ受精卵が作られることから生殖系列には受精卵に全能性を賦与する能力がある。反対に体細胞系列は有糸分裂を行なうだけで減数分裂はせず、通常は限定された発生能力しか示さずに一世代で老化し絶えてしまう。

この生殖系列と体細胞系列の間の根本的な違いの基礎となって、生殖系列にその特別な性格をもたらす分子機構を解明することは、100 年以上も前に Weismann によって「生殖質」説が唱えられて以来の、生殖系列を研究する生物学者の大研究目標である。

様々な動物で生殖系列の発生過程が調べられ、多種多様な動物の生殖細胞に共通して「生殖顆粒」と総称される RNA と蛋白質からなる特異的な細胞質性の顆粒構造が認められることが知られるようになった (ショウジョウバエでは極顆粒、アフリカツメガエルでは生殖質、線虫では P 顆粒とも呼ばれる)。「生殖顆粒」が多岐にわたる動物種に見られ、かつショウジョウバエで「生殖顆粒」を含む細胞質を移植すると移植された部位に新たな生殖細胞が形成さ

れるという発見によって、生殖顆粒には生殖系列の「決定因子」が含まれているという仮説が広く信じられるようになった。しかし10年程前までは生殖顆粒の構成成分の同定やその機能の解析はショウジョウバエでしか行なわれていなかった。

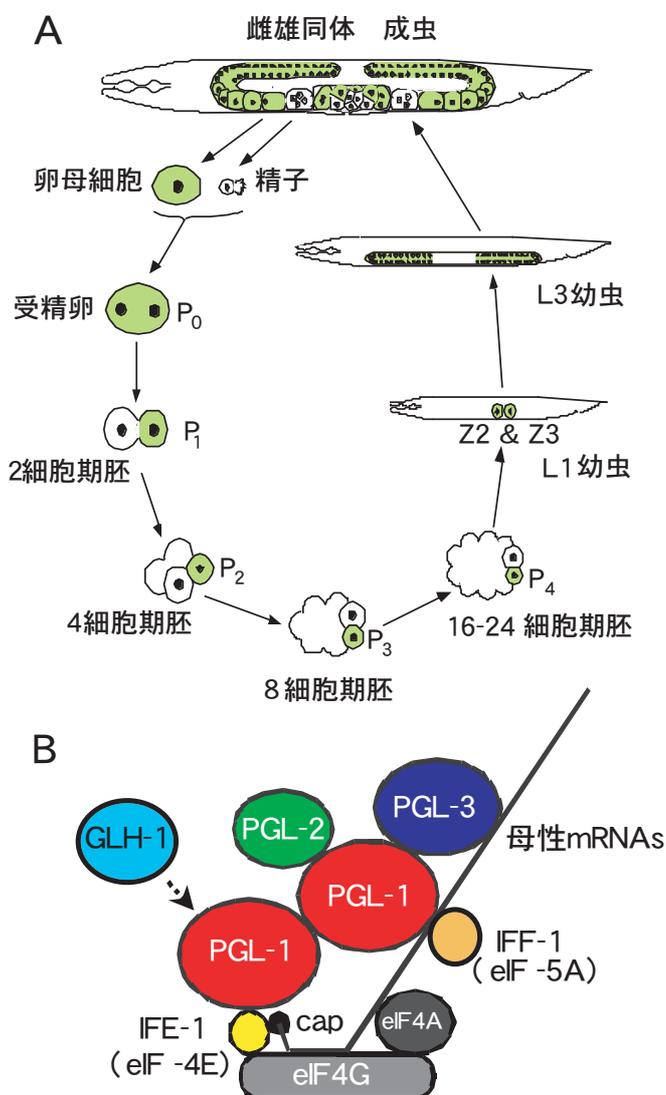
そのころ私は線虫 *C. elegans* で最初に生殖顆粒「P顆粒」を発見した Susan Strome 教授の研究室に留学する機会を得て、1992年から1999年までの7年間の長きにわたり彼女の下でP顆粒の構成成分のひとつである PGL-1 について研究し、その成果を1998年に Cell 誌に発表することができた。時を同じくして他の幾つかの線虫グループでもP顆粒の構成成分についての研究が進み、現在では線虫の生殖顆粒「P顆粒」に関する分子レベルでの理解はショウジョウバエの生殖顆粒「極顆粒」のそれに肩をならべるようになってきている。このたび塩見さんから「生殖顆粒」に関して「翻訳調節」との関連で何か書いて欲しいとの御依頼があったので、以下に線虫の生殖顆粒「P顆粒」についてこの10年の間にわかってきたことを駆け足で紹介してみようと思う。

2 線虫の胚発生期における生殖系列の形成とP顆粒の分配

線虫の生殖系列は、受精卵 P₀ に受精後直ちに起こる4回の連続した非対称分裂によって形成されていく(図A)。この際順次作られていく小さい方の割球が生殖細胞系列(P細胞系列 P₁, P₂, P₃ および P₄) となり、大きい方の割球は体細胞系譜の始祖細胞となる。4回目の非対称分裂で生じた P₄ はその後胚発生中に一度だけ、今度は対称分裂をして始原生殖細胞である Z2 と Z3 を生じる。Z2 と Z3 は孵化後に増殖分化して全ての生殖系列細胞を産生する。P顆粒は母親(雌雄同体)の生殖腺で生成され母性産物として受精卵にもたらされる。受精卵に起こる上記の4回の連続した非対称分裂の際、大多数のP顆粒は生殖細胞系列(P細胞系列)に順次選択的に分配されていく。また体細胞系列側に残った少数のP顆粒はすみやかに分解される。その結果P顆粒は最終的に P₄ およびその娘細胞である Z2 と Z3 だけに局在するようになる。P顆粒の分配機構はまだ不明な点が多いが、生殖系列の形成と同様に初期胚の非対称分裂を制御する機構に強く影響を受ける。例えば *par* 変異体のような初期胚の非対称分裂が全く起こらない変異体ではP顆粒のP細胞系列への特異的な分配も全く起こらない。一方 *mes-1* 変異体においては *par* 変異体と異なりP細胞系列の4回の非対称分裂のうち後半の P₂ と P₃ の分裂だけが異常になる。すなわち *mes-1* 変異体では P₂ と P₃ は対称的に分裂するが、この時P顆粒も両方の娘細胞に均等に分配される。面白いことに、こうしてできた2つの娘細胞は、ともにP

様々な動物で生殖系列の発生過程が調べられ、多種多様な動物の生殖細胞に共通して「生殖顆粒」と総称されるRNAと蛋白質からなる特異的な細胞質性の顆粒構造が認められることが知られるようになった

顆粒を受け取るにもかかわらず生殖細胞ではなく体細胞(筋肉細胞など)に分化する。このことは生殖細胞の運命を決定するにはP顆粒だけでは十分ではなく、他の因子も生殖細胞に分配される(もしくは生殖細胞から排除される)必要があることを示している。ゆえにP顆粒はいわゆる古典的な意味でのオールマイティーな「生殖系列決定因子」ではない。しかし、その後の遺伝学的な解析によりP顆粒の構成成分の幾つか、特に2つの蛋白質ファミリー、PGLファミリーとGLHファミリーが実際に生殖系列の発生に必須の役割を果たしていることが以下のように明らかになってきた。



線虫の生殖系列の発生と、生殖顆粒「P顆粒」の生殖系列への特異的な分配(A)。これまでの解析結果から予想されるPGL蛋白質/母性 mRNA 複合体(B)。RNA結合蛋白質PGL-1, PGL-2, PGL-3は互いに結合し、GLH-1の存在下でP顆粒に局在する。またPGL-1は翻訳開始因子IFE-1(キャップ結合蛋白質, eIF-4E), IFF-1 (eIF-5A)とも相互作用する。eIF-4GとeIF-4Aの共局在は実証されていない(本文参照)。

3 P 顆粒の蛋白質成分とその機能

pgl-1 変異体は、P 顆粒に対する（エピトープ未確定の）モノクローナル抗体の幾つかでその P 顆粒が抗体染色されない変異体として同定された。ポジショナルクローニングの結果、PGL-1 は RNA 結合モチーフである RGG box を持つ新規の蛋白質で、線虫の発生のほぼ全段階において P 顆粒に局在する、P 顆粒の恒常性の蛋白質成分であることが明らかになった。*pgl-1* 変異体は非許容温度下で孵化後の生殖細胞の増殖が低下し、ほとんど配偶子を形成できず不妊になる。すなわち PGL-1 は孵化後の生殖系列の発生において重要な役割を果たしている。次に酵母 2-ハイブリッド法を用いた PGL-1 と相互作用する蛋白質のスクリーニングにより、同じ蛋白質ファミリーに属する PGL-2 と PGL-3、さらに mRNA の 5' cap 結合蛋白質で翻訳開始因子である eIF-4E のひとつ、IFE-1 が検出された（線虫には他の真核生物と異なり 5 つの eIF-4E、IFE-1 ~ 5 が存在する）。さらに抗体を用いた解析により、PGL-2 と PGL-3 も PGL-1 と同様に P 顆粒の構成成分であること、また IFE-1 も PGL-1 の存在に依存して一時的に P 顆粒に局在することが明らかになった。IFE-1 は生殖系列に特異的に発現する eIF-4E のひとつで、その機能を阻害すると精子機能が異常になる。PGL-1 には 4E-BP やマスクンと類似の eIF-4E 結合コンセンサス配列が見られることから、PGL-1 と IFE-1 の相互作用の発見は、PGL-1 が精子形成に必要な母性 mRNA の翻訳制御において、あるいは eIF-4G の擬態分子として働いている可能性を示唆している（図 B）。また最近、別の翻訳開始因子 IFF-1（生殖系列に特異的に発現する eIF-5A）と PGL-1 の相互作用も見つかっている。さらに *pgl-1*; *pgl-3* 二重変異体は許容温度下でも高頻度で不妊になることから、少なくとも PGL-3 は孵化後の生殖系列の発生において PGL-1 と重複して機能していることも明らかになっている。

GLH ファミリー、GLH-1 ~ 4 はショウジョウバエの生殖顆粒の構成成分であり、翻訳開始因子 eIF-4A に類似した蛋白質である Vasa の線虫ホモログとして同定された蛋白質群で、DEAD-box ファミリーの RNA ヘリカーゼに典型的な 8 つのモチーフを持ち、発生の全段階を通じて P 顆粒に局在する。これらのうち GLH-1 と GLH-4 の機能を同時に阻害すると非常に高頻度で不妊になる。その際、不妊となった線虫の生殖腺では精子は形成されるが卵母細胞は形成されない。すなわち GLH ファミリーのうち少なくとも GLH-1 と GLH-4 には孵化後の生殖系列の発生、特に卵母細胞の形成において重複した重要な機能があることが明らかに

P 顆粒は「雲」のような不定型の構造体で、生殖系列の発生のほとんどの時期において、その核膜の外側の特に核膜孔の密集した領域に局在し、それらの核膜孔を外側から被うように配置していることが明らかにされている。それはあたかも新規に転写された mRNA が核から出てくるのを外で待ち受けているかのようなものである

なった。さらに GLH 蛋白質が無いと PGL 蛋白質は P 顆粒に局在できなくなることから、GLH 蛋白質は P 顆粒のアクセントにおいて核となる蛋白質成分であると考えられている。以上述べてきたように P 顆粒に恒常的に存在する 2 つの蛋白質ファミリー、PGL 蛋白質と GLH 蛋白質は孵化後の生殖系列の発生において重要な役割を果たしている。しかし、これらの蛋白質が胚発生期における生殖系列の確立の際にも何らかの役割を果たしているかどうかは、これまでの解析からは明らかになっていない。

胚発生期の P 顆粒には PGL 蛋白質と GLH 蛋白質に加えて、さらに 2 つのグループの RNA 結合蛋白質が局在する。これらの P 顆粒への局在は PGL 蛋白質や GLH 蛋白質ほど特異的ではなく、胚の他の部位にもその存在が見られ、また Z2, Z3 以降の生殖細胞の P 顆粒には存在が認められない。

第一のグループである MEX-1, POS-1, PIE-1 はそれぞれ RNA 結合モチーフである CCCH 型の zinc finger を 2 つずつ持つ新規の蛋白質で、これらの変異体は全て母性効果の胚性致死を示す。このうち POS-1 の主要な機能は生殖系列に分配される *glp-1*, *apx-1* などの母性 mRNA の翻訳制御だと考えられている。PIE-1 の機能はさらに興味深い。*pie-1* 変異体では生殖細胞 P₂ が、その姉妹細胞で体細胞系列の始祖細胞のひとつである EMS としての細胞運命をたどるように運命転換されてしまうが、それは PIE-1 が無いと本来 EMS で転写されるべき遺伝子群が P₂ で異所的に転写発現されてしまうからである。この現象の根底には胚の生殖系列の特殊な転写状態が反映していることが判明した。すなわち、体細胞系列では早くも 4 細胞期の胚から新規の転写発現が開始されるのに対し、生殖系列では P₄ から始原生殖細胞である Z2 と Z3 が生じる（100 細胞期あたり）までは新規の mRNA の転写が起こらない。そしてこの生殖系列での転写抑制には PIE-1 が必要であることが明らかになったのである。発生初期の生殖系列における mRNA の転写抑制はショウジョウバエにおいても見られるので、この現象は多細胞動物において生殖系列が形成されるために必要な進化的に保存されたプロセスかもしれない。

第二のグループである MEX-3 と GLD-1 は RNA 結合モチーフとして KH ドメインを持つ新規の蛋白質で、やはり胚発生期にだけ P 顆粒に局在する。MEX-3 はある体細胞系譜において母性 mRNA の翻訳を抑制し、また GLD-1 も卵母細胞形成期に、やはりある種の母性 mRNA の翻訳抑制に働いていることが既に知られている。MEX-3 と GLD-1 が胚

発生の初期に P 顆粒に局在するという事は、これらの蛋白質が P 顆粒上でも生殖系列に分配される未知の母性 mRNA の翻訳制御に働いている可能性を示唆している。

4 P 顆粒に局在する RNA

上述のように、これまでに同定された P 顆粒の蛋白質成分は全て RNA 結合モチーフを持つ蛋白質であった。よって P 顆粒が何らかの RNA の代謝制御に関わる細胞内構造であることは、ほぼ間違いないと思われる。それではいったいどのような RNA が P 顆粒に局在しているのだろうか？線虫の mRNA の多くに共通に存在する 5' 端の SL1 (splice leader 1) 配列や oligo (dT) をプローブとした蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション実験により、ほとんどの P 顆粒に普遍的に mRNA が結合していることが明らかにされた。しかし、そのうち遺伝子まで同定されたのは、これまでのところ *nos-2* だけである。*nos-2* はショウジョウバエの *nanos* のホモログ遺伝子のひとつで、*nanos* mRNA はショウジョウバエの生殖顆粒に局在することが知られている。線虫の胚発生においては *nos-2* の母性 mRNA は初期胚ではすべての割球に存在しているが、次第に生殖系列だけに局在するようになり、P₄ と始原生殖細胞 Z2, Z3 で蛋白質に翻訳される。*nos-2* の機能を阻害すると Z2 と Z3 は将来生殖腺を形成する前駆細胞である Z1 と Z4 の間にうまく入り込めず、結果としてこれら 4 つの細胞からなる生殖腺原基が L1 幼虫期に正常に形成されなくなる。すなわち P 顆粒は *nos-2* という孵化後の生殖系列の発生に極めて重要な因子を一時期 RNA として保持している。

電子顕微鏡を用いた P 顆粒の微細構造の観察

により、P 顆粒は「雲」のような不定型の構造体で、生殖系列の発生のほとんどの時期において、その核膜の外側の特に核膜孔の密集した領域に局在し、それらの核膜孔を外側から被うように配置していることが明らかにされている。それはあたかも新規に転写された mRNA が核から出てくるのを外で待ち受けているかのようなのである。もしかしたら P 顆粒には、かなり多くの種類の RNA が捕捉蓄積されるのかもしれない。P 顆粒の分子機能の全貌を明らかにするためには *nos-2* 以外にどのような RNA (それは mRNA に限らないかもしれない) が P 顆粒に局在し、またそれらの RNA が P 顆粒の蛋白質成分によってどのように制御されているか、そしてそれらの制御が生殖細胞の発生にどのように寄与しているのかを今後さらに明らかにしていかなければならないだろう。



プロフィール

1988 年東京大学大学院薬学系研究科博士課程修了 (指導教官、池田日出男博士)。薬学博士。東京大学医科学研究所助手、米国インディアナ大学ポスドク、科学技術振興事業団戦略的基礎研究推進事業「生命活動のプログラム」小原チーム研究員をへて、2000 年より同事業団さきがけ研究 21「認識と形成」領域専任研究員 (国立遺伝学研究所、小原研究室所属)。

川崎 一郎

Ichiro KAWASAKI

国立遺伝学研究所
生物遺伝資源情報研究室

科学技術振興事業団
さきがけ研究 21
「認識と形成」領域研究員

RNA Update

特集：翻訳調節⑦

がん遺伝子 Src から受精，そして RNA ワールドへ

佐藤 賢一 (神戸大学・遺伝子実験センター)

ことのはじまり

その朝受け取った学内連絡便の中に、それはありました。

平成 15 年度科学研究費補助金の交付内定通知。見ると、特定領域研究「RNA 情報網」へ提出した研究課題が採択されたということです (もちろんはじめて)。よっしゃ、やった

るぞ！とまずははしゃいだのですが、そのすぐあとに「や、ヤバい」とも感じていました。何せ私は今まで Src（サーク）というがん遺伝子産物／タンパク質チロシンリン酸化酵素を相手にした研究をもっぱらに行ってきた人間であり、RNA とのかかわりはとても薄かったからです。それではなぜ、自分にとって場違いかも知れない研究分野に課題を申請したのか？と自問してみました。そうです、RNA がらみでどうしてもやってみたい研究テーマがあったからなのです。それが研究費のバックアップを受けて実現しようとしている。やっぱり素直に喜んでただちに実験を進めないといけないな、と思いました。

そんなちょっとした気持ちの葛藤となかなか治らない花粉症の鼻づまりを抱えながら一夜明けて翌日、今度はひとつの電話を受けました。それは塩見さんからの電話で、「この夏に研究班でニュースレターというのを発行する予定です。研究課題に関係した文章を寄稿してもらえませんか？」というものでした。そして「某雑誌にあるようなかっちりした総説でなくて構いません。むしろ研究の面白みを伝えるための個人的なエッセイと考えて下さい」とおっしゃるのです。これは今自分がおかれている状況にぴったりのチャンスかもしれないな、と思いました。未知の研究世界（RNA ワールドと呼びます）に入ろうとしている私のこれまでのいきさつを、RNA ワールドの住人であるみなさんにお話するのは悪くないな、いいことだな、と考えたのです。

申し遅れましたが、私達の研究課題は「動物卵受精における母性 mRNA 翻訳活性化の分子機構」です。

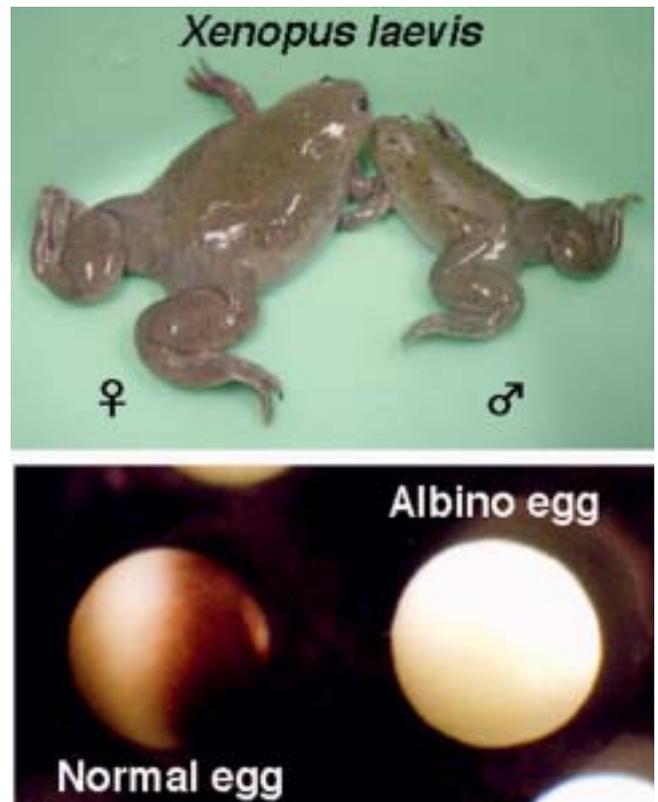
Src 研究：v-Src から c-Src へ

私がこれまで行ってきたラウス肉腫ウイルスのがん遺伝子 Src（“肉腫”を意味する *sarcoma* に由来する語）の研究のはじまりは今から 16 年前（1987 年）に遡ります。神戸大学理学部生物学科の 4 年生であった私は金久武晴教授（当時、現神戸大学名誉教授）の主宰する微生物生化学講座に配属され、同講座の深見泰夫博士（当時助手、現神戸大学教授）のもとで研究指導を受けました。深見博士は以来現在に至るまで私の直接のボスで、本特定領域研究課題の共同研究者でもあります。当時の研究テーマは深見博士がロックフェラー大学留学時にはじめた「Src がん遺伝子産物の活性制御機構とリン酸化ターゲットの解析」で、私はラウス肉腫ウイルスによりがん化した細胞から精製したウイルス性 Src タンパク質（v-Src）を使った酵素アッセイを日々せっせと行っていました。

当時は学部や学科の再編成や教養部の廃止（神戸大学では 1992 年）にむけた動きが活発化した時期で、私が所属する微生物生化学講座も 1988 年度末に金久武晴教授が退

官され、1989 年度には生化学講座と名前をかえました。そのときに新しく教授として赴任されたのは西塚泰美教授（当時医学部教授との兼任、のちに神戸大学学長、現神戸大学バイオシグナル研究センター名誉センター長）です。西塚教授はタンパク質リン酸化酵素 C、すなわちプロテインキナーゼ C（PKC: protein kinase C）の発見という業績で世界的に有名な先生です。そのこともあって、その頃の研究テーマには Src と平行して PKC も扱われていました。私が PKC 研究に直接関与することはありませんでしたが（頑に？ Src をやっていた）、後輩の何人かが卵成熟・細胞周期研究でよく使われていた両生類無尾目アフリカツメガエル（*Xenopus laevis*）の卵母細胞をモデル系としてホルボールエステル（PKC を活性化する発ガンプロモーター）の影響や PKC の精製などを行っていました。

さてウイルス性 Src の酵素活性を測るべく“アッセイマシーン（と呼ばれていた）”と化して学部と修士課程の計 3 年間で過ごした私は、そのまま同じ研究室で博士課程に進みました。そして、深見博士からはそれまで進めていた研究テーマを発展させることを前提として、同時に新しい（Src がらみの）研究にとりかかる自由を与えられました。「何やってもええよ」ということだったので。そこで私は正常細胞性 Src（c-Src）を研究対象にすることを考えました。v-Src がトリなどの細胞をがん化する一方で、c-Src を発現する遺伝子は私達ヒトを含む高等真核生物（最近、ウニやカイメン、線虫にも見つかった）のゲノムに例外なくコードされており、その発現により細胞ががん化すると



いうことはありません。v-Src と c-Src は非常によく似た構造をしていますが、若干の構造の違いにより片や v-Src は恒常的にチロシンリン酸化酵素活性があり、もう一方の c-Src は活性の on-off が細胞内外から送られてくる情報により制御されていることがわかっています。このことが、v-Src だけに細胞がん化能がある主な理由です。そうすると、では c-Src は私達の持つ正常な細胞で一体何をやっているのだろうか、ということが疑問になってきます。また v-Src のほうも何をターゲットにすることによって細胞をがん化するのか、ということが未解決のままです。Src は発ガンウイルスのがん原因遺伝子としてはじめて発見されました。そしてその後の Src 研究は、正常細胞における類似遺伝子の発見（原がん遺伝子という概念の確立）やタンパク質チロシンリン酸化活性の発見を導き、がん遺伝子・細胞内情報伝達研究の源流として認識されています。このように Src をめぐる研究はがん細胞と正常細胞の両方をにらみながら進められています。そのような状況は今も当時もさして変わっていません。

アフリカツメガエル Src の同定

話を戻しましょう。私は博士課程で c-Src をやってみたくて考えました。そしてアフリカツメガエルをモデル系にしてみようと考えたのです。前述したように当時は、PKC 研究用のアフリカツメガエルがすでに研究室の一角で泳いでいるという状況にありました。環境としては新しく実験システムを立ち上げる必要もなかったわけで、思い立ってすぐに行動に移りました。1990 年の中頃の事です。その時の私のねらいは、「ツメガエル卵母細胞の Src は卵成熟因子 (MPF: maturation promoting factor) をリン酸化することができるか」ということを明らかにすることでした。MPF はその存在が 1970 年代はじめに増井禎夫博士によって示されたタンパク質リン酸化酵素 CDK1/cdc2 とサイクリンの複合体で、1988 年に James Maller 博士のグループがツメガエル卵母細胞からの精製を報告していました。また、1989 年には Paul Nurse 博士のグループから MPF の活性を抑制する CDK1/cdc2 のチロシンリン酸化が Src によって触媒される、という報告がなされていました。そこで CDK1/cdc2 のチロシンリン酸化部位を持った合成ペプチドを基質として、卵母細胞の抽出液をカラムクロマトグラフィーで分画し、片っ端から酵素アッセイしてみました。ところが思うように活性のあるフラクションが見えてきません。どうも卵母細胞の Src 活性は極めて微弱であるらしいのです。半年くらいは何も進展がなく、タンパク質同定・精製から c-Src の機能を攻めようとしていた私にはちょっと辛い時期でした。

そんな時、平行して進めていた別の実験で作成した Src 特異的抗体が状況を一変させました。その抗体は c-Src の触

媒活性を持ったドメインの一領域を認識し結合するのですが、同時に c-Src を活性化する能力を持っていたのです。この抗体による活性化反応は同じ抗体結合部位を持つ v-Src に対しては見られませんでした。つまり抗体は「不活性状態の c-Src をむりやり活性化する」らしいのです。そこで、この抗体を卵母細胞のカラムクロマトグラフィー分画を使った酵素アッセイ系に入れてみることにしました。すると今まで活性があるとは思えなかった数本のフラクションに抗体に依存した酵素活性が見えたのです。しかもウエスタンブロッティング法によって、同じフラクションに抗体によって認識される 60 kDa 弱 (Src の分子サイズ) のタンパク質があることもわかりました。これでようやくアフリカツメガエル卵母細胞から Src 類似タンパク質を精製するメドがたったわけです。酵素が同定できるようになると、今度はその分子構造や生理機能が問題になります。アフリカツメガエル卵母細胞から Src に似た酵素を生化学的に精製した、というだけでは論文にならないだろう、という見通しもありました。

なぜ卵母細胞には Src しかないのか？

まず酵素の分子同定を試みました。市販されている抗体を買いまくり、ウエスタンブロッティングを行いました。既知の Src および Src ファミリータンパク質 (10 種類近くある) との対応づけができないことがわかりました。つまり卵母細胞から精製したタンパク質は新規の Src ファミリータンパク質である可能性が出てきたわけです。そこで私達はこの酵素を便宜的に Xyk (*Xenopus tyrosine kinase*) と名付けることにしました。しかしこの問題はのちに、精製した Xyk 標品を質量分析により解析した結果、解決しました。Xyk はアフリカツメガエルに 2 つ存在する互いによく似た Src 遺伝子オルソログ (Src1 と Src2) の発現タンパク質の混合物であったのです。ここで 2 つの疑問が生じました。1 つはなぜ Xyk がその実体が Src であったにもかかわらず市販の Src 特異的抗体 (クローン名: mAb327) と反応しなかったのか、ということです。mAb327 は Joan Brugge 博士らにより作成された抗 Src モノクローナル抗体で、1980 年代なかばから世界中に流通しています。この抗体がアフリカツメガエル Src には反応しなかったのです。mAb327 のエピトープは昔から Src の SH3 (Src homology 3) ドメインと呼ばれる 60 アミノ酸弱からなる領域にある、と言われていました。この SH3 ドメインは Src ファミリータンパク質なら必ず持っていて、しかもお互いに良く似ていますが (言い換えると少し違う)、mAb327 は Src の SH3 ドメインとだけ反応します。そこで SH3 ドメインのアミノ酸配列の違いをじっくりと見てみました。すると mAb327 と反応する哺乳動物あるいはトリの Src に保存され、かつアフリカツメガエルの Src や他の Src ファミリータンパク質 (Fyn や Yes など) に見られないアミノ酸残基がひとつ

だけ見つかったのです。あにはからんや、その互いに異なるアミノ酸残基を点突然変異によりひっくり返すと、トリの Src は mAb327 と反応しにくくなり、アフリカツメガエルの Src は逆に mAb327 と強い反応性を持つようになりました(共同研究者の岩崎らによる)。このようにたったひとつのアミノ酸配列の変異が、私達にアフリカツメガエルから精製された Xyk は Src ではない、という誤解を生じさせていたのです。ちなみにアフリカツメガエル Src を精製するのに役立つ「Src をむりやり活性化することのできる抗体」のほうは、哺乳動物・トリの Src、アフリカツメガエル Src、そしてさらには他の Src ファミリータンパク質(Fyn や Yes など) すべてにほぼ共通に存在するアミノ酸配列を認識します。ですからこの抗体(抗 pepY 抗体といいます)のほうは、Src ファミリー全般を認識する抗体である、といえます。このことは、アフリカツメガエル Xyk が Src であることが分かったことによって生じた2つめの疑問に関係しています。

その2つめの疑問というのは、アフリカツメガエル卵母細胞には Xyk すなわち Src しか発現していないのか、ということです。抗 pepY 抗体は言い換えれば pan-Src ファミリー抗体であるので、この抗体を使うと必ずしも Src だけが同定されるとは限りません。しかしながらアフリカツメガエル卵母細胞の抽出液からは Src しか同定されなかったのです。この場合に使った抽出液には細胞質成分、細胞内顆粒成分、そして細胞膜と一部の細胞骨格成分が含まれます。よほど可溶性の低い細胞内領域は別として、一般的に Src ファミリータンパク質はその大部分が細胞膜や細胞内顆粒成分から回収できます。そうなると、少なくとも Src 以外の Src ファミリータンパク質は卵母細胞では検出限界以下の微量レベルしか存在しない、そして Src がタンパク質レベルで卵母細胞における主要な Src ファミリー発現産物である、という可能性が考えられます。この状況は受精可能になった卵でも同じです。ところがこの仮定は一見、次の事実と矛盾することのように思われました。それは、Src に加えて幾つかの他の Src ファミリータンパク質の mRNA が卵母細胞/卵細胞にちゃんと存在する、という事実です。私達は Src ファミリー遺伝子間で共通の配列モチーフにもとづいたオリゴヌクレオチドを設定した RT-PCR を行い、卵母細胞における Src ファミリー mRNA の存在を検討しました。その結果、Fyn, Yes, Lyn といった Src ファミリー mRNA が高頻度で検出され、Src の mRNA はむしろマイナーな存在であるらしい、ということがわかったのです。であるにもかかわらず、タンパク質は Src しか見つからない、ということです。この一見矛盾に思えた状況に出会ったことが、今回の「RNA 情報網」での研究課題発案の背景になっています。

mRNA の翻訳調節：masking あるいは silencing の存在

mRNA があるのにその発現タンパク質がない、このようなことは実はよくあることだということが少し勉強するとわかりました。それは mRNA のサイレンシングとかマスキング、と呼ばれる現象です。これは遺伝子 DNA から mRNA が合成される転写のレベルと並び、細胞内タンパク質の発現量を調節する大事なプロセスであると考えられています。特に mRNA 翻訳制御は核の外、あるいは核のない細胞で行われる現象なので、細胞内外の環境に応答した迅速なタンパク質合成制御や特殊な細胞(赤血球など)におけるタンパク質合成制御に役立ちます。この mRNA 翻訳制御の問題は、卵母細胞や卵細胞といった配偶子系列の細胞をモデルとして多くの実験が行われています(文献1)。というのも卵母細胞/卵細胞には転写活性がほとんどなく、タンパク質の新規供給をもっぱらあらかじめ蓄えられた mRNA(母性 mRNA)からの翻訳に依存しているケースがよく見られるからなのです。たとえばアフリカツメガエル卵母細胞はプロゲステロンというステロイドホルモンに応答して MPF の活性化、そして卵成熟反応を起こします。このときに Mos と呼ばれる卵成熟成立に重要なタンパク質リン酸化酵素の発現が mRNA 翻訳のレベルで活性化されることが知られています。また、成熟したアフリカツメガエル卵細胞(未受精卵)が受精するとおよそ90分で1回目の卵割を行い、さらに20分間隔くらいで卵割を複数回進めていきますが、この初期胚の発生の間(中胚葉遷移まで)には転写はほとんど起っておらず、タンパク質の供給はやはり卵細胞に蓄えられていた母性 mRNA からの翻訳に依存しているらしいのです。このようなことを知り、私達はアフリカツメガエル卵母細胞や卵細胞では Src 以外の Src ファミリータンパク質をコードする母性 mRNA はなんらかの理由で翻訳されないように制御されているのではないかと考えるようになりました。

この母性 mRNA の翻訳活性化の分子機構、というのが私達の研究課題の中心にあります。そのような研究テーマに興味を持つようになった背景に、私達が同定したアフリカツメガエル卵母細胞 Src タンパク質の特異的な発現、すなわち他の Src ファミリータンパク質 mRNA の存在下にもかかわらず、Src だけが主要なタンパク質産物として発現している、という状況があったことをお話しました。ではなぜ当初扱っていた卵母細胞ではなく卵細胞、そして卵成熟ではなく受精における翻訳制御機構に目を付けることになったのか。それは Src が受精により活性化する酵素であることを発見したからです。

受精による Src の活性化

アフリカツメガエル卵母細胞から Src を精製・分子同定

することができ、つぎは生理機能だ、ということになりました。ところが、最初のねらいにあった卵母細胞における Src による MPF のチロシンリン酸化/活性制御、という魅力的な仮説を肯定してくれるような実験結果はできませんでした。そもそも MPF がチロシンリン酸化されている未成熟卵母細胞での Src の活性は非常に低く、またプロゲステロンを添加して卵成熟を誘導したからといってその活性が上がったり下がったりすることはありませんでした(注: 当時は卵成熟が起るプロゲステロン添加後数時間の活性しか見ていませんでしたが、ごく最近、プロゲステロン添加数分後に Src が一時的に活性化することがわかってきます)。とどめは精製した MPF と Src をまぜたりリン酸化実験で、MPF (cdc2 タンパク質) のリン酸化はどうしても検出できませんでした。逆に MPF から Src へリン酸化が起ることがわかりました(意味不明)。そうこうしているうちに、複数の研究グループが、MPF のチロシンリン酸化酵素として Wee1 という全く新しいタイプのタンパク質の同定を報告してしまいました。卵成熟ではデータが出ない、と頭を抱えていた矢先でした。ボスの深見博士が「じゃあ、受精やってみたら」と言うのです。卵母細胞が成熟すると成熟卵母細胞すなわち未受精卵となり、産卵されて精子と合体、つまり受精します。つまり受精は卵成熟の次に来る大きな生物発生上のイベントです。「ナルホド、受精か」と思いました。で、すぐにやってみました。

実験系を卵成熟から受精にシフトさせたことは、私達にとって大きな転換でした。卵成熟のあいだ、^{DE}しんとして活性が低い状態に保たれていた Src が受精すると活性化を受けるといことがわかったからです。しかもその活性化のタイムコースは受精後 1 分以内と極めて早く、受精の成立に必須の反応として知られている細胞内カルシウム濃度の一過的な上昇(いわゆるカルシウムウェーブ)よりも早いのではないかと考えられました。その後、マイクロインジェクションや酵素アッセイ、カルシウム濃度測定などの実験をやっていくと、Src は精子と卵の結合および融合という受精の最初の情報を、細胞内へ伝える大事な役割を持っていることが明らかとなってきました。つまり、受精により活性化された Src は膜脂質分解酵素であるホスホリパーゼ C γ をチロシンリン酸化し活性化します。そして活性化されたホスホリパーゼ C γ はイノシトールリン脂質を分解してセカンドメッセンジャーであるイノシトール 3 リン酸を産生します。そうして、細胞内カルシウム濃度が上昇する、ということらしいのです。今述べた経路が受精によるカルシウム濃度上昇の唯一の経路なのか、あるいは平行して働く経路がまだあるのかはわかっていません。しかし、精子

受容から Src、Src からホスホリパーゼ C γ 、そしてカルシウムという情報伝達ルートは確かに存在し機能しているようです。

受精の全体像の理解を目指して

以上のような実験を中心にして、私達はここ数年アフリカツメガエル卵の受精における Src の機能を解析してきました。わからないことはまだ山のようにあります。受精研究にかかわるようになって気がつき本当に驚いたのですが、例えば精子と卵がどうやって結合・融合するのか、ということが長年の研究にもかかわらずまだはっきりしていません。受精研究はさまざまな生物種をモデルとして展開されていますが、このような基本中の基本問題がまだブラックボックスとしてあります。また、私達が興味を中心においてきた受精に伴う細胞内カルシウム濃度の上昇のメカニズム、という点についても各モデル動物種でいろいろな説が出されていて、確実な一般の見解を得る段階にはありません。

受精に伴う母性 mRNA の翻訳活性制御という問題は、未受精卵および初期胚における機能的プロテオームの構築原理を理解するためには不可避の問題であるととらえられます。なぜなら、mRNA 翻訳制御がそのときどきの細胞にとって必要十分なプロテオームを構成するために働いていると考えられるからです

そしてアフリカツメガエル卵を使って強く感じるのが、「役者が出揃っていない」ということです。どのタンパク質、遺伝子を扱うにしても cDNA クローニングがまだ行われていなかったりします。そう言う意味で受精研究における分子生物学アプローチは他の実験系にくらべるとかなり遅れているような気がするくらいです。さらに実験モデル生物種ごとにおける「実現可能な実験」に深刻な制限があります。例えばアフリカツメガエル卵はタンパク質をつかまえる生化学実験や細胞学的なアプローチには適して

いますが、ノックアウトなどの遺伝学的手法が確立していません。一方でマウスなどの哺乳動物卵ではトランスジェニックやノックアウトが使える一方で、生化学実験を行うには大変な系です。そういう事情もあって、受精と言う高等真核生物に共通の現象に対して、生物種をこえた普遍的な価値や発見を見出すのが難しいと言えます。

そのような状況にはありますが、しかし受精という現象はその困難を克服してきちんとした知識を確立していくべき対象であると思われます。言い換えると、現在受精のことはまだきちんと分かっている段階にない、ということです。受精 (fertilization) というといかにも純粋理学的・生物学的な学問対象と思われるかも知れませんが、いいかえて生殖 (reproduction) というとうどうでしょう? このことばから導かれる幾つかのことばには、私達の生活、社会に直接そして広く深く行き渡っているものがあります。生殖医療、生殖補助技術、などです。これらは私達が生まれ、そして私達から次の世代を育てていく、世代継承・子孫形成

を支えている人間の営みです。私達ヒトは数百万年にわたって種の維持、発展を遂げてきました。その間、私達ヒトの誕生は男女の生殖行為、妊娠、そして出産という他の哺乳動物種と大差のない、唯一の方法に従って為されてきたわけです。しかしながらここ数十年の間に状況は一変しつつあります。生殖医療は飛躍的な技術的進歩を受けて、いわゆる人工授精や出産前診断などの生殖補助技術を確立してきています。ごく最近では巷にクローン動物、さらにはクローン人間の話題が流れ、臓器移植・再生医療との関連で胚性幹細胞 (ES cells) のことも論議されています。このようなあらゆる医療行為に対しては、その是非や安全性の評価が問題になっています。また、行為の安全性というある意味実行上 (プラクティカル) の問題をこえて、倫理的・社会的・宗教的な問題もあらわれてきます。これは勿論、生殖医療に限られたことではなく、例えば脳死であるとか遺伝子組み換え食品などの問題とも重なる点です。こうした中、受精を研究している立場から、声を大にして言いたいことは「受精のことはまだあまりよくわかっていない」ということなのです。

さて、それでは受精というものをより詳しく正確に理解していくためにはどのような戦略が必要なのでしょう。私達は Src というタンパク質/役者を切り口にした研究を今後も続けていくのは勿論ですが、もうひとつの研究の柱として、プロテオミクスのアプローチをとることを考えています (文献2)。プロテオミクスは数あるゲノム関連研究をゲノミクスと総称されていることを受けて、タンパク質の全体像 (プロテオーム) の理解に向けた関連研究を総称することばとして定義されています。前述したように受精を待つ卵細胞、そして受精後数時間の初期胚ではゲノム遺伝子からの転写はほとんどなく、すでに装備された母性タンパク質と母性 mRNA だけがすべての発生プログラムに関わることを運命づけられています。このようなシステムこそはタンパク質の網羅的な研究、すなわちプロテオミクスが中心的研究手法として機能しなければならないと考えられるわけです。そうして今回研究課題とした受精に伴う母性 mRNA の翻訳活性制御という問題は、未受精卵および初期胚における機能的プロテオームの構築原理を理解するためには不可避の問題であると考えられます。なぜなら、mRNA 翻訳制御がそのときどきの細胞にとって必要なプロテオームを構成するために働いていると考えられ

るからです。この問題の解決のために、私達は受精前後の卵・胚における翻訳制御関連因子の活性や分子間相互作用をとらえ、それが作用するターゲット mRNA や翻訳制御に働く上流調節因子の実体に迫ろうと考えています。その中で私達の研究経過の中からでてきた小さな疑問、「数ある Src ファミリー mRNA のうち、なぜ Src だけが卵細胞で翻訳されていて他のファミリーは翻訳抑制を受けているのか、そしてそれらサイレントな mRNA はいつ、どこで翻訳され何に役立っているのか」への答えが得られることも期待していきたいと考えています。そうした研究の総体が、受精と初期発生における mRNA 翻訳制御の生理的な意義を見出し、受精現象の全体像を明らかにしていくことに発展していくことを願っているのです。

参考文献

- 1 Wickens, M., Goodwin, E. B., Kimble, J., Strickland, S., and Hentze, M. W. (2000) Translational control of developmental decisions. In *Translational control of gene expression*. (ed. N. Sonenberg, N., Hershey, J. W. B., and Mathews, M. B.), pp. 295-370. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, USA.
- 2 Sato, K.-I., Iwasaki, T., Sakakibara, K., Itakura, S., and Fukami, Y. (2002) Towards the molecular dissection of fertilization signaling: our functional genomic /proteomic approaches. *Proteomics* 2, 1079-1089.



