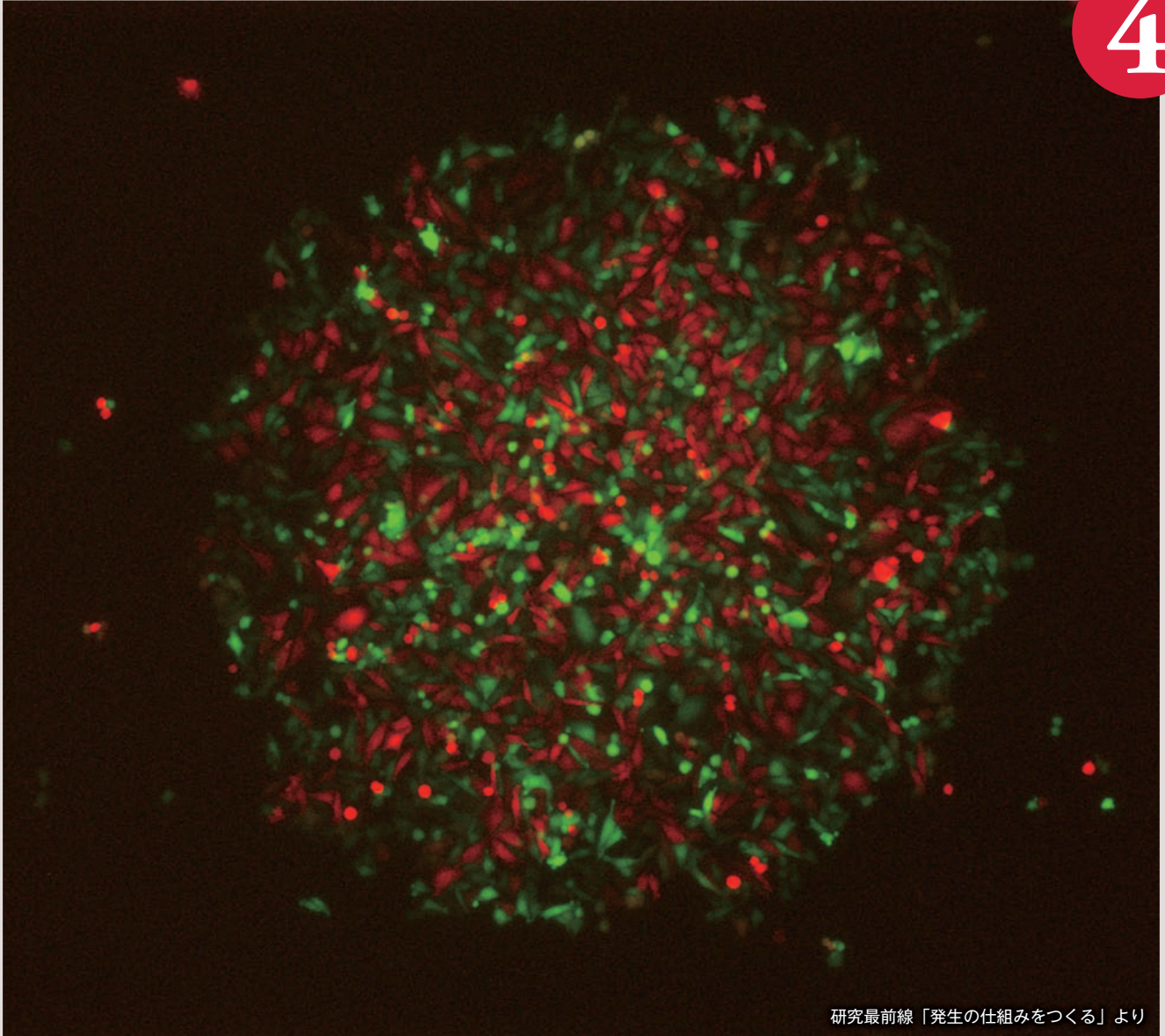


RIKEN NEWS

No.418 April 2016

4



研究最前線 「発生の仕組みをつくる」より

研究最前線 ②

命をつなぐ エピジェネティクスの大変化を クローン技術で解明する

研究最前線 ⑥

発生の仕組みをつくる

FACE ⑩

自然免疫の記憶メカニズムを
解明した研究者

TOPICS ⑪

- ・「科学技術ハブ推進本部」が発足
- ・超重元素研究グループが
和光市より感謝状を拝受

原酒 ⑫

ロングアイランド鉄道小景

1滴の血液からクローンマウスを誕生させることに成功——

小倉淳郎 室長が率いる理研バイオリソースセンター 遺伝工学基盤技術室が

2013年に発表したその研究成果は、さまざまなメディアで取り上げられ、大きな注目を集めた。

卵子や精子がつくれ、それらが結合した受精卵から個体が誕生して

命がつながれていく過程で、遺伝子の発現パターンの記憶である

「エピジェネティクス」が大きく書き換えられる。

小倉室長たちは、世界最先端の体細胞クローン技術などを駆使して、

命をつなぐエピジェネティクスの大変化を

解明しようとしている。

命をつなぐエピジェネティクスの大変化をクローン技術で解明する

■ 血液1滴からクローンマウスを作製

私たちの体は、皮膚や神経などさまざまな種類の細胞からできている。それぞれの細胞の核には、すべての遺伝情報（ゲノム）が書かれたDNAがある。ただし、例えば神経細胞ではゲノムのうち自らに必要な遺伝子だけが発現して、皮膚や筋肉の細胞だけに必要な遺伝子は発現しないように封印されている。そのような遺伝子の発現パターンの記憶が「エピジェネティクス」だ。「私たちの研究室では、体細胞クローンなど発生に関わるさまざまな研究を行って

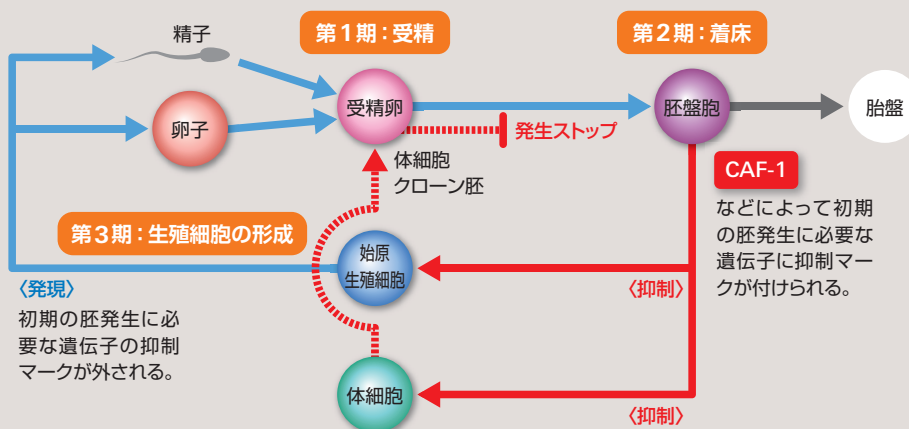
いますが、それらに共通するテーマが、エピジェネティクスです」と小倉室長は紹介する。

体細胞クローンは、卵子の力でエピジェネティクスを大きく書き換える技術の一種だ。ヒトやマウスなど多細胞生物の細胞は、精子や卵子などの生殖細胞とそれ以外の体細胞に分けられる。通常、遺伝情報を親から受け継ぎ、子孫へ伝えて命をつなぐことができるのは、生殖細胞だけだ。卵子と精子が結合した受精卵は、あらゆる種類の細胞に分化して、新しい個体を生み出す“全能

