11月号（第336号）2004.11

臨床研ニュース

（財）東京都医学研究機構
東京都臨床医学総合研究所
THE TOKYO METROPOLITAN INSTITUTE OF MEDICAL SCIENCE(RINSHOKEN)

ISSN 0914-0735　第336号（平成16年11月号）平成16年11月30日発行　（財）東京都医学研究機構　東京都臨床医学総合研究所　〒113-8613　東京都文京区駒込3-18-22　Tel 03-3823-2105　内線 5131　FAX 03-3823-2965
バックナンバーは第257号（平成10年4月号）から臨床研ホームページ（http://www.rinshoken.or.jp/）でご覧いただけます。

目　次

研究部門紹介 ……1〜3
ホットトピックス ……4〜6
びゅうぽいんと ……7
ポスター発表奨励賞受賞 ……8
研究支援センター紹介 ……9〜10
お知らせ ……11
　図書館ニュース
海外留学報告 ……12

研究部門紹介

ガラクトシルセラミド発現因子-1とがん細胞転移

腫瘍免疫研究部門

小倉　潔

ガラクトシルセラミド

ガラクトシルセラミド（GalCer）は1残基のセラミドに1残基のガラクトースがβ配位した構造を持つ最も単純なスフィンゴ糖脂質であり、高等動物に最も大量に存在しているスフィンゴ糖脂質である。GalCerとその硫酸化誘導体スルファチドはオリゴデンドロサイトの分子マーカーであり、小脳の湿重量の3割を占めるほど大量にミエリンに局在している。したがって、以前からGalCerとスルファチドがミエリンの形態形成や機能に関与していると考えられてきた。近年になって、GalCerを生合成するセラミド：ガラクトース転移酵素の欠損マウスが作製され、GalCerとスルファチドがミエリンの機能を担う重要な物質であることが証明された。近年、α配位を持つαGalCerがNKT細胞のリガンドとして同定され、人気を博しているが、αGalCerは自然界では未だ発見されていない。

ガラクトシルセラミド発現因子-1 (GEF-1)

腫瘍免疫部門では、このGalCer（β配位体）の発現と調節に注目して、抗GalCer抗体を用いた真核細胞発現クローニング法により、GalCerの発現を制御する蛋白cDNAのクローニングを試みた。最終的に、COS-7細胞において、GalCer発現を誘導するラット脳由来の蛋白、ガラクトシルセラミド発現因子-1（GalCer Expression Factor-1,GEF-1）のcDNAを単離した。その塩基配列から、GEF-1はマウスHGF-regulated tyrosine kinase substrate（Hrs）のラットオルソログと考えられた。Hrsはマウスメラノーマ B16細胞においてHGF刺激後早期にチロシンリン酸化をうける蛋白として同定、クローニングされた蛋白である。Hrsのジンクフィンガー領域（FYVE領域）は、ホスファチジルイノシトール－３－リン酸と結合する知見が得られており、種々のタンパク質の膜輸送に重大に関与していると考えられている。一方、HrsはIL-2によってもチロシンリン酸化を受け、過剰発現させるとIL-2刺激による細胞増殖を阻害する知見や、Smadの情報伝達経路に関与している知見が得られている。

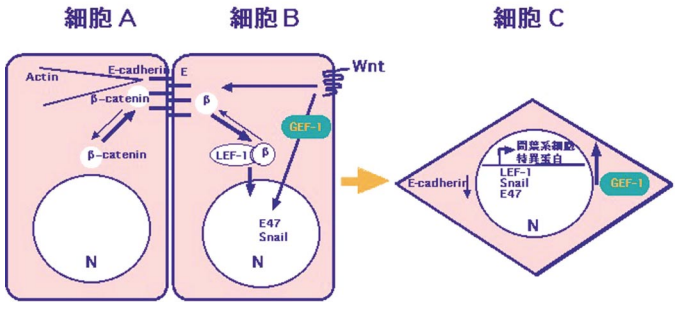


図-1 形態形成期における上皮・間葉系細胞変移の模式図

gastrulation期において胚体外胚葉細胞層（細胞A）から間葉系細胞（細胞C）が生じる。**細胞A**, 細胞間接着分子E-cadherin（E）と細胞内アクチンフィラメントを細胞膜直下に局在しているβ-cateninがつなぎ合わせて上皮細胞層の細胞の形態を維持している。**細胞B**, 細胞外からWntシグナルが細胞内に伝達されると、β-cateninは細胞質に移動し、LEF-1と結合する。この複合体は核に移行し、E-cadherin発現を抑える。さらに、転写因子Snail、E47が発現、核移行し同じくE-cadherin発現を抑え、間葉細胞特異的蛋白の発現を誘導する（**細胞C**）。細胞C, 細胞間結合が崩壊し、細胞形態が変化し、高い運動能を獲得する。GEF-1はWntからの情報伝達に関与していると考えられる。

これまでのGEF-1研究

腫瘍免疫部門では、GEF-1によるGalCer発現誘導の関連解明を目標として研究を進めてきた。GEF-1蛋白と GalCer発現の関連を明らかにするために、種々の培養細胞にGEF-1蛋白を安定発現させ、その特性変化を検討した。COS細胞ではGEF-1により、GalCer発現誘導、アクチン重合阻害と多核細胞の誘導が認めている。また、骨格筋細胞、脂肪細胞や軟骨細胞に分化可能なC3H10T1/2細胞では、GEF-1の導入により、筋芽細胞へ分化誘導が認められた。現在までに、GEF-1は種々の細胞イベントに関与することが明らかとなっている。今回は、GEF-1による上皮細胞・間葉系細胞転換（Epithelial-Mesenchymal Transition, EMT）の誘導とがん細胞転移への関与について簡単に述べたい。