プロフィール

1965年北海道岩見沢市出身。1988年神戸大学理学部生物学科卒業。現在、神戸大学遺伝子実験センター助手。北海道と神戸にしか住んだことがありませんでしたが、去年はじめて外国 (アメリカ・マサチューセッツ州アムハースト) で暮らす経験をしました。

佐藤 賢一

Ken-ichi SATO

〔神戸大学
遺伝子実験センター〕

哺乳動物精子形成と翻訳制御

柏原 真一 (筑波大学応用生物化学系)

1. はじめに

生殖細胞における翻訳調節といえば、ショウジョウバエやアフリカツメガエルの卵形成に代表されますが、私は現在「mRNA ポリ(A)鎖長調節による哺乳動物精子形成制御」に関する研究を行っているので、精子形成と翻訳調節についてわれわれの研究紹介を含めて書いてみたいと思います。

2. 精子形成における遺伝子発現制御

精子形成は、精原細胞が精母細胞、精細胞を経て精子へと分化する一連の過程であり、マウスでは約35日を要する。幹細胞である精原細胞が増殖を繰り返す一方で、その一部は精母細胞へと分化し、2回の減数分裂を経て半数体の球状精細胞となる。これ以降の過程は、精子完成期あるいは精子形態形成期と呼ばれ、マウスでは16のステップからなる。精細胞は初期には球状(ステップ1~8)をしているが、後期(ステップ9~16)になると伸長型となり、頭部・中片部・尾部構造が形成され、ほとんどの細胞質を残余小体として放出して精子となる(図1)。

精子形成は著しい形態変化を伴う分化過程であることから、このプロセスにおける遺伝子発現は、①転写(精巣特異的の遺伝子や体細胞遺伝子の精巣特異的プロモーターからの転写および体細胞型にかわる特異的アイソザイムの発現)、②転写後(オルタナティブスプライシングやポリ(A)鎖付加部位の違い)、③翻訳レベル(精母細胞以降での翻訳制御)で体細胞とは

きわめて異なる制御を受けている。また、同一遺伝子に由来する mRNA やタンパク質が体細胞と比べて過剰発現している場合が多く見受けられる。

さて、今回のニュースレターのテーマである翻訳調節に焦点をあててみたい。精子完成期の後半になると、染色体DNAは体細胞にみられるヌクレオソーム構造からヌクレオプロタミン構造に変化し、精子頭部に緻密に詰め込まれる。この核凝縮のため、ステップ10以降の伸長精細胞では、転写がほとんどおこらなくなってしまう。したがって、精子特有の構造である凝縮した核や中片部に多く存在するミトコンドリアおよび鞭毛などを構成するタンパク質の mRNA は、球状精細胞期に半数体特異的転写活性化因子 CREM の制御下に転写され、伸長精細胞で翻訳されるまで約1週間、完全に翻訳不活性な mRNP として保存されるという翻訳制御(翻訳遅延)を受けている。これら mRNA は伸長精細胞で翻訳される際にポリ(A)鎖の短縮を伴うが、短縮されることが翻訳に必要なのか、あるいは翻訳された結果短くなるのかについては現在のところ不明である。さ

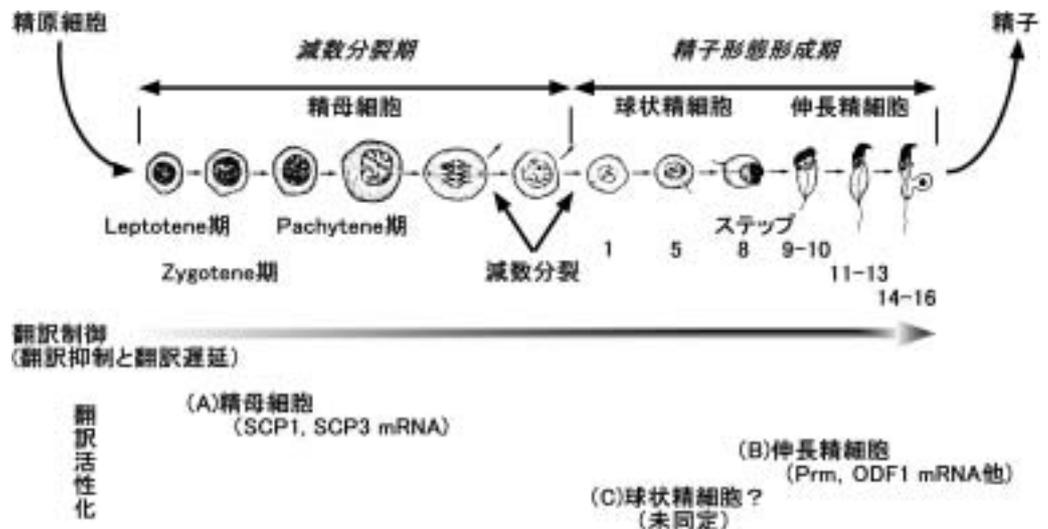


図1. 精子形成過程における翻訳制御

減数分裂期の精母細胞から精子形態形成期の伸長精細胞にかけては、すべての mRNA の大部分(約7割)が翻訳不活性な mRNP として存在している。それらの中には、特定の時期まで翻訳が完全に抑制されているものも存在する。精母細胞では、シナプトネマ複合体タンパク質 SCP1 と SCP3 mRNA のポリ(A)鎖伸長による、また伸長精細胞では精子核タンパク質プロタミン Prm や鞭毛タンパク質 ODF1 mRNA などのポリ(A)鎖短縮を伴う翻訳活性化が知られている。球状精細胞にも、TPAP による mRNA ポリ(A)鎖伸長を介した翻訳活性化機構が存在するのではないかと期待している。

らに興味深いことに、精母細胞から伸長細胞にかけては、全 mRNA の約 7 割が配列に関係なく翻訳不活性な mRNP として存在している (図 1)。伸長精細胞で翻訳されるまで保存される翻訳遅延制御については合目的であり理解できるが、転写と翻訳が同一の細胞種で行われる mRNA までもが mRNP を形成して翻訳抑制されることの意義については、まったく不明である。いざというときの mRNA の貯蔵庫として機能しているわけでもないようである。精子形成における翻訳抑制や翻訳遅延に関する研究は、この 10 年ほどの間にもペンシルバニア大学の N. B. Hecht のグループとワシントン大学の R. E. Braun のグループにより個別に行われてきているが、その分子機構に関しては明らかにしなければならない点はまだ多く残されている。いざれにしても翻訳レベルの調節は、卵形成の場合と同様、精子形成を特徴づける遺伝子発現調節機構のひとつであるといえる。

3. 精巣特異的細胞質ポリ(A)ポリメラーゼ TPAP

さて、私は筑波大学大学院時代に馬場忠先生の指導のもと、哺乳動物精子頭部に存在するオルガネラであるアクロソームに存在するタンパク質について研究を行っていた。修了間際、これらの mRNA サイズが球状精細胞でパキテン期精母細胞と比べて若干大きいことに気づいた。そしてこれはポリ(A)鎖の伸長によるものであると感じていたが、そのことを証明することなく筑波を去ることになった。

約 5 年の後、出身ラボに戻ることにになり、ずっと気になっていたこの現象を突き詰めることにした。運良く、ほかのラボからも報告はされていなかった。球状精細胞でのサイズの増加は、やはりポリ(A)鎖の伸長によるものであった。ポリ(A)ポリメラーゼ(PAP)遺伝子からはオルタナティブスプライシングによりいくつかの mRNA 分子種が生成されるが、活性を持つようなタンパク質は完全に核に局在する。しかし、精子形成細胞はスプライシングバリエーションの宝庫でもあることから、細胞質で活性をもつような分子が存在するのではないかと考え、既知の mRNA すべてに共通する領域を用いてノーザンブロットを行った結果、精巣特異的に高レベルで発現する PAP mRNA が検出された。cDNA クローニングを行い、期待に胸をふくらませてシークエンスをした。が、配列を見て愕然とした。PAP の偽遺伝子とされていたイントロンレス遺伝子の配列と一致していたのであった。この遺伝子は、ORF の途中での 1 塩基の欠失のためナンセンス変異が導入され、機能的な PAP をコードしないと考えられていた。ところが、気を取り直してシークエンスデータをよくよく見てみると、実際には塩

これら mRNA は伸長精細胞で翻訳される際にポリ(A)鎖の短縮を伴うが、短縮されることが翻訳に必要なのか、あるいは翻訳された結果短くなるのかについては現在のところ不明である

基の欠失はなく 642 アミノ酸残基をコードする ORF が存在した。そして、精巣特異的発現を示すことから TPAP と名づけた。この酵素は、核内での構成的なポリ(A)鎖付加を行う PAPII と 86% のアミノ酸配列同一性を示すが、核局在化に必須である 2 つの二極性核移行シグナルの一方を含む C 末端側の約 100 アミノ酸残基の領域を欠損しているため、細胞質に局在していた。

通常、ポリ(A)鎖の付加は核内で行われるが、母性 mRNA の翻訳活性化を惹起するポリ(A)鎖の伸長が唯一、細胞質でおこることが知られていた。しかし、意外にもその反応にかかわる PAP 分子は同定されてなく、TPAP が細胞質に存在することが示された最初の PAP となった。

これはきっと精子形成に必須であるに違いないと思い、早速ノックアウトマウスの作製にとりかかった。どんな表現型が出るか待ちきれず、ケージ交換のたびに睾丸を触って野生型と比べていたところ、どうも小さいような気がし

てならなかった。ラボメンバーにいても、「気のせいですよ」とくらいにしか受け止められなかった。果たして、ふた(腹)を開けてみると、やはり精巣が小さく、副精巣を裂いても精子は出てこなかった。また、ノックアウトマウス精巣の切片像には、球状精細胞以降の細胞はまったく認められず、結果として不妊であった。さらに、プロタミンなど半数体特異的遺

伝子の mRNA 量が著しく減少していた。とりあえず、TPAP は精子形成に必須であることはわかった。あとは、アクロシン mRNA などのポリ(A)鎖がノックアウトマウスの球状精細胞でパキテン期精母細胞より伸びていないことを証明してこの仕事は終わるはずであった…。が、オートラをあげた瞬間、我が眼を疑った。予想に反し、ノックアウトマウスでもこれら mRNA のポリ(A)鎖は球状精細胞でも伸長していたのだ(もちろん今となっては、これでよかったと思っているが)。

そこからが苦難の連続であった。ノックアウトでなぜ精子形成が進行しないんだ!? TPAP はいったい何をやっているんだ? これでは、ペーパーにならん。その後約半年、いろいろなことを調べてみた。焦っていたので今から思うとかなり無駄なことをやっていたと思う。結局何も得られないまま、時間だけが過ぎていった。ところが不意に、これまでのデータを見返してみると、形態形成にかかわる半数体特異的な mRNA がノックアウトマウス精巣で減少しているのは、どうやら伸長精細胞が存在しないためだけではなさそうであることに気づいた。半数体特異的遺伝子の球状精細胞での mRNA 量を比較したところ、遺伝子により程度は異なるものの、明らかに転写量が減少していた。

そこで転写因子に着目し解析を行った。その結果わかったことは、TPAPはTAF10などいくつかの転写因子 mRNA の球状精細胞特異的なポリ(A)鎖伸長をおこなっているが、mRNAの安定性にも翻訳効率にも寄与していないということであった。そもそも、これらの mRNA はパキテン期精母細胞でもノックアウトマウスの球状精細胞でも約100塩基のポリ(A)鎖を有しているので、その機能としては十分ではないか。母性 mRNA のように、20～30塩基しかないポリ(A)鎖を伸長するのはまったく意味合いが違うのではないかと考えるようになってきた。つまり、これまで同定した TPAP によるポリ(A)鎖伸長を受けている mRNA は、ポリ(A)鎖の伸長に特に意味があるわけではなく副次的なものに過ぎないのではないかと、絶望感に打ちひしがれた。それでも、あと1パネル分の図さえ作ればいいんだと気を取り直し、転写因子の修飾や核移行に関与する球状精細胞特異的な因子の mRNA が、TPAP によるポリ(A)鎖伸長がなければ、不安定になるか翻訳されないのではないかと仮説を立てた。いくつかの転写因子の核内存在量を比較した結果、TAF10の核内レベルがノックアウトマウスの精巣で減少していた。したがって、TAF10は球状精細胞ではCREMに依存した半数体特異的遺伝子の転写に関与し、その核移行にかかわる球状精細胞特異的な因子の mRNA が TPAP によりなんらかの制御を受けているのだと、とりあえず結論づけて論文にすることができた (Science 298: 1999-2002, 2002)。

4. おわりに

しかし、TPAPの真の標的 mRNA はいまだ不明である。また、mRNAの選択性の機構やTPAPはパキテン期精母細胞にも存在するにもかかわらず、なぜポリ(A)鎖の伸長は球状精細胞特異的なのか?など、まだまだ明らかにしなければならない課題は多い。さらに、そもそもこの研究の発端となったアクロシン mRNA などの球状精細胞特異的なポリ(A)鎖伸長の機構や意義も不明である。

精子形成における翻訳制御にはポリ(A)鎖の消長が関与していることが、2つ明らかにされている(図1のAとB)。



球状精細胞におけるポリ(A)鎖伸長も、何らかの mRNA の翻訳活性化に関与していると信じて研究を進めている(図1のC)。

プロフィール

1993年筑波大学大学院博士課程農学研究科修了、1992年から1993年日本学術振興会特別研究員。京都府立大学農学部助手などを経て、1999年5月より筑波大学応用生物化学系助手、2003年4月より同助教授

柏原 真一

Shin-ichi KASHIWABARA
(筑波大学応用生物化学系)

RNA Update

特集：翻訳調節⑨

「終結」研究

伊藤 耕一

(東京大学医科学研究所・分子動態研究分野)

人から原稿を頼まれると気がつくのは、自分は翻訳終結の専門家と思われているらしいという事なのだが、いかにせん自分自身にあまり自覚がない。というか、あまり、普段から「自分の興味はこれです」と断言するのは極力避ける癖がついているせいかもしれない。確かに、いま現在の研究テーマは「翻訳終結制御の研究」であることには異存はないし、そう書く以外の何ものでもないし、この研究に

対する思い入れも一過的なマイブームでは無いはずだ。

…とりあえず、僕と「終結」研究について書いてみることにした。

※ ※ ※

翻訳終結研究を始めたきっかけ

これまで10年あまり研究の中心に置いてきたのは、翻訳

終結反応機構の解明研究である。翻訳終結機構の研究といえば、遺伝暗号の三つの解読過程、「開始」、「伸長」、「終結」の最後の過程か、という認識は誰にでも有るだろう。しかし、「終結」だけはちょっと違うという認識もあるので無いだろうか？

歴史を遡れば、1960年代初頭には、遺伝暗号表もほぼ確定し、mRNA上のアミノ酸の遺伝暗号であるセンスコドンに対応したtRNAアダプター仮説なんてのも常識として定着していただろう（自分が生まれる前だから実感はないのだけど…）。翻訳の「開始」と「伸長」過程では、遺伝暗号解読はこのtRNA中心に行われる。tRNAは70残基程度の比較的短い核酸で、フェノール処理など大層荒々しいやり方で、様々な生物種細胞から容易に分離精製出来たから、生物界での普遍性も即座に明らかになったし、基質としての互換性も高く、すくなくともどの生き物にもアミノ酸の種類以上のバリエーションが存在し、あまたの研究者を養うこともできたはずである。さらに、tRNAによる遺伝暗号解読機構が加速的に解明されたのは、この分子が、（修飾とかあるけれど）基本的にはたった4種類のヌクレオチド種からなるポリマーで、（Wobbleもあるけど）ワトソン-クリック塩基対合規則を大枠で採用していたことであろう。いろいろ単純なら生化学的な解析も容易であろうし、また、遺伝学的手法にも格好の題材であり、このtRNAを基質とする関連因子の解析にも弾みがついたはずだ。現に、その頃の論文や、研究者の回顧録などを読むと、命題の設定から実証までの過程が大変明快迅速で何度読んでもワクワクさせられる。専門課程に進学するまで生物学には、とんと縁のなかった物数オタクの僕が、こういう古典に触れなければおそらく生物学なんて、まどろっこしくて選択しなかっただろうと思う。

ところで、翻訳終結過程研究といえばどうだったろうか？コドン表に残った3つのコドン(UAA, UGA, UAG)にはアミノ酸が対応しないから、終止コドンだという具合に消去法的に容易に存在意義が確定はしただろうけど、終止コドンと、それに対応するペプチド鎖解離反応との橋渡しは1970年前後のペプチド鎖解離因子の発見まであまり注目されなかったと思われる。天才的なバイオニア達による解離因子の発見は、大変独創的で、後世まで誇れる偉業ではあったが、その後の進展に不都合だったのは、見つかった因子がタンパク質であったことだろう。タンパク質には、核酸の塩基対合ほど明解な性質も無い上に、失活しないように精製もデリケートにやらなければならないから、生化学的にも難しくなるし、おまけに20種類あるアミノ酸で数百残基の組み合わせがあったら、詳細な機能検索は古典的な遺伝学ではお手上げだったろう。というわけで、ペプチド鎖解離因子による、翻訳遺伝暗号の解読過程の研究の実際は、クローニング技術、リバーシジェネティクスが当た

りに使える時代、さらにはゲノム全盛の時代の到来まで一進一退であったとも言える。それが、大体僕が10年前にこの研究を始める時点の状況であったと思う。『なぜ、これほど基本的なことが良く解っていないのだろうか？』というのがその当時の僕の正直な感想だった。このときちょうど、RF-3という、幻の第三の解離因子のクローニングに関わり、これが普段はtRNAと一緒に機能するGTP結合性タンパク質である伸長因子EF-Gとの相同性が高いという事実がどうにも頭から離れず、当時の研究テーマも手に付かないくらい考え詰めた結果「解離因子-tRNA分子擬態仮説」を世に問うことになった。それまで、翻訳の世界とは無縁だと思っていた僕の現在の研究テーマがその時決まったのだ。それにしても、最初は、初歩的課題も多かった、tRNAシステムとのアナロジーという一生物種内での機能普遍性に加えて、これまでの解離因子の研究が、その種固有のシステムでないという種間の普遍性という点も様々な生き物からのホモログのクローニングや、ゲノム情報の比較を基にして慎重に推測する必要があった。そんな中で原核生物のRF-1や、RF-2が系統的に維持されるコドン特異的な因子であるという、tRNAでは当たり前のようなこともだんだん確立していったのだ。その後の話は、どこかにも書いたし、書き残したことは良く整理してまたどこかで書くかもしれないのでここでは書かない。とにかく、あこがれの古典的tRNA研究の世界をもう一度、なぞる現場に参加できたのは僕にとって幸運な巡り合わせであったと思う。とりあえず今は、翻訳終結の研究が、ようやく他の過程に肩を並べようとしている状態だと思う。だから今後は、解離因子、tRNA双方の研究に貢献するような研究姿勢が必要だと肝に銘じて現在の研究を進めているつもりだ。

もう一つの「終結」研究

実は、「翻訳の終結」を研究する前は、学位論文のテーマであるところの「転写終結」研究をしていた。終結から終結の乗換えをしたわけだ。今振り返ると、同じ「終結」を扱うこれらのテーマには共通点も多かった。そういう意味で移行が容易だったのかもしれない。学術的共通点も面白いし、機会があればどこかでまとめたと思うが、ここでは、一研究者の経験という観点から、もう少しだけ、翻訳終結研究と転写終結研究の共通点と、メリット(○)・デメリット(×)を考えてみる。

(1)研究者がかなり少ない

翻訳終結は、先述のように、研究者を収容する余地が少なかったのだが、転写終結も同様。双方とも、「開始」や「伸長」を解析するアッセイ系は比較的構築が容易なのだけど、「終結」はどちらも難物。一過的に関わっても、専門化は困難。ラボ内でもマイノリティーだったりする(笑)。この状況は、人のいるところは苦手な引きこもり気味の人

には○。行き詰まってちょっとセンチになった時に気軽に相談話が出来なくて×。

(2)一般性のない特殊な研究と思われる (ようだ)

特殊・異端と思われるのは自分自身まんざらでない人には○だが、その研究が重要でない人から思われるのは×。

そういえば以前、学会会場で久しぶりに会った先輩に、「翻訳の終結研究を始めました」と挨拶したら、「また重箱の隅突いているのか?」と言われてしまった。いやはや、かの分野では第一人者と目される先輩の発言だけに意表をつかれてしまった。どちらの終結も、そのままと普遍的重要性をアピールするのに何か足りないようだ。これは、研究している自分自身のアピール能力の無さも原因だと反省している。しかし、陳腐な例え話を壊れたなんとかのように繰り返したり、お祭りとかしないと人の気を引けないのも困りものではある。それはそれで弊害がある。(あ、違います、違いますってば、僕自身の事です、気になさらないで、;-b)。

どちらの終結も、そのままと普遍的重要性をアピールするのに何か足りないようだ。これは、研究している自分自身のアピール能力の無さも原因だと反省している

(3)教科書の扱いがぞんざいで他分野の間違った思い込みが激しい

これから研究が必要な分野であるという状況を分かっもらうには○。いつまでも仕事を正しく理解してもらえないのは×。迂闊な思考を停止する人が思い込みがちだと思う。ちょっと理屈を考えれば恥をかかなくてすむのに…

確かに、教科書がぞんざいに扱うのも分かる。転写にせよ翻訳にせよ、「開始」や「伸長」などでは、役者も華々しく个性的で、他の分野の人も何らかの形で研究上関わりができて、すそ野が広く、カタログ化も可能であり、統計的、原則的な理路整然さもある。教科書を作る上で好都合なワールドを形成している。終結は絶対必要とは分かっている、まとまった知見も乏しく、終わって当たり前という雰囲気さえあればよいのかもしれない。しかし、あからさまに間違っただけいい加減な記述をしているものがあるのはどうかと思うのだが… (どこかで間違いを見かけたら報告してください、僕から連絡して直してもらいます)。

いまだに、転写終結の話をしていると、『コドンがないから転写が終結するんじゃないのか?』(なんだその理屈)、『その(遺伝子 ORF の)先にも塩基があるのか?』(おおいおおい)などと真顔で言われたりする。一方、翻訳終結だと、『終止コドンで止まると自然に全部分解するんですよ?』(間寛平みたいか?)は、まだましとしても、『何故、解離因子みたいな特殊なファクターの研究ばかりして、[終止コドンを認識する?] tRNA の方から正攻法で研究しないのか?』(へ?), 『in vitro 翻訳 Kit 用テンプレートなので、

終止コドンは入れていません』(は?)などに接すると大分へこむことになる。へこんだ反動で逆ギレ出来ないのは、相手が往々にして目上の先生だからなのだけれども…。

いやはや、これから啓蒙に励んだとしても、いずれの終結も常識の仲間入りをするにはまだ時間がかかりそうだ。

考えてみれば、RNA の研究のお仲間に加えてもらっているのに、ペプチド鎖解離因子とか、リボソーム再生因子とかタンパク質因子の研究ばかりやっている。というよりも、あえて意識的に RNA の機能を直接解析する系には手をつけてこなかった気がする。転写終結を研究しているときにも、ターミネーター RNA の機能よりも、タンパク質である RNA ポリメラーゼ本体の機能性を強く意識した研究を進めていた。そういえば、興味深いことに、どちらの終結においても、機能発現に関わる主役的シグナルは、転写反応では鋳型 DNA ではなくて、合成された RNA 上のシグナルであり、一方、翻訳では逆に合成されたポリペプチド上ではなく、鋳型である RNA 上のシグナルである。さらに興味深いことに、特にバクテリアなどでは、この同じ RNA 分子を介して、転写反応と翻訳反応の間には重要な接点(カップリング=まさに RNA 中心の機能ネットワーク!)があるのだ。こんな事実の数々を再認識すれば、「RNA の研究」なんて括り方もまだまだ意外に陳腐なものではない気がする。そんなわけで、僕のこれまでの「終結」研究は、古式ゆかしく謎の多い RNA 機能ネットワークの重要性を、主役である



医科学研究所二号館前にて

RNA を助けて働く、もしくは、対等に働く新参者タンパク質の側から明らかにしていくものだとも言えるかもしれない。こういうとらえ方は、(へそ曲がりの) 自分自身としても納得がいくし、そういう RNA 研究もあって良いと思う。それが可能なのは RNA 研究分野の懐の広さゆえだろう…。

プロフィール
東大医科学研究所・遺伝子
動態研究分野・助手・38才。
一緒に研究する人募集中。

伊藤 耕一
Koichi ITO

〔東京大学医科学研究所〕
〔分子動態研究分野〕

RNA Update
特集：翻訳調節⑩

おやすみ 100 S リボソーム

和田 明 (大阪医科大学物理学教室)

この特定研究でのわれわれのテーマ「定常期における大腸菌リボソームの構造と動態」の中心を占めるのが 100S リボソームである。ここではこの 100S を発見した経緯をエッセイ風に、多少脱線しながら書いてみようと思う。

京大ウイルス研究所の建物がまだ建ってなくて、渡辺格教授(当時のまま“格さん”と呼ぶ)の化学部が早石修教授の医化学教室の一角に間借りしていた時代、1961年の秋に、化学部のスタッフ総出の分子生物学の集中講義が理学部で行われた。当時私は化学の4回生だったが、初めて聞いた遺伝子とDNAの話はそれまで勉強してきた代謝や酵素には無い新鮮さに溢れていた。その頃まだウイルス研には大学院がなかったの、大学院は理・化・生化に所属したまま、ウ研化学部に入れてもらい、助手の春名一郎さんから手ほどきを受けた。一年後、格さんが慶応に転出されたので、ウ研物理部の川出由巳さんと基礎物理学研究所の福留秀雄さんがつくった蛋白合成のグループに移り、酵母の転移RNAに紫外線を照射して、その線量依存性からアミノアシル化活性部位の大きさを決めるテーマを貰った。その後福留グループは寺本英さんの理論グループとともに理学部物理学教室の一講座となり、私は博士課程を中退して助手になった。しばらくすると大学紛争が始まる。理学部も大混乱に陥り、福留グループは分裂してリボソームを担当する者がいなくなったので、仕方なく転移RNAとかけもちでリボソームを始めることになった。これが私のリボソームとの出会いである。先ず手始めに、リボソーム顆粒中の蛋白成分の隣り合い関係を調べようと思い、二価性のイミドエステルを使うことにした。当時はまだ市販され

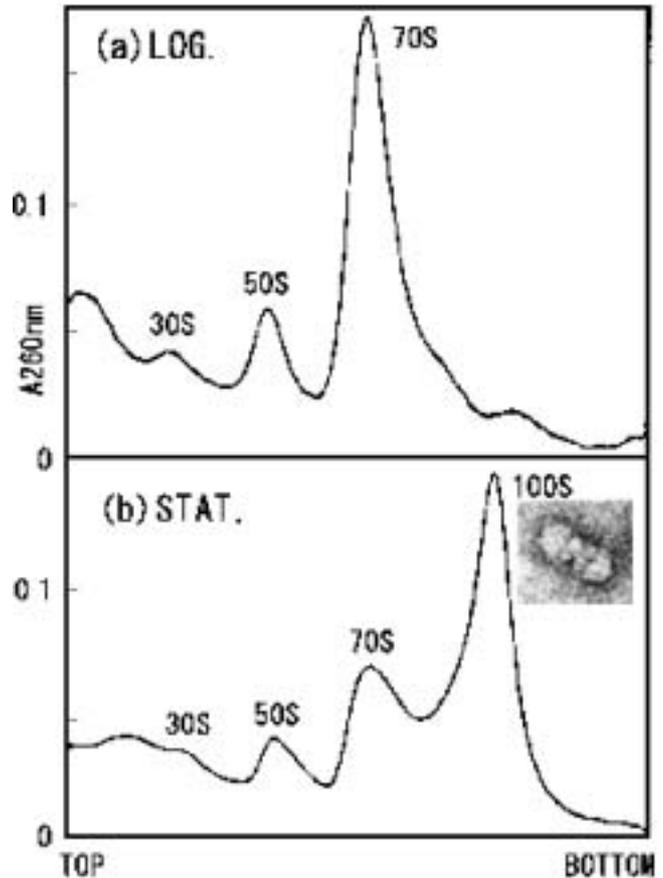
てなかったの、マロノ、アデイポ、スベロと全て有機合成した。やってみると50Sと30Sの間にも架橋されて、きわめて安定な70Sができたので、その安定性を蔗糖密度勾配遠心で調べていた。ちょうどその年の4回生に中村義一君がいた。彼は軟式庭球部のキャプテンの仕事が忙しくて、ほとんど研究室に出てこなかったが、3月の末にひょっこり現れ、「軟庭、とことんやりました。もう十分です。これから研究します」ということになった。勿論留年である。それから1年、彼はウ研の大学院の準備をしながら、このイミドエステルの架橋実験と一緒にやることになったが、彼の呑み込みの早さに驚かされた。同じことを二度言う必要がない。それにノートを取るのが非常に上手い。こんな学生は初めてだった。彼の処女作となるBBRC(1973)の速報はその年度の内に出来あがった。その頃は面白い学生が他にもいた。嶋本伸雄君もその一人である。当時彼は熱気球に夢中で、仲間たちと日本の熱気球協会を設立しようとしていた。偶々その年の大学院入試と熱気球の日程が重なってしまったが、彼は熱気球の方を選んだ。次の年、素晴らしい成績で福留研に入ってきたが、その1年の間に熱気球の飛行理論の論文の一つ書いていた。もう一人挙げると、ストレス・シャペロンの永田和宏君である。彼は私のリボソームの仕事に興味をもって来て大学院で一緒にやるはずだったが、入試の準備が間に合わなかった。物理の院入試が格段に難しかったこともあるが、当時彼は京大短歌会と高安国世さんの主宰する結社“塔”の主要メンバーとして大活躍していたのである。彼は今も立派に二足の草鞋を履き続けている。読売文学賞、若山牧水賞の受賞など記憶に新しいが、それにしても彼の短歌はシュールで難解

である（最近変わってきたか？）。

リボソームに戻ろう。1970年代前半にマックスプランク研究所の Kaltschmidt と Wittmann が考案した二次元電気泳動法（K-W 法）で大腸菌のリボソーム蛋白が分離され、命名法が統一された（リボソーム蛋白を「定義」するという）。この論文の二次元ゲルを見ていて、リボソーム蛋白のスポットの大きさがまちまちであることに気付いた。ということはリボソーム顆粒に含まれるリボソーム蛋白が顆粒によって少しずつ違う、つまりリボソーム顆粒は構造的にヘテロであることを意味するが、本当にそうだろうか。ちゃんと定量してみようと、K-W 法の装置を自作することから始めた。たしかに高い分離能をもつことはわかったが、二次元画面の汚さが気になった。おびたしい数のマイナースポットが出てくる。この正体は何か？ひょっとして自分の腕の悪さの所為かと疑いながらも、K-W 法を根本的に検討し直そうと決心した。しかし周囲の評判は散々だった。

「確立された K-W 法を今更いじくっても、所詮二番煎じにしかならないぞ」と。たしかに二番煎じと見られても仕方のない試行錯誤をその後繰り返すことになる。大学紛争の混乱に加えて、私が提案して“京大保育所を認可する運動”（到底語り尽くせない！）を始めたのでやたら忙しい上に、K-W 法の改良が遅々として進まず、何年も論文が書けなかった。いま振り返って見ても、この1970年代後半は自分の研究生生活の中で一番苦しかった時期だったと思う。

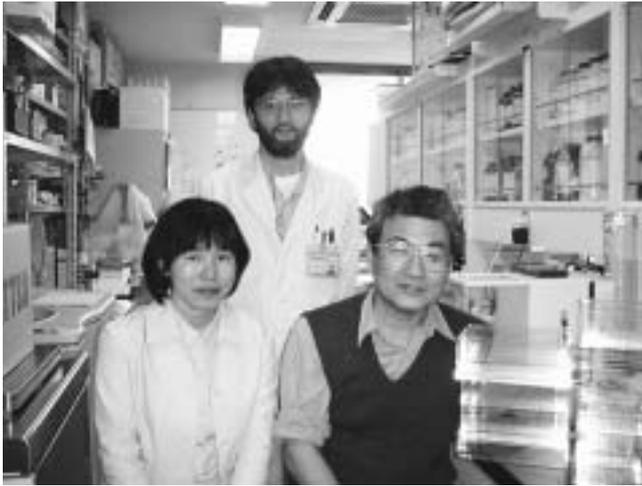
しかし時間はかかったが、原因はわかった。やはり K-W 法自体に原因があった。一つはアクリルアミドをラジカル重合させるのに用いるフリーラジカルが意外に長寿命で、蛋白を修飾したり、ゲルへ捕捉したりすること。これの対策として電荷をもったラジカルスカベンジャーをブレンドすることを思い付いた。もう一つはゲル中の酸化環境によるシステイン残基の分子内及び分子間 S-S 架橋である。前処理の還元だけでは十分な解決にはならない。この場合の対策は電荷を持った還元剤を蛋白と同時に泳動させればよい。これ以外にも蛋白を濃縮するために0次元泳動を導入するなど20項目以上の改良を施した。改良の結果、装置の姿形は K-W 法とは似ても似つかぬものになったが、マイナースポットは完全に消滅し、高い定量性をもった二次元画面が出来上がった。この改良法を RFHR (radical-free and highly reducing) 法と名付けたが、これによって大部分のリボソーム蛋白が各顆粒に1分子ずつ含まれることを証明することが出来た。しかしそれだけでなく K-W 法では見られなかったスポットが4個 (A,B,C,D) も出現した。このうち A, B は後に L35, L36 と命名したリボソーム蛋白である（同じ頃千葉大の五十嵐一衛さんらもカラムでA蛋白を見つけた）。L35 の遺伝子は IF3 と L20 の遺伝子に挟まれていて、この3者が新しいリボソームオペロンを構成することもわかった。このオペロンの発現制御はその後フラ