性”を持つ。一方、体細胞では、いったん特定の種類に分化すると、異なる種類へ分化する能力を失い、一代限りで死滅する。

ところが体細胞クローンでは、体細胞のゲノムが子孫へ受け継がれる。体細胞クローンマウスの作製では、卵子から核を取り除き（除核）、体細胞の核を移植する。すると卵子の力で体細胞のエピジェネティクスが“初期化”され、全能性を持つように書き換えられる。こうしてつくられる体細胞クローン胚から生まれた子どもは、体細胞を取り出した元の

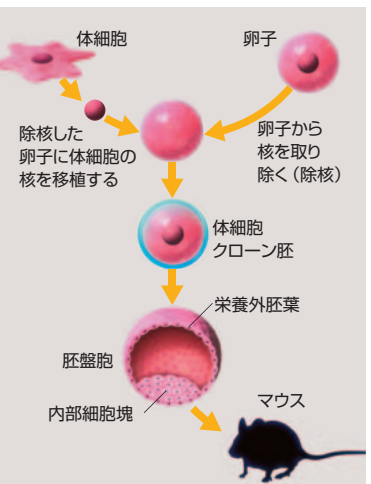
図1 エピジェネティクスと体細胞クローン



A：命をつなぐエピジェネティクスの大変化

生殖細胞が三つの時期を巡り、命が子孫に受け継がれていく。体細胞は一代限りで死滅する。体細胞クローンは、体細胞が第3期（生殖細胞の形成）を跳び越えて全能性を持つようにエピジェネティクスを大きく書き換える技術だといえる。

ただし、体細胞クローンはエピジェネティクスが大きく書き換えられる第3期を経ないため、受精卵と体細胞クローン胚では、エピジェネティクスの状態に違いがある。



B：体細胞クローン

体細胞クローンでは、卵子の核を取り除き、体細胞の核を移植して体細胞クローン胚をつくる。

イラスト：吉原成行

小倉淳郎 (おぐら・あつお)

バイオリソースセンター
遺伝工学基盤技術室
室長

1960年、東京都生まれ。農学博士、獣医師。東京大学大学院農学系研究科博士課程修了。国立感染症研究所を経て、2002年より現職。2007年より筑波大学大学院生命環境科学研究科教授（兼任）。



マウスとまったく同じゲノムを持つクローンとなる(図1B)。

従来、クローン用の核のもととなる体細胞(ドナー細胞)は、臓器から取り出すため、そのマウスを犠牲にせざるを得なかった。皮膚細胞を用いる場合でも、約2週間培養してクローンに適した状態(細胞周期)にする必要があった。

遺伝工学基盤技術室の上村悟氏^{よこむち} 特別研究員たちは2013年、マウスから1滴(15~45 μ l)の血液を採取し、そこからリンパ球以外の白血球を選別し、除核した卵子にその核を移植してクローンマウスをつくることに成功した。「リンパ球以外の白血球はすべて、クローンに適した状態になっているので、すぐに核移植に使うことができます。貴重なマウスに負担を掛けることなく、迅速にクローンマウスをつくる技術の開発に成功したので」と小倉室長は解説する。

■ エピジェネティクスが

大きく書き換えられる三つの時期

体細胞クローンで子どもが生まれる確率は低く、多くは発生が途中で止まってしまう。それは、受精卵と体細胞クローン胚では、エピジェネティクスの状態に違いがあることが原因だと考えられる。

「命がつながれる過程で、ゲノムの情報(塩基配列)は変化せず、ゲノムの働き方、すなわちエピジェネティクスが大きく書き換えられる時期が三つあります」と小倉室長は説明する(図1A)。

エピジェネティクスが大きく書き換えられる第1期は、精子と卵子が結合して受精卵ができる受精だ。

受精卵は細胞分裂を繰り返して、胚盤胞と呼ばれる状態になり、子宮に着床する。この着床前後が、エピジェネティクスが大きく書き換えられる第2期だ。

胚盤胞は着床後、外側を包む栄養外胚葉が胎盤などになり、内側に位置する内部細胞塊は胎盤などを除くあらゆる体細胞へ分化していく。

さらに、一部の細胞は体細胞の経路から外れて生殖細胞へ分化する経路に入る。始原生殖細胞がつくられ、そこから精子や卵子がつくられていく時期が、エピジェネティクスが大きく書き換えられる第3期である。「体細胞クローン胚は、体細胞が第3期を経ずに跳び越えて初期化されるため、受精卵とはエピジェネティクスが異なる領域が残ります。そのため体細胞クローンで子どもが生まれる成功率が低いのです」

生命科学の実験で用いられるES細胞(胚性幹細胞)は、着床直後の胚盤胞の内部細胞塊を取り出し培養してつくられ、さまざまな細胞へ分化する“多能性”を持つ。ただし、胎盤などへは分化せず、新しい個体を生み出す全能性はない。iPS細胞(人工多能性幹細胞)は、体細胞に数種類の遺伝子を加えることで、ES細胞に似た多能性を持つようにエピジェネティクスが書き換えられた細胞である。

■ ヒストン置換でゲノム全域のエピジェネティクスを書き換える

遺伝子の発現を活性化したり抑制したりするエピジェネティクスのマークは2種類ある。一つは、DNAの一部にメ

チル基が付くDNAメチル化だ。メチル化された領域は発現が抑制されることが多い。

もう一つは、ヒストン修飾だ。DNAはヒストンというタンパク質に巻き付いた状態で核に格納されている。そのヒストンにアセチル基やメチル基などが付く化学修飾により、そこにあるDNAに書かれた遺伝子の発現が活性化されたり抑制されたりする(図2)。

「ゲノム全域にわたりエピジェネティクスを大きく書き換えるときには、遺伝子ごとに個々のDNAメチル化やヒストン修飾を変えるのではなく、ヒストンを丸ごと入れ替える“ヒストン置換”が起きます。そのときヒストン置換を補助するヒストンシャペロンというタンパク質が働きます。私たちは、“CAF-1”というヒストンシャペロンが、第2期が始まる着床前に働き、多くのヒストンを抑制性ヒストンへ置き換えていると推測しました」

遺伝工学基盤技術室の畑中勇輝 特別研究員たちは、CAF-1がゲノム上のどの領域にあるヒストンを置換しているのかを、マウスを使って調べることにした。「手始めに、レトロトランスポゾンという領域から調べることにしました。レトロ

