

# 生命化学研究レター

(2020年4月)

**2.** 巻頭言

撓まず励め

京大院工/ERATO 浜地 格

**3.** 新会長挨拶

初心

関西大学 石田 斉

**4.** 研究紹介

**4.** 抗体医薬を代替する低分子の開発  
～都市伝説への挑戦状～

九州大学工学研究院 森 健

**8.** RNA の段階で遺伝情報を書き換える  
～RNA 編集機構の理解と制御～

福岡大学 理学部化学科 福田 将虎

**14.** RNA 化学修飾と精神疾病のつながり

京都大学 高等研究院 物質-細胞統合システム拠点 王 丹

**19.** 論文紹介「気になった論文」

熊本大学 大学院自然科学教育部 工学専攻 博士後期課程1年 嘉村 匠人  
東京大学 大学院理学研究科 化学専攻 特任研究員 河村 玄気

**25.** 留学体験記

香港中文大学留学体験記

～研究室生活とデモ活動の影響 in 香港～

九州大学工学府 博士後期課程2年 本田 竜太郎

**29.** シンポジウム等会告

第14回バイオ関連化学シンポジウム、第8回バイオ関連化学シンポジウム若手フォーラム、生体機能関連化学部会若手の会第32回サマースクール、第57回ペプチド討論会、2020 環太平洋国際会議 (PACIFICHEM2020)、サントリー生命科学研究者支援プログラム

受賞、異動  
編集後記



# 巻頭言

## 撓まず励め

京大院工 / ERATO 浜地 格

『このさきがけでは、自分が目指す骨太の研究の第一歩を築くために、10年から20年先を睨んで、結果を恐れ過ぎずにチャレンジして下さい』。5年前に突然の依頼を断りきれず、“さきがけ（1細胞解析のための基盤技術）”の領域総括を渋々引き受けた。240件ほどの応募者から書類と面接選考を経て選んだ、14名の1期生を前にした最初の領域会議でおこなった挨拶の一部を、今でも覚えている。

30年以上前にJSTで始まった“さきがけ”は、特定のコンセプト（キーワード）で表現される研究領域（哲学）の開拓を目指して、幅広いバックグラウンドを持った若手から中堅の研究者が集い、それぞれの研究の夢や将来を議論しながら切磋琢磨するシステムである。近年、キーワードが矮小化され、囲い込みや短期的な出口を意識した領域設定の弊害が目立つと言われてはいるが、それでも若手研究者にとって希望の持てるfundingシステムだという意図を理解して欲しくて、冒頭の言葉となった。本研究会の馬場さん、津本さんや島本さん、昔馴染みの秋吉さんや野地さんなどのアドバイザーから多大な協力を頂いたおかげもあり、この領域には、多彩なバックグラウンドを持つ若手研究者が集まってくれた。分子や材料を細胞イメージングや培養に展開する研究者をはじめ、個性的な顕微鏡やFACS装置を独自に組み立て細胞やヌクレオソームの観察に挑む者、DNAバーコードを使って微生物バイオームやマウス個体の細胞系譜を読み解こうとする者、線虫からマウスまで生物個体の行動を光制御して細胞間情報ネットワークに挑もうとする者、1細胞から多細胞への発生や分化にモデル計算も使って挑む者などなど。毎回の領域会議はさきがけ研究者間で議論が沸騰し、刺激的で楽しく、そしてとても勉強になった。期待した成果が出ず苦しむ研究者、海外bigラボにアイデアをsweepされ落胆する者、想定以上の発展に嬉々とした発表、不意を衝く質問に新しい展開のヒントをもらい驚く顔、その“熱”は日本の若手研究者も捨てたものではないと思わせるに十分であった。何より彼らの専門領域が重なっておらず、むしろ相補的なのが好循環を呼んだ。実際に、総括やアドバイザーの指導なしに、共同研究が自発的にあちこちで始まって発展し、その新しいネットワークから3件のCREST研究が走り始めている。個人的には、直近10年の雑用(?)の中でもっとも充実感を味わえたのだが、ただ残念なことに化学からの応募が予想より遥かに少なかった。この濃密な時間とチームに、生命化学の若手にもっと参加して欲しかったし、それが総括を引き受けた動機の一つであった。最初は、募集の仕方に工夫が足りないのでは、とあれこれ考え、随分工夫も宣伝もしたつもりだったが。。。

さて、井原編集委員によると本研究会のニュースレターは丁度60号、人と言えば還暦の区切りであるとのこと。再び赤ん坊となるこの研究会にとって、「10年から20年先を見据えたチャレンジ」は何になるのだろうか。私自身は、30年前ぼんやりと考えていた分子夾雑の世界に、今まさに足を踏み入れ、彷徨っている。「撓まず励みたい」と思う2020年が始まった。

# 新会長あいさつ



## 初心

関西大学 化学生命工学部 石田 斉

是非の初心忘るべからず  
時々の初心忘るべからず  
老後の初心忘るべからず

日本化学会の事業年度が3月始まりのため、本研究会も今年2月末に第4期を終え、3月1日より第5期(2020.3～2023.2)が始まりました。この度、佐藤智典会長の後を受けて、新会長に就任することになりました。会員の皆様におかれましては、引き続き変わらずご支援いただけますよう、お願い申し上げます。

月刊誌 化学 2020年1月号にフロンティア生命化学研究会が紹介されました(「新連載 研究会へようこそ! (1)フロンティア生命化学研究会——夢と野心を力に、科学的冒険を!」)。まだご覧になっておられない方は、この機会にぜひお読みいただければと思います。私は時折、研究会はどうして必要なんだろうと思うことがあります。研究会を立ち上げた若い頃は研究や研究生活への様々な問題、悩み—研究テーマ、研究費やポストの獲得など—を抱えており、同じ悩みを共有する仲間と研究会で一緒に活動することにより、助けってもらえたり、アドバイスしてもらえたりするのではないかという期待があったように思います。これらの問題は今も変わらず、世代を越えて共有されていますが、現在の問題はポストの減少や研究費の集中など、さらに複雑化しているように感じます。生命化学研究会が立ち上がった頃は、研究分野にも大きな変化があった時期でした。現在の状況も同様で、生命と化学の融合は益々深化し、複雑化しているように思います。このような状況であるからこそ、研究会には若い世代をサポートして、新しい研究分野、できればそれは日本発信が嬉しいと個人的には思っていますが、を創成する手助けを研究会ができればと願っています。

「初心忘るべからず」と言いますが、元は冒頭の世阿弥の言葉だそうです。「初心」は「はじめの志」という意味だけでなく、その時々の初心があり、歳をとっても、そのたびに乗り越えなければならない「老後の初心」があると教えています。私事ですが、4月から関西大学 化学生命工学部 化学・物質工学科 錯体機能化学研究室に異動しました。世阿弥の言葉のように、これからも初心を忘れず、日々努力していきたいと思っておりますので、研究会だけでなく個人的にもご支援賜ればありがたく存じます。

最後になりましたが、この原稿を執筆している3月末現在、新型コロナウイルス(COVID-19)が世界中を席卷し、猛威をふるっています。国内でもつい最近まで「持ちこたえている」状態でしたが、日ごとに状況は悪化し、クラスター、オーバーシュート、パンデミック、ロックダウンそして緊急事態宣言など、不穏な言葉が飛び交っています。研究会も新型コロナウイルスが収束するまでは活動できないと思いますが、一日でも早い収束を願っています。皆様もご自愛ください。これからもよろしく申し上げます。

研究紹介

抗体医薬を代替する低分子の開発

～都市伝説への挑戦状～

九州大学工学研究院

森 健

(mor.i.takeshi.880@m.kyushu-u.ac.jp)



1. 抗体医薬を代替する分子Fc-ARMの発案

抗体医薬が医薬品の市場を席捲していることはご存知の通りである。ただし、抗体医薬は高価であるため、医療格差を生み出し、また国の財政を圧迫する。もう一つ、抗体医薬の問題は、患者の体内でそれに対する抗体が産生され、効果を減弱・無効化させてしまうことである。ヒト化して抗原性を抑えているとは言え、患者にとって非自己のタンパク質である抗体医薬は、それに対する抗体の産生を誘導してしまう。

もし、抗体医薬が低分子の化合物で置き換えられれば、これらの問題が解決する。抗体医薬の機能として、中和効果に加えて、Fc領域を介したナチュラルキラー(NK)細胞をはじめとする免疫細胞の活性化(エフェクター効果)も重要である。特に、がん治療やリウマチ治療を標的とした抗体医薬では、このエフェクター効果が重要である。Spiegelのグループは、antibody recruiting molecule(ARM)と名付けた低分子化合物により、内在性のIgGをがん細胞に集めて、エフェクター効果を誘導させるという戦略を報告している(1)(図1)。生体内には、病原体に特徴的な糖鎖( $\alpha$ -gal)などに対するIgGが常に存在し、感染に抵抗している。したがって、それらの抗体に対する抗原と標的細胞に対するリガンドを連結した分子(ARM)は、標的細胞を傷害できる。ただし、この方法で利用できる内在性抗体の数には限りがある(全IgGの1%との報告あり)(2)。また、抗体はポリクローナルであると予想され、親和性のばらつきがある。

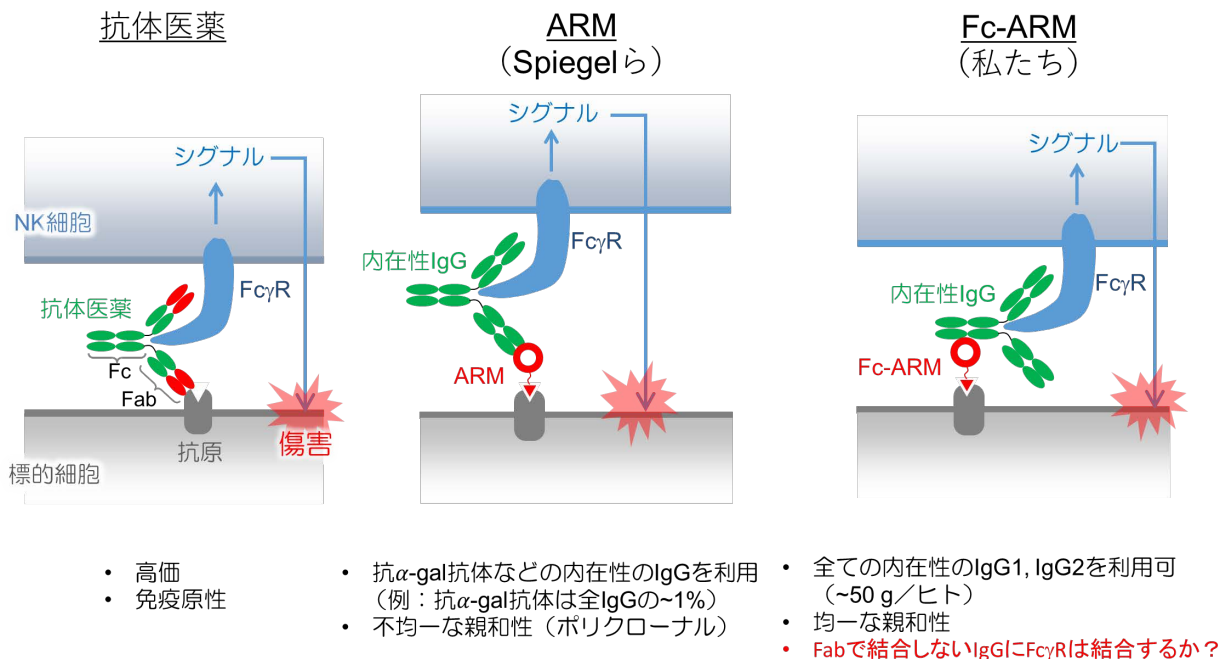


図1. 抗体医薬 vs. ARM vs. Fc-ARM



七年前の2013年、DDS研究者の我々は、ARMのことなど知る由もなく、血清アルブミンへの可逆的な相互作用により、低分子化合物の血中半減期を延長するという研究に血道を上げていた。血清アルブミンに次いで血中濃度が高いのはIgGであり、約50g存在する。そこで、IgGで二匹目のドジョウを狙ってみようと考えた。IgGのFabの構造は千差万別であるが、Fcの構造は同一である。したがって、Fcに相互作用する分子を使って、低分子化合物の血中半減期を伸ばそうと考えた。「その低分子化合物がリガンドである場合、標的細胞にIgGをリクルートできる。これはいわゆるオプソニン化ではないか!？」こうして、Fc-ARMのアイデアが生まれた(図1)。後日、ARMの存在を知ったときには、ヒヤッとしたが、Fc-ARMには、内在性のIgGをFabに関係なく大量に動員でき、また動員する際の親和性が均一であるという二つの大きな利点があった。一方で不安材料もあった。Fcγ受容体にIgGが認識されるためには、IgGがFabによって抗原に結合することが必須ではないかというものである。これは世間的になんとなく信じられていた(3)。しかし、文献調査をしても、この都市伝説を証明した報告は見つからなかった。つまり、Fc-ARMの戦略を否定するものはなかった。そこで、思い切ってこの研究に着手することにした。

## 2. Fc-ARMはむしろADCCを抑制する

Fc-ARMのがん標的リガンドとして、とりあえず合成の容易な葉酸を選び、がん細胞に発現している葉酸受容体(FR)を標的とした。また、Fc結合部としては、ファージディスプレイ法で見出された既報(4)の環状ペプチド(Fc-IIIペプチド)を用いることとした(図2)。運の良いことに、この環状ペプチドが認識するFcの部分は、Fcγ受容体が認識する部位と直交していた。すなわち、図1のように、抗体とFcγ受容体で同時に認識されることが可能であった。

この研究を遂行するためには、当研究室にとって新しい技術を多数導入する必要があった。すなわち、環状ペプチドの合成、NK細胞の入手、抗体の入手、抗体依存性細胞傷害(ADCC)の評価などである。これらの技術は、船本大起君(現九州工業大学)と佐々木光一君の献身により、徐々に整えられていった。環状ペプチドの合成は、佐藤一紀先生(福岡女子大名誉教授)にご指導いただき、船本君により確立された。当初、NK細胞は、実験担

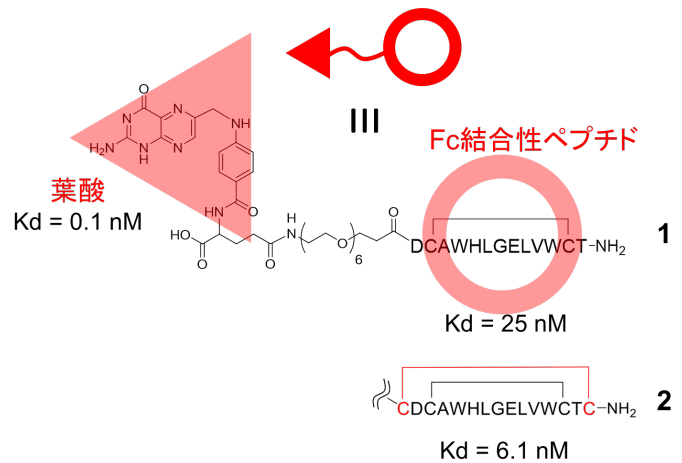


図2. Fc-ARM1(旧型)、Fc-ARM2(新型)