蔗糖密度勾配遠心による対数期(a)と定常期(b)の大腸菌リボソームと、100Sの電顕像

ンスの Grunberg-Manago と Springer らによって研究される。L36 の遺伝子は spc オペロンの仮想の最終遺伝子 X に他ならないことも明らかになった。また C は“本物の”L31 であった。実は蛋白調製の際に ompT (protease VII) によって C 末 8 個のアミノ酸が人為的に除去されたものを K-W 法が誤って L31 と名付けていたのである。D はのちに SRA と名付けたリボソーム結合蛋白である。こうして 1970 年初頭に確立したかに見えたりボソーム蛋白の定義は 1986 年の RFHR 法を待ってようやく完了した。最終的に確立されたリボソーム蛋白遺伝子は、30 S 側は変わらず 21 種。50S 側は L35, L36 を追加し、間違いの L8 を削除、偽 L31 は本物 L31 と入れ替え、L7/12 をひとつと数えて結局 34 種。S20 と L26 は全く同じ蛋白だから、70S に対するリボソーム蛋白遺伝子は $21 + 34 - 1 = 54$ 種となる。

RFHR 法を発表した頃、京大理・生物物理の小関治男教授の研究室で、中国からの留学生、常箴さんが UGA サブレッサ株で、リボソーム蛋白 S7 がリードスルーして長くなったものを掴まえようとしていた。それを手伝うことになり、彼女が培養した菌体からリボソーム蛋白を調製して RFHR 法で分析した。予想通り長くなった S7 が見つかったが、一つ見慣れないスポットが出てきた。そのスポットの位置が K-W 法の酸化型 L31 の位置に近かったので、還元



3人のチームです。後ろの髭面が研究分担者の吉田秀司さん、左は研究支援者の上田雅美さん、右に見えるのは改良型RFHR法です。

処理が不十分だったのではないかと疑い、還元剤を5倍にしてみましたが、全く変化しなかった。そこで常さんに培養の様子を聞いたところ一晩培養し続けて定常期に収穫したことがわかった。

われわれが忠実に実行してきた対数期ではなかった。それではと24時間培養してみると、同じ位置にもっと鮮明なスポットが現れた。このように比較的簡単に定常期に原因があることに気付けたのは、その頃私自身が生理的条件を変えたときのリボソームの変化に興味を持ち始めていたのと、もうひとつは、当時生物物理学教室におられた志村令郎さんに定常期の研究を勧められていたからだった。

こうして常さんのおおらかさに助けられて、定常期特異的なリボソーム結合蛋白をひとつ見つけることが出来た。この蛋白をとりあえずEと名付けたが、私は定常期に起こる変化が単にこうした蛋白質レベルの変化だけなのか、もっと大きな、たとえばリボソーム顆粒レベルの変化があってもいいのではないかという茫漠とした物足りなさを感じていた。これには何の確たる根拠も無かったが、とりあえず蔗糖密度勾配遠心で定常期のリボソームを調べることにした。最初はあまりはっきりしなかったが、よく見ると対数期の70Sよりもわずかに重い方に膨らんでいた。この膨らみをさらに検討して行った結果、大腸菌を収穫する最終段階のバッファーでの洗浄を止めると、図のように対数期と全く違ったパターンが現れることがわかった。いままでに見たことの無い100Sの大きなピークがあり、逆に70Sが顕著に減少していた。最初僅かに膨らんで見えたのは、どうやらバッファーで洗浄することが菌の環境を擬

私は定常期に起こる変化が単にこうした蛋白質レベルの変化だけなのか、もっと大きな、たとえばリボソーム顆粒レベルの変化があってもいいのではないかという茫漠とした物足りなさを感じていた

似的に対数期に引き戻し、100Sを崩していたためらしい。期待通り、いや期待以上に、定常期はリボソーム顆粒を70Sから100Sへと激変させていたのである。しかも定常期の各ピークの蛋白を調べると、新しく見つかったE蛋白は100Sにのみ局在していた。さらにE蛋白と70Sのみを試験管内でインキュベートすると100Sが形成された。つまりE蛋白は100S形成の必要十分条件である。こうしたEの機能に照らして、EをRMF (ribosome modulation factor) と名付けた。これは遺伝研の石浜明さんの提案である。E蛋白と100Sを発見した後、遺伝研のシーケンサーを借りてEのアミノ酸配列を決めたのがきっかけで、その後石浜研との共同が多くなる。また京大植物の藤沢久雄さん、加藤尚子さんに手伝ってもらって、電顕で観察すると100Sは50S・30S・30S・50Sとたてに長く繋がっていた。更に五十嵐さん、石浜さんの協力を得て100SのアミノアシルtRNA結合と翻訳活性を調べたところ不活化していた。現在、吉田秀司君がcrosslinkingや、信州大の内海利男さんから教わったfootprintingで明かにしつつあるように、どうやらRMFはPTase centerに覆い被さって阻害しているらしい。

最近ウ研の和田千恵子研究室(井筒香織さん)との共同で、このRMFがppGppの正の制御を受けて発現することもわかった。他方、定常期の菌を新鮮な培地に移すと2分以内に100SからRMFが去り、活性化した70Sに戻る。こうした事実は、RMFの着脱による「不活性100Sと活性70Sの相互変換」が増殖段階の移行に伴う翻訳活性の制御機構として働いていることを示している。そんな訳で

100Sはリボソームの“おやすみモード”である。われわれは100S形成過程を冬眠(hibernation)と名付けることにした。RMFの他にもう一つ100Sに特異的に結合する蛋白YhbHを牧泰史君(JST-CREST)が見付けているが、この働きはこれからの課題である。

100Sの発見に辿り着いたところで誌面が尽きてしまったので、100Sの働きの詳細はこれからの班会で報告していきたい。最近、京大の藤吉好則さんとcryo電顕で100Sを構造解析する共同研究を発足させた。大いに楽しみである。

プロフィール

1964年京都大学理学研究科博士課程中退 同年京都大学理学部文部技官(物理学教室)、1965年同助手、1996年大阪医科大学助教授(物理学教室)現在に至る。京大理博。リボソーム研究と並んで、RFHR法によるプロテオーム解析にも取り組んでいます。

和田 明

Akira WADA

(大阪医科大学物理学教室)

翻訳開始か転写開始か

今高寛晃

〔理化学研究所 ゲノム科学総合研究センター〕
タンパク質構造-機能研究グループ

2001年の3月にMol.Cell.Biol.(21: 1899-1907)に掲載されたM.Kozakによるミニレビュー「New ways of initiating translation in eukaryotes?」は真核細胞の翻訳開始の研究者の間でかなり物議を醸した。このreviewは他に数多あるものと違って、流行しているあるコンセプトを真っ向から否定し、それに関する多くの論文を歯に衣を着せずこきおろしたものであった。そのコンセプトとは「Cellular IRES」である。IRES (Internal Ribosome Entry Site)とはピコルナウイルス等のRNAウイルスが持つRNA構造で、リボゾームを含む翻訳開始複合体が直接その構造を認識し翻訳を開始するものであり、1988年にその存在の証明がなされた。それに対し細胞側のmRNAの場合は、5'末端に翻訳開始複合体が結合し、リボゾームはmRNAの5'末端近傍より入り込むと考えられている。IRES依存の翻訳開始はリボゾームがmRNAの5'末端からではなく5'非翻訳領域の途中から入り込むという点が特徴的である。焦点となっている問題は「細胞側のmRNAにIRESを持つものがあるのか?」である。ウイルスが行っていることを細胞が行っていても何ら不思議はない。また、あるmRNAがIRESを持つことによりそのmRNAは固有の制御を受けることができる。Cellular IRESのコンセプト自体は合理的でかつ魅惑的である。

mRNAがIRESを持つかどうかはバイシストロニックプラスミド(図)を細胞に導入することにより調べられて

いる。つまり、まず適当な2つのレポーター遺伝子の間に目的のmRNAの5'非翻訳領域を挿入する。その結果できるバイシストロニックmRNAを適当なプロモーターを使って細胞内で発現させる。もしこの5'非翻訳領域がIRESとして機能するならば下流にあるレポーター活性(図の中ではルシフェラーゼ)がバックグラウンド(CATとルシフェラーゼの間に何も入れない場合)に比べ有意に検出される、という論法である。この考えを使って2001年の時点でIRESを持つと認定された(論文として発表された)mRNAは26個を数えたが、M.Kozakによるとこのほとんどがクオリティの低い実験による虚像である、というわけである。ほぼ名指しで批判を受けた論文の著者達は連名で抗議文を発表し(Mol.Cell.Biol. 21:8238-8241)、それに対する彼女による返答も同時に掲載(Mol.Cell.Biol. 21:8241-8246)された。批判された著者達の怒りの度合いは様々だったと思われる。違う仕事の延長線上で行ったもので続報が出なくてもかまわないpaperだったものもあるだろう。しかし明らかに「Cellular IRES」で飯を食べている人達もいるのである。その人達はもしかしたらグラントをもう得ることができないかもしれないのである。私は表面上第三者の立場ではあるが、実は「Cellular IRES」に関して忘れ難い苦い体験がある。

今からちょうど九年前、私は転写から翻訳へと研究の足場を移行させていた。自分がクローニングした転写因子を



バイシストロニックのコンストラクト。矢印は細胞に一過的に導入した場合に起こりうる転写を示している。発現用の強い転写に比べ弱いながらもDNA上の様々な部位から転写は起こる可能性がある。

コードする mRNA の 5' 非翻訳領域の長さが 500 ベースもあり非常に GC に富んでいた。そのため in vitro の系ではその mRNA は全く翻訳されなかった。どうやってこの mRNA は細胞内で翻訳されるのだろうか？この mRNA はさまざまな細胞で同程度発現していたがタンパク質としては神経細胞にだけ発現していたため、神経細胞に特異的な翻訳機構が存在すると考えられた。私は「この 5' 非翻訳領域は神経細胞で特異的に活性化する IRES である」との仮説を立て、これを立証すべくこの 5' 非翻訳領域を CAT とルシフェラーゼの間に挿入し SV40 のプロモーターで発現できるプラスミドを構築した(図)。このプラスミドを神経系の細胞にトランスフェクトすると、予期したとおり強いルシフェラーゼ活性が検出された。重要なことに同じプラスミドを非神経系の細胞にトランスフェクトするとルシフェラーゼ活性は非常に弱かった。これはまさに組織特異的な IRES であることを示していると思われた。当時は転写万能主義が横行し、遺伝子制御とはすなわち転写制御のことを意味していた(今でもそう信じている人は多い)。そういう雰囲気反発を感じていた私は自分の実験結果に興奮した。IRES による組織特異的な遺伝子発現制御という新しい分野を切り開けるのではと高揚した。こうなるともう止まらない。非翻訳領域の様々な変異体をいろんな細胞にトランスフェクトし、どんどんデータを出していった。また、非翻訳領域に結合するタンパク質を精製しようと屠殺場へ行って牛の頭をもらってきてはフリーザーにため込んだりしていた。

まずは第一報を、というわけで論文を書き始めたころであった。なにげなく読んだ総説にこんなことが書いてあった。「DNA100 ベースあれば転写因子が 10 以上結合する可能性がある。従ってトランスフェクトされた DNA はどん



左が筆者。因みに右は現在 UCLA で奮闘中の金鐘明さん。

なものでもプロモーターになる可能性がある」。私は不安になった。いままで観察していたのは 5' 非翻訳領域の転写活性を観察していただけなのではないか。その不安を払拭すべく今まで構築したバイシストロニックプラスミドから発現用のプロモーターを除き、細胞に導入した。不安的中した。発現用のプロモーターなど無くても 5' 非翻訳領域の転写活性でもって今までの結果を再現できたのである。私は一年を無駄にしたのだ。もちろん牛の頭も廃棄処分となった。

では、私は何を誤解していたのだろうか。まず、用いた cDNA に問題があった。通常クローニングで得られた cDNA は 5' 側が一番長いものを発表する。これは逆転写酵素が途中で止まることもあるため、短いものは往々にして単に不完全な cDNA として片づけられるためである。特に GC に富んだシークエンスの場合 RNA の二次構造が強固なため不完全な cDNA が得られる。困ったことに GC が多い領域は複数の開始点を持つプロモーターであることが多い。

なによりも「そこに RNA があって欲しくない」という心理作用が働いて難しい RNA 解析などしようとは思わない。それに比べレポーターアッセイ(特にルシフェラーゼ)のなんと簡単で鋭敏なことか！ RNA 解析の方法が束になっても敵わない

その場合転写開始に TATA ボックスは必要ない。そういえば私がこの cDNA をクローニングした際、多くの短い産物が得られたが「GC が多いから逆転写酵素が途中で止まったのだろう」とそれらを捨てていた。しかし実際は 5' 非翻訳領域がプロモーターを含んでいることがあるのだ。この場合本来のプロモーターであることもあるが偽のプロモーターであることもある。プラスミドを細胞に一過的に導入すると(おそらく正当なクロマチン構造が形成されないためだろう)偽のプロモーターが顔を出す。

もっと大きな問題は RNA を検出する方法の限界である。ある 5' 非翻訳領域が IRES であることを証明したい場合は、DNA トランスフェクションの後 RNA の解析をして問題の 5' 非翻訳領域から mRNA が発生していないことを証明しなくてはならない。ところが図にあるようなバイシストロニックのコンストラクトを細胞に一過的に導入し RNA を抽出しルシフェラーゼをプローブに用いノーザンブロットを行うと、CMV や SV40 のプロモーター由来のバンドでさえなんとかボヤッと観察されるのが普通である。ましてや 5' 非翻訳領域から発生した RNA など検出される訳はない。RNase プロテクションアッセイを用いても無理である。弱い転写開始点が数多く存在する場合は、検出できたとしても(RT-PCR を用いても)結果が鮮明でなく、バックグラウンドとして片づけられる。なによりも「そこに RNA があって欲しくない」という心理作用が働いて難しい RNA 解析などしようとは思わない。それに比べレポーターアッセイ(特にルシフェラーゼ)のなんと簡単で鋭敏なことか！

RNA 解析の方法が東になっても敵わない。レポーターアッセイに対抗できるのはレポーターアッセイしかない。私はプロジェクトの最初の段階でプロモーターを除いたコンストラクトも用いてルシフェラーゼを測定すべきであった。

M.Kozak がレビューで「拙い実験」と批判した根拠もおおまかこのようなことである。果たして彼女のレビューは警告となり効果をもたらしたのだろうか？ 答えはNOである。上のようなことを全く考慮しない Cellular IRES の論文は Cell をはじめとする一流雑誌に現在も続々と掲載されている。

プロフィール

1988 東京大学農学部獣医学博士課程修了。
東北大学理学部、京都大学ウイルス研究所、マギル大学（カナダ）を経て
2002より理化学研究所
上級研究員。

今高寛晃

Hiroaki IMATAKA

理化学研究所
ゲノム科学総合研究センター
タンパク質構造-機能研究グループ

RNA Update

特集：翻訳調節⑫

メンブレントラフィックと リボソーム生合成ファクトリー

水田啓子

(広島大学大学院生物圏科学研究科)

私とリボソームの出会いは、広島大学の原爆放射能医学研究所（現 原爆放射線医学研究所）に職を得た、1989年に遡る。そこはかつて大澤省三先生がおられた研究室で、その頃は酵母のリボソーム蛋白質遺伝子を次々とクローニングして塩基配列を決定し、他の生物種のものと比較するという分子進化学的研究をしていた。2年余りその仕事に加わってそれなりに貢献することができたが、ゲノムプロジェクトの進行状況から、研究の方向を変える必要性を感じていた。ちょうどそんな折に、米国アルバートアインシュタイン医科大学の Jonathan R. Warner 研究室に留学の機会を得、酵母におけるリボソーム生合成調節の研究を始めることになった。Jon とは事前に一度も合わないで決めたのだが、彼の論文から想像していた通り、Jon は Science をこよなく愛する、暖かい人柄の教授であった。当時 Jon の研究室では、リボソーム蛋白質遺伝子の転写が温度感受性となる出芽酵母の変異株を多数取得していた。私はまずそれらの表現型を調べ、それをもとに1つの変異株を選んでその原因遺伝子をクローニングした。取得したのは *SLY1* という必須遺伝子で、小胞体からゴルジ体へのメンブレントラ

フィック（分泌経路）に機能を有する蛋白質をコードしていた。転写に関連する因子を期待していた私は、遺伝子名がやたらに多く書き込まれた分泌経路の図を眺めて当惑した。

この発見が私のその後の研究を方向づけ、さらには Warner 研究室の研究の方向をも変えてしまうことになる

うとは、その時は想像もしなかった。家族を日本に残しての単身赴任だったため10か月間という限られた期間であったが、実験に励み、「リボソーム生合成が正常に行われるためには分泌経路が正常に機能している必要がある」という結論に

「リボソーム生合成が正常に行われるためには分泌経路が正常に機能している必要がある」

達した。分泌経路遮断時にはリボソーム蛋白質遺伝子群とともにリボソーム RNA 遺伝子の転写も抑制されており、また *sly1* 変異株だけでなく分泌経路のどの段階の変異株においても同様の現象が観察されることがわかった。細胞膜の新たな合成ができなくなったにもかかわらず依然として蛋白質が合成され続けると、細胞膜に内部から圧力がかかり、その細胞膜の状態の異常がトリIGGERとなって生じたシグナルが核にまで伝達されて、リボソームを構成する成

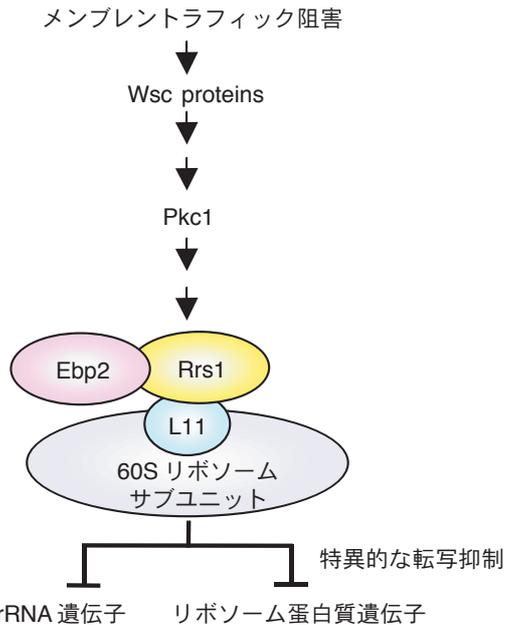


図1. メンブレントラフィック阻害からリボソーム生合成系転写抑制への情報伝達とその関連遺伝子

分の遺伝子群の転写抑制が引き起こされると考えている。このような状況では、「リボソーム生合成を停止させる方が細胞にとって都合がよい」というのが、この系の生理的意義の一応の説明である。

その後、広島大学工学部の宮川都吉研究室に助教授として赴任し、指導学生を毎年受け持つことになった。4年後に生物生産学部に移って小さなラボを持ち、今年で3年目になる。現在博士課程の学生は3年の三好啓太君一人だけだが、修士課程の学生や学部生もみな実験が好きで研究を楽しんでいる(と、私は思っている)。酵母を用いる利点の一つは変異株を容易に得られることである。上述のシグナル伝達に欠陥のある変異株を取得し、その原因遺伝子として *RRS1* をクローニングした。また東京大学大学院理学研究科の東江研究室との共同研究により、*Rrs1* と相互作用する蛋白質をコードする遺伝子として *EBP2* を取得した。私たちは、酵母の *Ebp2* と *Rrs1* が核小体において25S rRNAの成熟およびリボソーム60Sサブユニットのアセンブリに必須な蛋白質であること、*Rrs1* が *L11* (60Sリボソームサブユニットの中央突起に存在する蛋白質) と結合すること、また *EBP2* あるいは *RRS1* の変異により、メンブレントラフィック阻害によるシグナルが伝達されなくなることを示した。一方 Jon らアルバートアインシュタイン医科大学のグループは、さまざまな情報伝達に関与する遺伝子の変異株を次々と試して、細胞膜上のセンサーとして *Wsc* 蛋白質を、シグナル伝達の担い

手として *Pkc1* を見出している。

私たちの結果は、本シグナル伝達が正常時のリボソーム生合成と密接に関連していることを示唆している。シグナル伝達の最終段階近くで、リボソームサブユニットを組み立てるマシナリが関与している、つまり、リボソームサブユニットの組立がリボソーム RNA 遺伝子の転写と共役していると考えている。さらに、リボソーム生合成系と細胞膜の合成系(分泌経路)が正常時でもクロストークしていることが示唆される。細胞膜合成系以外にもリボソーム生合成系と連携する合成系が推定され、リボソームサブユニットアセンブリマシナリが中心となって細胞増殖のための合成系制御ネットワークを形成していると考えている。リボソーム RNA 遺伝子の転写とプロセッシング、サブユニットのアセンブリ、核外輸送などの各反応の流れを捉えてその連携の実体を明らかにしたいと考えている。また、rRNA 遺伝子の転写とリボソーム蛋白質遺伝子の転写の協調制御については古くから研究されているにも関わらず、その分子機構がほとんどわかっていない。この点についても私たちの系において明らかにしたいと思っている。

Rrs1 と *Ebp2* はともにヒトにまでそのアミノ酸配列が高度に保存されており、ヒトの核小体に含まれる蛋白質として同定されている。最近、マウスをモデル生物としてハンチントン病の発症過程で *RRS1* の発現が昂進することが報告された。またヒトの *Ebp2* はヒト癌ウイルスである Epstein-Barr (EB) ウィルス由来の蛋白質 EBNA1 と相互作用し、EB ウィルス DNA の均等分配に関与することが示唆されている。私たちは酵母において *Ebp2* がリボソーム生合成以外にも機能をもつ可能性を検討し、有糸分裂において新たな機能をもつことを示唆する結果を得ている。リボソーム生合成を担う核小体蛋白質については今後ますます興味深い知見が得られると思っている。



写真中央が筆者

出芽酵母の核小体におけるリボソームサブユニット生合成過程の詳細が急速に明らかにされようとしている。その過程は予想以上に複雑で、核小体におけるリボソーム生合成には100個以上の蛋白質因子が必要であると推定されている。TAP- タグをつけた蛋白質と複合体を形成している蛋白質の質量分析による同定から、リボソーム生合成過程の各段階における蛋白質因子の組み合わせがかなりよくわかってきた。リボソーム、スプライセオソームに続く、真核細胞における第三の巨大RNPとして、リボソーム小サブユニット(SSU)プロセソームが提唱されている。興味深いことに、18SrRNAと25S rRNAの両方が含まれる35S rRNA前駆体に結合するSSUプロセソームは、小サブユニットのアセンブリ専用であると考えられている。このようにプロテオーム解析によって一度に多くの情報が得られるのであるが、一方では個々の蛋白質の機能をていねいに検討する必要があるだろう。私たちは、リボソーム生合成

調節機構を解明し、さらにさまざまな系との連携を解明して細胞増殖制御のメカニズムを明らかにしたいと考えている。リボソーム生合成調節なしでは、細胞増殖制御はありえない。特に酵母細胞は、リボソーム生合成にそのエネルギーの大半を費やしており、それを調節することは細胞にとって最も基本的なことである。リボソーム生合成調節を研究すればするほど、その重要性がわかってくるし、未知の部分がまだまだ残されていることに気づく。世界中でリボソーム研究が盛んになっている今、日本の若い研究者のリボソーム研究への参画を期待している。

プロフィール

1977年京都大学大学院理学研究科博士課程修了、理学博士。福井医科大学教務職員、助手、広島大学原爆放射能医学研究所助手、同工学部助教授を経て、2001年同生物生産学部教授。2002年より現所属(改組)。

水田 啓子

Keiko MIZUTA

〔広島大学大学院
生物圏科学研究科〕

RNA Update

特集：翻訳調節⑬

mTOR (mammalian target of rapamycin), アミノ酸シグナルそして翻訳制御スイッチ

米澤 一仁

(神戸大学バイオシグナル研究センター)

私は、現在 mTOR (mammalian target of rapamycin) シグナル伝達系の研究を行っていますが、この機会をお借りしてこれまでの私の研究の道りについて簡単にご紹介させていただきます。

まず1988年から1990年の間、私はポスドクとしてスタンフォード大学医学部薬理学研究部門の Richard A. Roth 博士のもとでインスリンシグナル伝達研究の指導を受けました。留学中の最大の研究成果は、インスリン刺激後、Phosphoinositide 3-kinase (PI3 キナーゼ) が、抗チロシン酸化抗体で免疫沈降されるフラクションに大量に移行してくることに発見でした。帰国後、神戸大学医学部第2内科学教室の春日雅人教授のもとで、インスリンシグナル伝達における PI3 キナーゼの役割という研究を続けました。大学院生の原賢太君らとともに、PI3 キナーゼ (SH2, SH3 ドメインをもつサブユニット p85 と触媒サブユニット p110 から成る) の p85 サブユニットに着目し、p110 サブ

ユニットに結合しない Δ p85 という dominant negative form を作製し、それにより PI3 キナーゼがインスリンの血糖降下作用の担い手であるグルコーストランスポーターの細胞内から膜への移行において必須の役割を担っていることを示しました。ほぼ同時期に、東京大学薬学部の宇井理生教授のグループにより wortommanin という PI3 キナーゼの特異的阻害剤が発見されました。wortommanin は、興味深い事に、様々なインスリン作用のかなりの部分を阻害することが明らかとなり、私達は、PI3 キナーゼには種々のアイソフォームが存在し、wortommanin はそれらアイソフォームを阻害することにより様々なインスリン作用を阻害するのではないかと、つまり、様々なインスリン作用を種々の PI3 キナーゼのアイソフォームが担っているのではないかと考えるようになりました。そして、1993年の Cell 誌にパーゼル大学の Mike Hall らのグループが、有機化合物ラパマイシンの細胞内ターゲット分子として、出芽酵母の TOR (target of rapamycin) を発表したのです。TOR は約 290 kDa

の巨大な蛋白質で、そのカルボキシル末端側に PI3 キナーゼ様のドメインを持ち、当時は新たな PI3 キナーゼではないかと考えられました。ラパマイシンは、1975 年、抗生物質のスクリーニングの過程で、南太平洋に浮かぶイースター島 (Rapa-Nui) の土壌から得られた細菌 *Streptomyces hygroscopicus* によって産生される有機化合物として発見されました。抗生物質としては日の目をみませんでした。数年後、その免疫抑制作用が着目され、シクロスポリン A、FK506 に続く第 3 の免疫抑制剤としての作用機序の研究が始まりました。当時、ラパマイシンは哺乳細胞においては翻訳制御スイッチ分子と考えられていた p70 S6 キナーゼの活性化を“完全に”阻害する薬物として知られていました。この“完全に”という言葉が後程重要になってきます。p70 S6 キナーゼはリボゾーム 40S サブユニットに存在し、蛋白合成にかかわる S6 蛋白質をリン酸化する酵素であり、その酵素活性はインスリン添加前の“基礎活性”と比べ、インスリンにより数倍上昇し、その活性化には p70 S6 キナーゼ上の複数のリン酸化部位のリン酸化が必要であると考えられていました。ラパマイシン処理は、p70 S6 キナーゼ上のリン酸化部位を脱リン酸化状態に誘導し、かつ、p70 S6 キナーゼの“基礎活性”を“完全に”阻害するのです。

原君たちの努力により、哺乳動物オルソログ mammalian TOR (mTOR) cDNA のクローニングに成功しましたが、その時には、複数の研究室により mTOR のクローニングは報告された後でした。

すなわち、mTOR は細胞環境中のアミノ酸バランスを感知し、翻訳制御スイッチを制御している

私は 1994 年より、米国ボストンにある Massachusetts General Hospital (MGH) に留学する機会を得ました。当病院の糖尿病部門のチーフである、ハーバード大学医学部の Joseph Avruch 教授は、p70 S6 キナーゼの研究の第一人者です。この Avruch 教授のもと、学位取得後に MGH へ留学してきた原君とともに、mTOR シグナル伝達の研究を開始することになったのです。

mTOR は、290 kDa という巨大分子です。当初は、哺乳細胞で mTOR 蛋白質を発現させるのにも一苦労しました。また、PI3 キナーゼ様活性があるか否かの検討にも随分時間を費やしました(結局は、mTOR はセリンスレオニンキナーゼであり、PI3 キナーゼ活性は持っていないということは後に明らかになるのですが)。この間、ラパマイシンで制御されるもう一つの翻訳制御スイッチ分子として、eIF4E 結合蛋白 1 (4E-BP1) が同定されました。4E-BP1 は、リン酸化されない状態で eIF4E と複合体を形成しており、eIF4E が eIF4G などの翻訳開始因子群と複合体を作ることが阻害されています。インスリンなどの制御により、4E-BP1 は複数のリン酸化を受け、eIF4E と解離します。解離した eIF4E は、eIF4G などの翻訳開始因子群と複合体を形成することが可

能となり、5' キャップ構造を持った mRNA の翻訳が誘導されると考えられています。

苦勞の甲斐があって、mTOR が p70 S6 キナーゼや 4E-BP1 といった翻訳制御スイッチ分子の上流に存在し、mTOR から p70 S6 キナーゼ、そして mTOR から 4E-BP1 へのシグナルは parallel に伝達されるというデータを得ることができました。ある日、Avruch 教授が興奮気味に私達のところに一つの文献を持ってきました。それは、1995 年に JBC 誌に掲載された論文で、自食作用 (Autophagy) の活性化と S6 蛋白のリン酸化の相関関係を研究した論文でした。自食作用は、細胞環境中のアミノ酸濃度が低下すると活性化され、上昇すると抑制される現象です。S6 蛋白のリン酸化は、アミノ酸濃度の増減に対して、Autophagy と丁度逆の関係を示していました。私達はこの論文を見た瞬間、細胞環境中のアミノ酸濃度が上昇すると p70 S6 キナーゼは活性化され、低下すると逆に抑制される、そして、この制御に mTOR がかかっているのではないかと直感したのです。

培養細胞においてインスリン刺激を行う前など、血清を除去し、12~24 時間培養する、いわゆる serum starvation は通常よく行う操作ですが、その培養液よりアミノ酸を除去し、細胞を処理することなど考えたこともありませんでした。serum starvation 後、培養液を PBS と置換し、2 時間処理をすると、p70 S6 キナーゼの活性は、ラパマイシンと処理した時と同様、“完全に”失われました。そこへ再びアミノ酸を含んだ細胞培養液を添加すると、p70 S6 キナーゼ活性は、インスリン添加前の“基礎活性”レベルまで上昇し、インスリン添加により、“基礎活性”より数倍上昇したのです。驚いたことに、PBS 処理後、アミノ酸を添加せずにインスリン刺激を行っても、p70 S6 キナーゼ活性は“完全に”失われたままでした。かつ、アミノ酸添加による p70 S6 キナーゼの活性化は、ラパマイシン処理に完全に阻害されました。ここに、図 1 に示すような mTOR シグナル伝達系の最も基幹を成す考え、すなわち、mTOR は細胞環境中のアミノ酸バランス (中でもロイシンの有無が最も重要です) を感知し、翻訳制御スイッチを制御している、かつ、このシグナル伝達系はインスリンなどの growth factor からのシグナル伝達系からのインプットが発現されるためのプライミングシグナルとして必須のインプットであることが明らかとなりました。

1996 年に私は神戸大学バイオシグナル研究センターで研究室を主宰する機会に恵まれました。研究室のメインテーマは mTOR シグナル伝達の分子機構の研究とし、MGH より帰国した原君、そして現在スタッフとして活躍してくれている吉野健一君、徳永千春君らとともに日本での研究

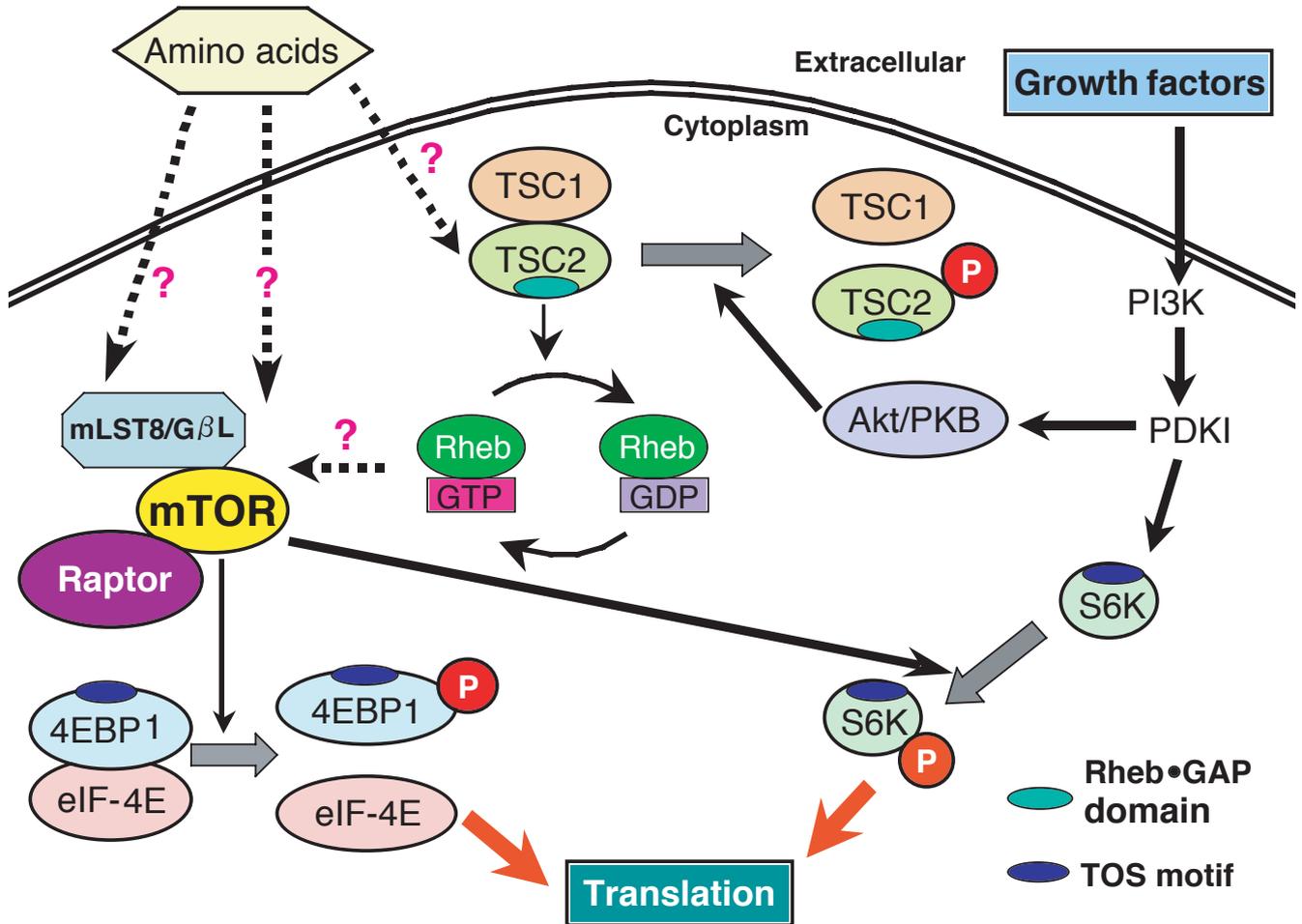


図1の解説

哺乳動物における mTOR シグナル伝達系のモデル。同シグナル伝達系は、細胞環境中のアミノ酸濃度バランスを感知しつつ、図の右側部分に示すような growth factor からのインプットを調整し、下流の翻訳制御スイッチ分子群を制御している。

を開始しました。研究当初は、mTOR あるいは mTOR キナーゼといってもほとんど認知されておらず、学会発表でも大抵はその他のキナーゼの中の1つとしかみなされていないような状況でした。私達は、mTOR に対するモノクローナル抗体の作製を端緒に、mTOR 免疫沈降物中に p70 S6 キナーゼや 4E-BP1 をリン酸化する活性が存在することを示しました。中でもこの mTOR 免疫沈降物の 4E-BP1 リン酸化活性より興味深い知見を得ることができました。つまり、mTOR を免疫沈降した後、沈降物を界面活性剤 1% NP40 を含んだバッファーで洗浄すると、4E-BP1 に対する mTOR のリン酸化活性は消失します。この実験結果より、私達は、mTOR と結合し mTOR の 4E-BP1 に対するリン酸化活性に必須の分子が存在し、その結合が界面活性剤により阻害されると考え、この未知の分子の精製を試みました。

その結果、抗 mTOR 抗体による免疫沈降で特異的に観察される 150kDa のバンドが検出されました。このバンドのゲル内消化を行ない、溶出されたペプチド断片を質量分析法によって解析し、タンパク質同定を行った結果、解析し

たタンパク質は、KIAA1303 の cDNA クローンがコードするタンパク質であると同定されました。しかし、当時、データベースに登録されていた KIAA1303 の配列情報はアミノ末端側の配列を大きく欠いた不完全なものであり、最終的に、5'-RACE 及び質量分析法によって 4008 塩基からなる ORF の全長配列を決定しました。この遺伝子より推定されるアミノ酸配列は、1335 残基であり、この p150 タンパク質 raptor (regulatory associated protein of mTOR) と命名しました。Raptor は種を越えて保存されており、特にアミノ末端側の領域はショウジョウバエ、線虫、酵母 (分裂酵母オルソログは Mip1p であり、これは、1 月号の特集で渡辺嘉典さんが紹介された Mei2p の結合蛋白です)、シロイヌナズナと種を越えても非常によく配列が保存されています。この部分に続き HEAT リピートがあり、さらにカルボキシル末端側にかけては、WD-40 リピートが 7 回繰り返す領域が存在します。WD-40 リピート構造は、多様なシグナル伝達分子と相互作用するための足場を形成する構造であると考えられています。私達は、raptor は mTOR に結合するとともに翻訳制御スイッチ分子である p70 S6 キナーゼや 4E-

BP1とも結合することを明らかにし、raptorの機能はmTORが基質分子である翻訳制御スイッチ分子のリン酸化反応を行う場を与える scaffold 分子であるという考えに至りました。この研究結果は、2002年7月のCell誌に掲載されました。最近の私達の研究結果は、raptorの翻訳制御スイッチ分子への結合部位は、これら分子上に存在する5アミノ酸からなるTOR signaling (TOS)モチーフであることを示し、raptorがmTORシグナル伝達においてscaffold分子として働いていることが裏付けられました。

