

シリーズ「わが国の蛋白質科学研究発展の歴史」
第 25、26 回原稿配信のお知らせ

平成 29 年 10 月 24 日

今回は第 25、26 回の原稿を配信いたします。

- 第 25 回 熊谷泉先生 「工学系で蛋白質研究を模索して」
第 26 回 下西康嗣先生 「プロテイン、プロテオーム、プロテオミクス」

なお、これまでに下記の 24 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 |
| 第 23 回 | 荒田洋治先生 | 第 24 回 | 井本泰治先生 |

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 萩原 義久、廣明 秀一

電子メール版ニューズレター発行

〒562-8686 大阪府箕面市稲 4-1-2 日本蛋白質科学会事務局

Tel : 072-729-4125 / Fax : 072-729-4165

E-mail : jimmu@pssj.jp URL : <http://www.pssj.jp>

編集責任者：萩原 義久（産業技術総合研究所）

廣明 秀一（名古屋大学大学院創薬科学研究科）

工学系で蛋白質研究を模索して

熊谷 泉（くまがい いずみ）

ニワトリリゾチームから抗体へ

1983年の7月、東京大学工学部工業化学科の三浦謹一郎教授の研究室に助手として着任し、工学系への思いがけ無い遭遇となりました。三浦先生は国立遺伝学研究所から転任され、工学部で遺伝子工学の研究室を立ち上げる時であり、国際的にも高い評価を受けていた核酸（主にRNA）研究を中心に据えながらも、新天地で新しい研究分野として、当時、黎明期を迎えていた「蛋白質工学」を取り上げられました。私は大学院・博士研究員時代の蛋白質・核酸研究と組換えDNA実験の経験を生かして蛋白質工学研究に参画するように申し渡されましたが、技術的には未熟であり、手探り状態から研究を始めたため、3年間関連論文は1つも発表できませんでした。三浦先生は数種類の蛋白質を研究対象として取り上げられましたが、中心は放線菌スブチリシンインヒビター（SSI）であり、三井幸雄先生を中心とするSSIグループに加わり、反応部位のアミノ酸

置換による特異性の人工変換にも成功しました。また、三浦先生は本学会創立の流れの中でも、三井先生とは連携を深めておられました(写真1)。

私はニワトリリゾチームの研究に惹かれました。やはり蛋白質研究の基本であり、多くの知見に恵まれていることが研究の進展に有利だと思ったからです。ヒトリゾチームを含め、国内外で複数の研究グループが研究対象として取り上げており、そのような競争が激しい研究状況に参入することに、三浦先生は少し難色を示されましたが、最終的には研究テーマとしてお認め頂きました。

主に研究対象としたのは、基質結合に関与している側鎖（特に Trp62(1)）であります。これら側鎖は、本学会の母体の1つである「蛋白質構造討論会」では、九州大学農学部・薬学部、大阪大学蛋白質研究所のグループが主に化学修飾による構造変換の対象にしており、学生時代から見聞きし興味を持っておりました。類縁



写真1 三井幸雄先生を囲む会（三井先生が長岡に赴任された1989年頃）

主な方々、前列中央：三井先生、右横：宮沢辰雄先生、右端：西村善文先生、2列目4番目から：大島泰郎先生、稲垣冬彦先生、荒田洋二先生、三浦先生、甲斐荘正恒先生、最後列大島先生の左奥：筆者

リゾチームとの構造・機能相関も考慮して、アミノ酸置換を行った結果、人工的な高機能化を達成することができました(1, 2)。

文献1のニワトリリゾチームのアミノ酸置換研究は私の蛋白質工学研究の最初の論文でしたが、この論文を基に、1988年の6月、米国NIHの国立がん研究所で開催されたワークショップに招待されました(3)。ニワトリリゾチームを抗原とした免疫学のワークショップで、酵素学研究は少数派でした。抗原・抗体複合体のX線結晶解析による立体構造研究が大きな話題であったと思います。エピトープやパラトープの構造が原子レベルで議論されていることが、特に印象的でした。このワークショップの要旨集の表紙の図は抗原ニワトリリゾチームに結合する3種の抗体(その1つは後述するHyHEL10)のパラトープとエピトープの関係を表したものであり、現在ではいくつかの代表的な生化学の教科書に掲載されています。何故、ニワトリリゾチームを抗原とした免疫学が大きく展開したかについて、ワークショップのオーガナイザーに伺ったところ「1960年代に立体構造が解明された単純蛋白質は唯一ニワトリリゾチームだけだったから」と教えて頂きました。NIHを中心にニワトリリゾチームを抗原とするハイブリドーマは100種にのぼると言われております。ニワトリリゾチームは酵素蛋白質としてだけでなく、抗原蛋白質としても基本的なものとして位置づけられていたこととなります。

モデル抗体としてのHyHEL10

複数の蛋白質を対象にして、蛋白質工学研究と格闘していましたが、研究の方向性では悩んでおりました。工学系では「設計」「合成」「評価」が重要とされると教えられましたが、蛋白質研究は「設計」には馴染みません。「蛋白質」を「工学」するには対象分子を限定することが現実的であると思い始めました。抗体は共通の枠組み構造からなるドメインの積木細工と見ることができ、抗原結合部位のCDRはモジュール構造に対応しているとされます。ドメインとモジュールを基盤として「設計」に対応できそうな数少ない蛋白質分子だと考えました。

ニワトリリゾチーム研究の実績を生かし、思い切っ

て研究を開始しました。当時は、抗体可変領域断片(Fv)(4)、一本鎖抗体(scFv)、Fabの大腸菌での発現系の報告が相次いで行われた時期でした。

まずHyHEL10Fvの遺伝子約750塩基対を化学合成し、SSI研究の関連で放線菌の発現系を保有していましたので、独自性をだそうと放線菌で発現させました。抗体の放線菌での発現は未だにこの一例だけかと思えます(5)。しかしながら生産性は高くなく、効率的な研究のために大腸菌での分泌発現系を立ち上げることにしました。丁度、博士前期課程に進学した津本浩平さん(現・東京大学・院工・医科研教授)がこのテーマに参入しました。生産効率は極めて高く(~30mg/L)、研究の進展に大いに役立ったと思います。生産系が確立しましたので、結合定数を正確に測定したいと思い、当時、大阪大学蛋白質研究所にいらした油谷英克先生にご相談すると、等温滴定型熱量測定の利用を推薦して頂きました。直ぐに、津本さんが油谷先生から、ご指導・ご薫陶頂き良い成果をあげることができました(6)。

東北大学に赴任後も研究室のスタッフになって頂いた津本さんが自家薬籠中のものとして、相互作用解析を推進しました。抗原ニワトリリゾチームとの複合体との構造解析にも成功し(7)、構造を基盤とした精密な抗原認識機構を議論できるようになったと思っております(8, 9, 10)。また、独自に整備したフェージ提示系を利用して、抗原認識能の人工変換を達成することも出来ました(11)。

1970年代後半から始まる遺伝子からの蛋白質の発現系の開発は、蛋白質研究を一変させました。抗体の構造は皆ほとんど同じですので、Fv程度ならどんな抗体も大腸菌で分泌発現できるはずだと単純に考え、東北大学では大腸菌の発現系しか利用しない、と決めていました。HyHEL10の発現効率の高さに幻惑されていたでしょう。しかしながら、色々な抗体を取り扱う内に、抗体でさえも発現性に強い個性があることに気づき始め、汎用性のある発現系開発の必要性を強く感じました。

大腸菌における異種蛋白質の細胞内発現系における封入体形成は未だに対処が難しい大きな問題です。利用するには、一旦、変性剤で可溶化して、活性型に巻き戻す必要があり、その条件検討が煩雑です。一方、大量に生成する、安定である、封入体自身はある程度精製度が高い、精製が容易である、などの優位な点もあります。

HyHEL10はFvでは大腸菌で効率的に分泌発現しますが、一本鎖抗体(scFv:VHとVLをリンカーで繋いだ分子種)の分泌発現量は大幅に低下します。そこで、HyHEL10scFvの封入体の作製と巻き戻し条件の検討を行いました。HyHEL10scFvの封入体は大量に発現しました(μg/L)。蛋白質の巻き戻しで問題になるのは、巻き戻し途中での凝集体の生成です。津本さんを中心に、凝集体生成を抑制するため、変性剤濃度を段階的に下げた行き、添加剤等の工夫を行い、HyHEL10scFvは封入体から90%以上の効率で再生させることができました(12)。

