

## タンパク質研究の展開と延長

吉田賢右（よしだ まさすけ）

### 研究の展開期と延長期

自分の研究の経過を振り返ってみると、核心をつく画期的な発見があり理解が急速に進む「展開期」と、発見について詳細な調べを進める「延長期」があったように思う。延長期には、何をやればいいのか何ができるのかわかっているし結果も必ず出るので、論文がコンスタントに出る。しかし、展開期とくらべると、延長的な細かいことをやってるな、と周りは思うようになるし、研究費の調達もだんだん難しくなる。自分でも次の新たな展開の手がかりが見つからないか、と焦りを感じたりする。ずっと展開を続けることができればいいのだが、たいていはそうもいかない。それは自分の能力や研究対象の性質だけでなく、学問の発展段階あるいは「時代」がかかわる。バイオ研究にはいろいろな分野があるが、分野によって展開の時代の訪れが違う。延長期にある分野では、地道な知識の集積をすることになる。多くの場合、延長期がなければ次の展開期もない。したがって、延長期の研究に参入するのも意味があるだろう。しかし、できれば展開期の分野で新発見にわくわくしながら研究してみたい。さらには展開期を自分で切り開いてみたい。

### タンパク質の研究

私は、生物の起源や進化に興味があった。しかし、半世紀前、私が研究分野を選択するころは、進化を分子的に深く研究することはほとんど不可能だった（L. Pauling の分子進化の考えはあったが、実際にできることはグロビンやシトクローム c のアミノ酸配列を比べることくらい）。生物集団の進化における（有利でも不利でもない）中立の変異の重要性の認識（木村資生、中立進化説）はこのころの進化学における一つの重要な展開だったと思うが、

それを除けば、進化の研究は延長期にあったと思う。そこで、進化はあきらめて、タンパク質の研究に進んだ。ちなみに、現在では、進化の研究は展開期にある。遺伝子の塩基配列の比較分析が進化の研究の強力な武器となっており、特に、最近数十万年の進化であれば化石のゲノムを直接に決定して進化の軌跡をたどる道が開けている。そして、たとえば、100年以上にわたって論争されてきたネアンデルタール人と現生のヒトとの関係に結論（アフリカを出たヒト、つまりアジア・ヨーロッパ人と交雑した）がでていいる。私がこれから大学院を選択するなら、きっとそちらに進むだろうが（だが、今の日本に化石ゲノムを決定し進化を解析できる研究室があるだろうか）、半世紀前はタンパク質が展開期だったのである。無細胞タンパク質合成系が早い時期に開発されこれによってコドンの解明、mRNA、tRNA、リボソーム、などタンパク質合成の基本がわかりつつあった。またイオン交換樹脂などのカラムクロマトグラフィーでタンパク質を精製する技術がほぼ確立し、タンパク質の多種多様な、驚くほど巧妙な機能が見つかりつつあり、若い私たちはタンパク質に魅了されていた。研究者は自分で好きなタンパク質を見つけてきて研究テーマを選ぶことができた。おもしろいタンパク質の数は研究者の数をはるかに上回っていたのである。

### 酵母 rRNA

1966年、私は大学院に入って今堀和友研究室に進んだ。今堀先生から与えられた修士のテーマは、リボソーム RNA 自体がリボソームタンパク質の mRNA ではないか、という仮説を酵母で検討することだった。魅力的な仮説だったが、（事実は違っていたので）うまくいかなくて、このテーマは1年で

あきらめた。そして、ちょうどそのころ、相補鎖 RNA-DNA の結合を検出する方法が開発された (S. Spiegelman, 1965 年、ちなみに今の核酸技術の根幹をなす相補鎖検出の端緒を開いた Spiegelman がノーベル賞に縁がなかったのは不思議である) のでそれを使って、酵母の rRNA 遺伝子が染色体に何コピーあるか、調べることにした。すでに大腸菌そのほかで、rRNA 遺伝子が複数あるらしいことは報告があった。酵母から核酸を分離するとほとんどが rRNA で、そんなにたくさんの rRNA を作るためにはその遺伝子も多数あるのではないかと私は考えた。酵母 DNA を 1 本鎖にしてニトロセルロース膜に固定し、トリチウム標識した rRNA をろ過し、1 本鎖 DNA に結合する rRNA の量から染色体あたりの遺伝子数を推定した。結果は、酵母は数百コピーの rRNA の遺伝子を持つという驚くべきものだった (意外すぎて論文にする自信が持てないでいたら、しばらく後に同内容の論文がフランスの研究者から発表された)。この結果からただちに、細胞はどうやって変異を防いで数百の同一配列の遺伝子を維持するのか、という問いが生じたが、当時はこれを追及する方法がなかった。この時代、遺伝子研究は延長期だった。