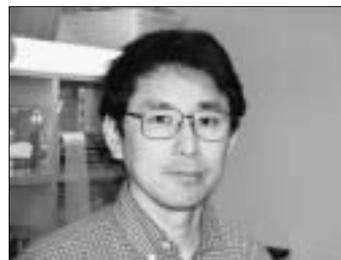
Raptorの発見以後、mTORシグナルの研究分野はにわかには賑やかになってきた観があります。1つには、以下に述べるように、ラパマイシンあるいはその誘導体の臨床応用が米国を中心に進んでいること、もう1つは、ヒトの遺伝病である結節硬化症 (Tuberous sclerosis: TSC) の原因遺伝子TSC1、TSC2の遺伝子産物複合体 (TSC1-TSC2複合体) がmTORシグナル伝達系に抑制的に働いている、かつこの抑制の解除はgrowth factorの下流のPI3キナーゼによって活性化されるAkt/PKBによるTSC2のリン酸化であるという報告が昨年発表されたことにあると思います。また、つい最近、TSC2に存在するGAP domainの標的分子として、低分子量GTP結合蛋白質のRheb (Ras homolog enriched in brain) が同定されました。TSC1-TSC2複合体の働きが阻害されるとRhebは活性型のGTP結合型となり、これがmTORシグナル伝達系を活性化に導き、p70 S6キナーゼや4E-BP1の翻訳制御スイッチ分子群のリン酸化、活性化を亢進すると報告されました (図1を参照)。

一方、mTORシグナル伝達系は、細胞成長 (細胞サイズ) 制御という観点からも注目されつつあります。細胞増殖には「細胞分裂 (細胞数の増加)」と「細胞成長 (細胞サイズの増大)」という2つの現象が混在していますが、これまで両者は明確に区別されることなく、「細胞増殖」は主として「細胞分裂」を表現する用語として用いられてきました。しかし、現在では「細胞成長」は多細胞生物において器官や個体の大きさを決定し、またその均衡を維持するための重要なプロセスであり、「細胞分裂」とは異なる制御を受け

ていると考えられています。特に、モデル生物やRNAiを用いた実験結果は、mTORシグナル伝達が「細胞成長」をコントロールすることを示唆しています。

加えて、臨床応用の場面でもmTORシグナル伝達系の応用が行われつつあります。ラパマイシンあるいはその誘導体が、免疫抑制剤、抗癌剤、そして冠動脈の再狭窄予防薬として臨床治験が進められています。これらの臨床応用はmTORシグナル伝達系の阻害という観点からのものですが、このシグナル伝達系を活性化するという観点からのアプローチもあります。ロイシン、バリン、イソロイシンといった分岐鎖アミノ酸製剤が肝硬変患者の血中アルブミンを上昇させる目的で使われています。これは、分岐鎖アミノ酸製剤、特にロイシンによるmTORシグナル活性化が一つの分子機構であると考えられています。

このように、私が約10年前に出会ったmTORシグナル伝達系は、基礎生物学、基礎医学での研究そして臨床医学への応用も視野に入れ、その研究の裾野が広がりつつあります。mTORシグナルの重要なアウトプットである翻訳制御スイッチの分子機構との関連がさらに明らかにできるよう、この特定研究の期間内、日々努力していきたいと考えています。



プロフィール

1981年 神戸大学医学部医学科卒業、同第2内科学教室に入局。1987年 神戸大学大学院医学研究科博士課程修了、医学博士。米国スタンフォード大学医学部、マサチューセッツ総合病院等への留学を経て、1996年より神戸大学バイオシグナル研究センター教授。

米澤 一仁

Kazuyoshi YONEZAWA

〔神戸大学
バイオシグナル研究センター〕

アンチザイム翻訳調節のバイオロジーとメカニズム

松藤 千 弥 (東京慈恵会医科大学)

オルニチン脱炭酸酵素 (ODC) という酵素の話からはじめよう。ポリアミン (プトレッシン, スペルミジン, スペルミンの総称) の生合成の初発段階を触媒する律速酵素であり, 細胞内酵素として最も半減期が短い (数 10 分程度) ことで有名である。ODC は代謝酵素でありながら c-fos, c-myc などの immediate early gene と同様に増殖刺激によって急激な一過性の活性上昇をきたす。誘導カーブが鋭いピークを作るのは, 自身の反応生成物ポリアミンによって ODC が強く抑制されるためである。図 1 に示すように, 哺乳動物培養細胞で ODC を誘導し, そこにポリアミンを加えると, 短時間の lag time の後 ODC 活性が急激に減少する。その際の半減期は, タンパク合成阻害剤であるシクロヘキシミドを添加して測定した細胞内半減期よりも短い。ところが RNA 合成阻害剤であるアクチノマイシン D を添加した場合には ODC 活性の加速度的な減少はブロックされない。この実験結果は, ポリアミンによる ODC の抑制には新たに合成されるタンパク質が必要であり, そのタン

パク質の合成は翻訳段階 (転写後段階) で調節されていると考えれば説明がつく。この手法は, ある生物学的現象に翻訳調節が関与するかどうかを調べるための定番といえる。翻訳調節を受けるそのタンパク質とは何なのだろうか。

アンチザイムはポリアミンによって誘導される ODC の阻害タンパク質として米国の Canellakis 博士によって 1976 年に発見された。筆者の恩師である林伸一博士, 村上安子博士らは, アンチザイムがポリアミンによる ODC 分解促進を引き起こす仲介分子であろうとの仮説をたてた。この仮説はさまざまな状況証拠によって支持されたが, 最終的にはアンチザイムの分子クローニングによって検証された。筆者らがクローニングしたアンチザイムの部分長 cDNA を, デキサメサゾンで誘導できる MMTV-LTR プロモーターに連結してトランスフェクションした細胞では, デキサメサゾン添加によってアンチザイムが誘導され, ポリアミン添加時と同じような ODC 活性の加速度的減少が再現された (図 2)。さらに村上らは ODC 抑制のメカニズム

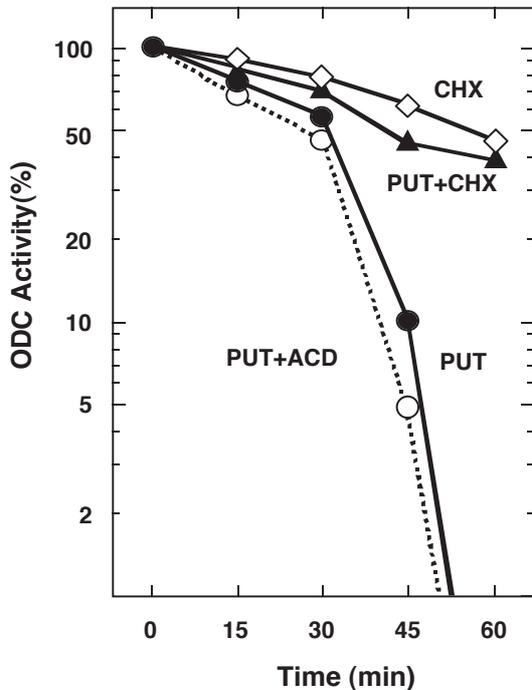


図 1 初代培養肝細胞におけるポリアミンによる ODC 抑制
Utsunomiya et al, Jikeikai Med J32:575-585, 1985 より改変。
PUT, プトレッシン; CHX, シクロヘキシミド; ACD, アクチノマイシン D

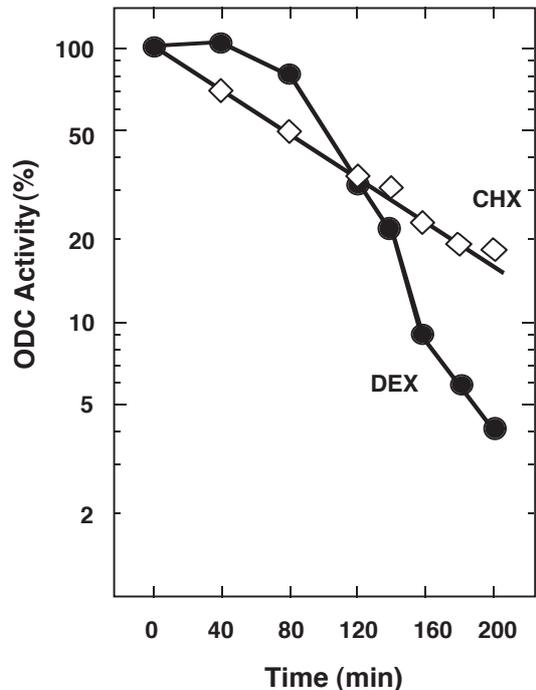


図 2 アンチザイムの人工発現による ODC 抑制
Murakami et al, J Biol Chem 267:13138-13141, 1992 より改変。
DEX, デキサメサゾン; CHX, シクロヘキシミド

ムを解析し、アンチザイムが結合することにより ODC が 26S プロテアソームの基質になることを明らかにした。26S プロテアソームは細胞内の主要 ATP 依存性タンパク質分解系であり、通常はポリユビキチン化されたタンパク質が基質となる。ODC はユビキチン化されることなく分解されるので、アンチザイムがユビキチンの代わりに分解の目印となっているわけである。

さて、アンチザイムの発現調節に話を戻そう。クローニングしたアンチザイムの cDNA をプローブとしてノザンブロットを行うと、ラットの様々な組織にアンチザイム mRNA が大量に存在し、それらは安定で、ポリアミンを加えても増加しないことがわかった。すなわち、アンチザイムが翻訳調節を受けていることが確かめられた。いったいどんな機序で翻訳調節が行われているのだろう。その当時、鉄応答エレメント (IRE) とそこに結合する鉄応答タンパク質 (IRP) によるフェリチンの翻訳調節の仕組みが明らかにされたばかりだった。それをモデルに、ポリアミン応答エレメントがあるに違いないと考え、アンチザイムの全長 cDNA のクローニングに取り組んだ。その結果見つかったのは、全く予想しなかった翻訳フレームシフトによる発現制御機構だった。

図 3 に示すように、アンチザイム mRNA の開始コドン

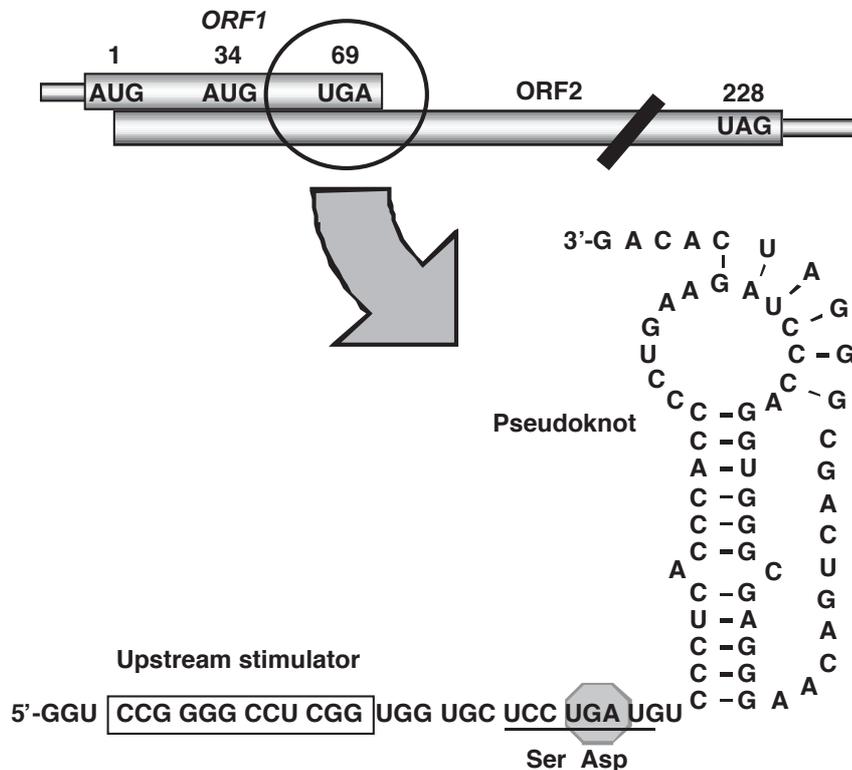


図 3 アンチザイム mRNA (上) とフレームシフト信号 (下)

に引き続くオープンリーディングフレーム (ORF1) は 68 コドンの長さしかない。その +1 翻訳フレームには、200 残基以上のタンパク質をコードできる領域 (ORF2) があり、上記の活性のある発現産物はそこにコードされていた。そこでまず、このように翻訳フレームが連続しない mRNA から全長の産物が合成されることをウサギ網状赤血球溶血液を用いた *in vitro* 翻訳系で確認した。この翻訳系にポリ

アミンを加えると合成量が著しく増加した。すなわちポリアミンによる翻訳調節が *in vitro* でも再現されたのである。次いで、一度に 1 つずつ放射性アミノ酸を加えて翻訳を行い、産物をエドマン分解してアミノ酸配列を調べてみた。すると ORF1 の最後のコドンが解読された後に、UGA 終結コドンではなく 1 塩基ずれた GAU コドンが解読される +1 フレームシフトが起こっていることが明らかになった。すなわち UCC UGA U の 7 塩基がセリン-アスパラギン酸に解読される。シフト部位の終結コドンをアミノ酸

指定コドンに変異させるとフレームシフトはほとんど起こらない。しかしこの UCC UGA U という配列は珍しいものではなく、いくつものタンパク質コード領域の末端に存在している。通常は翻訳フレームが厳格に維持されていることを考えると、フレームシフトの信号は、このシフト部位の配列だけではないはずである。シフト部位周辺を探すと、すぐ 3' 側に立派なシュドノット構造 (RNA Network

Newsletter, 1 (1):45, 2002 参照) が見つかり、変異解析により実際にフレームシフトの促進配列であることが確かめられた。シュドノットはレトロウイルスなどの -1 翻訳フレームシフトの信号配列になっていることも多い。しかし +1 の翻訳フレームシフトに伴うものは初めてである。さらに変異欠失解析によってフレームシフト部位の 5' 側を調べると、フレームシフト部位の 3 ~ 3 コドン上流にも促進活性を示す領域が同定できた。ここは GC に富むパ lindローム様配列であるが、変異解析の結果から高次構造をとってはたらいっているとは考えにくく、むしろバクテリアの翻訳フレームシフトで知られている上流促進配列のように翻訳伸長中のリボソームとの相互作用により機能している可能性がある。しかしフレームシフトが起きる分子機構や、ポリアミンによる促進機構はまだ全くといっていいほどわかっていない。リボソームの構造生物学の進展を参考にしつつ、遺

伝学的、生化学的にこの問題を解決したいと願っている。

ところで、翻訳フレームシフトは翻訳の動的調節機序としてひろく使われているわけではない。レトロウイルスの Gag-Pol 融合タンパク質翻訳のためのフレームシフトのように、シフトの効率が固定されていて、一つの mRNA から複数の（この場合には Gag と Gag-Pol）翻訳産物を作り出すための機構として用いられることが断然多い。動的調節の機構となっているのは、アンチザイムの他にはバクテリアの翻訳終結因子 RF2 のケースくらいしか思い浮かばない。それではアンチザイムの動的翻訳調節にポリアミンによって促進される翻訳フレームシフトが用いられているのはなぜだろうか。ポリアミンは分子内に塩基性のアミノ基の繰り返し構造を持ち、細胞内に多い酸性物質（特に核酸）に結合して存在する。この結合により電荷を中和し、核酸の構造を安定化したり、適正な機能を発揮させたりするのが、ポリアミンの主要な役割だと考えられている。核酸が増加する細胞増殖時にはポリアミンがさかんに合成される。しかし結合部位からポリアミンがあふれ出すと、今度は陽性の電荷が過剰となり、細胞障害が起きる。アンチザイムの翻訳フレームシフトは、結合部位からあふれ出し

たポリアミンを検知し、細胞内のポリアミン増加にフィードバックをかける機構と考えられる。その検出装置として、おそらく核酸、それも RNA を結合部位とする翻訳フレームシフトの調節機構がはたしているのだろう。それにしても、常に大量のアンチザイム mRNA を用意し、ORF1 に相当する 68 アミノ酸のペプチドを無為に合成し続けているとしたら、何と無駄の多い機構であろうか。この無駄に見合うアンチザイムの生物学的重要性とは何か、実はこれも未解明の問題なのである。



プロフィール

1983年東京慈恵会医科大学卒業、1989年同大学院博士課程修了（医学博士）、同栄養学教室助手。途中米国ユタ大学への留学をへて、2001年より生化学講座第2教授。

松藤 千弥

Senya MATSUFUJI
(東京慈恵会医科大学)

RNA Update

特集：モデル生物①

RNA 研究モデル生物としてのプラナリアの魅力

榎川 真樹

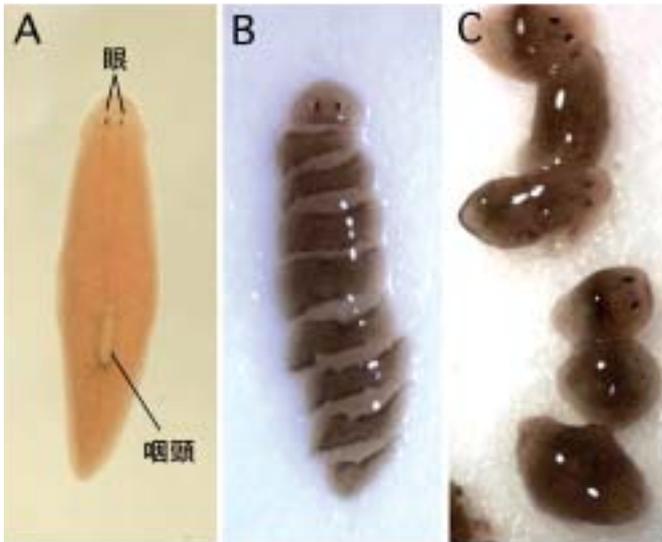
理化学研究所

発生・再生科学総合研究センター(CDB)

進化再生研究グループ(阿形研究室) 研究員

プラナリアもここ最近かなり知名度が上がったように感じます。阿形教授のご尽力のおかげで、テレビなどでも取り上げられ、一般の方にも、「世の中にはこんなにおもしろい生き物があるんだ」と認識して頂けるまでになりました。ですが、まだまだご存じない方もいらっしゃるかと思いますので、簡単にご紹介させていただきます。プラナリアというのは、生物学的にいうと、扁形動物門、渦虫綱に属する動物群の総称で、特に再生能力が高い淡水生の三岐腸類を指します。われわれが材料としているのは、ナミウズムシ (*Dugesia japonica*) という、日本列島全域に分布している種です。体の表面が繊毛で被われており、この繊毛を使って水中を泳ぐと水面にうずが起るので、「渦虫 (ウズム

シ)」という名前が付けました。きれいな川の石や枯れ葉などの裏に棲息しているので、ちょっとその気になれば野外で採集可能です (あいにく、私はその気にならないので、野生のプラナリアは発見したことはありませんが)。研究室では、オートクレーブした水道水を飼育水として使用しています。体色は茶褐色、体長は数mmからせいぜい1~2cmなので、肉眼ではただのくねくねしたムシみたいにはか見えないのが残念ですが、実体顕微鏡下では、三角形の頭に一對あるつぶらな黒目が印象的です (図 A)。こんなに可愛い顔をしているにも関わらず、かなり凶暴な肉食で、自然界では水生昆虫などを食べているようです。あまりにも飢餓状態に追い込むと、共食いを始めかねないので、定期的



A. プラナリアの全体像。頭部には一対の眼が、中央部には咽頭が存在する。
 B. 切り刻まれたプラナリア。
 C. 切断から1週間後。それぞれの断片が1匹のプラナリアになる。

に鶏のレバー片をエサとして与えています。エサを投入すると、恐ろしい光景になります。レバー片にプラナリアたちが体ごとへばりつき、体の中央部から咽頭（図A）とよばれる口と肛門の両方の機能を担う器官を体の外側に出し、まるでストローのようにして吸い付きます。血管系がない代わりに、腸管が全身くまなく分布し、栄養が直接体内に運ばれます。腸と表皮の間は間充織とよばれ、筋肉細胞をはじめ多くの種類の細胞が存在しています。プラナリアは単純な左右相称の体のつくりをしています。頭部には複雑に組織化された脳をもち、そこから一対の腹側神経索が走っています。プラナリアは、脳（集中神経系）を獲得し、三胚葉が分化した原始的な動物であることから、再生研究だけでなく、系統発生的にも非常に注目を浴びています。

しかし、なんといってもプラナリアの最大の魅力は、その再生能力の高さでしょう。プラナリアをナイフで切断すると、それぞれの断片から、1～2週間で完全な個体が再生します（図B, C）。頭部を含まない断片からでも、脳をもった個体をきちんと作り出すことができます。ですから、気がつくと個体数がどんどん増えています。切らずに放っておいても、ある程度の大きさになると、咽頭の前あるいは後ろで自切（fission）し、勝手に増殖しています。ちなみに、現在私達の研究室で使用しているプラナリアたちは、渡辺憲二先生（姫路工業大学理学部教授）が野外から採取した多くのプラナリアの中で、実験室での飼育環境に適応した1匹のプラナリアがどんどん増殖を繰り返し、増えたものです。つまり、すべてのプラナリアは元の1匹のクローンというわけなので、遺伝子型が同じです。この系統は、採集地の岐阜県（Gifu）入間川（Iruma）の頭文字をとって、GI系統と呼ばれ、今や世界中で実験に用いられています。

非常に驚いたことに、通常はこのように無性生殖的に増殖していても、とりまく環境の変化（特に低温）に応じて有性化し、これまで体の中に存在しなかった生殖細胞（卵や精子）を作りだせる系統も存在するようになります。プラナリアは雌雄同体で、1個体の中に卵巣も精巣も持ちますが、自家受精はしません。交接器により2個体間で交尾を行い、受精卵により次世代の子孫を作ります。ナミウズムシの受精卵は、複数個が栄養を供給する卵黄細胞とともに、コクーンと呼ばれる硬い殻の中に入った状態で産卵されます。殻を破って取り出してしまうと、胚が死んでしまうため、この種での初期発生（卵割期）の研究は困難を極めています。

このように、プラナリアの再生能力が高かったり、環境に応じて有性化できたりするのは、個体を構成するすべての細胞種（生殖細胞も含む）を作り出すことができる細胞が体全体に分布しているからであると言われています。この細胞は未分化な全能性幹細胞と考えられており、新生細胞（neoblast）とよばれています。新生細胞は、プラナリア個体の中で唯一分裂能をもち、恒常的に分裂し、細胞を更新していると考えられています。新生細胞がどのような種類の細胞に分化するかは、周囲の体細胞が作り出す環境によって決定されることが、多くの実験結果からわかってきました。新生細胞がどのようにして、未分化状態を維持し、なおかつ、周りの細胞からのシグナルに応答してさまざまな細胞種に分化できるのか？このことを理解することがプラナリア再生研究の大きな命題です。プラナリア個体内では、新生細胞は小型で、核の占める割合が大きい細胞として間充織に存在します。細胞質中にはミトコンドリア以外の細胞内小器官は見られず、電子密度が高く、膜に包まれない構造物が電子顕微鏡下で観察されます。この構造物はクロマトイド小体とよばれ、RNAを含むことが組織化学的に示されています。未分化な新生細胞中で、核から核膜孔を通過して細胞質に放出された物質（おそらくmRNAを含む）がクロマトイド小体になるという非常に美しい電子顕微鏡像を金沢医科大学の堀功先生がお撮りになられています（*J. Electron Microsc.* 31:63, 1982）。クロマトイド小体は、未分化な新生細胞にのみ特徴的で、新生細胞が分化過程へと移行すると、大きさや数が次第に減少し、完全に分化した細胞内では観察されなくなります。このことから、クロマトイド小体は、核内で転写されたmRNAを細胞質へと移送し、分化過程での転写後制御を行う複合体であることが推測されます。これまで、新生細胞というのは、まったくの未分化な状態（細胞分化マーカーを発現していない）であると考えられてきました。しかし、一部の新生細胞は分化に必要な遺伝子をあらかじめ転写し、mRNAをクロマトイド小体に蓄え、翻訳を停止した状態で、体細胞からのシグナルを待っているのかもしれませんが、そちらの方が、環境の変化によりスピーディーに対応できるのではないで

しょうか。このことを示唆することとして、クロマトイド小体の構成分子のひとつとして私が同定した RNA 結合タンパク質は、多くの生物において、他のタンパク質とともに複合体を形成し、mRNA の翻訳のマスクングに関わることが報告されている family に属します。このことを手がかりとして、新生細胞の未分化状態の維持や、細胞分化に、クロマトイド小体上での mRNA レベルでの制御が重要であることを示すことができると期待しています。しかも、ひとつの細胞の中での mRNA 制御機構の動態が、クロマトイド小体の構造の変化として、目に見える形で捕らえられることもできるかもしれません。ただし、新生細胞の分化過程におけるクロマトイド小体の形態的变化は、断片的に得られた形態学的特徴をつなぎ合わせた情報に過ぎません。新生細胞を単離し、培養条件下で分化誘導する系の確立が待たれるところです。当研究室では新生細胞を多く含むと思われる細胞分画をセルソーターで分取するところまではこぎ着けましたが、これらの細胞を細胞分裂、または分化誘導を行えるような培養条件はまだ検討中です。また、クロマトイド小体上で制御されている mRNA は一体どういったものなのか？ということも、新生細胞でのみ発現している遺伝子の網羅的な解析が進行中ですので、いずれ解明に近づけると思います。

現在、我々の研究室では、国立遺伝学研究所の五条堀先生の研究室との共同研究によりプラナリア頭部での EST プロジェクトが展開されています。プラナリアにおいても RNAi 法が有効であることが、1999 年にアメリカのユタ大

一部の新生細胞は分化に必要な遺伝子をあらかじめ転写し、mRNA をクロマトイド小体に蓄え、翻訳を停止した状態で、体細胞からのシグナルを待っているのかもしれませんが、そちらの方が、環境の変化によりスピーディーに対応できるのではないのでしょうか

学 Sánchez のグループにより報告され、この方法により、ある遺伝子の機能が阻害されたときの表現型をみるのが可能になっています。ただ、残念ながら、われわれの研究室では、新生細胞で発現している遺伝子に関しては、現在までにその表現型が得られていません。というよりも、何が変わっているか、検出する手段を持っていないと言った方が、正確かもしれません。dsRNA の作用機構についても依然として理解されていない状態です。遺伝子導入にも着手していますが、まだまだ検討せねばならないことが多い段階です。

モデル生物といえば、生活環が短い、容易に飼育できる、実験手法が確立されている、全ゲノム配列が決定されている、遺伝子操作ができる、などの理由により、さまざまな分野の研究に用いられている生物のことです。私は学生時代には、その中でも代表格ともいえるショウジョウバエを研究材料としていました。私の経歴を話すと、多くの方が「どうして？」と目を丸くされるので、プラナリアがまだまだモデル生物として認識されていないことは、常日頃からしみじみ感じていました。実際、自分でも「ショウジョウバエだったら、こういう手法が使えるのに」と苛立ちを感じる時がなかったと言い切れません。ただ、プラナリアがわけの分からない不思議な生き物なのではなく、その真のおもしろさを解明できる余地がまだまだあるからこそ、おもしろいと感じています。プラナリア再生研究の第一人者であったトーマス・ハント・モーガンは、当時プラナリアのエサとして使っていたショウジョウバエに乗り換え、ショウジョウバエ遺伝学の開祖として、大成功を修めています。プラナリアのおもしろさを自分たちの手で解明できるチャンスを残しておいてくれた彼に、感謝したいと思います。

バエを研究材料としていました。私の経歴を話すと、多くの方が「どうして？」と目を丸くされるので、プラナリアがまだまだモデル生物として認識されていないことは、常日頃からしみじみ感じていました。実際、自分でも「ショウジョウバエだったら、こういう手法が使えるのに」と苛立ちを感じる時がなかったと言い切れません。ただ、プラナリアがわけの分からない不思議な生き物なのではなく、その真のおもしろさを解明できる余地がまだまだあるからこそ、おもしろいと感じています。プラナリア再生研究の第一人者であったトーマス・ハント・モーガンは、当時プラナリアのエサとして使っていたショウジョウバエに乗り換え、ショウジョウバエ遺伝学の開祖として、大成功を修めています。プラナリアのおもしろさを自分たちの手で解明できるチャンスを残しておいてくれた彼に、感謝したいと思います。



第一回 CDB ソフトボール大会で我が研究室が優勝したときの写真です。前から 2 列目、左から 4 番目が筆者（白いジャケット）で、同列右端が阿形清和教授（キャップをかぶった紳士）です。

プロフィール

2001 年 3 月筑波大学大学院生物科学研究科博士課程修了、理学博士。
2001 年 4 月より、現所属。

榎川 真樹

Maki KASHIKAWA

理化学研究所
発生・再生科学総合
研究センター (CDB)
進化再生研究グループ
(阿形研究室) 研究員

単核の巨大細胞 緑藻カサノリにおける “Morphogene”

峯 一 朗 (高知大学理学部自然環境科学科)

抽出物で実験をした経験がない者の文章なので多少場違いの感は否めないが、かつての(?)モデル生物に筆者が現在抱く興味を読者にお伝えできれば嬉しい限りである。

mRNA の細胞内局在化

1990年以降、核で転写された mRNA が細胞質の特定の部位に運搬されて局在化する現象が、動植物や菌類などさまざまな生物で明らかになってきた。その多くの例ではアクチン繊維や微小管といった細胞骨格が mRNA 運搬の経路としての「錨」のような役割を担うことが示されている。ある遺伝子の mRNA が局在する部位は、その遺伝子が発現しその産物が機能する部位とも密接に関係する(はずである)ことから、mRNA の細胞内運搬/局在化の仕組みは遺伝子発現調節の重要な一段階であると考えられることができる。

細胞のサイズが大きい場合、mRNA が運ばれる道のりも当然長くなり、「局在化」する部位を細胞質の他の部分と区別することが容易になるので、いわゆる「巨大細胞」は mRNA の運搬/局在化の解析と細胞の機能や形態形成との関連を研究する上で有利な材料といえることができる。神経細胞や卵細胞といった比較的大きな(あるいは長い)細胞を用いた研究例が多いこともこのような理由によるものであろう。

巨大細胞とは

「世界で一番大きな細胞は？」…教科書的には「ダチョウの卵」になるだろうか。鳥類の卵は直径数cmの球形となり容積では他をしのぐ大きさではあるが、長さだけを考えれば1m以上に達する神経細胞はそれよりも10倍以上大きいことになる。いずれにしても動物細胞で知られている巨大細胞は、卵のような生殖細胞や神経細胞のように特殊に

分化した組織の細胞に限られている。それに対して細胞壁のように丈夫な細胞外被を有し、細胞の容積を液胞により増大させることができる植物では、体の大部分を構成する、つまり普通の細胞のサイズが動物に比べて大きくなることは良く知られている。特に、5界説*以降の「植物」には入らないが、真正粘菌の変形体や、陸上植物と同様に細胞壁や液胞を有する藻類には、大きさが数ミリから数センチに達する巨大細胞から成る生物が数多く知られている。

いわゆる「巨大細胞」は mRNA の運搬/局在化の解析と細胞の機能や形態形成との関連を研究する上で有利な材料といえることができる

沖縄名産「海ブドウ」で知られるイワヅタ *Caulerpa* の仲間では長さ数十cmの直立する藻体が海底をほふくする枝でつながっているが、それら全ての部分に細胞の仕切りがなく、長いものでは数mにわたる巨大細胞となる場合がある。また、海産生物の細胞液組成の例として教科書にも取り上げられるバロニア *Valonia* の細胞は大きさ3-4cmの球形細胞に成長するものもあり、容積でも鳥類の卵にも匹敵する巨大細胞である。これら巨大細胞性藻類の多くは多核であり、同じ大きさの多細胞生物と同じく

らの数の核が仕切りのない巨大な細胞質に共存している。細胞質を共有している多くの核が、お互いの遺伝子発現や分裂増殖をどのように制御してひとつの個体(=細胞)としての機能を維持し形態を形成するのか、これも複雑だが興味深い研究テーマである。

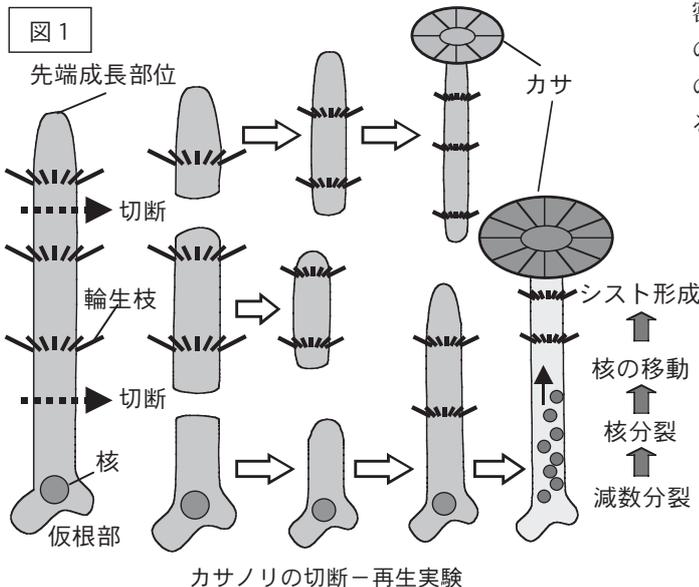
単核巨大細胞カサノリ

熱帯・亜熱帯のサンゴ礁域など暖かい海域に生育するカサノリ *Acetabularia* の胞子体(2nの世代)は、仮根で岩などに付着し長さ数~10cm以上に達する茎を伸長させ、その先端部にこん棒状の突出を多数形成する緑藻である。種類によっては先端の細胞突出が一平面に並び、横で接着し番傘のような形になることが和名の由来となっている。生殖細胞であるシストがカサの部分に形成される前の栄養成長期では仮根から茎、カサまで細胞の仕切りがない単細胞の状態だが、他の巨大細胞性藻類と異なり核が一つだけ仮根

部にある単核の巨大細胞である。カサの形態が異なる種類の間で茎の部分と仮根の部分を取り替えて接いで育てると、カサの形態は核を含む仮根部の種類を反映することは「接ぎ木実験」としてよく知られている。さらに、1本の藻体を、(a) 核を含む仮根部、(b) 茎の仮根側断片、(c) 茎の先端側断片、の3つの部分に切り分けて培養すると、(a) は完全に藻体を再生させ減数分裂、シスト形成を経て次世代に交代することができるが、(b) では茎の伸長成長さえ起こらない。それに対して、(c) は核がないにもかかわらずカサ形成までの栄養成長過程を続けることができる(図1)。これらの観察から、カサノリの栄養成長を司る因子が仮根部の核から茎の先端成長部位に運ばれてそこに局在すると考えられるようになった。mRNA の概念が知られるはるか以前の1930年ごろ、この実体不明の因子は単に形態形成因子(Morphogenetic substance, Morphogene) と呼ばれるにとどまっていた。

長寿命 mRNA の存在

1950年代のセントラル・ドグマ提唱以降、カサノリのMorphogeneに関する研究が進み、先端成長部位にRNAが局在すること、核から細胞質に供給されるpoly(A)⁺ RNAが細胞の伸長とともに細胞内に蓄積すること、核を切除した茎ではpoly(A)⁺ RNAの寿命が延びること、仮根や茎の切断実験における細胞の再生・伸長とタンパク質合成活性の局在が時間的・空間的に一致すること、といった実験結果が得られた。このことに基づいてカサノリ胞子体の先端成長部位に局在する形態形成因子が、核で転写されたmRNAが先端成長部位へ移動したものであると推測された。上述のようにmRNAが細胞内の特定の部位に運搬され局在化することは多くの生物で明らかになっているが、その中でもカサノリ胞子体は最大の細胞である。この巨大細胞の広大な細胞質におけるmRNAの動態はその移動距離が大きい

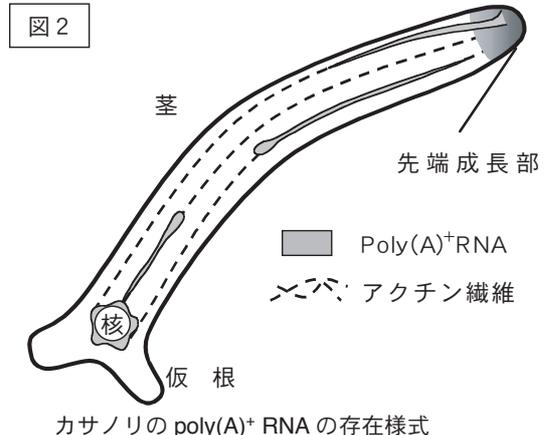


ことだけではなく、先端成長や輪生枝形成といった局所的な形態形成に関与する因子としてその「場」に局在する、という点で興味深い。

poly(A)⁺ RNA のすじ

筆者らは、カサノリ胞子体の栄養成長を司る遺伝子を含むと考えられるこのmRNA集団の細胞内局在を形態学的に調べるために、標識オリゴ(dT)をプローブとした蛍光 *in situ* hybridization 法を用いてカサノリ栄養細胞におけるpoly(A)⁺ RNAの分布を組織化学的に観察した。予想通り、poly(A)⁺ RNAの顕著なシグナルが転写の場である核の周辺や形態形成因子の局在する先端成長部位に見られた。それに加えて、仮根部の核と先端部を結ぶ茎部の細胞質には細胞の長軸方向に配列するすじ状のpoly(A)⁺ RNAが多数観察された。このpoly(A)⁺ RNAのすじ(以下すじと省略)の多くは一端に幅の広い「頭部」があり反対側に細長い「尾部」が伸びるという形態的な極性が認められたが、その方向は先端、基部方向どちらにも同じ頻度で観察された。すじの長さは長いもので1.5mmを越えるものもあり、また、細胞質におけるすじの密度は細胞が成長するに従って増加していた。

カサノリ胞子体の茎部は、細胞容積の大部分が中心液胞により占められていて、細胞質は饅頭の皮のように細胞縁辺部の薄い層として存在している。核の減数分裂が始まり生殖成長期に移行するまで胞子体の細胞質には微小管が見られないが、アクチン繊維は薄い細胞質の中を細胞の先端から基部まで長軸方向に平行に伸びる多数の束として観察される。茎部のすじはこのアクチン繊維束に沿って存在しており、cytochalasinでアクチン繊維を破壊すると細胞質のpoly(A)⁺ RNAはすじ状の形態から不規則なパッチ状の分布を示すようになる。他の生物に見られるような細胞骨格と密接に関連したmRNAの運搬の例から類推して、カサノリのすじはアクチン繊維束の線路を上下方向に走る貨物列車のように、核と先端成長部位との間でmRNAを運搬しているその姿を示すものではないかと筆者は考えている(図2)。



