

あかつきの超特急，夜明けの原野をひた走る

平岡 泰

● はじめに

私のサイエンスの原点は学位指導者である柳田充弘教授との出会いにある。遺伝学と構造解析を組み合わせた彼の研究手法は1つの論文に美しく結実していた¹⁾。それは、optical filtration とよばれる手法でバクテリオファージヘッドの蛋白質の配置を決定したものである。バクテリオファージヘッドの電子顕微鏡写真にレーザー光をあてて回折像をつくる。この回折像の中から規則構造を反映するスポットを選択し、その位置に回折像をつくるレーザー光の成分だけを透過させて再結像させると、もとの電子顕微鏡像の中で規則的に配置する構造だけが抽出される。これはコンピュータ画像処理と同様のフーリエ変換をレーザー光の回折を利用して行なう非常にエレガントな手法であった。さらに、特定の蛋白質を欠損するいくつかの突然変異株の構造欠損を解析することによって、どの蛋白質がファージヘッドのどこに配置するかを決定した。

私はこの研究手法に惹かれて、1979年、彼の研究室の門をたたいた。ちょうど分裂酵母の染色体の研究を始めたばかりのころだった。染色体というDNA蛋白質複合体の構造を、ファージヘッドと同様の発想で、網羅的に解析するものと理解し

た。この積み木細工の発想は、今も私の研究の底流となっている。柳田教授は学生のころの私を「あかつきの超特急，夕暮れの鈍行」と称した。研究の初期、答えが見えない段階は猛然と進む。とにかく速いが、答えが見えてくると急に遅くなることを戒めた。しかし、その性分がプロジェクトの黎明期には威力を発揮してきた。夜明け前の原野に道をつていく過程というのは、サイエンスで最も面白い部分である。

● 簡単なことをするためのややこしい装置

1985年、大学院を修了した私は、カリフォルニア大学サンフランシスコ校 (UCSF) の John Sedat のもとでポストドクをすることにした。きっかけは、*Nature* に掲載された1つの論文だった²⁾。それは、コンピュータで焦点制御しながら撮影した顕微鏡画像を積み重ねて3次元画像を再構成するという方法で、ショウジョウバエの多糸染色体が核内でどのような3次元配置をもっているかを解析したものだった。分裂酵母の染色体を蛍光顕微鏡で見ていた私は、核内の構造をもっと詳しく見たいと思っていた。

John Sedat にポストドクの可能性を問い合わせる手紙を書いた。長く

返事がこないで、あきらめかけていたところ、2カ月ほど経って「しばらく中国の山奥にこもっていたので返事ができなかった。いつでも来てくれ」という返事がきた。John は変人であるという噂もあったが、Elizabeth Blackburn が彼を夫にしているくらいだから、まともな人かもしれないという噂もあった。実際に一緒に仕事をするようになってみると、確かに夢想的で、時おり哲学的なことを言って人を煙に巻くことを好んだが、私にはまともな人に見えた。独自の信念と妥協のない技術へのこだわりをもっていた。簡単なことをするためのややこしい装置をつくる、機械いじりの好きな少年のような中年だった。

顕微鏡の技術は天文学からヒントを得たものが多い。John は、天文台にいる友人から着想を得て、David Agard と共同でコンピュータ画像処理に基づく3次元顕微鏡システムの設計を開始したばかりのころだった。John は、多糸染色体を含む唾腺の巨大核(直径30 μ m)で用いた3次元画像技術を、初期胚の二倍体核(直径4 μ m)に拡張しようとしていた。二倍体核で染色体の3次元配置を決定するには、光学顕微鏡の分解能が不十分だった。顕微鏡の3次元画像は非焦点面からのぼけに

