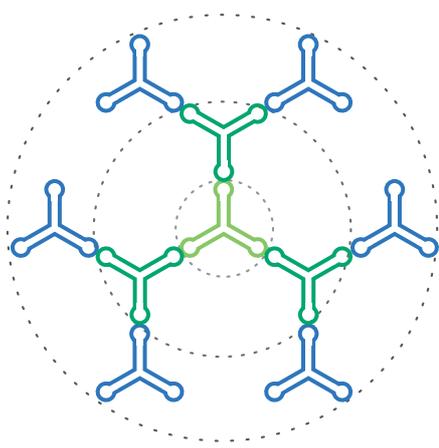
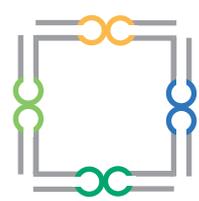


KISSING LOOP



KISSING LOOP



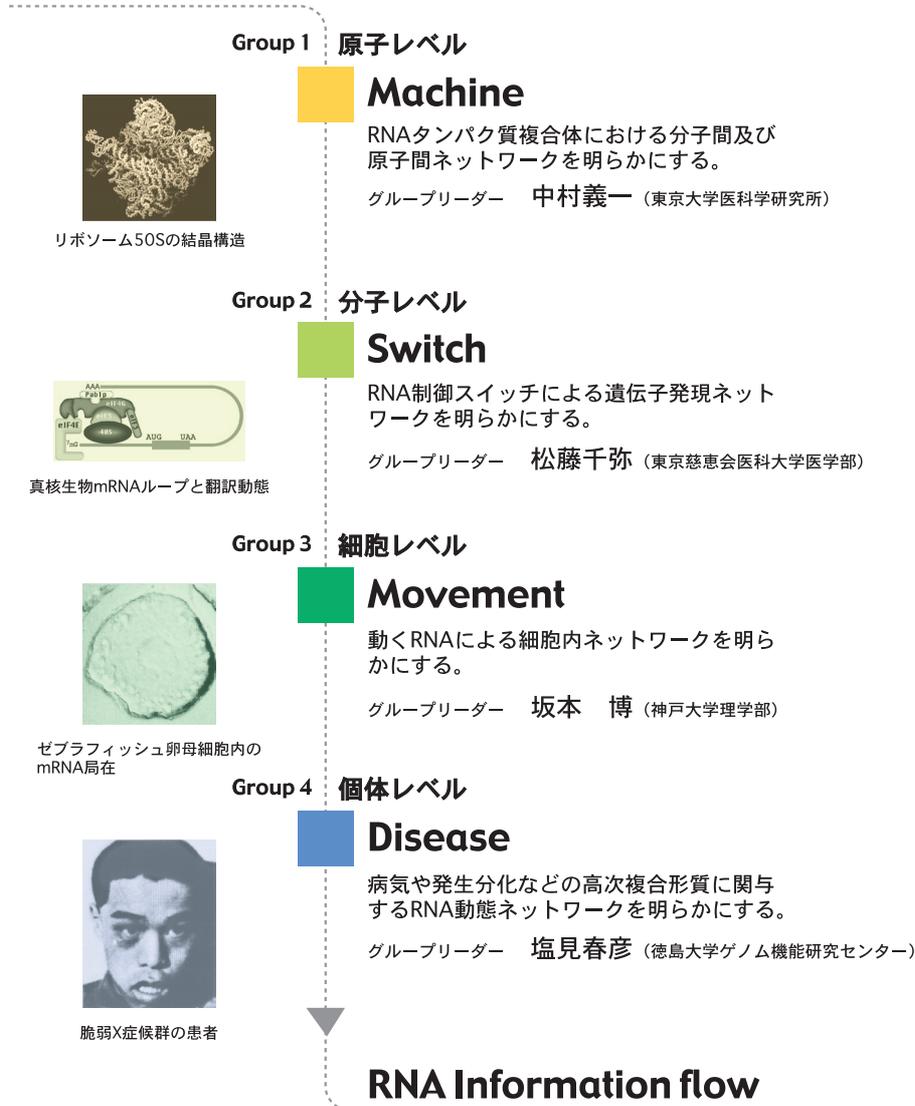
RNA Network Newsletter

Volume 4. Number 2. January 2006

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



スウェーデンにTorbjörn Caspersson (1910-1997)という研究者がいました。どうやらこの人が、核から細胞質への遺伝情報の流れを仲介するのはRNAである、ことを見いだした最初の人ようです。この発見は、まだほとんどの研究者が遺伝情報は蛋白質によって伝えられると信じていた1930年代後半から1940年代初頭にかけて、しかも、顕微鏡(!)による丹念な細胞観察によって達成されたものです(Klein G & Klein E, *Cytometry* 5:318, 1984)。どうも彼の目にはRNAが核から細胞質へ移動していくのが見えたようです。何年も集中して考えながら観ていると観えてくるものがあるのでしょうか。観ているのは脳ですから。

その後、RNAは長い間、DNAに蓄えられた遺伝情報を蛋白質に翻訳するためだけの「情報を仲介する分子」であると考えられてきました。大きな転換は1975年に訪れました。この年、Cechらにより酵素活性のあるRNA (リボザイム)が発見され、RNAの位置づけは以下のように変化しました。

DNA stores more stable information than RNA and proteins can be more catalytically active than RNA, but only RNA can do both.

近年、RNAはまた大きな転換期を迎えています。これは、多様なレベルで遺伝子発現を制御するさまざまな「機能性」RNAの発見が続き、RNAが蛋白質にも匹敵する「機能分子」であり、しかも、これら機能性RNAによる複雑で多様な生命を維持する『RNAプログラム』の存在が認知され始めたためです。

Functional RNA is context-dependent.

おそらく、機能性RNA研究において重要なことは、このことではないでしょうか？表紙デザインは、ヘアピン (stem-loop) 構造をとるユニットがloop-loopの相互作用 (これを 'kissing loop' と言います) を介して会合し、様々な3次構造をとることが出来ることを示しています。資料提供は、原田和雄さん (東京学芸大学) と河合剛太さん (千葉工業大学)。原田さんはこのように様々なかたちをとるヘアピン構造のユニットをRNA Legoと名付けています (Chem. Biol. 10:645-654, 2003)。デザインは最近、(ワールドカップにそなえ?)ドイツに活躍の場を移された工藤光子さんです。(英文は、『RNA motifs and regulatory elements』2nd ed., T. Dandekar. Springer 2002からの引用) (編集人 塩見春彦)

年頭にあたり 中村義一	2
<hr/>	
■みーていんぐりぼーと■	
第7回RNA学会の感想 栗田大輔	3
第78回日本生化学会大会に参加して 齋藤都暁	5
<hr/>	
随筆：RNA and I	
内藤 哲, 増田誠司, 三ツ矢幸造, 梶川正樹, 早川 浩, 米山光俊, 星野真一, 大澤匡範, 前仲勝実, 千田峰生, 中原健二, 児玉浩明, 程 肇	6
<hr/>	
Society	
脳と心と無意識, 体内時計と覚醒と睡眠 桑 和彦	37
<hr/>	
海外からの便り	
相補性の彼方 川野光興	39
<hr/>	
若者達	
「構造生物学」ってツマラナイ!? 佐々木浩	42
最近思うこと 相馬亜希子	44
<hr/>	
若者達へ	
A → I RNA 編集者からの Message 西倉和子	47
日本と米国の研究 高垣吉男	50
留学のすすめ 若い人達のために 小田鈞一郎	53
<hr/>	
私のその1枚	
その1枚 松藤千弥	56

RNA Network Newsletter

Volume 4. Number 2. January 2006

CONTENTS

年頭にあたり

中村 義一 (領域代表)

特定領域研究「RNA 情報網」最後の年。あつという間に、5年が過ぎてゆく。時間の早い経過と足並みを揃えるかのように、RNA 研究は迅速なスピードで画期的な成果を積み重ね、今や生命科学の中心的な位置をしめていることに、誰もが疑うことのない時勢となった。

2006年、この勢いをさらに加速して、「RNA と生命」の本質に真正面からチャレンジするステップアップの年にしよう。

振り返れば、昨年は、科学論文の信頼性が問われた1年であった。いうまでもなく実験科学においては、solidなデータこそが最も大切であり、それは世界のどこでも、誰によっても再現されるべきものだ。いまだ記憶に新しいが、韓国ソウル大学の研究チームによる、ヒト・クローン胚からの胚性幹細胞の樹立成功の論文 (Science 2005年) に対して疑惑が指摘され、同大調査委員会は12月下旬、「実験を立証する科学的データを持っていない」として、これを「捏造」と断定。しかし調査委員会の対応は、迅速かつ毅然としたものだった。また、東京大学工学系研究科の研究チームによる複数のRNA関連論文に対しても疑惑が指摘され、同大調査委員会は昨年9月、「実験結果を裏付けるデータがなく、結果の信頼性を確認できなかった。再実験による物的証拠の提出を求めたうえで、不正の有無を判断する」とする中間報告を発表した。ことの真偽は、調査委員会の科学的判断に委ねられるが、実験記録や実験マテリアルを保管していないという報告は、実験科学者として理解に苦しむといわざるを得ない。

我々も、実験科学者の初心に立ち返って、「生データ」をこの目で見、学生や研究員と、いわば真の研究における喜怒哀楽を共にすることを心がけていきたい

5年間を振り返れば、本特定領域から、CNS (Cell Nature Science) を筆頭とするトップジャーナルに幾つもの優れた論文が掲載された。しかし、もっと誇りに思われるのは、堅実な学術専門誌にはるかに多くのsolidな論文が掲載さ

れ、それらが日本の「良質」なRNA研究を支えていることである。研究資金の獲得競争やCNSフィーバーが、論文の「質」を歪めているとの指摘もある。しかしより根本的に、各々の研究チームが、データの精査と議論に十分な時間と努力を払いさえすれば、このような問題は起きえないであろう。我々も、実験科学者の初心に立ち返って、「生データ」を

この目で見、学生や研究員と、いわば真の研究における喜怒哀楽を共にすることを心がけていきたい。



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)

◆ みーていんぐりぼーと I ◆

第7回RNA学会の感想

栗田大輔

(弘前大学大学院農学生命科学研究科)

RNA学会主催の研究室(弘前大学 武藤研究室)からコメントを、とのことなので雑務担当の僕が書くことになりました。

面白いことが特別浮かばないので、学会の感想について書きたいと思います。今回は僕にとって2回目の学会参加でした。前回の参加は2003年の京都のRNA学会だったのですが、そのときは苦い思い出しかありませんでした。学部生で初めて参加した学会が国際学会で、発表も当然英語だったわけなんですけど、さっぱり理解できずにショックを受けたのを覚えています。あまり記憶がないのですが、一人で会場を抜け出して、観光する気分にもなれずに確かホテルで引きこもっていたような気がします。ポスター発表も見たのですが、自分の研究から離れた分

面白いことが特別浮かばないので、学会の感想について書きたいと思います

学部生で初めて参加した学会が国際学会で、発表も当然英語だったわけなんですけど、さっぱり理解できずにショックを受けたのを覚えています。あまり記憶がないのですが、一人で会場を抜け出して、観光する気分にもなれずに確かホテルで引きこもっていたような気がします

野は全然わからないし、同じ分野の発表についても質問したり自分から議論に入っていくこともできずにただ眺めてるだけでした。弘前に帰ってきてからもしばらくは立ち直れずにいたような記憶があります。そんな経験から次に学会に参加するときは、自分も人様に見せられるようなデータを出してからにしよう、と固く決意したことだけははっきりと覚えています。

それから2年経って、今度は自分たちの大学で学会が開かれることになり、参加せざるを得なくなりました。学会の手伝いをするといってもどんな仕事を手伝うのか見当もつかずに漠然と不安に思っていました。僕の担当はPCの切り替えをスムーズに行うことでした。何回も練習したのですが、学会1週間前になっても



全員集合。最後列左端が筆者。

進行がうまくできず深刻な状況でした。東さんや教官、先輩が中心になって詳細を何度も検討して、システムができあがったのは確か学会前日だったと思います。口頭発表が始まってからは多少のトラブルはありましたが、多くは想定範囲内の出来事で、心配していたような深刻な不測の事態もなく、時間はあっという間に過ぎていきました。唯一不測だったことは、懇親会のお寿司のなくなる早さくらいでした。

前回の苦い学会経験とは違って、今回は多くの面で勉強になりました。あらゆるトラブルを想定して、それに対処できるようなシステムを作り上げるという姿勢とその難しさ。そしてプレゼンテーションについても学ぶことができました。やはりプロの研究者だけあって、プレゼン1つとっても独特の特長とかこだわりみたいなものを持っていて、それらを垣間見ることができたのは貴重な体験でした。ポスター発表も見ることができ、気になるポスターがいくつかあったのですが、今回も議論したり質問したりできなかったのは残念でした。あと会場の熱気も想定外といえば想定外でした。そんなわけで来年こそは自分のデータを持って発表できるように精進しようと思います。会場で僕の名前を見かけたらぜひ声をかけてやってください。議論に値する結果が出せるといいのですが。



ピアノマン。
竹中章郎（東京工業大学）、道尊宇遠（千葉工業大学）



OBの先輩にも手伝っていただきました。
森田鉄平（名古屋大学）、相馬亜希子（立教大学）



THE 一本締め。武藤先生



サイエンスの最先端を作る先輩。
末次志郎（東京大学）、末次(埜)京子（理化学研究所）、
Knud H. Nierhaus（Max-Planck Institut für Molekulare Genetik）



お疲れ様でした。
東牧子、高田一馬（弘前大学）、牛田千里（弘前大学）

プロフィール

現在、弘前大学大学院農学
生命科学研究科修士2年。
tmRNAの研究をやっています。趣味はバンジージャンプとスキューバダイビング。手軽にできる趣味じゃないので、普段は気軽にできる実験をやっています。挑戦してみたいことは

Nature・Cell誌の常連入り
と高度数千メートルからの
スカイダイビングです。

栗田大輔

Daisuke KURITA

（弘前大学大学院
農学生命科学研究科）

◆ みーていんぐりぼーとII ◆

第78回日本生化学会大会に参加して — ミニシンポジウム「機能性 RNA 研究の新展開」 —

齋藤 都 暁

(徳島大学ゲノム機能研究センター)

2005年10月19日～22日の4日間、神戸にて日本生化学会の年會が開催され、初の英語口頭発表デビューを果たしました。その記憶も徐々に消え去りつつあった12月、塩見さんに原稿の依頼を受け、記憶を呼びさましつつ書き始めています。全くミーティングレポートを書くことを予想していなかったため記憶は曖昧ですが、私が発表するまでの間の経緯と学会で感じたことを書こうと思います。

年會での発表が決まったのは5月下旬で、「秋に生化学会で口頭発表してねー、20分くらいかなあ、英語で♥」と軽い感じで決定しました。国内での学会とはいえ、大きな学会のミニシンポジウム ("Emerging topics in the function of non-coding RNAs" オーガナイザー：鈴木勉、塩見美喜子) で発表の機会が得られ、光栄でした。発表内容は、前号の Newsletter で石塚明が紹介した Banff での発表に新しい知見を加えたものにするということでした。そのころの私は miRNA の成熟過程において重要な Dicer-1 蛋白質のパートナー分子 (Loquacious) に関する論文が一段落した時期で、10月までなら何かもう一つ仕事ができるし、英語の練習をする時間もたっぷりあるからなんとかなると思っていました。しかし、5月ぐらいに計画した英会話上達作戦は6月の梅雨のうっとおしさを言い訳に断念し、その後もずっと実行されないまま記憶の片隅へ追いやりました。そして、現実逃避したまま英語も勉強せず、さらに新データもあまり出ないまま、ずるずると9月に至りました。小学生のころ、夏休みの宿題は早めに片づけてしまい、後は全部遊ぶという良い子だったはずですが、だんだん年を重ねるごとに、「後回し」が好きになったようです。この Newsletter の原稿も同じです。すみません。9月に入ると後悔しても仕方ないので、発表に向けてデータ集めに奔走し、10月には、青ざめた顔で準備しました。ボスをはじめ、たくさんの人の協力を得て、スライドや発表内容が完成し、なんとか形になったかなと思えたのは発表の2日前でした。時間ギリギリで準備してるときの集中力は自分でも驚くばかりです。これをもっと早くに実現できれば良いのだが。

しかし、一度壇上に上がれば、そこは舞台。観客に向かって精一杯の自分を魅せることに集中した

発表前夜

発表の前日、下調べと雰囲気を知るために私が発表する「機能性 RNA 研究の新展開」の会場である神戸国際会議場のメインホールに向かった。「でかい」、の一言だった。会場の外にもスピーカーがあり、発表者の声を聞くことができた。こんなところで話すのか、と一瞬思った。神戸国際会議場のメインホールを使うセッションには、「オートファジー」や「ユビキチン化」など、重要かつ旬のテーマが配置されていた。RNA もそれら「旬」の一つになっていることを強く感じた。すばらしい。

会場を見終わった後、スピーカーの一人である理研 CDB の中山潤一さんの案内で、外国からのスピーカー (Klaus Foerstemann 博士と Valerio Orlando 博士、および日本人：廣瀬哲郎さん、桐野陽平さん) との食事に御一緒させて頂いた。外国に行く場合と違って、国内で発表前日に英語に慣れる機会があったことは幸運だった。結局、二次会まで行ったが、次の日に発表があることなど忘れてしまうほどビールを飲んだと思う。幸いにもプレゼンの内容までは忘れていなかったのが良かった。

発表の日

発表は午前中の最初だったので、朝ご飯を軽く食べ、早めに会場に向かった。午前9時半からセッションが始まるが、8時半には会場に着いていた。ほとんど人はいなかった。9時ぐらいにスライドのチェックを済ませ、一息つく。何人来るのだろうかと思いを巡らせる。午前9時10分。ほとんど人がいない。約20名。午前9時20分。まだいない。約40名。セッション開始。やはり人がいない。前日の心配はどこへやら、会場は広いが人はいない。残念。しかし、一度壇上に上がれば、そこは舞台。観客に向かって精一杯の自分を魅せることに集中した。発表開始、声がうわずる。発表途中、言葉に抑揚を出し、会場を見る余裕が出る。発



Loquacious tree frog (*Hyla loquax*) と筆者。

英名の Loquacious とは「おしゃべり」とか「騒々しい」の意味。和名「ヤカマシアマガエル」。ハエ Loquacious 変異体では、通常発現が抑制されている（静かにしている）遺伝子が発現し始める（喋り始める）のでこの名前がついた。Loquacious は略して Loqs。Lox と同じ発音で、lox はアメリカ（東海岸）でポピュラーな bagle with lox and cream cheese の lox。そこで、次に見つける遺伝子の名前は bagle か cream cheese か。

表終盤、うんうん頷いている（寝ている？）人や、会場に少しずつ人が入ってくるのが分かる。そんなところに気づいてしまう自分に驚いたところで発表終了。会場を見渡すと100人ぐらいに聴衆が増えていた。18分くらい話しただろうが、どっと疲れが出てきた。質疑応答、ここはもうひと踏ん張り頑張るが、踏ん張りがきかず取え無く撃沈。あたふた動揺。今後の課題として反省。毎回思うことだが、終わってしまえば、あっという間に感じる発表時間だった。そして今度こそは良い発表をと強く心に決めた。

重要な役者は特定されていてもメカニズムは不明な「小さなRNAによるクロマチン構造制御のプロセス」について興味をかき立てられた

国内のミニシンポジウムであるが、今回のセッションは未発表の内容が多く、非常に刺激になったと同時に、世界の研究の速さを日本で体感できたことは幸いだった。特に、重要な役者は特定されていてもメカニズムは不明な「小さなRNAによるクロマチン構造制御のプロセス」について興味をかき立てられた。また、発表者を経験したおかげで、他の発表者を見る視線が変わった。思い返してみると、海外学会などで見る発表者は、熱く語る人や大げさなゼスチャーを交えて話す人、ポケットに手を入れて余裕をもって話す人、様々である。どれが良いかは一概には言えないが、それぞれの発表者の個性が少し感じ取れるという点で面白かったと思う。さらに、表情や仕草を見ることで発表者がどれだけ自分の発見もしくは実験結果に自信があるかを感じ取ることができると分かった。その前に、まず前提として英語力を身につけねばならないのだが。

今回、日本生化学会年会という国内学会での発表だったが、様々な人とお知り合いになる機会が得られ、幸運でした。また、国内とはいえ、英語でのプレゼンテーションは緊張感があり訓練にもなった。次は海外で発表できたらと思う。できれば格好良く。

プロフィール

1999年山形大学理学部卒業。2004年神戸大学大学院自然科学研究科博士課程修了後、現在、徳島大学ゲノム機能研究センター塩見研究室にてポスドク。

齋藤 都暁

Kuniaki SAITO

(徳島大学ゲノム機能研究センター)

◆ 随筆：RNA and I ◆

RNA 研究へのみち

内藤 哲 (北海道大学大学院農学研究科)

1990年9月7日午後7時過ぎ、東大遺伝子実験施設の助手だった私は農学部・植物栄養学研究室のHPLCを借りてシロイヌナズナから抽出した遊離アミノ酸を測定していた。標準アミノ酸に続いて野生型株、そしてET11-3なる変異株のサンプルをチャージした。24分後、レコーダーの

サーボモーターが呻りをあげてペンが振り切れた。植物体で初めて遊離メチオニンを野生型株の40倍も蓄積する変異株が取れた瞬間であった。週末だったし、恐らくそのまま祝杯を挙げたのだろう、サンプルを希釈して測定し直した時には日付が変わっていた。

この変異株は *methionine over-accumulation* ということで *mtol* 変異株と名付けた。元々はダイズ種子貯蔵タンパク質の遺伝子発現を調べる目的で分離したのだが、この変異株が私を mRNA 分解へ (Chiba et al., *Science* **286**: 1371, 1999)、さらには翻訳アレストへ (Onouchi et al., *Genes Dev.* **19**: 1799, 2005) と引き込むことになった。

生い立ち

—大腸菌からダイズへ、そしてシロイヌナズナへ

大学院は東大医科学研究所の内田久雄先生のもとで大腸菌のコリシンE1プラスミドのDNA複製に関する変異株の分離と解析を行った (そして同じ研究室には助手の中村義一さんがいた)。大腸菌でDNA複製をやったから、今度は酵母で転写をやってみようかと考えているところへ、新設の東大遺伝子実験施設から助手のオファーを受けた。植物の研究をする、というのが条件だった。医科研では緑色をした生き物のセミナーなど皆無だったので正直とまどったが、思い切って飛び込んでみることにした。面白くなければやり直せばいい。ライフワークを決めるには未だ若い。

1985年9月から1年間、米国セントルイスにあるワシントン大の Roger Beachy さんの研究室へ留学し、トランスジェニック植物を用いてダイズ種子貯蔵タンパク質遺伝子の発現制御を解析した。植物への遺伝子導入が、ようやく普通の実験技法になるうとする頃のことだった。

留学中の仕事として、上司の米田好文さんからシロイヌナズナの情報収集を命ぜられていた。シロイヌナズナは植物体が小さく、また、1年で数世代を重ねることができるので、1900年代初頭から遺伝学的実験材料として使われてきた。1980年代に入ると、被子植物の中でゲノムサイズが最も小さい部類に属することが明らかになり、分子生物学の材料としても注目された。2000年には花咲く植物で最初にゲノムが解読されることとなる材料である。酵母の Gerald Fink (MIT)、ショウジョウバエの Elliot Meyerowitz (Cal. Tech.)、また、ミシガン州立大では Chris Somerville がシロイヌナズナを用いた研究に参入していた。留学中にこうしたラボを見て回った。特に Somerville さんとは、彼が大腸菌で学位を取ったこともあってウマが合った。One-day post-doc と称して種まきから掛け合わせまで一通りの手ほどきを受けた。

大学院での経験は重い。何でも吸収できたし、使おうと思えばいくらでも時間を使った。研究者としての自我に目覚める5年間である。大腸菌で遺伝学をやった者にとって、遺伝学的解析に不向きな植物には欲求不満があった。遺伝

子実験施設での研究材料にはシロイヌナズナ以外に無いと感じた。

帰国して学会でお会いした折りだったか、志村先生に、シロイヌナズナという植物がありまして... と話し始めたら、素っ頓狂な (失礼! だけどホント) 声が返ってきた。

「基生研で岡田君がシロイヌナズナをやるんだよ。」岡田清孝さんは東大生物化学科の溝淵研究室で、私が卒研の時に助手をしていた。奇遇というより時代の必然だったのだろう。

mtol 変異株

さて、ダイズの主要な種子貯蔵タンパク質の一つである β -コングリシニンの β サブユニットは含硫アミノ酸が非常に少なく、その発現は硫黄欠乏条件で促進され、メチオニン処理で抑えられる。マメ科植物は根粒から窒素の供給を受けるが、硫黄は自分で吸収せねばならない。 β サブユニット遺伝子の硫黄栄養応答は、硫黄吸収の多寡に拘わらず、窒素源としての種子貯蔵タンパク質の蓄積を確保するためものと考えられる。

植物 (作物) を材料とした生理・生化学的研究で知られている現象の中には面白そうなネタがたくさんある。だが、大腸菌の分子遺伝学で学位を取った者が、植物生理学で真っ向勝負しても勝ち目は

ない。ユニークな研究するには自分の土俵に持ち込む必要がある。

メチオニンが増えたシロイヌナズナ変異株があれば、メチオニン応答を自分の土俵に引き込むことができるだろう。調べてみると、メチオニンのアナログのエチオニンは、細胞内の様々な反応でメチオニンと間違われるので毒性を示すが、遊離メチオニンが増えた変異株は生き残る。大腸菌や酵母、さらにはタバコやダイズの培養細胞でエチオニン耐性株が得られていた。植物培養細胞ではエチオニン濃度を徐々に高くして生き残る株を選抜しており、生化学的な解析に堪えるものはないようであった。シロイヌナズナを使えば一気に選抜できるに違いない。

こうしてエチオニン耐性変異株として分離したのが、最初に書いた *mtol* 変異株である。この変異株では、高等植物のメチオニン生合成の鍵段階を触媒するシスタチオニナーゼ (CGS) の mRNA、タンパク質、酵素活性がいずれも増加している。1992年に北大に移ってからは、メチオニン生合成制御を研究の柱の一つにした。

奇遇というより時代の必然だったのだろう

mRNA 分解へ、そしてトンネルへ

mRNA が増えているので、CGS 遺伝子の転写制御因子の変異であるとの「常識的な」作業仮説を立てて、*mtol* 変異の同定を目指した。*mtol* 変異は染色体の端に大変近く（いま計算してみると、当時のマップでは3番染色体のマイナス8センチモルガン）、マーカーがなくて苦労が続いた。

1997年の夏のこと、この実験を行っていた博士課程の学生さんがやってきて曰く、次々と新たなマーカーを作っても *mtol* 変異と CGS 遺伝子座は分離せず、両者共さらに向こう側だという結果になる。*mtol* 変異は CGS 遺伝子の変異だと考えるのが妥当で、CGS 遺伝子の塩基配列を調べたい、と。CGS 遺伝子に生じた転写制御の変異だとすると、プロモーター領域のシス配列に生じた変異が考えられるが、*mtol* 変異の出現頻度はそのような変異に期待されるよりもかなり高く、簡単に受け入れられるものではなかった。そもそも、訳がわからないからシークエンスしてしまえ、というのは教育上よろしくない。

数日に及んだ議論の末、私が折れた。ところが、隣の ORF にぶつかるまで調べても上流域に変異は見つからない（それ見たことか！）。毒を喰らわば... で CGS 遺伝子全体を調べたところ、何と構造遺伝子内にアミノ酸置換を引き起こす1塩基置換が見つかった。ほどなくして、独立に分離し

た5つの変異株がいずれも先に見つけた変異のすぐ近くにアミノ酸置換を持つことが明らかになった。

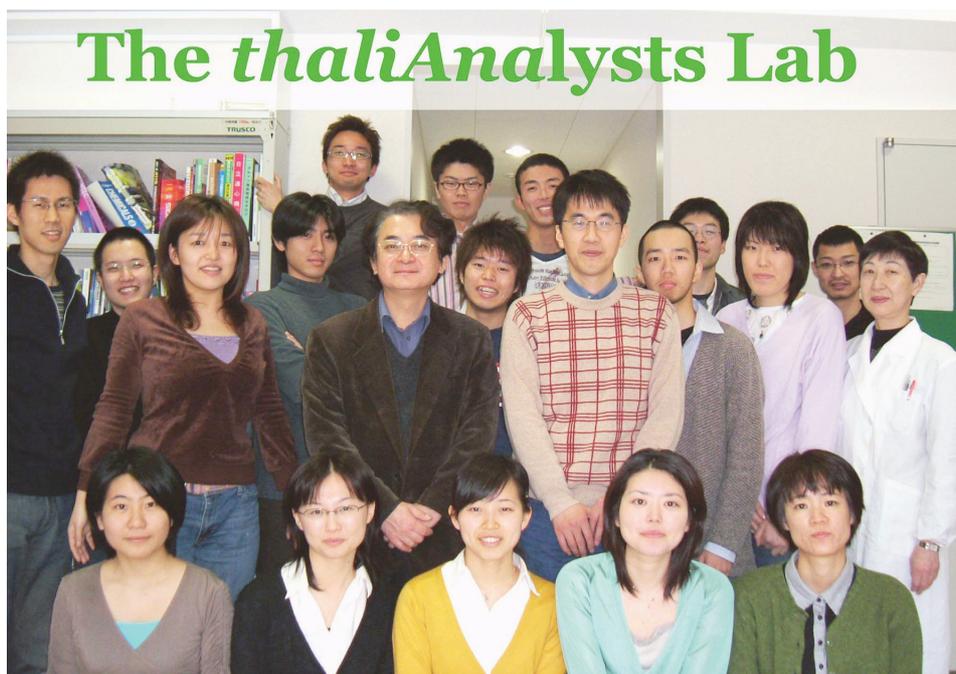
かくして私の作業仮説は崩れた。変異が同定できたことはうれしいが、その後の研究をどう進めるかはゼロから考え直さねばならなかった。アミノ酸配列が変わったのなら、酵素活性が変わったと考えるのが「常識」であり、mRNA の増加と結びつけるのは困難だった。CGS 酵素の活性が変わったため、まわり回って何かの加減で CGSmRNA が増えた、という悪夢が去来した（だから代謝は怖い）。

研究指導する上でメジャーな可能性を押さえるのは間違っていないかと思うが、そのような中で常識的な考えが外れているのではないかというのは、サンプルと向き合っている当人にこそ、一番よくわかるはずである

2ヶ月後、*mtol* 変異が見つかった領域のアミノ酸配列 (MTO1 配列) には、遺伝子発現を制御する機能があることがわかった。転写制御だという「常識的な」作業仮説のもと、数年間堂々巡りしていた研究の歯車が一気に噛み合った。その後の研究の流れが見え、面白いように

作業仮説が次々と当たった。CGS の発現は mRNA の分解の段階でフィードバック制御を受けており、しかもこの制御に CGS 自身のアミノ酸配列がシスに作用していることが明らかになった。代謝酵素による mRNA 分解の自己制御という全く予想外のものであった。

その後の研究で、mRNA 分解に先立ち、S-アデノシルメチオニンが MTO1 領域の直後で翻訳の一時停止を誘導することが分かった。そうすると、MTO1 配列はリボソームの



北海道大学 大学院農学研究科 応用生命科学専攻 分子生物学研究室の面々 (2005年4月)。
"thaliAnalysts" は、シロイヌナズナの学名 *Arabidopsis thaliana* から (ただし、最近コケ等も始めた)。
中央左が私。その右は助教授の尾之内均さん。