写真 1. 1968 年ころ。(後列左から) 今堀和友先生、大島泰郎さん、大隅良典さん。しゃがんでいるのが私。

## 好熱菌の解糖系酵素

博士課程では、好熱菌の解糖系の制御の鍵となる酵素 (ホスホフルクトキナーゼ) の研究をおこなうことにした。1962 年、フランスの J. Monod たちが、アロステリック酵素という概念を提案した。酵素自体に組み込まれている巧妙な仕掛けによって、反応物でも生産物でもない第 3 の化合物によって触媒活性が制御される、というのだ。アミノ酸合成経路の最初の酵素が最終産物アミノ酸によってフィードバック阻害されるなど、みごとな解明があった。アロステリック酵素はいくつかのサブユニットからなる複雑繊細な酵素で、適当な熱処理などで、触媒活性は保持したままアロステリックな性質だけを失う、という。当時、大島泰郎さんが今堀研の助手になって好熱菌の生化学を始めた。そこで私は、好熱菌のホスホフルクトキナーゼ (PFK) を研究テーマに選んだ。PFK は  $F6P + ATP \rightarrow FBP(\text{fructose 1,6 bisphosphate}) + ADP$  を触媒するが、同じ細胞質中には  $FBP \rightarrow F6P + P_i$  を触媒する糖新生系の FBPase もあり、両者が同時に働くと単なる ATP 加水分解が進行するだけである。両者を同時に、正負逆に、制御する仕組みがあるはずだと発想したのである。PFK も FBPase もいまだ知られていない熱に強いアロステリック酵素なのだろうか、そうでないとしたらどんな仕組みか。結局、ホスホエノールピルビン酸 (PEP) が、PFK を阻害し FBPase を活性化することがわかった<sup>(1)</sup>。両者ともに熱に強いアロステリック酵素であった。PFK は、PEP によって活性のある 4 量体が不活性の 2 量体に解離する。基質である F6P は逆に 2 量体を 4 量体にもどすのである。結果として、 $[F6P]$  vs 反応速度は  $[PEP]$  に依存して強いシグモイド曲線となる。PEP は解糖系の下流の化合物であり、PFK はフィードバック阻害をうけていることになる。好熱菌を含めて多くの細菌では、(制御因子は他にもあるが)  $[PEP]$  が低ければ解糖系が促進され、高ければ糖新生系が促進される。ちなみにヒトなどではこれと全く異なり、fructose 2,6 bisphosphate という分子が制御因子でありその合成分解はホルモン下流のタンパク質リン酸化のカスケードで制御される。

## 好熱菌の ATP 合成酵素

1972 年、自治医科大学の香川靖雄研究室に所属して、ATP 合成酵素の研究を始めた。ATP 合成酵素は、ミトコンドリアで ATP 合成をおこなう膜酵素であり、植物の葉緑体、あらゆる細菌にも存在する普遍的な酵素である。したがって、その基本構造や機構の研究では、何を出発材料としてもいいわけであるが、私の場合、大学院と同じく好熱菌が出発材料だった。香川先生は、それまで米国の E. Racker の研究室でウシの ATP 合成酵素で先駆的な研究をしていたが、ウシの ATP 合成酵素は精製することが難しかった。膜酵素の精製には界面活性剤が必要だが、酵素がそれに耐えられないと考えられた（今ではそれだけではないことがわかっている。ウシの場合、細菌にはないたくさんの余分なサブユニットがあり、その中のいくつかは解離しやすい）。好熱菌のタンパク質の有利な性質——例えばきわめて安定であること、容易な完全精製、サブユニット組成の解明、単離サブユニットからの全体酵素の再構成、尿素や SDS などに変性した後の再生、人工膜への組み込み、など——に助けられながら研究は展開した<sup>2)</sup>。好塩菌のバクテリオロドプシン（光駆動 H<sup>+</sup>ポンプ）と好熱菌の精製 ATP 合成酵素を同一の膜小胞に組み込んで、光で ATP を合成する実験も成功した（1975 年）<sup>3)</sup>。これは、ATP 合成酵素は H<sup>+</sup>の流れによって ATP を合成する、という P. Mitchel（ノーベル賞、1978 年）の説の強いサポートとなった。こうして、ATP 合成酵素研究の第一の展開期は、好熱菌という新材料によって開かれた。そして、ATP 合成酵素がどんなものか、およそそのところがわかってきて、1980 年代、研究は展開期から延長期に入り、酵素の諸側面を記述するようなものになってきた。

