

シリーズ「わが国の蛋白質科学研究発展の歴史」 第23回原稿配信のお知らせ

平成28年4月8日

今回は第23回として荒田洋治先生の原稿を配信いたします。

なお、これまでに下記の22名の先生方による原稿を配信済みです。

- 第1回 石井信一先生
- 第2回 大村恒雄先生
- 第3回 福井俊郎先生
- 第4回 香川靖雄先生
- 第5回 岩永貞昭先生
- 第6回 高木俊夫先生
- 第7回 八木達彦先生
- 第8回 崎山文夫先生
崎山文夫先生「赤堀四郎先生 生誕100年に想う」(蛋白質核酸酵素より転載)
- 第9回 高橋健治先生
- 第10回 田隅三生先生
- 第11回 北川禎三先生
- 第12回 森川耿右先生
- 第13回 伊藤維昭先生
- 第14回 福山恵一先生
- 第15回 桑島邦博先生
- 第16回 油谷克英先生
- 第17回 月原富武先生
- 第18回 阿久津秀雄先生
- 第19回 千谷晃一先生
- 第20回 坪井正道先生
- 第21回 吉田賢右先生
- 第22回 大島泰郎先生

今後も、わが国の蛋白質科学研究発展の歴史について先生方に執筆をお願いしています。
ご期待下さい。

日本蛋白質科学会 広報担当 内山 進、池口 満徳

本文はPDFをご覧ください。

タンパク質とNMR

荒田 洋治 (あらた ようじ)

1. はじめに

私は、タンパク質科学の専門家ではありません。ただ、自身の終生のテーマである NMR と化学に関する研究を進める段階で、様々なタンパク質と関わりを持つことになりました。そのため、ここでは、NMR の立場から、タンパク質をどのように理解したかについて書いてみようと考えました。

1980 年代、リボヌクレアーゼ T₁ [成田耕造, 松尾壽之, 寒川賢治 (大阪大学蛋白質研究所)], 免疫グロブリン G, M, L 鎖 (ベンス・ジョーンズ・タンパク) [山村雄一, 清水章, 林昭 (大阪大学医学部第3内科), 篠田友孝 (東京都立大学理学部化学科)] (所属など, いずれも当時) の構造解析研究に、化学における NMR を本業とする者として参加しました。

その後、私たちは、抗体関連のタンパク質に力点を置いて研究を進めました。当時すでに、NMR によるタンパク質分子の3次元解析の方法が、スイスの Kurt Wüthrich 教授によって確立され、世界中で、“僕も私も” という雰囲気、山のような論文が発表されていました¹⁻³。

対象とする分子が大きくなればなるほど、NMR による構造解析は困難になります。技術の工夫、進歩によって、最初は分子量が1, 2万程度であったものが、次第に大きな分子を対象とすることが可能になってきました。

ある時、たまたま手に取った浜口浩三先生の著書『蛋白質機能の分子論』(東京大学出版会, 1976) のなかに、抗体に関する記述を見付けました。この出会いが私のその後の進路を決めました。しかし、抗体のように、分子量15万にも達すると、到底、NMR 解析の対象にはなりません。これが、私たちが、抗体のような巨大分子を対象とする NMR の研究法の開発に力を注ぐこと

にした理由です。抗体については、分子間相互作用など、未知な部分が山のように残っています。これまで、古典的な研究法が主流だったためです。それまでマイクロな立場から研究が行われていない、極めて重要で興味のある系だといっても、常識的には無茶な話です。

そんな化け物のようなタンパク質を相手にして、どうするのだと、懸念の声が周りから聞こえてきました。流行に敏感な超 IQ の学生などの連中が、とくに私の姿勢に冷たく対応しました。私が、「今はやりの、2次元、3次元 NMR には、未来がない」とまでコメントしたため、その時のことを今でも持ち出される重鎮がおられます。

— ハイ、私は確かに間違っておりました。

しかし、それと同時に、自分のアイディアを絞り出す知恵がなければ、西洋には勝てないという立場からの発言であったことも、理解していただければ、多少とも心が安らぎます。ともあれ、あの時から40年以上が経過しました。

後で、東京大学理学部物理学科の高橋秀俊教授との会話を引用しますが、情報処理で何とかありませんかと質問したところ、*free induction decay* に情報がないのだから、それは無理な相談ですよ、と一蹴されました。

しかし、私は、いったん決めた抗体を止める気は全くありませんでした。要するに、はっきり言えば、人の真似をしたくなかったのです。この時、ふと頭をよぎったのが、奇人・永井荷風 (1879-1959) の言葉です。

永井荷風『江戸芸術論』（岩波文庫、2000）の冒頭「浮世絵の鑑賞」には、荷風の持論が明快に綴られています。

わがくに
我邦現代における西洋文明模倣の状況を窺ひ見るに、都市の改築を始めとして家屋什器庭園衣服に到るまで時代の趣味一般の趨勢に徴して、
うかが
じゅうき
うた
転た余をして日本文華の末路を悲しましむるものあり。

荒田洋治ブログ（2015年12月）：『人と言葉 永井荷風：断腸亭日乗を読む 巻の二』⁴

2. 有機化学とNMR

1) 三つ子の魂百までも

私は、東京大学薬学部の菅澤重彦先生の研究室で有機合成化学を学びました。



図1. 菅澤重彦先生（1898 - 1991）

この写真を見ると大変に怖い先生のようにですが、実際には細かいところに目を配って指導していただきました。亡くなる2, 3年前にも、薬学出身者としてしっかり勉強するようにと書かれた絵葉書をいただきました。私にとっては、“仰げば尊し わが師の恩”の先生です。

