

タンパク質のメチル化を触媒する酵素の遺伝子

今 井 義 幸 (生物化学専攻)

yimai@ims.u-tokyo.ac.jp

細胞内においてタンパク質は様々な修飾を受ける。それらには可逆的なものと不可逆的なものがあるが、可逆的な修飾はタンパク質の機能や局在を制御するのに都合がよい。可逆的な修飾の代表的なものにリン酸化があり、多くのタンパク質がリン酸化・脱リン酸化によって機能調節されることは広く知られている。タンパク質のカルボキシル基のメチル化（メチルエステル化）もまた可逆的な修飾であり、バクテリアにおいては走化性刺激に対する反応制御に関わっている。真核生物においても多くのタンパク質がメチル化されるが、それらがタンパク質の機能や局在にどのような影響を与えるかについてはあまりわかっていない。

ヒトの癌遺伝子の代表的なものに *ras* という遺伝子がある。*ras* がコードする GTP 結合タンパク質は、パルミチル化、ファルネシル化およびメチル化による修飾を受けるが、それらの修飾はタンパク質が細胞膜の内側に結合するのに重要とされている。血球細胞などの系においては、Ras のスーパーファミリーに属する GTP 結合タンパク質のメチル化・脱メチル化により、細胞内の情報伝達が制御されることが示唆されている。

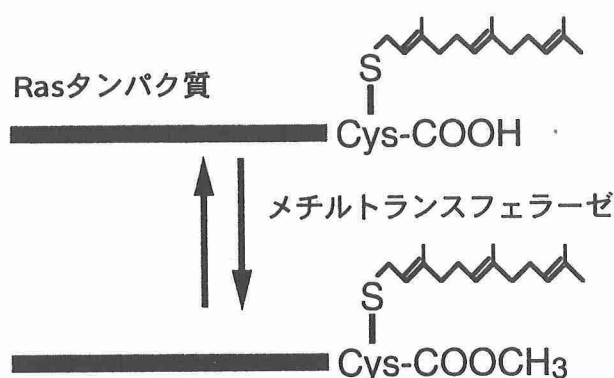
我々の研究室では、タンパク質のメチル化を触媒する酵素（メチルトランスフェラーゼ）の遺伝子を種々の生物種より見つけた。出発材料として用いたのは単細胞真核生物の分裂酵母である。分裂酵母は通常は一倍体生物として増殖するが、外界の栄養源が不足すると、 h^+ 型と h^- 型という 2 種類の接合型（高等動物の雌雄に相当する）の細胞が接合して二倍体（接合子）を形成する。その際に 2 種類の細胞の間で接合フェロモンのやりとりを行なう。 h^- 型細胞が分泌するペプチドフェロモン（M-ファクター）は、Ras タンパク質と同様にファルネシル化・メチル化による修飾を受ける。我々が単離した分裂酵母の *mam4* 変異株は、活性のある M-ファクターを分泌できないために接合不能となる。*mam4* 遺伝子を単離してその DNA 配列を調べると、メチルトランスフェラーゼをコードする出芽酵母の *STE14* 遺伝子と高い相同性をもっていた。*mam4* が欠損した細胞ではメチルトランスフェラーゼ活性が検出できないこと、*mam4* 変異株が分泌するペプチドはメチル化されていないことから、*mam4* は実際にメチルトランスフェラーゼをコードすると結論された。

さて、このようなメチルトランスフェラーゼの遺伝子は、出芽酵母と分裂酵母という単細胞生物でみつかっただけで、高等動物においてはその存在は確認されていなかった。そこで我々は高等動物における遺伝子の同定・単離を試みた。我々のとった戦略は、動物細胞の遺伝子

ライブラリーを分裂酵母 *mam4* 変異株で発現させ、*mam4* を機能的に補うことのできる遺伝子を見つけだす transcomplementation という方法であった。そのような方法により、*mam4* に相同なアフリカツメガエル遺伝子を単離し、*Xmam4* と名づけた。*Xmam4* 遺伝子を分裂酵母で発現させると、期待どおりメチルトランスフェラーゼ活性をもつことがわかった。多細胞生物において、このタイプのメチルトランスフェラーゼ遺伝子が単離されたのは、これが初めての例であった（Y. Imai, J. Davey, M. Kawagishi-Kobayashi, and M. Yamamoto, Mol. Cell. Biol. 17, 1543-1551, 1997）。

mam4 と *Xmam4* がコードするタンパク質の配列を比較すると約36%の相同性がみられるが、この2つの間で保存されているアミノ酸は他の生物種でも保存されている可能性が極めて高い。実際、我々はヒトの遺伝子で保存されている配列を推定し、PCR 法という技術を用いて、ヒトのメチルトランスフェラーゼ遺伝子を単離することに成功した。

これまで述べたように、我々は Ras タンパク質の修飾に関わるメチルトランスフェラーゼの遺伝子を、分裂酵母、アフリカツメガエル、ヒトから単離した。これまでに Ras タンパク質のファルネシル化を阻害する多数の薬剤が、Ras による細胞癌化を抑制することが示され、抗癌剤としての臨床応用が期待されている。我々の単離したメチルトランスフェラーゼの遺伝子も、そのような実用面で役にたつことを期待したいが、そのためには、高等動物の細胞内におけるメチルトランスフェラーゼの働きをもっと詳しく研究しなければならない。



