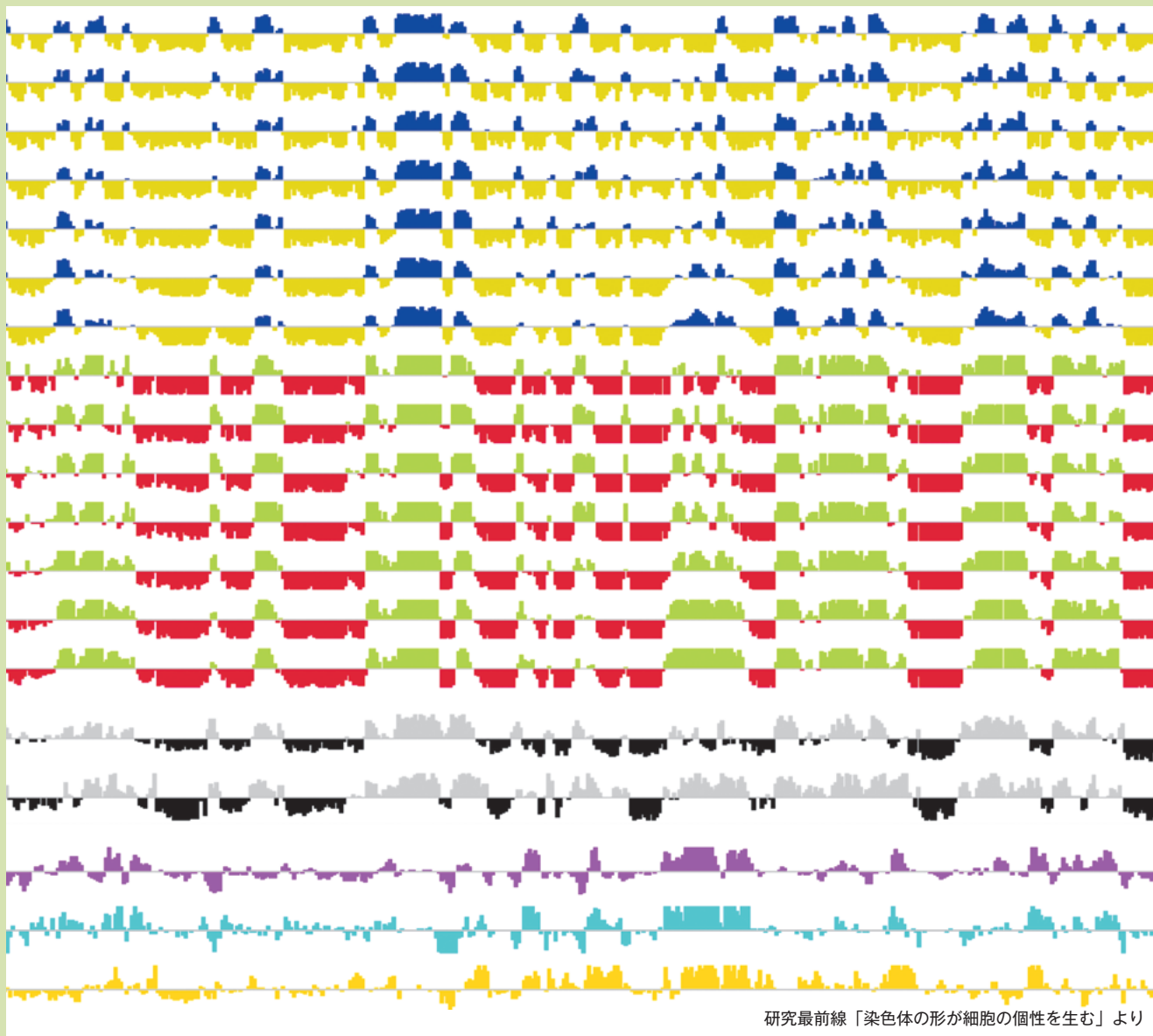


RIKEN NEWS

No. 462 2019 **12**



研究最前線「染色体の形が細胞の個性を生む」より

02 研究最前線

染色体の形が細胞の個性を生む

06 研究最前線

タンパク質の凝集体から脳疾患を解明する

10 特集

タンパク質の質量分析を極める

13 FACE

分化全能性の謎に迫る研究者

14 SPOT NEWS

1細胞RNA解析キットが製品化

15 私の「科学道100冊」

シートンのように生きたい!

16 原酒

にほんごクラブで異文化交流

私たちの体を構成する細胞は、
 全て同じ遺伝情報を持っているにもかかわらず、性質が異なるいくつもの種類に分かれている。
 生命機能科学研究センター 発生エピジェネティクス研究チームの
 平谷伊智朗チームリーダー（TL）は、細胞ごとの個性は染色体の形と関係があると考えている。
 そして染色体のどの領域がいつ複製されるかを1細胞で解析する手法を開発。
 それから得られるデータは染色体の3次元構造を調べるのに有効で、
 細胞分化に伴う染色体の構造変化を1細胞レベルで明らかにすることに成功した。
 細胞の個性が生まれる仕組みが明らかになろうとしている。

染色体の形が細胞の個性を生む

■ 染色体の構造とエピジェネティクス

「受精卵は、あらゆる細胞に分化できる全能性を持っています。発生が進むにつれて全能性は失われ、細胞は多能性と呼ばれる状態になり、さらに神経や筋肉などの細胞に分化していきます。まだ分化していない細胞と、特定の種類に分化した細胞は本質的に何が違うのか、私は究極的にはこれを理解したいのです」。そう語る平谷TLが目しているのが、研究チーム名にも入っているエピジェネティクスである。

生物の細胞が持っているDNAの全ての塩基配列情報のことをゲノムDNAといい、その一部に遺伝子がある。神経の細胞も筋肉の細胞も同じゲノムDNAを持っているにもかかわらず、遺伝子の発現パターンは異なり、それぞれが特有の機能を発揮する。遺伝子の発現を調

節している仕組みが、エピジェネティクスだ。

エピジェネティクスの分野では、DNAにメチル基が付いたり、DNAが巻き付いているヒストンというタンパク質にアセチル基やメチル基が付くなどの化学的な修飾が盛んに研究されてきた。しかし平谷TLは、「それだけではエピジェネティクスを十分には説明し切れていないと感じています」と指摘する。「DNAやヒストンの化学的な修飾に加えて、より大きなスケールでの染色体構造の制御もエピジェネティクスに深く関わっているのではないかと。実は、大学院生のころからそう考えていました」

約60億塩基対の二重らせんから成るヒトのゲノムDNAは、46本に分かれている。それぞれのDNAは約146塩基対ずつヒストンに巻き付いてヌクレオソームという構造を形成し、ヌクレオソームが連なったクロマチンが折り畳まれて染色体となる。1本の染色体をつくるクロマチンの長さは、およそ1億塩基対だ。

「ヌクレオソームと染色体の間にある広大なスケールの階層レベルに明確な構造単位は見つかっておらず、いわばブラックボックスとなっていたのです。振り返ってみるとこれまでの私の研究は、このブラックボックスの解明に向けての取り組みであった、と表現できるように思います」

■ DNA複製タイミングから染色体構造を理解する

染色体構造の制御とエピジェネティクスとの関係を自分の手で確かめたい。そんな思いを胸に米国に留学して以来、平谷TLは一貫して、DNA複製タイミングがどのように制御されているのか、という問題に取り組んできたという。

細胞は、分裂を繰り返して増えてい

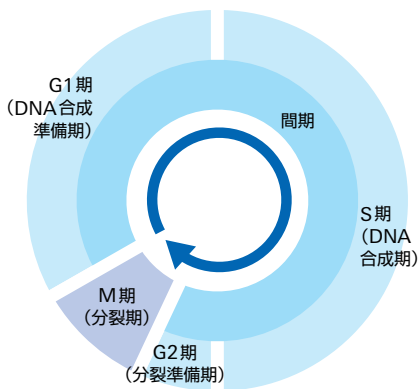


図1 細胞周期

DNAは間期のS期に複製されて2倍になり、M期に2個の娘細胞に均等に分配される。

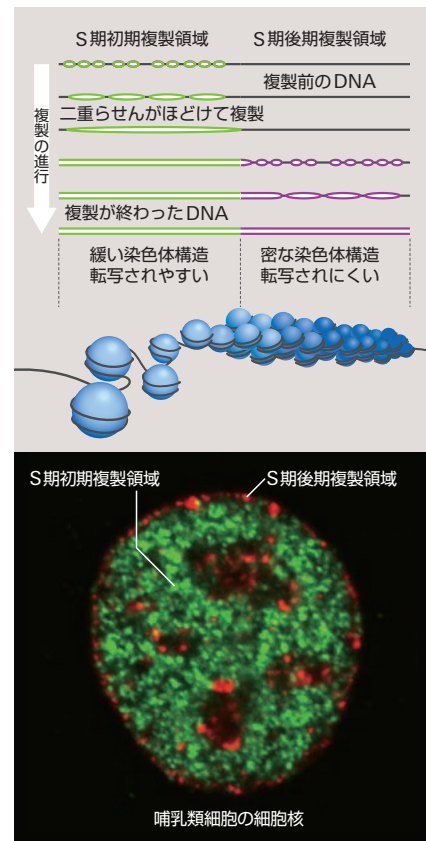
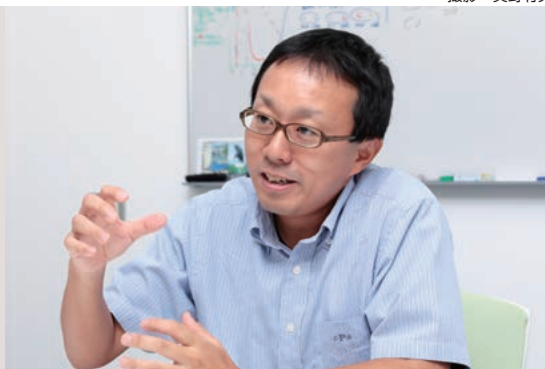


図2 DNA複製タイミングと染色体の構造・核内配置

平谷伊智朗 (ひらたに・いちろう)

生命機能科学研究センター
発生エビジェネティクス研究チーム
チームリーダー

1974年、石川県生まれ。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。博士（理学）。米国ニューヨーク州立大学アップステート医科大学博士研究員、米国フロリダ州立大学博士研究員、国立遺伝学研究所助教などを経て、2013年より理研 発生・再生科学総合研究センターチームリーダー。2018年より現職。



く。分裂してできた細胞が次の分裂を行うまでの期間を細胞周期といい、M期と間期に分けられている(図1)。ゲノムDNAは間期のS期に二重らせんがほどけ複製されて2倍になり、M期に2個の娘細胞に均等に分配される。

