

## Research Locally, Think Globally

中畑泰和<sup>✉</sup>

奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス研究科 遺伝子発現制御

## はじめに

今回は、第9回日本時間生物学会学術奨励賞・基礎科学部門を受賞できましたことを、大変うれしく、また光栄に思っております。この場をお借りして今までご指導、ご鞭撻いただいた多くの先生方に感謝申し上げます。また本稿を機に、私が出会ったすばらしい先生方とのエピソードを交え、これまでの研究について述べたいと思います。

## 科学者になる！

科学者、研究者である先生方、またそれを目指して日々奮闘している学生のみなさんの多くは、小さな頃から「研究者になるんだ！」という夢と希望を持っていたのではないだろうか。私はどうだったかと考えてみると、研究者を目指そうと考えだしたのはかなり遅く、修士2年目くらいであったように記憶している。

少年時代、これと言った憧れの職業もなく、でも社員にはなりたくないと漠然と考えていた私は、とりあえず教職免許が取れる理学部に入学した。ここでまず私の人生を決定付ける先生と出会う。教育心理の教官である。他人とあまり対立することを好まない私が、ことごとく、ほぼ毎授業、彼の教育に対する考え方と対立していた。そして見事「毎年一人しか落とさない」と公言する彼の単位を落とすことになる。もちろん再履修を希望する訳もなく、私の教師となるという夢は途絶えた。

教師になる夢を断たれた私は、大学院重点化のおかげもあり、大阪大学大学院理学研究科に入学することができた。配属先は、蛋白質研究所の永井克也（現大阪大学名誉教授）研究室であった。永井研のスタッフは皆、純粋に研究が好きで楽しんでいるよ

うに（少なくとも内情など知る由もなかった私からは）見えた。さらに学生は、企業からの出戻り、博士課程からの配属、出身大学・学部の違いなど、非常にヘテロな集団であり、研究の「け」の字も知らなかった私にとってとても刺激的であったと同時に、「研究者を目指す人たちはこんなにも個性的なのか…」と別世界に足を踏み入れてしまったのではないかと思ったことを記憶している。しかし、個性的な先輩・同輩・後輩に囲まれたおかげで、研究することの面白さを知り、研究者を目指そうと思うようになる。

## 恐るべき偶然の重なり

学位論文のテーマは蛋白研らしく、「哺乳類概日時計の光同調に関与する蛋白質の同定および機能解析」であった。修士1年の夏ごろ、永井先生が示した脳切片が私の大学院での研究テーマ、そして「研究者になる！」と言う思いを決定づけた。その免疫染色された脳切片は、視交叉上核特異的に昼夜でチロシンリン酸化の程度が変わっており、さらに、夜間に光刺激を与えられた脳切片では、チロシンリン酸化状態が昼間と同程度まで上昇していた。このタンパク質Xを同定するために修士2年の夏ごろまで、来る日も来る日もひたすらラットの脳を擦り潰しては、全長1メートル以上あるゲル濾過カラムから数センチのイオン交換カラムまで研究室あるカラムを片っ端から使い、各画分をSDS-PAGEに供する、ということを繰り返していた。そんなある日、二次元電気泳動の結果を見た当時助教授であった岡田雅人先生（現阪大微研教授）が私を先の見えない精製地獄から救う一言をつぶやいた。「このパターン、BITに似てるなあ。抗体持ってるから試してみるか？」