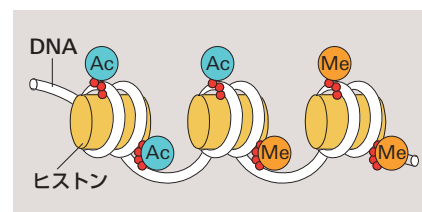


図2 ヒストン修飾

DNAが巻き付くヒストンにアセチル基(Ac)やメチル基(Me)が付くヒストン修飾により、遺伝子の発現が活性化されたり抑制されたりする。

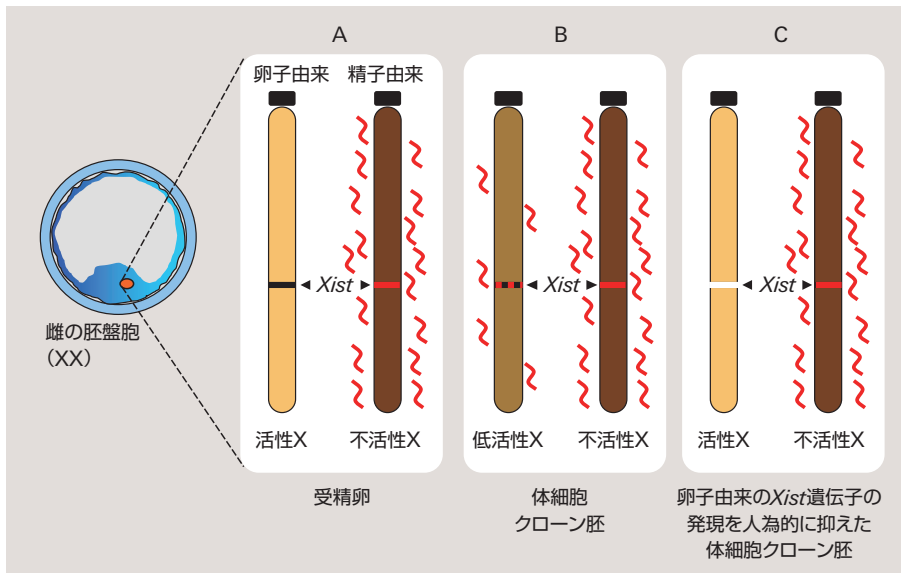


図3 Xist遺伝子と体細胞クローン

Xist遺伝子はX染色体を不活性化する。卵子がつくられるときXist遺伝子に抑制マークが付くため、卵子由来のXist遺伝子は発現せずX染色体は活性化する。一方、精子がつくられるときにはXist遺伝子に抑制マークは付かないため、精子由来のXist遺伝子は発現してX染色体は不活性化する(A)。体細胞クローン胚では、卵子由来のXist遺伝子の抑制マークが外されたままになっているため、Xist遺伝子が発現して卵子由来のX染色体の活性が低下し、それが体細胞クローンの成功率を下げる要因になっていると考えられる(B)。受精卵の卵子由来のX染色体と同様にXist遺伝子の発現を人為的に抑えることで、体細胞クローンの成功率が向上した(C)。Xist遺伝子のように、生殖細胞ができる時精子と卵子で異なるエピジェネティクスのマークが付けられることを、ゲノムインプリンティング(ゲノム刷り込み)と呼ぶ。ゲノムインプリンティングでは体細胞に分化した後も生涯にわたりに消えないマークもあるが、一部は着床のときにマークが外される。Xist遺伝子の抑制マークも着床時に外されて体細胞へ分化する。そのため、体細胞の核移植をすると、卵子由来のXist遺伝子も発現してX染色体の活性が低下し、それが体細胞クローンの成功率を下げる要因になっているのである。

トランスポゾン、ゲノム上にたくさんコピーがあるので、解析がしやすいからです」と小倉室長は語る。

レトロトランスポゾンは、大昔に生物に感染したウイルスの一種(レトロウイルス)に由来する領域である。特定の情報がコピー&ペーストされて、ゲノム上にコピーがたくさん存在する。レトロトランスポゾンの中には胎盤形成などに必要なものもあるが、ある種のレトロトランスポゾンが着床前に発現すると胚の発生が止まり、死に至ることが知られている。

通常、レトロトランスポゾンはDNAメチル化によって発現が抑制されているが、受精(第1期)による初期化で、ゲノムのさまざまな領域でDNAメチル化が外される。そのため、着床前にはDNAメチル化以外の方法で発現が抑制されていると考えられる。

2015年、畑中勇輝 特別研究員たちがCAF-1を働かなくした胚を作製したところ、その胚は着床する前に死んでしまった。さらにその胚の解析を進め、CAF-1がレトロトランスポゾンに働き、ヒストン置換によってその発現を抑制していることを突き止めた。「着床前にCAF-1が抑制するのは、レトロトランスポゾンだけではないはず。ゲノム上のどこにCAF-1が作用して抑制しているのか、網羅的に調べる必要があり研究を進めています」と小倉室長。

■ 着床で付けられる 外れにくい抑制マーク

小倉室長たちが、着床前後(第2期)におけるエピジェネティクスの書き換えに注目する大きな理由の一つは、体細胞クローンの成功率にも関係しているからだ。「受精(第1期)のときに初期化される受精卵のエピジェネティクスを100%とすると、核移植した卵子の中で体細胞のエピジェネティクスの90%強は正常に書き換えられて初期化されます。しかし残りの5~10%は書き換えが難しく、初期化されにくいのです。その中に初期の胚発生に必要な遺伝子が含まれていて、それに抑制マークが付いたままだと、胚発生が途中で止まってしまいます。その外れにくい抑制マークのほとんどが、着床前後(第2期)に付けられることが分かってきました」

なぜ、体細胞クローン胚では、胚発生に必要な遺伝子に抑制マークが付いたままなのか。

まず、通常の受精卵の場合を整理しておこう。受精(第1期)により初期化され、全能性を持った受精卵は細胞分裂を繰り返して胚盤胞となり着床する。その着床前後(第2期)になると、着床前の初期の胚発生に必要な遺伝子が不要となるので、CAF-1などによって抑制マークが付けられる(図1A)。

その後、体細胞は皮膚や血液、骨、臓器などに必要な遺伝子発現パターン

にエピジェネティクスが変化して分化していくが、一部は生殖細胞の形成期(第3期)に入り始原生殖細胞となる。すると、第2期に付けられた抑制マークの多くが外され、卵子や精子ができる。卵子と精子が結合した受精卵は、抑制マークが外されているので、胚発生が正常に進むのだ。

一方、体細胞クローンでは、体細胞の核を、除核した卵子に移植する。体細胞クローン胚は第3期を経っていないので、初期の胚発生に必要な遺伝子に抑制マークが残ったままになるケースがある。これが、体細胞クローンの成功率が低い大きな原因の一つになっている。

その取れにくい抑制マークを外すことができれば、体細胞クローンの成功率が上がるはずだ。

「私たちの研究室で体細胞クローンの技術を修得した的場章悟さんが米国ハーバード大学へ移り、その技術を応用して、体細胞に付いたヒストンH3K9のメチル化という抑制マークが、除核した卵子の力では外れにくいことを突き止めました。そして、ある酵素を強制的に発現させてヒストンH3K9メチル化を外すと、体細胞クローンの成功率が大きく向上することを証明しました。その後、的場さんは私たちの研究室に戻ってきました。彼が調べたヒストンH3K9メチル化以外にも初期化されにくいエピジェネティック修飾がある可能性があります

関連情報

- 2015年11月3日プレスリリース
哺乳類初期胚で新たな遺伝子発現制御の仕組みを解明
- 2013年6月26日プレスリリース
1滴の血液からクローンマウスを誕生させることに成功
- 2010年9月17日プレスリリース
マウス体細胞クローンの産子出生効率が10倍近くも改善
- 『理研ニュース』2010年2月号（研究最前線）

が、まだ分かっていません。その解明も今後の課題です」

■ 体細胞クローンの成功率を10倍近く向上！

体細胞が第3期を経ないために、体細胞クローンの成功率が低くなるもう一つの例が、“*Xist*遺伝子”だ。*Xist*遺伝子が発現すると、それを含むX染色体が丸ごと不活性化する(図3A)。

例えば雌では、母方と父方からX染色体を受け継ぐが、受精後に活性化するのは、必ず母(卵子)由来のX染色体の方だ。なぜなら、第3期で卵子の方だけに*Xist*遺伝子に抑制マークが付けられ、*Xist*遺伝子が発現しないようにされているからだ。そのため、卵子由来のX染色体だけが活性化する。

