

命の誕生を紡ぎ出す、遺伝子調節タンパク質を求めて

近藤寿人

1. 志を立てる

振り返れば、私が現在の研究を志したのは、高校2年の頃である。発生生物学に現代的な発想と潮流をもたらした Conrad H Waddington が 1961 年に著した The Nature of Life¹⁾ が翻訳されて、「生命の本質」²⁾ というタイトルで 1964 年に岩波書店から出版されたのを読んだのが大きなきっかけとなった。

1964 年当時は分子生物学の興隆の真っただ中で、遺伝子暗号を解明する研究がデッドヒートを繰り広げており、そのワクワクする状況は、刊行が始まったばかりのブルーバックスなどでほとんどリアルタイムで私たちにも伝えられていた。もし研究者という職業を選択できるならば、分子生物学という分野で戦いたいという淡い願望を私は抱いていた。

Waddington は、ようやくメッセンジャーRNAが姿をあらわしはじめた 1961 年にすでに次のことを予言していたのである。『DNA という物質で構成されるたくさんの「遺伝子」にコードされるタンパク質の中には、遺伝子を調節するタンパク質があって、その作用の連鎖によって、胚の中の細胞が次々と状態を変えていって多様な組織化された細胞群を生み出す。これが命の誕生を紡ぎ出す発生のプロセスである』(近藤による現代用語での意訳)。私は、これだ！と感じ、動物の胚の発生を舞台とした遺伝子調節を極めたいと願った。しかし、動物の遺伝子などおおよそ霧の彼方で、その見えぬ峰を目指しての歩みをはじめることになる。まず、その峰へのルートを見つけられるような大学で学ばなければ——丁度私が大学進学の際に京都大学理学部に新設されることになった生物物理学教室を目指した。

京都大学理学部では、数学や物理の志望者として入り混じって教育を受けていて、数学や物理学の世界の美しさに感動する一方、分子生物学や発生生物学については教科書には目を背けて、独学で原著論文を読み漁った³⁾。

2. 時を待つ

しかし、大学院進学を間近にした頃になっても、動物の遺伝子は深い霧の中に閉ざされていた。当

時の生物物理学教室には、岡田節人という個性的でもあり、最先端レベルの発生生物学の研究をしている教授がいたが、当時の発生生物学の最先端は洗練された細胞培養技術にあり、一方私は、あくまでも遺伝子調節タンパク質を目指していた。

そこで、大学院では、大腸菌の分子遺伝学の先駆者の一人である小関治男教授の門を叩いた。サルモネラの鞭毛タンパク質フラジェリンと鞭毛のラセン構造との関連について朝倉昌教授(名古屋大学)が行った、この上もなく美しい研究に感動していたので、不遜にも「大腸菌の分子遺伝学を用いて鞭毛形成を研究したい」と小関教授に申し出た。この研究を行えば、変異体の解析を通じて複雑なシステムの構築に関わる遺伝子調節タンパク質にも肉薄できるのではないかと——発生に関わる遺伝子制御にも通じるかもしれないという思いがあった。

当時の小関研究室の主要なテーマは tRNA の分子遺伝学であったから、それからは大きく外れたテーマを提案したのである。小関教授は大変寛大であっただけでなく、教授自身が、鞭毛に関する研究も行っていた Bruce A.D. Stocker の研究室でイギリス時代を過ごした経験から鞭毛にも造詣が深く、私の願いを受け入れていただいた。もちろん研究の計画・実施と論文発表はすべて自己責任で行わなければならない。

幸いにも、朝倉昌教授の一番弟子であった宝谷紘一博士が助手として隣の研究室に着任され、大腸菌のフラジェリンの精製・分析、それからの鞭毛の再構成の研究については直接の指導を受けた。また、私が見つけた大腸菌変異体が持つ直線状鞭毛の構造を、電子顕微鏡像の光回折(フーリエ変換)像を基にして解析する研究⁴⁾では、その研究室の助教授であった柳田充弘博士の指導を受けることができた。(当時、柳田博士は T4 ファージの頭部の構造を、その手法を用いて研究していた。)修士課程の2年間を、タンパク質を中心とした研究に注いだ後に、分子遺伝学の世界に深く入り、鞭毛形成のための遺伝子の調節の研究に没頭した⁵⁾。しかし、大学院の時代が終わろうとする頃になっても、動物の遺伝子はまだ霧の中にあった——とはいえ、制限酵素が精製され、ウイルスの DNA がそれによって解析され始め、霧はようやく晴れつつあった。

私は、鞭毛を持った細菌が糖やアミノ酸の濃度勾配を検出して遊走する「走化性」の機構について斬新な研究を発表していた Julius Adler（米国、Wisconsin 大学、生化学教室）の個性的な研究に心が動かされて、「大腸菌を用いてシグナル伝達の機構を研究できれば！」との思いで、Postdoctoral fellow として研究チームに加わりたくと手紙を書いた。「自分で fellowship を獲得すること」という条件で受け入れるという返事をもらい、何とか Damon Runyon Cancer Fund から fellowship を得て、大学のある Madison 市に向かった。（学術振興会の fellowship はなかった時代である）

Adler 研では、糖類への走化性を調節するシグナル伝達タンパク質の研究を行った⁶⁾。研究成果以上に重要な体験は、ポストドク間での、「誰がより優れた発想を持ってより魅力的な研究テーマで研究をするか」という熾烈なポジション争いで、国際舞台での戦い方の一つを学んだと思う。日本のサッカー選手がヨーロッパのチームに参加した場合と似た体験だったのかもしれない。

3. 時代の到来

Madison に来てみると、新しい時代がすでに到来していた。Adler 研の2階上では新しい制限酵素 PstI が部分精製されていた。向かいの建物にある遺伝学 (Genetics) 教室では、遺伝子クローニングに用いるファージベクターの試作品が作られ、グロビン遺伝子がクローニングされていた。私が待

ち望んでいた時代が到来したのを悟った。走化性に関連する遺伝子をクローニングするという正当な理由でボスを説得して、遺伝学教室で遺伝子クローニングの基礎を学んだ。

動物の遺伝子の発現を直接的に解析し、遺伝子調節タンパク質の働きを明らかにするための長い道のりの入り口が開けた。ちょうどその頃、この時代の流れを察知した京都大学の岡田節人教授が、「遺伝子を扱える」助手の公募を始めたので応募し、1978 年末に岡田教授のグループ（竹市雅俊助教授、安田國男助手）に助手として参加することが出来た。

岡田教授が私に求めたのは、2つのキーワード「水晶体、遺伝子」を使った挑戦的な研究を自由に行うことであった⁷⁾。安田國男氏とともに、ニワトリの水晶体の主要タンパク質である δ （デルタ）-クリスタリンをコードする遺伝子のクローニングに成功したあと、私は、「なぜ δ -クリスタリンの遺伝子は水晶体だけで働くのか？」という問題設定のもとで研究を進めた。遺伝子調節タンパク質とその働きに関する研究を、水晶体を舞台として開始したのである。

4. 水晶体を舞台にして、一步を踏み出す

当時は、動物の遺伝子の発現調節（転写調節）の基本的な機構自体が全く不明な状況であったが、それでも胚発生の遺伝子調節にかかわる重要な課題を問うことができた。クリスタリン遺伝子は確