しかしながら、HyHEL10scFvの巻き戻し効率に匹敵するまたは凌駕する効率を示す蛋白質は無かったように思います。その後は、動物細胞の発現系も研究室に導入し、その有用性を認識することになります。

二重特異性抗体とがん免疫治療

私は基礎的な研究対象として抗体を取り上げましたが、研究を始めてみると、はからずも医学系の先生方から共同研究の提案を頂くようになりました。大きく発展したものは、東北大学加齢医学研究所の工藤俊雄先生(現・東北大学名誉教授)との共同研究です。がん免疫治療への適用を目的とした二重特異性抗体の開発を目指す研究内容でした。

抗体の可変領域断片(Fv)を構成するVHとVLを短いリンカーで繋げると、二量化して、2価の低分子抗体断片が作製できることは知られており、diabodyと呼ばれていました。この時、抗原結合能の異なった2種のFvを繋げると、2種類の抗原結合能を有する、二重特異性diabodyを作製することが出来ます(図1)。がん治療を目的とした二重特異性抗体の利用コンセプトは単純で、

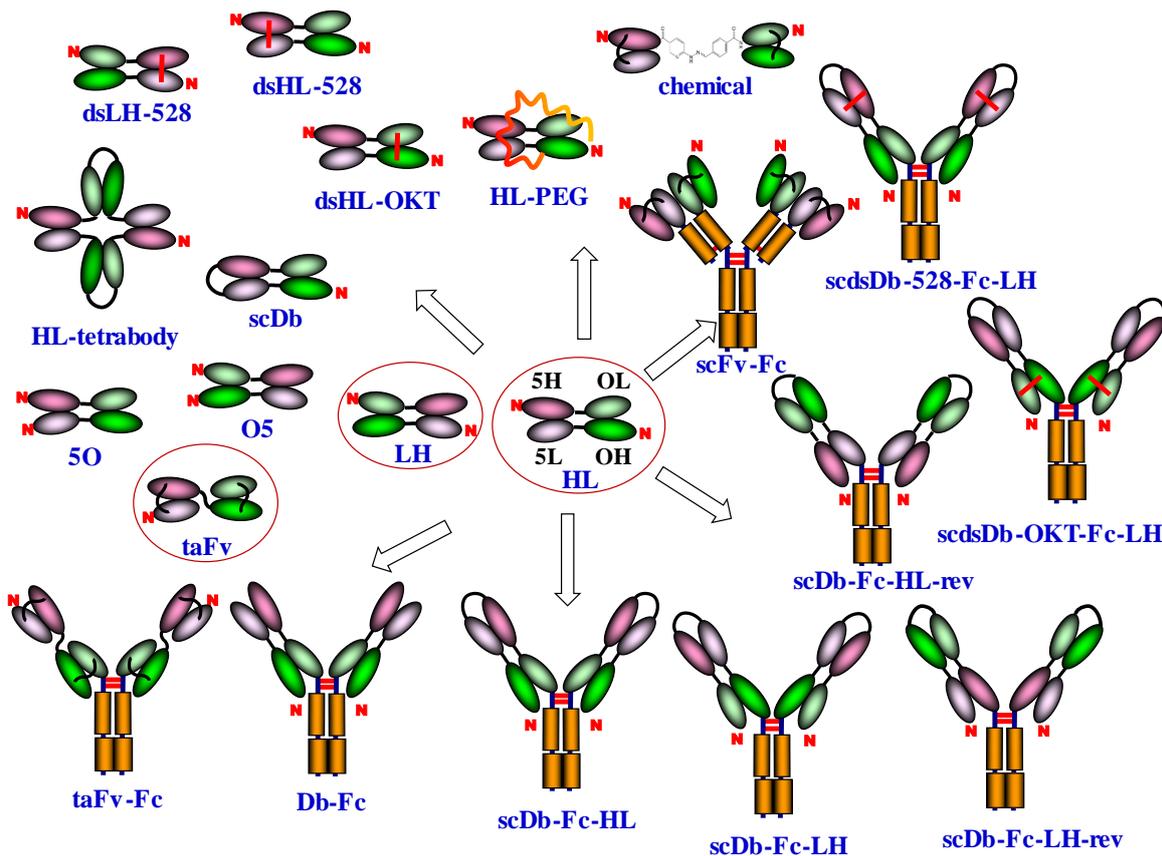


図1 二重特異性抗体 Ex3 を基盤として構築した構造フォーマット
 円形で囲んだものは、典型的構造フォーマット。5H : 抗 EGFR 抗体 528 H 鎖可変領域、5L : 同 528 抗体 L 鎖可変領域、OH : 抗 CD3 抗体 OKT3 H 鎖可変領域、OL : 同 OKT3 L 鎖可変領域。
 Ex3 HL はドメインの連結順が VH-リンカー-VL、Ex3 LH は連結順が VL-リンカー-VH。tandem scFv は scFv-リンカー-scFv。

がん細胞とリンパ球を直接架橋することです。副次的には多様な細胞生物学的なイベントの相乗効果であることは想像に難くありませんが、証明する実験は見当たりません。数種類のがん関連抗原特異抗体とリンパ球表面抗原特異抗体のFvを作製し、それらの組合せによる二重特異性 diabody を数種類構築して、活性を調べましたが、特に顕著な細胞傷害性を示した分子種は、抗 EGFR 抗体 528 と、抗 CD3 抗体 OKT3 との二重特異性 diabody (Ex3) でした(13)。この研究には浅野竜太郎さん(現・東京農工大・院工・准教授)が卒業研究時から参画し、その後 Ex3 のヒト型化(hEx3)にも成功しました(14)。また、Ex3、hEx3 ともマウスを用いた *in vivo* 治療モデルでも強い抗腫瘍活性を示すことが明らかになりました(13, 14)。良く見られる現象ですが、528 Fv をヒト型化すると、抗原親和性が大きく低下しました。マウス、ヒト型化 528 Fv の結晶構造を解析し、それらの構造に基づき、ヒト型化 528 Fv に無作為変異を導入したライブラリーから、ファージ提示系を利用して、高親和性ヒト型化 528 Fv の取得に成功しました(15)。これらの変異導入を含め、Fc 領域との融合、二重特異性 tandem-scFv (2種類の scFv をリンカーで繋げた分子種で、diabody とは異なる構造) など極めて多数の構造フォーマットを作製し、抗腫瘍活性を測定して、医薬品としての最適化研究も展開しました(図 1)。重要なことは、これら構造フォーマットの改変により、抗腫瘍活性が大幅に変化することを見出したことです。Ex3 は、元々は VH-VL の順でドメインを連結していましたが、これを VL-VH (Ex3 LH 型) に並べ変えるだけで、活性が3桁近く上昇しました(16)。低分子二重特異性抗体で、唯一 FDA で認可されている blinatumomab は、抗 CD19 と抗 CD3 抗体の一本鎖抗体をリンカーで繋いだ二重特異性 tandem-scFv であり、悪性リンパ腫の治療薬として開発されました。標準治療薬の一つである IgG 型キメラ抗体のリツキササンと比較して 10^5 倍活性が高いと報告されており(17)、現在国内製薬企業にて臨床研究が進められております。固形がんを治療対象と想定している Ex3 とは単純な比較はできませんが、Ex3 LH 型は blinatumomab に匹敵、または凌駕する活性を有していると考えています。

このような実績を背景として、2011 年から2年間、国内大手製薬企業に評価して頂く機会を得ました。そ

れまでの製造・活性評価は十分な再現性が得られ、アカデミアでの研究活動に十分な手応えと自信を得ることが出来ましたが、開発継続までには至っておりません。残念ですが、巨額な投資判断において、大きな壁があるように感じております。

インターフェイス分子への展開

がん免疫治療を目的とした二重特異性抗体の役割は、がん細胞と活性化リンパ球を架橋することであり、細胞間に人工的なインターフェイスを構築していることとなります。この考えを、多岐にわたる物質間に適用することを思いつきました。東京大学・工学部時代の一時期は超電導フィーバーの時代であり、隣の研究室では、ペロブスカイト型化合物を絨毯爆撃的に合成し、連日のように新たな物性を見出し、注目を浴びていました。一般社会では、何とも地味な蛋白質の世界を拡張できないか、と現実離れた考えが浮かんだり、消えたりしていました。