(図) Ras タンパク質の修飾。カルボキシル末端にあるシステイン残基はファルネシル化・メチル化される。ファルネシル化は不可逆的であるが、メチル化は生理的条件下で可逆的である。

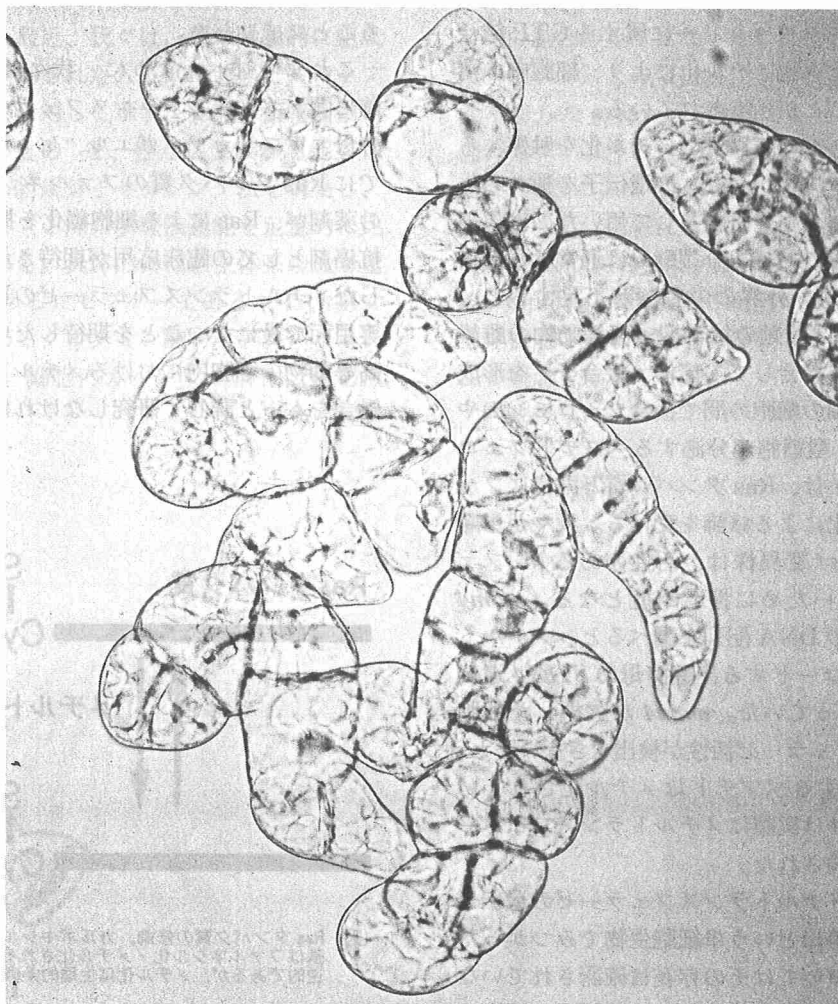
タバコ懸濁培養細胞BY-2を用いた植物ホルモン・オーキシン作用機構の解明

石 田 さらみ (生物科学専攻)

ishida@biol.s.u-tokyo.ac.jp

光エネルギーを化合物に転換する事で、地球上における他のすべての生命を支える植物は、自らは移動せず、大地に根を張り、その生存の領域を広げ、外部環境の激しい変化を克服して生育する。そのために植物は環境に応じて、発生のプログラムを変更し、形態を柔軟に変化させる固有のメカニズムを発達させてきた。このような植物特有の現象の多くは植物ホルモンに制御されている。植物ホルモンについては長年の生理学的解析から膨大な知見が蓄積されてきた。しかしながら、分子レベルでの情報はまだ限られており、植物ホルモンの作用機構を解明していく事は今日の植物科学における最重要課題の一つと考えられている。植物ホルモンの内でもオーキシンは細胞の分裂・伸長を始め分化・形態形成等、植物のほとんど全ての生活環にわたり作用を及ぼす事から植物の生長制御を司る最も主要な生理活性物質と見なされてきた。我々は、オーキシンが、どのような遺伝子の機能を

介して植物細胞の分裂を引き起こすのか、またそれらの遺伝子の活性化に至る情報伝達の経路を明らかにする事を最終目的として研究を進めている。本研究の特徴の一つは増殖にオーキシンを必須とするタバコ懸濁培養細胞BY-2を解析に導入していることである。BY-2はその均一性・他に類を見ない増殖速度・高同調率等、生化学的解析に必要とされる要素を備えた細胞株である。また、効率の良い遺伝子導入法も確立されている。このBY-2からオーキシンにより引き起こされる応答に関与する遺伝子の候補としてオーキシン制御遺伝子 *arcA* を単離した。この蛋白質はWD-40 リピートと呼ばれる繰り返し構造で形作られている。近年の解析より、このリピート構造は蛋白質間相互作用のモチーフと推測されている。そこで、*arcA* 産物と結合する蛋白質を酵母を用いた two-hybrid 法で探索した。現在は得られたクローンの機能解析を進めている。



タバコ懸濁培養細胞BY-2

オプシン遺伝子と色覚の進化

河村 正 二 (生物科学専攻)

