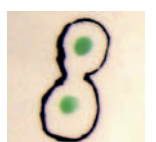


be impossible.

RNA Network Newsletter

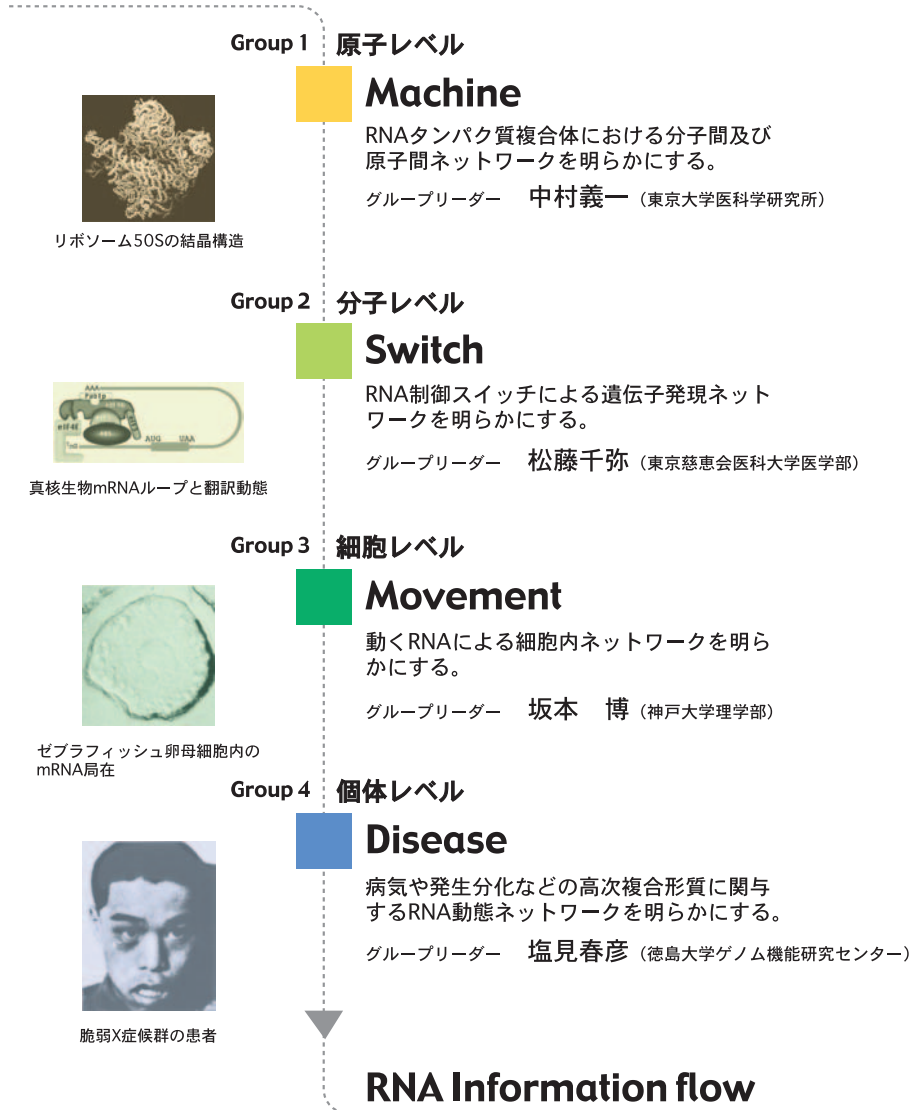
Volume 2. Number 2. January 2004



文部科学省科学研究費特定領域研究 **2001-2006**
RNA情報発現系の時空間ネットワーク
Spatiotemporal Network of RNA Information Flow

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



ヒトの受精卵には、DNAの配列として 3×10^9 bpの情報が詰まっています。これだけの情報を基に 10^{13} 以上の細胞からなる極めて複雑かつ高性能システムであるヒト個体が出来上がります。このために細胞は、変化しないもの(DNA)を基に変化を生み出す機構と均一なものから不均一なものを生み出す機構を持っています。このような多様性と非対称性を創造するために、細胞はRNA上に転写された遺伝情報(RNA情報)を変化させ、さらにその発現場所や発現時期(spatiotemporal)を調節する巧妙な仕組みを持っています。この仕組みが、たとえば、3万足らずの遺伝子数からその十倍にも相当する機能の異なる蛋白質種を作り出し、また、一個の受精卵から機能や形態の異なるさまざまな細胞を作り出すことを可能にしています。

出芽して増える酵母の細胞は一見どれも同じように見えますが、母細胞と娘細胞でその性状(接合型)が異なります。この違いを生み出す仕組み(非対称性の創造)の中核は、ASH1 mRNAの特異的な娘細胞への輸送と局在化、そしてそれに伴う娘細胞におけるASH1蛋白質の特異的な合成であり、これは、ASH1 mRNA-モーター蛋白質-細胞骨格系の相互作用を介して達成されます。

表紙の英文は、J. Monodが1969年に出した「On symmetry and function in biological systems」という論文の最後のセンテンス「For without invariants, without order, without symmetry, science would not only be dull: it would be impossible」をもじったものです。また、ここで使った皿は、田浦徹也さん(京大ウイルス研/伊藤維昭研出身)がポストドク先のPam Silver ラボ(Harvard Medical School)を去る時、当時大学院生だったJennifer K. Hood-DeGrenierにもらったものです。

表紙デザインは、いつものようにJT生命誌研究館の工藤光子さんです。(編集人 塩見春彦)

RNA 2003 Kyoto 「The New Frontier of RNA Science」 (本特定領域研究と日本 RNA 学会との共催) から 中村義一	2
海外からの便り My dear Japanese colleagues and friends, Marvin Wickens	4
スナップショット	6
■みーていんぐりぼーと■	
RNA 2003 Kyoto 片岡直行, 吉村邦泰, 水城史貴, 大内将司	12
RNA 研究若手の会 2003 井上邦夫, 水本祐之, 櫻井玲子	21
第 4 回国際レトロウイルスヌクレオカプシドシンポジウム 櫻木淳一	27
第 26 回日本分子生物学会年会シンポジウム 金井昭夫	30
連載 私の RNA 研究 (第 3 回) 志村令郎	33
随筆: RNA and I	
Hey! mountain 井上 丹	36
It's a Big RNA World 原田和雄	39
Pol II-CTD との出会い 広瀬 豊	42
MAP キナーゼから RNA 結合蛋白質へ 全ては遺伝学の神様のお導きのもと 杉浦麗子	45
RNA への思い 渡辺雄一郎	49
■ RNA Update ■	
特集①: 構造解析 河合剛太, 中村和郎&田中信忠, 永田 崇	52
特集②: 輸送 斉藤寿仁, 志田壽利, 片平じゅん	59
Society 運搬 RNA ? 正木春彦	68
■ New Techniques ■	
とある研究室におけるある日の対話 多田隈尚史	71
■ Business ■	
精密機器メーカーの '元' エンジニアの目から見た RNA ワールド 小林章一	74
夢の新薬, siRNA 嶋本 顕	75

RNA Network Newsletter

Volume 2. Number 2. January 2004

CONTENTS

RNA 2003 Kyoto

「The New Frontier of RNA Science」

(本特定領域研究と日本 RNA 学会との共催) から

中村 義一 (領域代表)

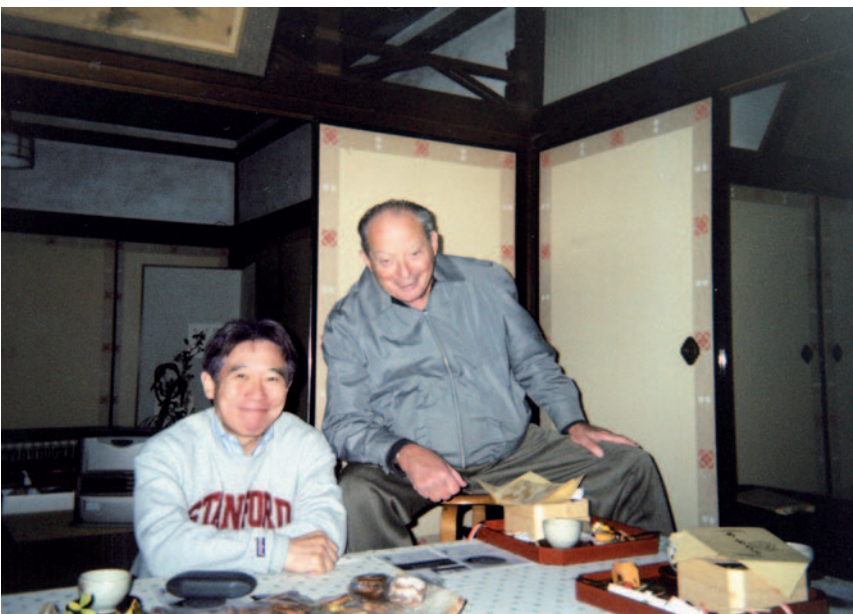
昨年 11 月 24～27 日に京都で開催したシンポジウムの一番最期に座長をつとめた Dr. Iain Mattaj は、「このシンポジウムは scientific にも warm hospitality や management でも素晴らしい集まりだったが、最も感動したのは若者の enthusiasm が満ちていたことだった」と締めくくってくれた。Dr. Charles Yanofsky も、「ポスターセッションの会場に入ったが、途中で何人もの学生につかまって、目指すポスターに到達できなかった」と発言してくれた。Dr. Marv Wicken も同様。世界的な権威も Japan RNA 若者パワーに驚いてくれたようです。これは、シンポジウムを企画した我々にとって「成功したんだ」と実感した瞬間でもあります。世界に Japan RNA 若者パワーを伝えるだけでなく、若手研究者に感動を与え、将来に影響を与える、それはサイエンス以上に素晴らしい成果だと思ふからです。

「ポスターセッションの会場に入ったが、途中で何人もの学生につかまって、目指すポスターに到達できなかった」

私自身を振り返っても、長期に外国留学をしなかったからかもしれないが、国際会議と国際共同研究を通じ、国外に多くの知己を得、研究者としての方向にも大きな影響があったと思う。その最初の機会は、1978 年にハワイで開催された日米微生物学会議に招聘された時。日本からは小川英行先生と大学院修了直後の私、米国からは野村真康・Harrison Echols 両先生が日米双方のスピーカーだった。晴れ舞台で「話す」興奮に感動し、一方で英語の質問がわからずに立ち往生。その時の座長が Charles Yanofsky 先生 (以下 Charley) で、彼とはこの会議から数えて 25 年のつきあいになる。1994 年の生化学会大会で神戸に招聘した際には講演直前に深々としたソファから立ち上がったとたん腰をギックリ。急遽、腰高のイスを探して半掛けで講演してもらったが、見事に論理的な講演をしてくれた。その後はもちろん私が Charley の車椅子を押すことになったのだが、。

Charley は論文の表現にも極めて厳格。2000 年に我々が発表した「ペプチド・アンチコドン」の論文 (Nature 403:680) は、投稿前に Charley にメールで査読を依頼。その直後に彼からメールの返信。

"I had a few spare minutes and started to read the summary of your paper. Unfortunately I found the summary to be unintelligible. The statements are not understandable, some of the abbreviations are confusing, and the english is poor. There is no way that a journal like Nature would consider such a paper ---"



シンポジウム前日、東大寺龍松院・筒井寛秀長老宅訪問、Charley Yanofsky と私。

会心作と信じていたのに、大ショックをうけた翌日、再び彼からメール。

"Great! The findings in the paper are spectacular and extremely interesting, therefore I feel that it is desirable to make the data as presentable and understandable as possible. ---"

それから苦心惨憺。今でも重要な論文は Charley に査読を依頼するが、常に手厳しい。多分、生涯、論文表現で褒められることはないだろう。

Dr. John McCarthy (以下 John) と知りあったのも 1990 年のゴスラー(独)でのワークショップ("Posttranscriptional Control of Gene Expression")。このワークショップはテーマ別に開催されていた当時の RNA ミーティングとは異なり、統合的な理解を目的に転写後調節の関係者が初めて一堂に会した国際会議。今我々が掲げる「RNA 情報発現系ネットワーク」の幕開け時の情報だったのだが、無知(無垢?)だった私の脳みそに、初めて RNA とネットワークが浸透し、新しい視野が開けた印象深い会議である。そのオーガナイザーだった John とはそれ以来の盟友。今回も奥さんの出産の最中にも係わらず、京都へ駆けつけてくれた。

国際的にトップレベルの研究をするには国際会議の経験はとても重要です。本特定領域研究が、研究の進展は勿論のこと、新しい研究や研究者との「出会い」や「感動」をもたらすことができるようにあって欲しいと願っています。

最期に RNA 2003 Kyoto シンポジウムの企画・運営に尽力頂いた関係者と資金援助頂いた財団・企業に対して厚くお礼申し上げます。



Mathias Springer ファミリーと



シンポジウム記念グッズ
「リボソーム・ペーパースタンド」
("Ribosomes, beyond the good old days ---")
製作:伊福真治(モデル製作・モデルフィニッシャー)



リボソームに似ている
龍安寺石庭の石

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)

◆ 海外からの便り ◆

My dear Japanese colleagues and friends,**Marvin Wickens**

I am delighted to have this chance not only to thank you for your hospitality at RNA 2003 Kyoto, but also to convey my excitement about RNA work in Japan. The Kyoto meeting captured this exhilarating moment in the RNA Research World beautifully. RNA machines and architecture, killer bees, meiotic dots, RNAi, mRNA control and decay, links to human disease — the list of exciting science presented at the meeting was extraordinary. RNA 2003 Kyoto presented RNA in all its guises, and brought home the rich diversity of RNA work in Japan. My thanks to all of you for an exceptional four days.

I also congratulate you, as well as the MEXT, for funding your work as a community, and for fostering interdisciplinary work so effectively. RNA now permeates biology, and RNA research is now more diverse and relevant than ever. New investigators all around the world have been drawn to RNA. Biochemistry, molecular biology, developmental biology, neurobiology, structural analysis — they all meet in understanding how RNAs work and are controlled. The work ranges from the most basic to the most applied, from work in universities to the clinic. The title of your own program — "Spatiotemporal network of RNA information flow" — crystallizes this merger of disciplines. Your community has made Japan a vital participant in the RNA explosion. You have laid an exceptionally strong, broad foundation. With continued, strong support, the future of the RNA World in Japan is exceptionally bright.

But it was not just the high quality of the science that made the meeting special. It was also the spirit and energy of students and young professors, eager to talk about their work. This newsletter no doubt captures this energy — I only wish it were in English. My great thanks to Drs. Shimura, Nakamura and Ohno, and to everyone else who were so welcoming — including the many

grad students and faculty who pulled me aside to talk. I know I speak for all of your foreign guests in saying that we look forward to a meeting of the International RNA Society in Japan someday.

Of course, in addition to the science and all of you, Kyoto itself helped make the meeting so extraordinary. With apologies to Basho, I wish you all well, and good luck to you and MEXT in sustaining the remarkable strength of RNA research in Japan.

(MEXT : The Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology)

プロフィール

Professor of Biochemistry,
University of Wisconsin-
Madison. Past President
(2002) of The RNA Society.

Marvin Wickens

Fallen leaves coat Kyoto's autumn moss.
Yet the persimmons glow,
Friends meet,
And RNA blooms.

苔を彩る散り紅葉。
柿熟れる京に集ひて、
RNA それぞれに花開く。

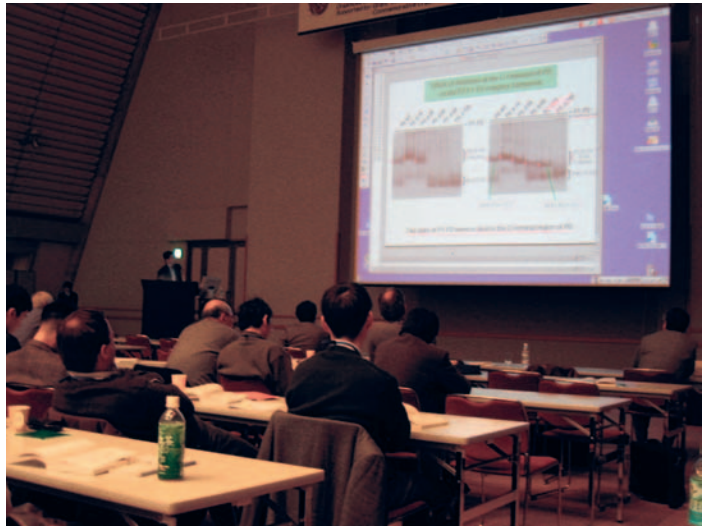
(The Japanese translation used here is by Yaeko 八重子)



RNA 2003 Kyoto



Joachim Frank



セッション風景



横山 茂之
(Shigeyuki Yokoyama)



Iain Mattaj



Charles Yanofsky



Mathias Springer



Witold Filipowicz



志村 令郎
(Yoshiro Shimura)



塩見美喜子
(Mikiko Siomi)



Jnanankur Bag



山本 正幸
(Masayuki Yamamoto)



中村 信吾
(Shingo Nakamura)



Roy Parker



Lynne Maquat



Glauco Tocchini-Valentini



吉田 秀司
(Hideji Yoshida)



大野 茂男
(Shigeo Ohno)



鈴木 仁
(Hitoshi Suzuki)



James Manley



西村 泰介
(Taisuke Nishimura)



伊藤 維昭
(Koreaki Ito)



Gideon Dreyfuss



中村 輝
(Akira Nakamura)



岡田 典弘
(Norihiro Okada)



Pamela Green



Cecilia Arraiano



藤幸 知子
(Tomoko Fujiyuki)



開演前

RNA Network



Gideon Dreyfuss
バックステージ



井上 邦夫
(Kunio Inoue)



Iain Mattaj



廣瀬 哲郎
(Tetsuro Hirose)



Gideon Dreyfuss



Iain Mattaj



Charles Yanofsky



Roy Parker



Hans Gross



Richard Buckingham



セッション中

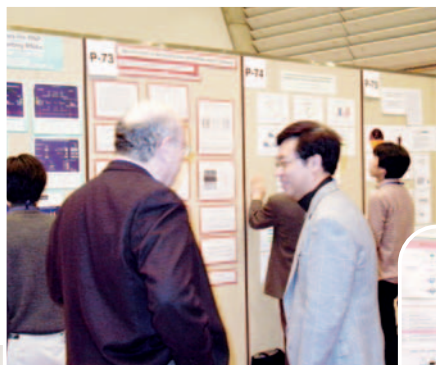


志村令郎 (Yoshiro Shimura), Nahum Sonenberg



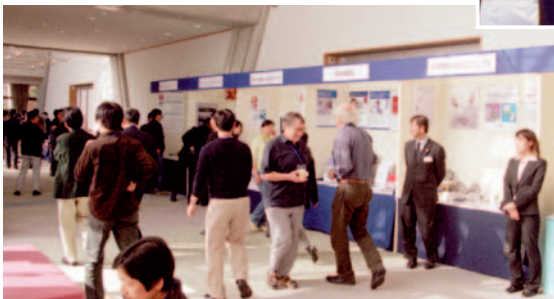
コーヒープレイク:顔が見えるのが、左から
嶋本伸雄 (Nobuo Shimamoto), Mathias Springer
渡辺公綱 (Kimitsuna Watanabe)

ポスター会場

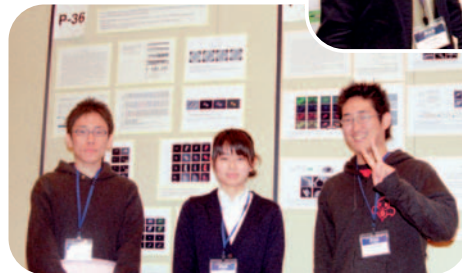


Gideon Dreyfuss
片岡直行 (Naoyuki Kataoka)

石橋綾子 (Ryoko Ishibashi)
東あすか (Asuka Azuma)
井上邦夫 (Kunio Inoue)



展示ブース



吉田准一 (Jun-ichi Yoshida)
石橋まさき (Masaki Ishibashi)
水城史貴 (Fumitaka Mizuki)

Banquet



中央 坂本 博 (Hiroshi Sakamoto)



中央 中村義一
(Yoshikazu Nakamura)



Matthias Hentze



左から 山本正幸 (Masayuki Yamamoto), 中村義一 (Yoshikazu Nakamura)
坂本 博 (Hiroshi Sakamoto), 大野睦人 (Mutsuhito Ohno)
志村令郎 (Yoshiro Shimura), 谷 時雄 (Tokio Tani)



中央 Kiyoshi Nagai, 関根光雄 (Mitsuo Sekine)
井上 丹 (Tan Inoue)



剣持直哉 (Naoya Kenmochi), 上地球代 (Tamayo Uechi)
稲田利文 (Toshifumi Inada), 藤原俊伸 (Toshinobu Fujiwara)



大石薫子 (Kaoru Oishi)
松藤千弥 (Senya Matsufuji)
東 牧子 (Makiko Azuma)



Hans Gross, 菊池 洋 (Yo Kikuchi)



片岡直行 (Naoyuki Kataoka), Hans Gross
山本正幸 (Masayuki Yamamoto)
大野睦人 (Mutsuhito Ohno)



藤原俊伸 (Toshinobu Fujiwara)
Colin Crist



大野睦人 (Mutsuhito Ohno), Iain Mattaj



中村義一 (Yoshikazu Nakamura)
Charles Yanofsky
Margaret Buckingham

河合剛太 (Gota Kawai)
多比良和誠 (Kazunari Taira)
中村幸治 (Kouji Nakamura)



Nahum Sonenberg



饗場弘二 (Hiroji Aiba) と Mathias Springer ファミリー



左から Matthias Hentze, Glauco Tocchini-Valentini,
Iain Mattaj, 志村令郎 (Yoshiro Shimura), Pamela Green

Excursion



左から3人めから 芳本 玲 (Rei Yoshimoto), 中村義一 (Yoshikazu Nakamura)
Alison Gordon, Richard Buckingham, 増山 郁 (Kaoru Masuyama),
福家浩之 (Hiroyuki Fuke), 馬淵直人 (Naoto Mabuchi), 谷口一郎 (Ichiro Taniguchi)
Witold Filipowicz, Christian Thoma, The Hentzes', 大野睦人 (Mutsuhito Ohno)
Iain Mattaj



清水の舞台 右から
片岡直行 (Naoyuki Kataoka), Iain Mattaj
John Hershey, Glauco Tocchini-Valentini
Charles Yanofsky



Iain Mattaj, Marv Wickens
Gideon Dreyfuss



Richard Buckingham
Alison Gordon



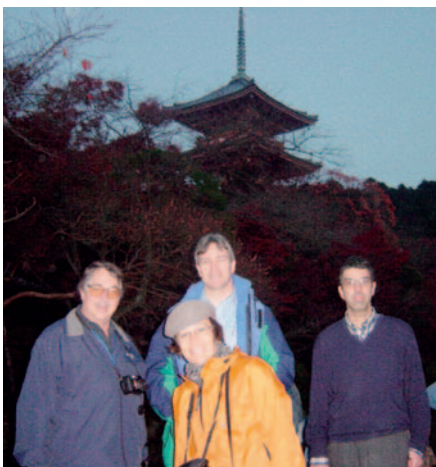
John Hershey
Cecilia Arraiano, Roy Parker



The Hentzes'



Hans Gross
羽原靖晃 (Yasuaki Habara)



John Hershey, Lynne Maquat
John McCarthy, Reuven Agami



夜の先斗町: Marv Wickens
塩見春彦 (Haruhiko Siomi)
Glauco Tocchini-Valentini



京の夜
谷 時雄 (Tokio Tani), 中村義一 (Yoshikazu Nakamura)
Glauco Tocchini-Valentini, 片岡直行 (Naoyuki Kataoka)
Cecilia Arraiano, Iain Mattaj, Marv Wickens
松藤千弥 (Senya Matsufuji)

写真提供: 白石英秋, 藤原俊伸, Marv Wickens

◆ みーていんぐりぼーと I ◆

RNA 2003 Kyoto ①

京都は燃えているか？

— RNA2003 KYOTO 見聞録 —

片岡直行 (京都大学ウイルス研究所)

2003年の11月24日から27日まで、「RNA 2003 KYOTO "The New Frontier of RNA Science"」が京都で開催された。今年の秋は京都も暖かい日が多く、紅葉も遅れがちであったが、この会議の頃には山々がようやく色づき始めた。会議が行われた国立京都国際会館（写真1）の周りには木々の多いところであり、そここに秋の気配が漂う中で会議となった。アメリカに本拠を置く RNA Society はその年會を毎年アメリカやヨーロッパで開催し、日本からも多くの RNA 研究者が参加している。筆者もこれまでに何度か参加しているが、多くの大学院生やポスドクを含め1000人以上が参加する、大規模で活気のある会議である。ご承知の通り日本でも日本 RNA 学会による年會が毎年行われている。今回の RNA 2003 KYOTO は、第5回の年會とリンクしているが、日本 RNA 学会が主催し、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」が後援する国際会議となった（写真2, 3）。これまでの年會とは異なり、招待講演者や一般参加者が海外からも数多く参加し、参加人数は370人を超えた。国内外の講演者により50題の口頭発表と152演題のポスター発表とが行われ、非常に活気のある会議になった。今回筆者は学会の会場係としてお手伝いすることになった。学会を裏方の側から見たのはこれが初めてであり、非常に新鮮で貴重な経験となった。今回、塩見春彦編集長より、RNA News Letter に本会議に

ついて書くように依頼があったので、参加者であり裏方でもあった筆者なりに感じたことを述べたいと思う。

今回の会議では海外からの招待講演者が21人を数えた。RNAに関わる研究をされている第一線の方達ばかりである。筆者もこれまで会ったことのない方々に会えること、またこれまでに会ったことがある方たちに日本で再会できることが非常に楽しみであった。ここからしばらくは個人的な話で恐縮だが、筆者がアメリカで研究をしていたときのポス、Dreyfuss 博士（ペンシルヴァニア大学）も招待講演者に入っていた（ちなみに塩見ご夫妻の元ポスでもある）。ほぼ2年前に筆者が彼の研究室を去って以来再会しておらず、彼の参加を楽しみにしていた。彼も相変わらず多忙な日々を送っているようで、参加を受託してから長い間連絡がなく、本当に来てくれるのか、という心配があった。学会の事務の方では手続きの都合上、彼がどの便でいつ日本に来るのか、いつまで滞在するのか、いつどの便で帰国するのかを早く知る必要があり、かなりやきもきされたようである（筆者は事務的なことや会議準備には全く携わっていなかったが、そのことは身近に感じられた）。自分の元ポスであるので、何かと彼や彼の秘書さんと e-mail で連絡を取り合ったり、彼が直接僕に国際電話をしてくれたりといういろいろあったが、何とか無事に参加し、面白い発表をしてくれたのでほっとした。やはり今回のように海外から招待講演者を多数呼ぶ場合、いろいろと手続きや連絡など事務の方は大変である。個人的には彼の京都観光を案内し、夕食を共にできたので満足している。ただ Thanksgiving を家族と過ごせるように、と会議の最終日を待たず早めに帰ったあたりは、さすがはアメリカ人、と感心してしまった。

さて、肝心の会議であるが、最初に東京大・医科研の中村義一教授より開会の挨拶が行われた。前に述べたように、筆者は何度か RNA Society の年會に参加する機会があったが、この会議が日本で開催される日がいつか来るだろうか、と考えることが多かった。開会の挨拶を聞きながら、日本でも RNA Society の年會の



写真2：会議秘書である東牧子さんと筆者

ような、第一線の国内外の研究者が参加する RNA 国際会議が開かれ、自分がその場に居合わせることができたことを非常に嬉しく感じた。これは裏方としても参加することと関係があったかもしれない。続いて志村令郎会長から Keynote address があった。これまでに御自身が関わってこられた RNA に関する研究を振り返って話されたが、特に筆者やそれ以降の若い世代の人たち（筆者を含めることに異論がある方もいるかもしれない）にとって、教科書を読むよりも、分子生物学の歴史が生き生きと感じられるお話だったと思う。会長のお話の中には筆者が行った研究内容もあり、懐かしさを感じたが、同時にあのところ自分がいかに未熟であったかということ思い出すことにもなってしまう、なんとも面映ゆい思いがした。

この会議では、口頭発表がいくつかのセッションに分かれ、朝 9 時から途中昼食を挟んで夕方 6 時頃まで行われた。セッションの内容はプロセシングや輸送はもちろん、安定性や翻訳、リボソームや RNP の構造、microRNA など、RNA 研究にふさわしい幅広いものとなった。中には EMBL の Mattaj 博士のように、現在は RNA に関するのではなく、Ran が関与する細胞分裂後の核膜再生機構について発表する人もいて、わざわざ RNA ナットイコール Ran と断って話していた。真核生物の場合 RNA は核内で合成されるので、核がどのように形成されるかは、あながち関係ないとは言えない気もする。この懐の広さが RNA 研究の醍醐味だと思うのは筆者だけだろうか？ 筆者は主に真核生物の mRNA プロセシングや輸送について研究しているため、どうしてもそちらに偏ってしまうのだが、Columbia 大の Manley 博士のスプライシング調節因子 SRp38 についての話は面白かった。SRp38 にはリン酸化型と脱リン酸化型があり、脱リン酸化型が強くスプライシングを阻害する。そして、SRp38 は細胞周期の M 期に脱リン酸化されるため、M 期ではスプライシングが阻害されていると考えられている。さらに熱ショックによって SRp38 の脱リン酸化が引き起こされ、熱ショック下でのスプライシング阻害に関わることを報告した。この因子一つですべての説明がつくかどうかはわからないが、スプライ

ホットなサイエンスはポスター会場で行われていた

シングと他の過程の新たな共役としては面白い。またアリゾナ大の Parker 博士は、スプライシングが完了せずイントロンがラリアット構造を形成した状態で反応が止まっている mRNA 前駆体は、ラリアット構造が解消された後両端から分解されていくということを報告した。分解に関わる因子は細胞質に存在するため、このような分解は細胞質に輸送されて後に起こることが強く示唆された。スプライシングは核で起こる反応だが、その品質管理機構が細胞質にも存在するという事は非常に興味深い。これらの話は論文になることがすでに決まっているものだろうが、それでも論文として出てくる前にデータを見て話を聞けるのは貴重である。また、スタンフォード大の Yanofsky 博士は、主に枯草菌のトリプトファン合成酵素遺伝子発現系を用いた遺伝子発現調節機構を発表した。博士の業績は学生時代から教科書等で読んでいたものの、本人を見るのは初めてで興奮してしまった。古き良き時代の科学者を思わせる、という感想は失礼に当たるだろうか。

口頭発表の他にもポスター発表が二日に渡って夕食後に行われた。ポスター会場には飲み物や食べ物が用意されており、

非常にリラックスした雰囲気では発表・討論が行われた。一応使用言語は英語のはずであるが、日本人参加者が多いため、ポスター発表では日本語で説明する人がほとんどであったようだ。しかしながら、海外からの招待講演者も熱心にポスターを見てまわり、大学院生やポスドクが自分の仕事をなんとか英語で説明しようとする姿があちこちで見受けられた。英語で説明をすることは自分の英会話能力を実感する上でももちろんいい経験になったと思う。しかしそれだけではなく、普段は論文で名前を見るだけの海外の第一線の研究者に、直接会って討論ができるということは貴重な経験になったのではないだろうか。筆者も大学院生時代に RNA Society の年会に参加し、そういう人たちを目の前にしたときはミーハーになったものである。そういう意味では日本にいながらにしてそういう経験ができた大学院生やポスドクの人たちがうらやましかったりもする。老婆心ながら今回の経験を生かしてほしいと思う。



写真 1：会場である国立京都国際会館



写真 3：セッション風景

この会議の3日目の午後を使って、エクスカージョンが行われ、サイエンスだけではなく秋の京都観光を楽しむ時間も設けられた。11月の終わりということで京都は観光シーズン真っただ中である。2台のバスに分乗して京都市内を回ったが、やはり他府県からの車が多く、移動には思ったより時間がかかってしまった。まず竜安寺に行って枯山水で有名な石庭を眺め、そこから三十三間堂へと回った。三十三間堂には千体の仏像が安置されている。少しずつ手の格好や持っている物の異なる千体の仏像が整然と安置されている様子は、かなりインパクトがあったようだ。それから二年坂、三年(産寧)坂を登って清水寺へと向かった。この坂の両側には土産物屋が多く並んでいて途中見入ってしまう人も多く、また観光シーズンのためものすごい人手ではぐれそうになる人もかなりいた。清水の舞台から下を見て「清水の舞台から飛び降りたつもり」がどれくらいの覚悟かを体験し(ものすごく大きなグラントを申請するときの心境か、と聞いてきた人がいたが、これもサイエンティストであるが故のご愛敬だろう)、さらに高台寺の庭のライトアップへと向かった。このコースは少々強行軍であったが、参加者に話を聞く限り好評であったように思える。そしてその後はホテルでの大広間でのバンケットへと続いた。バンケットは立食形式で気楽にあちこちに移動して話すことができ、食事も豪華でみんな楽しめたようだ。この日は会議の日程中でもリラックスした午後となった。

最終日は二つのセッションの後、京都大・ウイルス研の大野睦人教授から閉会の辞があり、盛会のうちに会議は終

了した。今回のRNA 2003 KyotoはRNA Societyの年会比べれば参加人数、演題数共にその規模は約1/3である。しかし、国内外からの第一線の研究者による口頭発表と討論や、ポスター会場での熱い討論は、その内容、熱気共に海外でのmeetingに決して引けを取らないものであったと確信する。最後のセッションの座長であったMattaj博士も、セッションの締めくくりとして次のようにコメントした。「ホットなサイエンスはポスター会場で行われていた。」とお世辞を差し引いたとしても、日本の研究者や研究者予備軍のサイエンスに対する意気込みが認められた気がした。ああこの会議は成功だったな、と感じたのは筆者だけではないだろう。表題の問いかけにはもちろんイエス、と答えたい。

最後に、筆者は会場係としてお手伝いさせていただいたが、志村令郎会長、そして中村義一、大野睦人両教授を始めとする準備委員会の諸先生、さらに会議秘書である東牧子、大石薫子両女史のご尽力に比べれば微々たるものである。この方々の存在なくしては今会議の成功はあり得なかったことをここに明記し、あらためて御礼申し上げて筆を置くことにしたい。

プロフィール

1995年京都大学理学研究科博士後期課程修了、博士(理学)。
University of PennsylvaniaでのPost-doc, Research Associateを経て2002年3月より現所属。助手。

片岡直行

Naoyuki KATAOKA

(京都大学ウイルス研究所)

◆ みーていんぐりぼーと I ◆

RNA 2003 Kyoto ②

国際シンポジウム RNA 2003 Kyoto に参加して

吉村 邦泰 (東京慈恵会医科大学)

本ミーティングレポート執筆依頼を承った際、ある方面から、学会への個人的な思いの丈をガツンとぶつけて良いとの御墨付きを頂いた。が、なにぶん小心者なので、ほどほどに本シンポジウムに参加して思ったこと、感じたことを書くことにする。紅葉や古都の町並みや、excursion, banquetの様子については、きっと他の方が報告して下さると思う。

日本RNA学会が発足して5年。私自身が参加したのは

第2回年会からだが、学会発足の胎動期を担ったRNA研究者若手の会から、回を重ねて行く毎に規模、質ともに成長して、ついに今回はRNA 2003 Kyoto ~ The New Frontier of RNA Science ~という横文字の立派なタイトルを冠した盛大な国際シンポジウムとなった。転写後調節、RNAの分子機能動態の分野でこれほど錚々たるメンバーが日本に集まるのは、96年箱根の王子セミナー、97年かずさのtRNAワークショップ以来ではなかろうか? シンポジウム案内のポスターやプログラムを見るだけでワクワクしていた。事

前にプログラムを見てみると・・・うーむ、一見何の変哲もないが、実はよく考えて組まれてるなあ…こりゃ、途中参加とか途中で帰るとかできないな…飲みにくり出すとしたらこの日だな…で、場所は河原町だな…いつかは先斗町に行ってみたいなあ…と、思考がどんどん脱線しつつも京都国際会議場へいざ！

受付を済ませて大ホールへ・・・見渡すと、お、ナーラムだ、リンだ、ジョンだ、チャーリーだ（心の言葉なので、敬称略、順不同である）と、ミーハーな気分で開始を待つ。いよいよスタート。まず東大医科研の中村先生の開会の挨拶があったが、例の Science 誌の表紙をはじめとする多少見飽きた感のあるスライドに加えて、RNA 研究をルネサンスとかけたスライドを紹介されていた。Renaissance で RNA と言うわけである。正直なところ、これがアリなら何でも許されるじゃないかという強引なこじつけだと思ったが、RNA 研究の現在を實的に表現している言葉だと思った。今更であるが、ルネサンスとは再生的な新しい価値の創造という意味である。古典的な生体分子である RNA が、近年、生命現象への関与の多様性から注目され、その動態に着目した新しいパラダイムが次々に明らかになっている様は、まさに生命科学におけるルネサンスと言える。ルネサンスのけん引役として現在脚光を浴びている RNA 研究の花形は、何と言っても siRNA であろう。そして続く流れとして miRNA をはじめとする non-coding RNA の研究が注目されはじめている。今回のシンポジウムでも、これら花形研究の発表が沢山あり、この分野の盛況ぶりを物語っていた。

今更であるが、ルネサンスとは再生的な新しい価値の創造という意味である。古典的な生体分子である RNA が、近年、生命現象への関与の多様性から注目され、その動態に着目した新しいパラダイムが次々に明らかになっている様は、まさに生命科学におけるルネサンスと言える

さて、シンポジウム全体の感想であるが、招待講演は1人30分とたっぷり時間がとられていたおかげで、どの講演も分かりやすく丁寧な研究紹介であった。レビュー的なお話が多かったため、何となく知ってる、もしくは分かったつもりになってる分野について、バックグラウンドから整理して知識を深められたのは非常に有意義であった。よく分かんないから興味をもてない、といった食わず嫌いの解消にもなったと思う。そう言う点で、今回のシンポジウムは私にとってはもちろん、学生の人やこれから RNA 研究に参加する人達にとって大変勉強になるいい機会だったのではないかと。その一方、一般演題の時間は質疑応答込みで15分しかなく、いずれの発表も駆け足だったのが残念である。シンポジウムや班会議でいつも感じることなのだが、個人的には、有名なテーマで有名なジャーナルに載るお話より、一般演題の方が実験系や結果の解釈などが新鮮でおもしろい事が多く、聞いて得した感が大きい。海外からの招待講演を5分削ってでも、せめて20分は用意してほしい。

また、学会の規模が立派になって盛大な国際シンポジウム開催される事は非常に喜ばしいことであるが、今回は、若手研究者の活発な学会参加の雰囲気がすっかり鳴りをひそめてしまっていた。これは本学会の大きな特色の一つであるはずだったのに、シンポジウムからバンケットまで「えらい」先生方のための場になってしまっていた。恥ずかしい話ながら、これまでも私自身は積極的に参加する事はなかったのだが、自分の同世代や近い世代の人達が学会を盛りたてて引っ張って行っているのを、一歩外から見るのが大好きだったので、その色が薄れてしまっていたのは非常に残念だった。今回が国際シンポジウムである事を考えると仕方ない事なのかもしれないが、来年の年会では再び RNA 学会の良さが戻ってくる事を願う。その一方でポスターセッションは、これまでの年会の活発かつフランクな雰囲気を残しつつも国際色がより強まっており、これまで以上にいい形になっていたと思う。

全体的な感想はこの程度にして、自分の研究に関わる分野について述べる。私の研究に直接関わるトピックとしては、初日の Session1: RNP Structure and the Ribosome と2日目の Session3: Translational Control である。翻訳反応機構全般なのであるが、基本的な翻訳装置の個々の因子から全体的な翻訳調節まで、広くカバーされた演題が組まれていた。ただ、真核生物の翻訳の話は、Initiation の話に偏っていたように感じる。Initiation factor (IF) の招待講演だけとってみても、McCarthy 博士、Sonenberg 博士、Hershey 博士の三氏の演題があった。

これは、今の研究の流れを反映しているのかもしれない。真核生物の翻訳開始のステップは、非常に多くのコンポーネントが関わっており、また翻訳制御のメインターゲットであるため、研究対象が多岐にわたるためであろうか？ほんの数年前の真核生物の転写開始複合体研究と同じく、拡張してゆく一方の印象をうけた。翻訳の基本的メカニズムに関しては、原核生物の解析を中心とした長い歴史もあり、一見新鮮味に欠けるイメージがあるが、数年前に複数のラボでリボソームの詳細な高次構造が解明され、翻訳反応の各ステップを三次元的に論じられるようになったことの意義が極めて大きい。現在では、リボソーム内での翻訳因子の相互作用について三次元的な解釈に更に時間軸を加える、すなわち分子の「動き」を捉えることで、より詳細な機構解析を行う方向に進んでいる。本シンポジウムでも、Frank 博士の講演で、クライオ電顕の解析による翻訳各ステージでのリボソームの動きを紹介していた。海外での国際学会等で既に見た人も多いのかもしれないが、アニメーションでビジュアルに訴えかけるプレゼンには、ただただ圧倒されるばかりであった。改めて、リボソームが Translational