2000 年頃に半導体の結晶面を認識するペプチドを、ファージ提示系を利用して取得し、このようなペプチドの融合で、2種類の材料を集合・組織化する提案も成されました(18)。このような断片を、抗体のフレームワークに入れ込むことにより、より結合定数の高い分子の構築が可能になると、発想しました。このような材料表面認識抗体の取得はファージ提示系のような生体外選択系を適用するしか方法はありません。研究室で長年培って来た技術が生かせる点も魅力的でした。梅津光央さん(現・東北大学・院工・教授)がスタッフとして着任された際、ご相談させて頂きこのような方向性の研究を開始しました。梅津さんは、生物系以外での研究経験も豊富な守備範囲の広い研究者です。

幾つかの有機・無機材料表面特異抗体断片の取得に挑戦し報告しましたが、ここでは金表面特異抗体に関連する成果を紹介します。まず、ヒト抗体ライブラリーより、蒸着金表面に選択的な抗体断片を取得できました(19)。金属や半導体化合物に特異的に結合するペプチドの報告がなされていましたが、その解離定数は $10^{5\sim6}$ M 程度でありインターフェイス分子として十分な結合性を有していません。しかし、私どもが選択した金表面特異的抗体の解離定数は 10^{-10} M 程度と格段に強い結

合性を示し、高い特異性も確認することができました。

また、より簡便な材料特異的抗体の取得方法の試みとして、材料認識ペプチドを CDR 移植することによる機能発現を行いました。具体的には、様々な金属酸化物に結合するペプチドをファージ提示法より独自に選択した結果、多機能セラミックスである酸化亜鉛を用いて選択されたペプチドの結合活性は既に報告されているペプチドに比べて結合定数が 10^{-7} 程度と非常に強く、明瞭な材料選択性も示しました(20)。続いて、マウス抗体やラクダ抗体の可変領域断片中にある CDR 領域の一つのループ構造に、選択された酸化亜鉛認識ペプチドの移植を行いました。結果、酸化亜鉛への結合と材料選択性の両機能が発現され、材料認識ペプチドを用いた抗体への材料表面結合抗体の作製は可能であることが確認されました(21, 22)。特に、ラクダ抗体へ移植したものは、移植に用いなかった CDR 領域をランダム化しファージ提示法により解離定数が 10^{-9} M 程度の抗体を取

得することができ、材料特異的抗体の網羅的、かつ簡便な取得法として、新規性が高く、独創的な手法であると言えます。

ナノ工学材料に関しては、金と酸化亜鉛に特異的機能を持つ抗体断片を構成単位とした二重特異性抗体分子を創ることによって、抗体断片間の架橋構造によっては金ナノ粒子のプラズモン機能を損なわない状態で、金・酸化亜鉛ナノ粒子を会合させることだけで、また、酸化亜鉛結晶表面に金ナノ粒子を接着させることも行いました(22, 図2)。

最近では、この二重特異性抗体を利用して、金微粒子と酸化亜鉛ナノ粒子を会合させ、高温にて金を溶融(蛋白質分子は焼失)し、内部の酸化亜鉛ナノ粒子を希硫酸で溶解することにより、ナノレベルの細孔を有する金属材料を創成し、その表面による効率的な酸化反応を観測しております(投稿中)。

終わりに

蛋白質として基本的な分子に素朴な興味を抱き、模索する中、抗体研究に辿り着き、はからずも、抗体医薬の進展を背景に、各種の公的資金のご支援を頂きました。現役最終年度(2012年度)には、科学研究費補助金特別推進研究「ナノインターフェイス構築のバイオデザイン」に採択され、2017年3月に終了致しました。この成果の学術発信はまだ途上にあります。進捗もあります(23)。

工学系の伝統的分野の研究者の方から、「社会が我々の研究の道場である」と聞かされたことがあります。また、研究者も晩年となると「人から感謝される研究」に心を動かされることも聞きます。抗体研究を通じて、一瞬ですが、このような方向性を垣間見る体験は、研究生活を豊かにしてくれました。基礎から応用まで、分野横断的な知見・視点を包含した蛋白質研究の発展を期待しております。

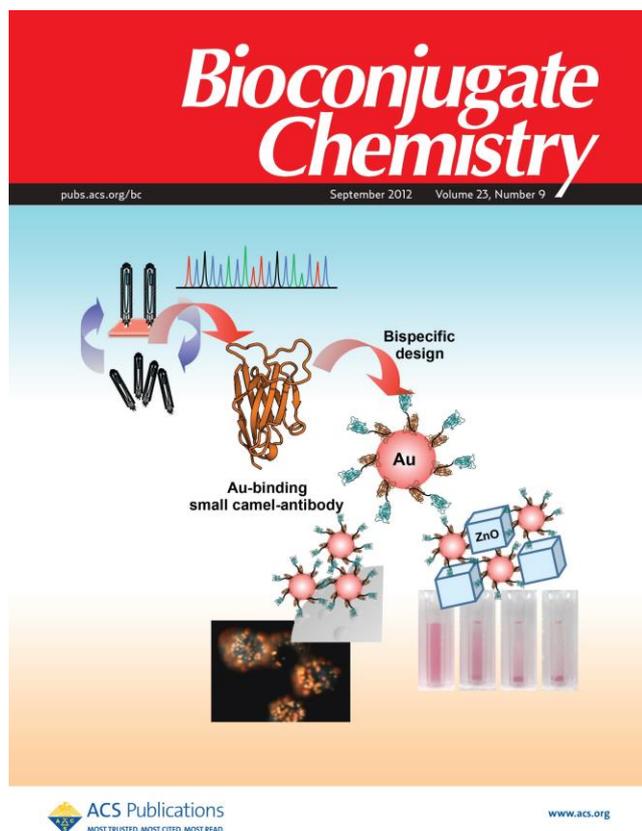


図2 (2012) Bioconjugate Chemistry Vol 23 の表紙

文 献

- 1) Kumagai,I., Kojima,S., Tamaki,E. & Miura,K., (1987) *J. Biochem. (Tokyo)* **102**, 733–740
- 2) Kumagai,I., Sunada,F., Takeda,S., & Miura.K., (1992) *J. Biol. Chem.* **267**, 4608–4612
- 3) Smith-Gill,S., & Sercarz,E., ed. (1989) *The Immune Response to Structurally Defined Proteins: The Lysozyme Model*, Adenine Press
- 4) Skerra,A., & Pluckthun,A. (1989) *Science* **240**, 1038–1041
- 5) Ueda,Y., Tsumoto,K., Watanabe,K., & Kumagai,I.,(1993) *Gene* **129**, 129–134
- 6) Tsumoto,K., Ueda,Y., Maenaka,K., Watanabe,K., Ogasahara,K., Yutani,K., & Kumagai,I., (1994) *J. Biol. Chem.* **269**, 28777–28782
- 7) Kondo,H, Shiroishi,M., Matsushima,M., Tsumoto,K., & Kumagai,I., (1999) *J. Biol. Chem.* **274**, 27623–27631
- 8) Yokota,A., Tsumoto,K., Shiroishi,M., Kondo,H., & Kumagai,I., (2003) *J. Biol. Chem.* **278**, 5410–5418
- 9) Shiroishi,M., Tsumoto,K., Tanaka,Y., Yokota,A., Nakanishi,T., Kondo,H., & Kumagai,I., (2007) *J. Biol. Chem.* **282**, 6783–6791
- 10) Yokota,A., Tsumoto,K., Shiroishi,M., Nakanishi,T., Kondo,H., & Kumagai,I., (2010) *J. Biol. Chem.* **285**, 7686–7696
- 11) Nishimiya,Y., Tsumoto,K., Shiroishi,M., Yutani,K., & Kumagai,I., (2000) *J. Biol. Chem.* **275**, 12813–12820
- 12) Tsumoto,K., Shinoki,K., Kondo,H., Uchikawa,M., Juji,T., & Kumagai,I., (1998) *J. Immunol. Methods.* **219**, 119–129
- 13) Hayashi,H., Asano,R., Tsumoto,K., Katayose,Y., Suzuki,M., Unno,M., Kodama,H., Takemura,S., Yoshida,H., Makabe,K., Imai,K., Matsuno,S., Kumagai,I. & Kudo,T., (2004) *Cancer. Immunol. Immunother.* **53**, 497–509
- 14) Asano,R., Sone,Y., Makabe,K., Tsumoto,K., Hayashi,H., Katayose,Y., Unno,M., Kudo,T., & Kumagai,I., (2006) *Clin. Cancer. Res.* **12**, 4036–4042
- 15) Nakanishi,T., Maru,T., Tahara,K., Sanada,H., Umetsu,M., Asano,R., & Kumagai,I., (2013) *Protein. Eng. Des. Sel.* **26**, 113–122
- 16) Asano,R., Kumagai,T., Nagai,K., Taki,S., Shimomura,I., Arai,K., Ogata,H., Okada,M., Hayasaka,F., Sanada,H., Nakanishi,T., Karvonen,T., Hayashi,H., Katayose,Y., Unno,M., Kudo,T., Umetsu,M., & Kumagai,I., (2013) *Protein Eng. Des. Sel.* **26**, 359–367
- 17) Bargou,R., Leo,E., Zugmaier,G., Klinger,M., Goebeler,M., Knop,S., Noppeney,R., Viardot,A., Hess,G., Schuler,M., Einsele,H., Brandl,C., Wolf,A., Kirchinger,P., Klappers,P., Schmidt,M., Riethmuller,G., Reinhardt,C., Baeuerle,P.A., & Kufer,P., (2008) *Science* **321**, 974–977
- 18) Mirkin,C.A., & Taton,T.A., (2000) *Nature* **405**, 626–627
- 19) Watanabe,H., Nakanishi,T., Umetsu,M., & Kumagai,I., (2008) *J. Biol. Chem.* **283**, 36031–36038
- 20) Umetsu,M., Mizuta,M., Tsumoto,K., Ohara,S., Takami,S., Watanabe,H., Kumagai,I., & Asdschiri,T., (2005) *Adv. Mater.* (2005) **17**, 2571–2575
- 21) Hattori,T., Umetsu,M., Nakanishi,T., Tsumoto,K., Ohara,S., Abe,H., Asano,R., Adschiri,T., & Kumagai,I., (2008) *Biochem. Biophys. Res. Commu.*, **365**, 751–757
- 22) Hattori,T., Umetsu,M., Nakanishi,T., Sawai,S., Kikuchi,S., Asano,R., & Kumagai,I., (2012) *Bioconjug. Chem.* **23**, 1934–1944
- 23) Sugiyama,A., Umetsu,M., Nakazawa,H., Niide,T., Onodera,T., Hosokawa,K., Hattori,S., Asano,R.,& Kumagai,I.,(2017) *Sci. Rep.* **7**, 2862