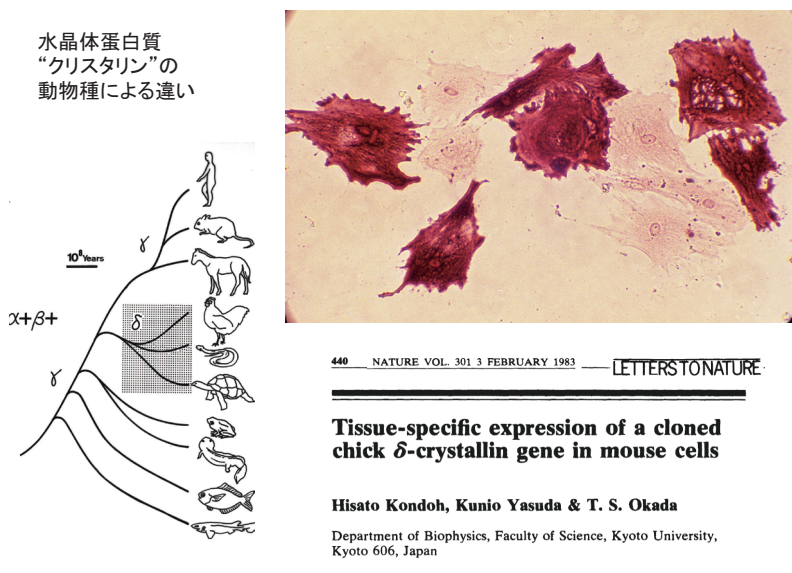


図1 培養されたマウスの水晶体細胞の核に、ニワトリの δ -クリスタリン遺伝子を注入すると、 δ -クリスタリンが大量に合成され、赤く免疫染色された。他の細胞種の核に注入した場合には、このような大量合成は起きない。

かに水晶体だけで働く（発現される、転写される）が、それは（モデル 1）遺伝子ごとに個別の調節がなされている結果なのか、それとも（モデル 2）「水晶体」という状態に対応した遺伝子調節の仕組みがあって、クリスタリン遺伝子は、その仕組みに従って調節される結果として水晶体だけで発現されるのか？という問いである。実は、 δ -クリスタリンは鳥類にはあるがマウスなどの哺乳類にはなく、哺乳類では δ -クリスタリンとは全く異なった γ -クリスタリン（鳥類にはない）が、水晶体の主要タンパク質として合成されている。マウスの様々な組織から採った細胞を培養して、その核の中にニワトリの δ -クリスタリンの遺伝子を導入した場合に、モデル 1 が正しいければ、 δ -クリスタリンの遺伝子は、その遺伝子を持たないマウスの水晶体では働かないだろう。しかしモデル 2 が正しいければ、マウスの細胞であっても、 δ -クリスタリンの遺伝子はやはり水晶体で効率よく働くに違いない。

直径約 5 μm の細胞核の一つ一つに、1 fL (10^{-14} L) ほどの δ -クリスタリン遺伝子の DNA 溶液を微量注入してゆく方法で行った実験は明快な結論をもたらした。モデル 2——つまり水晶体という細胞の状態（分化状態）に対応した遺伝子調節の仕組み

がある——というのが正しい。さらに踏み込んで考えれば、クリスタリン遺伝子を調節する仕組みを明らかにできれば、その仕組みは水晶体という細胞状態を作る仕組みそのものであるだろう。この結論は、1983 年当時としては画期的なもので、Nature 誌に掲載された⁹⁾。（図 1）

この研究結果はまた、クリスタリン遺伝子の DNA 配列のどこかに、水晶体という細胞状態を検知してその遺伝子の働き（転写）を活性化する調節領域があるに違いないことを示していた。当時大学院生であった林茂生氏（現理研 CDB チームリーダー）と共に行った研究によって、 δ -クリスタリン遺伝子の調節領域は、遺伝子内の第 3 イントロンにあり、転写活性化エンハンサーの性質を持ち、水晶体の状態を検知するコア領域と、コア領域の作用を増幅する DNA 領域とから構成されることを示した。

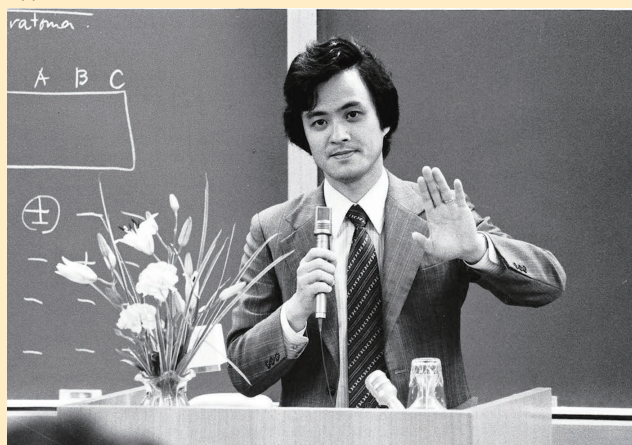
このようにして、岡田節人教授（1985 年に基礎生物学研究所長として転出）、竹市雅俊教授のもとで、助手・助教授として働いた 1988 年までの京都大学時代に、命の誕生を紡ぎ出す転写調節タンパク質（転写因子）を探索する道を切り開くことができた⁹⁾。

挿話 1：その次を考えて研究しよう

δ -クリスタリン遺伝子をマウス細胞の核に注入して δ -クリスタリンの合成を見る実験が成功するまでには、ほぼ 1 年間の足踏みがあった。 δ -クリスタリン遺伝子の全長約 14 kb (14,000 塩基対) が一つのファージベクターにすっぽりと収まっていることがわかったが、ベクターを含めた線状 DNA の全長は 50kb もあって溶液はネバネバと粘度を示して、とてもマイクロインジェクションには使えない。DNA がコンパクトな構造を持つプラスミドベクターに遺伝子全長を再クローニングする（移し換える）必要があった。当時の汎用ベクター pBR322 では、PstI か EcoRI で切り出した DNA 断片しかクローニングできなかったが、 δ -クリスタリン遺伝子には、それらによる切断部位がたくさんあって移し替え作業は難航した。しびれを切らして、精製したファージ粒子を直接核に注入すると、1~2% という低い確率ではあったがマウスの水晶体細胞でニワトリの δ -クリスタリンが合成されていた。しかしその低い頻度では強い結論を導くことはできない。そうしているうちに 1981 年の暮れに新しい制限酵素 XbaI が発売され、制限酵素地図を作ってみると、遺伝子全長が EcoRI-XbaI、XbaI-KpnI の 2 つの DNA 断片として切りだせることが分かったので、pBR322 をベースに EcoRI、KpnI 切断部位を端に持つ DNA をクローニングするベクターを自作し、上記の 2 つの DNA 断片を挿入した。このようにして準備した δ -クリスタリン遺伝子のプラスミドを核に注入する実験を行った時は、すでに 1982 年 5 月の連休に差し掛かっていた。DNA を注入

した翌日に固定し、翌々日までかけて免疫染色した細胞が赤々と染め出されているのを顕微鏡の視野で確認した（図 1）時には、興奮した。一年間の苦勞が報われた！というのではなく、「これで次のステップに進める！」という胸の高まりであった。もちろん、研究には小さなゴールがたくさんあるが、一つのゴールに達してから次を考えるのではなく、その先を読みきってそれらのゴールを通過していくのが良いと思っている。プロの棋士が先を十分に読んで一手を打つように。

この研究は幸いにも注目されることとなり、1983 年にはいろいろの場所で話をする機会が与えられた。挿入写真は、シオノギ製薬の研究所で講演をした時のものである。ヘアスタイルは今とはそんなには変わっていないつもりだが、..