✉yasu-nakahata@bs.naist.jp

BITとは、当研究室で1980年代初頭に精製された膜貫通型蛋白質であり、当時学生として在籍していた岡田先生だからこそこのアドバイスであった。この一言により、私が追いかけて続けた蛋白質がBITであり、実際、視交叉上核に存在するBITのチロシンリン酸化状態が日内変動すること、さらに夜間の光刺激によりBITのチロシンリン酸化が惹起されることを明らかにした [1]。次に、光刺激による同調(位相変化)にBITのチロシンリン酸化が必須であるか、視交叉上核に存在するBITのチロシンリン酸化を惹起するだけで光刺激と同様の位相変化を引き起こすことができるか、という問題に取り組もうとした。前者を検証するためには、ノックアウトマウスもしくはチロシン残基に変異が入ったノックインマウスが必要であったが、当時そのようなマウスは存在しなかった。後者を検証する方法なんてあるのか?と、いろいろ論文を読んでいると、1D4と呼ばれるモノクローナル抗体があることを知った。1D4抗体とは、ラット脳に存在するBITを特異的に認識する抗体であるのみならず、MAPKシグナル伝達経路を活性化することが知られていた。みなさんご存じのように、MAPKシグナル伝達系の活性化は、視交叉上核、末梢時計に関わらず、時計のリセットすることが知られている非常に重要なシグナル伝達経路であり、1D4抗体はその経路を活性化するのである!さらにこの1D4抗体は、なんと当研究室で作成されたものであったのである!!液体窒素タンクから10年ものの1D4抗体を産生するハイブリドーマを当時の指導教官であった奥村宣明先生(現阪大蛋白研准教授)が発掘してくれたおかげで、視交叉上核にあるBITのチロシンリン酸化を惹起するだけで光刺激と同様の位相変化を引き起こすことに個体レベルで成功した [2]。永井先生をはじめ、優れたスタッフの助言といくつもの偶然の重なりにより、無事5年で学位を取得することができた。後日談であるが、BITノックアウトマウスを入手し、光刺激による位相変化を調べた結果、全く異常を検出することができなかつたそうである。BITを介した光同調のメカニズムは“one of them”であったということである。

#### ポスドクとしての心構えとは?

永井研で学位取得後、当時(財)大阪バイオサイエンス研究所で研究室を立ち上げたばかりの内匠透先生(現広島大医学部教授)の下で、ポスドクとして概日時計の研究を続けることになった。内匠先

生は、当時ラボを立ち上げたばかりという事もあったか、結果とそれを出すための日ごろからの研究への取り組みに対し、ストイックさを私たちポスドクや学生に求めてきた。ポスドクなのだから当たり前と言えば当たり前であり、学生時代が温かかったと言えばそれまでであるが、興味のあることを研究して、その結果、成果が付いてくるというスタンスでいた私にはカルチャーショックであり、研究の世界で成功することの難しさ、厳しさを思い知らされた。しかし、内匠先生の言うことは、私のような凡人が世界を相手に“戦う”ための心構えであり、身に付けておくべき武器であった。研究者を生業として生きていく覚悟が揺らいだ時期もあったが、いまだに研究者として生き残れているのは、内匠先生が私たちに厳しく、また、アグレッシブにラボ運営されている姿を間近で見せてくださったおかげである。内匠研での3年半がなければ、おそらく研究を辞めていたか、腐っていたに違いない。

内匠研では結果が厳しく求められる一方で、各人のアイデアで自由に研究をやらせて頂いた。行動生理と遺伝子発現制御を結びつけた研究 [3] やケミカルライブラリー・生理活性物質ライブラリーを用いて行った抹消時計同調因子の同定 [4]、さらには分子生物学とバイオインフォマティクス、構造生物学を駆使した研究 [5] など充実した時間を過ごすことができた。

#### チャンス到来

内匠研に来て2年が過ぎた頃、思わぬチャンスが転がり込んできた。そろそろ次のラボを探そうかと考えていたところに、留学の話が舞い込んできたのである。Emiliana Borrelli、Paolo Sassone-Corsiの奥さんであり、ドーパミン受容体研究を専門とする研究者である。彼女が日本人ポスドクを探していると言うことをPaoloから聞いたが興味ある人はいるか?、と言うメールを内匠先生がラボメンバーに流したのである。ドーパミン研究に興味はなかったが、Paoloの転写制御に関わるシグナル伝達という研究テーマには興味があったので、内匠先生に相談してみたところ、興味があるなら自分でメールしてみろ、と快諾を得ることができた。