出口トンネル内に位置することになる。如何にして翻訳停止が起り、如何にして mRNA 分解が引き起こされるのか。その分子機構は未だトンネルの闇の中である。

大学での研究は先生がいくら息巻いても進むものではなく、学生さんがどれだけ自分の研究に責任を持ち、真剣に考えてくれるかにかかっている。研究指導する上でメジャーな可能性を押さえるのは間違っていないが、そのような中で常識的な考えが外れているのではないかというのは、サンプルと向き合っている本人にこそ、一番よくわかるはずである。

畑中先生曰わく「分子生物学とは何よりまず仮説を立てることにあった」(RNA Network Newsletter, 3(2): 26-27, 2005)。ということで、またまた作業仮説を乱発している。学生さんが私の常識的な考えを打ち砕いてくれるのを心待ち

にしている今日この頃である。

プロフィール

1978年東京大学理学部生物化学科卒業。1983年東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻博士課程修了、理学博士。1983年東京大学医科学研究所助手、1984年同遺伝子実験施設助手、1992年北海道大学農学部助教授、1994年同教授を経て、1999年より現職。2006年4月より北海道大学先端生命科学研究院に期限付きで移籍、同生命科学院担当の予定。

内藤 哲

Satoshi NAITO

(北海道大学大学院農学研究科)

◆ 随筆 : RNA and I ◆

徒然なる回想録

増田 誠司 (京都大学生命科学研究科)

「RNA Network ニュースレターにエッセイを書いてもらえませんか」とメールをいただいた。ニュースレターには、至極生真面目なやサイエンティフィックなのがあるかと思えば、日記風、インタビュー形式のものそれぞれであるが、それぞれ味があっておもしろい。私は毎回読むのを楽しみにしている。また、毎回凝ったデザインの表紙にも感心している。さて自分は、何を書きたいんだろうと自問してみる。自慢できることではないがこれまで自分の研究生活を振り返ったことはない。そこで今回ニュースレターに寄稿する機会をあたえていただいたのを天恵として、これまでの研究生活と RNA の接点を振り返ってみようと思う。

別にすごくいいカッコしいでも無いと思うが、本当は本来の自分よりも少しだけ背伸びをしたいと思っている。だからなかなかうまくかけないのがいやなのだ

その前に1つことわらせていただきたいことがある。私は文章を書くのが嫌いである。なぜなら自分の思っていることをいまひとつうまく書けないからである。別にすごくいいカッコしいでも無いと思うが、本当は本来の自分よりも少しだけ背伸びをしたいと思っている。だからなかなかうまくかけないのがいやなのだ。小学生以来そうだから相

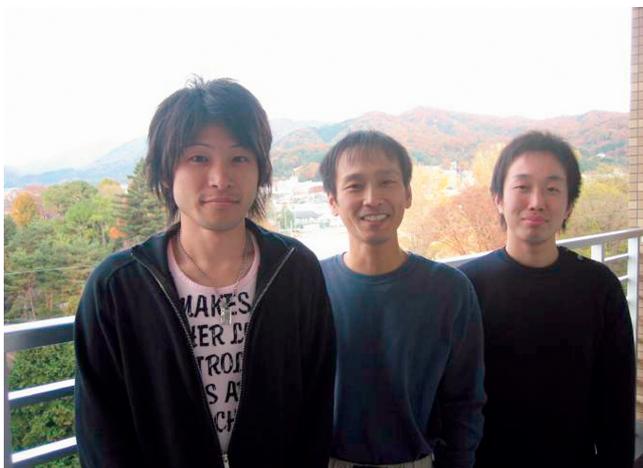
当年期が入っている。グラント申請書をいつもうんうんいながら書いている。しかもいつも締め切り直前にならないと書き始められない。そこでここからは、1人の研究者がその日思いだしたことを綴る回想録ということにさせていただいて、それでも良いという奇特な方に読んでいただければと思う。

私と研究との出会いは、ごく普通に学部4年生の卒業研究であった。そのころの私は、将来研究者になるんだという強い意志をもっていただけではなかった。研究テーマは、今となっては正確には思い出せないが、2,3 ジホスホグリセリン酸合成の律速酵素である2,3 ジホスホグリセリン酸合成酵素の発現誘導を赤血球分化と共にノーザンで解析するというものであった。2,3 ジホスホグリセリン酸は赤血球に多量に含まれている生理的に重要な因子である。ヘモグロビンと酸素の親和力は強いので、そのままでは末梢にいった際に酸素が解離されない。2,3 ジホスホグリセリン酸は、酸素は肺では十分にヘモグロビンと結合するが、末梢にいくとヘモグロビンから解

離するような程度に親和力を弱めるのである。その当時は PCR もなく、プローブを作るにもまず遺伝子のクローニングからで、それにはファージライブラリーからのスクリーニングでと言う時代だった。といってもまだ20年も昔のことではない。これを読んでいる人のうちの何人かは「そうそう」と相づちをうっていただけるだろうし、若い人は「へーそうなんだ」と思うだろう。でも実際、サザン解析を発明したサザン博士や、DNA2 重らせんを発見したワトソン博士もまだ現役で活躍しているのだ(と思う)。さて話を元に戻して、他の研究者から供与してもらったウサギ由来のプローブを用いたノーザンをマウス mRNA に対して行ったが、結果は惨敗。これが RNA との最初の出会だった。残念ながら、運命の出会いとはいえない。ただ私の中では、当時の最先端とは言えないまでも、比較的先端の研究にふれることができ、RNA やタンパク質を取り扱う研究に対して興味を持つことになった第1の分岐点だった。

それから17年ほど研究生活を送ってきた。といっても最初の数年は研究生活というよりも実験生活というのが正確で、要するには手を動かして仕事をしてはいたが、頭はあまり使っていないし、研究の方向性を考えることも少なかった。ただ指導教官が比較的放任主義であったこと、修士課程2年生からは研究グループの最上級生になってしまったため、自分の研究を何とか自分で進めなくてはならなかったこともあって、どのように研究すればよいのかを少しずつ考えるようになっていった。とはいえ、方向性を決める様なことはまだ出来るわけもなく、今から思うと、いかにすれば実験がスムーズに進むかを考えていただけだった。しかし、そのときは私なりに必死であったと思う。

さてこのあと10年と少しの間は、赤血球分化増殖因子であるエリスロポエチンについての研究を行ってきた。そして本来の作用である赤血球の分化増殖作用以外に、神経細胞や血管内皮細胞に生理作用を持つことを見つけた。これらは、私達の研究室が最初に示した成果であり、ほかに生



真ん中が筆者。

理機能があると考えられてはいない時代だったので最初の論文が受理されるまでは苦労があった。でも自分の実験結果を信じて研究をまとめることができたし、オリジナリティーのあるいい仕事であったと思う。これが第2の分岐点で、以後研究者としてやっていきたいと強く意識するようになった。これらの仕事を通じて、ノーザンや RNase プロテクションアッセイ、リアルタイム PCR による RNA の定量などをおこなってきたが、RNA を扱ってはいても RNA 自体を研究対象にしていたわけではなかった。それが変化したのは今から7年ほど前だった。きっかけは、エリスロポエチンのタンパク質発現制御の解析であった。それ以前は、転写段階での制御が一義的であると考えられていた。というもレポーター遺伝子を用いた発現制御の仕事があまりにも鮮やかだったので(実際、数百倍に誘導される)、そのほかにはどんな制御も必要とは考えられていなかったからである。このため mRNA の安定性の制御についての研究はほとんど無視されていた。私は、自分の研究過程からエリスロポエチンタンパク質の発現には mRNA の安定性の制御が重要であるという結果を得て、その安定性を制御するタンパク質の精製・同定に力を注いでいた。そのころは、ヒトゲノムもマススペックも使えなかったので、プロテインシークエンサーで解析できる量を取ろうと奮闘していた。残念ながら、この因子は同定出来ないうちに、他の研究者によってエリスロポエチン mRNA の安定性は転写の制御と同じく重要であることを示す論文が Cell 誌に掲載された。競争には負けたが、少なくとも私の仮説は正しかったわけで、自分の実験を信じて仮説を証明することの重要性を再認識した。

エリスロポエチンの研究では神経や血管内皮の研究で成果を残してきたのだが、エリスロポエチンの第1の機能はやはり赤血球へ分化の誘導作用である。神経や血管内皮への機能は大事であってもその他大勢である印象は否めない。このころから私の心の中で、一度は本道を経験してみたいという思いがだんだんと大きくなってきた。RNA の安定性を制御するタンパク質の研究を行っていたこともあって、RNA 本来のことを研究している所に留学したいと思うようになった。そのころ、イントロンのある mRNA の方が無いものに比べて、スプライシング後の核外輸送が速やかに行われることが Robin Reed 研から報告された(この正体は EJC であることがすぐ後に Mellissa Moore 研によって明らかにされた)。その昔、指導教官に「なんでかわかんけどイントロンがあると導入した遺伝子の発現がええんや(ここは関西弁)」と聞いていたのだが、Reed 研の報告はそれに解答を与えるものだった。おもしろそうな仕事をしている所がある、行ってみたいと思うようになった。これが、第3の分岐点である RNA 研究に入るきっかけである。縁あって Reed 研に留学する機会を得た。留学当時は研究室の PCR 装置は水冷式だったり(つまり水温以下には冷えず、

夏には30度以下にならないのである)、分光計も階下の研究室に借りていたり、必ずしも設備が充実した研究室とはいえなかったが、メンバーは仲が良く、いい感じの研究室であった。しかもいい成果を次々に発表しているのである。ちなみに研究室に入って英語を満身に聞き取れない中、最初の仕事がこの水冷式PCR装置を使ってTREX複合体の1つであるTho2の全長cDNAをクローニングすることであった。私にとっては、いっばい思い出のつまった機械である。研究は設備ではなく、高い意識と強い意欲をもった個人の集まりの結果であることを実際に見て肌で感じた。Reed研ではRNAの転写と核外輸送についての解析に没頭し、幸いにしてこれらを共役するTREX複合体について明らかにすることができた。最初は、TREX複合体のみでbulk mRNAの核外輸送は説明できるかに思えたが、研究が進むにつれ他にも重要な因子があることがいくつも報告された。当初は多少残念に思ったが、それは私の未熟さゆえ、今では生物は様々なmRNAの輸送系を準備していることが理解でき、逆にファイトがわいている。また、異国で生活したことで、ほんの少しではあるが人間の幅が出てきたように思う。もちろん体型のことでは無い。

研究は設備ではなく、高い意識と強い意欲をもった個人の集まりの結果であることを実際に見て肌で感じた

このように私がRNA研究に足を踏み入れたのは、実はつい最近の新参者である。研究歴はそれなりに長いのであるが、RNA研究の歴史はまだ4年かそこらの未熟な若造である。研究生活でいえば、いわば博士課程の学生かよくてポストドクである。これからである。そのためにRNA研究の経験豊富な方々のアドバイスを得心と心から願っている。

というわけで、ここまでありがたくも読んでいただいた方々に感謝しつつ筆を置きたいところであるが、

Reed研がそうであったように高い意識と強い意欲をもった個人の集まりを創りたいと願っている、一緒にやってくれる人を募集している。さて私の話は味があっただろうか。

プロフィール

1993年3月 京都大学博士(農学)。1993年4月-9月 日本学術振興会 特別研究員, 1993年10月-京都大学農学部 助手, 1999年4月-現在に至る 京都大学生命科学研究科 助教授。この間2001年7月-2003年9月 Robin Reed 博士に研究留学。

増田 誠司

Seiji MASUDA

(京都大学生命科学研究科)

◆ 随筆 : RNA and I ◆

RNA 研究が教えてくれたこと

—もうひとつの世界に一つだけの花—

三ツ矢 幸造

(東北大学・先進医工学研究機構)

このような貴重な機会はほとんどありませんので、折角ですから、今までの自身の研究生活を振り返ってみて、ふと思立ったことなどについても書かせて頂こうと思えます。まずは、比較的まじめなお話から。私の研究には常にRNA分子が大切な位置にあり、また、大変に思い入れの深い研究課題であり続けてきました。その昔、私がずいぶんと生意気な学部学生であった頃のお話です。私の恩師である鳥取大学の押村光雄先生は唐突に、「ゲノムインプリンティング」という現象があるのだけれどもと切り出されました。その当時、もちろん「エピジェネティクス」などと呼ばれる研究分野もなく、ごく限られた文献しかありませんでした。あまのじゃくであった私は、とにかく人と違っ

たことに興味があったのか、「はい、やらせて下さい」と即答したのを今でも鮮明に覚えています。これが幸運にもRNA研究に取り組む機会を、私に与えてくれたことになりました。実験に取り組むやいなや、右も左も分からなかった学部学生であった私にも、本当に実現可能な実験だとは思えない大変な作業であることが理解できました。実現できたとしても使い物になるかどうか、周囲からも否定的なアドバイスしか頂けませんでした。しかし、素直であること、無知であること、無欲であること、楽観的であること、それと時には執拗であること。これらは、場合によって、とても大切に思いもよらない面白い結果を生み出すこともあるんですね。

私は当時、学部4年時と修士2年間にこの実験のみに費やすことを堅く心に決意しました。どうせ、長い人生のたかだか3年間ではないかと。失敗すれば、また博士の後期課程で一から出直せばいい。それに加え今から思い起こせば、押村先生から頂いた今でも心に残る3つの言葉が私に大きな勇気を与えてくれたのでしょう。それはまず、その他大勢のうちの「ある人」ではなく、特色のある世界に一人だけの自分でありたい。次に、賢くないからこそできる、そして、やるべきことがある。最後に、できるまでやり通せば、なんでもできる(笑)。とりわけ、最初の一言は「some of them より only one を」という表現で私に強烈に刷り込まれています。人との出会いというものは面白いですね。結果、我々はその当時、唯一解析されていたヒト11番染色体について、母親由来と父親由来のヒト染色体を別々に保持するマウス細胞株というものを最初に樹立することに成功しました。この幸運にも関わらず、最初の解析はやはりまったく上手くいきませんでした。しかし今までの3年間のことを考えると、そのまま引き下がるわけにはいきません。人から見れば少々執拗に思われたかも知れませんが、1年位かけてようやくそ

の後の解析を進めることができることが分かってきました。

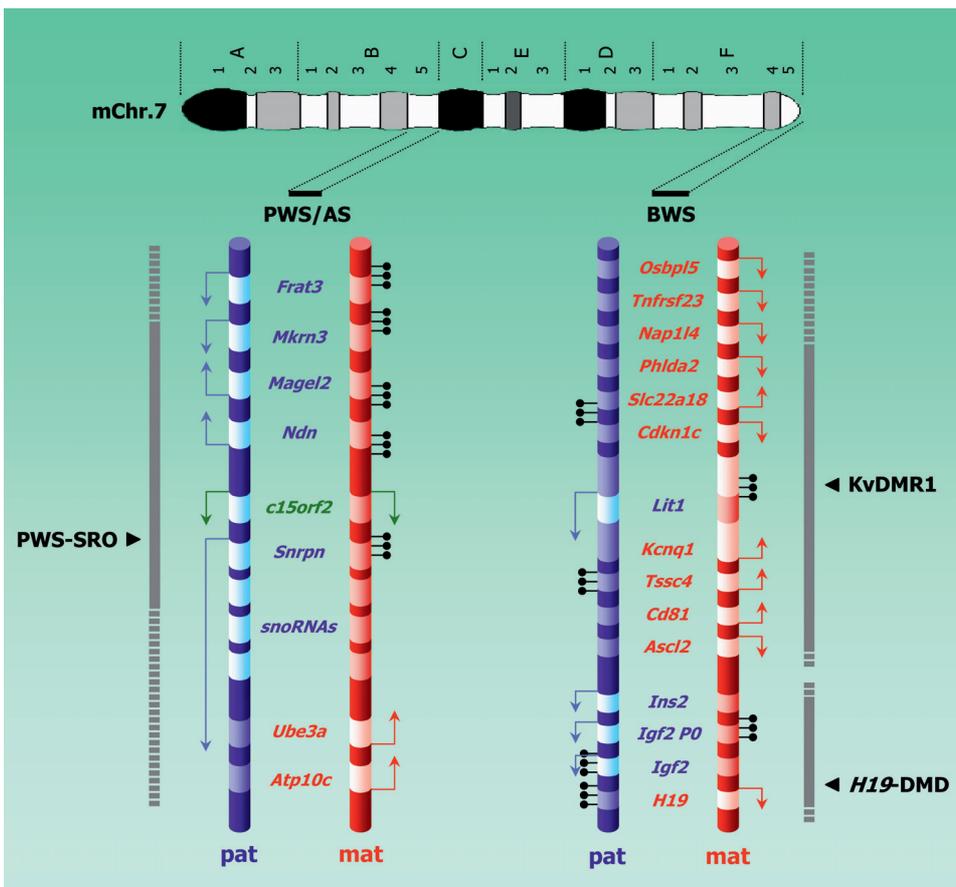
それからさまざまな思い入れの深い出来事があったのですが、ここでは割愛させていただきます。ただ、これも押村先生よりお教え頂いた言葉ですが、実体験として体感することになりました。それは、与えられた環境の中でベストを尽くすことと、与えられた環境に感謝する気持ちの大切さです。人は誰しも、自分の才能が100%発揮できる環境にいることはないと言えるでしょう。その中でできることは、自分に何ができるのかを模索し、与えられた環境の中でどのように自分の才能を活かすことができるのかを常に自分に問い続けることです。

できるまでやり通せば、なんでもできる(笑)

また私は、3年間以上を費やした細胞たちが実際の解析に使えることが分かったときに、研究者として表現するならば、一所懸命に努力をすれば、それをどこかで密かに見ている人が必ずいるのだと感じました。ここでも、押村先生の一言が印象的に心に響いてきます。これは押村先生が海外のある高名な女性研究者の何らかの授賞式に招待されたときの出来事です。具体的なことを思い出せないのがきわめて残念なのですが、その女性研究者は受賞にあたって「私はただ単に環境に恵まれただけです。環境に感謝しています。」というようなことを表現されたそうです。客観的に考えれば、誰もが認める才能の持ち主であるはずですが、

話がそれてしまいましたが、これからがRNA研究の始まりです。我々は、世界の誰もがしたことのない実験をしてしまったがために、我々の研究は世界に容易に受け入れられることはありませんでした。そこで、私はまず、我々の細胞株を使ってインパクトのある新しい遺伝子を単離しようと考えました。このため、まだ見つかっていなかった Beckwith-Wiedemann 症候群と呼ばれる過成長を示すインプリンティング疾患の原因遺伝子の同定に取り組むことにしました。しかし、これも今から考えれば無謀な戦略であったかも知れませんが、

話が終わりましたが、これからがRNA研究の始まりです。我々は、世界の誰もがしたことのない実験をしてしまったがために、我々の研究は世界に容易に受け入れられることはありませんでした。そこで、私はまず、我々の細胞株を使ってインパクトのある新しい遺伝子を単離しようと考えました。このため、まだ見つかっていなかった Beckwith-Wiedemann 症候群と呼ばれる過成長を示すインプリンティング疾患の原因遺伝子の同定に取り組むことにしました。しかし、これも今から考えれば無謀な戦略であったかも知れませんが、我々は明らかに後発隊であったからです。ですので、逆に人が目につけないような領



ゲノムインプリンティングには H19 や Lit1 など多くの RNA 分子がきわめて大切な役割を果たしている。マウス7番染色体上に位置する3つのインプリンティングドメインを示す。矢印はそれぞれの遺伝子クラスターの発現制御を規定するインプリンティングセンターで、それぞれ Beckwith-Wiedemann 症候群 (BWS)、Prader-Willi 症候群 (PWS) と Angelman 症候群 (AS) の発症に深く関与する。

域に着目し、母方のヒト11番染色体と父方のヒト11番染色体のどちらか一方のみ発現する遺伝子を探し続けました。そして、とうとう見つけたのです。しかしよく調べてみると、それはタンパク質をコードする遺伝子のイントロンから、逆側に転写されているではありませんか！しかも明確な ORF など、どこをどう探しても私には見つけることができませんでした。時の Nature や Nature Genetic 誌は、ヒト疾患の原因タンパク質が見つかったという論文で埋め尽くされている時代です。はいそうですかと、簡単に受け入れられる状況ではありませんでした。

しかし、それでも私は、RNA 分子の中でも大切なものがあってもいいのではないかと思い、密かに解析を1年以上にわたって続けました。そして、ついに我々の見出した LIT1 RNA 分子が Beckwith-Wiedemann 症候群の責任遺伝子座となる決定的な証拠にたどり着いたのです。それにも関わらず3つのグループの競争となってしまったこともあり、一流誌には掲載されるには至りませんでした。私にとっては命を削り渾身の力を振り絞って執筆したきわめて思い入れの深い論文の一つであります。今では、Beckwith-Wiedemann 症候群の半数以上の症例が LIT1 遺伝子座に起因することや microdeletion が見出されることが明らかになっています。また、我々のグループも含め LIT1 遺伝子座が周囲の複数の刷り込み状態を規定するインプリンティングセンターであることが証明されています。さらに、これはインプリンティングセンターが上流と下流の双方の遺伝子群の発現制御に関わることを示した世界で初めてのケースでもありました。他にも、さまざまな RNA 分子を見出しましたが、残念なことに今でも、これらの RNA 分子がどのようにしてエピジェネティック制御に関わっているのかについてはよく分かっていません。まだまだ、やり残してしまっていることが沢山あります。

話は変わって、ふと思いついたこと。私は、中学生の頃からいわゆるスパルタ塾(懐かしい人おられませんか？笑)に通っていたためか、日本の外の世界で優秀だと言われる人も見てみたいという思いが強く、海外で少なくとも数年間は留学したいと思っていました。それも語学留学ではなく、いわゆる一流と呼ばれる人を間近に感じることでできる環境です。それが私の生涯の夢でした。このため日本での研究に何とか区切りをつけ、イギリスへと旅立ちました。私の生涯の夢であった優秀な人は幸運にもごく近くにいました。ボスはもちろんのこと、PhD student であったアニー。荘厳なケンブリッジ大学の一角で行われたラボのクリスマスパーティーで初めて出会い、結果的にほぼすべて一緒に実験を進めることになったのですが、私の生涯の夢はそこで達成されたのです。私が日本で出会えた記憶のないくら

いに素晴らしい才能の持ち主であり、かつ、大変な努力家でもありました。つまり、才能とは決して努力とは無縁ではないということ。一瞬、一瞬をどのように過ごすかで、その後が大きく変わっていくことを実感しました。

また、ある時には壮絶な口論となったこともあります。というのも、アニーは大学である試験の際に、誰もが認める成績優秀な学生が体調不良のため、結果があまりにひどかったと言うのです。このため、ケンブリッジ大学の教授陣は、その学業優秀であったたった一人の学生を留年から救済するために合格点を下げたことで、アニーは助かったそうです。私はすかさず、「That's not fair, is it?」と言ったのがまずかったようです。そうなので、イギリスと日本では「公平 (fair)」の意味合いが少々異なるようです。日本では、どのような人にも等しく均一なチャンスを与えるのが普通とされていてませんか。しかし、少なくともケンブリッジ大学では、優秀な学生には相当の環境が与えられるのです。成績優秀な学生には、教官専用の図書館を開放すると聞いたこともあります。

ついでに、今の私の夢。語っていいですか？ RNA 研究の歴史は古く、しかも最近になって、さらに見直されつつあると強く感じます。私も携わることができ、とても楽しい思いをさせて頂いております。RNA とエピジェネティクス。これをキーワードに生物の多様性という大きな課題に挑戦してみたいのです。塩基配列が変わることによって、生物が進化することがあるのであれば、エピジェネティックな情報が変化することによって、種分化が起きることは

イギリスと日本では「公平 (fair)」の意味合いが少々異なるようです



2001年の夏、知人とともにアザラシ観賞へ。隣にいるのが天才大学院生アニー。

ないのでしょうか？エピジェネティクスによって細胞の多様性が生み出されるならば、エピジェネティクスによって生物の多様性が生み出されるとは？実際に、エピジェネティックな情報が次世代へと受け継がれ得ることは古くから報告されています。

あるいは、ヒストン修飾は遺伝子の発現調節のみならず、DNA複製や修復、さらには生殖細胞形成などにも深く関与することが明らかにされつつあります。それでは、「エピジェネティクスとは、塩基配列の変化を伴わない遺伝子発現調節機構である」という現在の定義は、本当に最適な表現と断言できるのでしょうか？

今一度、再定義する必要はないのでしょうか？また、細胞にDNA修復機構が備わっているのならば、細胞内の適切なエピジェネティックな情報を管理し、また修復する分子基盤などもあり得るのではないのでしょうか？他にも、私に与えられた環境が私にさまざまなアイデアを与えてくれました。さらに、ごく最近になって「ヒトゲノム計画」に代わる「エピゲノム解説」が話題となっています。ゲノムプロジェ

塩基配列が変わることによって、生物が進化することがあるのであれば、エピジェネティックな情報が変化することによって、種分化が起きることはないのでしょうか？

クトでは少々出遅れてしまった感がありますが、二度と同じ失敗は許されません。今回こそ日本は世界に先駆けて、国際的に大きな貢献を果たすべきではないのでしょうか。どうか今の私に最適な環境を

お与え頂けませんか？お願いします。つて、言ってること違ってきますね。とりあえず、興味のある

方は一緒に研究を楽しんで、時には苦しんでみませんか？共同作業はつらいですが、至福のひとつきも与えてくれますよ。では、良いご週末を。

プロフィール

1994年鳥取大学医学部生命科学科卒業、1996年鳥取大学大学院医学系研究科修士課程修了、1998年鳥取大学大学院医学系研究科博士課程修了・博士（生命科学）取得（押村光雄研究室）。日本学術振興会特別研究員（DC1・PD）、CREST研究員、2000年より海外特別研究員・英国医学研究所（MRC）研究員（Wolf Reik研究室、ケンブリッジ）を経て、2004年より現職・助手。

三ツ矢幸造

Kohzoh MITSUYA

東北大学

（先進医工学研究機構）

◆ 随筆：RNA and I ◆

転移因子も生きている？

梶川正樹

（東京工業大学・大学院生命理工学研究科）

“転移因子”と聞くとみなさんどのようなことを思い浮かべるのでしょうか？きっと、“転移因子って面白いんだよね！”とは思う人はほとんどいないですよ。私は“転移因子って面白い！”と思う数少ない人間の1人です。今回、RNA Network Newsletterに寄稿する機会をいただきましたので、この機会に私の研究している転移因子の面白さを少しでもみなさんに伝えることができたらと思います。私は、Long interspersed element（略してLINE）と呼ばれる転移因子の研究をしています。LINEの研究者はあまり多くありません。日本で精力的にLINE研究をしている研究室は2～3研究室でしょう。とてもマイナーな研究です。でも、面白いのです！

転移因子とは、可動性のDNA配列です。簡単に言えば、

ゲノムDNA中に存在していて、ある場所から別の場所に移ることのできるDNA配列です（図1）。転移因子には“移動”するだけのものと、自身のコピーを作成して別の場所に挿入するものが存在します。転移因子LINEは後者の様式で転移・増幅します。これらの因子は、新たな場所に移動するため、しばしば宿主に有害な影響を及ぼします。転移因子の移動場所が宿主の必須遺伝子内の場合、遺伝子が破壊され宿主の生存が脅かされます。でも、転移因子は宿主生物にとって単なる“悪者”というわけではないようです。2001年、ヒトゲノムの概要配列が解読され、ヒトのゲノムDNA中に約85万コピーものLINE配列が存在することが示されました。85万コピーってどれくらいでしょう？話が飛んでしまいましたが、私は瀬戸内海の小さな島で生まれました。島の人口はたったの500人。ヒトLINEコピー数の1700分の1でしかありません。そう考えると、

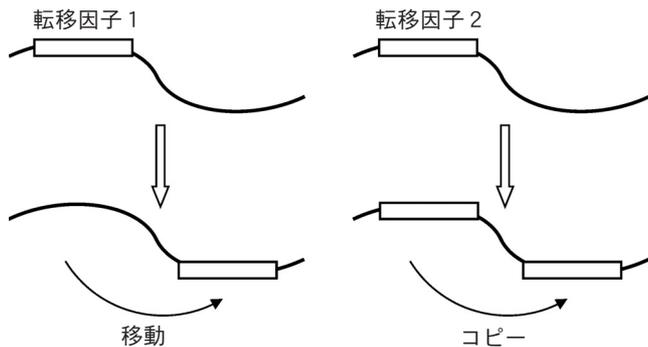


図1：転移因子の2つの転移・増幅様式

LINEのコピー数って多いですよね？ヒトのゲノムDNA中に存在するLINE配列を全部合わせると、ヒトゲノムDNAの約20%もの領域を占めます。ヒトの遺伝子数が数万個であり、タンパク質をコードするエキソン配列がヒトゲノムの数%しか占めないことから考えても、LINEのコピー数の多さがわかります。

では、LINEってどのような機構で自分自身のコピーを生み出すのでしょうか？簡単にLINEの増幅機構について説明します(図2)。LINEの増幅は、自身mRNAの転写からはじまります。次に、このmRNAからDNA切断酵素(EN)と逆転写酵素(RT)が1つのタンパク質として翻訳されます。その後、DNA切断酵素が新たな挿入位置のゲノムDNAを切断し、逆転写酵素が逆転写反応により自身mRNAのDNAコピーを作り出します。このDNAコピーが宿主ゲノムDNA中に挿入され、LINEのコピー数は増加するのです。LINEの構造はとてもシンプルです。簡単にいってしまえば逆転写酵素とDNA切断酵素をコードしたイントロンを含まない1つの遺伝子です。逆転写酵素をコードする約5kbの単純な構造の遺伝子(=LINE)が、この“コピー&ペースト機構”により、ヒト遺伝子の数：数万個をはるかに凌駕する85万個にも及ぶコピー数を獲得したのです。

私がLINEという転移因子をはじめて知ったとき、そのコピー数の多さにも驚きましたが、LINEはなぜ自分自身のコピーをつくりだすのだろうか？という素朴な疑問を持ちました。LINEのコピーはそのままとなった配列と同様に自身のコピーを作り出すことができます。ということは、LINEのコピーは、そのままとなったLINE配列(親)の子供(子孫)といえます。我々ヒトは本能で自分の子を産み育てます。私は、LINEも我々ヒトと同様に自分の子孫(コ

ピー)を次の世代に伝えたいと本能的に感じているように思えるのです。LINEをそういった観点で眺めると、我々個々がみな同じでないように、85万コピーのLINE配列もすべて同一という訳ではありません。LINE配列は時と共に変異を蓄積するため、個々のLINE配列の出現時期の違いにより配列が異なります。古い配列ほど変異を蓄積し、やがてはLINE配列なのかLINE配列でないのか区別ができなくなるのです。すなわち、LINE配列にも“年齢”があるのです。LINE配列が年をへるとともに変異を蓄積するさまは、まるで、人間が年齢をかさねるとともにしわをたくわえるようなものですね。LINE配列は、変異の蓄積による配列変化でやがてはLINE配列ではなくなるのです(=亡くなる)。そうです、私にはLINE配列がまるで我々と同じように生きてるように思えるのです。

2001年、ヒトゲノムの概要配列が解読され、ヒトのゲノムDNA中に約85万コピーものLINE配列が存在することが示されました

ヒトのゲノムDNA中に存在するLINE配列を全部合わせると、ヒトゲノムDNAの約20%もの領域を占めます

LINE配列が年をへるとともに変異を蓄積するさまは、まるで、人間が年齢をかさねるとともにしわをたくわえるようなものですね。LINE配列は、変異の蓄積による配列変化でやがてはLINE配列ではなくなるのです(=亡くなる)