## 部位特異的変異

1982 年頃、英国の J. Walker と、二井将光さん（当時岡山大学）が独立に大腸菌 ATP 合成酵素のオペロンの塩基配列を決定した。続いて香川先生達が好熱菌の配列を決めた。それでアミノ酸配列がわかり、部位特異変異導入が可能になった。私も当初

はおもしろがっていくつか変異を設計し解析したが、振り返れば、実はそれによって ATP 合成酵素の理解は画期的に進んだわけではなかった。たとえ変異で活性が失われたとしても、人がいろいろな病気で死ぬように、失われた原因はさまざま因果関係は明確ではない。できることは増えたが、研究の延長期は続いていた。以下余談だが、実際、このころは、アミノ酸配列の設計ができるというので、「タンパク質工学」という新分野が開かれたと錯覚（あるいは宣伝）した人たちがいた。工学とは設計できることであり、タンパク質工学と言うからには、タンパク質の機能を設計できなければならない。しかし、タンパク質の機能は立体構造にあり、立体構造の設計（予言）ができなければ工学とは言えない。これは今でも難しい。その後「タンパク質工学」の無力さが知れわたってきて、この分野全体の信用を落としたと思う（似たように、細胞工学や生物工学とかの新設学科名が一時期大はやりだったが、今は全然聞かない）。蛋白質学会が蛋白質工学会でなくてよかった。

## V-ATPase, bacteriorhodopsin, chaperone, etc

ATP 合成酵素研究の延長期はしばらく続いた。私はポケットに 2 グラムの凍結乾燥 F<sub>1</sub>-ATPase（ATP 合成酵素の頭部、水に溶けて ATPase 活性を示す）を入れて、親和性化学修飾で F<sub>1</sub>-ATPase の研究をやっていたカリフォルニア大学 San Diego の化学教室の W. Allison のところに出かけて行った。そこで活性中心の（後に、直接あるいは水を介して、酸塩基触媒として反応に参加すると判明した）グルタミン酸残基を同定した（1981 年）。その後も親和性化学修飾を使った研究でいくつも論文を書いた。しかし、振りかえってみると今でも引用したい論文はわずかである。いきづまった私は（当時は、論文は一応どんどん出ているし、「いきづまった」という明確な自覚はなかった）、研究室のメンバーが増えたこともあって、ATP 合成酵素以外のタンパク質の研究にも手を出した。bacteriorhodopsin, Na,K-ATPase, H<sup>+</sup>-transport pyrophosphatase, V-ATPase, chaperone, yeast prion などなど。電子顕微鏡像以外

