



東京大学 名誉教授 三品 昌美

[略歴]

- 1947年 滋賀県生まれ
- 1971年 京都大学工学部 卒業
- 1990年 新潟大学脳研究所 教授
- 1993年 東京大学医学部 教授
- 2012年 東京大学 名誉教授
- 2013年 立命館大学 特別招聘研究教授

エピソード記憶

不思議なことが起きた。大学院の終わりの頃で、脂肪酸生合成に関わるアセチル CoA カルボキシラーゼ (ACC) という酵素の精製を終えて学位論文の目処が立ち、少し時間の余裕があったので始めた研究だった。ACC の制御に脂肪酸そのものか活性型の acyl-CoA が関わるのかが問いかけで、上領達之さんが取った脂肪酸活性化酵素 (Acyl-CoA synthetase, ACS) の欠損株の解析だった。野生株では培地に脂肪酸を加えておくと ACC の抑制が起きる。ACS 変異株では抑制が起きていなかった。ほぼ予想通りできれいな結果だった。驚いたのは、変異株が脂肪酸を炭素源として生育したことだった。変異株は脂肪酸を利用できない変異株として単離された筈だった。グルコースを炭素源とする培地で、大村智先生より供与されたセルレニンという脂肪酸生合成を阻害する抗生物質を添加すると酵母は生育できないが、外から脂肪酸を加えると生育できる。セルレニン存在下で脂肪酸を添加しても生育できない変異株として単離された ACS 変異株では、確かに ACS 酵素活性が消失していた。しかし、脂肪酸や石油を炭素源として野生株と遜色ないスピードで生育した。用いていたのは *Candida lipolytica* という石油資化酵母で、石油や脂肪酸はまず活性化型すなわち Acyl-CoA に変換されて利用されていくと考えられていた。ACS 活性を欠いた変異株が石油や脂肪酸を炭素源として生育するのは予想外だった。

謎解きの突破口は脂肪酸組成の解析だった。研究を始めた最初のテーマだったので手慣れた解析だった。石油で生育した酵母は、石油の成分であるアルカンの炭素鎖が奇数と偶数の混合であることを反映して脂質を構成する脂肪酸は奇数と偶数がほぼ半々だっ

た。ところが石油で育てた変異株の脂肪酸組成は、全て偶数であった。変異株では炭素源として加えた石油はそのまま脂質に取り込まれるのではなく、全て一から生合成されたと推定できた。なぜなら、脂肪酸の生合成は炭素数2個ずつの縮合で起きるので偶数になるからである。すると変異株は石油や脂肪酸を炭素源として利用できるが、脂質合成の直接の材料としては利用できないということになる。

本当に ACS 活性はないのか粘ってみた。変異株のマイクロゾーム画分に活性は検出されないが、量をどんどん増やしていくと欲目では活性が出てくるように見える。しかし、バックグラウンドもどんどん大きくなるので、人を説得できるようなデータにはならなかった。持つべきものは友である。保坂公平さんは、実験の合間に抜け出して実習室で卓球をするなどして息抜きをした大学院生仲間であった。互いに実験の話をすることもあり、彼には出せるデータではないが活性がありそうで、不安定な ACC の精製が安定化剤 PEG の添加で進んだ経験を基に、マイクロゾーム画分に活性化因子が隠れている可能性があるとの思いつきを自由に話せた。マイクロゾームの成分である脂質が候補の一つであった。保坂さんは、フォスファティディルコリンの懸濁液を持っているので使ってみると分けてくれた。当たりである。立派な活性を変異株から検出できた。酵母には2種類の ACS があると考えられた。石油資化酵母のマイクロボディを研究していた川本進さんに細胞分画法を習い、ACS I は細胞膜に存在し脂質合成の acyl-CoA を供給し、新たに見出した ACS II は細胞内小器官マイクロボディに局在して脂肪酸分解専門に働き、 β 酸化用の acyl-CoA を供給すると結論し、謎が解けた。生命は合理的に出来ている、研究者としてやって行けるかなと思えた。

活性が出たのは夜中だった。研究室をあげて探していた活性だった。再現性を確認し、活性に必要な因子を確かめ、阻害剤も試して確実だと自信を持った頃には夜明けが近づいていた。アフリカツメガエルの卵の皮剥きとリング液の調製で夜中まで付き合ってくれていたのは、崎村建司さんと森寿くんだった。3人揃ってビールで乾杯をして研究室を後にした時には夜が白々と明けていた。気持ちのいい朝だった。

独立して自分の研究室を持てたら本当にやりたいことを真っ直ぐやろうと覚悟を決めた。運動神経が骨格筋を収縮させる情報を司るアセチルコリン受容体の研究をしていた経験を活かして、末梢から中枢へ進み、脳の高次機能の代表である記憶・学習を分子レベルから明らかにしたいと思った。学習の細胞レベルの基盤としてシナプス可塑性が提唱されていた。その鍵を握るのが NMDA 型のグルタミン酸受容体 (GluR) である。世界中の大きな研究室が狙っていたので、これから立ち上げる新米の研究室のテーマとしては無謀であることは自覚していた。記憶・学習が目標なので個体レベルの解析が重要であり、