GEF-1とEMT

イヌ腎由来MDCK細胞にGEF-1蛋白を安定発現させたMDCK/GEF-1細胞では、1）顕著に伸展した紡錘形の線維芽細胞様への形態変化、2）運動性、浸潤性の高進や造腫瘍能の獲得、3）間葉系細胞特異的蛋白の新規発現、ビメンチン、ファイブロネクチン、α-平滑筋アクチン、MyoDやミオシン重鎖蛋白の新規発現、4）E-カドヘリン・β-カテニンの細胞質への移行とE47、Smadの核移行が認められた。これらの知見は、GEF-1が上皮細胞・間葉系細胞転換 (Epithelial-Mesenchymal Transition, EMT)を誘導し、上皮系細胞のMDCK細胞を間葉系細胞に転換したことを示唆している。EMTでは外界からのWntシグナルに対応して数々の情報伝達の結果として、核内の転写調節因子が働きE-cadherin発現の抑制、間葉系細胞蛋白の発現が始まる。その結果、細胞間結合が崩壊、細胞形態が変化し、細胞は高い運動能を獲得する（図-1）。MDCK/GEF-1細胞における知見は、GEF-1がこのEMT誘導の情報伝達機構に関与していることを強く示唆している。

EMTは、Wntのシグナルにより誘導される胎児形態形成初期における必須の過程である。胎児形態形成においては、外胚葉由来の細胞が中胚葉由来の細胞へと転換する過程や神経堤の形成にEMTが誘導されている。一方、EMTはがん細胞転移における浸潤及び血管内移行にも大きく関与している。原発巣で増殖したがん細胞は基底膜浸潤過程、そして血流への遊離過程を経て転移することになるが、これらの過程はEMTによって誘導される。EMT誘導の*in vitro* モデルとしては、HGF刺激によって引き起こされる、MDCK細胞の細胞間結合の崩壊と運動性の増加現象であるスキャッタリング過程が挙げられる。

CQ領域によるEMT誘

GEF-1蛋白はN末端側からジンク-フィンガー 配列持つ領域（Z)、高プロリン領域（P)、コイルド-コイル領域 (C)、そして高プロリン・高グルタミン領域（Q）から構成されている。これら領域の欠損変異体のEMT誘導能をMDCK細胞の形態変化とHGF刺激によるスキャッタリング過程を指標として検討した。その結果、EMTはC末端側のCQ両領域によって誘導されていることが明らかとなった。しかし、C領域、Q領域ともに

GEF-1欠損変異細胞	HGF未刺激時のEMT誘導	HGF刺激時のEMT誘導
ZPCQ	+	+
PCQ	+	+
CQ	+	+
Q	−	+
ZP	−	+
Z	−	+
P	−	+
ZPC	−	−
PC	−	−
C	−	−

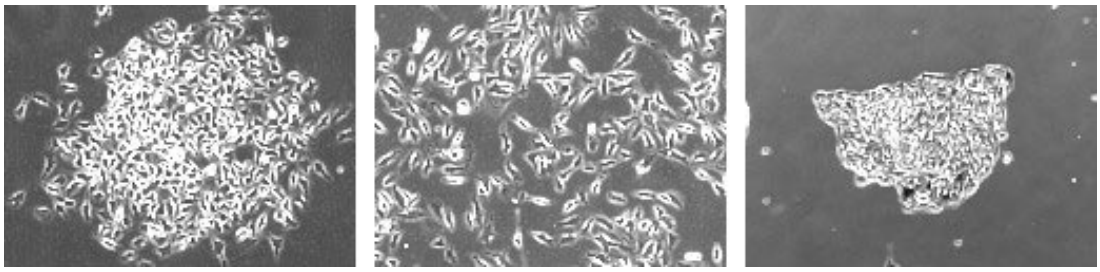
: EMT誘導能を有するグループ

: EMT誘導なし、HGFによるEMT誘導を受けるグループ

: EMT誘導なし､HGFによるEMT誘導を受けないグループ

図-2　GEF-1欠損変異体によるEMT誘導

単独ではEMTを誘導することはできなかった。一方、C領域強制発現MDCK細胞（MDCK/C細胞）は親株MDCK細胞よりも堅牢な敷石状形態を示し、細胞運動能が低下していた。さらに、MDCK/C細胞はHGF刺激



B16細胞　　B16/GEF-1細胞　　B16/C細胞

図-3　GEF-1およびC領域強制発現B16細胞の運動性
各細胞を1つの細胞から増殖させ、そのコロニー形態を撮影した。

による*in vitro* EMT誘導に対しても無応答となっていた。この現象はZPC、PC領域高発現MDCK細胞にも認められたが、Q領域高発現MDCK細胞では認められなかった。GEF-1のEMT誘導にはCQ領域が必須であり、一方、CQ領域のうちのQ領域を欠いたC領域はドミナントネガティブ的にEMT誘導シグナルを阻害した（図-2)。