にほとんどわかっていなかった核膜孔の研究を始めようとしてアフリカツメガエルの卵の核を集めてマウスを免疫し、蛍光顕微鏡のスクリーニングで核膜孔の成分を認識する単クローン抗体を得ようとしたこともあった（抗体があれば核膜孔を精製できる、生化学ができる、細胞生物学もできる）。しかし・・・得られたのは結局、混入したミトコンドリアに対する抗体だった。このうち、おそらく展開してその後も研究を続けたのは、V-ATPase, chaperone, yeast prion だった。V-ATPase の発見は、進化にも重要な示唆のある発見で、私にとって本意であった。きっかけは、ATP 合成酵素はすべての生物にあるはずなのに古細菌にはそれが見つからなかったことだった。よくさがすと、細菌やミトコンドリアの ATP 合成酵素と”似て非なるもの”が見つかった<sup>(4)</sup>。ドイツの学会のロビーで、私たちの古細菌の ATP 合成酵素と、ニンジンの液胞 (R. Poole) やカビの液胞にある H<sup>+</sup>-transport ATPase (L. Taiz と E. Bowman) のアミノ酸配列と比べたら、びっくりするほどよく似ていた<sup>(5)</sup>。古細菌の ATP 合成酵素、真核細胞のリソゾームなどの細胞小器官の H<sup>+</sup>-ポンプは、共通の構造と機能を持つ新しい範疇の酵素であり、V-ATPase と命名された。ミトコンドリアは細菌の細胞内共生が起源という。では、その宿主となった細胞は何か。液胞は細胞膜の陥入によってできるとすると、その細胞膜は古細菌由来ということであり、共生の宿主細胞は古細菌だった、という提案となった (図 1)。

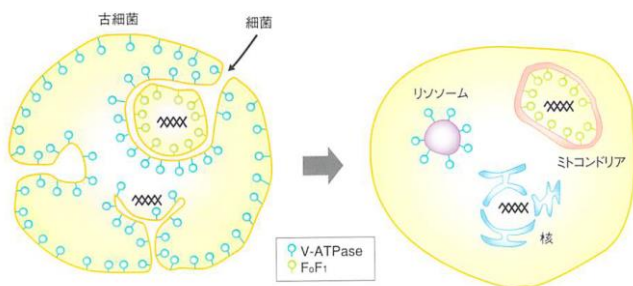


図 1. 真核細胞の起源

古細菌の中に好気性の細菌が入り込み共生し、ミトコンドリアとなる。古細菌の細胞膜が陥入してリソゾームや液胞となる。古細菌の細胞膜に存在した V-ATPase は不要となり消滅した。図中の FoF1 とは、本文中で述べているミトコンドリアや細菌に存在する ATP 合成酵素のことである。

## F<sub>1</sub>-ATPase の立体構造

私も立体構造の解明は新しい展開を開くことはよくわかっていて、共同研究者をつのって電子顕微鏡像の 3 次元再構成や結晶解析など膨大な努力をした。電子顕微鏡からは、 $\alpha$ 、 $\beta$ -サブユニットが交互にならんで六角形のリング( $\alpha_3\beta_3$ )を作っていること、リングの中に棒状の $\gamma$ -サブユニットが貫いていることがわかった (図 2)。しかし、原子構造の解明は、結局、J. Walker (英国、MRC) のウシ由来の F<sub>1</sub>-ATPase の結晶解析 (1994 年) に先んじることはできなかった。先日、Walker と話していたら、「自分たちも細菌の F<sub>1</sub>-ATPase の結晶化を長い間試みていたがどうしてもうまくいかなかった、どういうわけか、細菌よりもウシの方が結晶化にいいのだ」と打ち明けた。たしかに、鈴木俊治博士 (東大主幹研究員) がウシの F<sub>1</sub>-ATPase を大腸菌に合成させることに最近成功したので、さっそく結晶化を試みたところ短期間で結晶がでて構造も解けた。一般に好熱菌のタンパク質はよい結晶を作りやすい、と言われるが、F<sub>1</sub>-ATPase ではそうではなかった。ウシを選んだ J. Walker は幸運だった (ノーベル賞, 1997 年)。

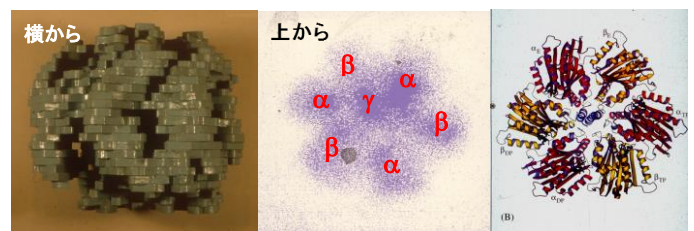


図 2. F<sub>1</sub>-ATPase の構造

左：電子顕微鏡像の 3 次元再構成による好熱菌 F<sub>1</sub>-ATPase の構造 (若林健之さんたちとの協同、1980 年代の中頃、未発表)。ウランによる負染色像からよくこれほどの像が再構成できたと思う。 $\alpha$ と $\beta$ サブユニットがみかんの房のように並んでいる。見えないが内側には棒状の $\gamma$ サブユニットがある。