LINEってヒトのゲノム中にしか存在しないのでしょうか？いいえ、そうではありません。LINEはほとんどすべての真核生物のゲノムDNA中に存在しています。LINEは真核生物の出現間もないるか昔から、真核生物のゲノムDNA中に存在しているのです。でも、LINEは自分の存在する宿主の細胞中から別の生物の細胞中には移動できません。ある細胞が1つの国だと仮定すると、LINEは自分の生活している国から外に出ることができないのです。海外旅行に行きたくても行けません。でも、海外を見たくなったLINEもいたのかもしれない。レトロウイルスはLINEと同じように自身配列のmRNAを逆転写反応することで自身のDNAコピーを作り出します。LINEのような細胞内でしか動きまわれない転移因子が、外の世界を見たくてたまらなくて外に出る方法を手に入れた結果、レトロウイルスのようなウイルスが生まれた

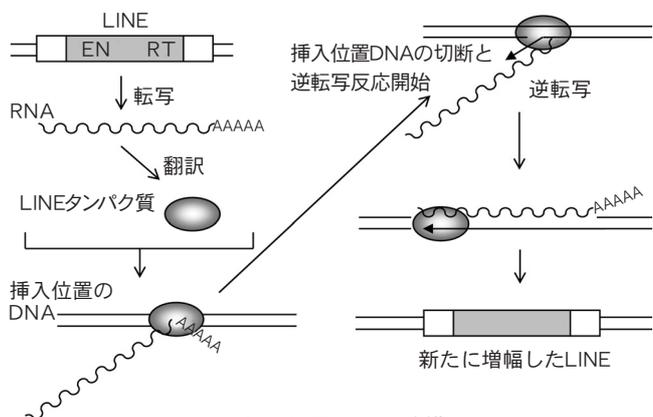


図2：LINEの増幅機構

のかもしれませんが。まるで、人間が車や、船や、飛行機を手に入れたように…。ひょっとしたら転移因子にも、“意思”と呼べるようななにかが存在しているのかも？と、おもわず空想にひたってしまいます。

本当に LINE の存在って不思議です。LINE が発見された当初、LINE は宿主生物の存在には必要ない、単なる“ガラクタ DNA”であると考えられていました。しかし、最近の研究から LINE は、真核生物ゲノム DNA の複雑さやその進化に大きな影響を及ぼすものであると考えられています。すなわち、真核生物のゲノム進化の大きな原動力になった（なっている）と考えられるのです。確かに、LINE は宿主ゲノム DNA の多様性を増加させます。この多様性の増加は進化上大きな意味があるでしょう。でも、私にはどうしてもそれだけの理由で LINE が真核生物のゲノム中にはるか昔から存在してきたとは思えないのです。私には、何かもっと大きな理由、“我々が子孫を残すこと”と“LINE が子孫を残すこと”，この2つの“子孫を残す”という現象にはなにか共通の理由があるのでは？と思えてなりません。思えてならないというよりは、そうだ



岡田研究室にきたシーラカンスとともに

と面白いな、と空想しているわけなのですが。

現在私は、そういう空想に浸りながら LINE の増幅機構を解明するため日々研究しています。実は、LINE の増幅機構自体まだまだわからないことが山積みです。したがって、私の空想を検証できる日が来るのは、はるかはるか先の話ですね。このエッセイ(?)を読まれたみなさんが、少しでも転移因子 LINE って面白い存在だな、とっていただけたならば幸せです。ほんとに生物も LINE も不思議です。

プロフィール

2003年3月、東京工業大学大学院生命理工学研究科修了、博士(理学)。同年4月より現所属、東京工業大学・大学院生命理工学研究科生体システム専攻・岡田研究室・助手。

梶川 正樹

Masaki KAJIKAWA

東京工業大学

大学院生命理工学研究科

◆ 随筆 : RNA and I ◆

DNA の傷から RNA の傷の研究へ

早川 浩 (九州大学医学研究院)

<発端>

生体内における正常な代謝活動や電離放射線、あるいは化学物質によって生体内で活性酸素が生じこれが様々な生体高分子を酸化させる。とりわけ DNA の酸化損傷に関しては長年にわたり多くの研究者が注目し、癌や細胞死、突然変異についての重要な知見が得られている。実は RNA の傷についての研究をする発端となったのは、この DNA の酸化損傷の研究だった。

活性酸素等によって生じる酸化塩基の内でもとりわけ注目されているものの1つにグアニンの酸化体である 8-oxoguanine がある。この修飾塩基はシトシンのみならずアデニンとも塩基対合がとれることから突然変異の原因となる(図1)。当初は DNA 中のグアニン残基の酸化が問題に

されていたが、やがてヌクレオチドプール中で生じる酸化型 dGTP, 8oxo-dGTP が鋳型上のアデニンに対して取り込まれることが明らかとなり、DNA 上のグアニン残基とグアニン・ヌクレオチドの双方の酸化が問題となった。当時私たちの疑問の1つはヌクレオチドプール中における dGTP の量が極めてわずかしかなかったにもかかわらず(即ちその酸化型; 8oxo-dGTP はさらに少ないはず)それが突然変異における主要な原因となっていることだった。これは 8oxo-dGTP を特異的に分解する大腸菌の MutT 蛋白が欠損すると自然突然変異が数百倍に高くなることから明らかであった(図2A)。

<変異原物質の源を求めてスウェーデンへ…しかし、道は途絶える>

そこで我々が考えたのは、デオキシ型に比べリボ型はヌ

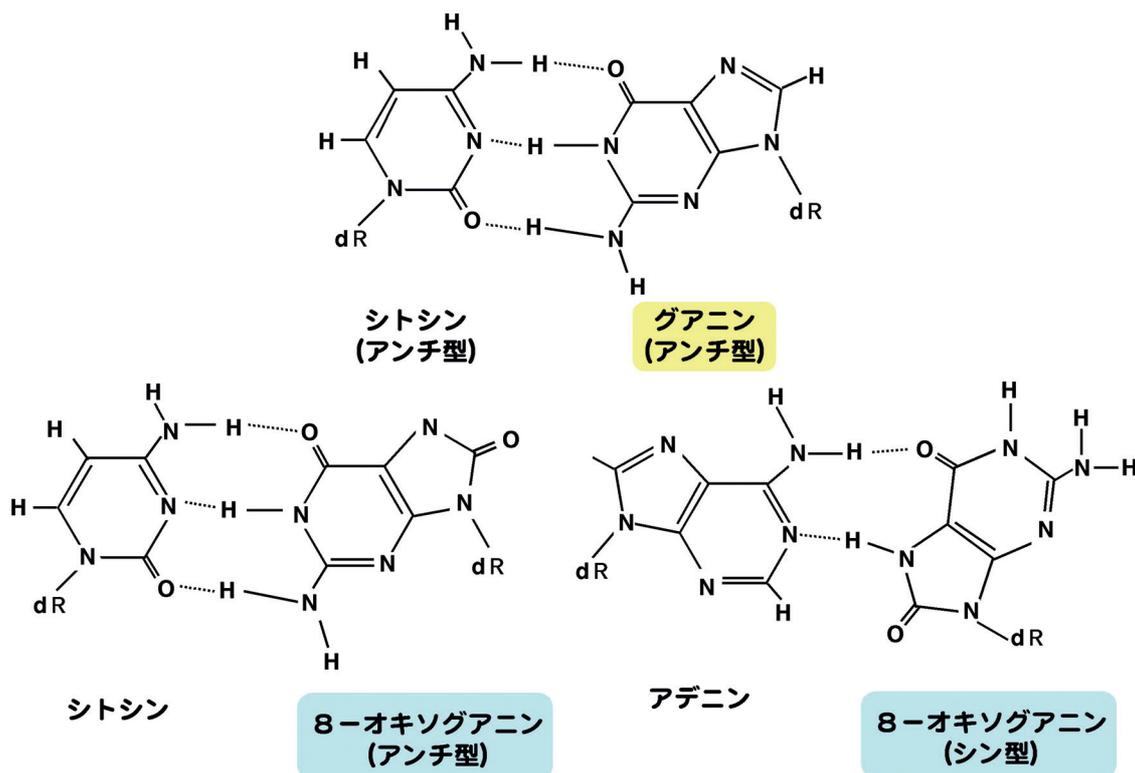


図 1

クレオチドプール中に沢山存在するので、このリボ型、即ち GTP や GDP の酸化物が変異原のソースとなっているのではないかと、という仮説だった。代謝経路をみるとデオキシ型はリボ型が還元されることで生合成されるのでいかにもありそうな話に思えた (図 2)。またその状況証拠として考えていたことは、ヒトの MutT ホモログである MTH1 蛋白が 8oxoGTP を分解することだった (図 2 B)。そこでまず実際に 8oxo-dGTP が 8oxo-dGDP から合成されるかどうかを調べてみると確かにリン酸化は起こる (図 2 C)。

(*Biochemistry* (1995) 34 : 89 1995) そこで 8oxoGDP から 8oxo-dGDP に還元されるかどうかを調べることにした (図 2 D)。一番単純な方法は、純化した酵素を用いて *in vitro* で実際にその反応が起こるかどうかを見ることなので、早速 dinucleotide reductase の研究をしていたスウェーデン、ウメオ大学の Lars Thelander に連絡を取った。実は彼は昔私が Stanford に留学していた時同じ Paul Berg 研にいたので旧知の間柄であった。Lars に連絡すると、材料から何からすべて揃っているの、彼の研究室に来て実験したらと云われ、取り敢えずラベルした 8oxoGDP と GDP を持参しスウェーデンに向かった。ところでアイソトープは流石に自分で持って行くわけにはいかない。日本アイソトープ協会にお願いするしかないのだが、当時とても、とても、高額な手数料 (通常海外輸送費の 10 倍程度) を請求されたことを憶えている。独占? の強みを感じたのは私の誤解だろうか? とにかく、彼の自宅にホームステイしながら実験を行ない、わずか 1 週間ではっきりとした結論がだせたのは幸運だった。しかし結果は予想外にも 8oxoGDP は 8oxo-

dGDP に還元されないという結果であった (図 2 D)。つまりリボ・ヌクレオチドプールから酸化型のヌクレオチドは供給されない。そんなわけで突然変異原の源を求める旅はそこで途絶えたわけである。…それでは何故、MTH1 蛋白は 8oxoGTP を効率よく分解するのだろうか? (図 2 B)

<新たな展開；RNA の酸化障害による遺伝子発現異常>

上記の結果は予想に反したものであったが、別の共同研究が新たな局面を開いてくれた。この頃相前後して、別の角度からこの周辺の問題を探っていたグループがあった。その中心人物である Francois Taddei との共同研究が新たな展開を生むこととなった。Francois は我々が MTH1 蛋白が 8oxoGTP を分解することを学会で発表したのを目撃し、つけ連絡を取って来た。彼らは当時大腸菌の *mutT* 変異株が異常蛋白を生合成するらしいことを遺伝学的に見だしていたが、それがもし MutT 蛋白が 8oxoGTP を分解することで 8-oxoguanine の RNA への取り込みを抑制し、それによって引き起こされる翻訳異常を抑えているのであれば巧く説明出来ることに気がついていた。それで我々は生化学的にそのことを調べてみることにした。そうすると MutT 蛋白は MTH1 蛋白以上に効率よく 8oxoGTP を分解すること (図 2 B)、さらに 8oxoGTP が実際大腸菌の RNA polymerase によって RNA 中に取り込まれることが明らかになった (図 2 E) (*Science* (1997) 278, :128 1997)。即ち、8oxoGTP がヌクレオチドプール中に多量に存在すると RNA 中に酸化型グアニン残基が取り込まれ、これが翻訳工

ラーを引き起こし (図 2 F), 結果的に異常蛋白が産生されるということが判った。MutT 蛋白はこの酸化型 GTP である 8oxoGTP を分解することで結果的に異常蛋白の合成を抑制しているわけである。その後の進展を簡単に述べると, 最近 MutT については 8oxoGTP の前駆体である 8oxoGDP も分解すること (図 2 G : *Biochemistry* (2005) 44:6670 2005), また別のヒト蛋白である NUDT5 蛋白が 8oxoGDP を特異的に分解していることも明らかにした (図 2 G : *Nucleic Acids Research* (2005) 33:3779 2005)。いずれにせよ, 一旦 8oxoGMP まで分解されると二度とリン酸化を受けないことも確認済みである (図 2 H)。

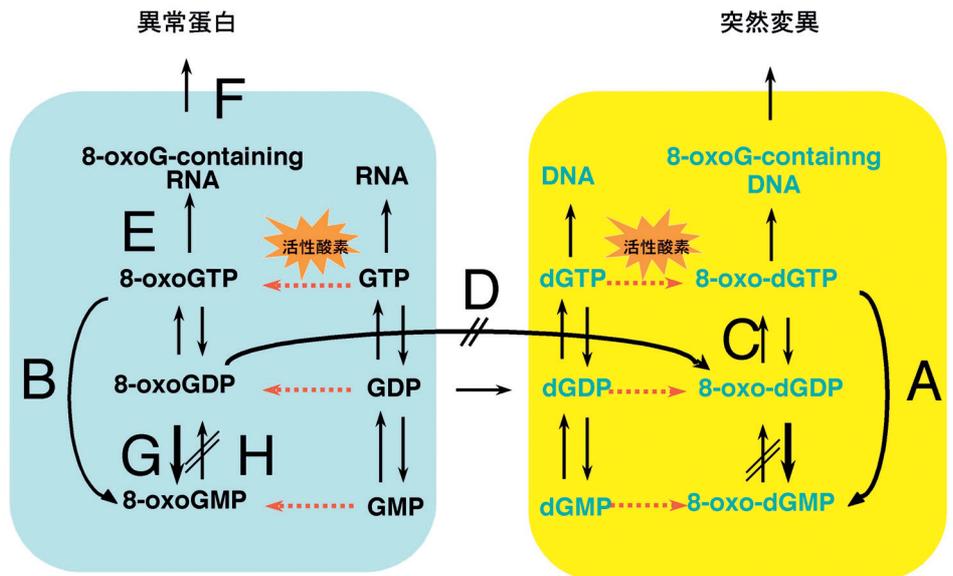


図 2

<酸化 RNA を排除する機構は存在するか?>

上記の仕組みにより, ヌクレオチドプール内の 8oxoGTP あるいは 8oxoGDP を排除しても, RNA は直接酸化される。このような場合には上記のシステムは役に立たない。最近我々はそれに対応するものの候補として, 酸化 RNA 特異的に結合する蛋白を大腸菌および哺乳動物細胞中に発見し, それぞれポリヌクレオチド・フォスホリラーゼ (Pnp) 蛋白と YB-1 蛋白であることを明らかにした (*Biochemistry* (2001) 40, 9977 2001 & *Biochemistry* (2002) 41, 12739 2002)。事実, *pnp* 遺伝子を欠損した大腸菌変異株では酸化ストレスを引き起こす薬剤に対し感受性が著しく変化している。しかしながら, ヌクレオチド・プールの浄化に比べ, まだその実体ははっきり判ったわけではなくこの点はさらなる研究が必要である。

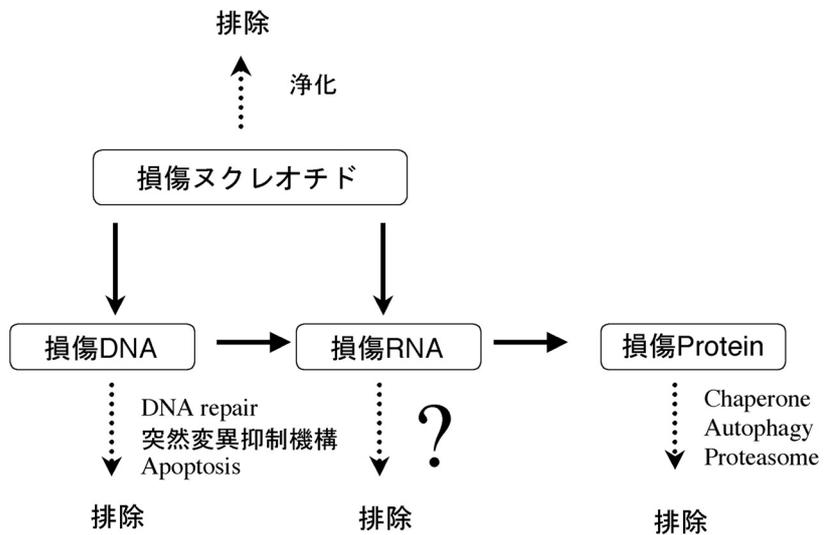


図 3

遺伝子上に変異がない場合でも RNA の酸化損傷が異常蛋白の蓄積を引き起こす

機構を持つ。例えば DNA レベルに於いては様々な DNA 修復機構や突然変異抑制機構, さらに多細胞生物に於いては, 傷つき過ぎた細胞ごと除去する Apoptosis などがある。また

蛋白レベルにおいては分子シャペロンやユビキチン化による蛋白分解。あるいは細胞内小器官ごと分解する Autophagy がある (図 3)。しかし RNA レベルにおける品質管理機構の研究はまだ始まったばかりであり, とりわけ酸化障害について

は殆ど今まで問題とされてなかった。最近 RNA が単に遺伝情報を仲介するのみならずそれ自身が機能分子であることが明らかとなり, さらには哺乳動物の染色体 DNA はタンパク質をコードする遺伝子領域の他に, はるかに広い領域で様々な機能をもつ RNA をコードしていることがわかってきた。しかもその種類は蛋白と同じくらい存在するらしい。このような RNA の多様な機能がわかるにつれ RNA の

< RNA の品質管理は重要 >

遺伝情報は DNA ⇄ DNA → RNA → 蛋白と伝わり, 最終的に蛋白あるいは RNA として機能する。この遺伝情報伝達ステップのいずれにおいても情報は正確に伝達されなければならない。これを保証する為, 生物は様々なエラー防止

酸化障害の重要性が一層クローズアップされるのではなからうか？ 事実、それと関係があるかもしれない幾つかの報告がある。

アルツハイマーやパーキンソン病の患者の脳神経細胞では RNA 中に 8-oxoguanine が蓄積していることが報告されている (*J. Neurosci.* (1999) **19**, 1959 & *Am. J. Pathol.* (1999) **154**, 1423)。これらの疾患では「異常な蛋白」が発病と密接に関わっていることはよく知られているが、今のところ突然変異を持つ家族性なものだけの研究が進んでいて、大多数の孤発性のものについては依然原因不明である。遺伝子上に変異がない場合でも RNA の酸化損傷が異常蛋白の蓄積を引き起こすとの我々の最初の報告 (*Science* 1997) はその点意味深である。この研究は基礎生物学のみならず、医学的研究分野においても大きな可能性を持つかもしれないと我々は期待している。



プロフィール

1981年九州大学理学研究科中退、理学博士、1984～87年までスタンフォード大学の Paul Berg 博士のもとでポストドク。九州大学医学研究院助手。関口研（当時九大理学部）で DNA 修復・突然変異の研究をスタートする。現在の RNA 研究もその延長上にあると本人は考えている。10年以上エアロビクスを趣味としたが、膝の故障や度重なる肉離れでラテンダンスに転向。今はソングが踊れる研究者を目指す。

早川 浩

Hiroshi HAYAKAWA

(九州大学医学研究院)

◆ 随筆：RNA and I ◆

ウイルス感染センサーと RNA

米山光俊

東京都臨床医学総合研究所

ウイルス性疾患防御プロジェクト

本年度から公募研究で参加させていただいております東京都臨床研の米山と申します。よろしくお願ひいたします。このたび RNA 研究についてのエッセイを書くよう仰せつかりましたが、恥ずかしながら私は RNA 研究に造詣が深いとは言い難く、また気の利いたエッセイを書くこともできないので、ここでは新入りとして自分の研究内容と RNA との関わりについて書かせていただきたいと思います。

私の研究テーマは、『ウイルス感染に応答したシグナル伝達機構の解析』です。RNA とのつながりをかなりこじつけて申し上げるとすれば、input が RNA ウイルスの感染であることと、もともと I 型インターフェロン (IFN) 遺伝子の転写制御からスタートしている仕事であることから、output が mRNA であることくらいでしょうか。しかし、最近の解析から、前者の input の部分と細胞内 RNA との関係で興味深いことがわかりつつあります。詳しくは後述させていただきますとして、まずはこれまでの私の研究の流れにつ

いてお話をさせていただきます。

私は、もともと転写調節について興味があったことから、当時大阪大学にいらっしゃられた谷口維紹先生（現東京大学医学部免疫学教室）の研究室の門をたたき、大学院生として分子生物学のトレーニングを受けました。私が研究を始めた 1990 年前後は、まだ転写因子というものの実態があまりわかっていない時代であったことから、遺伝子の cis-element を解析し、そこに結合する因子を同定するという仕事を中心でした。私をはじめに研究対象とした遺伝子は、インターロイキン 2 とその受容体遺伝子でしたが、谷口研では I 型 IFN、特に IFN- β 遺伝子の発現制御についての研究も、当時助手だった藤田尚志先生（現京都大学ウイルス研究所）を中心に行われていました。私が谷口研に入った時に、ちょうど IFN の発現に関わる因子の候補として IRF-1 という転写因子がクローニングされたところで、IFN 遺伝子の発現制御解析が転写因子レベルで始まったと

ころでした。その後、私が学位を取得した年に、藤田先生が臨床研でラボを立ち上げることになり、研究員として呼んでいただき、IFNの仕事を始めることになりました。

I型IFNは、ウイルス感染に応答して一過的に発現し、抗ウイルス自然免疫の誘導、さらにはそれに続く獲得免疫の調節において非常に重要な役割を担っているサイトカインです。当時は、谷口研でのIRF-1ノックアウトマウスの解析から、IRF-1はIFN遺伝子の転写調節には直接関わっていないことが明らかになり、何がIFNの転写を行っているのかが謎になっていました。私の臨床研での最初の成果は、IRF-3という別のIRFファミリー分子がIFN遺伝子の発現に必須な転写因子であることを明らかにしたことでした。IRF-3は普段は細胞質に局在していますが、ひとたびウイルスが感染すると、速やかにリン酸化され、核へ移行して転写誘導を起こします。ではウイルス感染はどのようにしてIRF-3のリン酸化を誘導するのか？これが次の興味になり、慣れ親しんだ転写因子の研究から離れ、上流のシグナル分子の解析へと遡ってゆくことにしました。この頃

すなわち2000年前後には、自然免疫における膜貫通型感染受容体であるToll-like receptor (TLR)を中心とした研究が脚光を浴び始め、同時に樹状細胞などにおけるTLRシグナルによるIFNの活性化も注目されつつありました。その後、複数のグループによってIRF-3キナーゼとしてTBK-1とIKK-iが同定されましたが、依然としてウイルス感染がどのように検

今思うとあまりに確実性のないスクリーニングだったと言わざるを得ませんが、新たなものを見いだすためには時にはギャンブルも必要なかもしれないと思わせる経験でした

知され、IRF-3を活性化しているのかについては明らかになっていませんでした。以前から、IFNはウイルスの複製で細胞質に蓄積する二重鎖RNA(dsRNA)によって誘導されると考えられていましたが、TLRの研究が進むにつれ、dsRNA受容体であるTLR3こそがウイルスdsRNAのセンサーであると考えられ始めていました。しかし、TLR3遺伝子ノックアウト細胞においてもウイルス感染でIFNは産生されることから、我々はTLR以外に、しかも細胞質内部にdsRNA受容体が存在するだろうと考えていました。様々な手法で同定を試みましたがうまくゆかず、最後の手段ということで発現クローニングを行ってみることにしました。方法は単純で、IRFの結合配列で制御されたルシフェラーゼ遺伝子をレポーターとしてcDNAライブラリーと共に細胞に導入し、dsRNAを細胞内に入れて刺激した時に、レポーター活性を増強するcDNAクローンを単離するというものです。cDNAを20クローンずつ約5,000のプールに分け、スクリーニングを行いました。それぞれのコントロールを含めると、10,000以上のルシフェラーゼ活性を一本ずつ測定するという力仕事でした。その結果、RIG-IというRNAヘリカーゼ分子の単離に成功しました。しかし、この方法はかなりのギャンブルであったと言えます。

なぜなら、目的の分子が見つかる保証はなく、IRFなどの転写因子やdsRNAの取り込みに関わる分子、タンパク質やmRNAの安定化に関わるものなど、様々なものが取れてくる可能性があったからです。実際、基本転写因子やタンパクの修飾に関わる分子も取れてきました。その上、実際に単離したRIG-I遺伝子のクローンは、cDNA合成がたまたま途中から始まってしまったためにできたN末だけをコードする短いもので、解析してみるといわゆるconstitutive activeなものであったというおまけ？まで付いていました。今思うとあまりに確実性のないスクリーニングだったと言わざるを得ませんが、新たなものを見いだすためには時にはギャンブルも必要なかもしれないと思わせる経験でした。

さて、RIG-IはRNAヘリカーゼであります。N末にCaspase recruitment domain (CARD)を2回繰り返して持つ分子です。RIG-Iヘリカーゼは通常は不活性状態にありますが、ウイルス由来のdsRNAと結合することで感染を検知し、おそらくヘリカーゼのATPaseの活性化に伴う分子内構造変化によって、CARDを介してTBK-1/IKK-i両キナーゼ、さら

にIRF-3のリン酸化へとシグナルを伝達します。さらに、審良静男先生(大阪大学微生物病研究所)のグループとの共同研究で作製したノックアウトマウスの解析から、RIG-Iがウイルス感染に応答した自然免疫の誘導において必須な役割を担っていることが明らかになり、実際にこの分子が細胞内のウイルスセンサーとして機能していることが示されました。

RNAヘリカーゼが、これまで知られているRNAの構造変化を介した機能だけでなく、自らの構造変化によるシグナル伝達分子としての機能を持つという新たな知見は、生命の奥深さを感じさせます。

ここで、RIG-IとRNAとの関係で興味深い点はいくつか見いだせます。ひとつは、なぜRIG-IはウイルスdsRNAを検知し、細胞に発現する多くのRNA、特にmicroRNAなどの二重鎖構造をとり得るRNAを認識しないのかということです。予想されるのは、dsRNAの長さとそれを取り巻くタンパク質の違いを見分けているのだろうということです。その詳細は不明です。この違いが明確になれば、RIG-Iを人為的かつ特異的に活性化するような新しい抗ウイルス薬剤の開発が可能かもしれません。しかし一方で、RIG-I遺伝子のノックアウトマウスは、肝臓の異常によって胎生致死になることから、発生過程では何らかの内在性dsRNAを認識して未知の働きをしている可能性が考えられます。これについての明確な答えも今のところありませんが、大変興味深い課題だと思われます。

進化的な観点からも面白いことがわかります。CARD様

ドメインを持つ RNA ヘリカーゼは、線虫にも存在します。DRH-1 と呼ばれるその分子は、RNAi で重要な機能を持つ

ことが報告されています。ご存じのように、植物や昆虫などの RNAi は、外来の核酸の侵入に対する生体防御、すなわち自然免疫に関与していると考えられています。一方、ほ乳類などの高等生物における自然免疫では IFN システムが発達し、さらにそのあとにはリンパ球による獲得免疫がより高度な生体防御を司っています。しかし、外来の核酸侵入への応答と

いう本来の機能からみると、この CARD とヘリカーゼという分子構造が進化的に保存されてきたことを想像させます。また、RIG-I のヘリカーゼドメインと相同性の高いヒトの分子をデータベースサーチすると、Dicer が選択されてくることもこのことを示唆しています。高等脊椎動物では、保存された外来核酸の検知機構を、RNAi と共に IFN 系においても利用することで、さらに高度な生体防御メカニズムを発達させてきたのではないかと思います。

このように、IFN の転写制御に端を発した研究を通じて、RNA ワールドとの接点が垣間見えてきました。私は、今後

もウイルス検知メカニズムとそれを介したシグナル伝達についての研究を続けてゆきたいと考えていますが、特にウ

イルス検知においては内在性 RNA との関係が重要な意味をもってくることが想像され、本領域の研究者のお知恵を拝借できればと思っております。RNA 研究に関しては少々異端の素人ではありますが、本領域研究に参加させていただいた以上は RNA 研究の奥深さに触れさせていただくと共に、研究領域の発展に少しでも貢献できればと考えている次第です。

高等脊椎動物では、保存された外来核酸の検知機構を、RNAi と共に IFN 系においても利用することで、さらに高度な生体防御メカニズムを発達させてきたのではないかと思います



プロフィール

1993 年大阪大学理学研究科博士課程修了後、東京都臨床医学総合研究所・研究員。2005 年同主任研究員。

米山光俊
Mitsutoshi YONEYAMA

(東京都臨床医学総合研究所)
ウイルス性疾患防御プロジェクト

◆ 随筆 : RNA and I ◆

名古屋に移住して

星野真一

(名古屋市立大学 大学院薬学系研究科)

塩見さんよりエッセイを書いて下さいという「お願い」のメールをいただき、大変光栄なことと思いましたが、これまで Newsletter に寄稿されたものはどれも大変立派な海外留学経験談にはじまり研究者とはこうあるべきであるという教訓が述べられた素晴らしいものばかりだったことを思い出した。自分にはとてもそのようなものは書くことができないのでお断りしようかと思いましたが、メールを読んでいくと「班員は一度は寄稿することになっています」という結びの一文で実は命令だったのだと悟り、お引き受けすることにした。

私の研究経歴について簡単にふれると、私は東京大学大学院薬学系研究科において、恩師である宇井理生教授のもと情報伝達研究の火付け役となった G 蛋白質の研究に携っ

ていたが、幸いにも当時助教授であった花岡文雄先生にも御指導をうける機会を得た。花岡先生は当時から DNA 複製で非常に有名であったので、なんとか G 蛋白質を介する情報伝達と DNA 複製 (細胞増殖) を結びつける題材はないだろうかと探していた時に、細胞周期を研究されていた菊池淑子先生を花岡先生から紹介して頂いた。当時、菊池先生は細胞周期を制御する新規 GTP 結合蛋白質を発見され、その機能を解明する目的から共同研究をさせて頂くことになった。これが、私がこの世界に入り込んだきっかけである。その GTP 結合蛋白質が、実は翻訳終結因子 eRF3 であるということがわかったのは、それから約 10 年後であるが、翻訳終結といえば中村義一領域代表がすでに世界的な権威であることは誰もが知るところであった。そこで、翻訳終結そのものを研究することは決して自分のオリジナリ

ティーにはならないことを考えて、(1)eRF3の翻訳終結因子としての機能以外に細胞周期の制御に結びつく新たな機能の探索を行うこと、(2)G蛋白質を研究してきた背景から、eRF3のG蛋白質としての特性(情報の転換機能)が、どのように利用されているのか、という点に焦点を絞って研究を行ってきた。

その結果、(1)eRF3が翻訳終結と共役してmRNA分解を制御するという、(2)eRF3のG蛋白質としての特性は、翻訳終結とmRNA分解との共役に使われているということも明らかにすることができた。DNA→RNA→Proteinという遺伝情報の流れのなかで、RNAが蛋白質に翻訳された後どのようにして分解されていくのかということに関しては明らかにされていなかったが、翻訳の終結過程が、mRNAの分解を引き起こすトリガーになっているということを示すことができた。現在は、この翻訳終結とmRNA分解との共役の分子機構の全容解明を目指して研究を行っている。

また、このような正常なmRNAの分解の一方で、ナンセンス変異をもつ異常なmRNAの分解機構も知られている。このNMD(nonsense-mediated mRNA decay)は、ナンセンス変異が引き起こすmRNA分解機構であり、種々の遺伝性疾患の原因であることから非常に注目を集めている。ナンセンス変異は終止コドンであるから、この場合にも正常なmRNAと同様な機構で、ナンセンスコドン上での翻訳終結がmRNA分解を引き起こすと考えられ、正常なmRNA分解での成果をもとにその共役機構を現在解析中である。

さて、私の近況を報告すると私は本年度4月より名古屋市立大学大学院薬学研究所に赴任した。ここまで多忙な毎日を過ごしてきたため、未だに挨拶状すら送っていなかったことにふと気付いたが、このNewsletterをもってかえさせて頂くことにする。