一方、体細胞クローン胚では、第3期を経ないため、卵子由来の*Xist*遺伝子に抑制マークが付かず、*Xist*遺伝子が発現してしまう。そのため、卵子由来のX染色体も活性が低下して、胚発生が途中で止まってしまうケースがある。それにより体細胞クローンの成功率が低くなると考えられる(図3B)。

遺伝工学基盤技術室の井上貴美子 専任研究員たちは2010年、体細胞クローン胚において卵子由来の*Xist*遺伝子の発現を抑制したところ、卵子由来のX染色体が活性化するとともに、常染色体の遺伝子発現量も正常化した(図3C)。

それにより、13~14%の体細胞クローン胚からクローンマウスが誕生した。これは従来の10倍近い成功率に相当する。

■ 精子に起きる大変化

精子がつくられるとき、DNAからヒストンが外れ、プロタミンという別のタンパク質が巻き付く。従って精子では、ヒストン修飾によるエピジェネティクスの記憶はいったん消されてしまう。そして受精後、プロタミンが外れて再びヒストンが入り、エピジェネティクスが書き換えられる。そのような精子ができる過程で何が起きているのか、よく分かっていない。

「その謎に“顕微授精”の技術で迫ることができます」と小倉室長は語る。通常の受精では、精子は自ら泳いで卵子へ入り込む。自ら泳ぐ能力のない未成熟な精子でも、顕微鏡下で人工的に卵子の中に注入して受精させることができる。それが顕微授精だ。ただし、ヒトに比べてマウスの卵子は壊れやすいため、マウスの顕微授精はなかなか成功しなかった。

1994年、世界で初めて顕微授精によりマウスの子どもをつくることに成功したのが小倉室長だ。「ヒストンが外れる前の未成熟な精子を顕微授精させて胚をつくるのが可能です。精子が成熟する過程を迂回した特殊な胚に何が起きるのかを解析することで、精子が成熟する過程で起きるエピジェネティクスの変化に迫ることができるはずです」

■ 近交系からクローンが生まれる129系統の謎

実験動物であるマウスは、個体差をなくすためにほぼ同一の遺伝情報を持つ近交系がつくられている。近交系では、

父方と母方から同一の遺伝子を受け継ぐ。「ほかの系統と掛け合わせた雑種(F1)由来の細胞では体細胞クローンは成功しますが、近交系では体細胞クローンは成功しません。しかし唯一、“129”と名づけられた系統だけは近交系でもエピジェネティクスの初期化が正常に進み、クローンマウスが生まれます。私たちは今、129系統のどの遺伝子が初期化に貢献しているのかを絞り込んでいます。その遺伝子を制御することで、ほかの系統の近交系でも体細胞クローンができるようになると期待しています」

■ 命をつなぐ技術でエピジェネティクスに迫る

「体細胞クローンマウスを確実につくることのできる研究室は、私たち以外では、世界で初めて体細胞クローンマウスの作製に成功した若山照彦教授が率いる山梨大学の研究室のほか、東京農工大学、近畿大学、京都大学などに限られています」

現在、世界中の多くの研究者が、エピジェネティクスの解明に挑んでいる。ただし、核移植や顕微授精の技術を駆使してエピジェネティクスの大変化に迫ることのできる研究室は、世界でも極めて数が少ない。「エピジェネティクスが大きく書き換えられる仕組みが分かれば、その仕組みを人工的に利用して、iPS細胞をより簡便につくったり、皮膚細胞などから治療に必要な細胞を確実に作り出したりして、再生医療に大きく貢献できるようになるでしょう」

(取材・執筆：立山 晃/フォトンクリエイト)

「子どものころから物をつくるのが大好きでした」

そう語る生命システム研究センター (QBiC) 再構成生物学研究ユニットのスガキヤ 戎家美紀ユニットリーダー (UL) は、研究でも「つくる」をキーワードとして掲げ、生命現象をつくってみることで理解するという独自のアプローチを取っている。

2015年には、4種類の遺伝子部品を細胞に導入することで、隣接する同じ種類の細胞が細胞間コミュニケーションによって違う種類の細胞になる仕組みをつくることに成功。

1個の受精卵がさまざまな種類の細胞に分化していく仕組みの理解につながる成果である。

「この研究をやって分かったのは、生命現象の仕組みを人工的につくるのは非常に難しいということ。

生物たちはそれをやすやすとやっているのですから、尊敬します」

発生の仕組みを人工的につくる——その最前線を紹介しよう。

発生の仕組みをつくる

■ つくることが好き

「博士論文に取り組んでいたころ、合成生物学という分野があることを知って、『これ、これ！これをやりたい！』と思ったのです」。戎家ULは、当時を思い出しながらとても楽しそうに話し始めた。

これまで、遺伝子の機能を壊してその影響を調べることで、生命現象のメカニズムやその現象に必須な遺伝子が次々と明らかにされてきた。では、ある現象に必須とされている遺伝子を組み合わせたら、本当にその現象を再現できるのだろうか。そんな発想から生まれたのが、合成生物学である。2000年ごろから盛んになってきた。「子どものころからレゴブロックでいろいろな物をつくった

り、大学時代には電気回路をつくったり、つくることが大好きでした。だから、壊すのではなく、つくことで生命現象を理解しようという合成生物学が、新鮮でとても面白そうに思えたのです」

それが2008年ごろのことだ。そして、これから合成生物学の世界に入って行くならば、ほかの研究者がやっていないことをやらないと駄目だと考えた。「そのころの合成生物学は、大腸菌など単細胞生物を用いていました。そこで私は、まだ誰もやっていない多細胞生物をターゲットにした合成生物学を始めようと思ったのです」。そこで、若手研究者が独立して先端的かつ独創的な研究を行うことができる、京都大学の生命科学系

キャリアパス形成ユニットに応募。2009年からグループリーダーとして本格的な研究をスタートさせた。

■ 細胞間コミュニケーションによって分化する

「多細胞生物の一番の特徴は何かと考え、細胞と細胞のコミュニケーションに注目することにしました」と戎家UL。「多細胞生物の始まりは1個の受精卵です。多細胞生物の発生過程では、細胞分裂によって増えた細胞同士がさまざまな方法でコミュニケーションすることで、同一細胞が異なる種類の細胞へと分化し、さらに立体的な体が形づくられていきます。そこで、細胞間コミュニケーション

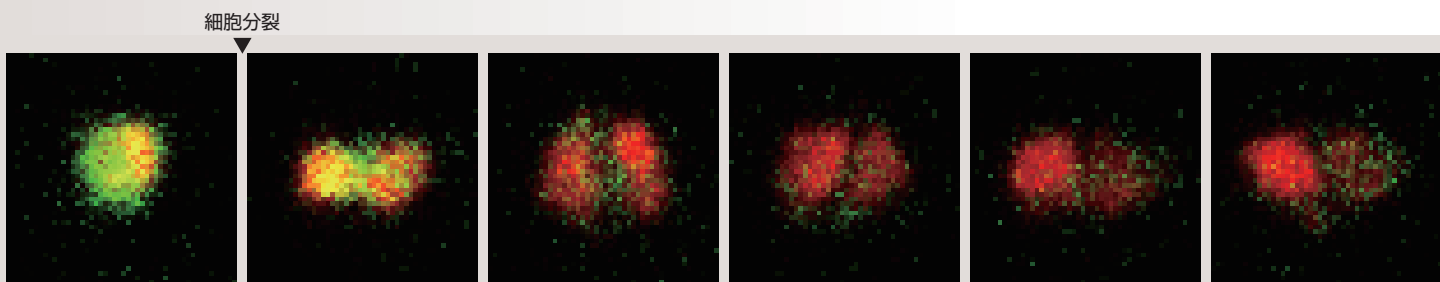
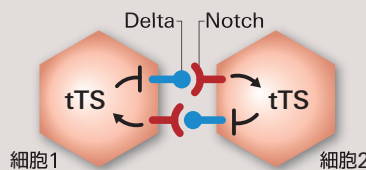
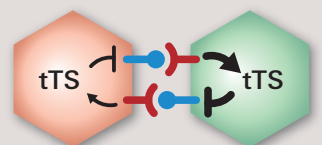