5. ES細胞を新しい tool に

この京都大学時代に、もう一つ重要な研究を開始した。1981年にMartin J Evansがマウスの着床前胚の細胞からES細胞株を樹立したことを発表した。この細胞を着床前の胚に戻すと、正常な体細胞として発生し、できたキメラマウスの様々な組織に分布する。このES細胞をうまく活用すれば、培養皿の中で遺伝子操作を行ったのちにその細胞をマウス個体に戻して、遺伝子操作の効果を分析できるに違いない。

その思いから、1984年にCambridge大学に

Evansを訪ねて第1世代のES細胞の分与を受け、ES細胞を植え付けたばかりの培養フラスコを肌で温めながら空路帰国した。同時期にES細胞研究を始めた相沢慎一氏（前理研CDB副センター長）と共に、日本でのES細胞研究の先鞭を切った。

このES細胞を用いて、大学院生であった高橋淑子さん（現京都大学理学研究科教授）が、ニワトリの δ -クリスタリン遺伝子がマウス胚のすべての組織で、ニワトリ胚と同一の調節を受けることを証明した¹⁰⁾。

挿話2：超一流の胸を借りよう

岡田節人教授は、研究に挑戦を求め、自由を与えるとともに、その豊かな国際人脈（友人関係）をもとに、超一流の研究者を招いて（当時の）若手の成長を助けた。カエルの核移植の研究で発生生物学に革命をもたらしたJohn B Gurdon（ガードン：2012年に山中伸弥教授とともにノーベル賞受賞、英国）、ウズラとニワトリのキメラを駆使して先駆的な研究を展開したNicole M Le Douarin（ルドワラン：1986年京都賞受賞、フランス）、ホメオドメインを発見したショウジョウバエ毛の研究者Walter J Gehring（ゲーリング：2000年京都賞受賞、スイス）などは、ほとんど毎年京都を訪れる常連であった⁷⁾。これらの超一流の研究者たちは、私や大学院生たちに威圧感で接することではなく、胸を開いて議論に応じてくれたが、彼らの発想は研ぎ澄まされているだけでなく広い視野と奥深さがあった。より突っ込んだ議論を仕向けるとそれに応じてより鋭い議論が返ってきて、本気での議論のラリーからは学ぶことも多く、また超一流の研究者のレベルを確かめ流ことができて、私たちの目標となった。挿入写真は、Le Douarinと議論している1987年の私である。

私が学位論文を指導した加藤和人氏は、John Gurdonの奥行きのある発想に魅かれて、彼のもとでポストドク時代を送った。英国は、最初の「試験管ベビー」を生んだ国でもあり、人に関わる生命の諸問題についての議論が偏見を排した形



で深化している。英国の生命科学の深い思想に触れた彼は、その後生命倫理の専門へと転身し、現在は大阪大学医学部教授として活躍している。この話は「転身のすすめ」に続く。

6. 新天地での遺伝子調節研究への邁進

1988年に名古屋大学理学部に出来て間もない分子生物学科（それ以前の分子生物研究施設の改組）の教授に着任した。助教授には、胚発生に重要な働きを持つHox属の遺伝子調節タンパク質を研究していた高橋直樹氏（現東京大学農学研究科教授）を、そして助手にはショウジョウバエでの遺伝子調節研究の経験をもつ東雄二郎氏（前愛知県発達障害研究所部長）を招いて、発生のプロセスでの遺伝子調節に照準を定めた研究を進めた。名古屋大学の研究環境も学生も素晴らしく、良いスタートを切ることができた。

同じ1988年にMario R Capecchiが発表した

ノックアウトマウス作成の論文に刺激を受けて、第2世代のES細胞（遺伝子操作の結果が、生殖細胞を介して子孫に伝わる）をEdinburghのグループから入手するとともに、当時まだ既知のものが少なかった遺伝子調節タンパク質の中からN-mycを選んで、ノックアウトマウスを作製し、その第1報は1991年に発表した¹¹⁾。相賀裕美子さん（現国立遺伝学研究所教授）と相沢慎一氏によるTenascin ノックアウトマウスの成功と同時期で、相沢—近藤の2グループが、日本のES細胞とノックアウトマウス研究の初期10年を支えていた。

ノックアウトマウスを用いた研究が勢いを増すと共に飼育マウス数が増えて、研究室を改造して

作ったマウス飼育室に収まりきれなくなった頃、幸いにも、大阪大学細胞生体工学センターに招かれ（1993年）、余裕ある飼育環境のもとでマウスを用いた研究を発展させることができた。このマウス研究の発展には、抜群の技術力を持っていたスーパー大学院生、下野明彦氏の貢献が大きい。

1993年には、Principal investigatorとして申請していた Human Frontier Science Program の国際チームが採用され、様々な国際共同研究を展開した大阪大学時代の幕が開かれた。

本命の δ -クリスタリン遺伝子の調節タンパク質の全貌を明らかにするまでには、以下に述べるように10年近い歳月を要したが、その間にも(1) N-myc が調節する遺伝子群 Ndrgl-4 の発見と Ndrg タンパク質による細胞内シグナルの調節の研究、(2) DNA の CACCT 配列に結合して、細胞分化・細胞遊走・がんの薬剤耐性などに関わる転写調節

タンパク質群 δ EF1 (Zeb1)・Sip1 (Zeb2) の発見と解析などの研究を実施した。今日特にがんの制御の観点から注目されている Ndrg、Zeb タンパク質の研究の基礎をつくった。

δ -クリスタリン遺伝子からその調節タンパク質を明らかにするのと逆のアプローチも採用した。Hox 調節タンパク質群は、何らかの遺伝子の調節領域に結合して頭から尾の方に向かっての極性をもつ体の形成を調節しているはずだが、実際にはどの遺伝子を調節しているのかは明らかでなかった。HoxC8 が結合しているゲノム DNA を濃縮してきて、その中から HoxC8 が本当に結合して調節する領域を見つけ出した。高橋助教授に協力して完成したこの研究は、遺伝子調節タンパク質の働きを知る新しい方法として、Nature 誌に掲載された¹²⁾。

挿話3：熟す前の超一流をつかもう

2007年のノーベル医学・生理学賞は、ES細胞とノックアウトマウス作製の開拓者3人、Martin Evans、Mario Capecchi、Oliver Smithiesに与えられた。私は3人ともそれ以前から知っており、特にEvansとCapecchiについては、彼らが「熟す」前の時期に身近に交わる機会を得て大いに刺激を受けた。Martin Evansとは、ES細胞を受け取るためにCambridgeを訪れた1984年に初めて会ったが、その時にはすでに、マウス以外の動物種からのES細胞株を樹立することを目指して悪戦苦闘していた。1987年に北京で開かれたAMBO（アジア分子生物学連合）実験コースの講師を務めた際に、彼も講師に招聘した（挿入写真）。実験コースのあと講師一同が京劇に招かれ、中国語は全く理解できないながらもレベルの高い演技と音楽を楽しんだあと、「あれはきっと回想の場面に違いない、その前の急転回りの状況が良かった！」と、彼と同感したことが懐かしい。

Mario Capecchiについては、1990年頃、彼が名古屋での医学系

の学会に招かれていることを知り、当時すでに私たち自作のノックアウトマウスができていたこともあって名古屋大学に招待して講演をしてもらった。それが初対面ではあったが、私は彼の主要な論文のほとんどすべてを読んでおり、また幼少の頃はナチスに追われて渡米したイタリア難民として大変苦労したことも聞いていた。そのこともあって、長時間にわたって歓談した。その時の会話の一つ：“What did you learn from Jim Watson?” “Nothing.” CapecchiはWatson研時代に、大腸菌での蛋白合成がf-Metで始まることや、ナンセンスコドンで新生ポリペプチドがリボソーム



から解離するのが release factor の作用であることを最初に示して名をあげた。その後、酵母、動物細胞と研究材料を変えていったが、培養細胞の核に線状 DNA を注入するとはほぼ 100% が染色体に組み込まれるが、端のない環状 DNA では組み込まれないことを示し、その研究が ES 細胞における相同組換え（ノックアウトマウス作製の第一段階）の研究へと発展していった。