「DNAの複製は、母細胞から娘細胞に遺伝情報を伝えるとても大切なプロセスで、誤りがあってはいけません。哺乳類細胞では、折り畳まれた長大なゲノムDNAを一度に複製することはせず、どの領域がいつ、どの順番で複製されるかというDNA複製タイミングを制御していることが、1950年代に発見されました。その後、DNA複製タイミングは、クロマチンの折り畳まれ方、つまり染色体の構造とよく相関していることが明らかになっていったのです」

S期初期に複製される領域はクロマチンが緩く折り畳まれていて、S期後期に複製される領域は密に折り畳まれている(図2)。核内での配置も異なり、S期初期複製領域は核の内側(図2写真の緑)に、S期後期複製領域は核膜や核小体の周辺(図2写真の赤)に存在している。「こうしたことから、DNAの複製タイミングを正確に検出できれば、染色体の構

造や核内での配置、それらの変化を推定できると考えたのです」と平谷TL。

それまで解析できていたのはゲノムDNA上のごく一部だけで解像度も低かったことから、平谷TLは留学時代にマウスやヒトの細胞の全ゲノムDNAについて複製タイミングを高解像度で解析する手法を新たに開発。その結果、ゲノムDNA全体でどのように複製が進行していくのか、その全貌が初めて明らかになり、そのパターンが細胞分化とともに大きく変わることも示した。どのゲノム領域の染色体構造が分化に伴いどう変化するかを推定できる画期的な成果だが、平谷TL自身はさらに解決しなければいけない課題があると感じていた。

この解析では、複製中のDNAに目印を付け、その目印と結合する抗体を用いた免疫沈降という手法で複製中のDNAを回収し、次世代シーケンサーやマイクロアレイで塩基配列を読み取り、ゲノムDNA上のどの領域が複製されているかを特定する。これをS期のさまざまな時期の細胞について行うことで、全ゲノムDNAの複製タイミングが明らかになる。しかし、免疫沈降法でのDNA回収には、たくさんのDNA、つまり数万個の細胞

が必要になる。「私たちが見ていたのは、数万個の細胞のDNA複製タイミングの平均像にすぎなかったのです。それぞれの細胞でDNA複製がどのように進行するのか、細胞ごとにどの程度の個性があるのか、真の姿を見るには1細胞で解析を行わなければなりません」

■ 1細胞のDNA複製を捉える

「しかし当初は、1細胞のDNA複製を見るなんて難しいことができるとは思っておらず、あまり真剣には考えていませんでした」と平谷TL。ちょうどそのころ、三重大大学の竹林慎一郎 准教授と話す機会があった。2人は米国フロリダ州立大学の同じ研究室に留学していたこともあり、帰国してからも学会などでよく顔を合わせていた。「そのころ竹林さんは、S期の細胞を顕微鏡下で選び、そのDNAのコピー数を次世代シーケンサーで解析できることを示唆するデータを得つつありました。複製前ならばコピー数は1、複製が終わってればコピー数は2となります。次世代シーケンサーの解析結果から1コピーと2コピーの領域を見分けることができれば、1細胞での解析が可能になると、思い至ったのです」

平谷TLはその後、竹林准教授らと共に実験と解析の手順に改良を重ね、ついに1細胞ゲノムDNA複製解析法(single-cell DNA Replication sequencing法: scRepli-seq法)を開発。そして、ヒトとマウスのS期中期の細胞を用いて、全ゲノムDNAの複製タイミングを1細胞ごとに明らかにすることに成功した(図3)。scRepli-seqによる1細胞解析の

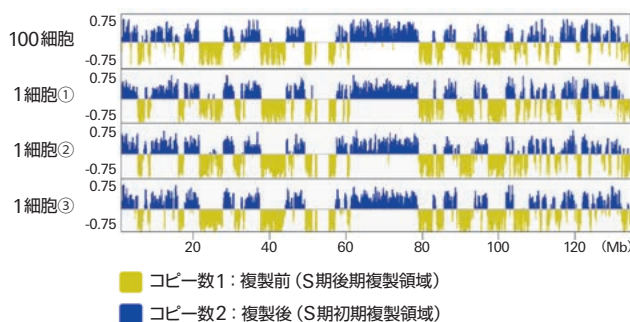


図3 1細胞ゲノムDNA複製解析法「scRepli-seq法」の解析結果

ヒト網膜色素上皮細胞を解析した。下3段はS期中期の1細胞ごとの結果であり、細胞間でDNA複製タイミングのばらつきは小さい。一番上の段は100個の細胞をまとめて解析した結果で、下3段とほぼ同じであることから、細胞間のばらつきが小さいことが分かる。図は11番染色体のデータ。

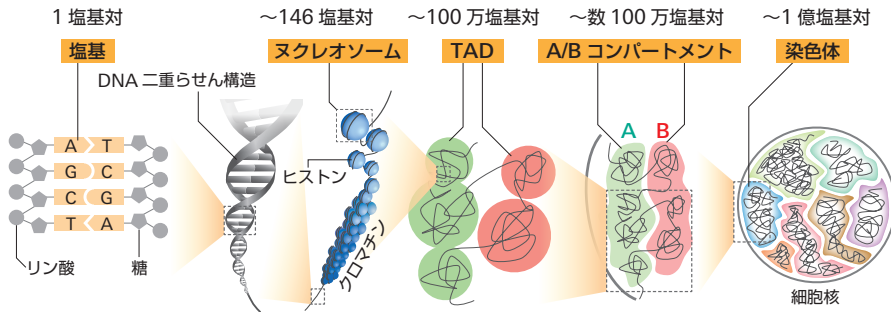


図4 染色体の階層構造

TADとA/Bコンパートメントは、Hi-C法という新しい染色体の3次元構造解析法によって見いだされた構造である。

関連情報

- 2019年8月13日プレスリリース
染色体の形は細胞分化と共にこう変わる
- 2019年2月26日プレスリリース
ゲノムDNA複製の真の姿を捉えた

結果を見た平谷TLは、「細胞ごとのばらつきが驚くほど少ないことに、衝撃を受けました」と言う。

おのおのの細胞には父方由来と母方由来とで1対の相同染色体が存在する。マウスの相同染色体のペアをscRepli-seq法で解析して比較したところ、ペア間の複製タイミングのばらつきはほとんど見られなかった。マウスのES細胞と、ES細胞から神経外胚葉に分化した細胞についても解析した。分化の前と後でDNA複製タイミングのパターンは変化していたが、分化後も細胞間のばらつきはほとんど見られなかった。

「複製タイミングは、細胞間でも相同染色体間でも、とてもよく保存されており、しかも細胞の種類ごとに固有のパターンを示したことから、ゲノムDNA複製は細胞種ごとに特徴的な染色体構造をよく反映したものであると考えられます」と平谷TLは解説する。

■ Hi-C法とscRepli-seq法の組み合わせで生まれる独自性

平谷TLらがDNA複製タイミングから染色体の構造を明らかにしようとしていたのと同じころ、Hi-C法 (High-throughput chromosome conformation capture) という染色体構造解析の新しい手法が開発され、染色体研究は新たな局面を迎えつつあった。Hi-C法では、細胞核内におけるゲノムDNA配列同士の相対距離を測定することで染色体の3次元構造を推定する。このまったく新しい手法の出現によって、染色体には約100万塩基対のDNAから成るク

ロマチンが球状に折り畳まれたトポロジカルドメイン (topologically associating domain : TAD) 構造と、複数のTADが連なった核内コンパートメント構造があることが新たに見いだされていた(図4)。核内コンパートメントには、遺伝子発現が盛んなTADが集まったAコンパートメントと、遺伝子発現の低いTADが集まったBコンパートメントがある。

「TADや核内コンパートメントは、まさにブラックボックスとなっていた階層の染色体構造です。私たちは、これらの構造とDNA複製タイミングが密接に相関することに、かなり早い段階で気付いていました。次の課題として、細胞分化の過程で起きる両者の変化がどの程度相関しているのか、因果関係はあるのかを、自分たちの手で調べたいと考えました」と平谷TL。

しかし、Hi-C法を使うには分子生物学とバイオインフォマティクスの高度な技術と知識が必要で、その証拠にHi-C法を使いこなせる研究室は未だに多くはない。実験系の立ち上げは難航したが、バイオインフォマティクスに強い三浦 尚 研究員 (5ページ写真の前列右から2人目) が研究チームに加わり、Hi-C法を用いた研究が本格的に行える体制がついに整った。

「1細胞でDNA複製タイミングが分かり染色体構造を推定できるscRepli-seq法と、細胞集団が対象だが100万塩基対スケールの階層の染色体構造が分かるHi-C法をうまく組み合わせることで、誰も見たことのない染色体の姿に迫ることができると期待しました」

■ 1細胞レベルで見えた！

細胞分化に伴う染色体構造の変化

平谷TLらは、マウスES細胞が神経前駆細胞に分化する7日目までについて、Hi-C解析と複製タイミングの解析を行った(図5、表紙)。その結果、分化に伴って、コンパートメントがゲノム上のさまざまな場所でAからBへ、またはBからAへ変化していることが分かった。コンパートメントの変化と協調的に複製タイミングも変化しており、両者の間には因果関係があると考えられた。細胞膜の裏側にある核ラミナという構造とゲノムDNAの結合度も、コンパートメントの変化と協調的に変化していた。これは、特定のゲノムDNA領域のコンパートメントが変化すると核内配置も変化することを意味している。

scRepli-seq法も用いて詳しく調べると、コンパートメントの変化は、複製タイミングの変化に先立って起きていることが分かった。つまり、コンパートメントの変化が複製タイミングの変化を引き起こしている可能性が示されたのだ。さらに、コンパートメントの変化は、A/Bの境界近くに位置する1個分のTADがそれまでとは別のコンパートメントに移動することによって起きることが明らかになった(図6)。「配置が変わったTAD内部では遺伝子発現の変化が引き起こされ、このようなTADがゲノム上に一定数以上存在すると、細胞が分化した、とわれわれの目に映るのではないかと考えられます」と平谷TL。