"Machine" なのだと思感させられた。この類いのデータを見せられると、地味な研究を続ける私などは、水戸黄門の印籠を目にした町人の様にハハァーっとひれ伏す限りである（悪役のように、開き直って切りかかって行く人もいるのかもしれないが）。しかし、現在の翻訳研究の領域では、構造学的データという印籠が登場してめでたしめでたし…と、エンディングを迎えてしまうわけではなく、post-structural biology としての次のストーリーが進行している。本シンポジウムでも、post-structural biology の演題が幾つもあった。今や、構造学的データを元に分子の挙動を議論することは当たり前になっているのであろうが、分子動態を具体的にイメージするに留まらず、構造学的データに立脚した逆遺伝学的解析などから詳細な分子機能解明を試みる研究は、私にとって今後の研究のあり方の見本となるものであった。翻訳の分野では、発見の歴史は古く、表面的な解析は行われたもののその後長い間表舞台にでることなくひっそりと埋もれている因子、現象が幾つもある。埋もれてしまった1番の原因は、詳細な解析を行う手立てがなかったことにあると思うが、このような分野において、構造学的なアプローチをブレイクスルーとして翻訳研究の表舞台で再び脚光を浴びるようになったケースがある。Release factor (RF) や Ribosome recycling factor (RRF) などである。特に、今回のシンポジウムで印象的だったのが RRF である。RRF は私が生まれる前の1970年に発見されていた分子で、私がはじめて RRF の話を聞いたのが今から9年前。しががない学部生だった私にとって、リサイクルと言う概念は非常に衝撃的であり、まさに目からうろこであった。しかし、失礼ながら当時はやはりマイナーな分子というイメージであったように思う。近年の構造学的解析をはじめとする精力的な研究によって、本シンポジウムでは、その RRF が演題の主演として取り上げられるばかりでなく、他の演題中やポスターセッション、その辺の雑談などのあちこちでその名前に触れることになった。これほどまでに RRF の名前が登場した学会は、私にとって初めてであった。私の中で勝手に、影のルネサン

スの担い手の称号を与えることにしよう。RF, RRF に限らず、歴史のある分子や現象に関する演題が沢山あったが、いずれの発表も、翻訳研究の長い歴史に関わらず古びた印象を受けることが全くなく、まさに、シンポジウムのタイトルにある「The new frontier of RNA science」を体感できるものであった。これらの研究が、ときにマニアックでこそあれ、色あせて感じない理由は、「まず現象ありき」のしっかりした足場に立脚した研究であることに加え、つたない表現ではあるが各研究をリードする研究者達による「おもしろくて分かりやすい」講演のおかげだと思う。私の研究対象はリコーディングと呼ばれる遺伝暗号の読み替え機構なのだが、この領域は今一つ翻訳の表舞台に登場するに至っていないと感じる。私も、リコーディング研究がルネサンスの担い手に参加できるよう「おもしろく」「分かりやすく」研究紹介していけるよう頑張っていきたい。（その前に、まずデータを出さねば・・・）

今回のシンポジウムには、実験がうまくいかず研究が遅々として進まない状況に鬱々とした精神状態で臨んだのであるが、志村先生の基調講演をはじめ流行に左右されることなく確固たるテーマをもった研究の話や、ポスター会場やロビーなどでのディスカッションがよいカンフル剤となり、やる気と心地よい頭の疲労感を感じつつ帰路についていたのであった。（残念ながら、いまだ現状を打開するには至っていないが）



プロフィール

1996年東京理科大学を卒業、2002年東京大学大学院理学系研究科博士課程終了博士（理学）。現在、東京慈恵会医科大学医学部助手

吉村 邦泰

Kuniyasu YOSHIMURA
(東京慈恵会医科大学医学部)

◆ みーていんぐりぼーと I ◆

RNA 2003 Kyoto ③

私が見た「RNA シンポジウム 2003 in KYOTO」

水城 史貴 (熊本大学自然科学研究科)

熊本から寝台列車に乗り込み 11 時間かけて京都に着いた私は、期待を胸に RNA シンポジウムが開催される京都国際会議場に向かいました。今年は毎年行われている日本 RNA 学会に代わって、京都で国際 RNA シンポジウムが行われると聞き、「国際」という言葉がかなり好きな(ただのミーハーだということはここだけの秘密ですが)自分は、もしかしたら論文でよく読んでいる大御所と話が出来るのではないかとワクワクしながら会場に向かったわけです。

前もって見ていた国際 RNA シンポジウムのポスターが古風な組み合わせでシュードノット RNA を表現しているという斬新なデザインだったので、シンポジウムの冊子もかなりデザインが凝っているんじゃないかと期待しながら受付を済ませてみると、冊子もいつもよりお金が掛かっていそうだったし、一緒にいただいた袋も色が 3 種類あり、その中から好きなものを選ぶことが出来ました。(今回はかなり気合いが入っているな)と思いながら、周りを見渡すとやはり国際 RNA シンポジウムなだけに、外国から来られた方々が結構いらっしゃいました。ただ、シンポジウムが感謝祭と近い日に行われたので、日本に来られなかった方もいると聞いて、少々残念な気がしました。

シンポジウムが始まる前に昼食を食べに行くと、そこには和食のお弁当がずらりと並んでいました。(外国の人はお箸なんか使えないんじゃないのかな)と思ったのですが、それはただの杞憂で、ほとんどの人が器用にお箸を使っていました。また、和食が苦手な人用にサンドイッチなどもあり、細かな気配りがされているなー、と一人で感心していました。

この時まで、国際シンポジウムといっても周りからあまり英語が聞こえないし、聞こえる会話のほとんどが日本語だったことから、結構いつもの学会じゃないのかと思っていたら、実際にシンポジウムが始まると、(当たり前ですが)すべて英語で進行が行われるので、普段の学会とは違うということを改めて感じました。油断していた自分を戒めて、

頭を英語モード(?)に切り替え、発表を聞いていました。今回のプログラムは午前、午後には口頭発表があり、夜はポスター発表という私にとって初めてのプログラム進行でした。このため、ポスター発表の時にはすでにアルコールが入っている人も少なくなく、いたる所でかなり熱い議論が行われていました。その熱気で部屋の空気が暖まり、私も秋であることを忘れ、上着を脱いでポスター発表に参加していました。

シンポジウムの内容は、いつもの RNA 学会のように RNA と名が付くものならば何でもあり、といった幅広いもので、外国から招待された方々も様々な分野に分かれていました。名だたる発表者の中でも特に私の研究分野ではよく耳にする、すぐにでもスモウレスラーになれそうな Gideon Dreyfuss や、まるでギリシャ神話のゼウスのような

Iain Mattaj が会場にいたので、何とか話をしようと周りを少しうろろろしていましたが、結局話すことは出来なかったものの、研究に厳しく、人に優しいユーモアを持っておられる方々であることが分かり、これからの研究生生活に勇気をいただいた気がいたしました。

他にも、Roy Parker の発表の中には、スプライシングされた後のイントロンが細胞質で分解されるという私にとってはかなり衝撃的な内容もありました

口頭発表では、招待された人が 30 分、そのほかの人が 15 分持ち時間があったのですが、発表された先生方は時間が足りないと思うほどの発表をされていました。今年初めて参加した国際 RNA 学会(ウィーン)では、進行があまり上手く進まずにどんどん時間が延びていたもので、これが国際学会の特徴なのかと思い、シンポジウムもこのようになると覚悟していたのですが、時間通りにテンポよく進行していました。

覚悟といえば、今回の発表に攻撃的な西洋ミツバチの脳で発現している *kakugo* と名付けられた不思議な RNA の発表があり、自分とは違う分野ながら非常に興味がそそられました。他にも、Roy Parker の発表の中には、スプライシングされた後のイントロンが細胞質で分解されるという私にとってはかなり衝撃的な内容もありました。

発表時間を厳守していることの他にも、私なりに感じた今年ウィーンで行われた RNA 国際学会との違いがいくつかありました。一つ目に、会場の広さでした。勿論、参加している人数が違うので、簡単にはいえませんが、国際学会の時は会場が広すぎて発表者の顔が見えませんでした。シンポジウムでは一番遠くからでも発表者の顔が見えるちょうど良い広さでした。次に、日本人が大多数だった、ということです。当たり前かもしれませんが、日本では発表をほとんど日本人がしていても、海外では日本人はあまり口頭発表をしません。頭では前から分かっていたことなのですが、海外の学会で、自分がマイナーな集団であると体で感じる事が出来たことは、現在の自分にプラスになっていると思っているので、今回のシンポジウムでそれを感じる事が出来なかったことは残念に思いました。最後に、私を含めた学生が、あまり口頭発表で質疑応答に

参加していないことでした。今回は、質問も英語でしないといけないので、なかなか出来なかったのかもしれない(私だけかもしれませんが)ですが、少し文法を間違っても質問するべきだったなあ、と今更ながらに猛省しております。

また、次回の日本 RNA 学会は熊本で行われる予定ですので、私たちが進行に携わることになると思い、今回のシンポジウムはいつもの学会以上に世話役の方々の行動が気になりました。見ていて思ったことは、皆さんがシンポジウムを成功させようと、一丸となって右へ左へと走り回っておられることでした。私は果たしてこのように出来るのだろうか、足を引っ張ったりしないだろうかと正直不安な所もありますが、「良かった」と言われるような年会にしたいと思っております。

最後に、これまで参加した国際学会は2回という非常に少ない経験しか無い私ですが、このシンポジウムについて人にお見せできるような、まともな文章を書けるとは思わなかったのですが、これも貴重な経験だと思い、感じたことをそのまま書かせて頂きました。



現在の谷研究室一同。一番前列の左から安東助手、谷教授、筆者。

プロフィール

2001年、九州大学理学部生物学科卒業後、九州大学理学府博士前期課程に入学。2003年、同課程修了。現在、熊本大学自然科学研究科博士後期課程1年に在籍。

水城 史貴

Fumitaka MIZUKI

(熊本大学自然科学研究科
博士後期課程1年)

◆ みーていんぐりぼーと I ◆

RNA 2003 Kyoto ④

印象記

大内将司 (東京大学医科学研究所)

昨年(2002年)の11月末、京都国際会館で国際シンポジウム "The New Frontier of RNA Science (RNA 2003 Kyoto)" が開催されました。私も、発表できるような素敵なデータはありませ

んでしたが、せっかく海外の研究者の話をもとめて聴くことができる機会ですので、やじ馬として参加させていただきました。このニュースレターを御覧になっている多くの

方がシンポジウムに参加されたことでしょうか、ここではシンポジウムについてアカデミックな内容の報告と言うよりも私の京都滞在記として紹介したいと思います。

会場の京都国際会館は、京都市の北側にあり、碁盤目状に整備された市街地のはずれに位置しています。私は、昨春まで大学院生として京都市に在住していたのですが、ここまで足をのびたことはなく、京都国際会館を訪れたのは初めてでした。京都国際会館は、宝が池という大きな池を中心とした広域公園に隣接して建てられており、近くには「五山の送り火」（一般的には「大文字焼き」として知られていますが、ネイティブの京都人のまえてこの呼び方をするとしばかれています）で「妙」と「法」の文字が灯される山があります。宝が池は、江戸時代中期に灌漑用としてつくられたため池で、2km近くある池の周囲には遊歩道がつけられています。私も、二日目のランチの時間に研究室のみなさんと散策しましたが、木々に囲まれてマイナスイオンが豊富などとても気持ちの良いところでした。

かなりのんびりして東京を発ったため、私が会場についた時にはすでに口頭発表の後半が始まろうとしていました。あわてて空いている席について、残りの発表を聴講したわけですが（これは四日間通して思ったことでもあるのですが）、やはり大御所と呼ばれる方のプレゼンテーションは洗練されていて分かりやすいですね。「つかみ」というか「小ネタ」を仕込んでいる方もいて、聴かせる工夫をしているなあと感じました。所属している研究室にもよりますが、大学院生がこういったプレゼンテーションを聴講する機会はありません。ですから可能であれば、日本RNA学会の年会でも、核酸化学シンポジウムのように毎回海外の研究者を数名招待できると良いかもしれません。

初日の口頭発表のあとには、軽いウェルカム・レセプションがおこなわれました。が、これは質も量も満足いくものとは言い難く、あちらこちらから不満の声があがっていました。私も、この日の晩ご飯はウェルカム・レセプションでまかなうつもりでいましたので正直がっかりしてしまうと同時に、翌日以降の食事に対する甘い期待も捨て去ることにしました。その後の2時間はポスター・セッションとなっていて、発表者のみなさんと熱い議論を戦わせました。ポスター・セッションの終了が21時半でしたので、ほとんどの方がそのままホテルへと向かったのではないかと思います。私はウェルカム・レセプションがあまりに物足りなかつたので、研究室のみなさんと飲みにくりだしました。

2日目は、朝9時から夕方までずっと口頭発表がつまっていきました。その後、ディナーをはさんでポスター・セッション

となっていたのですが、ふだん英語に慣れていない私にはこの日程はいささかハードで、ポスター・セッションのころには脳みそがぐたくたに疲れてしまいました。そういえば、この日の食事ですが、前日のウェルカム・レセプションから覚悟していたようなひどいものではなく、これがハードな一日のなかでのせめてもの救いとなりました。ひとつ難をあげるとすれば、自分でお金を払わないとお酒が飲めなかつたことくらいでしょうか。おかげで、この日のポスター・セッション後にも、また飲みにくりだすことになってしまいました。

3日目の午前、私がかかっても聴きたかつたマイクロRNAとリボザイムに関するセッションでした。そこで、気合いを入れて開始の1時間近く前に会場に入ったのですが、まだ誰も到着しておらず随分と暇をもちあましてしまいました。結局、シンポジウム運営のお手伝いをしていた学生さんたちに、おしゃべりの相手をしてもらって開始を待つことになりました。この日の発表は、前々から興味を持っていた内容ばかりだったので、英語を苦痛に感じるどころか、むしろ時間が経つのがはやく感じられるほどでした。

この日の午後は、発表プログラムは入っておらず、半日の京都ツアーが組まれていました。ツアーでは、龍安寺、三十三間堂、清水寺をまわることになっていましたが、私はすでに何回も行ったことがありましたのでこちらには参加せずに、研究室のメンバーと先斗町（「ぼんとちょう」と読みます）へと向かいました。先斗町通りは、鴨川の西側にある道幅が2mもない小道です。夏場、鴨川に川床を張る料亭が面した通りだと言えれば分かる方も多いのではないのでしょうか。このめずらしい地名は、「先」を意味するポルトガル語のポントに由来していて、桃山時代にこのあたりが都の先端であったことから名付けられたと言われています。もともとは祇園と並ぶ古い花街だったのですが、いまは気軽に入ることのできる小料理店が並んだとても風情のある通りです。

少し道に迷ってしまったこともあって、私達が先斗町にたどりついた時には13時半をまわっていましたので、急いで通りに面したお豆腐料理のお店に入りました。京都のお豆腐が美味しいことは有名ですが、意外にも有名店と呼ばれるお店はほとんどありません。むしろ、地元根付いたお豆腐屋さんが、お店ごとにそれぞれ個性ある味を大切に守っているそうです。この時のお店（名前は失念してしまいました）も、ガイド本などを見たわけではなく適当に入ったのですが、雰囲気といい味といいすばらしいお店でした。私は、湯葉料理のセットを頼んだのですが、どの料理も繊細な味で、湯葉自体のふくらんでくるような大豆の風味を存分に楽しむことができました。また、メンバーが頼んでいた湯豆腐もひとつ分けていただきましたが、こちらもそ

の風味と食感に思わずため息をもらしてしまいました。少しだけいただいた地酒もまるやかでとても美味しく、平日のお昼から贅沢な時間を過ごすことができました。

この日の夜は、京都国際会館のすぐ近くにある宝が池プリンスホテルで Banquet が開かれました。Banquet では、京都時代の知り合いをはじめ、いろんな方と気兼ねなくお話ができました。ここには書けませんが、研究の裏話なども聞けて楽しく過ごすことができました。それに、食べ物もお酒も大満足でした。さて、Banquet は 21 時に終了したわけですが、このままホテルに帰ってはせっかく盛り上がった気分がもったいない、ということで結局この日も飲みにくりだすことになりました。

最終日の 4 日目は、連夜の飲み会がたつたてかなりグロッキーでした。睡魔と激しく戦いながら、なんとか口頭発表を聴講しました。ときどき、眠りこんでしまわないように一番後ろで立って聴いていましたので、近くにいらっしゃった方は、座席と後ろの壁とを行ったり来たりする私をげげんに思われたことでしょう。こうして、京都での 4 日間が幕を閉じました。

さて、ここまで書き連ねた内容ですと、私が京都に飲みに行ったということがばれてしまいそうですので、最後に興味を持った発表について少しだけ触れたいと思います。このシンポジウムでも最近の流行をうけて、RNA interference (RNAi) やマイクロ RNA に関する報告がたくさんみられました。その中でも応用的な観点から目を引いたものがポスター発表でふたつありました。ひとつは、東大の Matsumoto さん達の報告で、siRNA へ変異や塩基挿入・

欠失をおこなった際の影響を解析したものでした。興味深いことに、標的 RNA の相補鎖となる siRNA 鎖の 5' 末端が、標的 RNA に対して相補的でない場合でも、A または U である方が RNAi の効率が高くなることが示されていました。

RNAi 関係でもうひとつ目を引いたのが、東大の Suzuki さんと Katoh さんの報告で、レポーター遺伝子に対する siRNA の網羅的なライブラリー (702 種類) を調製し、siRNA の配列上の特徴と RNAi 効果との関係を探るというものでした。統計的な解析から、siRNA の特定の箇所にくる塩基の組成が RNAi の効率に大きく影響することが示されていました。さらに、この結果をもとに他の標的 RNA に対する siRNA の効果を高い精度で予測できることも示されていました (すばらしい!)。

さらに、この結果をもとに他の標的 RNA に対する siRNA の効果を高い精度で予測できる

ちょうどシンポジウムの直前に、二本鎖 siRNA のどちらの末端がより解かれやすいのかが、その後のプロセスでどちらの RNA 鎖が使用されるかを決定しているらしい事が Cell 誌に報告されたばかりでしたが (Cell 115; 199-208, Cell 115; 209-216 [訂正記事:115; 515]), RNAi の効率はまだ分かっていない様々な要因によって左右されているようです。こういった結果は、応用的には siRNA をデザインするのに重要な情報となりますし、また、原因を突き詰めていくことで RNAi のメカニズムについても色々とみえてくる事でしょう。発見されてから 5 年間というわずかな期間で一気にメカニズムの解明がおこなわれ、また、研究の手法としても急速に定着した RNAi は、基礎研究と応用研究が並行してすすむとても面白い分野だとあらためて感じさせられました。

本来ならば楽しめたはずの紅葉が、昨年の冷夏の影響がいまいちだったのはいささか残念でしたが、とても楽しく充実した古都での四日間でした。来年の日本 RNA 学会年会は熊本です。馬刺と辛子レンコンと焼酎の呼ぶ声がいまから聞こえてくるようです。



Banquet にて Eric Westhof 教授と記念撮影。RNA の構造モデリングで有名な Eric が結晶構造解析の報告をしたので驚いていると、笑いながらモデリングも続けているよと教えてくれました。一緒に写っているのは、東京学芸大学の原田和雄さんと学生さん。左端が筆者。

プロフィール

2003年 京大院理修了(理博)。同年より東大医科研博士研究員。

大内 将司

Shoji OHUCHI
(東大医科研博士研究員)

◆ みーていんぐりぼーとⅡ ◆

RNA 研究若手の会 2003 ①

そろそろ若手を卒業します . . .

井上邦夫 (神戸大学理学部)

そもそも世の中で「若手」とは何歳くらいまでをさすのでしょうか？ 研究者に関していうと、30代後半がひとつの線引きになっているように思います。たとえば、科学研究費の公募要領で、「若手研究」に応募できる制限は37歳です。さまざまな財団の若手向け奨励研究助成などでも、35歳や40歳までという年齢制限が多いようです（なかには年齢制限が明記されておらず、申請者の判断に任せている奇特なものもありますが）。博士号をとって10年もすれば、ある程度独り立ちした研究者になっているだろう、といった趣旨でしょうか。何はともあれ、私自身、（見かけはともかく）胸を張って若手と称するには臺が立ちすぎた年齢になってしまったなあと思う今日この頃です。

さて、昨年夏、関西は、例年に比べ雨の多い涼しい毎日でした。「RNA 研究若手の会 2003」は、そんなぐずつきがちな空模様を気にしつつ、7月28日から琵琶湖畔の厚生年金休暇センター（ウエルサンピア滋賀）ではじまりました。参加者は約60名。2泊3日の日程で、研究発表・討論、宴会、思い思いのレクリエーションの時間などを過ごしました。

若手の会は、過去に、坂本博さん（神戸大）と谷時雄さん（当時九州大学）のお2人が世話人となって、2回開催されています（実際は、その前に分子生物学会の会期を利用して神戸大学で若手発表会を開催しています）。第1回

が1997年8月、神戸のYMCA六甲研修センター（1泊2日）、第2回が1998年7月、九州の志賀島国民休暇村（2泊3日）でした。神戸YMCAの時には、よその団体のわんぱくな子供達と並んで、渡辺公綱先生や中村義一先生らが昼食のカレーを食べておられる姿が強く印象に残っています。

当時の若手の会は、おおいに有意義で熱気にあふれていました。その熱気が目に見える1つの形となったのが、翌年の日本RNA学会の設立であったということができましょう。1999年8月に京大会館で開催された第1回RNAミーティングは、世話人の井上丹先生（京都大学）とともに私（当時は奈良先端大）も開催準備のお手伝いをさせてもらったことは良い経験となりました。

毎年夏の時期に行われるRNAミーティング（日本RNA学会年会）は、若い研究者が口頭発表を行う良い機会となっています。しかし、年を経るごとに学会の会員数やミーティング参加者が増えつづけ、若者のチャンスは少しずつ減る傾向にあります。また、実質がどうであれ、やはり「学会」という名前に気後れしてしまう若者がいることも事実です。日本RNA学会の設立後、若手の会は活動を休止していましたが、そろそろ復活してみても悪くない時期にきたのではないか、と思うようになりました。ちょうど、2003年のRNAミーティングが国際シンポジウムの形で11月に開催



「RNA 研究若手の会 2003」集合写真。前列右から4番目が筆者。

されることになり、夏に若手の会を開催するのに都合がよいことがわかりました。また、自分を若手と称するのは段々難しくなってきたことも手伝って、片岡直行さん（京大）にも協力していただき、世話人として若手の会を開催するに至りました。

まず、今回の若手の会の特徴の一つは、本特定領域のサテライトミーティングの形で開催させていただいたということです。開催経費等のサポートのおかげでスムーズに運営できたことはもちろんですし、安心して会を開くことが出来ました。また、テーマを「真核生物における mRNA 情報発現」に限定したこと、1人につき20分の持ち時間を、発表時間12分・質疑応答8分としてディスカッションの活性化をはかったこと、座長を公募したこと、などいくつか工夫をしてみました。特に、質疑8分は無謀なチャレンジではないかとも思いましたが、ふたを開けてみると、実に活発な質疑・討論が行われ、8分間を短く感じたのにはおおいに驚かされました。発表内容も質の高いものが多く、良い意味で世話人の予想がはずれた形となりました。セッションは全部で6つにわけ、「転写とスプライシング」「輸送」「安定性制御」「局在と翻訳制御」「non-coding RNA と RNAi/miRNA」「高次形質発現」と分類しましたが、各セッションやテーマ間の密接な関係性を示す演題もあり、本特定領域研究のキーワードの1つである「ネットワーク」の重要性を再認識しました。また、2泊3日という比較的ゆったりした日程で、多くの人と十分に交流できた点も良かったと思います。

いくつか反省点もありました。第1に座長。自薦者を含めてなるべく若い人達を登用したのですが、質疑応答が活発であったため、単なる進行役・時間調整役に終わってしまい、座長ならではの緊張感をほとんど味わって貰えなかったのは残念でした。第2に、発表内容。完成度が高いことは喜ぶべきことではありますが、どうせならもっと荒削りな内容の発表も増えて欲しいと思いました。学会とは違い、若い人のための会なので、失敗をおそれず積極的に口頭発表にチャレンジして貰いたいと思います。第3点目として、三島での班会議懇親会の席上での私のスピーチが災いしたためか、上の方の世代の先生方にご参加いただけませんでした（今回は坂本さんが「最長老」でした・・・）。出席者の中からも「もう何人かご意見番のような先生をお

招きすると良い気がします。討論に参加してもらいだけでなく、若い学生にとって普段あまり話す機会のない大先生とお酒を飲んで、いろいろな話を聞くことは本当に印象深いものです」とのコメントがありました。

ところで、私自身は、若手の会を頑張って継続していかねばならない、とは考えていません。「第3回」ではなく、単発的・非連続的な「RNA 研究若手の会 2003」と命名したのも、そういう意図を含めてのことでした。義務的・儀式的に継続していくことは無意味です。実際に会に参加した若い人達から「おもしろかった」「有意義であった」「また集まろう」という声があがるとともに、「それなら自分が世話人をやっても良い」と手を挙げる者がいることが、継続していく最低条件だろうと思います。また、今回は、若手の会の世話人経験者でもある坂本さんにさまざまな形で

義務的・儀式的に継続していくことは無意味です。実際に会に参加した若い人達から「おもしろかった」「有意義であった」「また集まろう」という声があがるとともに、「それなら自分が世話人をやっても良い」と手を挙げる者がいることが、継続していく最低条件だろうと思います

お力添えをいただいたことが、私のようなずぼらな人間が世話人をやり遂げられた理由であったと思います。若手研究者の育成・活性化は特定領域にとっても重要な課題の1つといっても間違いではないでしょう。特定領域研究の関係者の先生方に、若手研究者が「自発的」に活動していくことを、今後もあたたかい目で見守っていただければと思います。

本会を開催するにあたって、本特定領域から多大なご支援をいただきました。この場をお借りして、中村義一先生、坂本さん、ならびに関係者の皆様に深く感謝致します。また、受付や会場係などで頑張ってくれた神戸大の皆さん、今後よろしくお願い致します。

最後に。世話人として喜ばしいことに、来年もとりあえず今年と同様の形式で若手の会を開催しようという計画になっています。次回世話人は、神戸理研の中村輝さん、奈良先端大の影山裕二さんです。自分より少し若い人達にバトンを渡し、無理に若手と自称しなくて済むようになったことにホッとしています。

プロフィール

1992年京都大学大学院理学研究科博士課程修了、理学博士。カリフォルニア大学アーバイン校 研究員、京大 助手、奈良先端大 助手を経て、2003年4月より神戸大学理学部生物学科 助教授。

井上 邦夫

Kunio INOUE

(神戸大学理学部)

◆ みーていんぐりぼーとⅡ ◆

RNA 研究若手の会 2003 ②

初登山に寄す

水本 祐之

京都大学大学院農学研究科
植物病理学研究室

動物学者で人類学者、さらには登山家でもある今西錦司は、私が在籍する京都大学農学部の大先輩にあたる。今西は数々の著書を残しているが、なかでも私は「初登山に寄す」と題された短い文章が好きだ。その文章の冒頭は次のように記されている。

「私はいまでも信じている。登山上の正統派なるものは、初登山を求める人たちを措いてまたほかにない。」
今西はまた、次のようにも書いている。

「初登山は人類史上に一度あり、しかしてただ一度にかぎるのだ。」

現在においては、もはや初登山に値する山はこの地球上にはほとんど存在しない。しかし現在においても、初登山に値する「山」がまだ無数に存在するフィールドは存在する。それは、サイエンスの世界である。サイエンスと登山とを重ね合わせることに抵抗を感じられる方はおられるとは思いますが、私はこの両者を行うことは非常に共通していると考えている。登山家が前人未踏の山を征服することを望むように、科学者は人類が誰も知らない知識の発見を望んでいる。また、いずれの道も非常に困難であり、多くの失敗が要求される。しかしその行為が達成された時に得られるものは、人間の好奇心を満たすには十分すぎるものであり、人類共通の財産ともなり、またサイエンスの場合では人間の生活をより豊かにするためにも役立つことだろう。

私がウイルス学に興味を持ったのは、その姿を電子顕微鏡写真で見たときからだったと思う。

「なぜ、このようなものが存在するのか？」

「ウイルスとは何なのか？」

疑問は浮かんでくるが、答えは見つからない。そして私はその答えを見つけることを自分の「初登山」として選んだ。

そして現在、私は *Red clover necrotic mosaic virus* (RCNMV) という植物 RNA ウイルスの翻訳機構の解明をめざし研究を行っている。

RCNMV のゲノム RNA は、真核生物のほとんどの mRNA が持つ 5' 末端の Cap 構造も 3' 末端の poly(A) 配列も持たない。mRNA がもつ Cap 構造と poly(A) 配列は、リボソームを含む翻訳開始複合体を mRNA にリクルートする役割を果たしている。RCNMV のゲノム RNA は植物細胞内で効率的に翻訳されることから、RCNMV は Cap 構造と poly(A) 配列が果たす役割を代行する何らかの因子を持っていると考えられる。種々の変異体を作成しそれらの翻訳活性を調べた結果、RCNMV のゲノム RNA の 3' 非翻訳領域に存在し複雑な二次構造を形成しうる RNA 配列 (3' TE-DR1) が、RCNMV のゲノム RNA の翻訳に必須であることを明らかにした。それでは 3' TE-DR1 はどのように Cap 構造と poly(A) 配列に依存せずにリボソームを含む翻訳開始複合体を RNA にリクルートするのだろうか？

Cap 構造をもたない mRNA の翻訳開始段階で重要な働きをする RNA 構造としては、ピコルナウイルスやフラビウイルス等で知られる IRES (Internal Ribosome Entry Site) がよく知られている。これらのウイルス RNA の 5' 非翻訳領域に存在する IRES には、翻訳開始因子 (eIFs) や種々の IRES-transacting factor (ITAFs) およびリボソームが直接結合する。IRES のこのような機能により、Cap 構造を持たないウイル



研究会風景 (神戸大学自然科学研究科 羽原康晃氏 撮影)

ス RNA も効率的に翻訳される。RCNMV の 3' TE-DR1 は IRES とは異なり 3' 非翻訳領域に存在するが、何らかのタンパク質がこの RNA 構造に結合することで、リボソームによる 5' 側からの効率的な翻訳を可能にしているのではないかと考えられる。それでは、どのようなタンパク質が RCNMV の 3' TE-DR1 に結合しているのだろうか？ 3' TE-DR1 に特異的に結合するタンパク質の同定は、3' TE-DR1 の機能を解明するためにはどうしても必要となるだろう。

研究とは大きな疑問を明らかにするために、限定したテーマを深く深く掘り下げていく行為であると思う。その過程もやはり登山に似ている。遠くから見るとその山頂ははっきりと見える。そしてそこに向かうルートを決め、進んでいく。しかし進んでいくにつれ山頂は見えなくなり、やがては進むべき道に迷ってしまうこともある。山のなかで道に迷った場合は、まず地図とコンパスを使って調べてみるが、それでも解らない場合は近くに行く別の登山者に尋ねるのが一番よい方法だ。

私には RNA に特異的に結合するタンパク質を同定するには、どのような手法があるのか詳しくは解らなかった。様々な論文を読んでみて、どのような実験手法があるのかは一応知ることができた。しかし私が所属する研究室では、少なくとも最近はそのような実験を行っていないので、実験系を組み立てるところから始めなければいけなかった。私は、RNA に特異的に結合するタンパク質の解析を実際に行っている研究者にその手法を学ぶのが一番の近道だと考えた。論文には載っていない、何か「コツ」のようなものも学べるかもしれない。

そのような研究者と知り合う機会を探していた私は、幸運にもホームページで「RNA 研究若手の会 2003」の存在を知った。

すぐに参加と発表を申し込んだ私であったが、その後徐々に後悔するようになってきた。私も RNA ウイルスを扱っているわけだから大きな意味での「RNA を研究する若手」である事は間違いないわけであるが、それに参加する人たちとは全く面識がなく、研究分野も私とは異なっているために十分な予備知識もない。「RNA 研究若手の会」は、異分野の研究者を、いや、まだ研究者ともいえない学生の私を受け入れてくれるのだろうか？

しかしこのような心配は全くの杞憂に終わった。それは「RNA 研究若手の会」の目的に帰するところが大きいと思う。

「RNA 研究若手の会」の目的とはどのようなものであったのか。本誌 1 巻 1 号に神戸大学の坂本博先生はそのことについて、次のように書かれておられる。

— 現在 RNA 研究に多少なりとも従事している若手研究者・大学院生に言いたい事は、お仕着せではなく、自主的に何かをなそうという気概を持って欲しいということです。そしてそのような活動を私たちが何らかの形で支援することが大切だと考えています。(中略) 若手の会は、現在 RNA ミーティング (日本 RNA 学会) として発展的に解消していますが、そろそろテーマや目的を絞った若手中心の積極的活動が始まることを期待しています。—

この文章が掲載されてからおよそ 1 年後、2003 年 7 月 28 日から 30 日までの 3 日間、滋賀県近江八幡で「RNA 研究若手の会 2003」は開かれた。参加者は約 60 名。「転写とスプライシング」、「輸送」、「安定性制御」、「局在と翻訳制御」、「non-coding RNA と RNAi/miRNA」、「高次形質発現」の 6 つのテーマで 27 の発表が行われた。門外漢の私にとっても、会全体を通して参加者の積極性がひしひしと

伝わってきた。このような積極性のため、私も容易に「RNA 研究若手の会」の参加者の一員となることができた。

それではなぜ、「RNA 研究若手の会」がそんなに積極的な雰囲気になったのだろうか？ 参加者をランダムに振り分けた部屋割りも一つの要因であった。同じ部屋に寝起きする「他人」と、全く会話

もせずに 3 日間過ごすことができるだろうか？ これにより参加者同士の間にあった壁が取り払われたように思う。それ以上に大きな効果があったのは、発表者の持ち時間、すなわち発表 12 分、質疑応答 8 分という時間配分であったと思う。これにより発表が一方通行ではなく、参加者全体の会話になり得た。聴衆にも積極的に発表に参加する機会が与えられたのだ。積極性はもちろん参加者個々人が持つものであるが、それをうまく引き出したのは主催者側の様々な配慮によると思う。

「初登山」をめざす我々研究者は積極的であらねばならないということを、「RNA 研究若手の会」に参加して私は実感することができた。積極性をなくしたものが、どのように「初登山」なす事ができるだろうか？ 私は短いながらも、今まで研究者として歩んできた。振り返れば、自分が歩いてきた道がはっきりと見える。何らかの問題にぶつかれば、その道を振り返り、そこから答えを得ようとする。これは効率的なやり方である。歩んできた道が長ければ長いほど、効率性は増していくだろう。しかし同時にそれは柔軟性と積極性を失っていくことでもあった。私は積極的に行動す

聴衆にも積極的に発表に参加する機会が与えられたのだ。積極性はもちろん参加者個々人が持つものであるが、それをうまく引き出したのは主催者側の様々な配慮によると思う

ることによって、新しい考え方と多くの手法を学ぶことができ、次に進むべき方向を知ることができたと思う。

「RNA 研究」は非常に裾野が広い「山」であると思う。そこに登る我々に必要とされているものは、柔軟性と積極性ではないだろうか？

「RNA 研究若手の会」は今後も継続的に開催される計画があると聞いた。「若手中心の積極的活動」の場は提供されたのだ。



プロフィール

2000年高知大学大学院農学研究科（修士課程）修了。2001年京都大学大学院農学研究科博士後期課程に入学。現、同博士後期課程3年。日本学術振興会特別研究員。趣味は登山、洞窟探検。

水本 祐之

Hiroyuki MIZUMOTO

京都大学大学院農学研究科
博士後期課程3年

◆ みーていんぐりぼーとII ◆

RNA 研究若手の会 2003 ③

RNA 研究若手の会 2003 ～日記～

櫻井 玲子 (北海道大学大学院農学研究科)

この紀行を依頼されたのが若手の会が終わってから1ヵ月後ということもあり、文章を書くにあたり、ところどころ（かなり）記憶があいまいになってしまっているため、日記形式で私の体験したこと、感じたことをつらつらと書き記していきたいと思います。ソファやベッドに寝転びながら気軽に読んでくださいませ。

去年のRNA学会に初参加するときに、先輩から「RNA学会は若手の会から派生したもので、若手の会からの人たちはみんな仲良しで楽しそうだよ。」と聞いていたので、RNA若手の会と聞いてまず興味がわきました。実際去年、RNA学会に初参加したのですが、懇親会はとても楽しかったし、なによりアットホームな雰囲気が心地よかったです。久しぶりに若手の会が催されると聞いて俄然出る気満々になってしまいました。ちなみに今回の若手の会は「真核生物における mRNA 情報発現」という題で RNA スプライシング・プロセッシング、輸送、局在、翻訳制御、分解・品質管理、RNAi/microRNA、高次複合形質・疾患などのテーマで行われました。

7月28日（1日目；そして私の発表日）

大学が札幌にあるため朝一の飛行機に乗り、伊丹空港に降り立ちました。しかし、直前までスライド作りに翻弄されていた私は伊丹空港から今回のRNA若手の会の会場で

ある近江八幡駅（滋賀県）までの行き方がわからず、「内地」に着いていきなり悪戦苦闘を強いられます。無事、電車に乗り込んでホッとしたのもつかの間、今度は斜め前に座っている学者さんらしき人がなんだか難しそうなペーパーを読み始め、それを見た私は大焦りで発表のイメージトレーニングを1人でブツブツと言いながら始め、そんなこんなであつという間に近江八幡駅に着きました。その後なんとか会場までたどり着き、受付を行うとなんともう既に宿泊する部屋が決まっており、さらには全然知らない人たちと4人部屋じゃないですか!!さらに会場に着いた時間がギリギリだったため、ほとんどの人がもう受付を済ませてるじゃないですか!!早速受付を済ませ、4人部屋の私以外の3人の自己紹介が未だ行われていなく、3人は未だ仲良しではない・・・ことを祈りつつ部屋に向かいましたが、私の願いとは裏腹に既に3人で談笑しているところに乗り込んで行ってしまいました。しかし相部屋の人たちは天使のようでちゃんと私を混ぜてくれ、ここから自己紹介等々を済ませました。

そんなこんなでやっと若手の会が始まります。

始めに今回の世話人でもある神戸大学の井上さんが挨拶をされました。ここで、「この若手の会は大きな研究室だと思って、思ったことを率直に言おう。」というようなことを

おっしゃっていたので、私は研究室で実験の報告を行う調子でいいのかなとちょっと勘違いをしてしまいました。この勘違いは自分の発表まで続くのですが・・・

この会では発表12分、質疑応答8分と、質疑応答に信じられないくらい時間が割かれていました。質疑応答が8分もあるということで活発な議論が行われ、学会などでは質問できない私でも積極的に質問できる雰囲気よかったですと思います。

私の発表は1日目の夕食後でした。夕食後というのはおなかもいっぱい眠くなる時間帯なのでちゃんと聞いてくれるか不安でいっぱいでした。さらに、発表が近づくにつれ、他の発表者の発表はべらぼうに上手に聞こえてくるし、先生方はすごく怖く見えてくるし・・・そして、ついに私の発表が始まります。発表も質疑応答も少々張り切りすぎ、京都大学の片岡さんの質問に対して「このペーパーを読んでください (in press) !」などといっていました。私としては無難に終了したと思い込んでいました。1日目の発表は終了し、各々部屋に戻ってメインイベントのひとつである他大学の人との交流の時間です。

とりえず座右の銘が「呑めばわかる。」の私は自分の部屋の人、だけではあき足らず隣の部屋の人たちも誘ってお酒を飲むことにしました。とても楽しいひとときを過ごしたのですが、まだ発表が残っている人たちがいるということで意外と早々にお開きになってしまいました。その後も大して眠くもなく、今回引率してくださった助手の尾之内さんの部屋で飲み会が催されると聞きつけ、そこにどうにかして混ざる方法はないかと必死で企てること1時間、この努力(?)が実り、見事飲み会に参加です。しかし、私の過度の勉強不足のため、そのときは著名な先生方のお顔もお名前も誰一人として知らない状況でした。こんなことを書くとは私は大胆不敵な子と思われそうですが、意外と人見知りなんです!! 本題に戻りまして、その先生方もフレンドリーに話しかけてくださり、楽しい時間を過ごし、そして、私の発表についてもいろいろと意見(「ペーパーを読め! なんて質疑応答で言ったら学会の意味なんてなくなるじゃないか!」など・・・)を言ってくださいました。自分ではまあまあだと思っても先生、特に他大学の先生から言われる意見はかなり身にこたえ、同時に貴重なものでもあります。ありがとうございました。m(_ _)m

7月29日(2日目)