Oliver Smithies は、私の Wisconsin 大学時代には向かいの遺伝学教室の教授であった。グロビン遺伝子をクローニン

グするプロジェクトの推進者の一人であったが、ゲノムの組換えに関する発言が多く、後日の相同組換えのデザインを予期させるものであった。

これらの研究者に見るような、（すでに大家であったとはいえ）超一流になるべき発展途上にある研究者との対話は、お互いに露骨には出さないものの、それぞれの生々しい研究上の苦しみや壁についての実体験がおのずから反映されて、私自らを鼓舞する源となった。また、研究分野の流れやその中の自らの立ち位置を正確に把握する機会でもあった。

7. 遺伝子調節タンパク質 Sox2 との出会い

δ-クリスタリン遺伝子のエンハンサーの塩基配列の中で、「この部分が水晶体の細胞状態に応答する」というコア領域は最終的には 30 塩基対の DC5 配列に絞られ、DC5 領域に 2 種類の異なった遺伝子調節タンパク質が結合すると、このエンハンサーが活性を持ち、そして δ-クリスタリン遺伝子の転写を引き起こす——というところまでは名古屋大学時代に到達していた。

では、それらの遺伝子調節タンパク質はどのようなものだろうか？ 第 1 のタンパク質は、「DC5 配列に結合するタンパク質をコードする、ニワトリの水晶体の cDNA をクローニングする」という直裁な方法によって、当時研究員であった蒲池雄介氏（現高知工科大学教授）が明らかにした。1994 年のことである。蒲池雄介氏はその後、助教・准教授として、大阪大学時代の私の研究の相棒であった。

そのタンパク質の中の DNA に結合する部分は HMG ドメインという特徴的な性質をもち、Sry という哺乳類の性を決定する遺伝子調節タンパク質のものと非常によく似ていた。その少し前の国際学会で Robin Lovell-Badge（英国、現 Crick 研究所）が 1 枚のスライドの中で示していた、あるマウスの遺伝子調節タンパク質に対応するものであることを直感し、彼に連絡を取ってそのことを確認した。彼は、そのタンパク質に Sox2（Sry-related HMG box-2）と命名していたので、私たちのタンパク質はニワトリ版の Sox2 であったことになる。この論文は、1995 年に EMBO Journal 誌に Lovell-Badge を共著者として発表した¹³⁾。遺伝子調節タンパク質がどのように発生過程にかかわるのかを具体的に示した初期の例である。その後 Lovell-Badge と私は、遺伝子調節タンパク質 Sox2 について少し異なった観点から研究を深め、2016 年には 2 人で、Sox2 に関するモノグラフを Academic

Press 社から刊行した¹⁴⁾。（図 2）

また、オーストラリア Brisbane 大学の Peter Koopman と、Sox 調節タンパク質の研究者を集めた国際研究集会で分野をもりあげようと意気投合し、International Sox Research Conference を始めた。2005 年に第 1 回を Brisbane で、第 1 回を 2008 年に私の主催で淡路島の夢舞台国際会議場で開催した。その後、ドイツ、米国、フランスでと毎回開催の場所を変えて、Sox 研究者の結束と情報交換の場となっている。

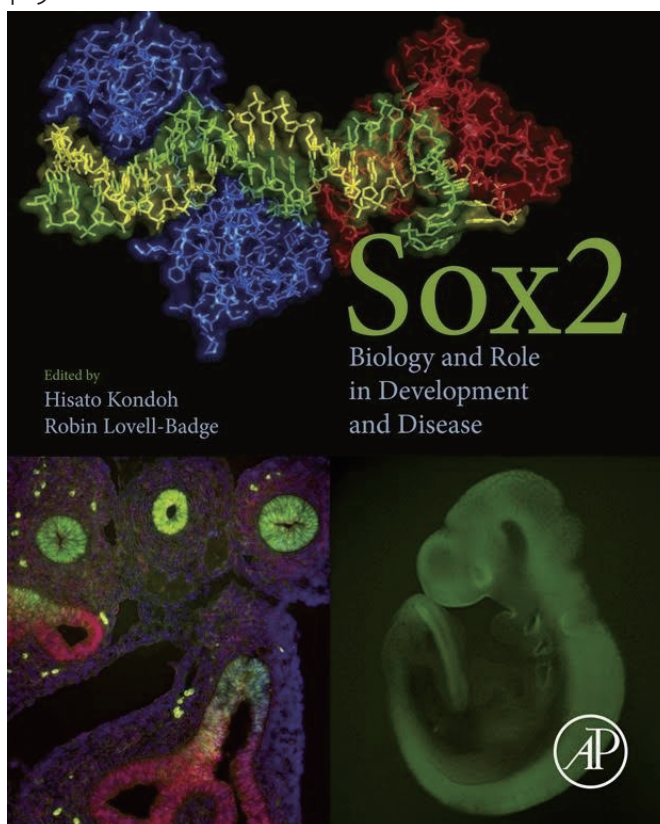


図2 Academic Press 社から 2016 年に刊行した、遺伝子調節因子 Sox2 に関する多面的な研究を集大成したモノグラフ。

8. 2つの遺伝子調節タンパク質がペアを作って複合体として働く

DC5 配列に結合するもう一つの遺伝子調節タンパク質が Pax6 であることを明らかにするまでに、さらに 5 年の歳月を要した。1998 年にすでに、2つの遺伝子調節タンパク質 Sox2 と Pax6 が共存する状態で水晶体が発生するという論文を自ら発表していたにもかかわらず、である。それは DC5 配列の中の Pax6 結合配列が、Pax6 単独で結合する塩基配列とはかけ離れていたからである。DC5 配列は、2つの遺伝子調節タンパク質 Sox2 と Pax6 が複合体を作った時に結合する配列であっ

て、その複合体が結合して初めて δ -クリスタリン遺伝子のエンハンサーは活性を持つ。Sox2 と Pax6 がバラバラに隣接した DNA 配列に結合するだけではその効果はない。また、Sox2 と Pax6 を強制発現すると、通常は水晶体にはならない組織が水晶体になることから、Sox2 と Pax6 が複合体を作って作用することが、水晶体を発生させる基本機構であることも示した。2001 年に *Genes & Development* 誌に発表したこの新しい研究結果は、胚発生に関わる遺伝子調節の研究者の間で大きな反響を呼んだ¹⁵⁾。(図 3)

