



サイエンスに挑む

半田研究室～フロンティア創造共同研究センター



半田 宏 教授

新しい発想はオリジナルな技術を生み出す。そして、その技術によって解き明かされたことは様々な形で応用される。フロンティア創造共同研究センターの半田宏教授は、従来の考えにとらわれない新しい方法を用いて生体反応を解析し、世界初の発見を成し遂げた。複数の因子が関わる生体反応機構を解き明かすためには、確かな技術と結果を分析する柔軟な思考力が必要となる。研究の末に明らかになったメカニズムはBasic Scienceとして重要なばかりでなく、医学、創薬等の様々な分野に応用される可能性を秘めている。

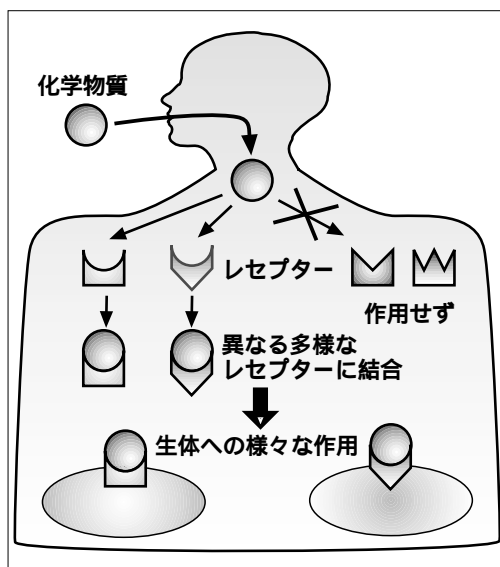


生体反応機構の解明を目指して

豊かな自然に囲まれ、静かな雰囲気の漂う東工大長津田キャンパス。多くの建物が立ち並ぶ中、ひときわ目を引く近代的なビルが立っている。フロンティア創造共同研究センター、東工大発の新産業創造を目的に、産官学の共同研究を行う機関である。現在、同センター内では6つの研究プロジェクトが生まれ、研究活動を行っている。その中の一つ、生命系プロジェクトを指揮するのが半田宏教授である。半田教授は生体分子同士や、生体分子と外部から入ってきた化学物質との相互作用を解析している。そして、解明されたメカニズムを薬剤開発などに応用する研究を、複数の製薬会社と共同で行っている。

生体内ではタンパク質などの様々な物質が多様な相互作用をしている。この相互作用には多くの場合、レセプターと呼ばれる特定の生体分子が関与している。物質と結合することでレセプターの構造や機能が変化し、生体は何らかの作用を受ける。例えば、薬剤などもレセプターを介して生体に働きかけている。

レセプターとして働いているのは主にタンパク質である。これらのタンパク質はそれぞれが固有



高度な選択性を持つレセプター

の相手と相互作用をしている。レセプターは生体内に進入してきた物質を的確に認識し、結合すべき相手に選択的に結合するのだ。ところが、一つの物質に種類だけのレセプターが対応するとい

うわけではない。同じ物質に対して、異なる影響を及ぼす様々なレセプターが結合できる。その結果、生体に益をもたらすこともあれば害を及ぼすこともある。

高度の選択性と多様な役割を兼ね備えたレセプターを取り出しその働きを解明することができれば、生体の制御機構を解明することにつながる。それだけでなく、薬剤の開発等にも大いに役立つのだ。

現在の薬を使うと、どうしても副作用が生じてしまう。そもそも、副作用は薬が予想外のレセプターと結合することによって起こる。だから、一つの物質に結合しうるレセプターを全て特定できれば、様々な物質の中から、生体に有益な働きを引き起こすレセプターと結合するものだけを選び出すことができる。こうして生体に悪影響を及ぼさない、副作用のない薬剤の開発ができるというわけだ。

それでは、レセプターを取り出すためにはどのような方法が考えられるだろうか。実際には様々なタンパク質が混ざり合った、細胞からの抽出液が利用される。この液からある化学物質と特に結合しやすいという性質、親和性（アフィニティ）を利用して取り出されるのだ。この原理を実験操作として具体的な形にしたのが「アフィニティクロマトグラフィ」と呼ばれる方法である。

様々なアフィニティクロマトグラフィの中でも、カラムと呼ばれる細長い筒を利用した方法は

よく利用されていた。まず、第一にアフィニティによって目的のタンパク質と結合する物質（リガンド）を、担体と呼ばれるそれを固定するための物質に取り付ける。それらをカラムに詰め、タンパク質の混合溶液を流し込む。すると、リガンドと結合しやすいタンパク質がカラム中に残り、それ以外は流れ落ちてしまうというわけだ。従来は担体として寒天のようなゲル状の多糖類を用いていた。それらは網目状の内部構造を持っており、リガンドを支えている。