薬学部を卒業したあと、第一製薬・柳島研究所・研究員になりましたが、事情があって、2カ

月と3日で職を辞し、その後は、電気通信大学を経て、東京大学理学部化学科、生物化学科、薬学部で研究・教育に携わりました。

薬学部に進学した時、落合英二先生は、“化学”は、ドイツから薬学を通じて、日本に入ってきて、薬学を通じて、日本全土に広まっていったのである。すなわち、諸君の体内には、Liebigの血が流れていることを忘れるな。”と仰いました。落合先生のお言葉通り、当時の薬学部は有機化学の全盛期でした。その後、有機化学が支配する薬学の将来像を再考しようという流れが強くなり、薬学自身が変わっていくことになりました。

私は、大学を卒業以来60年、殆どの時間をNMRと共に過ごしてきました。具体的には、有機化学を出発点とするNMRの基礎と応用の研究です。ともあれ、何をするにしても、私の発想の原点は、これまでも、これからも有機化学であることに変わりはありません。

2) 薬学と物理化学

薬学部の修士課程で有機化学の研鑽を積んでいる間、同級生の清水博君と薬学における研究の将来性について意見を交わすようになりました。清水君と気安げによんでいます。彼は、私の師匠



図2. 清水博君

でもあります。

清水君は、YMCAの演劇部に属していました。

今のままでは薬学に将来はないと考えていた清水君は、薬学における物理化学の重要性を念頭に置いて勉強を続けていました。学部学生の頃、授業の合間に、Debyeの『有極性分子』を彼が熱心に読んでいたのを記憶しています。

同君は、薬学では、柴田承二先生の生薬学研究室に所属していましたが、希望して、理学部化学科の森野米三先生の指導により、ビフェニルのX線結晶解析によって修士の学位を取得し、そのあと、電気通信大学の藤原鎮男先生のもとで、NMRの研究を始めました。

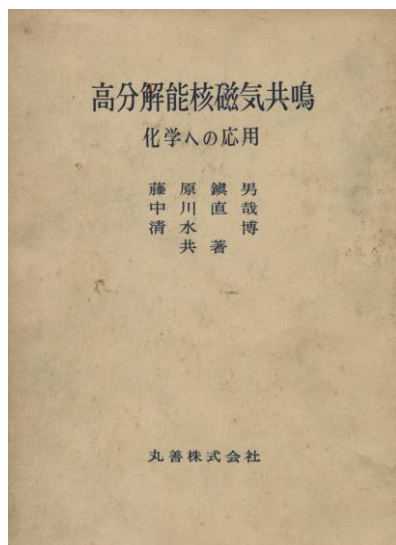


図3. 藤原鎮男先生
日本で最初の本格的なNMR教科書(1962)

かねてから、有機化学を学ぶ学生としてNMRに多大の関心を持っていた私は、藤原先生にお願いして、セミナーに参加させていただき、NMRの勉強を始めました。分子の中の個々の原子を別々にみることが原理的に可能なNMRは、有機化学を専攻する学生としてこの上もなく魅力に富んだものでした。

化学の研究に使う場合には、NMRが分光法としての宿命を背負っていることを忘れることはできません。分子が大きくなればなるほど、NMRスペクトルの線幅が広がるという事実です。

清水君は、博士論文で、NMRにおける緩和現象を詳細に論じ、分子の形、大きさとスペクトロスコーピーの関連について重要な貢献をしました。私は、この段階で、緩和理論を徹底的に勉強しましたが、これが、タンパク質と関わる上で、大いに役立ちました。

3) NMRの測定

当時の日本は、今と違って、NMR分光計がどこにでもある状態ではありませんでした。

日本におけるNMRの第1号機は、電気通信大学に設置されていた27 Mc/s(現在のMHz)を用いた装置でした。磁石は永久磁石。藤原先生が留学先のイリノイ大学のGutowsky教授の研究室の装置を模して日本で作られたものです。この作業には、助手として長年藤原先生を助けられた林昭一さんが甚大な貢献をされました。



図4. インドのBombay(現在のMumbai)で開催された国際磁気共鳴学会(1974年)講演するGutowsky教授

当時は、日本には、電通大のこの装置しか存在しませんでしたから、全国から多くの研究者が押し寄せてきました。例えば、フグ毒の **Tetrodotoxin** の構造決定を、ハーバードの **Woodward 教授** と競い合っていた三共（現在の第一三共）のグループは気合が入っていました。東大の応用微生物研究所の津田恭介先生との共同研究でした。

IUPAC International Conference on Natural Products
April 12 – 18, 1964, Kyoto

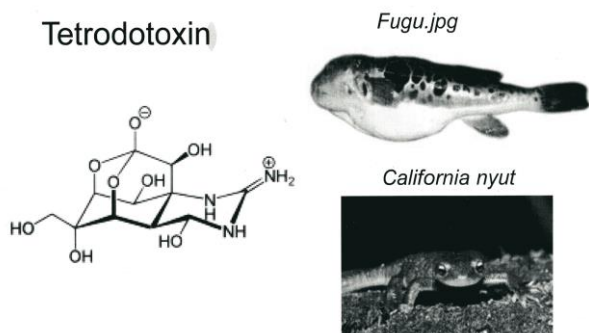


図 5. Tetrodotoxin

Tetrodotoxin の NMR 測定は、不肖・荒田が対応しました。やって来たのは、薬学の菅澤重彦先生の研究室の太刀川隆治先輩だったことに因縁を感じました。しかし、超低分解能 (!) の 27MHz で測定されたスペクトルという点に加えて、彼らが頭に描いているその時点、その時点での構造をこちらに教えずに、構造の部分だけをその場でスケッチし、これと矛盾するか、どうか? などと迫ってくるのには困惑しました。それほどの「極秘戦争」だったのです。今にして思うと、4 級炭素の“塊”だった **tetrodotoxin** の構造決定は困難を極めました。NMR 測定技術が進歩した現在なら、事態は変わったはずです。

