

研究者としての歩み

第一回 日原由香子

(埼玉大学大学院理工学研究科・准教授)

大学時代

私は特に「生物や実験が大好き」というタイプの中高生ではなかったが、何となく生物がおもしろいかな、というほどの理由で東大の理科二類に入学した。駒場キャンパスで過ごした一、二年の教養課程では、オーケストラ活動に打ち込んだり、第三外国語としてラテン語やイタリア語を受講したりして理系らしからぬ日々を過ごし、将来は研究者になるんだろうなとは思いつつ、具体的な進路は全く見えていなかった。ただ、加藤栄先生の教養向け講義で光合成電子伝達鎖について習い、紅色光合成細菌の光化学系反応中心の結晶構造を見たことが強く印象に残っている。「目に見えないサイズのタンパク質複合体がこんなに精巧に出来ていて、こんなに色々電子伝達成分が配置されているなんて、一体これはどんなふうに組み立てられるのだろうか？」というのがそのときに湧いた疑問であり、今にして思えばこの講義が、私が現在の分野に進んだ一番のきっかけだったかもしれない。

修士課程

理学部生物学科の植物学教室に進学してからは、環境変動や生育段階に応じた転写制御に興味を持つようになり、修士時代は分生研の内宮先生の研究室で、イネ蒴の cDNA ライブラリーの解析を行った。M1 だった私は「早く論文を書いてみたいな」と思っており、蒴ライブラリー中のクローンを次々シーケンスしていく内に、「これらの cDNA の全長の塩基配列決定で、論文が書けるのでは？」と閃いた。当時はまだゲノム解析など始まっておらず、一つの遺伝子の全長の塩基配列決定で短い論文が書けた時代であった。論文にする対象として **acidic ribosomal protein P0** の cDNA を選び、内宮先生のところに行って「この cDNA の配列を報告する論文を書きたいです」と言った。今、私のところの M1 学生が同じことを言ったら、「やめておいたら」と言ってしまうそうだが、内宮先生は「書いてみるのよ」と言って下さった。そして助手の梅田先生とともに論文の書き方を指導して下さいました。この論文は **Plant Physiology** 誌の **Plant Gene Register** というセクションに掲載された。たった 1 ページの論文だったがとてもうれしかったのを覚えている。自分が学生を指導する立場になって、内宮先生は学生のやる気を尊重した懐の深いご指導されていたのだな、と感じるようになった。

博士課程

博士課程に進学した年は、研究面ではシアノバクテリアの強光順化応答という、現在に至るまでの研究のメインテーマと出会い、私生活面では結婚した、という点で、その後の私の人生を決定づけた一年であった。光合成に関連した研究をしたいという気持ちの強くなってきた私は、博士進学を機に、理研から来られて 2 年目だった池内先生の研究室に移った。シアノバクテリアの一種 *Synechocystis* sp. PCC 6803 (以下 *S.6803*) を変異原処理して、強光感受性になった株を単離し原因遺伝子を同定することに

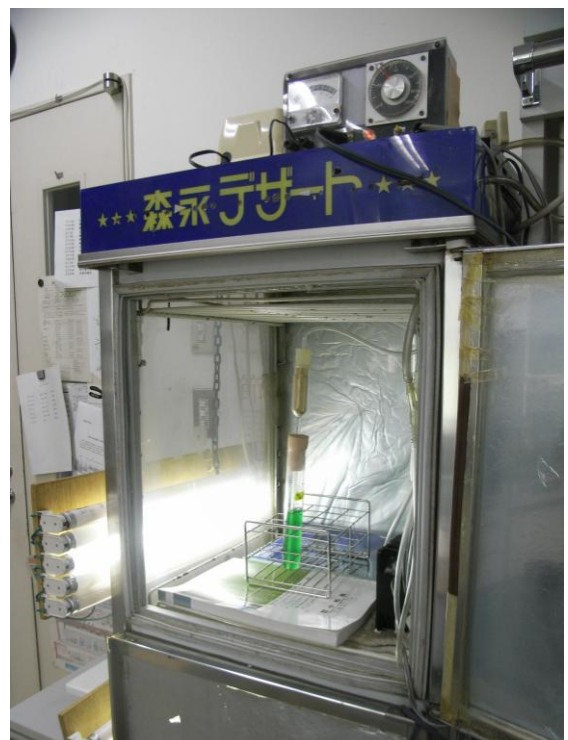
よって、光合成生物の強光応答メカニズムを明らかにしようと研究を開始したが、強光感受性株は一向に取れず、そうこうするうちに妊娠・出産し、子育てに悪戦苦闘している内に D2 の秋になってしまった。この段階でデータゼロであり、かなり危機的状況だったが、S.6803 の野生株がプレート上で形成するコロニーサイズに大小があることに気づいたことから、にわかに道が開けた。ちょっとした興味で大小のコロニーを別々に培養してみたところ、コロニーの大きさを決めている原因遺伝子の同定に成功し、さらに、この遺伝子が光と有機物が共に存在する条件での増殖（photomixotrophic growth）に必須であることを見出し、*pmgA* と命名した。これに加えて、*pmgA* が光環境に応答した光化学系量の調節に必要であることや、研究室の野生株の *pmgA* 遺伝子に自然突然変異が起き、この変異を持つと実験室環境での増殖が速くなるため、1年ちょっとの間に元の野生株がすっかり駆逐されてしまったことなど、新事実が次々と明らかになり、奇跡的に3年間で博士号を取得することができた。一般に研究では、一つのことにとこだわって粘り強く進めることが良しとされるが、長年取り組んでも一向に成果が得られないときには、全く別の事柄に目を向けてみた方が良いこともある、ということはこの体験から学んだ。