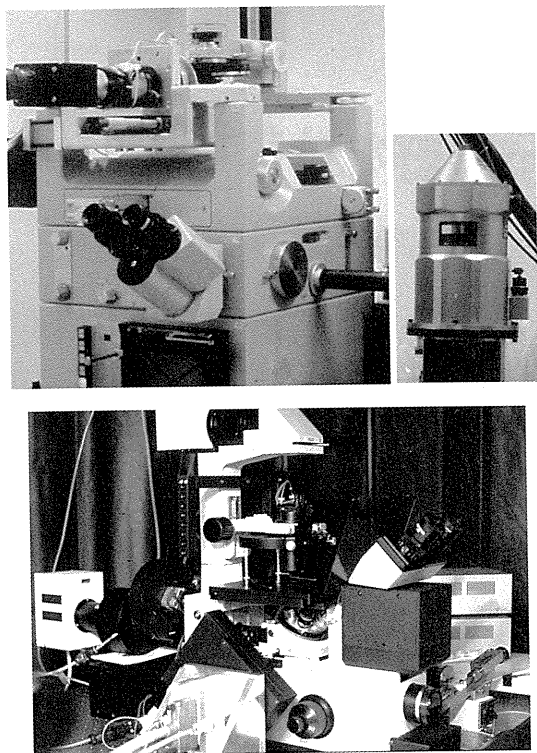


図1 ややこしいことをするための簡単な装置
(上左)1985年にカリフォルニア大学サンフランシスコ校で組まれた3次元蛍光顕微鏡システムの試作1号機。液体窒素冷却のCCD(上右)が顕微鏡の底部ポートに取り付けられた。(下)1992年に通信総合研究所でつくった3次元蛍光顕微鏡システム。カリフォルニア大学サンフランシスコ校でつくった試作3号機と同型。市販のDeltaVisionの原型となった。

よって分解能が低下しており、分解能を上げるためには非焦点ぼけを除く必要があった。彼らはコンピュータ画像処理で非焦点ぼけを除去し、分解能の高い3次元顕微鏡画像を得ようとしていた。Agardは蛋白質のX線結晶構造解析を専門としており、フーリエ変換による画像処理には馴染みがあった。初期の試作機は、一見したところ顕微鏡とは見えない堅牢なもので、顕微鏡はビルの15階の耐震ベンチに固定され、10階のコンピュータ室と光ファイバーで通信するという大掛かりなものだった³⁾。1980年代後半、コンピュータの小型化が急速に進み、顕微鏡の

傍らに設置できるようになった。初めは焦点が制御できるだけのものだったが、やがて多重染色に対応できるように光学フィルターの切り替えを制御するための改造がつけ加えられ、現在DeltaVisionとよばれている市販機の原型が出来上がった(図1)。

Johnから学んだことは、知りたいと思うことのために必要な技術を自分でつくり上げる姿勢である。染色体をもっとよく見たいという一心で、何年も論文が出なくても確信をもって仕事を進めた。人からどう思われようと意に介さず、信念を貫く人だった。あんな大げさで金のかかる顕微鏡をつくって誰が使えるんだという声もあった。

今、DeltaVisionは誰でも簡単にややこしいことができる顕微鏡になった。

● 染色体の動きを支える細胞核の枠組み

コンピュータ制御の3次元蛍光顕微鏡システムが出来上がった。ショウジョウバエ初期胚の核内で染色体の3次元配置を見ることができるようになり、セントロメアとテロメアが規則的な核内配置をもつことがわかった。この時期の胚では、すべての核が胚表層に一層を成して整列するのだが、そのような核の中でセントロメアを常に胚の表層側に向けて染色体が配置していた⁴⁾。核内での

染色体の空間配置が無秩序ではなく、制御されたものであることを感じた。また、相同染色体の核内での配置を調べた。ショウジョウバエ相同染色体が対合していることを示唆する遺伝的な現象が知られていた。しかし、初期胚では相同染色体は互いに離れていた。そこで、相同染色体の配置を胚発生過程と比較した結果、初期胚では離れていた相同染色体が、発生が進むと対合してくるという結果を得た⁵⁾。核内で相同染色体が対をなすためには、染色体が核内を動きながら、相同な染色体を探してペアをつくる必要がある。それがどのような仕組みによるのかということが、私の1つの興味となった。セントロメアやテロメアが規則的な核内配置をもつことが意味があるのではないかと考えた。このような発想が、のちに分裂酵母での研究において、相同染色体の対合過程でのセントロメアとテロメアの核内配置を解析するという分裂酵母での研究につながった。

コンピュータ制御で自動的に連続画像がとれる顕微鏡は、焦点シリーズの画像をとるだけでなく、生きている試料を見れば時間シリーズの画像が得られる。このことから、次には生きているショウジョウバエ初期胚で特定の蛋白質を蛍光画像化するというのを始めた。当時(1980年代後半)、GFPはまだ知られておらず、蛍光蛋白質をつくるには、精製した蛋白質に蛍光色素を反応させ、共有結合で付加していた。このようにつくった蛍光蛋白質を再精製し、マイクロインジェクションで細胞に導入する手間のかかる作業だった。この方法で蛍光ヒストンを用いて、細胞周期での染色体の挙動を追跡し