結果が公表されたのは、1964 年に京都で開かれた IUPAC 国際天然物会議でした。この日の動きは、*Bulletin of the Nuclear Magnetic Resonance of Japan* の創刊号の巻頭エッセイ・荒田洋治『創世記』(pp.3-46, 2009) のなかで詳述しました。実際には、**tetrodotoxin** の構造決定の先陣争いには、

もう一人、スタンフォード大学の **H. S. Mosher** が参入していました。彼は、カリフォルニア・イモリの毒が **tetrodotoxin** そのものであることを発見していたのです。海の動物・フグと陸の動物・イモリが同じ毒を持っていること自身、大きな反響をよび起しました^{5,6}。

結果は痛み分けでした。いずれのグループとも、全く同じ構造を報告したのですが、これは完全なものではありませんでした。結局、X線結晶解析の結果が決め手となって、戦いは終わりました。その後は、日本原子力研究所の山口一郎さん、早川直宏さん、東京工業試験所（東工試）の額田健吉さん、山本修さん、早水喜久子さんのお世話になりました。

4) NMR の勉強

東工試では、山本さんにセミナーの場を設定していただき、Aragam の輪読会（週 1 回）を続けました。その後、藤原研でも、Aragam, Slichter などの教科書を前にして、当時藤原研究室の NMR グループの責任者であった私が中心になって、夜遅くまで、徹底的に勉強しました。私個人としては、この時のセミナーの準備などの勉強は、あとになって上梓した『NMR の書』（2000, 丸善出版）の執筆に大いに役立ちました。幸い、この著書は好評をもって迎えられ、5 刷りまで版を重ねました。

理学部物理学科の講義も多種類聴講しました。



図 6. 久保亮五教授 (1920–1995)

なかでも、久保亮五先生による「非可逆過程の統計力学」には、強烈な印象を受けました。久保先生の講義録（久保研の学生のボランティア活動によるガリ版刷り）は、今も、私の書庫に大切に保存されています。

久保先生は、学園紛争の折、ちょうど理学部長を務めるめぐりあわせとなり、研究に専心できず、体力をすり減らされました。残念でなりません。N. Bloembergen 教授も同じような趣旨の追悼文を書いて嘆いておられました。

5) NMR と計算機

NMR スペクトルの解析には、行列の対角化など、単純ながら、時間を要する計算が必要でした。当時、用いることのできたのは、**タイガー計算機** でした。重さ 3 キロ余りのタイガーをぶら下げて、本郷の下宿から、調布の電通大まで毎日通いました。お陰で、お尻が爆発し、50 年以上たった今でも、困っています。下宿でも、日曜日には、終日、ガラガラ回して、周りから苦情が殺到しました。平謝りに謝って、なんとかその場を凌ぎました。しかし、この苦難も研究の一部だと考え、今では感謝しています。



図 7. タイガー計算機（参萬五千圓，当時）

私自身は使いませんでしたが、島内研を訪ねるたびに聞いた、あのモノローの音も忘れがたいものです。

その後、ヒューレット・パッカード社から、今という電卓が発売され、人々をおどろかせまし

た。1971 年に HP35、続いて 1974 年に HP45（\$400）が発売されました。当時は超円安（1 ドル = 360 円）でしたが、それまで使っていた計算機が原因の“音—地獄”から逃げ出すため、無理して購入しました。現在でも、私の机に入っていて使用可能です。便利で“静か”，しかも様々な計算が可能なので、多用しました。



図 8. HEWLETT-PACHARD 45

その後、計算機の世界では、世界中で大きな動きがありました。日本では、東大理学物理学科の高橋秀俊教授、大学院生の後藤英一さんが発明したパラメトロン素子を用いて日立製作所と共同で、日本で最初の“電子計算機”が完成し、我々



図 9. パラメトロン計算機 PC-1
PC-1 の前に立つのは、高橋秀俊教授と後藤英一・大学院学生

もその恩恵に浴しました。お陰で、アSEMBラー以前のコンピュータ言語を学ぶことができたのは、重要な経験でした。このパラメトロン計算機はPC-1と命名されました。

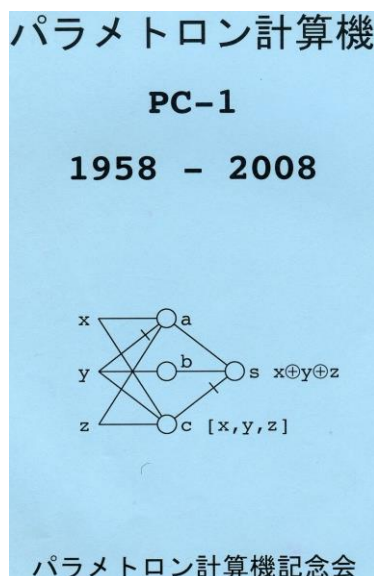


図 10. パラメトロン計算機 PC-1
パラメトロン計算機記念会

嬉しいことに、日本で唯一台というこの計算機は、夜9時から翌日の朝9時まで、我々大学院学生に解放されました。私も、この徹夜利用の恩恵に浴しました。大きな予算を投じて作られたものであるから、出来るだけ大勢の人に使ってほしいというのが、責任者の高橋秀俊教授のお考えだったと理解しています。このことがどれだけ、日本のサイエンスに役立ったか、言いしれません。世の中にはいろんな人がいて、巨額な予算を投じて御殿のようなNMR施設を建設し、予算の最大限有効利用のため、自らの研究にのみ集中的に使うと主張した研究者もいました。当時、研究資金の十分でなかったインドなどから聞こえてきた評判は、決して良くはありませんでした。