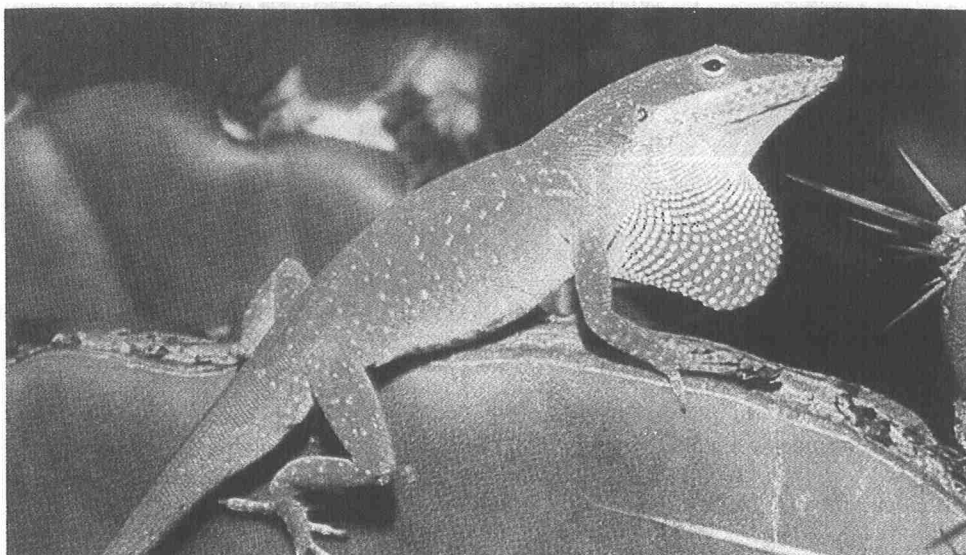
skawamur@biol.s.u-tokyo.ac.jp

我々ヒトは微妙な色彩の違いを感知し鑑賞することができる。この色覚形成に必要なのはわずか数種類の網膜光受容体、視物質である。視物質のタンパク質成分がオプシンであり、そのアミノ酸配列が視物質の吸収する光の波長を主として規定している。色覚は動物の様々な行動や生態と密接に関わりあっているため、オプシン遺伝子の塩基配列の進化は行動や生態の進化と密接に関連していると考えられる。オプシン遺伝子を培養細胞中で発現させることにより、視物質は再構成させることができる。再構成視物質の吸収波長は分光光度計により直接測定できる。さらにオプシン遺伝子への部位特異的変異導入により、吸収波長決定に関わっている機能的に重要なアミノ酸を同定し、進化過程で生じた波長感受性の変化を実験室で再現させることができる。したがって、オプシンは適応的機能進化の分子機構を厳密に研究するための優れた研究対象である。

私は1996年8月までの約5年間、米国シラキュース大学の横山竦三教授のポスドクとしてアメリカンカメレオン (*Anolis carolinensis*) のオプシン遺伝子について研究してきた。アメリカンカメレオンの色感には紫外線から近赤外線領域にまで及ぶ一方網膜はrod型視細胞を欠く。我々はその網膜、頭頂眼、松果体で発現するオプシン遺伝子6種類を同定し、培養細胞系を用いて各視物質を再構成した。それによりヒトの青感受性オプシンの相同遺

伝子がアメリカンカメレオンでは紫外線感受性を獲得していることを実証した。また他の脊椎動物のrod型視細胞オプシン (いわゆるロドプシン) の相同オプシンが、rodのないこの動物ではcone型視物質の特徴の一つであるhydroxylamine感受性を示すことを見出し、ロドプシンがcone型オプシンとして再適応した可能性を示唆した。

現在私は霊長類とハトのオプシン遺伝子を研究対象としている。ヒトは最大吸収波長560nmの赤オプシン、530nmの緑オプシン、そして420nmの青オプシンによる三色性色覚をもつ。多くの哺乳類は赤と青オプシンしかもたない赤緑色盲である。霊長類では旧世界ザルと類人猿はヒト型の色覚をもつと考えられている。新世界ザルは赤・緑遺伝子がX染色体上の対立遺伝子として存在するため、オスは赤緑色盲、メスはX染色体がヘテロなら三色性色覚、ホモなら赤緑色盲ということになっている。しかしながら実際に色覚の研究された種は200種近く知られる霊長類の中でわずか1割程度であり、多様な生態的地位に適応放散している霊長類の色覚の全貌は未だ明らかではないのである。哺乳類以外の脊椎動物には非常に発達した色覚をもつものが多い。ハトは5種類のcone型視物質をもつとされる現在唯一の種であるが、どのようにオプシン遺伝子が進化すればそうなるのか、今のところ謎に包まれている。



図：アメリカンカメレオン

4000万年前の南極に存在した古生代型海洋無脊椎動物のパラダイス

大 路 樹 生 (地質学専攻)

