日本における蛋白質の結晶解析開始の頃について

角戸正夫

Masao KAKUDO: On Early Time of X-ray Crystallographic Research of Protein in Japan

1. そのはじめ

私は、1942 年日本における唯一の有機物 X 線解析の場であった、阪大仁田 勇先生研究室を卒業した。しかし、すぐ軍に召集され、1947 年に帰国した。1948 年から工学部応用化学科の物理化学講座渡瀬武雄研究室で、当時助手の私と数名の学生グループで有機珪素化合物の構造解析と、合成高分子や蛋白質溶液の小角散乱の研究を開始した。1950 年頃、大阪大学理学部で、赤堀四郎先生がタカアミラーゼ A の、また奥貫一男先生がチトクロム c のそれぞれ精製・結晶化に成功された。私は巨大分子たる蛋白質すら美しく単結晶化するのを見て驚き、強い刺激を受け、これが私が蛋白質 X 線解析実行を密かに決意する動機となった。すぐにこれら蛋白質溶液やコラーゲンの小角散乱の実験を開始した。その後 1957 年春から 58 年秋まで、New York Brooklyn 工科大学で滞在研究を過ごした。この大学は、IUCr 創始者の一人 P. Ewald、タバコウイルスの回折で知られる I. Fankuchen、RNAse 解析の大グループを持つ D. Harker、その他多くの X 線研究者がいる米国の X 線解析の中心地であった。私自身は F. Mark 先生の高分子構造をテーマとしていたが、特に Harker らの研究室とは密接に交流していた。当時は King 博士が同型置換結晶の作成、T. Furnas 博士が GE 研から ω -2 θ scan の 3 軸型回折計を持ち込み回折測定自動化の研究を、またその他解析研究者 3 名が計算を始めていた。日本の大学にはまだなかった IBM650 computer を常用していた。とにかくこのグループの仕事のやりかたが、私の帰国後の蛋白質結晶解析の参考となった。

2. 1959 ~ 1966

帰国後すぐに、仁田、赤堀、伊勢村 3 先生から、新しく阪大にできた共同利用研究所の蛋白質研究所、物理構造研究部門へ来ないかというご推薦があった。しかも私は、58 年 1 月、Brooklyn 大学のコロキウムに招待された J. Kendrew のミオグロビンの 6 Å 分解能の分子モデルを持ち込んだ解析の話を聞いた直後であった。しかし、仁田

先生はこれはあまり重視されず、今のところ君は小角散乱研究を続けながらゆっくりやりたまえということで勧められた。仁田研からは笹田博士に来てもらうことにしたが、赤外研究グループと共同の半講座で、Harker 研とは比べるべくもなかった。

この移籍をとまどった今一つは、渡瀬先生が私の定年後は君に任せるので蛋白質の解析を自由にやりたまえとまでいわれていたことである。もしこの研究所への移籍を辞退しておれば、以下に述べる日本の初期の蛋白質解析研究の歴史は変わっていただろう。とにかく 59 年春から蛋白研へ移ったが、これで蛋白解析ができるわけではない。笹田博士と相談の上、取りあえず蛋白結晶化を進め、笹田君には Cambridge 大学へ出張してもらうこととした。この頃ケンブリッジの M. Rossman は奥貫先生のチトクロム c の解析を試みていたが結晶ができず、また CIT の R. Dickerson は馬の心筋チトクロム c 酸化型の解析を始めていた。まずこの両氏の了解をとって、私共はカツオの心筋のチトクロム c 還元型結晶とタカアミラーゼの結晶化に全力を挙げることにした。当時の生化学研究では、チトクロム c の酸化、還元両型の分子形がかなり異なるとの主張がされていたからである。

一方、解析実行の手順と研究室内部の状況は意のようには進まず、60 年代初め頃は、装置や計算機の整備、蛋白質解析の特殊なソフト開発を進めるとともに、実験としては各種アミノ酸やペプチドの解析、溶液の小角散乱の測定なども平行して行った。こうした中で、勝部、植木が構造決定に成功した G-P-L-G-P は当時としては最大のペプチドであった。

1966 年に、私は工学部石油化学科に増設された物理化学講座を創ることになり、兼任でもよいからとのことで主任教授となった。この時、笠井暢民助教授は有機金属化合物の構造を続けることとなり、関学の仁田研から安岡博士を推薦され、蛋白研の博士課程の植木博士とで研究が開始された。このグループは、当初は有機金属化合物の構造を主としたが、後には薬学部、理学部と同様に、阪大内での蛋白研以外の場での蛋白解析の場を作った。

図1 蛋白質研究所に導入された（1973年）、世界初の四軸型自動回折計／回転対陰極X線発生機システム。回転対陰極は最大60 kV, 200 mA 負荷のもので回折強度の小さいタカアミラーゼのデータ測定を目的に導入された。（Four-circle diffractometer/rotating anode X-ray generator system developed by Rigaku in cooperation with Institute for Protein Research.）