この日、午前中は研究発表、神戸大学の坂本さんの特別講演、京都大学の片岡さんの国際RNA学会の報告・感想と午後はレクリエーション、夜は懇親会という素敵な響き

が満載の1日でした。午前中では特に国際RNA学会の報告は魅力的で、学生である間にぜひとも一度は参加してみたいと思いました。午後は、まず会場で一通り自己紹介を行い、とりえず顔見知りになってからレクリエーションタイムに突入します。レクリエーションでは自由にしていいとのことで私は他大学の人たちと近江八幡の見所のひとつである水郷めぐりをしました。近江八幡駅までの行き方は覚えてなかったくせに、観光地はちゃんとリサーチ済みだったので・・・7月下旬の蒸し暑い日にはびったりで、涼しい風にそよがれながらゆっくりとした川の流りに身を任せ、居心地がよかったです。その後は宿に戻ってテニスをしました。議論では全く歯の立たない先生方と対等にテニスをしたことで先生に対する緊張感がほぐれました。夜の懇親会の前にひとっ風呂浴び、きれいさっぱりになって懇親会に望みました。このお風呂もなかなか素敵な大風呂で女同士裸でいろんな話をしました。懇親会では皆気軽に、実験の話や、日々の研究についての悩み事、さらには指導教官に対しての愚痴など私だけが感じていたわけではないんだ〜っという話を盛りだくさんにしてとても実りの多い飲み会になりました。その後、当然2次会にもずうずうしく参加していました。昨日に引き続きまたもや教官部屋です。2次会も白熱したトークが行われ、指導する立場の悩みなども聞くことができ、指導教官もなかなか大変なんだな〜と知りました。

7月30日(3日目;最終日)

3日目は午前中に発表がありお昼で解散です。お気づきの方もいらっしゃると思いますが、もうこの日はクタクタ気味です。しかし、おもしろい発表、未知なる発表が多く、うかうかしてられません。そうこうしているうちに若手の会も終了に近づきます。若手の会が終わるころには私の当初の心配事(ちゃんと知り合いができるかな?)はなくなり、皆別れを惜しむように散っていきました。このつながりは将来、学会等で出会ったときに続くだろうな〜と願っています。

最後に若手の会を通じて私が感じたことをいくつか偉そうに述べます。

☆私はまだまだペーパーのM2で(指導教官である内藤先生にはまだ「ペ」くらいだと言われていますが)学会でもポスター発表ばかりの私たちに口頭発表をする貴重な機会を与えてくれたこと。

☆この若手の会では全体的に発表者が若いこともあり、はしょらず最初から丁寧すぎるほど発表してくれ、全然違う分野の話でも理解できること。

☆ふだん研究室にいたら体験できないこと、特にほかの大学の先生やこれまで知らなかった人たちとざっくばらん

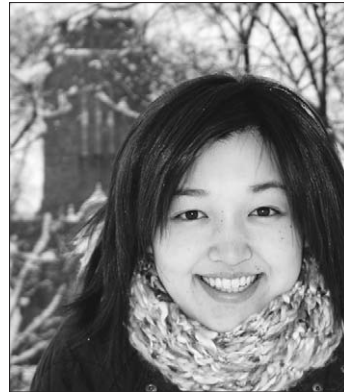
に話し交流を深めること。

☆この話し合いから自分の研究のヒントや新しい研究の端緒を見出せること。

☆普通の学会発表であったら大目玉を食らうような発言をしてもやさしい先生方が見逃してくれ、後でしっかりと叱咤してくれること。

よって、若者の諸君、恥をかくなら先手必勝で・・・早め早めが良いと思います。また、同世代の人たちがクリエイティブな研究を行っているのを知って「私も頑張ろう!!」という気にさせてくれました。とても有意義な2泊3日でした。この若手の会をお忙しい中、準備してくださった方々にお礼を申し上げたいと思います。こんな会がこれからも続いてくれればと心から思います。そして、これからの研

究者の卵たちがもっともっと参加し、活発な会になればと願っております。



プロフィール

2002年 北海道大学農学部応用生命科学科卒業。現北海道大学大学院農学研究科修士課程2年に在籍。

櫻井 玲子

Ryoko SAKURAI

(北海道大学大学院農学研究科)

◆ みーていんぐりぼーとⅢ ◆

第4回国際レトロウイルスヌクレオカプシドシンポジウム

ストラスブールひとりぼっち

櫻木 淳一 (大阪大学微生物病研究所)

2003年9月のとある土曜日の朝、筆者は二日酔いに痛む頭を抱えて1人伊丹空港へ向かっていた。昨夜は阪神優勝を見込んで研究所の談話室でナイターを見ながら飲み会をしたのだ。しかし周知のように終盤のもたつきで阪神のマジックはなかなか減らず、マジック3での観戦となった。ただでさえ盛り下がる空気の中、中日の野口は今年一番の出来で敗色濃厚のまま中継は終了、リレーナイターを見ようにもサンテレビは入らず、そこから先はみんなして妙に目が据わってきたこと以外の記憶が怪しくなっている。あるいは思い出せない方が良いのかも知れない。

なぜ好きでもない飛行機に乗らねばならないのか説明が遅れた。きっかけは3月に筆者の受け取った一通のメールである。IRNCSという見慣れない差し出し主からのそれは、4th International Retroviral NC symposiumなる催しが9月半ばにフランスのストラスブールで開催されると告げていた。うーむ。国際なのにレトロウイルスのヌクレオカプシド(NC)のシンポである。マイナーにもほどがある。例えば千里ニュータウンの青山台1丁目の57番棟の8階に住む人たちを対象にしている国際会議のようなものである(念のためそんな建物はない)。飛行機は怖いし時差には弱いしヨーロッパなんて行ったことないし・・・と思いながらも

ホームページを見てみると招待演者が(筆者的には)やたら豪華なことを見だしやや興奮した。Larry Arthur, Jean-Luc Darlix, Stephen Goff, Alan Rein, Hans-Georg Krausslich などなど、30人近い招待演者の多くがHIVやレトロウイルスの粒子形成に関わる著名な、しかも現場の研究者であり、そんな連中と一度に会える機会はそうあるものではない。もしかしてお友達になれるかも・・・と浅ましい期待もあって、参加してみようかと思った次第である。さらに滅多にない経験を放っておいて忘れるのも悔しいという貧乏人根性と、RNAゲノムという分野の知名度をRNA学会でもう少し広めたい魂胆で、塩見さんに無理を言ってこうして覚え書きを書かせていただいた。

さて筆者はよろけながら8時40分伊丹発成田行きのJALに乗り込んだ。折しも台風が日本海でとぐろを巻き、すてきな強風が吹いている。かなり遅れて離陸した747は、主翼をビリつかせて今までに聴いたことのない激しい音を立てながら上昇した。筆者は脂汗をかいて肘掛けに爪を立てるのみである。この辺でレトロウイルスのNCの話をしておいた方が筆者の気が紛れていいかもしれない(図1)。ご存じのようにウイルスは最小単位の生命体である。ウイルスは通常粒子を形成して伝播するから、粒子に自己のゲノ

ムの取り込み（パッケージング）を行うためにウイルス由来のゲノム結合因子を持つ必要がある。これがNCであり、つまり核酸をゲノムとして持つ以上、ウイルスは必ずNCにあたるものを持っている。レトロウイルスは一本鎖正鎖RNAがゲノムなので、そのNCはRNA結合蛋白である。ほら、このあたりRNA学会にも関わってきたでしょうが。レトロウイルスのNCはパッケージングのトランス因子であるが、核酸の高次構造を変化させる核酸シャペロン活性をもっており、ゲノムの保護や安定化、逆転写反応の促進、逆転写のプライマーとなる宿主tRNAの選別とゲノムへのアニーリング、さらには粒子形成時の分子集合や粒子の品質管理などウイルスに必須のいくつもの過程に関わっている重要な因子である。なお、筆者はHIVのRNAゲノムパッケージング周辺で仕事をしている研究者の端くれで、このウイルスゲノムがホモ二量体を作っていることの原因をしつこく嗅ぎ回っている。とにかくNCは構成要素の少ないウイルスの大事なパーツであり、それゆえ抗ウイルス療法の標的としても十分候補となりうる。おそらく今回のシンポジウムもそういう思惑の薬屋さんのスポンサーシップがあって、かくも大量の演者の招待が可能なのであろう。

下衆の勘繰りをしているうちに機は無事成田に着いたが乗り換えは1時間を切っており、両替もあきらめてあわただしくパリ行き747に乗り込んだ。11時に成田を発って、12時間ほど飛んで、パリ着は現地16時半、最終目的地トラスプールには20時である。元来機内で寝付きが悪い筆者は迷ったが、ちょっと長く夜更かしするのだと思えば、



正面の広場から見上げるCathedral。首が痛くなる。街のどこからでもまず見え、方向音痴の筆者には心強い味方であった。尖塔は修復中で足場が組んである。

ということでアルコールをとらず起きて行くことに決めた（これは正解で、滞仏中筆者はそれほど時差には悩まされずに済んだ）。勿論持ってきた論文は読まず、映画を見倒し、iPodを聴き倒しているうちに漸う機はCharles de Gaulleに降り立った。おお初めてのおフランスと浮かれたところだが、皆フランス語を話しているのですでおびえ気味である（皆英語を話していてもおびえるのだが）。しかし見渡すと小柄な人が比較的目につくし、黒髪の人など日本より多くさえ思える。また道行く車も8割方可愛らしいPeugeot, Renault, Citroenの小型車で占められているせいか、感じられる雰囲気はアメリカほどの違和感（威圧感？）が無く、筆者は勝手に好感を持った。さらに古ぼけた737に

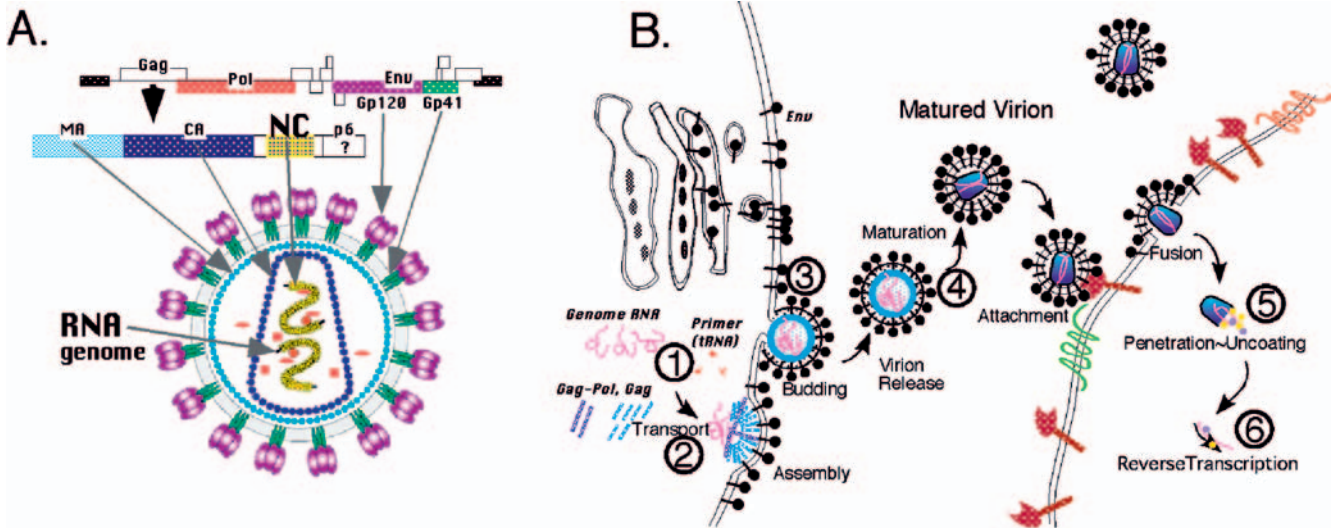


図1 HIVのNCについて

A. ウイルス粒子内におけるNCとRNAゲノムの位置。

B. HIV-1の感染環の一部とNCの作用点（一部仮説も含む）。

1. ウイルスRNAゲノムの翻訳型/パッケージング型のスイッチ。
2. ゲノムの二量体化反応開始及び粒子へのパッケージング・tRNAのゲノムへの取り込み・アニーリング。
3. ウイルス粒子の形成及び品質管理。
4. ゲノム二量体の安定化及び核酸蛋白複合体の完成。
5. 脱殻中のゲノムの保護と逆転写開始反応促進。
6. 逆転写反応（ゲノム乗換え・組換え）の促進。

乗り換えてみると、驚くべきことに国内線にもかかわらずFAが綺麗なおねえさんで、これはアメリカと大きく異なる特筆すべき点であり筆者の好感はいや増すばかりである（だからといって筆者に何事も起こらないのは書くまでもない）。ストラスブール国際空港はやや大きめの地方空港で、接続の良いバスととても近代的なトラム（路面電車）で無事ホテルに着き、広大なダブルルームのベッドで眠ってしまった。

翌日は日曜日で、シンポの始まる夕方までは暇である。

ストラスブールは小さな街で、歩いて十分観光ができるので、とりあえずホテルから歩いてみた。ひときわ目をひくのはホテルからも見える威容を誇るCathedralで、近づくに従って一本しかない尖塔の頂上を見ることが困難になるほどのものすごい高さ（140m!）である。日曜ミサをやっていたので中に入って座ってみたが、内側も天井の高さ20mはあるかという大ホールになっており圧倒される。語彙が少なくして申し訳ないが、ただただ感動した。ただ神への想いのみによって、クレーンもコンボもない11世紀から営々とこのようなとんでもない建物が造られているのである。この先世界のどこかにどんなにお金があったとしても、そんな作業は決して始められることなどないであろう。想いを越えるエネルギーは無いと痛感した。

ただ神への想いのみによって、クレーンもコンボもない11世紀から営々とこのようなとんでもない建物が造られているのである。この先世界のどこかにどんなにお金があったとしても、そんな作業は決して始められることなどないであろう。想いを越えるエネルギーは無いと痛感した

旅行記はこれくらいにして、後半はシンポジウムでの出来事や感じたことなどについて思い出すまま書いてみる。日程は3泊4日、参加者は100人足らずのこぢんまりしたミーティングで、パスツール大学薬学部の階段教室ですべての口演が、建物入り口のホールでポスターセッションが行われた。全体的な感想を述べると、とにかく最初から最



フランスは犬が多い。犬用の砂場（トイレ?）も道の途中にたくさんあるのだが、街路樹の根本ごとに必ず糞がある。よそ見歩行中に一発踏んでしまい、西洋産でも有難みの無いものを発見して一人うなずく。

後まで時間がルーズである。だいたい始まりが遅れる、はじめの挨拶を3人くらいでして延びる、みんな話したいように話すし座長も別に止めないでは時間通りに進行するはずもない。アットホームと言えばそうだが、ランチが2時頃になったり、次の日へ演題を積み残したりと、筆者はむしろラテンを感じたが誤解であろうか。内容は以前と比べてFocusを広げており今やレトロウイルスの粒子形成全般に関わる知見を扱っているが、多くを占める招待演者の口演は（他の国際学会でも同様だが）総説的な発表が多く、未発表データなどはあまり無かった。世知辛い世の中を感じたが、筆者の興味あるFieldだけで構成されたミーティングなど滅多にあるものではないし、大変勉強させてもらった。魅力的なレビューを30本ぶっとおして読んだような気分である。

また、ほぼすべての昼/夕食がついていたので、フランス語が全く駄目で飢死を恐れていた筆者にはありがたかった（ホテルの朝食も宿代に込みであった）。しかし量はしばしば半端ではなく、山のようなシュクルート（キャベツの酢漬）に筆者の質素な家庭なら4人家族で

分け合うような量のソーセージやハムがどさどさ乗っていたり、三食続けてサーモンが出たり、チーズケーキの大きさのチーズが出たり、ちょっと泣きそうである。締めに出てくるデザートも例外なく甘ったるい。残せば済むのだが、あちらの方々はいたいがい平らげてしまうのだ。ワインもがぶ飲みで、根本的に何かの構造が異なっているような気がしてくる。

食事時はたいがい隣や向かいの欧米人と話しながらとなるわけだが、本当に彼らはサイエンスが好きである。ある昼ご飯はDr. Stephen Oroszlanと同席になった。彼はいつも鼻歌を歌いながら歩いている優に70を越えたおじいさんなのだが、今の自分の実験のことを実に熱っぽく話す。かと思うと40年以上前の自分のポストドク時代の話になったりするのだが、驚くことにそのときのテーマを今もやっているのである。とにかく1時間強のランチタイムの間中喋り詰めであった。またDinnerでDr. Eric Barklisの正面に座って彼の話を聞いたりもした（会話にはなっていない）が、食前酒が終わってMain Dishを前にしてもずっと身振りを交えて自分の研究の話をしていて、こちらは頷くばかりである。もっとも隣の机から、「おいおい、まだGagの格子の話をしてる奴がいるぞ！ワインが足りないんじゃないのか？」と怒鳴る輩が居たりして、お調子者は洋の東西を問わぬものである。話し相手が日本人と知ったときの彼らの一般的な質問は、日本にいる彼らの知り合いのこと、日本のグラントの状況、日本の教育システムのことなどであ

り、こういったことに自分の意見を持っていると話が弾むかもしれない。また、どの人も年頃の子供の話など始まると悩みや泣き言ばかりで、このあたりも世界の共通項と感ずる。嘆息。

今回筆者は10分だけとは言え Oral Presentation をさせてもらった。初めての海外 Oral で、しかもただ1人の日本人出席者ということでかなり気張り、ジョークで笑いを3つ4つとりながら何とか話しおこせた。しかしその後の Coffee Break では「おまえの Sense of Humor はなかなかだ」と言われてばかりで、内容が伝わったのか不安である。そんな中 Dr. Lawrence Kleimann はいきなり筆者に寄ってくる、「おまえの変異体が tRNA アニールしているかどうか見てやろうか。コントロールと変異体と揃えて送ってきたら、5分でやってやる。別におまえが自分でやって全然かまわないから、その場合は結果を教えてください。I only want to know.」などと言って去っていった。額面通り受け止めるべきかはわからないが、サイエンティスト！という感じで一度やってみたい格好良さである。とにかくこうした学会では、Poster presentation には興味を持った同士と深く Discussion できる喜びがあるのだが、Oral は顔を知ってもらえ、様々な人から声をかけてもらえる利点があると実感した。

以上、まとまりの全くない文面で恐縮だが筆者の経験した少し変わった国際学会を感じていただければ幸いである。何人かの研究者とは、再会したら挨拶くらいならできそうな関係になれたかと思っている（思い

こみである可能性も高いが)。特に今回は全くの一人だったので日本人同士で固まりようもなく、海外では内向的な筆者もかなりの人と交流する機会がもてたと感じている。今回は2年後にモンテリオールで開かれる予定なので、興味ある方は是非そのころ IRNCS で検索するか、筆者に訊いて欲しい。なおシンポ終了後に、昼食で仲良くなったパスツール大の機械技術の気のいい兄ちゃん（2年くらい筑波で働いていたらしい）に頼み込んで PowerBook を学内ネットにつながせてもらい、阪神の優勝を知ったことを最後に書き添えておく。何やってるんだか。

シンポジウムホームページ：

<http://umr7034.u-strasbg.fr/Congres/index.htm>



シンポのホームページより。何度も言うが筆者はたまたま一人で仕事をしているだけで、決して一人が好きなのではない。拙文の批判感想、筆者の研究への疑問、RNA ゲノムへの興味等、感じたことは何でもメール賜りたし。一緒に RNA ゲノムの世界を覗きたい方も歓迎。

sakuragi@biken.osaka-u.ac.jp

プロフィール

早大卒、阪大院医博士課程修了。学部生時代からポストドクにかけて東大医科研、某企業基礎研、京大ウイルス研、阪大微研、ウィスコンシン大マカドール癌研究所を転々と（ウロウロ？）する。2000年より阪大微研ウイルス感染制御分野助手。

櫻木 淳一

Jun-ichi SAKURAGI

(大阪大学微生物病研究所)

◆ みーていんぐりぼーとⅣ ◆

第26回日本分子生物学会年会シンポジウム

「Non-coding RNA と RNA レベルで 遂行される制御系の新展開」を開催して

金井 昭夫

(慶應義塾大学先端生命科学研究所)

はじめに

2003年12月10日から13日までの4日間、恒例となった日本分子生物学会の年末行事である年会が神戸のポートアイランドで開催された。私は表記のタイトルで千葉工業

大学／理化学研究所の河合剛太氏とシンポジウムの世話人を務めさせていただく事が出来た。シンポジウムは学会初日の午前中であったが、ここ数年で加熱してきた RNA 研究を反映するように、神戸国際会議場の国際会議室は2階席までいっぱいになり、立ち見の方もおられた。聞けば、会

場外のテレビモニタも利用して頂いたようである。改めて御礼申し上げたい。この会議にいきつくまでの裏話をまとめた。

1. 新しいRNA/RNPを見つける会

実は2003年の年会でシンポジウムをやるちょうど1年前、2002年の12月に横浜で開催された同じ分子生物学会の年会開催中に、横山茂之教授（東京大学／理研）らのご好意もあって、鶴見の理化学研究所の一室を借りて、今回の発表の中心となったメンバーで研究会らしきものを行なった。コアとなった発表者は中村幸治氏（筑波大学）、牛田千里氏（弘前大学）、影山裕二氏（奈良先端大学）、河合剛太氏（前出）に我々慶應大学から、斎藤輪太郎氏、沼田興治氏と私である。会の目的は、non-coding RNA (ncRNA) 研究を中心にしながらRNAレベルでの新しい制御系を模索することであり、「新しいRNA/RNPを見つける会」というのは河合氏のネーミングによる。今年のシンポジウムの要旨にも、取材を受けた科学新聞の紹介にも書いたことだが、構成メンバーは、分子生物学はもとより微生物学、生化学、遺伝学、バイオインフォマティクスから構造生物学に至る多彩な分野をバックグラウンドにもっていることが特徴である。自画自賛するようであるが、この時点でどの発表も面白く、私は、一度きちんとした形でアピールすることが必要であると感じていた。そこで、閉会後の中華街のうちあげの席で、酔いも手伝って、来年は分子生物学会のシンポジウムでやろうと提案したのだった。皆が積極的に協力してくれたのは言うまでもない。

2. はじめの一步

さて、先の会の参加者は一度に知り合ったというわけでもなく、何か、自然というか、「見えざる手」によって導かれたというか、non-coding RNAが時代とともに台頭してくると、まさに同じ時間を共有するように集まったのである。

おそらく1999年であったと思うが、横浜の生化学会大会のことであったと記憶している。当時、私は科学技術振興事業団の研究員で、ポストゲノム研究をRNAレベルでやることの必要性を感じ、超好熱性古細菌から発現クローニング法によりRNA結合蛋白質をゲノムレベルで同定する方法と新規のRNA結合蛋白質（FAU-1と命名した）に関して、ポスター発表を行っていた。その会場に何度説明しても繰り返される人がいて、それが、当時は千葉工業大学のポスドクだった坂本泰一氏（現 東京大学 医科研）とその上司の河合氏であった。彼らは構造生物学の良いターゲットとなるような（特にRNA代謝に関与するような）新規の遺伝子産物を探索中で、その候補にFAU-1蛋白

質をと考え、迷っていたようだった。最終的に「この蛋白質の立体構造を決めませんか？」の一言で、全てを納得出来た私は、とてもうれしい心持がしたことを覚えている。と記してはみたが、FAU-1蛋白質は生理機能が今ひとつはつきりせず、その頃の私は研究を続行するのに、幾分苦しい状況にあったことも事実であった。彼らと何度か会合をするうちに、河合氏は「機能の分からない蛋白質の構造を決めることで、その機能推定につながるような構造生物学にとっても重要な知見である」というようなことを云ってくれた。信頼が増した。

科学技術振興事業団の任期が終わり、2001年の春から、山形県の鶴岡市に新しく出来た慶應義塾大学の先端生命科学研究所（富田 勝 所長）に赴任することになった。その直前に河合氏から一度、千葉工業大学でまとまったセミナーをと請われたので「古細菌、線虫より見出した核酸の高次構造を認識する蛋白質の解析」という演題をつけて口演した。この時に、わざわざ筑波大学からかけつけてくれたのが、枯草菌のsmall RNA (non-coding RNA の一種) を解析していた中村氏である。彼は、今回のシンポジウムでは、枯草菌ゲノムの遺伝子間領域に着目し、BS190と命名したsmall RNAの発見に関して報告した。そして、マイクロアレイの解析などから、このRNAが特定のオペロンの転写抑制を司ることを明らかにした。さて、彼との初対面では何を話したかは忘れてしまったが、最初から気があって、当日に皆と連れ立ってカラオケに行ったことは覚えている。中村氏はいわゆるアイドルの歌を沢山知っていて、それを次々に歌うので、少なからず驚愕した。また、不思議なもので、この時は自分もnon-coding RNAに関わってくるとは思いもしなかった。

3. バイオインフォマティクスのアプローチ

慶應義塾大学では今までの実験生物学的なアプローチばかりでなく、コンピュータを使った配列解析によるバイオインフォマティクス（生命情報工学）的な手法も併合してRNA研究をはじめた。ここで縁あって、理化学研究所の林崎良英博士らが収集したマウスの60,000種を超える完全長cDNAの機能的注釈づけの国際プロジェクトFANTOM2に参加することになる。そして、私たちがテーマとしたのはこれらcDNAライブラリ中のnon-coding RNAを探ることであった。慶應大学からは、刺激的な研究テーマを探していた大学院学生の沼田興治氏が中心的な役割を担った。また、慶應大学のOBで、当時は理研の林崎研究室の研究員であった斎藤輪太郎氏（現 慶應大学先端生命科学研究所）から積極的なサポートを頂いた。理化学研究所のcDNAライブラリはPoly(A)を有したmRNAから作成されていたので、我々が見出そうとしたのは、通常の蛋白質をコードするようなmRNAと同じく、RNAポリメラーゼIIによって転

写され、スプライシングやPoly(A)鎖の付加などをうけながらも、蛋白質をコードすることのないような、いわゆる mRNA 様 non-coding RNA であった。X 染色体の不活性化やゲノムインプリンティングに関わる Xist RNA や H19 RNA が有名なところである。

mRNA 様の non-coding RNA を抽出するといっても、確立した方法があるわけではなかったため、試行錯誤の末に我々が採用したのは、各 cDNA 配列をバイオインフォマティクス的手法を用いて幾つかの基準でフィルタリングするアプローチであった。詳しくは原著論文 (Numata, K. et al. *Genome Res.* 13: 1301-1306, 2003) を参照して頂きたいが、まず、cDNA 上のいかなるフレームでも長い蛋白質や他種と相同性のある蛋白質をコードしないものを選ぶ、それでいて、マウスのゲノム配列にきちんと Map されるもの、Map した前後 10kb 以内に蛋白質をコードする領域が存在しないものと、だんだんと絞り込んでいく方法である。我々が何よりも驚いたのは、こうしたかなり厳しいクライテリアを用いたにもかかわらず、マウス cDNA には 4,000 種にもおよぶ ncRNA 候補が存在していたからである。また、このうちの約 7.5% はアンチセンス RNA として機能しているらしいことが明らかになった。このアンチセンス RNA に関しては、同じ FANTOM2 の中で清澤秀孔氏 (理研) らの研究によって明らかとなり、その内容の一部は神戸の分子生物学会シンポジウムでも発表して頂いた。

4. 線虫やショウジョウバエの non-coding RNA

マウスの仕事をやる傍らに、より機能解析がしやすい線虫に目を向けはじめた。河合氏が主宰した 2001 年 9 月の未来開拓ミーティング「RNA の構造生物学」で、その計画の一部を話したところ、tmRNA で有名な弘前大学の姫野俵太博士が聞いてらして、同じ弘前大学で線虫から低分子の non-coding RNA を実験科学的に取得し、その構造を決めようとしていた牛田千里氏に伝わることになった。我々はむしろ mRNA 様の non-coding RNA に注目していたので、彼女と競争になるわけでもなく、その年の 11 月には、我々の研究所がある山形県鶴岡市にお越し頂き、セミナーをお願いすることになった。聞けば、前述の中村氏の後輩で筑波大学の出身であるとのこと。というわけで、翌年に、中村氏がセミナーに来てくれた時には、再度、牛田氏にも声をかけた。女性のゲストスピーカーは少ないので、研究所にいる女子大学院生らには、極めて良いお手本になった。また、牛田氏が来てくれたところから、著名な学術雑誌に沢山の micro RNA や small RNA が存在すると報告された。この時点で線虫がもっとも良く解析されており、競争が激

しくなって来た。

一方、奈良先端大学の影山氏はショウジョウバエの遺伝子量補正に関わる MSL 複合体 (ncRNA である roX と数種の蛋白質を含む) の X 染色体認識機構の研究を行っていたが、新しい研究を新規の mRNA 様 ncRNA の探索に向けて展開しはじめていた。そこで、ショウジョウバエの cDNA データベースの中から彼らが選んだ候補の妥当性を私達のグループの沼田氏がコンピュータ解析によって抽出した候補と比べるという形で 2002 年の年末から共同研究がはじまった。ここで、今回のシンポジウムの企画に関わったコアのメンバーがそろうことになり、前述した横浜での「新しい RNA/RNP を見つける会」に繋がるのである。

5. さらなるメンバーを集める

一度、企画してしまえば後は進むだけである。2002 年に RNA 誌に発表されたミツバチの脳からの non-coding RNA の同定を行なった論文のラストオーサーが大学院時代の先輩の久保健雄博士 (現 東京大学理学系研究科) だと知っていたので、ためらわずにメールを書きシンポジウムの協力を求めた結果、同論文の第一著者である澤田美由紀氏の快諾を得た (澤田氏の研究は RNA Network Newsletter Vol. 2, No. 1, August 2003, P. 75-78 に詳しい)。また、2003 年の 8 月に福岡でゲノムの班会議に出席していた私は大阪大学の野島博博士が分裂酵母から発見した ncRNA に関して極めて面白い発表をなさっていたのを聞き、その会場で 12 月の神戸のシンポジウムにて発表していただけるようお願いした。

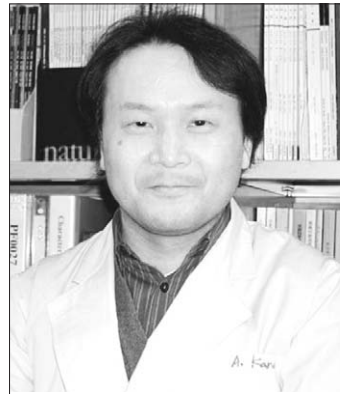
一方、河合氏と連絡しながら、東京大学工学部の加藤敬行氏らによる RNAi 活性の予測に関する発表と、国立遺伝学研究所の池村淑道博士らによるバイオインフォマティクス解析 (自己組織化地図法) を用いた ncRNA の分類の発表をお願いした。また、RNA レベルの新しい制御機構の解析として、東京大学薬学部の高橋真也氏より mRNA の品質管理に関わる Nonsense-Mediated mRNA Decay (NMD) 機構に関する発表を、慶應大学の富田研究室から沼田興治氏による線虫アンチセンス遺伝子の網羅的な同定の発表と、斎藤輪太郎氏 (第一著者は佐藤みさき氏) による翻訳終了コドンリードスルー mRNA のコンピュータ解析に関する発表を企画し、12 月の年会を迎えることになった。

おわりに

ということで、数多くの研究者のお力添えで、神戸の分子生物学会では一番演者が多いシンポジウムとなっ

今世紀の生物学は RNA 研究から、その扉が開かれるような気分がしてならない。だとすれば、これを一番の聴衆でありうる分子生物学者にアピールしないわけにはいかないからである

まった。でも、それで良かったと思っている。選んでも、選んでも面白い研究が RNA 分野にはある。個人的には、今世紀の生物学は RNA 研究から、その扉が開かれるような気分がしてならない。だとすれば、これを一番の聴衆でありうる分子生物学者にアピールしないわけにはいかないからである。今回はシンポジウムに行き着くまでの道のりに焦点を当てて書いた。シンポジウムの内容は近く原著論文の形でお目にとまることと思われる。



プロフィール

1985年早稲田大学卒業。
1990年東京大学大学院薬学系研究科博士課程修了（薬学博士）。米国国立衛生研究所（米国 NIH）博士訪問研究員，東京都臨床医学総合研究所研究員，科学技術振興事業団 ERATO プロジェクトグループリーダー・技術参事などを経て，2001年より慶應義塾大学先端生命科学研究所 助教授（同・環境情報学部 助教授を兼任）。

金井 昭夫

Akio KANA

（慶應義塾大学先端生命科学研究所）

◆ 連載 ◆

私の RNA 研究（第 3 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〕

6. tRNA のプロセシングの研究

その頃、坂野 仁君（現東大院理教授）が大学院生で入って来ていた。彼が中心になって tRNA 生合成に欠損をもつ突然変異体を分離・解析することを始めたのである。そのスクリーニングの原則は、ミスチャージ変異体の分離の時と同様にサプレッサー tRNA を指標に用いた。すなわち Su⁺ サプレッサーを持つ溶原ファージを用いて、これを感染させた菌においてサプレッサー tRNA が高温（42 度）では合成されなくなるような条件致死変異体を分離していったのである。坂野君は非常に巧妙なスクリーニングの手法を考案した。すなわち、毒性（virulent）ファージ T6 や BF23 の受容体（感染部位）にナンセンス変異を導入した大腸菌を作成し、さらに高温で誘導される溶原性ファージ λcI857（レプレッサーが高温感受性の λ ファージ）を溶原化させた。この菌に λpSu⁺ を感染させてサプレッサー tRNA 遺伝子を導入すると、このサプレッサー tRNA が合成されると、その働きにより毒性ファージの受容体が合成され、従ってこれらの毒性ファージに感受性になり、ファージ感染によって溶菌されてしまうことになる。万が一これらの毒性ファージの感染を受けなかった菌は、λcI857 溶原ファージ

の誘導が起こり、溶菌させられてしまうのである。しかし λpSu⁺ が感染して野生型のレプレッサー遺伝子が細胞内に入った菌は、野生型がレプレッサー蛋白質によって、高温によって誘導されて生産されたレプレッサーの働きの相殺されてしまうので、溶原化状態が保たれ溶菌されることはないのである。従ってサプレッサー tRNA の遺伝子を形質導入ファージに組み込ませたものを、大腸菌に感染させ、温度を高温にしてから T6 や BF23 ファージを加えて、生き残った菌の中に tRNA の合成が高温感受性になったものがある筈なのである。坂野君は、大変に苦労してこのような凝った系を考案して、tRNA 合成が高温感受性になった変異株のスクリーニングを行い、その結果、多数の目的とする変異株を分離することに成功した。

この頃、ケンブリッジ MRC の John Smith のポストドクであった Sidney Altman は、大腸菌を極めて短時間、放射性同位元素 (³²P) で標識した後、RNA を抽出し、そのなかにチロシン tRNA の配列を含む分子を同定したが、配列を決めたところこの分子はチロシン tRNA の両末端に余計な配列を持っていたため、その tRNA の前駆体 (precursor) と考え、さらに大腸菌の抽出液中にその 5' 末端の余分な配列を

除去する活性を発見して、その酵素を RNase P と命名した。ただしこの段階では、この酵素活性がどういう生理的な意味を持つものか、明らかではなかった。また、そのチロシン tRNA の配列を含む分子が本当に前駆体であるのか、厳密には分からなかったのである。

坂野君の分離した突然変異体の内、ts241 と ts709 と命名された 2 つは、共に RNase P 活性が高温感受性であり、しかもこの 2 つの表現型は同じにも拘わらず遺伝子座が異なっていることが明らかになった。坂野君は、高温でこの変異体に蓄積する RNA を殆どすべてフィンガープリント法で解析した結果、すべて tRNA 配列を 1 個もつ単量体あるいは複数個もつ多量体の tRNA 前駆体であり、また多量体の場合どんな種類の tRNA がどのような順序で連鎖しているかを示した。またこれらの tRNA 前駆体を大腸菌抽出液で処理することから、RNase P 以外に多量体の tRNA 配列間のリンカー部分を切断する少なくとももう 1 種類のエンドヌクレアーゼ (RNase O) と、3' 末端側の CCA の形成に必要なエキソヌクレアーゼ (RNase Q) が tRNA 形成に必要なことを発見し、多量体の tRNA 前駆体のプロセッシングにおいては、これらの酵素が RNase O, RNase P, RNase Q の順番に逐次的に作用することを示し、さらに、これらの酵素活性を部分精製することにも成功した。これらの研究成果は 1976 年、コロンビア大学の創立 200 周年記念の Protein - Nucleic Acid Recognition というバイオメディカル・シンポジウムで私が招待講演したが、このシンポジウムの内容はアカデミックプレスから本として出版された。Altman と我々は独立に RNase P の研究をしていたわけで、極めて激しい競争をしていたが、ある意味で相補的でもあった。Altman は単に生化学的手法だけで研究を進めていたわけで、本当にこの酵素が細胞の中で果たす生理的な役割については明らかではなく、我々の研究によって初めて RNase P の生理学的な意味あるいは役割が解明され、同時に RNA プロセッシングという概念が明確にされたのであった。

坂野君が同定した多量体 tRNA 前駆体の内、Band 7 とよばれたものは、少なくとも Met(m), Gln(1), Gln(2) の tRNA を含む 4 ~ 5 量体前後の分子と推定されていた。彼は外国に留学してしまっていて、その正確な構造は明らかにされていなかった。大学院生だった中島 登君 (元生物分子工学研究所主席研究員) は、大腸菌ゲノムから Band 7 と相補的な DNA 部分をクローン化し、そのヌクレオチド配列を決定した。その結果、この DNA 中には (5')—Met(m)—Leu—Gln(1)—Gln(1)—Met(m)—Gln(2)—Gln(2)—(3') という 7 個の tRNA 配列が一つのプロモーターによって転写される、つまりオペロンであることが判明した。Band 7 はこの tRNA オペ

ロン (supB-E オペロン) から由来していたのである。この結果は、大腸菌の tRNA 遺伝子がクラスターを形成してゲノム内に存在することをしめした最も直接的な証明であったし、またその後の解析からも大腸菌に存在する最大の tRNA オペロンであることが明らかになった。中島君のこの結果は 1981 年 1 月号の Cell に発表され、またその構造は J.Watson の教科書 MOLECULAR BIOLOGY OF THE GENE (Fourth Edition) (Watson, Hopkins, Roberts, Steitz, Weiner) Vol. 1 (401 頁), および Stryer の教科書 BIOCHEMISTRY (Third Edition, 743 頁) に掲載されている。

7. RNase P の研究

tRNA 前駆体のプロセッシングの研究は RNase P の研究と繋がっていた。つまり ts241 や ts709 の研究から、RNase P には 2 つのサブユニットから構成されることが予想され、いきおいこの酵素の研究へと発展していったのである。この 2 つの突然変異株を我々から供与された S.Altman とは必然的に激しい競争がおこっていた、毎年、コール・スプリング・ハーバーの RNA プロセッシング・ミーティングでの、私と彼との論争は本当に激しかった。聴衆が Shimura 派と Altman 派に分かれていた感じさえした。発表の際どちらが先になるかで毎年、一悶着があった。どちらかと言えば座長は Shimura 派が多く、したがって私を先頭に発表させようとする事が多く、その都度、Altman は物凄い剣幕で座長につめより、座長が困っている姿を見て私が譲るケースが多かった。私が未だ喋っている間に、彼は質問のための手を挙げていたこともよくあった。まあ今となっては若いときの良い思い出となっている。

我々の研究によって初めて RNase P の生理学的な意味あるいは役割が解明され、同時に RNA プロセッシングという概念が明確にされたのであった

Altman は、ts241 が蛋白質サブユニットをコードしている遺伝子の変異であり、ts709 が RNA サブユニットをコードする遺伝子の変異であることを、我々より少し早く見つけて発表した。この RNA サブユニットをコードする遺伝子のクローン化も、激しい競争になり、彼らがちょっと先に発表したのであるが、配列は間違っている上に、私共のペーパーに難癖つけて、とにかくすざまじい剣幕だった。とどのつまりはこの RNA が触媒活性を持つという論文のことでまたやり合って、ほとんど疲れ果てた。彼の方もかなり疲れたらしく、私が病気で入院した 1 ~ 2 年後、Altman も病気になるって入院したようである。それはともかくとして、このバトルは彼の勝ちで、Cech と一緒に 1989 年、ノーベル化学賞を受賞したのであった。

今にして思えば「つわものどもが夢の跡」ともいえるが、そのバトルの最中は本当に胃が痛くなるような毎日であった。彼はポストドク数人と学生数人を抱えていたのに対し

て、私の方は院生二人程度の戦力だったので、戦力そのものでは比べようもなかったのであるが、ただ一つ明らかなことは、彼の成果には我々の突然変異株が大きく貢献していたことである。そんなバトル後も、院生だった白石英秋君(現・京大院生・助教授)は、RNA サブユニット(MIRNA)の機能部位の構造について優れた論文を発表している。