私が赴任したここ名古屋には非常に活気がある。新しく中部国際空港が開港され、万博「愛・地球博」の成功で非常に景気がよいという感じがする。トヨタの自動車業界での勢いも拍車をかけているらしい。実際通りには東京と比べても高級車を見かける頻度が非常に高い。名古屋といえば名古屋大学が有名であるが、名古屋大学には薬学部が存在しないため、名古屋市立大学薬学部は、国公立では名古屋で唯一の薬学部ということになる。そのせいか、学生のレベルも高く大学院進学率は80%であり、研究環境にも非常にめぐまれている。名古屋市立大学は1884年創立と意外に歴史は古く、昨年で創立120周年を迎えた。この120年の節目に、来年度からは、国立大学に1年遅れで法人化

する。また、薬学部の新しい教育体制がやはり来年度からスタートし、新たに6年制学科と4年制学科が併設されることになる。さらに薬学部校舎の改築の時期がちょうど重なり、現在新校舎の構想が完成しつつある。このように名古屋市立大学薬学部も名古屋の追い風に乗っている感じがする。

と、名古屋でのよい面ばかりを挙げてきたが、私を感じる名古屋の悪いところは、夏の猛暑と赤みそである。夏の暑さは東京、大阪が日本一だと思っていたが、名古屋の夏が東京や大阪より暑いとは知らなかった。ちなみに、近所のラーメン屋でみそラーメンを頼んだら、赤みそのラーメンが出てきたのには驚いた。生協の豚汁も赤みそだった。どうでもよいことだが、名古屋で流行りのコーヒー店といえばスターバックスではなくコマダコーヒーらしい。

名古屋に来てもう一つ悪いことと言えば、病気との付き合いが増えたことである。大学の講義で病態生理学の一部を担当しているが、耳鼻咽喉科の疾患で扁桃炎をおこすEBウイルスについて講義をしたら、自分がEBウイルスに感染した。38℃以上の高熱が続き、非ステロイド性の抗炎症薬を服用しても一時的に熱が下がるだけで

と、名古屋でのよい面ばかりを挙げてきたが、私を感じる名古屋の悪いところは、夏の猛暑と赤みそである

ですぐに38℃以上に戻ってしまう。結局3週間38℃以上の高熱が続いた。そのうちに急性肝炎が発症。その時にはEBウイルスが原因とは判らなかつたため、GPT、GODの値が急上昇するにつれて劇症肝炎になるのではと怯えながら入院生活を過ごした。結局、一ヶ月間寝たきりだった。これ以外にも、この半年の間に二度倒れて、大学病院で点滴をうけた。これも名古屋の暑さのせいかもしれない。そもそも病気のはじまりは、名古屋に来る直前からである。東大の健康診断での胸部レントゲン検査で影が見つかり結核と診断されて半年間治療をうけた。発病したわけではないので、普段通りの生活をおくっていたが、毎朝イソニアジド(INH)3錠、リファンピシン(REF)3錠、ピラジナミド(PZA)3錠とエタンブトール(EB)の抗結核薬4剤を6ヶ月間飲み続けた。計算すると合計1600錠飲み続けたことになる。毎朝9錠の錠剤と散剤一包を6ヶ月間飲み続けと言われた時には気が遠くなるような思いがしたが、薬の副作用による肝障害なども表れずになんとか完治した。結核は昔の病気と思っていたが、最近になってまた増加しているようである。日本で年間3万人、世界的には200万人が結核に罹患しているらしい。抗結核薬は過去40年間新しい薬が出ていなかったが、ここにきて新薬の開発も進んでいるようだ。ジョンソン&ジョンソンがR207910というジアリルキノリン化合物(キノロン系抗生物質の類縁物質)を開発したという話をちょうどそのころサイエンス誌で読んだ。これまでの抗結核薬と異なりATP合成酵素を標的

として強力な抗菌作用を示すらしい。大量の薬を6ヶ月間服用するというのは大変な苦痛だったが、R207910なら2ヶ月程度まで短縮できるそうだ。1週間程度服用すれば完治する薬がそのうち出てくることを期待する。ここ1年間の闘病生活は薬学に携わる身として非常によい経験だったと自分に言い聞かせるしかない。(現在は完全復帰を果たし、極めて健康体である。)

ここ1年間の闘病生活は薬学に携わる身として非常によい経験だったと自分に言い聞かせるしかない

病気といえば私が現在共同研究をしているポルトガルのグループが、ごく最近 eRF3 (GSPT1) に存在する GGC のくり返し配列と胃癌との関連性を報告した。正常なポルトガル人ではこのくり返しが10であるの対

し、12以上になると胃癌を発症する確率が20倍に増加する。このGGCはN末端領域に存在しGlyをコードしているが、発症に至る経緯は不明

であり、既知のトリプレットリピート病での知見も念頭に現在解析が進行中

である。今後は創薬も視野に入れて研究に取り組んでいきたい。

プロフィール

1989年東京大学大学院薬学系研究科中途退学、薬学博士、同薬学系研究科助手、講師を経て、2004年から名古屋市立大学大学院薬学系研究科教授

星野真一

Shin-ichi HOSHINO

名古屋市立大学
大学院薬学系研究科

◆ 随筆：RNA and I ◆

PABP を知っていますか？

大澤 匡 範 (東京大学大学院薬学系研究科)

はじめまして。大澤匡範と申します。平成15年3月に東京大学・院薬系・嶋田一夫研究室の助手に着任して以来、同じ東大・院薬系の星野真一先生(現・名古屋市立大)・堅田利明先生との共同研究として、真核生物の翻訳終結因子GSPT/eRF3とポリA結合蛋白質(PABP)との相互作用を立体構造の見地から解明すべく研究に取り組んで参りました。本特定領域には、今年度から参加させていただくことになりましたが、これまで蛋白質を研究対象の中心に据えてきたこともあり、実際にRNAを大量に用意して実験を行うのは現在進行中の研究が初めてです。初めて参加しました8月の弘前でのRNAミーティングでは、懇親会后、2次会へ流れる塩見さんに路上で出会い、その関係で本稿の執筆の機会をさせていただいたのではと思います。まだ、大した武勇伝もありませんので、自己紹介を兼ねて、現在の研究までの経緯・モチベーションなどについて書いてみたいと思います。

私は、本学の修士課程まではX線結晶学を、その後5年半在籍した製薬会社および筑波大学・院・博士後期課程では伊倉光彦教授(現・トロント大学)の指導の下で蛋白質のNMRを学び、引き続き3年余りのアメリカ・メリーランド大学でのポストドク時代と、分子間の「相互作用」をキーワードにずっと生物物理化学・構造生物学に従事してきました。「物理化学」という分野は、「現象を出来るだけ簡単

な原理(式)に当てはめ、定量的に解釈する」分野であると理解しています。分子Aと分子Bが複合体ABを形成する反応について言えば、結合のモル比はn:mで、複合体A_nB_mの分子量はどれくらいになって、解離定数はどれくらいか、などということ、 $n \cdot A + m \cdot B \rightleftharpoons A_n B_m$ という式を仮定して、きっちり定量化する分野であると。「構造生物学」においても構造決定については、NMRで得られる原子間距離などの構造情報や結晶解析で得られるX線回折強度は、解析結果である立体構造とは一定の数学的関係にありますので、定量的と言ってよいでしょう。このような解析を行うには、解析対象となる分子を高い純度で、大量に(10mg程度)調製することが必要です。生体内とは多分に異なる環境ではあります。しかし、この非常に単純化した系において、その分子固有の立体構造と機能を「定量的」に明らかにすることができます。このような手法で分子の生物学的な機能を立体構造の見地から説明できた暁には、私のような単純な構造の持ち主には痛快極まりなく感じられます。また、生体高分子の立体構造をPC上で回転させたり拡大・縮小したり、疎水性・親水性/酸性・塩基性で色分けしたり、類縁分子と重ね合わせてみたりと、その分子認識機構などを想像しながら遊んでいると時が経つのを忘れてしまいます。

さて、メリーランド大学でのポストドクも3年目に突入し、

その間、大統領選挙のごたつき、911 航空機テロ、炭疽菌騒動、無差別連続 狙撃事件と記憶に残る出来事を身近に 体験し、プライベートでは娘の誕生(連 続狙撃事件の最初の殺人事件は、出産 の翌日に産婦人科から 2km のところで 起こりました!) などもあって、所得 税確定申告や医療保険制度、産婦人科・ 小児科にまで精通し、アメリカでの生 活にも随分慣れてきた平成 14 年の 11 月末に、嶋田一夫先生から助手のポジ ションのオファーを戴きました。翌 15 年の 3 月にイラク戦争開始直前に帰 国したあとは、嶋田研を卒業していく 学生さんの研究を引き継いで、星野・ 堅田両先生との共同研究に参画させて いただくことになりました。

図 1 には、真核生物の翻訳過程を示 します。転写後修飾を受け細胞質へ移 動した mRNA には各種因子が結合し、翻訳開始部位にリボ ソームが構成され、翻訳反応が進行します。リボソームが 終止コドン上に位置すると、tRNA に分子の立体構造がよく 似た eRF1 が終止コドンを認識し、さらに eRF1 には G 蛋白質である GSPT/eRF3 が結合し、新生ポリペプチドを加水 分解して解離させます。このあと、リボソームはサブユニ ャットに解離し、翻訳開始部位に再構成されます。最初に 研究対象とした GSPT/eRF3 は、N 端側の立体構造をとらない 200 残基の領域 (eRF3-N) と、C 端側の eRF1 結合・GTPase 活性を担うドメイン (eRF3-C) からなります。翻訳終結因子 としての機能は、eRF3-C により担われますが、eRF3-N は mRNA 3' 末端に存在するポリ A に強固に結合した PABP と相互作用することが星野先生により示されていま した。私達はさらに eRF3-N に存在する 2 つの領域 (PAM2 モチー フ 1 と 2) が、PABP の C 末端にある球状ドメイン PABC (図 2) と直接相互作用していることを見出し、この相互 作用を物理化学的、構造生物学的に明らかにしました。こ れについては、純粋に蛋白質間相互作用ですので、詳細は ここでは割愛いたします。

研究の興味は、PABC ドメインだけでなく、PABP 分子全 体へと拡張していきました。PABP 研究の歴史は長く、す でにいろいろなことが分かっています。図 2 に示すように、 約 640 残基からなる PABP は 4 個の RNA 認識モチーフ (RRM) と前述の PABC ドメイン、それらをつなぐ約 170 残基のリンカー領域からなります。4 個の RRM のうち、 RRM1 と 2 は全長 PABP と同等のポリ A 結合親和性 (解離 定数 $K_d=2-3nM$) を持ち、そのポリ A 結合様式は結晶構造 解析により明らかにされております。PABP 全長では、23-

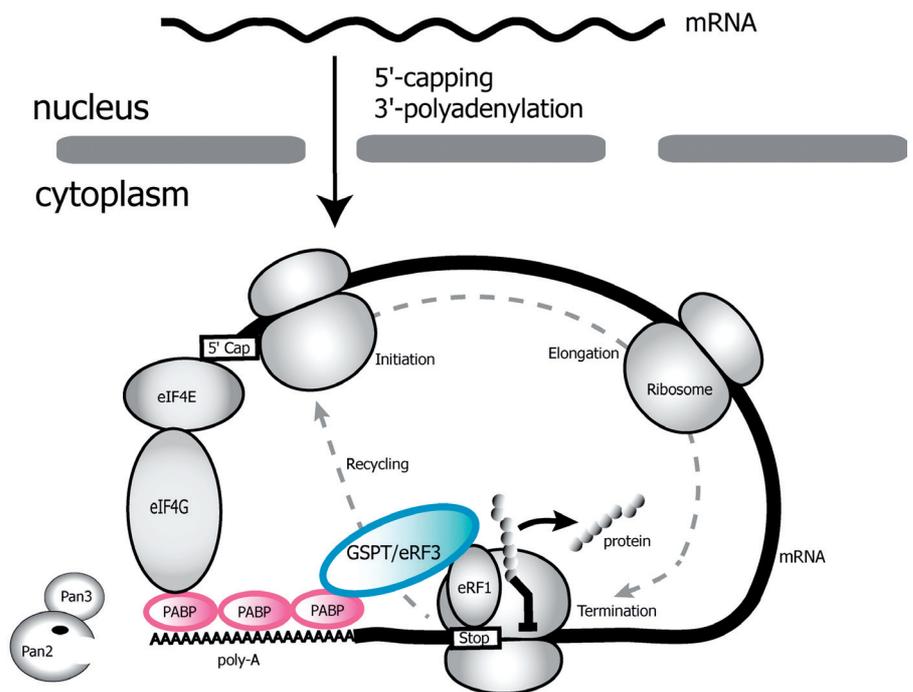


図 1 真核生物の翻訳サイクル

24 塩基を認識するとされ、PABP が結合したポリ A を RNase 処理すると 23-24 塩基の整数倍の鎖長のポリ A が他の鎖長より多く得られることから、PABP はポリ A 上にま ばらに存在するのではなく、互いに接触し密に詰まった状 態として存在していると考えられています。PABP 同士の 相互作用は RRM34 とリンカー領域で担われており、PABC は関与していないという報告もあります。一般に、mRNA の分解はポリ A の 3' 末端側からの分解・短縮から始まると されており、PABP はこのポリ A をしっかりと保 護しているのでしょう。

PABP は他の数多くの蛋白質とも相互作用することが知 られており、その相互作用部位も RRM (標的分子は eIF4G



初夏の外房にて

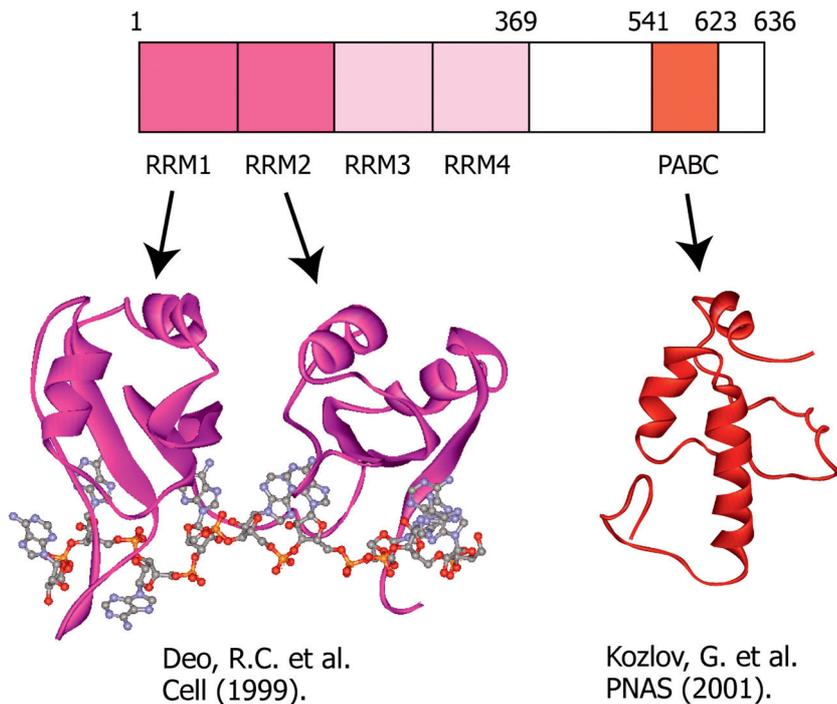


図2 ヒト PABP の構造

など)であったり、PABC (標的分子は eRF3, Paip など)であったりと多岐に渡っています。eIF4G は mRNA 5' 末端の cap 構造に結合する eIF4G と会合しており、3' 末端のポリ A 上の PABP との相互作用により mRNA は環状化しています。このことにより、翻訳終了後のリボソームは効率よく翻訳開始部位に再構成されと考えられます。一方、PABC においては、前述の eRF3 以外にも、よりによって PABP 依存性ポリ A 分解酵素である PAN 複合体とも相互作用します。PAN 複合体は、RNase 活性を有する Pan2 と、PABC 結合能を有する Pan3 のヘテロダイマーであり、Pan3 が PABC と相互作用することで高い特異性でポリ A を分解します。この PAN 複合体によるポリ A の短縮は、翻訳終了と共役した mRNA 分解として提唱されています。この共役は、PABP を保護しつつ分解にも手を貸す PABP があって初めて成立するのではないかと考え、現在、そのメカニズムを立体構造の見地から明らかにしたいと考えています。

例えば、200 塩基程度のポリ A 鎖が mRNA 3' 末端に付加しているとしましょう。そこには、8-10 分子の PABP が強固に結合しています。これらの PABP 分子はポリ A 上でどのように並んでいるのか？

PABP の研究の歴史は古く、真核生物の mRNA 3' 末端のポリ A に PABP が結合しているのは、この分野の方々なら常識なのでしょうが、上に挙げたような素朴かつ原始的な疑問にはいまだに答えが出ていません。大量に試料を用意して *in vitro* で解析を行う私たちの手法は決してエレガントではありませんが、試料調製法や解析法が発展してきた今、PABP 研究を最新の手法・技術で捉えなおし、皆様のお役に立てるような知見をご報告したいと意気込んでいます。

定量性および立体構造に基づく理解を求める私達にとって、PABP はまだまだ数多くの課題を与えてくれています。例えば、200 塩基程度のポリ A 鎖が mRNA 3' 末端に付加しているとしましょう。そこには、8-10 分子の PABP が強固に結合しています。これらの PABP 分子はポリ A 上でどのように並んでいるのか？ eRF3, Paips, Pan3 はポリ A 上のどの PABP と結合しているのか？ (どの PABP でもいいのか？いや Pan3 は 3' 末端の PABP と相互作用するはず!?)、PABP はポリ A に強固に結合しているのに、PAN はどのようにしてポリ A を分解するのか？ポリ A 分解の際には、PABP のポリ A からの解離が先か、PAN による分解が先か？ eRF3 は PAN と直接相互作用するのか？ (同じ PABP と相互作用するのか?) などなど、疑問・興味は尽きません。

プロフィール
1994 年東京大・院・薬系にて修士(薬学)取得後、山之内製薬(株)研究員。1999 年筑波大・院・生物工学学際カリキュラムにて博士(学術)取得。メリーランド大ポスドクを経て 2003 年より現所属。助手。

大澤 匡範
Masanori OSAWA
(東京大学大学院薬学系研究科)

◆ 随筆：RNA and I ◆

初めての RNA 研究

前 仲 勝 実 (九州大学生体防御医学研究所)

私は学部生からこれまで RNA 研究との関わりが少なくない研究室で研究を行ってきたにも関わらず、2001年に共同研究をスタートするまで RNA を研究対象とすることはなかった。学部生のときは東大工学部の三浦謹一郎先生の研究室、大学院時代は渡辺公綱先生の研究室であり、研究室の中ではいずれも RNA の研究を行っていたが、私自身は熊谷泉先生のご指導のもと RNA ではなく、蛋白質工学の研究を行った。また、同時に共同研究先の蛋白質工学研究所の松島正明先生と森川耿右先生の研究室に出入りし、X 線結晶構造解析に取り組んだ。学位取得後からイギリス留学の間はオックスフォード大学の David Stuart 教授 (RNA ウィルスなどのウィルス丸ごとの結晶構造解析)、Yvonne Jones 教授 (免疫系レセプター群の結晶構造解析) の研究室で、免疫系レセプター群の X 線結晶構造解析を行った。その後、遺伝研へと異動したが、RNA との直接的な接点はなかった。しかし、2001年にたまたま、ある大きな国際学会 (これも RNA とは関係がない) に参加した際に、東大工学部の先輩である仏国 CNRS の吉澤聡子博士の研究室に訪問する機会を得た。その時、吉澤博士と Fourmy 博士から本申請の研究課題である mRNA を認識する伸長因子

SelB の結晶構造解析をしないかとお誘いを受け、共同研究をスタートさせることになった。そしてようやく初めて RNA 分子に取り組むことになったわけである。

これまでに在籍した研究室での耳学問で RNA は不安定ですぐに分解されるので、実験器具や机などあらゆるものを RNA 専用にしなければならないという恐怖感が植え付けられていた。まず、エタノールで拭くなどして、実験机周りを片付けた。仏国からサンプルが届くと、おっかなびっくりで箱を開け、チューブを取り出した。サンプルを結晶化のプレートにセットするまでは口を開けるのも許されない、余計な緊張のため、普段やらないミスをしそうになり、慌てる、(蛋白質は良かったなどと分けのわからない後悔の念まで抱く) など最初は本当に慣れない作業に戸惑った。もちろん現在は少しましではあるが、相変わらず恐怖感が残っている。プロジェクトがスタートして1年ほどの間は、大腸菌 SelB とこれを認識する mRNA ヘアピンとの複合体の結晶化を進めていた。結晶が出るにも関わらず、いい回折像の得られる結晶はなかった。苦しんでいる最中、EMBO Journal に SelB 単独の構造が報告され、少し

落胆した。常に競争にさらされ、一喜一憂することも多いが、競争に負けそう、あるいは負けるとわかったときにいつも思い出すのは、私のイギリス留学時代のボスであった David Stuart の言葉である。留学当時、私の競争相手がかなり研究が進んでいるという情報が入った段階でどのようにしようかと悩み、彼に相談に行った。そこで、彼は”取り組んでいる研究対象が本当に興味深いと思うのであれば、続けるべきだ。私ならそうする。”と男気を見せられた。当然その言葉にのせられ、その後迷いなく、研究を進めることができた。結果は競争に負けたが、その後も現在に至るまでそのレセプター群に魅力を感じ、研究



Spring8 での X 線回折データ収集の際に撮った写真。左から 2 番目が吉澤博士、その右隣の中央奥が筆者、V サインをしている Rasubala 博士 (右から 2 番目)、右上の枠に尾瀬博士。

を続けている。彼のスタイルを見ると、競争の勝ち負けはもちろん考慮するが、その研究対象がいかに大切に興味深いかを十分に吟味し、さらに一度対象として選んだ後は、ぶれなくとことん研究を進める。その結果、他の追随を許さないような結果を収める。そこまでの域に達するのはかなり難しいと思うが、研究スタイルとしてそうありたいと思っている。

さて、SelB の話に戻るが、単独構造での競争には負けたが、本来機能的複合体を理解しなければ、SelB の機能には迫れないと気を取り直して RNA との複合体に集中することにした。報告された構造は大腸菌ではなく、*M. thermoacetica* 由来のものであったため、吉澤博士と相談の上、思い切って mRNA との複合体も *M. thermoacetica* 由来を検討することとした

(この判断が結果的には良かった)。九州大学に異動後、幸い mRNA 結合最小ドメインと RNA の複合体の結晶化に成功し、結晶作りの名手であるポストドク研究員の Rasubala 博士が作製した結晶で 2.3Å の高分解能データを得ることができ、喜びいっぱいであった。しかし、実際の解析は、非対称単位に複数分子(後に決定した最終構造では3つの複合体に一つの SelB 蛋白質)が存在する難しい分子置換となった。解析でうまく行かないところに、ポストドク研究員として尾瀬農之博士(北海道大学理学部の田中勲研究室出身)が当研究室に加わり、解析をお願いした。彼は豊富な X 線解析の知識と持ち前のパワーを全開させ、泥臭い地道な作業の積み重ねの末、構造決定に成功することができた。初めて見る RNA の電子密度は本当に秩序だったらせん構造で、とても美しいと感じた。同時に RNA の大きさも実感した。蛋白質の構成単位アミノ酸に比べ、核酸 1 塩基が大きく、23 塩基の RNA が分子量 1 万の蛋白質に負けない存在感があり、印象的であった。少し細かくなるが、実際

初めて見る RNA の電子密度は本当に秩序だったらせん構造で、とても美しいと感じた。同時に RNA の大きさも実感した。蛋白質の構成単位アミノ酸に比べ、核酸 1 塩基が大きく、23 塩基の RNA が分子量 1 万の蛋白質に負けない存在感があり、印象的であった

通常見慣れていた蛋白質-蛋白質相互作用に比べると、全く様相が違い、RNA らせん骨格のリン酸部分を連続的に認識し、ほんの 1 塩基分だけが蛋白質のポケットにはまるという形になっていた

の SelB と mRNA ヘアピンとの接触面積はきわめて小さく、約 450Å² と小さなもので驚いた。通常見慣れていた蛋白質-蛋白質相互作用に比べると、全く様相が違い、RNA らせん骨格のリン酸部分を連続的に認識し、ほんの 1 塩基分だけが蛋白質のポケットにはまるという形になっていた。蛋白質-蛋白質相互作用でよく見られる大きな面での接触ではない認識であった。この結果は私の RNA の見方を変えたように思う。私の研究の柱の一つは免疫系細胞表面の受容体群の分子認識を立体構造解析(X 線結晶構造解析や NMR 解析)と生化学的解析を組み合わせて明らかにすることである。それを基に阻害剤等の設計を進め、最終的に免疫機能の制御を行いたいと思っている。今回の SelB-mRNA 複合体の構造解析から、RNA 分子の小さな接触面積で十分な結合を得ることができ、免疫系受容体の阻害剤の開発ができないかと考えている。

今後は SelB 分子の機能がまだまだ不明である部分が多いので、これを中心に解析を進めるが、将来的には上述のような RNA 分子の応用にも取り組んでいきたいと考えている。最後に私は RNA の研究をまだ始めたばかりです。皆様のご指導のほどどうぞよろしく願いいたします。

プロフィール

1996年3月 東京大学大学院工学系研究科博士課程修了。日本学術振興会特別研究員、ヒューマンフロンティアサイエンスプログラム(HFSP)長期博士研究員(オックスフォード大学)、国立遺伝学研究所構造遺伝学研究センター助手を経て、2002年10月より九州大学生体防御医学研究所助教授。

前 仲 勝 実

Katsumi MAENAKA

(九州大学生体防御医学研究所)

◆ 随筆：RNA and I ◆

ウイルスが大豆の上に絵を描く

千田峰生 (弘前大学遺伝子実験施設)

弘前大学遺伝子実験施設の千田と申します。弘前でRNA学会に参加発表した縁でRNA network newsletterに何か寄稿をと依頼されました。私、恥ずかしながら、(弘前大学で開催されることは知っていましたが)RNA学会についてあまり知らなかったのと開催日の前日まで北海道でダイズのサンプル収集をする予定だったため、当初RNA学会は参加するつもりはありませんでした。それが発表申し込み締め切りの翌日朝、裏の大会委員長であったU先生から恐怖の内線電話・・・曰く、「千田さん、発表申し込みがないけどどうなっているの？今まで(表の大会委員長である)武藤先生に世話になっていてそういうことが許されるわけ？」次の瞬間、「あっ、講演要旨もすでに書いてあるのですが申し込みを忘れていました。すみません。」とありもしないことを口走っておりまして。その日、夜の飛行機で出張だったため、泣く泣く数時間で講演要旨を書き上げ、裏の大会委員長に送って事なきを得た次第です。当日、ポスター発表の際は夜行で北海道より戻ってきたため、終始ぼーっとしておりました。RNA学会は人数的には中規模の学会ですが、その分、非常にレベルが高く、密度の濃い学会との印象を受けました。RNA研究の進展に伴い、ますます拡大発展していくのではとRNA学会の今後に期待しております(実際そうなるかと確信しております)。

ところで、私がRNA研究を行うきっかけとなりましたのは10年前にさかのぼります(RNA研究といってもノーザンハイブリダイゼーションのレベルなのでおこがましいですが)。ドクターコースを終え、弘前大学に赴任してきたものの、さしたる研究テーマもなく、苦悶の日々を送っておりました。中身のない頭で考えても何も出てきません。考えたあげくの結論は「まわりの研究環境を見て一番近いものをテーマにする」。当時、うちの助教授先生がダイズのカルコンシンターゼ(CHS)遺伝子を紫外線防御との関連で研究を行っており、CHS遺伝子クローンが整っておりました。CHSはアントシアニン色素生成にかかわるキーエンザイムでもあり、ダイズで色と言えば「花より団子」ならぬ「花より大豆」です。このような短絡的な理由で大豆の色とCHS遺伝子について研究を始めることになったわけです。大豆は、黒豆、茶豆、赤豆、青豆、黄豆のようなさ

まざまな色的大豆があります(図1)。正月に煮豆で食べる黒豆は大豆だということを知っていますか？枝豆は大豆だと知っていますか？余談ですが飲み屋で食べる枝豆は本当においしいでしょうか？地元にはその風土にねざした在来種というものがあります。在来種の枝豆を食べてみて下さい。本当においしいです。そのもっとも良い例が山形の「だだちゃ豆」ですが、私の住んでいる青森にも「毛豆」という在来の枝豆があります。話はもとに戻ります。大豆はさまざまな色があるといいましたが、黄色い大豆である

黄豆はなぜ黄色いのか？それは大豆の皮が着色されず半透明状態で中身の黄色い子葉部分が透けて見えるからです

黄豆が一番メジャーであり、大豆といえば黄豆といっても過言ではありません。黄豆はなぜ黄色いのか？それは大豆の皮が着色されず半透明状態で中身の黄色い子葉部分が透けて見えるからです。黄豆の種皮では着色色素合成のキーエンザイムであるカルコン合成酵素(CHS)の活性が低下しており、その原因がCHS mRNA量の減少による

ことがわかっていましたがその詳細はわかっていませんでした。我々はその原因がCHS遺伝子の転写後型ジーンサイレンシング(PTGS)によることを明らかにしました。今までPTGSはウイルスに対する防御機構であり、ウイルス感染・増殖によって誘導されると考えられてきましたが、黄豆では種子形成期にendogenousなPTGSが起き、種皮着色が抑制されることがわかったわけです(図2)。それではendogenousなPTGSは何によって誘導されるか？1923年秋田県大曲(大仙市)にあった旧農務省陸羽支場の永井と



図1 様々な色的大豆(黄豆, 黒豆, 茶豆)とSMVが黄豆に描いた模様

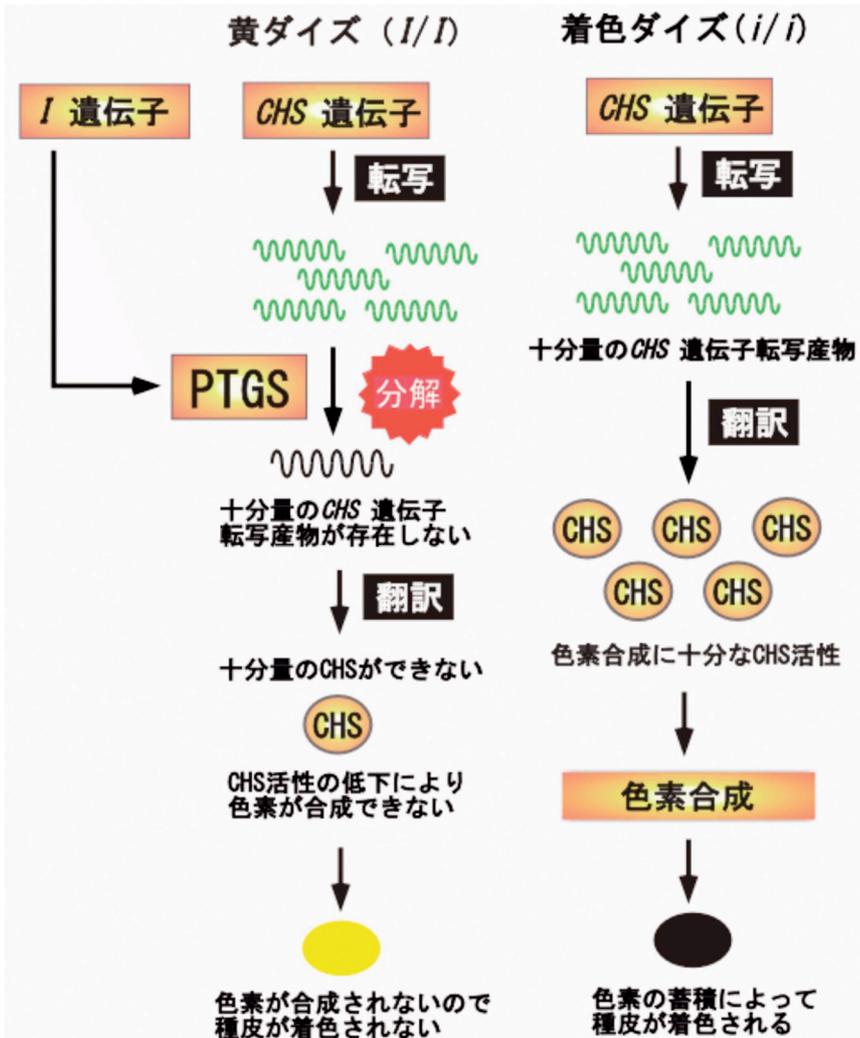


図2 黄ダイズ (黄豆) における種皮着色抑制のしくみ

という方が黄豆の種皮着色抑制は I 遺伝子に支配されていることを世界に先駆けて明らかにし、現在、I 遺伝子と呼ばれています。この I 遺伝子が黄豆における CHS 遺伝子の endogenous な PTGS を誘導するようです (I 遺伝子の PTGS 誘導機構については今回省きます)。