前述のとおり、DNA複製タイミングは細胞間でばらつきが小さい。しかし詳

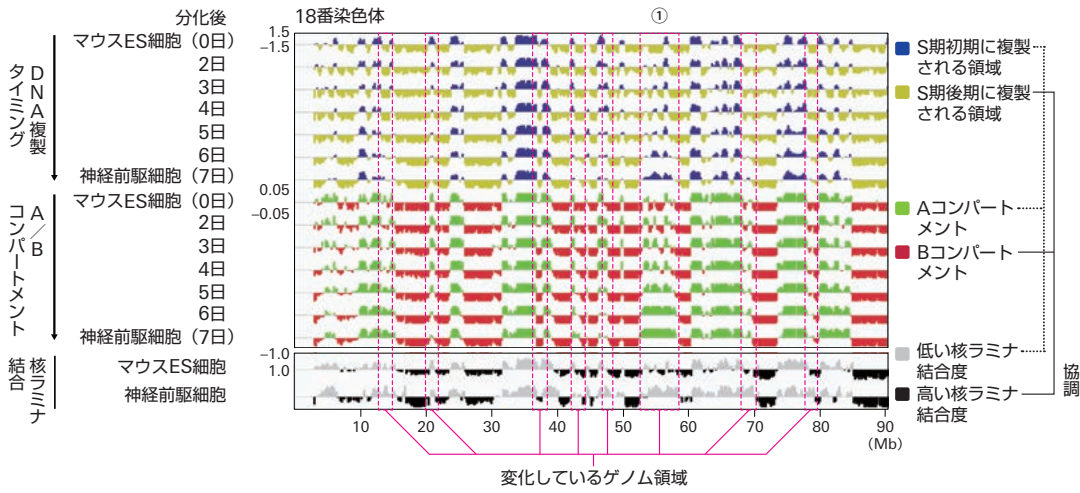


図5 細胞分化に伴う染色体の構造、核内配置の変化

コンパートメントの欄を見ると、ES細胞の分化に伴ってゲノム上のさまざまな場所でA(緑)からB(赤)へ、またはB(赤)からA(緑)へ変化している。コンパートメントがB(赤)からA(緑)へ変化した領域(例えば①)は、DNA複製タイミングがS期後期の複製(黄)からS期初期の複製(青)へ、核ラミナとの結合度が高い状態(黒)から低い状態(灰色)へ、協調的に変化している。

しく見ると、ばらつきが比較的大きいゲノム領域があり、その多くは分化後に複製タイミングが変化する領域であった。Hi-C解析の結果と併せて考えると、分化に伴ってDNA複製タイミングが変化する領域は、未分化の段階からコンパートメントが不安定でTADが移動しやすく、そのために細胞間で複製タイミングがばらつきやすくなっている可能性が考えられた。平谷TLは、遺伝子の発現制御や分化のメカニズムを理解するための足掛かりになるとして、現在こういったゲノム領域に注目している。

「細胞分化に伴う染色体構造の変化を100万塩基対スケールの階層でここまで詳しく調べたのは、私たちが初めてです」と平谷TLは胸を張る。「私は発生生物学の分野で学位を取った後に、DNA複製を切り口とした染色体研究分野に入りました。このことから、発生や細胞周期といった時間的制御の視点が常に頭の中であり、染色体構造についても時間的な要素を取り入れて考えています。

これは私のオリジナリティーであり、大きな強みになっていると感じています」

■ 受精後初めての細胞分化 その瞬間を見たい

さらに「scRepli-seq法によって、たくさんの細胞を用意しなければDNA複製を解析できないという細胞数のハードルは完全に取り払われました。しかも、あらゆる生物種に適用できます。今後は共同研究も含めてscRepli-seq法をさまざまな用途に展開していきたい」と展望する。先天性の染色体異常を伴う疾患には、ゲノムDNAのコピー数異常を示すものがある。また、がん細胞ではコピー数の広範な異常が見られる。scRepli-seq法は、染色体異常やがんを1細胞レベルで診断する画期的な手段になる可能性がある。

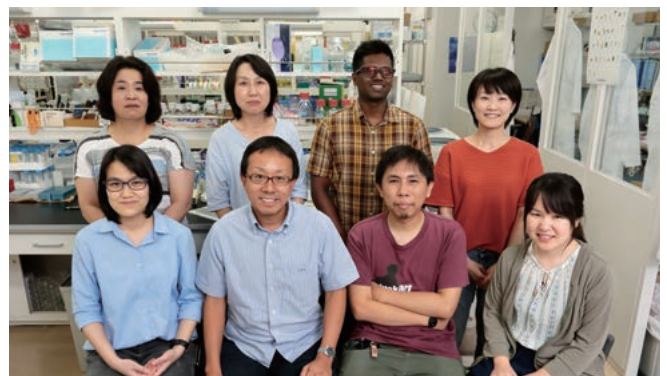
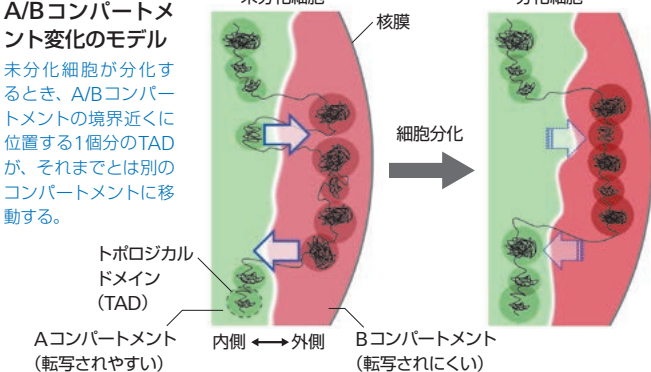
また、細胞間でDNA複製タイミングのばらつきが小さいという特徴を利用して、DNA複製タイミングに異常がある細胞を効率よく見つけることのできるス

クリーニング法も開発中だ。それによってDNA複製タイミングや染色体構造の制御に関わっている因子を網羅的に同定し、それらの働きの解明を目指す。

「ブラックボックスであった100万塩基対スケールの染色体構造の実態が少しずつ見えてきて、ようやくこの階層の染色体研究のスタートラインに立ったと感じています。染色体は生命の本質であるが故に競争の熾烈な研究分野ですが、scRepli-seq法とHi-C法を組み合わせる独自の手法によって、染色体構造制御という切り口から細胞分化の本質に迫っていきたい」と平谷TLは意気込む。「受精卵は細胞分裂によって2細胞、4細胞と増えていき、そのあと間もなく、将来胎児になる細胞と胎盤になる細胞とに分化します。この受精後初めての細胞分化のときに染色体構造がどう変わるのか、まずはその瞬間を捉えたいですね」

(取材・執筆：鈴木志乃/フォトンクリエイト)

図6 分化に伴うA/Bコンパートメント変化のモデル



発生エピジェネティクス研究チームのメンバー

撮影：奥野竹男

精神疾患や神経変性疾患などの脳の疾患には、発症メカニズムが未解明で診断や予防・治療法が確立されていないものが多い。脳神経科学研究センター タンパク質構造疾患研究チームの田中元雅チームリーダー（TL）らは、脳内に蓄積するタンパク質の凝集体に注目することで、これまでではそれぞれに研究戦略が取られてきた精神疾患と神経変性疾患の共通点を見いだした。

タンパク質の凝集体から脳疾患を解明する

■凝集体が別のタンパク質を取り込み、精神障害を引き起こす

アルツハイマー病などの神経変性疾患では、脳内の神経細胞の変性や細胞死が見られる。脳内において、構造が異常になったタンパク質がたくさん集まって凝集体をつくり、その毒性により神経細胞が損傷することで発症すると考えられている。

一方、統合失調症などの精神疾患では一般に神経細胞の細胞死は見られず、脳のどの領域に発症原因があるかよく分かっていない。

「神経変性疾患と精神疾患では細胞死が起きるか起きないか、という違いがあります。ただし、多くの神経変性疾患で、細胞死が起きる前の発症早期から、不安障害やうつ状態など精神疾患で見られる症状が表れます。そのため、神経変性疾患で併発する精神障害と精神疾患には共通の発症メカニズムが存在する可能性があります。しかし、分子レベルでの解明は進んでいませんでした」と田中TLは指摘する。

研究チームの遠藤 良 研究者らは、社会性が極度に欠如するなど顕著な精神障害が見られる前頭側頭葉変性症（FTLD）という神経変性疾患を対象に、神経変性疾患による精神障害と精神疾患に共通する発症メカニズムの解明に挑むことにした。

FTLDでは、構造が異常になった

TDP-43タンパク質が集まって凝集体をつくることが知られている。「その凝集体にTDP-43以外のタンパク質も取り込まれる共凝集といわれる現象が起きていることも知られていました。取り込まれたタンパク質の機能が失われることで、精神障害が表れるという予測のもと、私は実験を始めました」と遠藤研究者。

取り込まれているタンパク質は何か。遠藤 研究者は、統合失調症を含むさまざまな精神疾患の危険因子であるDISC1タンパク質に着目した。研究チームでは、DISC1がTDP-43と共通の相互作用タンパク質を持ち、凝集性が高いことを見つけていた。

FTLD患者の脳内では、構造が異常になったTDP-43断片が見られる。そのTDP-43断片を、培養したマウスの神経細胞で発現させると、TDP-43断片がつくる凝集体と、もともと細胞内にあったDISC1が神経細胞の樹状突起などで共凝集することが分かった（図1）。樹状突起には、ほかの神経細胞から情報を受け取るシナプスがある。TDP-43断片の凝集体とDISC1が共凝集している樹状突起では、シナプス形成や情報伝達に必要なタンパク質（シナプスタンパク質）の合成量が著しく減少していた。

さらに、マウスの脳でTDP-43断片を発現させると、社会性の欠如や多動性などの異常行動を示すことが分かった。その脳内を調べると、高次機能をつかさ

どる前頭葉でTDP-43断片の凝集体とDISC1が共凝集し、培養細胞と同様に樹状突起のシナプスタンパク質の合成量が大きく減少していた。

「TDP-43断片の凝集体にDISC1以外のタンパク質が取り込まれて、異常行動の原因となっている可能性はあります。しかし、異常行動を起こすマウスの前頭葉でDISC1を発現させてDISC1の機能を復活させると、異常行動が改善しました。従って、TDP-43断片の凝集体にDISC1が取り込まれることでその機能を失うことが、異常行動の主要な原因だと考えられます」と遠藤研究者。

DISC1が凝集体に取り込まれると、なぜ樹状突起のシナプスタンパク質の

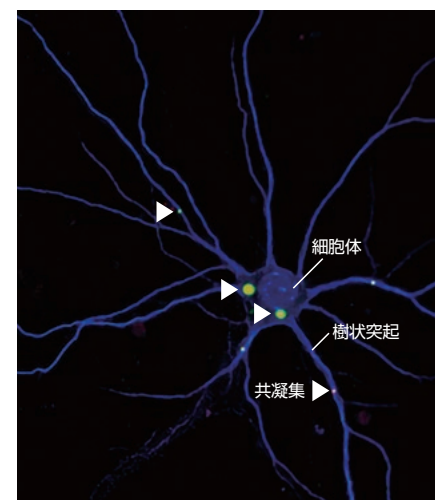


図1 TDP-43断片の凝集体とDISC1の共凝集

培養したマウス神経細胞の4カ所（▶）で、TDP-43断片（TDP-220C）凝集体とDISC1が共凝集している。

田中元雅 (たなか・もとまさ)