8. 余 談

私が tRNA プロセッシングや RNase P の研究を盛んにやっていた頃、当時、カリフォルニア大学サンフランシスコ校の教授していた Howard M. Goodman が、1975年にサバティカルで京都にやって来た。当初、彼は1年間京都にいて、京都を楽しみながら、私と一緒に真核生物の tRNA またはその遺伝子でも研究しようとしたのであった。一方、不幸なことに小関教授は彼のところに遺伝学を習いに来たと思われたのである。この2人の気持ちのずれが不幸を呼ぶことになった。Goodman は私の実験室兼居室(この部屋は狭く、また機器類が一杯で暗く、J. Watson が牢獄と呼んだしろものであったが)にデスクを置き、当然、私と接触することが多く、小関教授とは接触することは極めて少なかった。これが小関教授にとって大変の不快なことであったようである。

Goodman は私と話し合っ、酵母からチロシン tRNA のサブレッサー遺伝子を分離し、またその野生型遺伝子もとって配列を決めようとした。それで酵母の DNA を制限酵素 EcoRI で切断してベクターに繋げる操作までした時、小関教授が私の部屋まで来て「日本では未だ組替え DNA の規制がない状態なので、そのような実験はしないでくれ。即座にその DNA を破棄するように」という意味の言葉を強い語調で言われた。私がそれを翻訳した時 Goodman は烈火の如く怒り、「規制がないからしても良いではないか！ 第一、こんな組換え実験は安全なのだ」と主張した。間に入った私は、内心は Goodman に全く賛成であり憤懣やるかたなかったが、心ならずこの研究を放棄することにした。これ以来、Goodman は極度の日本人不信になり、1年の予定を半年にしてアメリカへ帰国してしまった。帰国前に厄介になったからと、私と家内とを京都のレストランに招待してくれた。そして彼は一言、「I cannot understand him. Something is wrong with the Japanese university system.」と述べた。

この話には後日談があった。Goodman は帰国後残りの半年のサバティカルをオレゴン大学の Ben. Hall の研究室で過ごした。そこで、私と始めた酵母の tRNA 遺伝子の研究を、同じプロトコルで行ったのである。その結果、チロシン tRNA 遺伝子の中に14塩基から成るイントロンを発見したのであった。このことを報告した彼の PNAS の論文は、Sharp のグループがアデノウイルスの後期遺伝子におい

てイントロンを発見したことを発表した PNAS の論文の1号後、つまり1ヶ月後であった。これから先は私の憶測であるが、あのままもしも私との実験を続行していたならば、ことによると Goodman と私とが最初のイントロン発見の名誉を得ていたかもしれない。

この事件は勿論、小関教授だけの責任ではない。Goodman も極めて神経質で、ある意味でちょっと変わった性質の人であったことも原因の1つであったと思われる。何よりもこれは講座制の中での事件であったが、そのためもあって、これはアメリカ人の彼には全く理解出来なかったことであろう。事のついでに言えば、講座制には私は強く反対しているものであるが、私がこのような意見を持ち始めたのは、この事件も含めて若い頃のいろいろな経験があるからである。

(第三話 完) — (続く)

スウェーデン便り — (3) —

11月、12月のストックホルムは寒くかつ暗い。初めて冬を過ごしたときは、寒さよりもその暗さに参ってしまう人が多い。暗い厚い雲がたれこめて気持ちが滅入るのである。それでも12月になるとクリスマスのデコレーションで街に少し明るさが出てくると、ノーベル賞の授賞式もあって、何となく賑わう感じがでてくる。その頃、スウェーデンには特有の変わったお祭りがある。12月13日の早朝、コンテスト等で選ばれたルシア役の女性が、ローソクを何本も頭の上にてたてている姿はちょっと奇妙に見えるが、そのルシアを先頭にローソクを片手にした聖歌隊が、賛美歌やサンタルチアを歌ってスウェーデン中のあちこち(学校、施設、公共の場所等)を訪れる(写真)。幼児キリストを想定した子供も参加する。これはもともとドイツからきたキリスト教文化を、スウェーデンの風土的な都合で勝手にアレンジし直したもののようである。キリスト教のクリスマス前の行事(一週間の断食入りの日に当たる)と、一年中



で一番暗い季節を過ごすための楽しみといった要素があつて、宗教色は薄い。暗闇の季節であることから聖ルシア (lucia は、光を意味する lux から由来するらしい) を思いついて、ついでにサンタルチアも歌も頂戴したようである。いずれにしても、朝7時、真っ暗な内に我々のアパートの住人は集合して、ルシアが来るのを待った。そのうちに心地よい歌声が響いて来る。始めと終わりにサンタルチアを歌い、歌の行進が終わった後は、食堂でサフラン入りのルシアパン、シナモンの効いたルシアクッキー、コーヒーなどが振舞われる。その軽朝食が終わる頃、夜が明けてくる

というわけである。暗いスウェーデンの冬に、明るさと何とない温かみを感じさせる行事である。こんな風に、長い暗い季節を過ごすための楽しみを、ノーベル賞の授賞行事の他にもいろいろと考え出されているのが面白く、スウェーデンの冬の風物詩の1つである。

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 ◆

Hey! mountain

井上 丹 (京都大学大学院生命科学研究科)

さらば 昨日の口づけよ
もうそれはそれとして
燃えあがる 胸

ならば 何をすればいいかと
もうそれはそれとして
湧きあがる 夢

the standard より

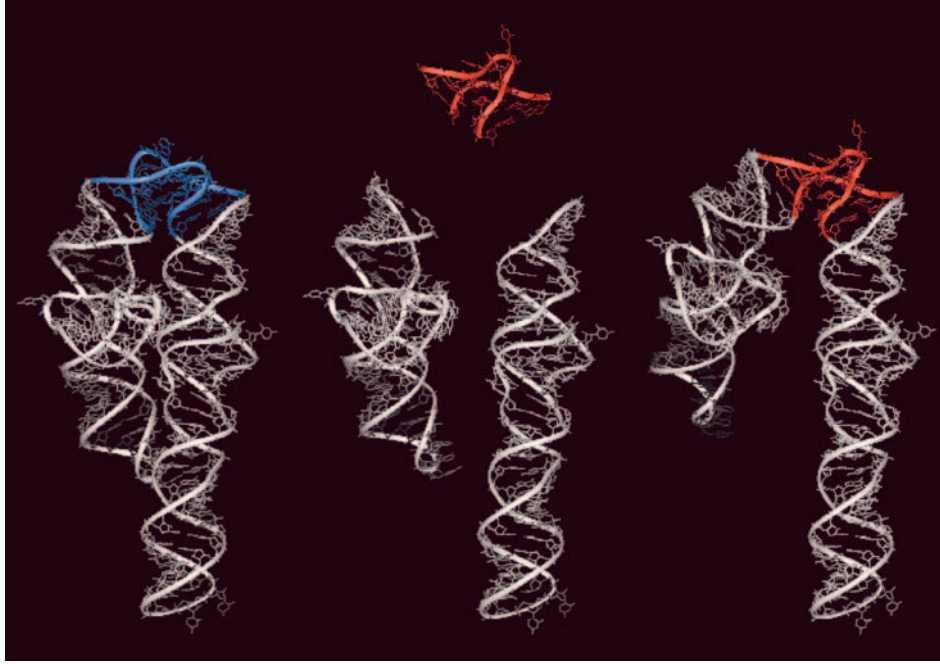
現在、「RNA のモジュラーユニット」の組み合わせによる分子構築の新手法の確立を図っています。この手法を一言であらわせると都合が良いので、今のところ「RNA architecture」と呼んでいます。具体的には、X線結晶学やNMRによる研究で解析された、RNAの原子レベルでの構造既知の構造単位を、自由に組み合わせ、なんらかの機能を持つRNA分子を設計・構築します。これにより、例えば人工のまたは天然の「RNAの骨組み」の上に「活性中心をもつモジュラーユニット」をインストールすることで、新しい酵素をデザイン・作成することができます。この新しいストラテジーによる分子設計の研究は、RNAの機能や構造について解析をすすめるサイエンスとしての側面をもっていますが、テクノロジーとしての色彩が非常に強いものです。今回、この研究をなぜ手掛けるようになったのかを書いてみようと思います。

具体的には、X線結晶学やNMRによる研究で解析された、RNAの原子レベルでの構造既知の構造単位を、自由に組み合わせ、なんらかの機能を持つRNA分子を設計・構築します

ひとことで言ってしまうと、サイエンスを裏返すとテク

ノロジーになる一例ということなのですが、それだけでは面白くありません。この文はエッセイでよいとのことなので、折角の機会ですから、話に少し色をつけてみようかと思えます。少々フザケタことを書くことになるかも知れませんが、その点はどうか大目に見て下さい…。

ではまず、論文で言えば abstract です。始めの研究を山登りに例えるところから始めます。さて、まず「RNA でできた酵素」の研究という山登りを、サイエンスの研究としておこないました。長い年月の果て、ついにその頂に到達しました。その後、もときた道を引き返すのではなく、途中で成功・失敗その他さまざまな経験を生かしつつ、山の向こう側の麓へ、さらにはその向こうの未知の大地に向かって現在進んでいます。この山越え後の下りの行程が「RNA architecture」という名前の新しい旅であります、とえばよいでしょうか。また、もう1つのより現実的な例えでは、長年かけてこつこつと預金をつづけ、その貯金がとうとう満期を迎えた。そこで、こ



Beauty of the RNA architecture

れを元手に、これまでの仕事の経験を生かした新しい事業を始めることにした、ということになりましょうか。

もたらしたのも、結局こういった夢とロマンではないでしょうか？…)

すばらしい日々

では行きがけの「RNA でできている酵素」の解析とは何だったのでしょうか？私が手掛けていたものは、Group I intron とよばれる RNA です。この RNA を切ったりつないだりすることができる RNA の酵素機能は、今から約 20 年前に発見されました。しかし、当時、このような RNA の存在は全く知られていませんでした。そのため、どうしてタンパク質ではなく RNA に酵素機能があるのだろうか？一体これがどういう構造をしているのか？またなぜ酵素機能を発揮できるのか？他にもこのような RNA があるのか？などなど、そのころは謎の山が築かれていました。この謎の山を前にして、これから始まる冒険への大きな期待があったように思います。そして、いつか辿り着くはずの山頂をはるか遠くに意識していたように思います。

1980 年前半、そのころの関係者は、大げさに言えば、まるで何かに追い立てられるように、熱に浮かされたように、すべてを捨てて研究の日々を送っていたように思います。そう言えば、この「RNA でできている酵素」の発見者である Tom Cech 氏も、ついこの前、京都を訪れて「あのころは実に楽しい素晴らしい日々であった」としみじみ言っていました。それでは、それらの日々がもたらしたものは何だったのでしょうか。改めて振り返れば、最大の功績は今注目的である「Non-coding RNA」という未知の世界の存在とその魅力を、あまねく生物学関係者に印象づけたという事かもしれません。(名コピー「RNA ワールド」が

さて、その頃には、この「RNA でできている酵素」にはいくつかの具体的な研究の流れがありました。研究テーマには、主に下記の三つが挙げられます。

1. 「RNA でできている酵素」にはどのようなものがあるのか？
2. このような RNA の生物学的な存在意義は何か？
3. このような RNA の構造と機能の関係また反応機構はどうなっているのか？

それらの結末は以下のとおり。

1. 小はハンマーヘッドリボザイムから大はリボソームまで様々なものがある。
2. 生物進化の初期から現存のすべての生物に到るまで、自己複製にかかわる重要な触媒機能を担っている。
3. 機能と構造の相関関係について大体のところは分かった。しかし、反応機構の詳細については、今ひとつの感がある。

ということで、これらの結論が出た時点で、山登りであればまあ山頂に到達した、貯蓄であればほぼ満期を迎えたということができましよう。

羊の歩み

山頂到達までには、ほぼ 15 年の歳月が、ある時は疾風怒濤のように、また時には淀んだ川の流れのようにゆっくりと過ぎて行きました。さてその頃の私はと言うと「この

ようなRNAの構造と機能の関係はどうなっているのか？」を追求する日々を送っていました。しかし、ここだけの話、後半、山頂に近づくに連れ、徐々に小さく倦怠感を抱くようにもなりました。初期の頃のとてもロマンティックだった日々を、身をもって知っていることで、後期の細かな解析とそれにまつわるクリシェとも思える細かなディスカッションの氾濫には、少々閉口するといったところもありました。私の研究室からのものも含めて、出版される論文数に反比例してロマンスは減少し、この研究に残された日々はわずかであることを実感するようになりました。そのため、20世紀もそろそろ幕切れかという頃には、徐々に、この研究からの引け時を考えるようになりました。

その時は2000年にやってきました。20世紀最後というなかなか味わい深い切りの良い年です。その年、研究対象であったグループIイントロンRNAのいわば「御本尊」とも言うべき活性中心は、独立した「厨子」のような小さな構造体の中に存在することを明らかにできました。そこで、この時点をもって一連の研究の幕引きとしました。私が1985年にアメリカで初めて自分の研究室を持ち、NIHからもらっていたグラントのタイトルが"Minimum Requirement of Group I self-splicing intron RNA"ということもあり、このあたりが落としどころであり潮時であろうと考えました。これは一人心中で決めたことなので、その後も同イントロンについての論文を出してはいます。しかし、ひとまずここを16年間にも及ぶ一連の研究の最後としました。

ドウスル？

その頃はつぎをどうするかについても画策していました。気分的には終わりそうな、でもまだ続きそうなこの旅をどうしよう…といったところでしょうか。選択肢は2つでした。ひとつは、きっぱりとこれまでのことを捨て、まったく違うことを始める。もうひとつは、折角、ほぼ山頂まで



龍安寺の蓮池から山を望む
New Frontier or Nirvana after the Sturm unt Drang ?

出版される論文数に反比例してロマンスは減少し、この研究に残された日々はわずかであることを実感するようになりました

登り詰めたので、頂に立つまでは視界にはいることの無かった、山の向こう側の見知らぬ世界を目指してみる。諸般の事情を考慮した結果、つつい好奇心にかられ、山の向こう側に行ってみることにしました。登りで積み重ねてきた成功失敗さまざまな経験を生かしつつ、まずその向こう側に広がる麓へと下り、その先にある未知の土地



ウィーンの店先にて

地向かって進んでみようかと決めたわけです。これが、この文の初めの方で書いた「RNA architecture」を始めるということでした。(こう書くと実にきっぱりきめたようですが、「清水の舞台から飛び下りる」というよりは、やむなく「ずり落ちる」といったニュアンスもありですが…)

始めてみてわかったことがあります。

元の研究では、何しろ謎の山に登ろうと言うのですから、前方もまわりもよく見えず、足下を確かめつつ少しずつ前進をはかるという具合で、今にして思えば、そのスピードは何とも遅々としたもので

した。しかし「RNA architecture」では、とりあえずは下り坂なので、周りの景色はよく見えるし、体感スピードもはるかに速いということがわかりました。いわば景色を楽しみながらスキーやスノーボードで気持ち良くスロープを滑り降りているといった感覚でしょうか。また、気前良くバンバンと散財をする気持ち良さとか…。しかし、一方、16年間もかかって貯めてきたものを、こんなに景気良く素早く使ってこの先どうなるのかという心配もあり、快感と不安が入り交じった複雑な気分でもありますが…

これから先はどうなるのでしょうか？今、山の向こう側の麓の先に広がる世界にある未知の土地とはどういうところでしょう。おぼろげに何かが見えているのかも、ほのかに灯りが見えているのかもしれないと思い、今はただ、できるかぎり早く、その地へ近づいてしまおうと思っています。

プロフィール

1980年東京工業大学理学博士、同大学理学部助手、米国ソーク生物学研究所助教授、準教授、京都大学大学院理学研究科 教授を経て現在 京都大学大学院生命科学研究科 教授

井上 丹

Tan INOUE

(京都大学大学院生命科学研究科)

そこは蓮の花咲く楽園それとも…

It's a Big RNA World

原田和雄

〔東京学芸大学 教育学部〕
物質生命科学学科

私が最初に RNA と出会ったのは、1988 年に San Diego 郊外の La Jolla (ラ・ホーヤと読む) にある Salk 研究所* (The Salk Institute for Biological Studies) の Leslie E. Orgel の研究室にポスドクとして訪れた時である。それまでは有機合成化学が専門だったが、少しでも生命現象の理解につながる仕事をしたいと思い、生命の起原の研究で知られる Orgel 教授の研究に興味を持った。1年か2年で日本に戻ろうと軽い気持ちで渡米したが、そのまま10年近くもポスドク生活を続けることになるとは夢にも思わなかった。

本稿では、ポスドクでの研究を通して、RNA と出会い、そして現在行っている RNA-ペプチド相互作用について研究するようになった経緯について振り返るとともに、ポスドク生活の中で印象に残ったことについて書いてみようと思う。

(私の) RNA World 「発見」

Orgel 教授は、RNA World 仮説が提唱される遙か以前 (1968 年頃) から、最初の生命体は RNA を主体とする自己複製体であった可能性について Francis Crick らとともに論文を発表していた (Orgel & Crick, FASEB J. 1993 7: 238)。そして、Orgel 教授はその可能性を検証する意味で、RNA ポリメラーゼ (タンパク質) の力を借りることなく、どこまで純粋に化学的に RNA を複製できるかについて長年研究していた。具体的には、1 本鎖 RNA を鋳型としてヌクレオチドを化学的に繋げる反応 (non-enzymatic template-directed RNA replication) を行っていた (The RNA World, Gesteland & Atkins, ed., pp. 1-25)。

私が Orgel 研究室に加わった当時は、Orgel 研での先輩にあたる井上 丹 博士によって確立された実験系 (Inoue & Orgel, Science 1983, 219: 859) を用いて、特定の RNA 配列のコピーが効率よく、しかも正確に進行するための条件が明らかになっていた。有機化学者からみたら度胆を抜かれるような反応の効率と特異性の高さである。ただし、いくつかの重大な問題が明らかになっていた。問題の1つは、リボースは不斉炭素を4つも持つため、多くの異性体が存

在することに関連していた。すなわち、上記の RNA 複製反応において、天然の β -(D)-体以外の異性体が混入すると反応が進まなくなってしまう。ところが、原始地球上で β -(D)-体の糖だけが存在していたとは考えにくい。そこで、RNA が出現する以前は、より単純なヌクレオチド・アナログ (例えば不斉炭素を持たないもの) が存在していたのではないかと考えられるようになった (PNAS 1987 84: 4398)。「Pre-RNA World」が存在したのではないかと、いう訳である。このような状況の中で、Orgel 研のメンバーの多くは、様々なヌクレオチド・アナログを合成し、その複製反応について検討していた。私の場合は、ヌクレオチドのリン酸の部分をカルボン酸に置換えた化合物を合成し、リン酸の重要性について検討したが (Orig. Life Evol. Biosph. 1990, 20: 151)、天然のヌクレオチドが如何に優れて

いるか再認識させられる結果となった (つまり、あまりうまく行かなかったということ)。その後、このような「RNA の起原」に関する研究は Albert Eschenmoser らによって精力的に行われ、「RNA の祖先」と成り得るヌクレオチドが考案されている (Science 2000, 290: 1347)。

Combinatorial World

上記のヌクレオチドの複製反応に関する研究をまとめたところで (1990 年頃)、当時、in vitro selection あるいは SELEX と呼ばれるような手法が発表された。核酸の4種の塩基をランダムに繋げあわせることによって生じる数多く配列の混合物 (combinatorial library) の中から、目的とする「機能」を持つ配列を同定する手法である。このような実験法の存在は、合成化学的に化合物を一つ一つ作っては活性をテストすることに馴れていた者としては、目から鱗が落ちる思いがしたのをよく覚えている。私も早速このような手法を使って DNA および RNA リガーゼの基質特異性の解析を行ったところ、結果はいずれも予想出来るものではなかった (PNAS 1993, 90: 1576; NAR 1993, 21: 2287)。人間の (というか私の) 頭で考えることの限界と、「自然選択」にも似たコンビナトリアルな手法の威力を見せつけら

そこで、RNA が出現する以前は、より単純なヌクレオチド・アナログ (例えば不斉炭素を持たないもの) が存在していたのではないかと考えられるようになった

れた思いだった。そして、この経験により、セレクション実験さえ上手く行けば何か面白いことが見つかるにちがいない(!)と思うようになった。私はギャンブルを一切やらないが(嘘つき?), この一見単純でギャンブル性の強いアプローチを試してみた結果、その形容しがたい魅力(やはりギャンブル性?)にのめり込んで行くことになるのである。

RNA-Peptide World

Orgel 教授のもとで遅滞きながら初めて(?)「研究」の面白さを味わったような気がしたものの、まだ自分独自のものを見い出していないという思いがあり、ポストドをもう少し続けることにした。Science や Nature の求人に応募し、いくつかの Interview に出掛けた。その中で RNA-ペプチド相互作用に関してはまだわからないことが多いところにとっても魅力(将来性?)を感じて、UCSF の Alan Frankel (実はそれまで知らなかった)の研究室に決めた。1993年のことだった。

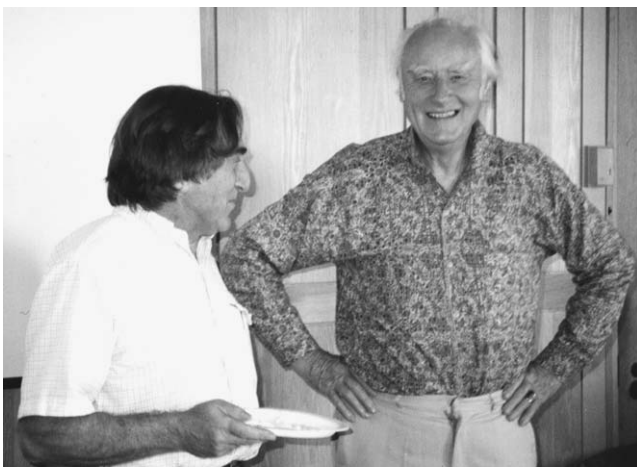
当時の Alan Frankel の研究室は Parnassus のメイン・キャンパス(現在は Mission Bay に移転)ではなく、エイズ患者を多く抱えていることで知られる San Francisco General Hospital の一角に位置する Gladstone Institute for Virology and Immunology にあった。これは、Gladstone が HIV 研究に重きを置いていて、Frankel 研では HIV の生活環において重要な RNA 結合タンパク質(Rev や Tat)をモデルとした、RNA-ペプチド相互作用の解析を行っていたためである。

Rev と Tat タンパク質の共通の特徴は、15~20 残基のアルギニンを数多く含む RNA 結合ドメインを持ち、しかもこの短い RNA 結合ドメインに相当する短いペプチドが単独で、タンパク質と同等の RNA 親和性/特異性を持つ点である。関連するもう 1 つの特徴として、ペプチドの配列の

複雑さが低く、RNA と結合する上でアルギニンを含む数種類の極性/荷電側鎖アミノ酸しか必要ないことがわかっていて、そこで、アルギニンを含む少数のアミノ酸をランダムにつながり合わせたライブラリーの中から RNA 結合ペプチドが同定できるのではないかと考えた。コンビナトリアルな手法はしばしば irrational design と呼ばれることがあるが、このようなアプローチは irrational design に rational な要素を取り入れたものと言える。そして、セレクションによって新規の RNA 結合ペプチドが同定できれば、RNA-ポリペプチド相互作用の理解に役立つであろうし、標的が HIV の RNA であれば医学的な応用も可能である。

次に、どのようにして RNA 結合ペプチドをセレクションするかが問題となる。当時、一般的になっていたファージ・ディスプレイ法によるペプチド・ライブラリーの作製が「正攻法」だったかもしれません。しかし、Utah 大学の Naomi Franklin 教授は、ファージ入の N タンパク質が boxB RNA と結合した結果として起るアンチターミネーションを検出するための大腸菌の系を確立したところだったので(J. Mol. Biol. 1993, 231:343-360)、この系(アンチターミネーション・システム)を利用することにした。

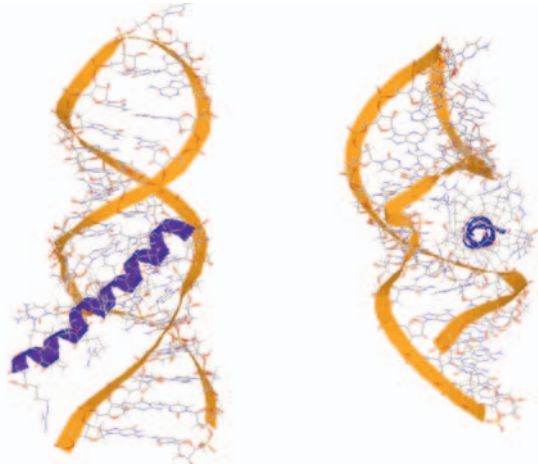
Rev タンパク質の結合相手である Rev responsive element (RRE)を標的としてセレクションを行ったところ、期待通り、アルギニンを含む 3~4 種のアミノ酸からなるランダム・ライブラリーから Rev と同程度の親和性を持つペプチドが同定できた(Nature 1997, 380:175-80)。また、このようにして得られたペプチドを同じシステムを使って、より強く結合するペプチド(RSG-1.2)に「進化的に」改変することが出来た(PNAS 1997, 94: 11887-92)。RSG-1.2 と RRE との複合体の立体構造が NMR により解析され、Rev-RRE 複合体と異なる結合の様式が見られた(Chem. Biol. 2001, 8:511-20; Nat. Struct. Biol. 2001, 8:146-50)。改めて、コンビナトリアルな手法の威力を見せつけられた思いがした。



Orgel 研のパーティーにふらっと現れた Francis Crick(右)。左が Leslie Orgel。Leslie Orgel は Salk 研究所が創設された 1963 年から、Francis Crick は 1977 年から Salk 研究所のメンバーである。

1997年に東京学芸大学に赴任してからも、アンチターミネーション・システムに改良を加えながら、新規 RNA 結合ペプチドのスクリーニングを行っている。レポーター遺伝子として、カナマイシン耐性遺伝子を導入することにより、同時に $10^8 \sim 10^9$ 程度の配列の検索が可能になっている(RNA 2003, 9:252-261)。また、より複雑なライブラリーをデザインすることにより、上記の RSG-1.2 よりも強く RRE と結合するペプチドが同定出来ている。一方、アンチターミネーション・システムをペプチドのセレクションばかりではなく、RNA のセレクション(in vitro selection に代わる方法として)、RNA-RNA およびペプチド-ペプチド相互作用の解析など、様々な用途への応用についても検討している。一方、これまでの研究対象は、Orgel 研究室で足を踏み入れた RNA の世界から、より複雑な物質系としての

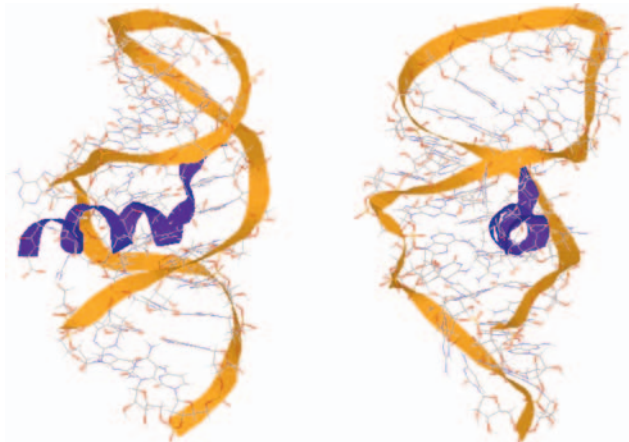
Rev-RRE complex



Battiste, J. L. et al., *Science*, **273**: 1547 (1996)

Rev ペプチド-RRE 複合体と RSG-1.2-RRE 複合体の比較 (NMR 構造)。それぞれ、右側の構造がペプチドのらせん軸から見た場合を示し、Rev は RNA の広げられた Major Groove に沿って結合するのに対して、RSG-1.2 は同じ領域に垂直に突き刺さるように結合していることがわかる。

RSG-1.2-RRE complex



Gosser Y. et al., *Nature Struct. Biol.*, **8**: 146 (2001)
Zhang, Q. et al., *Chem. Biol.*, **8**: 511 (2001)

RNA-ペプチド複合体の世界へと遷って来た。今後も、生物進化が辿って来たであろう道筋を模倣しながら、物質系としての複雑化、そしてこれによる新しい機能の発現のメカニズムについて研究して行きたいと考えている。

異文化を知る

ポストドク制度は、学位を取得した時の研究とは違ったことを学び、幅を広げるための貴重な機会であるように思う。今でこそ日本国内のポストドクのポジションが沢山あるが、当時は自由な研究を続けるためには外国に行かざるを得ない状況だった。海外での生活は、ポストドクの給料が少ないことを含めて (Postdocs live on the fringe of poverty とよく言われたものである)、苦勞をすることが多いが、異文化を知るための貴重な機会である。そして、自然科学がもともと西欧文化に根ざしたものであることを考えると、これは大変有意義な体験となるはずである。

大学院生向けではあるが、スタッフの大半が聴講していることも少なくなかったので、大学院の授業はスタッフの教育も兼ねていた

文化の違いを最も感じるのは、合理性、そして合理性に基づいた分業の発達であり、これは研究のサポート体制に最も良く現れている。アメリカに行ってまず驚かされたのは、ガラス器具を洗う人、ゴミを集める人、各種の事務を行うスタッフの仕事がはっきり区別され (分業の発達)、各々の人がプロフェッショナルに仕事をしていただことである。研究をする者は学生も含めて、研究にだけ専念できるようになっている点では大変合理的である。UCSF 時代、私は研究室の機器類の購入/メンテナンスを担当していたので、Purchasing の専門員とやり取りをすることが多かったが、彼らの知識の豊富さと手際の良さに驚かされた。

大学院学生の教育/研究もスタッフの分業により、大変充実していることにも感心させられた。UCSF の大学院の授業にはスタッフやポストドクも出席することが出来たので、私も実験に支障を来さない程度に講義に出席していた。例えば、Biological Regulatory Mechanisms (http://biochemistry.ucsf.edu/~bioreg/bioreg_home.html) という授業のスケジュールを見ると (1997 年 Winter Quarter), 「DNA 複製/修復」について Joachim Li (4 コマ) と Alexander Johnson (2 コマ) が、「転写」について Carol Gross (2 コマ) と Keith Yamamoto (4 コマ) が、「RNA プロセッシング/翻訳/RNA ワールド」について Alan Frankel (2 コマ), Christine Guthrie (3 コマ), John Abelson (2 回) が担当していて、それぞれの分野にお

ける最新の研究成果を盛り込んだ大変レベルの高い授業を行っていた。大学院生向けではあるが、スタッフの大半が聴講していることも少なくなかったので、大学院の授業はスタッフの教育も兼ねていた。そして、このこともあって Christine Guthrie は、1 年に一度、この 3, 4 コマの授業のために 1 ヶ月以上準備をしたそ

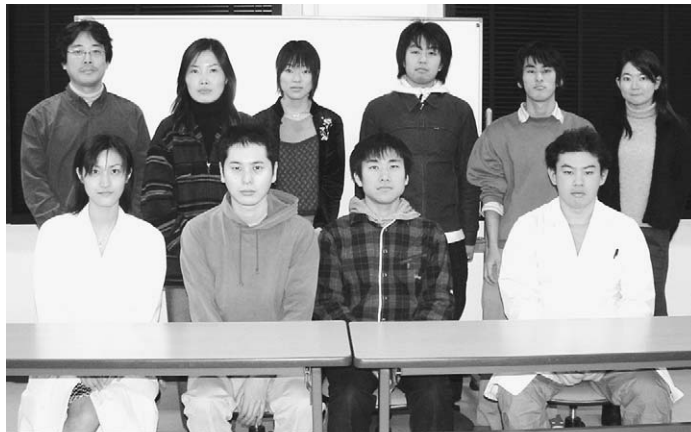
うである。学生は、このような講義 (週 2 回) 以外に discussion session で毎週一つの論文について徹底的に討論し、試験はひとり 1 時間の口頭試問が行われていた。もうひとつ、教育における分業に関して言えば、UCSF では、それぞれの学生の研究テーマの決定およびその進捗状況について、指導教官以外の教官数名を含む committee と定期的に相談しながら進められていた。また、UCSF にはポストドクも大変多かったが (UCSF だけで当時約 1,000 人いた)、ポストドクに対するサポート (ポストドクのための就職セミナー・シリーズもあった)、そして、学生、スタッフとの交流もさかんに行われ、楽しい思い出がたくさんある。とにかく、

Department 全体で上手に分業しながら一丸となって研究／教育に邁進する姿に圧倒された。

* San Diego の研究／生活環境については、本ニュースレター (Vol. 1, No. 2, pp. 64) で紹介されている。また、San Francisco Bay Area や Boston と肩を並べる Biotech Hub となっていることは 2003 年 12 月 11 日号の Nature の特集の通りである。

最後に

Joe Jackson は "Big World" という曲でこう歌っている—"It's a big world, so much to see (do), and plenty of room for me and you". テレビなどを通して世界が今までになく狭くなったと錯覚しがちだが、「百聞は一見に如かず、自分の目で世界を見て来なさい」と言っているのだろう。私には「研究の世界」のことを言っているようにも聞こえる。これからも RNA を通して色々な「世界」を自分の目で見て手を触れながら楽しんで行ければと思う。



現在の研究室のメンバーと。後列左端が著者。

プロフィール

1988 年筑波大学化学研究科博士課程修了 (理学博士)。米国 Salk 研究所ポスドク、カリフォルニア大学サンフランシスコ校ポスドクを経て、1997 年より東京学芸大学大学教育学部助教授。

原田和雄

Kazuo HARADA

〔東京学芸大学 教育学部〕
〔物質生命科学学科〕

◆ 随筆 : RNA and I ◆

Pol II-CTD との出会い

広瀬 豊

〔金沢大学がん研究所〕
〔細胞情報調節研究分野〕

わたしは現在、RNA ポリメラーゼ II (Pol II) 最大サブユニットカルボキシル末端領域 (CTD) のリン酸化が、mRNA 前駆体の転写とプロセシングのカップリングに果たす役割に興味を持ち研究しています。この小文では、このテーマに出会ったきっかけ・経緯を自分の研究生活を振り返りながら書きたいと思います。

わたしは大学院修士過程までは理学部物理学科に席を置いていましたが、生命科学への興味が高じ、博士課程からは金沢大学がん研究所の原田文夫教授のもとで分子生物学を学ぶことになりました。がん研では、がん細胞に於けるヒト内在性レトロウイルスの発現調節機構に関する研究を行った後、原田教授らによって同定されていた齧歯類低分子 RNA (4.5SRNA_H) の機能解析を数年行いました。4.5SRNA_H は、B1 リピート (霊長類では Alu リピートに相当する散在反復配列) と一次配列上の相同性を持ち、ポリ

(A)+RNA と会合して存在する non-coding RNA ですが、その機能は不明でした。低分子 RNA が natural なアンチセンス RNA としてターゲット mRNA にアニールして果たしている機能に思いを巡らせる中で、遺伝子発現の転写後調節に興味を持つようになっていました。その頃 (今から 10 年程前)、博士取得後の留学を考えていたので、卵成熟過程や発生過程の中で働いている翻訳制御機構、特にポリ (A) 鎖の長さを調節することによる制御または線虫の低分子 RNA lin-4 (いまでは microRNA の一員) によるターゲット遺伝子の発現制御を留学先で研究してみたいと思っていました。そうした研究室に手紙を書きましたが、条件やタイミング等の原因でうまく決まらない中、「同じポリ (A) なら」という安易さでアプライしたコロンビア大学の James Manley 教授から熱心な返事があり (わたしがそう勘違いしたらしい?)、Manley 研に留学することになりました。

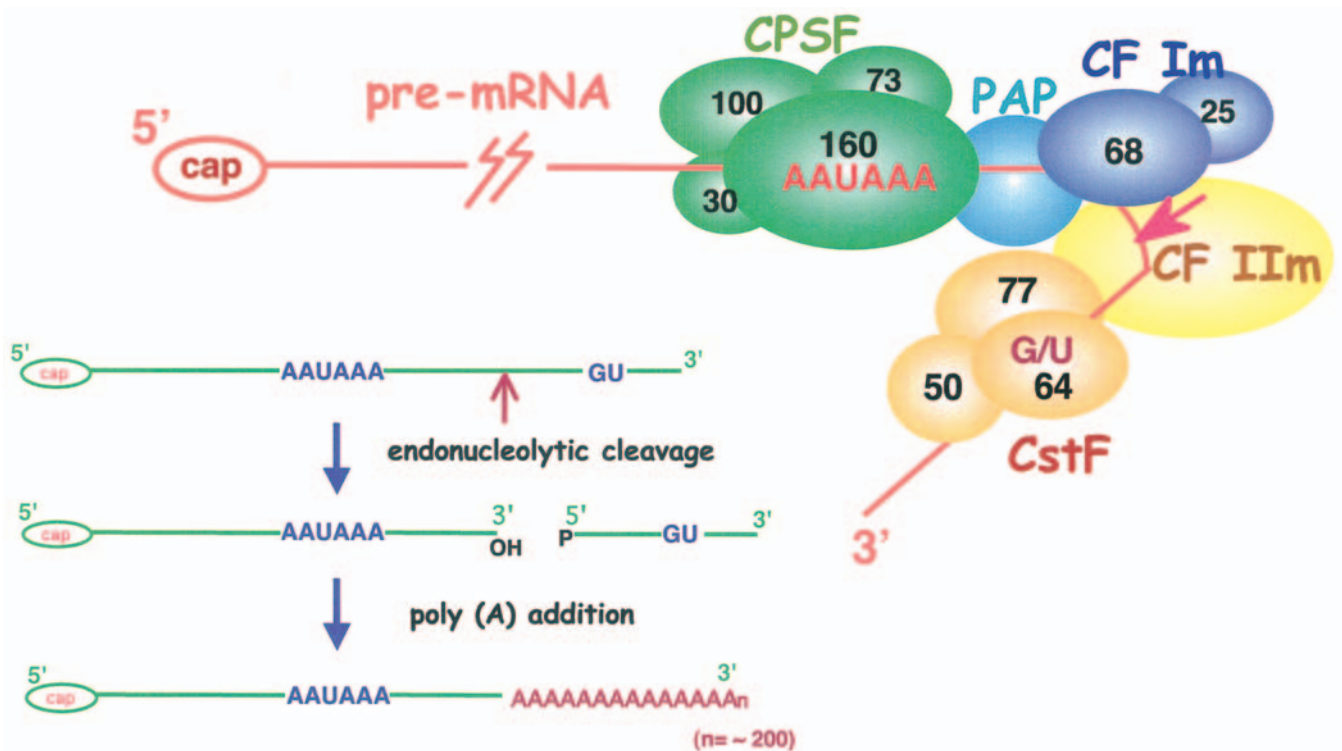


図1 哺乳動物細胞における mRNA 前駆体の 3' 末端形成 (ポリアデニレーション)

CPSF: cleavage and polyadenylation specificity factor PAP: poly (A) polymerase
CF Im, IIm: mammalian cleavage factor I, II CstF: cleavage stimulation factor

Manley 研で私に与えられたテーマは、哺乳動物 mRNA 前駆体の 3' 末端形成反応 (ポリアデニレーション) に必要な 2 つの未同定因子 (CF Im と CF IIm) を精製し、その構成成分蛋白質を同定することでした。哺乳動物 mRNA 前駆体のポリアデニレーションは、第一段階でポリ (A) シグナルの下流で RNA が切断され、その後第二段階のポリアデニル化がカップルして起こります。このポリアデニレーション反応には、当時 Manley 研で研究されていた高垣さんの仕事をはじめとした研究によって、生化学的に分離される 5 つの因子 (PAP, CPSF, CstF, CF Im, CF IIm) が必要なことが分かっていました (図 1)。このうち切断因子 CF Im と CF IIm 以外は同定とクローニングがすでに終わっていました。当初、「精製の初めの数ステップはもう確立しているから、あと数ステップのカラムを通せばすぐ行けるだろう。」とボスに言われ、蛋白質精製の経験がほとんど無かったわたしでしたが挑戦してみることにしました。しかし、このプロジェクトが私にとって予想以上に難題であることがわかって来たのは直でした。冬場は New York 郊外のスキー場でスキーを楽しめるだろうと思ってスキーウエアを日本で新調して行ったのですが、いつの間にか春・夏・秋と FPLC 相手に氷室にこもるための実験着になりました (おかげでスキーウエアはすぐにくたなくなりました)。HeLa 細胞 3 ~ 400 リットル分ぐらいの核抽出物を出発材料に、それまでに研究室で確立されていた数種類のカラムを通し、さらにそのあとの適切なカラムを探しながらの行程でした。しかし最後まで行かないところで活性はなくなってしまいま

した。精製途中まで同一分画に存在している CF Im と CF IIm を陽イオン交換カラムで分離したあとから活性が劇的に低下することは分かっていたのですが、それが何によるものなのかは不明でした。結局何度か元にもどって精製を繰り返すことになり、ボスからの強力プレッシャーとも相まって、相当のストレスを抱えることになりました。しかも精製を始めて半年程で競争相手から CF Im 精製の paper が出てしまいました。ストレスからか、治療歯の詰め物が突然はがれ落ちたり、知らない間にため息を頻発していたようで、後に「危ない状態だったよ」とつれあいに言われました。

