

超高層ビルの狭間で

ノースウエスタン大学ファインバーグ医学校

細胞分子生物学部

志見 剛

大都会での研究生生活も悪くない！？

毎朝、宿舍となる20階建てのビルを出て、全米4位の高さを誇るジョンハンcockセンタービルを背に現代美術館の脇道を通り抜け、全米の大学では最初となった高層校舎（図1）まで、徒歩約2分。これが、シカゴのダウタウンで暮らす私の通勤路ならびに通勤時間である。ここイリノイ州シカゴは、ミシガン湖岸に建設された商都にして工業都市として、全米でもニューヨーク、ロサンジェルスに次ぐ第3の都市として栄えている。1885年に世界で最初の摩天楼が建設されて以来の伝統を誇る超高層ビル群が、ダウタウンにそび立つ。私がノースウエスタン大学ファインバーグ医学校細胞分子生物学部のゴールドマン研究室にポスドクとして働き初めてから、すでに1年半が経過した。我々の研究室は、ボスであるボブを中心に世界中から集まった総勢20名ほどのメンバーで構成され、さらに、常時1-2名の共同研究者が1-3ヶ月の短期滞在で研究室に出入りしている。我々の研究テーマはあらゆる中間径フィラメントの細胞内動態と機能を対象とし、細胞骨格として働くビメンチンやケラチンから核構造維持に関わるラミンまで多岐にわたる。研究室の各メンバーは、細胞骨格グループとラミンググループのいずれかに属し、各人の得意な研究技術を駆使して自分のプロジェクト以外にも同じグループの仲間のプロジェクトも手伝い、全体として緩やかな連帯によって結ばれている。このようにしてグループでプロジェクトを遂行する場合には、円滑な人間関係は欠かせない要素である。殺伐とした大都会での研究生生活では、ともすれば研究室内でギクシャクした人間関係になりがちであるが、そこはボブの見事な統率力とThe City of Neighborhood（近所付き合いの街）のせいもあってか、研究室の雰囲気も和やかで、いつも笑みの絶えない研究室である。それに研究で疲れたときには、海のように広がるミシガン湖を窓越しにぼんやり眺めたり、研究室の仲間たち

と近くのビルにあるお気に入りのレストランで食事をしながら談笑したりして、楽しくも真面目な研究生生活を送っている。



図1. ファインバーグ医学校のビル全景

充実した顕微鏡施設

図1に示した我々の研究室があるビルには、同じ学部の研究室の多くが顕微鏡を使って細胞骨格を研究しているため、共同研究施設として特筆すべき顕微鏡施設が存在する。この施設内には、透過型電子顕微鏡、共焦点レーザー走査蛍光スペクトル顕微鏡、FRET（蛍光共鳴エネルギー移動）レシオイメージングやスペックルイメージング用の共焦点ニポウディスク走査蛍光顕微鏡、TIRF（全反射照明蛍光）顕微鏡などが設置されている。さらに、今年から最新の蛍光顕微鏡を備えたニコニイメージングセンターが開設され、顕微鏡施設の一層の充実が図られている。これらの顕微鏡を使用する際にはオンライン予約が必要だが、普段は予約状況が込み合っていないので、自分の好きな時間帯に予約できる。さらに、我々の研究室にも独自の顕微鏡室が2つあり、透過型電子顕微鏡、共焦点レーザー走査蛍光スペクトル顕微鏡、生細胞の長期観察用にリアルタイム焦点補正機構を搭載した蛍光顕微鏡、一分子イメージング用のTIRF顕微鏡、デコンボリューション解析用の蛍光顕微鏡、マイクロインジェクション用の蛍光顕微鏡などが設置されている。こちらもオンライン予約が原則だが、仲間同士でうまく譲り合っているため、最新の蛍光顕微鏡を多数所有する研究室からやって来た私でも、顕微鏡の使用に不自

