

CASE 1

## 分子メカニズム ダウン症で脳発生が異常になる

ダウン症は、およそ700人の新生児あたり1人という高頻度で生じる遺伝子疾患である。

ほぼすべてのダウン症患者は精神遅滞を発症し、これに伴って、脳を構成する神経細胞やグリア細胞の数や密度に変化が生じている。

私共は、この変化を引き起こす分子メカニズムの解明に挑み、グリア細胞の一種である「アストロサイト」の産生増加に寄与するヒトの21番染色体上の遺伝子を発見した。

ダウン症は、高齢出産で発症頻度が急激に上昇するため、現代社会において大きな関心を集めている。この疾患の症状としては、特有の顔つきや心臓奇形などが認められるほか、ほぼすべての患者が精神遅滞を発症する。脳は健常者と比較して小さく、組織学的に観察すると、神経細胞の密度が減少すると共に、グリア細胞の一種であるアストロサイトの密度が増加している。正常なアストロサイトは神経細胞の生存や正常な機能発現に寄与するが、近年の研究により、ダウン症脳におけるアストロサイトは、神経細胞の生存を妨げることが明らかとなった。そのため、ダウン症脳におけるアストロサイト数の増加は神経細胞数の減少を引き起こすと考えられ、これが精神遅滞を引き起こす一因と推察される。こうしたダウン症の症状は、21番染色体が3つに増え、その染色体上にある遺伝子の発現量やはたらきが1.5倍に増加することが原因とされる。21番染色体には約300の遺伝子が存在するものの、どの遺伝子がアストロサイト数の増加に関与しているのかは謎であった。

アストロサイトは、周産期以降に神経前駆細胞と呼ばれる親細胞から誕生する。私共は、ヒト21番染色体上の約80遺伝子に相当する遺伝子が3つに増えているマウス（ダウン症モデルマウス）において、神経前駆細胞からのアストロサイトの産生（アストロサイト分化）が促進していることを発見した。そこで次に、このモデルマウスにおいて発現量が増加している遺伝子の中で、アストロサイト分化に影響を与える因子を探索した。その結果、DYRK1Aというタンパク質リン酸化酵素をコードする遺伝子を見出した。具体的には、子宮内胎児電気穿孔法という手法によってDYRK1A遺伝子をマウス胎児脳の神経前駆細胞に導入し、DYRK1Aのリン酸化活性を増加させると、神経前駆細胞のアストロサイトへの分化が促進した。一方、同様の方法を用いて、ダウン症モデルマウスの神経前駆細胞においてDYRK1A遺伝子の発現量を減少させると、アストロサイト分化の促進が緩和された。

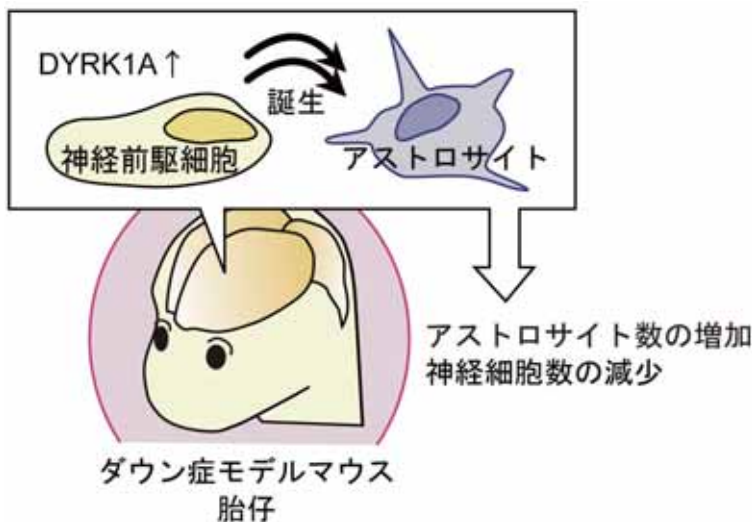
さらに私共は、アストロサイト分化を制御する転写因子STATの働きが、ダウン症モデルマウスの神経前駆細胞において異常に活性化していることを見出した。また、このSTATの活性上昇にDYRK1Aの過剰発現が寄与することを明らかにした。以上の発見は、21番染色体上に存在するDYRK1A遺伝子が神経前駆細胞の働きにとって重要な役割を担っており、ダウン症ではこの遺伝子の量が増え、STATの働きが異常に亢進することによって、神経前駆細胞の制御が異常になることを示している。