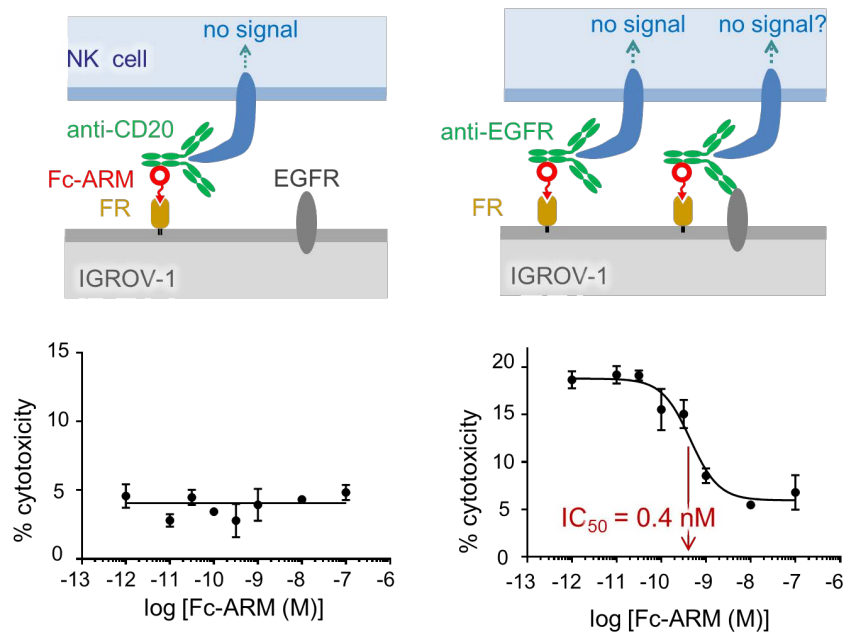


図3. Fc-ARM1はADCCを誘起できず(左)、むしろ抗EGFR抗体のADCCを阻害した。

当の二人の学生と私の血液から採取したものを用いており、ADCCの評価法自体の難しさと相まって、絶望的に結果が安定しなかった。そんなとき、佐々木君の機転により、株化したNK細胞を共同研究者(前がん研究会 三嶋雄二先生)から分けていただけることになった。ようやく2017年のはじめには、ポジティブコントロールの抗EGFR抗体で、ADCCが安定して評価できるようになった。コンセプトの証明を行う準備が整った。しかしながら、徐々に明らかになってきたのは、Fc-ARMはADCCを全く起こさないという悲しい事実と、むしろ抗EGFR抗体のADCCを阻害するという不可解な事実であった(5) (図3)。都市伝説は本当かもしれないと一同、思った。

### 3. 抗体をつなぎとめる持続時間が大事?

なぜADCCが起こらなかったのだろうか。文献(6)によると、T細胞をはじめとする免疫細胞の活性化は、その受容体がリガンドに結合による、受容体細胞内ドメイン(immunoreceptor tyrosine-based activation motif; ITAM配列)のリン酸化がトリガーとなって起こるが、このリン酸化に対して、常に脱リン酸化が競合して起こっており、免疫細胞が誤って活性化しない安全装置になっている。それでも活性化が起こるのは、受容体が閾値以上の時間、リガンドに結合した場合であり、速度論的校正と呼ばれ、T細胞において詳しく調べられていた。NK細胞についても同様であろうと、これを当てはめて考えてみた(図4)。抗体の抗原に対する結合時間 $\tau$ は、一般に十分~数十分のオーダーであるのに対して、Fc-ARMの環状ペプチド部とFcの結合時間は、約一分と桁違いに短い。こんなに短くては、シグナルが入力しないのも当然だろうと思われた。

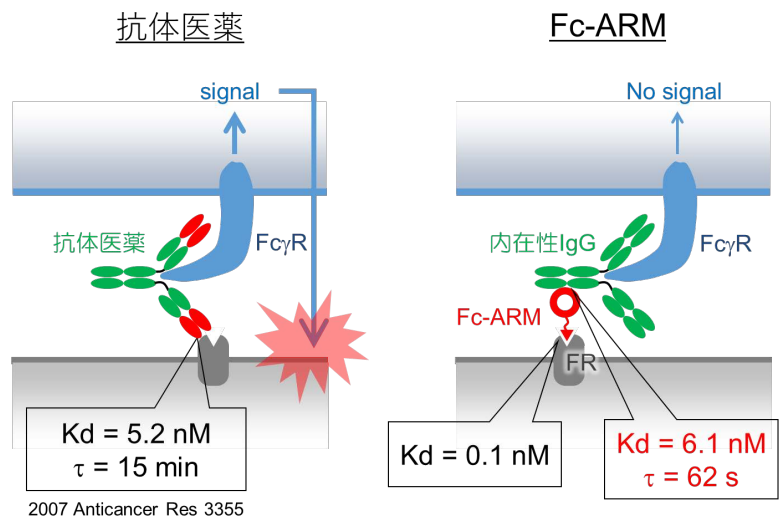


図4. 結合時間の比較

### 4. 大願成就

そこで、結合時間の長い(すなわち結合親和性の高い)Fc-ARMの開発を目指すことになった。抗体並みの結合時間を目指して、劇的に結合時間を延長したいところではあったが、簡単に合成できる分子設計が思いつかず、宮下凱希君(現 シスメックス)の発案により、ちょうどそのころ報告されたFc-IIIペプチドの親和性を向上させたペプチドを用いることにした(7) [図2の化合物2)。ただし、結合時間は大して延長できていない(~100秒程度)ことに、一抹の不安があった。この研究は、アメリカへ短期留学に旅立った佐々木君に代わり、宮下君が担当した。二重のジスルフィド結合を含む新しいペプチドの合成に苦労したが何とか成功した。そしてADCCを評価したところ、なんだかADCCを示しているような結果が得られたではないか!一同、大いに喜んだ。その後、アメリカでパワーアップした佐々木

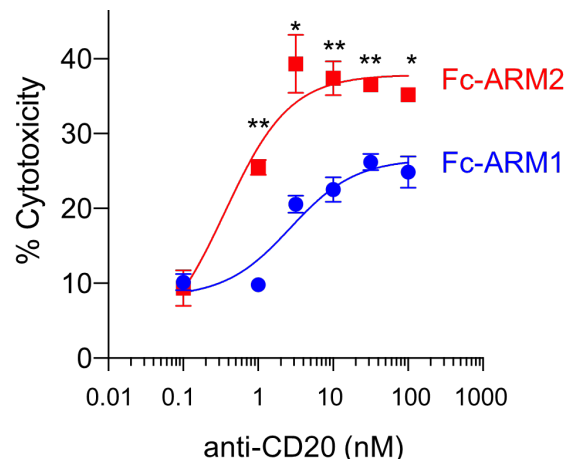


図5. 新旧 Fc-ARM の ADCC 能の比較

君が復帰すると、研究はスピーディーに展開した。まず、インキュベーション時間を延長するという単純な方法で、ADCCがクリアに見えるようになり、新旧のFc-ARMの活性の差が明らかとなった(図5)。つまり、結合時間の仮説を支持する結果が得られた。さらに、動物実験でも腫瘍の縮退が起こることが示された(8)。この実験系は佐々木君が設計したものであるが、マウスの体にヒトのがん細胞を移植し、Fc-ARMによってヒトのIgGをリクルートさせ、マウスのNK細胞で傷害するという奇跡的に成立するものであった(そうでなければ、一匹ウン十万円の遺伝子組み換えマウスを使う必要があり、とてもできなかった)。

一旦、うまくいきはじめると、どんどん面白い結果が出てきた。たとえば、都市伝説を決定的に否定するために、全長IgGではなく、Fcフラグメントを使ってFc-ARMにより、ADCCが誘導できるか試みたところ、なんと全長IgGと同程度に誘導できることが田川寛君によって示された(8)。また、リガンドを葉酸ではなく他の分子に変更してみた。リガンドと標的タンパク質の親和性が低いため、新型ペプチドを使ってもADCCを起こせなかった。そこで、試しにFc $\gamma$ 受容体への親和性が一桁高い脱フコース抗体を用いることにより、ADCCが誘導できることが原田美乃里さんによって示された(論文準備中)。つまり、図6に示す三つの結合点のオーバーオールの実験的安定性が閾値を超えれば、ADCCを起こせることが分かった。

## 5. おわりに

最近、ある種のウイルスがコードするタンパク質の中に、内在性の抗体をFc領域でリクルートする膜タンパク質があることが報告された(9)。ウイルス感染細胞にこのタンパク質が発現すると、Fabに依存せずに内在性のIgGをリクルートし、NK細胞に傷害されてしまう(ウイルスにとっての意義は不明)。これも、Fabに依存した結合が必要ではないという証拠の一つである。

## 6. 謝辞

この研究は、片山教授と議論させていただきながら共同で進めたものである。得られた成果は、ここに記した学生諸氏の努力の賜物であり、深く感謝申し上げます。私はこの研究に関わることができて、とても幸せである。

## 参考文献

- (1) Parker C. G., et al., J. Am. Chem. Soc. 2009, 131, 17090-17092.
- (2) Galili U., et al., J. Exp. Med. 1985, 162, 573-582.
- (3) Woof J. M., et al., Nat. Rev. Immunol. 2004, 4, 1-11.
- (4) DeLano W. L., et al., Science 2000, 287, 1279-1283.
- (5) Sasaki K., et al., MedChemComm 2018, 9, 783-788.
- (6) Lim W.ら, 細胞のシグナル伝達(第一版), 2016, MEDSi.
- (7) Gong Y., et al., Bioconjug. Chem. 2016, 27, 1569-1573.
- (8) Sasaki K., et al., Chem. Sci., 2020, 11, 3208-3214.
- (9) Dai H.-S., et al., Immunity 2017, 47, 159-170.e110.

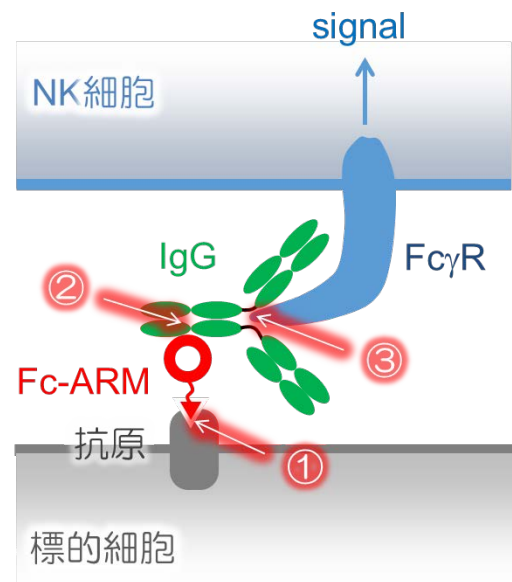


図6. 三つの結合点のオーバーオールの安定性がADCCが起こるかどうかを決める。

研究紹介

RNA の段階で遺伝情報を書き換える

～RNA 編集機構の理解と制御～

福岡大学理学部化学科

福田 将虎

(masatora@fukuoka-u.ac.jp)



1. はじめに

福岡大学でRNA編集に関する研究を始めてから、ちょうど10年が経ちました。学生時代は関西学院大学理学部物理学科を卒業後、京都大学大学院エネルギー科学研究科において森井孝教授の厳しくも温かいご指導のもと、RNA-ペプチド複合体を基盤とした機能性分子の創製に関する研究を行いました。博士号を取得した後、同研究室で博士研究員と特定助教を歴任し、2010年より現所属の福岡大学理学部化学科に異動しました。そこで、RNA編集に出会い新たな研究をスタートしました。高等生物には、RNAの段階で塩基配列を書き換えるRNA編集機構が備わっていることを知り、「何でわざわざそんなことをするのだろう?」と思った時には、既にRNA編集研究の魅力に取り憑かれていました。これまで培った知識と技術を駆使し、RNA編集機構の生理機能や分子メカニズムに大きな興味を持ちつつ研究を行っていた中で、RNA編集機構を利用した遺伝子改変技術(RNA編集技術)の基盤的方法論を開発しました。近年、ゲノム編集を代表とする遺伝子改変技術は、基礎研究のみならず、医療や創薬の分野での応用がますます勢いを増しています。一方でRNA編集技術は、ヒト疾患治療に適した新たな遺伝子改変・制御技術として現在研究が盛んに行われています。本稿では、RNA編集技術を中心に、私達がこれまでに開発したRNA編集核酸について紹介したいと思います。

2. 遺伝子改変技術(ゲノム編集とRNA編集)

近年、生物の生命現象を遺伝情報レベルで制御または改変する方法が、様々な分野で急速に普及し始めています。現在最も注目されている遺伝子改変技術は、CRISPR/Cas9を筆頭とするゲノム編集技術<sup>1(a-e)</sup>です。ゲノムDNAの改変効果は、対象細胞だけでなく、その子孫細胞にまで永続的に

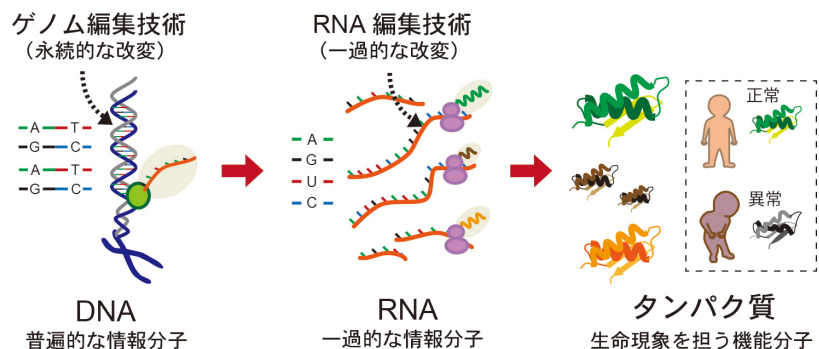


図 1. ゲノム編集と RNA 編集

残すことができるため、農作物の品種改良など、遺伝子組み換え生物の作出に広く利用されていますが、最近では、ヒトの難治性疾患治療に利用するなど医療技術への応用が開始されています。

一方で、生命現象の担い手であるタンパク質が翻訳される時、情報分子として直接使われるのはゲノム情



報が写し取られたRNA (mRNA) 分子です。ゲノムDNAが生体内で恒常的に存在する情報分子であるとするなら、mRNAは合成・分解が繰り返される一過的な情報分子と言えます。RNA情報を書き換える技術、すなわちRNA編集技術は、ゲノム編集技術とは異なり遺伝情報を一時的に改変する遺伝子改変技術になります。つまり、RNA編集とゲノム編集における最も大きな違いは、遺伝情報の改変効果が永続的であるか一過的であるかという点になります。現在、医療・創薬分野におけるゲノム編集の利用は勢力的に進められていますが、オフターゲット編集(意図しない場所が改変される)の影響が大きく問題視されています。ゲノム編集のオフターゲット編集は、技術の原理上、対象細胞に永続的に残り続けてしまいます。一方、RNA編集では、オフターゲット編集が生じた場合でもその編集は一過的になります。そのため、オフターゲット問題を考慮すると、ヒトの疾患治療においては、RNA編集の方がより安全な遺伝子改変技術であると考えられます。このような背景から、近年、ゲノム編集とは異なる、または相補的な遺伝子改変技術として、RNA編集技術の研究が盛んに行われています<sup>2(a-b)</sup>。中でも、RNA修飾の一種であるA-to-I RNA編集機構を基盤としたRNA編集技術が既にいくつか報告されています。以下の項では、生物のRNA編集機構を概説し、その後、私達の研究を含めこれまでに開発されてきたRNA編集技術について紹介します。