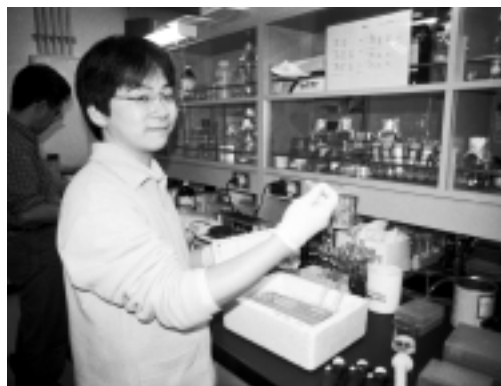
ところが、カラムを用いたクロマトグラフィにはいくつかの問題点がある。例えば、この方法を用いると、一度では目的物を十分捕らえることができず、何度もカラムを通さなければならない。そのうちに、本来カラム中に残るはずの目的物が流れて失われてしまうのだ。それだけでなく、担体の網目構造の中に余計なものがひっかかって残ることもある。余計なものを取り除いておこうと長い時間をかけてクロマトグラフィを繰り返していると、タンパク質としての働きが失われ、機能の解明ができなくなってしまう。これらの理由から、カラムを用いた方法ではタンパク質を精確に分別することができないのである。つまり、レセプターの解析にはカラムを用いた方法は不十分であるということだ。生体内の相互作用を詳しく解析するためには、様々な問題をクリアした新しい方法が必要なのである。



アフィニティビーズによる解析

先に述べたカラムを用いる方法の欠点を解決するために、全く新しいアフィニティクロマトグラフィ用の担体が生み出された。アフィニティビーズである。

その新しい担体は、大きさが従来の担体の千分の一で、表面に孔のない粒子（ビーズ）である。具体的にはSt（スチレン）とGMAの共重合体に架橋材としてDVB（ジビニルベンゼン）を加えたものを芯として利用している。そして表面をさらにGMA（グリシジルメタクリレート）で覆って完成させている。GMAはエポキシ環という官能基を持ち様々な官能基と様々な形式で結合する。つまり、GMAで覆うことでビーズの表面に多種



ラテックスビーズを使った実験

のりガンドをつけることができるのだ。小さな分子からDNAまで多種多様なものをりガンドとして利用することができる。

このビーズは、従来までの担体と比べてはるかに優れた性能を発揮する。

まず、従来のものよりはるかに小さい。そのため単位体積あたりの総表面積を広く取ることができ、多量のりガンドを固定できる。また、小さくて表面に孔のない微粒子なので余計なものがひっかかったりするようなことはなく、効率よく、精度の高い分別ができる。

そして何より、このビーズには従来からの常識を全く覆したアイデアが込められている。カラムを用いない分別法を行うのである。

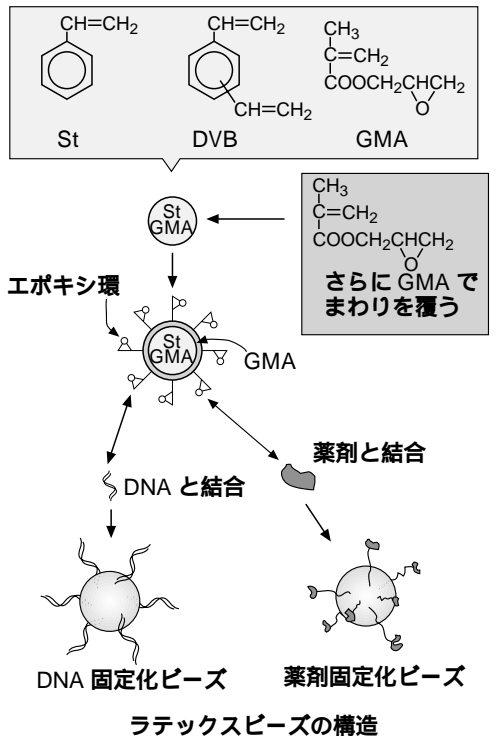
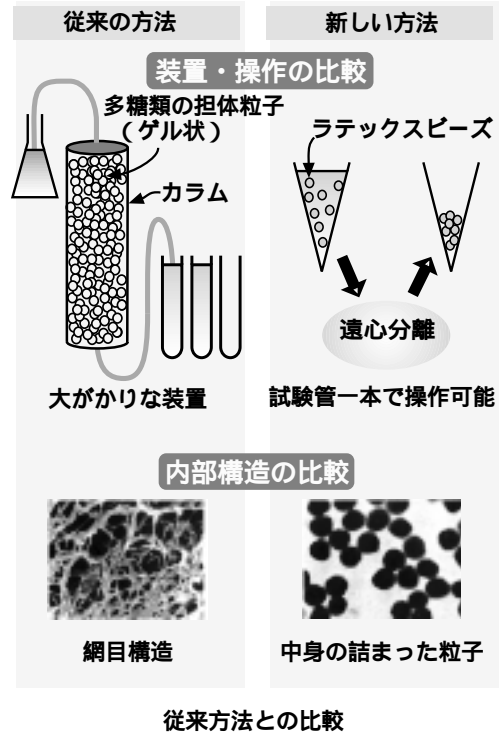
まず、細胞からの抽出液とりガンドを取り付けたビーズを混合し、しばらく反応させる。そして、りガンドにレセプターが結合したあとで遠心分離機にかける。そうすれば、ビーズごと目的のレセプターを沈殿させることができる。