PC-1は、その後解体され、どこにも昔日の面影に接することができませんが、PC-2は、国立科学博物館の地下室に保存されていました。もっとも、そのお姿に接したのは、30年以上も前ですか

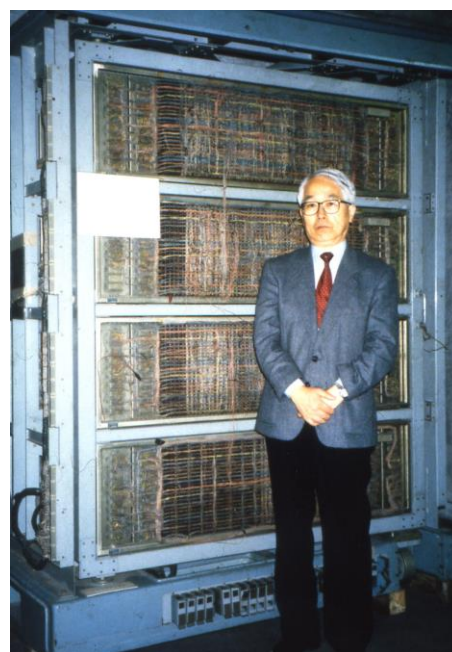


図 11. PC-2 の本体部分 (24 ビット, 256 語)

ら、今どうなったか気になったので、上野の国立科学博物館に問い合わせしてみました。嬉しいことに、PC-2は現存し、新しい建物・「地球館」の2階に、常設展示されているとのことでした。

3. 成田耕造教授と松尾壽之博士

1) NMR とタンパク質

NMRの仕事をしている間、同じ菅澤研究室出身の鬼才・松尾壽之博士と何度も話を交わしました。同博士は、博士の学位を取得後、理化学研究所で、ペプチドのC末端の解析法などで、大きな業績を上げられながら、職探しに苦労し、結局、大阪大学・蛋白質研究所の成田耕造先生の研究室で無給の研究生となりました。

松尾壽之博士のその後の発展は目覚ましく、成田研から寒川賢治君をはじめ優秀な学生と共に、宮崎大学医学部教授として移籍され、大きな業績を上げた後、同大学・学長に就任、その後、大阪に戻り、国立循環器病センターの所長として活躍されました。



図 12. 松尾壽之博士
松尾壽之 『ストックホルムへの道』科学 (岩波書店),
Vol. 48, No. 9, pp. 537-547 (1978)

ちょうどその頃、夏休みに、松尾さんを訪ねて、成田研をウロウロしていた私は、何かのほずみで、江上不二夫先生が発見されたグアニン特異的なリボヌクレアーゼ（リボヌクレアーゼ T_1 ）の活性中心の構造を解明しようという成田研のプロジェクトに首を突っ込むことになりました。リボヌクレアーゼ T_1 については、高橋健治教授（京大霊長研、当時）によって、基礎的な研究が徹底的に行われていました。多くの論文が英語で発表されていますが、ここでは、日本語の総説を何点か挙げておきます⁷⁻¹⁰。

NMR スペクトルの pH 滴定を行うにあたり、3 個あるヒスチジンの C2-プロトンの帰属を、松尾

壽之博士を中心とする成田研のグループ、とくに大学院学生の寒川賢治君とともに、決定しました。

最初は藤原研の 100-MHz 分光計を自分自身で改造して測定を行いましたが、殆どの測定には、スタンフォード大学の高磁場研究施設 SMRL (Stanford Magnetic Resonance Laboratory) の施設長・Oleg Jardetzky 教授の好意で、ブルカー・360-MHz 分光計を利用させていただきました。

帰属が完成してからすぐに、pH 滴定曲線と共に、*BBRC* に投稿し、採択されました。そのあとに、詳細な議論を含めた論文が *Biochemistry* に掲載されました^{11,12}。この後、宮澤研のグループから、興味ある解析結果が報告されました¹³。

2) X線結晶解析とNMR

その後、水戸黄門のご紋章と考えられていたX線結晶解析によって、結果が決まったように囃し



図 13. SMRLにて



日本電子 PS-100(上)

付属コンピューター(下)

立てられましたが、私は今でも終わったとは思っていません¹⁴⁻¹⁶。

X線結晶解析が阻害剤として用いたのが 2'-GMP、我々が用いたのが 3'-GMP であること、X線結晶解析の分解能が、活性中心にある His-40 周辺の構造を詳細に議論するには充分でないこともあり、当時始まったばかりの、*Site-directed mutagenesis* などの実験を行った富田研一グループの箱嶋敏雄さんと、学会で何度も激しく議論をしましたが、どちらも譲らないまま、そのままになってしまいました。

ここで重要な点を指摘しなければなりません。X線結晶解析で分解能と称しているのは、電子密度全体が、最小自乗法によって、実験と計算がどれだけ一致するかを計算します。すなわち、活性中心だけをよく見たいという希望はかなえられません。この意味で、この結果は、1.8 Å で得られた結果であるというのは、そのまま受け取るわけにはいきません。