これからの課題

現在のところ既知遺伝子の塩基配列を用いたプローブではこのすじを検出することがまだできていないが、先端成長部位やすじに含まれる poly(A)⁺ RNA 集団の遺伝子構成を明らかにすることはカサノリの栄養成長の機構を明らかにする上でそれなりに意義があるだろう。しかし先端成長のような一般的現象のメカニズム解明は「現代のモデル生物」に任せておくことも可能である。それよりも、例えば長さ 1 mm 以上に達する大きな構造であるすじが実際にはどのような細胞構造なのか？ また、すじの極性が上下両方に向いているのは何故か？ という点に形態学的な見地からみたカサノリのすじ独自の謎があると考えている。

細胞構造に関して言えば 20 年以上も前に発見されたカサノリ独特の原形質流動体 Headed Streaming Band (幅広の頭部をもつ無色で不定形の帯) がすじの実体であるという状況証拠が集まりつつある。生きている細胞でしか観察できない HSB が、これまで化学固定試料でしか検出できなかったすじであることを示すために、生細胞で mRNA の形態を観察する方法を検討中である。また、仮根部を切除し核を失った茎部の細胞質において HSB もすじも両方とも無傷の細胞と同様に観察されることから、すじの役割には mRNA を核から先端へ一方向に輸送すること以外のことも考えられる。今後も形態学に基づいた手法でこれらの問題

に取り組んで行きたい。

* 「5 界説」: 生物界を、動物界、植物界、菌界、原生生物界、モネラ界 (原核生物) に分ける考え方。研究者によっては、藻類や真正粘菌を原生生物界に含めている。5 界説に関する解説は次のサイトに見つけることができます。
<http://www.biol.tsukuba.ac.jp/~inouye/ino/etc/5kingdoms.html>



プロフィール

1993 年 北海道大学大学院理学研究科博士課程修了、博士 (理学)。北海道大学理学部附属海藻研究施設 (現北方生物圏フィールド科学センター室蘭臨海実験所) 研究生を経て高知大学理学部助手、講師、現在に至る。1998 年 文部省在外研究員としてドイツボン大学植物学研究所 Diedrik Menzel 教授のもとでカサノリの研究を始める。

峯 一 朗

Ichiro MINE

〔高知大学理学部〕
〔自然環境科学科〕

RNA Update

特集：行動，社会性，RNA ①

動物行動とラクトースオペロンの類似性

— 抑制された遺伝的プログラムとその抑制解除 —

桂 勳

(国立遺伝学研究所・構造遺伝学研究センター)

1. 動物行動とラクトースオペロンの類似性

去年の秋に一般向けの講演をすることになり、「分子生物学の方法で動物行動の研究をする」ということを、どうしたら簡単に説明できるかを考えた。最初に描いた図式は、図の(2)である。常識をまとめたつもりだったが、見直すと物足りない。主な理由は、これが方法指向的で、問題指向的でないからである。そこで考え直して、「動物行動とは何か」という問題を中心に描いたのが、図(1a)である。この

図は、ティンバーゲンのような動物行動学者が到達した結論をまとめたもので、以下のように言い換えることもできる。

- (1)もともと動物は、さまざまな行動のプログラムを、遺伝情報として持っている。
- (2)しかし、そのプログラムは、それらの行動を呼び起こす環境信号 (レリーサー) がない時は、隠れた状態にある。
- (3)環境にレリーサーが現れると、動物はそれを感知して、

プログラムにしたがった行動が現れる。

この図を描いてすぐに、分子生物学で古典になっている大腸菌のラクトースオペロンと同じパターンだと気がついた。大腸菌培養液にラクトースを入れると、菌がラクトース分解酵素（ β -ガラクトシダーゼ）を生産するようになる。フランスの分子生物学者モノーは、変異体の分離と解析という方法を使って、この機構を解明した。その結論は、以下のように要約できる（図(1b)参照）。

- (1)もともと大腸菌は、 β -ガラクトシダーゼを生産するプログラムを、遺伝情報として持っている。
- (2)しかし、そのプログラムは、ラクトースの非存在下では、隠れた状態にある。
- (3)環境にラクトースが現れると、大腸菌はそれを感知し、 β -ガラクトシダーゼ生産の遺伝子発現プログラムが働くようになる。

動物行動や酵素誘導が遺伝子により決まること自体が、20世紀における生物学の重要な成果であり、現代生物学が遺伝子という基盤の上に成り立っているのを、改めて認識させられる

すなわち、動物行動もラクトースオペロンも、「抑制された遺伝的プログラムとその抑制解除」という共通点をもつ。

この類似性は、(a)遺伝子により支配されている、(b)誘導を受けてはじめて現れる、の2点にある。だからわざわざ議論する必要はないという意見もあるだろう。しかし、以下のように、見逃せない点もあるのではないだろうか。

第1に、動物行動や酵素誘導が遺伝子により決まること自体が、20世紀における生物学の重要な成果であり、現代生物学が遺伝子という基盤の上に成り立っているのを、改めて認識させられる。これは当たり前のようにだが、モノーがラクトースオペロンの研究を始めた時は、まだライセンコ学説の影響があって、酵素誘導という現象がメンデル遺伝学を否定する証拠にも使われていたのである。

第2に、動物行動は遺伝子で決まると考えられているが、まだ具体的な遺伝子群の働きとして解明されていない。一方、ラクトースオペロンは、そのメカニズムが見事に解明されている。したがって、もしこの2つに類似性があるのなら、動物行動も、ラクトースオペロンと同様の方法で解析すれば、具体的な遺伝子機構が解明できるはずである。この類似性は、将来に向けて「動物行動の分子生物学」を導く指針となるかもしれない。では、どのようにして動物行動の遺伝子機構を解明すればよいのだろうか。

2. 動物行動の分子生物学：その方法と論理

ここで述べる方法論は、分子生物学者により開発されたものである。1960年代中頃に、ブレンナー、ベンザーなど、一流の分子生物学者が、ファージの研究から線虫 *C. elegans* やショウジョウバエの行動や発生の研究へと転向した。彼等は、分子生物学の方法論を、行動や発生の研究に持ち込んだのである。線虫研究の開始を宣言したブレンナーの論文には、以下のような記述がある。

One experimental approach to these problems is to investigate the effects of mutations on nervous systems. In principle, it should be possible to dissect the genetic specification of a nervous system in much the same way as was done for biosynthetic pathways in bacteria or for bacteriophage assembly. (S. Brenner: Genetics 77: 71-

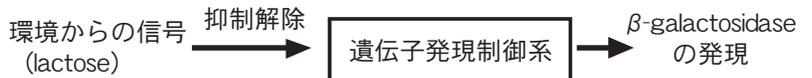
94, 1974)

ブレンナーはこの論文で発生と行動を一緒に論じているので、上記の例はたまたま神経系の発生についてだが、行動についても同様である。変異体の分離と解析により得られる解答パターンは、細菌の代謝経路やファージの形成経路のように、多数の遺伝子で構成される「経路」と考えている。たとえば、(細菌ではないが)アカパンカビのアルギ

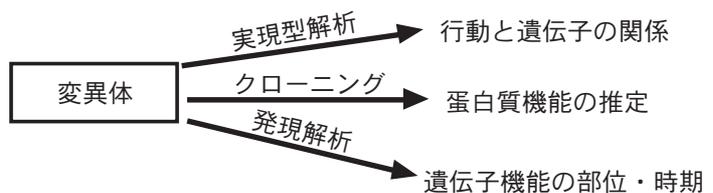
(1a) 動物行動



(1b) ラクトースオペロン



(2) 分子生物学・遺伝学による動物行動の解析



二重変異体の表現型など → 遺伝子間の関係

ニン合成経路の研究では、培地に中間体（オルニチンやシトルリン）を加えて変異体が育つかどうかを調べ、経路で働く遺伝子の順序を決定した。このような方法論があったので、ブレンナーは上記のように書いたのである。

一方、モノーは、その著書「偶然と必然」の4章で「ミクロのサイバネティクス *Cybernétique microscopique*」と述べたように、生体の働きは「遺伝子や分子のスイッチ回路」として解明されると考えている。ここでは経路とスイッチ回路の違いは議論しないが、いずれも複数の反応の連鎖であり、通常は1つ1つの反応を異なる遺伝子が担当するという共通点をもつ。遺伝子作用の順序決定法にも、共通点が多い。ラクトースオペロンの研究では、多重変異体やそのヘテロ接合体の表現型を調べて、「ラクトース→リプレッサー→オペレーター→プロモーター→ β -ガラクトシダーゼ発現」というスイッチ回路を導き出した。これと同様に、動物の行動プログラムも、変異体を使ってスイッチ回路や経路として解明できるのではないだろうか。

ただし、動物行動は複雑なので、もう少し工夫がいる。たとえば、ラクトースオペロンでは、ラクトースから β -ガラクトシダーゼまでが1本の直列の回路だが、神経回路は並列経路を含む網目状の回路である。並列経路はふつう合成変異（二重変異体にする表現型が現れる変異）に対応するので、我々は、これを含めた「回路の遺伝学」を作っている。

さらに、別の方法も開発されている。どの神経細胞まで信号が来ているかを調べる「信号の分子モニター」や、特定の神経で強制的に信号を出したり止めたりする「テスト信号発生装置」や「信号抑制装置」である。遺伝子発現を調べるモニターには、遺伝子発現制御領域にGFP（クラゲ緑色蛍光蛋白質）のcDNAをつないだ融合遺伝子を使えばよい。細胞内環境のモニターには、その変化に反応するGFP誘導体が便利である。信号操作の道具には、改変したイオンチャネルやシグナル伝達分子などが使える。いずれの場合も、それらを特定の神経細胞で発現させる細胞特異的プロモーターが揃ってきたので、このような方法が可能になったのである。

もうひとつ、ラクトースオペロンと動物行動の大きな違いは、前者が単細胞なのに対し、後者は多細胞ということである。したがって、動物行動の遺伝子解析では、遺伝子（分子レベル）・細胞・行動（個体レベル）という3つの階層を結ぶ論理が必要になる。この問題への最初のアプローチは、ショウジョウバエの遺伝モザイク個体を使った、堀田とベンザーの研究（1972）である。また、現在の線虫の行動研

究では、細胞特異的プロモーターを使って、変異体中のさまざまな細胞で野生型遺伝子を発現させ、行動を調べることにより、この問題を解決している。

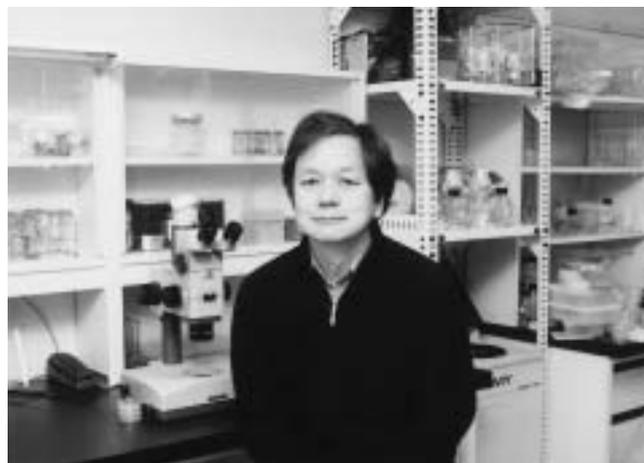
このような実験が可能になったのは、線虫 *C. elegans* では生きたまま959個の全細胞が同定でき、302個のニューロンから成る全神経回路が知られているなど、単純な構造とそれを生かす方法・データが蓄積されたおかげである。*C. elegans* は、今、何でも調べられる、便利なモデル生物になった。では、これを使って何ができるか。夢を述べてみたい。

3. 1ミリの虫の魂

デカルトは動物を機械と考えていたし、認知科学では精神活動をコンピューターの情報処理と同様と考えて研究している。しかし、自分の心を覗いてみると、その中心にあるのは、知性や論理ではなく情動・情緒・欲望が混然としたものらしい。実際に、パブロフの犬が行う連合学習は、鎌倉幕府と1192年を連合させる受験勉強の学習ではなく、ベルの音と食欲を連合させる動機づけの学習だ。情動等は脳生理学で研究されているが、線虫の遺伝学からのアプローチも可能かもしれない。細胞周期制御に *cdk*/サイクリン、発生に *Hox* 遺伝子、細胞死に *caspase* があるように、動物行動の中心的制御遺伝子（群）があるだろうか。これは、研究する価値のある問題である。

分子生物学の方法を用いると、生体に内在する論理とそれを担う実体を解明することができる。行動の中心的制御機構、いわば「魂」をこのような方法で探究したときに、結論として出て来るのは、何なのだろうか

実は、分子生物学の方法を用いて行動制御の中心的遺伝子を探そうとする研究は、すでに始まっている。筆者の研究室の助手・石原健は、単独の行動に異常はないが2つの行動プログラムの選択に異常をもつ線虫の変異体を分離し、原因遺伝子 *hen-1* をクローニングした。その作用機構の解明が期待されている。また、藤原学（当時・UCSF、現・九大・理）は、線虫の感覚異常変異体が出発点の近くをうろつくだけで遠くまで行



かないことに注目し、このサプレッサー変異を分離して研究している。感覚→→中心的制御→→運動というスイッチ回路で感覚遺伝子の下流を探索し、中心的制御遺伝子にたどりつく可能性を模索しているのだろう。

このような研究がどこに行き着くかは、まだわからない。しかし、わからないことを研究するのが、ファージ学派やワトソン・クリックの流れを汲む分子生物学の精神だろう。最後に、2つの問題を提起して、このエッセイを終わりたい。

(1)行動の中心的な制御を行う遺伝子がある場合、その変異

体は、どんな表現型を示すだろうか。

(2)分子生物学の方法を用いると、生体に内在する論理とそれを担う実体を解明することができる。行動の中心的制御機構、いわば「魂」をこのような方法で探究したときに、結論として出て来るのは、何なのだろうか。

プロフィール

1973年東京大学大学院理学系研究科(生物化学)博士課程修了、理学博士。パーゼル大学助手、東京大学理学部生物化学教室助手、東京大学教養学部生物学教室助教授を経て、1991年より国立遺伝学研究所教授。

桂 勲

Isao KATSURA

(国立遺伝学研究所
構造遺伝学研究センター)

RNA Update

特集：行動，社会性，RNA ②

セイヨウミツバチ (*Apis mellifera* L.) の 社会性行動と遺伝子

久保健雄
澤田美由紀

(東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻)

私たちは、ミツバチの行動を規定する脳の分子的基盤に興味を持ち、1992年に、セイヨウミツバチ (*Apis mellifera* L.) の脳で、領野や行動選択的に発現する遺伝子に関する研究を開始しました。方法としては、differential display 法や(後には)cDNA microarray 法を用いた網羅的検索を行っています。ミツバチは、数mlほどの小さな脳しかもたないにも関わらず、8の字ダンスなどの高次行動(記号的コミュニケーション)や複雑な社会性を示し、本能行動を規定する遺伝子を同定する上で格好の材料になると思ったためです。現在までに、ミツバチ脳の高次中枢(キノコ体)では、神経可塑性に関わるCa²⁺情報伝達系で機能する遺伝子群が高発現することが分かりましたし、神経可塑性に働くと考えられる新規な転写因子(Mblk-1)もキノコ体から同定されました。また、ミツバチのカースト(女王蜂と働き蜂)や働き蜂の分業にともない、脳での発現が異なる脳神経ペプチドホルモン(tachykinin)など、多数の遺伝子が同定されています。さらに、ミツバチのみならず、モデル生物(線虫、マウス)を用いた解析も進めつつあります。将来的には、ミツバチの脳の遺伝子発現mapを作製し、その生理機能を解析するとともに、高次神経機能に関わる新

規な遺伝子のソースとしての利用を目指しています。

さて2002年に、米国イリノイ大学のGene E. Robinson博士により、社会性動物の適応的遺伝子に関する分子生物学的な研究について、Sociogenomicsという名称が提唱されました。Robinson博士は、元々、ミツバチの社会生理学の中心的研究者でしたが、ショウジョウバエ由来の行動関連遺伝子のミツバチホモログの機能解析を開始し、最近ではミツバチ脳で発現する遺伝子のESTを作製するとともに、ミツバチのゲノム計画を推進され、将来的にはミツバチの全遺伝子を載せたDNA chipを用いた解析を計画されています。

動物の社会性は、これまで分子生物学が余り研究対象としてこなかった現象であり、今後、動物の行動多様性の観点からも、様々な動物を用いた解析が進むものと期待されます。ちなみに、私たちはより広く、ミツバチの社会性の基盤となる分子、細胞、個体レベルでの分子生物学的解析を進めるため、1996年には、Molecular sociobiology of the honeybeeというタイトルの邦文の総説を発表しています。

一方で, Sociogenomics には解決すべき問題点も残されています。現在汎用されているモデル生物では遺伝子導入が可能で, 高いレベルで遺伝子の機能解析が可能ですが, 高度な社会性をもつ実験動物のほとんどでは, 未だに遺伝子導入が成功していません。従って, Sociogenomics がさらに発展するためにはこの技術の開発が必須です。この考えのもとに, 私たちの研究室でも現在, エレクトロポレーション法などを用いたミツバチへの遺伝子導入技術の開発を進めています。

さて話を戻しますが, 網羅的検索というストラテジーにつきものの面白さと悩みは, どのような遺伝子が見つかるか, 予想がつかないことです。ポストクや研究員, 大学院生の方達が, それぞれの実験の中から最も興味を惹く遺伝子を取り上げて, 主導的に研究を進めていますが, 転写因子であったり, non-coding RNA であったり, ミツバチ脳に感染している RNA ウイルス(本公募研究でご紹介させていただきます)であったり, 様々です。紙面の関係上, 逐一のご紹介は避けますが, その都度, ご専門の先生方と共同研究を組ませていただき, 研究を効率良く進めようとしています。次項では, ミツバチ研究の中から新規な non-coding RNA を見つけた澤田さんに, 研究紹介をお願いしました。班員の皆様方, 今後ともどうぞ宜しくお願い申し上げます。

私(澤田)がミツバチの研究を始めたのは, 今から8年前のことです。当時, 東京大学薬学部の4年生になったばかりの私は, “心と体の繋がり”に興味を持っており, 例えば心身症や精神疾患の研究をしたいと考えていました。そんな私が, 所属研究室を決める2日前に久保研を訪ねた時のことです。「君はどんな研究がしたいんだい?」と尋ねられ, 「例えば, どうして女性は恋をするときれいになるのか, が知りたいんです(真剣)」。その後に聞いたのがミツバチの社会性の話でした。ミツバチでは, 雌蜂が女王蜂と働き蜂にカースト分化しており, 女王蜂が産卵など生殖に関わる行動をする一方で, 働き蜂は育児や採餌といったコロニー内の労働を, 日齢に応じて分業(齢差分業)する形で行います(図1)。つまり,



図1 アブラナの花蜜を吸うセイヨウミツバチの働き蜂

各個体が特定の行動のみを専門に行うわけです。さらに, 行動が違うときには体の生理状態も違ってきます。これはまさに“心と体の繋がり(?)”であり, ミツバチは私が知りたいことの良いモデルになるのではないかと考えたのが最初でした。また, 小学校の国語の教科書にミツバチの8の字ダンスのことが載っていて, 子供心に, ミツバチは賢いな, と感じた記憶もありました。こういうことがきっかけで, では一体ミツバチの脳ではどんな遺伝子が働いているのかという単純な疑問が生まれ, 研究が始まりました。

各個体が特定の行動のみを専門に行うわけです。さらに, 行動が違うときには体の生理状態も違ってきます。これはまさに“心と体の繋がり(?)”であり, ミツバチは私が知りたいことの良いモデルになるのではないかと考えたのが最初でした

さて8年を経た今(途中で2年間, 研究を離れましたが), 私は *Ks-1* と名付けた non-coding RNA の研究を行っています。*Ks-1* はミツバチの脳で高次中枢と考えられている領野“キノコ体”において, これを構成する介在神経“Kenyon細胞”の二種類のサブタイプ(大型/小型)のうち, 小型Kenyon細胞に強く発現する遺伝子として同定したものです。cDNA クローニングの結果, *Ks-1* 遺伝子は17.5 kb

に及ぶ巨大な non-coding RNA をコードすることが明らかになりました。また蛍光 *in situ* hybridization の結果から, *Ks-1* RNA は細胞内で核に存在し, 核内で点状に局在することが分かっています(図2)。

Ks-1 RNA の発見は, 他の多くの non-coding RNA の場合と同じく, ある意味で偶然でした。当初, 私はミツバチの齢差分業に着目しており, 分業を規定する遺伝子の候補として, 分業個体間で, キノコ体において発現量が変動する

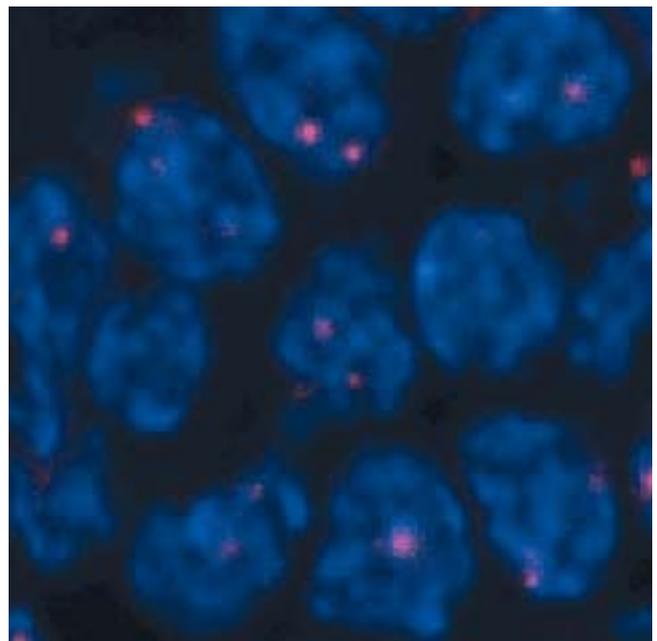


図2 ミツバチ脳小型Kenyon細胞における *Ks-1* RNA の局在。*Ks-1* anti-sense probe を用いた蛍光 *in situ* hybridization の結果を示す。青が核, 赤が *Ks-1* probe 由来のシグナル。

遺伝子を differential display 法でスクリーニングしていました。ある日、なかなか目的の遺伝子がとれず、過去のプロトコールを見直していた時、一つ候補遺伝子を見逃していたことに気がきました。その後の解析で、この遺伝子は、分業個体間での発現の差はそれほど大きくなかったものの、発現が脳の一部領野（主にキノコ体の小型 Kenyon 細胞）に限局していることが判明したのです。これが Ks-1 遺伝子でした。当時、キノコ体の、特に感覚統合に重要と思われる小型 Kenyon 細胞に選択的に発現する遺伝子は見つかっておらず、この遺伝子の解析は、きっとミツバチの行動を支える脳の秘密を解き明かす糸口になると考えクローニングを始めました。

最初に取りれた約 2 kbp の cDNA にはタンパク質になりそうな配列は全く含まれていませんでした。Northern blotting の結果から、Ks-1 の転写産物は～10 kb と大きいことが分かり、もっと上流に本当の ORF が有るのだな、と思って cDNA walking を繰り返しました。しかし、取っても取ってもそれらしき ORF は有りません。結局、cDNA の長さは 10 kbp を過ぎて伸び続け、17.5 kb まできてようやく伸び止まり、そこが転写開始部位であることが証明されました。そして、ついにそれらしき ORF が見つかることはありませんでした。

クローニングを終えて、教科書にはほとんど書かれていない巨大な non-coding RNA の存在を実感しました。（大袈裟に聞こえるかも知れませんが）私の中で少し世界観が変わったような感じがしました。しかも、Ks-1 RNA はタンパク質をコードする mRNA の様に細胞質には移動せず、核内に局在しています。これまでに知られている non-coding RNA で核内に存在するものとしては、性染色体の dosage compensation に働く哺乳類の *Xist* や、ショウジョウバエの *roX* が有名ですが、これらはいずれも性特異的で、ほぼ全身に発現します。これに対し、Ks-1 は雌にも雄にも発現する上、発現が神経細胞に集中しており、non-coding RNA としては明らかに新規な機能を持つと考えられます。

現在のところ、Ks-1 のような比較的大きな non-coding RNA が、ミツバチの脳の高次機能に関わる神経細胞の核内に在って何をしているのか、未だ答えは出ていません。その分、勝手な想像（妄想）が膨らんでいきます。私が考えるのはミツバチのもつ行動多様性への寄与で、根拠は二つあります。

一つは、Ks-1 RNA が示す heterogeneity です。cDNA クローニングの過程で得られたいくつかのサブクローン間では一部塩基配列の違いや数塩基程度の deletion / insertion が認められました。また、Northern blotting でもシグナルが 6～



研究室のメンバー（一部）と一緒に。
前列中央が澤田、後列左から2人目が久保。

10 kb 程度と幅を持って検出され、様々な processing を受けた異種 Ks-1 RNA の存在が考えられます。これらが細胞内で少し違う働きをする、あるいは細胞間／個体間で違う種類の Ks-1 RNA が合成されて働くといったことから、ミツバチの行動多様性が生じている可能性が考えられるのです。

二つ目は、Ks-1 RNA の塩基配列上の homologue が他の生物種に見出されないことです。唯一、我々が普段扱っているセイヨウミツバチ (*Apis mellifera*) の近縁種であるトウヨウミツバチ (*Apis cerana*) では homologue の存在が確認できません（実際、Ks-1 が non-coding RNA であるという詰めの証明は、セイヨウミツバチとトウヨウミツバチの Ks-1 の配列を比較した際に、最も 5' 末端の ORF (210bp の短いもの) の構造が保存されていない一方で、塩基配列は保存されているということでした）。この点から、non-coding RNA とある動物種に固有な形質 (Ks-1 の場合はミツバチの社会性行動) との関連が想像されます。もっと言うなら、Ks-1 だけでなく、他の様々な生物種においても種特有の non-coding RNA が働いて、種の多様性を生み出す一因になっているかも知れない、などと秘かに考えているわけです。

最近、ミツバチの脳でやはり領野選択的に発現する遺伝子の解析の中から、Ks-1 とは異なる non-coding RNA (らしき分子) が見つかり、現在、その解析も並行して進めています。この遺伝子は、体の部位ごとに見ると性差やカースト間で異なる発現を示し、行動や生理状態を規定する因子である可能性が考えられます。進化の過程で行動の多様性を獲得し、社会性を発達させたミツバチの脳から non-coding RNA が見い出されたのは、ある意味で必然だったのかも知れません。ゲノムプロジェクトが進む中、新たなモ

デル生物としてミツバチが私達に何を教えてくれるのか、興味は広がるばかりです。

Reference

Sawata, M., Yoshino, D., Takeuchi, H., Kamikouchi, A., Ohashi, K. and Kubo, T. (2002) Identification and punctate nuclear localization of a novel noncoding RNA, Ks-1, from the honey-bee brain. *RNA*, **8**(6), 772-785.

プロフィール

1983年東京大学薬学部卒業，薬学博士。東京大学大学院薬学系研究科助教授などを経て，2001年より現所属，教授。

久保健雄

Takeo KUBO

〔東京大学大学院理学系
研究科生物科学専攻〕

プロフィール

1998年東京大学大学院薬学系研究科 修士課程修了。2年間萬有製薬株式会社臨床開発研究所に勤務後，東京大学大学院薬学系研究科 教務補佐を経て2001年より現所属，教務補佐。

澤田美由紀

Miyuki SAWATA

〔東京大学大学院理学系
研究科生物科学専攻〕

RNA Update

特集：行動，社会性，RNA ③

真社会性動物の進化要因とハダカデバネズミ

吉田 重人

(千葉大学文学研究科)

岡ノ谷一夫

(千葉大学文学部・科学技術振興事業団)

真社会性とは，もともとはアリやハチなどの社会行動を定義する上で生まれた用語である。それは，①コロニーが複数世代の成員からなり，②コロニー内で繁殖に関する分業がみられ，③協同して子供を育てる，といった特徴から定義される (Michener 1969; Wilson 1975)。これまでに，昆虫類では膜翅目 (ハチやアリ)，等翅目 (シロアリ)，に加えて，半翅目 (アブラムシ)，総翅目 (アザミウマ)，またある種の甲虫でも真社会性を持つ種が見つっている。そ



その1：ネスト(巣)でくつろぐハダカデバネズミ達。

れ以外の節足動物では，クモやダニで真社会性もしくはそれにきわめて近いと思われる社会形態を持った種がいることが分かっている。また海産動物では，珊瑚礁のカイメンに棲むテッポウエビの仲間で見られる真社会性が報告されている。このように，無脊椎動物では多くの分類群で真社会性の生活を営む種が見つっているが，脊椎動物では真社会性をもつ種はいないと言われてきた。

ところが近年，アフリカに住むデバネズミ科の哺乳類ハダカデバネズミ (Naked mole-rat, *Heterocephalus glaber*)，ダマラランドデバネズミ (Damaraland mole-rat, *Cryptomys damarensis*) の2種について，真社会性と考えられる生活形態を持つことが発見された。これらの種は，真社会性無脊椎動物と比べてどういった共通点が存在するのだろうか。本稿ではまず真社会性無脊椎動物の進化について，その進化要因 (ある形質がどうして自然選択の中で進化しえたか) と進化経路 (ある形質がどのような中間的な形質を経て進化してきたか) という二つの側面から概観する。続いて，ハダカデバネズミの興味深い生態や，その進化についての考察を述べようと思う。

真社会性の進化要因

真社会性や協同繁殖の進化要因についての仮説は、①血縁選択、②生態学的制約、③生活史、を強調する仮説に大別できる (Duffy 2003)。これらの要因が相互作用することによって、真社会性は進化してきた。詳述するに先立ち、これらの仮説は主に真社会性無脊椎動物を対象とした研究の中から考え出されてきたことを付け加えておく。

血縁選択 真社会性の進化に関して血縁選択の重要性は Darwin によって早くから示唆されていたが、それを最初にはっきりと指摘したのは (Hamilton 1964) である。Hamilton は、自身は繁殖しなくても自身と血縁度の高い個体の繁殖成功度を高めることによって、自身と同じ遺伝子は広まりうることを示した。この理論によって、ハチやアリなどの持つ単数・倍数性という性決定様式が真社会性の進化に寄与していることを説明できる。しかし、例えばシロアリのように、それ以外の性決定様式を持つ種でも真社会性は進化していることから、単数・倍数性がその本質的な要因ではないことは明らかだ。とはいうものの、この理論は、何らかの原因で血縁度がある程度高まれば、利他行動が進化することを示しているといえよう。

生態学的制約と相互扶助仮説 真社会性を進化させた様々な種の生活史を俯瞰してみることにによって、ある共通した生態学的制約が真社会性の進化に関わっていることが分かってきた。それによると、捕食圧などによって単独繁殖が困難な状況にある場合や、食料や隠れ家を保証するような価値のある資源がある場合に、相互扶助行動が進化しやすいのだという (Duffy 2003)。前者に当てはまるのは主にアリやハチで、後者に当てはまるのがアブラムシ、アザミウマ、甲虫、エビなどである。同種の個体が多数集まって生息しているうちに繁殖や、さまざまな労働に分工が生じる、というのがこの「相互扶助仮説」におけるシナリオで、協同繁殖をすることによって血縁者集団が生じ、利他行動がさらに促進すると考えられる。

生活史 ある系統群に保持されている生活史特性が前適応となつて、それに生態学的な制約が作用し、協同繁殖が進化した、とするのが生活史を強調した仮説である (Duffy 2003)。後述する真社会性昆虫の進化経路の一つである亜社会性ルートや、シロアリ目における進化経路がその一例であろう。

真社会性の進化経路

アリやハチにおける進化経路 アリやハチにおける真社会性の進化経路には、亜社会性ルートと側社会性ルートの2つがあるとされている。前者は、Wheeler (1923) によって



その2：ハダカデバネズミのアップ。

提出されたもので、母親による子の保護が発展して複数世代の共存につながり、娘世代による母親の繁殖の手伝いがやがて真社会性にまで至った、というものである。一方、後者の側社会性ルートでは、同世代の共存からやがて繁殖分工が生じたとする (Michener 1974)。同世代の共存は、繁殖場所の不足や、単独営巣が困難な状況下で起こると考えられる。側社会性ルートは相互扶助仮説に基づいているといえるだろう。

シロアリにおける進化経路 シロアリ目の真社会性は、①オスが巣にとどまって繁殖を行う、②ワーカーには両性が存在していて、それらはフェロモンによって成熟が抑制された幼生である、という点において、ハチやアリのそれとは異なっている (伊藤 1998)。シロアリの場合は、その生活史が真社会性の進化に深く関わっているらしい。木材を消化するための腸内細菌の受け渡しのためには親子の共存が必要で、それが発展してフェロモンによるカーストの操作に発展したようだ。真社会性甲虫についても、シロアリと同じようにその生活史 (木材の中で生活している) がその進化を導いたのであろう。その他の真社会性無脊椎動物の進化においても、前述したような進化要因の下で、これらの昆虫と似たような経路を辿っていったと考えられる。

真社会性を持つハダカデバネズミ

では、脊椎動物であるハダカデバネズミを真社会性へと導いた進化要因や、その経路はどのようなものなのだろうか。最初に彼らの生活史を概観して、それから進化要因と進化経路に関する研究をレビューしてみることにしよう。

ハダカデバネズミの生活 ハダカデバネズミはケニアやエチオピア、ソマリアに生息する体長10cmほどの小型の齧歯類である(写真参照)。彼らの外見でまず目を引くのは、ほとんど体毛のないピンク色の肌と、前に大きく突き出した切歯であろう。その歯を使って、ハダカデバネズミは乾燥地域の地下にトンネルを掘って生活している。一生を暗闇の中で終えるので視覚は機能していない。主な食料は植物の地下茎である。一つのコロニーの個体数は平均80個体程度で、最大で約300個体に達するという(Brett 1991)。コロニーには1匹の繁殖メス(女王)と1~3匹の繁殖オスがいて、残りのほとんどはワーカーやソルジャーである(Jarvis 1981, 1991; Faulkes & Abbott 1991; Lacey & Sherman 1991)。非繁殖個体では、何らかのメカニズムによって性的成熟が抑制されていて(Faulkes et al. 1990a; Faulkes & Abbott 1991)、女王が死亡したり、その力が弱まったりすると、特に体の大きい数個体が互いに争って、勝ち残ったものが新しい女王となる。個体間では臭いや音声による複雑なコミュニケーションが行われていると考えられ、特にその音声レパートリーは哺乳類でも最大級とされる(Pepper et al. 1991)。

進化要因と進化経路 ハダカデバネズミのコロニーでは近親交配が繰り返されており、個体間で高い血縁度が保たれている(Faulkes et al. 1990b; Reeve et al. 1990)ことが利他行動を促進させる要因になったと考えられている。また、固い地中にトンネルを掘り進んで、食料である地下茎を発見するためには協同作業が不可欠であったろう。これら

から、まず環境による制約(生態学的制約)から相互扶助行動がはじまり、順位制から繁殖分業が生じて、やがて血縁度が高まることによってさらに利他的行動が促進され、真社会性に至った、というシナリオが導き出せるのではないか(Bennett & Faulkes 2000)。

おわりに

このように、ハダカデバネズミは系統的には極めて隔たった分類群に属しているにもかかわらず真社会性無脊椎動物と良く似た社会生活を営んでおり、このことから無脊椎動物と同じような淘汰圧を受けてその社会を進化させてきたことが示唆される。

まず環境による制約(生態学的制約)から相互扶助行動がはじまり、順位制から繁殖分業が生じて、やがて血縁度が高まることによってさらに利他的行動が促進され、真社会性に至った、というシナリオが導き出せるのではないか

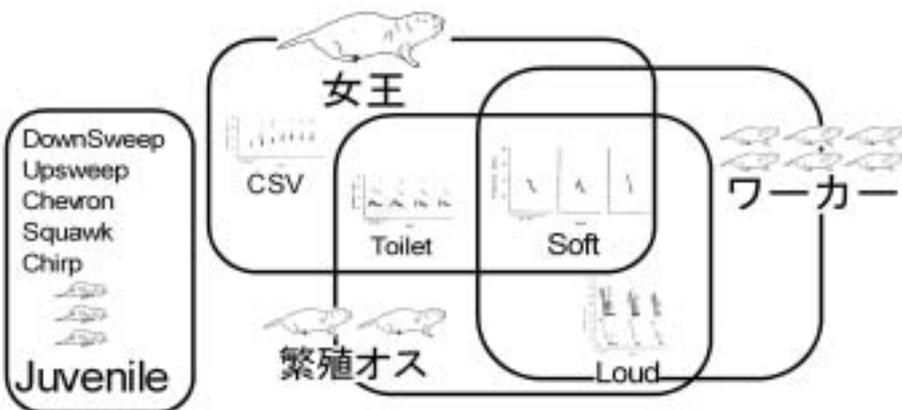
私たちはハダカデバネズミを対象として、その音声コミュニケーションと、音声コミュニケーションを可能にしている神経機構に特に焦点を当てて研究を行っている。先ほど述べたように、ハダカデバネズミは17種類以上の音声レパートリーを持ち、その中には繁殖個体のみが発声する鳴き声もあることが分かっている(Pepper et al. 1991; 図参照)。その機構はまだ明らかではないが、非繁殖個体が先の女王や他個体との競争に勝って繁殖個体になると初めて、それらの鳴き声を発声するようになる。

このことから、私たちはハダカデバネズミが、哺乳類では数少ない音声可塑性を持つ種であるかもしれないと考えている。一般に哺乳類の音声学習に関わる研究では、適当なモデルがない(クジラやイルカは研究室では飼育できない!)という問題があるのだが、ハダカデバネズミはそれになりうる可能性を秘めている。

ハダカデバネズミに限らず、複雑な社会生活を営む真社会性動物においては、個体間の綿密なコミュニケーションが不可欠である。我々の研究によって哺乳類の音声コミュニケーションのみならず、複雑なコミュニケーションの進化に関わる要因についてさらに考察を深めることが可能となることを期待する。

引用文献

- 伊藤嘉昭 1998. 改訂版 動物の社会. 東海大学出版会.
 Bennett, N. C., Faulkes, C. G. 2000. African Mole-Rats: Ecology



ハダカデバネズミの音声の一部を紹介する。
 ハダカデバネズミは社会的な階層の変化に伴い、違った鳴き声を使い分けるようになる。

- and *Eusociality*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Brett, R. A.** 1991. The population structure of naked mole-rat colonies. In: *The Biology of the Naked Mole-Rat* (Ed, by Sherman, P. W., Jarvis, J. U. M. & Alexander, R. D.), pp. 97-136. Princeton, New Jersey: Princeton University Press.
- Duffy, J. E.** 2003. 生物の科学 遺伝 別冊, **16**, 16-33.
- Faulkes, C. G. & Abbott, D. H.** 1991. Social control of reproduction in both breeding and non-breeding male naked mole-rats, *Heterocephalus glaber*. *Journal of Reproduction and Fertility*, **93**, 427-435.
- Faulkes, C. G., Abbott, D. H. & Jarvis, J. U. M.** 1990a. Social suppression of ovarian cyclicity in captive and wild colonies of naked mole-rats, *Heterocephalus glaber*. *Journal of Reproduction and Fertility*, **88**, 559-568.
- Faulkes, C. G., Abbott, D. H. & Mellor, A. L.** 1990b. Investigation of genetic diversity in wild colonies of naked mole-rats (*Heterocephalus glaber*) by DNA finger-printing. *Journal of Zoology London*, **221**, 87-97.
- Hamilton, W. D.** 1964. The general evolution of social behavior. *Journal of Theoretical Biology*, **7**, 1-52.
- Jarvis, J. U.** 1981. Eusociality in a mammal: cooperative breeding in naked mole-rat colonies. *Science*, **212**, 571-573.
- Jarvis, J. U. M.** 1991. Reproduction of naked mole-rats. In: *The Biology of the Naked Mole-Rat* (Ed, by Sherman, P. W., Jarvis, J. U. M. & Alexander, R. D.), pp. 384-425. Princeton, New Jersey: Princeton University Press.
- Lacey, E. A. & Sherman, P. W.** 1991. Social organization of naked mole-rat colonies: Evidence for a division of labor. In: *The Biology of the Naked Mole-Rat* (Ed, by Sherman, P. W., Jarvis, J. U. M. & Alexander, R. D.), pp. 275-336. Princeton, New Jersey: Princeton University Press.
- Michener, C. D.** 1969. Comparative social behavior of bees. *Annual Review of Entomology*, **144**, 299-342.
- Michener, C. D.** 1974. *The social behavior of the bees : a comparative study*. Cambridge: Harvard University Press.
- Pepper, J. W., Braude, S. H., Lacey, E. A. & Sherman, P. W.** 1991. Vocalizations of the naked mole-rat. In: *The Biology of the Naked Mole-Rat* (Ed, by Sherman, P., Jarvis, J. U. M. & Alexander, R. D.), pp. 243-274. Princeton, New Jersey: Princeton University Press.
- Reeve, H. K., Westneat, D. F., Noon, W. A., Sherman, P. W. & Aquadro, C. F.** 1990. DNA & quot; fingerprinting & quot; reveals high levels of inbreeding in colonies of the eusocial naked mole-rat. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **87**, 2496-2500.
- Wheeler, W. M.** 1923. *Social life among the insects : being a series of lectures delivered at the lowell institute in Boston in March 1922*. New York: Harcourt & Brace.
- Wilson, E. O.** 1975. *Sociobiology*. Boston, Massachusetts: Harvard University Press.