既に結婚し、2歳になる娘もいたため、留学に対して過度の不安や期待に振り回されることを避けたいという理由で留学の話は、まとまりかけてから家

族の承諾を得ようと考えていた。しかし、結果としては一切の相談なく留学を決めてしまった。いや、決まってしまった。Paoloとのfirst contactでいきなり“OK”を頂いたのであった。かくして、当時Paoloラボがあった核内受容体研究の世界的権威であるPierre Chambon博士が初代所長を務め、分節時計研究のトップランナーであるOlivier Pourquié博士が現所長を務めるフランス北東部に位置する世界遺産の街、ストラスブールにあるIGBMC (Institute of Genetics and Molecular and Cellular Biology) 研究所に留学することが決まった。Paolo研での私の研究内容については本学会誌に寄稿した総説 [6, 7]などを参照していただき、本稿では、研究の裏話などについて述べたいと思う。

### 前途多難な旅立ち

2005年8月31日、期待と不安で迎えた渡仏当日、思わぬ落とし穴が待っていた。旅行会社の説明では、関西空港発フランクフルト経由ストラスブール着と聞いていたが、空港チェックインカウンターでの説明に…。なんと、フランクフルトからは同航空会社が運営する“高速バス”でストラスブールへ向かうという。さらに到着地はストラスブール空港ではなく、ストラスブール市街地。ストラスブール空港で当時Paolo研に留学していた平山 順氏（現東京医科歯科大准教授）と落ち合う約束をしていたため、道中のバスの中では英語の話せる人を捜し、どこで降りるのが一番空港に近いか聞き（バスのアナウンスで3ヶ所ほど止まると言うのを聞いたため）、バスを降りてからも街行く英語を全く理解しないフランス人に、どう行けば空港に辿り着けるかを身振り・手振りで説明しながら、何とか空港に着いた。そして、1時間以上予定時刻を過ぎても待っていてくれた平山氏と会うことができた。私の人生で間違いなく、あの日が最も積極的に人に話しかけた日であり、案外どこでも生きていけるタフな人間であることを悟った日でもあった。

翌初出勤日、また思いもよらない事実が発覚した。まだPaoloが出動してくる前の早朝、Paolo研のポストドクやテクニシャンに自己紹介をしていたとき、“Are you going to California?”と聞かれ、???となっていると、「Paoloがカリフォルニア行くの付いて行くん?」「知らんの?」と（関西弁ではないが）矢継ぎ早に聞いてくる。状況が飲み込めず、…となっていると、「カリフォルニアにラボが引っ越

しするんやで!」「(何と書いていいかわからず)…。そう、Paolo研はすでにUniversity of California, Irvine (UCI) に移ることが決まっていたのである。家族のエアチケットも既に取り替えていたし、半年でまた引っ越さなければならない、それもラボ閉鎖のための片付けや新しいラボの立ち上げなどでまともに実験ができそうにない。こんなことならUCIに移ってから合流すればよかった、などと平山氏に愚痴っているところに短パンにシャツの出で立ちで日焼けした男性が現れた。Paolo Sassone-Corsiである（たまに勘違いされている人を散見するがSassone-Corsi (サソニー・コルシ) がラストネームである）。早速、ラボ異動について聞くと、「メールしたと思うが」と言いながらメールチェックするが見当たらず。謝るかと思えば、「アメリカに行くことに何か問題でもあるのか?」と聞かれ、問題ないと答えると、「OK!」と言って、次の話題に移ったのである。日本の教授では絶対にあり得ないラフな服装と適当な対応。この先、大丈夫かな?と言うのがPaoloに対する第一印象であった。