写真 通信総合研究所で研究室を開いたときのメンバー
左から、近重裕次、原口徳子、筆者、丁大橋。

たところ、染色体の凝縮・脱凝縮が核膜を足場として起こることがわかった⁶⁾。

●。こちら郵政省です、生物学はじめました

John のラボで6年が過ぎようとしていた。その間に、K大とR研から職の話がきたが、私の構想を実現できると思わなかったので断った。私は対等の契約交渉のつもりでいたが、日本の事情は違うようで、断って先方を激怒させては、そのたびに柳田さんが謝罪に走り回ったらしい。平岡は日本に戻る気はないらしいという噂が広がり始め、アメリカ永住権の申請準備を始めた矢先だった。郵政省(当時)の通信総合研究所から1通の手紙が届いた。新しいプロジェクトに参加しないかというものだった。

それは細胞情報の非破壊計測というもので、細胞を生きたままで蛍光観察する顕微鏡装置の開発と生細胞蛍光染色技術の開発を柱にしていた。何の実績も伝統もない郵政省が生物学を始めようとしている。私がやらなければ誰ができるだろうか。郵政省で生物学という意外性が気に入った。意外な組合せが新しい可能

性を開くことを期待した。プロジェクトを引き受けることにした。妻であり共同研究者である原口徳子が言った。「いいんじゃない」。研究所は神戸に建設中だった。私が「まだ床しかない研究所だけど」と言うと、原口が「天井はあるんだろうね」と言った。何もなかったが、屈託もなかった。希望というやつは芽吹くのだから、あとさきも考えずに。

こうして1991年、私たちは通信総合研究所で研究を始めることになった。私が顕微鏡装置の開発を、原口が染色技術の開発を中心に計画を進めた。郵政省の研究所には生物学のバックグラウンドがなく、生物実験設備がまったくなかった。この状況で研究をスタートさせるにあたって、生物材料として、まずは分裂酵母を選んだ。限られた設備で開始でき、比較的短期の成果が期待できる実験系だからである。また、より学問的な理由として、ショウジョウバエで見つけていた相同染色体の対合やセントロメア・テロメアの配置を、シンプルで分子遺伝学の容易な系で解明しようと考えた。体細胞の核内で相同染色体が対合しているかどうかについては両論分かれていたが、減数分裂過程の相同染色体の対合は確実に起こるものなので、減数分裂期の相同染色体の挙動を解析することにした。1992年、近重裕次、丁大橋がメンバーに加わった。

通信総合研究所で得た大きなこと

は学際的な研究環境だった。物理学を主体とするこの研究所では、私たちがふだん意識しないことを問われる。「物理学の究極の問いは宇宙の成り立ちである。それでは生物学の究極の問いは何か」と問われることは、個別の問題にとらわれがちな生物学研究に心地よい刺激を与えた。

●。生細胞蛍光イメージング法の夜明け

ショウジョウバエで始めた生細胞蛍光イメージング法を分裂酵母やヒト培養細胞に拡張しようとしていた。ヒト細胞では蛍光蛋白質のマイクロインジェクションで生細胞多重染色を可能にした。分裂酵母でも蛍光蛋白質を生きている分裂酵母に導入できないかと考えたが、細胞が小さいうに細胞壁があるので、マイクロインジェクションというわけにはいかなかった。リポフェクションや電気パルスのほか、細胞膜の透過性を上げられるさまざまなことを試みたが、高分子の導入はうまくいかなかった。

そこで、低分子の蛍光色素を用いることにした。蛍光色素をDNAに直接結合させて励起するとDNA鎖の切断が起こることが予想されたので、DNAの直接染色を避けたかったが、すぐに使えそうな方法はほかになかった。いくつかのDNA特異的蛍光色素を試した結果、Hoechst 33342が生細胞に適することがわかった。ヒト細胞の場合、Hoechst 33342を培養液に加えるだけで速やかにDNAを染色できたが、分裂酵母の場合は培養液中では染まらなかった。条件を検討した結果、蒸留水中では染まることがわかり、蒸留水中で5分程度染色したのち、培養液

に戻すという方法に落ち着いた。

DNA の染色が可能になると、次は DNA だけでなく、特定の蛋白質を蛍光標識したいと思った、分裂酵母は高分子の導入ができないので、何とか細胞内で蛍光蛋白質を遺伝的にコードできないかと考えていた。そうしているうちに、1994 年に GFP が報告された。その以前から発光する生体分子はいくつか知られていたが、発光にはエネルギーを供与する別の補因子を必要とするため、単独で発現させても蛍光分子として働かない。多くの研究者は GFP もそのような分子の 1 つと考えていた。不覚にも、私もその一人であった。しかし、自分たちが求めていたものを他の者が実現してくれたのだから、ありがたいことだった。これによって私たちの生細胞マルチカラー蛍光顕微鏡装置は、その力を広く発揮できることとなった。1994 年当時、GFP 融合蛋白質の動きを生細胞で連続的に追跡できるラボはそう多くはなかったのである。