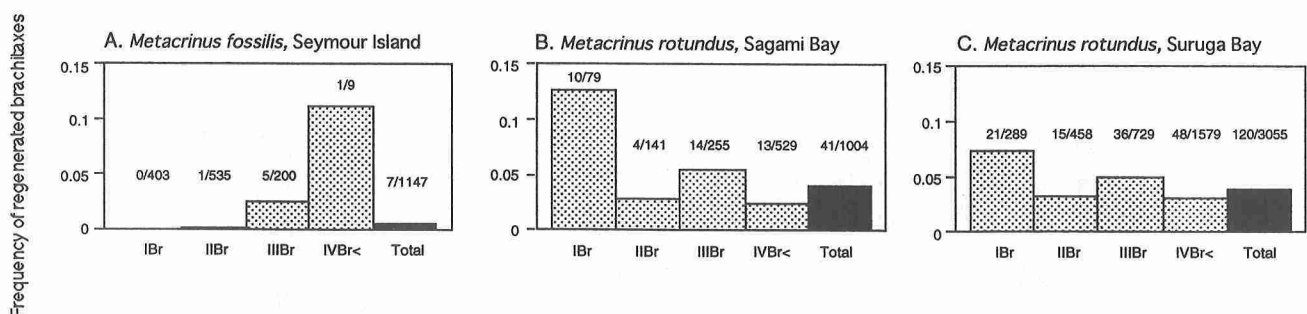
oji@geol.s.u-tokyo.ac.jp

古生代の浅海環境には、棘皮動物の有柄ウミユリ類や密集したクモヒトデの集団など、多くの海洋性の懸濁食無脊椎動物が繁栄していた。ところが中生代（特にその後期）に入ると、これらは浅海環境（陸棚上）からはほとんどその姿を消してしまった。現在では有柄ウミユリ類や密集したクモヒトデ類は、主に水深数百mを中心とする漸深海帯に多くみられる。この生息深度の変化は「中生代の海洋変革」と呼ばれる現象の一つで、同時期に浅海から姿を消した「前時代的」な無脊椎動物はこのほかにも数多い。たとえば生きていた化石で有名なオキナエビス類（巻貝）やシラスナガイ類（二枚貝）、オウムガイ類（頭足類）などである。この中生代の海洋変革の原因として、中生代の浅海環境に多様度が飛躍的に増大した捕食動物、とくに真骨魚類や十脚目の甲殻類が、これらの「前時代的」な動物群を浅海環境から追いやってしまい、中生代の後期以降は、捕食圧の低い漸深海帯にかろうじてこれらが生き残っているとする考えがある。

ところが南極半島部先端付近に位置する化石の島、Seymour 島では、始新世後期（約4000万年前）の地層

の、明らかに浅海に堆積したと考えられる部分から有柄ウミユリ類、*Metacrinus fossilis* が部分的に豊富に産し、また密集したクモヒトデの産出も確認された。このような化石の産出は中生代後期以降の浅海性の地層からはほとんど報告のない例で、明らかに異常な現象である。

一方、有柄ウミユリ類やクモヒトデ類は、捕食者から腕などの部分捕食を受けると失われた部分を再生によって補修するが、その再生した部分の出現頻度を数えることによってどの程度その集団が捕食を受けていたかを見積もることができる。この再生腕の出現頻度のデータを求めると、Seymour 島の有柄ウミユリ類やクモヒトデ類は現在ウミユリ類が受けているよりもはるかに低い捕食圧しか受けていなかったことが推測される。言うなれば、始新世の Seymour 島の浅海環境には、古生代的な海洋懸濁食無脊椎動物にとって捕食圧の低い「パラダイス」が一瞬出現したと見ることができる。その原因として当時の水温の低下や生物生産量の変化が考えられるが、現在の所、憶測の息を出ない。本研究の詳細は、R. Aronson, D. Blake と共同で、Geology, vol.25, no.10 (1997, October), p.903-906 に発表した。



有柄ウミユリ類 *Metacrinus* 属の腕に見られる再生腕の出現頻度の、時代、場所による違い。A. 南極 Seymour 島産、始新世後期の *Metacrinus fossilis* ; B. 現生有柄ウミユリ類 *Metacrinus rotundus* (和名トリノアシ)、相模湾、水深約 100 m ; C. 同、駿河湾、水深約 140 m。それぞれのコラムの下にある略号は、左から IBr (最も根本の腕の分岐列)、IIr (2 番目の分岐列)、IIIr (3 番目の分岐列)、IVr~ (4 番目以降の分岐列)、Total (すべての腕の再生腕の頻度の平均)。

Coarsening and Microstructure Development in Nanocrystalline Materials

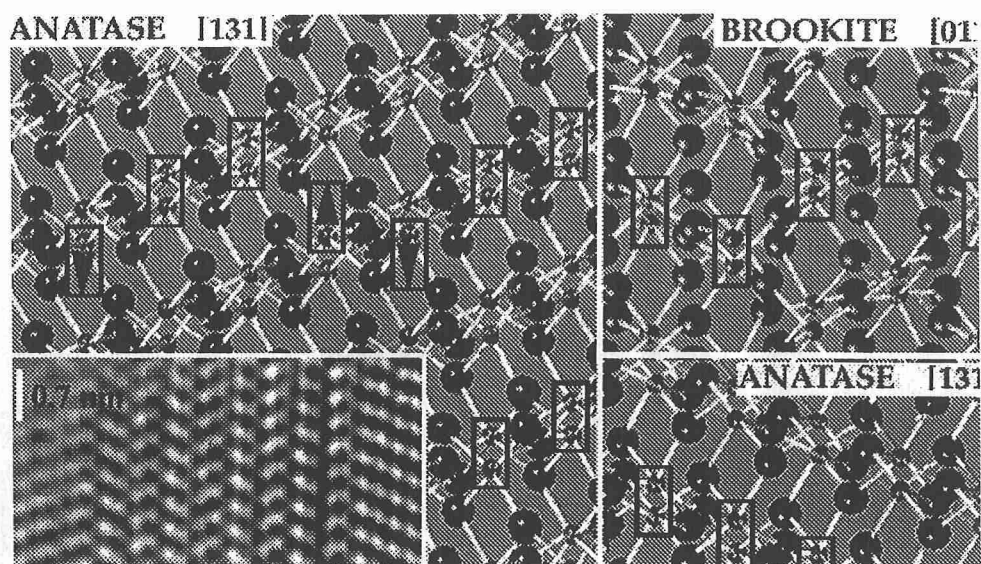
Jillian F. Banfield
jill@min.s.u-tokyo.ac.jp

