

MERIT 長期海外派遣報告書

工学系研究科 化学生命工学専攻 岡本研究室
博士課程 2年 末岡 拓馬

概要

2016年4月27日から7月6日にかけて、アメリカ・ケント州立大学の Hanbin Mao 教授の研究室に滞在し、共同研究を行った。Mao 教授とは前年の国際学会にて知り合い、そこでのディスカッションを通して私の専門であるヌクレオソーム研究に強く興味を持っていただいたため、今回の共同研究を行う運びとなった。

研究内容

Mao 教授の研究室では光ピンセット (Laser tweezers) を用いて生体分子のダイナミクスを解析する生物物理研究を行っている。近年では DNA・RNA の G-quadruplex に関する意欲的な論文を多数執筆している。G-quadruplex は核酸のグアニン塩基が豊富な領域に存在する四重鎖構造であり、主に遺伝子のテロメア領域 (染色体の末端) に見られる。この特異な構造が遺伝子の保護や老化の抑制など多様な機能に関わるとされており、生化学的・物理的なアプローチでの解析が試みられている。このような核酸の高次構造解析において、Laser tweezers は強力なアプローチとなる。Tweezers 装置はレーザー光でビーズをトラップし、pN 単位の力を与えることができる。そのため、DNA など対象となるサンプルの両末端をビーズで固定することで、2つのビーズが並ぶ方向にサンプルを引っ張り folding, refolding 時の力の変化を追跡できるようになる。加えて、磁気ビーズを用いれば磁石によりビーズを回転させサンプルに「ねじれ」を生むことも可能となる。

一方で私の専門分野はヒストンタンパクの化学合成とヌクレオソーム構造に関する研究である。生体内で DNA はヒストンタンパクと共にヌクレオソームと呼ばれる高次構造を形成し、その形状が変化することで遺伝子の制御が為されている。現在ではヒストンが受ける翻訳後修飾によって DNA-ヒストン間の静電相互作用や立体障害に変化が生じ、ヌクレオソーム構造に影響を与えると考えられている。そこで、Mao 教授の所有する Laser tweezers を用いてヌクレオソームに物理的な外力を与えることで、DNA-ヒストン間の安定性を評価できると想定し当計画を立てた。サンプル作製の流れとしては、ヒストン 8 量体と呼ばれる複合体を岡本研究室にて作製して郵送し、Mao 教授の研究室で別途用意した DNA を用いて *in vitro* でのヌクレオソーム再構成を行う。

滞在中に行った実験・研究は大きく分けて 3 つあり、tweezers 装置の基本的な扱い方の学習、複製過程における DNA の解析、ヌクレオソームの作製である。tweezers を用いて実験を行うにはトラップ用のビーズを供給するために微小な流路を作成する必要があるため、まずはその手法を学んだ。ガラスプレート・パラフィルム・ガラスキャピラリーから成る簡単な構造であるが、流路幅や作成時に生じる付着物によって tweezers に使用することができなくなることがあるため、ある程度の慣れが必要な作業である。また、レーザー顕微鏡と解析機器から成る tweezers 装置の扱い方を学んだ。

一通りの手順を理解した後に、メンバーの一人が取り組んでいる研究のサポートをする形でサンプルのデータ取得・解析を行った。この際に用いたのが DNA 複製を想定したサンプルである。

ヌクレオソーム再構成には一般に、ヒストン 8 量体との親和性が高い 601 配列 (145 bp 程度の DNA) を用いる。ただし、tweezers にセットするためにはタグならびに数千 bp の長い DNA が必要なため、両末端に Biotin, Dig タグを持ち中心に 601 配列を含む約 5000 bp の配列作成を行った。一方で短い DNA を用いてヌクレオソーム再構成の条件最適化に取り組んだ。5000 bp の DNA 作成は時間を要しその量が不十分であったため満足な解析を行うには至らなかったが、帰国後に岡本研究室にて再度サンプルを作製し、それを郵送することで解析を継続することとなった。

アメリカでの生活

ケント州立大学はオハイオ州の主要都市であるクリーブランドから車で1時間ほどの距離にあるケントにある。クリーブランドは5大湖の一つであるエリー湖の南岸に位置し、ケント市も春から夏にかけて爽やかな気候が続き、冬には厳しい寒さを迎える。私が滞在した期間は春から初夏の間であり、よく晴れて非常に過ごしやすい環境であった。また、丁寧に整備された芝生の続く住宅地と森の広がる、閑静で美しい土地である。一方で交通手段には乏しく、スーパーやレストランの数も限られていたことから、研究室の学生が「大学以外は何もない」と揶揄するほどであった。アメリカが車社会であることを痛感した次第である。

滞在した研究室では全員が tweezers を用いた分析化学的な研究を行っている。研究室全体で同じカテゴリの研究内容を推進するスタイルは、私が所属している日本のラボとは大きく異なり新鮮に感じた。テーマの多様性にはやや欠けるかもしれないが、知識を全員で共有することができ、成果を短期間で得る上では効率的な戦略なのであろう。研究スケジュールは tweezers 装置を中心に回っていた。4台ある装置を曜日ごとに各メンバーに割り当て、自分が使用できる日を目安にサンプルの作製を行う。使用頻度に偏りが生じなくて済むのは、メンバーのターゲットが似ていることが要因であろうと感じた。

大学に在学する日本人は非常に少なく、その内のほぼすべてが学部生であるために Summer holiday 期間であった滞在中に日本人と会うことはなかった。留学生の中では中国人が特に多く、韓国人やインド人などアジア諸国からも多数の学生が学びに来ている。研究室のメンバーも主にアジアからの留学生で構成されていた。彼らは自身の生活スタイルを重視しており、時間的な規則もなく各自で予定を調整していた。自国を離れて研究を行うことの少ない日本人学生と比較すると、経験の差が思考や生活に影響を与えているような印象を随所で受けた。また、他国の出身である人間にもこうして広く研究の場が開かれている環境を見て、アメリカの懐の深さを実感することができた。



写真 研究室のメンバーと

謝辞

本長期海外派遣を実現するにあたって、受け入れを快諾してくださり丁寧な指導をいただいた Mao 教授ならびにグループの皆様はこの場を借りて御礼申し上げます。また、派遣のためのアドバイスをいただいた指導教員の岡本晃充教授、副指導教員の藤田誠教授に感謝いたします。そして、このような貴重な機会を与えてくださった MERIT プログラムに深く感謝し、謝辞とさせていただきます。