発光クラゲの生物発光機構を探る カルシウム結合型発光蛋白質の生物発光メカニズム

近江谷克裕*

生物発光はルシフェリン(発光体)とルシフェラーゼ(その酵素)の反応による発光であり、その物質的背景は発光生物により異なっている。発光クラゲの生物発光はカルシウムイオンの結合がひき起こす生体内反応であり、発光の際に酸素やその他の補因子を必要としないきわめてユニークな特徴をもっている。このクラゲの発光システムは、どうやら反応を支えるカルシウム結合型発光蛋白質の複合構造に秘密があるようである。現在まで、蛋白質結晶構造解析による高次構造は明らかにされていないが、構造機能相関や化学発光の研究より、おぼろげながらその構造がつかまりつつある。発光蛋白質はルシフェリンにあたるセレンテラジンとルシフェラーゼにあたるアポ蛋白質が酸素分子のブリッジで結ばれた複合状態と考えられるようになった。

腔腸動物のクラゲの仲間には多くの発光種が知られている。とりわけ、その中でも研究が進んでいるのがハイドロゾア綱(*Hydrozoa*)の発光クラゲ類である。古くは18世紀中頃より研究が進められていたが、生化学的見地からこの発光生物を最初に取り扱ったのは1921年のHarvey博士の研究である。同博士の研究対象である

Aequorea, *Mitrocoma*, *Phialidium*などの種は、発光クラゲを研究する者が一度は訪れたことのあるアメリカ合衆国ワシントン州フライデーハーバー島で採取された。同博士の研究を紹介すれば、(羽根田弥太著“発光生物”の引用となるが)「*Aequorea*の辺縁部の発光部を切りとり布でしぼると光る液ができて、数時間発光した。(中略)同時に、Luciferin-Luciferase反応を調べたが陰性であった。*Aequorea*, *Mitrocoma*, *Phialidium*は塩化カルシウムで乾燥後に水を加えて再び発光は回復した」とある。さらに1939年、Anderson博士は*Aequorea*は無酸素状態でも発光するという実験結果を報告している⁽¹⁾。これらの結果は、発光クラゲの生物発光がルシフェリン・ルシフェラーゼ反応によるという常識から逸脱し、大変ユニークなシステムであるということを示している。

さて、この問題解決の糸口を見つけたのが、1962年のShimomura博士とJohnson博士の研究である。彼らは発光蛋白質エクオリン(aequorin)の精製に成功したのである^(2,3)。本稿では、1962年から今日までの発光蛋白質研究の流れを紐解き、解明されつつある発光蛋白質の発光機構を、わからない点を中心に解説したい。

The Mechanism of the Bioluminescence Reaction of Calcium-binding Photoproteins

* Yoshihiro OHMIYA, 静岡大学教育学部

発光クラゲ内で起きていること

前述したように、初めて同定された発光オワンクラゲ (*Aequorea victoria*) 由来の発光蛋白質は属名よりエウオリンと命名された。同様にオベリン (obelin)⁽⁴⁾、マイトロコーミン (mitrocomin)⁽⁵⁾、およびクリチン (clytin)⁽⁶⁾ など、発光クラゲ由来の蛋白質が同定、命名された。これら発光蛋白質はアポ蛋白質、非共有結合的に取り込まれているクロモフォアであるセレンテラジン、および分子状酸素より構成されている。発光蛋白質では酸素を加えなくても、カルシウムイオンの結合が発光をトリガーする。その結果、分子内基質セレンテラジンのセレンテラミド (酸化セレンテラジン) への酸化を、蛋白質分子自身が触媒し、青白色の光を瞬時に発し、二酸化炭素およびセレンテラミドとアポエウオリンからなる青色蛍光蛋白質 (BFP) となるのである⁽³⁾。

しかし、実際のクラゲ体内ではさらに複雑な経路で発光を行なっている。発光蛋白質による青白色のフラッシュ光はエネルギー受容蛋白質である緑色蛍光蛋白質 (GFP) を通じ緑色の発光色に変換されるのである⁽⁷⁾ (図1)。つまり、発光クラゲの緑色の生物発光は、発光蛋白質が生み出す青白色の光エネルギーを蛍光蛋白質にエネルギー移動することに起因するのである。一方、発光後の青色蛍光蛋白質 (BFP) はゲル濾過やエーテル処理で蛍光が消失し、アポ蛋白質とセレンテラミドに解離する。その後、アポ蛋白質はセレンテラジンを加えると、酸素