GEF-1とがん細胞転移

MDCK細胞実験からGEF-1がEMT誘導に関与していることが明らかとなった。一方、EMTはがん細胞転移に大きく関与する過程であり、GEF-1とがん細胞転移の関連性に興味が持たれた。そこで、転移性マウスメラノーマB16細胞を用いて、GEF-1のがん細胞転移に関する検討を行った。その結果、GEF-1を強制発現させたB16細胞（B16/GEF-1細胞）は*in vitro*での運動性（図-3)、マトリゲル浸潤性が高進していた。他方、GEF-1のC領域のみを強制発現させたB16細胞(B16/C細胞)では*in vitro*での運動能、マトリゲル浸潤能がほとんど完全に抑制された。次に、B16/GEF-1細胞やB16/C細胞をC57BL/6マウス尾静脈より投与した後のマウスの生存日数を比較し、*in vitro*でのがん細胞転移能実験を行った。B16細胞、対照B16/bsr細胞では50%生存日数が42日であったのに対し、B16/GEF-1細胞では25日であり、大幅に50%生存日数が減少していた。逆に、B16/C細胞では、50%生存日数は87日であり、B16細胞の２倍以上大幅に延長していた。これらの知見から、GEF-1はがん細胞の細胞運動に関与する蛋白であり、発現量の増加により、がん細胞転移を促進することが示された。また、GEF-１のC領域はがん細胞に発現させることにより、がん細胞転移を抑制することが認められた。

臨床応用へ

GEF-1はがん細胞の運動能・浸潤能および血行性転移能獲得に重要な役割を果たしている。したがって、GEF-1はメラノーマをはじめ、がん細胞の悪性度診断マーカーとしての臨床応用の可能性が期待される。また、GEF-1は転移抑制薬剤の標的候補分子として、RNAiをはじめとした遺伝子治療の可能性が期待される。一方、GEF-１/C領域は、がん細胞の運動能・浸潤能、血行性転移を著明に抑制する。GEF-1によるEMT誘導に対して、C領域はドミナントネガティブ体として機能すると考えられる。したがって、C領域を転移抑制薬剤の標的候補とした遺伝子治療の可能性も期待される。

筆　者　紹　介

「どんな研究をなさっているんですか？」と専門外の一般の人に尋ねられた時ほど困惑してしまうことはなかった。「えー、細胞が…で…ごにょごにょ…なんですよ。」と全く要領を得ない回答をしてしまう。もちろん相手は全く理解できないので、？？？状態で「はーあー。…」とため息のような相槌があった後、会話が途切れ、しばしの沈黙が訪れる。お互いに話の糸口を探して視線が右往左往してしまう。しかし、最近は「ガンです。」と一言で答えることにしている。これほど相手に納得してもらえる言葉はない。その後、「ああ、そうなんですか。」とガンの話が続かなくても、相手には回答を充分に満足してもらえる。その後に空虚な沈黙は訪れず、次の話題へ簡単に展開していける。今は、臨床研の腫瘍免疫部門でガンの研究が行えることにたいへん満足している。

ホットトピックス

まだあるよ、ユビキチン様修飾システム～Ufmだってやっているタンパク質修飾～

分子腫瘍学研究部門・小松雅明

はじめに。今年のノーベル化学賞は「ユビキチンを介したタンパク質分解の発見」として、昨年臨床研セミナーをして頂いたアーロン・チカノーバー博士、アブラハム・ハーシェコ博士、アーウィン・ローズ博士に授与され、ユビキチン研究が最盛期を迎えているようです。ユビキチンにより標識されたタンパク質の分解を担うプロテアソームを発見した我らが田中先生の名前も各新聞紙上に取り上げられ、当研究室の掲示板は新聞で埋め尽くされつつあります。

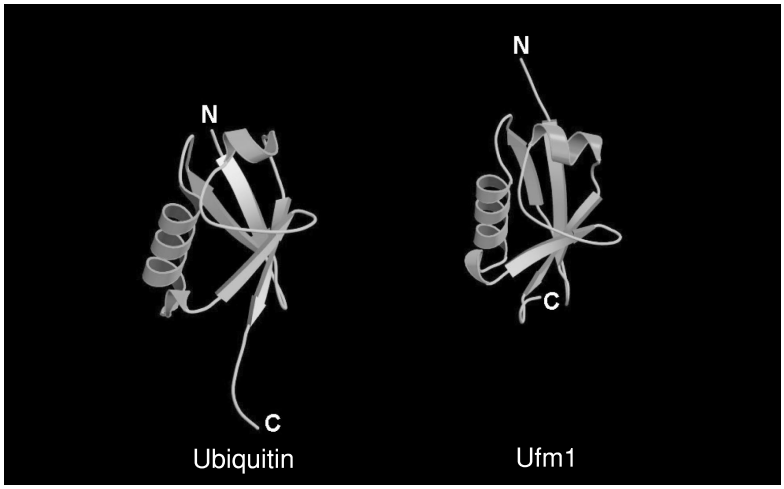


図1　ユビキチン（左）とUfm1（右）の立体構造

ユビキチンは、76アミノ酸からなる小さなタンパク質であり、長短２個のαヘリックス構造と５個のβシート構造がβββαββαβの順に並んだ二次構造を持ち、非常に安定なフォールド（ユビキチンフォールド）を有するタンパク質である（図１左)。ユビキチンは、E1（活性化酵素）・E2（結合酵素）・E3（リガーゼ）のカスケードにより、C末端グリシンのカルボキシル基が標的タンパク質のリジン残基にイソペプチド結合する。この標的タンパク質へのユビキチン化は、プロテアソームでの分解の目印となるだけでなく、エンドサイトーシス、DNA修復、タンパク質間相互作用など多彩な機能を担う。この反応系自体は、25年以上も前に上記のノーベル賞受賞者らにより発見されていたが、ここ５～６年の間にユビキチン化に類似したカスケードにより標的タンパク質を修飾する分子Ubiquitin-like modifier （Ubl）が、相次いで同定され、その意義が明らかにされつつある（図２)。ユビキチンによるタンパク質修飾は主にプロテアソームによる分解シグナルとなるが、Ublによるタンパク質修飾（ユビキチン様修飾）は分子集合や機能変換を担うと考えられる。ユビキチン様修飾反応の一つであるAtgシステムは、基礎生物学研究所の大隅良典教授、当研究所の代謝制御部門の水島室長らにより発見されたバルクなタンパク質分解経路オートファジーに必須な反応系である。約４年前、筆者らは、Atgシステムのモディファイヤー分子の一つGATE-16をbaitにしてYeast two-hybridスクリーニングを行った。その結果、GATE-16はE1様酵素Atg7により活性化されることが明らかにされているが、GATE-16結合タンパク質として別のE1様酵素