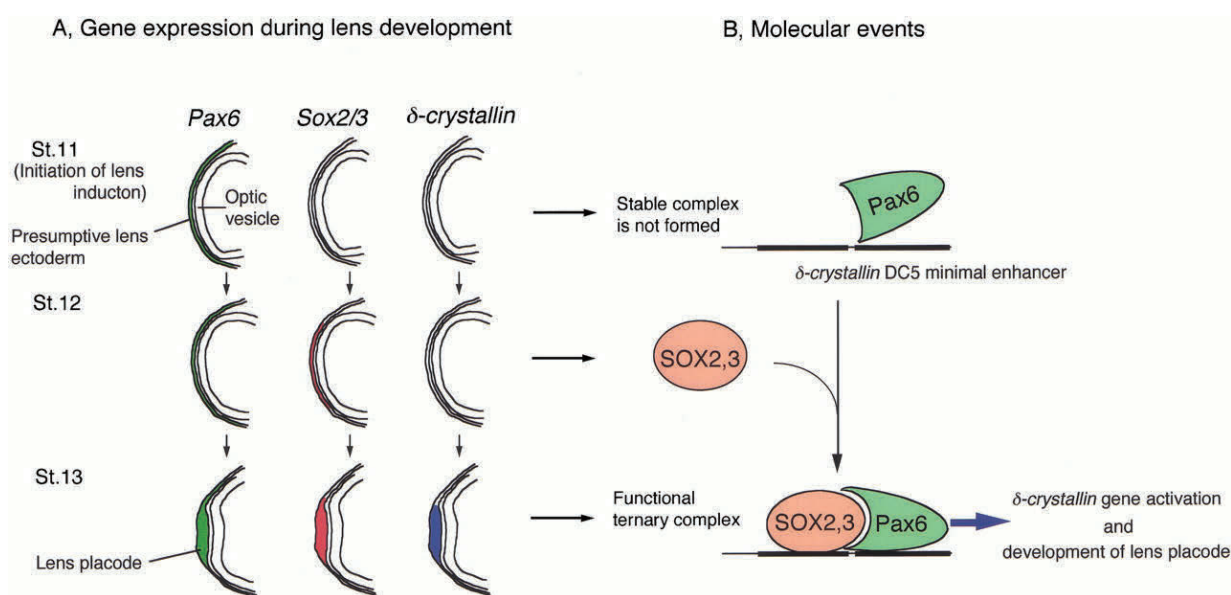


図3 遺伝子調節タンパク質 Pax6 と Sox2 (あるいはそれに近縁の Sox3) が複合体を作ってエンハンサーの DNA 配列に結合して、水晶体の発生を開始 (頭部の外胚葉から分化) させることを説明した図。Kamachi et al. (2001) *Genes Dev.*, 15:1272-1286. より転載。

Sox という名前を持つ、類縁の遺伝子調節タンパク質は 20 種類以上ある。Sox2-Pax6 複合体の作用についての研究をもとにして、当時散発的に発表されていた Sox タンパク質の働きに関する研究結果を再解釈して、(1) Sox 調節タンパク質は単独で働くのではなく、Pax6 のようなパートナータンパク質と複合体を作って作用する。(2) Sox とパ

ートナータンパク質の組み合わせの多様性が、発生のプロセスで多様な細胞種を生み出すための基盤となる機構である——という新しいモデルを提唱した (Sox-partner code model)^{16,17)}。このモデルはその後の様々な研究によって支持され、実証されることになった¹⁸⁾。(図 4)

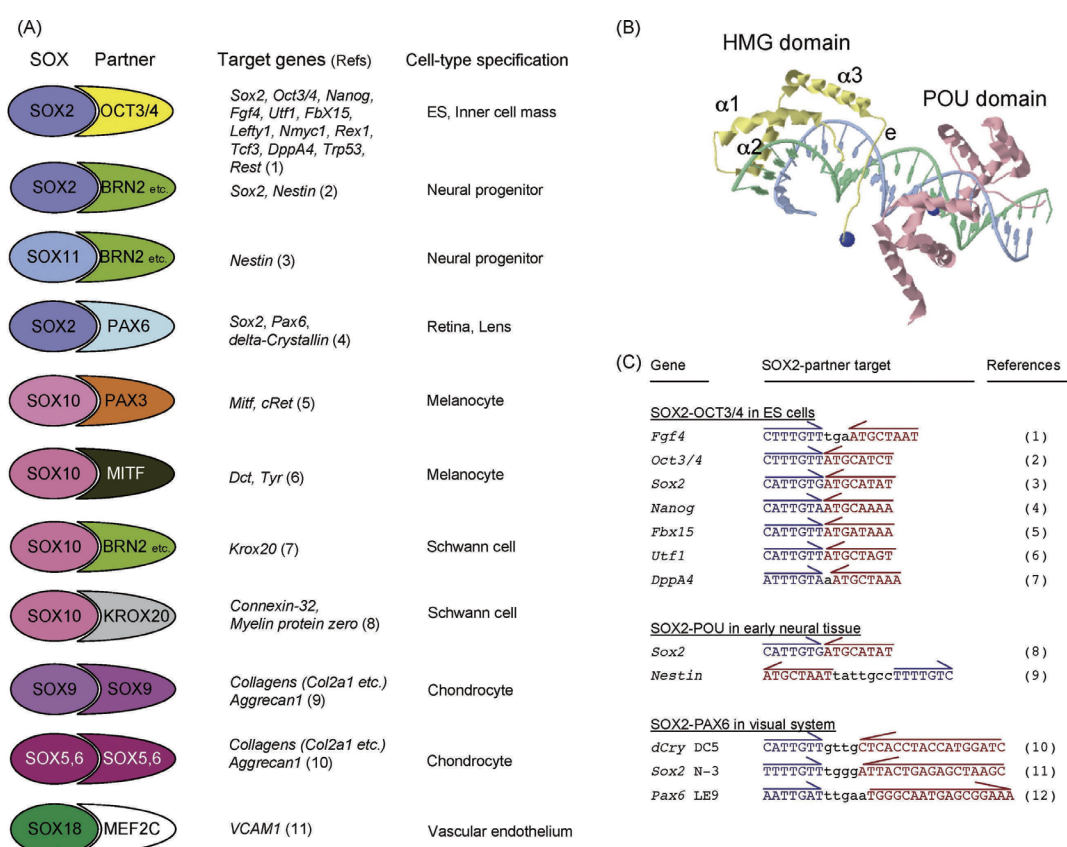


図4 Sox-partner code と細胞の分化状態の関係。(B)は、Sox2 と Oct3/4 が複合体を作る contact 部位の、3次元構造の模式図。Kondoh and Kamachi, (2010) SOX-partner code for cell specification: Regulatory target selection and underlying molecular mechanisms. Int J Biochem Cell Biol. 42(3):391-399より転載。

挿話4：原理の普遍性を目指そう

2001年に、会長が竹市雅俊氏、プログラム委員長が私という主催チームで、国際発生生物学会を京都で開催した。挿入写真は、その Banquet で、Walter Gehring を囲んでいるところである。ショウジョウバエの研究者である Gehring はその前年に「生物の発生機構における種間共通性の発見」によって京都賞を受賞していた。そしてショウジョウバエの Pax6 が当時の彼の研究テーマでもあった。この時の Gehring と私の間の議論で、Sox2 と Pax6 のペアはショウジョウバエで同様に働いているに違いないからそれを試してみようということになり、その共同研究は数年後に実を結んだ。Sox2 と Pax6 の相互作用は、ショウジョウバエの目の発生にも基礎機構として働いていることが証明された。それをさらに敷衍すると、原始的な動物から高等動物に至るまで、Sox2 と Pax6 の相互作用が視覚機能の発生を支配しており、私が手掛かりとしたニワトリδ-クリスタリンの発見は Sox2-Pax6 による数多の視覚系の発生の制御の一端に過ぎない——それ自体私が最初

から想定していた結論である。個々の研究は、ある特定の小さな現象を対象とせざるをえないし、その小さな現象を深く解析しなければなぜその現象が起きるのかを明らかにすることもできない。しかし、その解析を各論で終わらせるのか、その解析結果からある一般性を持った原理を引き出そうとするのかで、研究の方向も価値も大きく違ってくる。



9. 遺伝子調節タンパク質の遺伝子の調節が、発生プロセスの核心に迫る

Sox-partner model によって、発生過程で様々な組織が生み出される原理が示されたとしても、それだけでは胚発生を説明したり理解したりすることにはならない。様々な組織が混じった塊ができて、それは命を持った胚や個体ではない。遺伝子調節タンパク質が胚の細胞の空間配置のなかで、特定のタイミングで、そして胚の中の特定の領域だけでつくられることによって初めて、様々な組織や臓器が機能的なつながりを持った個体が生まれる。その仕組みを明らかにしなければならない。