脳神経科学研究センター
タンパク質構造疾患研究チーム
チームリーダー

1971年、京都府生まれ。博士(工学)。京都大学大学院工学研究科修了。1999～2002年、理研 脳科学総合研究センター(BSI) 基礎科学特別研究員。米国カリフォルニア大学サンフランシスコ校博士研究員、科学技術振興機構さきがけ研究員を経て、2006年、BSIユニットリーダー。2011年、同チームリーダー。2018年より現職。



合成量が減少するのか。胎児期における脳形成などでのDISC1の役割が報告されているが、成人の脳での役割はよく分かっていなかった。

DNAにはタンパク質を構成するアミノ酸の並び方が書かれている。DNAの情報はmRNAに転写され、リボソームという器官でmRNAの情報がアミノ酸に翻訳され、アミノ酸が並んだ鎖ができ、それが適切に折り畳まれてタンパク質ができる。

DNAは神経細胞の核にあり、多くのタンパク質は細胞体でつくられるが、細胞体から離れた位置にある樹状突起でタンパク質が必要になったとき、その都度、核から運んでいたのでは間に合わない。そこで、あらかじめmRNAを樹状突起に運んでおき、タンパク質が必要になったときに素早く合成する「局所翻訳」という仕組みがある。

近年、この局所翻訳が神経細胞の機能に重要なことが分かり始め、盛んに研究が進められている。「構造が正常なTDP-43はmRNAの輸送に関わると報告されています。また私たちの実験によ

り、DISC1は局所翻訳の制御に重要なことが分かりました。TDP-43断片の凝集体とDISC1が共凝集することで局所翻訳の機能が低下し、神経細胞の情報伝達に不具合が起き、異常行動が表れるのでは？」(図2)と遠藤研究員。

「今後、正常な構造をしたTDP-43の役割も詳しく調べていく計画です。実は、正常なTDP-43もDISC1と結合します。結合することで局所翻訳においてどのような役割を担っているのか解明したいと思います」

遠藤研究員らは、FTLD患者の脳内でも、TDP-43断片の凝集体とDISC1が共凝集することを確かめている。今回の研究成果は、精神障害の発症メカニズムを探り、その予防・治療法を開発する上で、局所翻訳が有力な切り口になることを示している。

■ オートファジーの機能低下が
共凝集を介して自閉症の症状を誘発

構造の異常化だけでなく、合成と分解のバランスが崩れるなど、タンパク質の恒常性の低下によっても凝集体はでき

る。そのときに、精神疾患のほか、自閉症など発達障害の症状が表れるケースがある。

研究チームのKelvin Hui研究員は、2016年のノーベル生理学・医学賞の対象にもなったオートファジーに注目した。それは不要なタンパク質などをアミノ酸に分解してリサイクルする細胞内のシステムだ。「一部の自閉症患者では、オートファジーを制御する遺伝子に変異があることが報告されています」

オートファジー機能が低下すると、p62タンパク質がたまって凝集体をつくることが知られている。p62は不要なタンパク質などを集めるごみ収集車の役割を担う。オートファジーが正常に機能しているときにはp62ごと分解されるが、オートファジーの機能が低下すると、p62が分解されずにたまって凝集体をつくるのだ。p62凝集体は、さまざまな種類のタンパク質を取り込み、共凝集体をつくる。

「そのp62凝集体に取り込まれるタンパク質を突き止め、自閉症との関係を探ることにしました」と語るHui研究員は、共凝集体に含まれるタンパク質の種類と量を網羅的に調べる新たなプロテオミクス的手法を開発して分析を進めた。そしてp62凝集体の中に多く取り込まれるタンパク質を突き止めた。

それはGABARAPタンパク質群の一種だった。GABARAPはGABAという神経伝達物質の受容体と結合する。神経伝達物質には、それを受け取った神経細胞を興奮させるタイプと、興奮を抑制するタイプがある。GABAは抑制性の

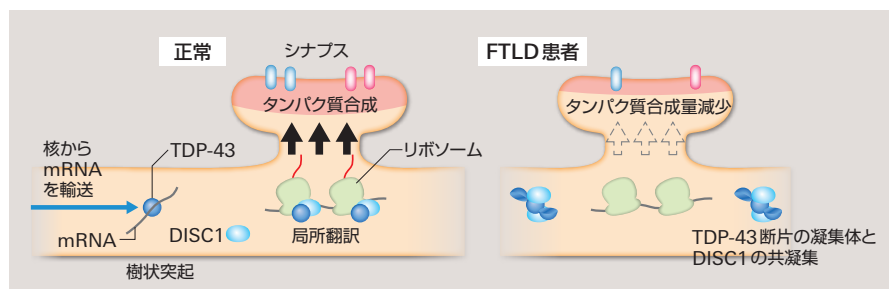
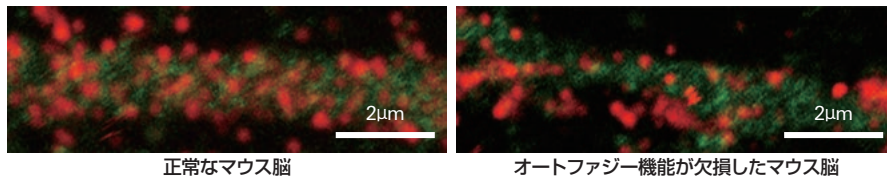


図2 共凝集で局所翻訳の機能が低下する仕組み

正常な神経細胞では、TDP-43が核から樹状突起へmRNAを輸送し、DISC1が局所翻訳の制御に関わる。FTLD患者の神経細胞では、TDP-43断片の凝集体とDISC1が共凝集して局所翻訳の機能が低下、シナプスに必要なタンパク質の合成量が減少する。

図3 オートファジー機能の欠損による抑制性GABA_A受容体の減少

オートファジー機能に重要なAtg7遺伝子を欠損させたマウス脳（右）では、抑制性の信号を受け取るGABA_A受容体（赤）が正常な脳（左）に比べて減少した。



正常なマウス脳

オートファジー機能が欠損したマウス脳

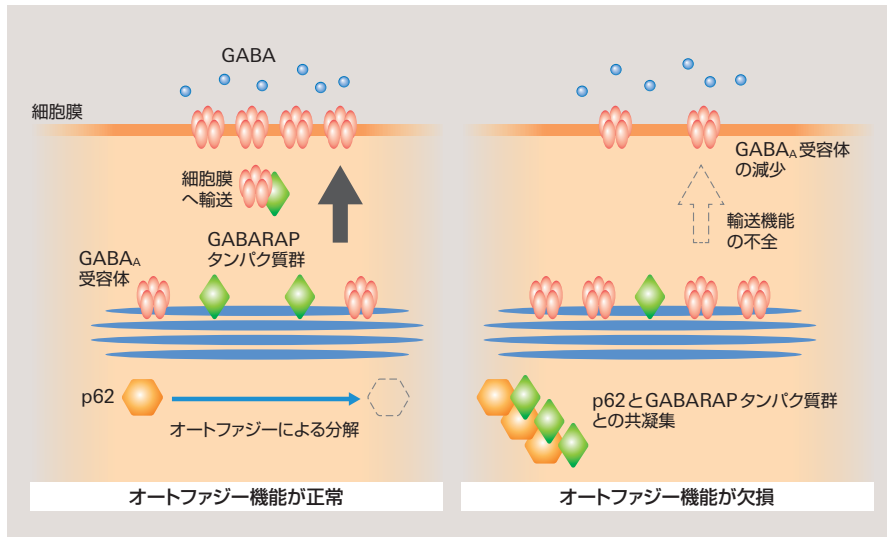


図4 GABA_A受容体が減少する仕組み

オートファジー機能が欠損することでp62とGABARAPタンパク質群が共凝集する。GABARAPタンパク質群が担っていたGABA_A受容体を細胞膜へ輸送する機能が失われ、細胞膜においてGABA_A受容体が減少する。

神経伝達物質だ。

Hui 研究員らは、オートファジー機能を欠損させたマウスの脳では、細胞膜におけるGABA受容体の一種（GABA_A受容体）の数が減少していること（図3）、その神経細胞は過活動になることを実験で確かめた。また、オートファジー機能が欠損した神経細胞にGABARAPを与えると、その活動の異常が抑えられることも確認できた。

精神疾患や自閉症などの発達障害の多くは、神経細胞の興奮と抑制のバランスが崩れることが発症の一因だと考えられている。「GABARAPはGABA_A受容体と結合して細胞膜まで運ぶ役割があると考えられます（図4左）。そのGABARAPがp62凝集体に取り込まれてしまうと、GABA_A受容体が細胞膜へ運ばれなくなり、抑制性のGABAを受け取る機能が低下します（図4右）。それにより神経細胞の興奮と抑制のバランスが崩れて過活動となり、症状が表れると考えられます」とHui 研究員。

「自閉症患者の脳を調べたところ、一

部の患者ではp62とGABARAPタンパク質群の共凝集体が増加していました。今後、どれくらいの割合の自閉症患者の症状が、GABARAPタンパク質群が共凝集されてGABA_A受容体が減少する仕組みで説明できるのか、調べていく予定です」

GABAの情報伝達効率を向上させる薬はすでに開発されている。GABA_A受容体が減少している自閉症患者の一部には、その薬を投与することで症状が改善する可能性がある。

■ 同じタンパク質から、形と毒性の異なるアミロイドができる仕組み

先述のTDP-43断片の凝集体は、アミロイドと呼ばれる水に溶けない線維状の構造となる。FTLDのほか、プリオン病やアルツハイマー病、パーキンソン病など30種類以上の神経変性疾患で、さまざまなタンパク質がアミロイドをつくり発症に関与していると報告されている。

「同じ種類のタンパク質が凝集したアミロイドでも、形や毒性の異なるものが

関連情報

- 2019年4月11日プレスリリース
オートファジー機能の欠損が自閉症様行動を誘導
- 2018年6月14日プレスリリース
タンパク質の共凝集化による精神障害の発現
- 2018年3月22日プレスリリース
アミロイド構造の多様性の原因解明