中央：上からみた像。抗体を結合した別の像から $\alpha$ と $\beta$ が交互に並んでいることがわかった。

右：Walker たちのウシのミトコンドリア F<sub>1</sub>-ATPase の結晶構造 (1994 年)。これを見ると私たちの電子顕微鏡構造はけっこういい線をいっていた。しかし、電子顕微鏡によるこの程度の分解能では、新たな展開期は期待できなかった。



図3. 回転祈願の踊り

J. Monod は、考えているうちに自分が酵素になってしまったように感じたそうだ。それくらい懸命に考えなければ、 $F_1$ -ATPase が回転するものなら、 $F_1$ -ATPase になって感じてみようよと、大学院生たちが回転ダンス（動画は教科書「Molecular Biology of the Cell」にあります）。

## 1 分子観察

立体構造はたちまち研究の様相を一変させた。1976 年ころから、P. Boyer (カルフォルニア大学 Los Angeles) は、同位体交換を主とするやっかいな酵素学的キネティックを理詰めにも考えた末、ATP 合成酵素は2つの活性部位を交互に使うというフリップフロップ説を唱えていた。この仮説は、1978 年私たちが ATP 合成酵素には3つの活性部位 ( $\alpha$ 、 $\beta$ -サブユニットの境界にある) があることを示すと<sup>6)</sup>、順番に3つの活性部位が働くためには、中心に存在する $\gamma$ サブユニットが周囲の $\alpha_3\beta_3$ リングの中で物理的に回転するという仮説に発展した<sup>7)</sup>。しかし、回転する酵素などあまりに突飛で(私も含めて)本気で賛同する者はほとんど皆無だった。ところが、Walker のウシの  $F_1$ -ATPase の結晶構造は3相交流のモーターにそっくりで、Boyer の予言通り、リングの3つの活性部位がそれぞれ違った反応素過程を遂行しているような構造だった。それで、Walker も含めて多くの人が一夜にして回転説に転向した。少なくとも、真剣に考えるようになった。しかし、回転子がたった 2nm たらすのモーターの回転を実証するのは容易ではない。私はまだ回転説に半信半疑だったが、木下一彦さん(現早稲田大学)と語らって1分子で回転を直視しようと

いうことになった(図3)。幸運にもちょうどそのころ、野地博行さん(現東大教授)と安田涼平さん(現マックスプランク・フロリダ神経科学研究所ディレクター)という優秀な大学院生がいた。彼らの実験で1年も経たないうちに回転するようすが蛍光顕微鏡で見た(1997 年)<sup>8)</sup>。その後も、回転のステップやトルク、ATP 結合や加水分解と回転の関係、など研究は快調に進んだ。日本の1分子観察のレベルは高く、これが私たちに ATP 合成酵素の研究の2度目の展開期をもたらした。

## ATP 合成酵素の細胞生理

しかし、21世紀に入るとバイオ研究全体の流れが変わってきた。一般に、個別のタンパク質分子の研究は地道になり、網羅的な情報やゲノムによって細胞の動態や病態を分子レベルから理解するような研究が急速に展開している。私たちも、ATP 合成酵素の基本機構の解明を続けながら、その制御と細胞生理への役割にも研究を広げた。そこで思い知らされたのは、基本機構ほどの生物でも共

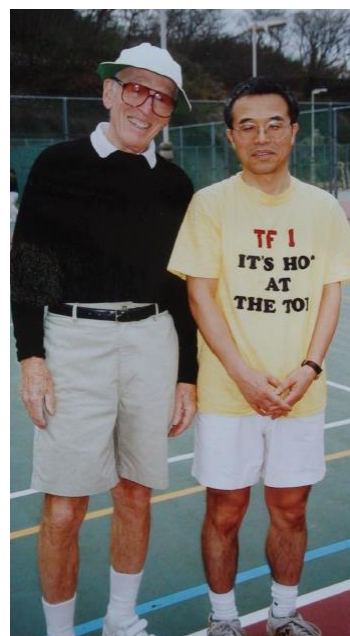


写真2. P. Boyer は、クラシックな酵素の研究者であり、64 歳ころから始めた研究で 79 歳の時にノーベル賞を受賞しました(1997 年)(老人よ、大志を抱け)。その翌年、東京工業大学に来てテニスをしました。80 歳でも元気で勝てませんでした。