プロフィール

岡ノ谷ラボのホームページをご覧ください。
<http://bengalese.s.chiba-u.ac.jp/Okanoyalab/j/Information/index.php>

吉田重人
 Shigeto YOSHIDA

(千葉大学文学研究科)

岡ノ谷一夫
 Kazuo OKANOYA

(千葉大学文学部
 科学技術振興事業団)

RNA Update

特集：行動，社会性，RNA ④

行動を生み出す遺伝子を追う

山元大輔 (早稲田大学理工学部)

ショウジョウバエでいこう

行動形質と遺伝子との関係を明らかにするには、遺伝解析が容易なモデル生物に照準を当てて、人為的な突然変異

誘発によって単一遺伝子突然変異体を分離し、その変異原因遺伝子を突き止めるという方法が有効である。

私たちはそうした観点からキイロショウジョウバエに着

目し、性行動に異常をきたす突然変異体をとることから研究をスタートした。いうまでもなくキイロショウジョウバエは Thomas Hunt Morgan 以来の遺伝学のスター動物である。ショウジョウバエ遺伝学は近年の分子生物学的技術をどん欲なまでに取り込んで、研究素材としてのその価値はますます高まっている。

三菱化学生命研での研究

私たちの研究は1988年に始まった。この年、私が所属していた株三菱化学生命科学研究所で大きな機構改革があり、それまでの部室長制と平行して、それとは独立のプロジェクト研究システムが今堀和友所長によって導入された。プロジェクトは研究室横断型の共同研究であり、全くのヒラ研究員であっても提案が approve されればリーダーとなることができ、5年間という期間を区切って予算や人員の優先配分を受けて研究をすすめることができるという、当時としてはまだ珍しいシステムを採用した。

私はまだ30代のまん中よりちょい前だったが、このシステムができたおかげでそれまでやったことのない新しい分野を、自分のアイデアに沿って多くのメンバーとともに拓いていく機会を与えられた。ラッキーだった。

それまで、神経細胞の興奮の仕組みを研究していたが、もともとまるごとの動物の行動に強い興味があり、ショウジョウバエの行動異常突然変異体に関する論文はほとんど全て follow していた。といってもサーカディアンリズムと記憶・学習以外の行動突然変異体はわずかしか知られておらず、詳しい研究はほとんどなされていなかったから、この分野の論文を網羅することは実は簡単だったのである。

当時、遺伝学の具体的な技術について何も知らなかったが、そこは三菱化学生命研のこと、ちゃんと専門家がいた。京都大学の木原均先生門下の三宅 端博士（故人）の研究室がショウジョウバエのメッカで、トランスポゾンの研究が進められていた。その頃三宅研から出たヒット作は、ショウジョウバエ培養細胞中にある retrovirus-like particle がレトロトランスポゾン *copia* そのものだという柴 忠義（現・北里大学学長）、西郷 薫（現・東京大学教授）両博士の発見であろう。これは Nature の article として発表された（Shiba and Saigo, 1983, Nature 302 : 119）。

ショウジョウバエを飼い方から教えてくれたのは、三宅研の“当時”若手の上田 龍博士（現・国立遺伝学研究所・教授）であった。彼は筑波（東京教育）大学の岡田益吉教授（現・名誉教授）のラボ出身で、“歩くショウジョウバエ・エンサイクロペディア”みたいな人なのである。おかげで今私は、まるでもとから遺伝学者であったかのような

顔をしておくことができるようになったというわけなのだ。

なぜ性行動か

ちょうどショウジョウバエのトランスポゾン研究の中心地に隣り合わせた私は、1988年に Science に発表されることになる P 因子を利用した最新の変異誘発法 (Cooley et al., 1988, Science 239, 1121) を使って、早速行動異常突然変異体の作出にかかった。最初は“刷り込み”の突然変異体をとろうなどと大それたことを考えてあれこれ試みていたのだが、まるでうまく行かない。行動が思うようにコントロールできないのだ。

どんな状況でも相手が確実に決まった行動を見せてくれるというのであれば、とてもプロジェクトに与えられた5年という期間では研究を完璧できないと思った。それどころか、5年を費やしても、一つの突然変異体もとれない可能性すらある。そこで対象として浮上したのが性行動だったわけである。

性行動はその複雑さという点では行動研究の対象には申し分がない。また、極めて定型的であるので行動の遺伝的支配を理解するにはもってこいと言える。さらに、ちょっと“禁欲”させておけば、どの雄もほとんど間違いなく性行動に走る。自分のことを振り返ってみれば、おのずとこの結論に立ち至るはずだ。これこそまさに自然の摂理、すなわち本能行動そのものであり、したがって遺伝子による支配を強く受けた行動というわけである。

そして実際、性行動を標的にしたスクリーニングは順調に推移して、はじめの二年で7系統、その後 Cold Spring Harbor の Ron Davis ラボで行ったスクリーニングで1系統の性行動異常突然変異体を分離することができた。

性行動突然変異体を分離する

キイロショウジョウバエの性行動は、はっきりと定義できる幾つかのステップから成り立っている。まず雄が雌に向かって体軸を向けて定位し、雌を追跡し始める。雄は続いて雌に走り寄り、前脚で雌の腹部を触る（タッピング）。雄は雌の側面に身をおいて片方の翅だけを激しく振動させ、種に固有の羽音を発生させる。この羽音をラブソングと呼んでいる。雌の左、右へと回りながら、右翅、左翅を交互に使ってラブソングを発する。ラブソングを聞くうちに雌は次第に交尾を受け入れる「気分」になってゆき、それを反映して立ち止まる頻度が高まる。雄は雌の後ろから雌の翅を掴んでマウントし、交尾を試みる。雌が十分に受容的になっていれば、翅を立ててマウントしやすくし、膣口を

開いて交尾できるようにする。交尾が成立すると約15分にかけてそれは続き、終了時には雄が交尾器を放して雌の背から降りる。

得られた突然変異体は、この一連の行動のうち特定のステップに異常を持つものだったが、そのうち一系統は雄が雌に向かってほとんど全く求愛しないという極端な表現型を示した。雄が性的な興味を失ったとも解釈できる表現型である。そこでこの突然変異体を *satori* と命名した。

その後の研究で、*satori* の雄は他の雄に対して求愛行動をとることがわかったので、実際には同性愛傾向を示す突然変異体というのが正しいであろう(図1)。また、1960年代にアメリカで分離された *fruitless* の名を持つ両性愛突然変異体とは対立遺伝子の関係にあることも判り、雄の性指向性に関わる *fruitless* 遺伝子こそ、攻めるべき本丸であることが鮮明になった。

脳の性決定遺伝子 *fruitless* と性に依存した翻訳制御

アメリカの4研究室連合軍との競争となった *fruitless* 遺伝子のクローニング戦は我々が制し、BTB-Zn finger タイプの転写制御因子様タンパク質をコードすることが分かった (Ito et al, 1996, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93, 9687; Ryner et al., 1996, Cell 87, 1079)。 *fruitless* 遺伝子は雌決定タンパク質 Transformer の直接の標的であり、雌では Transformer の結合を受けて雄とは違う splicing が起こり、結果的に N 末端部101アミノ酸を欠くタンパク質ができると予測された(図2)。つまり、Fruitless タンパク質 N 末端の構造の違いが、雄へ分化するか雌へ分化するかの運命の分岐点かに思われたのである。



図1: *satori* 変異体の雄同士が求愛して輪を描いたところ (写真は榊 OPO 小川もりと氏提供)

こうして、行動の仕組みを追ううちに、脳の雌雄の違いの本体を突き止める研究へといつしか入り込んでいた。そして予想だにできなかった翻訳レベルでの雌雄の切り分け機構の存在に行き当たったことになる

ところが *fruitless* 遺伝子産物の脳内分布を *in situ* hybridization と免疫組織化学によって調べた実験から、意外な事実が明らかになったのである。*fruitless* 遺伝子の mRNA は雌雄の差なく発現しているのに、Fruitless タンパク質は雄の脳からしか検出されないのだ。

つまり、雌には N 末端の短いタンパク質ができるのではなく、Fruitless タンパク質がそもそも存在しない。Fruitless タンパク質があれば雄になり、なければ雌になる。そういうことなのではないか。

それにしても、mRNA ができているのに、雌ではそこからタンパク質が作られないというのは妙なことである。雌で特異的に翻訳が抑制されているとしたら、どんな仕組みが考えられるだろうか。

雌特異的なタンパク質と言えば、先ほどの Transformer が頭に浮かぶ。Transformer は splicing 促進因子である。その Transformer が *fruitless* 遺伝子の mRNA 前駆体に結合すると雌特異的な splicing が起こることはすでに述べたが、その splicing の結果、Transformer 結合配列自体が雌の mRNA には温存され、雄の mRNA からは取り除かれる(図2)。

雌型 mRNA への結合が翻訳を抑制するのではないか。そう考えて培養細胞を用いてレポータアッセイをしてみると、Transformer とその補助因子 Transformer-2 の存在によって Transformer 結合配列の下流に繋いだレポータの発現が抑制されることが分かった。結局、Transformer は従来知られていた splicing 因子としての顔以外に、翻訳制御因子というもう一つの顔を持った一人二役のタンパク質だったのだ (Usui-Aoki et al., 2000, Nature Cell Biol.,2, 500)。

Transformer の標的として古くから知られているのは *doublesex* 遺伝子であり、これは体の多くの部分の性の決定に与っている(図2)。一方、*fruitless* は主として一部の神経細胞で性決定に関与している。そのため、*fruitless* や *satori* 突然変異体では体の性は雄のまま脳の一部だけが雌化し、性指向性の変化を引き起こしたと考えられる。実際、*fruitless* タンパク質を強制的に雌の神経細胞に発現させると、その細胞を雄化できる (Usui-Aoki et al., 2000, ditto)。

遺伝子から行動の多様性へ

こうして、行動の仕組みを追ううちに、脳の雌雄の違い

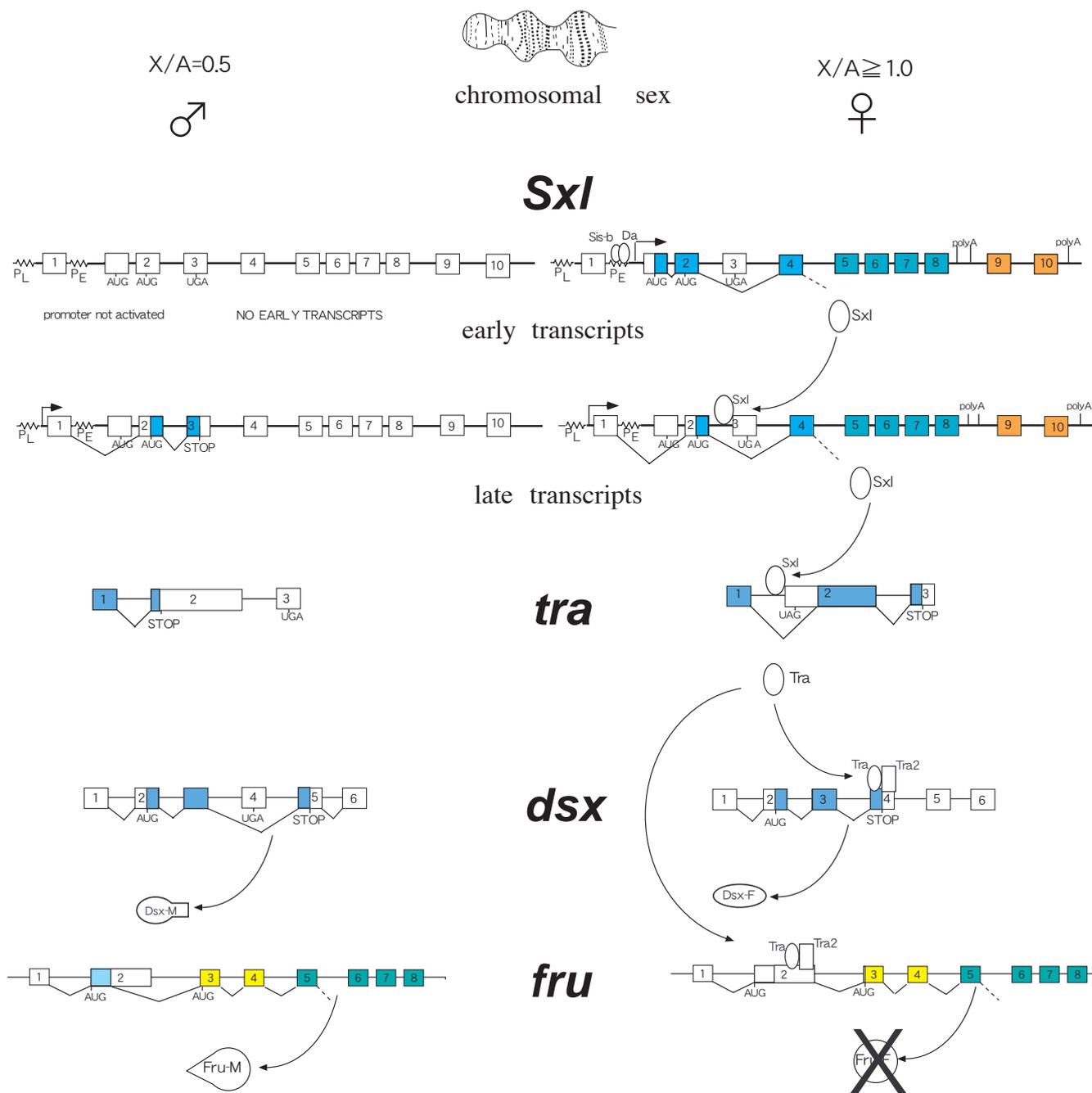


図2: キイロショウジョウバエの性決定カスケードに占める *fruitless* の位置
(Yamamoto et al., 1998, Mech. Devel.73, 135 を改変)

常染色体対 (A) に対する X 染色体の数比 (X/A) によって性が決まる。 X/A が 1 以上の時に限り *Sexlethal* (*Sxl*) の転写が起こり、雌化への第一歩が踏み出される。 Splicing 抑制因子の *Sxl* は *transformer* (*tra*) mRNA 前駆体に結合し、機能的タンパク質をコードする mRNA を XX 個体においてのみ産生させる。 こうして生じた *Tra* は *doublesex* (*dsx*) と *fruitless* (*fru*) の性特異的 splicing を誘導する。

の本体を突き止める研究へといつしか入り込んでいた。そして予想だにできなかった翻訳レベルでの雌雄の切り分け機構の存在に行き当たったことになる。

キイロショウジョウバエでの研究は、従来不明のままに残されていた行動の制御に関わる遺伝子の実体解明に道を開いた。その研究はさらに行動の種間差を生む遺伝子機構の研究に基礎を与えてくれる。実際、ショウジョウバエ各

種の行動は多様性に富む。たとえばハワイ固有種には雄がレック (雄の生殖なわばり) をつくり、雄同士がシカのように頭突きをして争うものがある。キイロショウジョウバエの雄は通常そうした行動をとることはないが、*fruitless* 突然変異体の雄同士は高頻度に頭突きを交わして争うことが観察されている (Lee and Hall, 2000, Behav. Genet. 30,263)。雄と雄の相互作用が、求愛のみならず攻撃行動においても亢進していることを示しているように思われる。自然の中

で見られる行動の多様性がどのように進化の過程で作られてきたのかを知る手掛かりが、この現象の研究から得られるかもしれない。

こうして個体、細胞、分子の各階層にわたる研究の面白さを実感しながらも、「次」への展開に頭を痛める毎日である。



プロフィール

1954年 東京都杉並区生まれ。㈱三菱化学生命科学研究所 研究員、Northwestern University Medical School ポスドクを経て、1994年～1999年 科学技術振興事業団 ERATO 山元行動進化プロジェクト総括責任者。1999年より早稲田大学人間科学部教授。2003年から早稲田大学理工学部電気・情報生命工学科教授。

山元大輔

Daisuke YAMAMOTO

(早稲田大学理工学部)

◆ Society ① ◆

同性愛の行動遺伝子 satori の研究が一般読者につたわる時

—アナロジーが生き、科学が生きる同時代性—

石田 仁

〔大学非常勤教員，
社会学・ジェンダー／セクシュアリティ〕

性の生物学的成因論は現代社会における性の理解枠組みとどのように呼応しているのか

ゲイの友だちと食事をしていたら、ハエが飛んできて傍らに止まった。「きっと“サトリ”よ！アタシたち見破られたに違いないわ〜」——そう笑って彼は話す。そして何事もなかったかのように食事は続けられる。

「他者」に向けて語るという実践

アラン・ピーズ&バーバラ・ピーズの『話を聞かない男、地図が読めない女』は世界ですでに600万部売ったそうだ。この本は、性現象をあくまで生物学的な物言いによって説明づけようという姿勢に貫かれている（性の生物学的成因論 biological etiology in sexuality: BES）。書かれている内容が支持できるかどうかはともかく、この本が、BESの代表例として社会でみなされていることに異論はないだろう。また600万部という数字は、BESが出版不振の現代において割り売り商品であり、一般読者の興味をそそるトピックであることも示している。それは冒頭に紹介したエピソードのごとく、一部のゲイの間にもリアリティあるもの

として深く受けとめられている。

しかし改めて考えてみたい。それはなぜだろうか？

そもそも、BESの元ネタである原著論文を読んだところで、それは“ウネウネと書かれたお経のようなもの”であり“素人が読んでも大抵分からない”。一般読者は、自然科学者のモノの考え方に通暁しているとはいえ、両者はコミュニケーション不能の状態にある。自然科学の専門家と一般読者との間でリアリティが架橋されるためには、原著論文をわかりやすく書きたく実践が挟まるのは当然のこととしても問題は——いかに書きくだいてあるのかというHowの部分にある。つまり、「ある生物学的成因論が一般読者の間でリアリティを得るとすれば、それはいかにしてか？」という問いである。

本稿は上記の問いを社会学的見地から答えていくものである。検討の題材としては、一般書を何冊も刊行している

研究者が適当であろう。そこで、ショウジョウバエにおいて同性愛行動をひきおこす遺伝子 (fruitless/satori 以下 sat) を単離した、山元大輔のテキストを取りあげる。テキストは、原著論文ではなく総説・著作を対象とした。なぜなら、一般読者へのリアリティ架橋は、自己の研究を専門外の「他者」に語るという実践を通じてはじめて達成されるためである。

本稿の展開は次に示すとおり。まず、概念の使用についての社会学的知見をおさえたのちに、その知見をもとにして山元大輔の概念使用実践を分析し、そのリアリティ架橋のしかけを明らかにする。最後に若干の社会学的示唆をくわえて稿を閉じる*。

「そして私が父親だ」

映画『サウンド・オブ・ミュージック』に次のシーンがある。ある大佐の子どもたちが軍人のような規律にしばられて生活させられているのを見かね、新米の女性家庭教師マリアがこう大佐に嘆願する——「この子どもたちは子どもですわ。」それに大佐はこう反論する——「そうだ、そして私が父親だ。」

マリアは次のように「子ども」を表象したかったのである。それは、赤ちゃん・子ども・青年・大人・老人…すなわち「人生の段階」という概念の体系のうちで「まだ子どもにすぎない」のだと。しかしそれに対して、大佐は「子ども」という表象を転用する。大佐は、父親・子ども…という対比で「子ども」を再規定し、概念の体系を「家族」にあらためる。そこにおける、家庭教師マリアの地位は、せいぜい「部外者」ではない [西阪仰『相互行為分析という視点』: 83-4]。

この一連のやりとりは、人が概念をハンドリング (概念使用実践) する際の特性を、如実にあらわしている。(1)概念Aはある別の概念Bとの対立的な関係によってはじめて意味が与えられること、(2)その対立概念B、C…は「述べ挙げる」という実践のうちには立ち現れないこと、(3)大佐の転用が如実に示すように——概念Aの意味は、文脈に担保された一次的なものにすぎないこと、(4)ここでもし大佐が「そうだ、そして私が上官だ」と言ってしまったら会話が成立しなくなるように——概念B、C…の列挙が理解できるものであるためには、当該社会における「常識」とされている知識の集合に訴えかけなければならないこと、これらである。まとめると、概念の意味は当該社会の「常識的」な知識の集合に拘束されるが、他方で、遂行的な挙示によってはじめて確定されるという点で自由度をもつ。

こうした昨今の社会学的アイディアをもとに、山元は自らの研究をいかに語ることで一般読者へ研究リアリティを架橋しているのか、「性の概念使用実践」という観点から見てみることにしよう。

概念使用実践

(1)同性愛／両性愛

第一に山元は、研究の一番のオリジナリティを、同性愛行動を導く原因遺伝子の単離にあると語る。そしてそれは従来、両性愛行動の原因遺伝子として報告されてきた fruitless (fru) と対立遺伝子であり、両者は別物であることが強調される。ここに、同性愛と両性愛は異なる現象だが同位対立的な概念として定立していることが分かる。

(2)同性愛／性同一性障害

第二。研究の今ひとつのオリジナリティとして語られる点は、doublesex (dsx) と fru とがカスケードの二股の関係にあることを塩基レベルで確定したことである。

山元は次のように説明する。fru や sat の変異体 (mut) は、身体の性徴が雄のままであるにもかかわらず雄に求愛し、ローレンス筋が一部または完全に欠失する。一方、dsx の mut は、ローレンス筋をのぞくほとんどの筋肉が逆性になる。ところでローレンス筋の形成は、筋細胞そのものの性ではなく、それを支配する神経の性によって決まる。ここから、fru は「心の性」を決める遺伝子、dsx は「体の性」を決める遺伝子であり、ゆえに fru の mut は同性愛者である一方、dsx の mut は「いわば性同一性障害のハエである」という。ここに「神経／筋肉」「心／身体」「同性愛／性同一性障害」といういくつもの「常識的」な対立概念が列挙され、同時に「神経＝心＝同性愛」「筋肉＝体＝性同一性障害」という接合が編制されていることが分かる。

(3)男性性／女性性

第三。ヒト男性同性愛 (ゲイ) の原因について。

山元は、「ゲイは言語が流暢である」「ゲイはスポーツなどの、空間的機能が不得意である」「ゲイはペニスがかい」といった他の生物学者が報告する、様々なヒトのゲイ研究を山元は引いてきて、それらが「矛盾しない」という。これは、ゲイの男性ホルモンの分泌が異性愛男性より多いという推測と、ヒトの男性ホルモンは脳内で芳香化するという定説とを結びつけた結果である。いわく、男性ホルモンの分泌が亢進していれば、脳内で女性ホルモンの芳香化する量も多くなるために、身体の性徴としては男性性特有のペニス

が肥大する一方、脳は女性的な特徴——言語が流暢でありスポーツが不得手——があらわれる、という一般理論である。この理論の背後仮説に「男性性の表徴を欠く = 女性的である」という性別二元的な「常識」があることは明らかであるが、重要なのはこの主張を支える根拠の一部を、山元が自らの研究から引いていることである。それは、雄の sat mut は、触覚葉 (sat 発現領域) が性別二元的にみて「雌化」しているという研究結果である。(ちなみに心理・行動レベルで、男性性の裏側を女性性とする解釈は、すでに20年以上も前から厳しい批判にさらされている。)

性の立体的公準

以上、山元の研究を、総説・著作における概念使用実践に着目して追ってきた。山元の性の概念使用実践を振り返ると、総合的には次のような特徴をもつことが明らかとなる。それは現代の「性に対する理解枠組み」と同型性を有していることである。

性の現代的な理解枠組みとは、具体的には次に示すとおりである。

現在、同性愛という性現象は、両性愛あるいは性同一性障害という性現象と明瞭に区別されている。同性愛は、「性的指向」(魅力を感じる性別)という概念によって説明される。自分が男であり、男性に性的魅力を感じる場合は同性愛、女性なら異性愛、両性ならば両性愛と分類される。

一方、性同一性障害は、「性自認」(かくありたい、あるはずだと考える自らの性別)という概念によって説明される。身体的性別が男性であるにもかかわらず、自己の性別(性自認)が男性であることに嫌悪感を抱き、女性である

ことを希求する場合、性同一性障害と形容する。女性でありたい・あるはずだと思う人々を MtF (Male to Female: 男から女へ)、その逆を FtM という。

「性的指向」と「性自認」で説明されるこうした「性の多様性」は、次のような(a)前提にもとづき、(b)結果を導いている。すなわち(a)生物学的性別・性的指向・性自認いずれの要素も、「男、さもなくば女」といった二分法的性別観に支えられていること、(b)ある者が FtM でもあり MtF でもあることは論理上許されないが、MtF であり女性を好きになるケース (MtF レズビアン) は想定され、またそうしたマイノリティが声をあげていることである。つまり(b)が成立するためには、二分法的性別観に支えられた生物学的性別・性的指向・性自認の各要素(a)が「軸」として直交しなければならない(「性の立体的体系」図2参照)。

山元の使用実践はこの「性の立体的体系」と非常に親和的である。(1)研究のオリジナリティが、両性愛行動をする mut から同性愛行動をする mut を分離し、さらにその原因遺伝子を特定したこと、(2)神経系のカスケードと肉体系のカスケードという二股仮説を fru で確定し、同性愛 = 心と性同一性障害 = 体という差異／かかわりにおいて説明したこと、(3)ショウジョウバエ触覚葉の性別二元的な逆性化を一つの根拠として、芳香化という切り口からヒト同性愛の一般理論構築を試みること、これらが山元の総説・著作において性の立体的体系を構成している。これこそが、サイエンスを専門としない読者に研究リアリティを架橋させる「からくり」であると結論づけられる。

科学が生きる同時代性

さて初発の社会学的関心に戻る。概念使用実践は、社会にある程度拘束されるものでもあった。山元の研究リアリ

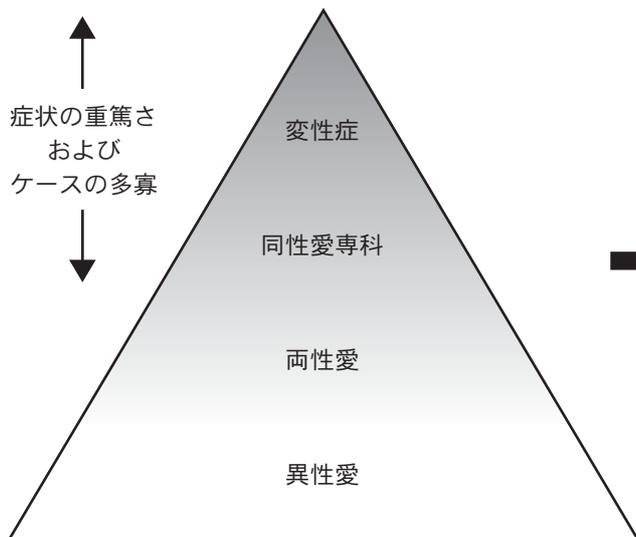


図1 1950 - 60年頃：グラデーション

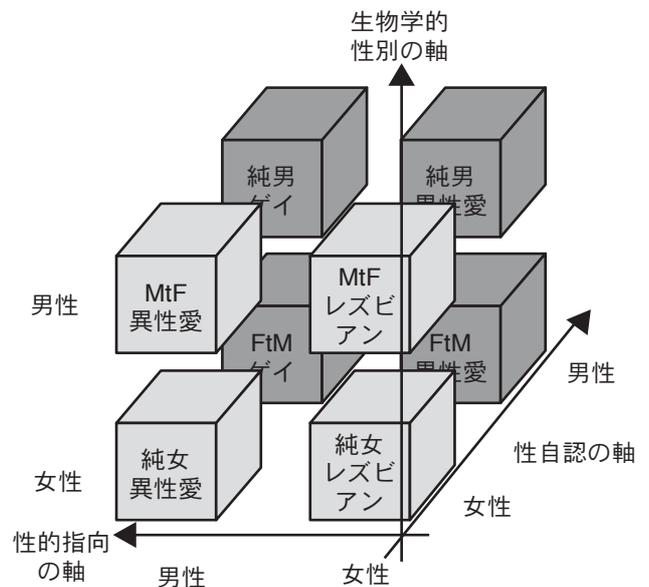


図2 2000年頃：立体的体系

ティも、書き手-読み手の同時代性に担保されていることを、最後に確認しておきたい。

日本で性同一性障害が同性愛と同位対立するものとして考えられるようになったのは、90年代後半、ごく最近のことにすぎない。かつて性同一性障害はどう捉えられていたかという、精神病理としてみなされていた同性愛の、さらに重篤なる症状と考えられていた(「変性症」)。また、両性愛は、同性愛の軽微な症状として考えられていた。つまり両性愛・同性愛・変性症は、症状の軽重の違いでしかなかったのである(図1参照)。直交する二軸として「心=同性愛」と「体=性同一性障害」が理解される現代でなかったら、山元の研究はそのおもしろさを一般読者に十分架橋できただろうか。性現象が「軽い同性愛」と「重い同性愛」との間で理解されるものだとしたら、satは両性愛 mut の fru1, fru2などと差異がきわだちにくくなる。

もちろん、筆者が強調する「概念使用実践の同時代性」は、あくまでアナロジーの水準にすぎないという反論が当然予想される。これに対しては以下の応答をさしあたりしておきたい。

ヒト=人間は、物理-化学法則ならびに signal 性プログラムによってその生体内機構を「司どられる」と同時に、概念使用実践に代表されるように、生体間 symbol を「司る」主体でもある。前者のプログラムは因果連関によって駆動されるが、後者は表象連関によって駆動する〔吉田民人『現代思想』29(11):12〕。つまり、ショウジョウバエの同性愛

行動は signal 性プログラムに還元されうるかもしれないが、人の同性愛行動は創発的な symbol 性プログラムにも大きく依存しているのである。“種の壁を越えた実在”は、あくまで DNA の signal 性プログラムおよび、それを支え/展開する物理-化学法則に他ならない。その意味で、山元に代表されるような、人とそれ以外の生物を直列する BES は、「サイエンティストのアナロジー実践」こそが重要な分析課題なのではないだろうか。それは自然科学者と社会学者との協力によって検討が進められる領野に思う。

*本稿は、第75回日本社会学会(02/11/16)と平成14年度基礎生物学研究所共同利用研究会(02/12/21)での発表を改稿したものである。一連の研究にあたって、山元氏にはつねに好意的・協力的に対応いただいた。この場を借りて深く感謝申し上げたい。なお文中の“ ”はインタビューにおける山元氏の発言である。



プロフィール

2003年中央大学文学研究科博士後期課程単位取得退学。修士(社会学)。現在明治学院大学社会学部で性的マイノリティの特講を、中央大学文学部で社会学の演習を担当。

石田 仁

Hitoshi ISHIDA

(大学非常勤教員, 社会学・ジェンダー/セクシュアリティ)

◆ Society ② ◆

「RNA ってなあに？」

～日本科学未来館：研究の場と社会との掛け橋～

菅原剛彦
長神風二

(日本科学未来館 科学技術スペシャリスト)

皆さんは、家族や親戚に自分の仕事の内容をどのように説明するだろうか。「研究しています」は研究者であるということまでは説明できるが、その次の質問の「どんな研究しているの？」に簡潔で明瞭な返答ができるであろうか。そして続く質問「そのRNA ってなあに？」の問いかけに、

笑顔で説明することができるだろうか。「RNA はリボ核酸という化学物質で、mRNA, rRNA, tRNA が主に細胞の中で…。(笑顔が曇ります)」。今回はこのような困惑してしまう問いかけに、仕事として役目として立ち向かう日本科学未来館の活動とその想いについて述べていきたい。

日本科学未来館¹⁾とは

若者の理科離れが進む中、科学技術創造立国を目指す政策の科学技術基本法に法り、青少年をはじめ一般の方々に科学技術をもっと興味や関心をもっていただくことを目的に、最先端の科学技術の展示、展示手法の開発、研究者の交流等を通じて科学技術の情報を発信していく施設として2001年7月に科学技術振興事業団(JST)の一部門として設立された。日本科学未来館は、科学技術を文化のひとつとして社会の中に定着させていくことを目指し、自分自身で触れて楽しむ参加体験型の展示や実験工房、科学者・技術者と交流するセミナーなどを通して、来館者自身が最先端の科学技術の知のいとなみに触れ、そこの携わる人々と対話することができる場として開かれている。また、同時に研究や開発の場でもあり、科学技術をわかりやすく伝える方法の開発や、最先端研究についての情報収集を行い、それを国内外に発信していく拠点となることを目指している全く新しいコンセプトのサイエンス・ミュージアムである。

日本科学未来館の中には、4つの大きな枠組みからなる常設展示ゾーンとしてエコ、IT、ロボット、宇宙開発、ゲノムといった先端科学を取り扱う「地球環境とフロンティア」「技術革新と未来」「情報科学技術と社会」「生命の科学と人間」の4分野で構成され、それぞれ一線の研究者が監修した展示がそろう。その他、常設展示とは異なる視点で、社会、思想、アートといった文化的な視点で他分野とのコラボレーションした企画展を開催、また、セミナー・シンポジウムといった実際の研究者が発表したり、一般の方と直接交流する場がある。その他、実験工房では「ロボット、超伝導、レーザー、化学、バイオ」といった参加者自らが実験に参加する実験教室を行っている。加えて、シアター設備、ライブラリ、スタジオを備え、出版、Webを通して外部に情報を発信していく活動も行っている。そして特筆すべき特徴のひとつに、研究開発ゾーンがあり、そこでは科学技術振興事業団が実施する複数のプロジェクト研究室が一般の人に開かれた科学館という中に常駐していることが挙げられる。ガラス張りの研究室を一般の来館者がツアーなどで訪れて、研究者の話を直に聞くこともできるのが特徴となっている。日本科学未来館の館長は宇宙飛行士の毛利衛がつとめ、スタッフにはインタープリターという展示解説員をはじめ、大勢のボランティア、そして科学技術スペシャリストが、来館者への科学の理解増進に日々努力している所である。

そして続く質問「そのRNAってなあに？」の問いかけに、笑顔で説明することができるだろうか？

ヒトゲノム解読完了・DNA二重らせん発見 50周年記念事業

研究と社会、研究者の社会における役割、難解な生命科学の最先端をどのように一般社会へ理解できるように伝えるのか。また、研究と社会とをつなぐ役割をどのような機関と人が果たしていくのかを考えた場合、日本科学未来館で開催された「ヒトゲノム解読完了・DNA二重らせん発見50周年記念事業²⁾」が参考になるべき事例なのでここに紹介したい。