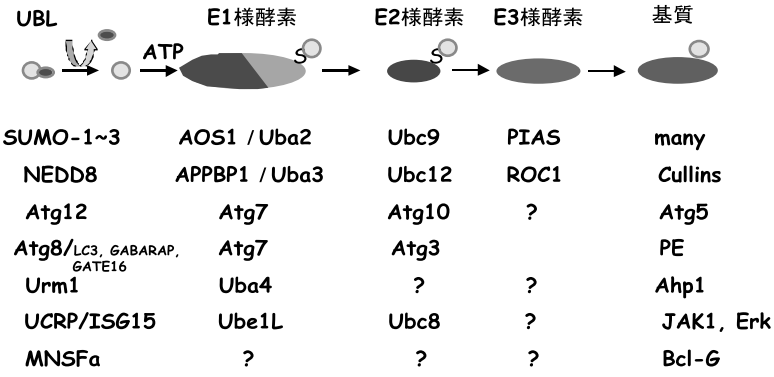


図2　ユビキチン様タンパク質（Ubl）による翻訳後修飾機構

（Ubiquitin-activating enzyme 5: Uba5）を同定した。Uba5は内在性の何かしらのタンパク質を活性化することは直ぐに確認できたのだが、ここから３年間なんの進展もなく研究室内でも忘れられようとしていた。そんな時に現れたのが,産業技術総合研究所の夏目徹先生であった。夏目先生らのnano-LC-MS/MS解析により、１ヶ月でUba5結合タンパク質として「小さく、いかにもC末端が切れてグリシンを露出しそうな分子」、「ユビキチン結合酵素（E2）の活性化部位に似た領域を持つ分子」及び「GATE-16」が同定された。小さなタンパク質は線虫ホモログの構造解析が行われており、それをもとにしたヒトホモログの構造予測の結果、ユビキチンフォールドを有することが明らかになり、Ubiquitin-fold modifier 1（Ufm1）と名前を付けた（図１右）。Ufm1は予想通りC末端が切断されグリシンを露出した成熟型となり、その後、Uba5（E1様酵素）によりATP依存的に活性化される。一方、E2に似たタンパク質は、Uba5により活性化されたUfm1が転移されることより、Ufm1-conjugating enzyme 1（Ufc1）と名付けた。Ufm1は、最終的に細胞内のタンパク質と共有結合体を作ることから、Ufm1はUba5による活性化後、Ufc1に転移され、最終的に細胞内タンパク質と共有結合するモディファイヤー分子であることが明らかになった（図３、Komatsu et al. EMBO J. Vol. 23, 1977-1986, 2004）。

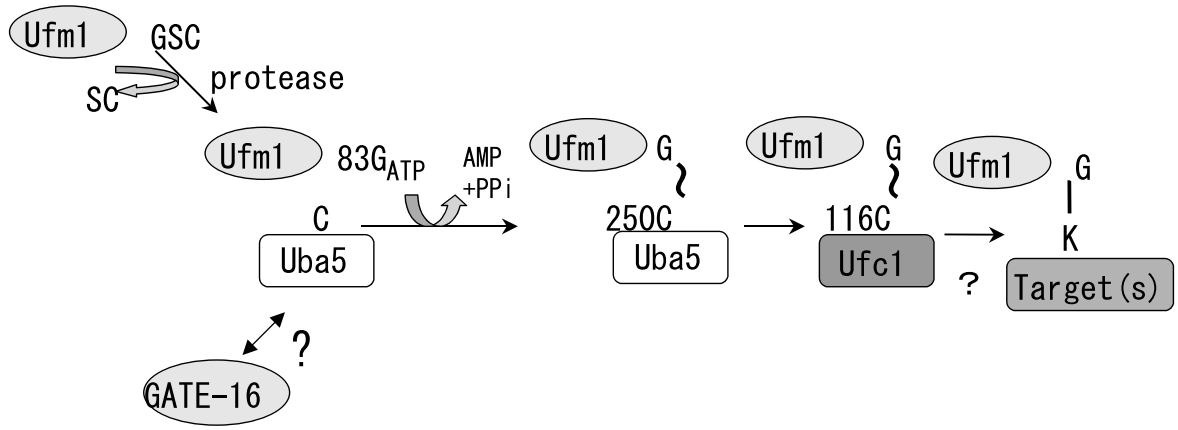


図3　Ufm1修飾システム

これら反応系に関わる分子は酵母には存在せず、植物や後生動物以降に発生してきたことから、多細胞生物において重要な役割を担うと考えられる。Ufm1システムの生理的意義の解明のためには、その基質、切断酵素の同定やジーンターゲティングが必須であり、現在解析を進めている。また、Uba5とオートファジー等に関与するGATE-16との相互作用の意味も興味深い。25年以上前に同定され、その後、多彩な細胞内制御機構を担うことが明らかにされたユビキチンシステムの一方で、Ufm1システムは現在やっとスタートラインに着いたか着く前かである。

おわりに、ヒトゲノムプロジェクトの完了により、解析されていないE1様酵素が３分子存在することが予想される（E1様酵素だけは、Thif domainというモディファイヤー分子とチオエステル結合するために必須なドメインを持つことから予測可能）。このことは、未同定なユビキチン様修飾システムがあることを意味する。まだあるよ、ユビキチン様修飾システム！！