「黄豆における種皮着色抑制は CHS 遺伝子の endogenous な PTGS による」ことが明らかになったことで、ある重要な現象がなぜ起こるかについて明快な答えが見えてきました。それは「ダイズモザイクウイルス (SMV) などのウイルスが感染したとき、なぜ大豆の上に模様ができるか？」についてです (図1)。ウイルスの描く模様は豆それぞれでなかなか趣があります。この斑紋症状は古くから知られ、黄豆の商品価値を下げる原因となっていましたが発症のしくみについてはまったくわかりませんでした。興味あることに斑紋を発症するウイルスはいずれも PTGS を抑制するサブレッサータンパク質を作り出すことから、黄豆における斑紋症

皮肉なことですがダイズに甚大な被害をもたらすウイルスが大豆の上に絵を描くことによって「黄豆における種皮着色抑制は CHS 遺伝子の endogenous な PTGS によるのだよ」と証言していたのでした

状の発症のしくみが明らかになりました。すなわち、黄豆の種皮部分にウイルスが侵入→ウイルスが作り出すサブレッサータンパク質によって CHS 遺伝子の PTGS が抑制される→CHS 遺伝子転写産物量の上昇に伴って CHS 濃度が上昇する→CHS 活性の上昇により色素が作り出された部分が斑紋となる、というわけです。皮肉なことですがダイズに甚大な被害をもたらすウイルスが大豆の上に絵を描くことによって「黄豆における種皮着色抑制は CHS 遺伝子の endogenous な PTGS によるのだよ」と証言していたのでした。

現在、私は分子生物学の端くれをやらせていただいておりますが農学部出身の農学者であることを自負しております。最後に農学者としての戯言を述べさせて頂き、終わらせたいと思います。最近、農という名前は流行らないらしく、各大学で消滅しております。確かに農学に関する研究は(他の理系分野である)理学、医学、工学分野の研究に比べ、華やかではありません。でも農学は人間の生存に最も重要な「食」を担っており、今まで日本の食糧増産に貢献してきたのは事実です。ご存じの通り、日本は食糧自給率が約40%でその半分以上を海外に依存しています。「食糧なんて海外から輸入すればいいじゃないか？」とおっしゃっている人々がおりますが、輸入農産物が十分量入ってくるのは日本通貨である「円」が依然強いからです。でも現在の日本の財政状況で「円」が強いままでいられるでしょうか？ましてや中国が食糧輸入国になるかもしれない今日この頃です。私はやはり自国民が食うに困らぬための食糧自給の確保が必要だと思うのです。

BSEや遺伝子組換え作物を論じている前にそのことを真剣に考えなければならぬのではないのでしょうか？餓死してしまつては元も子もありません。先ほど述べた在来種だけではありませんが地産地消の推進も重要です。マスコミが一時期遺伝子組換え大豆で騒いでおりましたが、私は遺伝子組換えの是非よりもそれで日本の国産大豆が見直されて国内自給率が上昇すれば素晴らしいことだと思つた(実際そうだったのかは定かではありません)。それでは農学があれば日本の食糧自給が解決するのかといわれればそれはNoです。でも、農学を重視し、地産地消を奨励する風土が日本にもあれば今よりは食糧自給率は増加するでしょう。ただし、農



うちの弱小研究室を支えてくれている学生さんと私です。学生さんは卒研究生が主体です。横に青森特産のリンゴ、後に弘前の象徴である岩木山が写っております。今年も大豆収穫がすべて終わらぬまま、雪が降ってしまいました。ドカ雪になる前に収穫しないと大豆が雪に埋まってしまう。急がねば。

学を研究する人も開き直っているのではなく最先端の研究をとりいれて実践していく必要はあると思います。これを読まれた理学、医学、工学分野の方が農学の存在意義について少しでもご理解いただけたらありがたいです。

プロフィール

1993年北海道大学大学院農学研究科博士後期課程修了、博士（農学）。日本学術振興会特別研究員を経て、1994年より弘前大学遺伝子実験施設助手。

千田 峰生

Mineo SENDA

(弘前大学遺伝子実験施設)

◆ 随筆：RNA and I ◆

RNA とウイルスと私

中原 健二 (北海道大学大学院農学研究科)

題は理想の夫婦像(?)を歌った曲に似せていますがどちらかといえば研究バカの雑談におつきあいいただけたら幸いです。この執筆依頼がきたのは、カンキツのウイロイド、リンゴのRNAウイルス、ショウジョウバエのRNAi、そして現在、豆のRNAウイルスの研究と、RNAとずーっとつき合ってきたからでしょうか。でも僕は自身の研究歴をフルーツつながりだと思っているのですが。

方法開発の極意

学部・大学院時代はウイロイドとつき合い、その仕事で学位を取得しました。ウイロイドは300塩基程の環状1本鎖RNAから成る病原体で高等植物に感染します。タンパク質はコードせず、植物の機能を利用して複製して感染個体内を移行します。今、流行りのnon-coding RNA(ncRNA)の一種ですね。そしてmicro RNA(miRNA)との関係を想起させてくれます。というのも感染個体内で形成する不完全な2本鎖RNAの棒状構造が、まさにmiRNAのprecursorを2つくっつけたような感じなのです。そして、ウイロイドの病原性に深く関わる領域がprecursorにおけるmiRNAに

切り出される部分だったりします。だから、ウイロイドがmiRNAの関わる遺伝子発現制御に何らかの影響を及ぼしたり、miRNAそのものとして働いていたりなんて空想は容易に浮かぶのです。残念ながらその解析に適したシロイヌナズナやイネに感染するウイロイドが見つかりません。しかしながらトマトにはいくつかのウイロイドが感染して様々な病原性を発揮します。ミニトマト、Micro-Tomのゲノム解析が進んでいるので、早晩、上記のようなことが明らかになるのでしょうか。

ところで僕が大学院で研究した内容は日本のカンキツに存在するウイロイドを探索してその診断法を確立するという博物学的な、正直、僕の好みの研究ではありませんでした。が、取り組んでみれば面白い発見もあるし、乗り越えないといけない壁もあるしでそれなりに没頭させてもらいました。その中で最もこぼったのはPCRを用いた診断法の確立でした。これで方法開発ということがどういうことか体得したような気がします。果樹が保毒するウイルス・ウイロイドの濃度というのは一般に低くPCRを用いた高感度の診断法が必要です。ところがカンキツからPCRに適

した核酸試料を抽出することは結構難しいのです。カンキツから定法通り核酸抽出すると最後のエタノール沈殿の後に透明なゲル状の沈殿物が残ります。おそらく多糖類でRT-PCRを阻害します。この夾雑物を取り除くために格闘したわけです。失敗の連続で嫌になったのですが、失敗の山は決して徒労ではなく、だんだん実験に対して皮膚感覚とでもいうような多角的な感覚が身に付いて実験の質が向上して的確な改善策をとれるようになったと思います。マキャヴェッリが天国へ行く最良の方法は地獄への行き方を熟知することだと言ったと思いますが、それに倣えば、方法開発の極意は失敗する方法を熟知することだと言えるかもしれません。

豆知識

女王、卑弥呼が治めた邪馬台国についての記述も含む中国の史書「三国志」の書かれた西晋の時代（3世紀）、学者、郭義恭が書いた辞書『広志』に「……朱提・建寧に生ず。大豆に黄落豆有り、御豆有り、その豆角（さや）長し。楊（やなぎ）豆有り、葉は食うべし」とあります。この“黄落豆”というのが人類最初のRNAサイレンシングに関する記述であり、RNAサイレンシングを利用した最初の例かもしれません（もしこれ以前にRNAサイ

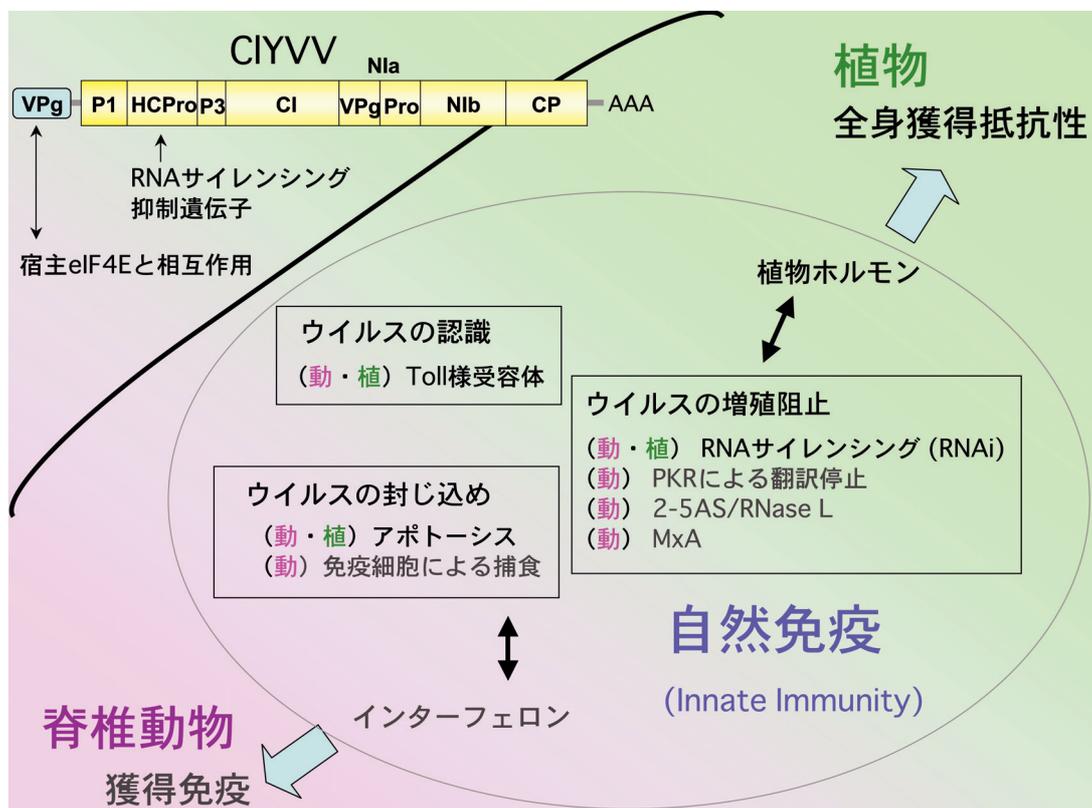
失敗の連続で嫌になったのですが、失敗の山は決して徒労ではなく、だんだん実験に対して皮膚感覚とでもいうような多角的な感覚が身に付いて実験の質が向上して的確な改善策をとれるようになったと思います

方法開発の極意は失敗する方法を熟知することだと言えるかもしれません

レンシングを記述した例をご存じの方、knakahar@res.agr.hokudai.ac.jpまでお教えいただけたら幸いです。ダイズは色によって黄ダイズ、黒ダイズ、青ダイズに分けられます。

黒ダイズは、おせち料理でよく見かける、「黒豆」のママのことで。皆さんがダイズと聞いて連想するのはおそらく黄ダイズで、醤油、味噌、納豆、豆腐などの原料になるママです。実はこの黄ダイズは野生種であるツルマメのアルビノ変異体から派生したのではないかと考えられ、最近、種皮の色素合成酵素 chalcone synthase の発現が転写後ジーンサイレンシングにより抑制されていることを隣の研究室の増田教授・弘前大の千田博士のグループが証明しました（詳しいことは千田博士のホームページを参照下さい <http://nature.cc.hirosaki-u.ac.jp/gene/sendai/sendai.html>）。つまり、古の中国でこのRNAサイレンシングの関わる変異体が選抜され栽培化された可能性があるのではないかと思うのです。

これほど昔ではありませんが植物ウイルス学者もかなり以前から知らずに、というか薄々感づきながら利用してきました。だから（負け惜しみですが）植物ウイルス学者にとって、Fireら（1998年）が線虫を用いてRNA interference (RNAi)として2本鎖RNAによって誘導されるRNAサイレンシングの存在を初めて証明したこと



は想定内だったのです。確実な例は、ウイルスの遺伝子を導入した形質転換作物です。Beachy のグループ (1986) がタバコモザイクウイルス (TMV) の外皮タンパク質の遺伝子をタバコに導入して TMV に対する抵抗性を付与したのが最初だと思います。そして、その後の研究で、導入したウイルス遺伝子の mRNA の蓄積が確認できない形質転換体やタンパク質に翻訳されないように改変したウイルス遺伝子を導入した形質転換体で示された高いウイルス抵抗性は、導入ウイルス遺伝子に対して誘導された RNA サイレncing が後に侵入しようとしたウイルスを攻撃したことを示唆する例といえます。実はこの研究戦略の元になった

別の利用例があります。弱毒ウイルスと呼ばれる植物に用いるワクチンで、予め感染させておくと後から侵入しようとする野生の強毒ウイルスを防ぐことができます。これは近縁 2 種のウイルスが重複感染すると、一方のウイルスが他方のウイルスの増殖を抑制する“干渉”と呼ばれる現象を利用したもので、これも全てとは言いませんが RNA サイレncing が関わっていると今は思われています。反対に重複感染で病徴が激化する現象 synergism も古くから知られています。この一部も RNA サイレncing で説明できます。この場合は一方のウイルスがコードする RNA サイレncing 抑制遺伝子による効果が他方のウイルスの感染・増殖を助けるので、単独感染に比べてウイルスの病徴が激化するのです。このように植物とウイルスの間では、RNA サイレncing が関わる現象が古くから観察され利用されてきました。これに対して動物のウイルス防御における RNA サイレncing の役割は最近やっと明らかになってきたことを考えると、ほ乳類のような獲得免疫を持たない植物にとって RNA サイレncing はウイルス防御のためのまさに本丸なのでしょう。

ほ乳類のような獲得免疫を持たない植物にとって RNA サイレncing はウイルス防御のためのまさに本丸なのでしょう

何かの本に研究戦略の優れた突然変異体スクリーニングでは変異体番号が 3 桁になる前に目的の変異体が得られるというジンクスがあると書いてありました

というわけで植物ウイルス学者の端くれとして筆者も競争の厳しいフィールドと知りつつチャレンジすることにしました。秋田県立大学に助手として異動してから、ちょっと奇策ですが植物ウイルスが持つ RNA サイレncing 抑制遺伝子の作用についてショウジョウバエを用いて解析することにしました。途中で、留学のために中断しましたが、現在、鋭意進行中です。

良い突然変異体スクリーニングとは？

以前、何かの本に研究戦略の優れた突然変異体スクリーニングでは変異体番号が 3 桁になる前に目的の変異体が得られるというジンクスがあると書いてありました。ところで、僕は Richard Carthew 教授のラボ (ノースウェスタン大

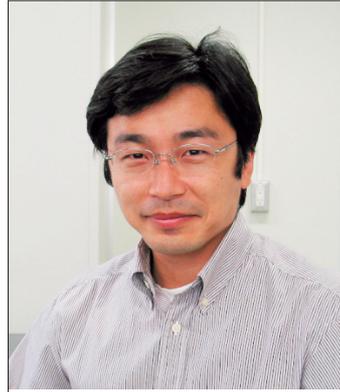
学) で RNAi 変異体のスクリーニングをしてきました。ここでプチ自慢です、僕が拾ったショウジョウバエの *Dicer-1* 変異体 (RNase III の仲間で RNA サイレncing に関わる短鎖の 2 本鎖 RNA 形成で中心的な役割を果たす) は何番目だったでしょう？その変異体は D14 と名付けたのですが、実は突然変異誘導に用いる EMS の濃度を定める予備試験中に D13 まで拾っていたので、本スクリーニングで拾った 1 番目の変異体が *Dicer-1* の null 変異体でした。しかしながら、それ以降、(RNAi 活性を目の色で判別したので) 16 万匹のハエと見つけ合い、800 以上の変異体を拾ったのですが二度と *dicer-1* 変異体に会えませんでした。まさに

最初に最後の *dicer-1* 変異体だったのです。それもそのはずで、この仕事で分かったことですが RNAi ではショウジョウバエが持つもう一つの *Dicer*, *Dicer-2* が主要な因子で、*Dicer-1* は別のサイレンシング経路の miRNA 形成を担っていたからでした。こうしてやっと、否すぐに

得られた *Dicer-1* 変異体ですが、当然、劣性致死で変異がホモの卵さえほとんど得られない (この変異体の解析で分かったことですが生殖細胞系幹細胞の分裂維持に miRNA が関わっているためです)、さらに、変異により ORF の中程に stop コドンができたことによる NMD のためか、その mRNA も得られず、変異部位の同定や変異体を用いた *Dicer-1* の機能解析はショウジョウバエ分子遺伝学のトリックを用いてもかなり大変でした。そんな時、お世話になったのが Carthew ラボのポストドク仲間、東大薬、名取研出身の山口真二さんと東大の生化、西郷研出身の林貴史さんです。Young-Sik も含めてポストドク仲間の 3 人はみんな優秀で山口さんは wnt シグナルに関わる Chibby の解析や RNAi が翻訳と共役して起こるなど重要な研究成果をだされていますが、何よりこんなに働く人を見たことがありません。また、林さんはアメリカに来てからボスの Rich と連名で Nature に article として論文

を掲載しましたが、そのデータはほとんどアメリカに来る前に仕上げていたと思います。内容は複眼形成に必要な物理的な力を得るためにカドヘリン遺伝子が (あたかも触媒のように) 利用されているというような話だったと思います。確か Method にシャボン玉の作り方を載せていたと思います。そして比較対照となる僕にはちょっと辛かったのですが、Young-Sik の実験テクニックはピカイチで誰もまねできないほどです (再現性がないということではありません)。てなわけで相対的に劣等生ポストドクだった僕ですが、Rich は 2 年間、置いてくれて、別れ際には「君の遺伝学のセンスは惜しいよ。」なんてよく分からない褒め言葉(?) を言ってくれました。

それから現在まで北大農学部の上田一郎教授の研究室の助手として上田先生や学生さんたちと豆のRNA ウィルス、クローバー葉脈黄化ウイルス (CIYVV) の豆に対する病原性、それに対する宿主植物の抵抗性について生き生き研究させていただいています。中屋敷さんに続いて、ジブリから言葉を借りるとすれば、「土から離れては生きられないのよ」という心境ですね。ただし、今もそうですが必要とあれば飛行石（他の生物系）も併用していくつもりです。最後に我々の研究フィールドを動物の防御システムと対比して簡単に図示してみました。植物にも高度なウイルス防御システムがあり、多岐にわたるエキサイティングな研究ができます。いかがですか？



プロフィール

1997年北海道大学大学院農学研究科農業生物学専攻博士課程中退後、農林水産省果樹試験場リンゴ支場・特別研究員。1999年秋田県立大学附属生物工学研究所・助手、2002年イリノイ州ノースウェスタン大学生物化学・分子生物学・細胞生物学科・博士研究員を経て、2004年から現在、北海道大学大学院農学研究科・助手。1999年博士（農学）を北海道大学で取得。

中原 健二

Kenji NAKAHARA

(北海道大学大学院農学研究科)

◆ 随筆：RNA and I ◆

コサプレッションの謎は謎のまま？

児玉 浩明 (千葉大学園芸学部)

これを読まれているみなさんにはおなじみの siRNA は、意外にも植物の研究から発見されたものです。その研究の発端は、1989年から1990年ごろに相次いだ形質転換植物の不思議な表現型の報告です。植物への遺伝子導入方法が確立されると、特定の形質を植物に付与させるため、ターゲット遺伝子の過剰発現を目的とした形質転換植物が多くの研究室で作出されるようになりました。その不思議な表現型とは、例えば赤い花の色素であるアントシアニンの合成に関与する遺伝子を用いて、過剰発現を期待してペチュニアを形質転換すると、一部の植物では花の色が赤くなるどころかアントシアニンが作れずに白くなってしまうというものです。この現象では、導入遺伝子とともに塩基配列で相同な内在性の遺伝子の両方の発現が抑制されていることから、コサプレッションと呼ばれるようになります。今では、コサプレッションは siRNA を介した RISC による塩基配列特異的な RNA の分解と説明されています。私がコサプレッションの研究に興味を持ったのは、1993年のことです。当時、私は九州大学にて「脂肪酸不飽和酵素遺伝子の発現調節による植物膜脂質の脂肪酸組成の改変」をテーマに研究していました。植物は多価不飽和脂肪酸を多く含むのが一つの特徴で、不飽和脂肪酸含量が増加する

と生体膜の相転移温度が低下するために、人為的に膜脂質の脂肪酸組成を改変できれば、幅広い温度に対してより適応した植物を作り出すことができるのではないかと考えられていました。そこでリノール酸を不飽和化して α -リノレン酸に変える酵素をコードする遺伝子を、タバコで過剰発現させてみました。すると、目的通りに α -リノレン酸含量が増加したタバコに加えて、逆に野生型よりも含量が低下したタバコも得られました。これはまさしくコサプレッションに相当する現象です。私は直感的にこれは面白い現象だと考え、その抑制機構を研究することにしました。そのころ、とある知りあいの先生に学会でお会いした時に、「今何を研究しているのか？」と聞かれたことがありました。私は実験結果を説明して「コサプレッションとよばれるこの現象は、大変面白いと思っているのですが」と言いましたところ、その先生からは、「そんなアーティファクト（人為的な副産物）を研究してもダメだよ。植物の本来の機能に関する研究しなくてはいけない。」と言われてしまいました。私は内心は、「生命科学の重要な研究のいくつかは、アーティファクトと考えてもおかしくない例外の研究から発展しているのに」と思いながらも、強くは反論できなかったことをよく覚えています。また当時は助手という身分で、

コサプレッションの研究に専念できる環境ではありませんでした。そのことも反論できずに弱気になった原因かもしれません（言い訳ですが）。それから10年がたち、今ではRNAiと言え、ほとんどの生命科学の研究者にはたごころに理解される状況となり、隔世の感が否めません。

さて、植物の分野ではコサプレッションを説明するために、「アンチセンス鎖、もしくはそれに相当するような情報を持った分子」の存在が予想されており、それがBaulcombeらによるsiRNAの発見（1999年）へとつながったわけです。今から考えると、そこまで考えられていたなら、人為的な発現抑制の方法として2本鎖RNAを導入してみようという発想があってもよかったですと思われる。RNAiの最初の報告となる線虫での2本鎖RNAの導入実験の報告をよんで、「一本、とられた」と思った植物の研究者は私だけではないと思います。

1998年に千葉大学の助教授として採用されましたが、自分のラボを立ち上げるのに苦労し、コサプレッションを含むRNAサイレンシングの研究をメインテーマとして自由に研究できるような環境になったのは、2-3年前からです。その間もコサプレッションの研究は細々と続けてきました。 α -リノレン酸含量の低下した形質転換タバコの解析を進めてみると、意外にも導入遺伝子からの転写産物と、内在性の遺伝子からの転写産物では、蓄積量が大きく異なるという結果が得られました。導入遺伝子の転写産物はかなり蓄積しているのに、内在性の遺伝子の転写産物は、ほとんど完全に消失していました。この結果から、これまでに報告されているコサプレッションとは根本的に異なる抑制機構が、脂肪酸不飽和化酵素遺伝子のコサプレッションでは働いていないのではないかと考えました。この結果を得た1997-1998年当時、すでにコサプレッションは塩基配列特異的なmRNAの分解によって生じると考えられており（まさに現在のRNAiです）、内在性の遺伝子と導入遺伝子との間で、転写産物の分解に大きな差があるとする私の実験結果に対して、コサプレッションの研究として肯定的にとらえてくれる研究者は多くはありませんでした。論文がなかなか受理されない状態が続いたため、すこし目先を変えて、脂肪

酸不飽和化酵素遺伝子によるコサプレッションの表現型の中でも特に器官特異的な発現抑制に焦点をあてて研究成果をまとめることにしました。 α -リノレン酸合成酵素遺伝子によるコサプレッションは器官特異的であり、葉ではコサプレッションにより大幅に α -リノレン酸含量が低下するのですが、根では逆に導入遺伝子が過剰発現して α -リノレン酸含量が増加しています。この表現型とsiRNAの分布との関連について調べてみました。すると、siRNAは葉でも根でも形成されており、siRNAが存在する状態でも発現抑制に至らないばかりか、導入遺伝子が過剰発現する

RISCによる塩基配列特異的なRNA分解以外の発現抑制のルートがコサプレッションにはまだ隠されていると私は思っています。その最大の根拠は、導入遺伝子と内在遺伝子のmRNAの分解の程度が大きく異なることです

ケースがあることが明らかになりました。レポーター遺伝子を用いたコサプレッションの研究とは異なり、もともと植物の核にコードされている遺伝子によるコサプレッションでは、器官特異的に発現抑制が生じる例がいくつか報告されています。これらの報告例では内在性の遺伝子の発現がコサプレッションの成立に重要な役割を果たしていることが示唆されています。興味深いのは、発現抑制が認められない器官においてもsiRNAの形

成は認められるという報告もあり、このようなコサプレッションではsiRNAが作られること、発現抑制が成立することの間にまだギャップがあることとなります。

ところで、この随筆のタイトルにある「コサプレッションの謎は謎のまま？」についてですが、そう実はRISCによる塩基配列特異的なRNA分解以外の発現抑制のルート



研究室のメンバー（の一部）。前列の男性が筆者。修士課程に在籍する学生が多い研究室なので、テーマとデータの引き継ぎが重要な課題です。

がコサプレッションにはまだ隠されていると私は思っています。その最大の根拠は、導入遺伝子と内在遺伝子の mRNA の分解の程度が大きく異なることです。器官特異的な発現抑制の論文を投稿した際、審査員の方から「内在遺伝子と外来遺伝子の間で抑制の程度が大きく異なるのは大変に興味深く、コサプレッションの研究として注目している」との励ましを受けました。それに気を良くして、現在、その正体を探るべく研究を進めています。このわくわくしている気持ちがあるうちはコサプレッションの研究を続けようと思っています。

プロフィール

1990年東北大学大学院理学研究科博士課程修了，理学博士。呉羽化学工業株式会社研究員，九州大学理学部助手を経て1998年より現所属。助教授 [千葉大学園芸学部]

児玉浩明

Hiroaki KODAMA

(千葉大学園芸学部)

◆ 随筆：RNA and I ◆

RNA 研究を始めて

程 肇

〔三菱化学生命科学研究所〕
ゲノム時間生物学

今年度より本研究班に班員として参加することになって、最初の活動として RNA 研究に関してのエッセイをと塩見さんからお誘いをいただいた。RNA 研究といわれても内実には完全な素人が、ひょんなことからこの分野に“新規参入”を果たそうと格闘しているのであり、他人からみたらそれは風車にむかって突き進むドンキホーテとあまりかわらないのかもしれない。しかも、このニュースレターは編集の方針のおかげからかのびのびと書かれている文章が多いため、この手の読み物にしては抜群にわかりやすかつもっとも重要なことに面白くもあり、第1号からひそかに愛読している。その読むかひのある雑誌に素人が RNA に関して一読に堪えるものをかけるかという、はなはだ疑問である。また、班会議にも参加していない段階で班員の皆様の興味を満足させるように書けるはずもないので、ずぶの素人が RNA を対象に研究を始めたきわめてパーソナルな顛末について書くことにする。そのきっかけは、哺乳類の概日時計遺伝子である *Period1* の転写後発現制御について興味をもったことから始まる。藪から棒に時計遺伝子といわれても面食らうのは当然なので、それが支配する概日リズムから進めていきたい。生物種では細菌から高等生物にいたるまで、たとえば高等生物では内的生理現象（体温、ホルモン分泌、神経活動）から行動（睡眠覚醒）にわたる生命活動には、

すなわち、自然環境の中ではあり得ない光サイクルの位相変化を可能とした技術の進歩と廉価化により、現代の病であるリズム障害が始めて顕在化してきたと考えられる

地球の自転時間にはほぼ等しい約 24 時間のリズムがみられる。これを概日リズムといい、体内そして細胞内にある概日時計の支配下にある。このリズムは光等の明暗サイクルに直接応答した結果ではなく、時刻を知るきっかけを与えられない時にでも自律的に正確な時間を刻んでいる。我々の体内に強固な体内時計が存在していることは、外国渡航時にしばしば体験する時差ぼけからも自覚できる。そしてこの概日時計を構成するタンパク質を支配する遺伝子を時計遺伝子というわけである。

話は飛んで、概日リズムは深刻な社会問題として取り上げられることが最近が多い。工場、病院や航空会社での昼夜交代勤務等、時間が不規則な勤務形態をとらざるを得ない人々に、不眠を含むリズム障害患者が多く見られる。これらの概日リズム障害を注意深く観察すると、い

ずれも高度に発達した科学技術に支えられた生活の都市化と密接に関係していることがわかる。太古の人々は主に歩行で地球上を彷徨したため、大陸間の移動は文明史的な時間のスケールで行われた。このような低速での地球経度間移動、または太陽公転に伴う日出と日没時間の季節変動に対してだけならば、概日時計に意識をむけないまま自身のリズムを難無く環境に同調できる。また、文明社会に特徴的な夜型生活を続ける人々と違い、夜間浴びる光はせいぜ

い月光蛍光雪明かりといった生活ならば、概日リズムが外界の明暗サイクルと脱同調することは滅多にない。すなわち、自然環境の中ではあり得ない光サイクルの位相変化を可能とした技術の進歩と廉価化により、現代の病であるリズム障害が始めて顕在化してきたと考えられる。リズム障害の発生は概日時計機構の進化速度と社会の発展速度の不一致に起因しているとも考えられる。もちろんだからといって、現代人が太古の人々と同じ生活様式でくらするものでもないことは明らかであるため、文字通り悩みで眠れぬ社会問題となっているのだが。

話を少しもどすと（まだRNAはでてこない）、哺乳類の概日時計で最も重要なのはなんといっても脳視床下部の視交叉上核（Suprachiasmatic Nucleus; SCN）神経細胞集団である。SCNを破壊すると、活動、体温、脳内電気活動、血中ホルモンであるメラトニンやコルチコステロン等のリズムがすべて消失する。驚くべきことに、リズムが消失した動物に別の個体のSCNを移植するとこれらのリズムは回復する。はたしてSCNは脳内で何をしているのだろうか。たくさんの疑問が噴出することを前提に現在までにわかっていることを極端に単純化してみた場合、SCNの神経電気活動（インパルス発射頻度）の日周リズムに加えて、実体は明らかになっていない分泌性の同調分子が、リズム形成に重要な機能を果たすことが示されている。そして、さらに重要なことは、SCN各細胞内に存在する概日振動体は、転写及び翻訳日周振動ネットワークを形成する概日時計遺伝子群の機能を基盤として成立することが明らかにされている。たとえば、*Period1*とよばれる遺伝子は、SCNで高い発現が見られ、12時間の明暗サイクルで飼育すると、明期にピークを持つ転写リズムが見出された。このリズムは暗闇で連続飼育しても継続することから自律的な形成機構により維持されていることがわかる。簡単にまとめると*Period1*の転写日周リズムは、bHLH型転写因子であるClock—Bmal1複合体による転写誘導状態と、Cryptochrome1またはCryptochrome2による転写抑制状態がほぼ半日おきに交代することで一義的に形成される。ちなみにこれらが時計遺伝子または時計分子としてよばれるのは、*Clock*、*Bmal1*、*Cryptochrome1*、*Cryptochrome2*、そして*Period1*変異体がすべて行動リズムに異常を示すからである。すなわち、この転写ネットワークが概日時計発振に必要である。最近SCNの細胞ばかりでなく、ほとんどの細胞にこの転写ネットワークが機能していることも明らかになってきているが、その詳細について今回はふれない。