R. Lee Penn
rlee@geology.wisc.edu

Minerals with nanometer-scale dimensions (nanocrystalline materials) are extremely common constituents of the Earth's surface (e.g., clays, oxyhydroxides of Fe, Mn, Ti, Al, etc.). These finely crystalline particles are highly reactive and their behavior directly controls the geochemical cycles of many elements. In addition to crystallization as products of chemical weathering, nanocrystals are almost ubiquitous products of biomineralization reactions. A key question stimulated by reports of possible evidence for life on Mars centers on how biologically produced nanocrystals can be distinguished from abiotic phases in extraterrestrial and in ancient Earth materials. This challenge raises issues related to preservation of primary nanocrystalline characteristics (especially morphology and defect mic-

rostructure) over geologic time.

In ongoing experimental and theoretical work we are evaluating the unique coarsening behavior exhibited by synthetic nanocrystalline materials under a variety of low-temperature aqueous conditions. Our results show that under some pH and solution chemical conditions nanocrystals exhibit self organization via oriented aggregation. The driving force for oriented attachment is elimination of a two dimensional surface. However, coherence can be achieved in more than one way. The result is either elongate single crystals or twinned, intergrown crystals. For titania, twin surfaces necessarily preserve a polytypically distinct slab and this may serve as a nucleus for subsequent polymorphic phase transformation reactions.



Atomic-resolution transmission electron microscope image (inset) of the brookite (TiO_2) polytype formed at a twin interface in anatase (TiO_2). Arrows indicate displacement required for polytypic interconversion.

Penn and Banfield, Am. Min. submitted.

地球温暖化による地生態系の変化に関する野外実験

大 森 博 雄 (地理学専攻)

ohmori@geogr.s.u-tokyo.ac.jp

自然界における動植物の生息数とその分布はそれらが置かれている気候・地形・水・土壌といった無機的环境に対する適応能力の差異に起因する競合関係の中で決定されていることが多い。地球温暖化は単に気温上昇が生ずるだけでなく、水・地形・土壌の変化をも引き起こす。無機的环境が変化すると動植物の競合関係が変化し、現在優占する動植物も新たな環境のもとでは別の種にとってかわられる。こうした無機的环境の変化とそれに対応して変化する動植物の変化を総称して「地生態系の変化」と呼んでいる。地球温暖化による無機的环境の変化の方向性には不明な点が多く、また、競合関係は複雑系であるので、実験室において明らかにされるであろう動植物の個別種の変化だけからではその方向は予測しがたい。標題の実験は矮性低木・草本を本来の植物相とする中部山岳地域の高山帯に実験地を設け、ミニ温室による昇温効果を創出し、水・地形・土壌の変化を観測するとともに、現実に生ずる競合関係の変化を明らかにするための野外実験である。実験は緒についたばかりで、温暖化にともなう動植物相の変化を予測するための実験施設・実験機器・観測方法の開発と観測・計測項目の選定を行うための基礎的研究の段階にある。

本実験では、中部山岳乗鞍岳山頂部(海拔3025m)付近(写真1)において、直径60cm、高さ30cmほどのプラスチック製のミニ温室(上面が開放されたオープントップチャンバー、写真2)を自然植生の上に5基ほど設置し、温室効果を創出する。ミニ温室の内外の気候、土壌、

水分環境等を計測・観測し、昇温効果を定量的に把握するとともに、それにともなう土壌・水環境の変化を検証する。また、ミニ温室内外の動植物の生息数、分布面積、分布パターン、発芽・開花・結実・落葉の季節変化、生長量の比較によって動植物相の生育に対する温暖化効果を抽出する。本実験において、ミニ温室の昇温効果および規格(大きさ・高さ・形状)の検討、降水量や地上・地表・地下気温および土壌水分等の測定項目の選定およびそれらに適した観測機器・観測方法の開発、微地形や土壌構造など解析すべき項目の抽出、動植物の種数・生息数や分布域および生育の季節変化等の観察すべき項目の決定を行う。

本実験は本年度始めたばかりであるが、ミニ温室の温度上昇効果は年平均気温において、約0.5℃～2℃が見込まれ、予想される地球温暖化の気温上昇に対応するものと予測される。また、ミニ温室内では植物の生育が良好になるとともに、発芽、開花が早まり、紅葉や落葉は遅延化するなど生活の季節変化に差異が現れたことも確認され、土壌・水環境の変化や、動植物相の変化が検証されるとともに実態把握の手法も確立されるものと期待される。

本研究は「人間地球圏の存続を求める東京大学ーマサチューセッツ工科大学ースイス国立工科大学三大学国際学術協力: Alliance for Global Sustainability; AGS」のプロジェクトの一つとして行われている。