ポスドク時代

博士号取得後は、学振特別研究員として2年間、池内研で研究を続けた。他のシアノバクテリアから *pmgA* オルソログの単離を試みたり、光混合栄養条件下で死ぬ *pmgA* 変異株の中から擬似復帰変異株を単離して原因遺伝子を同定したり、様々なことに手を出したが、博士課程の時の運はどこへやら、まとまった成果は何一つ得られなかった。そんなある日、池内先生から、S.6803 の DNA マイクロアレイコンソーシアムなるものが結成され、マイクロアレイ解析の講習会が京都のタカラの研究所で行われる、ということを知った。新技術を身につけて研究に突破口を開くことを期待し、私はこの講習会に参加してみた。修士時代に、葯 cDNA ライブラリーのクローンを1つずつシーケンスしたり、ノーザン解析を行ったりしていたので、DNA マイクロアレイを使った網羅的発現解析がいかに画期的であるかはすぐに理解できた。そこで研究室に戻ってから、それまで行っていた実験を中断し、DNA マイクロアレイを用いて、S.6803 の培養を弱光から強光へ移した際の遺伝子発現タイムコースを詳細に調べ始めた。

埼玉大学での研究室セットアップ

マイクロアレイのデータがでそろい、そろそろ投稿論文にまとめようかという頃に、埼玉大学理学部分子生物学科の助手に採用された。光化学系 I の電子受容体 P430 の発見者である檜山先生のラボの助手、ということであったが、研究内容は全くの自由にやらせてくださった。限られた研究費で自分の研究環境をゼロからセットアップするのは大変な仕事だが、檜山先生はお得意の工作で大いにサポートして下さった。「シアノのインキュベーターが欲しいな」と思っていたら、森永の冷蔵ショーケースにヒーターと温度コントローラーを加えたお手製のインキュベーターを下さり、蛍光灯を並べた強光照射装置を業者に注文しよう



としたら、「そんなの簡単に作れるよ」とおっしゃって、ドイツで材料を買ってくるなり2つも3つも装置を組み立てて下さった。これらのインキュベーターや強光照射装置は10年経った今でも、私のラボのメイン実験装置として稼動している（写真）。また、学科内の他の先生方も快く実験機器や試薬を使わせてくださった。私は着任以来、科研費の若手Bと大学からの校費を頼りに研究を続けてきたが、これは1年間色々と消耗品を買い、残額でちょっとした実験機器を購入できる位の額である。今年は超低温槽、今年はゲル撮影装置、と買っていくうちに、10年経ってようやく自分の研究室内だけで実験を行えるようになった。

また、埼玉大に移った頃は子供がまだ小さく、託児所や幼稚園の送り迎えや、幼稚園行事への参加などの負担が大きかった。幼稚園はお昼で終わってしまうため、その後祖父母に連れて帰ってもらったり、私が幼稚園に迎えに行き託児所に預け替えてから出勤して夜まで仕事をしたり、やりくりで四苦八苦した。しかし、それでも何とか研究を進めることができたのは、学科内の仕事をなるべく私に回さないよう、周囲の先生方が配慮して下さったためであった。こう考えてみると、埼玉大で順調に仕事を進めることができたのは、学科内の先生方が様々な点でサポートして下さったお陰であることが良く分かる。特に、助手・助教には仕事をなるべく回さず研究に専念させる、という学科のポリシーは非常にありがたかった。この場を借りてお礼を申し上げたい。

埼玉大学での仕事

埼玉大の1年目に行ったことといえば、実験室のセットアップや学生実習の準備に加えて、マイクロアレイの論文を *Plant Cell* 誌に押し込むべく頑張った、ということが挙げられる。色々注文がついて苦労はしたが、この論文は一旦受理されると、「光合成生物で初の全ゲノム DNA マイクロアレイ解析の報告」として、世界中の脚光を浴びた。国際学会に行ったら自分の仕事がいくつもの講演で引用されていたり、Thomson 社から、「この論文は被引用件数が上位 1%に入る」という葉書が来たり、全く予想だにできなかった反響に面食らったのを覚えている。おかげさまで国際的に若手研究者として認識してもらえたのは良かったが、それ以降、この論文を超えるインパクトのある仕事できていないことには内心忸怩たるものがある。