由さを感じたことはない。

話し合うことの大切さ

こちらで研究するようになってから、日本にいた頃より研究の内容について話し合う機会が実に増えた。例えば、新しいプロジェクトに必要な発想を思索しているときやすでに進めているプロジェクトの作業仮説を立てるときに、異なる経験や知識をもつ人と話し合うと思わぬ発想が生まれることがある。幸い、我々の研究室のメンバーは、現在とは異なる研究分野からやってきた人たちが多く、さらに中間径フィラメントに関して細胞骨格と核内構造というまったく異なる細胞内構造を研究しているため、このような目的のための話し相手には事欠かない。また、研究を効率よく進めるためには自らが綿密なる実験計画を立てることは言うまでもないが、その実験に詳しい人と活発に話し合うことは欠かせない。要するに、事前によく話し合っ必要実験だけ行って、できるだけ早く論文を投稿するところまで到達したい。実験のトラブルシューティングも一人で考え込むよりは、その実験に詳しい人と話し合っ解決したほうが、ずっと時間の節約になる。また、他の人に実験の一部を手伝ってもらう時にも、実験の目的をよく説明する。ほんのちょっとした実験条件の違いでも結果に影響するので、完全に他人任せにしないでしょく話し合う。このようなローカルなミーティングは、研究室内のあちこちで始終見られる光景である。ラボミーティングも頻繁に行われ、研究室全体では月に一度、各グループでは2週間に一度行われる。ミーティングは、いつもボブのジョークや世間話で始まり、研究室全体に対するお知らせの後、各人の研究成果の報告に入る。一人当たり10-20分かけて、今回のミーティングまでに行った実験条件や結果、次のミーティングまでにすべき実験について真剣なやりとりがなされる。ボブが出張でいない場合には、出張先のボブと最低1回はメールのやりとりをして、最新の研究結果を報告する。ボブは、出張から帰ってくると、さっそく各人に会って得られた最新の生データを評価する。個人的には、同じ研究室のメンバーのほか、近くの研究室のメンバーとも情報交換や相談をたびたび行っている。このようにして、私の場合は、1日に最低1時間はディスカッションに費やすことが日課となっている。おかげで、研究の進むペースが

速くなった気がする。



図2. ラミングループ（中央奥が著者、右端がボブ）

古くて新しいラミンは謎でいっぱい！

図2で示した私を含むメンバーで構成されるラミングループは、脊椎動物のラミンのDNA複製、転写、DNA修復、ヘテロクロマチン形成、染色体配置に関わる機能、ラミンの修飾や再構築の機構などについて研究している。ラミンは、核ラミナを構成するタンパク質として細胞生物学の教科書にかならず登場するが、上述のラミンの核内機能については、分子レベルでの説明がほとんどされていない。ラミンは、1970年半ばに、ラットの肝臓の細胞から核膜成分の一つとして単離された後、ラミンが中間径フィラメントの一種であり、核膜直下で重合して核ラミナを形成していること、核ラミナがA型とB型の異なるラミンから構成されることなどが次々と判明した。そして、これらのラミンが細胞分裂期特異的にリン酸化を受けて脱重合することが分かった時点で、一時的にその研究のピークを迎える。近年、Lamin Aの全長に渡って見つかった約270箇所にも及ぶ変異の一つ一つが、早老症の一つであるHutchinson-Gilford progeria syndrome (HGPS)、筋肉や腱の機能疾患を伴うEmery-Dreifuss muscular dystrophy (EDMD)、脂肪組織の萎縮を病徴とするFamilial partial lipodystrophy (FPLD)などを含む一連のラミン病を引き起こすことが示され、ラミンが再び脚光を浴びている。そこで、我々のグループは、特にHGPSに注目してLamin Aの機能の解析を進めた。この病気は、lamin A前駆体(Prelamin A)の遺伝子座のエクソン11における変異で、通常は生じないスプライシングがこの部位で生じ、エクソン11の5

O アミノ酸が欠失した変異型 lamin A (Lamin AΔ50 またはその一部を Progerin と呼ぶ) が発現することによって引き起こされる。図 3 に示すように、Prelamin A は、C 末端の CAAX モチーフ (Lamin A の場合は CSIM) が farnesyl 化を受けて SIM が取り除かれる。さらに carboxymethyl 化を受ける。その後、C 末端の 15 アミノ酸を Zmpste24/FACE1 と呼ばれるエンドプロテアーゼによって切断され成熟型 Lamin A (Mature lamin A) となる。おそらく、farnesyl 化を受けた Prelamin A は、核膜に挿入した後、Zmpste24/FACE1 の切断によって Mature lamin A として核膜から離脱して、核ラミナに組み込まれると想像される。Lamin AΔ50 の場合は、Zmpste24/FACE1 の切断部位を含む 50 アミノ酸が欠失しているため、farnesyl 化を受けた Lamin AΔ50 は核膜に挿入したままである。現在では、Lamin AΔ50 の核膜局在が、核形態の異常を引き起こす原因であると考えられている。我々の研究によって、HGPS の患者の繊維芽細胞や Lamin AΔ50 の GFP 融合タンパク質を恒常的に発現した HeLa 細胞で、通常の細胞に見られるような核膜近傍の染色体のヘテロクロマチン化が失われていることが分かった (Goldman et al., 2004, Shumaker et al., 2006)。このことから、Lamin A は、核膜近傍の染色体のヘテロクロマチン化に関与していることが示唆される。さらに、我々と他のグループは、同様の細胞を使い、Lamin AΔ50 の発現が細胞分裂期の遅延や染色体分離異常を引き起こすことを示した (Cao et al., 2007, Dechat et al., 2007)。通常、Lamin A は、前中期から中期における核膜崩壊の過程でリン酸化を受けて脱重合を始める。脱重合した Lamin A は、中期から核移行が開始されるまでの間、その大部分が細胞質に拡散している。一方、Lamin AΔ50 は、細胞分裂期に入って脱重合しても、核膜小泡に挿入されたままの状態が細胞質に漂っている。この膜状構造の一部は、G1 期に入っても核膜に融合されないで細胞質に残る。今後の研究課題としては、lamin A が上述のヘテロクロマチン形成や細胞分裂にどのようにして関与しているのかを、分子レベルで解明することが期待される。