この方法をとればカラムを用いた場合と異なり、目的物を失うことがない。しかもこれまでは担体がカラム中に固定されていたが、新しいビーズは試験管内を動き回る。それによってりガンドとレセプターの結合頻度は飛躍的に高まり、さらに効率良くなる。また、従来用いられていた多糖類の担体と異なり有機溶媒にも安定であることも見逃せない。薬剤など、難水溶性の物質をりガンドとして有機溶媒中で利用することができるようになったのだ。その上、実験装置が簡単で時間もほとんどかからない。そのため、りガンドの固定化量や液の濃度などの条件を簡単に比較することができる。

このビーズの開発で、これまでどうやっても精確には取れなかった生体レセプターを簡単に取り出すことがようになった。従来の方法ではできなかったことである。

次の段階として磁性を持った担体ビーズの開発が電子物理工学科の阿部教授との共同研究で行われている。担体ビーズに磁性を持たせられれば、遠心分離を行わずとも磁力で引き寄せて簡単に沈殿させることができる。

また、これまでは化学物質から生体レセプターを集めていた。これからはレセプターから化学物質を集めることができるようになるかもしれない。



現在のビーズにリガンドを取り付けるにはタンパク質が耐えられないほどの高温が必要である。しかし開発が進められている磁性ビーズを用いれば、たんぱく質であるレセプターが変性しない穏やかな条件で担体に取り付けることができる。さ

らに、ビーズに取り付けたりリガンドに有害物質を吸着させて磁力で引き寄せ取り除き、廃液の処理などに利用する、といった応用も可能になる。アフィニティークロマトグラフィに限らない大きな可能性のある技術である。



RNA 伸長反応の謎に迫る

ビーズを用いた解析によって、DNA から RNA が写し取られる転写反応のメカニズムの一部が明らかにされた。

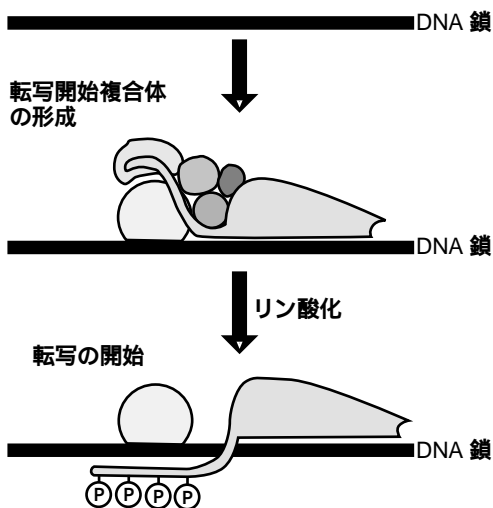
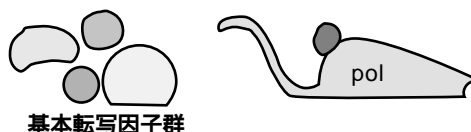
生体内の様々な機能を担っているのはたんぱく質である。生命の設計図といわれる DNA の情報が RNA として写し取られ（転写）、RNA の情報を元にたんぱく質が合成される（翻訳）。一部のウイルスなどを除けばこの「DNA - RNA - たんぱく質」という一連の流れは生命機構の大原則でありセントラルドグマと呼ばれている。

ヒトを初めとする真核生物において、DNA の情報を読み取って RNA を合成する役割を担っているのは RNA ポリメラーゼ（pol）である。DNA 鎖上の転写が開始される部分で pol の働きを制御している基本転写因子と呼ばれる様々なたんぱく質が pol に結合する。そのようにして転写開始複合体と呼ばれるものが形成されている。