### 引きの良さ

Paoloは、3つほど研究テーマを提案してきた。堅実なテーマを軸としてチャレンジングなテーマも並行して行うというものであった。手元に材料があったという理由で、最初に手を付けたのが、チャレンジングなテーマであったSIRT1プロジェクトである。まず、SIRT1欠損マウス胎仔由来線維芽細胞を用いた血清刺激実験を行った。この実験は内匠研にいた時に最も頻繁に行っていた実験のひとつだったので、何の不安もなく行えた。ただ日本にいた時は、qPCRにより遺伝子発現を定量するのが常だったが、PaoloはqPCRを信用していないという平山氏からのアドバイスでRNase Protection Assay (RPA) で遺伝子発現を調べることになった。初めて行ったRPAであったが、SIRT1欠損マウス胎仔由来線維芽細胞での時計遺伝子発現パターンは、野生型マウス胎仔由来線維芽細胞のそれとは明らかに違っていた。再現性を確認してからPaoloにデータを見せたところ、少年のように微笑んで、このプロジェクトに集中することを命じられた。Paoloの描いていた空想ストーリーが現実であることを悟った瞬間だったのであろう。余談であるが、Paoloはよくウイנקをする。廊下ですれ違う時、帰宅前。初めてされた時は気持ち悪かったが、「カッコいい」のである。さすがイタリア伊達男と言うところか。

## まさかの展開!

その後、SIRT1とCLOCKの結合の弱さには泣かされたが、順調にデータを得ることができた。アメリカに異動して2年が過ぎようとしていた2008年3月。Keystoneシンポジウムから帰ったら論文投稿しようとしていたPaoloからシンポジウム期間中にラボに電話がかかってきた。スイス・ジュネーブ大学SchiblerのグループがKeystoneシンポジウムでSIRT1について発表しているというのである。さらにCell誌にすでに投稿中だと言うことである。しかし、このような危機的状況に強いのがPaoloである。これからわれわれのデータをCell誌のエディターに話すから、一週間で投稿できるよう帰ってくるまでに図を作っておけ、と言うのである。シンポジウムから帰ってきたその日に、私たちは作った図を囲み、データのひとつひとつを吟味し、ストーリー作りを行った。その後も一日に何度も、もっときれいなウエスタンの結果はないのか?あのデータはないのか?というやりとりを繰り返し、一週間ほどで論文を書き上げ、2008年3月20日に投稿した。無事、7月25日号のCell誌にSchiblerのグループと連報[8, 9]で掲載されたのではあるが、受理されるまでの約3ヶ月間受け続けたPaoloからのプレッシャーは尋常ではなかった。普段は、データが出なくても何も言わず、データが出た時も「キレイ、キレイ。アリガト。」と日本語で言うだけなのだが、ひとたび論文、特に三大誌に投稿するモードにスイッチが入ると、「キレイ、キレイ。」と褒めてくれたはずのデータを「バンドが薄い、汚い」などレビュアー目線で厳しい指摘をしてくる。ごもっともな指摘なのだが、データを見せたその時に言ってもらいたいものである。多くはサンプルの取り直しからしなければならぬのだから…。特に今回は、Schiblerのグループが出しているデータと一致しない点はいくつかあり、その点に関して多角的に何度も検証し、100%われわれのデータに間違いがないことに確信が持てるまでPaoloは納得しなかった。

## 一度ならず二度も…

台風一過のような清々しさを実感しつつ、残していたデータ（のちにScience誌に掲載されるデータの半分程度）について私は、一息入れてから仕上げようと考えていた。事実、Paoloは私が示したデータについてあまり魅力を感じていない様子であった。しかし、論文が掲載されてまだ日が浅い頃、急にPaoloが、すぐに論文に仕上げるぞ、と言ってき

た。“スイッチ”が入ったのである。NAD+の測定は非常にデリケートで、安定したデータを得るまで毎日のようにサンプリングを繰り返した。協力してくれたMassSpecのスペシャリストのおかげもあり、非常にきれいなデータを取ることができたが、もし彼が同じ建物にいなかったら、これほど短期間にきれいな結果を出すことはできなかつたであろう。そして、2度目の幸運を逃していただろう。