●. 動いているんですよ、動いているんです

このようなイメージングの技術開発と並行して、分裂酵母の染色体構築の解析を進めていた。丁が染色体の挙動を追跡するために生細胞観察を担当し、近重が固定細胞で減数分裂期の染色体核内配置の解析を担当していた。

減数分裂前期の細胞核が往復運動をすることを私たちが発見したのは、1993 年 2 月 10 日のことだった。Hoechst 染色で減数分裂期の細胞を見ていた丁が「動いているんですよ、動いているんです」と言いながらオフィスに飛び込んできた。何が動い

ているのかよくわからないまま、皆、顕微鏡室へ向かった。そこで彼女が画面上に示したものは、細長く伸びた核がそよぐようにしなやかに細胞中を行きつ戻りつしている光景だった。それまで固定細胞での観察から、この時期にはさまざまな形の核が見られることが知られていたが、これは動いている核のある一瞬を固定していたということが、生細胞での観察から理解できた。

その驚きがまださめやらぬ 2 日後の 2 月 12 日、今度は核内でセントロメアとテロメアの配置を解析していた近重が「テロメアがスピンドル極体 (SPB) のところにクラスターしているんです」と顕微鏡室から電話してきた。またも皆、顕微鏡室に走った。SPB のところにはセントロメアがあることが予想されていたが、そうではなくテロメアが位置していた。彼は「初めはセントロメアとテロメアの DNA プローブを取り違えたのかと思いました」と言ったが、同じプローブを用いて、体細胞分裂期の細胞では確かに SPB のところにセントロメアが見られることを明確に示した。

2 つの予期しない結果が、相次いで私たちの眼前に現われた。この 2 つの結果を合わせると、分裂酵母の減数分裂前期では SPB が先導する核運動があり、その先端にテロメアがクラスターしていることが想像できた。体細胞分裂期の細胞および減数分裂中の細胞では、SPB にセントロメアがクラスターするので、減数分裂前期にかぎってわざわざテロメアをクラスターさせていることになる。このことが、この時期に特有の相同染色体の対合などの事象にかかわるのではないかと感じさせた。

私たちはこの発見を論文にまとめ、1993 年 12 月、*Science* 誌に投稿した。1994 年 2 月、レフェリーの意見が戻ってきた。審査結果は、高い技術に支えられた新しい発見であり、速やかに掲載するというものだった。1994 年 4 月、論文は *Science* 誌に掲載された⁷⁾。

十分コントロールはとった。間違いはないと確信していた。それでも論文を発表したのちしばらくは、近重が「DNA プローブを取り違えていました」と言って駆け込んでくる夢を見ては夜半に目を覚ました。その後、世界のいろいろなグループが分裂酵母や種々の高等動植物で追試をした結果、同様の結果が確認され、私は悪夢から解放された。これ以後の研究の進展については、私たちの web サイト、<http://www-karc.crl.go.jp/bio/CellMagic/index.html> をご覧いただきたい。

●. サイエンティスト オン ステージ

研究成果がサイエンスのコミュニティから認知されるためには、論文を発表するだけでは不十分である。科学者の顔が見える形で認知してもらうために、直接対話しなければならない。自分たちの研究がコミュニティから認知されるかどうかは、研究活動に大きく影響する。日本で研究することは、その点で不利である。だから、あらゆる機会を利用して、自分たちの研究を世界にアピールしていかなければならない。

1993 年 2 月にテロメアクラスターを発見したのち、私はすぐにテロメア研究の第一人者であるカリフォルニア大学の Elizabeth Blackburn 博士に手紙を書き、非常に興味深い発見をしたことを伝え、面会を申し

込んだ。3月、結果を携えてサンフランシスコへ向かった。私の話を聞いて、博士はその面白さを理解した。翌1994年10月に行なわれるテロメアのバンバリー会議に招待することを、その場で約束してくれた。バンバリー会議は世界から30人の研究者だけを招待して非公開で行なわれる討論会である。