熊谷先生ご略歴

- 1948年 新潟市に生まれる
1972年 東京大学教養学部基礎科学科 卒業
1977年 東京大学大学院理学系研究科相関理化学課程
博士課程 修了
理学博士
1977年 日本学術振興会奨励研究員
1978年 三菱化成生命科学研究所 特別研究員
1980年 マックスプランク分子遺伝学研究所 研究員
1982年 ベルリン自由大学生物化学研究所 研究員
1983年 東京大学工学部工業化学科 助手
1988年 東京大学工学部工業化学科 講師
1990年 東京大学工学部工業化学科 助教授
1994年 東京大学工学部化学生命工学科 助教授
1995年 東北大学大学院工学研究科生物工学専攻
教授
2004年 東北大学大学院工学研究科バイオ工学専攻
教授
2013年 東北大学名誉教授
2013年 東北大学大学院工学研究科バイオ工学専攻
客員教授
2017年 東京農工大学大学院工学研究院 客員教授



プロテイン、プロテオーム、プロテオミクス

下西 康嗣 (しもにし やすつぐ)

○ エドマン分解から質量分析法へ：蛋白質のアミノ酸配列解析のパラダイムシフト

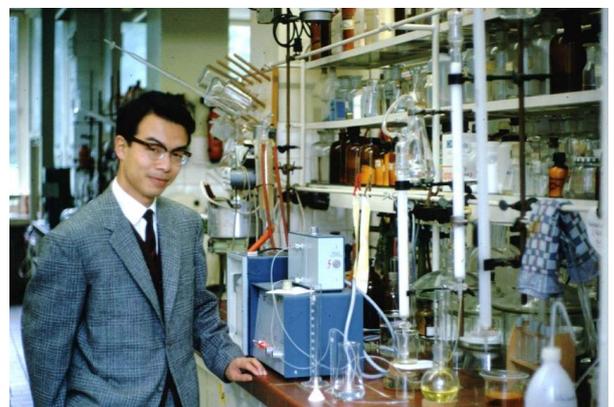
1980年前後に始まった従来とは全く異なる測定手法、測定されたデータを取り扱う概念が細胞中に存在する蛋白質のアミノ酸配列を網羅的に確固として定性、定量するプロテオームとして、ゲノムに対応する研究分野として確立されるようになってきた。また、測定に供される試料は最少量で、試料中に存在する膨大な数の蛋白質の分析に要する時間も極めて短縮され、測定操作も自動化され、迅速かつ多量の測定が行われるようになってきた。そして、1980年代以前の従来手法とは違った蛋白質化学から蛋白質科学へのパラダイムシフト、蛋白質の測定、分析技術は2000年代に飛躍的に発展し、今や、蛋白質のアミノ酸配列

(一次構造)の解析のみならず、蛋白質の生物化学的な研究に必須の手段となっている。それと共に、質量分析装置の高性能化、測定されたデータ情報の処理の効率の高度化がゲノムデータとの相補によってプロテオーム・ゲノムの成果が蓄積される時代に来ている。そして、細胞中に存在する蛋白質がオーケストラの各パートとしてそれぞれの役割を、組織全体の機能を演じる役割、機能を解明する方向に拡大しつつある。

筆者は大学院院生(1959年から1964年)の時代、研究分野とは違った領域にはあった質量分析法によって蛋白質のアミノ酸配列を決定する手法に関心があり、それらに関連する論文を中心に読んでいたが、1970年代後半FD-MS(Field desorption ionization mass spectrometry)によってペプチドを測定する思いもよらない機会が

あり、質量分析法によって蛋白質のアミノ酸配列の解析法に関する研究に携わるチャンスに恵まれることになった。ここではその経緯を踏まえ、著者が1980年前後から2000年までに従事し、生体物質の質量分析法による解析の基盤が形成され、飛躍的に発展した時代(故MIT名誉教授K. Biemannは特に1980年代を質量分析法による蛋白質の研究の黄金時代(Golden age)と言っている)を振り返って、その時代に考案された手法、そしてそれによって得られた成果をどう解釈し、新たな測定方法や解析方法、データの迅速な処理へ繋げるための方策が考えられて行ったかについて記述してみたい。

生体の機能を理解する、取り分け、分子レベルで明らかにするには、それを構成する主要な成分、核酸、蛋白質や糖質の1次元、3次元、更に高次元な構造を解明することが必須である。蛋白質に関しては、20世紀中庸、F Sangerらによるインスリンのアミノ酸配列の解明が出発点となったと言えるであろう。現在から見れば、当時の蛋白質のアミノ酸配列解析は、試料の量、蛋白質の精製、アミノ酸組成の分析等、大変な労力と時間、



アーヘン工科大学ドイツ羊毛研究所にて、1966年



B. Gutte 教授（現チューリッヒ大学名誉教授、アーヘン工科大学ドイツ羊毛研究所で共同研究）とチューリッヒ大学にて、1988年

人材を要していた。

1960年代から1970年代にかけて、蛋白質のアミノ酸配列を決定するには2つの方向があった：1つは化学的な方法であるエドマン分解、もう1つは少し遅れて始められた物理化学的な



Prof. Klaus Biemann（前列左）、蛋白質研究所有機化学部門訪問

方法であるガスクロマトグラフィー・質量分析法。一般には、エドマン分解法が用いられ、そして、試料の微量化が図られると共に、蛋白質のN末端から順次アミノ酸残基を自動的に解析する機器「蛋白質配列解析シーケンサー」、「自動エドマン分解蛋白質シーケンサー」が作成され、蛋白質のアミノ酸配列に関する情報が日常的に集積されるようになっていった。一方、ガスクロマトグラフィー・質量分析法では熱に不安定な生体物質、例えば、ペプチドは気化しやすい誘導体に変換する方法が使用されていたが、様々な改善が行われ、様々な蛋白質の配列が決められて、機能を裏付ける構造の解明が進んだ。