この考えから、Sox2 遺伝子を調節する DNA 領域（エンハンサー）を、ゲノム上の広い領域にわたって探した。まず、内川昌則助教とともに多数のエンハンサーを迅速に検出するとともに、その特異性（どのタイミングで、どの細胞種・組織で働くか）

を明らかにする新しい方法を開発したうえのことである。Sox2 調節タンパク質を持つ（つまり Sox2 遺伝子を働かせている）組織の最も主要なものは中枢神経系（脳、脊髄）であり、それに水晶体、内耳、嗅覚上皮などの感覚器官の組織が続く。Sox2 という一つの遺伝子だけでも、その働きの ON/OFF を調節する異なったエンハンサーが数 10 もあり、神経系での ON/OFF を調節するエンハンサーの中にも、脳全体、脳の一部、脊髄の一部、という風に、沢山の守備範囲が異なるエンハンサーあることがわかった¹⁹⁾。2003 年のことである。

このようにして見出されたそれぞれのエンハンサーに、どのような調節タンパク質が働くのかを解析するだけでなく、次の新しいアプローチを採った。Sox2 遺伝子のエンハンサーの DNA 配列を一つずつ欠損させた、エンハンサーのノックアウトマウスを作製した。

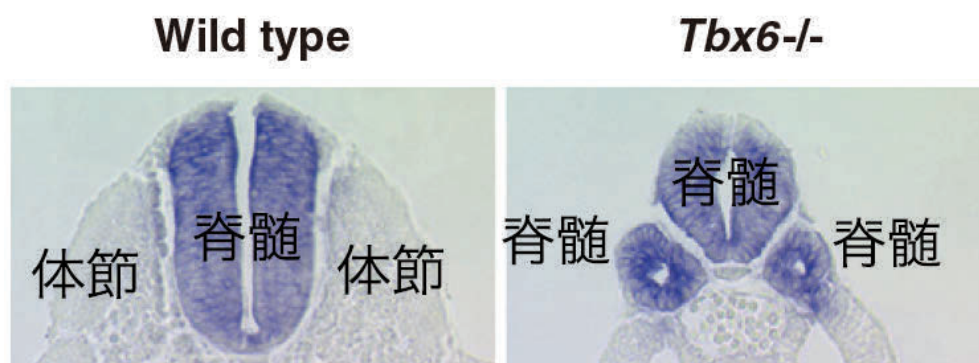


図5 Sox2 遺伝子の調節がうまくいかないと、ある場合(Tbx6 調節タンパク質を持たないマウス)では、筋肉や骨をつくる「体節」ができずに、代わりに余分な一對の脊髄ができる。神経系と筋肉や骨が、共通の前駆体から発生することの反映である。Takemoto et al. (2011). Nature. 470:394-398より。

遺伝子の発現調節から発生のプロセスを解明しようとして始めた私の研究は、この頃から、古典的な発生生物学の教科書的な枠組みを大きく修正せざるを得ない状況になっていった。研究が胚発生のプロセスの核心に至ったということである。例をあげると、古典的なモデルでは「中枢神経系全体が生まれたのちに脳と脊髄にわかれる」とされていたのに対して、実際には脳と脊髄は最初から異なったプロセスで発生する²⁰⁾。古典的なモデルでは「胚組織はまず 3 胚葉に分かれたのちに外胚葉から表皮と神経組織ができ、中胚葉から骨や筋肉が生まれる」とされていたのに対して、脊髄は、実は骨や筋肉と共通の前駆体細胞（Neuro-mesodermal progenitor）から発生するのであり、

3 胚葉説を否定している。2 番目の結論を発表した竹本龍也助教（現徳島大学教授）を筆頭著者とする論文は、2011 年に Nature 誌に掲載された²¹⁾。（図 5）

4 年前に京都産業大学総合生命科学部に着任したのを機に、遺伝子調節タンパク質の働きの研究の延長上にある、生々しい胚発生の問題に直接関わる研究を発展させている。卒業研究の学生たちや大学院生たちとの日々の研究は活気にあふれている。

挿話5：転身のすすめ

大学院まではトレーニングの期間である。特に大学院では研究に没頭する体験をしなければならない。しかし、たまたま出会った大学院までの研究テーマを一生引きずる必要はないし、ましてや大学院で研究をしたからと言って、いわゆる研究者になる必要も必然性もない。人生の道はもっと広く考えて、自己の能力を最大限に活用する道を見出すのが良い。このことは「科学者になる方法」という本の中で語った。John Gurdon の許で研究し、現在は研究倫理の分野で活躍している加藤和人氏についてはすでに紹介したが、好例である。私

が動物の発生の研究を指導した学生の幾人には、「君は植物を使った研究の方が向いているからその方向に変わった方が良い」と積極的に転身を勧めた。その方々は皆、第一線の植物の研究者として名をあげている。大学院で優秀な研究をして、現在は企業マンとして世界を飛び回っている人もいる。

大切なことは、「科学——それはなぜ起きるのかという深い問いかけ」を経験したことがあるかどうかである。科学の経験は目に見えない武器である。その経験はどの業界に入っても底力になる。

10. 奥深い遺伝子調節の問題：相互依存する2つの機構の絡み合い

Sox-partner code model を支持する有力な証拠の一つは、マウス ES 細胞を成立させる機構であった。着床前胚に相当する多能性細胞であるマウスの ES 細胞の中には、Sox2、Oct3/4 という2つの遺伝子調節タンパク質がふんだんに作られているだけでなく、これらの調節タンパク質が複合体を作って、ゲノム中の数万箇所に散在するエンハンサーに結合して、ES 細胞の成立に必要な沢山の遺伝子を働かせている。山中伸弥教授たちは、マウス ES 細胞に似た iPS 細胞を成立させるためには Sox2、Oct3/4、Klf4、Myc の4種の遺伝子を強制発現させる必要があることを示したが、その中に Sox2、Oct3/4 が含まれていたのは必然だといえる。

着床後胚に相当する多能性細胞である、ヒトの ES 細胞やマウスのエピプラスト幹細胞でも、Sox2、Oct3/4 がふんだんに作られているので、これらの細胞でも、Sox2 と Oct3/4 は、ES 細胞におけるのと同様に複合体を作り、同様の遺伝子群を働かせていると（実証することなく）考えられてきた。

私は、マウスのエピプラスト幹細胞で働く遺伝子調節タンパク質がどのようにして、そしてどのような遺伝子を調節しているのかを明らかにする目的で、ChIP-seq 法（クロマチン免疫沈降—配列決定法）という、次世代シーケンサーを用いた方法で、Sox2、Oct3/4 を含む5種類の遺伝子調節タンパク質が、ゲノム上のどの位置に結合しているのかを網羅的に調べた。2つの調節タンパク質が複合体を作っていれば、それらがゲノム上のほとんど同じ位置に結合しているという結果が出る。昨年（2017年）に発表したこの研究は、予想外の結論をもたらした。Sox2 と Oct3/4 が複合体を作り、主要な遺伝子調節機能を果たしているのは、マウスの ES 細胞（つまり着床前胚に相当）に固有のことであって、着床後胚に相当するヒトの ES 細胞やマウスのエピプラスト幹細胞では、Zic2-Otx2 調節タンパク質ペアが作る複合体が主導権を握り、Sox2-Oct3/4 ペアはほとんど複合体を作っていない²¹⁾。この研究結果は、ヒトの ES 細胞に近いヒトの iPS 細胞を樹立するためには、マウス iPS 細胞用の4つの遺伝子の組み合わせは最善ではないだろうといった問題提起をもしている。