埼玉大に移って2年目に、最初の卒研生である村松君が配属され、現在につながる研究がここからスタートした。マイクロアレイ解析の結果、強光下で様々な遺伝子の発現レベルが変動することが分かったものの、光強度変化から遺伝子発現変動に至るシグナル伝達経路についての知見はほとんど得られていなかった。そこで、強光下で大きく発現が抑制される光化学系 I 遺伝子群について、その発現制御メカニズムを明らかにしようと考え、手始めにプロモーター解析に着手した。色々な論文を見ると、プロモーター解析というものは、少しずつ削っていきさえすれば、必ず何らかの制御領域に行き当たってポジティブデータが得られる確実な仕事、と思えたのだが、それは認識が大いに甘かった。私たちが解析対象に選んだ、系 I 反応中心サブユニット遺伝子 *psaAB* は、調節領域が複雑に重なり合った二つの光応答性プロモーターを持っており、プロモーター解析初心者にとっては全く難しすぎる課題であった。削っては測定し、測定しては削り、を延々と繰り返す羽目となり、仕事を始めてから論文をまとめるまでに、実に5年もかかってしまった。

こうして2年間は村松君と手探り状態で仕事を進めていたが、その後2番目の学生（中村さん）、翌年は3番目の学生（田中君）と、毎年一人ずつ研究室の学生が増えていく状況になってきた。これまでは

ずっと1つの研究テーマに取り組んでいたのが、こうなると、毎年1つずつ新しい研究テーマをひねりだしていく必要がある。そこで、*S.6803*の転写制御メカニズムについて、転写因子側からの解析を進めてみようと思い立った。ゲノム情報を利用して、シアノバクテリア間で高度に保存されている推定転写因子をピックアップし、*S.6803*で遺伝子破壊株を作製し、表現型解析やDNAマイクロアレイ解析を行う、というアプローチで実験を進めたところ、光強度変化に伴う転写制御に関わるPedR、細胞内への炭素・窒素の取り込み制御に関わると考えられるCyAbrBなど、これまでまったく知られていない機能を持つ転写因子を同定することができた。このような転写因子解析はその後の研究室の主要テーマの一つとなっている。また、最初はなかなかデータの出なかったプロモーター解析の仕事も、*psaAB*プロモーター構造が明らかになると、その後は比較的スムーズな進展を見せ、光化学系I遺伝子に共通な強光応答領域や、弱光条件下でこの領域に結合して働くリプレッサーを同定することができた。

私たちの学科の学生は、博士課程進学者はほとんどいないものの、卒研から修士の3年間、コツコツ頑張って仕事をし、修論をまとめる頃までには十分な成果を挙げる者も多い。私が埼玉大学で書いた投稿論文のほとんどは、これらの修論、あるいは修士課程に進まなかった学生の卒論2代分に基づいている。私が昨年度植物学会奨励賞を頂けたのは、これらの学生達の地道な努力のおかげであると言える。

現在そして今後

2009年1月に准教授に昇任し、それ以来、研究室スペースは増えたものの、研究に費やせる時間は激減してしまった。私がポスドクのころ、池内先生の大学の仕事が段々増えてきて、実験の現場にいられる時間が減ってきたことを嘆かれていたのを思い出す。実験はできなくなったが、せめて遺伝子破壊株の維持だけは自分でやりたいと言われてクリーンベンチでプレートの植え継ぎをされていたが、それも次第にままならなくなっていく。現在の自分は当時の池内先生と同じような状況に差しかかっているような気がする。今後、研究室をどのように運営して行けばよいのだろうか。地方国立大で基礎研究を続ける場合、研究費は限られており、研究の主力は修士学生と卒研生である。しかしこれまでのところは、指導する学生数が各学年1名ほどと少なかったし、常に現場にいて学生とコミュニケーションが取れたため、特にストレスを感じることなく研究成果を挙げる事ができていた。自分にとってはこの家内制手工業のような体制がとても肌に合っていたのだが、今後は研究室の学生も研究以外の仕事も増える一方となり、同じ体制で続けることは困難だろう。国立大学の運営費交付金が大幅に減らされるという話も最近良く耳にする。今後研究の活性を保っていくためにどうすれば良いのか、真剣に考えるべき時が来ているようだ。

著者紹介

平成5年東京大学理学部卒、平成10年同理学系研究科博士課程修了・博士(理学)。

日本学術振興会特別研究員PDを経て、平成12年埼玉大学理学部・助手、平成21年1月より現職。

現在の研究テーマはシアノバクテリアの環境応答・転写制御。趣味はヴィオラを弾くこと(オーケストラ&室内楽)、温泉でくつろぐこと。