図1 隣接する細胞に違いが生まれていく様子とその原理

人工遺伝子ネットワークを導入した細胞を培養し、細胞分裂後の様子を観察した。細胞分裂直後の2個の娘細胞はDeltaの発現量がほぼ等しく、赤色をしている。時間がたつと、一方の娘細胞ではNotchが活性化して緑色になった。揺らぎなどによって生じたDeltaの発現量のわずかな差が、Delta-Notchシグナルによって増幅されたためである。



Deltaの発現量がほとんど等しい。
(この図ではLfngは省略している)

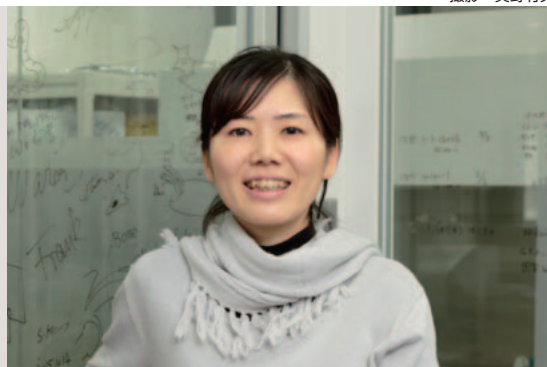


揺らぎなどによって細胞1のDelta発現量がわずかに多くなる。すると、細胞2のNotchが活性化され、tTSを介して細胞2のDelta発現量が抑制される。

戎家美紀 (えびすや・みき)

生命システム研究センター
細胞動態計測コア
再構成生物学研究ユニット
ユニットリーダー

1980年、大阪府生まれ。博士（生命科学）。京都大学理学部卒業、京都大学大学院生命科学研究所博士課程修了。京都大学生命科学系キャリアパス形成ユニットグループリーダーなどを経て、2013年より理研発生・再生科学総合研究センターユニットリーダー、科学技術振興機構さきがけ研究者。2014年より現職。



によって細胞が分化する仕組みを人工的につくり、そのメカニズムを明らかにすることを目標に掲げました」

細胞が分化する仕組みを、どのように人工的につくり出すのだろうか。「分化に関わっている遺伝子などの部品を、本来その仕組みを持たない別の種類の細胞に導入し、遺伝子ネットワークを人工的に構築するのです。このとき、生物が持っている本来の部品を人工的な部品でなるべく置き換えることがポイントです」。生物とまったく同じ部品を使ってしまうと、それがほかの機能にも影響を与える場合が多く、自分が設計した部分だけで分化の仕組みをつくれたのかどうか分からなくなってしまうからだ。

戎家ULは、細胞間コミュニケーションによって細胞が分化する仕組みをつくり出すための部品選びに着手。目を付けたのは、「Delta-Notchシグナル」だ。細

胞間コミュニケーションによる分化の仕組みはさまざまなものが知られているが、Delta-Notchシグナルは、最も重要なものの一つである。Deltaは特定の受容体に特異的に結合する物質（リガンド）である。Deltaが受容体であるNotchと結合すると、Notchが活性化されてシグナルが細胞内に伝達され、分化が起きる。多くのリガンドは拡散性の物質なので、離れた細胞間でもシグナル伝達が起きる。一方、DeltaとNotchはどちらも細胞膜に埋め込まれている膜タンパク質であるため、細胞と細胞が接触することで初めてシグナル伝達が起きる。

「Delta-Notchシグナルは、細胞の直接接触を介したコミュニケーションであるという特殊性もあって、古くから詳しく研究されています。情報もたくさんあるので、3ヶ月もあれば、その仕組みを人工的につくれるだろうと考えていました。一緒にやっていた大学院生の松田充弘君（現 再構成生物学研究ユニット基礎科学特別研究員）と、『すぐにできてしまうだろうから、その次はどんな研究をやろうか』と話していたくらいです」

工の転写抑制因子はどれを使うかなど、選択肢は非常に多い。遺伝子の発現を可視化するには蛍光タンパク質を付ける必要があるが、その種類や付ける位置も、いろいろなパターンが考えられる。

「最初のころは、遺伝子部品をつかって細胞に導入しても、発現さえしませんでした。部品づくりは困難を極め、諦めかけたこともありましたが。それでも松田君は、部品をつくっては試すということの繰り返しを根気よく続けてくれました」

戎家ULは、チューブがびっしり詰まったケースを持ってきた（図2）。「ここに入っているのは、ほぼすべてうまくいかなかった部品です。こういうケースが5箱以上、チューブの数にしたら数百個あります。この部品の失敗作たちは、私たちの研究の歴史であり、財産です。別の研究で役立つ可能性もありますし、捨てることはできません」

隣接する細胞に

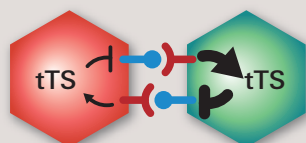
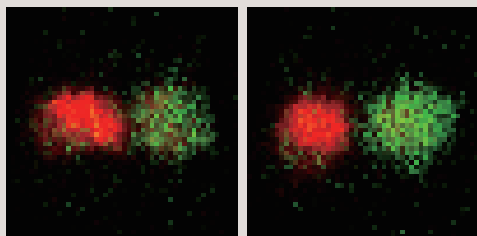
違いを生み出す仕組みをつかった

2013年、戎家ULは研究の場を理研



図2 研究の過程で作製した遺伝子部品の一部

時間



細胞1のNotchの活性化が弱い場合、tTSを介したDeltaの発現が抑制されず、細胞1のDelta発現量がさらに多くなる。ポジティブフィードバックによってDeltaの発現量の差が増幅されていく。

失敗部品は研究の歴史であり財産

ところが……。 「甘かったですね。3ヶ月どころか、成果が出るまで5年もかかってしまいました」

DeltaとNotchの遺伝子は不可欠だ。しかし、どの生物種の遺伝子を使うか、遺伝子の発現量を決定するプロモーターと呼ばれるDNA配列はどれを使いどう改変するか、Notchによって制御される人

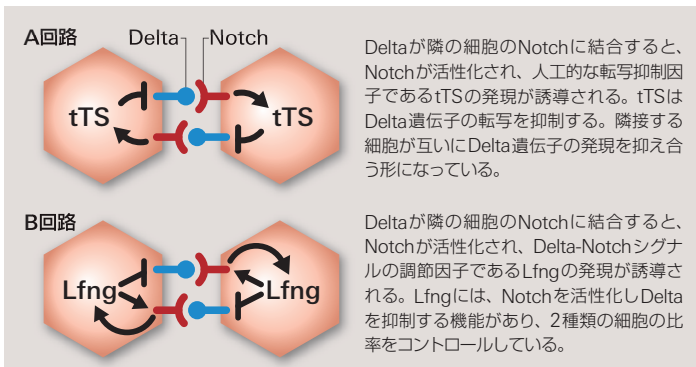


図3 細胞に導入した人工遺伝子ネットワーク

遺伝子ネットワークは二つの回路から成る。

発生・再生科学総合研究センターに移した（2014年からはQBiCに所属）。そして、ついに2015年、隣接する同じ種類の細胞が細胞間コミュニケーションによって異なる種類の細胞に分化する仕組みを、人工的に作り出すことに成功した。