本研究の成果は、ダウン症における脳発生異常の仕組みの理解を大きく前進させる知見であり、ダウン症の脳発生異常を緩和する治療法の確立に重要な指針を提供することが期待される。

本研究は、N.Kurabayashi *et al.*, *EMBO reports*, 16, 1548 (2015) に掲載された。

(2015年9月16日プレスリリース)

ダウン症の神経前駆細胞においてはDYRK1A遺伝子が約1.5倍に過剰発現している。この過剰発現によって神経前駆細胞の制御が異常になり、アストロサイトが生み出されやすくなる。これが、ダウン症脳におけるアストロサイト数の増加や神経細胞数の減少を引き起こす要因の一つであると示唆された。



## CASE 2

### 空気中の窒素でレーザーを増幅する

レーザーとは誘導放出による光増幅のことを言い、気体、液体、固体の様々な増幅媒質が知られている。フェムト秒レーザーパルスを集光して空気中の分子を電離したレーザーフィラメントにおいて、光が増幅されることは知られていたが、増幅機構は未解明であった。我々は実験と理論モデルの数値シミュレーションから、光の増幅過程に必要な条件である反転分布が窒素分子イオンで達成されていることを示した。本研究成果は、強いレーザー場やプラズマにおける光の増幅過程や発光過程の解明につながると期待される。



物質にレーザー光を照射して電子を電離（イオン化）すると、最もエネルギーの低い電子状態（電子基底状態）をもつ原子イオンや分子イオンが主に生成することが知られている。一方、強度の高いフェムト ( $10^{15}$ ) 秒レーザーを集光して空気中の窒素分子をイオン化すると、レーザーフィラメントと呼ばれるプラズマの細い筒が生成する。レーザーフィラメントにおける様々な分子や分子イオン種からの蛍光発光や光の増幅について、数多くの報告がある。例えば、窒素分子イオンの電子状態の中で3番目にエネルギーが低い電子状態（第二励起状態）から電子基底状態へ変化する際の増幅光は、波長 391 ナノメートルに観測されている。このことは、生成した窒素分子イオンで第二励起状態の方が電子基底状態よりも分布数が多いこと（反転分布）を示す。しかし、その反転分布の原因は未解明であった。

本研究において我々は、4～6 フェムト秒という極めて短い時間しか存在しない数サイクルレーザーパルスを集光してレーザーフィラ

山内 薫

(化学専攻 教授)

徐 淮良

(吉林大学 教授 / 化学専攻 客員)

ローツステット・エリック

(化学専攻 助教)

岩崎 純史

(超高速強光子場科学研究センター 准教授)

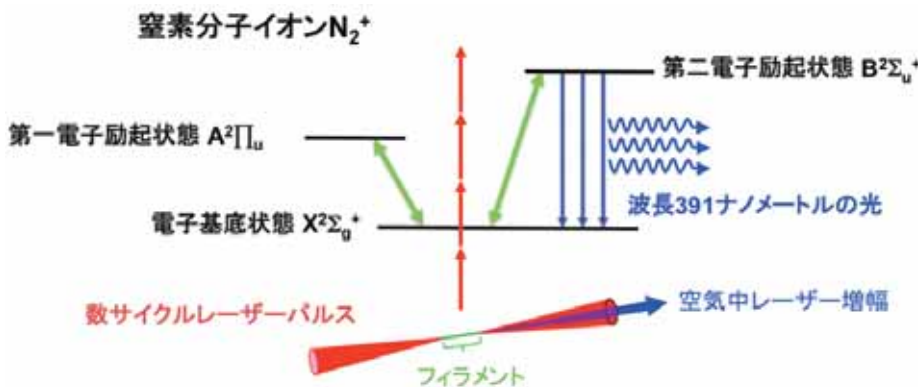
ントを生成し、窒素分子を電離する実験を行った。レーザー進行方向で、窒素分子イオンの第二励起状態から電子基底状態への光の増幅が、測定したスペクトルに観測された。このことは、数フェムト秒という非常に短い時間に反転分布が達成されたことを示す。従来の電子衝突や電離した電子の再散乱による電子エネルギーの励起過程では反転分布の達成は難しいため、新しい理論による説明が必要となった。