ヒトゲノムの全配列の解読完了は、有力全国紙の1面を飾り、多くの方面で取り上げられた。世界6カ国、15年におよぶヒトゲノムプロジェクトは、生命科学では類例のないものであり、その成果と反省を総括し、一般に公開することは極めて重要な意義をもつ。この成果はワトソンとクリックのDNA二重らせん構造発見からちょうど50年にあたり、科学技術の進展を振り返って、今後を考えるには最適な時期でもあった。そのため、日本におけるヒトゲノムプロジェクトの代表研究者でもある榊佳之氏を中心に、双方を記念すべき行事を行う機運が高まり、

松原謙一氏を委員長に、実行委員会が組織された。実行委員会において、ヒトゲノム解読完了を受け①解読完了の首相官邸、所轄大臣への報告と記者会見、主要6カ国首脳による共同宣言の準備 ②記念国際シンポジウムの開催(政、官、財、学

会の関係者対象) ③記念講演会の開催 ④記念展示の開催の4つの事業を実施することが決定された。事業全体を実行委員会の主催、当館の所属する科学技術振興事業団と理化学研究所の共催とし、特に③④の一般向けの部分を日本科学未来館が主体となって実務を担当していくことになった。

当初より実行委員会の研究者たちは、ヒトゲノム解読完了の共同宣言といったセレモニー的行事だけとするのではなく、この成果が今後、人それぞれの生活に影響を与えるということを踏まえ、この研究の意味を一般に向けて広くアピールする姿勢で社会への役割を果たそうとした。また、未来館がこのような行事の会場として選ばれた理由として、先にも述べた先端科学技術を研究者の顔がみえる展示を主に、第一線の研究者と密接な連絡をとりながら積極的な活動を行っている当館の特徴が合致したからであった。

③の記念講演会は中村桂子氏がコーディネーターとなり、ヒトゲノムプロジェクトリーダーの榊佳之氏をはじめ堀田凱樹氏(国立遺伝学研究所)、笹月健彦氏(国立国際医療センター研究所)の講演と「メンデルの法則再発見(1901年)、二重らせんの発見(1953年)、ヒトゲノム解読完了

(2003年)の50年の単位で生命科学を俯瞰する大きな視点でのパネルディスカッションで構成された。④の記念展示はヒトゲノム解読完了の共同宣言から1週間の期間、未来館の常設展示「生命の科学と人間」のゾーンに特設会場が設けられた。展示はマニュアルガラス板シーケンス電気泳動装置から、最新のキャピラリーシーケンサーからPCR反応装置、コロニーピッカーといったゲノム解析関連機器を、装置や技術の進歩にあわせてそろえられた。またポストゲノムの研究紹介としてDNAマイクロアレイ作製機、タンパク質質量分析機など研究室で働いている実機が、研究の場にいる人間とともに展示場へ登場した。その他、ゲノムプロジェクトの紹介パネルとともに、記念碑的な写真や論文の実物が飾られ、研究者以外の一般の方が普段あまり見ることのないものが多く取りそろえられた。

未来館での記念事業は期間中1万を超える入場者を数え、好評のうちに幕を閉じた。期間を通じて、感じられたのは人々のゲノムへの強い関心が挙げられる。会場内で熱心な質問をする方も多く見受けられた。一方、ゲノム、DNA、遺伝子、染色体といった基本的概念への理解の不足が背景にある意見等も多くみられた。これらはマスメディアでの扱いが応用一辺倒のトピックスばかり取り上げ、基本的な事項の確認をおろそかにしていることが反映されているようだ。いずれにしろ、ゲノムへの関心は強いけれど、中身がよくわからない、どのように進められているのか知らないといった現状が浮き彫りになった。しかしながら、全体を通してみると、ゲノム研究の第一線の研究者が、ゲノム研究の意義と成果、これからの展望を一般社会へ広くアピールできたこと、また、そのような場所があったこと、多くの方が研究の成果を見て、研究の現場を感じ興味を持ったこと。これらはまさに日本科学未来館の活動が実を結んだ結果に他ならないと考えている。

研究の場と一般社会との橋渡し

遺伝子組換え食品と聞けば、あからさまにNOサインを出す社会観念、クローン技術には見えない倫理と安全性に首を傾げている不安な状態。社会一般の多くの方は、自身で判断することなく、判断する基盤がなく生活している。

(参考)

- 1) 日本科学未来館 (MeSci) ホームページ
<http://www.miraikan.jst.go.jp/>
- 2) 日本科学未来館 ヒトゲノム解読完了特設ページ
<http://www.miraikan.jst.go.jp/genome/index.html>
- 3) 山岸敦, 加藤和人 科学 73, 342 (2003)
特定領域研究ゲノム4領域 「ゲノムひろば」
<http://www2.convention.co.jp/hirobag/>

遺伝子組換え作物は食べ物の成分としてみれば、体に害は無く「遺伝子組換え作物は使っていません」の文字に安心感を持って、高濃度の農薬に汚染された輸入農作物を食べている。中には「遺伝子が入った食べ物は食べません」ときっぱりと言い放つ人すらいる世の中。現代はすでに科学技術の恩恵なしには生活は成り立たなくなっている。理解なしに恩恵ばかり求めても、今後のよりよい社会作りが進むことはない。

シーケンサーの説明をゲノムのゲの字も知らない人にどうやってすればよいのか。莫大な予算をかけてまで行う研究はいったいどのようなものなのか。超伝導、ニュートリノ、カーボンナノチューブなど他の分野にしてみてもいい。このようなことを伝えるにはどうしたらよいのか考えながら、日本科学未来館では毎日のように一般社会との接点となり、多くの質問と解説だけではなく研究者の想いを伝える活動を行っている。今年も研究者が一般向けにブースを出して、交流をはかる「ゲノムひろば³⁾」のイベント会場となる予定である。今後、科学に関する情報発信と理解の普及に努め、研究と社会をつなぐ場から、研究と社会が集う場にしていきたいと考えている。最後にもう一度問い掛けたことは、最初にもどるが「RNAってなんですか?」という質問である。改めて考えてみてはいかがでしょう。



左：長神 右：菅原
未来館展示ゲノムのコーナーにて

プロフィール

1999年筑波大学大学院医学研究科修了 医学博士。
学術振興会特別研究員を経て2002年より日本科学未来館 科学技術スペシャリスト、東京慈恵会医科大学訪問研究員(兼任)。
t-sugawara@miraikan.jst.go.jp

菅原 剛彦

Takehiko SUGAWARA

日本科学未来館
科学技術スペシャリスト

プロフィール

東京都出身。東京大学教養学部基礎科学科第一卒。
東京大学大学院総合文化研究科広域科学専攻生命環境科学系博士課程満期退学。
2002年より日本科学未来館科学技術スペシャリスト。
f-nagami@miraikan.jst.go.jp

長神 風二

Fuji NAGAMI

日本科学未来館
科学技術スペシャリスト

New Techniques①

'Progress in science depends on new techniques, new discoveries, and new ideas, probably in that order'. S. Brenner 1985

私が没にしたひげ教授とのインタビュー

上田 卓也

〔東京大学大学院新領域創成科学研究科
先端生命科学専攻〕

(美人記者) こんにちは、お忙しいそうですね。来年からの法人化で、大学も大変でしょう。

(ひげ教授) ほんま、いそがしい。それにこんな時に限って、いろいろと悪いことやるやつがいてな。聞いておどろくなー(延々と暴露話が続く)

(美人記者) (機嫌わるそう。日が悪かったかな) まあまあ、そんな話は社会部の記者にお願いしますよ、それに先生、月夜ばかりじゃありませんからね。今日は、この間のニュートンに出ていた、先生の生命は作れるというお話と、先生の開発したプアシステムの関係について、伺いたいのですが。

(ひげ教授) (不機嫌そうに) あんた、プアシステムや。あんたも記者ならちゃんと勉強してこなあかんよ。

(美人記者) (しまった)、すみません。そのプアシステムは、ポストゲノム研究所というベンチャーから発売されていますよね、どうゆう製品ですか？

(ひげ教授) DNA入れたら、タンパク質ができるキットや。安くするから買ってちょうだい。あんたも目尻にしわがあるから、コラーゲンでも作ってみたら。

(美人記者) (セクハラ) あのもっと一般の読者にわかるように説明してください。

(ひげ教授) 細胞の中には、タンパク質をつくる工場があるんや、その工場は、リボゾームとかいろんな分子からできとるんやけど、プアシステムはその工場を試験管の中で、くみたてたんや、わかるか？この工場にタンパク質の設計図、DNAを入れたら、タンパク質ができるちゅうわけや。

(美人記者) そうすると、遺伝子組み換えでインターフェロンを作るといふのと同じですか？

(ひげ教授) ちがう。それは細胞そのものを使ってるわけや。まあ、今までの遺伝子組み換えというのは、馬にのって走るようなもんやな。馬は草たべたり、寝たりするし、糞の処理も大変や。それに、機嫌がわるいと、動いてくれんはな。細胞も同じで、なんでも人間の思うようにはならんはな。

プアシステムは自動車や、キーを回してアクセルふめばいつでも走る、わかるか？

(美人記者) (まとはずれな例え) でも、愛媛大の遠藤先生や、理研の横山先生のシステムは実績もあって、評判ですが、それよりもいい点があるんですか？

(ひげ教授) (痛いところつくな) まあ、両先生のは同じ無細胞ゆうても、細胞の抽出液やから、まあサラブレッドちゅうところかな。うちは、自動車や。最初は牛より遅いけど、そのうちフェラーリや。

(美人記者) どんなタンパク質でもできるわけですか？

(ひげ教授) まあな。

(美人記者) 先生のシステムだと、糖鎖の付加したタンパク質とか、膜タンパク質は無理ですよ、それに？S-Sはかかりませんか？アセチル化とかリン酸化とかはどうですか？

(ひげ教授) (こいつ何者や) ？

(美人記者) 私、ポストドクで、タンパク質のフォールディングを研究したことがあるんです。Natureに3報、Scienceに4報ほどだしましたけど。ぜんぶアーティクルですけど。

(ひげ教授) それを、早ういわんか。(うちの節操ない専攻なら、即教授やな、まあ気を取り直して) それがおもしろいところや。ここだけの話やけど、今、フォールディングや糖鎖付加できるキットや、膜リセプターなんかの合成システムを開発中や。

(美人記者) それができたら、先生もお金がいっぱいはいつてきますね。プアシステムなんていって失礼しました。で、順調に開発はすすんでいますか？来年は長者番付にのったりして。

(ひげ教授) (おちょくりやがって) いや、まだ今年いっぱいには公務員やしな。こんどできる大学の知財本部には内緒にしといてな。それに、開発もそう簡単やない。ベンチャーなんて、万馬券と一緒にや。それに、タンパク質はDNAやRNAと違って奥が深いんや？

(美人記者) え、そんなこといっていいんですか？先生は、一応RNAの研究者と伺っていたんですが？

(ひげ教授)それは髪の毛が今の倍はあった昔の話や。そのころは、RNAワールドなんてお伽話で、満足しとったけど。

(美人記者)え、RNAワールドって間違ってるんですか？

(ひげ教授)(踏み絵か?) まちがいやないけど、原始地球上にはRNAがいっぱいあったのはいいけど、我々の先祖は、そんななかでのタンパク質を引き込んだ成功者やな。そやからRNAとタンパクがなんで結婚したのかをわからんとあかんのや。

(美人記者)ごまかされているような気もしますが、一応筋は通っていますね。

(ひげ教授)(声を落として)一応RNPの研究者にしといてな。科研費落とされたら、学生が路頭に迷うからな。

(美人記者)(聞こえないふりしよう)で、その先祖はどうだったんですか？

(ひげ教授)そう、それ。それがタンパク質合成系や。考えてみ、地球は、水だらけや、その中でRNAやタンパク質ができるなんて不思議やろ。

(美人記者)全然。

(ひげ教授)(愛想のないやつやな)教科書思い出してみな、RNAもタンパク質も水が取れて、重合でできるんや。水があったらすぐに合成はとまるやろ。

(美人記者)化学は不得意ですが、なんとなくわかります。

(ひげ教授)その矛盾を解決したのがリボゾームや。水があるから、RNAが折れたたまれ、外をリボソームタンパク質が覆う構造になるわけや。アミノアシルtRNAが入ったら、そこは水の無い世界や、反応は自発的に起こるや、それもABIの機械の何百倍もいい効率でな。面白いやろ。生命は曰く不可解と、ドンガパチョもゆうとったけど、矛盾から生まれたのがわれわれの先祖やな。

(美人記者)(ひょっとしたら藤村操のことかな、頭が混線してるけど大丈夫かな)でも、今リボゾームRNAが触媒がどうかで、もめているそうですか？

(ひげ教授)まあ、エンタルピーかエントロピーのちがいや。

(美人記者)ふーん

(ひげ教授)まあ、ええわ。東本願寺と西本願寺の違いと、思っておいて。

(美人記者)(相変わらず、意味不明な例え話)つまり、 ΔH か ΔS かということですね。

(ひげ教授)わかっとるやんか、そのとおりや。酵素反応でもこうゆう水掛け論が結構あるからな。まあ、だいたい ΔS で、少し ΔH が効くんやろな。

(美人記者)先生の話だとかえって混乱しますので、リボ

ピュアシステム



ソームの話は有名なエール大のシュタイツ先生に聞きますから。こちらへんで本題に入りますが、ピュアシステムと、生命を作るという話はどう関係するんですか？

(ひげ教授)うんうん、遺伝子いれたらタンパクができるやろ。もし、ゲノム全部いれたら何ができる？

(美人記者)プロテオーム

(ひげ教授)そうや。細胞のなかのタンパクが全部そろったら細胞ができて不思議ないやろ。

(美人記者)そうはいきませんよ。細胞膜はどうするんですか？それにDNA複製は？細胞は先生の頭のように単純じゃありませんよ。

(ひげ教授)ありがとう。俺のモットーはグッドサイエンティストイブ木偶の坊やからな。まあ、ウィルスかマイコプラズマくらいは作ってみたいな、大学首になる前に。

(美人記者)じゃあ、急がないと

(ひげ教授)そうやな、いそがんと、最近、敵が多いしな。

(美人記者)(こちらへんは鈍感で助かるわ)で、具体的な研究はどうするんですか？

(ひげ教授)まず、脂質二重膜いろんなものを組込むんやな。いろんな反応は、膜で行われるからな、膜タンパクを膜の中に組み立てるために分泌系とピュアシステムを組み合わせて、細胞もどきをつくる。それで、膜のなかでゲノムからタンパクのセットを作らせるわけや。21世紀のコアセルベートちゅうわけや。細胞になるかどうかは、見てのお楽しみやな。

(美人記者)たぶん、むりですね。

(ひげ教授)けんかやったら買うで、表にでよか？

(美人記者)懲戒免職ですよ。

(ひげ教授)(我慢しよ)ショスタックゆうハーバードの教授が同じこと考えてるみたいでな、この間ピュアシステム欲しいゆうメールよこしたんや。

原始地球上にはRNAがいっぱいあったのはいいけど、我々の先祖は、そんななかでのタンパク質を引き込んだ成功者やな。そやからRNAとタンパクがなんで結婚したのかをわからんとあかんのや

(美人記者)じゃあ、まっとうなサイエンスでね

(ひげ教授)懲戒免職になってもかまへんで。

(美人記者)まあまあ。で、送ったんですか？

(ひげ教授)送ってしもうた。

(美人記者)人がいいですね。

(ひげ教授)(暗い顔で)ほんま、おれも甘いな。むこうは、ヤンキースみたいなもんやからな。こっちは阪神やしな。でも今年は優勝や。奇跡がおこるかもな。

(美人記者)先生は、ロッチですよ。島津とABIみたいにならないでくださいね。田中さんがノーベル賞とったからすくわれたけど、先生は無理そうですしね。

(ひげ教授)ほんま、あんた長生きできんよ。それに、おれ千葉市民やからな。マリスタジアムで勝負しよか？

(美人記者)あの、それで、細胞がもしできたら、どうするんですか？

(ひげ教授)どうしよう。それはその時や。いろんなことができるよ、きっと。ほんまのことゆくと、あんまり考えとらんや。でもなー(ほとんどSFに近い話が延々と続く)

(美人記者)あの、でも、これって結構あぶない研究ですよな。

(ひげ教授)そう、ピュアシステムの論文出してから、けっこういろんなメールが来てな。最初はよろこんで返事書いてたんやけど、何人かはどうもアメリカのカルト教団みたいでな、途中でやめたんやけど。あれひよっとしたら、あぶなかったかもしれん。生物兵器をねらってたかもしれんな。

(美人記者)そう、新しいウィルスができたりしたら、またたいへんな騒ぎになりますよ。テロもありますしね。気をつけてくださいよ。

(ひげ教授)で最近、ちょっと静かにしとるんや、うまいことスタンフォードのシュワルツゆう先生が、constructive biology ゆうネーミングしてくれてな、まあ生物土建学やな。分子から生物を建設するゆうわけや。英語やと、まっとうな研究みたいに見えるやろ。それに、うまいこといったら、ゼネコンが研究費くれるかもしれんやろ。

(美人記者)先生にだまされるほど世間は幼稚ではありません。でも、こんな研究を日本でやるのは結構たいへんじゃないですか？

(ひげ教授)そうなんや、日本はこうゆうほらに近い研究は、わらって無視されるからな。法人化で研究内容を審査されたらアウトかもしれん。競争原理の導入なんて、ゆうとるけど、変な話や。日本の経済悪くしたのは、中小企業をいじめたからや。ソニーもトヨタもはじめは中小企業やはな、そ



ポツダム近郊のカブートにて Knud Nierhaus と。アインシュタインの別宅を見たあとこの世紀の天才のセクハラについて、いつにはなく真剣な議論をする。

れをうまく育てんといかん。大学も同じやで、大きいプロジェクト研究ばかりになったら、ほんまに面白い研究は芽が出る前に、つぶれるかもな。ピュアシステムもちよっと前までは、けちよんけちよんやったしな。アメリカは、へんな研究がいっぱいあって底辺がひろいから、超一流もでてくるわけや。そこらへんをよう考えてやらんと、大学も失われた10年とかにこれからなるかもな。

(美人記者)先生もまじめな面もあるんですね。見直しました。

(ひげ教授)ありがとさん。世間でいわれているよりほんまは100倍もまじめなんや。ひさしぶりにほめられたな。うん、うん。記事にもまじめそうに書いていな。

(美人記者)あの、いいにくいんですけど、これ記事にすると、たぶんクローン人間のときより、非難の投書がいっぱいくると思いますよ。生命つくるなんて、もっとあぶないですしね、我が社の品位をおとす記事はかけませんし、あの、おいしい蛇をたべられる店紹介しますから、今日のインタビューはなかつたことにしてもらえませんか？

(ひげ教授)蛇、おおそうか、わかった。しょうがないな。かえるも喰いたいな。いこか

(美人記者)(よかった、プライドのない先生で)あのもちろん割り勘ですよ。

プロフィール

1984年東大農学系研究科で博士号取得、ドイツのマックスプランク研究所で2年ほど出稼ぎ後、横浜市大木原研、東工大をへて東大。空白の一年があるものの、1999年より暖簾わけ。チンピラ教授といわれながらも奇跡的にラボをつぶさず現在にいたっている。

上田 卓也

Takuya UEDA

東京大学大学院新領域創成科学研究科先端生命科学専攻

SSER 法の開発とリボソーム研究への応用

鈴木 勉

(東大・新領域・先端生命)

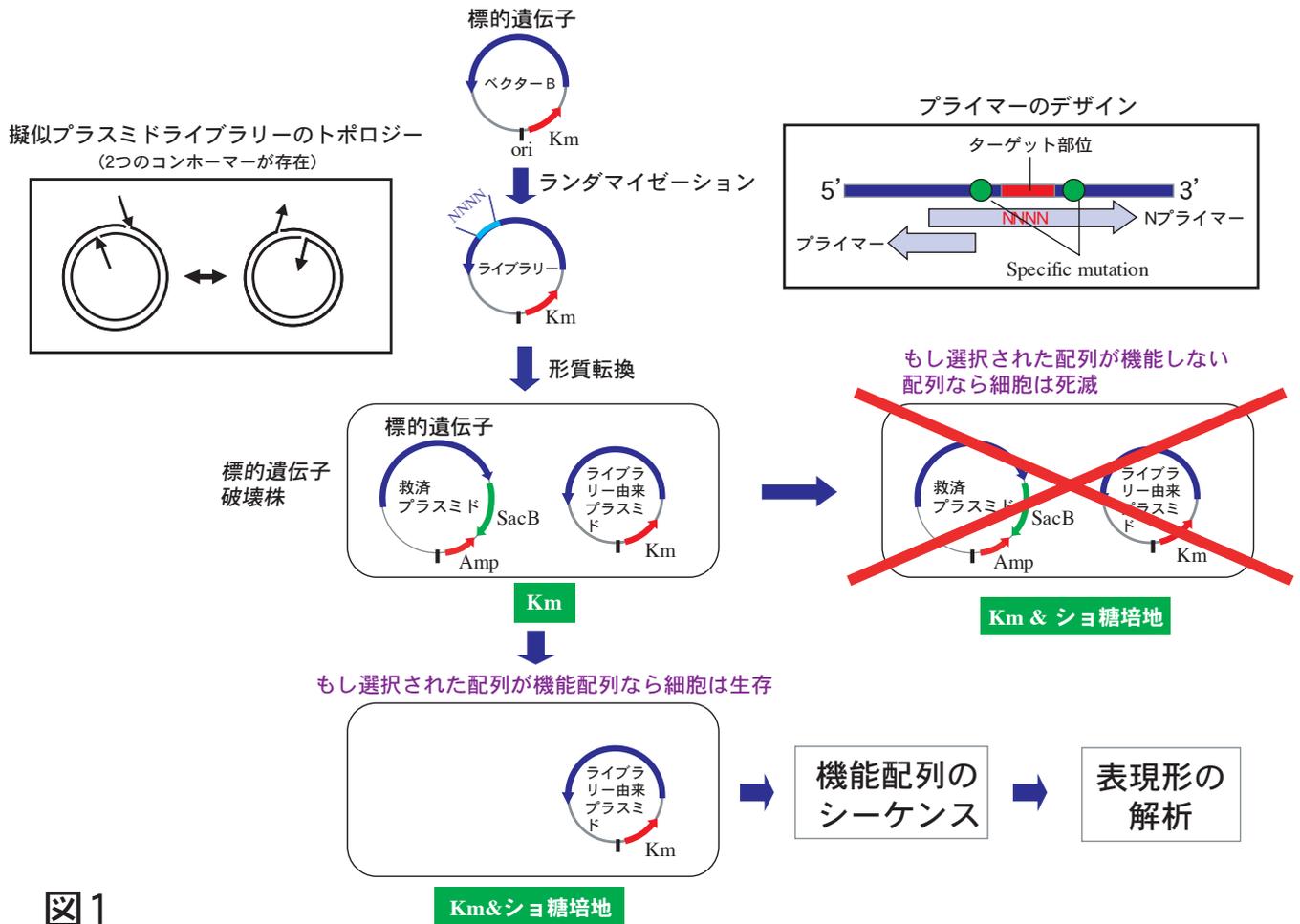
はじめに

SSER 法とは systematic selection of functional sequences by enforced replacement の略であり、遺伝学的な手法を用いてランダムな配列から機能配列のみを迅速にかつシステムティックに選択する方法である。この方法は、完全にランダムな配列からの選択であるために、conclusive な結果が期待でき、研究者の恣意が入りやすい部位特異的変異導入法での解析法に比べて、網羅的かつ迅速な機能解析が可能であるという点で画期的であると考えている。また、進化の過程で脱落したような機能配列や天然のものよりも活性の高い配列が選択される可能性があり、実際に大腸菌での解析にも関わらず真核生物に特異的な配列が選択されたという実例もある。さらに、進化的には保存されている配列が本当に機能に必要であるか否かなどの判別が容易にできる点も大きな利点として挙げられる。私はこの手法をリボソーム RNA 遺伝子に適用し、翻訳反応におけるリボソーム RNA の各機能部位の役割を明らかにすることを目指している。本稿では、SSER 法の概略と、学会や研究報告会では伝えることのできない開発に至るまでの苦労話を紹介させていただいた。

SSER 法の概略

SSER 法では、必須遺伝子かあるいは機能を失うと表現形を生じる非必須遺伝子の機能解析が可能である。図 1 に概略を示した。まず、標的となる遺伝子をプラスミドで導入した上で、ゲノム上の遺伝子を破壊する。破壊した遺伝子は救済プラスミドから供給されるため、必須遺伝子の場合、この株（ホスト）は、救済プラスミド依存的に生存することになる。救済プラスミドには、薬剤耐性遺伝子の他に sacB などの条件致死性の遺伝子を導入してある (sacB は枯草菌が持つ遺伝子で大腸菌ではショ糖培地中で毒性の多糖類を合成する)。救済プラスミドと同じ複製起点を有し、異なる薬剤耐性遺伝子を持つプラスミドに標的遺伝子を組み込んだものをライブラリー作成用のプラスミドとして用いる。ライブラリー化する標的遺伝子の機能部位の両側近傍に非致死性の点変異 (specific mutation) を 1 箇所ずつ導入したものを、鋳型プラスミドとして用いる。図中(右)に

示したような N プライマーを用い PCR 法により機能部位をランダム化する。この時に、N プライマーには 2 箇所の specific mutation 部位を元の配列に戻しておく。こうしておくことで、後にオリジナルな機能配列が選択された場合に、それが鋳型プラスミド由来であるかライブラリーから選択されたものであるかの判断が容易に行える。N プライマーによって増幅したライブラリーは、図中(左)のような擬似プラスミドを形成していると考えられ、大腸菌内でプロセスされ修復されることでプラスミドとして複製できると考えられる。環状プラスミドと比較して形質転換効率は約 1/100 と低いが、制限酵素部位を利用してランダムな配列を組み込むような従来法と比較して、この方法は、ライブラリー化できる場所に制限がない点、スケールアップが容易である点などから、プラスミドのライブラリー化には有効であると考えている。ランダム化できる塩基数 (N 数) には制限はないが、ライブラリーのバリエーションは 4^N 通りになるため、機能配列が非常に少ない場合や、N プライマーによる PCR が難しい場合には制限する必要がある。我々の経験ではこれまでに N = 10 塩基 (1048576 通り) からの機能選択に成功している。さらに長い領域を解析する場合は、doped ライブラリー (完全にランダムにせずオリジナルな配列の割合を増やしたもの) が有効であると考えている。次に、擬似プラスミドライブラリーでホストを形質転換しライブラリー由来プラスミドの薬剤耐性遺伝子でセレクションを行う。この状態では、救済プラスミドとライブラリー由来プラスミドが共存しているが、複製起点の不和合性によって、どちらかが排除される選択圧がかかる。ライブラリー由来プラスミドが機能配列を持っている場合は、救済プラスミドが追い出され、機能配列ではない場合は二つのプラスミドの共存状態が続く。また致死性の配列の場合は、この時点でコロニーが形成されない。したがって、リボソーム RNA 遺伝子の場合、多くの致死性の配列がこの時点で排除されていると考えている。通常このステップは一晚培養することで行うが、活性の弱い機能配列を選択する場合は、ショ糖培地に移す前に、植え継ぎを行いもう一晚培養し、プラスミドを置換する時間を十分に取ってやることが重要である。最終的にショ糖培地で選択を行うことで、機能配列を保持した細胞を得られる。



SSER 法の発案と開発

この方法は、4年ほど前、遺伝子の新しい機能解析法を模索している最中に思いついた。当時は本郷キャンパスに渡辺研があり、町田の玉川学園から片道1時間半かけて通っていた。往復約3時間の通勤時間が私にとっては唯一一人になれる時間であり、あれこれと発想を練りまわすには都合がよかった。現在私が抱えている研究プロジェクトのいくつかはこの通勤時間から生まれたものである。集中している時は、大学から自宅までどうやって帰ったか覚えていないこともしばしばで、鞆を電車の網棚に忘れてきたり、自宅のロックを閉め忘れてきたりなどして、よく妻に怒られたりもした。玉川学園前駅からの暗くて急な上り坂が特に集中できる場所であり、息を切らせながら、体と頭がフル回転するような感覚がある。SSER法もその坂道で思いついた。

発想を現実のものにするには時間がかかった。ポストクの佐藤さとみネウザさんはこの方法を開発する上での最大の功労者であり、彼女がいなければこの方法を実現することは不可能であったと確信している。ネウザさんは、日系三世のブラジル人であり、以前 JICA の研究員として渡辺研

に1年間在籍していたことがある。彼女は血清学が専門で、その時のテーマは梅毒の組換え抗原タンパク質を発現させるというものであり、ちょうど私が三菱化学から渡辺研の助手として戻ってきた時に一緒に研究を行った。たったの一年間であったが、彼女の研究に対する姿勢や実験の段取り考察力など全てにおいて、感嘆させられ、とても強い印象をもった。また、日本人特有の奥ゆかしさを兼ね備え、人気者で研究室でも一目置かれる存在であった。ブラジルでは梅毒が AIDS 患者の日和見感染として大問題であり、彼女は帰国後、抗原タンパク質を用いて梅毒の血清診断法を開発し実用化した。その功績が高く評価され、学位の取得と同時にブラジルで名誉ある賞 (Awarded by Dr. Jose Pinheiro 2001, SBPC, Brazil) を受賞した。

SSER法の開発には、二人三脚でやれる優秀な研究者が必要であった。私は、真っ先に彼女にメールを出し、研究プロジェクトの趣旨を説明したところ、すぐに非常にポジティブな返事が帰って来た。そのわずか3ヵ月後から、彼女にとって2回目の日本での研究生活がスタートした。この方法を開発する上での、最大の難関は、ライブラリーを作成する際に使用した鋳型プラスミドによるバックグラウンドの除去であった。前述したように N プライマーで作成し

た擬似プラスミドライブラリーの形質転換効率は、鋳型プラスミドの約1/100程度であるため、鋳型プラスミドが1%残存しているだけで、形質転換体の約半分は鋳型のプラスミドが入ってしまうことになる。実際にはランダムな配列の中に含まれる機能配列は非常に少ないため(機能的な重要性による)、ライブラリー由来の擬似プラスミドが取り込まれる確立はさらに低くなってしまふ。特にPTaseセンター(2451近傍)の場合、 $4^6 = 4096$ 通りのランダムな配列の中にわずか5通りの機能配列しか存在しないため、100倍も形質転換効率の低いライブラリーの中から0.1%程度の機能配列を選択する必要がある。したがって、鋳型プラスミドの除去がこの手法の全てであり、かなりの試行錯誤が続いた。毎日結果を見ながらのディスカッションを行い、次の作戦を立てた。何度やっても鋳型プラスミドしか選択されず、DNAシーケンサーの前で悔しそうに涙する彼女の姿を何度も見かけた。この苦難を乗り越えられたのは、彼女の抜きん出た才能と決してあきらめない努力の賜物である。最終的には、次の5つの方法を組み合わせることによって、鋳型プラスミドの除去に成功し、ついにSSER法が完成した。

1. DNAメチレーズを用いた鋳型プラスミドのハイパーメチル化により、大腸菌内のヌクレアーゼに分解させる。
2. NプライマーによるPCRの前にターゲット部位にギャップを入れるPCRを行う。
3. NプライマーによるPCR後に制限酵素DpnIによって鋳型プラスミドのみを特異的に消化する(Stratagene社のQuickChange法で用いる方法と同じである)。
4. ラムダエキソヌクレアーゼによる、消化された鋳型プラスミドの断片をさらに分解する。
5. 劣性致死変異を導入した鋳型プラスミドを使用する。5は、一番賢い方法であるが、リボソームRNAの場合、機能部位の変異は優性致死(dominant lethal)である場合が多く、利用できる箇所が限られる。1-4は通常我々が行っている方法である(2はスキップできる場合もある)。個々の技術はこれまでに知られているものであるが、綿密な条件検討といくつかのブレークスルーがなければ確立することができなかった技術であった。

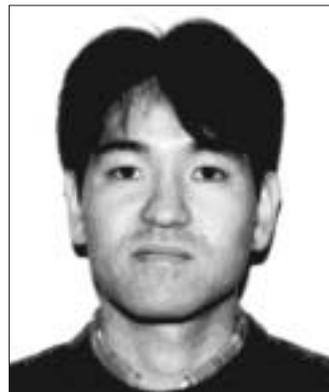
さらに創薬のターゲットとなるタンパク質の活性中心やリガンド結合部位の機能配列をランダムな配列からスクリーニングすることにより、種特異性のないコンセンサスな機能配列が得られる可能性がある

SSER法の可能性

現在手がけているものも含めSSER法で解析を行っているリボソームRNAの機能ドメインは、ペプチド転移反応活性中心(ドメインV大ループ、Pループ、Aループ、H93など)、リボソームタンパク質結合部位(H66など)、翻訳因子結合部位(S/Rループ)、GTP加水分解活性中心(H43-44)、tRNA結合部位(H69など)、サブユニット間相互作用部位(H34、H38、H14など)、暗号解読中心(H44、H18)、翻訳精度調節スイッチ(H27)、アンチSD配列(3' terminus)などである。本特定領域研究の間にはこれら全てのデータをpublishしたいと考えている。

SSER法は、プラスミド上でライブラリーを構築するため、タンパク質遺伝子や他のRNA遺伝子の解析にも適用可能である。また、原理的には大腸菌以外でも酵母などで構築することも可能であり、真核生物の遺伝子の機能解析にも威力を発揮すると期待している。さらに創薬のターゲットとなるタンパク質の活性中心やリガンド結合部位の機能配列をランダムな配列からスクリーニングすることにより、種特異性のないコンセンサスな機能配列が得られる可能性がある。この配列をもつタンパク質に対する阻害剤などをスクリーニングすれば、種間特異性の低い医薬開発に貢献するはずである。このような考え方は種差解析など動物実験を前提とする現代医薬開発の問題点を克服する一つのアプローチになるのではないかと考えている。

この配列をもつタンパク質に対する阻害剤などをスクリーニングすれば、種間特異性の低い医薬開発に貢献するはずである。このような考え方は種差解析など動物実験を前提とする現代医薬開発の問題点を克服する一つのアプローチになるのではないかと考えている。



プロフィール

1996年東京工業大学大学院生命理工学研究科博士課程修了、博士(理学)。三菱化学研究員、東京大学大学院工学系助手を経て1999年より現所属、講師。

鈴木 勉

Tsutomu Suzuki

(東大・新領域・先端生命)

特定領域研究 (RNA 情報発現系の時空間ネットワーク)

領域代表 中村 義一

総括班

評価グループ

志村 令郎 (日本学術振興会ストックホルム研究連絡センター)
堀田 凱樹 (国立遺伝学研究所)
野本 明男 (東京大学 大学院医学系研究科)
谷口 維紹 (東京大学 大学院医学系研究科)

実施グループ

中村 義一 (東京大学 医科学研究所)
松藤 千弥 (東京慈恵会医科大学 医学部)
坂本 博 (神戸大学 理学部)
塩見 春彦 (徳島大学 ゲノム機能研究センター)
渡辺 公綱 (東京大学 大学院新領域創成科学研究科)
横山 茂之 (東京大学 大学院理学系研究科)
饗場 弘二 (名古屋大学 大学院理学系研究科)
伊藤 耕一 (東京大学 医科学研究所)

計画研究

研究項目 A01 RNP マシン (班長: 中村義一)

中村 義一 (東京大学 医科学研究所)
研究課題: 翻訳マシンの分子擬態とプリオン特性の研究

内海 利男 (信州大学 繊維学部)
研究課題: リボソーム機能構造の分子解剖

渡辺 公綱 (東京大学 大学院新領域創成科学研究科)
研究課題: ミトコンドリア翻訳系の特異な分子間ネットワークと機能特性
分担者: 岡田 典弘 (東京工業大学 大学院生命理工学研究科)

井上 丹 (京都大学 大学院生命科学系研究科)
研究課題: リボザイム機能構造のネットワーク

竹中 章郎 (東京工業大学 大学院生命理工学研究科)
研究課題: リボザイム RNA 構造

横山 茂之 (東京大学 大学院理学系研究科)
研究課題: RNA タンパク質複合体構造
分担者: 河合 剛太 (千葉工業大学 工学部)

研究項目 A02 RNA 制御スイッチ (班長: 松藤 千弥)

松藤 千弥 (東京慈恵会医科大学 医学部)
研究課題: 翻訳リコーディング制御

正木 春彦 (東京大学 大学院農学生命科学研究科)
研究課題: RNase による RNA 分解制御
分担者: 尾之内 均 (北海道大学 大学院農学研究科)

水本 清久 (北里大学 薬学部)
研究課題: 5' 末端キャップ構造による mRNA 動態制御
分担者: 稲田 利文 (名古屋大学 大学院理学系研究科)

武藤 あきら (弘前大学 農学生命科学部)
研究課題: tmRNA によるトランス翻訳機構
分担者: 饗場 弘二 (名古屋大学 大学院理学系研究科)

伊藤 耕一 (東京大学 医科学研究所)
研究課題: 翻訳終結制御機構の解明

研究項目 A03 動く RNA (班長: 坂本 博)

坂本 博 (神戸大学 理学部)
研究課題: RNA 結合タンパク質による細胞の増殖分化制御機構
分担者: 渡辺 嘉典 (東京大学 大学院理学系研究科)

萩原 正敏 (東京医科歯科大学 難治疾患研究所)
研究課題: リン酸化によるスプライシングと mRNA 輸送の制御機構
分担者: 谷 時雄 (熊本大学 理学部)

大野 睦人 (京都大学 ウイルス研究所)
研究課題: RNA 核外輸送の多様性と制御機構
分担者: 多比良 和誠 (東京大学 大学院工学系研究科)

井上 邦夫 (神戸大学 理学部)
研究課題: mRNA 局在化の制御機構
分担者: 平岡 泰 (通信総合研究所 関西先端研究センター)

研究項目 A04 高次複合系 RNA 動態 (班長: 塩見 春彦)

塩見 春彦 (徳島大学 ゲノム機能研究センター)
研究課題: 高次機能性 RNA 結合蛋白質によるゲノム情報発現制御
分担者: 塩見 美喜子 (徳島大学 ゲノム機能研究センター)
岡野 栄之 (慶応義塾大学 医学部)

林 純一 (筑波大学 生物科学系)
研究課題: ミトコンドリア tRNA 遺伝子突然変異導入マウスの病態解析と遺伝子治療
分担者: 太田 成男 (日本医科大学 大学院医学系研究科)

