

## 「裏・ノンスペワールド備忘録」

大西康太

### 三回生までの生活

2004年春、入試をギリギリの点数で合格し、晴れて大学生となった僕は、遊んでいた。一回生のときに単位をかなり集めていたこともあり、二回生の頃に至っては、週休五日の悠々自適な生活を送っていた。当時、一般教養科目の実験演習で、腑抜け切った僕のお世話をして下さったタンクトップ・ファンキーなTAさんが、あの川畑球一さん（当時・博士課程、現・福井県立大学）である笑。地元の奈良でひたすらバイトをして、ひたすら野球をして、たまに必修の講義に出席して、、、本当にそれだけの一年間だった。三回生になって学生実験が始まり、やっと理系学生らしい生活になってきたが、「おもんないなー早く就職してお金持ちになりたいなー」が本音だった。

### 出会い

三回生の夏、同じ学科の先輩に食工野球大会（関西圏生物系研究科の代表チームが集うワンデイトーナメント）に誘われた。どうせレベルの低い大会だろうと思って練習に行くと、やたら上手い黒い人がいた。「自分、結構ええ球投げんなあ」池田泰隆さん（当時・博士課程、現・大塚製薬）との出会いである。野球が超上手い・車が好き・話がおもしろい、の三拍子揃った池田さんに、僕はすぐに懐いた。

当時、研究室配属を半年後に控えており、何気なく池田さんに相談したところ、「村上さんといっしょに研究したら絶対成長する。保証する。」と即答して下さった。「村上先生？ ああ、あのソフトボールの試合でバッチ来いバッチ来い言うてくる人ですか・・・え？あの人、先生やったんですか！？」

早速、研究室を訪問すると、村上先生が研究内容について丁寧に説明して下さいました。不真面目な学生だった自分に、忙しいはずの先生が長い時間を割いて下さったことが、嬉しかったです。そんな流れで、希望研究室を決めた。

### ラボリーライフの幕開け

無事、希望した生命有機化学研究室に配属が決まり、2007年春、僕の研究生生活が始まりました。同じ研究室に配属した同級生二人が明らかに優秀だったこともあり、劣等感でいっぱいだったが、逆に開き直れた。ゼルンボン標的分子の探索というなんだかカッコいい響きのテーマを頂き、モチベーションも上がった。

村上さんから最初に提案された戦略は、「ゼルンボンを固定化したゲルを作って、アフィニティークロマトグラフィーで結合タンパク質を精製する」というものだった。4月当初、もちろん口にはしなかったが、「そんな半年で終わるんちゃうん」と思っていた（若いっ

て本当に恐ろしい)。早速、ゼルンボン固定化ゲルの調製に取りかかったが、いきなり難航した。セファロースゲルを用いた固相合成の厄介なところは、NMR による構造決定ができないこと、また、水系の溶媒で反応させなければならないこと、だった。テスト前に一夜漬けで勉強した有機化学の知識が、全く通用しない世界だった。

7月にある初めてのリサーチセミナー（研究室全体の研究報告セミナー）までに、なんとか良い結果を出したかったが、結局、固相反応のモニタリング方法を確立したところで、タイムアップ。「研究ってすごく時間がかかる」ことを実感した。

### 初めてのデータ

大学院入試になんとか合格し、10月から再び研究生生活が始まった。卒論提出まで半年も無い状況下、とにかくゼルンボン固定化ゲルの調製を急いだが、「くっつかない」日々が丸三ヶ月続いた。「なにかが根本的に間違ってるんじゃないか？このまま頑張っても結果は出ないんじゃないか？」不安な日々だった。そんな折、村上さんとのディスカッション中に、それまでとは異なる反応経路を思いつき、これがヒットした。固定化率こそ低かったが、初めてセファロースゲルにゼルンボンがくっついた。“積み重ね法”という名のパワープレイにより固定化率を高め、やっと「道具」ができた。アルカリ加水分解によりゼルンボンの水酸化体が解離したことから、リンカー部位の構造もある程度推察できた。1月末のことである。