これに対して、NMR では、安定同位体の ¹³C あるいは ¹⁵N あるいはその両方を、狙った部位に標識できます。つまり、目的の部位の静的、動的な構造を知ることができます。

何年も前、巨大な結晶を作って、中性子線解析をやったらどうか、その気があれば引き受けますよと原研の中性子線解析部門の方が話された記憶があります。ただし、必要なのは巨大な結晶（～1グラム、当時）とのことでした。私がまだ大学院学生の頃だったら、首を突っ込んだかもしれません。

3) 蛋白質構造討論会

北海道大学薬学部の石井信一先生が主催された蛋白質構造討論会（当時の要旨集が行方不明のため、残念ながら、詳細は分かりません）で、成田研との共同研究の結果を報告しました。記憶によれば、私が学会で、NMR の基礎的な研究以外の分野で講演した最初だったと思います。当時は、学会で講演するには予備審査があり、それをパスした場合にだけ、講演が許されました。講演時間

20分、質問時間10分の極めて、学会らしい、“荘厳な感じ”の会でした。

私も緊張して講演に臨みましたが、今は亡き三井幸雄さんが極めて本質的な質問をしてくださったことを、今も鮮明に覚えています。

今では、学会自身の雰囲気も変わってしまいましたが、あの頃の学会の良さが懐かしい限りです。今では、“無い物ねだり”でしょうか。

4. 化学とタンパク質

1) *Catalytic Antibody*

1990年のある日、*Catalytic Antibody* に関する Ciba Foundation 主催のシンポジウムをロンドンで開くので、旅費、滞在費を出すから貴殿も参加しませんかという手紙が舞い込んできました。その頃、抗体の NMR の仕事を手掛けていたのは、世の中で、私たちの研究室だけだったのです。

ともあれ、好奇心旺盛な私は、一も二もなく引き受けました。シンポジウムは、いろいろな点で、大変興味のあるものでした。出席者は20名程度、外部と音声を遮断した密室で、椅子は、イギリス議会で目にするあの特徴的な『深緑色』、20分の講演、10分のディスカッションはすべて録音。会が終わり次第直ちに印刷のゲラの作成という手順の良さです¹⁷。

今や忘れられた *Catalytic Antibody* ですが、当時の私にとっては、NMR と化学、そしてタンパク質を繋ぐ線に接するまたとない機会でした。当時のこの分野のボス、Richard Lerner 博士（Scripps 研究所・所長、当時）が会を実質的に取り仕切っていました。

2) NMR スペクトルの線幅

当時、物理学科の高橋秀俊研究室を出て、藤原研に移ってきた小沢宏君がいました。小沢君は、NMR 装置のプログラムの作成など、大変おおきな貢献をしてくれました。不幸なことに、定年まで東大図書館に所属していた小沢君は、定年の後、急逝しました。残念なことです。

ある時、小沢君と共に、高橋先生の研究室を訪ねました。化学で、NMR を使っているのですが、分子量の増大と共に、スペクトルの線幅が広がって困っています。何とか、情報処理によって、救えないものでしょうかと質問しました。

高橋先生は、直ちに質問のポイントを理解され、

— 情報が無いのだから、どうしようもありませんね。

と一蹴されてしまいました。

NMR スペクトルの線幅については、タンパク質への応用が拡大するにつれ、重要な進歩がありました。高磁場の NMR 装置を使う場合、NMR スペクトルの線幅を狭くできる場合があることを利用して、Wüthrich 教授は、**TROSY** 法を提案しました。これは、高磁場 NMR の普及と共に、広く利用されるようになって、現在に至っています¹⁸。

ここで特記すべきことがあります。磁場の強度と NMR スペクトルの線幅の関連については、清水博君が以前、論文に発表しているのです。この点は、上記の論文でもごく簡単に言及されています。しかし、当時の NMR は 100-MHz、それに何よりも、清水君は、のちに大きな問題になるタンパク質の¹H-NMR による 3 次元構造解析などには全く興味がなかったのです。

スイスの小さな町で、NMR のシンポジウムを Wüthrich 教授が主催しました。私も招かれて講演をしましたが、その時、清水君の仕事に言及しました。講演後、Wüthrich 教授が質問に立ち、この件に関しては、貴殿の言う通りだと発言しました。

3) 大きなタンパク質分子と NMR

実際に、抗体の仕事を始めると、予想していたこととはいえ、スペクトルは呆れて涙も出ないほど絶望的でした。

泣きそうになりながらもあまりにも熱心に測定を続けている私に同情した当時の大学院学生の東伸昭君が、イラストを描いて私を励ましてくれました。このイラストを小生の机の前において、考えたことは、シグナルが 1 本しか見えないのなら、可能な限り多種類の抗体を集め、異なる条件で、データを出来るだけ集めようではないか、気を取り直しました。15 種類のベンス・ジョーンズ・タンパクを使って測定を始めました。

来る日も、来る日も、研究室の 100-MHz を占有（夜は時間が空いていましたから）して、サンプルの種類を変えたり、pH を少しずつ（0.2 くら

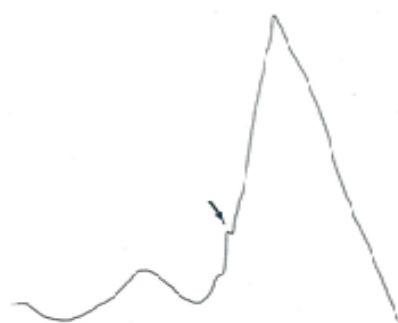


図 14. ヒト IgG の 100-MHz ¹H-NMR スペクトル (芳香環領域)