1970年代になり、ペプチドなど熱に不安定な生体物質をイオン源に装着し、直接イオン化する手法の開発に目が向けられるようになった。イオン源と対抗電極との間に電圧をかけて、生体物質を直接脱着させる、所謂、ソフトイオン化法が考案されるようになった。そのきっかけは、上に記述した1960年代後半に報告されたFD-MS (Field desorption ionization Mass Spectrometry) (Beckey HD Int J Mass Spectrom Ion Phys 1969)であった。FDイオン化法は、直径5 - 10 μm のタングステン線に金を蒸着させ、更にその上に炭素のWhiskerを成長させたイオン源を用いる。これにペプチドの水溶液(1 ml、アルコールと水を約1:1)を乗せ、質量分析計に導入し、対向との間に電圧をかけ、上昇させていくことによって、イオン源からのペプチドの脱着を起こさせる方法である。当初は、アミノ酸3残基程度のペプチドの分子イオンのシグナルが検出されることが示された。小生の知るところでは、この報告が直接ペプチドをイオン化させ、質量分析計に取り込み測定した最初の例でないかと思われる。大変興味のあるイオン化技術と思われたが、他の研究者によって取り込まれることが必ずしも多くはなかった。その理由として、FDイオン化質量分析法では上記のような炭素の

Whisker をイオン源として使用するが、当時として市販のイオン源が高価であること、測定されたFD マススペクトルから分子イオンシグナルのみならず、配列フラグメントのシグナルが極めて複雑で、それらをアミノ酸配列に結び付けることが難しかったためと考えられる。

続いて、1970年代になって、SIMS (Secondary ionization mass spectrometry), PDI-MS (Plasma desorption ionization mass spectrometry) が提案された。PDI は優れたイオン化法で高エネルギーの ^{252}Cf の核分裂によって生成した原子を試料に照射することによってイオン化する方法である。この方法では、フグ毒テトロドトキシンの構造決定で有効性が示されたが、高いエネルギー放射性アイソトープを必要とすることや、構造解析に必要な断片シグナルが少ないため、一般に汎用されるには至らなかった。

筆者らは、FD-MS の測定に際して、イオン源と対抗電極との間に電圧をかけ、上昇させていく過程において瞬間的にペプチドの分子イオンがイオン源から脱着し、観測されること、それと共に、それを過ぎるとペプチドの断片イオンが無数に観測されることを経験した。このことを逆手にとって、ペプチドの分子イオンのシグナルが観測される電圧においてペプチド混合物、蛋白質の酵素消化物中に存在する個々のペプチドの分子イオンのシグナルが一度に測定できるであろうと着想した。そして、それが可能であれば、混合物をエドマン分解した後の混合物の分子イオンも観測できるであろうと考えた。その考えは以下に示すように FAB-MS に応用して多くの研究者に関心と呼ぶことになった。下図には、蛋白質の酵素消化物のマススペクトルが確かに観測され、ここに初めて、ペプチド混合物の分子イオンのマススペクトルを直接測定できることを示した。

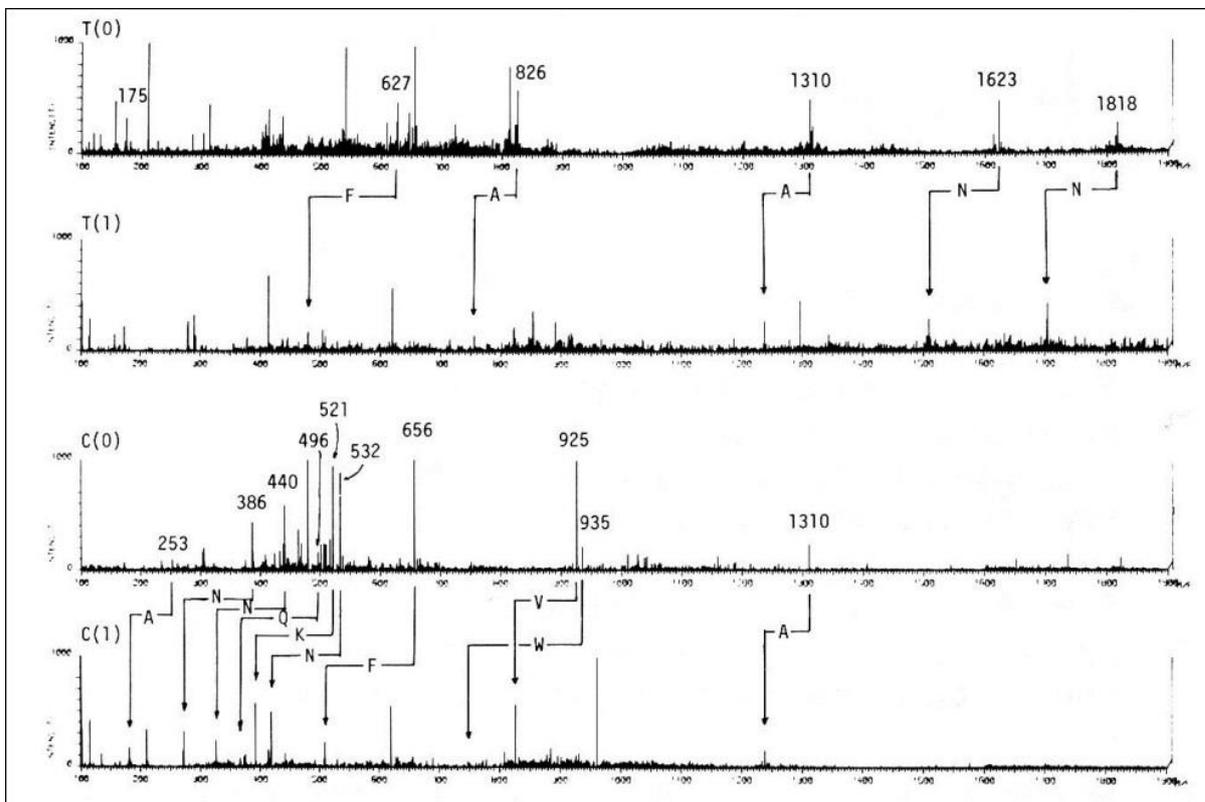


図1. *Streptomyces erythraeus* lysozyme のトリプシン消化（上段）とキモトリプシン消化（下段）ペプチドのFD 質量スペクトル Shimonishi Y “Methods in Protein Sequence Analysis 1982”

この実験の成果は、以下の着想の基になり、蛋白質のアミノ酸配列の解析にパラダイムシフトを齎すことになって行ったように思われる。即ち、

1つは、イオン化法のイノベーション、従来主として行われていた方法と基盤を異にする手法。分析方法の転換。従来から主に行われていたエドマン分解法から質量分析法への移行が実現する研究方法のパラドックスの可能性が示唆されたことである。

2つ目は、蛋白質或いはペプチドのアミノ酸配列を化学的な方法によってアミノ酸1残基ずつを解析していく同定方法から、ペプチドの質量を測定し、質量からペプチドを構成するアミノ酸残基を決定乃至推定する物理的な手法にとって代わることになった。

3つ目は、これまでペプチドを気化できる誘導体に変換し、GC-MS によって測定する方法が取られてきたが、気化可能な誘導体に変換することなく、直接イオン源から脱着させてイオン化させ、ペプチドの質量（分子量）を測定し、他の方法と組み合わせてアミノ酸配列を分析する方法への転換が可能となった。

これらのことから、所謂、生体物質をイオン源から直接脱着させるソフトイオン化質量分析法に急速に関心が寄せられるようになった。

それぞれの時代に科学に対する考えやそれに基づく発明や発見が行われ、進歩、発展に繋がっていったかを検証することも、そのもととなった発想そしてそれに至った状況を検証し、学ぶことも次の時代へ繋げていく上で望まれることであり、また、異なる分野からの発想の移入によって従来と全く異なる発展をとげるに至った状況を検証することも大変重要なことであろう。それらの分野に関わる研究にとっても、従来とは異なる発想によって一層進化する、或いは誕生する状況を感性をもって接することが望ましいことであろう。