一方、赤堀研でアミラーゼ結晶を初めて見たときは1 mm 以上もあったのに、いざX線回折用の結晶を作るときには十分な大きさの結晶ができず、これは一時中止し、チトクロムcの結晶化に全力を挙げることにした。原料のカツオ心臓は、清水市の缶詰工場から解体採取後すぐ石油缶に入れて凍結し、5, 6 缶ずつ計30 缶500 Kg も大阪中央市場へ送られた。この多量の心臓をミンチにし、チトクロムcの抽出、濃縮、ソルベントの選択、さらに濃縮、結晶化、還元化の繰り返しの数年を過ごし、回折測定を始めたのはやっと66年頃であった。また、この頃までにNECのドラムメモリー電子計算機の試作機や理学電機の4軸型回折計も試作し、解析実行のメンバーの分担や使用機器の準備がほぼ整った。

3. 1966～1982年、角戸退官まで

この期間が日本での蛋白質解析の本格的活動の時期となった。前半の5年がチトクロムcの解析で、年次的に笹田、高野、芦田、田中（信）らが、また後の5年には主として松浦、楠木らがタカアミラーゼAの構造解析に従事した。チトクロムcが1971年には2.3 Åで解析が完成したが、これは蛋白の種類としては世界で7種目であった。1972年京都の国際結晶学会議で日本最初の蛋白構造の発表となった。また、阪大理学部の奥貫教授の後を継

図2 日本で初めて導入された蛋白質分子模型組み立て用リチャードボックス。全高2 mで手前の空間で真ちゅう製の単位ペプチドモデルを、45度に傾いた反鏡を透して見える背面に置かれた電子密度図にあわせてボルトナットで締め付け、全体のモデルを組み立てた。（A Richard's box with a half-mirror for model building. Whole size is 1 m × 2 m × 2 m.）

図3 リチャードボックスの半鏡に写った分子模型の一部と、背面に置かれた電子密度図の重なりを撮影したもの。（Superposition of brass models on electron density contours by using the Richard's box.）

いだ松原史教授、鳥取大学に移った勝部、月原、福山らと協力していた各種フェレドキシンの構造が、1974年以後から逐次に解析成功、最難のアミラーゼも1978年にはほぼその全構造の解析を完成した。なおこの時期の後半には多くの職員、学生がそれぞれ独立に酸化チトクロムc、植物チトクロムc、リパーゼ、リゾチーム、硫酸還元菌

からのチトクロム c_3 , などの解析を実施し, 實際上日本での蛋白解析の中心地となった。

その後, 松浦らのアミラーゼ解析のグループは, 角戸の在任中から現在もお解析の精密化を進めており, タカアミラーゼの触媒残基の同定, 基質類似体などの阻害剤との複合体の構造解析から, 基質の結合の状況や反応機構が解明された。さらにイソアミラーゼなどの類縁酵素の構造研究へと拡大している。私共が約10年かけて解析したカツオのチトクロム c に関連したものには, 月原教授らが解析したチトクロム c 酸化酵素 (分子量約40万) もある。これら世界的に評価される研究成果が出ていることを思い, 正に隔世の感がある。

私の在任中これらの研究に従事した職員と学生の氏名, その後の移動先を年代順に列記すると, 笹田義夫 (東京工大退官), 笠井暢民 (阪大工退官), 勝部幸輝 (蛋白研退官), 芦田玉一 (名大工退官), 高野常広 (摂南大), 安岡則武 (姫工大), 植木龍夫 (SPring-8), 田中信夫 (東京工大), 奥山健二 (東京農工大), 松浦良樹 (蛋白研), 甲斐泰 (阪大工), 藤原隆二 (島根大理), 月原富武 (蛋白研), 杉原耿雄 (大市工研), 山根 隆 (名大工), 田中 勲 (北大理), 福山恵一 (阪大理), 畑 安雄 (京大化研), 原田繁春 (東大薬), 楠木正巳 (蛋白研), 樋口芳樹 (京大理), 北川康行 (昭和大薬), 佐藤 衛 (横浜市大理), 三木邦夫 (京大理), 山口 宏 (関学大理), 勝矢良雄 (SPring 兵庫県専用ビームライン), 井上 豪 (阪大工) らで, すべて日本の各地で蛋白質構造の指導的研究の場を作って活躍している。さらに, 国内, 外国の大学から来られた人々が帰学されて研究を続けている。小さい研究室であった私の始めた研究が, この人達によりここまで拡大したことを私自身驚くばかりである。しかし, 今までともに協力し, その後も活躍している現状は紛れもない事実であり, 日本の蛋白質研究の開始から40年の歴史の中に書き留めておきたい。私の退官の時, 仁田先生が, 「私の最終の希望であった蛋白質解析が私の生前にここまでできて嬉しい」と言われたお言葉は, この先生から発した弟子, 孫弟子へのものであった。