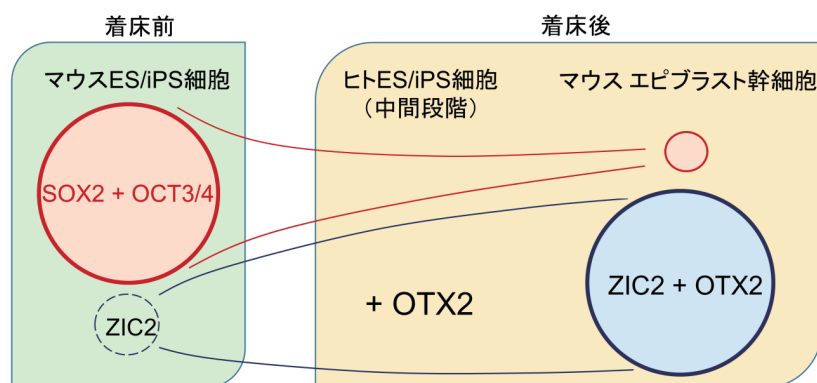


図6 着床前の状態を反映した多能性幹細胞(ES細胞)では、遺伝子調節タンパク質 Sox2 と Oct3/4 が複合体を作って主要な調節機能を果たしているが、着床後胚の状態を反映した多能性幹細胞では、Zic2 と Otx2 の複合体が取って代わる。

一般的な、そしてより重要な問題は、「遺伝子調節タンパク質が発現されているからといって、それらが直ちに複合体ペアをつくるわけではない——それはなぜか？」といである。この研究からはすでにその答えとして、遺伝子調節タンパク質と、ヒストンのメチル化・アセチル化や、DNA の C 塩基のメチル化によるエピジェネティックな効果（塩基配列情報以外の効果）との相互作用が示唆されている。遺伝子調節タンパク質のゲノム DNA への結合とエピジェネティック効果をもたらすさまざまな修飾反応は、相互依存的な関係にあり、特に Zic2 調節タンパク質にはその相互依存の仲立ちをする機能が期待されている。

この発見によって、私は発生のプロセスを進め

る遺伝子調節という研究の出発点に舞い戻った気がしている。この研究を始めた 1979 年に私は、最初に付いた大学院生であった阿形清和氏（現学習院大学教授）と、細胞の分化状態と DNA の C 塩基のメチル化のパターンとの関連を調べていた。

「遺伝子調節タンパク質の作用だけではなく、エピジェネティックな効果もまた遺伝子調節の主役である」という可能性を、あわせて検討していたのである。40 年前の研究ツールでは明快な解答を得ることができなかったが、今日に至って 2 つの機構の相互依存が姿を現した。私が京都産業大学での研究活動のなかで、その相互依存のプロセスを具体的に示すことができれば、私が若い頃に志した峰に到達したことになるのかもしれない。

挿話 6：学会発表は国際「交易」の場

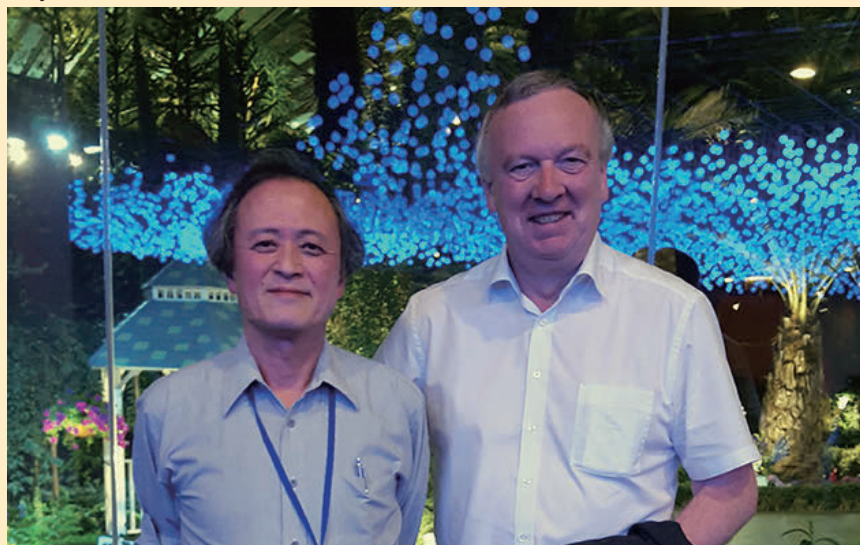
私の国際的な人脈は、ほとんどが学会の場で作られていった。Robin Lovell-Badge, Peter Koopman など Sox タンパク質に関わる多くの研究者との交流は、Mouse Molecular Genetics などの国際学会での出会いから始まった。もう一つの例をあげよう。1997 年に米国 Salt Lake City 郊外で開かれた国際発生生物学会では、遺伝子調節タンパク質 δ EF1 に関するポスターを出していたが、同じ会場の随分離れた場所に、ベルギーのグループが、非常によく似た遺伝子調節タンパク質に Sip1 という名前をつけてポスター発表をしていた。すぐにそのグループの boss である Leuven 大学の Danny Huylebroeck を見つけ出して、昼食をとりながら 3 時間ほど議論をたたかわせた。その結果、この 2 つの遺伝子調節タンパク質は近縁であるが——従って同様な機能を持つことが期待されるが——異なったものであり、したがってセットとして解析することに意味があるので、共同研究をしようということになった。（現在、 δ EF1 と Sip1 は Zeb1, Zeb2 と呼ばれることが多い）。Huylebroeck の研究室から

研究員が大阪大学の私の研究室に 2 年ほど滞在して Sip1 遺伝子のノックアウトマウスを作製し、Sip1 タンパク質が細胞運動に関わる遺伝子を調節していることを示す最初の美しい data を示し、そして日本女性を妻として帰国した。一方私は、Leuven 大学で 2 日間の連続講義をするなど、かなり頻繁に相互訪問して強い連携をもった。20 年を経た今も Huylebroeck との親交は続いている。挿入写真は 2017 年に Singapore で開催された国際発生生物学会での

のである。

国内学会も同じ役割を果たす。2009 年のことだが、それまで面識のなかった Edinburgh 大の Val Wilson から mail と論文の未発表原稿が届いた。その少し前の日本発生生物学会（発表は英語が原則）で私たちがポスターを出していた「体幹部では神経系と筋肉や骨が同じ起源を持つ」という発表を英国からの来訪者が見て、Val Wilson に「君の研究と同じ結論に別のアプローチで到達した発表があった」と伝えたとするのである。彼女の論文は間もなく Developmental Cell に、そして私たちの論文は 2011 年に Nature に発表されたが、私たちには「同志」としての思いがあり、交流はつづいている。

学会は、いわば国際見本市のようなものである。自社製品の最新モデルを展示しながら積極的に buyers を探す、あるいは連携先を探して共同で新製品を開発する契機をつかむ——そのような場である。展示するだけでは価値に乏しい。取引先を探すのに似た積極的な姿勢で、学会を活用すると良いというのが私の経験である。



11. 研究者の社会的な使命

私は研究者という職業に就く力があるのかどうか、最初は全く自信がなかった。何とか研究者としてやっていけるかもしれないと感じたのは大学院で研究を始めて以降のことである。このことは「科学者になる方法」という本の中でも述べている²²⁾。

研究を職とするという幸いに恵まれた以上は、研究者としての社会的な使命を果たさなければならない。私にとっての社会的な使命とは、あえて市井に出て行くということではなく、研究をするものにしかできない活動によって、私が属する社会の文化力を底上げすることである。研究の現場を通しての人材育成や、研究者コミュニティの活性化に日々つとめたい。Peter Koopman と私が立ち上げた International Sox Research Conference もその一環である。最初の世界の研究者への呼びかけでは“Grass-rooted meeting”という表現を使った。