こうした中、1980年代になって M Barber ら (Nature 1981) によって、FAB-MS (Fast Atom Bombardment Mass Spectrometry) が登場した。FAB イオン化法の最大の特徴は、熱に不安定な生体物質をイオン源から極めて簡単に気相にイオンとして脱着させ、質量分析測定に耐える分析方法である。即ち、ステンレスの試料プレート上に 1~2 μg の生体物質、例えばペプチドの水溶液（エタノールを等量混合）にグリセリンを混合し、これをイオン源に装着する。試料プレートを質量分析計に導入後、これに高速のセシウム或いはアルゴンガスを照射することによって試料物質をプレートから脱着させ、質量分析計に取り込ませる。そして質量を計測する。この際、マトリックスとしてグリセリン或いはチオグリセリンを混合させることによって生体物質のイオン化を容易にかつ安定な気化状態で測定が可能となった。FAB イオン化法の出現によって、この分野に関わる研究者は、こぞって、特に蛋白質やペプチドのアミノ酸配列の解析に取り組むようになったと言っても過言でないであろう。

著者らは、FD-MS にて提案した方法が FAB-MS においてより有効に利用できることを示したが、一方、Bladley CV ら (Biochem Biophys Res Commun 1982) からも FAB-MS が提案されるとほぼ同時に、著者らが FD-MS において提案した方法を適用し、その方法の有用な点と解決しなければならない点について指摘した。

筆者らは、FD-MS での経験を基に、上に記述した蛋白質を消化（例、トリプシン消化）した混合物を測定する方法を FAB-MS に応用し、非常に簡単に混合物中に存在するペプチドの分子量を測定できることを示した。当初は、FD-MS における測定において経験したことであるが、蛋白質の消化によって生成するペプチドには親水性もあれば、疎水性もある。また、塩基性アミノ酸残基を多く含むものもあれば、酸性アミノ酸残基を含むもの様々であるが、一般的に陽イオンを測定する場合、疎水性で塩基アミノ酸残基を含むペプチドが

高い感度で観測されることが多い。そして、蛋白質消化ペプチドに存在する全てのペプチドが測定されるわけではなかった。従って、測定されたペプチドは蛋白質の全てのアミノ酸配列をカバーしていないために、測定されたペプチドの分子量や部分的なアミノ酸配列から元の蛋白質を決定ないし推定することはできないであろうという批判的な意見も記述された。しかしながら、種々の蛋白質

の消化物の測定から、(i) 蛋白質の配列の数十%以上をカバーするペプチドの分子イオンのシグナルが質量スペクトル上観測されること；(ii) 3000 u を越えるペプチドの分子イオンのシグナルが蛋白質消化物の約 5 μg で記録されること；(iii) シスチンを含むペプチドは母ペプチドの分子イオンシグナルと共にジスルフィド結合の開裂によって生成したフラグメントイオンのシグ



二重収束質量分析計 HX-100 (日本電子製、1号機) (1982年)

図2に蛋白質酵素消化物 FAB-MS の例を示す。

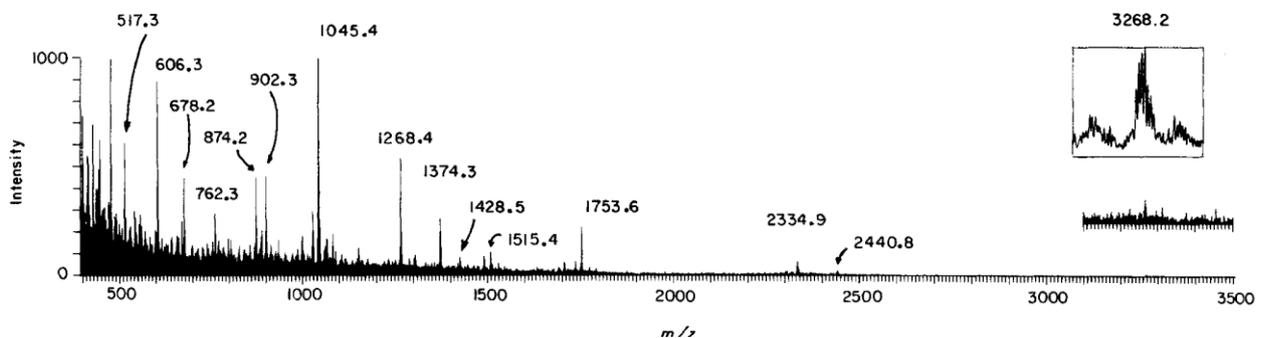


図2. BrCN 処理されたニワトリ卵白リゾチームのトリプシン消化ペプチドの正 FAB マススペクトル。括弧内は 15 回スキャンし、集積した 3,200 u のスペクトルの理論分子イオン分布との比較。Takao T et al Biomed Mass Spectrom 1984

ナルが測定されることなど、そして蛋白質を構成するペプチドの分子イオンと共に、ペプチドの配列イオンのシグナルから推定されるアミノ酸配列（部分的においても）から、この様な測定でアミノ酸配列の解析に十分に耐えることが示されるようになった。

○ 蛋白質消化物の質量（アミノ酸配列）と cDNA 塩基配列との照合

FAB-MS によって、熱に不安定な生体物質を試料プレートから直接脱着させイオンとして気化させる方法が優れていること、また測定が簡単であることから、従来から蛋白質のアミノ酸配列（一次構造）解析に使われていたエドマン分解に見られる化学分析法、GC-MS に見られる物理化学的な方法に取って代わって、FAB-MS が、特にペプチ

ドのアミノ酸配列解析に汎用されるようになっていった。

一方、K Biemann ら (Proc Nat Acad Sci USA 1980) は GC-MS にて分析した Alanine t-RNA synthetase のアミノ酸配列とそれをコードする cDNA の塩基配列から導かれたアミノ酸配列を対照することで、cDNA の塩基配列と蛋白質のアミノ酸配列を照らし合うことを報告したが、著者らは蛋白質の消化ペプチドを FAB-MS で測定し、それらと cDNA の塩基配列から予測される蛋白質のアミノ酸配列或いは EST (Expression sequence tag) と照合させ、cDNA と蛋白質の配列情報を繋ぎ合わせる方法を提案した。

筆者らは、井上正順らとの共同研究において、図に示すように、*Myxococcus xanthus* の産生す

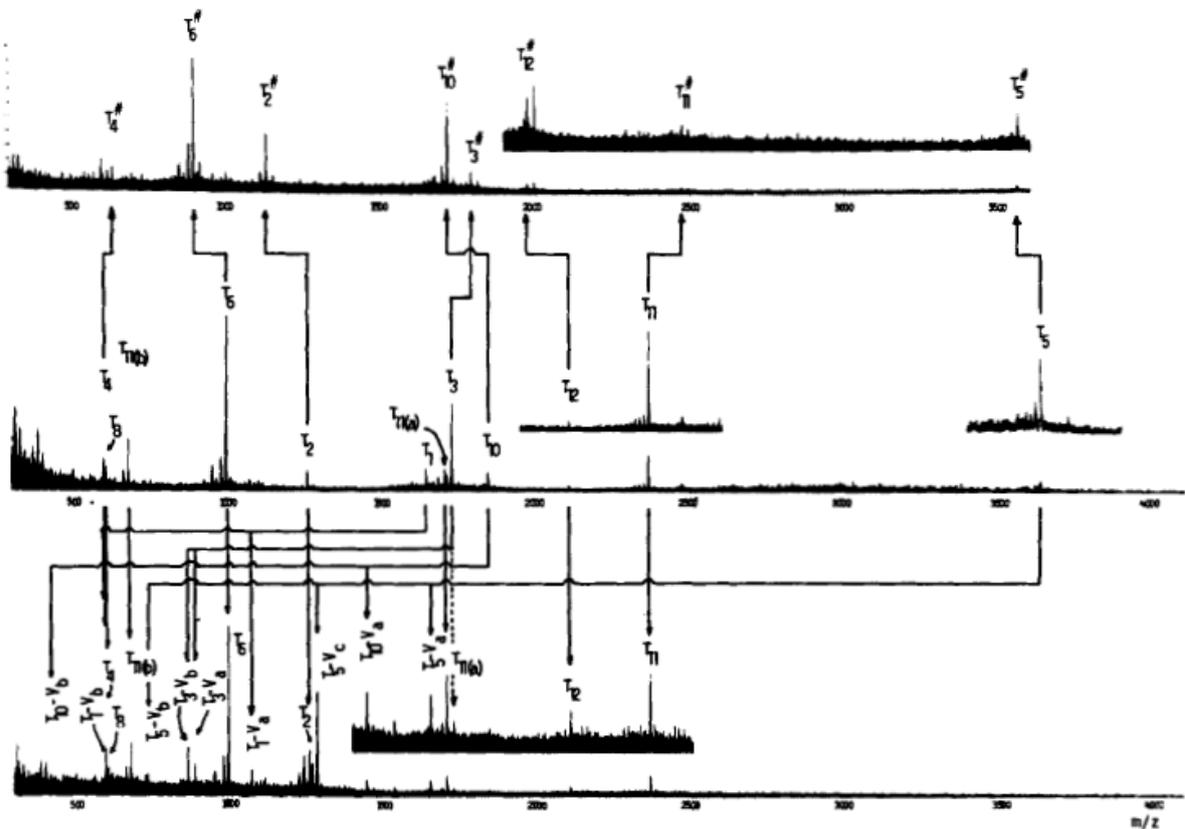


図3. *Myxococcus xanthus* の分化に特異性を示す蛋白質 Protein S の FAB 質量スペクトル；トリプシン消化物（中段）；トリプシン消化物のエドマン分解後（上段）；トリプシン消化物の *S. aureus* protease V8 消化物（下段）。Takao T et al J Bio Chem 1984