遺伝子のクローニングは足がかりに過ぎない、やりたいことをやるのだと自分を納得させた。世界中でまだ誰も NMDA 受容体の遺伝子を手にしていなかったのも、クローニングから始めるしかない。崎村くんらが賛成してくれて実験が始まった。アセチルコリン受容体の実績を信用して集まってくれた若い人たちも巻き込み、いつの間にか、NMDA 受容体が新米研究室の合言葉になった。Stephen Heinemann 博士が単離したラットの AMPA 型 GluR の遺伝子情報を基に、マウスの脳から α (GluA)、 β (GluK1)、 γ (GluK2) と命名した幾つかの遺伝子群を単離し、発現させた受容体の機能から APMPA 型、カイニン酸型 GluR であることがわかった。そこから新たなクローンの単離は非常に難航した。バックグラウンドと見間違ふような弱いシグナルのクローンまで拾い上げて粘りに粘った荒木一朗くんが δ (GluD) を見つけ出した。しかし発現させた受容体から活性は検出出来なかった。それでも δ の発見で勢いが出て、 ϵ (GluN2) が見つけられた。しかしまた活性が出ない。進むしかなかった。最後に見つかった ζ (GluN1) と ϵ を組み合わせると逞しい NMDA 受容体活性を示してくれた。プロGRESSレポートもセミナーも全ての行事を停止し、研究室を挙げて実験に集中し、それでも忘年会だけ研究室に戻れない距離にある瀬波温泉でやり、正月は休むために1週間で論文を書き上げ年末の31日に投稿した。NMDA 受容体の3篇の論文が受理された翌年の夏の研究室の佐渡旅行は開放感に溢れた。

結合しなかった。植村健くんが捕まえてきた有力な3つの候補タンパク質は全て結合活性を示さなかった。3つともシナプス前部に存在する膜タンパク質であり求める条件に当て嵌まっていたので、見つかったと大いに自信があった。諦めきれず、質量分析データのリストを何度も見直しても高いスコアを示す膜タンパク質は他になかった。

探していたのはシナプス後部にある δ 型グルタミン酸受容体の一つ GluD2 のシナプスを繋いで結合するシナプス前部の相手だった。クローニングで見つけてきた GluD2 は発現させても活性が検出されず機能不明だったが、脳の中で小脳プルキニエ細胞のみに mRNA が認められるという特徴があったので、NMDA 受容体を構成する4種類のグルタミン酸結合サブユニット GluN2 の遺伝子ノックアウトマウスを作成した勢いで、ノックアウトマウスを作成した。GluD2 欠損マウスは運動失調を示したので、その重要性が個体レベルの解析で直ちにわかった。解析を進めると、運動学習に重要な小脳シナプス可塑性が消失し、運動学習に障害が見つかった。それだけでなく、小脳プルキニエ細胞と顆粒細胞間のシナプス結合がなくなっており、プルキニエ細胞への登上線維が1対1の関係に成熟せず胎児型の多重支配が残っていた。GluD2 は運動学習とシナプス可塑性ならびに神経回路網形成に重要な分子であることが明らかとなった。さらに研究を進めると、GluD2 のカルボキシル末端がシナプス可塑性に、アミノ末端がシナプス形成に関与しているこ

とが明らかとなった。GluD2 がどのようにしてシナプス形成を誘導するのかという課題が浮き彫りになり、植村さんと李聖真さんが取り組んだ。GluD2 のアミノ末端を結合させたビーズを用いて初代培養小脳顆粒細胞シナプス形成を誘導した後に、クロスリンカーを加えて GluD2 に結合した分子を一網打尽にする unbiased screening に成功した。結合分子の質量分析結果から有力な 3 つの候補が浮かび上がり、喜び勇んで結合活性をテストした結果がネガティブだった。

質量分析データのリストを何度も見直した。はっと気がついたのはセレベリンという分子だった。シナプス前部と後部の膜タンパク質が相互作用してシナプス形成を誘導するというのがドグマだったので、可溶性タンパク質であるセレベリンは除外していたが、何回か行った実験で高いスコアを示していた。3 つの候補分子との結合実験にセレベリンを加えてみた。するとニューレキシンとセレベリンの組み合わせでシナプス形成が見事に誘導された。GluD2 はセレベリンを介してニューレキシンと結合し、3 者複合体がシナプスオーガナイザーとして働くというシナプス形成誘導の新たな様式が明らかになった。思い込みを覆す unbiased screening の威力を実感した。

記したのは 3 つのエピソード記憶である。楽しいことも苦しいことも多かったが、研究は面白かった。