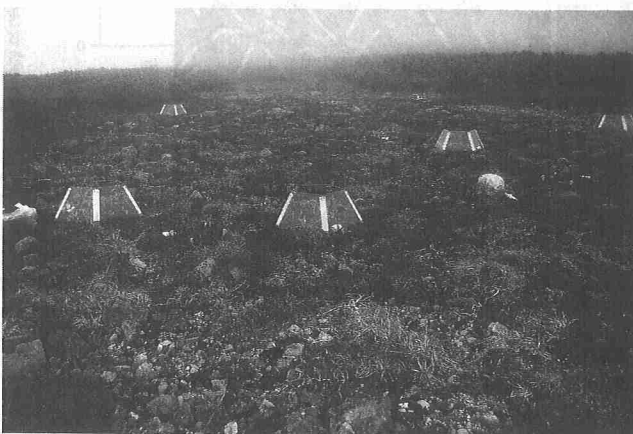


写真 1: 北アルプス・乗鞍岳の海拔2,800m付近の実験地。砂礫地を覆って背の低い(10cm程度)の高山植生が広がっている。

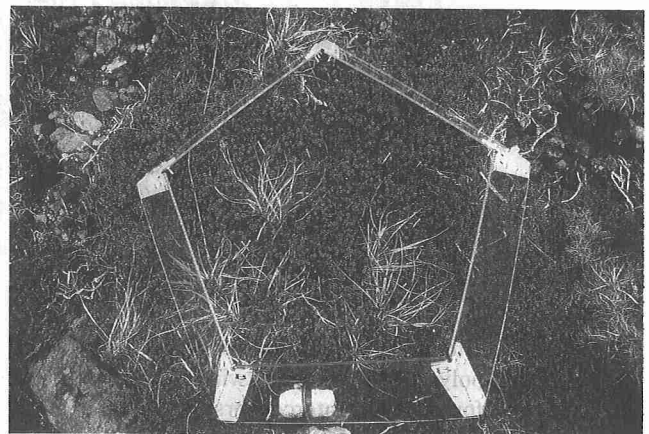


写真 2: ミニ温室(オープントップチャンバー)の内部。ガンコーランやミネズオーの矮性低木などがそれぞれのテリトリーを持ち、小さいながら一つの社会を作っている。

陸上生態系における炭素と窒素の相互作用

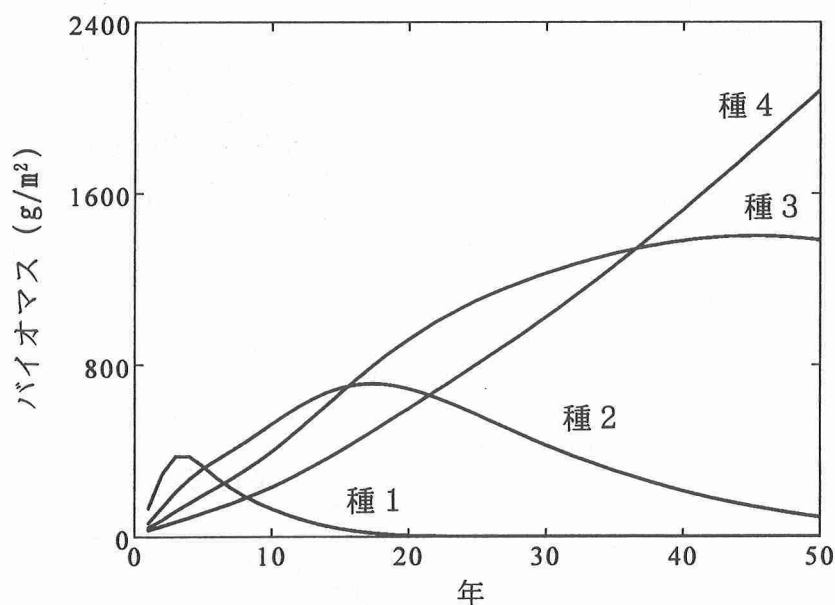
館 野 正 樹 (附属植物園日光分園)

窒素は植物にとって必須の元素であり、炭素と相互作用を持ちつつ生態系の中を循環します。炭素と窒素の相互作用の詳細は、力学系と呼ばれる数理モデルによって明らかになってきました。さらにこの力学系を発展させることで、多くの生態現象のメカニズムを説明したり、地球環境変化を理解するための手がかりを得られるようになりました。

例えば、大気中の CO_2 濃度の上昇の問題です。 CO_2 が高くなると、葉の単位タンパク量あたりの光合成が増加し、短期的には有機物生産が高まります。したがって、植物は CO_2 の上昇を抑制するはずですが、ところがこの場合、植物体の炭素：窒素比が上昇するため、落葉は土壌中での窒素の無機化を抑制します。これは、植物遺体の炭素：窒素比が大きいと分解しにくかったり、窒素が土壌微生物の体に同化されてしまうからです。そのため、植物は窒素飢餓に陥りやすく、最終的には思ったほど有機物生産は上がりません。結局、植物は CO_2 の上昇に対してそれほど抑制的には働かないはずですが。