あります」と田中TLは指摘する。「さらに最近、脳のある領域にできたアミロイドが、別の領域へ移動することも分かり始めました。アミロイドの形によって、移動のしやすさも異なる可能性があります」

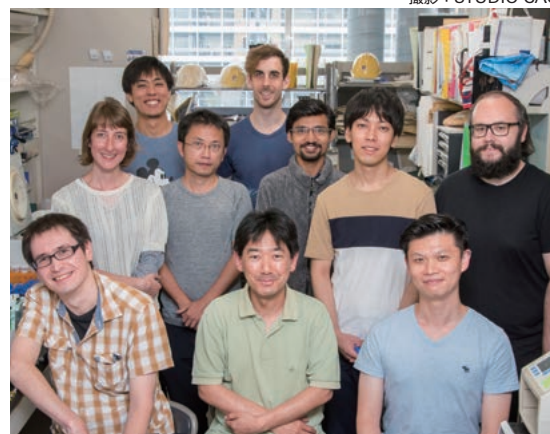
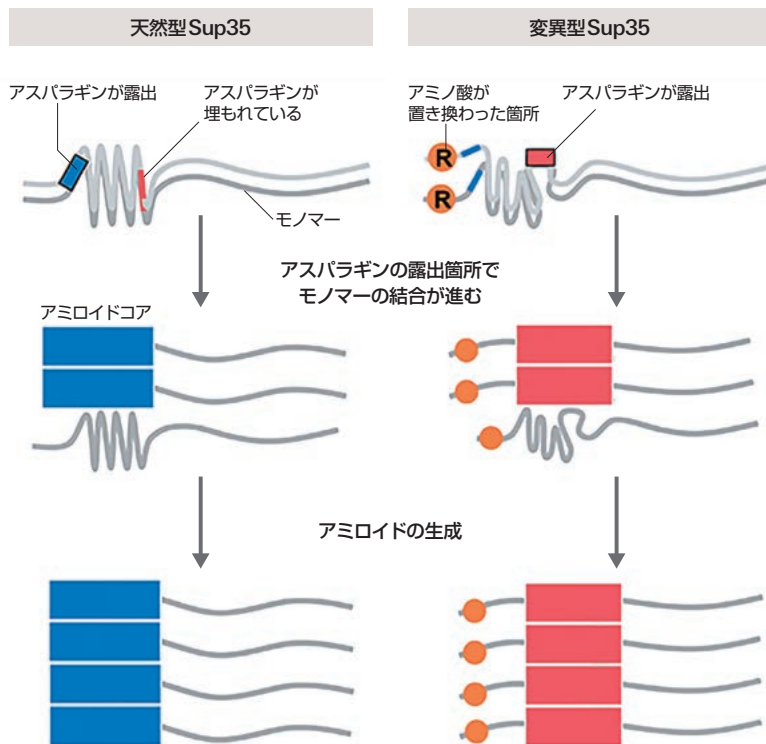
大橋祐美子 研究員（研究当時、現神戸大学研究員）らは、酵母のプリオン現象を引き起こすSup35タンパク質を用いて、同じ種類のタンパク質から形や毒性の異なるアミロイドができる仕組みを分子レベルで探る実験を進めた。

Sup35でも、天然型のアミロイドと、アミノ酸配列の特定の1個が別のアミノ酸に置き換わった変異型Sup35が生成するアミロイドでは形が異なり、プリオン病の感染性など細胞に与える影響や症状に違いがある。

タンパク質の中には、特定の形を持たず揺らいでいる天然変性と呼ばれるタイプがあり、Sup35も天然変性タンパク質だ。天然型と変異型のSup35モノマーでは揺らぎ方が異なり、特定のアミノ酸（アスパラギン）がタンパク質表面で露出する位置に違いがあることを、大橋研究員らは突き止めた。そして、特定のアミノ酸がどの位置にどれだけ露出しているかによって、最終的に生成するアミロイドの中心部（アミロイドコア）の位置が異なり、アミロイドの形が変わることを見いだした（図5）。

「モノマーの揺らぎ方と特定のアミノ酸が露出している位置を調べることで、最終的に生成するアミロイドの形を推定できる可能性があります」と田中TL。

アミノ酸配列がまったく同一の天然型



タンパク質構造疾患研究チームのメンバー
 前列左から、遠藤 良 研究員、田中元雅チームリーダー、Kelvin Hui 研究員。

図5 モノマーの揺らぎ方により形が異なるアミロイドができる仕組み
 Sup35の天然型と変異型ではモノマーの揺らぎ方の違いにより、アスパラギンが露出している位置が異なる。露出箇所でもモノマーの結合が進み、コアができる。こうして形が異なるアミロイドができる。

のタンパク質からも、形と毒性が異なるアミロイドができるケースがあると、田中TLは言う。

「細胞内のイオン濃度や、タンパク質の折り畳みを助けるシャペロンというタンパク質の濃度の違いでも、モノマーの揺らぎ方が変化するからです。モノマーの揺らぎ方を何らかの方法で制御して毒性の低いアミロイドしか形成しないようにすれば、神経変性疾患を予防できるかもしれません」

さらに田中TLらは、共凝集の実験も始めている。「TDP-43とDISC1はどちらも、形が決まった領域と、形が揺らいでいる天然変性の領域を持ちます。TDP-43モノマーの天然変性領域の揺らぎ方の違いにより、凝集する際に、ほかのタンパク質を取り込む効率が異なる可能性があります。一方、取り込まれるDISC1も、そのモノマーの揺らぎ方で取り込まれやすさが変わるかもしれません。Sup35をモデルに、モノマーの揺らぎ方で異なるタンパク質間の共凝集のしやすさが変化する仕組みを解明しようとしています」

■ ヒト脳内でのタンパク質の形が分からない！

アルツハイマー病は、アミロイドβ (Aβ) やタウタンパク質から成るアミロイドが脳内に蓄積する神経変性疾患だ。認知症の原因疾患として大きな割合を占め、患者数の多いアルツハイマー病の克服を目指して、世界中の研究者や医薬品メーカーが研究開発を進めている。しかし、いまだに根本的な予防・治療薬は登場していない。「アルツハイマー病など神経変性疾患の予防・治療薬の開発が難しい理由の一つは、薬のターゲットとなるタンパク質の形が分からないことです」と田中TLは指摘する。

多数の神経細胞ですでに細胞死が起きてしまった段階では治療は難しくなる。このため神経変性疾患を克服するには、できるだけ発症初期に予防・治療を開始する必要がある。アルツハイマー病の薬のターゲットの一つは、Aβからアミロイドができる早期、数個のAβが集まった比較的低分子の重合体(オリゴマー)の段階だ。そのオリゴマーに抗体などを結合させて、Aβがそれ以上集ま

らないようにする予防薬の開発も進められている。

「しかしまだ十分な成果が得られていません。例えば、ヒトの脳内でのAβオリゴマーの形が分からないため、そこに確実に結合する薬をデザインすることができていません」

不安定なオリゴマーを脳内から取り出すと、モノマーに戻ってしまう。そのため形を詳しく調べることができないのだ。「Aβの凝集が進み安定したアミロイドですら、ヒト脳内での形が分かったのはつい最近のことです。神経変性疾患を克服するには、基礎研究をさらに重点的に進める必要があります。酵母Sup35をモデルにして、モノマーがオリゴマーを経てアミロイドへと形を変えていく仕組みを詳しく調べることで、ヒトの脳内におけるAβオリゴマーなどの形に関する知見が得られると期待できます」

実際に、これまで酵母プリオンから得られた研究成果は、ヒトプリオン病をはじめとして多くの神経変性疾患の発症メカニズムの解明に大きな貢献を果たしている。

タンパク質構造疾患研究チームには、さまざまなバックグラウンドを持つ研究者が集結。異分野の研究者が連携し、多角的なアプローチでタンパク質凝集体の基礎研究を積み重ねることで、脳疾患の新しい予防・治療戦略を見いだそうとしている。

(取材・執筆：立山 晃/フォトンクリエイト)

理研内だけでなく、さまざまな研究機関などから毎日のように分析の依頼が寄せられる研究室が、環境資源科学研究センターにある。堂前 直ユニットリーダー（UL）率いる生命分子解析ユニットだ。堂前ULらは、ほかでは難しい解析を質量分析の手法をうまく使い分けることで実現し、生命現象の解明や創薬研究など幅広いサイエンスを支えている。堂前ULにタンパク質の質量分析の最前線を聞いた。

タンパク質の質量分析を極める

■ ゲノム解読で広がったタンパク質の質量分析

——質量分析によって、どんなことが分かるのですか。

タンパク質は体をつくる主成分であり、細胞内で起こるさまざまな化学反応に直接関わる生命現象の主役です。質量分析を行うことにより、個々の生命現象を担っているタンパク質の種類を同定できます。

また、多くのタンパク質は糖鎖など特定の分子が付いて活性化機能を発揮します。質量分析により、どのタンパク質にどんな分子が付いているのかを調べることもできます。

——どのようにしてタンパク質を同定するのですか。

21世紀に入り、ヒトをはじめさまざまな生物のゲノム（全遺伝情報）の解読が進みました。ゲノムの中のそれぞれの遺伝子には、タンパク質を構成するアミノ酸の種類と並び方が書かれています。そのアミノ酸配列の情報から、それぞれのタンパク質やその断片（ペプチド）の質量をコンピュータで計算した理論値のデータベースが築かれています。その理論値と実際の質量分析の測定値を照合することで、タンパク質の種類を素早く同定できるようになりました。ゲノム解読の進展により、タンパク質の質量分析が急速に普及したのです。

——タンパク質を調べる方法には、X線結晶構造解析法やNMR（核磁気共鳴）法、クライオ電子顕微鏡を用いたトモグラフィー法もあります。それらと質量分析の違いは？

タンパク質は独自の立体的な形を持っています。X線結晶構

造解析やNMR、クライオ電子顕微鏡は、このようなタンパク質の立体的な構造を調べるときに使われます。ただし、立体的な形は分かってもタンパク質の分子構造までは分かりません。それが質量分析では分かります。

■ 微小な分子の質量の測り方

——どのような原理でタンパク質の質量を測るのですか。

タンパク質の質量はてんびんでは測定できません。そこで、調べたいタンパク質に電荷を付けてイオン化し、電場・磁場をかけて飛ばして、その速度や曲げやすさから質量を導き出します。例えば、質量が小さいほど速く飛ぶので、ゴールの検出器まで短時間で到達します。簡単に言えば、スタートからゴールまでの到達時間を測定して質量を割り出すことができるのです（図1）。