早速、調製したゲルと細胞抽出液を反応させ、結合タンパク質の解析に取りかかった。宮本真吾さん（当時・博士課程、現・UCHC）にウェスタンブロット法を教えて頂き、結合が予想されるタンパク質 Keap1 の検出を試みた。が、バンドが出ない。Keap1 どころか、CBB で染色しても真っ白のゲル。「なんてこった！なんにも結合せえへんのかいな」と、落胆しかけたが、ゼルンボンに共有結合したタンパク質が溶出されていない可能性を疑った。アルカリ処理によりゼルンボンがゲルから解離することを思い出し、ダメ元でこの処理を行ってみた。すると、Keap1 を含む多くのタンパク質が溶出され、ゼルンボンと生体タンパク質との共有結合を強く示唆する結果となった。ウェスタンのポラロイド写真を見て、歓喜の雄叫びを上げたのが懐かしい（僕がウェスタンを失敗しないように、夜遅くまでずっと隣で見てくれていた宮本さんが、自分のことのように喜んでくれた）。当時、食品成分の共有結合性標的分子については例が少なく（無知なだけだったかも）、筆舌に尽くしがたい大きな達成感を味わった。

### 初めての学会発表

少し遡って、年末のこと。二度目のリサーチセミナーを終えた日、村上さんに「3月のFSF 出えへん？」と言われた。先輩方から噂は聞いていた。戦場のような、恐ろしい研究会がある、と。まだゼルンボン固定化ゲルも出来ていない頃である。

「でも僕、データ全く出てないですよ？いいんですか？」

「別にええねん。学会ちやうから。むしろ今の苦勞をしっかりと語ればいい。いいアドバイスがもらえるかもしれん。」

「じゃあ、出ます。」

なんとなく勢いで即答したが、先輩達にその話をしたところ、厳しいお言葉が返ってきた。

「研究室の看板を背負って、出るんやからな」

2月になんとか結果が間に合ったのは、このプレッシャーがあったからかもしれない。

そんなこんなで、その日が来た。データに自信はあったし、準備もしっかりやった。スライドも一新して、発表練習も本番ギリギリまで続けた（村上さんに頼んだら、前日深夜&当日早朝まで練習に付き合ってくれた）。しかし、如何せん、初めての対外試合。しかも、他の発表者は大学院生ばかり。さらに、なぜか会場に池田さんが来ていた。たぶん、人生で一番緊張した。発表直前に、本当に不安になって、村上さんのところに行った。

「村上さん、発表中って何考えてますか？聴衆よ、わかってくれえ！って感じですか？」

「緊張してるやん笑。いや、聴衆の反応が見えるのは上級者だけや。発表中は、目で聴衆を見ながら、頭では自分と向き合うんや。」

この一言でほっとした。本番も、不思議なくらい落ち着いてプレゼンできた。発表後の懇親会で、先輩の関口博太さん（当時・博士課程）が、「こいつは一年間よく頑張ってた。」って言ってくれたとき、ちょっと涙が出た。

## 大学院生になって

すぐに4月が来て、M1 になった。院生になると、セミナーが増えたり、専攻の仕事が回ってきたり、学部生の頃より実験に使える時間が減って、それが大きなストレスだった。夏頃、雑用の量がピークに達し、なんで俺だけ？（何でも引き受けてしまう八方美人型の性質が災いした）って、ちょっとイライラしていた僕に、増田裕一さん（当時・博士課程、現・東北大学）が「大西くん、雑用も仕事のうちだよ。雑用も笑ってできる大人にならなきゃだめだよ。」と、言って下さった。とても反省した。

そんな中でも、なんだかんだで研究はそこそこ順調だった。FSF で、川畑さんに頂いたご指摘を基に、新たなプローブ作りに取りかかっていた。固相合成で苦勞してきた当時の僕に、もはや合成できないゼルンボン誘導体など何も無かった（嘘）。有機溶媒とNMR が使える（読むのは村上さんだったけど笑）点で、ビオチン誘導体の合成は比較的簡単だった。同時に、抗ゼルンボン抗体の調製に取りかかった。

FSF で、徳島大学の石坂朱里さん（当時、修士課程・現、くらしき作陽大）の研究発表を聞いて、驚いた。「ケルセチン抗体？え？抗体って抗タンパクだけじゃないの？？」低分子を認識する抗体を調製できることを初めて知った。当時は、「へえ〜、生き物ってすごーい」ぐらいにしか考えていなかったが、ハナショウガ研究会の帰りに、村上さんと喋っている中で、「もし抗ゼルンボン抗体ができれば、結合タンパク質の検出にも使えるんちゃうん！」と盛り上がり、早速、河合先生（当時、徳島大学・現、名古屋大学）に抗体作成方法のご

