

## はじめに

今年度から「細胞核ダイナミクス」に参加させていただくことになりました。本来、研究室の紹介をするべきかと思いますが、所属となっているバイオフロンティアセンターに研究室があるわけではありませんので、代わりにエッセイを書くことにしました。私達が研究に愛用しているツメガエル卵と卵抽出液について紹介しようと思いましたが、ツメガエルもよいけど私の研究遍歴の方もよっぽど変わっていて面白いとの声がありましたので、これまでのことを振り返りながら、私がツメガエル卵の研究に辿り着くまでをイントロダクションにすることにいたします。

## カエル卵に出会うまで

ツメガエル卵の研究をはじめて10年近くになりますが、それまでにはけっこう長い道のりがありました。まずは遠い昔に遡ります。中学生であった私はローレンツ博士の動物行動学に感銘を受け、北海道大学に行き動物の研究をしようと思うようになりました(野原に動物がたくさんいる風景を想像したのだと思います)。当時、北大理学部生物学科は動物学と植物学の2つの専攻に分かれており、私は迷わず動物学を専攻しました。学生時代は想像した通りに野外で多くの動物に触れることができました。2年と3年には臨海実験所に2-3週間合宿して実習に明け暮れるのをはじめとして、生態学実習、農学部のカブ小屋で採った(ブタはとて怖い!)ハエを使った生理学実習、自分で採った動物も使う組織学実習などで、網を手にキャンパス、森林、海に出かけました。しかし当時の私は分子遺伝学に興味をもちはじめ、ローレンツ博士の研究とは無関係のショウジョウバエのトランスポゾンの研究に青春を捧げるようになりました。動物学教室には、カエル卵を研究材料にして、しかも今日の私の研究に深く関連するテーマを扱っているところもありましたが、私がカエルに出会うのはまだまだ後のことです。さて、博士課程在学中に訪ねた横浜の三菱化成(現、三菱化学)研究所から就職のお話があり、基礎研究を仕事にできるという点により博士課程の途中で就職を決断しました。配属は植物工学研究所で、私にとっては未(無)知の分野でしたが、「DNAにしちゃったら動物も植物も同じじゃないの?」という陽気なグループリーダーの言葉にも後押しされました。しかし東北で育ち、その後さらに北国へ行った私には「内地」の暑さは厳しく、5月にはもうクーラーを入れ休日は部屋にこもっていました。ここでは細胞融合や遺伝子組み換えによる有用作物の作出を目指した研究を行い、酵母や昆虫なども扱いました。その中で行った細胞質雄性不稔の研究から、ミトコンドリアのRNA editingが生殖細胞形成を制御することがわかり、これを学位論文とすることができました(動物学教室の恩師である堀浩先生をはじめ、お世話になった北大の先生方、植工研の共同研究者の皆様には心より感謝しています)。

学位を取得した後、いろいろなご縁があって和歌山県立医大の助手のお話があり、既に研究対象の垣根が低くなっていた私は、今後も研究で生活できる可能性が高いとの判断から転職を決め、哺乳類培養細胞を相手に研究することになりました。しかし、家庭の事情(?)によりその後まもなく医大をやめ英国に行くことになりました。ようやく私がツメガエルに出会うことになったのは、ケンブリッジの Wellcome/CRC Institute (現 Gurdon Institute)に当時いらした Ron Laskey の研究室です。正確にはカエルではなくその卵の抽出液でしたが、しかし、私はここでは専ら HeLa 細胞を扱い、ツメガエルを掴むこともなく(動物ライセンスがなかった)、自身では卵抽出液の調製をしたことがあ

りませんでした。帰国して CREST の研究員として東工大の岸本健雄教授の研究室に採用していただき、本格的にツメガエル卵を使っての研究を開始しました。今日、私がツメガエルを愛で、卵とその抽出液を駆使して研究ができるようになったのは、当時の共同研究者である大隅氏のご教授の賜ですが、師匠を凌ぐ腕前になってお株を奪ってしまい、大変申し訳なく思っています。ツメガエル卵に出会うまでに行ってきた研究は、楽しくかつ貴重な経験として、また私の個性として現在の研究にも反映されていると思っています。