1993年から1994年にかけて、私はいくつかの国際会議に参加し、関係するコミュニティーに私たちの発見を浸透させるよう、積極的に売り込みに努めた。1994年の減数分裂のゴードン会議では、ポスター発表として参加を認められたが、現地で交渉して5分の時間をもらい、飛び入りで口頭発表した。1996年には10分の口頭発表に招待された。1998年以降、毎回招待され30分の枠がもらえるようになった。この5分、10分、30分の発表時間が、私たちがコミュニティーに食い込んでいく過程を象徴的に表わしている。

● もう1つの挑戦

私のラボは女性の比率が高い。女性の比率が高くなると、妊娠・出産に伴う休職や夫の転勤など家庭の都合による退職などが起こる。そのような場合でも、研究の遂行に支障をきたさないように、バックアップ態勢を整えておかなければならない。弾力的に再編可能なチームを組んで、仕事の流れや優先順位に応じて要員の再配置をする。私にも3人の子供がおり、その子供たちの母親もまた科学者である。私たちは、互いの科学者としての活動を犠牲にせず、家族を維持していきたいと願って努力してきた。

今振り返って、この国においては、そのこと自体が1つの挑戦であったように思える。このようなことを挑戦とよばずとも、人並みに努力すれば達成できる社会を次の世代のために整えたいものである。私はことさら女性に肩入れすることはない。男であれ女であれ、個人の能力を有効に活用したいと思うだけである。サイエンスは真理を知りたいと思う精神活動であり、知性と感性の集約である。能力があり努力するかぎり、誇りをもって存分に働ける環境をつくりたい。そのためには、私たちのようなマイノリティーのチームが世界に通用する成果を出していくことが何よりの主張であると信じている。

● おわりに

独創性は模倣から始まる。私は指導者に恵まれ、指導者の影響を屈託なく素直に受け入れることで育てられてきた。いつも研究の初期に巡り合わせてきたことも幸運だった。大学院では分裂酵母の仕事を始めたばかりのときに研究室に参加した。UCSFでは3次元顕微鏡技術の初期開発に従事した。そのような時期に参加すると論文は出ないが、論文にならない得がたい経験ができる。指導者とともに考え、問題を共有する部分が大きかった。サイエンスの考え方の基本を身近で学ぶことができた。自分のラボをスタートするとき、その経験が役に立った。

サイエンスの独創性は、対象の特異性ではなくて、自然観の深さに依存する。同じ風景を描いても、描き手によってどのようにでも表現できるものである。だから、研究の構想

をつくるときに大切なことは、自分が何を知りたいのか、自然に対する問いを明確に意識することである。問いに向かって、必要なら新しい技術を作って困難を排除していく。これが私が学んだサイエンスの考え方である。

◇ 文 献

- 1) Yanagida, M.: *J. Mol. Biol.*, 109, 515-537 (1977)
- 2) Agard, D. A., Sedat, J. W.: *Nature*, 302, 676-681 (1983)
- 3) Hiraoka, Y., Sedat, J. W., Agard, D. A.: *Science*, 238, 36-41 (1987)
- 4) Hiraoka, Y., Agard, D. A., Sedat, J. W.: *J. Cell Biol.*, 111, 2815-2828 (1990)
- 5) Hiraoka, Y., Dernburg, A. F., Parmelee, S. J., Rykowski, M. C., Agard, D. A., Sedat, J. W.: *J. Cell Biol.*, 120, 591-600 (1993)
- 6) Hiraoka, Y., Minden, J. S., Swedlow, J. R., Sedat, J. W., Agard, D. A.: *Nature*, 342, 293-296 (1989)
- 7) Chikashige, Y., Ding, D. Q., Funabiki, H., Haraguchi, T., Mashiko, S., Yanagida, M., Hiraoka, Y.: *Science*, 264, 270-273 (1994)

平岡 泰

略歴：1985年 京都大学大学院修了(理学博士)。1985-1991年 カリフォルニア大学サンフランシスコ校。1991年 通信総合研究所。1996年から大阪大学大学院理学研究科教授(併任)。

9歳で科学者を志す(鉄腕アトムの影響)。そのころ「りぼそむはたんぱくしつのこうじょうです」と細胞の働きを描いた絵本に出会い、現在に至る。刹那的享楽主義楽観的構造学派。好きなもの、カンディンスキーやフジ子・ヘミングが表現する躍動感。でも、私には音楽も美術の才能もなかった。芸術表現の手段としてサイエンスを選んだ。理想とするサイエンスは、より単純にしてより多くのことをより深く説明できること。真実にして美しいものを好む(わが妻を見よ?)。