なんとか状況を打開するために、それまでに確立されていた試験管内 3' 末端切断アッセイの反応条件を見直し、感度をより高く出来ないかと考えました。様々なファクターを振ってみる中で思いがけない現象が出て来ました。当時 3' 末端切断反応には ATP が必要だと考えられていたため、核抽出物または粗精製分画を用いた試験管内アッセイには、ATP 供給のためにクレアチンリン酸 (CP) が加えられていました。しかし、かなり精製した分画を用いた再構成系においても、ATP なしで CP 濃度を標準の 2 倍 3 倍と上げるだけで反応活性が劇的に亢進し、一方 ATP 濃度をあげることによってかえって活性は抑制されてしまいました。「ATP は切断反応に必須ではなく、CP 自身がコファクターとして必要なのだろうか？ひょっとしたら CP の持つ高エネルギーリン酸結合の水解が、反応へのエネルギー供給源とし

て必要なのかな？」と戸惑いました。当時なかなか目的因子の精製が出来ないわたしへのボスの信頼は地に落ちていましたから、「ユタカは、肝心の精製も出来てないのに勝手に変なところにこだわって何をしているんだ！」という気持ちだったのでしょうか、こうした実験はボスにはほとんど相手にされませんでした。しかし気になっていたのが、切断因子の精製をしつつ細々と実験を続けることにしました。その中で、CPの代わりにアルギニンリン酸(AP)でもRNA切断促進活性があることが分かりました。APはある生物種において、CPのかわりにATP供給用のグアニジンリン酸として使われますが、哺乳動物のホスホクレアチンキナーゼではATPを再成するために利用出来ないことが知られていました。「やはりATPではなくて、グアニジンリン酸自身が関わっているのかも知れない」と思うようになりました。その後仮説を検証するための実験をさらにを行い、試験管内3'末端切断反応において、ATPは必須ではなくCPが反応を活性化出来ることを示すことが出来ました。しかしCPの持つ高エネルギーリン酸結合の水解の必要はなく、その作用機序は未だに不明のままです。途中からボスも少しは認めてくれるようになり、この知見はカナダのバンフであった第2回の国際RNA meetingで発表することになりました。New Yorkに来てからもう2年が経っていました。

遺伝子発現の多様性を実現させる分子装置は、数多くの因子が関わった複雑で巧妙なものであると同時に、そこからのアウトプットの総体はとても美しいものになっています

そのmeetingでは、ウィスコンシン大のJames Dahlberg博士から「グアニジンリン酸の必要性は、非常にまれではあるけれど、リン酸化アルギニンをもつ何らかの蛋白質の働きをmimicしたものかもしれないね。」とのコメントがボスにあったそうです。グアニジンリン酸といった低分子化合物がある蛋白質の働きをどのようにmimic出来るのかは分かりませんが、リン酸化蛋白質というキーワードがインプットされることになりました。また「そういう想定もありなら、リン酸化セリンまたはスレオニンを加えた実験もしておく必要があるだろう。」と思い、CPのかわりにリン酸化セリンを反応系に入れてみました。不思議なことにリン酸化セリンにもCPと同等の活性がありました。「やはりリン酸化蛋白質が関係しているのかな？じゃあこの効果を、単にヘビーにリン酸化したなんらかの蛋白質を加えることで再現出来るだろうか？」と想像しました。突飛な空想でしたし、切断因子CF II μ mの精製が依然メインの仕事だったので、少しずつ材料を集めて試すことにしました。まずリン酸化蛋白質の候補として、Manley研では比較的手に入れ安い精製ポリ(A)ポリメラーゼとSR蛋白質を試しました。まったく影響はありませんでした。次にPol IIを試してみたいと思いました。なぜPol IIだったかといえば、その4年程前の1993年、まだ日本にいる時に読んでいたデューク大Greenleaf博士によるTIBS誌上の問題提起を思い出して

いたからでした。彼の仮説は、「Pol IIのCTDは転写中にリン酸化されることでマイナスチャージに富むようになり、そこにプラスチャージを持つSR蛋白質のようなスプライシング因子を引きつけることでプロセッシングと転写をリンクさせているのではないか」というもので、非常に印象に残っていました。さらにちょうどその頃、David Bentley博士らのグループによって「CTDはin vivoでmRNA前駆体プロセッシングにも重要である」ということが報告されました。幸いにManley研には転写制御を研究しているグループもあり、当時転写チームにいた大学院生が粗精製Pol IIを持っていました。さっそく貰って試してみました。するとなんとPol IIがCPなしで非常に強く3'切断反応を活性化しました。何度か実験を繰り返しましたがやはり結果は同じでした。その結果をボスに見せて以来、CF II μ m精製というテーマは後回しになることになりました。その後一連の実験を行い、哺乳動物のmRNA 3'末端形成におけるPol II-CTDの新機能をin vitro系で証明することが出来ました。以来、わたしにとって今日までずっと続くPol II-CTDとの付き合いが始まりました。

一方留学中のメインテーマ「切断因子CF II μ mの精製」は成し遂げられないままでした。最適化したアッセイ条件を使ってCF II μ mの精製を進めたある日、それまでよりも精製ステップがかなり進んだと思い、期待して精製分画を銀染



「RNA 2003 Kyoto」ポスター会場にて。
左：湯ノ口さん（修士2年）右：筆者

してみました。しかしなんとまだ10本以上のバンドがそこにありました。固定観念からか、活性と相関するせめて数本のメジャーなバンドを予想していたのでびっくりしたことを覚えています。結局時間切れで帰国することになってしまいました。今ならそれらのバンドを片っ端からMassにかけて候補遺伝子を決めていたと思います。そしてそれらのバンドの多くが反応に必要な蛋白質または関連する蛋白質だったのかもしれませんが。実際それからおよそ3年後に出版された競争相手だったグループからの論文では、7ステップを経たもっとも精製されたCF II α 分画には15本のバンドが検出されていました。現在でも、哺乳動物 mRNA 前駆体のポリアデニレーション反応に必要なすべての因子が明らかになっているわけでは無いということは、「切ってポリ(A)テールを付ける」という比較的簡単なこの酵素反応を担う装置が、思っていた以上に複雑で多くの蛋白質が関わっていることを意味しているのだと思います。またその装置の思いがけない複雑さは、この反応が転写終結、スプライシング、mRNA 輸送そして翻訳調節といった他の遺伝子発現過程と密接にリンクしていることを反映していることだと考えられます。リン酸化セリンやCPといった低分子化合物で反応を活性化出来たのは、これらの分子がこの複雑な複合体のアロステリックな構造変化を促進させたためか、またはこの複合体の中に存在する重要なリン酸化蛋白質の脱リン酸化を阻害することによって反応が活性化されたのかもしれませんが。今後さらにポリアデニレーションの詳しい機構が解明され、思いがけない現象との繋がりが明らかになって来ると思います。いずれにせよ、Pol II-CTDは、転写終結とポリアデニレーションをリンクさせるキーになっていることは確かのようなのです。

生物が進化の過程で獲得してきた最も大切な能力は、環境変化に柔軟に対応し生き延びて行ける「しくみ」を、様々な階層（細胞-固体-集団）で持っていることだと思います。高等真核細胞生物の細胞/固体レベルに於けるこれらのしくみの分子基盤のひとつは、ゲノム情報の取り出し過程である mRNA 生合成過程の多様性と柔軟性にあるのでしょう。蛋白質をコードする遺伝子の多くは、細胞外シグナルの受容や発生・分化プログラムにตอบสนองしてその転写量が制御されるのみならず、選択的スプライシングやポリ(A)付加によって機能的に多様な何種類もの蛋白質を作り出すことが出来ます。遺伝子発現の多様性を実現させる分子装置は、数多くの因子が関わった複雑で巧妙なものであると同時に、そこからのアウトプットの総体はとても美しいものになっています。まるで数多くのプレイヤーによるオーケストラかオペラの舞台のようなものです。わたしには、遺伝子発現の様々なステップを Coordinate している Pol II-CTD が、オーケストラの指揮者のタクトのようなものに見えることがあります。CTD

は7アミノ酸配列(Y-S-P-T-S-P-S)の特徴的な繰り返しで、その繰り返しの数は生物種のゲノム構造の複雑さに相関して増大する傾向(酵母で26回、線虫で33回、哺乳類で52回)にあります。生物が進化の過程で作り上げ、磨きあげた独自のタクトを使い奏でる音に思いを巡らせながら研究を続けている毎日です。

プロフィール

1989年金沢大学医学研究科博士課程中退、同年金沢大学がん研究所助手。1993年医学博士。1995年から1998年まで米国コロンビア大学ポスドク。現在金沢大学がん研究所助手。

広瀬 豊

Yutaka HIROSE

金沢大学がん研究所
細胞情報調節研究分野

◆ 随筆：RNA and I ◆

MAP キナーゼから RNA 結合蛋白質へ 全ては遺伝学の神様のお導きのもと

杉浦 麗子

神戸大学大学院医学系研究科・ゲノム科学講座
分子薬理・薬理ゲノム学分野

塩見さんから、〈どうして私(杉浦)がRNAの研究業界に参入することになったのか〉について述べよ、と本原稿執筆にあたってのご指示をいただいた。〈たまたま遺伝学的スクリーニングでRNA結合蛋白質が取れてきたから〉というのが本音であり、他の班員の方々のように高邁

な目標をもってRNA研究をしてきたわけではないのである。しかしそういつてしまうと身もふたもないし、今後班員に入れていただけなくなるのも恐いので、RNA結合蛋白質 Rnc1を同定した経緯について、自己紹介も含めてお話ししますので少々脱線もありますがお付き合い下さい。

ピアニスト—精神科医—
そして分裂酵母モデル系を用いた基礎研究へ

私は神戸大学医学部に入学する前に慶応義塾大学の文学部と法学部を出ている。これは「娘を世界的なピアニストにしたい」という親の酔狂に付き合っ、物心もつかない3つのときから1日に10時間以上もピアノの練習をしていたためである。親の期待通り毎日音楽コンクールで全日本2位になったところまでは良かったが東京芸大受験に失敗し、方向転換をやむなくされた。結果的に手に職を持つという割り切った考えから医学部に入り、卒後2年間精神科と内科の研修を行った。このころ神戸大学医学部薬理学教室の久野高義先生から「分裂酵母を用いた薬理学研究」をスタートさせたいのだが一緒にやってみないか、とお声がかかり良くわからないが面白そうだと思い大学院に入学した。

久野先生の「酵母は生えてくるのに3-4日かかるから臨床の片手間にでもできるよ」という言葉を信じて実験を始めてみたが、確かに生えてくるのは4日かかるが、毎日実験をすると毎日酵母が生えてくるのだ。気が付いてみると私は土曜も日曜もラボにいたのである。こうして私はそれまでの患者さんを相手にした生活から一転して、基礎研究にどっぷりとめりこんだ日々を送ることになった。

私の最初の研究テーマは、臓器移植の際に拒絶反応を抑制する目的で投与される免疫抑制薬FK506の標的分子であるカルシニューリン (CN) という蛋白質脱リン酸化酵素の機能解析を分裂酵母で行うというものであった。幸いなことに、実験開始1ヵ月後に分裂酵母のCNノックアウトはCl⁻に超感受性を示すことを発見し、これを指標とした遺伝学的スクリーニングを行うことで、カルシニューリンと機能的に関連する分子を同定しようと考えた。スクリーニングを開始してクローンが順調に取れ始め、遺伝子決定まであと少しという時、阪神大震災が神戸を襲った。

阪神大震災を超えて：MAPキナーゼとの出会い

震災の爪あと、という言葉があるがそんな言葉で表せるほど生易しいものではなかった。神戸大学も大学病院は何とか機能していたが、基礎の研究棟は壊滅的であった。壁や廊下には穴があき、外が見えた。実験ノートは水びたしになり、ガラス器具は割れ、試薬が床に散乱していた。厳冬、ガスも電気もなく、水道も出ない状態で私は1日も早い研究の再開をめざして3ヶ月間ラボに泊り込んだ。地震から3週間後、自衛隊が配給してくれた水をタンクに入れ

て運び、その水を使ってシーケンスを行った。私が同定したクローンがコードしていたものは、MAPキナーゼを脱リン酸化するMAPキナーゼホスファターゼであるということがわかり、Pmp1 (pombe MAP kinase phosphatase) と命名した(図1)。当時MAPキナーゼを脱リン酸化する dual-specificity phosphatase が高等生物で報告され(CL100/MKP-1)注目を集めていたが、分裂酵母にもこのような酵素が存在するという初めての発見ということもあり、この時の興奮はいまだに鮮明に記憶している。我々にとってさらにラッキーだったことは、Pmp1が脱リン酸化し、不活性化するMAPキナーゼは、我々が登田隆博士(ICRF)との共同研究で同定していたPmk1であることが明らかとなったからである。すなわち、カルシニューリン(CN)という脱リン酸化酵素とPmk1 MAPキナーゼ経路が拮抗的に機能するということが明らかとなったのである(図1)。

Pmp1をクローニングして間もなく、ノックアウトなどのテクニックを習うのに私は京都大学の柳田充弘先生の教室でベンチを3ヶ月ほどお借りしたことがある。この3ヶ月間というのは私の研究者人生において極めて貴重な体験であり、「柳田語録」をたっぴりと収集させていただいた。

「わけのわからないものには必ずその理由があるんですよ。だからへんだへんだといい続けることが大事なんです」

Pmp1に次いで私がクローニングした遺伝子はMAPキナーゼキナーゼをコードするものであった(Pek1と命名:pombe MEK1)。このことを知った瞬間柳田先生は血相を変えて「変だ変だ変だ!」と3回叫ばれた。そして「同じ遺伝学的スクリーニングで全く反対の働きをするもの

がとれてくるのは理解できない」<こんなわけのわからないものは隠蔽するんだ!!>と言われたのである。数日後気を取り直されたのか「わけのわからないものには必ずその理由があるんですよ。だからへんだへんだといい続けることが大事なんです」とおっしゃられた。

その後私は柳田先生の言いつけを守り、Pek1が取れてきた理由をしつこく考え続けた。その結果、Pek1というMAPキナーゼキナーゼは、リン酸化状態ではMAPキナーゼをリン酸化しMAPキナーゼシグナルを活性化するが、非リン酸化状態ではリン酸化状態のMAPキナーゼと安定に結合することで、MAPキナーゼシグナルを不活性化することが明らかとなった(図1)。したがって、Pek1はMAPキナーゼシグナルを負に制御するというメカニズムにより単離されたのである。

RNA結合たんぱく質とかけてMAPキナーゼととく：その心は？

第3番目のクローンとして私が取得した遺伝子は新規RNA結合タンパク質をコードしていた。CNノックアウトを抑圧するということからRnc1(RNA-binding protein that

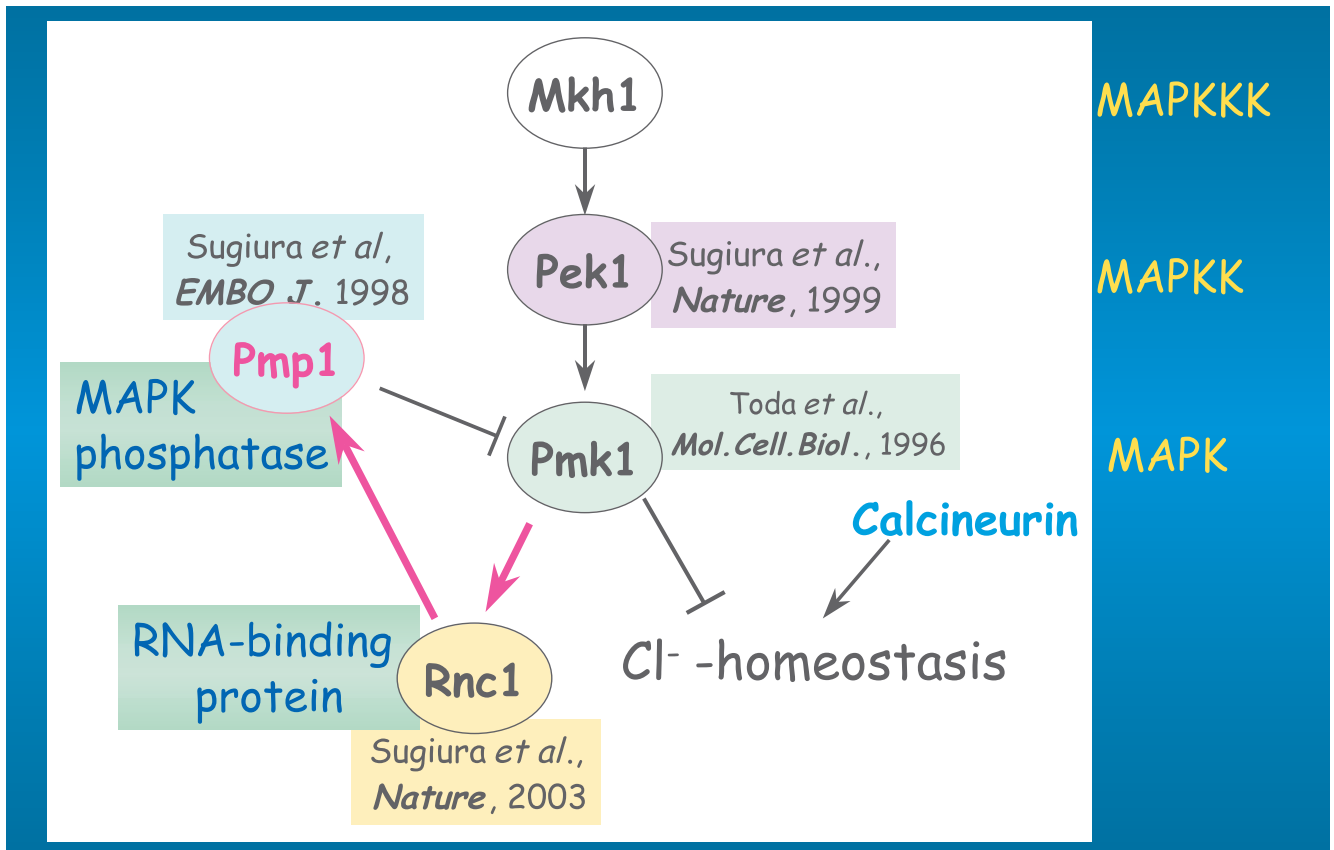


図1 マップキナーゼとカルシニューリンの拮抗的關係を利用したマップキナーゼ経路の遺伝学的スクリーニング

suppresses calcineurin deletion 1) と名づけた。これを取得失たのは今から約5年前である。Pek1 が取れてきたとき以上に述べたような状況でその解釈は困難を極めたが、このRNA結合たんぱく質もデータベースサーチの結果<KHタイプを3回有するRNA結合たんぱく質>という以外に手がかりはなく、初めは正直途方に暮れた。しかし、遺伝学的スクリーニングの醍醐味は、一見訳のわからない遺伝子が取れてきたその謎を解き明かすところにあるということ。前回のPek1の経験と柳田先生の教えから悟っていたので、あきらめずに考えつく限りのありとあらゆる実験をやった。しかし、一番肝心なくこのRNA結合たんぱく質のtargetは何か>ということに対しての手がかりが一向に得られなかった。

そこで振り出しに戻って考えてみた。<本来このスクリーニングはMAPキナーゼシグナルを抑制するものばかりが取れてきている><ならば、このRNA結合たんぱく質もMAPキナーゼシグナルを抑制するのだろうか?>そう考えてRnc1ノックアウト、および過剰発現によるMAPキナーゼのリン酸化状態を調べてみたところ、予想通りRnc1をノックアウトするとMAPキナーゼは強くリン酸化され、Rnc1を過剰発現するとMAPキナーゼのリン酸化が消失した。当然次の疑問は<RNA結合たんぱく質がどのようにしてMAPキナーゼを負に制御するのか?>というものであり、<Rnc1はMAPキナーゼを制御する因子を標的RNA

と結合することによりMAPキナーゼシグナルを負に制御しているのではないかと考えた。

RNA結合たんぱく質 Rnc1 は MAP キナーゼの制御因子であると同時に標的分子でもある

そこで、同一の遺伝学的スクリーニングで同定したPmp1 (MAPキナーゼホスファターゼ) に狙いを付けて実験を行った。Rnc1ノックアウトによるPmp1 mRNAの安定性を調べてみると、野性細胞と比較して劇的にPmp1 mRNAが不安定になっていることがわかった。さらに、Pmp1のたんぱく質もRnc1ノックアウトではほとんど検出されることがわかった。そこでRnc1とPmp1 mRNAの結合を検討してみると、予想どおりRnc1はPmp1 mRNAと結合することがわかった。従って<Rnc1はMAPキナーゼホスファターゼのmRNAをtargetとして結合し、安定化することでMAPキナーゼシグナルを負に制御する>ということが明らかとなった (図1, 図2)。

さらに興味深いことに、Rnc1のアミノ酸配列には6ヶ所のMAPキナーゼによるリン酸化サイトがあった。そこで<Rnc1がMAPキナーゼによるリン酸化を受けて制御されているのでは>と考えこれらのリン酸化サイトをAlaに置換したものを6種類作製し、それぞれをCNノックアウトに発現させた結果、50番目のThrを変異させたもののみが、

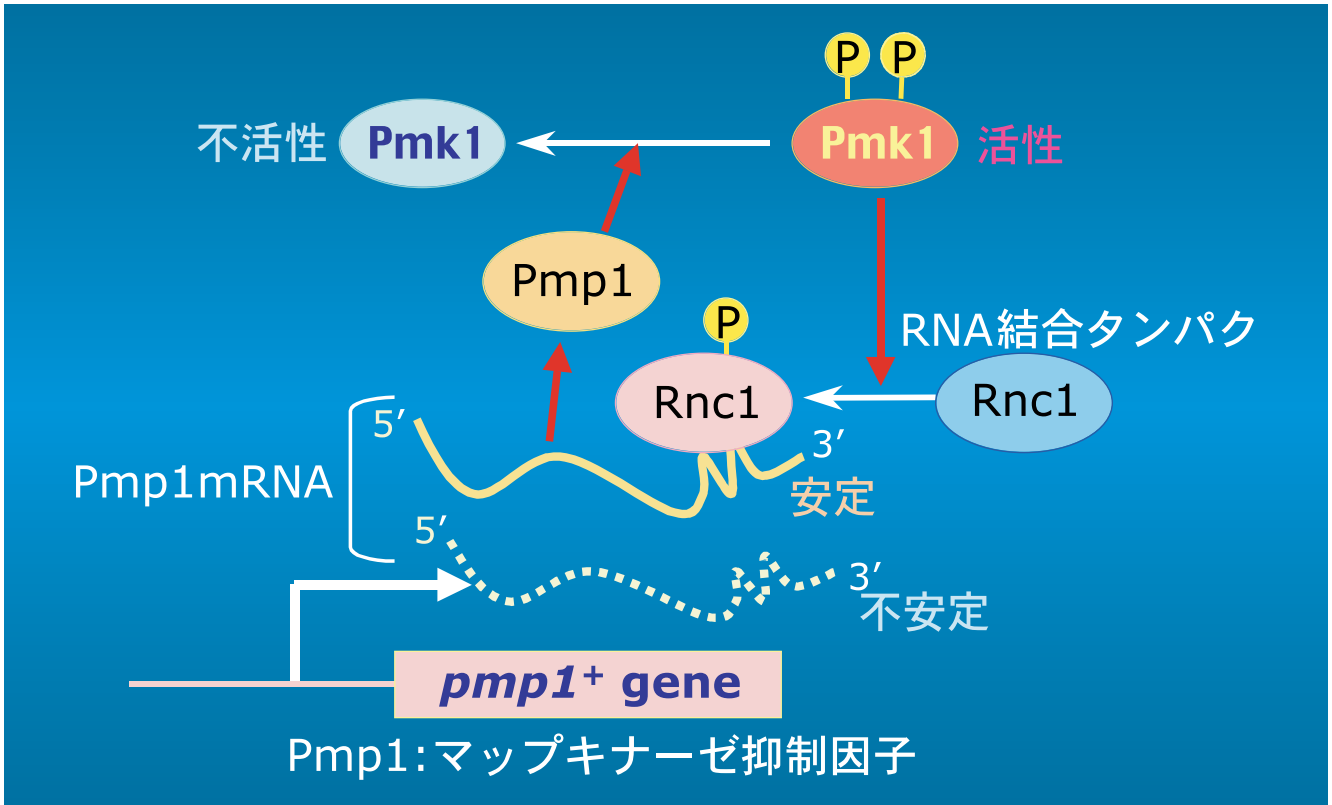


図2 RNA 結合たんぱく質 Rnc1 はマップキナーゼによるリン酸化の制御を受け抑制因子である Pmp1mRNA の安定性を介したフィードバックループを形成する

まとめますと、Rnc1 という RNA 結合蛋白質はターゲットの一つとして Pmp1 の 3'UTR に結合することで Pmp1 mRNA を安定化し、カルシニューリンノックアウトを相補すると考えられます。Pmk1 MAP キナーゼは上流からの刺激によって、リン酸化され、活性化することで、Rnc1 をリン酸化します。リン酸化された Rnc1 はより安定に Rnc1 と結合することにより Pmp1mRNA を安定化します。こうしてできた Pmp1 は Pmk1 MAP キナーゼを脱リン酸化することにより Pmk1 シグナルを不活性化します。このように RNA 結合蛋白質 Rnc1 は Pmk1 によるリン酸化を受けることで Pmp1 を介したフィードバックループを形成していると考えられます。

本来の効果を失っていることがわかった。そして予想通り、MAP キナーゼによって Rnc1 の Thr50 がリン酸化されることを vivo でも vitro でも証明した。さらに、MAP キナーゼによってリン酸化されることにより、Rnc1 はより強く Pmp1 mRNA と結合し、MAP キナーゼをノックアウトすると Rnc1 は Pmp1 mRNA と結合できなくなることがわかった。

以上の一連の結果をまとめると次のようになる (図2)。Pmk1MAPK が何らかの理由で活性化されると Pmk1 は Rnc1 をリン酸化する。Rnc1 はリン酸化されることで、より強く Pmp1 ホスファターゼの mRNA に結合し、本来極めて不安定な Pmp1mRNA を安定化する。その結果 Pmp1 タンパク質の量が増えることで、Pmk1 が脱リン酸化される方向に進み、Pmk1MAPK シグナルは不活性化される。このように、細胞は MAPK が過剰に活性化して暴走しないように、抑制因子である MAPK ホスファターゼの量をコントロールするネガティブフィードバックを有しており、RNA 結合タンパク質 Rnc1 がこのメカニズムの要となる役割を果たしていることがわかった。

転写活性化か mRNA の安定性か? ゲノム創薬への期待

現在までに提唱されていた MAPK のネガティブフィードバックは、各種の刺激や MAPK の活性化によって immediate-early gene としての MAPK ホスファターゼの発現が増えるというものであり、転写レベルでの mRNA の誘導によるものと考えられていた。しかしながら、高等生物においてもわれわれが発見したようなメカニズムが存在すれば、現在まで<転写の活性化による発現上昇>と解釈されていた現象も<RNA レベルでの MAPK ホスファターゼの安定化>として説明できるかもしれない。Rnc1 と Pmp1mRNA の結合は、Rnc1 の KH ドメインに依存するとともに、Pmp1mRNA の 3'UTR に存在する UCAU repeat を介するのだが、面白いことにこの UCAU のリピート配列は、Rnc1 と同じく3回KHドメインを有するRNA結合たんぱく質であるNOVAのコンセンサスと同じであるということがわかった。高等生物のMAPKホスファターゼの3'UTRには、不安定化配列とともにUCAU配列があり、高等生物のMAPKホスファターゼがRnc1の機能的ホモログによって制御される可能性を示唆しており興味深い。

また、このように RNA レベルで MAP キナーゼシグナルを負に制御することができるのであれば、癌化・炎症といった MAP キナーゼの異常な活性化による病態を改善するという医療への応用が期待される。具体的には small RNA などを生体内で発現させることにより、(本来不安定な) MAP キナーゼホスファターゼの mRNA を安定に発現させることができれば、〈病的な MAP キナーゼシグナルの活性化〉を矯正することができるのではないだろうか？このような治療法が開発されれば、シグナル伝達上の極めて特異的な分子をターゲットとした治療ということもあり、副作用も少ないのではないかと考えられる。

終わりに

以上、私がどうして RNA の研究分野に参入することになったかということについての紹介をさせていただきました。実は、Rnc1 以外にも遺伝学的スクリーニングで 2 個の RNA 結合たんぱく質を同定しています。これらも謎めいたものばかりであり、その謎が解けた暁にはまたご報告させていただきたいと思っております。これからも遺伝学の神様のご利益がありますように精進と研鑽を積んでいきたいと思っております。



神戸大学大学院医学系研究科 ゲノム科学講座分子薬理・薬理ゲノム学分野 集合写真
前から 2 列目一番左端に立っているのが杉浦です。

プロフィール

1997 年神戸大学大学院医学研究科博士課程中退、同年神戸大学医学系研究科薬理学教室助手。1999 年同上講師。2001 年 (5 月 - 10 月) 英国王立癌研究所に文部科学省在外研究員として派遣。2000 年より現所属、助教授、博士 (医学)。

杉浦麗子

Reiko SUGIURA

神戸大学大学院医学系
研究科・ゲノム科学講座
分子薬理・
薬理ゲノム学分野

◆ 随筆 : RNA and I ◆

RNA への思い

渡辺 雄 一 郎 (東大院総合文化)

私の研究人生の始まりは、岡田吉美先生 (東大名誉教授) との出会いからはじまる。先生は、故 Dr. George Streisinger (今では zebrafish の父として知られる) のところに留学し、T4 phage のリゾチームについてのタンパク質化学の研究をされた。プラークのサイズの違いを元にリゾチーム遺伝子のフレームシフト突然変異体を単離し、そのリゾチームタ

ンパク質のアミノ酸配列を決定されていったのである。当時まだ核酸の配列決定がままならぬ頃、アミノ酸配列をもとに、RNA 上のフレーム、3 塩基のトリプレットをというものを想定しながら、コドン表の解読、確認をしていった。Nirenberg, Ochoa といった大御所がああ表を埋めていった中で、奮闘されたことになる。権威のある人があることを

発表すると皆がそれを真実としてとらえ、それが間違っている部分を含んでいても、なかなか後継者の声は振り向かれない。Nirenberg もある時、表のなかである箇所のアミノ酸への assignment を間違えていた。場所は Cold Spring Harbor Laboratory Symposium でははじめ。先生は T4 phage のリゾチームの研究での持ちデータで違う assignment をしていた。心の中の葛藤がはじまる。実験系はことなる、自分のデータを信じるべきか。結局、先生は気を取りなして発表に望む。聴衆から受け入れられる。Symposium の最後、Nirenberg がまとめを行う。そのときのコドン表は、先生のデータにあわせたように修正が加えられていた。これをもとに自分のデータを信じると教わった。

こうした経歴をもって先生はタバコモザイクウイルス (TMV) の研究をはじめ、試験管内形態形成の機構、そしてウイルスの遺伝子の機能解析とすすめた。私はその過程をお手伝いしたなかで、独自にあらたな植物遺伝子の機能に出会うことになる。最初、分子生物学の波が起こる前後にその指導を仰いだ。セントラルドグマのインパクトが絶大なものがあつた。RNA といえば壊れやすい、分解されやすい。実際に研究室で RNA 分解酵素の“汚染”で RNA を扱う研究が半年以上出来ない時期も経験した。DNA → RNA → protein, そして 5' 端 → 3' 端, N 末端 → C 末端という方向性をもった情報高分子といった考えが身にしみ付く。この分野に残るときにいわれた事がある。テーマとして大変だぞ。

「動物に対して植物, DNA に対して RNA, 生物に対してウイルスという物質」いずれにしてもマイナーだよと。反骨精神をもって、RNA への思いを強くしたのはこのころであつたらう。ただやはり、RNA は情報を受け渡すする中間体としてみていた気がする。以下、RNA 遺伝子の研究を通じて感じたことを思い出してみたい。

1980 年代最初、植物ウイルスの複製を担う酵素として、ウイルス感染した植物特異的な活性が追い求められていたが、複製酵素としての条件を兼ね備えたものは見いだされなかった。研究者の中には植物ウイルスの複製は自らの遺伝情報に依存せず、健全植物にも存在する RNA 依存性 RNA ポリメラーゼに依存しておこなっていると考える人も現れる始末。確かに健全な植物にも外から加えた RNA に依存して RNA 合成する活性があるのである。1980 年代後半われわれの研究を含めて、逆遺伝学的な解析からやはりウイルスがコードしているタンパク質が複製酵素として重要であることが示された。では健全植物にもみいだされていた活性は何であつたのか。その意味はごく最近まで明らかにされていなかった。先生から、10 年前にいわれたことを思い出す。「健全植物に見いだされる RNA 依存性 RNA ポリメラーゼの活性は、ある遺伝子のアンチセンス RNA を

つくるような作用をしていて、遺伝子発現の抑制にきいているかもよ。今思いついたが、自分では忘れそうだから、いっておく。」この言葉の内容は先駆的な推察で、現在明らかとなりつつある RNA 依存 RNA ポリメラーゼの遺伝子サイレンシング、マイクロ RNA への関与を本質的についていたのである。いわれた私は非常に歯がゆい思いをしながら昨今思い出すばかりである。

私が TMV の複製過程の詳細をプロトプラスト系で解析している 1986 年ころである。アメリカの Roger Beachy ら (現 Donald Danforth Plant Science Center の President, St. Louis, USA) は TMV のコートタンパク質の遺伝子を植物体に導入し、発現させた。すると、その植物がもとの TMV の感染に対して抵抗性を示した。植物の病害抵抗性を高める現象の発見である。後に結局どの遺伝子領域を用いても一定の効果が観察されたことで解釈に混迷をきわめたが、ここ数年遺伝子サイレンシングの現象の発見とともに、多くの研究者が納得した。こうした経緯はともかく、過去十数年にわたり彼との交流がつづいており、最近ウイルス RNA の細胞内移行についての知見を共同研究で得ることに成功した。いい意味での交流を継続している。これも TMV がつないでくれた縁である。

平成にはいつてから、分子生物学の進展を見て思うことは直線思考のみではいけないこと。痛感している。DNA, RNA を直線的に描く癖のついた人間にとって、U 字型に分子を考える必要がでたことには面食らつた。クロマチン構造は当然として、エンハンサー配列が遠くから下流からでも転写活性化に絡むこと、mRNA の翻訳の際にはキャップ構造とポリ A 配列が関与することなどは、やはり頭を柔軟にしておかないといけなかつた。RNA ウイルスのゲノムは、キャップ構造、ポリ A の代わりに別の構造を持つものもあ



Roger Beachy 博士と私 (写真左)。1998 年当時、the Scripps Research Institute (La Jolla, USA) に彼の研究室があつた。現在は、St. Louis の Donald Danforth Plant Science Center の所長。短期滞在をした際の写真。

る。こうした生き様は、宿主との共通性と同時に独自性を思わせる。

1980年代後半から世界では種々の外来遺伝子が植物体に導入され、発現が多く試された。そのなかで外来遺伝子を導入させた際に、その遺伝子が内在性の遺伝子の配列と相同である場合、内在性遺伝子と外来遺伝子が影響を与えあい、ともに発現が抑えられる現象が見いだされた。のちにこの現象が遺伝子サイレンシングとよばれることになる。遺伝子サイレンシングをおこした植物体に起こしていない植物を接いでやると(接ぎ木)、効果が接ぎ穂へと移行することは特記に値するだろう。Baulcombe ら (John Innes Institute / Norwich, England) は緑色タンパク質 (GFP) 遺伝子を発現している形質転換体植物に、GFP 配列を抱えたウイルスを感染させてもその感染が阻止されることを見いだした。ウイルスの配列同士でなくても良かったのである。

あるウイルスが一つの植物体に感染したのち、同一または類似のウイルスが感染しても、その感染による病徴の発



David Baulcombe 博士 (写真左) と Vicki Vance 博士 (counter-silencing の研究者)。2001 年末の分子生物学会で来日した際の写真。横浜で日本的な場所としてお連れしたのが三渓園 (横浜)。これはその中の茶室でのスナップ。ここが良かったと言ってもらえた。Baulcombe 博士も滞在中でこのとき一番緊張しているように見受けた。やはり、日本にきてもらった海外の研究者に“日本”を経験してもらいたいと思っている。たまにはこちらの土俵で話を聞いてもらうこともいいだろう。学会会場は世界巾着が一緒である。

植物にはどうして RNA ウィルスが多いのですかという質問を何度か受けたことがある。こうした宿主とウィルスとの駆け引きの中で、なにか必然的なところがあったのではと想像する昨今である

現を抑えられる。作物を育てる際にまえて弱毒ウィルスを感染させておく。のちに強毒ウィルスの攻撃を受けても、いちど味わったウィルス攻撃を“記憶”している作物は発病が抑えられ、病害による被害が抑えられる。体液性免疫も、細胞性免疫を担当する細胞ももっていない植物が干渉作用をどのように引き起こすのか。こうして他人様が注目されるだけではいけない。われわれも地道に見てきた現象から、RNA 研究の中心に行こう。最近東大教養学部に移ってからは、ウィルス側の研究のみならず、シロイヌナズナを用いて干渉現象とよばれるこの現象に解析を加えている。配列依存性が見られることから、遺伝子サイレンシングとの関連が推測された。遺伝子サイレンシング、干渉作用との共通点や、相違点が明らかになりつつある。

1999 年末、Baulcombe らは遺伝子サイレンシングが起きている植物体内で、関与する遺伝子の配列を含む、25bp (最近 21-23bp という長さで記載される) の長さの RNA を検出した。いわゆる siRNA の発見である。センス側、アンチセンス側の配列がともに見いだされ、おそらく RNA は 2 本鎖の状態が存在することが想定された。Dicer による切断産物として解釈されている。この発見が報告されたときには、こんなサイズ普通見ないよなというのが率直な感想であった。ウィロイドという植物特有の病原体の環状 RNA 遺伝子をいじったことがあったが、そのときも約 300 塩基であり、それより小さい領域には tRNA しかないという先入観があった。これは仕方がない。見た人が偉い。

そののち植物にも miRNA が存在することが報告され、現時点での研究の繁栄がある。最近、miRNA 関連で論文を多く出す James Carrington も potyvirus という別の植物ウィルスの研究から始まっている。

最近、植物が遺伝子サイレンシングを起こしてウィルスの増殖を抑えようとすることに對抗できることも明らかとされた。最近、われわれが扱い始めた弱毒ウィルスもこの counter-silencing 能力が落ちていて、干渉作用をうまくひきだしていることが示唆された。

植物にはどうして RNA ウィルスが多いのですかという質問を何度か受けたことがある。こうした宿主とウィルスとの駆け引きの中で、なにか必然的なところがあったのではと想像する昨今である。

RNAissance といった言葉もみうけられる RNA 研究の興隆。最近、街でみかけた店の看板「RNA media」。目を疑う。いわゆる子ギャルを対象とした New Lady's street style をう

たった店のようだ。しかし一歩も店に踏み込めなかった。これはまったく抑制がかかっていない、これが lady かと遺伝子サイレンシングをみている私は思うばかり。早くタンパク質になって chaperon の世話になってほしい、そうか chaperon がいないのかと思ってしまう。まさか進化が早いという意味ではないだろう。一時のはやりものとなってほしくない名前である。DNA も車の宣伝に登場するご時世なので気にしても始まらないのかもしれない。でももし店名の意味するところをご存じの方がいたらご一報ください。関西発の店のようです。

最近大学で、文科系学生に生物を教える役割をかって出ている。霞ヶ関でバイオ関連を担当するような官僚、役人は文系出身であること、この先何年後かわからないがそうした素材となりそうな人に少しでも若いうちから理解しておいてほしいという願いがあがる。遺伝子組換え作物はひどく嫌われている。かなり感情的なもので DNA, RNA, 遺伝子は一種の人工添加物のように思われている。しかし、何のことはない。いつも核酸あるいは誘導体は身近にある。ダシの中のイノシン酸、ビール中のプリン体など話題になっているのではないか。いずれも生物が核酸を遺伝子として持つことに関連する。サイトカニンという植物ホルモンの一つも、ニシンの精子から調製した古い DNA が強い細胞分裂活性を持つことがきっかけとなり発見に結びついている。

一方で理系学生はむずかしい。高校の生物と違うと思うのだが、彼らは予備校、塾のように短時間に凝縮した情報を求めてくる。その発見などの裏の話、哲学などにはあまり興味を示さない。進学する先もその時勢にあった進路を選ぶ傾向が非常に強い。何事もじっくりと理性で考えて、時にはじっくりと自分を見極めていく時間やゆとりを持つ

てほしいものだ。自分しかできないことは何かを考えるのも大事だ。

RNA の研究の流れをしばらく見てきた身からすると、研究の幅が格段にひろがり、一種のトレンドのようになっていて非常にうれしいことである。ただ、ここまできたプロセスを人に伝えたい。年をとってきたのだろうか。フィーリングで決まる世の中で、少しでも本質を見極めるようになってほしい。