ホットトピックス

癌抑制遺伝子PTEN
－進化過程におけるその機能の保存と変化－

薬理研究部門　前濱朝彦

PTENはグリオブラストーマ、前立腺癌の発症に関与する癌抑制遺伝子として1997年にクローニングされました。ちなみにこの1997年以降現在までの間というのは様々なモデル生物のゲノムプロジェクトが次々と遂行・完了した時期で、当然のようにこれらのモデル生物におけるPTENオルソログの検索とその解析が精力的に行われました。その結果、PTENは出芽酵母（*S. cerevisiae*）からヒト（*H. sapiens*）に至るまでおよそ全ての真核生物で保存されている遺伝子であることが明らかになり、真核生命体における基本的な分子としての地位を確立していったのです。一方、PTENの生理機能、すなわちPI3Kへの拮抗作用は粘菌（*D. discoideum*）や線虫（*C. elegans*）あたりでも保存されていることが遺伝学的解析から明らかになり、逆にPI3Kが無い分裂酵母（*S. pombe*）においてもPTENがあるからにはPIP3（PI3Kの主反応産物）を介した細胞内シグナルがあるはずだ、という信念に基づいた実験から、PI3K非依存性のPIP3産生経路を見事に証明した論文もあるぐらいです。

こういう具合にPTENオルソログの解析は主に遺伝学的手法を用いて進められてきましたが、一方でその生化学的解析は遅れていました。これにはいろいろ理由があると思います。まず生化学的解析には精製したタンパク質が必要ですが、PTENの場合その調製が難しいという点。さらにヒトPTENの生化学的解析が既になされている以上そのオルソログの解析にはほとんど意味が無いのではという考え。これも解析を阻んでいた大きな理由の一つではないでしょうか。ところが、実際に生化学的解析をしてみると、意外にも（というのもおかしいのですが）ヒトPTENの解析では見えなかったことがいくつか見つかってきたのです。まず粘菌ではPTENと相同性が高いタンパク質が二つあります。このうち一つはヒトPTENとほぼ同じ特性を示すのですが、もう一つは全く異なる基質特異性を示すことが明らかになり、今ではPLIPという新たな名を持っています。またショウジョウバエ（*D. melanogaster*）PTENにはPTENオルソログの中で唯一スプライス・バリアントが存在します。もっともショウジョウバエはオルタナティブ・スプライシングによって分子の多様性を生みだすことが多いので（Dscamなどは約4万のバリアントがあるそうです）、これはこれでよいのですが、驚いたのはそのうち最も発現量が多いバリアントが細胞内でPI3Kシグナルに対する抑制作用を全く示さなかった点でした。生化学的にはどのバリアントも同じような酵素活性を示しましたから、これはこのバリアント特異的な抑制因子が細胞内にいるのだろうと考えられます。現在はこの抑制因子の同定を試みているところですが、考えることは誰でも同じようで、先日も、神経分化に関わりそうな分子でそれらしいのを見つけたというメールが他の研究グループから来ました（本当かどうかまだわかりませんが）。あと、余談ですが、実はこのショウジョウバエPTENの酵素活性はなかなか検出できなかったのです。なぜかというと、このPTENは反応温度を（よく酵素反応に使う）37度に設定しておくとたちまち失活してしまうのです。ある日ハエの生活温度（24度付近）に気付き、この温度を用いたらうまくいったといういわく付きの実験でもあったのです。ひょっとしたらこれも生化学的解析が遅れた理由の一つでしょうか？

参考文献

FEBS Lett. 565, 43-47 (2004) －ショウジョウバエPTEN
J. Cell Biol. 166, 205-211 (2004)　－分裂酵母PTEN
J. Biol. Chem. 278, 39866-39873 (2003)　－粘菌PTEN

びゅうぽいんと

とある試行錯誤

免疫研究部門　青木和久

大学4年生で卒業研究のため、はじめて研究室に顔を出したとき、最初に与えられた仕事は、参考文献をコピーすることでした。それまでコピー機も使ったことのなかった私は感動しつつコピーをとり、新たな世界の広がりに胸を躍らせました。しかし、それは悪夢の始まりでした。

はじめは、コピーした論文は隅々まで読み、どの論文に何が書かれているかはおおむね把握していました。しかし、そこから引用文献をひき、先生に別の論文を教わり、という具合にコピーする文献の数は着実に増加し、全てを読むことはとてもできなくなり、私の机はどんどん未読の論文の山に埋まっていくことになりました。読み終わったものや読まなくてよいと判断したものは、内容によって分類し、それぞれのフォルダーに入れていくのですが、多くの論文は複数の項目に当てはまっていたり、どの項目にも含まれず「その他」に入るものばかりなのです。数が増えるにつれ、どこにどの論文を入れたのか分からなくなり、あの論文をもう一度見なくてはというときにも、探し出すまでに大変な時間と労力を要するか、多くの場合、必要な論文は二度とは出てきませんでした。

最近では、論文はインターネット経由でpdfファイルとしてダウンロードできるようになり、コピーすることは滅多になくなりましたが、液晶画面上で論文を読むことのできないアナログな私はそのほとんどをプリントアウトし、相変わらず机の上に積んでいます。

昨年、コンピュータを購入したのを機に、これを使って何とかできないかと頭を絞り、まず考えたのは、論文ファイルそのものは特に整理せず、論文が必要なときはその都度、全文検索ソフトで検索するという方法です。しかし、相変わらずアナログ人間の私は、ソフトの検索結果がどうしても信用できず、検索漏れがあるんじゃないかといつも心配になってしまうのです。また、頭に思い浮かべている一つの論文を特定できるキーワードというのは意外と思いつかないのでした。