### 3. RNA編集機構

細胞内でDNAから転写されたRNAは、スプライシングや様々なRNA修飾を経て、それぞれの機能を発揮していることは良く知られています。そのようなRNAプロセッシングの中でも、RNA塩基の置換、挿入、欠失により塩基配列が書き換えられるRNA修飾は、RNA編集と呼ばれています。ヒト生体内において最も高頻度に行われるRNA編集は、アデノシン(A)が加水的脱アミノ化反応によりイノシン(I)に変換されるA-to-I RNA編集です(図2a)<sup>3</sup>。A-to-I置換が編集と呼ばれる所以は、mRNA上に生じたイノシンがタンパク質翻訳の際にグアノシンとして認識されることに由来します。つまり、A-to-I RNA編集は、RNAの段階で塩基配列情報を書き換えることで、ゲノム情報とは異なるアミノ酸コドンで構成されるタンパク質を発現することができます。A→I(G)変異により変化するコドンは、Ser、Thr、Tyrのタンパク質リン酸化部位を始め、開始・終止コドンやタンパク質の活性中心を担うアミノ酸コドンなどがあるため、A-to-I RNA編集はタンパク質の機能や発現を多様に制御できるポテンシャルを持っています。また、ゲノム解析とトランスクリプトーム解析を組み合わせた大規模editome解析により、ヒト生体内におけるA-to-I RNA編集部位は、これまでにおよそ300万程度同定されており<sup>4</sup>、タンパク質の機能・発現制御のみならず、スプライシングやmiRNAの成熟過程など、多くの生体内プロセスの制御に関与していることが明らかにされています。加えて、RNA編集異常と疾患の関係も指摘されていることから、生体はA-to-I RNA編集を巧みに使って恒常性を維持していると考えられています。

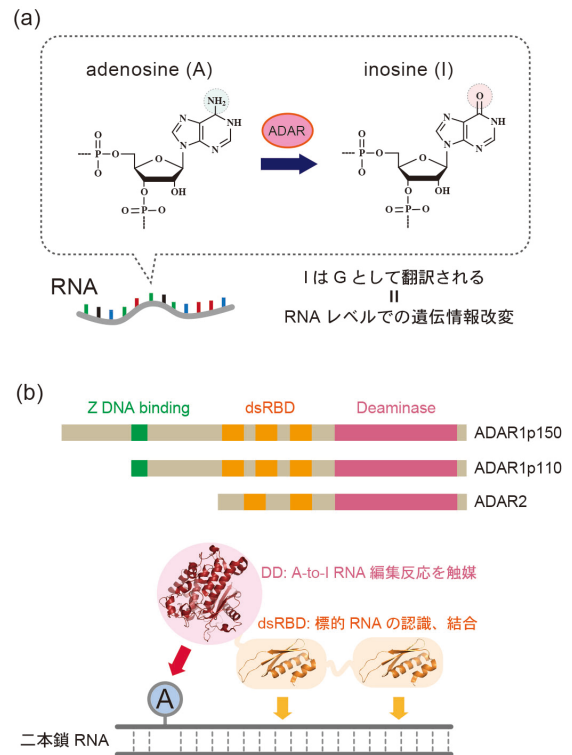


図 2. A-to-I RNA 編集と編集酵素 ADAR

(a) 二本鎖 RNA 中の特定のアデノシンは編集酵素 ADAR により、イノシンに変換される。イノシンは翻訳の際にグアノシンとして認識される。(b) ADAR のドメイン構造と各ドメインの役割。ヒト生体内では、3 種の活性型 ADAR のアイソフォームが同定されている。それぞれの二本鎖 RNA 結合ドメイン(dsRBD)とデアミナーゼドメイン (DD)の共通の構造を持つ。dsRBD は標的 RNA の認識・結合、DD は A-to-I RNA 編集反応を触媒する。



A-to-I RNA 編集の担い手は、RNA 編集酵素である二本鎖 RNA 特異的アデノシンデアミナーゼ (Adenosine Deaminase Acting on RNA: ADAR)であり、ヒトでは3種類の ADAR 遺伝子が同定されています<sup>5</sup>。これまで編集活性が明らかにされているものは、ADAR1遺伝子<sup>6</sup>と ADAR2遺伝子<sup>7</sup>の2種類です(図2b)。また、ADAR1遺伝子からは、インターフェロン誘導型の ADAR1p150と、恒常発現型の ADAR1p110の2種類の ADAR タンパク質が発現します。それぞれの ADAR タンパク質は、触媒活性を担うデアミナーゼドメイン(Deaminase domain: DD)と、複数の二本鎖 RNA 結合ドメイン(double stranded RNA binding domain: dsRBD)で構成されており、それぞれのドメインはリンカーを隔てて分離されています。ADAR タンパク質は、その特徴として主に長い dsRNA 構造中のアデノシンを好んで編集します(図2b)。

#### 4. RNAレベルでの遺伝子改変技術(RNA編集技術)

A-to-I RNA編集の特徴は、①編集酵素ADARが反応を担っており、②イノシンはグアノシンとして翻訳されるため、③生体プロセスの制御が可能である点です。つまり、ADARのA-to-I RNA編集活性を目的部位に誘導することで、汎用性の高いRNA編集技術が構築できます。これまでに開発されたA-to-I RNA編集を利用したRNA編集技術には、大きく分けて2種類の方法があります。一つは、人為的に改変したDDを用いる方法であり、他方は、天然型ADARの編集活性そのものを利用する方法です(図3)。どちらの方法も、DDを標的部位に誘導し目的編集反応を達成する原理であり、標的RNAと相補的な配列領域及び、DDと結合または相互作用する領域を含むガイドRNA(gRNA)を利用しています。これら方法論は、標的RNAと相補的な配列をgRNAに導入するだけで標的部位にDDを誘導できるため、単純な配列設計で任意の部位にA-to-I RNA編集を誘導することができます。以下に、RNA編集技術の具体例を紹介します。

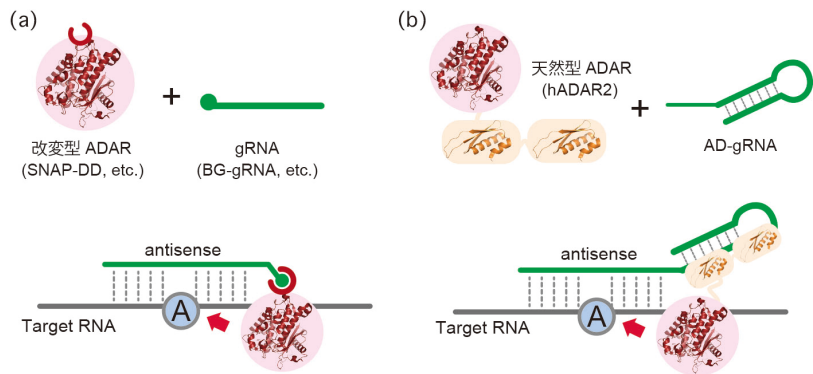


図 3. RNA 編集技術の原理

(a) 改変型 ADAR を利用した RNA 編集技術。(b) 天然型 ADAR を利用した RNA 編集技術。

利用したRNA編集技術には、大きく分けて2種類の方法があります。一つは、人為的に改変したDDを用いる方法であり、他方は、天然型ADARの編集活性そのものを利用する方法です(図3)。どちらの方法も、DDを標的部位に誘導し目的編集反応を達成する原理であり、標的RNAと相補的な配列領域及び、DDと結合または相互作用する領域を含むガイドRNA(gRNA)を利用しています。これら方法論は、標的RNAと相補的な配列をgRNAに導入するだけで標的部位にDDを誘導できるため、単純な配列設計で任意の部位にA-to-I RNA編集を誘導することができます。以下に、RNA編集技術の具体例を紹介します。

##### 4-1. 改変型ADARタンパク質を利用したRNA編集技術

まずは改変型ADARタンパク質を用いる方法について紹介します。この方法では、gRNAにプログラムした目的部位にA-to-I RNA編集を誘導できるように、改変型DDとgRNAを共有結合で連結または非共有的な相互作用により複合体を形成させます。始めに報告されたのは、2012年にStafforstらが開発した、DDにSNAP-tagを融合したSNAP-DDと、gRNAの末端にベンジルグアニン(BG)を化学的に付加したBG-gRNAを用いる方法です<sup>8</sup>。SNAP-DDとBG-gRNAの共有結合複合体は、gRNAにプログラムした標的部位に高効率なRNA編集を誘導し、さらに、ヒト培養細胞や環形動物(*P. dumerilii*)内における合目的なRNA編集にも成功しています<sup>9(a-b)</sup>。次の例は、DDとgRNAを非共有結合で複合体を形成させる方法です。2013年にRosenthalらは、DDにλ Nペプチドを、gRNAにはboxB RNA配列を付加した分子を用い、RNA-ペプチド相互作用モチーフ<sup>10(a-b)</sup>を利用してDD-gRNA複合体を形成させる方法を開発しました<sup>11</sup>。この方法も培養細胞内における標的RNA編集が可能であることが示されています。上述の共有結合複合体の技術との違いは、天然型の核酸のみでgRNAを構築できるため(化学修飾が必要ないため)、プラスミドまたはウ

イルスを利用してgRNAを細胞内で発現できる点です。また同様に、MS2システムを用いたRNA編集技術も開発されています<sup>12</sup>。さらに2017年には、Zhangらの研究グループにより、CRISPR/Casシステムを巧みに利用したRNA編集技術が開発されました<sup>13</sup>。この方法は、RNA Editing for Programmable A to I Replacement (REPAIR)と名付けられています。また、オフターゲット編集の低減及び、ウイルスデリバリーへの適用性を配慮した改良型Casタンパク質の構築を始め、改変型ADARを用いたRNA編集技術の開発が現在も盛んに行われています<sup>13</sup>。

#### 4-2. 天然型ADARタンパク質を利用する方法

ADARは多くの細胞種においてもその発現が確認されており、ヒト生体内では絶えずA-to-I RNA編集が行われています<sup>4,14</sup>。従って、生体内のADARの編集活性を目的部位に誘導することができれば、改変型ADARタンパク質を必要としないRNA編集技術が構築できます。私達の研究グループでは、生物のA-to-I RNA編集機構を利用した部位特異的RNA変異導入技術の開発を目的とし、これまでに天然型ヒトADAR2 (hADAR2)の編集活性を標的部位に誘導するガイドRNA (編集ガイドRNA: AD-gRNA)を構築しました<sup>15</sup>。以下に、AD-gRNAの設計原理と機能について紹介します。hADAR2の基質RNAであるGluR2 pre-mRNAの編集部位 (R/G部位) 周辺は、ミスマッチを含むステム-ループ構造を形成しています (図5a)。GluR2 RNAとdsRBDの複合体の構造解析の結果より<sup>16</sup>、hADAR2がR/G部位を編集する際、dsRBDは図のように結合すると予想できます (図5a)。ここでGluR2 RNAをR/G部位とdsRBD結合領域の間で分割すると、編集部位を含むフラグメント1と、dsRBD結合領域とフラグメント1と相補的な配列を有するフラグメント2が得られます (図5b)。これらのフラグメントは、互いに相補的な配列領域が塩基対を形成した場合、編集基質構造が再構築されると予想できます。つまり、フラグメント1を標的RNAとすることで、フラグメント2は、標的RNAと相補的な配列領域 (アンチセンス領域) 及び、hADAR2と親和性を有する配列領域 (ADAR誘導領域) で構成されるAD-gRNAが得られます (図5c)。上記設計に従って構築したAD-gRNAは、アンチセンス領域の配列で設定した標的部位にhADAR2の編集活性を高効率に誘導しました。また、アンチセンス領域をADAR誘導領域の3'側から5'側に変更することで、編集誘導特性の異なるAD-gRNAが構築できることを明らかにしています。さらに、hADAR2発現細胞内でもAD-gRNAは目的機能を示すこと (図6a-c) 及び、AD-gRNAによるRNA編集誘導が標的遺伝子の機

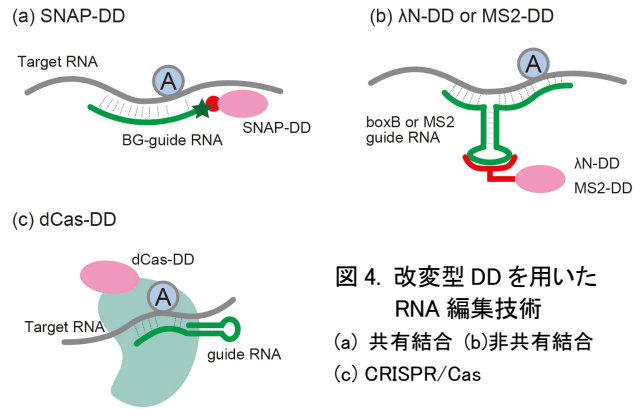


図 4. 改変型 DD を用いた RNA 編集技術  
(a) 共有結合 (b) 非共有結合  
(c) CRISPR/Cas

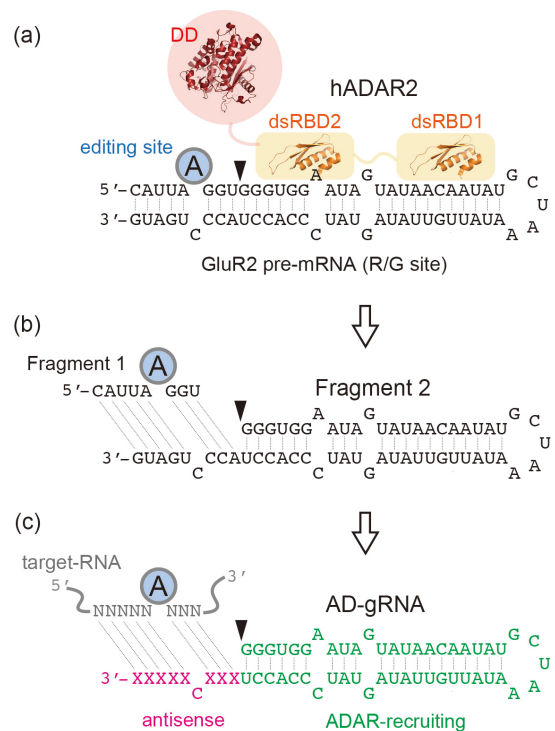


図 5. AD-gRNA の設計方法

(a) hADAR2 が GluR2 pre-mRNA の R/G 部位を編集する際の複合体予測図。R/G 部位は青丸で示す。(b) GluR2 RNA を R/G 部位と dsRBD 結合領域の間で分割して得られるフラグメント。分断位置を黒三角で示す。(c) フラグメント 1 を標的 RNA、フラグメント 2 を AD-gRNA として考えることができる。本設計で得られる AD-gRNA はアンチセンス領域と ADAR 誘導領域で構成される。

能発現を制御できることを編集レポーターRNAを用いた実験により実証しました(図6d-e)。以上の研究から、RNA編集機構を利用したRNA変異導入技術の基盤的方法論を示しました<sup>15</sup>。AD-gRNAを含め、天然型ADARのRNA編集活性を誘導する核酸は、「RNA編集核酸」として核酸医薬品等への応用が期待されています<sup>17</sup>。