教授をお願いした。快く了解していただき、留学中の河合先生に代わって、石坂さんが直接指導してくれた。お二人の的確でご親切なサポートもあって、8月にスタートした抗ゼルンボン抗体作成計画だったが、11月上旬にはマウス血中抗体価の上昇を認めた（河合先生曰く、ビギナーズラック笑）。この頃感じたスピード感・充実感のおかげ（せい？笑）で、研究にどんだんのめり込んでいった。

## 進学か、就職か

新たな「釣竿」を二本も手にし、意気揚々と生細胞におけるゼルンボン結合タンパク質の検出に取りかかった。当時、低分子活性物質の標的分子に関する論文を読み漁っていた僕は、当然のように、単一、多くても二、三種の結合タンパク質が検出されてくることを妄想していた。「未知のタンパク質が見つかったらどんな名前にしようかなー」なんて本気で考えていた（何個か素敵な候補があったはずだが忘れてしまった）。しかし、WBの結果、目の前に映し出されたシグナルは、「無数」という表現がピッタリのラダーバンド。一瞬「え？」と戸惑ったが、兎にも角にも、生細胞における結合タンパク質を検出できた喜びが勝り、とりあえず雄叫びを上げていた笑。この結果をひっさげ、M1の秋にJSoFFデビュー。まだまだ課題は山積みではあったが、ある程度の進捗を感じ、ほんの少し、自分に自信もついてきた。

ちょうどこの頃、同級生が就職活動を始め出した。進学か、就職か。修士課程に進学してからずっと考えてはいたが、結論を出せずにいた。研究は好き。でも、このタイミングで就職した方が、経済的に安定した人生を送れる可能性が高い。どちらかを諦めなければならぬ状況下、生まれて初めて、真剣に自分の人生と向き合った。散々悩んだ結果、選んだのは、研究だった（お金持ちを諦めることを選んだ、の方が真意に近い）。研究を初めてから、たった一年半の短い期間だったが、研究者としてだけでなく、一人の人間として“かっこいい”と思えるボス・先輩方との出会いに恵まれていた。自分もそんな人達に近づきたかった。

## 苦難の始まり

進学を決意し、吹っ切れた僕は、やる気に満ち溢れていた。M2の4月、四回生の頃のデータで論文を書かせていただき、学振DC1申請書類を提出した。今後の研究計画として、「網羅的解析→活性発現に関わる分子の同定」という、オーソドックスな戦略を選んだ。

計画した通り、ゼルンボン結合タンパク質の網羅的解析に取りかかった。タンパク質同定のスペシャリストである石井剛志先生（静岡県立大学）と森大気さん（当時、博士課程・現、国立長寿医療研究センター）の熱いご協力の下で、それまで経験のなかった実験手法・機器を使った研究に取り組むことができた。（出張させていただいた際には、~~もうイヤという程~~お腹いっぱい、ラーメンをご馳走していただいた。）プロテオミクスという素敵な響きに酔いしれ、ポジティブな妄想は膨らんだ。が、同定されたのは、細胞骨格やら解糖系

酵素やら、とにかく発現量の高い、所謂ハウスキーピング分子がほとんどだった（マウス細胞を使っていたのに、ヒト由来ケラチンも同定された笑）。ただ、ほんの数種類ではあったが、活性への関与が期待できそうなタンパク質も同定され、この中のどれかがゼルンボンのターゲットに違いない！と、機能解析に取りかかった。

## 地獄のD1

そうこうしているうちに、同級生が修了していった。入学してから6年間、ずっと近くで支えあってきた仲間達が京都を去り、自分はD1になった。根っからの寂しがり屋を自負する僕にとって、同級生のいない孤独な生活は想像以上にストレスフルだった。同時に先輩もいなくなり、研究室で一番上の学生になった。誰よりも結果を出さねばならない。