転写開始複合体は、転写の開始位置、転写を進める方向、転写反応の最小速度を決めている。しかし、転写反応が効率よく進むためにはこれだけでは十分ではない。転写反応を活発にする様々な因子の働きで転写の速度が速くなっている。こうして RNA の長さがある程度になると pol は転写開始複合体から離れる。そのまま DNA 上を滑りながら遺伝情報を読み取り、さらに転写反応を進めていく。半田教授が明らかにしたのはこの RNA が伸びていく反応、RNA 伸長反応に関することである。

最初の目的は、細胞核から抽出した液から DNA に結合しやすい転写因子を取り出すことであった。細胞核の抽出液には様々なたんぱく質が含まれている。そこから DNA を固定化したビーズを用いて、DNA と結合しやすい転写因子をまとめて取り出そうとしたのである。

「ビーズを使えば DNA 結合性転写因子の全てを一度に取り出せるのではないか」との思いから



転写開始複合体の形成

始まったこの研究は、意外な発展を見せることになった。ビーズの性能が期待以上の成果をもたらしたのである。取り出そうとした転写因子群に加えて、それに親和性のある、ある種の酵素までもが取り出されたのだ。取り出された酵素は CK や pTEFb と呼ばれる、たんぱく質をリン酸化する酵素である。

リン酸化とは分子の一部がリン酸基で置換される反応である。このリン酸化反応によって活性・不活性が制御されているタンパク質も多く、重要な反応といえる。

期待していた転写因子に加えてリン酸化酵素が取り出された。この発見から、半田教授は RNA

の伸長反応にはリン酸化が深く関係しているのではないかとの仮説を立てた。そこで、当時 pol の阻害剤としての働きが知られていた DRB という試薬を用いて転写伸長反応とリン酸化のメカニズムの解明を目指したのである。

そして研究の末に、転写反応を負に制御する、つまりブレーキの役割を果たす物質 DSIF と NELF を見つけ出した。転写反応のブレーキ物質が発見されたのは世界でも初めてのことであった。これらは次のような実験により発見された。

細胞からの抽出液で RNA の伸長反応を起こした場合、DRB を加えると反応は止まってしまう。ところが抽出液から RNA 伸長に関わっている因子を分離して反応を行うと、DRB を加えても反応は止まらなくなる。ここで分離した液を再び混合してやると DRB による制御を受けるようになる。この、分離した液の中の転写を止める因子こそが DSIF なのである。また、更なる実験を重ね、NELF というもう一つの因子も見つかった。これらの作用機構は次のようなものだ。

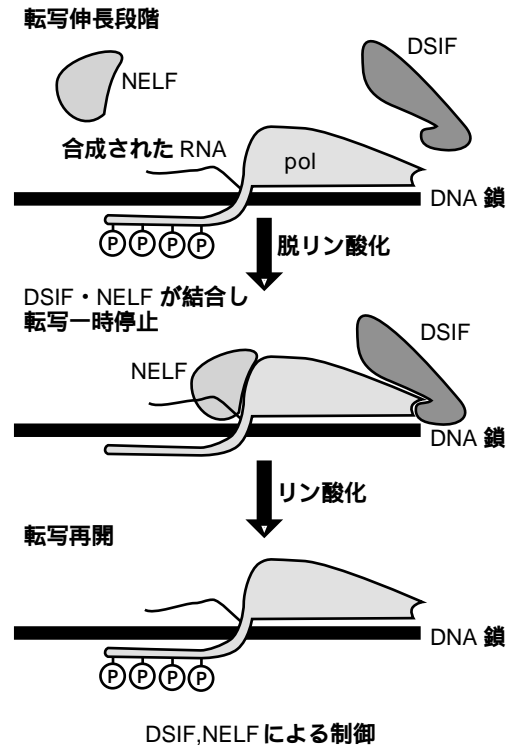
転写反応は pTEFb によって pol の一部がリン酸化されることで活性化される。リン酸化されていると、DSIF や NELF は pol に結合できない。ところが DRB は pTEFb の働きを阻害し、pol のリン酸化を妨げてしまう。リン酸化されていない pol には DSIF や NELF が結合し、RNA の合成をストップさせてしまうのだ。

ここでは DSIF は転写反応のブレーキとしての役割を果たしている。しかし、場合によっては転写反応を促進するアクセルの役割を果たす。DSIF と共に働くパートナーが鍵を握っているのだ。NELF は DSIF がブレーキとして働くときの相棒というわけだ。例えばエイズウイルスで起きている転写反応において、Tat-SF1 と呼ばれる物質との相互作用で転写を促進することが明らかになっている。Tat-SF1 と共に仕事をするとき、DSIF はアクセルを踏むのである。