図 15. 免疫グロブリンのイラスト

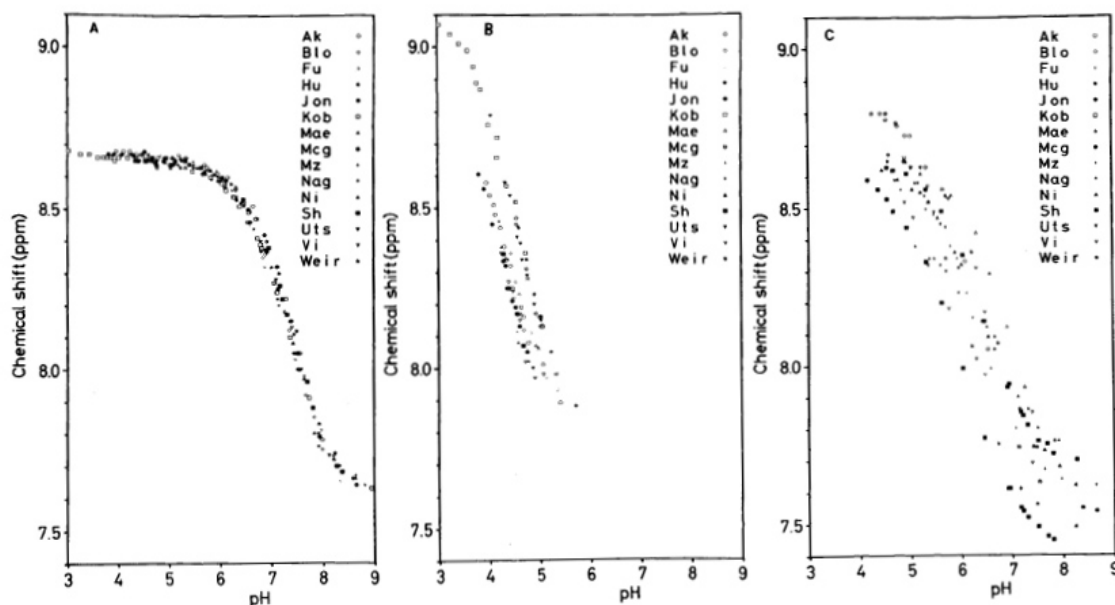


図 16. 15種類の Bence-Jones タンパク (免疫グロブリンのL鎖) 化学シフトの pH 滴定¹⁹

いずつ) 変えたりして、山のようなデータの点を集めました。

用いた装置の感度の悪さのため、図の1点の測定には、2時間程度を要しました。図にプロットした点の数を数えてみてください。膨大な時間とエネルギーを要する実験でした。

実験もさることながら、この図を作るのに、夏休みの丸丸一週間を費やしました。今なら、パソコンの力で、短時間に、よりきれいな図を作れたと思います。

4) 安定同位体 ¹³C で標識した IgG

ここまでの実験によって新たに得られたタンパク質化学的な知見は、事実上ゼロでした。“労多くして功少なし” とはこのことかなと情けなくなりました。

もう駄目だ！と研究室の椅子にボンヤリ座っている時、国民学校 (現在の小学校) の時、上級生が演じた劇で、捕らわれの身である後醍醐天皇を思い、児島高德が桜の幹に書いたという中国南北朝時代の故事に則った漢詩を思い出しました。

てん こうせん むな なか はんれい
天 勾踐を空しゅうすること莫れ 時に范蠡無
きにしも非ず

《勾踐は中国の越の王。范蠡は呉に敗れた勾踐を助け、呉を滅した忠臣》

ちょうどその頃、私の研究室の大学院学生加藤晃一、高橋栄夫両君が甲斐荘正恒教授 (東京都立大学理学部化学科、当時。現在、名古屋大学特任教授) を訪れ、¹³C ラベル・メチオニン 100 ミリグラムを頂いて帰ってきました。

私たちの研究室では、Stanford Medical Center の L. Herzenberg 教授から恵与された抗ダンシル・モノクロナル抗体の培養系が確立していましたので、加藤・高橋両君は、頂いた ¹³C ラベル・メチオニンを使って、ただちに実験を行いました。

得られたスペクトル(図17)は、目が覚めるようなものでした。(少なくとも、素晴らしいNMRスペクトルを手にするを生きがいとしている私たちにとっては)。

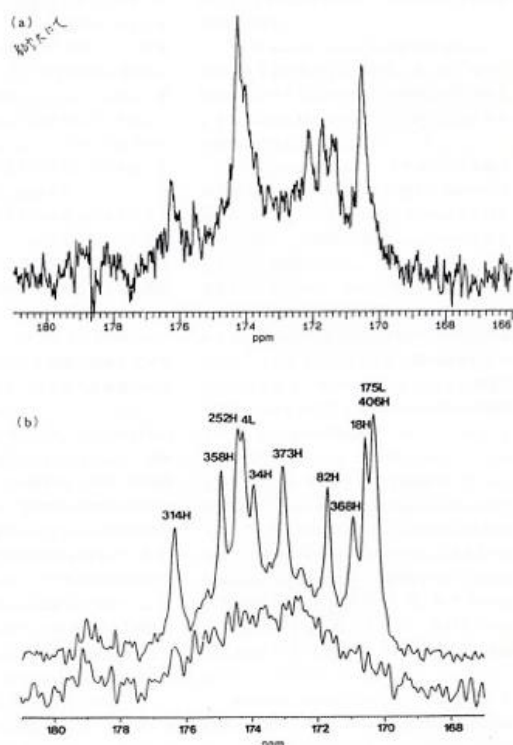


図 17. (a) は 1988 年 10 月 31 日 東京都立大学・甲斐荘正恒教授の研究室において測定。

(b) ^{13}C によって、メチオニンのカルボニル炭素を選択的にラベルした抗ダンシル・マウスモノクローナル抗体の ^{13}C NMR スペクトル。個々のシグナルを帰属する方法も確立。図には天然同位対比のままの抗体のスペクトルも示されている。