そこで次に、Microsoft ACCESSを使って、論文リストを作ることにしました。pdfファイルから論文のタイトルと著者名をコピーし、作っておいた分類項目の中で当てはまるものにチェックを入れ、その論文を読み終わったら、おおよその内容を書いておきます。この方法ならば、一つの論文にいくつもの分類項目をあてはめることができ、タイトル、分類項目、著者の誰か、内容に含まれる言葉のいずれか、あるいはその組み合わせで検索することができます。実際、この方法は非常に有効で、今までであれば山の中に埋もれていたであろう論文を瞬時に探し出せたことが何度もあります。

ただ、この方法にも欠点がありました。新たな分類項目を作りたくなったときに、それまでに入力した論文全てを見直さなければならない、ということと、やはり、データを打ち込むのがめんどうくさいということです。今では、再び分類待ちの論文の山が机に積み上がるとともに、コンピュータの中でも「temporary」と名付けたフォルダにpdfファイルがひたすらたまりつつあります。

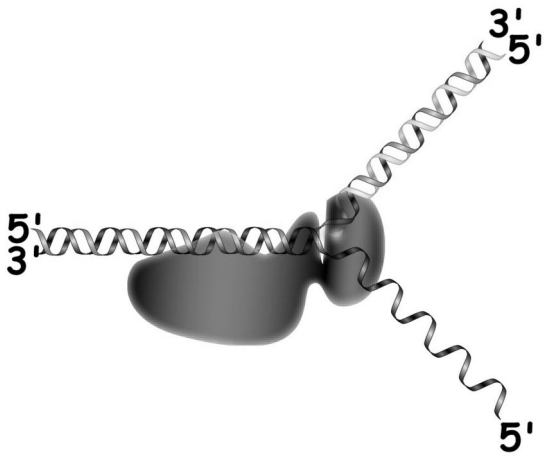
どなたか、論文を整理するためのもっとよい方法を実行されている方は是非とも私にお教えくださるか、臨床研ニュースに投稿してください。よろしくお願いします。

第4回ポスター発表奨励賞受賞

DNA 3 末端特異的結合ヘリカーゼによる停止複製フォーク安定化機構

細胞生物学研究部門　田中　卓

複製進行中に起こった複製フォークの停止は、通常checkpoint機構により速やかに回復されますが、最初にこれを認識する因子についての詳細は不明です。停止フォークを特異的に認識するタンパク質は、センサーとしての役割と、不適切なプロセスによるフォークの崩壊を防ぐ、スタビライザー（フォーク安定化因子）としての役割を併せ持つことが予想されます。大腸菌PriAヘリカーゼは複製停止からの回復に必須の役割を果たすことが知られていることから、我々は、PriAが停止フォークセンサーであると予測し、その詳細な生化学的、生物学的解析を行ってきました。これまでに、PriAのN端に、“3 ’末端結合ポケット”と名付けた新規の構造が存在することを明らかにし、このポケットが停止フォークの特異的認識に重要であることを報告しました。このポケットが、停止したリーディング鎖に存在する3 ’末端を認識することで、PriAは停止したフォークへ特異的に強く結合します。今回我々は、PriAの停止フォークへの結合には、高親和性の3 ’末端認識依存性結合と、親和性の低い非依存性結合という２つのモードが存在することを見出しました。後者においてPriAは、フォーク前方の未複製鋳型二本鎖領域を巻き戻しますが、前者においてこの活性は検出されません。このことは3 ’末端と3 ’末端結合ポケットの相互作用が、PriAの結合様式を決定し、これによりヘリカーゼ活性が制御されることを示しています。3 ’末端認識依存性モードにおいては、PriAは不適切な巻き戻しを行わず、高親和性結合により停止フォークを保護・安定化していると考えられます（図）。一方、3 ’末端認識非依存性モードで見られる、新生鎖合成を伴わない鋳型二本鎖の巻き戻しは、一本鎖領域の伸展によるフォークの不安定化を引き起こすため、通常何らかの機構で抑制されていると予想されます。今回は、停止フォークからの回復にPriAと協同して役割を果たすことが知られている、RecGヘリカーゼに着目し、両者の活性を解析した結果、この、PriAによる不適切な巻き戻しは、RecGにより阻害されることが明らかとなりました。RecGは、組換え・修復機構において、停止フォークの後退を触媒するヘリカーゼですが、この過程において形成される構造もまたPriAにより安定化されうるものです。これらの結果は、PriAとRecGが協調して停止フォークの安定化に寄与する、新たな機構の存在を示唆しています。近年真核細胞においても、フォーク安定化に寄与する因子が同定されていますが、その詳細な分子機構はまだ明らかにされていません。本研究で提示したPriAによるフォーク安定化モデルは、真核細胞における安定化機構を解明するための分子基盤となるものと考えています。



図）PriAによる停止フォーク安定化モデル

N端に存在する3 ’末端結合ポケットがリーディング鎖3 ’末端を認識することにより、停止フォークを特異的に感知する。このモードでは、強固な結合により停止フォークを保護・安定化していると考えられる。

研究支援センター紹介

1）写真室の紹介

長岡達雄

臨床研写真室では、各研究部門や研究員が必要とする写真、ポスター、デジタル画像等を集中して作成しています。近年デジタルを用いた写真画像は長足の進歩を遂げていますが、当写真室でも積極的にコンピュータを利用した画像作成に力を入れてきています。