具体的には、DeltaとNotch、tTS、Lfng（ルナティックフリンジ）という4種類の遺伝子部品を、哺乳類の細胞に導入し、人工遺伝子ネットワークを構築した。そのネットワークはAとB二つの回路の組み合わせでできている（図3）。A回路では、DeltaがNotchに結合すると、Notchが活性化される。すると、転写抑制因子であるtTSの発現が誘導され、Deltaの発現を抑制する。同じことが、もう1個の細胞にも起きる。つまりA回路は、tTSを介して隣接する細胞同士がDeltaの発現を抑制し合う形になっている。

tTSは人工的な転写抑制因子で、Delta遺伝子以外には働かない。また、遺伝子を導入する細胞はDeltaとNotchを本来ほとんど発現していない種類を選んでいる。Delta-Notchシグナルが働いたら、人工遺伝子ネットワークが機能したと判断できる仕掛けになっているのだ。また、Deltaが発現している細胞は赤、Notchが活性化している細胞は緑の蛍光タンパク質が光るようにしてある。

人工遺伝子ネットワークを導入した1個の細胞から細胞分裂してできた2個の娘細胞は、同じ程度のDeltaを発現しており、赤い。ところがしばらくすると、隣接する娘細胞の一方が緑色に変わっていった（図1上）。このような変化が細

胞集団で起きると、赤色の細胞と緑色の細胞が入り混じった細胞コロニーができる（図4、表紙）。

「初めて赤色と緑色の細胞が出現した画像を見たときは、とても感動しました。ただし、それを見たのは休暇中の旅先で、松田君がメールで送ってくれたのです。『何で私がいなくて！』と、ちょっと悔しかったですね」

■ わずかな差が増幅されていく

隣接する細胞の違いは、どのようにして生まれたのだろうか。「細胞分裂直後の2個の娘細胞はほとんど同じ状態ですが、遺伝子発現の揺らぎなどの偶然によって、Deltaの発現量にわずかな差が生まれることがあります。そのわずかな差が、細胞間で働くDelta-Notchシグナルによって増幅されていったのです」

細胞分裂直後の2個の娘細胞は、同じ程度のDeltaを発現している。揺らぎなどで細胞1のDeltaの発現量が少し多くなると、隣接している細胞2のNotchを

活性化して、tTSによって細胞2のDeltaの発現が抑制される。すると、細胞1ではNotchが活性化されないで、tTSによるDeltaの発現抑制も弱まる。その結果、細胞1のDeltaの発現量が増え、細胞2のNotchをさらに活性化して細胞2のDelta発現量は少なくなり……と、最初は小さかったDeltaの発現量の差がどんどん増幅されていくのだ（図1下）。「Delta-Notchシグナルは互いに相手のDeltaの発現を抑制し合っています。それは、回り回って自分のDeltaの発現を調節するポジティブフィードバックとして働くのです」と戎家ULは解説する。

「厳密に言うと、私たちは隣接している同じ状態の細胞に違いを作り出すことに成功したのであって、別の種類の細胞に分化させたわけではありません。しかし、1個の受精卵からさまざまな種類の細胞が分化していくには、細胞間に違いを生み出すことが不可欠です。隣接している細胞間に違いを生み出すための最小限の遺伝子ネットワークを明らかにし

図4 人工遺伝子ネットワークを導入して形成された細胞コロニー

DeltaとNotch、tTS、Lfngから成る人工遺伝子ネットワークを導入した細胞が増殖して形成された細胞コロニー。最初の状態ではDeltaが発現している赤色の細胞だが、細胞分裂を繰り返して増殖し細胞同士が隣接するようになると、赤色の細胞とNotchが活性化している緑色の細胞に分かれていく。

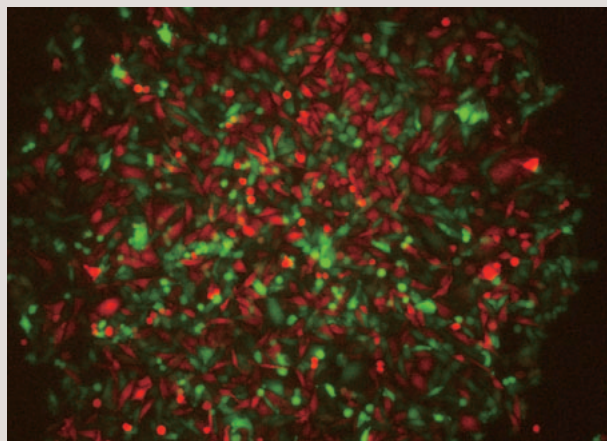




図5 再構成生物学研究ユニットのメンバー

後列左から、松田充弘 基礎科学特別研究員、戎家美紀 UL、関根亮二 基礎科学特別研究員、前列左から、高山真美 研究員、神原祐子 テクニカルスタッフ。そして、林華子 テクニカルスタッフと、パートタイマーの梅垣陽子さんで構成されている。

たという今回の成果は、細胞分化の仕組みの理解につながっていきます」

■ 生物の仕組みをつくる醍醐味

戎家ULは、生物の仕組みを人工的に作ることの意義を、こう語る。「これまでの生物学で明らかになった遺伝子部品を組み合わせて実際に仕組みをつくってみることで、現在の理解が正しいのかどうかを検証することができます。さらに私は、つくってみることで、予想外の発見も期待しています」

予想外の発見を期待して、戎家ULが人工遺伝子ネットワークに加えたのが、Lfngが主役を担うB回路である。「Lfngは、Delta-Notchシグナルの活性を制御していることが知られています。しかし、LfngはDelta-Notchシグナル活性を上げるといふ報告と、活性を下げるという報告があるのです。正反対の報告が出るくらいだから、Lfngには何か面白い機能があるのではないかと思ったのです」

DeltaとNotchとrTSから成る人工遺伝子ネットワークを導入した場合、細胞分裂によって増殖した細胞は赤色のDelta発現細胞が56%、緑色のNotch活性化細胞が44%になる。その遺伝子ネットワークにさらにLfngを導入すると、赤色のDelta発現細胞が32%、緑色のNotch活性化細胞が68%と比率が逆転した。「Lfngに2種類の細胞の比率をコ

ントロールする機能があったのです。これは、まったく予想していなかったことでした。期待もしていなかったような発見に出会えるということが、つくるといふアプローチの醍醐味です」。B回路を詳しく調べてみると、LfngはNotchを活性化し、Deltaの発現を抑制する機能を持っていることが分かった(図3下)。

■ パターン形成や変形の仕組みをつくる

再構成生物学研究ユニットは、戎家ULと研究員3人、テクニカルスタッフ2人、パートタイマー1人で構成されている(図5)。松田 基礎科学特別研究員は細胞分化の担当だ。関根亮二 基礎科学特別研究員は、パターンができる仕組みづくりに取り組んでいる。生物では、しばしば細胞集団がひとりだけで美しい空間パターンをつくり、異なる種類の細胞を組織中の適切な位置に配置することができる。拡散性のリガンドと受容体のシグナルを使って、美しい細胞パターンをつくり出そうとしているところだ。