この時点で、私たちの抗体の NMR 研究は、サイエンスの入り口に到達しました。来る日も、来る日も、100-MHz に向かって、山のような pH 滴定のデータを集めていたころから、気が付けば、10 年余りが経過していました。

ちなみに、偶然ながら、甲斐荘正恒教授は、南朝の血を引く現在 26 代目の家系の方とうかがいました。私の研究でいえば、彼こそまさに、范蠡でした²⁰。

この実験の後、私は研究室の総力を挙げて、抗体の選択的ラベルの実験に取り組むことになりました。研究を中心になって引っ張ったのは、加藤晃一君でした。抗原結合部位の X 線結晶解析構造に関しては、中迫雅由教授（慶應義塾大学理工学部物理学科）、転写後修飾による糖鎖の構造解析

に関しては、高橋禮子教授（名古屋市立大学医学部教授、当時）との共同研究を行いました。

同じ頃、同じ薬学部の佐藤能雅教授と中村光昭博士（中外製薬より出向中）をお願いしていた抗ダンシル・マウスモノクローナル抗体の抗原認識フラグメント Fv 部分の X 線結晶解析が重要な局面を迎えていました。

Fv 単独の場合と、抗原であるダンシル・リジンが Fv に結合した場合とでは、Fv の抗原結合部位の構造が質的に異なるのです。

この仕事は、佐藤教授の定年退官などの事情により、残念ながら、パブリッシュする機会を失ってしまいました。しかし、解析の詳細は、荒田洋治『タンパク質の NMR — 構造データの解釈と評価』（共立出版、1996、pp.152-164）に記述しました。

興味のある点は、Fv の抗原結合部位は、“門の扉”が閉まっているのに対し、ダンシル・リジンとのコンプレックスでは、抗原が閉じていたはずの門の中に納まっているのです。これは極めて興味のある結果です。

溶液状態で、抗体の門の扉が開きっぱなしになっていては、抗原結合部位には疎水性の残基が多いため、エネルギー的に不利になります。だとすれば、通常は、扉が閉っていて、抗原がぶつかると、中にすりすり入れるような仕組みができていないのでしょうか。すなわち、抗原結合部位は、蓋がパクパク動くダイナミックな構造をとっていると考えたいところです。

ここから先は、NMR の出番です。安定同位体ラベルの手法をくみあわせ、Fv の抗原結合部位の静的、動的構造を徹底的に解析したいところです。今となつては、残念ながら、かなわぬ夢でした。1994 年 3 月、定年で退官した時点で研究は終わりました。

私たちの研究室からは、1994 年までの間に、抗体に関しては、学生、スタッフの諸君の協力によって、少なからぬ数の原論文、総説を発表できたことは誇りに思っています。いくつかの総説を英語でも発表しました²¹⁻²⁴。

5) タンパク質構造の可視化

タンパク質の三次元構造を追いかける段階で、タンパク質の可視化は極めて重要です。この点に絶大な貢献されたのは、中村春木教授(大阪大学タンパク研)です。私の研究室の何人かの学生も、中村教授には大変お世話になりました。この場を借りて感謝いたしたく思います。

6) 清水博君の NMR 分光学への貢献

清水君は、博士の学位を得た後、アメリカ・ハーバード大学、千葉大学理学部化学科、九州大学理学部物理学科を経て、東京大学薬学部に戻ってきました。清水君は、分子1個ずつを相手にするやり方(現在用いられている言葉でいえば、構造生物学)は、生命研究の理解につながることはないと主張し、独特の世界を切り開きました。

清水君は、徹底的に我が道を歩きました。わが師・清水君から、研究のみならず、実に様々なことを学びました。

5. 何事も一瞬先は闇である

平成6年(1994年)、私は東京大学・薬学部を定年退官しました。

昭和29年(1954年)薬学部に進学後、様々な経験をしました。所属も変わりました。仕事の内容も変わりました。悪戦苦闘の末にやっと辿り着いた「サイエンスの入り口」で研究を離れるのは残念でしたが、これまでここで書いてきたように、私はすべてを十分に楽しめました。

振り返って、これまでの私の行動を一言で表現するとすれば、私の気持ちの師匠であるドン・キホーテそのものです。

“総じて、いくさは何事よりも、一瞬の後を測りえぬものじゃ。・・・”

サンチョ・パンザを引き連れて勇ましく“出撃”するドン・キホーテ。風車に突進してポンと跳ね返されたときのドン・キホーテの言葉：セルバンテス『ドン・キホーテ 正編(一)』(永田寛定訳)(岩波文庫、第52刷、1993、179ページ)



図 18. 我が師匠・ドン・キホーテの出陣
スペイン・バルセロナにて撮影(1999年7月)