4

る protein S をトリプシンで消化した混合物を、下図に示すように、直接測定し、観測されたペプチド断片の質量と protein S (コードする cDNA が2種類見いだされていた) の cDNA から予測されるアミノ酸配列とを照合することによって、protein S をコードする cDNA を容易に見出すことを示した。

こうして、蛋白質のアミノ酸配列と DNA の cDNA 塩基配列との関係、即ち、蛋白質を構成するアミノ酸配列、或いは蛋白質を構成するペプチドの質量から推定されるアミノ酸組成と cDNA から推定されるアミノ酸配列を統合する手法が提案され、遺伝子の塩基配列と翻訳後の蛋白質のアミノ酸配列と繋がり解析する手法が開かれる時代が到来した (Hunkapiller MW et al Science 1984)。更に、EST (expression sequence tag) の塩基配列から推定されるアミノ酸配列と上記のようにして測定された蛋白質を構成する (蛋白質の消化によって得られた) ペプチドを照合することによって、蛋白質と cDNA の繋がり、即ち、蛋白質をコードする cDNA の塩基配列を読み取ることが可能となるようになり、これらの解析を容易にするバイオインフォーマティクスアルゴリズムが作成されようになっている。

一方、質量分析によって蛋白質の酵素消化物ペプチド断片のアミノ酸配列を決定する方法として、当初、著者らが蛋白質のアミノ酸配列の解析に FD-MS とエドマン分解を併用する方法を提案したが、FAB-MS においてペプチドの分子イオンのシグナルのみならず、その断片であるN末端側から、及びC末端側からの配列イオンのシグナルが観測されることから、アミノ酸配列が推定されるようになった。例えば、三重極質量分析計 (triple quadrupole mass spectrometer) によって第1の MS-1 で消化したペプチド断片を分離し、分離されたペプチドを He ガスなどと衝突させ、第2の MS-2 で断片化して生成した配列フラグメントを測定し、それらの質量からアミノ酸配列を決める、ないし推定する方法が用いられ、汎用されるようになっていった。

こうして、FD-MS に始まって1980年代に様々な生体成分を直接イオン源から脱着させて分子イオンのシグナルを観測、測定するソフトイオン化方法は、1980年代後半になって、LD-MS (Laser desorption ionization mass spectrometry; MALDI-MS, Matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry; Tanaka K et al Rapid Commun Mass Spectrom 1988) 及び ESI-MS (Electrospray ionization mass spectrometry; Fenn JB Science 1989) が提案され、分子量数万の蛋白質が測定されるようになり、上記した質量分析法による蛋白質のアミノ酸配列の解析が著しく進展することになる。

○ 網羅的な解析、プロテオーム

質量分析法による蛋白質消化物の測定が普及し、日常的に行われるようになるにつれて、細胞、あるいはそれらの様々な組織、オルガネラなどに存在する蛋白質を分離する方法として用いられていた SDS ポリアクリルアミドゲル二次元電気泳動 (PAGE) によって分離し、分離されたゲルのスポットに存在する蛋白質あるいはスポット中に存在する蛋白質を酵素 (例えば、トリプシン) によって消化し、消化されたペプチド断片を抽出し、それらを質量分析によって蛋白質のアミノ酸配列を解析する方法を、ゲノムに対応する網羅的な蛋白質のアミノ酸配列解析する方法にプロテオームという名称が提案され (Washing VC et al Electrophoresis 1995)、プロテオーム解析を基盤として細胞中など生体組織に存在する蛋白質を俯瞰的に研究する分野としてプロテオミクスが展開されるようになった。

更に、二次元電気泳動によって分離された蛋白質を質量分析計によって測定する方法と共に、高速液体クロマトグラフィー (HPLC; high-performance liquid chromatography) を質量分析計に連結させて蛋白質或いはその酵素消化ペプチドを分離しながら質量分析計に導入して蛋白質或いはその消化断片ペプチドのアミノ酸配列を決定する方法が使用されるようになっていった。こうして、現実には、細胞などの生体組織中に存在する蛋白質を網羅的に測定するプロテオームが実施され

るようになり、細胞など組織中に存在する 10,000 を越える種類の蛋白質が一連の操作で短時間に解析されるようになってきた。勿論このような分析を実行できる先端的な研究室は、現在のところ、限られているが、そこで集積されたデータを細胞の機能と関連づける、外部環境からのシグナル伝達、細胞中での蛋白質間相互作用、蛋白質複合体における個々の蛋白質間の関わり、蛋白質翻訳後修飾、蛋白質の定量など報告されるようになってきている。

この解析での課題は、ヒト血中に存在する蛋白質は多量に存在するものからごく微量しか存在しないものまでの量的なダイナミックレンジは 10^8 で、このような大きい範囲に存在する蛋白質を一度の測定によって分析するのは難しく、例えば、予め多量に存在する蛋白質、中程度の量の蛋白質、微量の蛋白質に分離し、それぞれを解析する方法を採用する必要がある。質量分析計の高性能化、蛋白質間の定量を目的とした内部標準或いは外部標準などの開発など急速な進歩にも拘わらず、ヒト血中に存在する全ての蛋白質を一度の測定、特に蛋白質間の量的関係 (Stoichiometry) を測定する方法は課題となっている。これらの分析方法を開発すると共に様々な疾病に関わるバイオマーカーとしての蛋白質を同定、発見する努力も続けられている。ダイナミックの差の大きな試料の分析には共通な新規の指標或いは外部マーカーなどの開発も必要であろう。

○ 翻訳後修飾 (Post translational modifications)

ヒト血中に存在する蛋白質の多くは糖鎖によって修飾されていることは知られているが、蛋白質はこれまでにリン酸基やメチル基、アセチル基など脂肪酸など多種、多様な化合物によって翻訳後修飾されていることが明らかにされてきている。そして、それらの蛋白質への付加、脱離が蛋白質の成熟や代謝どの生理機能に役割を果たしている。そのため、これらの翻訳後修飾の同定は細胞の機能への関与の解明、理解、そしてそれらの定

性的、定量的分析は疾病などとの関連をも知る上での基礎として欠かせない。

翻訳後修飾は、蛋白質が網羅的に且つ、相対的 (場合によっては定量的) に分析されると同時に、効果的な濃縮、精製方法、高性能質量分析装置、そして 明確なスコア戦略をもった生命情報アルゴリズムによって、単一の実験で数千の同定と定量が可能となってきている (Doll S & Burlingame AI ; ACS Chemical Biology 2015) 。その中でもリン酸化は、最もよく調べられているが、例えば、リン酸化チロシン残基は全リン酸化部位の数%を占めるのみであるが、受容体チロシンキナーゼ (PTK) リン酸化のシグナル伝達はシグナル伝達カスケードの始まりで、そして癌などの疾病に役割を果たしている(Doll S & Burlingame AI ; ACS Chemical Biology 2015)。従って、それらのシグナル伝達、定量化、局在化、機能など様々な点で理解を進める上でも質量分析を基盤とした翻訳後修飾の網羅的解析を推進することが一層重要になるであろう。

翻訳後修飾構造を決定する 1 つの例として、筆者らが質量分析法を利用して、光受容体ロドプシンとカップルして photon のシグナルを視細胞に伝える G-蛋白質 transducin の翻訳後修飾を決定した例を示す(Fukada Y et al Nature 1990) 。

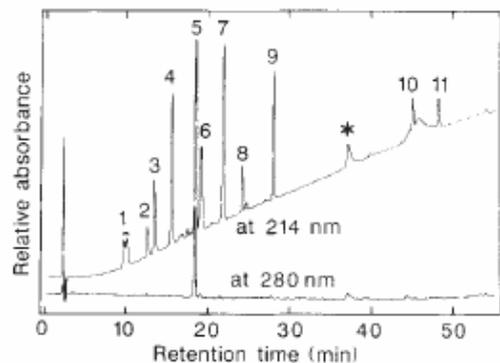


図4. transducin の 糖鎖のトリプシン消化物の HPLC ; Fukada Y et al Nature 1990.