通知だが、制御はさまざまということである。細菌の ATP 合成酵素のイプシロンという小さなサブユニットは ATP の結合解離で伸び縮みして形を変え<sup>(9)</sup>、回転をオンオフする<sup>(10)</sup>。細胞内の ATP 濃度を感知して ATP 合成酵素の制御をする、という見事な機構だと思った。しかし、この制御機構を欠いた細菌でも、普通の条件では平気で増殖することを知らなかった。調べられる限りのことはやったが、わかったのは、塩濃度が非常に低いと生育が少しだけ悪くなる（大腸菌）、胞子の形成に多少の支障がでる（枯草菌）程度で、しかも細菌の種でまったく異なる。動物のイプシロン相当のサブユニットはそもそも構造変化をしない。また、鈴木俊治さんがヒトやウシの F<sub>1</sub>-ATPase を大腸菌で合成させることに成功し（真核細胞の F<sub>1</sub>-ATPase の発現系は、世界中の関連研究者の 20 年間の試みにも関わらずそれまで成功しなかった）<sup>(11)</sup>、その阻害因子である IF1 というタンパク質がモーターの回転を停止させることがわかった。しかし意外にも、細胞もマウスも IF1 なしでほとんど正常に発育増殖できた。これは、IF1 の重要な役割を主張してきた多くの研究者の期待を真っ向から裏切るものだった。そもそもなくていいものだったら、どうして IF1 は、酵母から人まで保存されているのだろう。わからない。in vivo の結果が in vitro からの予想とこれだけ違うと、一つのタンパク質にこだわってその欠陥が引き起こす病態をさがす試みは、明快な結果がすぐにでればいいが、そうでない場合はやりかたを変える必要がある、との感慨を持つ。細胞内あるいは細胞間のネットワークや代償やバックアップが複雑にからんでひとつの生理状態がもたらされるとしたら、それも当然かも知れない。

### 分子シャペロン

もともと私は、進化とともに、タンパク質のフォールディング（構造）予測や設計にも夢があった。しかし、問題の難しさから考えて夢は自分の研究人生の期間には実現できないだろうと思っていたので、自分では手を出さずに他人の研究を横目で見ていた。そこに、フォールディングについて何か

秘密を知っているのではないかと、思わせる分子シャペロンというものが登場した。新しい未開の研究分野が見つかって、展開期が始まったのである。私はすぐに（またもや）好熱菌を材料に研究に参入した。そして、ATP を使って凝集してしまったタンパク質をときほぐす分子シャペロン（ClpB + Hsp70 セット）を発見した<sup>(12)</sup>（同時期に、酵母からは ClpB のホモログの Hsp104 が脱凝集シャペロンとして報告された）。また、典型的な分子シャペロンである細菌の GroEL/GroES の分子機構も熱心に研究した。GroEL/GroES は、分子内空洞にポリペプチドを閉じ込めて凝集の恐れなくフォールディングできる環境を与える。空洞は 2 つあり交互に使用される（シーソーモデル）、空洞内のポリペプチドは外界から隔離され free polypeptide としてフォールディングする、というのが定説であり教科書にも載っている。が、これは展開期によくある勇み足であり間違っている。田口英樹さん<sup>(13)</sup>、東大の船津高志さん、米国の G. Lorimer のグループは、2 つの空洞は同時に使用されることを見出している。元島史尋さんは、ポリペプチドは完全に空洞に閉じ込められているわけではなく、空洞に空いた小さな窓あたりにひっかかりながらフォールディングが進行する、ということを見出している（図 4）<sup>(14)</sup>。時には、ポリペプチド全部が窓から外へ逃げ出してしまふこともある。定説の提案者はこの分野