タンパク質の質量分析で最もよく使われる装置が、自動液体クロマトグラフ質量分析計（図2）とMALDI-TOF質量分析計です。両者ではイオン化する方法が異なります。

自動液体クロマトグラフ質量分析計では、まずタンパク質を断片にして液体に溶かし、特定の物質（オクタデシル基）への吸着のしやすさなどの違いで分ける、液体クロマトグラフィーという手法で分離します。その液体をそのままイオン化することで、複雑な混合物でもきれいに電荷が付き、高精度・高感度で質量を測定することができます。

液体クロマトグラフィーは水溶性のタンパク質が得意ですが、細胞内には水に溶けないものがたくさんあります。外部との情報や物質のやりとりを行う膜タンパク質や、脳内に蓄積してアルツハイマー病の原因となるタンパク質などです。それらは、レーザーで固体のままイオン化するMALDI-TOF質量分析計が適しています。

さらに、レーザーで組織切片を走査して領域ごとにイオン化しながら質量分析を行うイメージング装置もあります。その装置により、特定のタンパク質が組織のどの領域に多いかを細胞

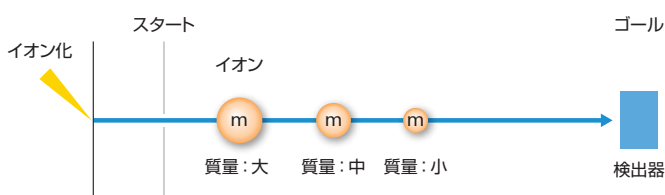
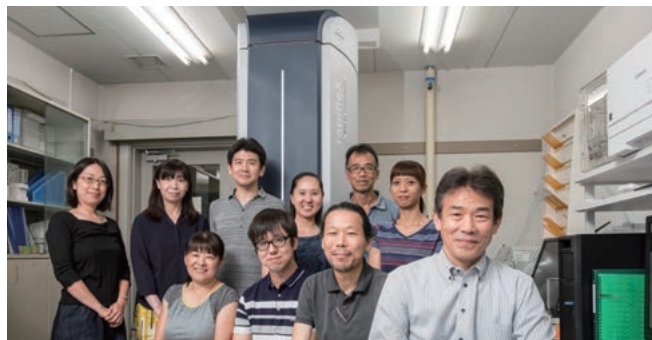


図1 質量分析（飛行時間型質量分析計：TOF）の原理

分子をイオン化して電場・磁場をかけて飛ばす。質量の小さいイオンほど速く動くのでゴールの検出器にいち早く到達する。スタートからゴールまでの到達時間を測定することでイオンの質量が得られる。



堂前 直ユニットリーダー（右）と生命分子解析ユニットのメンバー。後ろは最新のMALDI-TOF質量分析計。

数個分の空間分解能で調べることができます。

——微生物をはじめゲノムが未解読の生物もたくさん存在します。データベースがない場合はどうやって分析するのですか。

質量分析ではなく、プロテインシーケンサーという装置を使います。タンパク質から、アミノ酸を1個ずつ外して種類と並び方を調べます。

私たちのユニットには、これらの装置が全てそろっています。そんな研究室は世界的にも少ないでしょう。さらに私たちのユニットの特長は、タンパク質の絶対量を正確に測定できることです。水に溶けるものと溶けないものが混在するなど、性質が多様なタンパク質の絶対量を測定するのは、難しいことです。私たちは、まずタンパク質を20種類のアミノ酸に分解します。そうすれば、それぞれの量を正確に測定することができます。それを合計してタンパク質の絶対量を導き出します。

■ 正解にたどり着くための多数のルートを持つ

——ほかの研究室では分析が難しい試料が持ち込まれるそうですね。なぜ、ほかではできないことが、ここでは可能なのですか。

私たちのユニットにある装置は市販のものでし、特別なことをしているわけではありません。では何が違うのか。質量分析も数学の問題と同じで、正解にたどり着くルートは複数あります。私たちは経験の蓄積により多数のルートを持ち、その中から最適なものを選び出して分析することができる、そこに強みがあると思います。例えば、装置にかける前の処理方法など、試料の性質や分析目的ごとに適したルートを選択することが重要です。

——それでも分析が難しい試料はあるのでしょうか。

もちろん、全てを解析できるわけではありません。既知のタンパク質に、よく知られている分子が付いている場合、何の分子が付いているのか質量分析ですぐに分かります。しかし、想定外の分子が付いている場合、その分子の種類を同定するのは大変です。例えば2012年、髄膜炎菌感染症の原因となる髄膜炎菌の生存に必須のEF-Pタンパク質に付いている分子を同定してほしいと依頼がありました。古典的な手法ですが、その分子が付いているものと付いていないものの質量を測定し、その差から分子の質量を精密に導き出すことにしました。わずか

な違いを突き止める高い技術を要する作業により、その分子は糖鎖であることが、元素組成から分かりました（図3）。さらに分析を進め、それはラムノースという想定外の種類の糖鎖であることを突き止めました。つまり、EF-Pタンパク質にラムノースが付くことで菌が生育でき、髄膜炎を引き起こすことを示したわけです。このことから、ラムノースを阻害することで髄膜炎菌感染症を防ぐ創薬の可能性が示唆されました。

——遺伝子発現を制御するエピジェネティクスの研究にも、質量分析で貢献しているそうですね。

DNAはヒストンタンパク質に巻き付いていますが、ヒストンの種類やヒストンに付いている分子の種類によって、そのDNA領域の遺伝子発現が制御されることが分かってきています。そこで、数年前まではこのようなヒストンの分析依頼も数多くありました。

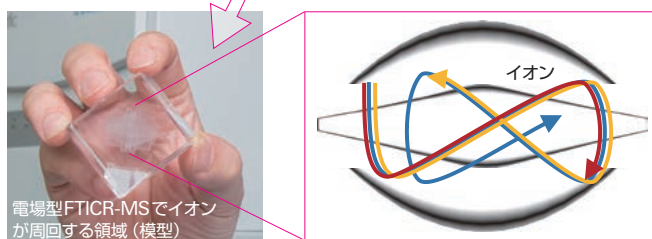


図2 自動液体クロマトグラフ質量分析計

生命分子解析ユニットに導入されている自動液体クロマトグラフ質量分析計（上）には、新しいタイプの質量分析計（電場型FTICR-MS）が搭載されている。小さな領域につくられた電場でイオンを高速で周回させる（下右図）ことで、短時間に高精度で質量分析が可能。

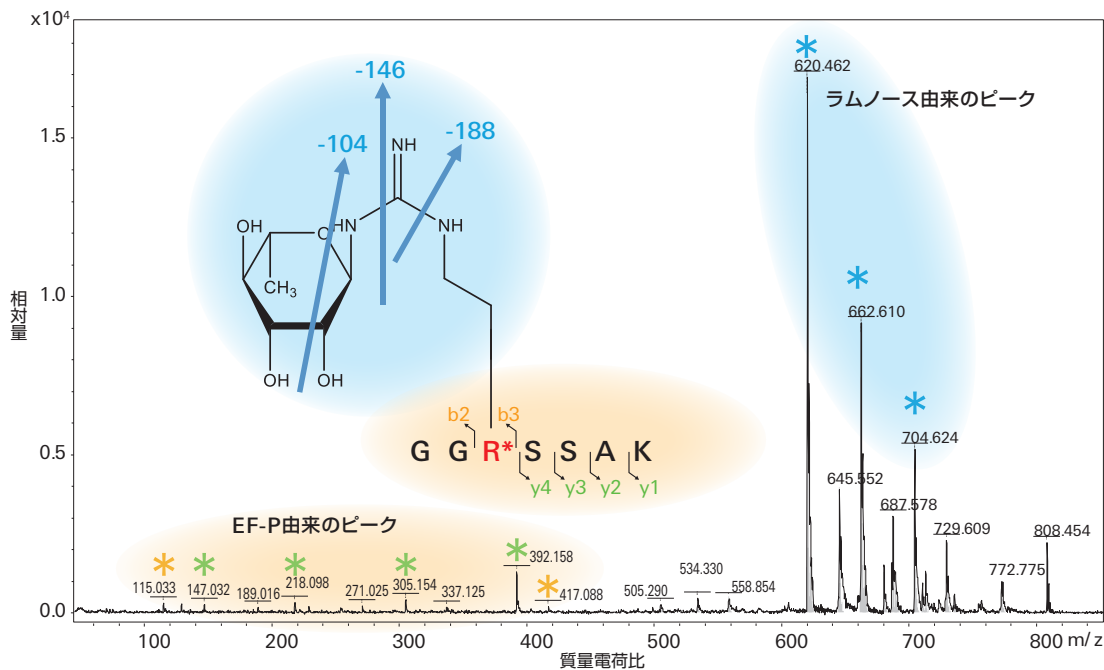


図3 EF-Pタンパク質断片に付いたラムノース糖鎖の質量分析データ

精密な質量分析により、EF-Pタンパク質断片に付いた分子の元素組成を導き出し、糖分析を組み合わせることでラムノースであることを明らかにした。ほかの研究室では難航し、相談が持ち込まれたケースだ。

■ タンパク質の種類と量を網羅的に解析する

——分析対象も研究の進展によって移り変わるのですね。現在は、どんな研究テーマの分析依頼が多いのですか。

私たちは今、B型肝炎の薬をつくる研究プロジェクトで、薬の結合部位の分析をしています。薬の候補となる化合物と標的タンパク質をしっかりと結合させる処理をした上で、断片に分解して質量分析を行い、候補化合物が標的タンパク質のどこの部位に結合しているのかを調べます。結合部位により薬の作用のメカニズムが分かるでしょう。

もう一つは、ケミカルバイオロジー研究です。いろいろな化合物を細胞に作用させて反応を調べ、生命現象を解明する研究です。その研究では化合物を作用させたときに細胞で発現するタンパク質の種類と量がどう変化するかを質量分析で網羅的に調べる「プロテオーム解析」が重要な手法になっています。創薬でも、細胞に薬を投与して細胞をプロテオーム解析することにより、作用メカニズムを調べる研究が進められています。

プロテオーム解析は病気の原因解明にも有効です。私たちは最近、IgA腎症の分析を行いました。免疫系のタンパク質IgAが蓄積して腎炎を引き起こす病気ですが、原因はよく分かっていません。健康なヒトとIgA腎症患者の腎臓組織で発現しているタンパク質を質量分析で網羅的に調べて比較しました。その情報をもとに発症原因を解明する研究が進展しています。

——DNAに書かれた遺伝情報はmRNAに転写され、タンパク質に翻訳されます。細胞で発現しているmRNAの種類と量から、タンパク質の種類と量を推定できるのではないですか？