先生方、ポスドクの方、大学院生の方、ご自身がやっていることを学会、論文で国際的に発表するのはもちろん率先してやってください。それと同時に皆さんがやっていることを身近の一般の方、若い方にわかりやすくおもしろさを少しでも伝えてください。すると世の中もっとおもしろい研究の裾野が広がると思う。今盛んな RNA 研究はやはりおもしろいぞ。つたない英語でも海外で同じ内容を話した方がリアクションとしていいことが多いのは残念だ。一般の方にもわかる科学、そのための説明を考えるのは新たな発見をもたらすこともありますよ。

ここしばらくは ARNA bidopsis を材料に研究をやっけて行こうと思う。そして将来、RestauRNAt に入ってスローフードを楽しみながら気軽に研究の話が披露できる様な時代がくることを夢見る。名は RNAinforest Café でもしようか。

プロフィール

1986年東京大学大学院修了、理学博士。東京大学大学院助手を4年。1990年帝京大学理工学部バイオサイエンス学科助教授。1997年4月より現職、助教授。

渡辺雄一郎

Yuichiro WATANABE
(東大院総合文化)

RNA Update

特集：構造解析①

RNA と私の関係

河合剛太 (千葉工業大学 工学部)

卒業研究で高度好熱菌 tRNA 断片の NMR 解析を行って以来、現在に至るまで NMR による RNA の解析を続けてきた。いつのまにか 20 年が経過している。大学院生のとき、当時は助教授であった荒田洋治先生から「NMR を身につけ

るためには 10 年は継続させなければいけない」と諭された。この時間スケールから言えば、まだ高々 20 年である。当時、荒田先生からは五代目古今亭志ん生の落語を聞くことも指導された。この時代の鍛錬は、現在の講義や学会発表

に少なからず役立っていると感じている。さて、どうやら私の研究分野（手法）は、世の中では少数派であったようだ。博士課程のときに参加した生体系 NMR の国際会議では、数多くのタンパク質の発表に対して、RNA の発表は自分のポスターを含めて（世界で）3 件であったと記憶している。（核酸としては、数塩基対の DNA についてのポスターは 2 桁の数があったと思う。）会議のあと、国内の NMR の集まりで国際会議の報告があり、私がこのことを説明すると、宮澤辰雄先生が立ち上がり、「その（皆が行っていない）研究を継続することは大切だから、がんばってください」とおっしゃってくださったことを鮮明に記憶している。RNA の分野における NMR の発表についてもほぼ同様であったと思う。

しかし、とても幸運なことに研究環境にはいつも恵まれていた。平成 2 年度～7 年度までは大澤省三先生と横山茂之先生の 2 つの重点領域研究に参加させていただき、平成 9 年度からは未来開拓の予算をいただいたため渡辺公綱先生の特定期域研究には参加させていただくことができなかつたけれども、現在は本特定期域研究に入れていただいている。また、平成 3 年度～5 年度には、畑辻明先生の重点領域研究にも参加させていただいたが、これは RNA についての物理化学的な考え方を養うのに大いに役立った。このようなぬるま湯ともいえる幸運な状況で好きな研究を進めてこれたため、いつも RNA（構造）の研究は重要であると確信しつつけることができたのだと思う。おそらく横山重点のころ、志村令郎先生と夕食をご一緒させていただく機会があった。志村先生がご自身の RNA 研究が日陰の道であったという主旨のことをおっしゃったのに対して、「私はそんなことを思ったことは一度もない」と答えてしまったことがある。そのときの志村先生の驚いたお顔も忘れ得ない記憶である。

最近、「新しい RNA/RNP を見つける会」と称する集まりに参加している。この会は、non-coding RNA の研究を進めようと考えている人たちの集まりで、メーリングリストでの情報交換と年に 1～2 回のミーティングを行っている。12 月の分子生物学会（神戸）のシンポジウムもこの会による企画である。会の主要メンバーのうち、中村幸治さんと金井昭夫さんと私はほぼ同じ年齢ということもあり、この集まりを楽しんでいる。牛田千里さんと影山裕二さんは少し

若いメンバーだけれども、少なくとも飲み会の際のパワーでは負けていないつもりである。（パワーの点では中村特定の班会議には及ばないかも知れないが。）この会にご興味のある方はいつでもご連絡ください。

RNA の構造解析

私は、生体分子が機能するときの生の姿を知りたいと思っている。RNA は、塩基対とスタッキングの基本的な相互作用としてその立体構造が形成されている。これは、多様な官能基を側鎖にもつタンパク質と比べて著しく単純である。すなわち、物理化学的なものの方で見方で生体分子を考えるためには、タンパク質よりも RNA の方が適していると考えている。このような RNA の「かたち」と「うごき」を解析する手法として、NMR は強力である。NMR による解析では、まずシグナルの帰属（すなわち、ある NMR シグナルが RNA 分子中のどの原子に由来しているかという関係、あるいはそれを決定する作業）が最初の難関となる。実は、4 種類の塩基しかないことによる RNA の化学的な単純さがこの作業を著しく難しくしており、先に述べた本質的な解析の容易さと裏腹の関係にある。シグナルの帰属のためには、RNA を ^{13}C や ^{15}N などの安定同位体核で標識することが効果的であるが、これについては、日本酸素(株)の開発チームと共同で安定同位体標識 NTP の生産体制を確立し、現在は標識 RNA の受託合成にまで発展した。安定同位体標識を行ったとしても簡単に帰属できるわけではないが、少なくとも方法はあるといえる。帰属ができればつぎに構造情報（距離と角度）をできるだけたくさん抽出し、それらを満たし、なおかつ化学的にも間違いのない原子配置を計算機で見つけ出すことになる。ここで「化学的にも間違いのない」というところがくせ者で、現在の構造計算プログラム（あるいはそこで用いられる力場パラメータ）では、核酸の塩基対やスタッキングの効果について取り扱われていないと私は考えている。つまり、塩基対やスタッキングの性質をもっと勉強（あるいは研究）して、これをできるだけ反映させた計算システムを開発する必要がある

当時、荒田先生からは五代目古今亭志ん生の落語を聞くことも指導された



研究室対抗野球大会（千葉マリスタジアム）。



真っさらのマウンドから投げているのが河合。ただし 1 回で降板。

と考えている。実際に、このための経験的なパラメータを作成することをめざして結晶構造中のrRNAのヌクレオチド間相対配置のデータベースを作成したり、あるいは、ごく単純な方法で塩基対とスタッキングの項を組み込んだ構造計算を試みたりしてはいるが、実用化には遠いのが現状である。なお、従来用いられてきたNMRによる構造情報は局所的なものに限られていたが、最近、分子全体に関する情報（正確には、分子全体に対するある結合の向きの情報）が得られるようになった。残余双極子相互作用(RDC)から得られるこの情報は、細長いRNA分子にこそ有用であると考え、私の研究室でも取り組んでいる。最近、理研を中心としたハイスループット化の努力によってNMRによるタンパク質の構造解析の手法は著しく進歩し、タンパク質試料の調製からおおまかな構造決定までを週の単位で行うことができるようになってきている(らしい)。少なくとも私の研究室でのRNAの解析はもっと時間がかかるが、基本的にヘアピン形の20~30残基のRNAなら月の単位で構造が決まる(こともある)。

千葉工大で最初に始めたテーマの一つにHIV-1の二量体化開始部位の構造解析がある。平成9年度から6年間を費やして、最近ようやく39残基RNAの二量体(計78残基)の立体構造が決定できた。このとき、構造計算の問題などから、全体を大きく2つの部分に分け、それぞれの立体構

造を決定した後、全体の構造を構築するという手法をとった。この論文をまとめているとき(現在投稿中)、スタンフォード大学のPuglisiのグループが、HCV IRES domain II(75残基)のNMRによる立体構造決定についてnature structural biology誌に発表した。彼らも部分構造の決定という手法を採用しており、「やられた!」という印象である。彼らは上述のRDCも利用している。ところで、2~3年ほどまえにPuglisiと話したとき、「自分はNMRによるRNAの

RNAは、塩基対とスタッキングの基本的な相互作用としてその立体構造が形成されている。これは、多様な官能基を側鎖にもつタンパク質と比べて著しく単純である

解析は分子量的に限界だと感じていたが、超高磁場の分光計で初めて測定を行ったときに、将来が明るいと感じた」と言っていた。その答えが今回の論文であると思う。私も最近、日本で開発された世界最高磁場の920MHzの分光計でRNAの測定を行うチャンスがあり、まったく同じ印象を受けた。この装置はRNAのために開発されたのだと、個人的には確信している。

プロフィール

1989年3月東京大学大学院理学系研究科生物化学専攻博士課程修了。理学博士。日本学術振興会特別研究員、横浜国立大学工学部物質工学科助手、東京大学工学部工業化学科助手を経て、1997年4月より千葉工業大学工学部工業化学科講師。2000年4月より同助教授。専門分野は構造生物学、特にNMRによるRNAの立体構造解析。

河合 剛太

Gota KAWAI

〔千葉工業大学工学部
生命環境科学科〕

RNA Update

特集：構造解析②

「リボヌクレアーゼ」と「インターフェロン」

中村 和郎
田中 信忠

(昭和大学・薬学部・薬品物理化学教室)

我々の研究課題「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」に出てくるインターフェロン(IFN)とリボヌクレアーゼ(RNase)は共に、昔から筆者(中村)にとって因縁のある分子である。IFN-βは、東京大学薬学部から長岡技術科学大学(生物系)へ移った頃(1990年)の前後数年間、ほぼ同時期に移られた故三井幸雄教授と共に、東レ(株)との共同研究で立体構

造解析を手がけ、世界に先がけてその3次元構造を解明したのであった[Senda, T. *et al.*, Nakamura, K.T. & Mitsui, Y. *EMBO J.* **11**, 3193 (1992)]。以来、IFNの抗ウイルス作用に深く興味を抱いてきた。一方RNaseは、筆者が約二十数年間にもわたって、X線結晶構造解析を行ってきたものである。RNase A(S), RNase St [*Nature* **299**, 564 (1982)], RNase Ms, RNase Rh [*J. Mol. Biol.* **255**, 310 (1996)], RNase LE[J.

Mol. Biol. 298, 859 (2000)], RNase Le2 等々, 哺乳類由来から微生物由来までさまざまなタイプのRNaseの構造と機能について考察してきたのである。このように, 筆者が永年興味を抱いてきた「IFN」と「RNase」という2つのキーワードを結びつけたのが, RNase Lを主役とする「2-5A システム」である。

この抗ウイルス機構は図1に示すように, (1)IFNで誘導される4量体2-5A合成酵素(46kDa × 4)がATPから2',5'結合オリゴアデニル酸(2-5A)を合成し, (2)2-5Aが不活性型RNase L(単量体, 84kDa)を活性化し, (3)活性型RNase L/2-5A複合体(2量体)がウイルスのmRNAを分解し, ウイルスの蛋白質合成を阻害することにより, ウイルスの増殖を抑制する訳である。これまでに, 糖の分解代謝系や補酵素の合成系などの一次元的な集合系酵素群の包括的立体構造解析の例は, いくつか知られている。しかし, 本機構は, 上流酵素の生成物による下流酵素の活性化などを含む, より複雑なカスケード型の系の酵素群からなっており, 本研究ではそれら酵素群の立体構造を解明し, 全体像を理解することを目指している。また, 構造解析の標的として, 2-5A合成酵素, RNase Lのいずれの場合においても, 最も興味深い研究対象である「ヒト」由来のサンプルを用いるため, その成果は下記のような抗ウイルス薬のデザイン等に即座に応用することができると思われる。

即ち, 2-5Aシステムの主役であるRNase Lの立体構造を決定することは, 次のような抗ウイルス薬の合理的デザインに繋がる可能性を秘めている。(1)RNase Lに対する活性化能のより高い2-5A類似化合物は, RNase Lを活性化することにより, 抗ウイルス薬となり得る。(2)標的とすべき外来RNAの配列が分かっている場合, 2-5Aに標的RNAのアンチセンス鎖を付加した化合物をRNase Lに結合させることにより, 標的RNAを効率よく捕らえ, 分解することが可能となる。しかし, これらのような2-5A類似化合物は2-5A合成酵素と相互作用してしまう可能性があるため, 2-5A合成酵素の立体構造も薬物デザインのためには必須で

ある。

本研究の準備状況は以下のようなものである。研究協力者である岐阜大学工学部の中西博士らは, 大腸菌を用いたヒトRNase Lの発現系を構築することに成功している。また, 同じく岐阜大学工学部の北出幸夫教授は, RNase Lをターゲットとする2-5A類似化合物の合成の専門家である。そこで, 結晶化に用いる酵素サンプルは, 中西博士から供給を受け, 複合体結晶の調製に用いる2-5Aあるいはその類似化合物は, 北出助教授から供給を受けている。

以下, 結晶解析研究の進展に関し述べる。図2(上)にRNase Lの1次構造の概略図を示した。N末端側のアンキリンリピートドメイン(以下ANKと略, このドメインに2-5Aが図2(下)のように結合し, RNase Lを2量体化させ, 活性化するという仮説が現在は受け入れられている)に関しては, 2-5Aとの複合体として, 我々は結晶化に成功した。得られた結晶は斜方晶系に属し, その空間群は $P2_12_12_1$, 格子定数は $a = 63.02\text{\AA}$, $b = 72.96\text{\AA}$, $c = 82.45\text{\AA}$ である。兵庫県播磨にあるSPring-8のビームラインBL41XUにおいて, 回折強度データの収集を行い, 2.2Å分解能までのデータを収集した。

大腸菌によるヒトANKの発現・精製は非常に難しいため, N末端にHis-tagを付加したANKの発現系を構築した(His-ANKと略)。His-ANKに関しても, 上記と同じ空間群, 類似の格子定数の結晶が得られている。また, 興味深いことに, ANKのC末端にHis-tagを付加したANK(ANK-His)に関しても, 類似の結晶が得られている。

これまで, 各種タンパク質のアンキリンリピートドメイン(タンパク・タンパク相互作用に関与するものもあれば, タンパク質・核酸相互作用に関与するものもある)の立体構造が数種類報告されているが, 我々が得ているANKは, RNase LのN末端側ドメインの9回繰り返し構造全てを含むものであり, 結晶化に成功した最長のアンキリンリピート

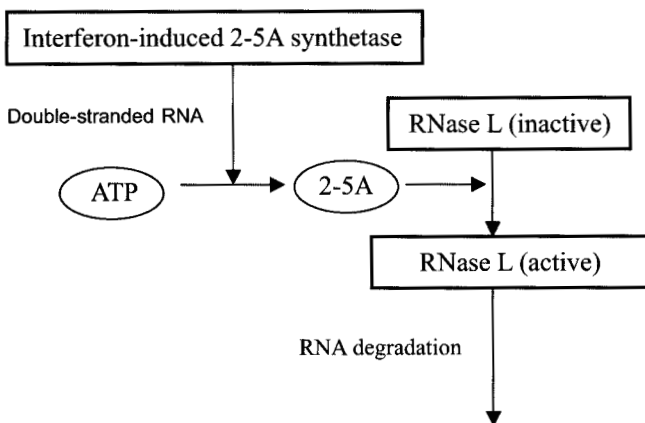


図1 2-5Aシステムの抗ウイルス機構

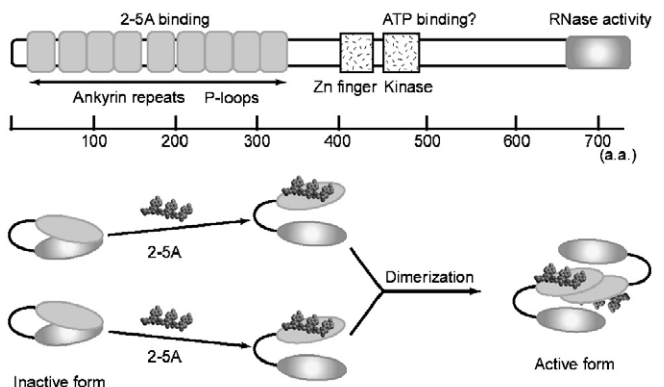
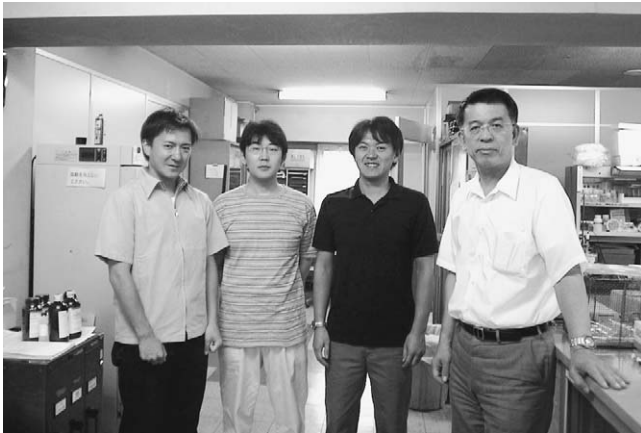


図2 RNase Lの1次構造(上)と2-5Aの結合による活性化機構(下)

ドメインである。

ごく最近になって、上記の回折データに基づいて、予備



研究室の職員(一部)と共に。右端が中村、その左が田中。

的ながらも ANK の立体構造の解析に成功しつつある。電子密度上で、確かに 2-5A が結合していることを確認しており、現在その構造の精密化を進めているところである。

プロフィール

1969年東京大学薬学部卒業、薬学博士。東京大学薬学部助手、長岡技術科学大学(生物系)助教授を経て、1992年10月より現所属、教授。

中村 和郎
Kazuo NAKAMURA
(昭和大学薬学部)

プロフィール

1992年長岡技術科学大学(生物系)卒業、工学博士。長岡技術科学大学大学院工学研究科博士後期課程を中途退学、1996年4月より現所属、講師。

田中 信忠
Nobutada TANAKA
(昭和大学薬学部)

RNA Update

特集：構造解析③

立体構造に基づいて転写後調節の分子機構を解き明かす

永田 崇

〔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

DNA にコードされた遺伝子情報がタンパク質として発現されるとき、その発現場所、時間、量はきわめて厳密に制御されている。真核生物の細胞ではこの制御を調節するためのさまざまな機構が存在する。なかでも転写後調節はタンパク質の発現制御を細密にチューニングする機構として重要である。転写後調節は、pre-mRNA のキャッピング、poly-(A) 付加、スプライシング、品質管理、核外輸送、細胞内局在化、安定性制御、翻訳開始調節、翻訳終結、分解などから成る連続した過程である。転写後調節の諸過程には複数の RNA やタンパク質が関わっており、これらの分子間には複雑な相互作用ネットワークが形成されている。この相互作用ネットワークの実態は、広いレンジ(解離定数 mM ~ nM) の RNA-タンパク質、タンパク質-タンパク質、RNA-RNA 間相互作用であり、その結果過渡的に構成分子が変化していくような巨大複合体(RNP 顆粒)が構築される。私たちは、これらの相互作用ネットワークを研究することが転写後調節の分子機構を解き明かすための手がかりになると考えている。

私の転写後調節とはじめ

私が転写後調節の分子機構に興味を持つようになったのは、博士課程ではじめた研究がきっかけである。遡ること1994年、私は上杉晴一教授の研究室(現在の杉・片平研究室)に入れていただき、NMR を使って核酸とタンパク質の研究を精力的に行っていた片平正人先生(現在助教授)に弟子入りした。私が研究対象としたのはふたつの異なる RNA 結合タンパク質であった。

ひとつは、現在慶應義塾大学で神経細胞分化のプロセスについて広範な研究を展開されている岡野栄之教授のグループとの共同研究で、マウス musashi である。マウス musashi は、哺乳類の神経系細胞の非対称分裂に関わる m-Numb の mRNA、3'-UTR の r(G/A)U_nAGU (n=2, 3) に特異的に結合し、その発現を翻訳調節の段階で制御している(本誌 2(1), 26-28(2003)に興味深い記事が紹介されている)。私たちはこのタンパク質の有する2つのRNPドメインの立体

構造をNMRにより決定し、RNAとの相互作用研究を行った。片平先生のグループは引き続きNMRによる立体構造解析および分子の運動性測定などを行い、標的RNAの認識機構についてさらに研究を進めている。

もうひとつは、現在京都大学でテロメアの研究をされている石川冬木教授のグループとの共同研究でhnRNP D0である。hnRNP D0は、UUAGGGおよびTTAGGGの繰り返し配列に結合するタンパク質としてHeLa細胞の核抽出液から発見された。このタンパク質は、現在ではサイトカインやプロトオンコジンの3'非翻訳領域に多く見られるAU-rich element(ARE)に結合する因子(factor)ということで、AUF1と広く呼ばれるようになった。AREは半減期の短いmRNAに多く見つかるので、それに結合するAUF1はmRNAの寿命を決定する重要な因子だと考えられている。私たちは、このタンパク質についても、NMRを用いてその有する2つのRNPドメインの立体構造決定、およびRNAとの相互作用研究を行った。私がhnRNP D0との相互作用研究に用いたRNA、r(UUAGGG)は生理条件下で四重鎖を形成した。そして、hnRNP D0はその四重鎖をほどこいて1本鎖に構造遷移させることを見出した。その生物学的意義は明らかになっていないが、1本鎖にすることが重要なのだとすれば、hnRNP D0はRNAシャペロンとしての働きを持っているのかもしれない。現在片平先生のグループでは、hnRNP D0のRNAおよびDNAシャペロンとしての機能を実証しようと研究をしている(本誌1(2), 52-54(2003))。

そして、現在、私はゲノム科学総合研究センターのタンパク質構造・機能研究グループに所属している。ここで目標に掲げているのは、ゲノム機能をタンパク質・核酸などの立体構造と分子機能に基づいて解き明かす、ということである。このグループの中で、武藤裕博士率いる武藤リサーチ・ユニットは、転写後調節に深く関わるRNA結合タンパク質およびRNAに関して、それらの単独および複合体の立体構造を、NMRとX線結晶構造解析法により研究している。私もその一員として、網羅的なタンパク質の立体構造解析を行っている。

網羅的な立体構造解析の重要性

タンパク質の網羅的な立体構造解析の重要性は、タンパク質の新しい構造またはフォールドを探し出す、ということにもあると思うが、私はむしろ、既知のフォールドの新しい機能の発見にあると考えている。少し前に、米国NIGMSによりタンパク質社会全体についての興味深い報告があった。タンパク質どうしのアミノ酸配列を比較して、ホモロジーが30%以上であれば同じグループ(クラスター)というふうに分類すると、クラスター数はもとのタンパク質数の約10分の1になるそうだ。ヒトは約3万2千種のタンパク質を持つとすると、約3200のクラスターに分類できることになる。1つのタンパク質は1つ以上のドメインで構成されているので、ドメイン数はクラスター数以上になるだろう。球状タンパク質のフォールドは約1000種類だと考えられている(Chothia, 1992)ので、そうなると同じフォールドを持つドメインが出現するのは必然である。現在はまだタンパク質が有する機能の全貌は明らかではないが、タンパク質社会ではどうやら「One fold, one function」にはなっていないようである。

このことを象徴するような立体構造が今年に入っていくつか報告された。以下、RNA結合ドメインの中でも知名度の高いRNPドメインについて図を用いて簡単に解説する。RNPは4本からなる逆平行βシート(矢印)と2本のαヘリックス(らせん)が二層にかさなったコンパクトなα/β

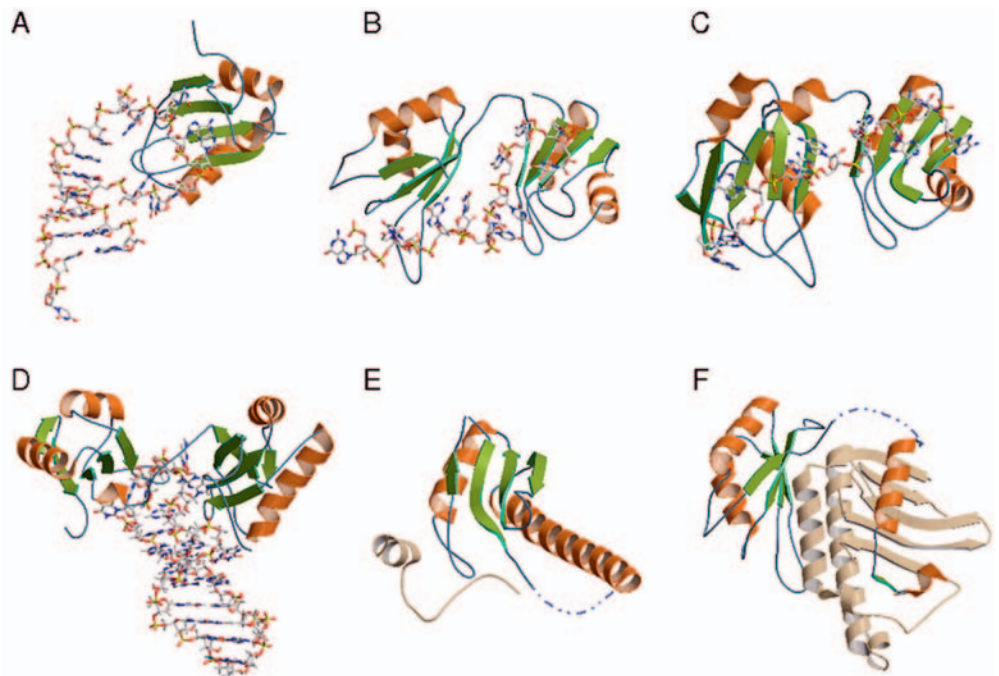


図 RNP ドメイン-RNA および -タンパク質複合体の立体構造。

U1A-U1 snRNA ヘアピンII (Oubridge *et al.*, Nature **372**, 432 (1994))(A). Sxl-tra mRNA precursor (Handa *et al.*, Nature **398**, 579 (1999))(B). PABP-poly(A) (Deo *et al.*, Cell **98**, 835 (1994))(C). nucleolin-pre-ribosomal RNA (Allain *et al.*, EMBO **19**, 6870 (2000))(D). U2AF³⁵-U2AF⁶⁵ (Kielkopf *et al.*, Cell **106**, 6870 (2001))(E). Y14-Mago (Fribourg *et al.*, Nature Struct. Biol. **10**, 433 (2000))(F). 緑色: β鎖, 橙色: αヘリックス, ループ: 灰色. CPK:RNA, 白色: 蛋白質. (molscript, raster3d により作製)

サンドイッチ構造を形成している。RNPにはRNAと結合するもの、タンパク質と結合するもの、さらに両方と結合するものがある。

図Aから図DまではRNPとRNAとの複合体である(ちなみに図AはRNP研究の先駆者、MRCのNagai博士らによるU1A-U1 snRNAヘアピンII複合体)。それぞれ、相互作用様式はかなり異なっているが、RNPのβシート面がタンパク質-RNAインターフェースになっていることは共通している。この10年間に報告された8個のRNP-RNA複合体でもそれは成り立っていた。他方、図EはRNPとペプチドとの複合体だが、αヘリックス側がインターフェースになっている。これに関しても、これまで報告された5個のRNP-タンパク質複合体で例外はなかった。このような知見の蓄積から、「RNPドメインは、βシート側はRNA結合、αヘリックス側はタンパク質結合」というのが定説になりつつあった。ところが、mRNAのNMDおよび輸送に関わっているY14とMagoとの複合体の立体構造が報告され(図F)、事情が一変した。この場合、RNPのβシート側がRNAとではなくMagoとの相互作用インターフェースになっていた。

このような立体構造の例は、他にSmaugタンパク質の有するSAMドメインでも見つかった。Smaugは、ショウジョウバエの極細胞分化過程に関わる因子の一つ、Nanosの発現を、そのmRNAの3'UTRに結合することで制御している。SAMは従来タンパク質結合ドメインとして知られていたが、Smaugの場合、3'UTRのヘアピン構造に直接結合していた。ここでもタンパク結合と考えられていた領域がRNA結合に用いられていた。以上の例は、立体構造と分子機能について固定観念を持つことの危険性を教えてくれた。

転写後調節の構造生物学に向けて

転写後調節に関わるタンパク質を探索する方法としてプロテオミクスの技術が非常に有効である。例えば、mRNAもしくはRNA結合タンパク質に何らかのアフィニティー・タグをつけてRNP顆粒を単離精製し、質量分析器などで分析するという方法により、多くの構成分子が同定されている。私たちは、この情報に基づいてタンパク質をクローニングし、複合体を再構築している。

また、私たちは、複合体のみならず相手の見つからない単独のタンパク質についても積極的に立体構造解析を行っ

ている。それは、いずれ相手が見つかったときのため、というよりむしろ、立体構造から得られる情報に基づいて結合相手を予測する方法を構築したいからである。タンパク質の立体構造からは、その表面の電荷や疎水性領域の分布、くぼみやでっぱりといった形状を知ることが出来る。また、分子間に働く水素結合には方向性があるので側鎖の向きを知ること重要である。これらの特徴は、同じフォールドであっても配列の相同性が30%に満たないものは互いに異なっていることが多い。このようなことを踏まえながら、モデリングやバイオインフォマティクスなどの手法を用いて複合体形成に関する情報を抽出することも試みている。

現代構造生物学の課題は、「原子および分子レベルの発見をどのようにして細胞・個体・種のレベルの問題を解き明かすために生かしていくか」、ということだと考えている

立体構造に基づき転写後調節に関わる分子の間の相互作用ネットワークを解き明かせば、各過程の分子機構についてスナップショットが得られるだろう。しかし、実際にはタンパク質やRNAなどが機能するときには立体構造や相互作用は経

時的に変化している。例えば、スプライシング過程では、ブランチ部位およびU2AF複合体に結合したSF1がU2 snRNP複合体と置き換わることにより相互作用ネットワークの再編成が起こる(E複合体からA複合体への遷移)。このように動的な立体構造と相互作用の時間変化を追跡する方法を構築することも今後必要になるだろう。

最後に、現代構造生物学の課題は、「原子および分子レベルの発見をどのようにして細胞・個体・種のレベルの問題を解き明かすために生かしていくか」、ということだと考えている(私がロックフェラー大学で行った白血病の分子機構の研究はそのひとつの形であったかもしれない)。RNAネットワークの研究領域は、全てのレベルを網羅し、それらを有機的に結びつけようとしている。私は、その成果に心から期待している。



プロフィール

1992-1994年三菱化成生命科学研究所特別研究生、1999年横浜国立大学工学部博士課程修了。1998-2002年ロックフェラー大学リサーチアソシエイト。2002年より現所属、リサーチアソシエイト。

永田 崇
Takashi NAGATA

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

細胞核における生体分子輸送

分子生物学は禅に通じる？

齊藤 寿仁 (熊本大学発生医学研究センター)

1. プロローグ：略歴：研究提案「核構造とRNA輸送の分子制御」で、2003年度より第3班「動くRNA」に参加することになりました。齊藤寿仁と申します。よろしくお願ひ致します。私は1990年に仙台の東北大学農学部で博士号を取得した後、約11年間米国で研究生活を送ってきました。標準的とはいえない経歴で多くの方が驚かれるのですが、ただ単に、いい加減な私の性格を表すものと思ってください。2002年より、熊本大学発生医学研究センターにお世話になってます(図1)。これまでにRanやSUMOといった比較的分子量のタンパク質因子が、どのようにして生体高分子を制御し、さらに核構造・極性や生体分子トラフィック、そしてより高次元の生命現象を制御していくのに関心を持って研究してきました。いわゆるボトムアップの研究スタイルといえます。今後、熊本では、発生研という地の利をいかし、細胞系譜制御や細胞癌化・老化現象から分子論に迫るトップダウンの研究スタイルにも

チャレンジしてみたいです。長期的には、分子から個体、あるいは基礎と応用を兼ね備えた総合的な研究体制を整え、セローム (cellome) 解析とその応用を目指したいと考えてます。

以下では堅苦しくない形で研究テーマ関連話題をオムニバス風にまとめていますので気軽に読み進んで下さい。専門的なことに興味ある方は、最近の和文総説(齊藤：細胞工学22, 996-1002, 2003あるいは、齊藤：実験医学21, 45-50, 2003)を参照して下さい。

2. RAN vs 乱：低分子量Gタンパク質Ranは、酵母から哺乳類細胞に至るまで高度に保存されており、その変異体はいずれの生物種においても、核の構造と機能に大きなダメージを与えます。他のRasファミリーGタンパク質群と同様に、GTP型とGDP型の存在比が分子スイッチの機能に重要です。ただし、細胞核内と核外(細胞質)間でその存在比が不均一になるように調節される点はこのGタンパク質にない特徴といえます。

Ranシステムは核の構造と機能のあらゆる側面を考える上で極めて重要ですが、この重要性を如実に示すものとして、第一に核膜孔を介した生体高分子の輸送があります。システムの破綻はタンパク質のインポート、RNAのエクスポートをほぼ完全に麻痺させます。また第2に、細胞核内あるいは細胞質において局所的なGTP/GDP存在比の乱れが、核内ドメインの構造と機能や、核膜孔のアッセンブリーの経路に強く影響を与えることがあげられます。さらに第3として、Ranと分裂装置や、ショウジョウバエのMeiotic Driveシステム(Segregation distoter)との関わりが指摘されます。細胞周期をはじめとする多くの細胞内シグナルがRanシ



図1 平成15年度研究ドメインの形成過程

熊本大学医学薬学系大学院生を中心とするラボですが、工学部からも学部・院生が参加しており、多才な顔ぶれが集う研究ドメインを形成しています。Tシャツ姿で左下を向いている写真中央の女性が研究分担者の齊藤典子博士。その右横でさわやかに正面を向いていらっしゃるのが中尾光善教授。左端で左を向いてにやけているのが筆者。

テムと協調しています。

Ran の働きを一般化すると、生体分子の不均一性の遷移の制御ということができるかもしれません。Ran システムが細胞社会の微妙なテンションを保つためのセンサーと考えてもよいでしょう。このように考えると、細胞核と細胞質、あるいは核小体やスプライソソーム、スペックル (IGC) などの RNA 代謝に関わる核内ドメインのボーダーを仕切る上で、Ran が重要なことが浮かび上がるかもしれません。また、ヘテロクロマチンの形成に重要な微小 RNA 分子の代謝との関わりなども Ran の視点から解析してみると面白いかもしれません。私は、Ran を核の守護神と位置付けて、様々な核内イベントを眺めることが大切だと考えています (図2)。

黒沢明監督の映画「乱」における2つの対立する騎馬武者の勇壮な戦いと、戦いの後の勢力分布の変化は、細胞内における生体分子のダイナミズムを具現化するイメージとして見て取れます。我々の社会は、乱世と平安、善と悪といった対極が錯綜した結果の微妙なバランス状態です。言い換えれば、日常はある日ある時に容易に変わりうる薄っぺらな紙1枚 (ボーダー) で隔てられている時空間と定義できます。細胞社会における Ran の研究が、人間社会の乱を解決する上でヒントを与えてくれるのではないかと、そんな期待もしています。

3. SUMO vs 相撲：1997年のFASEBのユビキチン夏期ミーティングは、私にとって初めての国際学会での口頭発表の場でした。非常に緊張し、その緊張感は今だに忘れられません。発表を終えて、ユビキチン様タンパク質 SUMO がユビキチンの世界で初めて認知されたことを実感しまし

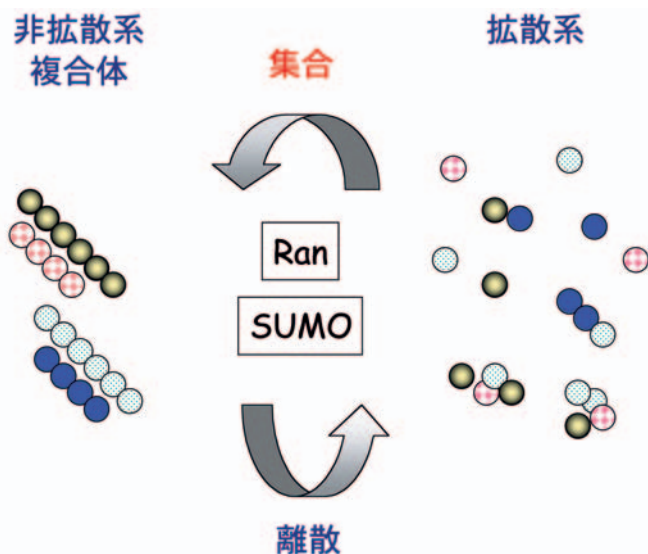


図2 核内守護神 Ran。

Ran システムは生体分子の不均一化の制御に深く関わります。

た。また、このミーティングは、L. Hicke 先生 (現、米ノースウエスタン大) がユビキチン化によるエンドサイトーシス制御の発表を行った最初の国際学会でもありました。私の SUMO の研究も含め、彼女の研究も当時の主流であったユビキチンプロテアソーム分解の研究に比べると、少数派に属するものでした。今にして思うと、私の SUMO の研究と Hicke 先生のユビキチンとメンブランチラフィックに関する研究が同時に発表されたことは、生命科学研究のターニングポイントとなる重要な出来事だったような気がしてなりません。

2002年の米国細胞生物学会の主催のミーティング「Non-

traditional Functions of Ubiquitin and Ubiquitin-Like Proteins」も私にとって、強く印象に残るミーティングの一つでした。このミーティングには「伝統的 (traditional)」なユビキチンプロテアソームの分解系の研究に対し、SUMO や膜タンパク質の輸送・分別に関わるユビ

キチンを「非伝統的 (non-traditional) ユビキチン」と称して、パラダイムの転換を計ろうという意図がありました。その後、この流れを受け、モノユビキチン化 (およびポリユビキチン化) がエンドサイトーシス、ウイルスの出芽、エンドソーム輸送、ゴルジ輸送といった細胞質内で起こる膜タンパク質輸送と深い関わりを示す報告が続々と出てきました。一方、SUMO は核輸送やタンパク質複合体の自己組織化、離散と再構築に深く関わると考えられるようになり、現在では SUMO およびユビキチンは、被修飾タンパク質の構造と機能を調節するシグナル・タグ配列として一般的に受け入れられています (図3)。

SUMO やユビキチン修飾と細胞内トラフィックの分子機構の深い関わりは、ここ数年の生命科学の発見の中でも特筆すべきことです。RNA 輸送・分配・品質管理と SUMO のリンクについては、最近になり、hnRNP のいくつかは SUMO 化されることが明かにされました。今後新しい研究分野として急速に発展していくと予想されます。RNA 輸送や分配、品質管理の研究と SUMO 研究が出合った現在の状況は、ちょうど仕切り後の相撲レスラーの土俵上でのにらみあい状態に似ているかもしれません。果たして、相撲四十八手のどの手を使えば RNA 研究者、あるいは SUMO 研究者は自分の得意な戦い方に持ち込めるのでしょうか。立ち会いには十分気をつけなければなりません。今が、ちょうど思案のしどころといえます。

4. エピローグ：ZEN vs 禪：これからの分子生物学あるいは細胞生物学の分野では、核内における RNA・タンパク質といった生体高分子の拡散運動と、クロマチンや核膜孔といった非拡散性の超高分子複合体の関係を解析すること