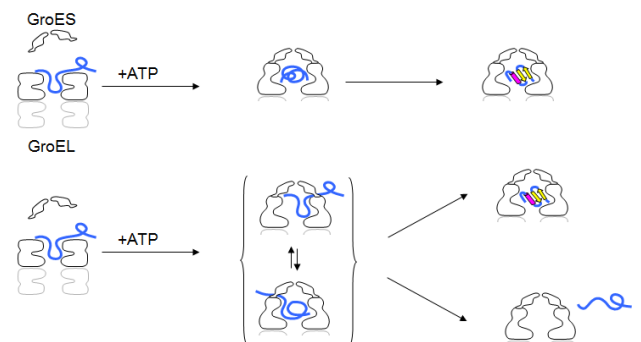


図 4. シャペロニン (GroEL/GroES) の機構

上：定説。ポリペプチドは、空洞内に完全に収納されている。  
下：私たち（元島・吉田）が到達した理解。一部分が GroEL/GroES の隙間に入り出している。たまには、ポリペプチド全長が外に出てしまう。図には示していないが ATP が分解された時点で GroES が離れてフタが開く。

(分子シャペロンの分子機構)が延長期に入ると別の分野に去り、私たちの結果には反論もコメントもしていない。

### タンパク質研究、次の大展開

最近、私は、タンパク質研究の分野全体の次の大きな展開期の到来を予感している。第一に、フォールディング問題で画期的な発展の曙光がみえる。フォールディングの理解は、タンパク質理解の根幹である。しかし、この数十年、延長期の地道な研究による知識の集積があるものの、本質的な進歩は乏しいと思う(なんと多くの俊英が、この分野に飛び込みそしてほどほどの成果で満足せざるを得なかったか)。それは、1972年の Anfinsen 以来、フォールディング分野でノーベル賞受賞者がいないことでもわかる。私は分子シャペロンに期待したが、結論から言えば、分子シャペロンが知っているフォールディングの秘密はたいしたことはないらしい。凝集を防ぐとか、多少加速することもあるとか、そんなところである(多少の加速だったら溶媒の条件、たとえば pH を変えただけでも起こる)。しかし、最近、計算科学が突破口になる可能性がでてきており、私はそこに大きな期待をしている。米国の D. Shaw が、桁違いの能力を持つタンパク質の構造計算専用の計算機を作り、ユビキチンの構造を正しく予想したことに驚きと感嘆を感じたのである<sup>(15)</sup>。まず、熱力学的な最小エネルギー構造としてタンパク質の天然構造が算出できたことはすばらしい。重要なことは、計算の基本となる力場 (force field) は、疎水結合も水素結合もあらわに含まない物理的な根拠の不確かなものであると思うが、それでも計算の結果、天然構造が現れた、ということである。それは、基本的に力場の仮定が有効だということだろう。フォールディングの最初の段階に現れる collapsed state の分子の広がり、計算では実験の結果よりも小さくなるとか、いくつか改良は必要だが、基本的に今の力場を使って、もっと大きなタンパク質の構造計算に進んでいいのである。もう一つ意義深いことは、天然構造だけでなく、いくつかの中間構造が計算で現れて、(ど

れほど正確かどうかはともかく) 相互の変換の速度定数がすべて算出されている。天然構造に行き着く経路がない dead-end 構造も現れている。この小さなタンパク質でもこれだけの中間構造、dead-end 構造が現れるとしたら、今までの、フォールディングは変性—天然構造の2状態遷移であるとか、2状態の間に中間状態があるとかの議論は、おおよぼすぎてほとんど意味がなくなる。計算機でタンパク質の構造が予測できる時代が近づいている。それにつけても、日本のバイオの計算科学者は、力を合わせて日本にも巨大な計算能力の専用計算機を作ることを追求してほしい。Shaw の計算機は、フォールディング計算については京コンピューターの100倍以上の能力だそうで、普通のワークステーションの1000倍はあるだろう。天文学でたとえば、直径20 cmのアマチュア望遠鏡と8 mのすばる望遠鏡の差である。