写真室のサービス内容は主に、次のような事です。

＊ゲル、プレート、TLC等の各種実験サンプルの写真撮影（デジタル、フィルム対応）
＊標本、生物写真等の撮影（デジタル、フィルム対応）
＊文献、X線フィルムの複写、画像取り込み（デジタル、フィルム対応）
＊ピクトロスタットを使用したデジタル画像のプリント出力サービス（A3サイズまで可能）
＊大型プリンターのポスター作成（Win、Mac対応。短辺最大110cm、長辺250cm以上可）
＊白黒、カラーフィルムの現像プリント
＊各種行事、セミナーなどの記録写真撮影
＊研究所パンフレット等の出版物の撮影

※※※※※※※写真室からのワンポイントアドバイス※※※※※※※

＜その①＞ デジタルカメラで撮影した画像は色修正等の加工が無ければ、MOやCD-Rなどの記録メディアで直ぐに御渡し出来ます。

＜その②＞ ピクトロスタットとは高性能なデジタルカラープリンターです。銀塩プリントと同等のクオリティで高画質な写真プリントが作れます。インクジェットプリンターの再現性で不満がある方は一度利用してみて下さい。最大A3サイズまでプリント出来ます。

＜その③＞ 最近ではゲルの画像をスキャナーで取り込んで利用されている方も多いと思いますが、マイナーなバンドなどで思うような画像が作成出来なかった事はないでしょうか？このような場合フォトショップなどで加工してもノイズばかり上昇して綺麗な写真が出来ないことが多々ありますが、特殊なハイコントラストの白黒フィルムを使うとかなり良好な写真が作成可能です。

＜その④＞ 学会のポスター発表で大判のペーパーを使ったポスターが目立ってきましたが、皆さんはもう大型プリンターは利用したことがありますか？一枚物のポスターですと中々な存在感でプレゼンテーションの効果もかなり期待されます。写真室の大型プリンターでは短辺が最大110センチ、長辺は250センチまで対応可能です。作成方法等については写真室にお尋ねください。

＜その⑤＞ 最近の学会ではパワーポイントでの発表形式が定着してきましたが、スライドが指定されている事も一部あるようです。写真室ではスライド・フィルムレコーダーが設置してありますのでスライド作成やOHPの出力サービスを行っています。

＜その⑥＞ 35ミリからブローニーサイズフィルムまで取り込み可能なフィルム専用スキャナーが設置してありますので、フィルムからの高画質な読み取りが出来ます。フラットベッドタイプのスキャナーでうまくスキャンが出来ない時はフィルム専用スキャナーの使用をお勧めします。

＜その⑦＞ 臨床研に勤務されている以外の方でも、部室長の許可があれば写真室は基本的に利用可能です。

その他写真画像作成等についてお分かりにならないことがあれば、写真室に御相談下さい。

2）電子顕微鏡室の紹介

電子顕微鏡室　鈴木 英紀

"Seeing is believing."と言う格言に代表されるように、「見えること」または「見たこと」は何物にも代えがたい説得性があります。御存知のように、この「見る」ことにおいて、電子顕微鏡は光学顕微鏡を遙かに凌駕する能力を持っています。電子顕微鏡室では微細形態的研究の要望、依頼に応えるために、透過および走査型の二種類の電子顕微鏡（以下、電顕と略）が設置されています。当然のことながら、これらの電顕で観察するための試料作製装置もほぼ整備されています。対象試料は従来の動物臓器、組織、細胞に加えて、細胞分画成分、ウィルスなどの生体高分子も含まれます。また、蛍光顕微鏡で免疫蛍光法を駆使している研究者も多いと思いますが、免疫電顕では小器官レベルでの抗原検出も可能です。以下にそれぞれの電顕の特徴と提供、支援できる観察法を示します。

● 透過型電顕・・・試料の直径が３mm以内で厚さが0.1 μm以下、分解能は 0.1 nm

１） 超薄切片法（対象試料の断面の微細構造を観察する）

２） 免疫電顕法（試料の断面で抗原を検出する。抗原はアルデヒド固定に耐性のこと）

３） whole mount法（伸展細胞の表面観察に適する。細胞骨格の観察も可能）

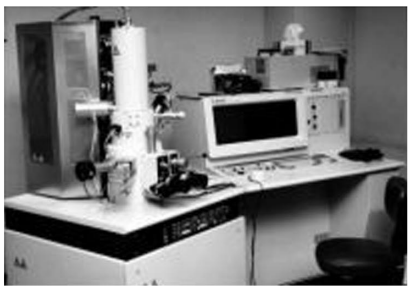
４） ネガティブ染色法（細胞分画成分、生体高分子の観察に適する）

● 走査型電顕・・・試料は大きくても可（３cm以下が望ましい）、分解能は2 nm

１） 表面観察法（試料の３次元観察が可能）

２） 免疫電顕法（表面抗原の広範囲な検出に適する）

以上の観察法については、研究所内の要望、依頼に対して随時応じています。試料の固定から観察までお気軽に御相談下さい。尚、観察結果のみでなく、電顕を実際に試されたい方には直接的な指導も行っています。



お　知　ら　せ

図書館ニュース　　2004.10

＊新規購入図書＊

○ Advances in Cancer Research Vol.91
(Ed. Woude, George Vande et al.)
Elsevier(Academic Press),2004

○ Methods in Enzymology Vol.388
(Ed. Robertson, Dan E. et al.)
Elsevier(Academic Press),2004

○ Annual Review of Biophysics &
Biomolecular Structure Vol.33
(Ed. Rees, Douglas C. et al.)
Annual Reviews,2004

○ Advances in Neurology Vol.95
(Ed. Delgado-Escueta, Antonio V. et al.)
Lippincott Williams & Wilkins,2004

○ Annual Review of Genomics and
Human Genomics Vol.5
(Ed.Lander, Eric et al.)
Annual Reviews,2004