高山真美 研究員のテーマは、変形だ。生物は発生過程で、シート状の組織の一部が隆起したり陥没したりして変形することで、立体的な形をつくり上げている。その仕組みを再現しようとしている。

■ 研究者にとって挑戦はリスクじゃない

戎家ULは、大学院では遺伝子の転写について研究をしていた。ある遺伝子が転写される時、その遺伝子だけでなく、ゲノム上で近傍にある遺伝子やタンパク

関連情報

●2015年2月5日プレスリリース
均一な細胞集団に自発的に違いを生み出す仕組みを再構成

質をつくらぬ領域も転写されていることを発見。転写はピンポイントではなく、周りへの波及効果もあることを明らかにして注目された。大きな成果を挙げているながら、研究分野を合成生物学へ変えることに不安はなかったのだろうか。「結局何もつくれぬこともありリスクが高いとか、自分のグループを持ってゼロから始めるより海外の合成生物学の有名研究者のもとでポストドクをした方がよいなど、いろいろな人からいろいろなことを言われました。しかし私は、失敗を恐れてあれこれ考えるよりも、面白そうだと思ったら今すぐ自分でやってみます」と言い切る。「そもそも研究は失敗が普通の状態です、ごくごくまれに成功すればよいのです。つまり研究者とは、挑戦や冒険がリスクとならぬ珍しい職業です。むしろ挑戦しない方が、長期的に見ると研究者としてははるかに大きなリスクだと思います」

戎家ULは、この研究を通じて痛感していることがある。「生物がやすやすとやっていることでも、その仕組みを人工的につくるのは、とても難しい。生物の仕組みはとても巧妙で、私たちがまだまだ理解できていないからです。私たちの技術も、まだまだ未熟です。だからこそ、つくりがよいもあります」。そして、最後にこんな展望を語った。「細胞分化とパターン形成と変形の仕組みをつくって、それらをつなげることができたら、多細胞生物の発生の過程を人工的につくり出せるかもしれない……。ぜひ挑戦したいですね」

(取材・執筆:鈴木志乃/フotonクリエイト)

自然免疫の記憶メカニズムを 解明した研究者

ある病原体に感染すると、次からはその病原体に感染しにくくなる。それは、その病原体だけを攻撃する抗体をつくる獲得免疫に記憶が残るためである。一方、さまざまな病原体を攻撃するマクロファージなどが働く自然免疫にも記憶があるのかどうか、その記憶メカニズムが不明なため議論が分かれていた。理研石井分子遺伝学研究室（石井俊輔 首席研究員）の吉田圭介 特別研究員（以下、研究員）たちは2015年、自然免疫で働くマクロファージの記憶メカニズムを解明することに、世界で初めて成功した。吉田研究員は大学院生のとき、細胞分裂の際に働くコヒーシンというタンパク質複合体が、遺伝子の発現にも関係していることを発見し、その研究成果は『Nature』に掲載された。「そのとき自分がやっている研究が世界で一番面白いと思いつつ、日々、実験を続けています」と語る吉田研究員の素顔に迫る。



吉田圭介

石井分子遺伝学研究室 特別研究員

よしだ・けいすけ

1982年、東京都生まれ。博士（理学）。浅野中学校・浅野高等学校卒業。東京工業大学大学院生命理工学研究所博士課程修了。2010年、理研基幹研究所石井分子遺伝学研究室 基礎科学特別研究員。2013年より現職。

祖父の代から続く東京・浅草橋の手芸用品問屋に生まれた吉田研究員。「父は私に好きなことをやれと言っていました。小学生のころ、NHKの大学ロボコンで東京工業大学（東工大）チームが活躍している様子を見て、将来は東工大でロボットの研究がしたいと思うようになりました」

中高一貫の私立男子校に進学して、6年間、物理部に在籍した。「ハンダごてを使ってラジオなどの電子機器を製作しました。高校のときは、講談社の『ブルーバックス』シリーズが好きで、図書室でいろいろなジャンルの本を借りては読んでいました。そして素粒子物理学や生命科学、さらには哲学や心理学にも興味を持ちました」

東工大への志望は変わらず、生命理工学部に進学して白髭克彦教授の研究室へ。「そこで、ヒトの細胞でコヒーシンがDNAのどこに付いているのかを網羅的に調べる実験を担当しました。その結果、コヒーシンが遺伝子発現に関する領域（インシュレーター）で働いていることを発見したのです。現在、その研究にはたくさんの研究者が参入して、とてもホットな分野になっています」

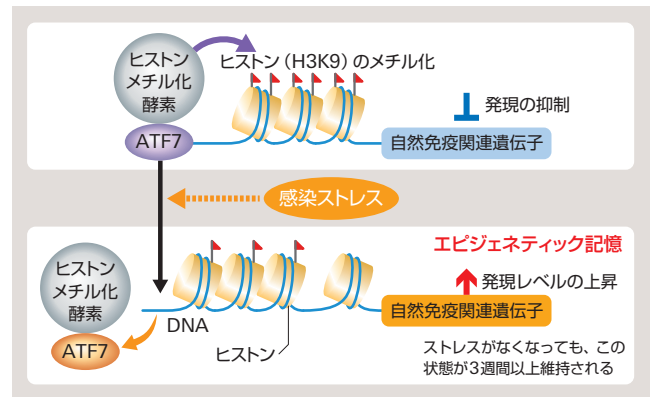


図 自然免疫の記憶メカニズム

DNAはヒストンというタンパク質に巻き付いている。マクロファージでは、DNAの特定領域にATF7が付くことでヒストンメチル化酵素を呼び寄せ、ヒストンのH3K9という場所をメチル化（旗のマーク）して、自然免疫関連遺伝子の発現を抑制している。

感染ストレスによりATF7がリン酸化されてDNAから離れると、その抑制が外れ、自然免疫関連遺伝子の発現レベルが上昇してマクロファージが活性化する。ストレスがなくなっても、この状態が3週間以上維持（記憶）されることが分かった。

吉田研究員が博士課程のとき、理研の石井首席研究員のセミナーが東工大で開かれた。「親が受けたストレスの影響が子どもへ遺伝するという実験結果を聞き、それは面白い！と理研に来ました」

生物学では、親が経験したことの影響は子どもへは遺伝しないというのが長年の常識だった。ところが石井首席研究員たちは2011年、遺伝子の発現パターン記憶であるエピジェネティクスがストレスによって変化し、それが親から子へ遺伝するメカニズムを発見した。「研究室では、そのメカニズムに関係するATF7というタンパク質（転写因子）とさまざまなストレスとの関係を調べています。私は病原体感染によるストレスとATF7の関係について解析を進めています。マウスに感染ストレスを与えると、マクロファージのDNAの特定領域に付いていたATF7が離れ、それに伴い自然免疫の関連遺伝子の発現レベルが上昇し始め、マクロファージが活性化しました。そして、その状態が長期間維持されたのです」（図）。その研究成果は、より効果の高いワクチンの開発やアレルギー疾患の克服などに貢献すると期待されている。

「親の経験が子どもへ遺伝するには、生殖細胞のエピジェネティクスが変化する必要があります。私は今、感染ストレスにより、精子をつくる精巣の細胞のDNAで、ATF7がどのように働き何が起きるのかを調べているところです」