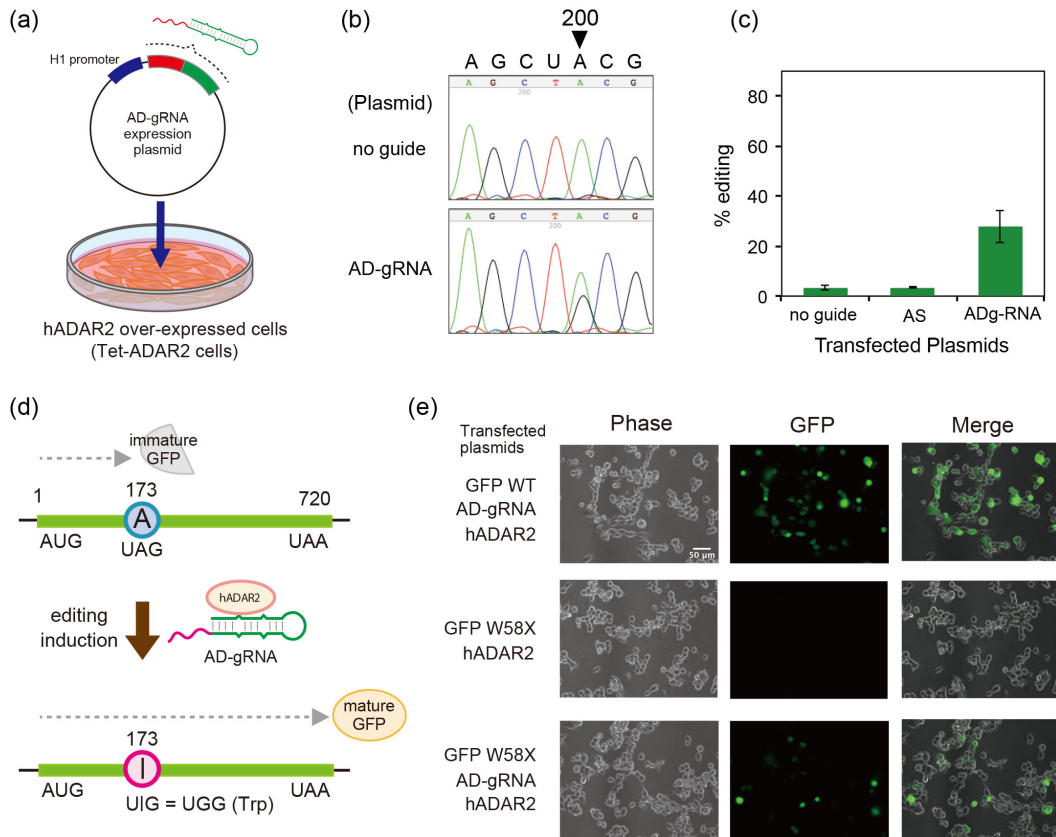


図 6. AD-gRNA を基盤とした RNA 編集技術

(a) AD-gRNA の培養細胞内における標的 RNA 編集実験の模式図。Tet-ADAR2 cells は、hADAR2 の発現を Tet-on システムで制御できる遺伝子を組み込んだ HEK293 細胞。hADAR2 を発現誘導した際、同時に GFP も発現する。GFP mRNA の A200 を標的とする AD-gRNA を設計し、プラスミドにより細胞内で発現させた。(b) Tet-ADAR2 細胞から抽出した GFP mRNA の編集解析結果。ダイレクトシーケンシングにより得られたクロマトチャート(上段: 編集ガイド RNA 発現なし(no guide)、下段: 編集ガイド RNA 発現あり(AD-gRNA))。(c) クロマトチャートの A/G ピーク高の比(G/(A+G))から算出した A200 における編集割合。AS は、AD-gRNA の antisense 領域のみを発現させた場合の編集割合。(d) AD-gRNA による標的遺伝子機能発現制御実験の概略図。蛍光レポーター(GFP\_W58X)は、GFP の翻訳領域中に終止コドン(UAG)が挿入されており、編集誘導により UAG (stop) コドンが UIG (Trp)コドンに変換された場合にのみ成熟型 GFP を発現する。(e) GFP\_W58X(または GFP\_WT:野生型 GFP)、hADAR2、AD-gRNA 発現プラスミドを HEK293 細胞に形質導入した時の蛍光顕微鏡観察の結果。上段:コントロール実験(GFP\_WT を発現)。中段: AD-gRNA の発現なし(蛍光を発する細胞は観測されない)。下段: AD-gRNA を発現(アンバーコドンの編集により GFP が発現。蛍光を発する細胞が観測される)。

## 5. おわりに

本稿では、現在までに報告されているRNA編集技術、特にA-to-I RNA編集を原理とするRNA変異導入技術について紹介しました。永続的に遺伝情報を書き換えるゲノム編集技術とは対照的に、RNA編集技術は一過的な遺伝情報の改変効果が得られます。その特徴から、持続的な改変効果を得るためには、gRNAを絶えず供給し続けなければなりません。一方でゲノムDNA編集に付随するオフターゲットリスクの問題を大きく緩和できます。この特徴から、RNA編集技術はゲノム編集技術とは相補的な関係になる遺伝子改変技術であると言えます。また、今回紹介したRNA編集技術は、基盤的原理の有用性は既に実証されており、RNA編集を基盤とする新たな疾患治療・緩和アプローチを開発する上で重要なプラットフォーム技術になると期待できます。しかしながら、今後実用化に向けて応用展開していくためには、編集誘導効

率や編集選択性など、技術の更なる改善が必要です。近年、化学修飾核酸を導入したガイドRNAやRNA編集核酸を用いた改良型のRNA編集技術が開発されています<sup>18(a-b)</sup>。このような現状から、RNA編集を薬効原理とする新しい核酸医薬品が誕生するのはそう遠くはないかもしれません。このような期待に胸を膨らませつつ、今後も日々楽しく一生懸命に研究を行なっていきたいと思っています。RNA編集技術は、ようやく基礎技術が開発され、応用研究が開始したばかりです。それ故に、RNAレベルでの人為的な遺伝情報改変が、細胞もしくは生体にどれくらいの影響を与えるのかについての実験的な証拠はほとんどありません。今後、様々なライフサイエンス研究にRNA編集技術が広く用いられ、多くの実験データが得られれば、生体内RNA編集機構そしてRNA情報の更なる意義が見えてくるのではないかと期待しています。今後もRNA編集研究に対する興味は益々大きくなるばかりです。

## 謝辞

本研究は、福岡大学理学部化学科機能生物化学研究室で実施したものです。大学院生の野瀬可那子さんをはじめとする研究室メンバーのご協力に深く感謝いたします。また、執筆の機会を与えて下さった、熊本大学大学院先端化学研究部の井原敏博教授に御礼申し上げます。

## 参考文献

1. (a) Jinek, M. et al., *Science* 2012, **337**, 816. (b) Ran, F. A. et al., *Nat Protoc* 2013, **8**, 2281. (c) Kim, Y. G. et al., *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996, **9**, 1156. (d) Porteus, M. H. et al., *Nat Biotechnol* 2005, **23**, 967. (e) Zhang, F. et al., *Nat Biotechnol* 2011, **29**, 149.
2. (a) Montiel-Gonzalez, MF. et al., *Methods* 2019, **156**, 16-24. (b) Aquino-Jarquín, G. *Mol Ther Nucleic Acids* 2020, **19**, 1065.
3. Bass, BL., *Annu Rev Biochem* 2002, **71**, 817.
4. Picardi, E. et al., *Sci Rep* 2015, **5**, 14941.
5. Nishikura, K., *Annu Rev Biochem* 2010, **79**, 321.
6. Kim, U. et al., *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994, **91**, 11457.
7. Melcher, T. et al., *Nature* 1996, **379**, 460.
8. Stafforst, T. et al., *Angew Chem Int Ed Engl* 2012, **51**, 11166.
9. (a) Hanswillemenke, A. et al., *J Am Chem Soc* 2015, **137**, 158751. (b) Vogel, P. et al., *Nat Methods* 2018, **15**, 535–8.
10. (a) Chattopadhyay, S. et al., *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995, **92**, 4061. (b) Austin, RJ. et al., *J Am Chem Soc* 2002, **124**, 10966.
11. Montiel-Gonzalez, MF. et al., *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013, **110**, 18285.
12. Azad, MTA. et al., *Gene Ther* 2017, **24**, 779.
13. Cox, DBT. et al., *Science* 2017, **358**, 1019.
14. Tan, MH. et al., *Nature* 2017, **550**, 249.
15. Fukuda, M. et al., *Sci Rep* 2017, **7**, 41478.
16. Stefl, R. et al. *Cell* 2010, **143**, 225.
17. Wettengel, J. et al., *Nucleic Acids Res* 2017, **45**, 2797.
18. (a) Qu, L. et al., *Nat Biotechnol* 2019, **37**, 1059. (b) Merkle, T. et al., *Nat Biotechnol* 2019, **37**, 133.



## 研究紹介

## RNA 化学修飾と精神疾患のつながり

京都大学 高等研究院  
物質—細胞統合システム拠点  
王 丹  
(dwang@icems.kyoto-u.ac.jp)



## 1. ビッグピクチャー

脳は、私たちの認知と行動の根底にある複雑で精緻な器官です。私たちは自分がつ全ての遺伝子配列を読むことができる特権を有する時代に生きており、それらを自由に編集できる日もすぐそこまで来ています<sup>1)</sup>。しかし、一人一人が持つ遺伝情報から、どのようにして、私たちが喜怒哀楽をもって考え、話し、歩く人間になることができるのでしょうか？この非常に大事な疑問に対して、私たちは悲惨なほど無知のままです。「賢い人間の脳は複雑である。故にわからない」なんてジレンマ的な考えもできますが、我々のゲノム情報や神経回路に対する理解の精密さは飛躍的に高まっているのは事実です。ゲノムプロジェクト後に生まれた機能ゲノミクスおよびシステム生物学分野は、以前はアクセスできなかった情報の取得に成功し、遺伝子およびタンパク質の全体的なネットワークから生物学的働きを抽出する新しいアプローチの扉が開きました。さらに、深層学習、AI と計算技術が進化して、より踏み込んだ遺伝子の働きパターンを解析することも実現されています<sup>2)</sup>。

## 2. 衝撃

脳に対しこの全体的なアプローチを使用することで、私たち神経科学を研究する者も、少しでもエキサイティングな洞察ができないかと、うずうずしていたところに、遺伝子の情報量は 30 億の配列によるものを遥かに超えることを示す重大ニュースが舞い込んできました。

2012 年、*Nature* と *Cell* 誌にほぼ同時に発表された研究によって、全メッセンジャーRNA の 3 分の1ほどが、メチル化されたアデノシン基 (N<sup>6</sup>-methyl-adenosine; m<sup>6</sup>A) をもつことがわかりました。さらに、そのメチル化アデノシン基をもつ配列がヒトとマウス間で保存されることから、機能的であろうことも予測されました<sup>3,4)</sup>。その1年前に、m<sup>6</sup>A からメチル基を消す酵素 FTO が発見され、つまり、この修飾塩基が動的に制御される可能性が示されました<sup>5)</sup>。これだけでも驚きますが、さらに、自然界にはこのような修飾塩基が 170 種類以上もあることが明らかになりました<sup>6)</sup>。それぞれの特徴を認識するタンパク質が細胞にあれば、私たちの遺伝子によってコードされる情報が 4<sup>n</sup> ではなく、(170+4)<sup>n</sup> (n=塩基数) と大きく拡張されることになります。つまり、私たちが認識していた遺伝情報の全体は、まったく全体ではありませんでした。

この2報の論文を読んで、私は悔しい思いをせざるを得ませんでした。なぜもっと早く気付かなかったのかと。実は、2010 年には RNA 分子を学習中の脳でみたいという思いで、理研の岡本晃充先生の研究室で生細胞蛍光イメージングの研究をしていました<sup>7)</sup>。ターゲット依存的に光り出す RNA オリゴプローブを使っていたのですが、細胞内の分解を防ぐために、2'-O-methyl の修飾塩基を合成ブロックに導入していました。



そうすると、RNA プローブを、細胞導入後 数十時間も安定させることができたのです。逆に、一本鎖の DNA オリゴを細胞内に導入すると、みるみるうちに分解されてしまいました。2'-O-methyl 修飾の有りとなしでプローブの運命が大きく分かれることを毎日顕微鏡で観察していたにもかかわらず、人工的なものかと思いついていたせいか、自然界に多種多様な修飾が存在し、遺伝子発現プログラムの一部分だということに全く気づきませんでした。それが悔しかった。

### 3. フォーカス

2013 年になると、中脳 (midbrain) での FTO の欠損マウスは報酬に対する反応が過剰であることや<sup>8)</sup>、さらに m<sup>6</sup>A 阻害は、概日時計 (circadian clock) を遅らせることが発表され<sup>9)</sup>、m<sup>6</sup>A 修飾が脳機能にも重要な役割を果たすことが示唆されました。急激にこの分野の研究が進んでいく中で、私の研究室でも m<sup>6</sup>A エピトランスクリプトームの研究プロジェクトが始動しました。それは、神経細胞同士を繋ぐシナプ스에局在する RNA のメチル化に着眼した、次世代シーケンサーを使った探索でした。



図 1. 成体マウス大脳皮質からシナプスを回収する手順

なぜシナプス？神経細胞が情報を出力/入力する場である神経シナプスは、脳において情報処理の中核を担う最も基本的な構造で、学習や記憶の物理的な基盤だと考えられています。多種多様にある神経シナプス機能の破綻は脳の情報処理に重要な変化をもたらすと推測され、これまで、脳におけるシナプスの数や形態と精神疾患・発達障害との関連がさまざまに指摘されてきました<sup>10)</sup>。

そこで筆者は、シナプスの長期的変化は、外部入力に依存し、シナプス付近でおきる局所翻訳 (注: 細胞核を有する細胞体を中心とし、遠く離れたシナプスがある場所を局所という) を必要とする現象に注目しました<sup>11, 12)</sup>。この局所翻訳ならびにシナプス可塑性の制御には、動的な RNA 修飾が転写後制御の役割を担っているのではないかとこの直感がありました。もしシナプスで RNA が修飾されているのならば、m<sup>6</sup>A 修飾は局所翻訳をする際のメッセンジャー RNA 上の目印になって選択性につながると考えました。しかし、どんな RNA が m<sup>6</sup>A 修飾をもっているか、その正体がわからないとコードを解読することもできません。そこで、私たちは 2013 年から健康な成体マウス脳の大脳皮質から神経シナプスサンプルを作成、そこから回収した RNA を対象に m<sup>6</sup>A 修飾基がどの RNA のどの辺り (400nt 単位) にあるか、調べようとしました (図 1、精製方法)。シナプスに存在する RNA はごく微量であることに悩まされ、解析手法の開発に 3 年間かかりました。その間に、1. 蛍光を用いたより正確な定量、2. 効率良い増幅、3. 合成オリゴを使って模索した実験条件が功を奏し、従来のプロトコルに必要とされる RNA 量を 1/50 まで抑えることができた結果、シナプスにある 2921 個の遺伝子群から 4469 ヶ所の m<sup>6</sup>A 修飾部位を同定することができました。これは神経シナプスに存在する RNA 修飾の状況についての世界初の報告となりました<sup>13)</sup>。筆者らは、そこからさらにシナプスでの mRNA 量が脳全体での量に対して相対的に多い遺伝子を除き、シナプスにおいてのみ特異的に m<sup>6</sup>A 修飾が増加している遺伝子 1266 個を同定しました (図 2、m<sup>6</sup>A サイト

の同定方法)。非常に興味深いことに、これらの遺伝子には、精神疾患・発達障害に関連するものが多く含まれています。表 1 はそれらのうち最もよく m<sup>6</sup>A 修飾されている遺伝子群の一部です。我々の研究により、シナプスに存在する RNA 上の m<sup>6</sup>A 修飾はシナプス機能関連遺伝子の目印だということが明らかになりました。