○ 科学技術白書　平成16年版 / 文部科学省編
東京 : 国立印刷局, 2004

○ 文部科学省科学研究費補助金採択課題・公募
審査要覧
平成16年度　上・下/ ぎょうせい編
東京 : ぎょうせい, 2004

○ 理科年表　机上版　77冊
平成16年 /国立天文台編
東京：丸善，2004

○ 学術用語集　医学編 /文部科学省他編
東京：丸善，2004

○ 厚生労働白書　平成16年版
東京：ぎょうせい，2004

○ 五訂食品成分表
東京：女子栄養大学出版部，2004

○ リーダーズ英和中辞典
東京：研究社，2000

○ 構造・機能解析の実際 /大島泰郎他編
東京：東京化学同人，2003
（ポストシークエンスタンパク質実験法）

○ 基礎から応用までの血管研究がわかる
/高倉伸幸編
東京：羊土社，2004
（わかる実験医学シリーズ）

○ List of serials for online users 2004 /
(Ed. U.S.Library of Medicine)
U.S.Dept. of Commerce, National Technical
Information Service, 2004

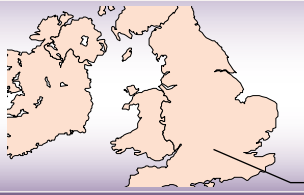
＊寄贈図書＊

○ 国民医療年鑑　平成15年度版 /日本医師会編
東京：春秋社，2004

○ なおす免疫学　第26回阿蘇シンポジウム
記録2002 /
渡辺武他編
東京：南山堂，2003

○ 医学をゲノムする　第27回阿蘇シンポジウム
記録2003/山村研一他編
東京：南山堂，2004

○ ユビキチン研究の新展開－メカニズムから
疾患研究へ/田中啓二企画
東京：医歯薬出版，2004
（医学のあゆみ　Vol.211 No.1)



海外留学報告

Medical Research Council （MRC）(Harwell, England)

実験動物研究部門　　吉川欣亮

海外留学から帰ってきてちょうど半年が過ぎました。今頃になって…どうせならもっと早く依頼をよこせって感じです。ともかく、僕はイギリスに13箇所あるMedical Research Council（MRC）のうちのHarwellというところにある研究施設で働いていました。場所はどの辺かというと日本人が知っている地名としてはOxfordですかね。そこから15-6マイル南に位置するとってものどかなところで、日本でいうと北海道みたいな風景です（冬は寒かった〜）。MRC Harwellは古くからイギリスのマウス遺伝学の中心であって、ここで働いている人のほぼ全員がマウスを使った遺伝学の仕事をしていました。臨床研ではもちろんのこと、日本にも同じ研究分野の仲間がほとんどいなかった僕にとっては、短い時間でしたがとっても充実した時間を過ごすことが出来ました。研究所の施設自体もマウスを使った研究をしやすいように（というよりもマウスが生活しやすいようにって感じかも!?）、動物施設の充実はすばらしく、特にマウスの世話をしてくれるテクニシャンの質の高さには本当に驚かされました。ちょうど僕が帰ってくる頃に当研究所が輩出した偉大なマウス遺伝学者であるMary Lyon先生からその冠をうけた「Mary Lyon Centre」という巨大な動物飼育施設も完成し、今後もヨーロッパのマウスEmbryo Bank、ミュータジェネシスプロジェクトの拠点として発展していくと思います。さて、僕は「難聴研究グループ」というラボのSteve Brown教授の下で実験をしていました。Steveはマウス遺伝学の世界では有名人でして、出張、出張でほとんどラボには来ません。最初の頃はまったく会うこともなく、とっても不安でしたが、ラボにいるときは必ずデータのチェックやアドバイスをしてくれて、よく面倒を見てもらいました。僕のもらったテーマは内耳の有毛細胞という細胞に生えているStereociliaとよばれる感覚毛が伸長するのに必須な「Whirlin」という蛋白質の機能を、マウスミュータントを使って解析するというもので、紙面の都合上詳細を書くことは控えますが、なかなか面白い結果がでました（機会があればそのうち紹介したいと思います）。この分野の研究は聴覚において今非常にホットなところなので早く論文がアクセプトされればいいなあと思っています。ただ、仕事がどうだったこうだったというよりも一番イギリスに行ってよかった事は、友達がいっぱい出来たことです。特に、僕がいたラボはイギリス人だけでなく、ヨーロッパ各地、アフリカなどから来ているポスドクがいっぱいいて、日本の研究所にいては知り合えないような人たちと、しかも仕事を通じて知り合えたことは今後の財産になると思っています。

ただし、今回の留学生活はすべてが楽しく順調に終わったわけではないということを最後に付け加えたい。今年も同様の制度での募集があったようなので、もしもこの制度を利用されて留学される方がいるのならば余程の準備をされて行かれたらいいと思います。僕は、もともと共同研究をしていたラボに行けたし、仲間の多くのサポートを受けられた事もあり、何とか仕事を形にすることが出来ましたが、1年間というのはやはり短すぎると思います。その限られた期間で何をするかという方針が確立されてないと本当に遊んでくるだけになってしまうと思います。また、遊んでくるだけならそれもそれでまったく無駄ではないとも思いますが、遊ぶにも金がない。休職扱いになるのでしかたがないことなのですが、現状のように留学先からの給与も受けられないとなると、そんな金でやっていけるか、って感じです。（だいたい何故休職扱いになるのかが僕には理解できない。）研究者にとって留学は貴重な経験であり、その経験は個人だけでなく、東京都の研究所にとっても重要な財産になると思いますので、その辺りを上の人たちにも充分に考慮していただいて、今後の良い方向への制度改革をお願いしたいと思います。

R100 この用紙は配合率100%再生紙を使用しています