

発生における遺伝子発現制御の研究を準備した日々

鈴木 義 昭

前後8年にわたったカーネギー発生学研究所での研究をきりあげて、1978年新設の細胞分化研究部門に着任したのは、年の瀬も迫る12月1日であった。当時、現在の基生研本館3分の2ブロック分はコンクリートをうち終えたばかりで、まだ木のヤグラのかかったままであった。現在ではあとかたさえも見られない旧愛教大図書館に、基生研と生理研の設立スタッフ達が目白押しにひしめいており、岡田教授の細胞融合部門、我々の部門および3月おくれで着任する予定の中教授の感覚情報部門とで大部屋たった一つを share するという状況であった。卒直なところ、“しまった、帰国が早すぎた”と感じた。幸い、アメリカには、辻本賀英、津田正明の両 postdoctoral fellows が残留して仕事をつづけてくれているのが、せめてもの救いであった。

カタログをひっくり返し、連なって訪れてくる業者にほとんど即決で発注し、入荷した器材を積み上げるだけの日々が4ヶ月。手伝いは、家庭から無給で狩り出した女房一人。Space が上記の如くだったので、“床の上に座ってでも実験する”とわめいた心意気は雲散霧消した。一体これが、研究の質に責任を負うべき教授の仕事であろうか？ここでもった疑問と漠然たる将来への不安は、雑務の内容は変わったが、今日までの経過で不幸にして適中することとなっている。10周年をむかえてこのような状況であり、次の10年を考える時、この点に関しては何の希望もない。一体基生研とは何のためにあって、そのためのベストの方策とシステムをとっていると果して言えるのであろうか。

1979年3月、まがりなりにも本館ができ上り、月末に引越しを挙行了した。ともに事を行なうべき staffs はまだ誰一人いない。次に待ちかまえていたのは、各研究室入口まで配管されているガス、水道が、研究室内に導入されて使用可能になるのは、各部門の希望図面の提出、全館一まとめ分の図面の作製・予算の見積り・入札・発注・工事のステップをふんで、早くても7月頃となるであろうという建築／用度関係者の御高説であった。今まで物理的に研究をさしとめられていた設立期の staffs 面々は、ついに怒り狂った。団交を行なって、とにかく仕上りのなりふりにおかまいなく、各研究部門当たり1本づつの配管工事がとり行なわれたのは4月末であったと記憶する。一方、4月1日、やっと辻本、津田が助手として着任。5月からやっと研究の真似事が開始される運びとなった。

胚発生における遺伝子発現制御の理解を目ざして、2つの解析系を追求することを構想した。

一つは、従来カーネギー発生学研究所で追いつめてきていた、カイコ *Bombyx mori* の絹糸腺細胞中で特異的に発現されるフィブロイン遺伝子転写制御の問題で、制御に責任のある因子の同定を通じて、発生のどの時期に、どの細胞系譜で分子的にどのような準備がされるものなのかを理解しようと試みる。

もう一つは、同じくカイコを材料として、胚の体節構造の形成に責任のあるE群遺伝子の構造と機能の解析である。いわゆるカイコの homeotic genes についての研究系で、日本のカイコ遺伝学者による50年に及ぶ研究の歴史があり、これらの遺伝子群についての多くの変異株が知られている。これらの遺伝子群をクローン化し、これらの遺伝子の発現制御に関与する因子を同定して行くことによって、胚発生の初期に、胚の各部域にどのような物質の勾配分布が成立してこれらの遺伝子の制御が行なわれるのかを解析しようとするものである。一方、これら homeotic genes の産物が、その支配下にどんな遺伝子群をコントロールしていて、各部域の特異的構造の成立に導びいているのかを解析することをも同時に目的としている。