反転分布の原因を解明するため、図に示すように窒素分子イオンの3つの電子状態について、レーザー電場により誘起される双極子遷移を考慮した理論モデルの数値シミュレーションを行った。各電子状態の分布数の時間変化とレーザー電場強度依存性を調べたところ、レーザー電場強度が大きい場合はレーザー場の存在によって電子基底状態と第一および第二励起状態が相互作用することが示された。相互作用によりレーザー増幅過程に関与する第二励起状態の分布数が増加するだけでなく、その過程に関与しない第一励起状態の分布数も増加することが示された。以上の結果から、窒素分子イオンの電子基底状態から高エネルギーの第一および第二励起状態へ分布が移動し、第二励起状態の分布数が電子基底状態の分布数を上回ることで反転分布が起ることを明らかにした。

本研究成果は、強いレーザー場により誘起されるプラズマ発光とレーザー増幅の機構解明や、リモートセンシングへの応用につながると期待される。

本研究は H. Xu *et al.*, *Nat. Commun.* **6**, 8347 (2015) に掲載された。

(2015年9月25日プレスリリース)



窒素分子イオンの3つの電子状態の相互作用による空気中のレーザー増幅機構

小澤 岳昌  
(化学専攻 教授)

黒田 真也  
(生物科学専攻 教授)

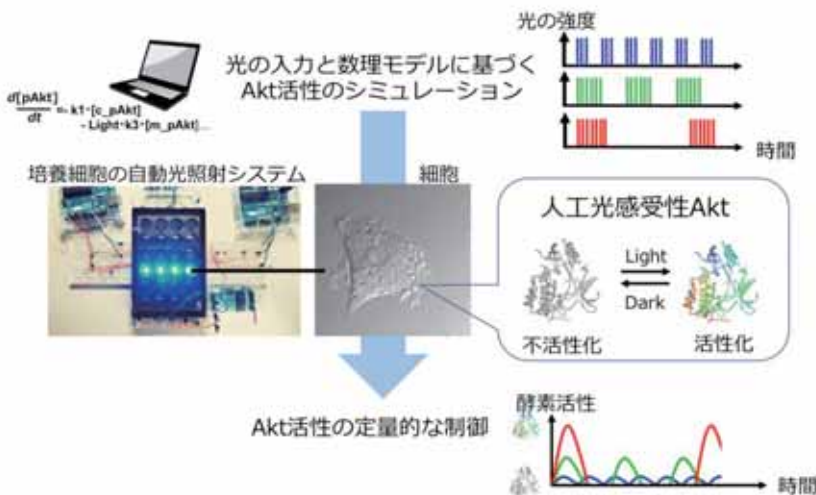
桂 嘉宏  
(化学専攻 博士課程3年生)

## 光で酵素を操り細胞内シグナルを分析する

生体内ではたらく酵素は、細胞内のシグナルを調節する重要なタンパク質の一つである。医薬品に代表されるように、酵素活性を制御する化学物質は、過剰な生理機能をとめたり、不足を補ったりする目的で、長い歴史の中で数多く開発されてきた。しかし化学物質では、任意のタイミングで特定の場所の酵素活性を操作することができない。この程、我々は光をつかって細胞内の酵素のはたらきを意のままに操作する技術を開発した。この技術を用いて、「酵素活性の時間的変動パターン」を人為的に操り、その酵素の生物学的意義に迫った。



細胞内における酵素活性は、睡眠や栄養摂取、また温度変化などの細胞外のさまざまな要因に応じて、時々刻々変化する。疾患のもととなる細胞では、ある時には酵素が活性化し過ぎたり、逆に不活性化したりと、その時間的変化に異常がみられる。これらの時間的変化の生物学的意義や、細胞のふるまいに対する寄与の程度は、未だ謎に包まれている。酵素活性を「はかる」分析技術は確立しているものの、生きた細胞内の特定の酵素活性を「時間的・空間的に操作する技術」が乏しいためである。