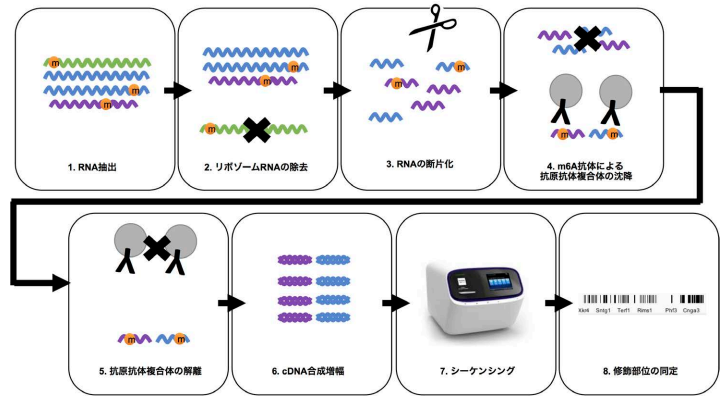


図 2. m<sup>6</sup>A 修飾部位を同定する実験手順

#### 4. メカニズム

興味深いことに、m<sup>6</sup>A 修飾された mRNA から産生されるタンパク質のアミノ酸配列は、無修飾のアデノシンがコードするタンパク質のアミノ酸配列と同一です。では、m<sup>6</sup>A 修飾は、目印として、どのように認識され、何をもって、シナプス機能に寄与することができるのでしょうか？これらの問いに対して答えを探すために、我々はまず、神経細胞内で m<sup>6</sup>A 修飾が解読できない状況を作り出して、シナプスの機能にどんな影響がおきるかを検証することにしました。

2014 年以降、m<sup>6</sup>A に結合して、m<sup>6</sup>A をもつ RNA の代謝を司る YTH ファミリータンパク質が次々と報告されました<sup>14)</sup>。我々はそのうちの一つである YTHDF1 をマウス脳初代培養細胞において、ノックダウンベクターを用いて阻害しました。この結果、スパインの形態に顕著な変化が観察されました (図 3)。この形態の変化は発達障害をもつヒトのスパイン形態と類似します。さらに、形態だけではなく機能的・分子的变化として、興奮性シナプス後電流の振幅の減少や、シナプス足場タンパク質である PSD-95 の減少、細胞膜表面からのグルタミン酸受容体の減少なども見られました。この結果は、シナプス機能における m<sup>6</sup>A 修飾の重要性、さらには精神疾患・発達障害との関連性を裏付けるものになりました。我々は、シナプスにある m<sup>6</sup>A の情報が局所翻訳の制御に必要とされており、さらに刻一刻と変化する神経活動に対し柔軟に素早い応答を可能とする分子メカニズムではないかと考えています。m<sup>6</sup>A シグナルは分子ネットワーク制御の中でいうとモジュレーターであり、受容体や転写因子のようなエフェクターではないため、神経回路に時間的および空間的精緻さをもたらす機構ではないかと考えられます。

表 1. 神経シナプスにおいて最もよく m<sup>6</sup>A 修飾されている RNA と、その遺伝子に関連する疾患

遺伝子	関連する疾患・障害
Ptprz1	統合失調症
Sparcl1	自閉症、うつ
Apc	自閉症、精神遅滞
Apc2	ソトス症候群
S1pr1	多発性硬化症
Igfbp5	フェラン-マクダーミド症候群
Mfap3l	不安障害
Pcdh10	自閉症
Ppp1r9b	統合失調症、不安障害

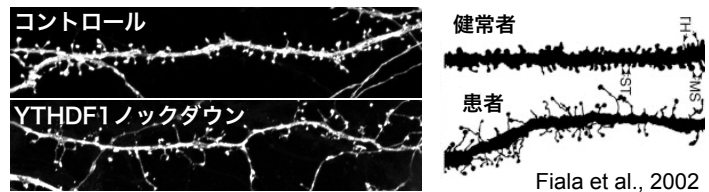


図 3. m<sup>6</sup>A 修飾を読み取るタンパク質である YTHDF1 をノックダウンしたマウス海馬神経培養細胞のスパイン形態 (左) と発達障害をもつヒトのスパイン形態 (右)。

脳における RNA 修飾の研究はまだ始まったばかりですが、筆者らの研究を含め、相次いで新しい知見が報告されています。たとえば、近年、脳における m<sup>6</sup>A 修飾は、ドーパミン報酬系の制御<sup>8)</sup>、ストレスに対する応答<sup>15)</sup>、神経新生<sup>16),17)</sup>、軸索の損傷と再生<sup>18)</sup>、学習と記憶<sup>19),20),21)</sup>などの重要な脳機能と関連することが報告されました。たった一つのメチル基、-CH<sub>3</sub>が脳内の遺伝子発現調節プログラムの柔軟さと多様性に寄与し、行動の出力まで変えられる力をもつことが示されました。今後の研究の発展により、脳機能の新たな制御相としての RNA 修飾の理解が深まり、精神疾患・発達障害の診断法や治療法の開発が進むことに期待が高まっています。

## 5. 終わりに

思い出せば、子供の時は医者になりたいと思っていました。しかし、母にきくと、うちは代々医者の家系でしたが、曾祖父が感染病に罹り亡くなったそうです。彼が子供たちに医者になるなど家訓を残して他界したため、祖父の代からは医者にならずにほかの様々な職業についていたそうです。私は高校を卒業してから日本の大学に進学しましたが、生物工学を専攻として、卒業研究で選んだのは医学研究に近い免疫学で、B 細胞に発現されるマスター遺伝子 PAX5 の働きの研究を当時東京工業大学工藤明先生の研究室に所属して行いました。アメリカの大学院に進学したあとは、様々な脳内伝達物質 (GABA、セロトニンなど) を調整するトランスポーターの分子的制御について研究をし、私たちの精神的な健康を維持する分子メカニズムを明らかにすることがモチベーションとなりました。

今回の研究で見つけた精神疾患との関連性は非常に幸運でもあり、医学への貢献ができる大チャンスを与えられたように思いました。今後の目標は、RNA 化学修飾の制御メカニズムを明らかにし、外界入力である日常の経験が認知発達と機能のための遺伝子発現をどのように形作るかを理解することです。

## 6. 謝辞

この研究成果は、研究室にいる優秀な学生、ポスドク、技官さんの並ならぬ努力の賜物です。長年研究を支援しつづけてくれた研究助成機構、自由な研究環境を与えてくれた iCeMS、医科学研究科支援センターの飯田慶先生をはじめ、国内海外の多数の共同研究者に、この場を借りて御礼を申し上げます。JSPS 外国人特別研究員の制度を使って日本に来た時に、思い切って分子細胞神経学から、核酸化学の研究室 (現東京大学先端科学技術研究センター岡本晃充先生) に飛び込んだおかげで、素晴らしい日本のケミカルバイオロジーに出会い、多くの研究者仲間に恵まれた研究環境が今の研究につながりました。最後にこのような執筆の機会をくださいました井原敏博先生に感謝いたします。今後とも、どうぞよろしく願いいたします。

## 参考文献

- 1) Ledford H. Quest to use CRISPR against disease gains ground. *Nature* 577(7789):156. (2020)
- 2) Tareen A & Kinney JB. Biophysical models of cis-regulation as interpretable neural networks. *bioRxiv* 2020 doi.org/10.1101/835942
- 3) Dominissini D et al. Topology of the human and mouse m<sup>6</sup>A RNA methylomes revealed by m<sup>6</sup>A-seq. *Nature* 485(7397), 201–6. (2012)

- 4) Meyer KD et al. Comprehensive analysis of mRNA methylation reveals enrichment in 3' UTRs and near stop codons. *Cell*, 149(7), 1635–46. (2012)
- 5) Jia G et al. N6-methyladenosine in nuclear RNA is a major substrate of the obesity-associated FTO. *Nature Chemical Biology* 7(12), 885–7. (2011)
- 6) Boccaletto P et al. MODOMICS: a database of RNA modification pathways. 2017 update *Nucleic Acids Research* 46(4) 303-7. (2018)
- 7) Wang DO et al. A quick and simple FISH protocol with hybridization-sensitive fluorescent linear oligodeoxynucleotide probes. *RNA* 18(1):166-75. (2012)
- 8) Hess ME et al. The fat mass and obesity associated gene (Fto) regulates activity of the dopaminergic midbrain circuitry. *Nature Neuroscience*, 16(8), 1042–1048. (2013)
- 9) Fustin JM et al. RNA-Methylation-Dependent RNA Processing Controls the Speed of the Circadian Clock. *Cell*, 155(4), 793–806. (2013)
- 10) Penzes P et al. Dendritic spine pathology in neuropsychiatric disorders. *Nat Neurosci* 14(3):285-93. (2011)
- 11) Wang DO et al. Spatially restricting gene expression by local translation at synapses. *Trends in Neurosciences*, 33(4), 173–82. (2010)
- 12) Wang, DO et al. Synapse- and stimulus-specific local translation during long-term neuronal plasticity. *Science* 324(5934), 1536–1540. (2009)
- 13) Merkurjev D et al. Synaptic N6-methyladenosine (m6A) epitranscriptome reveals functional partitioning of localized transcripts. *Nat Neurosci* 21(7),1004-1014. (2018)
- 14) Patil DP et al. Reading m6A in the Transcriptome: M6A-Binding Proteins. *Trends in Cell Biology*. 28(2):113-127 (2017).
- 15) Engel M et al. The Role of m6A/m-RNA Methylation in Stress Response Regulation. *Neuron* 99(2):389-403 (2018)
- 16) Yoon KJ et al. Temporal Control of Mammalian Cortical Neurogenesis by m6A Methylation. *Cell*. 171(4):877-889 (2017)
- 17) Edens BM et al. FMRP Modulates Neural Differentiation through m6A-Dependent mRNA Nuclear Export. *Cell Rep*. 28(4):845-854. (2019)
- 18) Weng YL et al. Epitranscriptomic m6A Regulation of Axon Regeneration in the Adult Mammalian Nervous System. *Neuron*. 97(2):313-325 (2018)
- 19) Widagdo J et al, Experience-Dependent Accumulation of N6-Methyladenosine in the Prefrontal Cortex Is Associated with Memory Processes in Mice. *J Neurosci*. 36(25): 6771–6777 (2016)
- 20) Walters BJ et al The Role of The RNA Demethylase FTO (Fat Mass and Obesity-Associated) and mRNA Methylation in Hippocampal Memory Formation. *Neuropsychopharmacology*. 42(7): 1502–1510. (2017)
- 21) Shi H et al. m6A facilitates hippocampus-dependent learning and memory through YTHDF1. *Nature* 563, 249–253 (2018)

## 気になった論文

嘉村 匠人 (かむら たくと)

熊本大学大学院自然科学教育部 工学専攻 博士後期課程 1 年

184d8756@st.kumamoto-u.ac.jp

この度は、生命化学研究レター「気になった論文」への執筆機会をいただき、誠にありがとうございます。私は現在、熊本大学大学院自然科学教育部核酸化学分野にて井原敏博教授のご指導のもと、学部 4 年生の頃から一貫して短い核酸を用いて RNA 高次構造の形成を誘導し、標的遺伝子の発現を制御する技術の開発に取り組んでいます。

近年、血液や尿、唾液といった生体から採取しやすい体液に含まれる成分を解析して疾患の診断を行うリキッドバイオプシーに注目が集まっています。その解析対象の 1 つであるエクソソームにはタンパク質や脂質、microRNA (miRNA) など様々な物質が内包されています。また近年の研究でエクソソームに内包される miRNA の種類が腫瘍細胞種によって異なることが明らかになりつつあり、miRNA はがんを含む様々な疾患の診断マーカーや予後マーカーへの応用が期待されています。しかし、エクソソーム中に少量しか存在しない miRNA を高感度に検出するためには高価な装置や試薬が必要であり、かつその定量的な検出は困難です。そこで本稿では、このような「コスト」や「定量性」などの問題点解決を目指した miRNA 検出技術に関する論文を 2 報紹介させていただきます。

### Cellular microRNA detection with miRacles: microRNA-activated conditional looping of engineered switches

A. R. Chandrasekaran, M. Maclsaac, P. Dey, O. Levchenko, L. Zhou, M. Andres, B. K. Dey, K. Halvorsen, *Sci. Adv.* **2019**, *5*, eaau9443

RT-qPCR やマイクロアレイ法、次世代シーケンシングなどの技術は miRNA の定量的検出や網羅的検出、配列の特定といった様々な目的で利用されています。しかしこれらの技術を利用する際には、高価な装置や試薬が必要であり、かつ結果の解析に専門的な知識が必要です。したがって、miRNA を臨床現場で診断・予後マーカーとして利用することを考えると、より安価かつ短時間で正確に標的 miRNA を検出するシステムの開発が望まれます。このような背景から著者らのグループでは、標的 miRNA の存在により DNA ナノスイッチの構造変化を電気泳動で検出するシステム (microRNA-activated conditional looping of engineered switches: miRacles) を開発しました。

具体的には、標的 miRNA (今回の例では let7-b ある

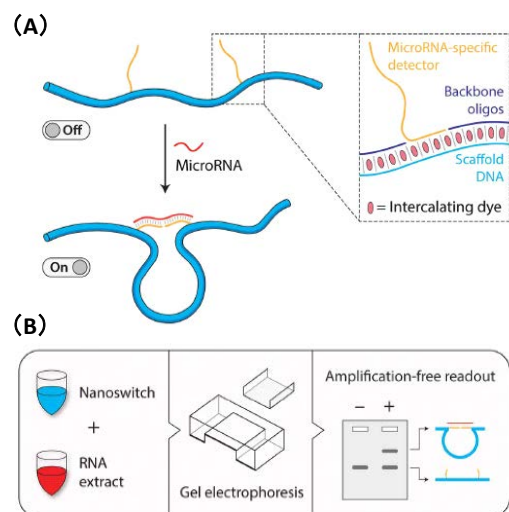


Fig. 1 miRacles assay の概要



いは miR-206) が存在する場合、DNA ナノスイッチが「ひも」の様な形 (Fig. 1(A) 上) から「ギリシャ文字の Ω」のような形 (Fig. 1(A) 下) に変わります。その結果、アガロースゲル電気泳動を行うと、バンドの位置が変化するため標的 miRNA を検出することができます (Fig. 1(B))。miRNA はその長さが約 20 塩基と非常に短いため、インターカレートする色素の量が少なく、低濃度の miRNA をアガロースゲル電気泳動で直接検出することは困難です。本システムでは、長鎖の scaffold DNA (Fig. 1(A)) を利用し、インターカレートする色素の量を増やすことが可能であり、標的 miRNA が少量であってもアガロースゲル電気泳動で高感度に検出できます。その結果、サブ attomol レベルの let7-b を検出することに成功しています。また、microRNA-specific detector (Fig. 1(A)) 領域を短くし DNA ナノスイッチと miRNA との親和性を調節することで、標的 miRNA とその一塩基変異体を識別することにも成功しています。

さらに、分化が進む(分化前:GM、分化中:DM1、DM4)につれて発現量が増えることが知られている miR-206(本検討での標的 miRNA) を筋芽細胞の total RNA から miRacles assay により検出しました (Fig. 2(A))。その結果、miR-206 の発現量は DM1、DM4 において GM の 5.5 倍、109 倍となっており、既存の知見に近い結果が得られています。

また、DNA ナノスイッチのループの長さを変化させることでバンドの移動度を制御し、複数種類の miRNA を同時に検出することにも成功しています (Fig. 2(B))。

従来法では逆転写反応やラベル化などのサンプル処理が必要でした。一方で、miRacles assay ではサンプルを DNA ナノスイッチと混ぜて電気泳動を行うだけで簡便に標的 miRNA を検出することができます。また、1 時間以内に標的 miRNA を検出することも可能であり、今後 RT-qPCR などと並んで広く利用される技術へと発展していくのではないかと思います。