また、時間とともに植物の種が入れ替わっていく生態遷移も、力学系に窒素を巡った競争を導入することで、ある程度矛盾なく説明できるようになりました。図は、シミュレーションの結果を示しています。窒素を巡る競争があると、遷移の初期には葉の寿命は短いけれど時間あたりの光合成速度が大きいものが優占し、後期には葉の寿命は長いけれど光合成速度の小さいものが優占します。実際の遷移の多くは、葉の寿命が短く時間あたりの光合成が盛んな草本から、中庸をいく落葉樹、そして葉の寿命が長く光合成速度の小さな常緑樹へと進行します。これは、窒素を巡った競争を重視したモデルによる予測と一致しています。

また、熱帯林では非常に多様な樹種が混在していますが、この現象も窒素を巡った競争である程度まで説明できるのではないかと私は考えています。私の研究についての一般向けの解説は、岩波書店の「科学」に来年早々掲載される予定ですので、そちらもお読みいただくと幸いです。



図：窒素を巡る競争の時間経過。ここでは同時に4種を生態系に侵入させている。種1は最も光合成速度が大きい、葉の寿命は最も短い。種2、種3、種4の順に光合成速度は低下し、葉の寿命は長くなっていく。

高エネルギー重イオン衝突実験による新しいハドロン物質相の探求

浜 垣 秀 樹 (原子核科学研究センター)
hamagaki@cns.s.u-tokyo.ac.jp

ハドロン物質の構成要素であるクォークは、通常はハドロンに「閉じ込め」られており、単体では存在しない。ハドロン多体系の有限温度格子QCD計算[1]は、相転移(臨界温度 $\sim 150\text{MeV}$)により、クォークがハドロンの殻から開放された状態(quark gluon plasma : QGP)の実現を予言している。この予言に従えば、Big Bangの後、数マイクロ秒前後に、相転移現象があった。又、高いバリオン密度の中性子星内部はQGP状態であるという予想もある。しかしながら、これらは直接的な測定が困難な対象であり、実験室でこのような状態を実現する手段として、高エネルギー重イオン衝突が注目を集めている。

1994年以来、日米科学技術協力事業(高エネルギー)のもとで、米国ブルックヘブン国立研究所におけるRHIC(Relativistic Heavy Ion Collider)でのPHENIX実験の準備を進めている。RHICは世界最初の重イオン衝突研究用の加速器で、1999年には 100GeV /核子の金原子核同士の衝突実験が開始される予定である。

PHENIX実験(ホームページ : <http://www.rhic.bnl.gov/phenix/>)には、世界10ヶ国、41機関から、430名程の研究者が参加している。PHENIX実験はQGP生成の証拠と考えられている測定量を出来るだけカバーする事を主眼として設計された。PHENIX実験の俯瞰図を図1に示す。