タンパク質研究の分野全体の次の展開期の到来を予感させる第二の進展は、タンパク質立体構造決定の革新である。今まで結晶解析はすばらしい成果を収めてきたが、まだ、大変な労力と能力と幸運が必要な技術である。タンパク質の一つ一つについて、個別に結晶化条件をランダムサーチする必要がある。要するに手間がかかりすぎる。これを革新するに、ひとつは低温無染色1電子検出の電子顕微鏡による単粒子構造解析の登場があり<sup>(16)</sup>、さらに究極的には次(次次?)世代のX線自由電子レーザーに期待する<sup>(17)</sup>。時間分解能があり、結晶不要の構造解析が容易にできる日こそ、タンパク質研究の新たな次元が開かれる日だろう。

文 献

- (1) M. Yoshida, T. Oshima, K. Imahori, The Thermostable Allosteric Enzyme, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **43**, 36–39 (1971).
- (2) Yoshida M, Sone N, Hirata H, Kagawa Y., *J. Biol. Chem.*, **250**, 7910–7916 (1975).
- (3) Yoshida M, Sone N, Hirata H, Kagawa Y, Takeuchi K, Ohno K., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **67**, 1295–1300 (1975).
- (4) Denda K, Konishi J, Oshima T, Date T, Yoshida M., *J. Biol. Chem.*, **263**, 6012–6015 (1988).
- (5) Gogarten JP, Kibak H, Taiz L, Bowman EJ, Bowman BJ, Manolson MF, Poole RJ, Date T, Oshima T, Konishi J, Denda K, Yoshida M., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **86**, 6661–6665 (1989).
- (6) Yoshida M, Sone N, Hirata H, Kagawa Y, Ui N., *J. Biol. Chem.*, **254**, 9525–9533 (1979).
- (7) P. Boyer wrote to M.Y. some years ago as “At the time when the ATPase was regarded as having only two catalytic sites, we proposed an alternating site, or what may be called “flip-flop” mechanism. By 1981 the presence of three  $\beta$  subunits and a single core  $\gamma$  subunit had become generally accepted. The identical catalytic behavior of all three sites was most readily explained if they interacted in the same way with the single  $\gamma$  subunit. To me the only logical explanation was a rotational movement of the  $\gamma$  subunit relative to the catalytic sites.”
- (8) Noji H, Yasuda R, Yoshida M, Kinoshita K., *Nature* **386**, 299 - 302 (1997)
- (9) Kato-Yamada Y, Yoshida M., *J. Biol. Chem.*, **278**, 36013 - 36016 (2003).
- (10) Iino R, Murakami T, Iizuka S, Kato-Yamada Y, Suzuki T, Yoshida M., *J. Biol. Chem.*, **280**, 40130 - 40134 (2005)
- (11) Suzuki T, Tanaka K, Wakabayashi C, Saita E, Yoshida M., *Nature Chem Biol*, **10**, 930-936 (2014)
- (12) Motohashi K, Watanabe Y, Yohda M, Yoshida M., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**, 7184 - 7189 (1999)
- (13) Taguchi H, Tsukuda K, Motojima F, Koike-Takeshita A, M. Yoshida M., *J. Biol. Chem.*, **279**, 45737 - 45743. (2004)
- (14) Motojima F, Yoshida M., *EMBO J.* **29**, 4008-4019, (2010).
- (15) Piana S, Lindorff-Larsen K, Shaw DE., *Proc. Nat. Assoc. Sci.* **110**, 5915–5920 (2013)
- (16) Gallaway E., *Nature* **525**, 172-174 (2015)
- (17) Miano J, Ishikawa T, Robinson IK, Murnane MM. *Science* **348**, 530-535 (2015)



吉田 賢右先生 ご略歴

- 1944年 群馬県に生まれる
- 1966年 東京大学 理学部 生物化学科 卒業
- 1972年 東京大学 理学系研究科 生物化学専攻 博士課程修了
- 1972年 自治医科大学 第一生化学 助手
- 1979-1981年 University of California, San Diego. Research Associate
- 1981年 自治医科大学 第一生化学 講師
- 1985年 東京工業大学 理学部 天然物化学研究施設 助教授
- 1990年 東京工業大学 生命理工学部 遺伝生化学 教授
- 1992年 東京工業大学 資源化学研究所 生物資源部門 教授
- 2009年 京都産業大学 工学部 教授
- 2010年 京都産業大学 総合生命科学部 教授
- 2014年 京都産業大学 シニアリサーチフェロー