## 初期胚核の研究に至るまで

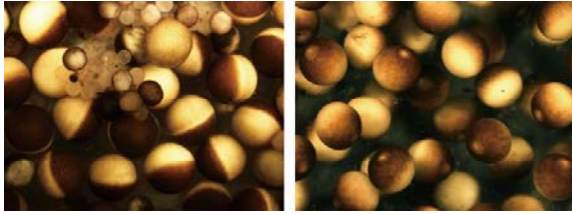
ツメガエル卵を用いて最初に取り組んだのは、減数分裂周期と初期胚の体細胞分裂周期を制御する仕組みを明らかにすることでした。既に大隅グループは減数分裂期の細胞周期を再現するカエル卵母細胞の無細胞系(meiotic extract)を開発しており、これを完成させつつ研究を進めました。meiotic extract を使った一連の仕事では、現在 Colorado 大の Jim Maller 研究室でポストドクをしている山本友美と大隅氏と3人で並んで卵母細胞を延々と採り続けたものです。長いこと卵を見続けたせいか、卵という細胞の特殊性に考えを巡らせるようになりました。ツメガエル卵抽出液は、細胞周期、クロマチン、核、染色体などの研究のツールとして活用されています。しかし、卵抽出液中で細胞周期が進行し、無細胞系でありながら、クロマチンを加えると核形成や DNA 複製、そして核膜崩壊や染色体形成を誘起できるのは、卵には受精後に、転写に依存せずに細胞数を急速に増加させるためのさまざまな分子がストックされているためであり、また卵細胞質が核の成分も含む、いわば“核細胞質”であるという特殊性によるものといえます。このような特殊な細胞である卵についてさらに深く理解したいと思うようになりました。

## 初期胚核の研究

卵は、複製に特化した初期胚の核の機能的特質を維持するために体細胞とは異なる分子群を備えています。これには核膜やクロマチンの成分も含まれます。現在の私の興味の一つには、初期胚の核の機能的特性があります。初期胚における核の形成と機能の制御は興味深い問題で、私達は現在、核膜とクロマチンの関係に着目して研究を進めています。以下、現在進行中の研究と、卵抽出液について簡単にご紹介したいと思います。



ツメガエルの雌(左)。ホルモンを注射すると産卵します(右)。一匹あたり 20-50 mL の成熟卵を産みますが、夏と冬には卵の質が悪くなり、産卵しても使えないことがあります。



まずは初期胚における核の構造と機能との関連についてです。ツメガエルの初期胚の核ラミナは、A タイプも持つ体細胞とは異なりBタイプラミンのみで構築されます。初期胚ではラミンBが核形成、また核や細胞の機能にどのように関わるのかを明らかにしていきたいと考えています。卵抽出液を用いた実験では、抗体を用いて目的のラミンBサブタイプを免疫除去したり、抗体を添加してラミンBの機能を阻害し、核形成や核の機能への影響を調べます。卵抽出液の調製はとても簡単ですが、重要なのは卵や抽出液の質を見極めることです。卒研で配属になった4年生に初めて卵抽出液を作ってもらおうと、よくアポトシス様のものになります。このような抽出液では一見、核が形成されるように見えますが、核の成長が起らないので注意が必要です。

卵母細胞の細胞質の特質や、卵成熟期におけるその変化についても研究を進めています。卵巣の中で減数第一分裂前期(G2/M)に停止している卵母細胞(未成熟卵)は、ホルモン刺激で減数分裂を再開し、受精・発生が可能な成熟卵となります。未成熟卵の細胞質には核膜様のオルガネラ“アニュレイトラメラ(AL)”がよく発達していますが、卵成熟期以降には消失します。ALは卵母細胞のみならず腫瘍細胞にもよく見られますが、細胞機能にどのような役割を果たすのかよくわかっていません。私達は核輸送との関連に着目してALの研究を進めましたが、やっと登山口に着き登るのはこれからというところでは。また、卵が卵成熟期に核形成能を獲得する機構もまだよくわかっていない興味深い問題です。

これらの研究には、卵母細胞の抽出液を用います。卵巣をコラゲナーゼで処理して、減数第一分裂前期で細胞周期を停止した卵母細胞を集めることができます。取り出した卵母細胞をホルモン処理することにより減数分裂を再開させ、目的に応じたステージの卵母細胞を集めて抽出液を調製し、実験に用います。その時の卵母細胞の選別は熟練を必要とします。

卵巣から取り出したさまざまな発達段階にある卵母細胞(左)と、成熟卵(右)。成熟卵は異常な形態のものを除いて、卵母細胞は成熟卵と同じ大きさまで成長したもの(直径1.2 mm くらい)だけを選んで用います。

### おわりに

私が幸運にも今日まで研究を続けて来られたのは、ひとえに私に研究の場を与えて下さった多くの方々のおかげです。この場を借りてお礼を申し上げます。中でもツメガエル卵の研究を続けるにあたりCREST 研究員とCOE 助手の2度にわたり採用して下さい、現在も研究の場を提供して下さいいる岸本教授には感謝しております。また、この特定領域に参加させていただけたことは、私の研究がそれなりに意義のあるものと評価していただいたのだと心強く感じております。本特定領域を含めサイエンスの領域になんらかの貢献ができることを目標に、これからもツメガエル卵とともに研究を進めていくつもりです。どうぞよろしく願いいたします。