これら2つの系での解析を通じて、胚発生における遺伝子発現制御のネットワークと、各部域の細胞が特殊化して行く姿を分子レベルで理解できることになるう。

1980年7月 Jim Manley et al. らの方法をまねて、HeLa細胞抽出液によるフィブロイン遺伝子その他の無細胞転写に成功した。ひきつづいて翌月、カイコの絹糸腺からの無細胞転写系の確立に成功した。Entomology Congress に出席のため留守をしていたので、私が一番最後に知るはめになった。帰ってきた私を、皆が笑みをこらえてむかえ、“うまく行ったんですよ”と告げた津田の言葉が今も耳に残っている。この成果は M. Tsuda & Y. Suzuki (1981), Cell **27**, 175 として発表し、先の Y. Tsujimoto et al. (1981), Proc. Natl. Acad. Sci. USA **78**, 4838 の paper と共に良いスタートとなった。Tissues からの無細胞転写系としては世界最初の例であり、以来5年にわたって他の追従を許さぬ画期的成果となった。このラインの研究については、1985~1986年が次のエポックに当る。カイコの卵管組織などからも無細胞転写系が確立できることとなって、これらの系を活用してフィブロイン遺伝子の5'上流-238~73の領域に作用する因子の存在が絹糸腺組織に特異的であることを明らかにでき、Y. Suzuki et al. (1986), Proc. Natl. Acad. Sci. USA **83**, 9522 として発表した。期を同じくして、Uehli Schibler らも、ラットの3つの tissues からの無細胞転写系づくりに成功し、アルブミン遺伝子の組織特異的転写の報告を行なった(K. Gorski et al. (1986), Cell **47**, 767)。1986~1987年にかけては、Carl Parker ら、Jim Manley ら、および Bob Tjian らのグループがそれぞれ独立に *Drosophila* の各種 stages の whole embryos からの無細胞転写系づくりに成功しており(いずれも未発表)、今後この面での研究の飛躍的發展が見込まれる。

フィブロイン遺伝子の系については、特記に値するもう一つユニークな展開があった。発現型になった遺伝子(特に哺乳類の遺伝子数種について)は hypomethylation が起っているとの報告が時々見られていた。しかし、いずれも決定的証拠を提出しているわけではない。本当にそうか? その普遍性は? 我々はクローニング操作を使わずに、カイコ組織からあるがままにDNAを抽出し、それからフィブロイン遺伝子を精製し、その5'端前後の各塩基についてメチル化修飾の有無を検討し、結果として、発現型組織から由来しても、非発現型組織から由来しても、転写の制御にかかわりある領域内にメチル修飾が検出されないという決定的証拠を提出することができた。Y. Tsujimoto & Y. Suzuki (1984), Proc. Natl. Acad. Sci. USA **81**, 1644 として発表したものである。

第二の系の展開のためには、細胞および胚の形質転換が重要な手段と考えて、いくつかの努力を行

なって、2, 3の報告として発表した。きわだった成果には結びつけることができなかった。Dave Hogness のグループによって *Drosophila* の bithorax complex の DNA がクローニングされた時、その一部分の配列とのホモロジーによるカイコゲノム中の類似 DNA のクローニングの発想をもち、*Drosophila* のクローンの入手について軽い努力はしたが、直ちには実行せずに終った。2年後の1984年、Walter Gehring らのグループおよび Matthew Scott らのグループによって 180bp からなるホメオボックスの存在と、動物界のゲノム内におけるかなり広い普遍性が報告されることとなった。世間は、その衝激にどよめいたが、私はただ、“ああやはりそうだったのだ” と思い、不決断に終った自分の甘さを反省したにとどまった。結局、すなわちこのラインのアプローチにのせてもらい、1985年暮にカイコの homo box gene のクローンを はじめて得、その性格づけが進行中である (原和二郎・鈴木義昭 (1985・1986), 日本分子生物学会年会)。変異によって、全腹節から腹肢の消えてしまう E^{Ca} locus に密接に関連していると思われるこのクローンは、カイコ胚発生、体節区分が認められはじめるころから転写のおこる遺伝子で、4kb 前後の3種の RNA_s を与え、これら3種の RNA_s は stage とともに比率が変遷することなどが知られている (W. Hara & Y. Suzuki (1987), in preparation)。

この homeotic genes に関連する研究は、発生学の領域における重要な手がかりであることが明らかであるので、現在では世界の進展のあとを追う形であるが粘り強く土俵づくりを行なっている。

現在、最も力を入れているのは、フィブロイン遺伝子の 5' 上流域-238~73に作用する因子の部分精製とその性格づけについてである。蛋白質性と予想するこの因子の cDNA および genomic gene をクローニングし、この制御因子遺伝子自体がどんな制御下に発現されているのかを解析して行きたい。この種の研究の展開によって、発生する胚の各領域での遺伝子発現制御が、どのような物質の準備、蓄積、片よりによって秩序だっているのかを理解して行けるようになるであろうと予想している。このような展開の中では、homeotic genes の発現制御の研究が、これらの研究と一体のものとして扱って行けることになろう。これらの研究の展開がより豊かであるためには、研究所内外の雑務の徹底的軽減化をはかることが重要である。

(細胞分化研究部門教授)