SCNでの*Period1*分子の発現量は、mRNA量に比べて位相が約4—6時間も遅れた発現リズムを示す。その分子機構（mRNAの核外移送または翻訳の制御）ならびに生物学的意義は？

さて、紙面残り少ないがここからが本題、SCNでの*Period1*分子の発現量は、mRNA量に比べて位相が約4—6時間も遅れた発現リズムを示す。その分子機構（mRNAの核外移送または翻訳の制御）ならびに生物学的意義は？ ショウジョウバエの場合（とまた話があらぬところに着地したと思われるであろうがそうではありません）、*period*はやはり時計遺伝子として機能し、その発現リズムが概日リズムの形成に必須である。また、*period* mRNAと*Period*タンパク質の発現リズムにも約6時間の位相差がみられる。*period*の転写は、ショウジョウバエでもClock—Bmal1複合体により活性化されるが、その抑制には生成した*Period*タンパク質自身が機能する。幸いなことに(?)リズム発振現象は数理生物学者の興味をいたく刺激するらしく、概日リズムもそのよい研究対象となってきた。その解析によれば、*period*発現系の場合、自励振動と定義されるこのような振動は、負のフィードバック機構の機能発現に時間的なずれを与えることで発生しうる（らしい）。すなわち、*Period*による自律的なClock—Bmal1複合体に対する転写抑制機構だけでは、細胞内*Period*は平衡状態を保つことになり、*period*の転写日周発振を説明できない。ただし、事情を複雑にしているのは、哺乳類の場合*Period1*の転写を抑制するのは*Period1*自身ではなくCryptochromeである。哺乳類の*Period*タンパク質の分子機能は今のところ明らかでない。しかし、*Period1*の正および負の転写後制御には*Period1*の3'UTRと、や

はりショウジョウバエでは時計分子として機能するLarkが機能することがわかってきた。本研究班での課題は、Larkによる翻訳活性化を含めた*Period1*の転写後制御機構の解析を通じて、この翻訳日周リズムがもつ生物学的意義を明らかにすることである。何もかもわからないことでとまどうばかりある。班会議などあらゆる場で有益な議論と助言を切にお願いする次第である。



プロフィール

1990年三菱化成生命科学研究所特別研究員、1991年日本学術振興会特別研究員、1992年東京大学医科学研究所助手、2001年東京大学医科学研究所助教授、2004年より現職 三菱化学生命科学研究所主任研究員。

程 肇

Hajime TEI

（三菱化学生命科学研究所
ゲノム時間生物学）

脳と心と無意識，体内時計と覚醒と睡眠

桑 和彦

(熊本大学発生医学研究センター)

9月の終わり頃、塩見さんから執筆依頼を頂いた。他にも、締め切り間近の原稿をたくさん抱えていたため、丁重にお断りしようと考えた。しかし、お世話になっている塩見さんが、わざわざ連絡を下さったので迷った挙句、手抜きをする方法を思いつき、打診したところ、まあそれでもよかろうとの返信を頂いた。

というわけで、以下は、私が朝日新聞に連載したエッセイの原稿の流用である。

書き物をするのは大好きで、これまで、新聞・雑誌などに、いくつかエッセイを書いてきたが、多くは1600-2000字程度だ。2つほどのエピソードを入れて書くのが、ちょうど良い分量である。ところが、今回は、なんと500字ほどの文を4回シリーズで書けという。全体を、1つのテーマである程度一貫させ、なおかつ、各回、読み切りで楽しめる文を、原稿用紙1枚強で書くのは、意外に難しいものだった。書き下ろしでないと、お叱りを受けるかもしれないが、推敲を重ねて凝集した内容で、読みがいがあると思えば、あえて原稿のまま、転載する。さらに興味を持たれた場合には、他の文⁽¹⁻³⁾や、私のホームページ (<http://k-net.org/>) も、ご覧いただければ幸いである。

なお、連載は9月30日から夕刊科学欄の「波」というコーナー(関西方面のみ)に、毎週金曜の4回にわたって掲載された。レイアウトの関係で、原稿よりさらに短くされ、掲載順序も、3=>2=>1=>4と替わっている。各回のタイトルと、洒落たキャッチ(中見出し)の部分は編集者によるものである。

1. 「眠らぬハエ」 覚醒の原点 人間と共通

大学には病気の研究と診療の両方を行う医師が多い。私も睡眠の研究と睡眠障害の診療をしているが、言葉は同じでもお互いには実は関連しないと考えていた。研究材料が、人とはかけ離れたショウジョウバエだからだ。

高等動物は脳内での情報整理など高度な役割を睡眠に持たせたため、睡眠の意義はハエとは当然異なる。しかしハ

エにも外部刺激に対する感受性が落ちる点などから、睡眠と同等とみなされる状態がある。その制御機構や進化過程を知ることは、物質や遺伝子は異なっても、より高等な睡眠を知る上でも役に立つはずだと考え、研究を始めた。

ところが偶然見つけた、ほとんど眠らないハエを調べてみると、驚くべき事実がわかった。遺伝子の異常でドパミン・トランスポーターがなくなっていたのだ。人間でも、コカインなどの覚醒剤が、このトランスポーターの機能をダメにすることで、目を覚まさせる。同じ仕組みで、ハエも覚醒していることになる。

昆虫には背骨もなく、人間とは数億年前に袂を分かったが、この2種の動物が同じ遺伝子を使うということは、睡眠覚醒制御という本能行動の原点が、その時代にまで遡れることを示唆する。

人間の覚醒で一番重要なのは意識だ。ハエに心があるとは思わないが、同じドパミンが何を覚えてハエの覚醒を作り出すかは興味深く、今後の研究課題だ。

2. 「二つの睡眠」 金縛りのなぜ 解明

誤解している人が多いが、睡眠中も脳全体が休んでいるのではない。ノンレム睡眠中は、「眠らせる脳」である脳幹の睡眠中枢がせつせと働き、「眠る脳」の大脳皮質を眠らせる。睡眠中枢の機能まで止める深い麻酔や泥酔状態は、睡眠とは異なる。その証拠に、麻酔後は長く眠るし、二日酔いでも睡眠不足となる。過労やうつ病の不眠も睡眠中枢の疲れだ。

深いノンレム睡眠の時、大脳皮質は1秒に3~4回の遅い大きな波の脳波を出す。脳の活動・温度は下がり休息できる。長く眠らないと、眠気が亢進し、集中力が落ち、幻覚・幻聴も始まるが、睡眠不足症状の多くは脳の休息不足による。

もう一つの睡眠であるレム睡眠では、大脳皮質は休むどころか活発に活動し、目が動き夢を見る。しかし脳の出口

で出力が遮断されるので体は動かず、目を覚ますと金縛りになる。霊の仕事を科学が解明したわけだ。この遮断機構が老化などで壊れると、夢の中の行動が実行され、人格が変わったようなひどい寝ぼけ症状が出るが、本人は覚えていない。さらに記憶の情報整理なども行われレム睡眠は特別な機能を持つようだ。

心の問題、中でも意識や自己がどう作られるかは、現代の脳科学の中心課題だ。眠ると意識がなくなるのに、翌朝、どうやって元通りの自分が戻るのか？夢を見ている自己は、覚醒時の自己と、どのような関係なのか、睡眠には興味深い問題がたくさんある。

3. 「睡眠物質」 世界の研究者が模索中

睡眠は眠気により量の調節が行われる。起きていると眠くなり、眠ると眠気が覚めるという恒常性維持機構と、生物時計からの覚醒信号が眠気を決める二大要素だ。

草木も眠る丑三つ時と言うが、夜になると葉を閉じるオジギソウは、ずっと暗くしたままでも、昼には葉を開き、夜には葉を閉じる。この植物の観察から約24時間を刻む概日周期の生物時計が発見され、ほぼ全ての生物がこの時計を持つことがわかった。人間の場合は体内時計とも呼ばれ、脳の中心の脳幹部にある時計中枢が、いつ目を覚ますかを決めている。生物時計の遺伝子の仕組みはこの数年で一気に解明が進んだ。

一方、眠らないと眠気がどのような仕組みで増えるかは、実はまだよくわかっていない。断眠は死につながるとされるが、その理由にも謎が多い。

しかし断眠した動物の脳をすりつぶし別の動物に注射すると睡眠が増えることから、眠気を強める物があることはわかっている。世界中でこの睡眠物質を探す研究がされた結果、多くの候補が見つかったが、特に注目されているのがプロスタグランジンDだ。吹田市の大阪バイオサイエンス研究所の早石修先生は、その研究の中心で、京大退官後85歳を超える今も、元気に現役で研究を続けている。文科省の研究費取得者の最高齢記録も更新中とのこと。孫弟子である私にも、とても嬉しい話だ。

4. 「よい眠り」 悩みを断ち 生きる力再生

ショウジョウバエの睡眠の研究を始めた理由の一つは、

体内時計の遺伝子が人間と共通していることだ。体内時計が眠気を制御するので、徹夜明けでもすっきりした気分になれたり、逆に時差ボケで悩まされたりもする。こんな身近な行動を司る遺伝子がハエと同じというのも面白い。

睡眠外来では、どうすれば良く眠れるかをよく質問される。実行は難しいが、答は簡単で、良質の眠気を確保することが一番だ。

日中しっかり活動をして、肉体的にも精神的にも心地よい疲れを貯めなければ、良質の眠気は得られない。眠らせる脳を疲れさせてしまう過度のストレスや過労、遅い午後に昼寝などは、眠気を減らしてしまう。

体内時計を規則正しく機能させることも重要だ。体内時計は朝の光でリセットされるが、寝坊して夜更かしすれば遅れがちになり夜型になってしまう。

いびきの病気の睡眠時無呼吸症候群のような夜の睡眠中の睡眠障害もある。しかし、睡眠障害の原因は、夜だけでなく昼にも多い。生きがいが見つからなく元気がなければ、良い眠気は貯まらないが、これは昼の問題だ。

睡眠には悩みを一過性に忘れさせて、くよくよ悩み続ける悪循環を断ち切ったり、科学ではまだ説明しきれない「生きる力」を再生させる効用もあると、個人的には考えている。やはり睡眠は心と切り離せない。

眠ると意識がなくなるのに、翌朝、どうやって元通りの自分が戻るのか？夢を見ている自己は、覚醒時の自己と、どのような関係なのか

早石修先生は、その研究の中心で、京大退官後85歳を超える今も、元気に現役で研究を続けている。文科省の研究費取得者の最高齢記録も更新中とのこと

言い訳の補足

さて、RNA ニュースレターということで、少しだけRNA との関係にも触れると、私がショウジョウバエの睡眠の研究を始めたボストンのタフツ大学医学部の F. Rob Jackson 研では、概日周期の朝型に関与する遺伝子である lark や、人間の病気の遺伝子のホモログである、fmr1 (脆弱 X 症候群の原因遺伝子) の研究も行っていた。この fmr1 の研究が、塩見さんとの接点になった⁽⁴⁾。

「ハエの睡眠」というと、得体がしれないと思われる方も多いだろう。しかし、私たち人間が、単に目をつぶってじっとしている時と、本当に眠っている時の決定的な違いは、外部からの刺激に対する応答性であることを思い出して欲しい。狸寝入りしている人を、くすぐれば、すぐ笑い始める。居眠りしている学生は、目は半開きでも、冗談を言っても笑わない。

ショウジョウバエも、眠っているとみなしている状態では、実に鈍感になっている。私の研究室に見学に来た人に、実際に見せると、みな驚くほど、強い刺激を与えても、ハエたちは、それを無視して、じっとし続ける。もちろん、起きていると考えられる状態では、とても弱い刺激でも、すぐに反応して動き始める。その様子を見てみると、ハエにも、普段よりも反応性が低下している状態が、明らかに存在することがわかる。

そして、この状態が、概日周期リズムに制御され、カフェインやドーパミンという、私たちの覚醒レベルを調節する物質によっても影響される。とすれば、われわれの睡眠覚醒制御の原点が、ショウジョウバエと同じだという仮説も、満更、絵空事とも言えないのではないだろうか？

さらに夢想を膨らませば、われわれ脳科学者の究極の目的は、人間の心・意識の機構の解明であると言っても良い。そのために、人間とサル、犬などの高等動物と、昆虫などの下等動物の比較をするのが面白い。つまり、人間に「心」があることは自明としても、犬はどうだろうか？紙数の関係で、「心」を細分化した議論は書かないが、犬にも「心に近いもの」があると考え人は多い。言うまでもなく、犬にも意識のある状態とない状態、また、睡眠と覚醒という状態があることは、これまでの研究が証明している。では、もっと下等な動物はどうか？ハエに「心」はないとしても、「意識」はあるのだろうか？ショウジョウバエの研究者としては、われわれの研究が、「意識」という、科学的には定義さえあやふやな難解なものへのアプローチに、何らかの役に立てばよいと考えるわけである。

(1) 籾 和彦. 時間の分子生物学～時計と睡眠の遺伝子. 講

談社現代新書 (2003)

(2) 籾 和彦. 睡眠をケアする知恵と技. 看護学雑誌 69:434-475 (2005)

(3) Kume, K. *et al.* Dopamine is a regulator of arousal in the fruit fly. J. Neurosci. 25: 7377-84 (2005)

(4) Morales, J. *et al.* Drosophila fragile X protein, DFXR, regulates neuronal morphology and function in the brain. Neuron 34, 961-72(2002)



プロフィール

1987年 東京大学医学部卒。立川相互病院（内科・小児科初期研修）、大阪大学大学院（分子遺伝学）、東京大学医学部助手（細胞情報学）、ハーバード大学客員研究員（時間生物学）、タフツ大学客員研究員（神経科学）を経て、2002年から現職（熊本大学発生医学研究センター助教）。専門は分子生物学（生物時計と睡眠の研究）。睡眠障害の診療・睡眠学会睡眠医療認定医（くわみず病院）。インターネット上で睡眠障害相談室を運営（<http://homepage2.nifty.com/sleep/>）『時間の分子生物学』（講談社現代新書）で講談社出版文化賞科学出版賞受賞（2004年）。

籾 和彦

Kazuhiko KUME

（熊本大学発生医学研究センター）

◆ 海外からの便り ◆

相補性の彼方

川野 光興 (NICHD, NIH)

0. はじめに

昨年弘前で行われた RNA 学会で初めてお会いした塩見さんから、「個人的な思いの詰まった」エッセイならなんでもいいからと原稿の依頼を頂いたのが9月。締め切りが11月末日。この原稿を書き始めたのが12月10日深夜。相変わらず切羽詰まったぎりぎりの緊張感がないと始められな

い性格はまったく変わっておりません。美味しいものを後にとっておく人がいると思いますが、私はそのタイプです。と言っても遅れたことのなんの言い訳にもなっておりませんが、これから筆の赴くままに私の RNA 研究の歴史と想いを書き綴ってみようと思います。

1. アンチセンス RNA との出会い

いま振り返りますと、博士後期課程2年目のある日、暗室で見た1枚のフィルム上の結果が私をRNA研究の世界へ導いてくれたような気がします。その日は大腸菌のゲノム上に存在する Long Direct Repeat (LDR) と呼ばれる、約500塩基対からなる配列から転写産物がみられるかをノーザンブロット解析で調べていました。

LDRは大腸菌ゲノム配列決定後に同定された比較的長い繰返し配列で、ゲノム上に全部で4コピーあります。1つは複製開始部位の近傍、あとの3つは複製終結領域に直列に並んで存在しています。この領域は大腸菌ゲノムの最も長い遺伝子間領域(約1.6kb)と見なされていました。研究当初はその存在する部位から、大腸菌のセントロメア様配列ではないかという仮説で実験を進めていました。しかし、全てのLDRを欠損させてみても染色体分配に異常はみられず、細胞もなんの表現型も示さないので必須配列ではないということが判っただけでした。思いつく実験を散々行い、過剰発現で生育が遅くなるという表現型も得られましたが、その後の展開に行き詰まり、当時の指導教官であった森浩禎教授から「そろそろテーマを変えるか」という暖かいお言葉(?)も頂きました。私は、こういう段階になると、なにか見つけてやろうと異常にやる気がでまして、頭がやっと最短コースを選べるようになります。まだ行っていなかった実験をリストアップしたところ、LDRの転写を調べていないことに気が付きました。LDR内には、大腸菌遺伝子のアノテーション基準である50アミノ酸以上からなるORFはありませんでしたので、転写産物を調べるという実験は後回しになっていました。早速RNAプローブを作



靖国神社遊就館にてロケット特攻機「桜花」と一緒に：ここにいと、否が応にもアメリカの強さを実感します。その度に私の日本人としてのアイデンティティが頭を擡げ、この強さにチャレンジしたいという気にさせられます。昨年、約3年ぶりに帰国した際にこの特攻機に出会いさらにその思いを強めました。

製してノーザンブロットを行ったところ、プラス鎖とマイナス鎖から複数のバンドが確認できました。「なんだ、こんな事ならもっと早く調べておくんだった」と後になって言うのは簡単ですが、その発想が浮かんでこない人にとっては(浮かんできても、実行しなければ)それは無でしかありませんよね。その後の研究によって、それらの転写産物の一つは35アミノ酸をコードする非常に安定なmRNAで、もう一つはそのタンパク質の発現を転写後に調節する不安定なアンチセンスRNAであることが判りました。

このアンチセンスRNAの5'末端を決定するのにまたもや手間取っていましたが、森教授の「これを決めたらコールドスプリングハーバー研究所で行われるバクテリアのミーティングに参加させてあげよう」という言葉に奮起し、その後少し知恵をしばって戦略を変えたところ、なんとかミーティング参加締め切り日直前に決定することができました。このアンチセンスRNAはmRNAの5'-UTRと100%相補的であり、プロモーターもmRNA配列内に存在していました。所謂、シスにコードされたアンチセンスRNAです。このタイプのアンチセンスRNAはプラスミドやファージ、トランスポゾンなどエピソーム因子で多く見つかっていますが、バクテリア染色体由来としては最初の例ではないかと思われます。

2. 生命の基本的性質は相補性？

このアンチセンスRNAを同定してから、私の頭の中でむずむずとある仮説が浮かんできました。それは「mRNA配列の逆鎖が転写されると、その産物は完全にmRNAと相補的となり遺伝子発現の効率の良い制御因子になり得る」というものです。二本鎖DNAを遺伝情報として用いている生物が、こんな私でも思いつく秀逸な機構を採用していないはずはない、LDRだけにみられる特殊な現象であるはずがないと、この考えを友人に言いふらしているうちに私の中ではだんだんそれが確信になっていきました。

相補性という性質は、皆様ご存じのように、複製、組み換え、修復、転写、翻訳などで用いられ、子孫を残す、多様性を生み出す、細胞を作るといった生命現象の根本で見いだすことができます。男と女もある意味相補的ですしね。この頃から、タンパク質をコードしている全ての遺伝子を対象に、mRNA配列とは逆鎖のDNAが転写されているか調べてみたいと思うようになりました。

3. きっかけはコミュニケーション

以上のような経緯で参加したコールドスプリングハーバー研究所でのミーティングで、現在のボスに出会いました。私の拙い英語でのポスター発表を彼女が熱心に聞いて

くれるので、「なぜそんなに興味がおありなんですか？」と聞いてみたところ、「これから遺伝子間領域を対象に網羅的にノンコーディング RNA の探索を始める」とのことでした。ぱっとノートを広げそのアプローチを熱く語ってくれたのは印象的でした。ものの10分ぐらいの会話の後で一緒に研究をしませんかと誘って頂いたのですが、どこの馬の骨とも知れない外国の学生に簡単に声を掛けるのは、ここだけの話ですが、「どこか地方の小さな大学の研究室かな?」「個人的に僕に興味があるのかな?」と早とちりしてしまうほどでした。見かけもポストクのようにでした。次の日にPubMedで彼女の論文を調べてビックリ、大腸菌のノンコーディング RNA 研究で有名な NIH の Gisela Storz 博士でした。早速、学位取得後に留学させてもらおう意志があることを彼女に伝えました。

実際に留学したのはなんとそれから1年と8ヶ月後でした。ワシントン D.C. のダレス国際空港で久しぶりに彼女と再会しハグをした後、何か荷物を持ってあげると言われ、とっさに手渡したのは紐で括弧してあるテニスラケット3本。「ここはテニスコートもいっぱいあるからいいわよ」と口では言っていましたが、彼女の顔は多少不安そうでした。留学初日からラボに行き、その後さっそくテニスをやりました。

4. NIHでの新規ノンコーディング RNA の探索

私のラボは他の NIH の立派な建物とは異なり、平屋で馬小屋みたいな建物です。最初に案内された時には、「最先端の研究をやっている近代的な研究所」という頭の中のイメージとあまりにもかけ離れていたもので、思わず、「馬を飼っていませんか?」と言いつつになりました。以前は、大雨が降るとよく浸水して、夜中にボスや同僚と共にモップ掛けをしたこともありました。しかし、住めば都とはよく言ったもので(住んではいませんが)、一喜一憂を何度も経験させてくれたこのナチュラル志向型のラボには愛着がありますね。

ここで与えられた研究テーマは、大腸菌の新規 small, noncoding RNA を探索するというものでした。このテーマは願ったり叶ったりといいますが、その当時私自身最もやりたい研究の1つでした。

予備調査の後で幾つかのアプローチをボスに提案させてもらいました。最初のアプローチは、ORF内から転写されているアンチセンス RNA を同定することを目的としました。PCRで大腸菌の全 ORF を増幅した後にそれを DNase 処理して短い断片を調製します。その断片をプラスミド上の lacZ レポーター遺伝子の前に連結することによって、断

片内にプロモーター活性があるかを調べます。活性があったものはシークエンスで配列を決定しゲノム上にマップして、実際にノーザンブロットで転写産物を確認するというものです。このアプローチは学生時代に思いつき、私のお気に入りでした。mRNA を転写するための、所謂プロモーター配列を除去するために、ORF のみの配列を出発材料として用いるというところがミソでしたが、ORF を増幅するのに手間がかかるということであっさり却下されました。その後ゲノム配列全体を切断する方法に変更して、プロモーター活性が ORF 内にみられる DNA 断片をもとに、アンチセンス RNA の探索を行いました。結果は、RT-PCR では幾つかの部位でアンチセンス鎖の転写は確認できましたが、ノーザンブロットで明瞭なバンドがみられるほど高レベルに転写されている新規のアンチセンス RNA を見つけることはできませんでした。まあ、がっかりな結末だったのですが、この研究から、RT-PCR で検出される、低レベルのアンチセンス鎖の転写が生理機能をもっているのか今後詳しく調べる必要があるという課題を得ることができました。

この短いアンチセンス RNA はそれと相補的な mRNA にコードされているタンパク質の発現を制御しており、まるで RNA リプレッサーと呼べるものでした

もう1つのアプローチは、ゲルから切り出した 30 塩基から 65 塩基の RNA を直接クローン化するというものでした。真核生物の microRNA をクローン化する方法と基本的には同じやり方です。BLAST で初めてシークエンスを解析した時は、誰も知らない新種の small RNA がこの中にあるかも知れないという期待しまくりの心境で、マウスを握る手が汗でびしょびしょになったのを覚えています。

約 600 の cDNA を解析したところ、私とその存在を最も期待していた、ORF 内から転写しているアンチセンス RNA を2つ見つけることができました。今度はノーザンブロットでもばっちりバンドが確認されました。予想通り、この短いアンチセンス RNA はそれと相補的な mRNA にコードされているタンパク質の発現を制御しており、まるで RNA リプレッサーと呼べるものでした。現在は、このアンチセンス RNA の生物学的意義を明らかにすべく、それによって制御されているタンパク質の機能解析を行っています。実は、この解析はもう2年以上前から始めていて、最近やっとその糸口が掴めたところですよ。

5. さいごに

なにか面白いエッセイをと頼まれて書いてみたのですが、私には読み物として面白い文章を書く能力がないと今更ながら実感しています。自分の研究のことばかり書いてしまいました(ここまで読んで下さった皆様ありがとうございます)

ます)。でも、これをきっかけに自分の足取りを少し振り返ることで、もう一度初心を思いだし、本当に自分が知りたい事に対して今後進むべき方向を定めるいい機会になりました。

あと、これから第一線で活躍していくためには、やはり美味しいものを先に食べてしまえる性格にならないといけないと感じます。時にはあまり深く考えず、現在のポストに散々言われた、“Just Do It”の精神をもって今後の研究に励んでいきたいと思えます。

プロフィール

2002年奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科博士課程修了、同年5月よりNIHにて客員研究員。2003年1月より日本学術振興会海外特別研究員(NIH)。趣味 テニス
mkawano74@hotmail.com

川野光興
Mitsuoki KAWANO
(NICH, NIH)

◆ 若者達 ◆

「構造生物学」ってツマラナイ！？

佐々木 浩

(東京大学大学院理学系研究科生物化学専攻)

RNA学会に行って、思ったことがあります。どうも構造生物学は肩身が狭いのです！

0. はじめに

それは、いつもダンディーな中村義一先生の授業中のこと。「RNA network newsletter というのがあってね」、「色々な人達が自由に文章を書いてくれているんだ」、「ぜひ君達にも読んでもらいたい」。そう熱く勧められたこのニュースレターを、早速インターネットで探して、初めて読んでみたのは今から2年前のことでした。そのニュースレターに自分が文章を書くことになるとは、よもや想像もしていませんでした。

いきさつはさておき、多くの読者がいる広報誌に、自分の文章をなんと4000字(しかも内容は自由!)も載せてもらえるチャンスを得てしまった私は、テーマ探しに奔走することになりました。自分の研究といっても、毎日精製に失敗している話なんて誰も読みたくない(書きたくない)だろうし、学会報告記は誰か他の方が書くだらうし、困った……と思っていたところに、ふと浮かんできたことが今回のテーマです。

私の研究分野＝構造生物学は、世間の風当たりがなかなか冷たいのです。構造解析系の学会発表は、ポスターでもオーラルでも反応が鈍い気がします。私が聞いていると、思わず「おおっ！」と声を上げたくなるような結果を発表

しているにも関わらず、です。学会だけではありません。構造生物学の授業の視聴率は、打ち切り寸前の低さを保っています。これはまずい！

私は、自分の研究＝構造解析の面白さを色々な人にも知ってもらいたいと願っています。たぶん、多くの人と同じ願いを持っているのではないのでしょうか。ところが、他の研究をしている人達にとって、自分の研究テーマの範囲外になると、途端に構造への興味は湧かなくなってしまうようです。どうやらこの齟齬は、送り手(私たち＝構造生物学の研究者)と受け手(他分野の研究者)の両方に原因がありそうです。そんな思いを胸に、この文章を書いてみました。研究暦1年半のM1の学生から、「構造生物学ってあん



平日は大学院生。週末はバルーンマジシャン。近所の子供達に元気もらっています(中央が筆者)。

まり興味がないんだよね」という研究者の皆さんに送る、構造生物学への招待状です。

1. 「発表聞いててもよく分からないんだよね」

いきなりこんなことを言われてしまいました。何で分からないのか、よくよく聴いていくと、「何のために構造を解いているのか」があまり伝わっていないようです。多くの実験生物学の研究は、仮説を立て、実験を行い、結果を見て議論し、新しい仮説を立てる……というように、ステップを踏んで研究が進んでいくのに対して、構造生物学は構造が解けるまでは何も無く、解けた瞬間に様々な結果やアイデアが一気に湧き出す“All or none”の研究分野です。だからこそ、構造解析の研究では「何で形を見たいのか」という問題設定が大切です。それなのに、この部分がうまく伝わっていないために、「構造解析の発表は何が何だか分からないまま、結論に飛んでいる」というイメージを与えてしまっていたようです。

ここで、発表が分からないという人へのアドバイスです。研究の流れを反映して、構造解析の発表は「構造が解けた」という1つの結果だけを元に、そこから分かった様々な結果を一気に説明します。構造解析の発表を聞く時は、イントロに注意して、「何で形を見たいのか」をしっかり頭に入れておくことが大切だと思います（他の発表でも同じですが）。逆に発表する側としては、「何で形を見たいのか」という一番大切な部分を、もっと分かりやすくしっかりと提示しなければいけないと考えさせられました。

2. 「物理が苦手なんで……」

構造生物学がとっつきにくいのは、手法をイメージしにくいところが大きいと思います。手法を細かいところまで正しく理解するのなら、大学レベルの物理や数学の知識が必要になります。簡単なイメージをつかむだけでも、高校時代に物理をやっていないと難しいでしょう。しかし、自分が実験すると論文を読むだけでは大きく違います。前提として必要な知識はほとんどありません。「どうやって形を決めたか」は分からなくても、論文の核となっている「形から何が分かったか」という話を理解することはできます。

3. 「でも論文に書いてあることくらい理解したい」

X線結晶構造解析の論文には、必ず“Crystallographic

statistics”という表が載っています。ここには構造を決める過程や結果の信頼性を表す情報が記載されているのですが、この内容を理解するのが他分野の人にはネックとなるでしょう。しかし、“Crystallographic statistics”に出てくる単語たち、実は大したありません。学部のレポート課題レベルです。一番大切なのは「分解能」と「 R_{work} と R_{free} 」の2つ。分解能は「どれだけ細かく見えているか」の指標です。小さければ小さいほどくっきり見えることを意味します。3.5 Åでぎりぎりアミノ酸配列が追えるようになり、2.6 Å以下では主鎖のカルボニル基や水分子の位置が分かるようになり、2.0 Å以下ではフェニルアラニンの六員環の穴が開くようになり、1.0 Å以下では水素原子が見えるようになります。 R 値は「その構造はどれだけ信頼性があるのか」を表す指標で、小さいほど結果の信頼性が高いことを示します。 R_{free} が0.3より小さいこと、 R_{free} が R_{work} の1.2倍前後かそれ以下であること、の2点が一応の目安です。

だからこそ、構造解析の研究では「何で形を見たいのか」という問題設定が大切です

もっと詳しく知りたい人は、近くのラボで構造解析をしている知り合いに尋ねたり、メールで聞いたりしてみてください。耳学問で覚えていくだけでも、構造生物学の専門家と同じレベルで論文を批評することができるようになります。

4. 「結晶になったタンパク質の構造なんて、本当に正しいんですか？」

構造解析に懐疑的な人は多いようです。タンパク質やRNAが結晶になる、ということが大事件のように思えるのかもしれませんが、でも「タンパク質を結晶化しても大丈夫！」という根拠が4つあります（参考：ヴォート生化学）。

①結晶といっても、タンパク質表面のほとんどは水に触れていて、隣の分子と触れている部分はごく一部しかない。

②結晶化条件によって同じタンパク質が異なる並び方をして、違う型の結晶となることがよくあるが、結晶の型が違っていてもタンパク質の構造はほぼ同じである。つまり分子を並べる力はタンパク質の構造を変えることが少ない。

③多くの酵素は、結晶中でも活性を保っている。

④NMRとX線結晶構造解析という異なる原理の手法で同じタンパク質の構造解析をすると、ほぼ同じ構造である。

もちろん、アーティファクトがないわけではありません。

3.5 Åでぎりぎりアミノ酸配列が追えるようになり、2.6 Å以下では主鎖のカルボニル基や水分子の位置が分かるようになり、2.0 Å以下ではフェニルアラニンの六員環の穴が開くようになり、1.0 Å以下では水素原子が見えるようになります