私のプロジェクトについて

体細胞に発現するラミンには、少なくとも 3 種類の A 型ラミン (Lamin A、C、AΔ10) と 2 種類の B 型ラミン (Lamin B1、B2) が知られているが、これらのラミンの個別の動態

や機能についてあまり詳しく調べられていない。そのことを示す例として、ラミンの研究の初期の時代から知られていたヒトの Lamin B2 の cDNA の正しい配列が分かったのは、なんと昨年のことである (Sschumacher et al., 2006)。そこで、私の研究テーマは、哺乳類動物の培養細胞で間期の A 型と B 型ラミンの動態や機能についての違いを詳しく調べることに決まった。すでに、複数の哺乳類動物の培養細胞において、A 型と B 型ラミンの間には核ラミナの崩壊と再構築の開始時期にずれがあることが知られている (Georgatos et al., 1997, Moir et al., 2000)。また、HeLa 細胞において A 型ラミンのみが、細胞分裂終期の短期間のみ微小管が結合する染色体周縁部付近の領域 (Core 領域) に局在することが分かっている (Haraguchi et al., 2001, Dechat et al., 2004, 2007)。さらに、別のタイプの HeLa 細胞では、G1 期に A 型ラミンのみが核膜孔のない核ラミナ構造 (Pore-free Island 構造) を形成することが知られている (Maeshima et al., 2006)。現在私は、重合に必要な N 末端側の一部の領域を欠いた Lamin A の変異体を細胞内に発現される実験や RNAi 実験などによって A 型と B 型ラミンの動態を調べている最中である。

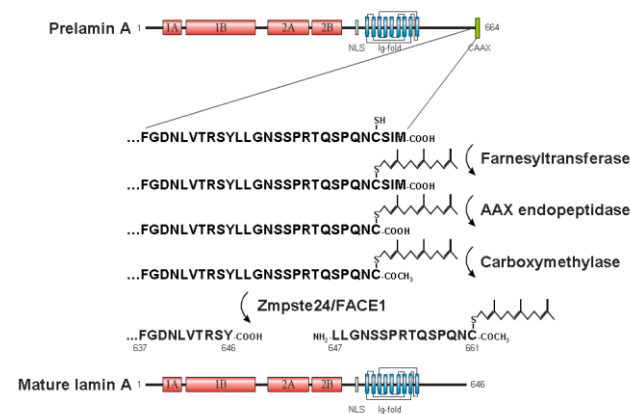


図 3. Prelamin A から lamin A への成熟過程

それでも研究することは楽しい！

アメリカに限らず、世界中のどこでも我々の分野で働く研究者を取り巻く環境はたいへん厳しい。しかし、どんなに実験がたいへんでも、どんなに論文やグラントを書くのがたいへんでも、研究が続けられるチャンスがある限り精一杯研究するしかない。微小管やアクチンフィラメントと

較べて、遥かに地味な中間径フィラメントを40年近く研究してきたボブが口癖にしている言葉を紹介しよう。「確かに、毎日が休む暇もないほど忙しいよ。それでも研究することは楽しいから、どうしても止められない!」。シンプルにして、最大の動機である。

謝辞

最後に、海外留学する機会を与えて下さった平岡泰先生ならびに原口徳子先生、また、この留学体験記を執筆する機会を与えて下さった特定領域研究“細胞核ダイナミクス”の竹安邦夫先生ほか諸先生方に深く感謝いたします。