阿形 清和 (発生・再生科学総合研究センター 進化再生研究グループ)
研究課題: 発生・再生における RNA 動態
分担者: 中村 輝 (発生・再生科学総合研究センター 生殖系研究チーム)

神津 知子 (埼玉県立がんセンター 研究室・がん治療研究担当)
研究課題: 機能性 RNA と治療デザイン
分担者: 石川 冬木 (京都大学 大学院生命科学系研究科)

剣持 直哉 (宮崎医科大学 フロンティア科学実験総合センター)
研究課題: リボソームの高次複合形質
分担者: 森 茂郎 (東京大学 医科学研究所)

公募研究

研究項目 A01 RNP マシン (班長: 中村義一)

片平 正人 (横浜国立大学 大学院環境情報研究院)

研究課題: hnRNP D、FMRP 及びアプタマーによる
遺伝情報発現制御の分子基盤

嶋本 伸雄 (国立遺伝学研究所 構造遺伝学研究センター)

研究課題: RNA 蛋白複合体の情報発現分子機械としての動的機構

鈴木 勉 (東京大学 大学院新領域創成科学研究科)

研究課題: 新規機能配列選択法を用いたリボソーム RNA の機能解析

善野 修平 (東京大学 大学院理学系研究科)

研究課題: RNAi 関連蛋白質の分子機能と分子間相互作用の解析

竹森 利忠 (国立感染症研究所 免疫部)

研究課題: RNA 結合タンパク質 (snRNP) 複合体を形成
する SMN の解明

分担者: 藤猪 英樹 (国立感染症研究所 免疫部)

高橋 宜聖 (国立感染症研究所 免疫部)

橋本 修一 (国立感染症研究所 免疫部)

中村 和郎 (昭和大学 薬学部)

研究課題: インターフェロン誘導型抗ウイルス機構主要酵
素リボヌクレアーゼ L の構造と機能

原田 和雄 (東京学芸大学 物質生命科学科)

研究課題: RNA- ポリペプチド相互作用のコンビナトリアル解析

三森 経世 (京都大学 大学院医学研究科)

研究課題: 自己抗体が認識する新規 tRNA 結合蛋白
(Wa 抗原 / NEFA / Nucb-2) の解析

分担者: 藤井 隆夫 (京都大学 大学院医学研究科)

田中 真生 (京都大学 大学院医学研究科)

森井 孝 (京都大学 エネルギー理工学研究所)

研究課題: 機能性ミニチュア RNA タンパク質複合体の構築
分担者: 大久保 捷敏 (京都大学 エネルギー理工学研究所)

和田 明 (大阪医科大学 医学部)

研究課題: 大腸菌定常期におけるリボソームの構造と動態
分担者: 吉田 秀司 (大阪医科大学 医学部)

木村 能章 (生物分子工学研究所 構造解析研究部)

研究項目 A02 RNA 制御スイッチ (班長: 松藤 千弥)

今高 寛晃 (理化学研究所 ゲノム科学総合研究センター)

研究課題: 真核細胞の翻訳制御の分子レベルでの解析
: 再構成翻訳開始系を用いて

上田 卓也 (東京大学 大学院新領域創成科学研究科)

研究課題: 翻訳の終結機構の解明

柏原 真一 (筑波大学 応用生物化学系)

研究課題: 精細胞細胞質での mRNA ポリ (A) 鎖伸長による
遺伝子発現制御ネットワークの解析

木保 行雄 (奈良先端科学技術大学院大学 遺伝子教育研究センター)

研究課題: ストレス応答性 RNase である Ire1 と
標的 RNA のユニークな動態

分担者: 河野 憲二 (奈良先端科学技術大学院大学 遺伝子教育研究センター)

都留 秋雄 (奈良先端科学技術大学院大学 遺伝子教育研究センター)

久保 健雄 (東京大学 大学院理学系研究科)

研究課題: 攻撃的なミツバチの脳に感染する RNA ウイル
スの感染ルートと攻撃行動への関与の証明

杉浦 麗子 (神戸大学 大学院医学系研究科)

研究課題: RNA 結合蛋白質を介した MAP キナーゼシグ
ナルの制御に関する分子遺伝学的研究

分担者: 久野 高義 (神戸大学 大学院医学系研究科)

春藤 久人 (神戸大学 医学部)

竹内 薫 (筑波大学 基礎医学系)

研究課題: 酸性分子シャペロンによるウイルス RNP の機能調節
分担者: 永田 恭介 (筑波大学 基礎医学系)

中村 幸治 (筑波大学 遺伝子実験センター)

研究課題: グラム陽性細菌における非翻訳型 RNA による
転写制御機構の解析

星野 真一 (東京大学 大学院薬学系研究科)

研究課題: mRNA の翻訳と分解を制御する新規 G 蛋白質群の機能
分担者: 堅田 利明 (東京大学 大学院薬学系研究科)

仁科 博史 (東京大学 大学院薬学系研究科)

荒木 保弘 (東京大学 大学院薬学系研究科)

山中 伸弥 (奈良先端科学技術大学院大学 遺伝子教育研究センター)

研究課題: p27kip1 および細胞死制御因子の IRES 依存
的翻訳における NAT1 の役割

分担者: 三井 薫 (奈良先端科学技術大学院大学 遺伝子教育研究センター)

米澤 一仁 (神戸大学 バイオシグナル研究センター)

研究課題: RNA 翻訳制御スイッチとして働くラパマイシ
ン標的蛋白 mTOR シグナルの研究

分担者: 吉野 健一 (神戸大学 バイオシグナル研究センター)

徳永 千春 (神戸大学 バイオシグナル研究センター)

研究項目 A03 動く RNA (班長: 坂本 博)

今泉 和則 (奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス研究科)

研究課題: 神経難病発症に関わる異常スプライシング
の分子機構解明とその制御法開発

小保方 潤一 (名古屋大学 遺伝子実験施設)

研究課題: 高等植物における葉緑体 RNA エディティングの分子機構の解明

分担者: 中邨 真之 (名古屋大学 遺伝子実験施設)
若杉 達也 (富山大学 理学部)

片岡 直行 (京都大学 ウイルス研究所)

研究課題: 核内におけるイントロン分解とスプライシング因子のリサイクル機構の解明

片平 じゅん (大阪大学 大学院生命機能研究科)

研究課題: mRNA 核外輸送因子 Tap 関連遺伝子産物の機能解析

斉藤 寿仁 (熊本大学 発生医学研究センター)

研究課題: 核構造と RNA 輸送の分子制御

分担者: 斉藤 典子 (熊本大学 発生医学研究センター)

椎名 伸之 (国立遺伝学研究所 構造遺伝学研究センター)

研究課題: 神経樹状突起 mRNA 輸送複合体を構成する p105 新規タンパク質の機能解析

分担者: 徳永 万喜洋 (国立遺伝学研究所 構造遺伝学研究センター)

志田 壽利 (北海道大学 遺伝子病制御研究所)

研究課題: ヒトレトロウイルスの RNA 輸送複合体の形成と制御
分担者: 博多 義之 (北海道大学 遺伝子病制御研究所)

多田隈 尚史 (早稲田大学 理工学部)

研究課題: 1 分子蛍光イメージング法による mRNA のプロセッシングと核外輸送の解析

分担者: 船津 高志 (早稲田大学 理工学部)

広瀬 豊 (金沢大学 がん研究所)

研究課題: リン酸化 RNA ポリメラーゼ II による mRNA プロセッシング過程の制御機構

水田 啓子 (広島大学 大学院生物圏科学研究科)

研究課題: リボソーム生合成ファクトリーー rRNA 合成からリボソームサブユニット形成まで

吉久 徹 (名古屋大学 物質科学国際研究センター)

研究課題: 核内に存在する成熟体 tRNA の生理的意義の解析 II

研究項目 A04 高次複合系 RNA 動態 (班長:塩見 春彦)

井川 善也 (京都大学 大学院生命科学研究科)

研究課題: Volvox の多細胞体制構築機構の解明を目指した Micro RNA の網羅的解析

影山 裕二 (奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス研究科)

研究課題: ショウジョウバエ高分子量機能性 RNA の網羅的検索

加納 純子 (京都大学 大学院生命科学研究科)

研究課題: RNA によるテロメアヘテロクロマチン制御機構に関する研究

栗原 靖之 (横浜国立大学 大学院環境情報研究院)

研究課題: マウス生殖細胞の高次生物機能を具現する RNA 情報発現ネットワークの研究

坂本 和一 (筑波大学 生物科学系)

研究課題: 線虫の神経特異的低分子 RNA による神経ネットワーク形成の分子機構

分担者: 佐藤 英世 (筑波大学 基礎医学系)

櫻木 淳一 (大阪大学 微生物病研究所)

研究課題: HIV のゲノム RNA 二量体化およびパッケージングに関する解析

佐藤 賢一 (神戸大学 遺伝子実験センター)

研究課題: 動物卵受精による母性 mRNA 翻訳活性化の分子機構
分担者: 深見 泰夫 (神戸大学 理学部)

武井 延之 (新潟大学 脳研究所)

研究課題: 刺激に応答した mRNA 翻訳マシナリーの神経突起への移動と活性化機構

田中 廣壽 (東京大学 医科学研究所)

研究課題: 低酸素応答性選択的スプライシング機構の解明と生体機能調節

分担者: 牧野 雄一 (東京大学 医科学研究所)

野島 博 (大阪大学 微生物病研究所)

研究課題: 翻訳フレームを持たない新規なポリ A プラス RNA 群の機能解析

分担者: 藪田 紀一 (大阪大学 微生物病研究所)

奥崎 大介 (大阪大学 微生物病研究所)

渡辺 雄一郎 (東京大学 大学院総合文化研究科)

研究課題: 植物での RNA 情報の移行および発現制御

研究者名簿

(五十音順, 公募研究については代表者のみ)

(あ)

饗場 弘二 (あいば ひろじ)
名古屋大学 大学院理学研究科
名古屋大学 大学院理学研究科
生命理学専攻 教授
〒464-8602 名古屋市千種区不老町
Tel : 052-789-3653
Fax : 052-789-3001
E-mail : i45346a@nucc.cc.nagoya-u.ac.jp

阿形 清和 (あがた きよかず)
発生・再生科学総合研究センター
進化再生研究グループ 教授
〒650-0047 神戸市中央区港島南町 2-2-3
Tel : 078-306-3085
Fax : 078-306-3385
E-mail : agata@cdb.riken.go.jp

井川 善也 (いかわ よしや)
京都大学 大学院生命科学研究科
統合生命科学専攻 遺伝子動態分野 助手
〒606-8502 京都市左京区北白川追分町
Tel : 075-753-3997
Fax : 075-753-3996
E-mail : ikawa@kuchem.kyoto-u.ac.jp

石川 冬木 (いしかわ ふゆき)
京都大学 大学院生命科学研究科
統合生命科学専攻 細胞周期学分野 教授
〒606-8502 京都市左京区北白川追分町
Tel : 075-753-4196
Fax : 075-753-4197
E-mail : fishikaw@lif.kyoto-u.ac.jp

伊藤 耕一 (いとう こういち)
東京大学 医科学研究所
基礎医科学部門 遺伝子動態分野 助手
〒108-8639 東京都港区白金台 4-6-1
Tel : 03-5449-5309/5308
Fax : 03-5449-5415
E-mail : itopi005@ims.u-tokyo.ac.jp

稲田 利文 (いなだ としふみ)
名古屋大学 大学院理学研究科
生命理学専攻 助教授
〒464-8602 名古屋市千種区不老町
Tel : 052-789-2982
Fax : 052-789-3001
E-mail : p47294a@nucc.cc.nagoya-u.ac.jp

井上 邦夫 (いのうえ くにお)
神戸大学 理学部 生物学科 助教授
〒657-8501 神戸市灘区六甲台町 1-1
Tel : 078-803-5725
Fax : 078-803-5720
E-mail : kunio@kobe-u.ac.jp

井上 丹 (いのうえ たん)
京都大学 大学院生命科学研究科
統合生命科学専攻 遺伝子動態分野 教授
〒606-8502 京都市左京区北白川追分町
Tel : 075-753-3995
Fax : 075-753-3996
E-mail : tan@kuchem.kyoto-u.ac.jp

今泉 和則 (いまいずみ かずのり)
奈良先端科学技術大学院大学
バイオサイエンス研究科 細胞構造学講座
助教授
〒630-0101 生駒市高山町 8916-5
Tel : 0743-72-5411
Fax : 0743-72-5419
E-mail : imaizumi@bs.aist-nara.ac.jp

今高 寛晃 (いまたか ひろあき)
理化学研究所 ゲノム科学総合研究センター
タンパク質構造-機能研究グループ
上級研究員
〒230-0045 横浜市鶴見区末広町 1-7-22
Tel : 045-503-9461
Fax : 045-503-9460
E-mail : imataka@gsc.riken.go.jp

上田 卓也 (うえだ たくや)
東京大学 大学院新領域創成科学研究科
先端生命科学専攻 教授
〒277-8562 柏市柏の葉 5-1-5
Tel : 0471-36-3641,5408
Fax : 0471-36-3642
E-mail : ueda@kwl.t.u-tokyo.ac.jp

内海 利男 (うちうみ としお)
信州大学 繊維学部
高分子工業研究施設 助教授
〒386-8567 長野県上田市常田 3-15-1
Tel : 0268-21-5575
Fax : 0268-21-5571
E-mail : uchiumi@giptc.shinshu-u.ac.jp

太田 成男 (おおた しげお)
日本医科大学 大学院医学研究科
加齢科学系専攻 教授
〒211-8533 神奈川県川崎市中原区小杉町
1-396
Tel : 044-733-9267
Fax : 044-733-9268
E-mail : ohta@nms.ac.jp

大野 睦人 (おおの むつひと)
京都大学 ウイルス研究所
遺伝子動態研究部門 情報高分子化学研究分野
教授
〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町 53
Tel : 075-751-4018
Fax : 075-751-3992
E-mail : hitoohno@virus.kyoto-u.ac.jp

岡田 典弘 (おかだ のりひろ)
東京工業大学 大学院生命理工学研究科
生体システム専攻 教授
〒226-8501 横浜市緑区長津田町 4259
Tel : 045-924-5742
Fax : 045-924-5835
E-mail : nokada@bio.titech.ac.jp

岡野 栄之 (おかの ひでゆき)
慶応義塾大学 医学部
生理学教室 教授
〒160-8582 東京都新宿区信濃町 35
Tel : 03-5363-3746,3747
Fax : 03-3357-5445
E-mail : hidokano@sc.itc.keio.ac.jp

尾之内 均 (おのうち ひとし)
北海道大学 大学院農学研究科
応用生命科学専攻 応用分子生物学講座 助手
〒060-8589 札幌市北区北9条西9丁目
Tel : 011-706-3888
Fax : 011-706-4932
E-mail : onouchi@abs.agr.hokudai.ac.jp

小保方 潤一 (おぼかた じゅんいち)
名古屋大学 遺伝子実験施設
遺伝子解析分野 助教授
〒464-8602 名古屋市千種区不老町
Tel : 052-789-3083
Fax : 052-789-3081
E-mail : obokata@gene.nagoya-u.ac.jp

(か)

影山 裕二 (かげやま ゆうじ)
奈良先端科学技術大学院大学
バイオサイエンス研究科 分子発生生物学講座
助手
〒630-0192 奈良県生駒市高山町 8916-5
Tel : 0743-72-5552
Fax : 0743-72-5559
E-mail : kageyama@bs.aist-nara.ac.jp

柏原 真一 (かしばら しんいち)
筑波大学 応用生物化学系 助手
〒305-8572 茨城県つくば市天王台 1-1-1
Tel : 0298-53-7195,7197
Fax : 0298-53-7195
E-mail : kashiwa@sakura.cc.tsukuba.ac.jp

片岡 直行 (かたおか なおゆき)
京都大学 ウイルス研究所
情報高分子化学研究分野 助手
〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町 53
Tel : 075-751-4785
Fax : 075-751-3992
E-mail : nkataoka@virus.kyoto-u.ac.jp

片平 じゅん (かたひら じゅん)
大阪大学 大学院生命機能研究科
細胞ネットワーク講座 助教授
〒565-0871 吹田市山田丘 2-2
Tel : 06-6879-3211
Fax : 06-6879-3219
E-mail : katahira@anat3.med.osaka-u.ac.jp

片平 正人 (かたひら まさと)
横浜国立大学 大学院環境情報研究院
自然環境と情報部門 助教授
〒240-8501 横浜市保土ヶ谷区常盤台
79-5
Tel : 045-339-4264
Fax : 045-339-4264
E-mail : masakata@ynu.ac.jp

加納 純子 (かのう じゅんこ)
京都大学 大学院生命科学研究所
細胞周期学分野 助手
〒606-8502 京都市左京区北白川追分町
Tel : 075-753-4196
Fax : 075-753-4197
E-mail : jkanoh@lif.kyoto-u.ac.jp

河合 剛太 (かわい ごうた)
千葉工業大学 工学部 生命環境科学科
助教授
〒275-0016 千葉県習志野市津田沼
2-17-1
Tel : 047-478-0425
Fax : 047-478-0425
E-mail : gkawai@ic.it-chiba.ac.jp

木俣 行雄 (きまた ゆきお)
奈良先端科学技術大学院大学
遺伝子教育研究センター 動物細胞工学
助手
〒630-0101 生駒市高山町 8916-5
Tel : 0743-72-5643
Fax : 0743-72-5649
E-mail : kimata@bs.aist-nara.ac.jp

久保 健雄 (くぼ たけお)
東京大学 大学院理学系研究科
生物科学専攻 教授
〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1
Tel : 03-5841-4446
Fax : 03-5800-3553
E-mail : stkubo@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

栗原 靖之 (くりはら やすゆき)
横浜国立大学 大学院環境情報研究院
自然環境と情報研究部門 助手
〒240-8501 横浜市保土ヶ谷区常盤台
79-7
Tel : 045-339-4263
Fax : 045-339-4263
E-mail : kurihara@mac.bio.bsk.ynu.ac.jp

剣持 直哉 (けんもち なおや)
宮崎医科大学 フロンティア科学実験総合センター
実験支援部門 RI実験・機器分析分野 助教授
〒889-1692 宮崎県清武町木原 5200
Tel : 0985-85-9665,1514
Fax : 0985-85-1514(管理室と共用)
E-mail : kenmochi@post.miyazaki-med.ac.jp

神津 知子 (こうづ ともこ)
埼玉県立がんセンター
研究室・がん治療研究担当 主任研究員
〒362-0806 埼玉県北足立郡伊奈町小室
818
Tel : 048-722-1111(ex.4651)
Fax : 048-722-1739
E-mail : kozu@cancer-c.pref.saitama.jp

(さ)

斉藤 寿仁 (さいとう ひさと)
熊本大学 発生医学研究センター
再建医学部門 器官制御分野 助教授
〒860-0811 熊本市本荘 2-2-1
Tel : 096-373-6801
Fax : 096-373-6804
E-mail : hisa@gpo.kumamoto-u.ac.jp

坂本 和一 (さかもと かずいち)
筑波大学 生物科学系
分子細胞生物学研究室 助教授
〒305-8572 茨城県つくば市天王台 1-1-1
Tel : 029-853-4875,4676
Fax : 029-853-4875,4676
E-mail : sakamoto@biol.tsukuba.ac.jp

坂本 博 (さかもと ひろし)
神戸大学 理学部 生物学科 教授
〒657-8501 神戸市灘区六甲台町 1-1
Tel : 078-803-5796
Fax : 078-803-5720
E-mail : hsaka@kobe-u.ac.jp

櫻木 淳一 (さくらぎ じゅんいち)
大阪大学 微生物病研究所
ウイルス感染制御分野 助手
〒565-0871 吹田市山田丘 3-1
Tel : 06-6879-8348
Fax : 06-6879-8347
E-mail : sakuragi@biken.osaka-u.ac.jp

佐藤 賢一 (さとう けんいち)
神戸大学 遺伝子実験センター
遺伝情報解析研究分野 助手
〒657-8501 神戸市灘区六甲台町 1-1
Tel : 078-803-5953
Fax : 078-803-5951
E-mail : kksato@kobe-u.ac.jp

椎名 伸之 (しいな のぶゆき)
国立遺伝学研究所 構造遺伝学研究センター
生体高分子研究室 助手
〒411-8540 静岡県三島市谷田 1111
Tel : 0559-81-6864
Fax : 0559-81-6865
E-mail : nshiina@lab.nig.ac.jp

塩見 春彦 (しおみ はるひこ)
徳島大学 ゲノム機能研究センター
分子機能解析分野 教授
〒770-8503 徳島市蔵本町 3-18-15
Tel : 088-633-9450
Fax : 088-633-9451
E-mail : siomi@genome.tokushima-u.ac.jp

塩見 美喜子 (しおみ みきこ)
徳島大学 ゲノム機能研究センター
分子機能解析分野 助教授
〒770-8503 徳島市蔵本町 3-18-15
Tel : 088-633-9490
Fax : 088-633-9451
E-mail : siomim@genome.tokushima-u.ac.jp

志田 壽利 (しだ ひさとし)
北海道大学 遺伝子病制御研究所
病態部門 感染病態分野 教授
〒060-0815 札幌市北区北15条西7丁目
Tel : 011-706-7543
Fax : 011-706-7543
E-mail : hshida@imm.hokudai.ac.jp

嶋本 伸雄 (しまもと のぶお)
国立遺伝学研究所 構造遺伝学研究センター
教授
〒411-8540 静岡県三島市谷田 1111
Tel : 0559-81-6843
Fax : 0559-81-6844
E-mail : nshima@lab.nig.ac.jp

志村 令郎 (しむら よしろう)
日本学術振興会ストックホルム研究連絡センター
所長
S-171 77 Stockholm, Sweden
Tel : +46-8-5088-4561
Fax : +46-8-31-38-86
E-mail : y-shimura@jpsps-sto.com

杉浦 麗子 (すぎうら れいこ)
神戸大学 大学院医学系研究科
ゲノム科学講座 助教授
〒 650-0017 神戸市中央区楠町 7-5-1
Tel : 078-382-5441
Fax : 078-382-5459
E-mail : sugiurar@med.kobe-u.ac.jp

鈴木 勉 (すずき つとむ)
東京大学 大学院新領域創成科学研究科
先端生命科学専攻 講師
〒 277-8562 千葉県柏市柏の葉 5-1-5
Tel : 0471-36-5401
Fax : 0471-36-3602
E-mail : t-suzuki@k.u-tokyo.ac.jp

善野 修平 (ぜんの しゅうへい)
東京大学 大学院理学系研究科
生物化学専攻 助手
〒 113-0032 東京都文京区弥生 2-11-16
Tel : 03-5841-4404
Fax : 03-5841-4400
E-mail : zenno@biochem.s.u-tokyo.ac.jp

(た)

多比良 和誠 (たいら かずなり)
東京大学 大学院工学系研究科
化学生命工学専攻 教授
〒 113-8656 東京都文京区本郷 7-3-1
Tel : 03-5841-8828
Fax : 03-5841-8828
E-mail : taira@chembio.t.u-tokyo.ac.jp

武井 延之 (たけい のぶゆき)
新潟大学 脳研究所
分子神経生物学分野 助教授
〒 951-8585 新潟県新潟市旭町通 1-757
Tel : 025-227-0615
Fax : 025-227-0814
E-mail : nobtak@bri.niigata-u.ac.jp

竹内 薫 (たけうち かおる)
筑波大学 基礎医学系
感染生物 講師
〒 305-8575 茨城県つくば市天王台 1-1-1
Tel : 029-853-3472,3233
Fax : 029-853-3472,3233
E-mail : ktakeuch@md.tsukuba.ac.jp

竹中 章郎 (たけなか あきお)
東京工業大学 大学院生命理工学研究科
分子生命科学専攻 助教授
〒 226-8501 横浜市緑区長津田町 4259
Tel : 045-924-5709
Fax : 045-924-5748
E-mail : atakenak@bio.titech.ac.jp

竹森 利忠 (たけもり としただ)
国立感染症研究所 免疫部 部長
〒 162-8640 東京都新宿区戸山 1-23-1
Tel : 03-5285-1156
Fax : 03-5285-1156
E-mail : ttoshi@nih.go.jp

多田 隈 尚史 (ただくま ひさし)
早稲田大学 理工学部 物理学科 助手
〒 169-8555 東京都新宿区大久保 3-4-1
Tel : 03-5286-2898
Fax : 03-5286-2898
E-mail : tadakuma@aoni.waseda.jp

田中 廣壽 (たなか ひろとし)
東京大学 医科学研究所
先端医療研究センター 免疫病態分野
助教授
〒 108-8639 東京都港区白金台 4-6-1
Tel : 03-5449-5547
Fax : 03-5449-5547
E-mail : hirotnk@ims.u-tokyo.ac.jp

谷 時雄 (たに ときお)
熊本大学 理学部 生物科学科
生体機能学講座 教授
〒 860-8555 熊本市黒髪 2-39-1
Tel : 096-342-3461
Fax : 096-342-3461
E-mail : ttani@sci.kumamoto-u.ac.jp

谷口 維紹 (たにぐち ただつく)
東京大学 大学院医学系研究科
免疫学講座 教授
〒 113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1
Tel : 03-5841-3375
Fax : 03-5841-3450
E-mail : tada@m.u-tokyo.ac.jp

(な)

中村 輝 (なかむら あきら)
発生・再生科学総合研究センター
生殖系列研究チーム チームリーダー
〒 650-0047 神戸市中央区港島南町 2-2-3
Tel : 078-306-0103
Fax : 078-306-3052
E-mail : akiran@cdb.riken.go.jp

中村 和郎 (なかむら かずお)
昭和大学 薬学部
薬品物理化学教室 教授
〒 142-8555 東京都品川区旗の台 1-5-8
Tel : 03-3784-8199
Fax : 03-3784-8201
E-mail : kazuo@pharm.showa-u.ac.jp

中村 幸治 (なかむら こうじ)
筑波大学 遺伝子実験センター 助教授
〒 305-8572 茨城県つくば市天王台 1-1-1
Tel : 0298-53-6419,7723
Fax : 0298-53-6419,7723
E-mail : nakamura.kouji@nifty.ne.jp

中村 義一 (なかむら よしかず)
東京大学 医科学研究所
基礎医科学部門 遺伝子動態分野 教授
〒 108-8639 東京都港区白金台 4-6-1
Tel : 03-5449-5307
Fax : 03-5449-5415
E-mail : nak@ims.u-tokyo.ac.jp

野島 博 (のじま ひろし)
大阪大学 微生物病研究所
難治疾患バイオ分析部門 教授
〒 565-0871 吹田市山田丘 3-1
Tel : 06-6875-3980
Fax : 06-6875-5192
E-mail : hnojima@biken.osaka-u.ac.jp

野本 明男 (のもと あきお)
東京大学 大学院医学系研究科
病因・病理学専攻 微生物学講座 教授
〒 113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1
Tel : 03-5841-3407
Fax : 03-5841-3374
E-mail : anomoto@m.u-tokyo.ac.jp

(は)

萩原 正敏 (はぎわら まさとし)
東京医科歯科大学 難治疾患研究所
形質発現分野 教授
〒 113-0034 東京都文京区湯島 1-5-45
Tel : 03-5803-5836
Fax : 03-5803-5853
E-mail : m.hagiwara.end@mri.tmd.ac.jp

林 純一 (はやし じゅんいち)
筑波大学 生物科学系 教授
〒 305-8572 茨城県つくば市天王台 1-1-1
Tel : 0298-53-6650/7271(直通)
Fax : 0298-53-6614
E-mail : jih45@sakura.cc.tsukuba.ac.jp

原田 和雄 (はらだ かずお)
東京学芸大学 物質生命科学科
生体分子化学研究室 助教授
〒184-8501 東京都小金井市貫井北町
4-1-1
Tel : 042-329-7550
Fax : 042-329-7550
E-mail : harada@u-gakugei.ac.jp

平岡 泰 (ひらおか やすし)
通信総合研究所 関西先端研究センター
生物情報グループ グループリーダー
〒651-2492 神戸市西区岩岡町岩岡588-2
Tel : 078-969-2240
Fax : 078-969-2249
E-mail : yasushi@crl.go.jp

広瀬 豊 (ひろせ ゆたか)
金沢大学 がん研究所
細胞情報調節研究分野 助手
〒920-0934 金沢市宝町13-1
Tel : 076-265-2764
Fax : 076-234-4510
E-mail : yh620@kenroku.kanazawa-u.ac.jp

星野 真一 (ほしの しんいち)
東京大学 大学院薬学系研究科
生理化学教室 講師
〒113-0033 東京都文京区本郷7-3-1
Tel : 03-5841-4754
Fax : 03-5841-4751
E-mail : hoshino@mol.f.u-tokyo.ac.jp

堀田 凱樹 (ほった よしき)
国立遺伝学研究所 所長
〒411-8540 静岡県三島市谷田1111
Tel : 0559-81-6700
Fax : 0559-81-6701
E-mail : yhotta@lab.nig.ac.jp

(ま)

正木 春彦 (まさき はるひこ)
東京大学 大学院農学生命科学研究科
応用生命工学専攻 分子育種学研究室
教授
〒113-8657 東京都文京区弥生1-1-1
Tel : 03-5841-3080
Fax : 03-5841-8016
E-mail : hmasaki@mcb.bt.a.u-tokyo.ac.jp

松藤 千弥 (まつふじ せんや)
東京慈恵会医科大学 医学部
生化学講座第二 教授
〒105-8461 東京都港区西新橋3-25-8
Tel : 03-3433-1111(ex.2276)
Fax : 03-3436-3897
E-mail : senya@jikei.ac.jp

水田 啓子 (みずた けいこ)
広島大学 大学院生物圏科学研究科
生物資源開発学専攻 教授
〒739-8528 広島県東広島市鏡山1-4-4
Tel : 0824-24-7926
Fax : 0824-24-7926
E-mail : kmizuta@hiroshima-u.ac.jp

水本 清久 (みずもと きよひさ)
北里大学 薬学部 生化学教室 教授
〒108-8641 東京都港区白金5-9-1
Tel : 03-5791-6245
Fax : 03-3444-6198
E-mail : mizumotok@pharm.kitasato-u.ac.jp

三森 経世 (みもり つねよ)
京都大学 大学院医学研究科
内科学講座 教授
〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町54
Tel : 075-751-4379(直通)/4380(秘書室)
Fax : 075-751-4338
E-mail : mimorit@kuhp.kyoto-u.ac.jp

武藤 あきら (むとう あきら)
弘前大学 農学生命科学部
応用生命工学科 教授
〒036-8561 弘前市文京町3
Tel : 0172-39-3592
Fax : 0172-39-3593
E-mail : muto@cc.hirosaki-u.ac.jp

森 茂郎 (もり しげお)
東京大学 医科学研究所
人癌病遺伝子分野 教授
〒108-8639 東京都港区白金台4-6-1
Tel : 03-5449-5299
Fax : 03-5449-5418
E-mail : mori@ims.u-tokyo.ac.jp

森井 孝 (もりい たかし)
京都大学 エネルギー理工学研究科
機能性先進材料研究分野 講師
〒611-0011 宇治市五ヶ庄
Tel : 0774-38-3585
Fax : 0774-38-3516
E-mail : t-morii@iae.kyoto-u.ac.jp

(や)

山中 伸弥 (やまなか しんや)
奈良先端科学技術大学院大学
遺伝子教育研究センター 動物分子工学部門
助教授
〒630-0101 奈良県生駒市高山町8916-5
Tel : 0743-72-5591
Fax : 0743-72-5599
E-mail : shinyay@gtc.aist-nara.ac.jp

横山 茂之 (よこやま しげゆき)
東京大学 大学院理学系研究科
生物化学専攻 教授
〒113-0033 東京都文京区本郷7-3-1
Tel : 03-5841-4392
Fax : 03-5841-8057
E-mail : yokoyama@biochem.s.u-tokyo.ac.jp

吉久 徹 (よしひさ とおる)
名古屋大学 物質科学国際研究センター
助教授
〒464-8602 名古屋市千種区不老町
Tel : 052-789-2950
Fax : 052-789-2947
E-mail : tyoshihi@biochem.chem.nagoya-u.ac.jp

米澤 一仁 (よねざわ かずよし)
神戸大学 バイオシグナル研究センター
分子代謝情報部門 教授
〒657-8501 神戸市灘区六甲台町1-1
Tel : 078-803-5960
Fax : 078-803-5970
E-mail : yonezawa@kobe-u.ac.jp

(わ)

和田 明 (わだ あきら)
大阪医科大学 医学部
物理学教室 助教授
〒569-8686 高槻市大学町2-7
Tel : 0726-84-7023
Fax : 0726-84-7023
E-mail : phy003@art.osaka-med.ac.jp

渡辺 公綱 (わたなべ きみつな)
東京大学 大学院新領域創成科学研究科
先端生命科学専攻 教授
〒277-8562 千葉県柏市柏の葉5-1-5
Tel : 0471-36-3601
Fax : 0471-36-3600
E-mail : kw@kwl.t.u-tokyo.ac.jp

渡辺 雄一郎 (わたなべ ゆういちろう)
東京大学 大学院総合文化研究科
生命環境科学系 助教授
〒153-8902 東京都目黒区駒場3-8-1
Tel : 03-5454-6776
Fax : 03-5454-6776
E-mail : solan@bio.c.u-tokyo.ac.jp

渡辺 嘉典 (わたなべ よしのり)
東京大学 大学院理学系研究科
生物化学専攻 助教授
〒113-0033 東京都文京区本郷7-3-1
Tel : 03-5841-4387
Fax : 03-5802-2042
E-mail : ywatanab@ims.u-tokyo.ac.jp

RNA 関連学会スケジュール 2003

国際シンポジウム 「RNA 研究のフロンティア」

RNA 2003 Kyoto "The New Frontier of RNA Science"

日時：平成 15 年 11 月 24 日(月)～ 27 日(木) (4 日間)

場所：国立京都国際会館

主催：日本 RNA 学会 会長 志村令郎

共催：文部科学省特定領域研究
「RNA 情報発現系の時空間ネットワーク」

財団法人国際科学振興財団

財団法人日本万国博覧会記念協会

RNA 研究のフロンティアを明確にし、21 世紀の新しい RNA 研究へと飛躍発展させることを目的として、国際シンポジウム「RNA 研究のフロンティア」を開催する。本国際シンポジウムは、第 5 回日本 RNA 学会年会と融合して企画し、外国からの招聘研究者 20 数人を含む 300～400 人の規模で開催する。詳細はシンポジウムホームページを参照されたい。

(文責：大野睦人)

シンポジウムホームページ：<http://wwwsoc.nii.ac.jp/rnaj/RNA2003/>

本特定領域研究「RNA 情報発現系の時空間ネットワーク」のホームページで、これまで発行したニュースレターを読むことができるようになりました。

<http://db.shichiou-net.jp/rna/>

編集後記

今年はワトソンとクリックの二重らせんの論文 (*Nature* 171:737-738, 1953) が発表されて 50 年目にあたります。私はこの論文の最後の文章が好きです。

It has not been escaped our notice that the specific pairing we have postulated immediately suggests a possible copying mechanism for the genetic material.

爆発しそうな aggressive さを懸命に押さえ込んでいるとでも言えば良いのでしょうか、カッコイイ文章ですね。

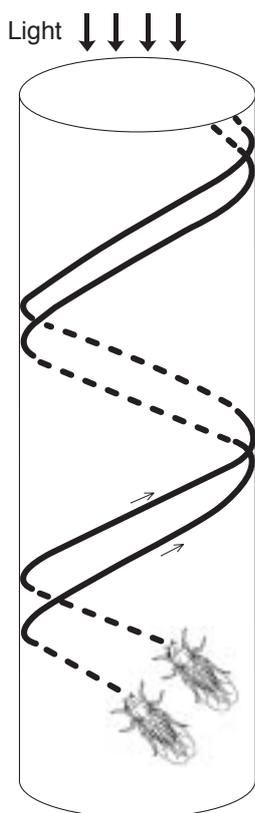
さて、ショウジョウバエには gynandromorph と呼ばれる体の一部分がオスで、残りがメスという雌雄モザイク個体が出現します。これをうまく用いると、たとえば、片方の目だけが見えない個体を作り出すことができます。正常なハエを垂直に立てたチューブの底に入れ、暗闇に置き、真上から光を当てると、まっすぐ上に登っていきます。これは走光性と呼ばれるもので、ハエは両目に入る光強度を均等に保つことでこの光に対する反応を達成しています。片方の目だけが見えない gynandromorph を同様の条件下真上から光を当てると、両目に入る光強度を均等に保とうとする（無駄な）努力の結果、悪い方の目を光に向けてらせん状に登っていきます。したがって、右目の悪い gynandromorph は、この条件下、右巻きらせんを描いてチューブを登っていきます。Benzer の古いエッセイ (*JAMA* 15: 1015-1022, 1971) にこのような gynandromorph に関する記述の後、次の文章が出てきます。

Sometimes, purely for reasons of nostalgia, we put two flies in, and obtain a double helix.

そこで、二重らせんの 50 周年を記念して、ハエによる二重らせんを描いてみました (図)。この右巻きらせんを描いてチューブを登る雌雄モザイクハエを記述した論文 (Yoshiki Hotta & Seymour Benzer, *PNAS* 67: 1156-1163, 1970) の出だしは、以下のようになっています。

The scalpel cleaves a biological system along anatomical lines. Gene mutations may dissect the system in other ways, for instance by deleting a particular enzyme in all of the cells. But genetics can also be used in a manner similar to the scalpel, by creating composite individuals.

シャープな、まさにメスのような鋭利な出だしですね。このような出だしの論文を書いてみたいものです。ところで、すでに気づいている人も多いと思いますが、ハエによる二重らせんは平行に走っています。逆平行にするためにはどのようなトリックを使えばよいのでしょうか？



RNA Network Newsletter

第2巻第1号 (2003年8月発行)

編集人 塩見春彦

発行人 中村義一

発行所 特定領域研究

「RNA 情報発現系の時空間ネットワーク」広報担当

塩見春彦

徳島大学ゲノム機能研究センター

〒770-8503 徳島市蔵本町3-18-15

Tel: 088-633-9450 Fax: 088-633-9451

e-mail: siomi@genome.tokushima-u.ac.jp



**RNA
NETWORK**
2001 ··· 2006



文部科学省科学研究費特定領域研究 RNA情報発現系の時空間ネットワーク

Spatiotemporal Network of RNA Information Flow