図 3 A

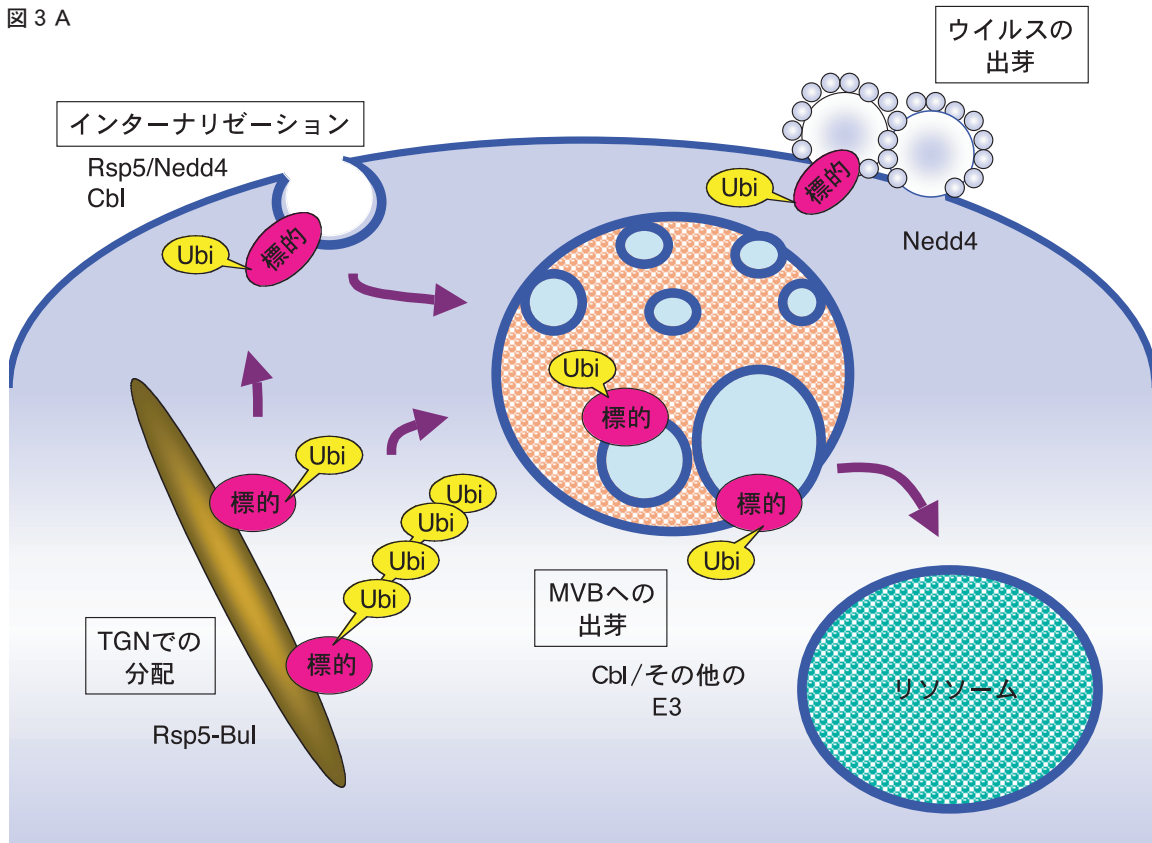


図 3 B

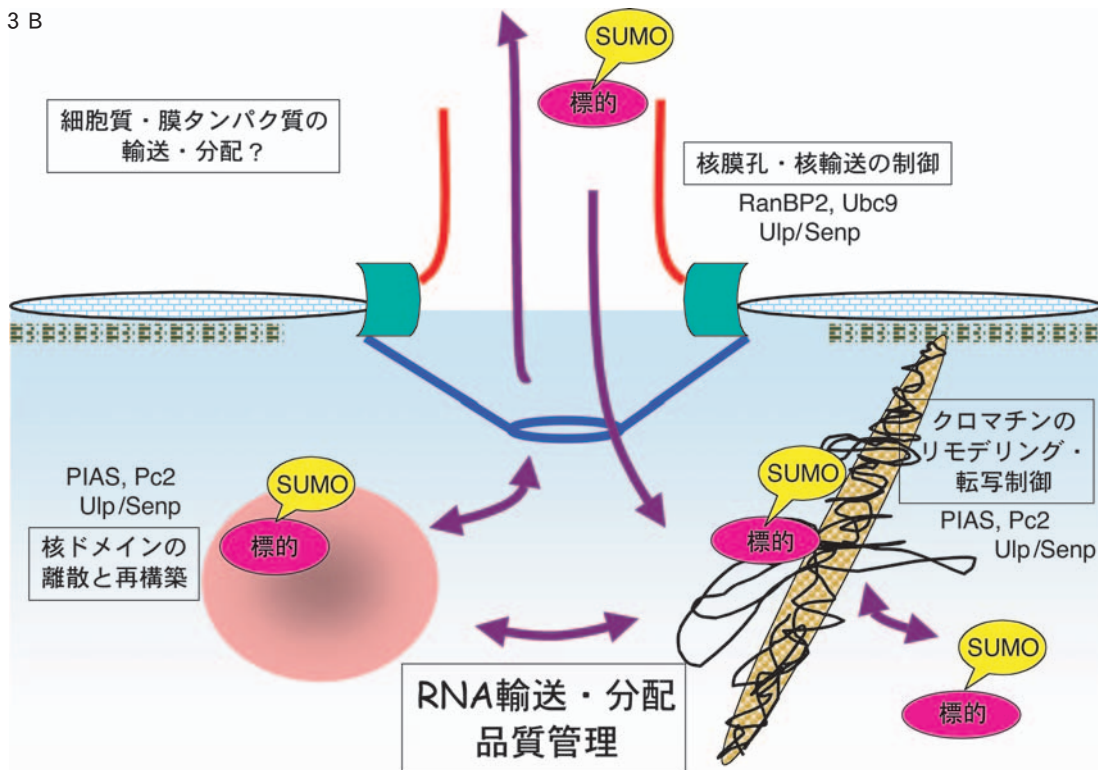


図 3 伝統への挑戦：ユビキチンファミリーによるトラフィック制御

ユビキチンプロテアソームを伝統的なユビキチン経路と呼ぶのに対し、メンブレントラフィックにおけるユビキチンの経路を非伝統的な経路と称しています(A)。Bは核輸送や核内動態の制御におけるSUMOの経路を示しています。非伝統的ユビキチンやSUMOによるタンパク質の修飾はシグナル・タグ配列として機能することで、生体分子の輸送・分配・品質を管理・調節します。

に焦点が向けられます。ストップ&ゴー (stop & go), ヒット&ラン (hit & run) による相互作用を基本とする, クロマチンドメインやプラスソームといった様々な核内ドメインの形成・再構築の制御の問題は, 今までの主流である活性化と不活性化, あるいは ON と OFF といった 2 元論的なアプローチによって解決できるものではないでしょう。核内における非拡散系から拡散系, 逆に拡散系から非拡散系への生体分子の状態変化は, 偶発的 (stochastic) な効果と, そうした効果を消去あるいは確立する修復機構の総体としてとらえる視点が重要です。従って, これからの研究者は, 数十個もの生体分子が関与するプロセス同士を統合する発想と, 細胞核内に多種類存在すると考えられるメガドルトン (MDa) 級の複合体による同時かつ並列的な応答カスケードを上手に解析する技術, さらに, それらを総合的に議論する能力を持つことが必要です。

従って, これからの研究者は, 数十個もの生体分子が関与するプロセス同士を統合する発想と, 細胞核内に多種類存在すると考えられるメガドルトン (MDa) 級の複合体による同時かつ並列的な応答カスケードを上手に解析する技術, さらに, それらを総合的に議論する能力を持つことが必要です

渾然とした物質群が構成する複雑系, しかも, 総体としてあたかも目的あるいは意志を持つように振る舞う細胞核というオルガネラを, 今後私達はどのような理論的根拠を持って解析していけばよいのでしょうか。私は, こうした中, 「禅」の文字と「核」という文字を重ねて考えずにはられません。つまり, 禅の発想を持つことで, 核研究における重要な指針が得られると考えています。仮に, こうした指針に基づき研究を進めるのであれば, 仮想因子(群) "Zen" を想定し, それを検索することが重要になります。今のところ, Zen という因子(群)の実体が RNA なのかタン

パク質なのかすら分かっていませんし, それ以前の問題として, その活性の検出法すら確立してません。果たして, MDa 級複合体カスケードを核内において統合する活性, そして禅の精神による目的性を提示する活性, これら 2 つの活性を同時に検出するにはどのようなアッセイ系を組めば良いのでしょうか。19 世紀以降の科学世界を支配した 2 元論の呪縛をいかにして振払うか。Zen の検索は, 21 世紀に

生きる分子・細胞生物学者の大きな課題, 新しい研究分野を開拓することにつながります。

先日, 剣豪, 宮本武蔵が晩年に瞑想を重ねたという場所に行ってきました。熊本市から車で 30 分ほどの山の中にある, 大きくもなく, かといって小さくもない, なんとも言い様がない不思議な岩窟でした。この空間で武蔵は何を思ったのか定か

はありませんが, その中にはいった時, ほんの一瞬ですが, 複雑系を目的化するための Zen の存在をはっきりと実感した瞬間がありました。その一瞬は, 武蔵の霊魂から私の魂への啓示だったのかもしれない。

プロフィール

1985 年東北大学農学部農芸化学科卒業, 1990 年同大学院博士課程修了, 農学博士。1990 年から 2001 年の間, ジョーンズ・ホプキンス大学医学部, ラ・ホヤ癌研究所, 米国立衛生研究所, ピカワー 医学研究所。2002 年九州大学医学部, 2003 年より現所属, 助教授。

齊藤 寿仁
Hisato SAITOH

(熊本大学発生医学研究センター)

RNA Update

特集: 輸送②

人との出会いによって導かれた私の RNA 研究

志田 壽利 (北海道大学遺伝子病制御研究所)

RNA 研究との出会い

私が RNA の研究に関係するようになったのは人との出会いのおかげである。当時, 帰国間のない新任助手の私は, 学生時代の恩師松本清一教授を手術中の事故でなくし, 「これで奴の研究者生命も終わりだな」と噂されていた。その

時に声をかけてくださったのがヒト成人白血病ウイルス (HTLV-1) の発見者日沼頼夫教授である。これが機縁で日沼・畑中正一両先生との共同研究として, HTLV-1 の研究が始まった。そこで, 私はワクシニアウイルスベクターの改良を行いつつ, HTLV-1 の遺伝子を発現させてワクチンや抗腫瘍免疫の測定系として活用する事を始めた。特に核

内蛋白質である Tax や Rex に対する細胞性免疫は抗腫瘍免疫として働く事を予想して、力を入れた。そこに畑中研からやって来たのが塩見春彦君（現：徳島大）であった。彼はやる気満々で短期間の内に Tax や Rex を発現する組み換えワクシニアを作成した。ある日、彼は Rex が核小体に集積していることを報告してくれた。（その後、彼は Rex の核小体集積機構を解析して1988年、Cell に publish した。）Rex は、intron を保持している HTLV-1 の RNA（ゲノムや構造蛋白質をコードしている）を発現させる因子として報告されていたので、Rex の局在を加味して HTLV-1 RNA の発現機構を解明することは大変におもしろいと思った。真核生物の未知の遺伝子発現制御機構の発見につながることを信じて、Rex の研究を始めた。その時に立てた仮説は「Rex は RNA 結合タンパクであり、核小体を經由して RNA を運ぶ。」と言うものであった。現在、Rex が RNA に結合する運搬因子であることは証明されたが、核小体を經由することについては議論が分かれている。

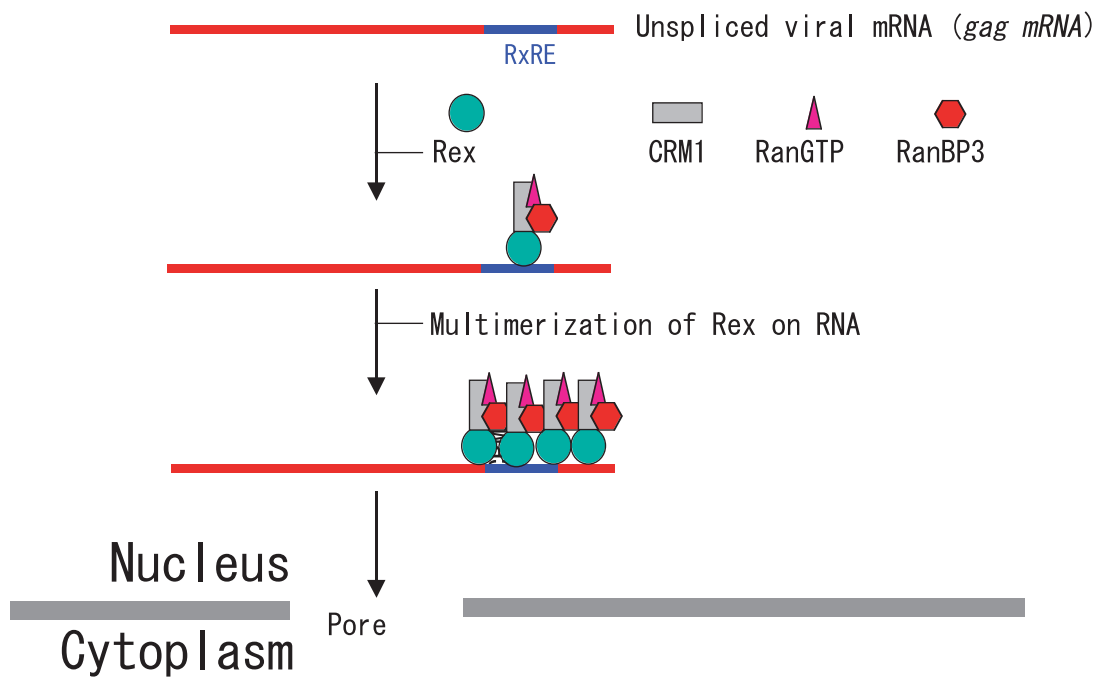
HTLV-1 の免疫の研究についても、その後の RNA の研究に関係があるので述べておきたい。HTLV-1 の種々の蛋白質を発現する組み換えワクシニアを用いて、感染者に誘導される免疫を神奈木真理さん（現：東京医科歯科大）と一緒に調べたところ、抗 Tax キラー T 細胞が白血病発症者には検出されず、脊髄症（HTLV-1 associated myelopathy）患者には誘導されていることが分かった。このキラー T 細胞の真の役割（抗腫瘍免疫か？脊髄症誘導因子か？また、原因ではなく単なる結果か？）は動物実験などを通じて証明

されるものであろう。そこで田中勇悦氏（現：琉球大）とラットモデルを用いて調べた。種々の抗 HTLV-1 免疫が誘導されることが分かり、J. Immunology などに多くの publication をすることが出来たが、上記のことに結論を出せなかった。その理由としてラットで HTLV-1 の増殖が悪く、不完全な動物モデルであることが挙げられる。

Rex/Rev はウイルス RNA を細胞の輸送装置 CRM1 と結びつける。

Rex そして Rev (エイズウイルス (HIV) の Rex 相同体) の作用機構として2つの考えがあった。1つは Rex/Rev は splicing の阻害因子であり、蓄積された intron を持つ RNA は diffusion によって核外に出る。つまり RNA の細胞質への運搬装置は存在しない。2つ目は Rex/Rev は RNA の輸送因子であり、splicing が完了するよりも早く intron を持つ RNA を核外に運ぶ。この両者を決定的に判別したのが細胞側コファクターの同定である。1997年2月、抗エイズ薬を探索していた欧州の会社から Leptomycin B が Rev の作用を阻害することが minor journal に報告された。Leptomycin B は酵母の染色体維持因子 CRM1 に直接作用する事が吉田稔先生によって既に報告されていた。ヒト CRM1 が Rev の細胞側コファクターである事を証明する競争が始まった。そして Mattaj 研にいた大野睦人氏などの精密な研究で証明された。CRM1 のアミノ酸配列は蛋白質の核内移入装置として知られていた importin β と類似していた。これは CRM1 が核外輸送装置であることを示している。つまり、Rex/Rev

Rex-dependent viral mRNA export



Human CRM1 induces Rex multimerization, whereas Rat CRM1 does not support the multimerization, leading to poor expression of Gag/Env proteins.

はウイルス RNA を細胞の核外輸送装置と結びつけるアダプターだったわけである。

その時、私は Rex の dominant negative mutant を利用した細胞側コファクターの assay 系 (片平純君 (現:大阪大) が作成) を既に確立していたので、大学院生であった博多義之君にヒト CRM1 のクローニングと Rev/Rex との関係を調べるように頼んだ。彼は短期間にクローニングを成し遂げ CRM1 が Rev/Rex のコファクターであることを示してくれた。8月 Science に投稿した。しかし、世界の進歩は早く既に印刷中という事で reject されてしまった。

Rex の多量体化に CRM1 は必要である。

ここで腐らないのが博多君の偉いところである。残された問題として Rex/Rev の多量体化機構があった。Rex/Rev が RNA を運ぶためには 1 分子が RNA に結合するだけでは不十分で、多量体化することによって多数の Rex/Rev が RNA 上に集まることが必要であることが研究初期より示されていた。RNA は大きな分子であるために、多数の Rex/Rev が RNA を覆うことにより splicing factor をはねのけ、多数の CRM1 をリクルートすることが輸送に必要であると考えられる。博多君はこの問題に自ら考えた方法で取り組んだ。つまり、ヒト CRM1 を過剰発現させることにより、Rex の多量体化出来ない変異株 (RexM64) が多量体化するようになり、RNA 運搬活性を回復することを見つけたのである。実験を重ねることにより、彼は Rex の多量体化にヒト CRM1 が必要であることを確立した。Rev においては少し事情が違った。Rev はそれ自身で多量体化する能力を持っているが、CRM1 は Rev 多量体を安定化させる事を彼はまた証明した。Rev の多量体化についての長年の議論を統一的に解釈できる結果であった。

HTLV-1 のラットでの増殖が悪いのはラット CRM1 がコファクターとして働かないからである。

HIV は免疫不全だけではなくエイズ脳症を引き起こす。アストロサイトで HIV は増殖が悪く、従って感染を受けたアストロサイトが死なないために、HIV の脳内での潜伏場所と考えられている。Rev の働きが悪いことが原因として示唆されていた。1997年私はある研究者からアストロサイトを譲り受け、Rev/Rex の機能を調べていた。特に、Rex が機能しなかった。博多君はアストロサイトマ CRM1 cDNA の PCR での増幅条件が他のヒト細胞の場合と異なることに気がついた。このことは「アストロサイトでは核外輸送装置の構成が他の組織と異なる。」可能性を示唆

している。我々は非常に興味を持ってアストロサイトマ CRM1 cDNA のクローニングを進めた。ところが、部分シーケンスをしたところで、博多君が奇妙なことを言い出した。データベース上に記載されているラット CRM1 の配列と一致するというのである。最初は部分的な一致だと思っていたが、シーケンスが完了すると完全に一致することが分かった。アクチン遺伝子を調べることによって我々の使っていた細胞がラット由来であることが判明した。そういえば、別の学生が、「最近アストロサイトマが元気で、transfection 効率も上がりました。」と言うので、私は上機嫌で、「君も腕が上がったなあ。」と答えていたことを思い出した。私のラボではラット細胞を培養したことがなかったので、もらった時からラット細胞が少し混ざっており、増殖率の違いからヒトアストロサイトマと置き換わったものと思われる。大きな衝撃であった。

ふとその時、田中氏と行っていたラットでの HTLV-1 の感染実験の記憶がよみがえった。ラットで HTLV-1 の増殖が悪いために、最終目的まで行き着けなかったものである。

ラットで HTLV-1 の増殖が悪いのはラット CRM1 が Rex の良いコファクターとして働かないためだったのである。ならば、ヒト CRM1 を発現するトランスジェニックラットを作成すれば良い感染モデルになるはずである

ラットで HTLV-1 の増殖が悪いのはラット CRM1 が Rex の良いコファクターとして働かないためだったのである。ならば、ヒト CRM1 を発現するトランスジェニックラットを作成すれば良い感染モデルになるはずである。新たな希望が生まれた。博多君にこのことを説明すると、彼は同意して実験を進めてくれた。彼の折れない精神に改めて感謝した。その結果、「ラット CRM1 は Rex タンパク自身を効率よく核外に運搬するが、Rex の多量体化を誘導できないために HTLV-1 RNA を運べない。」事が明らかとなった。

CRM1 は運搬するだけではなく RNA 輸送複合体形成にも関与する。

では、Rex の多量体化はどのように進むのであろうか？ 2つの可能性が考えられる。まず、ヒト CRM1 が Rex の NES (核外移行シグナル) と結合すると Rex のコンフォメーションが変化して多量体化する可能性。2番目は、ヒト CRM1 が NES に結合することは必要だが十分ではなく、より高次の相互作用が要求される可能性である。この問題を解くためにラット CRM1 は役に立つ。なぜなら、ヒト CRM1 と 24 アミノ酸しか違わないので Rex 多量体化に必要な領域を比較的容易に同定できるからである。NES との結合領域が既に同定されているので、最初の可能性が正しい場合には多量体化誘導領域と NES 結合領域は同じ所にマップされるだろう。結果は多量体化誘導領域は RanBP3 結合領域とオーバーラップして存在し、NES 結合領域とは別のア

ミノ酸にマップされた。従って、RNA を運搬するためには CRM1 は高次の相互作用を通じて Rex を RNA 上で多量体化させる必要があることが分かった。このことは CRM1 は HTLV-1 RNA の輸送複合体形成過程に関与していることを示唆している。

終わりに

今後、RNA の輸送複合体形成過程の解明を進めたい。また、RNA の研究から新しい動物モデルの作成を通じて、HTLV-1 の感染と疾患の予防と治療法開発に貢献できる可能性が出てきた。基礎と実用研究を結ぶことを目指して HTLV-1 の研究を始めたのであった。20 年経ってようやく所期の目標に近づけそうである。残り 10 年の研究人生をそれに捧げたい。

私の研究人生を振り返ってみると、人との出会いによって導かれてきたことがよく分かる。本文中に書かせてもらった諸先生、諸兄、また、研究分野が異なるために今回は名前を挙げなかった諸氏に深く感謝したい。



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。京都大学ウイルス研究所，助手，助教授を経て，1999 年北海道大学免疫科学研究所教授，2000 年より現所属（改組）

志田 壽利

Hisatoshi SHIDA

(北海道大学遺伝子病制御研究所)

RNA Update
特集：輸送③

私の mRNA 核外輸送研究

片平じゅん

(大阪大学大学院生命機能研究科)

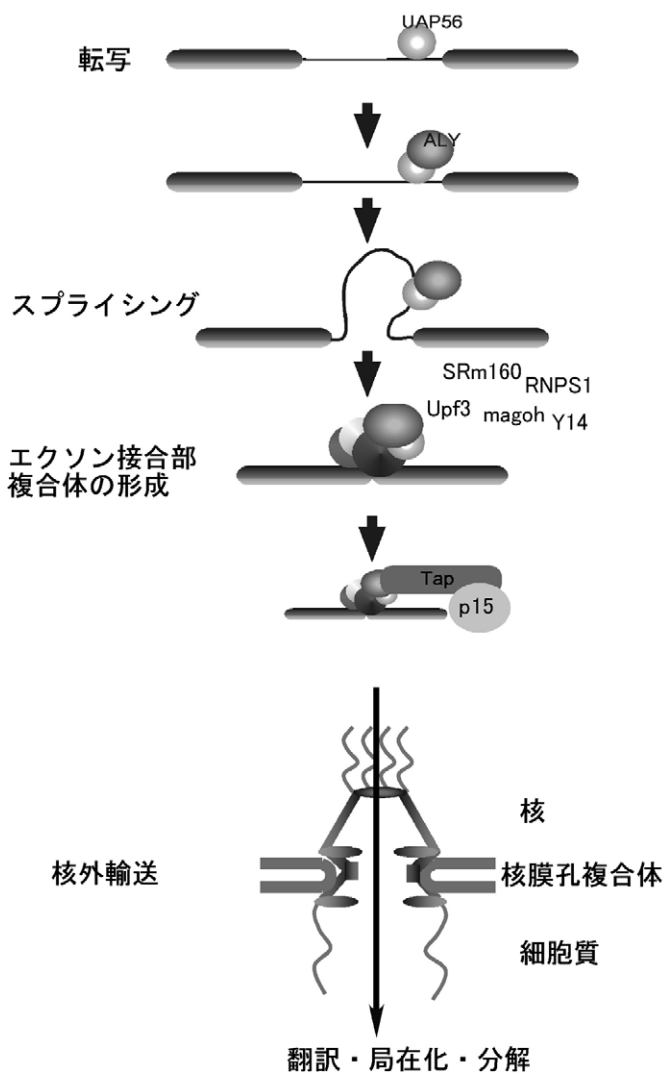
「Congratulations!! Your research proposal has been approved.」

私が、アプライしていたアレクサンダーフォンフンボルト財団からもらった、奨学金授与の知らせである。博士課程を修了後、故あって RNA の仕事とはまったく関係のない細菌性下痢毒の細胞受容体の同定を行っていた筆者であるが、3 年間の任期付き助手（3 年助手）という条件で採用されたため、着任 2 年目から細胞受容体の同定を行いつつ、次の移籍先について考えはじめていた。私は、大学院博士課程でヒトレトロウイルスの mRNA 核外輸送因子である Rex あるいは Rev というタンパク質に関する研究に携わっていた関係から、ウイルスだけでなく細胞の mRNA 核外輸送メカニズムに興味を持っていた。博士課程修了当時は、Rev のコファクターとして Rip1 なるタンパク質が同定され、周囲では「Rev の研究はもう終わりだ。」などという人もいた頃であった（実際には、Importin β 様タンパク質の一種である CRM1 が、本当の意味での核外輸送因子であるということが後に明らかにされるのであるが）。また、核-細胞質間輸送に低分子量 GTP 結合タンパク質の一種である Ran が関与していることが示されたりと、この時期は核-細胞質間輸送に関して続々と新知見が得られていた頃であった。

そのような背景があって、私は当時それほどそのメカニズムが明らかにされていなかった“細胞の mRNA”の核外輸送機構を研究したいと漠然と考えていた。研究室を選ぶにあたって、いくつかの論文で読んだ温度感受性変異株の解析、high copy suppressor screening, synthetic lethal screening といった出芽酵母の遺伝学的解析が、私にとっては大変洗練され、魅力的な手法に思えた（後に自分で実際にやってみて、非常に泥臭い、労力のかかる仕事であることを思い知らされたのであるが・・・）ので、酵母を使って核-細胞質間輸送の研究を行なっている研究室を留学先にしようと考えた。そのような条件に合うラボがいくつかある中で、ドイツ、ハイデルベルグの EMBL からハイデルベルグ大学にラボを移した Ed Hurt の研究室は、上述のような酵母の遺伝学的手法を駆使して、タンパク質や mRNA の核-細胞質間輸送に関する核膜孔構成タンパク質（ヌクレオポリン）等をものすごい勢いで同定している研究グループであった。まったく面識もなかったのに、「だめでもともと」という気持ちで留学したいという手紙を書くと、意外にもすぐにファックスで返事が返ってきて、「自分でグラントを取ればいつでも welcome」とのこと。早速、いくつかのグラン

トにアプライしたものの、3つ目までは不可、3年助手の期限が切れる年度ようやく上述の奨学金授与の返事をいただいた次第である。

昔ならばいざ知らず、現代では珍しいことなのかもしれないが、この留学が私にとって初めての海外。ハイデルベルグ行きについて大変お世話になった先生方には、「よくそんなんで行くなあ」と驚かれるとともに、「ものすごく刺激的な経験ができるよ」とからかわれ、おまけにボスとなる Ed Hurt とはメールでのやり取りで2年近くコンタクトを取り続けていたにもかかわらず、実際に会うのははじめて。1997年1月に、ものすごい緊張感で日本を後にした。ハイデルベルグに到着すると10年ぶりの大雪と言うことで



RNAポリメラーゼIIにより転写されたmRNA前駆体は、5'キャップ付加、ポリアデニル化、スプライシングといった転写後修飾を受け成熟する。mRNAの成熟に伴って一群のタンパク質が、エクソン接合部に結合し、エクソン接合部複合体 (Exon-junction complex: EJC) を形成する。EJCを構成する因子のうちALY/REF (出芽酵母ではYra1p) は、核外輸送因子であるTap/p15 (出芽酵母ではMex67p/Mtr2p) ヘテロダイマーと結合する。Tap/p15は、核膜孔複合体を構成する一群のタンパク質群 (ヌクレオポリン) と相互作用しながら核膜孔を通過し、結合したmRNAを細胞質へと輸送する。

一面スキー場に来たかのような銀世界。これもドイツに留学していた先輩から教えられて知ってはいたのだが、冬場は緯度の関係で午後3時ごろになると外はもう薄暗い。おまけに最初に入居した大学のゲストハウスの狭いキッチン共有で、温かい食事が自由に作れない。めちゃめちゃ心細くなりながら、私の留學生活がスタートした。

ラボは、ドイツ人の他、フランス人、ギリシャ人、スイス人、スペイン人、トルコ人、イタリア人とヨーロッパ各国から集まったポスドク、大学院生で総勢15人ほど。東洋人は、私が研究室で初めてで、スペインのセルビア出身のポスドクからは、「私の生涯で、日本人と一緒に仕事をするようになるとは思もしなかった」と言われるような環境であった。3回ほどにわたるボスとの面談で、研究のテーマが決定。当初希望していた酵母の遺伝学を使い、NUP82と呼ばれるヌクレオポリンの解析をサイドメニューとしてやりつつ、同研究室で同定されたMEX67 (Messenger RNA EXporter) の哺乳動物ホモログのTAP (mRNAの核外輸送とは関係なく、ヘルペスウイルスのTipというタンパク質に結合する= Tip Associating Protein) が知られていた) の機能を解析するというのが私のメインテーマとなった。今思えば、ホモロジー検索で引っかかってきたというだけが根拠というなんともリスクなテーマであったのかもしれない。さらに困ったのは、もともと酵母を研究材料として用いてきたラボなので、哺乳動物細胞を培養するためのインキュベーターすら隣のラボに借りに行かなければならないような劣悪な環境であったこと。RNAの核-細胞質間輸送の研究では、しばしばアフリカツメガエルの卵母細胞を用いてマイクロインジェクションの実験を行なうが、私1人のためだけにシステムをセットアップするなどということは夢のまた夢という状態であった。とりあえず、すぐにできそうなことは、特異抗体を作ることくらいであった。TAPの組換えタンパク質を取るのに一苦勞し、結局、特異抗体を作成するまでに1年近くを費やしてしまった。また、サイドメニューの遺伝学的解析は、想像していたようにうまく働かず、ボスには「おまえは水準以下のポスドクだ！」等とののしられつつ、最初の1年があつという間に過ぎ去った。加えて、1年目が終わろうかという頃には、当時スイスのジュネーブにいたグループが、レトロウイルスの非スプライス型mRNAの核外輸送にTAPが関係していることを発表し、形勢は悪くなる一方であった。実は、この論文が出る数ヶ月ほど前に、そのグループと我々との間で、TAPに関しての共同研究の話が持ち上がっていたのである。にもかかわらず、我々は、彼女らの論文に関してまったく寝耳に水という状態であった。「こっちが先に手をつけていることを知りながら、黙っているのは卑怯だ!!」などというボス同士の喧嘩(?)まで勃発し、とても共同研究どころではない状況に陥ってしまった。EMBLにラボを構えていた頃には、個人的な交流

を含めて、様々な情報が入ってくるような状況であったそうで、当時を知るセルビア出身のポスドクなどは、「EMBLから大学に移ってきて、陸の孤島に来てしまった感じだ」と嘆く始末。

転機が訪れたのは2年目の夏ごろ。ボスには反対されていた two-hybrid 法で TAP に結合するヌクレオポリンを同定するとともに、TAP に対する質のよい抗体が取れ、免疫沈降法で TAP とヘテロ2量体を形成する結合パートナー（我々は分子量から p15 と名付けたが、現在では NXT1 と呼ばれている）を同定することが出来た。また、酵母の MEX67 遺伝子ノックアウト株（MEX67 は必須遺伝子のため致死）の発育を TAP-p15 というヒトの因子で相補可能である——つまり TAP は進化的に保存された mRNA 核外輸送因子である——ということを示すことが何とかできた。一時期あれほど私を酷評したボスの態度も一変し、「もっと長くいたければ、何とかしてあげるよ」とまで言ってもらえた。Ed Hurt の研究室メンバーに対する操縦法は、皆が口を揃えて「彼は、学生なりポスドクなりを叩くあるいは絞ればデータが出ると信じている」と言うように、かなりきついと感じることもあるやり方であった。私のベンチメイトだった大学院生に、絵を描いて日本の鵜飼の話をするとうちやくちや受けて、「ボスは鵜匠で我々は鵜だ」ということになった。私も、2年間の滞在中にかなり打たれ強い鵜になったわけである。

mRNA を含め、タンパク質や RNA といった物質の核—細胞質間輸送の基本的なメカニズムについては、上述のような

話からもおわかりいただけるように、多くの研究室間での競争もあって、すでに多くのことが明らかになってしまった感がある。私は mRNA の核外輸送メカニズムの多様性について、その一端でも明らかにできるのではないかと考え、留学中の仕事に引き続き TAP に相同性を示す一群の遺伝子産物の機能解析をはじめた。ショウジョウバエなどですでにいくつかの報告があるように、最初私もこれらの TAP 関連遺伝子産物は、組織特異的な mRNA の核外輸送因子であろうと想像していた。しかし、当初の予想に反して仕事を進めれば進めるほど、それぞれは核外輸送因子とは異なる固有の機能を有していることを示唆するデータが出て来る。新しい仕事ができるかなと考えつつ、関連しそうな論文

独自性を出す術を日々模索している。絞られる鵜であった頃に比べれば、はるかにハードである

文を読んでみると、やはりいずこも競争は厳しそうである。競争といえば、細菌の毒素の受容体を研究していた頃にも、受容体がクローニングできてさあ1報目というときには、ほとんど競争相手がなかったのが、1年位の後に、その受容体が上皮組織のタイトジャンクションを構成する Claudin ファミリータンパク質の一つであるとわかるや突然競争の波に飲み込まれてしまったことを思い出す。Ed Hurt ラボを卒業して2年少しがたってから、ラボのメンバーと顔を合わせる機会があった。「シーケンスの情報が手に入れば、PCR でどのような遺伝子もクローニングできるような最近の状況で、どうやって自分たちの研究の優先権を保てるのか。」という話題になった。競争のない研究というのは、情報や技術的な面でよほど自分たちが突出しているか、他人があまり興味を持たないような研究をしているかのどちらかかもしれない。前者でもなく、後者にもなりたくない私は、現在のボスに与えていただいた研究に

関する大いなる自由を享受しつつ、独自性を出す術を日々模索している。絞られる鵜であった頃に比べれば、はるかにハードである。

する大いなる自由を享受しつつ、独自性を出す術を日々模索している。絞られる鵜であった頃に比べれば、はるかにハードである。



現在の同僚。最前列右から二人目が現在のボス、米田悦啓教授。2列目左から5番目が筆者。

プロフィール

1994年大阪府立大学博士後期課程修了。農学博士。同年より大阪大学微生物病研究所助手。1997年から1998年までドイツ・ハイデルベルグ大学博士研究員。帰国後、大阪大学微生物病研究所、同細胞生体工学センター助手を経て、2002年より現職。

片平じゅん
Jun KATAHIRA

(大阪大学大学院生命機能研究科)

運搬RNA?

正木春彦 (東京大学農学生命科学研究科)

2004年から高等学校で使われる予定の「生物Ⅱ」の教科書の見本版を読む機会があったが、「運搬RNA」という言葉が気にかかった。調べてみると、2003年度まで使われてきた旧学習指導要領準拠の「生物Ⅱ」でも、そして当然ながら学習参考書、資料集もすべて「運搬RNA」に統一されており、「転移RNA」と書いたものは一つもない。

これに対してももちろん「生化学辞典」(東京化学同人)、「生物学辞典」(岩波書店)、「理化学辞典」(岩波書店)をはじめ、手許にある大学生向けの教科書ではすべて「転移RNA」となっている。どうやら、日本中の高校で「運搬RNA」と教え、生徒達はそれを覚え、その最後にあたる大学入試でも当然、登場する時はほとんど「運搬RNA」らしい。そして、彼らが大学に入学した途端、「転移RNA」の世界に入るらしい。

研究現場に混乱は起こっていないし、学生から苦情を聞いたこともない。柔軟な学生にとっては些細なことなのだろう。日本中の高校で「運搬RNA」を教えると言っても、生物Ⅱを選択するのは高校生の十数%に過ぎず、生物そのものを高校で習わないまま大学で「転移RNA」に接する学生も多い。また大学の授業にしても、「転移RNA」で通す教員はおそらく少数派で、「transfer RNA」と言った後はほとんど「tRNA」で済ませてしまうので、訳語の食い違いに気が付かぬ大学教員も多いのではなかろうか。言葉は生き物、実害がなければ文句を言う必要はないかもしれない。しかし、これは流行語ではない。科学の基礎として概念とともに学校で教える術語である。これが実際に科学の世界で使われている言葉と異なっているのは、「運搬RNA」が教育のためだけの言葉になっているためではなかろうか。

「運搬RNA」の出处を探してみた。文部省学術用語集動物学編(増訂版:日本動物学会,1988年)では,"transfer RNA (tRNA)"が「運搬RNA (tRNA)」となっており、その後に出た同植物学編(増訂版:日本植物学会,1990年)では,"transfer RNA (tRNA)"に対し「転移RNA (運搬RNA) (tRNA)」と、両訳語を併記している。(1954年と1956年

に出版されたそれぞれの初版では,tRNAは未発見なので登場していない。)一瞬、この日本動物学会の学術用語集増補版が「運搬RNA」のオリジナルで、日本植物学会が双方併記で妥協したのかと思ったが、そうではなかったらしい。高校の先生をやっている友人から、BSCSかもしれないと示唆された。運良く神保町の古本屋で一揃いの「BSCS生物」が見つかった。

BSCSは、スプートニクショックに起因する教育の現代化の波として、物理のPSSC、化学のCHMSなどと同時期、1960年代にアメリカ生物科学協会(AIBS)が組織したBiological Sciences Curriculum Studyという運動の成果で、現在も版を重ねている。「BSCS生物」は、

この言葉のギャップは、高校の教育の世界と、大学等の研究の世界の双方が互いを無視してきた結果であろうが、ことに教育の責任は大きい。また学生達がどういう教育を受けたのかに無頓着だった部分は、大学の問題、となると、言葉1つに日本の教育問題が透けて見えてくる

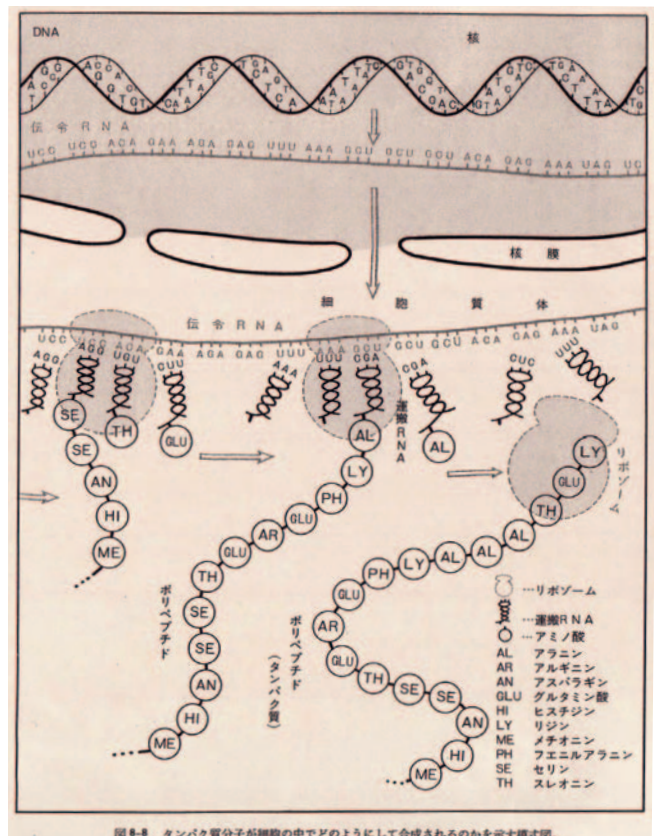


図4-8 タンパク質分子が細胞の中でどのようにして合成されるのかを示す模式図。運搬RNAの登場する青版(1966)の説明図

日本BSCS委員会（篠遠喜人委員長）が多数の高校の先生を動員して翻訳したもので、1966年から1970年にかけて、いくつかの特徴を異にするバージョンが翻訳されて出版されている。このうち transfer RNA が登場するのは「青版」（1966）と「黄版」（1968）で、確かにあった！ 青版本文中に、『運搬 RNA』と呼ばれる比較的分子の小さい RNA は、細胞質体中で個々のアミノ酸をつかまえる』とある。ところが黄版では、『このアミノ酸をつれてくる RNA は転移 RNA と呼ばれる』（太字原文、以下同）となっている。これがほんとうに日本の「教育」界に登場した最初かどうか確認できないが、tRNA の発見時期（1957年）を考えれば、この翻訳が教育界への最初の強いメッセージとなったことは想像に難くない。

つまり、導入の最初から、しかも同じ日本BSCS委員会編の別のバージョンの本で、二つの訳語が使われたらしい。そして、研究者の使っていた直訳、「転移 RNA」とは独立に、教育界では、最初に登場したもう一方の意識、「運搬 RNA」だけが流布していった。そして問題にしたいのは、この状態が40年近くも、ほとんど没交渉のまま続いてきた事実である。さすがに問題視されたことはあったらしい。私が気付いたのは、日本動物学会と日本植物学会が編集した「生物教育用語集」（東京大学出版会、1998年）で、「転移 RNA」の説明として「（前略）運搬 RNA ともいうが、アミノ酸を転移するという反応を重視して、教育用語としては、学術（遺）にしたがい転移 RNA とする。」と、食い違いに対し、明確な根拠とともに使命感あふれる宣言をしている。それにもかかわらず、である！ 2004年度から新たに使用する学習指導要領

準拠の高校「生物Ⅱ」では、相も変わらず「運搬 RNA」で通されている。

がんの転移 (metastasis) と転移 RNA との混同を避けたのだろうか、それとも教育用語は安易に変えてはいけない、という配慮が働いたのだろうか？しかし40年間も食い違いを放置するものなのか（ただし高校教科書に正式に登場したのはいつであるかは未確認）。この言葉のギャップは、高校の教育の世界と、大学等の研究の世界の双方が互いを無視してきた結果であろうが、ことに教育の責任は大きい。