Cell誌に論文が掲載されれば、誰もがNAD+が日内変動している可能性、そしてその重要性に気が付き、研究を開始すると思っていたため、Paoloが“スイッチ”をONにしたことに正直安心したが、またも…である。データがまとまり、クリスマス休暇が明けたら投稿しようとしていた頃に、「他のグループが同じ内容で三大誌に投稿した。」と言う噂が入ってきた。今回はどの雑誌に投稿したかが、最終的にわれわれの論文が受理されるまで分からなかったため、私もPaoloもかなりピリピリしていた。特に、PaoloとScience誌エディターとの駆け引きは真似しようとしても到底できるものではなかった。“一級品のデータを出すのがポストドクの仕事、それを一流雑誌に通すのが私の仕事” Paoloが公言していた言葉であるが、重みのある言葉である。結局、2ヶ月弱でScience誌に受理されたのだが、前回と違い、競争相手の進捗がわからない状況での競争は前回以上にストレスフルであった。さらに、競争相手であった今井眞一郎氏（Washington University in St. Louis）からScience誌に連報[10, 11]で掲載されることを知らされた時は、愕然としたことを昨日のように覚えている。

## Research Locally, Think Globally

予想以上の研究成果のおかげで、奈良先端科学技術大学院大学の助教ポストで帰国することができた。現在は教授である別所康全先生が発見したHes7と呼ばれるbHLH型転写抑制因子が作り出す2時間周期の分節時計研究と24時間周期の概日時計研究のふたつの違う周期の時計研究を行っている。このふたつの時計がクロストークしている、なんてことを妄想しながらオリジナリティある研究者になることを夢見ている。また、NAD+/SIRT1研究で経験した、ローカルな研究分野の研究成果が違った研究分野との繋がり、新たな研究領域の可能性を示すような研究を行っていきたいと思っている。

最後に記しておきたいのは、同時期にラボを共に

した明石 真氏（内匠研；現山口大時間生物学研究所教授）、平山 順氏、土居雅夫氏（Paolo研；現京都大学准教授）についてである。私と同年代である彼らは、みなさんご存じのようにすでに若手リーダー格として時計生物研究を牽引する人材である。そんな彼らの研究に対する姿勢を見ていると、いまだに自分の甘さ、未熟さを思い知らされている。またそれと同時に、彼らにできて自分にできないはずがない、という思いが私のモチベーションになっていることも事実である。ここまで本稿を読んでくださった学生、ポスドクの方々も一流の研究者の集まる所に身を置くことを強く勧める。身近にすごい人がいる環境でなければ得られない何か、そして自分をもう一段上のレベルに上げてくれるなにかが、そこにあるはずである。

#### 参考文献

- 1) Nakahata Y, Okumura N, Shima T, Okada M, Nagai K: J Neurochem 74: 2436-44 (2000)
- 2) Nakahata Y, Okumura N, Otani H, Hamada J, Numakawa T, Sano S, Nagai K: Brain Res 976: 194-201 (2003)
- 3) Yamamoto T, Nakahata Y, Tanaka M, Yoshida M, Soma H, Shinohara K, Yasuda A, Mamine T, Takumi T: J Biol Chem 280: 42036-43 (2005)
- 4) Nakahata Y, Akashi M, Trcka D, Yasuda A, Takumi T: BMC Mol Biol 7: 1 (2006)
- 5) Nakahata Y, Yoshida M, Takano A, Soma H, Yamamoto T, Yasuda A, Nakatsu T, Takumi T: BMC Mol Biol 9: 1 (2008)
- 6) 中畑泰和: 時間生物学 17: 69-74 (2011)
- 7) 中畑泰和, Paolo Sassone-Corsi: 実験医学 27: 89-93 (2009)
- 8) Nakahata Y, Kaluzova M, Grimaldi B, Sahar S, Hirayama J, Chen D: Cell 134: 329-40 (2008)
- 9) Asher G, Gatfield D, Stratmann M, Reinke H, Dibner C, Kreppel F, Mostoslavsky R, Alt FW, Schibler U: Cell 134: 317-28 (2008)
- 10) Nakahata Y, Sahar S, Astarita G, Kaluzova M, Sassone-Corsi P: Science 324: 654-7 (2009)
- 11) Ramsey KM, Yoshino J, Brace CS, Abrassart D, Kobayashi Y, Marche B, Hong HK, Chong JL, Buhr ED, Lee C, Takahashi JS, Imai S, Bass J: Science. 324: 651-4. (2009)