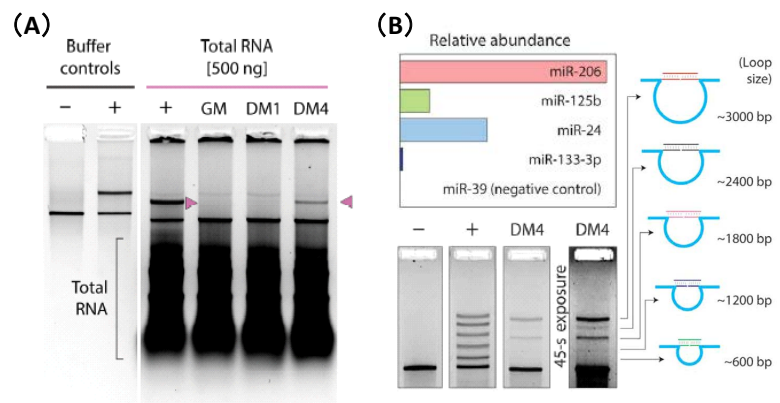


Fig. 2 細胞から抽出した total RNA を用いた miRacles assay の結果

### Isothermal digital detection of microRNAs using background-free molecular circuit

G. Gines, R. Menezes, K. Nara, A.-S. Kirstetter, V. Taly, Y. Rondelez, *Sci. Adv.* **2020**, 6, eaay5952

miRNA を診断・予後マーカーに利用する場合、生体サンプル中の miRNA を定量的に検出できることが求められ、現在は主に RT-qPCR が用いられています。近年では RT-qPCR 以外にも、デジタル PCR を利用した miRNA 検出技術も開発されてきました。デジタル PCR では、RT-qPCR のように検量線を必要とせず、標的核酸のコピー数を定量することができます。しかし、これらの技術では miRNA が存在しない場合でも PCR による増幅反応が起きてしまう「リーク」と呼ばれる現象が問題となっており、特に少量の miRNA を定量的に検出する際にはその影響が顕著に表れます。本論文で著者らのグループは、リークを最大限に抑制できる等温シグナル増幅システムを構築し、このリーク抑制により低濃度であっても定量性を維持することが可能な miRNA 検出技術を報告しています。

本シグナル増幅システムでは、conversion template (cT)、autocatalytic template (aT)、reporting template

(rT)、pseudotemplate (pT) と名付けられた 4 種類の核酸テンプレート (Fig. 1) とポリメラーゼ、ニッカーゼ、エンドヌクレアーゼを利用しています。各核酸テンプレートには人工修飾核酸を利用しており、cT は trigger と名付けられた短い核酸の作製 (Fig. 1: Step. 1)、aT は trigger の増幅 (Fig. 1: Step. 2)、rT は trigger を蛍光シグナルへと変換する (Fig. 1: Step. 3) といった役割を担っています。また、pT は miRNA が存在しない場合に間違っ作り出された trigger をマスクし (Fig. 1: Step. 4)、リークを抑制することができます。さらに、シグナル増幅反応が進むにつれて溜まっていくマスクした trigger をエキソヌクレアーゼにより分解することで、リーク抑制メカニズムを維持できるように設計しています。

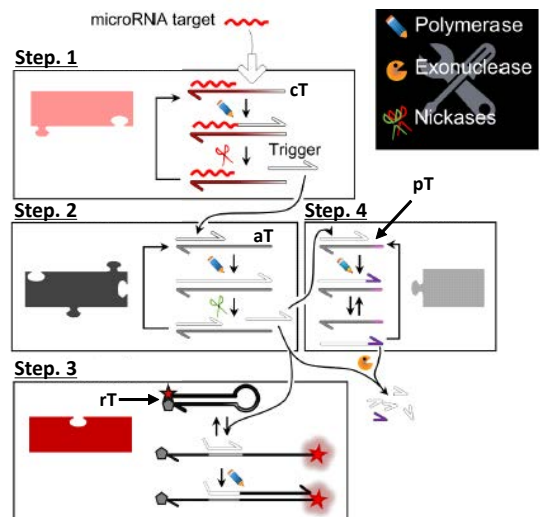


Fig. 1 4 種類の核酸テンプレートおよび 3 種類の酵素を用いた等温シグナル増幅システムの概要

さらに著者らは、上記のシグナル増幅システムと「ドロップレット・デジタル検出技術」と呼ばれる核酸を検出することができる技術を組み合わせることで低濃度の標的 miRNA を定量できるシステムを構築しました。本検出技術では、標的 miRNA を 1 分子だけ含むように液滴を作り、各液滴で上記の等温シグナル増幅反応を行います。すなわち、標的 miRNA が入っていればシグナルの増幅が起こって液滴が発光し、その数をかぞえることでサンプル中に含まれている標的 miRNA を定量することができます (Fig. 2(A))。pT 存在下では、リークが抑制されて低濃度 miRNA の定量であってもその定量性が維持されていることが確認できており (Fig. 2(B))、数 fM レベルの標的 miRNA を検出することにも成功しています。また、細胞から抽出した total RNA 中の標的 miRNA を繰り返し定量した場合も、リーク抑制システムにより精度よく定量できており、低濃度 miRNA の定量においては RT-qPCR よりも精度が良いことも確認できています。

RT-qPCR などの miRNA 検出技術では標的 miRNA ごとにプライマーセットや温度条件を最適化する必要があります。一方で、この miRNA 検出システムは cT の配列を変更するだけで簡単に標的 miRNA を変更することができます。もちろん、体液などから精製することなく直接 miRNA を定量できるかなど検討すべきことはありますが、今後、学術分野での利用のみならず、臨床現場への応用も期待されます。

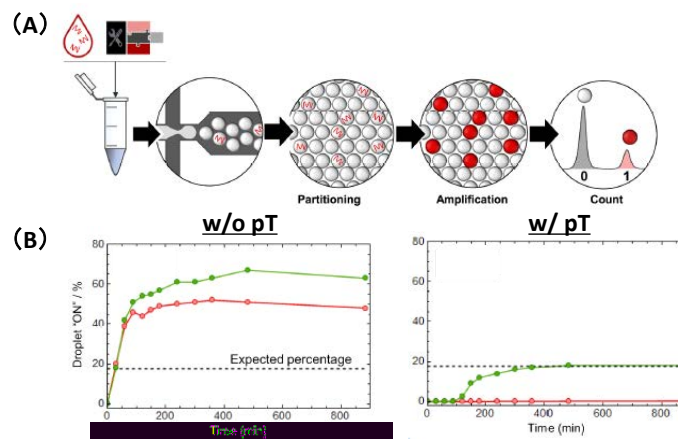


Fig. 2 等温シグナル増幅システムとドロップレット・デジタル検出技術を組み合わせた miRNA 検出・定量システムの概要とその結果

## 気になった論文

河村 玄気 (かわむら げんき)

東京大学大学院理学系研究科 化学専攻 特任研究員

g-kawamura@chem.s.u-tokyo.ac.jp

この度は生命化学研究レター「気になった論文」の執筆機会をいただき、誠にありがとうございます。私は東京大学大学院理学系研究科化学専攻の小澤岳昌研究室にて光制御法に関する研究に携わっております。光制御法とは植物などの光受容タンパク質を用いて生細胞内でシグナル伝達を操作する技術です。誕生以降、光受容タンパク質については様々なバリエーションが報告されてきましたが、この度は光受容タンパク質を活性化させる「光」に着目して関連論文を紹介いたします。生物界にはホタルの発光の仕組みでもある酵素ルシフェラーゼなど、化学発光を触媒するタンパク質が知られており、この発光を用いて光受容タンパク質の活性化ができないか、という試みがなされてきました。

光制御法で用いられる光受容タンパク質は、フラビン誘導体を補因子とする青色光を受容するタイプとビルベリン誘導体を補因子とする赤色光を受容するタイプに二分されます。一方の発光タンパク質ルシフェラーゼは海産物由来の青色光を発するものとホタルに代表される甲虫由来の緑～赤色光を発するものがあります。一般的に海産物由来のものは高い発光輝度を有しておりますので、「海産物由来のルシフェラーゼ+青色光受容タンパク質」の組み合わせの可能性について検討がなされてきました。今回は既に報告されてきた論文の中から興味深いものを3報選びましたのでそれぞれ解説させていただきます。

### Light-emitting channelrhodopsins for combined optogenetic and chemical-genetic control of neurons

K. Berglund, E. Birkner, G. J. Augustine, U. Hochgeschwender, *PLOS ONE* 8, e59759 (2013).

初めて発光タンパク質の化学発光による光制御を報告したのがこの論文となります。光を受容する細胞膜受容体のタンパク質群である「opsin」に発光能「luminescence」を付加したという意から、開発したツールを「luminopsin」と名付けています。光制御法で使われる代表的なオプシンであるチャンネルロドプシンの細胞膜外側にカイアシ由来ルシフェラーゼである *gaussia luciferase* (GLuc) を融合して構築されています。光制御法で主に光源として用いられるレーザー光などと比較するとルシフェラーゼの化学発光は微弱であるため、効率は低いものの、培養神経細胞において原理証明を達成しています(図1)。

着目すべき点は、GLuc を細胞膜外側へと融合していることです。海産物由来のルシフェラーゼが利用する基質セレンテラジン、およびその誘導体は細

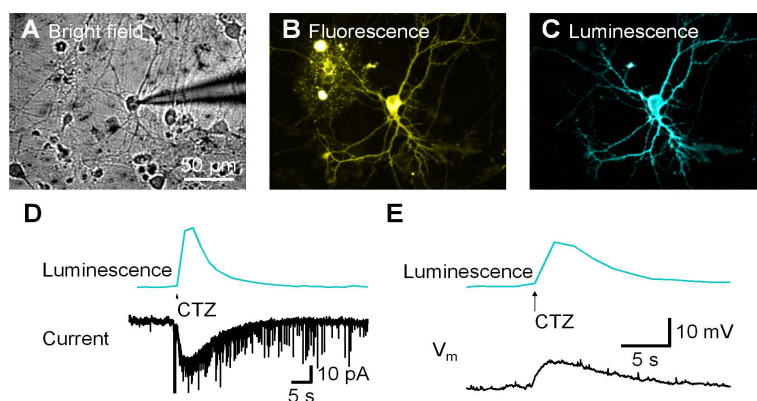


図1. 培養神経細胞におけるルシフェラーゼ化学発光によるチャンネルロドプシンの活性化。論文1より引用。



胞膜透過率が高くはないのですが、今回の様に細胞膜の外にルシフェラーゼを融合することで、基質へのアクセス向上による発光輝度の上昇を図っています。発表グループの Hochgeschwender らは、これら luminopsin の改良や *in vivo* 応用を進めています。最近の研究では、変異導入により発光源として用いている GLuc の高輝度化を図ることでチャンネルロドプシンの最大応答の 20%程度まで効率化を進め、このツールを用いて生きたマウスにおいてもルシフェラーゼ発光駆動の光制御によりマウスの行動制御が可能であることを実証しています。

### Luciferase-LOV BRET enables versatile and specific transcriptional readout of cellular protein-protein interactions

C. K. Kim, K. F. Cho, M. W. Kim, A. Y. Ting, *eLife* **8**, e43826 (2019).

この論文ではルシフェラーゼ発光駆動の光制御法ならではの可能性を実証しています。発光源となるルシフェラーゼとしては深海エビ由来の高輝度発光ルシフェラーゼ Nanoluc、光制御ツールとしては既存の光によるプロテアーゼ活性の切り替えを利用した転写因子活性化を採用し、これらを組み合わせています。原理としては、Nanoluc の発光を光受容タンパク質 LOV に再吸収させて、LOV の構造変化に伴うプロテアーゼ活性化により切り出された転写因子が活性化する、というものになります(図2)。転写活性化した遺伝子発現量の定量を通して人為的なシグナル伝達系が構築できることが実証されています。

この論文で目を引いたのは、二点あります。一点目はプロテアーゼや転写など、一種の中間変倍を絡めることでシグナルを増幅して発光駆動光制御の比較的低い制御効率をカバーしていること、二点目は発光する細胞と光制御ツールを発現する細胞とを分けることで、細胞間でシグナルをやり取りしていることです。特に、後者は細胞間コミュニケーションの人為的創出の可能性を秘めており、ルシフェラーゼ発光で光制御系を駆動する仕組みならではの技術と言えます。しかし、現時点では光制御の効率はかなり悪いので応用にはさらなる改善が必要となるでしょう。

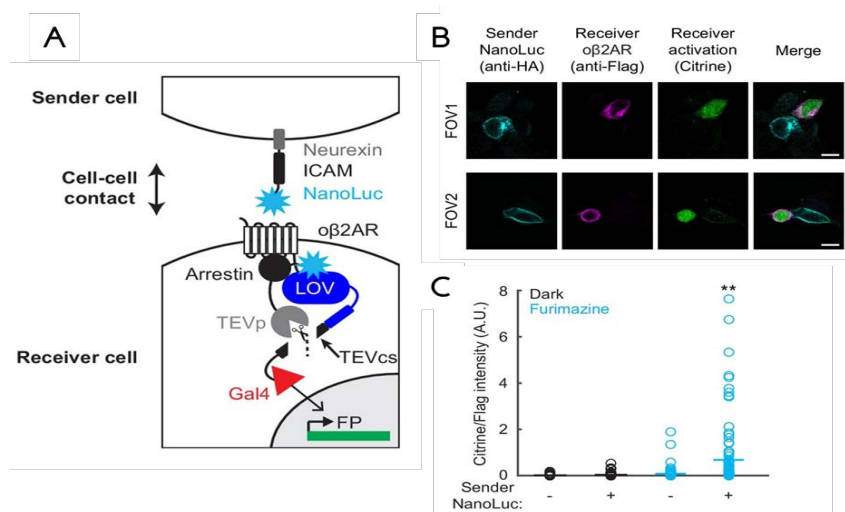


図 2. ルシフェラーゼ発光駆動による細胞をまたいだ光制御駆動。“Sender cell”に発現しているルシフェラーゼの発光を“Receiver cell”内に発現している光受容タンパク質が受容することで、細胞間で光制御が達成される。A. プローブ原理図。B. “Sender cell”および“Receiver cell”の位置関係、および蛍光タンパク質 (Citrine) 発現による光制御効果の確認。C. (B)の定量結果。論文 2 より引用。

### Engineered BRET-based biologic light sources enable spatiotemporal control over diverse optogenetic systems

K. Parag-Sharma et al., *ACS Synth. Biol.* **9**, 1–9 (2020).

より効率的なルシフェラーゼ化学発光による光制御駆動法には発光源の輝度向上、あるいは発光波長と光受容タンパク質の吸収波長の最適化が必要となります。このような目的に合致する手段としては、発光

タンパク質と蛍光分子間でおきる生物発光共鳴エネルギー移動(BRET)の利用があります。BRET 現象自体は自然界でも見られ、例えばオワンクラゲの Aequorin-GFP 間の BRET による化学発光があります。BRET を生じさせることにより、発光源の輝度向上、またエネルギー移動先の蛍光分子を変更することにより発光波長の調節を達成することができます。この論文では、ルシフェラーゼとしては NanoLuc、エネルギー移動先としては蛍光タンパク質 GFP、あるいは CFP を使用しています。結果として GFP や CFP に BRET することで発光総量が 4 倍程度増強することができたと主張しています。また、GFP と CFP では発光スペクトルが変化するため、光受容タンパク質の吸収スペクトルに合わせて発光源タンパク質を選択できる、としています。