研究に必要なものは？「ポジティブシンキングと好奇心です。生物の実験はうまくいかないことの連続ですが、気がめいっていたら良いアイデアも浮かびません。研究を本当に好きでいることが、研究内容を考えたり、実験を効率よく進めたりする上で大切だと思います」

（取材・執筆：立山 晃／フotonクリエイト）

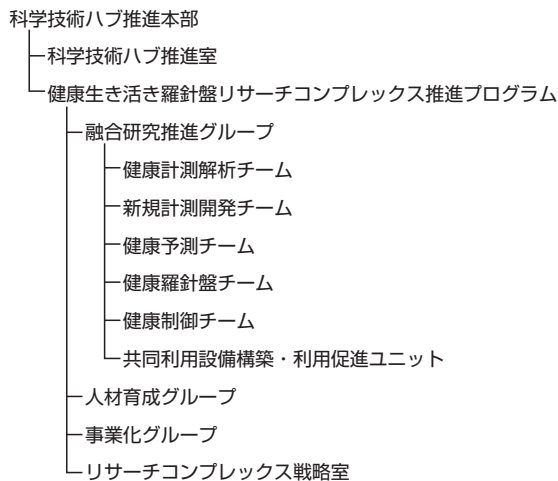
「科学技術ハブ推進本部」が発足

2016年3月1日、理研に「科学技術ハブ推進本部」が発足し、推進本部長には松本洋一郎 理事が就任しました。

研究所を中核として、異分野・異業種の大学・研究機関・病

院・企業などが共同で研究開発などに取り組むための拠点（科学技術ハブ）を整備することにより、科学技術力の強化・イノベーション創出を目指します。

まずは、「健康生き活き羅針盤リサーチコンプレックス推進プログラム」に取り組めます。このプログラムでは、文字どおり、人が“生き活き”生活するため、“ヒト”の健康増進を統合的に科学することを目的として集結した多様なプレーヤーを通じて、持続的に発展し続けるプラットフォームを創造します。



科学技術ハブ推進本部長

松本洋一郎 (まつもと・よういちろう)

1977年、東京大学大学院工学系研究科機械工学専門課程博士課程修了。工学博士。東京大学工学部講師、同助教授、同教授、東京大学大学院工学系研究科教授、同工学部長・工学系研究科長、東京大学総長特任補佐などを経て、2009年4月～2015年3月、同理事・副学長。2015年4月より理研理事、2016年3月より現職を兼務。

超重元素研究グループが和光市より感謝状を拝受

理研仁科加速器研究センター超重元素研究グループは、113番元素の発見と命名権の獲得について国際機関の認定を受け、未来の科学技術の発展への期待と希望を与えた功績により、和光市から感謝状を贈呈されました。

感謝状の贈呈は3月4日に理研和光事業所において行われました。森田浩介グループディレクターをはじめとする超重元素研究グループのメンバーが出席し、松本武洋 和光市長から感謝状が手渡されました。その後、和光市が製作した、グループの功績を広くPRする横断幕が披露されました（写真）。横断幕は3月7日から、理研が面する国道254号線の和光市の中央歩道橋に掲揚されています。

森田グループディレクターのコメント

このたび、地元の和光市より感謝状を授与されたことは、大変喜ばしく名誉あることと思います。長い時間をかけて一つの目的にみんなで立ち向かった結果、このような成果を出すことができ誇りに思います。和光市の市民の皆さまのご理解があって初めて研究が続けられたものであり、元素に名前が付くことによって非常に分かりやすい形で市民の皆さまに恩返しができることをうれしく思います。今後、研究は次のステップに進みますが、市民の皆さまに愛される理研であるよう心掛けていきたいと思ひます。



森田浩介グループディレクター（左）と松本武洋 和光市長

ロングアイランド鉄道小景

赤井康貴 あかい・やすたか

仁科加速器研究推進室 主査 (理研BNL研究センター勤務)

2015年の1月から、米国ニューヨーク州のブルックヘブン国立研究所 (BNL) 内の理研BNL研究センターに赴任しています。

米国に赴任するに当たって、家族や知人からはさまざまな心配をされましたが、特に「鉄道はどうするんだ」という声を嫌になるほどもらいました。筆者は俗に言う“乗り鉄”で、赴任先の米国は言わずと知れた自動車の国です。

幸いなことにBNLはロングアイランドという、マンハッタン島の東、大西洋側に長く突き出した島にあり、ロングアイランド鉄道 (LIRR) というビジネスパーソン向けの路線が走る、米国鉄道の良心ともいえる地でした。しかもこのLIRR、全線開通でも1850年代という、日本鉄道史が裸足で逃げ出す由緒正しい路線なのでした。

となれば当然乗り鉄趣味もめでたく継続するのですが、一口に鉄道と言っても実際に乗りこなしていくうちに、洋の東西で勝手が違うことを多々経験しました。せっかくですので(?) 米国で鉄道を乗りこなそうとする方向けに簡単なレクチャーを。

■戦いは乗る前から始まっている■

よほど都会の路線でない限り、駅には車を使って赴くこととなります。BNLに最も近い主要駅のロンコンコマ駅などでは1,000を優に超える駐車スペースがありますが、平日は主人の帰りを待つマイカーで埋まります。このため、運よく空きが出ることを狙って駅舎の近くに潜む、敷地内をぐるぐる回ってスペースを探す、明らかに駐車スペースでないけど怒られない程度の草むらに止める、いずれかの判断を迫られます。

■静寂はないものと思う■

長距離列車でQuiet carを設けている鉄道会社もありますが、裏を返すと、一般の車両は、携帯電話の使用もおしゃべりもほとんど制約がありません。英語やスペイン語が飛び交う車内を楽しみましょう。



写真1・筆者近影。
理研BNL研究センターの事務所に於いて。

写真2・ロンコンコマ支線
終点から大西洋を望む



■列車は急に止まる■

これまでに直接・間接的に経験しただけでも、道路工事、線路内の動物進入、乗客の乗り間違い、乗員の乗り遅れ、不審物捜索、脱線事故の余波など、さまざまな理由で列車は徐行して、時には完全に止まります。事故などでなければ、車内放送でのアナウンスなどありません。

あれこれと批判まがいの情報を並べましたが、実際のところ米国で鉄道を利用して不快感を覚えるようなことは、まずありません。むしろ生活に占める割合が相対的に低いことで、非日常、非個人的な移動手段としての存在が際立つのかもかもしれません。不都合があってもその愚痴を分け合いながら、目的地までは共に楽しもうという独特の気分は、悪くありません。旅行と徐行の響きが似ているように、トラブルとトラベルも、似た者同士のようなのです。

また、鉄道をめぐる人々の光景も、意外なほど日本と似通っています。出会いと別れ。膝に乗せた子どもそっちのけで車窓に瞳を輝かせるおじさん。折り返しの出発時間を気にしながら、終点の駅の周辺だけを楽しむ乗り鉄たち。駅舎すらないホームに大きなトランクとともに降り立ってぼうぜんとする旅行者と、出迎える人。文化の差異を超えて、変わるものと変わらないものを探して、鉄道の旅をこれからも続けるつもりです。

創立百周年記念事業寄附金へのご支援のお願い

創立百周年 (2017年) の記念事業寄附金へのご支援をお願いします。

問合せ先 ● 理研 外部資金室 寄附金担当

Tel: 048-462-4955 Email: kifu-info@riken.jp

理研 寄附金
Support RIKEN

理化学研究所 創立百周年
RIKEN 100th Anniversary



http://www.riken.jp/