「構造解析法は決して『構造決定法』ではない」という言葉もあります。しかし、論文として公表されている構造は、査読を通して、専門家たちにある程度フェアに評価されたものです。それに、僕から見ると、X線結晶構造解析が特別に怪しいというわけではなく、細胞生物学でも、遺伝学でも、論文に載っている実験の怪しさは似たようなものです。大切なのは、そういった不完全な結果から、どのように真理を探っていくかではないでしょうか？

5. 「リボンモデルをぐるぐる回されてもねえ」

全体構造が意味を持っていることもありますが、たぶんリボンモデルをぐるぐる回す一番の理由は自己満足です。でも、ぐるぐる回っているその構造が、発表している人の血と涙と汗の結晶。僕の研究室のS先輩は、構造を解くのに4年かかりました。リボンモデルをぐるぐる回すその瞬間が、その構造(と発表者)にとっての晴れの舞台なのです！ぜひ温かい目で見守ってあげてください。

6. 「『○○のX線結晶構造解析』って書いてあるだけで、ポスターを見る気が……」

そんなに深く考えていなかったのですが、複数の人に言われてしまいました。確かに、タイトルをつける時に「～の結晶構造解析」と付けがちなのですが、「どんな生命現象をテーマとして、何が分かったのか」がタイトルに表現されていないという欠点があります。タイトルを変えるだけでも、いろんな人たちにてもらえるようになるのかもしれないですね。

7. 「構造を解いて何が面白いの？」

私のいる研究室では、卒業研究発表前に必ず「構造を解いて何が面白いんですか？」という質問の答えを考えなければなりません。

生き物はマクロにもミクロにも、その機能に合わせた形を持っています。生体高分子も同じです

ればなりません。

とある発生物学の講義の中で、こんな言葉が出てきました。「用(機能)が形を決める」。多くの生物学者は、空を舞う鳥に翼があるように、地を駆ける獣に足があるように、生き物はマクロにもミクロにも、その機能に合わせた形を持っています。生体高分子も同じです。それぞれの機能に合わせた形状へと、進化の過程で洗練されてきたのです。そして、形に機能が反映されています。形を見ることには、その先には生命現象の解明が待っています。

8. ところでRNAの話は？

勢いに任せて、自分の思いの丈を書いてきてしまいましたが、“RNA” network newsletterであることをすっかり忘れていました。たまにはこんな話も許していただけるでしょうか？

私はRNA研究の世界に飛び込んで、まだ1年半ですが、もうRNA研究の世界にはまってしまいました。RNA研究の中で、もっともっと構造生物学の研究が発展していけば、面白いことがいくつも見つかるのでは？とワクワクしています。

どうです？少しは興味が湧いてきたでしょうか？ちょっとでもこの世界に興味を沸いた方は、構造解析をしている人に声を掛けてみてください。たぶん、喜んでもっと色々な話をしてくれるはずですから。

プロフィール

2005年 東京大学理学部を卒業。同年、東京大学大学院理学系研究科生物化学専攻修士課程(横山研究室)に入学、修士課程1年。趣味はジャグリングとパルーンマジック。

佐々木 浩

Hiroshi SASAKI

(東京大学大学院理学系
研究科生物化学専攻)

◆ 若者達 ◆

最近思うこと

相馬 亜希子 (立教大学理学部)

2005年12月の末に、塩見さんからこのNewsletterへの原稿の依頼を頂きました。過去のNewsletterも楽しく読ませて頂いていました。ほとんどが著名な先生方や、活発な

研究をなさっている学生の方々が、御自身の研究や、主にRNA学会の様子について執筆されていらっしゃるのをみて、自分自身に執筆の機会がまわってくるとは思っていま

せんでした。塩見さんからのお電話を取り次いでもらった時には、RNA学会への年会費や参加費の納入等に不備があったのだろうか？と心配してしまいました。塩見さんがあのお優しい声で、“テーマは何でも構いません、今、御自身が研究について考えていることを書いて下さい”とNewsletterの趣旨を丁寧に説明して下さいこともあり、せっかくの機会なので、書かせて頂くことにしました。

さて、何を書こうかとパソコンを前に、Microsoft Wordの新規ファイルを作成してみたものの、読んで下さる方に面白いと思って頂けるような話題がなかなか思い浮かびません。このNewsletterで、あえてRNAのお話をするのはおこがましく思われ、かと言って、女性研究者の立場から何か有意義な意見を述べるほど経験も知識もありません。

30年以上も生きてきて、なんて引き出しが少なく、うすっぺらな人間なのだろうと、心の底から気づいてしまいました。これまで自分が成して来たこととは・・・？

気が付けば人生3度目のゾロ目の年齢を迎え、一昨年は神社に厄払いに参りました。そのお陰なのか、厄年の割には、研究のテーマや環境にとっても恵まれ、充実した毎日です（それともその見返りに、これから何か起こるのでしょうか・・・）。

そういえば、RNA研究に携わるきっかけとなった、弘前大学理学部生物学科分子生物学教室に配属されたのは、人生2回目のゾロ目の歳、まだ22歳の春でした。大学3年生で受けた武藤先生や姫野先生の授業で耳にした分子生物学、特にRNAの世界は、それまで伝統的な古(い)生物学(?)の授業しか受けていなかった私にとってはとても新鮮で、何だかとても面白い世界が待っているように思えました。私を含めた数人の学生の誰しものが、(多分)迷うことなく武藤研への配属を希望し、RNAの研究に携わるようになりました。

あれから11年後の今になってもtRNAをはじめとしたRNAの研究に携わることができている自分に、何となく驚いております。職業として続けたいと思える研究に出会うことができ、また研究職に就けたことは、学生時代での一番の収穫ではなかったかと今更ながら感じます。このように楽しく充実した毎日を送っている一方で、ある事柄が頭をかすめます。

「三十路」、「結婚経験無し」、「子供無し」・・・。「負け犬

の遠吠え」が話題となったときには、私も早速読んでみました。意外に面白い本で、“うんうん、そうそう、その通り”と思うことも多い内容でした。母との会話でその本の話題になり、今度貸してあげようかとたずねたところ、“自分の娘を見て分かっているから別にいらないよ。でもまあ、孫を抱いてみたかったわね”，とのことでした(うう。母上、かたじけない)。友人からの年賀状が届けばほとんどが子供の写真付きで、周りはいわゆる“女性の幸せな人生”を着々と進んでいるものなのだなあ、としみじみ感じます。

「現代に生きる女の幸せとは？」と自問し、仕事から満足感を得られていられるうちは別段の違和感はありません。しかし、もしこの先、ある日突然仕事に対する情熱を失ってしまったら、あるいは就職先が見つからなかったらどうしよう!?

一般的な“女性の幸せ”はとても魅力的ですし、女性としての役割を担いながら、同時に研究者としても最前線に立っていらっしゃる多くの女性研究者の方々を見るたびに、何てかっこいいんだろうと思います。でも自分には荷が重すぎるなあ・・・、というのが正直なところで、家庭と研究の両立には苦労が付きものなのは明白です。現在のボスをはじめ、割と積極的に家事を手伝ってくれる男性も

多いようですが、果たして一般的にはそのような方ばかりとも限りません。甘えた考えですが、私も男性として生まれたかった、と思うこともしばしばです。

「現代に生きる女の幸せとは？」と自問し、仕事から満足



2005年度関根研究室メンバー大学構内にて。右端が関根靖彦先生、前列真ん中が筆者。その後ろの2人の女の子(徐さん、栗原さん)とncRNAの研究を、左端2列目と最後列の男の子(巴君、小野寺君)とtRNAの研究を行っています。



立教大学のクリスマスツリー。クリスマスシーズンにはライトアップされ、おしゃれなデートスポットとなります。

感を得られていられるうちは別段の違和感はありません。しかし、もしこの先、ある日突然仕事に対する情熱を失ってしまったら、あるいは就職先が見つからなかったらどうしよう!?!と一抹の不安が胸をよぎるようになりました。そんなとき、若かりし頃はそれほど感銘を受けなかったのに、読むと何となく元気付けられる本があります。そんな“こてこて”の2冊の本について書いてみました。

“A feeling for the organism.”

読まれたことがある方も多いかと思いますが、トランスポゾンの発見をはじめ、女性研究者として数々の偉業をなしとげた Barbara MacClintock の伝記です。私は研究室へ配属されてからお借りして読み、彼女の存在を知りました。ノーベル賞を受賞するような一流の、しかもこんな時代背景で、女だてらに研究者として人生を貫くには、やはり相当の犠牲を払わなければならないのだ、という印象が強く残りました。

表紙の彼女は、目がくりくりした可愛いおばあちゃんという印象を受けますが、歴史上の偉人によくあるように、生来エキセントリックな人物でした。学生の頃、大好きな地理の問題を解くために解答用紙をめくるのが待ちきれなかったほどの彼女なのに、自分の名前がなかなか思い出せなかったそうです。“名前”を持たなければならないのは“肉体”が存在しているからで、肉体から抜け出せばよいのに、とっていました（この考え方は彼女の研究スタイルに欠かせないものとなったようですが）。“ちょっと変わった人”とみなされるようなエピソードが、この本では紹介されています。彼女は頭が良く、実験技術も優れていたのですが、自分の理論を理解できず、付いて来られない相手にはいらだちを隠さず歯に衣着せぬ物言いをする女性であったため、彼女に対してとっつきにくいイメージを持ってしまう人も少なくはなかったようです。結婚という

形での個人的な関わり合いを必要と感せず、生涯を独身で貫きました。

現代ほど多様な生き方が可能ではなく、女性の幸福や役割は「結婚して子供を産み育てること」という社会的通念が根強く、いくら自分の好きなように生きていてもその呪縛から逃れられない時代に、研究者という職業を選択した彼女の人生は、苦難の方が多かったようです。彼女のトランスポゾンの発見が後年になってようやく認められ、ノーベル生理学・医学賞を受賞できたのは、彼女の、科学に対する並々ならぬ努力や信念があったからこそだと思います。しかし、そのような人生に価値を見だし、自ら進んで歩みたいと考える女性は少ないのではないかと感じました。

約10年後、読み直しても、やはり同様な印象を受けました。少し違っているのは、私自身が研究に従事している事です。当たり前ですが、彼女の偉大さはますます際だつて見えました。

彼女は30歳の頃には、何でこんなことがすぐ思い付くの?という多くの発見をし、当時の一流の研究者達からも一目おかれる存在になっています。彼女の透徹した理論や天才的な洞察力は直感的なもののようにです。単なる直感ではなく、鋭い観察力と豊富で深い知識に裏打ちされたものでした。彼女は自分で扱ったトウモロコシの株の全てについて、表現型を見ればその染色体のパターンが予想でき、それぞれのバイオグラフィーを書けるほど詳細な観察を毎日行っていました。年齢を重ねても全ての実験を自身で行い、routine work も苦ではありませんでした。彼女の観察力を持ってすれば、むしろ routine work は顕微鏡をのぞく度に新しい発見が待っている楽しい仕事と感じられたのかもしれない。

この本を読むと、研究者はとても楽しい職業である一方、その楽しみを得るためにはやはり並々ならぬ努力と才能が



2005年8月、弘前城跡公園にて、(誰かが)散歩させていたリクガメと。

必要であることをあらためて思い知らされ、自分の常日頃と比較すると、色々と考えさせられます。

“Youth (青春)”

よく経済人の座右の銘として引用される、Samuel Ullman の詩です。Ullman が 80 歳頃に作った詩で、理想を掲げて生きることの大切さを謳っています。十代か二十代はじめの頃、一度目にしたことがありましたが、ひねくれた私の心にはそれほど響いてきませんでした。本の解説には、“一握りの成功者が自己を顕示する人生賛歌とも思われがちだが・・・”，とありますが、全くその通りで、今で言うところの「勝ち犬」の、結局は自己満足的なロマンチズムでしょ、くらいに思っていました。30 歳になって、書店で再びその詩を目にしたところ、何故かすんなりと読むことが出来、何だか感動すら覚えてしまいました。

青春とは人生のある期間ではなく、心の持ちかたを言う。
バラの面差し、紅の唇、しなやかな手足ではなく、
たくましい意志、ゆたかな想像力、炎える情熱をさす。
(中略)

靈感が絶え、精神が皮肉の雪におおわれ、悲嘆の氷に閉ざされるとき、

二十歳であろうと人は老いる。

頭を高く上げ希望の波をとらえる限り、
八十歳であろうと人は青春にして已む。

(青春とは、心の若さである。作山宗久訳より)

MacClintock もそうであったように、真実を明らかにすることに喜びを感じ、子供のようにわくわくしながら、研究のことを考えて毎日過ごしているからに違いありません

多くの方がおっしゃるとおり、研究者には年齢を重ねても若々しい方が多いのは、“青春”まっただ中にいるからのように思います。MacClintock もそうであったように、真実を明らかにすることに喜びを感じ、子供のようにわくわくしながら、研究のこと

を考えて毎日過ごしているからに違いありません。30 年後、40 年後、私も、そのような若々しい気持ちを持っていられたら良いなあと思います。

結局とりとめのない文章になってしまいました。目標に少しでも近づけるように、目の前のことをこつこつ頑張ろうと思った、年の初めでありました。

プロフィール

2000 年 3 月岩手大学大学院連合農学研究科修了、博士(農学)。同年 4 月から科学技術振興事業団横山情報分子プロジェクト特別研究員、2001 年 8 月から立教大学理学部生命科学科、関根研究室において、派遣プロジェクト研究員として勤務、tRNA, ncRNA についての研究を遂行中。

相馬 亜希子

Akiko SOHMA

(立教大学理学部)

◆ 若者達へ ◆

A → I RNA 編集者からの Message

西倉 和子 (The Wistar Institute)

1. はじめに

ポストゲノム時代に入り、エピジェネティクスや RNA レベルでの遺伝子発現調節メカニズムの重要性が改めて認識されてきている。筆者はアメリカ東海岸フィラデルフィアの WISTAR 研究所で、アデノシンをイノシンに塩基修飾するタイプの RNA 編集 (A → I RNA editing) と、そのメカニズムに携わる ADAR (adenosine deaminases acting on RNA) 遺伝子群を研究している (西倉 2005. 医学の歩み 11 月号)。実は WISTAR 研究所は、RNA ニュースレター編集者の塩見さんがポストドクをされた Pennsylvania 大学

(略して Penn 大) のキャンパス内に在るのだが、フィラデルフィアでは何故かお互い知り合う機会がないまま帰国されてしまった。昨年 2 月に井川洋二先生の発案で開催された “US-JAPAN RNA Therapy Conference” で初めてお目にかかり、以来日本 RNA 学会事情や研究者ネットワーク等について教えて頂いている次第である。今回は、“なんでも良いから随筆を” との御依頼なので、私自身の RNA 修飾塩基との関係の歴史 (因縁) と言った事を書いてみようかと思う。

2. 修飾塩基との“なりそめ”

初めてRNA修飾塩基なるものの存在を知ったのは、金沢大学修士課程でやっていた、赤血球ヘモグロビンの研究に必要なCircular Dichroismの機器を使わせて頂くため東大農学部今堀和友研究室に出入りしていて、渡辺公綱先生にいろいろご面倒をおかけしていた頃だったと記憶する。確か当時博士論文の仕上げをしておられた渡辺先生に、本郷キャンパス前の寿司屋で御ちそうになった事は今でもはっきり覚えているのだが、先生の研究対象の一部であった修飾塩基についてはそれまで聞いた事も無く、全く判らないまま拝聴していたのではなかったかと思う。

3. MRC 研究所での tRNA 塩基修飾研究

その後1976年から1980年にかけて二度にわたって、英国CambridgeのMRC Laboratory of Molecular Biology研究所で研究する機会に恵まれた。最初はMax Perutz研でヘモグロビン構造と機能、その後さらにJohn Gurdon/Eddy De Robertis研で遺伝子発現制御の研究に携わったのだが、この間いろんな方に知り会い、CambridgeとMRC研究所時代は私にとっては特別な場所と時(空間)となった。

着いた当初は右も左も判らず、日本人研究者の方に随分お世話になったものである。なかでも、やはりヘモグロビンの研究をされていた長井潔さん(阪大に一時帰られた後Cambridgeに戻られて、以来MRCのスタッフとしてRNA結合蛋白等の構造研究で活躍)のお宅にしばらく居候させていただいた事や、MRC Laboratory of Molecular Biology研究所に隣接するMRC Pharmacology研究所に来ておられた、金澤一郎先生(東大を退官されて、現在国立精神神経センター所長で天皇陛下主治医)のお宅に招かれて、奥様の料理で手巻き寿司を御馳走になった事などが忘れられない。

当時のMRC Laboratory of Molecular Biology研究所には、Max Perutz, Hugh Huxley, Frederick Sanger, Cesar Milstein, Sydney Brenner, Aaron Klug, Francis Crick(夏の間だけカリフォルニアから帰ってくる)等の有名研究者がいたのは勿論だが、同年代のアメリカ人ポストドクや大学院生が多数いて、彼等と知り合った事が何よりも私のその後の研究者人生を左右したように思われる。John Gurdon研の同輩だった、Marvin Wickens(U Wisconsin), Doug Melton(Harvard), Richard Harland(U C Berkeley), Will Earnshaw(U Edinburgh), またPeter Lawrence研でDrosophilaの研究をしていたGreg Struhl(Columbia), その兄のKevin Struhl(Harvard)等の猛烈な仕事振りを目の当りにして、おおいに刺激啓発されたものである。

この時期、多数のクロマト用のタンクとか泳動装置が必

要になって、日中これをすべて私一人で独占してしまうと、同輩から文句を言われるので、よく真夜中から朝にかけて実験していた。Doug Melton, Will Earnshaw, Greg Struhl等の徹夜常連組と一緒に、MRC Laboratory of Molecular Biology研究所隣接のAdenbrook Hospitalで12時から始まる当直医師・看護婦用のmidnight dinnerに毎晩出かけていった事も今となっては懐かしい思い出である。

さてMRC研究所で最初のヘモグロビン研究を終え、一時日本へ帰国した後“もう二度と赤血球やヘモグロビンの仕事はしたくない”と決意して再度MRC研究所のGurdon/De Robertis研究室へ戻った頃は、クローンされたGeneを使った遺伝子発現制御の研究をするのがはやり始めた時期であった。John Gurdonは羊のドーリィがクローンされるずっと昔、アフリカツメガエル(Xenopus laevis)のクローンに初めて成功して有名になった研究者である。Gurdon/De Robertis研では、当時クローンされたばかりの5S rRNA, tRNA, globin遺伝子などをmicroinjectionし、Xenopus卵母細胞核内で転写発現したRNAを解析していた。私はEddy De RobertisとtRNA遺伝子発現を研究する事になり、改めて様々な修飾塩基や修飾酵素の存在を知った。今の若い人達には想像もつかないだろうが、当時はスプライシングが核内で起こるのか、細胞質内へ輸送されて後起こる現象なのかも判っていなかったのである。

Doug Meltonや我々の研究から、tRNA前駆体は転写後核内でスプライシングされ、更に様々なプロセッシングや塩基修飾を受け、最終的に細胞質内で蛋白翻訳機構で利用できるtRNAに段階的に成熟していく過程が解明された。研究方法は、tRNA遺伝子の入ったプラスミドを20-30個の卵母細胞核内にmicroinjectionし、in vivoで³²P-ATP, UTP, CTP,あるいはGTPで標識された各段階のtRNA中間体を電気泳動ゲルから抽出精製し、5'-及び3'-塩基を二次元TLCで解析し、プロセッシング過程で順次付加されていく各種修飾塩基を同定するというものであった。ここで問題がひとつあった。大ボスのJohn Gurdonはもの静かな英国紳士だが、TLCに使う溶媒のひとつブタノール酸の臭い(汚れたソックスの臭い!)が我慢できず、本人の私ではなく中ボスのEddyに“なんとかならないか”と訴えた。この苦情にはJohnの帰宅後クロマト溶媒展開をし、溶媒の臭いは流しっぱなしの多量の水道水で消失、Johnが翌朝出勤して来る頃には跡形もなくなるように対応した。肝心なのは、一旦帰宅してシャワーで洗髪して染み付いた溶媒の臭いを洗い落としてから研究所に戻らないと、私自身が文字どおり“鼻つまみ”となって、誰も近寄って来ない事だった。修飾塩基はスタンダード・マップと比較同定するのだが、当時やはりMRC研究所に留学しておられた森川耿右さんのお宅ですき焼きを御ちそうになりながら、たまたまCambridge訪問中の修飾塩基の権威・西村暹先生に、オー

トラジオグラフィーを見て頂くという幸運な機会にもめぐまれ、合計 148 枚の TLC 解析の結果、様々な修飾塩基が tRNA プロセッシング過程の中間体特異に、段階的に付加されていく事が判明した (Nishikura and De Robertis 1981. J. Mol. Biol. 145: 405; De Robertis et al. 1981. Cell 23: 89; Nishikura et al. 1982. EMBO J. 1: 263)。

4. 再び修飾塩基そして RNA 編集酵素 ADAR との出会い

その後スタンフォード大・Roger Kornberg 研で Immunoglobulin mRNA の alternative スプライシングの研究をし、最終的に WISTAR 研究所で助教授の職を得た時には、ブタノール酸のせいばかりでもなかったが、“修飾塩基の仕事はもうしたくない”というわけで oncogene 研究に方向転換していたのだが、たまたま見たのが、Cambridge での元同僚 Doug Melton によるアフリカツメガエル初期胚に存在する二重鎖 RNA を巻き戻す活性を報告した論文 (Rebagliati and Melton 1987. Cell 48: 599) であった。当時私たちもアンチセンス RNA で oncogene c-myc や c-fos のノックダウンを試みて、うまくいかない場合が多かったので、使用していた培養細胞にも同様の活性が存在するかどうかを調べたのが、A → I RNA 編集, ADAR, そして再び修飾塩基と関わっていくきっかけであった。

哺乳動物細胞にも同様の活性が存在する事を確認していて、実は反応中に塩基修飾が起こっているのではないかと気が付いた。再びもう二度と手を染めなくなかったブタノール酸を使い TLC 分析をし、二重鎖 RNA 中の多数のアデノシンがイノシンに変換する事を突き止めた。しかし今まで聞いた事も無く、また当時機能不明の新活性を前に、何かの artifact なのではないかと次々とコントロール実験を繰り返していた時、Harold Weintraub のポストドクをしていた Brenda Bass から既に出版受理されたという原稿が送られてきて、我々がスクープされてしまった事を知らされた (Bass and Weintraub 1988. Cell 55: 1089)。幸い Weintraub の推薦で、3 日で書き上げた我々の論文もなんとか次の年に発表する事ができた (Wagner et al. 1989. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86: 2647)。“武士の情け”をもって対してくれた Weintraub はその後間もなく、脳腫瘍でその才能を惜しまれつつ 49 才の若さで亡くなってしまった。

そして、一つ覚えていてもらいたいのは、全く新しい現象に遭遇した折、研究者の持って生まれた自己批判・分析癖のゆえ、目の前にある事実が信じられない時もあるという事である。しかし充分コントロール実験をやり、結果に変わりないと結論したら、その時は迅速果敢に新説を提唱する勇気を奮い起こしてもらいたい。その機会を逸すると、一生後悔する事になるかもしれないから

その後 ADAR1 遺伝子のクローニングに関しては、我々が先陣をつけ (Kim et al. 1994. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91: 11457-11461), それがかきかけとなって脊椎動物では、ADAR1, ADAR2, ADAR3 遺伝子があり、ADAR 遺伝子群がグルタミン酸受容体サブユニットやセロトニン受容体 2C サブタイプ等、生理的に重要な遺伝子の pre-mRNA を部位特異的にアデノシンからイノシンに塩基修飾する RNA 編集酵素 (A → I RNA editing) である事が徐々に判明してきた。更に、近年 ADAR1 遺伝子の突然変異や A → I RNA 編集機構の不全によって引き起こされるヒト遺伝疾患や病態生理について報告され、また RNA 編集と RNAi メカニズムが相互干渉している事実などが判明して (Yang et al. 2005. J. Biol. Chem. 280: 3946; Yang et al. 2006. Nat. Struct. Mol. Biol., 13: 13-21), その意義をめぐって様々に推測されている (Nishikura. 2004. Nat. Biotechnol. 22: 962)。

こうして修飾塩基と RNA 編集に関わってきたのであるが、我々が作成した ADAR1 遺伝子ノックアウトマウスが全身で起きるアポトーシス・造血系不全により胎生致死となるため (Wang et al. 2000. Science 290: 1765; Wang et al. 2004. J Biol. Chem. 279:4952), “もう二度としない”はずの赤血球分化について再度研究するはめになった事や、Cambridge でお世話になった金澤先生の研究グループが、最近グルタミン酸受容体サブユニット mRNA の RNA 編集不全と孤発生 ALS (筋萎縮性側索硬化症) との関連を発見された事は (Kawahara et al. 2004. Nature 427: 801), 何か不思議な偶然 (因縁) と言うしかない。



当研究室でポストドクをしていた都田真奈さん (現在長崎大学助手, 右から 2 人目) の日本帰国歓迎会を日本レストランで行った時のスナップ。その後、研究室メンバーにもいくらか入れ替わりがあって、この写真には写っていないが日本人では河原行郎さん (東大医学部), 飯笹久さん (共立薬科大学) に頑張っていたところである。

5. 日本の RNA 若手研究者へ

今この文を書いている、私には御馳走して頂いた方や食事の内容をやたら鮮明に記憶している傾向がある事に気が付いた (science は忘れていても!)。これを一飯の徳を忘れない義理がたい人と考えるか、単に食べ物への執着が強いただけと観るか、読者の判断の分かれるところであろうが、いずれにしろ多くの方に巡り会い、過ぎてきた私自身の研究者生活を振り返ってみて、RNA 若手研究者の皆さんにも、人との出会いを大切に楽しく有意義な“研究人生の旅”をしてもらいたいと願うものである。そして、一つ覚えていてもらいたいのは、全く新しい現象に遭遇した折、研究者の持って生まれた自己批判・分析癖のゆえ、目の前にある事実が信じられない時もあるという事である。しかし充分コントロール実験をやり、結果に変わらないと結論したら、その時は迅速果敢に新説を提唱する勇気を奮い起こしてもらいたい。その機会を逸すると、一生後悔する事にな

るかもしれないから。

最後に、当研究室では目下ポストドク募集中なので、RNA 編集と RNAi メカニズムの相互作用という“想定外”研究テーマをやってみたいという方があれば、是非応募していただきたい。

西倉 和子

Kazuko NISHIKURA

(The Wistar Institute)

3601 Spruce Street, Philadelphia, Pennsylvania,

19104-4268, USA

Tel: 1-215-898-3828

Fax: 1-215-898-3911

E-mail: kazuko@wistar.org

http://www.wistar.org/research_facilities/nishikura/research.htm<http://www.med.upenn.edu/camb/faculty/ggr/nishikura.html><http://www.med.upenn.edu/ins/faculty/nishikura.htm>

◆ 若者達へ ◆

日本と米国の研究

高垣 吉男 (川崎医科大学学生化学)

昨年9月に、塩見さんから随筆を寄稿するよう依頼された。RNA 研究に従事する人達、そしてこれから RNA 研究を始めようとする人達の参考になればと思い、ペンを執ることにした。

学生時代のこと

私は1982年に京都大学大学院へ進学し、医学部の中西重忠先生(現、大阪バイオサイエンス研究所)の研究室でお世話になった。私は喜多村直実先生(現、東京工業大学)のグループで、血漿蛋白キニノーゲン[kininogen (KG)]のcDNAと遺伝子のクローニングと構造解析を行った。その結果、ヒトやウシでは1つのKG遺伝子に2つのポリAサイトがあり、上流、下流のポリAサイトを用いて、それぞれ高分子KG、低分子KGのmRNAが生成されることが明らかになった。私はこの研究の過程でmRNAのポリアデニレーションに興味を持ち、1986年6月に、米国コロンビア大学生物学部のJames L. Manley博士の研究室へ留学することになった。

コロンビア大学での研究

私が留学したのは、1985年にPhillip A. Sharp博士のグループが、HeLa細胞のnuclear extract (NE)を使った*in vitro*実験系で、ポリアデニレーション反応が再現できることを発表した直後だった。私はManley博士と相談後、ポリアデニレーションに必要な因子を分画することになった。1987年5月に、コールドスプリングハーバー研究所でRNA processingのミーティングがあったが、そこでWalter Keller博士やJoseph R. Nevins博士のグループが、蛋白分離能に優れたPharmaciaのFPLCを使って、ポリアデニレーション因子の分画を進めていることを知った。危機感を抱いたManley博士は、早速費用を工面してFPLCを購入した。

私はまずゲル濾過カラム(Superose 6)を使って、HeLa細胞のNEから、mRNA前駆体のポリAサイトでの切断に必要なCleavage/Specificity Factor (CSF)と、ポリA配列を合成するPoly(A) Polymerase (PAP)を分離し、次にイオン交換カラム(Mono QとMono S)を用いて、CSFをSpecificity Factor (SFまたはCPSF)、Cleavage Factor I (CFI)、Cleavage

Factor II (CFII) 及び Cleavage Stimulation Factor (CstF) に分画した。これら4つの因子の内、CstFは比較的短期間に単一にまで精製でき、CstFが77kDa (CstF-77), 64kDa (CstF-64) 及び50kDa (CstF-50) の3つのサブユニットから成ることが解った。

その後、CstFサブユニットのcDNAをクローンし、CstF-64がリボ核蛋白型 (RNP-type または RRM-type) RNA 結合領域を持つこと、CstF-50が transducin repeat (または WD-40 repeat) を持つこと、そしてCstF-77はショウジョウバエの変更遺伝子の1つである、*suppressor of forked [su(f)]* 遺伝子にコードされる蛋白に対応することを明らかにした。またcDNAから発現させた蛋白を用いて、CstF-77がCstF-64とCstF-50を架橋し、活性を持つCstF複合体が形成されることを示した。これらのことから、脊椎動物のCstFがsu(f)蛋白と同様に、遺伝子上のどのポリAサイトが用いられるかを決定するだろうと推測された。

このことを確かめるために、Bリンパ球細胞を使った。というのは、この細胞で発現される免疫グロブリンIgM H鎖遺伝子には、KG遺伝子のように2つのポリAサイトがあり、B細胞では主に下流のポリAサイトを用いて膜型mRNAが、そしてプラズマ細胞では、上流のポリAサイトを用いて分泌型mRNAが生成されるからである。

まずB細胞からプラズマ細胞への分化を誘導すると、CstF-64がプラズマ細胞で特異的に著しく増加した。そこで次にニワトリのB細胞DT40を使って、CstF-64の増加がIgM H鎖発現に与える影響を調べた。この細胞は効率良く相同遺伝子組み換えを起すため、遺伝子ノックアウトにも用いることができる。DT40細胞はほぼ等量の膜型及び分泌型mRNAを生成するが、この細胞内で大量のCstF-64を強制発現させると、大過剰の分泌型mRNAが生成された。

次にテトラサイクリン抑制型CstF-64発現ベクターを導入後、遺伝子ノックアウトによりDT40細胞のCstF-64遺伝子を破壊した。するとこの細胞では、CstF-64量低下に伴ってまずIgM H鎖mRNAが特異的に著しく減少し、次に細胞周期のG₀/G₁期での可逆的停止やアポトーシスによる細胞死が起った。このことからCstFはB細胞分化時に、IgM H鎖発現だけでなく細胞機能も制御すると考えられる。