***** 完 *****

文 献

- (1) NMR IN STRUCTURAL BIOLOGY, A Collection of Papers by Kurt Wüthrich, Editor (1995) (*World Scientific Series in 20th Century Chemistry*)
- (2) J. Cavanagh, W. J. Fairbrother, A. G. Palmer III, M. Rance, and N. J. Skelton (2006) *Protein NMR Spectroscopy, Second Edition: Principles and Practice* (Academic Press,).
- (3) 荒田洋治 (1996) 『タンパク質のNMR — 構造データの解釈と評価』 (共立出版)
- (4) <http://yojiarata.exblog.jp/21840350>
- (5) <http://www.NMRj.jp/pdf/bulletin/bulletin-2009-1.pdf>
- (6) <http://yojiarata.exblog.jp/12479258>
- (7) 高橋健治 (1969) 『リボヌクレアーゼ T₁ の活性中心について — 化学修飾により得られた最近の知見 —』 *蛋白質核酸酵素* **14**, 1127–1142
- (8) 高橋健治 (1971) 『リボヌクレアーゼ T₁ と基質アナログとの相互作用』 *蛋白質核酸酵素* **16**, 1132–1140
- (9) 内田庸子 (1971) 『リボヌクレアーゼは基質のどこをよみとるか』 *蛋白質核酸酵素* **16**, 1053–1059
- (10) 高橋健治 (1974) 『リボヌクレアーゼ T₁ の活性部位の構造と機能』 *蛋白質核酸酵素* **32**, 298–316
- (11) Y.Arata, S.Kimura, H.Matsuo, and K.Narita (1976) Proton Magnetic Resonance Studies of Ribonuclease T₁. Assignment of Histidine-40 Peak and Analysis of the Active Site. *BBRC* **73**, 133-139
- (12) Y.Arata, S.Kimura, H.Matsuo, and K.Narita (1979) Proton and Phosphorus Nuclear Magnetic Resonance Studies of Ribonuclease T₁. *Biochemistry* **18**, 18-24
- (13) F.Inagaki, I.Shimada, and T.Miyazawa (1985) Binding Modes of Inhibitors to Ribonuclease T₁ As Studied by Nuclear Magnetic Resonance. *Biochemistry* **24**, 1013-1020
- (14) U.Heinemann and W.Saenger (1982) Specific Protein-Nuclear Acid Recognition in Ribonuclease T₁ · 2'-Guanylic Acid Complex. An X-Ray Study. *Nature* **299**, 27-31
- (15) R.Arni, U.Heinemann, R.Tokuoka, and W.Saenger (1988) Three-dimensional Structure of Ribonuclease T₁ Complexed with Guanylyl-2',5'-guanosine at 1.8 Å Resolution. *J.Biol.Chem.* **263**, 15358-15368
- (16) J.Koepke, M.Maslowska, U.Heinemann, and W.Saenger (1989) Three-dimensional Structure of Ribonuclease T₁ Complexed with Guanylyl-2',5'-guanosine at 1.8 Å Resolution. *J.Mol.Biol.* **206**, 475-488
- (17) Ciba Foundation Symposium 159 (1991) Chairman: W.P.Jencks (*John Wiley & Sons*).
- (18) K.Pervushin, R.Riek, G.Wider, and K.Wüthrich (1997) Attenuated T₂ relaxation by mutual cancellation of dipole-dipole coupling and chemical shift anisotropy indicates an avenue to NMR structures of very large macromolecules in solution. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* **94**, 12366-12371
- (19) Y.Arata and A.Shimizu (1979) Proton Nuclear Magnetic Resonance Studies of Bence-Jones Protein, *Biochemistry*, **18**, 2513-2520
- (20) K.Kato, C.Matunaga, Y.Nishimura, M.Waelchli, M.Kainosho, and Y.Arata (1989) Application of ¹³C Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy to Molecular Structural Analyses of Antibody Molecules, *J.Biochem.* **105**, 867-869
- (21) Y.Arata, K.Kato, H.Takahashi, and I.Shimada (1994)

Nuclear Magnetic Resonance Study of Antibodies. A
Multinuclear Approach, *Methods in Enzymology* **239**, 440-
464

(22) Y.Arata (1996) NMR of larger proteins: An Approach to
the structural analysis of antibodies. in Biological NMR
Spectroscopy (J.L.Markely and S.J.Opella, eds.), *Oxford
University Press* (1996)

(23) K.Kato, Y.Yamaguchi, and Y.Arata (2010) Stable-
isotope-assisted NMR approaches to glycoproteins using
immunoglobulin G as a model system, *Progress in
Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy* **56**, 346-359

(24) M.Nakasako, H.Takahashi, N.Shimba, I.Shimada, and
Y.Arata (1999) The pH-dependent Structural Variation of
Complementarity-determining Region H3 in the Crystal
Structures of the Fv Fragment from an Anti-dansyl
Monoclonal Antibody, *J.Mol.Biol.* **291**, 117-134

荒田洋治先生ご略歴：

- 1934年 岡山市に生まれる。
1956年 東京大学医学部薬学科卒業
1956年 4月第1製薬株式会社入社
同年6月同社退社
1957年 4月東京大学大学院化学系研究科薬学専門
課程入学
1960年 5月博士課程退学
1960年 6月電気通信大学助手
1965年 東京大学理学部助手
1967年 同講師
1969年 同助教授
1986年 東京大学薬学部教授
1994年 3月定年退官
1994年 4月機能水研究所所長
1994年 6月東京大学名誉教授
2000年 理化学研究所ゲノム科学研究総合センター
研究顧問
2006年 同研究所 客員研究主幹
2007年 3月同退職
- 2002年4月-2004年3月 日本核磁気共鳴学会
初代会長
- 1994年1月28日～現在 財団法人(2012年より公益
財団法人)永井記念薬学国際交流財団 理事
*Journal of Structural and Functional
Genomics* (Springer) Founding Editor
*International Society of Magnetic
Resonance (ISMAR)* フェロー