本研究では、光感受性を有する人工の酵素を作製し、細胞外部から光を照射して細胞内の人工酵素を活性化させるシステムを開発した。光操作の対象には、タンパク質リン酸化酵素 Akt を選択した。Akt は糖尿病やガンなどの疾患において、その活性が異常な時間的変動を示すことが知られている。そこで我々は、植物由来の光受容タンパク質を Akt に連結して、人工の光感受性酵素を開発した。外部光照射と暗状態をあるタイミングで切り替えると、この光感受性酵素の活性化状態と不活性化状態を分単位で切り替えることができた。また、光照射のタイミングと Akt 活性化の時間変化を対応づけ、Akt 活性の定量的な光操作を実現した。

開発した手法を用いて、強度が異なる3つのAkt活性の時間変動パターンをつくり、それぞれのもとでの細胞のふるまい (Aktによって調節される遺伝子発現) の変化を解析した。その結果、Akt活性が強く頻度が低い活性化のパターンよりも、頻度が高くAkt活性が低いパターンのほうが、細胞のふるまいの変化が大きかった。重要な点は、開発した技術では定量的な操作が可能であるため、3つの時間パターンにおけるAkt活性の総量は同一に設定した点にある。すなわち、酵素活性の総量が同じでも、その時間的な変動が異なれば、細胞のふるまいも変化することを示している。Akt活性の時間的変動パターンに生物学的意義があることを実験的に示す結果である。

今後は、Akt活性の時間変動による生物学的意義をさらに探求し、マクロな生命現象の文脈における時間変動の仕組みや破綻の意義について、疾患などと関連づけた理解を目指す。それとともに、開発した技術を他のさまざまな酵素に適用し、酵素活性の時間的変動パターンが有する生物学的意義をさらに探求する予定である。

本研究は、Y. Katsura *et al.*, *Sci. Rep.* 5, 14589 (2015) に掲載された。

(2015年10月1日プレスリリース)

Akt に連結した人工光感受性酵素を培養細胞に導入し、細胞に異なるタイミングで光を照射する。光照射の時間パターンが決まれば、細胞内シグナルの数理モデルに基づき、Akt活性の時間変化を定量的に予測することができる。

## CASE 4

### 最初の植物の姿 超高压電子顕微鏡が描きだす

光合成をする植物のはじまりは今から10~20億年前であり、真核細胞がその内部に共生したシアノバクテリアを葉緑体にする事で「一次植物」になった。

しかし、最も原始的な一次植物である「灰色植物」内の一群では細胞が厚い細胞壁で覆われているので走査電子顕微鏡の観察ができません、最初の植物細胞がどのような姿であったかは謎に包まれていた。

今回我々は、世界最高加速電圧の超高压電子顕微鏡を用いることで、厚い細胞壁で覆われた灰色植物の細胞内部の微細な三次元構造を明らかにし、最初の植物細胞の微細構造を初めて立体的に推測した。



葉緑体をもつ植物細胞の起源と植物界の定義に関して、我々はゲノム情報をより正しく使用して明らかにしようとした研究を2003年から開始した。その結果、一次植物の祖先から二次植物（一次植物が2回目の共生で葉緑体となったミドリムシ類や褐藻類等）や無色の原生生物が進化したという「『超』植物界仮説」を2007年に提唱した。その後、世界の研究者が競ってこの仮説を覆そうとしたが、現時点ではゲノム配列情報から本仮説を肯定することも否定することもできないとする論文が最近発表された。従って、ゲノム配列以外の情報から植物の起源を探ることも重要と考え、