この論文での大きな主張の一つが発光輝度の向上により、LED などの光源を励起光として用いたときと同程度の光制御能を達成できた、という点です。もともと光受容タンパク質自体がそこまでの光強度を必要としない場合が多いので、数倍程度の光量の増加でもかなりの効率上昇が図れたということだと思います。この際、発光源となる BRET タンパク質と光制御に用いられる光受容タンパク質は融合されておらず、多少距離があっても光制御が達成できているのも注目ポイントです。また、かん流装置を用いて基質の濃度を時間的にコントロールすることで発光の切り替えが可能となり、繰り返しの活性化を達成しています(図 3)。

以上の論文で紹介してきましたように、青色光受容タイプの光受容タンパク質を海産物由来ルシフェラーゼの化学発光によって駆動できることは実証されており、今後はこの手法をどのように応用していくかが課題になります。一つの可能性としては、レーザーや LED などの外部光源を利用した場合に励起光が届きづらい生体内で光制御ツールを活性化する方法として用いることです。一方で、光源自体が遺伝子工学的に構築可能なことを活かして、細胞間のシグナル伝達や特定遺伝子の発現に合わせた光制御法など、*in situ* の光制御法として確立していくことも考えられます。ルシフェラーゼ発光駆動の光制御法は通常の光制御法とは一味違う特徴を持っているため今後の進展に注目しています。

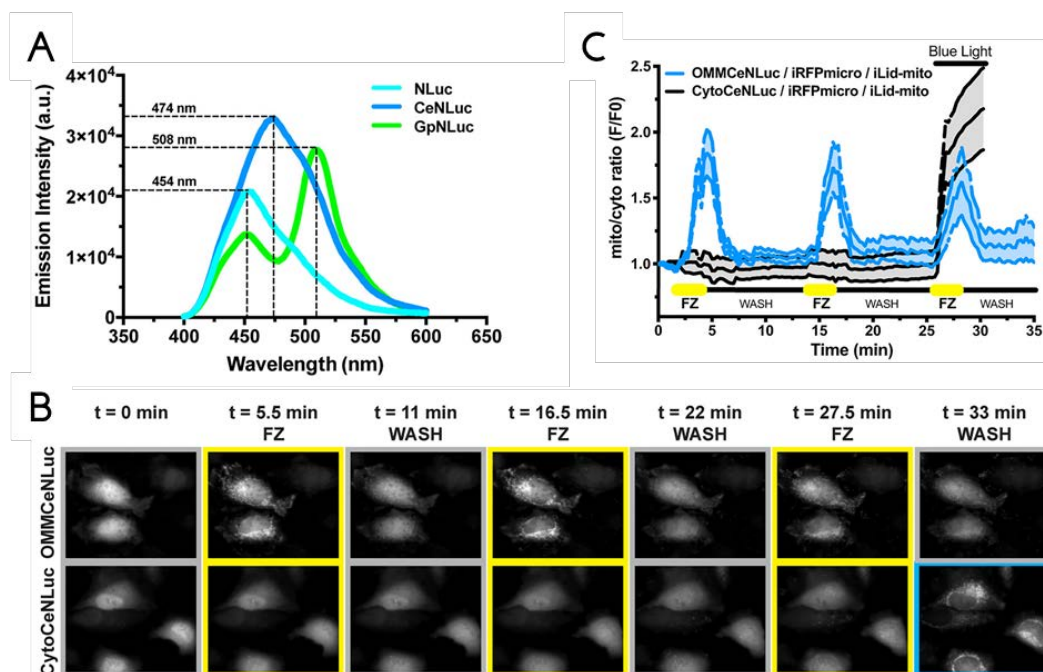


図 3. BRET 利用による発光輝度・発光波長の変化、および基質かん流による発光駆動光制御の繰り返し実験。A. NLuc、CeNLuc (CFP BRET タンパク質)、GpNLuc (GFP BRET タンパク質) の発光輝度の比較。B. かん流装置を用いた複数回の発光駆動光制御の実証図。C. (B) の定量結果。



留学  
体験  
記

## 香港中文大学留学体験記

～研究室生活とデモ活動の影響 in 香港～

九州大学工学府 三浦研究室

本田竜太郎

r313@kyudai.jp



## はじめに

九州大学大学院博士後期課程1年生(現2年生)の本田竜太郎と申します。九州大学化学工学部門の三浦研究室に所属しており、生体模倣高分子の研究を行っております。また、私は修士1年の時から博士課程教育リーディングプログラム分子システムデバイスコースに参加しており、そのプログラムの一環として、2019年9月から半年間留学する機会をいただきました。しかし、留学中に留学先の大学が閉鎖してしまい、半年間留学することは叶わず、わずか3ヶ月弱の留学となってしまいました。長期留学とはとても呼べないような短い留学ではありましたが、代わりに中々体験できない貴重な経験をし、得ることも多かったのでそれらの経験をお伝えできればと思います。

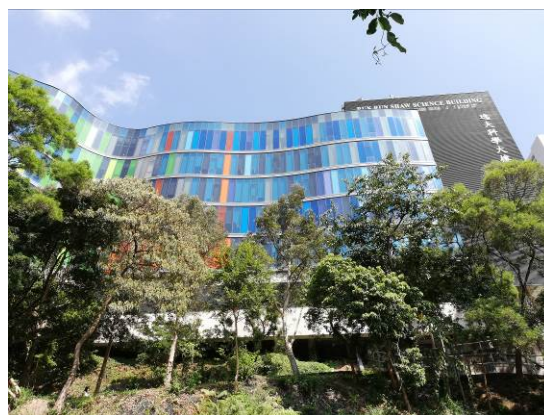
## 留学に至るまでの経緯

私は日本では、ゲル粒子という材料をCO<sub>2</sub>分離材料やタンパク質認識材料として用いる研究を行っていました。留学先を決めるにあたり、同じような研究を行っている研究室に行くことも考えました。しかし、せっかく海外で研究を行う機会をいただいたので、少し異なる分野の研究室に行ってみようと思い留学先の検討を始めました。そして、ゲル粒子を用いた界面化学を中心に研究を行っている香港中文大学(以降CUHK)のTo Ngai教授の下で研究することに決めました。

6月、CUHKの事務の方とビザ発行関係でメールのやり取りをしていた頃に香港で大規模なデモ活動が始まりました。8月にはデモ活動により空港が閉鎖される日がありました。私の留学開始日が近づいてもデモの勢いは収まらず、友人や先生方含め多くの方から香港で留学することへの心配の声や留学中止の打診をいただきました。しかし、せっかくいただいた留学の機会を無駄にしたくはなかったのと、このような情勢にある香港に身を置くことで得られるものもあるのではないかと思います、Ngai教授ともよく話し合った上で留学することを決意しました。

## 留学前半 ～平穏な研究生活～

私が香港に到着した日は日曜日で、香港各地でデモが予定されていました(週末は毎週のようにデモが予定されていました)。そのせいもあって、香港国



研究室のある Run Run Shaw Science Building

際空港と香港各地を結ぶ公共交通機関は止まっており、住居までの移動はタクシーの利用を余儀なくされました。東京もほとんど行ったことのない田舎者である私は、タクシーの中から見た香港の高層建築物に圧倒されながら、デモによる影響について不安を感じるとともに、今後の香港での生活に胸を膨らませていました。

私が通うCUHKは香港で2番目に設立された大学で、アジアを代表する大学の一つです。キャンパスは九州大学と似た環境にあり、香港の中心部からは少し離れた山の中に位置しています。また、私のホテルは旺角(モンコック、Mongkok)という地域にあり、ホテルから大学へは電車一本で簡単に行くことができます。大学内を徒歩で移動するのは大変なので、移動は学内バスがメインです。私が所属した研究室は、大学の中心にある少しカラフルな建物の中にありました。景色も良いため晴れやかな気持ちで研究に集中することができます。研究室のメンバーは主に大学院生から構成されていて、そのうちの多くは博士後期課程の学生でした。また、面白いことに本研究室には香港出身の学生はおらず、私やその他少しの留学生を除いたほとんどが、中国本土出身でした。

私がCUHKに来てすぐ、Ngai教授や他のメンバーに私のこれまでの研究を紹介し、さらにNgai研究室での私のテーマについてディスカッションを行いました。九州大学で研究していた時も似たようなゲル粒子を使っていたと言えども応用先は全く異なっており、Ngai研究室ではゲル粒子を用いたピッカリングエマルションなど界面化学に強みを持っていました。Ngai教授から、Ngai研究室と私の研究の両方の強みを生かせるような研究をしたらどうかと言われ、どのような応用が考えられるか、そのテーマが価値のあるものなのか自問する日々が少しの間続きました。結果、何とか面白そうなテーマを2つ立ち上げ、設備環境の差に苦しめられつつも研究を始めることができました。1つは早々にお蔵入りになりましたが。

研究室は、基本的に朝9時30分頃に始まり、19時頃に終わります。Ngai研究室の学生は非常にアクティビティが高く、週に2、3回ほどは研究室終了後に卓球、ビリヤード、水泳、バスケットボール、テニスなどを楽します。私もできる限り参加し、たまに日本文化サークルにも参加しました。

デモ活動の真っ最中だったこともあり、CUHK内でもデモを感じさせる多くのものを目撃しました。例えば、CUHK内でも少なくない数の人が黒い服とマスクを着用して歩いていました。壁には、多くのポストイットが貼られており、他にもポスターそしてスプレーで書かれた文字も多く見受けられました。これらの文字やポスターは作業員により除去されますが、すぐに新たな文字やポスターが貼られるため、日々変わっていく内容を見ることができます。印象的だったのは、夜に学生寮の近くを歩いていた時に「光復香港、時代革命(香港を取り戻せ、革命の時だ)」というスローガンを復唱していたことです。彼らエネルギーは想像を絶するほどであり、寮のそばを歩いているだけで圧倒されました。

デモが行われているとはいえ、デモの予定を毎日確認しその時間を避けさえすれば危険はありませんでした。デモ情報はSNSを通じて伝わっており、また、リアルタイムで衝突が起こっている位置などを教えてくれるウェブサイトのおかげもあって、その頃は特に危険を感じることはありませんでした。しかしながら、私のホテルがある旺角はデモの中心地であったため、週末は早めに帰宅するようにしていました。



CUHK 内の壁に貼られた多くのポスターや文字



## 留学後半 ～デモの過激化と生活への影響～

状況が大きく変化したのは10月初旬です。その日、香港政府はデモ活動を抑制するために超法規的措置である緊急条例を発動し、デモ中のマスクの着用を禁止しました。これに抗議者たちは猛反発し、活動はさらに過激化していきました。その日、私はいつものように研究を行っていましたが、緊急条例の発表によりデモ活動が活発化する懸念があったため帰宅することを勧められ、夕方にはCUHKを去りました。電車に乗って旺角に到着した時には既に多くの抗議者とパトカーがおり、その時初めて私はガスマスクを装着した抗議者と警棒や盾を持った警察が対峙している場面に遭遇し、デモ活動での衝突を身近に感じました。次の日から街の風景が一変し、壊された信号のある横断歩道を渡り、ディスプレイが壊れたICカードリーダーにICカードをタッチして電車に乗る日々が始まりました。

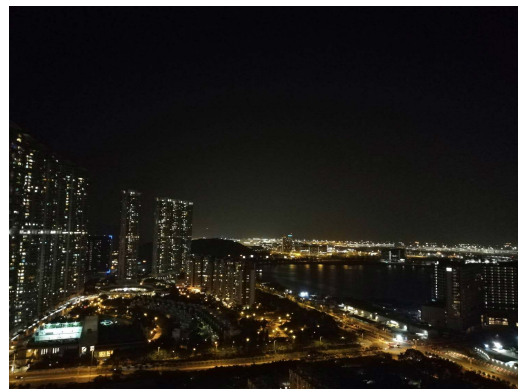
この日以降、デモ活動が平日の夜にも盛んに行われるようになり、私生活にも影響が出るようになりました。研究室での研究自体は大きな影響を受けませんでした。夜になると旺角で頻りに衝突が起こっていたのと、電車が普段より早めに運行終了するようになったため、これまで行っていた研究室後のアクティビティはすべてキャンセルし、19時前にはCUHKを去るよう努めました。また、デモの情報にさらに敏感になり、家の近くでデモが予定されている場合は早い時間に帰ることも少なくありませんでした。なお、研究室の学生は香港出身の人がいないためか、研究室内では衝突は起こらず平和そのものでした。

しかし、そのような生活も長くは続きませんでした。11月11日に本校が抗議活動の中心地となり、これまでにない規模の衝突が起こったのです。この衝突で警察側は2日間で2000発以上の催涙弾を使用しました。また、抗議者らによりCUHKの最寄り駅は破壊され、さらにバリケードを築くために学内バスや手すり、レンガを用いたため、大学に大きな被害が出ました。この時の映像はSNSでリアルタイムで見ることができ、実際にいつも通学していた大学でこのような衝突が起きたことに大きな衝撃を受けたことを覚えています。13日には大学や駅の被害状況から、その学期すべての授業がキャンセルされることが発表されました。駅が完全に使用できなくなり、さらに事態が悪化する恐れもあったため、Ngai教授や九州大学の関係者の方々と話し合った末、留学を中断することを決意しました。このようにして、私の留学は終わりを迎えました。

帰国する前日にNgai教授から直接話すことを提案され、タクシーでCUHKへ向かいました。久しぶりにみたCUHKは清掃活動が進み、きれいになり始めていました。しかし、衝突の跡はそう簡単に消えるわけではなく、実際にこの場で大きな衝突があったことを感じさせました。Ngai教授とは、CUHKでの研究をどうするか話し合い、日本で研究の続きを行うことにしました。帰国する日も朝からデモが予定されていたため、安全をとって前日から空港近くのホテルに滞在することにしました。そのホテルから見た香港の夜景は留学中初めて見る香港らしい夜景で、これからの香港に対する不安と同時に個人的な安堵感を覚えました。



バリケードに使われたレンガが集められている。上には衝突前の卒業式の垂れ幕が残っていた



帰国前日にホテルから見た香港の夜景

## 留学で得られたこと

元々意図していたわけではありませんが、デモが起こっている真っ最中に香港で留学に来ることで多くの経験をすることができ、そして学びを得ました。

研究面においては、分野の異なる研究室に飛び込み、研究テーマが価値あるものか自問し続けることで、研究者としての力が幾分か身についたと思います。研究スタイルは比較的日本と似ていて、教授との、および学生間でのディスカッションの機会はそう多くありませんでした。

英語に関しては、学生全員がネイティブではなかったためか困難を感じたことはありませんでしたが、逆に言えば語学力は大きく上達しませんでした。また、学生は私と話すとき以外は中国語で話すため、日常で英語に触れる機会もそう多くはありませんでした。なお、中国語(マンダリン)は図書館で勉強していたためほんの少しだけ理解できるようになりました。

デモが行われていたこともあり、この留学が私の価値観に与えた影響は少なくありません。留学中、「せっかくこのタイミングで香港に来たのだから、起こっている出来事について知ろう」と考え現地で知り合った香港出身の友人のみならず、デモ活動に賛同しない本土出身の中国人や外国に住む中国人などとも議論を交わしました。内容はセンシティブなのでここでは話しませんが、そこで聞いた様々な意見は私の価値観について深く考えるきっかけになりました。また、これらの意見の違いは今後中国がさらに台頭していく中で世界的にも顕在化していくと考えられ、その面においても今香港に留学に来ていろいろな人と交流したことは意義があったと感じます。