私は、大阪大学細胞生体工学センターのセンター長を4年間務めたが、その期間のうち3年間は、研究組織としての同センターを廃止して、独立研究科「生命機能研究科」を立ち上げることに精力を注いだ。6研究室からなる細胞生体工学センターの研究レベルは十分に突出していたが、次の時代を俯瞰すれば、もっと多様な学流が入り混じった研究組織を作るべきであるし、何よりもその研究の活力の中に多くの大学院生を招き入れて、次世代の人材を育成すべきである。岸本忠三大阪大学総長の同意と後押しを得て、また柳田敏雄教授という分野融合の旗頭を得て、理系全部局と定員捻出の交渉をし、また文部科学省には10回近く足を運んで、そして新しい作業にはつきものの逆風に抗いながら、24研究室からなる生命機能研究科を2002年に発足させた。大阪大学というコミュニティを通じての社会貢献が出来たと思っている。

1998年から、9年間にわたって、JST(科学技術振興機構)によるERATO(戦略的創造研究推進事業)と後継の発展事業のプロジェクトリーダーを務めた。自身の研究室のプロジェクトを拡大して事業を実施されるリーダーが多い中であって、私は別の道を選んだ。私の守備範囲の中で、日本の研究には大きく欠けている研究活動に、私のERATOプロジェクトを投資したいと考えたのである。1つのモデル動物の、発生過程に関わる突然変異体を徹底的に集めて解析することによって、未知であった遺伝子やタンパク質の機能、さらには多様な調節機構を一挙に明らかにすることができる。日本の生物学研究には、大規模の変異体をスクリーニングする研究を実施するという経験が欠けていた。

当時始まろうとしていたメダカ全ゲノム配列決定計画も、多数の変異体が存在して初めて、その価値が生まれる。そこで日本産の優れた実験動物であるメダカを使って大規模変異体スクリーニングを実施した。大阪大学を離れて、鴨川沿いの川端一条下ルにある「近畿地方発明センター」の地下室を改造して6000個の水槽を擁する研究室をつくった。この研究で、多くの新規な変異体が単離され解析されて、多方面の研究に活用された。この研究は日本のメダカ研究を活性化し、そして国際的な注目を集めた。私自身の研究と深く関わる場所では、Yap 遺伝子調節タンパク質のメダカ変異体の研究が、2015年にNatureに掲載された²³⁾。

私が京都産業大学に着任して、この大学の学生が持つ潜在的な能力に感動したことを『実験医学』への寄稿文の中で語ったことがある³⁾。かつて合唱指揮者 吉村信良氏は、京産大グリークラブを率いて、全日本合唱コンクールで9年連続金賞一位となった。学生たちの素晴らしい潜在力を引き出したの偉業であり、私にとっての模範である。私も、本学での研究活動の現場で、学生の潜在力を引き出せるようなコーチでありたいと願っている。

引用文献

- 1) C.H.Waddington (1961) “The nature of life” George Allen & Unwin Limited.
- 2) C.H. ウォディントン (白上謙一、碓井益雄訳) (1964) 『生命の本質』岩波書店
- 3) 近藤寿人 (2015) 「科学の原典をひも解き、知の体系を築く」『実験医学』33 (18):2976-2983.
- 4) Kondoh H, Yanagida M. (1975) Structure of straight flagellar filaments from a mutant of *Escherichia coli*. **J Mol Biol.** 96(4):641-652.
- 5) Kondoh H, Ozeki H. (1976) Deletion and amber mutants of *fla* loci in *Escherichia coli* K-12. **Genetics** 84(3):403-421.
- 6) Kondoh H, Ball CB, Adler J. (1979) Identification of a methyl-accepting chemotaxis protein for the ribose and galactose chemoreceptors of *Escherichia coli*. **Proc Natl Acad Sci U S A.** 76(1):260-264.
- 7) Kondoh H, Nakamura H. (2017) Obituary: Tokindo S. Okada (1927-2017). **Development** 144(10):1737-1739. doi: 10.1242/dev.153270.
- 8) Kondoh H, Yasuda K, Okada TS. (1983) Tissue-specific expression of a cloned chick δ -crystallin gene in mouse cells. **Nature** 301(5899):440-442.

- 9) Hayashi S, Goto K, Kondoh H, et al. (1987) Lens-specific enhancer in the third intron regulates expression of the chicken δ 1-crystallin gene. **Genes Dev.** 1(8):818-828.
- 10) Takahashi Y, Okada TS, Kondoh H, et al. (1988) Embryonic stem cell-mediated transfer and correct regulation of the chicken δ -crystallin gene in developing mouse embryos. **Development** 102(2):259-269.
- 11) Sawai S, Shimono A, Kondoh H, et al. (1991) Embryonic lethality resulting from disruption of both N-myc alleles in mouse zygotes. **New Biol.** 3(9):861-869.
- 12) Tomotsune D, Kondoh H, Takahashi N, et al. (1993) A mouse homologue of the Drosophila tumour-suppressor gene l(2)gl controlled by Hox-C8 in vivo. **Nature** 365(6441):69-72.
- 13) Kamachi Y, Lovell-Badge R, Kondoh H et al. (1995) Involvement of SOX proteins in lens-specific activation of crystallin genes. **EMBO J.** 14(14):3510-3519.
- 14) Kondoh H, Lovell-Badge R (eds) (2016) **"Sox2: Biology and role in development and disease."** Academic Press/Elsevier.
- 15) Kamachi Y, Uchikawa M, Kondoh H et al. (2001) Pax6 and SOX2 form a co-DNA-binding partner complex that regulates initiation of lens development. **Genes Dev.** 15(10):1272-1286.
- 16) Kamachi Y, Uchikawa M, Kondoh H. (2000) Pairing SOX off: with partners in the regulation of embryonic development. **Trends Genet.** 16(4):182-187.
- 17) Kamachi Y, Kondoh H. (2013) Sox proteins: regulators of cell fate specification and differentiation. **Development** 140(20):4129-4144. doi: 10.1242/dev.091793.
- 18) Uchikawa M, Ishida Y, Takemoto T, Kamachi Y, Kondoh H. (2003) Functional analysis of chicken Sox2 enhancers highlights an array of diverse regulatory elements that are conserved in mammals. **Dev Cell.** 4(4):509-519.
- 19) Iwafuchi-Doi M, Tesar PJ, Kondoh H., et al. (2012) Transcriptional regulatory networks in epiblast cells and during anterior neural plate development as modeled in epiblast stem cells. **Development** 139(21):3926-3937. doi: 10.1242/dev.085936.
- 20) Takemoto T, Papaioannou VE, Kondoh H, et al. (2011) Tbx6-dependent Sox2 regulation determines neural or mesodermal fate in axial stem cells. **Nature** 470(7334):394-398. doi: 10.1038/nature09729.
- 21) Matsuda K, Shigenobu S, Kondoh H, et al. (2017) ChIP-seq analysis of genomic binding regions of five major transcription factors highlights a central role for ZIC2 in the mouse epiblast stem cell gene regulatory network. **Development** 144(11):1948-1958. doi: 10.1242/dev.143479.
- 22) 科学技術振興機構プレスルーム編 (2005) **「科学者になる方法」** 東京書籍
- 23) Porazinski S, Kondoh H, Furutani-Seiki M, et al. (2015) YAP is essential for tissue tension to ensure vertebrate 3D body shape. **Nature** 521(7551):217-221. doi: 10.1038/nature14215.