話は少し戻るが, 私の阪大退官前に蛋白解析の歴史上一つの大きい発展があった。私が結晶学研究連絡委員会委員となった1966年頃から, 結晶学会として日本に結晶学研究所を設置することを学術会議に要望していた。これは, 共同利用研として大阪大学に設置すること, また内容の計画作成は私が担当することとなった。この最終案は省略するが, 学術会議で承認され, 政府へ設置勧告された。さらにこの要請の途中で, 放射線利用専用のシンクロトロン建設の要望が高まり, 私達も協力したが, 結晶学会以外の各方面の要求もあり, この案は急速に承認され, フォトンファクトリーという名で筑波に1978年に建設されることになった。一方, 研究所案は, 大阪大学

蛋白質研究所の結晶解析研究センターとして形を変えて1979年に予算が認められ, 私の定年前にこのセンターが開設されることとなった。ここには, 当時としては破格の4名の定員がつき, 大型計算機を中心とする多くのペリフェラル機器, 強力X線の4軸回折計などが設置され, 蛋白質解析にとって飛躍的に有力な設備が整った。ここへは工学部から安岡助教授が移り, チトクロム c_3 の解析など固有の研究のほか, 全国からの共同研究者の管理, 解析のための機器の測定, 種々のソフト開発など共同利用研センターとしての大きい機能を果たしてきた。

さらにここには, 我々が要求していたBrookhavenの蛋白質構造データバンク (Protein Data Bank) の日本の頒布中心としての予算がつき, 安岡らが開発した検索ソフトは, 日本中の生化学研究者や企業研究者にも恩恵を与えてきた。1979年には1500平米の建物もできて, 蛋白研究者に大きい貢献を与えてきた。

以上は, 1959年前後の日本における蛋白質解析開始の頃の経緯, および私の退官の頃まで続く研究の概要で, 蛋白質解析の歴史としては, いわば第一期の時代といえよう。

ここで, その時代の転機になると思える大きい変化を迎えることとなった。それは, 私の蛋白研時代の最終年が奇しくもフォトンファクトリーの一般公開の年となったことである。この開設の直後の年に, 阪大基礎工学部の三井利夫教授や植木龍夫助教授が主唱し, 故藤沢俊男基礎工学部長も強く応援して, 超強力シンクロトロン放射装置を関西に建設することを切望して, 関西SOR設置計画世話人会を発足させた。1984年には私がその会長となり, 研究会, 講演会, 諸官庁への運動などが大々的に始められていたのである。

この50周年記念誌にはSPring-8建設についての記述の特別の項目はないが, この科学技術庁が建設したSPring-

図4 生体超分子構造解析ビームライン (SPring-8). (A beam line of SPing-8 for structural analyses of macromolecular assemblies.)

8の超強力ビームこそ、私どもの蛋白解析の時代を第一時代とすると、第二期の時代として期待される画期的時代をもたらすであろう。我々にとって、筑波のフotonファクトリーも異常分散効果など極めて大きい貢献を与えてくれたが、この時我々が大いに期待していた超微少結晶(μm 単位)には回折測定は無理であることを、微焦点ローターX線装置による回折との比較実験によって確かめていた。もちろんこのことだけではないが、なお十桁位上も飛躍的に輝度の高いビームをという欲望からもその設置を強く切望していた。私の蛋白研退官後からすぐ始まったこの設置運動の同調者一同の真剣さは大変なものであったが、編集項目とはやや外れるのでここではこれで止めておく。ここに特に記したのは、この建設に対する設置計画世話人会がその運動について必ずしも文部省の了解を十分とらないまま進めて来たことを心配していたが、その後文部省も十分了解され、全国の蛋白質、生体物質の解析専用としてのビームライン一基の建設予算を科学研究費として蛋白研に供与されたことに感謝している。2000年4月、蛋白質研究所管理としてのこのビームラインが完成し、記念セミナーが開かれたことをこの上なく喜ぶ。蛋白質超微結晶の回折や月原教授らの巨大複合蛋白質の回折測定など、また位相問題解析への新しい方法開発など、今の段階で理論的には予想できない

新しい発想も含めて、今後このビームの利用の時代こそ、本題目の蛋白質解析開始の第一時代を継ぐ真の第二時代としての大発展を期待している。

プロフィール

角戸正夫 Masao KAKUDO

大阪大学名誉教授、姫路工業大学名誉教授

Professor Emeritus, University of Osaka; Professor Emeritus, Himeji Institute of Technology

〒659-0092 兵庫県芦屋市大原町18-18

18-18 Ohharamachi, Asiya-shi, Hyogo 659-0092, Japan

Tel. & Fax. 0797-22-7137

e-mail: kakudo@d5.dion.ne.jp

最終学歴：大阪帝国大学理学部化学科

専門分野：X線結晶学

趣味：パソコンによるX線回折の教育用グラフィックス(アニメ)のプログラム制作等

1948年大阪大学理学部助手を経て工学部応用化学科助手、1960年大阪大学蛋白質研究所教授、1978年日本結晶学会会長、日本化学会賞受賞、1982年大阪大学を退官し姫路工業大学学長、1987年姫路工業大学を退官、兵庫県顧問から県立工業技術センター所長と関西地区大学セミナーハウス理事長を併任、1991年工業技術センターを退官し県参与、1997年県退官、1999年セミナーハウス理事長退任、現在に至る。