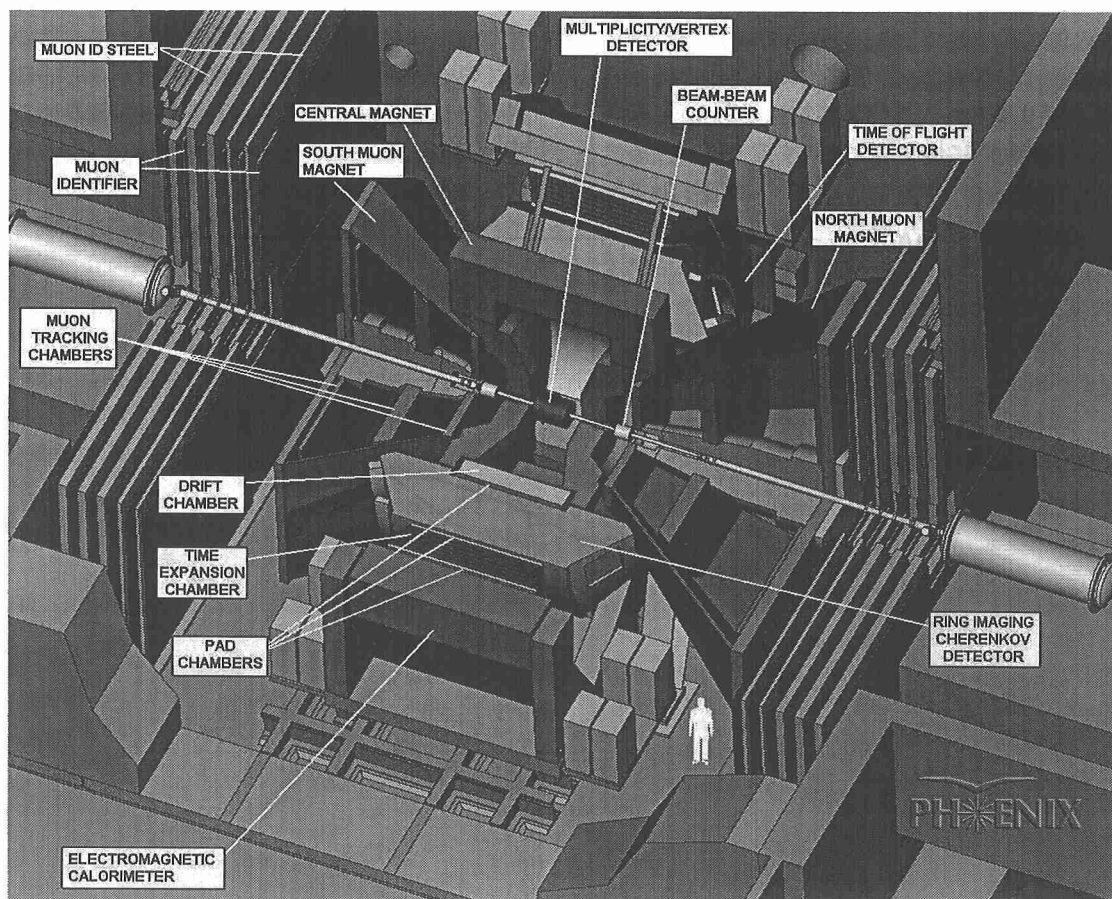


図1 PHENIX 実験装置の俯瞰図

実験装置は、衝突点近傍におかれる測定器群(内部測定器)、中央の双極磁石(中央磁石)と、それを囲む測定器群(中央アーム)、二つのミュオンアームから成る。当センターは、電子識別の主要装置である RICH (リング・イメージ・チェレンコフ・カウンター) の建設を、東大理、早大、高エ研、FSU、SUNY、ORNL、BNL と共同で推進している。私自身の主たる興味は衝突の比較的初期状態をいかにしてプローブするかという事で、その為、電子対及び、jet、open charm の測定を考えている。最近、CERN の重イオン実験で、 J/ψ の異常低収量[2]や、 ρ 以下の低い質量領域でのレプトン対収量の異常増加[3]が報告されているが、RHIC ではより包括的な研究が可能であろう。最近のシミュレーション結果の一例を図2に示す[4]。jet、open charm は、衝突の初期にのみ生成され、高いエネルギー密度ハドロン物質

中を通る時に変更を受ける為、衝突初期状態の直接的なプローブとして適当であると考えている。あと二年ほどで実験開始、読み出し回路の制作、測定器の設置と、今にも増して忙しい日々が続くが、それと平行して、実験に臨む体制作り、より具体的な測定プラン作りを進めていきたい。

参考文献

- [1]最近の格子 QCD 計算の結果 :E. Laermann, Nucl. Phys. A610 (1996) 1c.
- [2]M. Gonin et al. (NA50 collaboration), Nucl. Phys. A610 (1996) 404c.
- [3]Th. Ullrich et al. (CERES/NA45 collaboration), Nucl. Phys. A610 (1996) 317c.
- [4]Y. Akiba, Presented in the International Workshop on Soft Dilepton Production at LBNL, Aug. 20-22 1997.

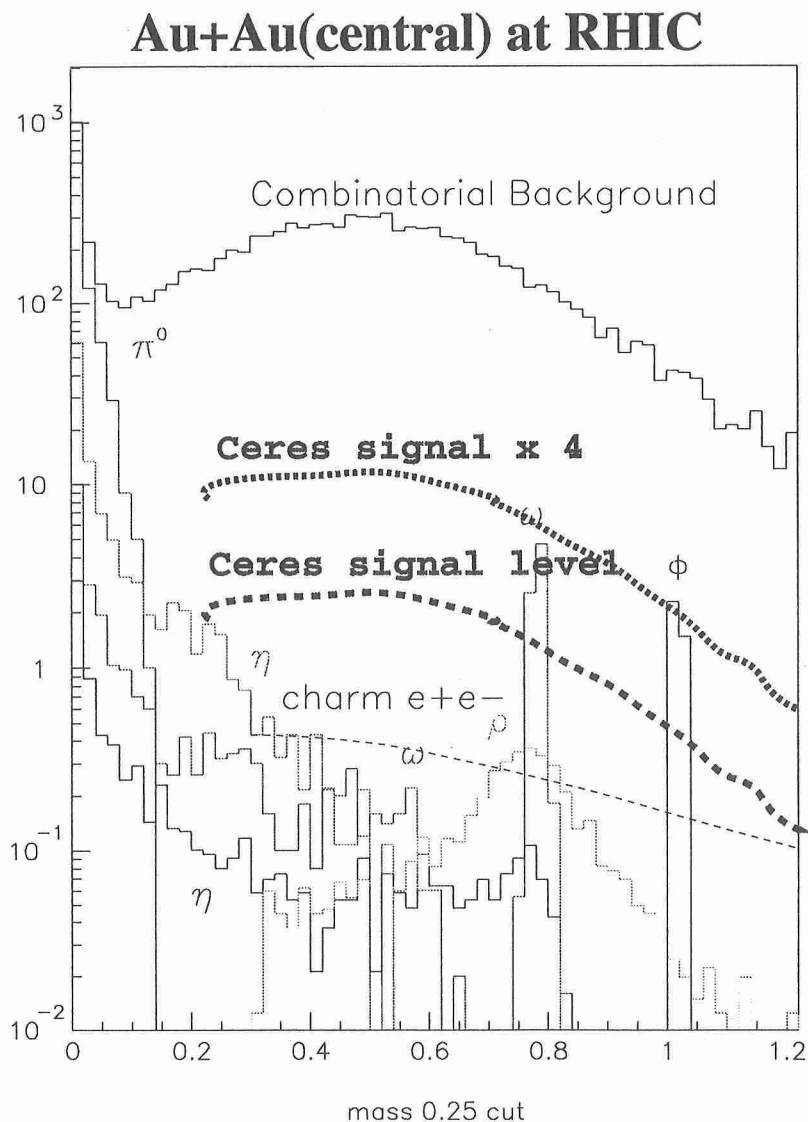


図2 RHIC-PHENIX での金・金中心衝突における e^+e^- ペアの前想質量分布。