まず、着目したのが L-プラスチンというタンパク質。細胞接着に関する報告が多かったが、炎症反応との関与も示唆されており、ゼルンボンの抗炎症活性を制御している可能性が考えられた。「siRNA を用いて L-プラスチンの発現を抑制した細胞を用意し、ゼルンボンの活性に対する影響を評価する。」文章にすると、あっさりした実験系だが、トランスフェクションに時間がかかること、高価な試薬を使うこと、また、それまで細胞を用いた活性評価をあまり行っていなかったこともあり、難渋した。苦労してやっと確立した実験系を用いて、得られた結果は、「L-プラスチンはゼルンボンの活性には関与しない」。凹んだ。しかしまだ候補タンパク質は残っている。いくつかのタンパク質に対して同様の戦略を用い、ゼルンボン活性への関与を評価したが、良い結果は得られなかった。ちょうどこの頃、研究室内のいろいろなトラブルも重なり、研究に対する“勢い”が、徐々に失われていった。

## ブレイクスルー

悶々とした日々の中で、ゼルンボン結合タンパク質のラダーバンドを眺める時間が増えていた。「お前（ゼルンボン）が色んなものにくっつくせいで……。やっぱ天然化合物なんてそんなもんかー」結果の出ない研究生活に、内心、明らかに拗ねていた。「いろんなタンパク質にくっつくことって、天然物の特徴やなー。食品研究に関わってるんやし、この非特異性を無視したくないんやけどなー」なんとかこの局面を切り抜きたい。ここを切り抜けさえすれば、おもしろい研究になる予感もあった。でも、その手段が浮かばなかった。

そんな中、村上さんとのディスカッション中に「シャペロン」という単語が出てきた。どういう経緯でそんな話になったのか、二人とも詳細には覚えていない。こんな大事な局面のことをなんで覚えていないのか、本当に不思議だし残念でしかない。熱ショック応答により分子シャペロンが誘導される仕組みを知ってから（これは村上さんが調べてくれた）、ゼルンボンによる非特異的タンパク質修飾との関与を連想するのに、時間はかからなかった。

「タンパク質ストレスによる疎水性残基の露出を、タンパク質にくっついたゼルンボンが

ミミックしてるんじゃない？分子シャペロン、誘導しちゃうんじゃない？」

さらに文献調査を進めると、分子シャペロンと生理機能との関与を示す論文が出てくる出てくる。その中には、ゼルンボンの代表的な活性の一つ、抗炎症活性も含まれていた。仮説の段階ではあったが、二人でめっちゃくちゃ興奮したのを覚えている。夏の研究室旅行でもそんな話ばかりしていた。

## 試練の D2

早速、仮説の検証に取りかかった。まずは mRNA レベルで、HSP70（代表的な誘導型分子シャペロン）の誘導試験を行った。ゼルンボンの強い活性を目の当たりにし、ウハウハ。本腰を入れて、メカニズム解析を行うことにした。当然、熱ショック応答に関する研究は初めてだったので、実験に必要な抗体や siRNA を新たに買い揃える必要があった。しかし、良い抗体がなかなか見つからない。買って WB してバンドが出ない。買い直して WB してまた出ない。これまでも似た経験はあったが、あんなに抗体運に見放されたのは初めてだった。結局、7 本目 (!) にしてやっと使える抗体を手にし、ジワジワと実験が進みだした。

この頃、村上さんからの“早く論文を書きなさいプレッシャー”がゴリゴリだった。

「実験しながら、空き時間に論文を書き進める。」

今となっては、当然のことなのだが（てへっ）、当時の僕は猛反発した。

「まだどんな結論が出るかわからないのに、論文なんて書けない。仮説通りの結果を出すための実験なんてしたくない。」

実に青くさい主張。でも、本心だった。それまで本当に奔放に、好きなように研究してきた。面白い結果が出ては考え、調べて、村上さんとディスカッションして、確かめて、自分が心から納得できる結果だけを発表してきた。そんな研究が大好きだった。長時間に渡り話し合った結果、自己責任で僕の思うようにやらせてもらうことになった。どれだけ話し合ってもお互いの意見は平行線だったけど、それでも僕の気持ちを尊重してくれたボスの懐の深さに、感謝した。

実験を積み重ね、結論が出た。「ゼルンボンに非特異的に修飾されたタンパク質が、生体に異常分子として認識され、熱ショック応答を起こす。」D1 の頃に村上さんと二人で描いた仮説が、部分的にはあるが証明された。この結果を初めての国際学会 (ICoFF) で口頭発表し、試練の D2 が終わった。