特定のmRNAの量が増えれば、それに対応するタンパク質の量はもちろん増える傾向にあります。しかし直線的な比例関係ではありません。mRNAは必ずタンパク質に翻訳されるとは限らないのです。また、つくられてもすぐに分解されてしまうタンパク質もあれば、長期間、分解されないものもあります。

つまり、mRNAの測定だけでは、細胞内にあるタンパク質の種類と量は分からないのです。

細胞内の分子を網羅的に調べる研究において、これまではRNAや代謝物が先行して進められてきました。測定が難しいタンパク質は後れを取っていたわけですが、それが2010年代の質量分析技術の進展により、細胞で発現している大部分のタンパク質の種類と量を容易に測定できるようになりました。ゲノムやRNA、代謝物の情報と、タンパク質の情報を統合して解析することで、細胞の状態をより鮮明に知ることができます。

遺伝子が発現してタンパク質ができるまでには時間がかかります。細胞は、特定のタンパク質をすぐに使えるようにあらかじめつくっておき、必要なときに分子を付けて活性化・不活性化させる、といった戦略を取っています。しかし、分析対象のタンパク質に分子が付いて細胞内で活性化しているかどうかは、RNAの測定では分かりません。それを調べるには、タンパク質の質量分析を行う必要があるのです。

——ここ数年、DNAやRNAでは1細胞レベルでの解析が進んでいます（本誌2～5ページ、14ページ）。タンパク質でも1細胞解析が可能になりますか？

現在、分子のイオン化の効率は1%以下で、原理上、同じ分子を100個以上装置に入れないと、質量分析はできないのです。1細胞内の微量なタンパク質を測定するには、感度を向上させなければなりません。それにはイオン化法や装置の改良とともに、装置に入れる前の試料の処理技術の向上も必須です。技術障壁はいくつもありますが、近い将来、タンパク質でも1細胞解析が日常的に行われるようになって考えています。そのために必要な数々の技術を蓄積し進展させていくことが私たちの使命です。

(取材・構成：立山 晃／フotonクリエイト、撮影：STUDIO CAC)

分化全能性の謎に迫る研究者

ES細胞（胚性幹細胞）やiPS細胞（人工多能性幹細胞）は、体をつくる全ての細胞に分化できるが、「個体」をつくることはできない。子宮に着床するための「胚盤胞」にだけ分化できないからだ。一つの細胞から個体が発生する「全能性」は、受精卵の持つ神秘的な能力である。生命機能科学研究センター 網膜再生医療研究開発プロジェクトのCody Kime基礎科学特別研究員（以下、研究員）らは、マウスの多能性幹細胞から胚盤胞に似た構造体をつくり出し、着床させることに世界で初めて成功した。全能性誘導を目指す Kime研究員の素顔に迫る。



Cody Kime

生命機能科学研究センター
網膜再生医療研究開発プロジェクト
基礎科学特別研究員

コーディ・カイク

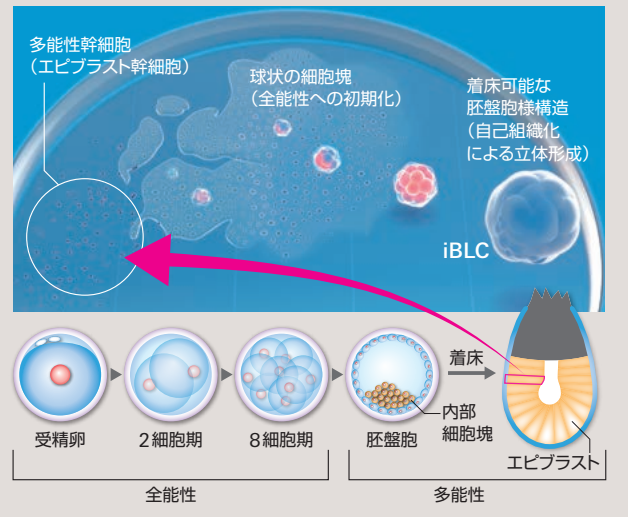
1981年、米国カリフォルニア州生まれ。博士（医学）。京都大学大学院医学研究科博士課程修了。2015年、理研 多細胞システム形成研究センター 国際プログラム・アソシエイト。2018年より現職。

米国カリフォルニア州北部の自然豊かな田舎町で育った Kime 研究員。「子どものころから、身の回りのものを分解しては元どおりに組み立てることが好きでした。物事の仕組みに興味があったのでしょう。10代になると初期のパソコンを買ってもらい、自分でプログラミングすることに夢になりました」。高校卒業後の一時期、軍務に従事した経験から人生を見つめ直し、「人を助ける職業に就きたい、と心臓外科医を志しました」

カリフォルニア州にあるハンボルト州立大学に進学。「幹細胞について学び始めた2008年ごろ、山中伸弥先生（京都大学教授）のiPS細胞の論文に強い衝撃を受け、27時間ぶっ続けで読み込みました。そのときの部屋においまで、今でも鮮明に覚えています。私の人生が変わった瞬間です」。iPS細胞のどこにひかれたのか？「それまでは、例えば皮膚の細胞はずっと皮膚の細胞のままで変わらない、というのが常識でした。iPS細胞は、皮膚細胞から別の組織や臓器をつくるのが原理的に可能なことを示していました。それまでの常識を覆したのです」

2011年、米国グラッドストーン研究所の山中研究室へ。「山中先生は思いやりがあり、人を嫌な気持ちにさせることがない方です。私はマウスの分化し終わった細胞を初期化してiPS細胞にする効率を上げるため、独自の培養液をつくる研究

図 受精卵から着床まで（下）とiBLCの作製（上）



を始めました。そして2013年ごろから、同じ山中ラボで研究員だった友田紀一郎先生（現 大阪医科大学薬理学教室 准教授）と共同研究を続けています」

2015年に家族と共に来日。京都大学大学院医学研究科博士課程に入り、連携関係にある理研でも研究を開始した。そして2019年、友田准教授らと大きな研究成果を上げた。

マウスでは、受精卵から2～3回卵割した4～8細胞期までは各細胞が全能性を持つ。さらに細胞分裂を繰り返し胚盤胞と呼ばれる全球状の構造をつくり、子宮に着床する（図下）。胚盤胞の内部細胞塊の各細胞は多能性を持つが、全能性は失われている。「内部細胞塊は、着床後にさらに分化してエピブラストになります。マウスのエピブラストから樹立した幹細胞はまだ多能性を示しますが、内部細胞塊から樹立するES細胞に比べて分化状態が進んでいます。独自開発した培養液で、マウスのエピブラスト幹細胞を着床前の多能性細胞の状態へ戻す初期化実験を行っていたところ、驚くべきことに、胚盤胞に似た半球状の構造が複数出現することに気がきました。今回、培養条件を検討することで、エピブラスト幹細胞から胚盤胞により近い全球状の構造へ成長させ、しかも着床させることに成功したのです」（図上）

Kime研究員らはそれを「iBLC（誘導性胚盤胞様囊胞）」と名付けた。「iBLC作製について山中先生は『こんなことができるとは思ってもみなかった。実現の難しい研究をよく頑張った。あなたたちのことを誇りに思う』とねぎらってくださいました。iBLCは着床しても個体まで成長することはできないので、完全な全能性を誘導したとはいえません。しかし、培養条件をさらに検討すれば、真の全能性を誘導できると思います」

iBLCは全能性の仕組みや、哺乳類の発生に必須の着床や胎盤形成に不可欠な条件を解明する重要なモデルとなる。さらに、ヒトの不妊治療の基礎研究にもつながるかもしれない。

（取材・執筆：立山 晃／フォトンクリエイト）

1細胞RNA解析キットが製品化 ゲノム医療への貢献に期待

日本でもがんゲノム医療の保険適用が開始されるなど、患者一人一人の遺伝子の解析をもとに、より適切な治療法や薬剤を選ぶいわゆる「オーダーメイド医療」の時代が近づきつつある。細胞一つ一つにも性質の違いがあることが明らかになっており、その多様性はDNAから転写されるRNAの種類や量によって決まる。1細胞に含まれるRNAの種類と量を網羅的に計測する技術を1細胞RNAシーケンス（1細胞RNA-seq）法という。この手法を活用して、細胞ごとの性質と疾患の関係を調べることで、より効果的な治療や診断につながると期待が高まっている。しかし、解析対象であるRNAは非常に微量であり、また全長にわたる計測が難しいなど、医学研究への応用には技術的な課題が多かった。

生命機能科学研究センター バイオインフォマティクス研究開発チームの林 哲太郎 技師、二階堂 愛^{いとし}チームリーダーらの研究チームは、上記の課題を克服した1細胞完全長トータルRNAシーケンス法『RamDA-seqTM』を2018年に開発し、2019年9月にこの手法を応用したRNA解析キットが製品化された。

これまでの1細胞RNA-seq法では、1細胞が持つごくわずかなRNAから相補的DNA（cDNA）を合成（逆転写）し、増幅酵素を用いてDNAシーケンサーで計測可能な量まで増幅する必要がある。また、逆転写の起点を決める逆転写プライマーはRNAの末端（ポリA配列）を標的とする1種類しか用いないため、逆転写されるのはポリA型RNA（大半がタンパク質に

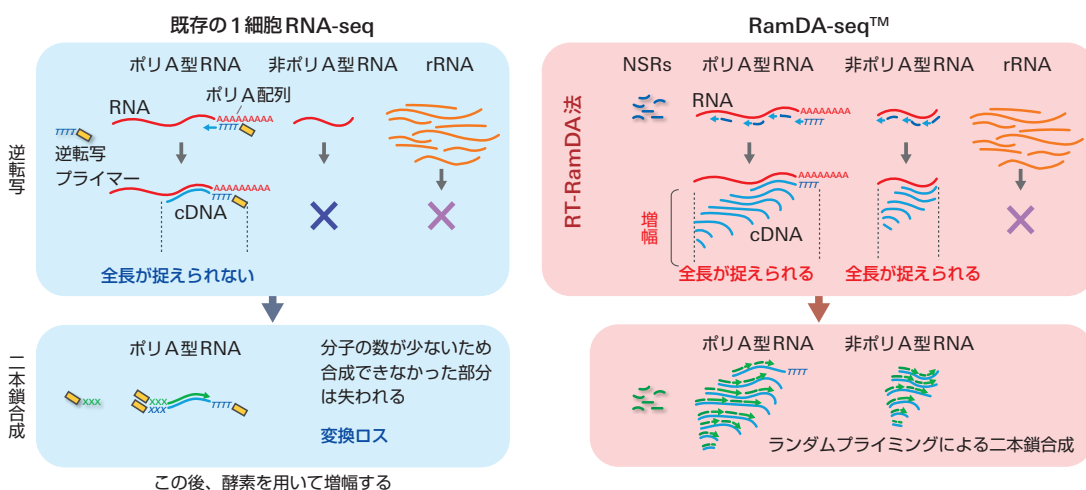
翻訳される型のRNA）のみに限られる。さらに、長いRNAではcDNA合成が端までたどり着きにくいことや、増幅されにくいことなどから、全長にわたる検出が困難であった。