真のサイエンスとは

半田教授は、様々なものが混ざった細胞の抽出液から、生体レセプターをまとめて取り出せないか、との思いから、カラムを用いる従来の方法の欠点を考えた。その「自分で考えたこと」から



DSIF, NELF による制御

これらの話は全て試験管内での話である。それでは、実際の生体内で本当にこのような反応が起こっているのだろうか。実はゼブラフィッシュという魚の突然変異種を用いた実験で、RNA 伸長反応制御機構の異常と神経発達異常との関係が明らかにされている。突然変異が起こっているゼブラフィッシュには DSIF の構造変化が起こっている。そうすると、体内で RNA の伸長反応が制御できずに神経発達異常が起こってしまうのだ。

このことは DSIF が RNA の伸長反応の制御に大きな役割を果たしていることを示している。半田教授が明らかにした作用機構は確かに実際の生体内で起こっているのだ。

「カラムなんか必要ない」という発想の転換が生まれ、画期的な新技術につながった。

このような「自ら考える姿勢」を身に付けたのは、学生時代 MIT に留学していたときのことであ

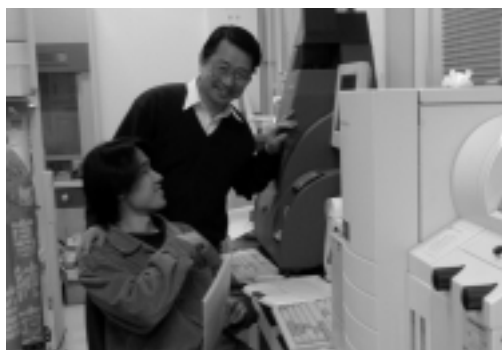
るという。そのとき出会った研究者たちは、自ら考え実験して研究をする力を持っていた。

「なぜ俺は自分の力で考えなかったんだろう。今までやってきたのは学問でもなんでもない、ただの人まねじゃないか」

一度は大きなショックを受けた半田教授であったが、言葉ではなく、彼らの態度から Science とは何かということを学んだ。素朴なところから「自分で」考え、そのレベルを日々高めていく。そのやり方は世界初の発見という形で実を結んだ。その成果は、世界最高ランクの教科書を書き換えてしまうほどのものである。

「Science とは個性とプライドである」半田教授は力強くこうおっしゃった。人まねしないプライドと自分の個性的な考えさえあれば、誰だって研究を進めていくことができる、と。

しかし、勘違いしてはいけないのは、独自の考えを突き詰めていきさえすれば良い、というもの



研究室は学生を育てる場でもある



研究室の様子

ではないということである。そのオリジナルな考えを社会に還元できるレベルにまで高めてこそ意味があるのだ。実際に応用できてこそ、という面があるということでもある。

しかし、これは実際にすぐ使えることばかりを研究するというのでは決してない。むしろその逆なのである。大学にはきちんとした Basic Science、基礎研究を徹底的にやるという使命がある。それは、人まねではない一番煎じの仕事だ。しっかりした考えと確かな技術から生まれる真の Basic Science を突き詰めれば、そこには応用につながるだけの可能性が秘められている、ということなのである。

実際、ビーズを利用した化学物質と生体レセプターの作用機構の解明は一流の基礎研究である。そして、その成果は薬剤の開発やセンサーへの応用が期待されている。これらの研究の成果は、次世代のバイオ産業において大きな役割を果たしていくことになるだろう。

「君たちは変わらなければならない。今までのやり方を捨て去らなければならないんだよ」

半田先生の言葉は大変印象的だった。私達は他人が作ったものを身に付けていくだけの勉強をやめ、自ら考え学んでいかなければならない。

それでは、そのために我々が大学でなすべきことはいったい何なのだろうか。

大切なのは「自分にあったテーマを見つけ、それをとことん楽しむ」ことだ。そのためには、若いうちから色々な先生と付き合いを持っておくことが重要になる。そして、実際に Science をやっ

ていくためには「自分の課題に対して、自分なりの問題点を常に頭の中に残しておくこと」を忘れてはならない。それが些細なことであっても、そこから Science が始まるのだ。こう語る半田先生の声には研究者、教育者としての自信と情熱があふれていた。

最後になりましたが、多忙な中我々の取材に快く応じてくださった半田先生にこの場を借りてお礼申し上げます。

(古川 和史)