## 勝負の D3

ちょうどこの頃、がむしゃらにやってきた修士の頃と比べて、研究者として少し成長できた自分を感じていた（照れるやん）。なんとなく、ではあるが、“抑えどころ”みたいなものがぼんやりわかってきた。学生最後の一年で、自分の力を試したかった。

ゼルンボンが HSP を誘導することは明らかとなったが、ゼルンボン修飾タンパク質が分

子シャペロンにより修復されるとは考えにくかった。そこで、プロテアソームやオートファジーなどのタンパク質分解系により処理される可能性を想定した。また、熱ショック応答を介して HSP が誘導されるように、ゼルンボンによるタンパク質ストレスによって、タンパク質分解系が活性化する可能性も考えられた。このテーマに関しては、背景知識の収集から研究計画まで、できるだけ自分ひとりの力でやりたかった。初めての実験系で、文献調査や条件設定に時間がかかったが、ゴリゴリ実験を続けた結果、予想通り、ゼルンボンがタンパク質分解系を活性化することが明らかとなってきた。要所要所で村上さんから頂いたアドバイスが後押しとなったことは言うまでもないが、初めて自分の力で、問題設定から結果を出すところまで、研究を創れた気がして、とても嬉しかった。(この分解系に関する研究、最終的には予想以上の良いデータが出て、もう少しインパクトの高い雑誌を狙えたのだが、卒業するためのタイムリミットがギリギリだったために、速報誌に投稿。散々わがままにやってきた学生時代の中でも、最大級のわがままを聞いていただきました。この場をお借りして、ボスに心からのお詫びと感謝の意を伝えたいと思います。村上さん、あざっす！)

## 学生最後の二ヶ月

D3 の夏が過ぎた頃から、論文投稿やら学位請求やら就職活動やらでとにかく忙しくて、会う人会う人に「あれ？なんか老けた？」とか言われながらもなんとか峠を越え、2月が来た。学位を頂けることは決まっていたが、もう一つ、どうしても結果を出したいテーマがあった。ゼルンボンによる非特異的タンパク質修飾が、タンパク質品質管理機構を活性化させることは証明できたが、既に明らかとなっていた抗炎症作用との関与については未検証だった。元はと言えば、四回生の頃からずっと、ゼルンボンの抗炎症活性に重要な標的分子を探索してきたわけで、本当に興味があるのはこの先だった。タンパク質品質管理機構と炎症反応との関与については十分な文献情報があり、「ゼルンボンは、いろんな生体タンパク質に非選択的に結合することで抗炎症活性を発現する」ことを証明できる可能性は高かった。タンパク質品質管理機構に関わる様々な遺伝子をノックダウンして、ゼルンボンの抗炎症活性に対する影響をみる。D1 の頃にノックダウンで苦勞した経験が活き、なんとか3月末の農芸化学会に結果が間に合った。(本当は、メカニズムまでやりたかったのだが、続きは元気な後輩達にお任せします。)

## 終わりに

徒然と、学生時代のことを思い出しながら書いたので、長々と読みにくい文章になってしまってすみません。ここまで頑張ってくれた方々、ありがとうございます。大好きです。“ノンスペワールド”は、今の僕にとっては、これまでの研究人生の全てです。楽しい瞬間以上に、辛かった時期も長かったし、研究を嫌いになってしまいそうな日もあったけど、頑張って本当によかった。自分らしい研究ができた！と、心から満足しています。

六年間の研究生活の中で、本当にたくさんの方々にお世話になりました。川畑さんや池田さんなどのOBの方々を始め、多くのかっこいい先輩方に恵まれたこと。お互いに切磋琢磨して頑張っ、辛い時には支えてくれた同期のみんながいたこと。人として未熟だった自分を成長させてくれた後輩達のこと。そして何よりも。毎日忙しい中、研究のことでもそれ以外のことでも、僕と真正面から向き合っ、本音で話し合う機会を作ってくれた村上さん。僕の悪いところも嫌という程見せたと思うけど、最後の最後まで、二人三脚を続けてくれたこと。心から感謝しています。

まだまだ未熟者の初心者ドクターですが、これから続く長い研究人生の中で、いつか“かっこいい”先輩方に追いつき、そして追い越せるように、自分らしく、切磋琢磨を続けていきたいと思っます。

A handwritten signature in black ink, appearing to be the name 'ouf' or similar, written in a cursive style.

2013年6月17日  
初夏を迎えた名古屋にて