RamDA-seqTM法では、このような問題を解決した（図1）。例えばどのような配列からも逆転写をスタートさせるランダムプライマーの一種を使用しているため、非ポリA型RNAも検出できる。また、このランダムプライマーはRNAの末端だけでなく、どのような場所にでも結合して逆転写を行えるため、RNAがどんなに長くても全長を捉えることが可能だ。さらに、この手法には独自の核酸増幅法（特許取得）が導入されており、逆転写と同時にcDNAが増幅されるので、増幅酵素を用いる必要がない。

こうした技術への反響は大きく、世界中の研究者が研究チームの論文や実験手順書を参考にして実験を行ってきたが、より簡便に安定して利用できる試薬キットの市販化が求められていた。

そこで研究チームは、バイオ医薬の製品化実績が多い東洋紡株式会社と連携し、RamDA-seqTM法による2種類の解析キットを開発した。「次世代シーケンサー解析用cDNA調製キット」（図2）はDNAシーケンサーと組み合わせることによって、1細胞レベルで多様なRNA全長解析をゲノム規模で検出する。また「リアルタイムPCR解析用cDNA調製キット」は、RNAの増幅量をリアルタイムで測定する既存の定量PCR法と併用することで、微量な検体から個別の遺伝子の高精度な解析を可能にする。

本製品により、1細胞レベルの遺伝子発現量の変動やRNA配列の変異のゲノム規模での解析が進み、基礎研究からゲノム医療までさまざまな分野の発展に貢献すると期待できる。



（写真提供・製造販売：東洋紡株式会社）

図2 次世代シーケンサー解析用cDNA調製キット

日本での先行発売後、米国、欧州、中国などでも発売が予定されている。

図1 既存の1細胞RNA-seqとRamDA-seqTMの比較

既存の1細胞RNA-seq（左）は、1種類の逆転写プライマーのみを用いるため、ポリA型RNAからしかcDNA合成ができない。RamDA-seqTM（右）は、rRNAを認識する配列を除いたランダムプライマー（NSRs）で逆転写を行うため、非ポリA型RNAも捉えることができる。

理研では、書籍を通じて、
科学者の生き方・考え方や科学の面白さ・素晴らしさを届ける
「科学道100冊」プロジェクトを進めています。
理研の研究者たちは、どのような本に出会い、影響を受け、
科学者としての生き方や考え方へつなげてきたのでしょうか。

シートンのように生きたい！

加藤忠史 かとう・ただふみ

脳神経科学研究センター 副センター長
精神疾患動態研究チーム チームリーダー

「小学生のころ、図書館に入り浸っていました」と加藤忠史
チームリーダー (TL)。「冒険の話や探偵物などが好きで、星新一
さんのSF小説も全部読みました。『シートン動物記』を初めて
読んだのもそのころで、誇り高いオオカミの話に感動しました」

中学生のとき、友人からフロイトの『精神分析入門』を薦め
られた。「無意識が夢に現れると書かれていて、ヒトの心は不思議
だなあと思いました。そして、高校生になると、将来は心理学の研
究がしたいと思うようになりました。『心理学入門』などの著者で
心理学者の宮城音弥先生が、ヒトを対象にした研究をするために
医学部に入り直したことを知り、私もヒトの心を研究したくて
医学部へ進みました」

やがて精神医学の臨床の現場へ。「昨日までうつ状態で無口
だったのに、今日は躁状態^{マニヤ}でしゃべりまくり、まったく別人のよ
うになった双極性障害の患者さんに会いました。脳の状態が変わっ
ているとしか思えません。現代の科学ならば、これほど明確な変化
の原因はすぐに分かるはずだと、1990年ごろから研究を始めまし
た。ところが30年たった今でも、双極性障害の原因解明は道半ば
です」

なぜ解明が難しいのか。「ほかの臓器ならば、患者さんの組織
の一部を採取して調べることができます。しかし脳は直接調べるこ
とができない。カール・ヤスパースは1913年の『精神病理学原論』
で、対話による心理学の手法により、患者さんの言動を、他者が
理解できる部分と、どうしても理解できない、すなわち脳の病理
に起因すると考えられる部分に分けることを提唱しました。そのよ
うな分類が、精神医学の生物学的な研究へつながっていきまし
た」。心理学・神経科学者として研究と臨床の現場に立つV・S・
ラマチャンドランらが書いた『脳のなかの幽霊』にも感銘を受け
た。「片腕を失った患者さんが、ないはずの腕が痛いと訴える幻
肢痛という症状があります。ラマチャンドランは患者の片腕を鏡に
映し、失った腕がまだちゃんとあると脳に錯覚させることで、幻
肢痛を軽減させました。鏡だけで治療ができたのです。精神医学
には、さまざまなアプローチが必要なことを教えてください」

1998年、加藤TLは最初の自著『躁うつ病とつきあう』^{じょう}
を上梓^し。「うつ病と双極性障害では、同じよううつ症状が表れ
ます。しかし、うつ病に有効な抗うつ薬が双極性障害を悪化させ
てしまうケースがあります。自分が双極性障害だと知らず、



撮影：STUDIO CAC

適切な診断・治療を長年受けられず、症状が悪化する例があ
まりに多いことを目の当たりにしました。家族や周囲の人たち
も病気だとは知らず、躁状態の言動によってその人を誤解し、
それが患者本人を苦しめます。多くの人たちに双極性障害のこ
とを知ってもらおうと、一般に向けて小説風に書いたのです」

加藤TLは、2001年から理研で研究を進めるとともに、そ
の後も一般書を書き続けている。「5年ほど前、動物学者の今
泉吉晴さんが書いた伝記『シートン——子どもに愛されたナ
チュウリスト』で、『動物記』は動物を擬人化しているから学
問ではないと学会から批判されたシートンは、客観的に記述
した『動物誌』を出してようやく学会から認められたというこ
とを知りました。しかし現代に読み継がれ大きな影響を与え
続けてきたのは『動物記』の方です。シートンは牧場でのオオ
カミ対策などの体験をもとに『動物記』を書くような、現場の
知を持つ人だったのです」

加藤TLは現在、双極性障害を引き起こしている脳部位を特
定する研究を進め、さらに土曜日にはクリニックでの診療も続
けている。「残念ながら、私がやっている基礎研究の成果はまだ
臨床につなげられていません。一方、一般書を書き続けてきた
ことで、双極性障害のことが少しずつ知られるようになり、患
者さんが適切な診断・治療を以前より早く受けられるよう
になってきたことに多少は貢献できたかな、と思っています。し
かし一般書の執筆を研究者として評価されたことはありません。
シートンも学会から批判されて苦勞していたのか、と共感しまし
た。そして私も、象牙の塔にこもらず、シートンのように生
きたい！とあらためて思いました」

(取材・執筆：立山 晃/フotonクリエイト)

にほんごクラブで異文化交流

津村育子 つむら・いくこ

革新知能統合研究センター センター長室
高度研究支援専門職

私は、革新知能統合研究センター（AIP）でリサーチ・アドミニストレータ（研究の管理と推進）をしています。当センターの外国籍比率は約20%であり、全体に周知する連絡事項は全て英語、業務で英語を使わない日はないという職場です。

特に私が担当する実習生は全員が海外の大学から参加しています。昨年度は60名、今年度もすでに60名以上を受け入れています。実習生は常勤の研究者と違い、滞在期間が3か月から1年と短く、大半が3か月前後で終了し、帰国します。昨年アンケートを取ったところ、学生たちはAIPで研究し、成果を持ち帰りたいという目的と同時に、日本に興味を持ち、日本文化も楽しみたい、という思いを持って来ていることが明らかになりました。一方で、文化の違う日本での生活には戸惑いも多いようで、ごみの捨て方が分からず自宅に1か月分のごみをため込んでしまった人も出てきました。そこで、海外からの実習生のために、日本での生活の質の向上の一助となるオリエンテーションを開発し、今年の3月から実施してきました。さらに6月から来た学生からの「日本語を学びたい、日本人と友達になりたい」という声を受けて、終業後に気軽に集まれるのにほんごクラブを同僚と一緒に企画し、立ち上げました。

このクラブの参加対象はAIPスタッフ（事務職および研究職）全員です。毎回、実習生を中心とした10人から20人程度が集まります。日本語に関しては、まったく話せないビギナーから1年近く大学で学んできた人などレベルはさまざま。毎回、テーマを設け、大きく二つのグループに分けて、一方は日本語のあいさつや数字の読み方から始め、もう一方は日本語と英語を交えて日本文化に関する話から週末の話題まで、楽しく会話をしています。

例えば夏の回では花火とお祭り、コンビニエンスストア、

写真1・にほんごクラブの参加者と（後列左から4人目が筆者）



写真2・日本酒の会の様子



写真3・筆者近影

東京の交通事情、日本のお土産などをテーマとし、後半にみんなでフリートークをしました。本クラブがきっかけとなって、連れ立ってデパートの地下にお寿司を買いに行く姿も見られました。少しずつ所属するラボ以外のスタッフとの交流の輪も広がり、休日に一緒にハイキングに行ったという話も聞きました。

現在、日本人スタッフの参加が毎回2人から3人と少ないのが悩みですが、レベルごとにうまく振り分ける工夫などをして実施しています。また、先日は利き酒師の資格を持つスタッフに協力してもらって、日本酒の会も実施しました。

グローバルヘルスと医療教育の研究というバックグラウンドを持つ私にとって、本クラブは興味深い機会にもなっています。会を運営して思うのは、ダイバーシティを推進するためには、語学力だけでなく、それぞれの異文化を知り理解することが必要であり、そのためには交流の場が重要であり、異文化交流を促進することが鍵ではないかということ。私自身、AIPで学んでいる実習生の皆さんを通して世界を見ることができると、とても幸せな環境であると思っています。これからも多くのスタッフや研究者をつなぐ懸け橋として、活動していきます。

寄附ご支援のお願い

理研を支える研究者たちへの支援を通じて、日本の自然科学の発展にご参加ください。

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 (一部クレジットカード決済が可能です)

理研 寄附金
Support RIKEN