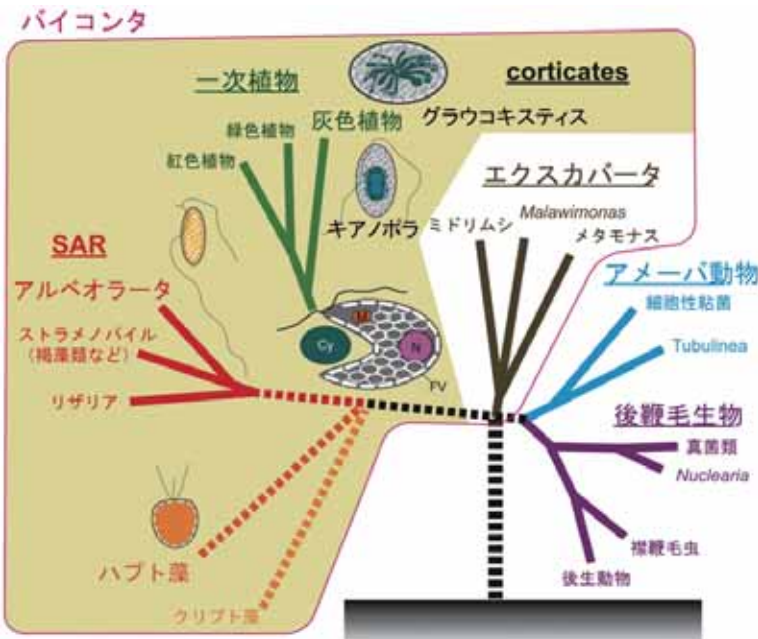
今回、最も原始的と考えられている一次植物「灰色植物」の形態学的研究を実施した。灰色植物は単細胞~群体性の淡水産の生物で葉緑体の色素組成や分裂様式がシアノバクテリアに極めて類似しており、葉緑体を獲得した直後の始原的植物細胞を明らかにするモデル生物群でもある。

灰色植物には2大系統があり、一方が細胞壁を欠く鞭毛型細胞のキアノボラ (*Cyanophora*) であり、もう一つが厚い細胞壁で覆われた不動細胞をもつグラウコキスティス (*Glaucocestis*) 等の系統である。我々は2014年にキアノボラの細胞表層構造を超高分解能「電界放出形走査型電子顕微鏡 (FE-SEM)」などの複数の電子顕微鏡法を用いて明らかにした。特にFE-SEMは細胞壁のないキアノボラ の原形質体を表層から直接観察するのに有効であり、細胞膜の内側を裏打ちする細胞全体を覆う密な小葉状の扁平小胞を明らかにした。しかし、細胞壁で覆われたグラウコキスティスの原形質体表層の観察にはFE-SEMが有効でないのは明らかであった。また、2大系統の一方だけの情報で灰色植物の共通の祖先を推測することはできない。

今回我々は大阪大学超高压電子顕微鏡センターとの共同研究で、当センターが保有する世界最高加速電圧の超高压電子顕微鏡を用いることで厚い細胞壁で覆われているグラウコキスティスの原形質体表層の微細な三次元構造を明らかにした。この構造はグラウコキスティスの細胞膜全体を小葉状の扁平小胞が密に裏打ちするというものであり、基本的にはキアノボラのものと同じであった。従って、このような微細三次元構造をもつ祖先細胞が葉緑体を獲得したという「10~20億年前の最初の植物の姿」が推測された(図)。今後、他の真核生物の微細構造を明らかにすることで、光合成植物の起源の理解がより深まると期待される。

本研究成果は、T. Takahashi *et al.*, *Sci. Rep.* 5, 14735 (2015) に掲載された。

(2015年10月6日プレスリリース)



今回の成果を基にして考えられる最初の植物細胞の進化の模式図。シアノバクテリアを取り込み葉緑体にしたとされている最初の植物細胞（一次植物の祖先）が今回灰色植物で明らかになったような細胞膜を密に裏打ちする扁平小胞をもつ単細胞生物であったと考えられる。同様の細胞膜を裏打ちする構造が二次植物のハプト藻類等でも認められる。なお、「超」植物界仮説では一次植物はこのようなとまらない。褐藻類、アルベオラータの一部、クリプト藻、ミドリムシも二次植物である。「SAR」はストラメノバイル、アルベオラータ、リザリアの総称である。Cy, シアノバクテリア; FV, 扁平小胞; M, ミトコンドリア; N, 核。