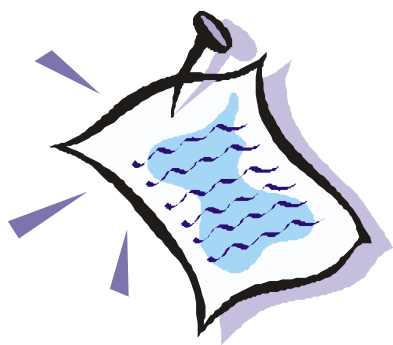
## おわりに

第一に、留学の機会を与えてくださった分子システムデバイスコースの関係者の皆様に深く感謝申し上げます。また、留学に当たり快く送り出してくださった三浦先生と星野先生、そして私の留学を受け入れてくださったNgai教授に心よりお礼申し上げます。最後に、執筆の機会を与えてくださった熊本大学の井原先生に心より感謝申し上げます。



Welcome パーティー兼卒業生の Farewell パーティー





# シンポジウム等会告

## 第 14 回バイオ関連化学シンポジウム

— 第 35 回生体機能関連化学シンポジウム・第 23 回バイオテクノロジー部会シンポジウム —

<https://www.mons-sapporo.co.jp/14biojointsympo/>

**主催：**日本化学会生体機能関連化学部会・日本化学会バイオテクノロジー部会

**会期：**令和2年9月7日（月）～9月9日（水）

**会場：**九州大学医学部百年記念講堂（福岡市東区馬出3丁目1-1）

<https://www.med.kyushu-u.ac.jp/100ko-do/>

**討論主題：**ペプチド・タンパク質・酵素・核酸・分子認識・超分子・生体モデル系・遺伝子・DDS  
等が関連する幅広いバイオ関連化学

**発表形式：**口頭発表・ポスター発表

**発表、参加予約申し込み、参加費等：**確定後にシンポジウム HP にて公表予定。

**申し込み分類：**(1) 分子認識・超分子・モデル系、(2) ペプチド・タンパク質・酵素、(3) 核酸関連、(4) 糖・脂質、(5) メディカルバイオ、(6) 環境バイオ、(7) 分析・計測・センサーデバイス、(8) DDS

**ポスター発表：**1日目および2日目

**口頭発表：**全日、15分間発表および5分間質疑応答

（口頭発表は原則として1研究室1件まで。ただし申し込みは2件まで可）

**懇親会：**9月8日（火）会場、参加費等の詳細は確定後にシンポジウム HP にて公表予定

**問い合わせ先：**〒 819-0395 福岡市西区元岡744番地 後藤・神谷研究室内

第14回バイオ関連化学シンポジウム事務局 TEL (092) 802-2810

E-mail: [m-goto@mail.cstm.kyushu-u.ac.jp](mailto:m-goto@mail.cstm.kyushu-u.ac.jp)

## 第 8 回バイオ関連化学シンポジウム若手フォーラム

<https://www.biojointsympobiowakate2020.info/>

日時:2020 年 9 月 6 日(日)

登録締切:2020 年 7 月 31 日(金)

場所:九大馬出キャンパスコラボステーション(〒812-0054 福岡県福岡市東区馬出 3 丁目 1-1 )

講師(予定):

- ・亀井 謙一郎 先生(京都大学 物質-細胞統合システム拠点)
- ・閻闔 孝介 先生(理化学研究所)
- ・新井 敏 先生(金沢大学 ナノ生命科学研究所 )
- ・新留 琢郎 先生(熊本大学大学院先端科学研究部)
- ・山吉 麻子 先生(長崎大学大学院医歯薬学総合研究科)

世話人:勝田 陽介(熊本大先端)、若林 里依(九大工)、石塚 匠(宮崎大医)、内之宮 祥平(九大薬)、  
新藤 直哉(九大薬)

参加登録費:学生 1,000 円(参加費無料、懇親会費 1,000 円)、一般 3,000 円(うち懇親会費 2,000 円)

## 生体機能関連化学部会若手の会 第 32 回サマースクール

<https://sites.google.com/view/seitaiwakate2020/>

日時:2020 年 7 月 13 日(月)~7 月 14 日(火)

場所:定山溪ビューホテル(〒061-2302 北海道札幌市南区定山溪温泉東 2 丁目 111 )

<https://www.jozankeiview.com/>

講師:・浜地 格 先生(京都大学 大学院工学研究科)

- ・鎌田 瑠泉 先生(北海道大学 大学院理学研究院)
- ・繁富(栗林)香織 先生(北海道大学 高等教育推進機構/情報科学研究院 )
- ・鈴木 勇輝 先生(東北大学 学際科学フロンティア研究所)
- ・高野 勇太 先生(北海道大学 電子科学研究所)
- ・中島 祐 先生(北海道大学 大学院先端生命科学研究院)

世話人:松尾 和哉(北大電子研)、与那嶺 雄介(北大電子研)、岡村 秀紀(東北大多元研)、  
小和田俊行(東北大多元研)

参加登録費:未定(昨年は、一般 12,000 円、学生 8,000 円(宿泊朝夕食費・懇親会費を含む))

## 第 57 回ペプチド討論会

<https://www.peptide-soc.jp/57ips/>

主 催：日本ペプチド学会

共 催：日本化学会、日本生化学会、日本蛋白質科学会、日本薬学会

後 援：高分子学会、日本ケミカルバイオロジー学会、日本農芸化学会、有機合成化学協会

日 時：2020年11月9日(月)～11日(水)

会 場：とりぎん文化会館 小ホール・展示室(〒680-0017 鳥取県鳥取市尚徳町 101-5)

発表形式：口頭(原則英語)、またはポスター(英語で作成)

発表・要旨申込：2020年8月3日(月)～9月1日(火)

参加費：

	種別	9月30日まで	10月1日以降
一般	ペプチド学会員、共催学会員	7,000 円	9,000 円
	非会員	14,000 円	16,000 円
学生	ペプチド学会員、共催学会員	4,000 円	5,000 円
	非会員	6,000 円	7,000 円

招待講演(敬称略)：浜地 格(京都大学)、Max Ryadnov (National Physical Laboratory, UK)、佐竹 炎(サントリー生命科学財団)、Anne S. Ulrich (Karlsruhe Institute of Technology, Germany)

問合先：第57回ペプチド討論会事務局

鳥取大学 学術研究院工学系部門

(世話人代表：松浦 和則)

E-mail: 57jps@peptide-soc.jp

**The 57th Japanese Peptide Symposium**  
**第57回 ペプチド討論会**

**会期** 2020年11月9日(月)～11日(水)

**会場** とりぎん文化会館  
〒680-0017 鳥取市尚徳町101-5

発表形式：口頭(原則英語)またはポスター(英語で作成)  
討論会ホームページ：<https://www.peptide-soc.jp/57jps/>

**発表・要旨申込期間** 2020年8月3日(月)～9月1日(火)

**事前参加登録期間** 2020年8月3日(月)～9月30日(水)

**お問い合わせ**  
第57回ペプチド討論会事務局  
〒680-8552 鳥取県鳥取市湖山町南4-101  
鳥取大学 学術研究院工学系部門  
(代表：松浦和則)  
E-mail: 57jps@peptide-soc.jp

**主催** 日本ペプチド学会  
**共催** 日本化学会・日本生化学会  
日本蛋白質科学会・日本薬学会  
**後援** 日本ケミカルバイオロジー学会  
日本農芸化学会・高分子学会  
有機合成化学協会



## 2020 環太平洋国際化学会議 (PACIFICHEM 2020)

<https://pacifichem.org/technical-program/2020-approved-symposia/>

講演申し込み：2020年1月2日～4月15日

### **“Single cell analyses and biosensing methodologies for elucidation of biological functions” (#53)**

Organizers: E. Tamiya (Osaka U), S. Boxer (Stanford U), K. Kerman (Toronto U), Y. Chang (Postech U), M. Ueda (Kyoto U), H. Kambara (Hitachi Ltd), H. Takeyama (Waseda U)

口頭講演 開催日: 12月16日  
会場: Sheraton Waikiki Hotel  
ポスター講演 開催日: プログラム編成時に決定

#### 発表申込方法、アブストラクト提出手順

発表申込みおよびアブストラクトの提出は、Pacifichem website (上記 URL) にて本シンポジウム (**Biological, #53**) を選択し、記載の手順に従って下さい。

発表申込受付が迫っておりますので、よろしく申し上げます。不明な点などありましたら民谷までご連絡ください。

大阪大学 民谷栄一 ([tamiya@ap.eng.osaka-u.ac.jp](mailto:tamiya@ap.eng.osaka-u.ac.jp))

### **“Materials Engineering with DNA” (#110)**

Organizers: A. Kuzuya, J. R. Aldrich-Wright, A. T. Woolley, T. Wada, K. Ijiro, M. Liu

口頭講演 開催日: 12月15日 PM、16日 AM/PM/evening  
会場: Ala Moana Hotel  
ポスター講演 開催日: 12月15日 PM

タイトルにある材料化学にとどまることなく、核酸を「材料・もの」として取り扱っていただければ、分野を問わず幅広い演題を歓迎いたします。

ご不明な点がございましたら、下記国内オーガナイザーまでお気軽にお問い合わせ下さい。招



待講演者としては現在までに、以下の先生方より内諾を頂戴しております。国際色豊かなセッションとなる予定です。実り多きシンポジウムになりますよう、お力添えを頂戴できましたら幸いです。

Prof. A. Pike (Newcastle University upon Tyne, UK), Dr. S. Quinn (UCD, Dublin, Ireland), Prof. J. Tucker (Birmingham University, UK), Dr. E. Tuite (Newcastle University, UK) Prof. D. Porath (Hebrew University, Jerusalem, Israel), Prof. L. Basabe (University of the Basque Country, France), Prof. F. Bentio (University of the Basque Country, France), Prof. A. Woolley (Brigham Young University, USA)

関西大学 葛谷明紀 ([kuzuya@kansai-u.ac.jp](mailto:kuzuya@kansai-u.ac.jp))

東北大学 和田健彦 ([hiko@tohoku.ac.jp](mailto:hiko@tohoku.ac.jp))

北海道大学 居城邦治 ([ijiro@poly.es.hokudai.ac.jp](mailto:ijiro@poly.es.hokudai.ac.jp))

### **“Modified DNA and XNA for therapeutic application” (#183)**

Organizers: H. Asanuma (Nagoya Univ. Japan), F. Nagatsugi (Tohoku Univ., Japan), D.-E. Kim (Konkuk Univ., Korea), X. Liang (Ocean Univ. of China, China)

口頭講演 開催日: 12月17日 AM

会場: Prince Waikiki -Honolulu Luxury Hotel

ポスター講演 開催日: 12月17日 evening

医療応用を目指した機能性核酸に関するセッションです。診断薬や医療応用を目指した修飾核酸や人工核酸 (XNA) の設計・合成に関する講演とポスターを募集いたします。「診断薬や医療応用」の部分は、遺伝子発現の人為的制御や特定の遺伝子や miRNA 等の高感度検出など、広く捉えていただければと思います。なお招待講演者として、Prof. Peter Beal (University of California, Davis, USA)、Prof. Satoshi Obika (Osaka Univ., Japan) の2名の先生方から内諾を得ております。新進気鋭の若い研究者の積極的な応募を期待しております。なおポスターセッションも同じ日の夕方に ございますので、学生やポスドクにも声をかけていただければ幸いです。

名古屋大学 浅沼浩之 ([asanuma@nubio.nagoya-u.ac.jp](mailto:asanuma@nubio.nagoya-u.ac.jp))

東北大学 永次 史 ([fumi.nagatsugi.b8@tohoku.ac.jp](mailto:fumi.nagatsugi.b8@tohoku.ac.jp))

## サントリー生命科学研究者支援プログラム

SunRiSE (Suntory Rising Stars Encouragement Program in Life Sciences)

<http://www.sunbor.or.jp/topics/>

<http://www.sunbor.or.jp/sunrise/>

この度、サントリー生命科学財団では「サントリー生命科学研究者支援プログラム SunRiSE (Suntory Rising Stars Encouragement Program in Life Sciences)」を実施します。SunRiSEは45歳以下の若手研究者(10人)に対して、1000万円を5年間支援するものです。

応募課題: 分子を中心に据えた、生命現象のメカニズムの解明

応募資格: Principal Investigator (PI)もしくはそれを目指す研究者(現在の職位、任期の有無は不問)

2020年4月1日現在で45歳以下

海外からの応募可能(但し、研究拠点を日本国内に移すこと)

女性の応募を歓迎

応募期間: 2020年5月11日～6月10日

詳細につきましては、上記 財団ホームページをご覧ください。

# 求む! やんちゃ者

## サントリー生命科学研究者支援プログラム

公益財団法人サントリー生命科学財団 **SUNBOR**  
SUNTORY FOUNDATION IN LIFE SCIENCES  
BIOORGANIC RESEARCH INSTITUTE

大切なものはただ一つ

研究者本来の「知りたい、極めたい」  
好奇心

温めていたアイデア

地道に積み上げる研究

# SunRiSE

Suntory Rising Stars Encouragement Program in Life Sciences

**募集研究課題** 分子を中心に据えた、生命現象メカニズムの解明\*

\*小分子～生体高分子(遺伝子含む)、未同定因子や網羅的対象も可

**対象** PIもしくはPIを目指す研究者\*\*

\*\*職位・任期の有無は不問

2020年4月1日現在で45歳以下

海外からの応募可(研究拠点を日本に移すこと)

女性研究者の応募歓迎

独創的な視点

**募集人数** 10名

**支援額** 1人あたり5,000万円(年間1,000万円×5年間)

**支援期間** 2021年4月1日～5年間

**応募期間** 2020年5月11日～6月10日(予定)

公的資金では難しい展開

失敗を恐れず

# 放て! あなたの夢

詳細はサントリー生命科学財団HPをご確認ください。 <http://www.sunbor.or.jp/sunrise/>





## 受賞

**塩谷光彦**(東京大学 教授)

第72回日本化学会賞

「超分子金属錯体の精密設計に基づく配列・空間・動的機能の創出」

(2020年3月)

**杉本直己**(甲南大学 教授)

第72回日本化学会賞

「分子クラウディング環境における非二重らせん核酸の化学」

(2020年3月)

**二木史朗**(京都大学 教授)

2020年度日本薬学会賞

「生体膜を標的とする機能性ペプチド：分子設計と作用機序」

(2020年3月)

## 異動



**石田 斉**

関西大学化学生命工学部 化学・物質工学科 錯体機能化学研究室 教授

2020年4月付

E-mail: [ishida.h@kansai-u.ac.jp](mailto:ishida.h@kansai-u.ac.jp)



## 編集後記

当初、新型コロナの影響がここまで大きくなるとは考えていませんでした。日本化学会の春季年会をはじめ、多くの学会の開催が中止されました。いまは春から夏にかけての学会をどうするのか主催者は頭を悩ませているようです。また、各大学は新学期のスタートを遅らせたり、また同時に、講義のインターネット配信を積極的に検討したりしているように聞いています。5G の普及を間近にして、これを契機にして（災いを転じて）講義や学会のあり方を"いま"に最適化する機会にしてもよいのかもしれませんが。

今回も、充実した内容満載の春号 (No. 60) をお届けすることができます。お忙しい中、素晴らしい内容の論文を執筆下さった皆さんには心からお礼を申し上げます。次号 (No. 61) は、松浦さんの担当により、2020 年 10 月頃の発行を予定しております。ニュースレター改善のため、皆さんからのご要望、ご意見等をお待ちしております。下記編集担当までご連絡をいただければ幸いです。

令和 2 年 4 月 5 日

井原 敏博

熊本大学大学院 先端科学研究部  
(toshi@chem.kumamoto-u.ac.jp)

編集担当

大神田 淳子 (信州大学)  
松浦 和則 (鳥取大学)