また学生達がどういう教育を受けたのかに無頓着だった部分は、大学の問題、となると、言葉1つに日本の教育問題が透けて見えてくる。話を戻そう。二つの訳語が併存してきた現象は、教育の世界と研究の世界の間で人的交流がないのなら、ある程度放置しておいても構わない。しかし、主役であるはずのたくさんの若者が毎年、高校教育の世界から大学の研究の世界へ足を踏み入れているのである。

何のために「運搬 RNA」は固持されるのか？ 教育が自己目的化していることを疑わざるを得ない。高校教育が、科学研究と乖離した、教育のための教育になっていることを示していないだろうか

何のために「運搬 RNA」は固持されるのか？ 教育が自己目的化していることを疑わざるを得ない。高校教育が、科学研究と乖離した、教育のための教育になっていることを示していないだろうか。

インターネットで「転移 RNA」と「運搬 RNA」を検索してみると、この2つの言葉を使う世界は明らかに違う。「転移 RNA」は科学、そして「運搬 RNA」は教育の世界、という以外にもうひとつ、「運搬 RNA」が非生物系の科学技術の世界への浸透を見せ始めていることだ。その由来はやはり高校教育だろう。新聞では、「運び屋 RNA」という

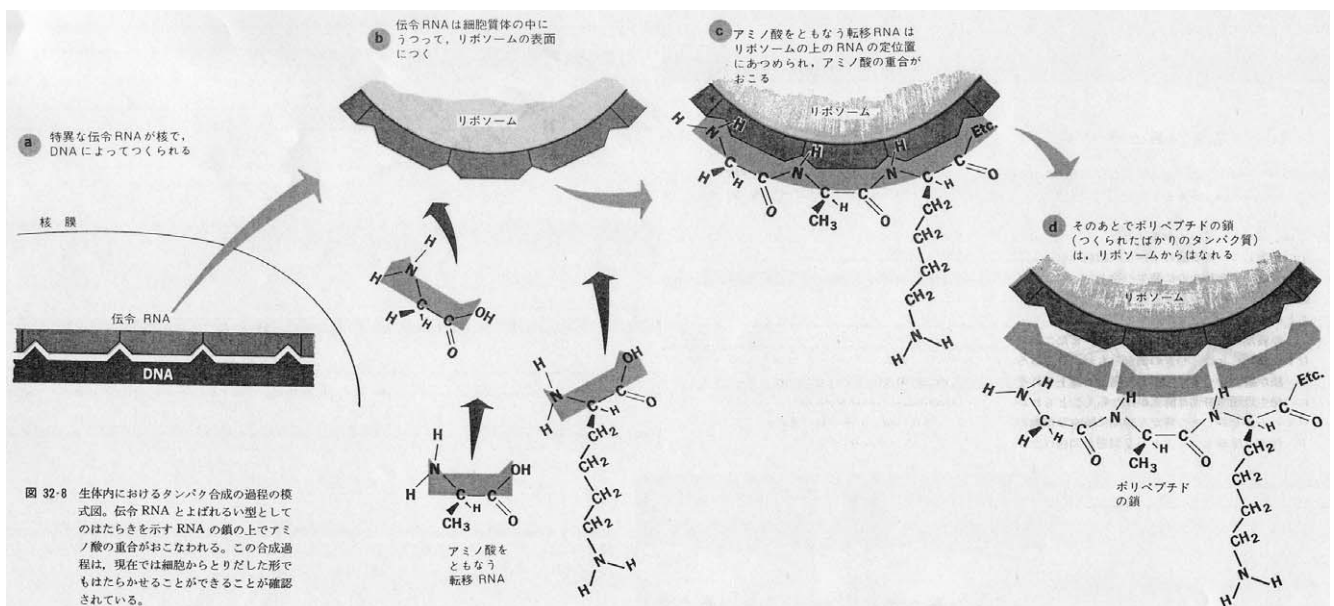


図 32-8 体内におけるタンパク合成の過程の模式図。伝令 RNA とよばれる型としての mRNA は、核膜を通過して細胞質に移動し、リボソームの上でアミノ酸の重合がおこなわれる。この合成過程は、現在では細胞からとりだした形でもはたらかせることができることが確認されている。

黄版（1968）の説明図：リボソームを取り巻いているのが伝令 RNA、アミノ酸に重なるあるかすがい型のものが転移 RNA。暗号解読とペプチド転移を重ねて書いてある。

言葉を見かける一方で、「転移 RNA」がおもに使われているようだが、逆にかずさ DNA 研究所（ホームページ）のように、一般向けには「運搬 RNA」をと、むしろ割り切って使い分けているところもあるようだ。社会が科学リテラシーを形成していく主なルートとしては、(1)公教育経由と(2)学界発ジャーナリズム経由が考えられるが、(3)ホームページなどで学界が直接社会に発信する場面も増えている。この中で影響力はやはり(1)が強いようで、結局、学界の非専門分野を含めた社会ではどちらかというところ「運搬 RNA」が優勢のような気がする。

tRNA は 1 つの小さな例に過ぎないが、そのほか教育のいくつかの場面で教育独特の言葉が使われている。その典型例は、高校の現行(旧)課程までに見られた「水素伝達系」である。意味しているのは「電子伝達系」のことで、おそらく電子の遣り取りを酸化還元と定義する高校化学を、学んでいないという前提で高校生物が組まれたため、「電子伝達」を「水素伝達」に勝手に言い換えたのだろう。しかし伝達されるのは基本的に電子であり、機構からすれば「水素伝達」は誤りである。これはどの学術用語にも登場しない日本の高校独特の用語として悪名が高く、新課程の「生物Ⅱ」でやっと「電子伝達系」になるようである。

そのほか、微生物屋としてたいへん気になるのは「嫌気呼吸」である。これはむしろ学界内でふたつの意味に分裂しているようで、その一方が教育用語と同化している。先ず教育用語として高校「生物Ⅱ」の見本版から引用すると、「酸素が少ない環境条件(嫌気条件)のもとで、グルコース(ブドウ糖)などの有機物を分解してエネルギーを取り出すはたらきを嫌気呼吸という。嫌気呼吸には、アルコール発酵や乳酸発酵などがある」(数研出版)。「呼吸には、酸素を使わずに呼吸基質が部分的に分解される嫌気呼吸と、酸素を用いて呼吸基質が水と二酸化炭素にまで分解される好気呼吸がある」(東京書籍)。「酸素を用いないで、呼吸基質を分解する嫌気呼吸には、アルコール発酵や乳酸発酵など発酵のほか、解糖がある。嫌気呼吸においてもグルコースは一度ピルビン酸にまで分解されるが、この反応は解糖系と同じである」(東京書籍)。以上が一方の「嫌気呼吸」。

そして、私の身近の人々が使っている「嫌気呼吸」は、「生化学辞典」の通りであって、「細胞中に取込まれた有機

物または無機物が、酸化的に分解されてエネルギーを得る過程を広義の呼吸というが、呼吸鎖電子伝達系の最終電子受容体が分子状酸素以外の物質(たとえば、硫酸塩、硝酸塩など)である場合を嫌気呼吸という。進化的には嫌気呼吸が先に出現し、その後好気呼吸が出現したと考えられている。」つまり指しているものが全く違うのである。アルコール発酵、乳酸発酵、解糖を嫌気呼吸と呼ばせるのは、ヒトの酸素呼吸が最も由緒正しい完成したシステムで、その前段階に過ぎない効率の悪い解糖系は非正統な呼吸、変則的な呼吸だという古めかしい認識に由来している気がする。その場合の呼吸とは何を指すことになるのか? エネルギー獲得系一般を指すのだとすれば、ほとんど何も言っていないのと同じで、要するに嫌気性というだけのこと、紛らわしく「呼吸」などと言わぬがよい。現在の生化学では、呼吸の実体は電子伝達系であるというのは自然な認識であろう。その中で酸素を使うのは、進化上は後から出来た呼吸のバリエーションであり、その意味では硫酸呼吸や硝酸呼吸のような嫌気呼吸の方が由緒正しい。正味の電子の出入りがなく、電子伝達系と繋がっていないアルコール発酵、乳酸発酵、解糖を「呼吸」の一種と呼ばせるから話がややこしくなる。

1 つのものに対して教育用語と研究用語が異なる tRNA, 1 つの用語に対して教育界(と一部研究の世界)と研究の世界とで指すものが異なる嫌気呼吸、そして教育界が勝手に不適切な用語を創作して広めた水素伝達系、これらは教育と研究の世界の根深い風通しの悪さ、あるいは頑なさ象徴しており、実害の検証とは別に、双方の意識的な議論と合意を目指す必要がある。



プロフィール

1980年東京大学農学系研究科博士課程中退、同年東京大学農学部農芸化学科助手。1986年農学博士。1987年東京大学助教授。1999年より同農学生命科学研究科教授。

正木 春彦

Haruhiko MASAKI

(東京大学農学生命科学研究科)


New Techniques

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

とある研究室におけるある日の対話

多田 隈 尚 史

(早稲田大学 理工学部 物理学科)

“塩見先生から電話がありました”

(とうとうきたか・・・)

“エッセイ風に3000字程度でお願いします”

2ヵ月後(締め切り間際)

ゴソゴソ

(あ、あった、あった。どれどれ。しっかり製本してあるなあ。いいかげんなのは書けなそう・・・。この先生のインタビュー形式おもしろいな。こんなに上手く書けるかわからないけど、真似させてもらおう)

4年生：今度 mRNA に配属になりました I です。Tさんよろしくお願いします。

T助手：じゃあ、早速 mRNA を蛍光標識して顕微鏡で観てみよっか。

4年生：え、さっそくですか？楽しみですね。

4年生：Tさんできました。蛍光標識率500%です。

T助手：1本の mRNA に5個の蛍光色素か、まあいいんじゃない。ところで色素は何をつけたの？

4年生：えーと、Cy3 です。だから、励起用のレーザーは緑色の YAG2 倍波(532nm)ですね。

T助手：今日は初めてだから、落射蛍光顕微鏡で観察しようか。

4年生：えー。高価な共焦点顕微鏡があるのに使わないんですか。残念だなあ。楽しみにしていたのに・・・。あ、ほこりかぶってる。実は使っていないんじゃないですか？安い家が一軒買える位だと聞いていたんですが、税金の無駄遣いをしているんじゃないですよ。僕が払った年金を返して下さいよ。毎月1万円以上払っていて学生の身にはつらいんですよ。どうせ、年金はもらえないんだし。

T助手：そ、そんなことはないよ。それに年金財源と科研費は別でしょうが。あと、年金は税金だと思ってあきらめて、個人年金を頑張るしかないでしょ。それじゃあ、共焦点顕微鏡で観察しようか。

4年生：やったー。

T助手：じゃあ、マイクロインジェクションしようか。ゲーム機みたいな感覚でできるよ。

4年生：おー、面白い！でも、細胞がすぐに死んだり破裂するんですけど・・・。

T助手：それは、じきに慣れるよ。

4年生：あ、そういえば、Pederson とかいう人のグループが蛍光相関分光法(FCS)とかいう方法で核内の内在性 mRNA の拡散運動を観察していて、 $10 \mu\text{m}^2/\text{s}$ という拡散速度で動いているって論文を読んだんですけど(Politz 1998)、そんな早いビデオカメラで追えるんですか？共焦点顕微鏡って、厚さ $1 \mu\text{m}$ ぐらいしかないんですよ。アインシュタインの関係式から言えば8ミリ秒(1/120秒)しか、断面に滞在してない計算になるんですけど。見えるんですか？ビデオカメラって33ミリ秒(1/30秒)で1コマですよ。

T助手：核膜孔を出る時は一旦止まるだろうから、核内で見えなくても、核膜のところできつと輝点が見えるよ。

バキューン

4年生：お、核内に蛍光 mRNA が入ったばい。蛍光像を見よう。

あれ、何か核内にいっぱい輝点が見えますよ！すごい、動き回ってる。

T助手：(ほっ) いやー、見えてよかった。

4年生：いま、何かいいましたか？

T助手：いや、なんでもない。それより、今度は蛋白質でも一緒に見るか。

4年生：うーん。

T助手：どうした。

4年生：蛋白質も RNA も全部ただの輝点で同じにしか見えないんですけど・・・。

T助手：そら、どれも同じ色素をつけてみているんだからしょうがないじゃん。

4年生：えー。細胞では何種類もの生体分子が同時に働い

ているんですよね。1-2色しか見えないんだったら、将来的にはだめじゃないですか。どうするんですか？

T助手：え、えっと。まずは、蛍光色素の種類を増やす事だけど、現在使っている有機系の蛍光色素の1分子イメージングだと、励起用のレーザーをそれぞれの蛍光色素に用意しないとイケないから、光学フィルターが進化しているけれども（ハードコートフィルター：Semrock社、Chroma社など）、3色が限界だった。そこで、最近では量子ドットを試している。量子ドットは、数nmの大きさの半導体（CdSeなど）に励起光を当てると、量子効果により発光するという性質を利用したものなんだけど、吸収波長の範囲が広く、一方、蛍光のバンド幅が狭い。また、大きさによって出てくる蛍光の波長が違うので様々な波長の色素を作成することができる。すなわち1種類の励起光でいくつもの色素を同時に励起し観察でき、さらに、半導体の微小結晶なので構造が壊れず退色をしないので、色素としては理想的な性質を持つんだよ。10種類ぐらいは同時に見えるようになるんじゃない。

4年生：でも、量子ドットって、水溶液の中では消光してしまったり、凝集しやすいんじゃないかと思ったっけ？

T助手：最近では表面処理の技術が進歩し、これらの問題点が克服され市販されるようになった（Wu et al. 2003, Jaiswal et al. 2003, Qdot社；日本の代理店は住商バイオサイ

エンス）。それに将来はシリコン系のものが主流になり、また表面処理技術が更に進む事で、数ナノメートルぐらいになるはずなんだ。

4年生：じゃあ、GFPよりも小さくなるんですね。それなら使えそうですね。そういえば、蛍光色素濃度が10nM以下でしか使えないのも、何とかならないんですか。“背景を漂っている色素によるノイズ強度”が“追跡している生体分子の蛍光強度”と同じぐらいになってしまうからこの濃度以下でしか使えないわけですけど、実際の生体中では生体分子の濃度はもっと濃いわけじゃないですか。

T助手：今は確かにそうだけど、将来的には新しい技術がこの限界を破ってくれるよ。例えば、ガラス表面上の1分子イメージングは今まで背景の蛍光色素が50nM程度の濃度でしかできなかったんだけど、最近、半導体加工技術を応用した微小開口法という方法が開発されて、一気に10 μ M程度まで使えるようになった（Levene et al. 2003）。全反射を利

機械は同じ物質（電子）をやりとりして情報を伝達するわけだけど、生物は、運搬役の生体分子自身が修飾されて、運搬分子の状態として情報をやりとりする。それ故にゼロイチでない、あいまいな情報をやりとりできるのが特徴で、それがしなやかさを生んで・・・

用したエバネッセント照明法ではガラス表面近傍（ $\sim 150\text{nm}$ ）だけを励起する。つまり深さ（z）方向の励起を局所化しているわけだけど、微小開口法では深さ（z）方向だけでなく水平（x-y）方向にも局所化する。具体的にはガラス基盤に光を透過しないもの（金属など）を蒸着させ、そこに100nm程度の開口をアレイ状にあげ、開口部分からしみ出す光（ $\sim 20\text{nm}$ を励起）で蛍光分子を励起するんだ。

4年生：へー、そうなんだ。でも、ただ動きを見るだけでわかる事って少ないんじゃないですか？

T助手：そ、そんなことはないよ。モーター蛋白質を考えてごらん。酵素活性をリアルタイムにイメージングできて（Funatsu et al. 1995）、1歩ずつ歩いていくのが見えて（Vale et al. 1996, Yildiz et al. 2003）、さらに酵素活性と運動が同時に測定できて（Ishijima et al. 1998）、いろいろな事がわかったよ。

4年生：でもそれは、モーター蛋白質の機能が動く事だから上手くいったんじゃないんですか？多くの生体分子の機能は動くことじゃないですよね。特にRNAはリボザイムやリボソームを除けば、構造変化をしながら機能とかなしないわけじゃないですか。

T助手：一つは今話が出た、機能するRNAを研究する方向性がある。最近ではノーベル物理学賞を取ったスタンフォードの先生もリボザイムやリボソームをやっている（Zhuang et al. 2000）。

4年生：そういえば、隣のI研究室でモーター蛋白質をやっていたU先輩が、今度そのノーベル賞の研究室にポスドクに行くみたいです。蛋白質屋さんRNA屋さんが分子メカニズムの分野でも融合しつつあるんですね。

T助手：そうだね。もう一つの方向は分子の状態を検出する事だね。生体分子は蛋白質でもリン酸化やら糖鎖修飾やらいろいろけているし、糖鎖修飾の多様性もすごいけど、分子状態が変化するといえば、RNAほどダイナミックに変わるものはない。mRNAの選択的スプライシングなんてその最たるものじゃないかな。何十箇所にもわたって切り刻まれて再構築された上に、出来上がった分子が全く同じじゃないなんて。なんていいかげんなんだ。いや、精巧なんだ。生体分子の多様性の源だし。それと、mRNAは蛋白質とも相互作用するから、生体分子の相互作用の良いモデル系になるとも思っ

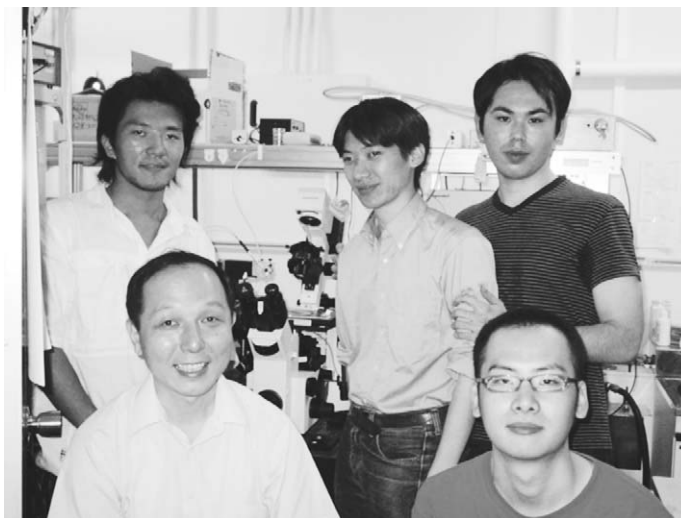
ている。機械は同じ物質（電子）をやりとりして情報を伝達するわけだけど、生物は、運搬役の生体分子自身が修飾されて、運搬分子の状態として情報をやりとりする。それ故にゼロイチでない、あいまいな情報をやりとりできるのが特徴で、それがしなやかさを生んで……。おっと、話が飛躍しすぎだ。まあ、いずれにしろ、分子の状態を1分子ずつ見て、元の確率分布を描かないといけない。分子の状態を見るためには新しい技術を開発する必要があるって、我々の研究室では、mRNAを部分配列ごとに多色に染め分けてプリズムやフーリエ干渉を使った分光をやっている。技術が確立してくることで、RNAの特定領域の先生方と協同でいろいろ面白い事ができるのじゃないかと期待しているんだ。ただ、いろいろな種類の生体分子が出てきて、話を聞いていると頭がこんがらかって、わけがわからなくなるんだよね。なんとか、2種類ぐらいに減らしてくれないかな。せめて3種類。

でも、まあ一、mRNAは蛍光標識が楽しだね。

4年生：あ、今のが本音じゃないですか。それにしても、ちゃんと考えていたんですね。いつもボーとしているだけじゃないんですね。

Reference:

- Funatsu, T., et al. Nature 374, 555-559, 1995.
 Ishijima, A., et al. Cell 92, 161-171, 1998.
 Jaiswal, J. K., et al. Nature Biotechnology 21, 47-51, 2003.
 Levene, M. J., et al. Science 299, 682-686, 2003.
 Politz, J.C., et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 95, 6043-6048, 1998.
 Vale, R.D., et al. Nature. 380, 451-453, 1996.
 Wu, X., et al. Nature Biotechnology 21, 41-46, 2003.
 Yildiz, A., et al. Science 300, 2061-2065, 2003.
 Zhuang, X., et al. Science 288, 2048-2051, 2000.



mRNA な人達 (集合写真)

現在総勢6名。撮影者のI君ごめんなさい。
 写真後列真ん中の斜に構えているのが筆者。前列左が船津教授。

プロフィール

2001年3月早大・理工学部・物理学科・博士課程、単位取得退学。同年4月より早大・理工学部・物理学科助手。2003年10月より東大・大学院・工学系・物理工学専攻の助手に異動。博士課程2年より船津高志教授とmRNAの蛍光1分子イメージングに取り組む。今後は富重道雄研にてしばらく、モーター蛋白質の機能・構造変化の1分子イメージングを通して、細胞などの生物システムにおける蛍光1分子イメージング技術を修行してくる予定。高校から早稲田の付属校だった筆者にとって、実に15年ぶりの移動であった。

多田 隈尚史

Hisashi TADAKUMA

現所属：
 東京大学 大学院工学系
 研究科 物理工学専攻

精密機器メーカーの ‘元’エンジニアの目から見た RNA ワールド

小林 章 一

株式会社島津製作所 分析計測機器事業部
ライフサイエンスビジネスユニット

1 設計図

今はコンピューターを使って CAD で図面を書くのが主流だが、20 年以上も前になるが私が設計をしていた頃は所謂青焼き(若い方はご存じないかと思うが)の出来るトレーシングペーパーが図面用紙だった。この図面用紙に書いて図面番号をとり、検討、承認を経て原図が出来上がる。

原図はサイズ毎、図面番号順にキャビネットに保管されていた。何個もあるキャビネット全体が設計図の総体(ゲノム)とすれば、個々のキャビネットは謂わば染色体にでも相当するものか。とはいっても装置に雌雄の区別はないので、X、Y 染色体に相当するキャビネットというのは聞いたことがない。さて、この図面番号だが、部門ごとに割り当てられてはいるものの同時平行で何人かが書いているので、ひとつの組立て品でも必ずしも連番になるとは限らない。キャビネットの中には今は製造していない昔の装置の図面も大切に保管されている。試作したが結局日の目を見なかった図面も存在すれば、一方、信頼性の高い部品は次のモデルにも引き継がれていく。装置あるいはそれを構成する組立て品の製作命令が出ると親図面、子、孫の情報に基づいていくつものキャビネットから原図が取り出され、これが青焼き(転写、RNA、遺伝子の発現?)され工場あるいは協力会社に送られ実際の部品(蛋白質?)が作られる。勿論この青焼きされた図面には組立て手順や調整仕様などの段取りに関するドキュメントも含まれている。

生体内では、あたかも、それぞれの DNA が使わないものを含めて原図全体を持って各工場に派遣され、どこからの指示に基づいて必要な時に必要なものを青焼きして生産しているかのように見える。

図面を改訂する場合に気をつけなければならないのが互換性である

2 図面改訂

実際に生産を継続しているといろいろなことが持ち上がる。しばしばおこるのが使用している部品の製造中止である。特に進歩の著しい電気電子部品では頻繁におこる。また、組立てやすく、故障しにくく、修理しやすく、コストを下げる等いろいろな理由で設計の変更が必要になることがある。装置でも、同一の仕様を保ちながらも実は進化をとげている。ここで必要なのは管理された図面改訂のシステムである。現場で青焼きを修正して、というのが一番わかりやすいが、これをやりだすとあたかもウィルスに侵されたごとく収集のつかないことになってしまう。間違った青焼きの情報に基づいて原図を修正(逆転写?)することにならなければこれはもう最悪である。

また、図面を改訂する場合に気をつけなければならないのが互換性である。同じ部品が全く異なる機種で共通に使用されている場合もあれば、改訂の履歴が全く異なる何年も前に購入いただいた装置(既納品)に保守部品として使われること

もある。拒絶反応でもおきては大変なので、同一の仕様の装置を長年供給するためには図面改訂のしっかりしたルールが必要になる。入社したての頃、私の出した図面改訂依頼について時の事業部長(まさに雲の上の人)から「この改訂の互換性についてだが・・・」という電話が直接きたのを今でも覚えている。ことほど作用にメーカーにとって図面の維持管理は重要なものであり、大きな労力を割いている。おそらく生体内でも同様であろう。

3 RNA ワールド

私が入社したときには既に上記のような図面管理、改訂、製造のシステムが出来ていたが、初めからこんなシステムがあったとは想像し難い。長年にわたる知恵と工夫で磨かれてきたに違いない。恐らく最初はメモのようなものを基

にして自分あるいは仲間内の何人かで作ってみてはメモを修正して改良していったに違いない。これはおそらく効率が良く、いろいろなものを生み出すことは出来たと思うが、使える道具、技術は限られており、継続的に数多く作るには適していなかったであろう。何よりも俗人的な要素が強く、仲間の一人が欠けると破綻をきたすといった事が想像できる。生物学的な話は別として、より管理された情報と広く専門性の高い資源を使うことで進化をとげき

たのが現在とすれば、その起源としての RNA ワールドは、凶面のことも製造のことも両方知っている人が仲立ちするに越したことがないという観点からも、私にとっては非常に興味をそそられるものである。

我々のシステムは人が存在することで始めて成立している。しかし、生体の場合、これがあくまで自律的におこなわれる。やはり奥が深いと思わざるを得ない。

◆ Business ② ◆

夢の新薬, siRNA

嶋本 顕 (株式会社ジーンケア研究所)

はじめに

巷では siRNA がまっ盛りである。siRNA による遺伝子の機能解析データを扱った論文は夥しい数に上り、毎週のようにこれに関する論文が発表されている。21-mer (21 塩基対) の合成 RNA 二分子からなる二重鎖 RNA が、ヒト細胞において RNAi 効果を引き起こす事実が 2001 年に発表されて以来、この技術によって機能が明らかにされた遺伝子は相当な数になるであろうし、この技術の恩恵に与った研究者は数知れない。私もその 1 人であり、遺伝子の機能解析の手段として当分の間この技術を手放すことはできないと思う。他方において、siRNA は特異的な遺伝子の発現抑制に加えて、とても興味深い性質を備えている。それは、1) 有効濃度が非常に低い、2) 細胞に本来備わった機構を利用、3) 細胞内で代謝される、4) 代謝物は細胞内物質、である。これらの性質を一言でいうと、siRNA は「低い濃度で特異的に標的分子に作用して不活性化し、その後速やかに代謝される」という、医薬品に極めて望ましい性質を兼ね備えた物質であると言え、siRNA は正に夢の新薬になる可能性を秘めている。

siRNA は「低い濃度で特異的に標的分子に作用して不活性化し、その後速やかに代謝される」という、医薬品に極めて望ましい性質を兼ね備えた物質である

本稿では、siRNA 医薬品の可能性について、ジーンケア研究所での研究開発を例に挙げ、その発端から現在に至る経緯、そして現状と今後の問題点を紹介する。

国家プロジェクトから創業ベンチャーへ

1994 年に厚生省 (現・厚生労働省) 医薬品機構が中心となって設立されたエイジーン研究所は、その名の通り遺伝子から老化を研究するという 7 年間の時限プロジェクトである。当時の所長古市泰宏 (現・ジーンケア研究所代表取締役社長、写真) の方針で、設立時からヒト早老症ウエルナー症候群の原因遺伝子 (WRN) の解明と、この遺伝子がコードするタンパク質の機能解析が研究の中心に据えられ、このプロジェクトに参加した私は、1994 年 11 月から

今日まで、生活の多くの部分をこの研究に費やしたと言っても過言ではない。ウエルナー症候群は成人した頃から、様々な老化の兆候が健常人に比して加速して現れる病気で、白内障、糖尿病、骨粗鬆症、動脈硬化、悪性腫瘍等を 50 歳までに次々に発症する。WRN 遺伝子のポジショナルクローニングに携わっていた頃

は、この研究を通じて抗老化薬、成人病薬が開発されることを夢見ていたが、1996 年 4 月に WRN 遺伝子の全容が明らかになると、その夢に暗雲が立ちこめてきた。WRN 遺伝子は核内で二重鎖 DNA を解くヘリカーゼをコードしており (図 1)、WRN ヘリカーゼは DNA 修復酵素の一種であることが次第に分かってきて、医薬品への応用とは相容れないように思われたからである。

ここで疾患との関係について述べておくと、ウエルナー症候群は DNA 修復の異常が基盤にあり、染色体の不安定化にともなって組織細胞の分裂能の低下や細胞死を引き起こ

し、種々の老化症状を呈するものと考えられる。その後、WRNヘリカーゼの機能解析を中心に基礎研究は続けられたが、核タンパク質であるために、患者さんの治療には全身性に遺伝子治療を施す必要があり、一般的な成人病の治療の標的としても、WRNヘリカーゼの減衰が糖尿病や動脈硬化の原因となっているという証拠が見出せないなど、応用への道は険しいと言わざるを得なかった。

しかし、その後の研究成果から、我々は癌細胞の染色体安定化におけるこのヘリカーゼの重要性に注視して研究を展開し、エイジーン研究所のプロジェクトが終了する2001年3月頃までには、研究開発の方向を制癌のための標的遺伝子として狙いを固めることができた。そしてエイジーン研究所終了に合わせて創薬ベンチャー、ジーンケア研究所を設立し、2001年4月からWRNヘリカーゼを標的とした制癌剤の開発に本格的に乗り出すこととなった。

低分子化合物から siRNA へ

当初は低分子化合物を目的とする阻害剤の探索を進めた。標的となるタンパク質の活性を検出するアッセイ系を構築し、低分子化合物ライブラリーを対象として、阻害効果を有する化合物をスクリーニングするという手法である。大手製薬企業ではこのライブラリーのサイズが数十万~百万ともいわれ、そのほとんどが自前で合成した門外不出の代物である。優れたヒット化合物を得るための重要なポイントは、ユニーク・独創的なアッセイ系と、化合物ライブラリーの質・サイズであろう。やってみなければ分からないが、創薬を事業の柱と謳ったベンチャーは、その点ですでにハンディを負っていると言わざるを得ない。

2001年5月に Tuschl らの論文が Nature に発表された当時、我々は siRNA をアンチセンスに代わる機能解析のツールと考えていた。そして WRNヘリカーゼを標的とした制癌剤のスクリーニングを進めるかどうかの Rationale を確認するために、siRNA による WRNヘリカーゼの発現抑制が癌細胞の増殖に及ぼす影響について検討を行った。その頃

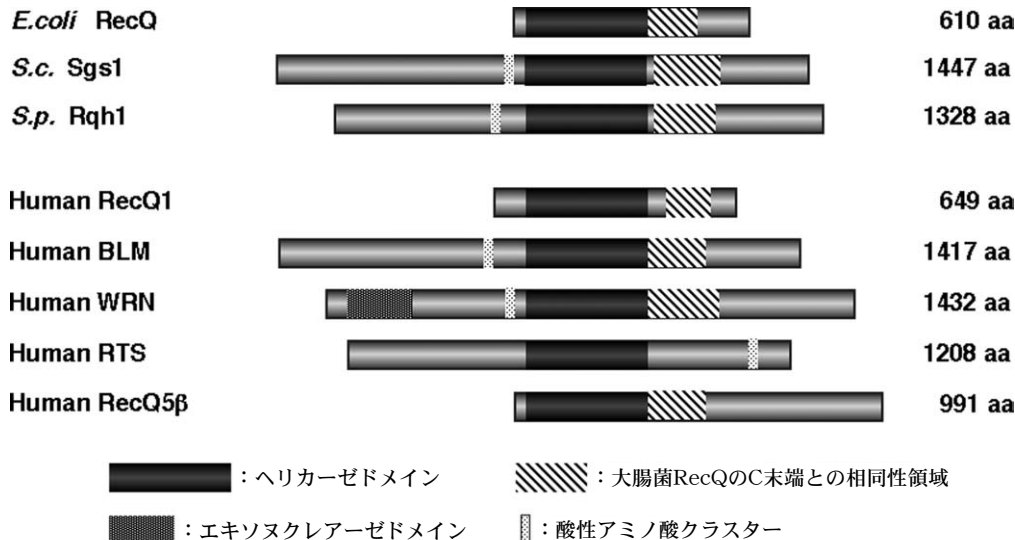


図1: RecQヘリカーゼファミリーの構造。RecQヘリカーゼは大腸菌からヒトまで保存された染色体安定化遺伝子で、ヒトには5種類が存在する。BLM, WRN, RTSはそれぞれブルーム症候群, ウエルナー症候群, ロスモンドートムソン症候群の原因遺伝子であり、これらは染色体不安定性・癌多発疾患として知られる。

は、「WRNヘリカーゼが染色体安定化を通じて癌細胞の増殖に重要な役割を担っている」という状況証拠は揃っていたが、癌細胞でWRNヘリカーゼの発現を抑制すると、いったい何が起るのかについては不明であった。

しかし、結果は我々がかねてより予想していた通りのものであり、癌細胞の増殖は顕著に抑制されたのである。そして何よりも、低分子化合物阻害剤ではなかなか得難い極低濃度のIC₅₀値と、配列依存的な標的特異性から、このsiRNAが実に切れ味鋭く癌細胞の増殖を阻害する様を目の当たりにして、siRNAをベースとした癌治療薬の開発に挑戦しようという気運が高まってきた。

創薬ベンチャー企業と siRNA

国内外で製薬企業の合併・買収が進むなかで、創薬ベンチャー企業が生き抜いて行く道は険しい。単純に、研究開発の規模が新薬を生み出すチャンスを決定するのであれば、大企業が年間数千億円を

これまでのタンパク質を標的とした場合に比して、siRNAがmRNAを標的とした場合には、考慮すべき阻害剤の構造的バリエーションが、格段に小さいことが挙げられる

投入する製薬業界で、規模がその千分の一のベンチャー企業が生きていくことは至難の業である。そんな中、siRNAの登場はベンチャー企業にとってまさに福音である。即ち、規模は小さくても創薬に貢献できる可能性が大きく広がったのである。その理由として、これまでのタンパク質を標的とした場合に比して、siRNAがmRNAを標的とした場合には、考慮すべき阻害剤の構造的バリエーションが、格段に小さいことが挙げられる。siRNAのバリエーションは標的mRNAの長さに依存し、mRNAのヌクレオチド数からsiRNAに必要なヌクレオチドの数を差し引いた値が考慮すべき範囲である。そしてもう1つの理由は特許の問題であ

る。siRNA (RNAi を含む) に関する特許は主に大学 (アカデミア) から出願されており、大手企業が独占的に実施できる状況にないのが現状である。また siRNA を医薬品として開発するにあたって、考慮すべき特許が現時点では明確でないことも、少なからず関係していると思われる。

これら以外にも、siRNA を医薬品として開発するためには周辺技術 (配列設計法やデリバリーシステム) の確立も重要であり、この点でもベンチャー企業にビジネスチャンスが開かれている。とは言っても、創業ベンチャー企業が siRNA を基礎とした医薬品の開発を行う場合にも、標的となる遺伝子の物質特許、疾患の標的としての用途特許、有効な siRNA 配列に関する特許などを有していることが前提で、この辺りのバイオロジーに基づいた基礎研究能力は、研究開発の規模とは無関係であると私は信じている。

siRNA 医薬品開発における問題点

ともあれ、我々は WRN ヘリカーゼを標的とした siRNA 医薬品の開発へ向けて動き出した。この「夢の新薬」を夢で終わらせないためには、いくつかの課題を解決しなければならない。まず選択する siRNA の配列である。医薬品として用いるためには低濃度での効果を保証しなければならないが、これは少なくとも2つの問題の解決に重要である。まずインターフェロン応答の問題である。siRNA は2重鎖 RNA であり、siRNA のように短い配列でも細胞内での濃度が高まると、副作用となるインターフェロン応答を引き起こすと考えられている。もう1つは薬価の問題である。100

nM よりも 100 pM で効果があれば、siRNA の合成に関する限りコストは千分の一で済み、多くの患者さんの治療に使うことができるだろう。実際にヒトの血液中で 100 nM を維持するのに必要な量を現在の合成コストで計算すると、かなり高額な治療薬となることが予想される。

選択した siRNA の配列が標的 mRNA の発現を低濃度で抑制するかどうかは、siRNA が細胞内で RISC に取り込まれる効率と、形成された RISC の安定性が関与すると考えられる。したがって RISC タンパク質による siRNA の認識機構の解明が重要であり、このことはもう1つの副作用の原因となる off-target 活性の問題の解決にもつながる。即ち、siRNA のアンチセンス鎖が、センス鎖よりもずっと効率的に RISC に取り込まれるように設計できれば、アンチセンス鎖についてのみ off-target の相同配列について考慮すれば良いことになる。

次に、siRNA の生体内デリバリーの問題がある。21 ヌクレオチドの2重鎖 RNA 分子は、細網内皮系による取込みや腎臓からの排出により、あるいは血液中のヌクレアーゼ等による分解により、非常に短時間に血中から消失することが予想され、そのままでは標的となる組織・細胞への送達は極めて困難であると考えられる。siRNA を分解から保護し、且つ血中滞留性を高めて標的組織・細胞へ送達させるためには、siRNA に適したデリバリーシステムの開発が重要なカギとなる。

我々が開発を進めている siRNA 医薬品も、これらの諸問



ジーンケア研究所のメンバー。現在事務方も含めて30人以上が参加する。前列中央付近が代表取締役を務める古市泰宏。キャップ構造の発見者でもある古市は、科学者としてだけでなく起業家としてもその才能を発揮し、プロジェクトを牽引する。その左上が筆者。

題の解決なしに日の目を見ることはないであろう。目下のところ、これらの諸問題を解決するために、多くの研究機関やベンチャー企業とともに、日々研究を進めているところである。

おわりに

siRNA がどのような機構で標的 mRNA に作用して、その後どんな経路で代謝されるのか？ siRNA を医薬品として開発するにあたって、これの基本的なことを重要な課題と考え、RISC の研究を精力的に進めておられる塩見さんにご相談申し上げたところ、本稿の執筆の機会を頂いた。ジーンケア研究所で活動を始めた頃は、siRNA を薬にすることなど考えもしなかったが、Nonsense-mediated mRNA Decay や

RNA 分子の核外輸送など、これまで身近に感じてきた研究テーマを含めて、RNA ワールドが意外に（失礼）奥の深い、非常に興味深いものであると実感し、昨年11月に京都で開催された RNA 2003 ミーティングに参加して、その意を確かに行うこととなった。そして、siRNA 医薬品の開発に関する諸問題を、バイオロジーの視点で見つめ解決するための一助として、この執筆をお引き受けした次第である。

siRNA の性質から、その応用範囲は癌治療薬にとどまらず、成人病や難病、感染症などの疾患、そして食品や美容にまで広がる可能性を秘めている。我々の目指す目標に至る道は長く険しいが、幾多の困難にも屈することなく、siRNA を新薬として世に出せる日が来ることを、心から願っている。



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ます。

<http://db.shichiou-net.jp/rna/>

編集後記

この RNA Network Newsletter は、従来の実務的な活動状況報告とは異なり、一般の人にも理解でき、しかも「読み物」として楽しめるものを目指しています。また、配布先は特定領域研究関係者に限らず、国内外の研究者、企業やマスコミへ広く配布しています。寄稿するのは班員が中心になりますが、班員以外からも私たちの活動と何かしら関係があったり、将来関係が生じそうな研究や活動をしている人に執筆してもらっています。

編集にあたっては、特に「個人的な思いやスタイルが強くでている文章」、つまり「エッセイ」を寄稿していただくことを重要なコンセプトにしています。結果的に、これは、“少なくとも日本では、科学者の「私」という情緒、感情、ときには形而上的ともいえる媒体を通して、初めて科学者はそれ以外の世界との精神的交流が可能になる”（岡田節人「学問の周辺」）という現実をふまえたものになっています。つまり、「私」について語ることで、科学という難物と、社会の広いコミュニティとの交流を導入していきたいと考えています。

一般の人にも自分の研究の面白さや重要性を理解してもらえるようなエッセイを書くためには、できるだけ専門用語の使用を避ける必要が出てきます。ちなみに、アメリカの研究支援財団へ提出する報告書の作成手引きの中に「using maximally jargon-free prose」という箇所がありました。では、どれくらい jargon-free にすれば良いのでしょうか？同じ作成手引きには、「The style of writing should be closely resemble *Scientific American*」とあります。また、最近、京都大学再生医科学研究所の永田和宏教授の言葉が目にとまりました（週刊医学界新聞、2003年9月15日）。要約すると；1990年代に多田富雄の「免疫の意味論」が大佛次郎賞を受賞したことが、画期的な出来事であった。これにより、サイエンスは文化の総体の中に組み込まれている概念となった。言い換えると、日本の文化総体を理解するためには、サイエンスの言葉を知ることが不可欠ではないか？実際、一般的にもある意味でサイエンスのターミノロジーを知らないと、文化の総体が理解できない時代になりつつある、以上。

自分の研究を専門外の他の人に分かるように伝えることは、実践を通して始めて達成されるはずです。この RNA Network Newsletter をそのような実践の場として利用してもらえればと希望します。結局、自分の研究を他人に解るように伝えることは、自分の研究に対する正当な評価を得るためにきわめて重要であるという現実的かつ実際的な意味をも含んでいると思います。

RNA Network Newsletter

第2巻第2号（2004年1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



For without asymmetry, science would not only be dull: it would

**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