筆者らは、transducin の γ 鎖のマスマスペクトルを直接測定し、観測された質量（図にはトリプシン消化物の HPLC を示す）とアミノ酸配列から計算される質量とを比較し、その差から翻訳後修飾の構造を推定した。そして γ 鎖の C 末端 Cys 残基がファルネシルによって修飾されていることを予測し、証明した。同様な測定によって、 α 鎖は N 末端が脂肪酸によって修飾されていることを示した (Kokame K et al Nature 1992)。このように、先に記述したように、数万を超える分子量の蛋白質を質量分析によって精密に測定できるようになったことから、質量分析で測定される分子量とアミノ酸配列から計算される分子量の差から翻訳後修飾などの構造を予測することが可能となっている。また、この発見をきっかけとして、ファルネシル基は、ゲラニルゲラニル基と共に G 蛋白質に共通する普遍的な翻訳後修飾として広く存在していることが報告されるようになった。

○ プロテオミクスの解決すべき課題。

今まで考えられなかった新しい発明によって、上記したように、蛋白質のアミノ酸配列の分析が主として使用されてきたエドマン分解法に代わって質量分析法が用いられることによって飛躍的に進展し、蛋白質の同定、定量、変異など様々な事項について莫大な解析データが蓄積され、生体組織における蛋白質の機能の基盤が明らかにされてきたことを実感しているのではないだろうか。

全く異なる手法、分析技法が開発されると、それらを展望し、今まで困難と思われてきた分野への展開を模索するようになるだろう。その事の意味は大変大きい。当初、発明が行われた時点で必ずしも予測ないし期待されていなかったが、一つ山を登れば、これまで見えなかった新しい景色が見えるようになる。

スティーブン・グールドが「マラケシュの偽化石」(早川書房)において、「大型動物の社会的行動を生物学の原子ともいべき遺伝子によって説明するのが還元論である。」 「特定の状況を支配する規則と偶発性について推論するにあたって

は、構成要素である「原子」とその基本特性に還元するのではなく、大きな物体とその相互作用全体そのものを調べねばならないことがままある。」と述べているように、個々の蛋白質を詳細に同定する還元主義的な研究、そして個々の蛋白質を総合した組織として機能の解明を目指すシステム生物学としての研究の両面を、そしてそれらに必要な解析手法や情報技術のイノベーションを推進するのもプロテオミクスの一つの方向であろう。

その方向として、Ori A ら (Genome biology 2016) らが、182 のよく解明されている蛋白質複合体の 50% 以上が空間的に時間的に変わりやすい複合体及び複合体のメンバーの可成りの重複があることを見出し、空間的な配置での量的な変化が見られることを記述している。それらは細胞内でのリズム或いは外部からのシグナルの変化に依存するのにかによるのかも知れない。それらの解析はホメオスタシスなどの詳細な状態の解明或いは疾病の課題に挑戦し、役立つ可能性も期待できる。細胞中の分子、ここでは蛋白質の還元的解析と同時に、組織全体がオーケストラとして働くための対応など個々のパーツとしての蛋白質の役割を明らかにしていくことも重要な課題であろう。

更に、今後、プロテオミクスの方向として個々の蛋白質の詳細なデータ(勿論、日々、時間によって変化するであろう)は、生活習慣病を含む疾患のデータとして、未知のバイオマーカーの発見の基盤としてのデータを構築していくことになるだろう。その方向としてパーソナル医療への取り組みはゲノム情報との整合性を含めて精度を高めていくこと、そして、最後に、プロテオミクスは、高性能化した分析装置によって得られた蛋白質の網羅的な定性、定量に関する膨大なデータを迅速に解析するアルゴリズムの進化とともに、遺伝子のデータベースとも繋ぎ合わせたプロテオゲノミクスのビッグデータを有効な使い道を見出すことも期待したい。



C. ジェノー博士夫妻（フェアバンクス大学、サヴァチカルにて滞在）の見送り（伊丹空港にて）、1983年



キューバ、国立遺伝子工学研究センター（2006年、創設20周年）にて国費研究留学生（蛋白質研究所有機化学部門にて研究に従事）と懇談



長浜バイオ大学にて学生たちと懇談

文 献

- Barber, M., Bordoli, R. S., Sedwick, R. E., and Tyler, A. N., *Nature*, 293, 270-275 (1981)
- Beckey, H. D., *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.*, 2, 55 (1969)
- Bladley, C. V., Williams, D. H., and Hanley, W. R., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 104, 1223-1230 (1982)
- Doll, S., and Burlingame, A. I., *ACS Chemical Biology*, 10, 63-71 (2015)
- Fenn, J. B., Mann, M., Meng, C. K., Wong, S. F., and Whitehouse, C. M., *Science*, 246, 64-70 (1989)
- Fukada, Y., Takao, T., Ohguro, H., Yoshizawa, T., Akino, T., and Shimonishi, Y., *Nature*, 346, 658-660 (1990)
- Herlihy, W. C., Royal, N. J., Biemann, K., Putney S. D., and Schimmel, P. R., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 77, 6531-6535 (1980)
- Hunkapiller, M. W., Strickler, J., and Wilson, K. J., *Science*, 226, 304-311 (1984)
- Kokame, K., Fukada, Y., Yoshizawa, T., Takao, T., and Shimonishi, Y., *Nature*, 359, 749-752 (1992)
- Ori, A., Iskar, M., Buczak, K., Kastritis, P., Parca, L., Andrés-Pons, A., Singer, S., Bork, P., and Beck, M., *Genome Biol.*, 17, 47 (2016)
- Shimonishi, Y., "Methods in Protein Sequence Analysis" (Elzinga, M., ed.) 271-278, Humana Press, Clifton, NJ. (1982)
- Takao, T., Hitouji, T., Shimonishi, Y., Tanabe, T., Inouye, S., and Inouye, M., *J. Biol. Chem.*, 259, 6105-6109 (1984)
- Takao, T., Yoshida, M., Hong, Y.-M., Aimoto, S., and Shimonishi, Y., *Biomed. Mass Spectrom.*, 11, 549-556 (1984)
- Tanaka, K., Waki, H., Ido, Y., Akita, S., Yoshida, Y., and Yoshida, T., *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 2, 151-153 (1988)
- Washingier, V. C., Cordwell, S. J., Cepura-Poljak, A., Yan, J. X., Gooley, A. A., Wilkins, M. R., Duncan, M. W., Hariss, R., Williams, K. L., and Humphery-Smith, I., *Electrophoresis*, 16, 1090-1094 (1995)

下西泰嗣先生ご略歴：

昭和 11 年 奈良県に生まれる。
昭和 30 年 甲陽学院高等学校卒業
昭和 34 年 大阪大学理学部化学科卒業
昭和 36 年 大阪大学大学院理学研究科有機化学専攻（修士課程）修了
昭和 39 年 大阪大学大学院理学研究科有機化学専攻（博士課程）単位取得退学
昭和 40 年 理学博士（大阪大学）
昭和 39 年 大阪大学蛋白質研究所助手
昭和 40 年 文部省在外研究員（西ドイツアーヘン工科大学）
昭和 43 年 大阪大学産業科学研究所助手
昭和 46 年 大阪大学蛋白質研究所助教授
昭和 61 年 大阪大学蛋白質研究所教授
平成 11 年 大阪大学蛋白質研究所所長
平成 12 年 同上定年退官 名誉教授
平成 15 年 長浜バイオ大学学長
平成 23 年 同上退職 名誉教授



この間

中国科学院長春応用化学研究所客員教授（平成 9 年）

モンペリエ大学客員教授（平成 14 年）

（学校法人）関西文理学園特別顧問（平成 12 年）

（学校法人）関西文理学園理事（平成 12 年）

（学校法人）関西文理総合学園理事（平成 15 年）

同上退任（平成 23 年）