Manley 博士のこと

Manley 博士は、マサチューセッツ工科大学生物学部の研究員だった1980年に、HeLa細胞のwhole-cell extractを用いた*in vitro* 遺伝子転写系を発表し有名になった。またその頃、アデノウイルスに感染したHeLa細胞の核を用いて、RNA processingの研究も始めている。

彼は、午前9時頃から午後9時頃まで研究室にある自分のオフィスで働いていた。1995年にChairman(生物学部長)になったが、それでも大部分の時間を自分の研究に費やし、RNA関係の学会や他大学でのセミナーに出掛ける以外は、研究室を離れることがなかった。研究室では、当番が約1時間発表するlab meetingが隔週にあり、それがない週にはManley博士が、研究員や大学院生一人一人と約30分間ずつindividual meetingを行っていた。このような勤勉さと研究に対する熱心さこそが、彼が遺伝子発現研究のfront-runnerの1人であり続けてきた最大の理由だと思う。

バージニア大学のこと

私は1999年に、バージニア大学医学部へ赴任した。バージニア大学は、米国第3代大統領Thomas Jeffersonによって設立された州立大学で、生物学部、化学部などを持つ4年制大学(College)と、Collegeの卒業生が進学するGraduate School(医学部、法学部など)がある。

バージニア大学では、Collegeの教育に力を入れている。例えば生物学部では、Independent Researchという実験コースがあるが、学生は生物学部、化学部または医学部の希望する研究室で実験できる。また毎年Collegeの学生約40名に研究奨学金を与え、1年間研究する機会を与えている。更に学生は、大学の人事部から紹介されたアルバイトで、実験技術を身につけながら学費や生活費を得ることが出来る。私の研究室でもこれらの制度で学生が実験していたが、彼らは優秀で研究の進展に貢献してくれた。

今後のRNA研究

RNA研究は、今後どのような方向へ進んで行くのだろうか。私の専門であるポリアデニレーションを含むRNA processingの分野では、反応のメカニズムや反応に必要な因子はおおむね解っている。しかし、これらの因子が細胞や個体で果す生物学的役割については、まだ不明な点が多い。また近年、“from bench to bedside”と言われるように生物学と医学の距離が縮まり、産学連携で生物学研究の成果を医学に応用すれば大きな経済効果が期待できる。

生物学では、新技術の開発によって新しい研究分野が開けることが多い。近年遺伝子ノックアウトによる遺伝子改変細胞・動物作製法と、RNAiによる遺伝子ノックダウン細胞作製法が開発された。また、ゲノムプロジェクトで得られた情報を使ったcDNAマイクロアレイやジーンチップにより、一度に数千種類以上のmRNAの発現量を調べることができ、スプライシング・パターンなどの解析も技術的には可能になった。これら2つの新しい技術を組み合わせれば、例えばRNA processingに関与する因子の量的・質的

変化が、細胞・個体に与える影響のメカニズムを明らかにすることができ、将来疾患の原因解明にも利用できるだろう。

疾患の治療目的には、RNAiによる遺伝子発現抑制が最も有望だと思う。個体の特定臓器の細胞に効率的にsiRNAを導入するかは大きな問題だが、最近マウス個体の肝細胞などへの導入法が発表された。また放置すれば失明に至る黄斑変性の治療に、siRNAを用いる臨床試験が米国で始まったというニュースもある。この領域では特に医学部を卒業した人達や、大学院医学研究科を修了した人達の奮起を期待したい。

日本の研究

研究活動は国際的 (international) なもので、いつどの科学雑誌に研究結果を発表したかで業績が評価される。より多くの日本の研究者が、世界中で高い評価を受けるにはどうすればよいのだろうか。

「研究」と一口に言っても、様々な要素を含んでいる。その内研究費と研究用の機器やスペースについては、一般的なRNA研究では日米間に大きな差はないと思う。米国ではNIHなどからの研究費に、教員・研究員・研究補助員の給料や大学院生の研究助手としての手当が含まれるため、消耗品購入に使える金額はそれ程多くない。そのため、Manley博士の研究室でも常に節約を心掛けていた。

次に研究者の資質とアイデアについてだが、一般に日本の研究者は米国の研究者より技術的に信頼でき、またRNA研究の分野で活躍する日本人も増えている。しかし残念ながら、日本が米国を凌ぐには至っていない。ではその原因は、どこにあるのだろうか。研究は、その結果が学会や科学雑誌に発表される2,3年前に始まっている。従って、ある研究分野がhotになってきたと気付いてから参入したのでは、先行するグループに追いつくことは難しい。そこでユニークな実験系を持ち、常に新技術を取り入れる努力が要求される。そのために学位取得後できるだけ早く、自分が興味を持つ分野のactiveな研究室で働くことを勧めたい。Manley博士もそうであったように、この時期に将来の研究テーマを見出すことが多いのではないだろうか。

日本の研究の最大の問題は、研究に費やす時間と労働力

研究は、その結果が学会や科学雑誌に発表される2,3年前に始まっている。従って、ある研究分野がhotになってきたと気付いてから参入したのでは、先行するグループに追いつくことは難しい。そこでユニークな実験系を持ち、常に新技術を取り入れる努力が要求される

日本の研究の最大の問題は、研究に費やす時間と労働力だと思う

だと思う。一般に講師以上の教員は講義・実習といった学生教育に従事するが、教員の研究テーマで実験する労働力(大学院生や研究補助員)がなければ、教員が学生教育に従事する間研究は止ってしまう。これに対し米国では、教員1人当りに少なくとも2,3人の研究員または大学院生が付き、常に研究を続けている。このような状況で、米国の研究者と競争するのは困難である。より積極的に大学院生を集めることが研究レベル向上への近道であり、また日本の研究者の層を厚くし、研究の幅を広げることにもつながると思う。

数年前日本政府は、「今後50年間に、30人のノーベル賞受賞者を出す。」という目標を掲げて研究費増額や大学施設の充実に踏み切り、科学技術創造立国を進める決意を示した。また一昨年4月には国立大学が法人化され、個々の大学が種々の制度を決定できるようになった。教員や研究者の見識が問われると同時に、大学が研究活動を活性化する最大のチャンスである。

おわりに

五木寛之氏の小説に、「青年は荒野をめざす」というのがある。約20年前渡米した私も、荒野をめざす青年のようだったと言えるだろう。丁度RNA processing研究の初期であり、ポリアデニレーション分野の進歩にある程度貢献できたことは幸運だった。

大学も研究者も、どれだけインパクトのある研究業績を生み出したか、そしてどれだけ有能な人材を育てたかによって評価されるのだと思う。これらの目的を達成した時、日本の大学と研究者は国民と世界中の研究者からの期待に応えることができる。この課題を目前にして、私は再び荒野に感じるように感じている。

“Let's see what we can do. Time will tell us everything.”

今、我々の真価が問われている。近い将来、その答えが得られるだろう。

プロフィール

1986年京都大学大学院医学研究科修了後、米国コロンビア大学生物学部研究員。1999年米国バージニア大学医学部 Assistant Professor。2003年川崎医科大学客員研究員。

高垣 吉男

Yoshio TAKAGAKI
(川崎医科大学生化学)

◆ 若者達へ ◆

留学のすすめ

若い人達のために

小田 鈞 一 郎

(東京理科大学基礎工学部生物工学科 嘱託教授)

最近 nature などの専門誌に多くの分野の Review が掲載され、その分野の現状を知るのに大変便利になった。その中に引用されている論文で特に興味のあるものについては原著を読めば良いのである。その際にいつも感じることは、地域性や分野の違いがあるにせよ、引用される文献は圧倒的に欧米のものが多いということである。このことと関連すると思われる日本の民間技術の世界での実力についての記事が、朝日新聞に掲載された。専門家 2700 名の判定では、デジタル家電、ロボット等は欧米よりもむしろ優位にあるが、宇宙、医薬の研究では劣っていると報じている。医薬研究の劣勢は、基礎研究のレベルとその応用面への浸透度と無関係ではあるまい。しかし上記 Review にも、殆どの分野で少ないものの、日本の研究者の論文が引用されている。日本でも国際的に注目される研究が行われているのである。このような優れた研究を発展させるには、若い人達が思う存分研究に没頭できる自由な雰囲気とそれを支える研究費が必要である。本稿では先ず若い人達が多くを学び、経験し、力を蓄えていくのに最も有効な方法として「外国留学」をお勧めしたい。幸い小生は非常に恵まれた外国留学を経験することができたので、その一端を紹介し皆さんの参考に供したい。また最後に研究費配分について 2, 3 の私見を述べたい。研究費の 1 人当たりの額では米国を抜いて世界 1 位と云われる中で、未だ研究費に恵まれない人達が多いからである。

小生が渡米した 1963 年は、DNA の二重らせん構造が発表された 10 年後で、RNA の分野では Brenner らや、Nomura らが、mRNA の存在を示した 2 年後である。留学では最初に Dr. J. Marmur、続いて Dr. W. K. Joklik、Dr. R. Dulbecco の 3 先生にお世話になった。Marmur 先生は Dr. Doty と共に最初に DNA の変性と再性を示され、その論文は「Marmur-Doty」の研究として有名であった。Boston から New York の Einstein 医科大学に移られたばかりで、N.Y. 空港まで迎えに来て下さった。Dr. Marmur は当時 30 台後半で、暖かい感じの好人物というのが第一印象であった。早速大

医薬研究の劣勢は、基礎研究のレベルとその応用面への浸透度と無関係ではあるまい

学に向かった車中で「Einstein 医大が Jewish school だということを知っているか」と聞かれたので、「知っている。多くの優れた研究者だけでなく、Heifetz や Oistrakh など優れた演奏家にもユダヤ系の人が多い」と答えました。そして最後に少し語気を強めて「You should be proud of it」と云いました。Marmur さんは明るく、気さくな方で研究室に居るのが楽しく、1 ヶ月もしない中に外国に来ていているという感覚は全く無くなってしまった。研究は「枯草菌の DNA methylase を精製し、メチル化された DNA が枯草菌の transformation にどのような影響を及ぼすか」を解析するものだった。1 年半位で論文がまとまった時、Marmur さんは「I am proud of it」と云って下さった。かつて空港から医大に向かう車中で小生が云ったことを覚えていて下さったに違いないと大変愉快であった。

Einstein 医大の生化学部には、当時 Marmur 研に隣接して Dr. J. E. Darnell の研究室があり、polio などの RNA ウイルスの研究が進行していた。後に逆転写酵素の発見で Temin と共にノーベル賞を受賞した Dr. Baltimore は未だ大学院生であった。細胞生物学部では Dr. Joklik が pox ウイルスの研究をしておられた。Chairman は MEM 培地で名高い Dr. H. Eagle であった。西洋映画によく登場する好々爺といった感じで、いつも笑顔で接して下さった。Marmur 研で 1 年を過ぎた頃、次は動物ウイルスを研究したいと申し出た。Marmur さんは快く了解して下さい、夏に Cold Spring Harbor で動物ウイルスの講習会があること、細胞生物学部の Dr. Marcuo がその講師の 1 人であることを教えて下さった。早速、外国からの留学生が応募できるかどうか、Dr. Marcuo に尋ねたところ、意外にも「外国から来ている人は応募する機会が限られているので、動物ウイルスの研究をするのなら優先して選考しよう」と云って下さった。米国のおおらかさ、奥深さを感じたのである。渡米 2 年前に富沢純一、小関治男両先生らが指導して下さい「フェージ講習会」に、当時まだ会社に在籍していた小生を参加させて下さり、大変効率良く勉強できたことが頭から離れなかったのである。

米国での動物ウイルス講習会でも多くを学ぶことができた。

1965年秋、Joklik先生の処でpoxウイルスを研究することになった。弱毒株のvaccinia(牛痘)ウイルスを用いて感染細胞で発現するmRNAについて、そのサイズと多様性、ポリソームへの結合と離脱、安定性などを解析した。Joklik研は小さな研究室であったが、極めて効率的に設備が配置されており、実験材料もtiter(力価)を決めたウイルス液、継代培養されている細胞などが常備されていた。Marmur研でDNA-RNA hybridizationの方法を学んでいたこともあり、研究は順調に進行し1年足らずで論文の骨格が出来上がった。次はDr. Dulbeccoの処でSV40の研究をしたい旨Joklik先生にお話ししたところ、大いに賛成して下さい。Joklik先生も、Marmur先生もDr. Dulbecco宛に推薦状を送って下さり、研究室への参加が決まった。論文はJ. Mol. Biol. に受諾された。

その頃、Pittsburgh大学のDr. Youngnerからセミナーの依頼があり、更にDulbecco研究室での研究が終わり次第、こちらにassistant professorとして来ないかとのお誘いがあった。Joklik先生が紹介して下さいだったのである。全くの驚きであった。渡米して僅か3年で独立したポストを提供して下さいというのである。米国とは何という自由な国かと驚いたのである。日本では全く考えられないことであった。

California州のSan DiegoにあるSalk研究所のDulbecco研究室は、高名な研究者の集う処であった。20人足らずの研究室に其後受賞されたDr. Dulbecco, Dr. Berg, Dr. Baltimoreを含めるとノーベル賞受賞者が5人居られた。Dr. BergはSabbatical yearを利用して来られSV40の研究をしておられた。其後Stanfordに帰られ数々の優れたベクターを作製された。小生はSV40感染細胞の初期、後期、SV40トランスフォーム細胞、アデノーSV40ハイブリッドウイルス感染細胞で発現するSV40 mRNAを解析して、SV40ゲノムのマップを作製した(PNAS, 1968)。この時点でJ1ビザの期限が来たので一時帰国することになった。J1ビザの期限切れで一旦出国した場合、通常再入国には2年間を要した。Dulbecco先生と相談し、この期間の短縮願いを提出することになった。再入国の場合はSV40 mRNAの研究を暫く続け、其後Pittsburgh大に赴くことになった。SV40 mRNAの中には環状ゲノムより長いものが存在し、それがSV40ゲノムを1周以上転写したものが、細胞DNAに組込まれて転写されたものかを調べる必要があった。

帰国後は短縮願いの結果を待つ間、国立がんセンター生化学部、西村暹研究室でtRNAを中心とした翻訳機構を、

続いて国立予防衛生研究所化学部(富沢純一部長)で入フェージmRNAの研究を行った。いずれも数ヶ月であったが論文もまとめ、其後の研究に大いに役立った。帰国後8ヶ月目に短縮は認められないとの通知を受け、結局再渡米を断念し、微生物化学研究所を経て、新設された東大医科学研究所の癌ウイルス部に参加することになった。Dulbecco研でのゲノムより長いSV40mRNAの解析は、新しく参加された利根川進さんが引き継いで下さり、SV40ゲノムを1周以上廻って転写されることが分かった。利根川さんは其後スイスに移られ、抗体遺伝子の多様性に関する研究でノーベル賞を受賞されたのは御存知の通りである。

10年余りが経過し、1980年秋、東大医科研に組換え実験用のP3施設が整うことになりSV40ベクターの研究が可能となった。早速Stanford大学のDr. P. Bergさんに、8月にそちらに伺い、いろいろと教えて頂きたい旨手紙をした。Bergさんは快く承諾して下さい。当時Berg研では岡山博人さん(現東大医)が有名なOkayama & BergのcDNA libraryを作製され、更にそれを細胞に導入して発現させる研究に

取り組んでおられた。小生のテーマはその発現ベクターに用いるRNA splicingの5'及び3'部位の配列をもつDNA断片を作製することであった。岡山先生の指導の下、作製は3週間で完成した。週末にはKornberg研でDNA複製の研究をしておられた新井賢一さん(現都臨床研)御夫妻がお子さんと共に一泊でヨセミテ国立公園に連れて行って下さった。当時Stanford Medical Centerの生化学部には、

Stanford 大学と Massachusetts 工科大学 (MIT) には大学院生を交換するプログラムがあり、お互いに相手の大学院で研究し、学位取得後相手の良いところを持ち帰り以後の研究に生かすというのである

Dr. Kornberg, Dr. Bergのほか、ノーザン法のDr. Stark, Igt10のDr. Davis, 入フェージからDrosophilaに転じたDr. Hognessなど錚々たる方が名を連ねておられた。その中にも新井、岡山の両氏は目立った存在であった。

1ヶ月の予定が終わりに近づいた頃、Berg研のMulliganさんからScienceに投稿した論文のpreprintを頂いた。世界最初の遺伝子導入ベクター、pSV2gptに関するものであった。従来TK⁻細胞のように、マーカー遺伝子に欠損のある細胞のみが遺伝子導入用として用いられていたが、pSV2gptや続いて作製されたpSV2neoの出現により、どんな細胞にも遺伝子導入が可能となった。Mulliganさんにおみやげとして日本に持ち帰りたいと頼んだところ快くOKして下さい。Mulliganさんは博士課程を終えたらMITに帰るとのことで、最初その意味が分からなかった。岡山さんに尋ねたところ以下のものであった。Stanford大学とMassachusetts工科大学(MIT)には大学院生を交換するプログラムがあり、お互いに相手の大学院で研究し、学位取得後相手の良いところを持ち帰り以後の研究に生かすというのである。事実Dr. R. Mulliganは帰校後Stanfordでの経

験を生かして最初のレトロウイルスベクター、pZIPneoSVを作製した。今日遺伝子治療に用いられているものは、このpZIPneoSVを改良したものである。Stanford大とMITは米国でも横綱級の大学である。その大学同志が更なる向上を求めて、お互いが相手の長所を吸収しようというのである。凄い発想である。お互いが相手の力量を認め合い、信頼感を持ち合ってこそできる業である。因みにこの数年後 Columbia 大学の教授が、米国を除く世界の大学のランキングを諸資料に基づいて作成した。東大は67位であった(雑誌、アエラに掲載)。

Dr. Bergは、1980年の秋、遺伝子工学に関する業績でノーベル化学賞を受賞された。組換えDNAによって起こり得る危険性が指摘されその対応を巡り議論が紛糾した時も、解決に向けて主導的な役割を果たされた。国際的にアシロマ会議が開かれ、それを受けてNIHがガイドラインを作製した。その温厚な人柄と広い視野が多くの人を引き付けたのである。

以上小生の40～25年前の米国留学について述べてきたが、多くの優れた研究の場が欧米にあることは現在も変わらない。国内外の素晴らしい先生方に出逢えたこと、その課程で多くの研究仲間ができたことは、小生にとって何よりの財産で其後の研究の大きな励みになった。若い人達は勇気をもって外国留学に挑戦し、研究者として成長するだけで

なく、広い視野をもった国際人としても成長して欲しいのである。

現在06～11年の第3期科学技術基本計画が政府で作成

中とのことである。「ここ数年重点4分野以外の予算は減少し続けており文科省は危機感をもっている」と報道されている。研究費をふやして今後〇〇年間で△△人のノーベル賞受賞者を出すと云ってみたり、今年度はノーベル賞受賞者が出なかったもので、研究費が減額されるのではと危惧させてみたりと、あまりの見識の

無さに呆れるばかりである。一体科学研究費の予算とその配分に研究者の意向は反映されているのであろうか？一部の自民党族議員の思いつきで巨額の研究費が分配されるのであろうか？何をしているのか良く分からない学術会議

(210名)は適切な助言をしているのであろうか？最近朝日新聞も「学者の決意が問われる」と題した社説で学術会議について報じている。学術会議は新たに70才定年制を採り入れ、学会推薦をやめて今後は会員自身が新会員を選び、3年毎に半数を改選するとのことである。1つの疑義がある。新会員の中に小泉チルドレンが選ばれている。審議不十分のまま

賛否を採り、否ならば除名という手法に賛同して選ばれた議員である。社説の中には米国科学アカデミー(日本の学術会議に相当)も引用され「何よりも独立性を重んじ、政府の政策に異議を唱えるのも珍しくない」と紹介されてい

若い人達は勇気をもって外国留学に挑戦し、研究者として成長するだけでなく、広い視野をもった国際人としても成長して欲しいのである

果たしてチャイルドが政府の政策に異議を唱えることができるのであろうかという疑義である。逆に学術会議全体のチルドレン化が起こったとしたら悲劇である



写真提供：原英二(徳島大学ゲノム機能研究センター)

る。果たしてチャイルドが政府の政策に異議を唱えることができるのであろうかという疑義である。逆に学術会議全体のチルドレン化が起こったとしたら悲劇である。新学術会議には研究費配分の実体を良く分析し、広く学問、科学の進歩に直結する公正な配分が行われるよう、強く政府に提言して頂きたい。学問の世界は未だ民主主義体制の中に、封建制度が散りばめられた状態にある。更に民主化を進め

るためにも、若い人達の今後の活躍に大いに期待したい。大事なことは、その前に先ず自身の研究者としての力を蓄えることである。外国留学を強くおすすめする所以である。

プロフィール
小田 鈎一郎
Kinichiro ODA
〔東京理科大学基礎工学部〕
〔生物工学科 嘱託教授〕

❖ 私のその1枚 ❖

その1枚

松藤 千弥 (慈恵医大)

私の「1枚」は、初めて自分でクローニングし、配列を決めた遺伝子の塩基配列データである。実際はシーケンスゲルから読み取った配列を次々と書き込んでいった1枚の紙切れなのだが、残念ながらその現物はぼろぼろになってどこかに消えてしまった。ここに掲げたのはその元になった生データである。

その遺伝子はアンチザイムという調節タンパク質である。ポリアミン合成の鍵酵素であるオルニチン脱炭酸酵素

(ODC) に結合して阻害するはたらきを持つ。大学院当時、研究室では、このタンパク質のユニークな特性に注目していた。新たに分子生物学をセットアップしてこの遺伝子をクローニングすることが私に与えられたテーマだった。学部学生時代に作っていた ODC に対するモノクローナル抗体を用いたアフィニティー・クロマトグラフィーによって、ラットの肝臓からアンチザイムを数十万倍部分精製し、それを抗原にしてアンチザイムのモノクローナル抗体をとり、 λ gt11 をベ

クターとした発現クローニングに成功した。得られた cDNA は開始コドンを含く部分長のものだったが、ODC を阻害し、さらに分解を促進するという活性を示した。また、これをプローブとして Northern 解析をすると、アンチザイムの発現はポリアミンにより翻訳段階で誘導されることがわかった。その当時、特異的な翻訳調節の機構はほとんど知られておらず、鉄応答エレメント (IRE) と結合タンパク質による ferritin mRNA の翻訳調節がちょうど報告された頃だった。私はアンチザイム mRNA にもきっとポリアミ

動物では最初の翻訳フレームシフトの発見だった。ただ、それは今思えばそうだったということで、当時まず考えたのはシーケンスの間違ひではないかということだった。何しろ自分でも初めて、研究室でも初めて、大学全体でも2人目くらいのシーケンスである

ン応答エレメントがあるに違ひないと考えて、全長 cDNA のクローニングを全速力で行った。

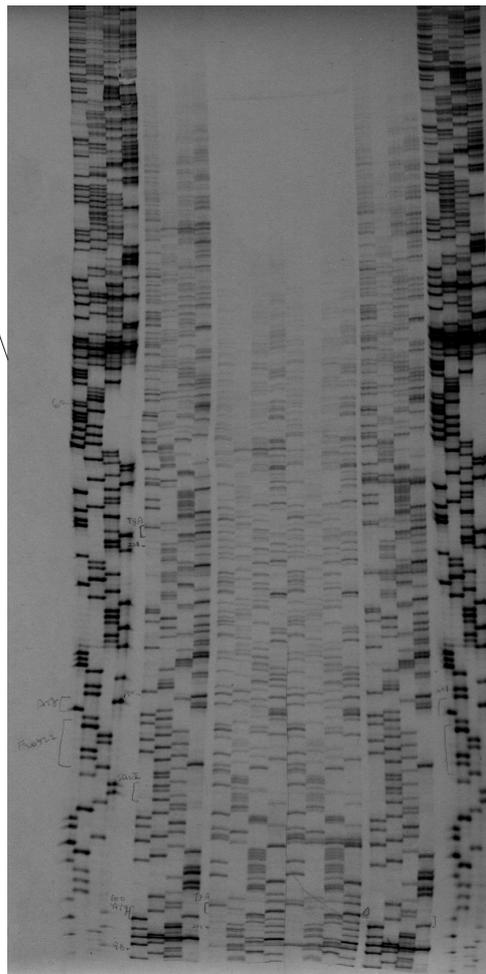
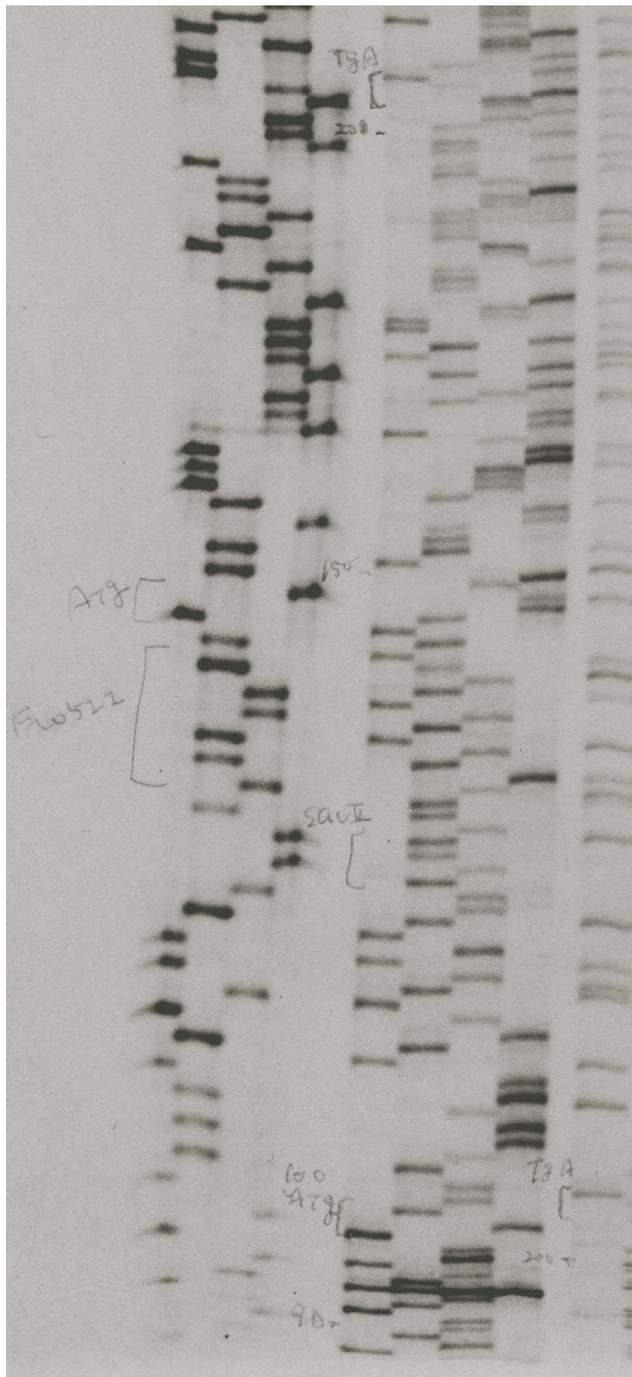
そうして得られたクローンを5'端からシーケンスしたが、ここに挙げたデータである。1990年12月26日の日付が書いてある。配列を読んでいくと、最初の AUG コドンに続く翻訳フレームは約200塩基進んだところで終結してしまっ

た。λ gt11 のクローンで活性を確認した翻訳フレームは、最初の AUG コドンに対して+1フレームにあり、それ自身の開始コドンを持っていなかった。動物では最初の翻訳フレームシフトの発見だった。ただ、それは今思えばそうだったということで、当時まず考えたのはシーケンスの間違ひではないかということだった。何しろ自分でも初めて、研究室でも初めて、大学全体でも2人目くらいのシーケンスである。何度も何度もやり直した。クローニングのアーチファクトを疑って、ライブラリから別のクローンを取り直した。mRNA のもっと上流になにかあるのではないかと考えて、ゲノムクローンをとってシーケンスしたり、転写開始点を決めたりした。ラットだけおかしいのかもしれないと思って、ヒトやカエルの cDNA をクローニングした。このあたりでわたしは研究の方向を見失って、核心の周辺を彷徨い始めていたようだ。いろいろな人の意見を聞き、一年近く経ってようやく試験管内の発現実験を行ってアンチザイム mRNA がポリアミン依存性のフレームシフトによって翻訳されることを明らかにできた。

ここまでの結果をまとめて Nature, 次いで EMBO J に投稿したが、両方とも却下された。EMBO J からのコメントは、翻訳産物のアミノ酸配列を調べろ、であったが、信用されていなかったのだろう。今原稿を読み直すと未熟さに苦笑してしまう。結局この研究結果が日の目を見たのは、渡米してユタ大学の Atkins 研で行ったアミノ酸配列データが出てからで、1995 年の Cell 誌であった。もっと広い視野を持っていたら、もっと素直な気持ちで

問題点を見つめていたら、人の助言をよく聞いていたら、もっと効率のよいやり方ができたのかもしれない。特に小さいラボや大学で周りにあまり相談できるひとがいない環境でがんばっている若い研究者には、私と同じような状況になったらとにかく相談できる人を探してと伝えたい。しかし悩みながら進めた研究は本当に心をときめかせるものだったし、たぶんあれで精一杯だったのだろうと思う。

しかし悩みながら進めた研究は本当に心をときめかせるものだったし、たぶんあれで精一杯だったのだろうと思う



動物では最初の翻訳フレームシフトの発見。オリジナルのシーケンスゲルとその拡大図。上の方に TgA 終止コドンが見える。

プロフィール

1983 年東京慈恵会医科大学卒業, 1989 年同大学院博士課程卒業 (医学博士), 同栄養学教室助手。1992-95 年米国ユタ大学への留学をへて, 2001 年より生化学講座第 2 教授。

松藤 千弥
Senya MATSUFUJI
(慈恵医大)

街で見つけた RNA



Sicily の甘い酒, Averna.
見る角度によって RNA が見えてきます。
見つけたのは松藤千弥さん
(東京慈恵会医科大学)

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

このニュースレターでは、自分の研究分野の「総説」や「研究進行状況報告」ではなく、できるかぎり(個人的な思いの詰まった)エッセイを寄稿していただくことにしております。原稿を依頼しますと、多くの方が『エッセイを書くのは難しい』と言われます。なぜ、エッセイを書くことは総説を書くことより難しいのでしょうか？これはなんとなく理解できます。おそらく、エッセイを書くということは、結局、自分がどのような人間であるか、どのようなことを考えているか、そして自分の品性までもが行間に滲み出てきてしまうのではないかという危惧、つまり、自分自身を知られてしまうという怖さを伴うからではないでしょうか？

私は FEBS Letters 誌に時々掲載される『Jeff's View』というエッセイを愛読していました。Gottfried Schatz が書いていましたが、残念なことに昨年 12 月 19 日号をもって、終了してしまいました。その最後のエッセイ (579:6697-6698, 2005) に彼は次のように書いています。長くなりますが、引用します。

At first sight, writing essays looks easy. It is like writing scientific papers without experimental results and there is nothing to curb your imagination — or your prejudices. But it shows your face as it is, because no editor will smooth the wrinkles or extirpate the warts. And not having to prove anything makes it easy to lose track of where you are going. By the time you are halfway through an essay, you realize that you may be riding for a bad fall, and you get scared.

Being scared is part of a scientist's life, because most experiments are expeditions into the unknown. Which scientist embarking on a risky experiment has not sensed that butterfly in the stomach?

‘Being scared’ といえ、以前讀んだ時に妙に納得させられたのが以下の文章です。

「論文に関するかぎり、倫理を教えてくれるのは恐怖で、善良さなどではない。この厳しい世界で競争相手が嘘を見破るのではないかという恐怖感が倫理を守らせるのだ」(『アット・ザ・ヘルム: 自分のラボをもつ日のために』Kathy Baker 監訳 浜口道成 メディカル・サイエンス・インターナショナル. 引用した文章はその 213 頁)。

RNA Network Newsletter

第 4 巻第 2 号 (2006 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



RNA LEGO



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