溶存下条件で再び発光可能な発光蛋白質に再生される⁽³⁾。発光クラゲ内ではアポ発光蛋白質遺伝子がゲノム DNA より発現、翻訳され、その後細胞内でセレンテラジンや溶存酸素と複合体を形成し、発光可能な発光蛋白質となるのであろう。

基質となるセレンテラジンとは

セレンテラジンはウミボタルなどの発光基質と共通の 3,7-ジヒドロイミダゾ [1,2-*a*] ピラジン-3-オン環を基本骨格としている。また、セレンテラジンはウミシイタケ *Renilla* やヒオドシエビ *Oplophorus* の生物発光システムにおいて、ルシフェリンそのものである⁽¹⁾。このセレンテラジンの起源に関しては、3つのアミノ酸残基から生合成される可能性が指摘されているが、未だに解明されていない⁽⁸⁾。ただし、発光クラゲ、発光エビ、発光イカや発光魚の肝臓中から発見されたとの報告もあることから、食物連鎖的に供給される可能性が大きい⁽¹⁾。今後の研究の進展が必要であらう。

一方、実験室内では、セレンテラジンはアミノピラジン誘導体とグリオキサル誘導体との酸性条件下での縮合反応により合成される。セレンテラジンやそのイミダゾピラジノン誘導体は相当数合成され、その化学的性質が明らかになっている⁽⁹⁾。一般に、イミダゾピラジノン誘導体は非プロトン性溶媒中不安定であり、酵素が存在しなくとも、溶存酸素と反応し、発光する。このように非酵

図1 ■発光クラゲ由来発光蛋白質の生物発光と再生過程および緑色蛍光蛋白質 (GFP) へのエネルギー移動

発光蛋白質はセレンテラジン (1)、アポ蛋白質、分子状酸素の複合体である。カルシウムが結合することにより生物発光が開始され、一重項励起状態のセレンテラミドが形成する。アポ蛋白質とセレンテラミドの複合状態が青色蛍光蛋白質 (BFP) である。発光は励起分子が基底状態に戻る際に起こる。セレンテラミドは BFP よりゲル濾過などで解離され、発光蛋白質に再生可能なアポ蛋白質となる。一方、発光蛋白質より生み出された光エネルギーは GFP へ移動し、緑色の光を発する。

図 2 ■ イミダゾピラジノン誘導体の発光反応

セレンテラジン(a)より、アニオン(b)が生成し、さらにペルオキシド(c)となり、続いて環化してジオキセタン中間体(d)が生成する。次に、熱分解により一重項励起状態のアミドアニオン(e)を生成、発光する。プロトン化条件下では中性アミドの一重項励起状態(f)を生成、発光する。

素存在下、主に非プロトン性溶媒中で起こる発光が化学発光であり、ルシフェラーゼやアポ蛋白質が関与する発光が生物発光である。

イミダゾピラジノン誘導体の化学発光は、図 2 中、セレンテラジン(a)7 位の NH プロトンが解離し、アニオン(b)が生成、2 位で酸素と反応、ペルオキシド(c)となり、続いて、環化してジオキセタン中間体(d)が生成する。この d の環化反応が発光種生成のキーステップとなり、この後、熱分解により一重項励起状態のアミドアニオン(e)を生成、発光する。この際、容易にプロトン化する条件下では中性アミドの一重項励起状態(f)となり発光する。

この提起された発光メカニズムは、イミダゾピラジノン誘導体の酸解離定数が水中で 7.6 と測定された点、その酸化電位が DMSO 中で 0.4 V (vs SCE) 付近である点、またこの誘導体はプロトン解離しやすく、酸素と充分反応しうることが確認され、酸素 $^{18}\text{O}_2$ を用いた場合、 ^{18}O が二酸化炭素に取り込まれ、ジオキセタン中間状態を生成する点から、その妥当性が確認されている⁽⁹⁾。しかし、これはあくまでも化学発光のメカニズムであり、実際に蛋白質上で起こる生物発光のメカニズムに対応するかどうか、検討が必要である。

発光蛋白質の発光効率は高いか？

生物発光、化学発光の光産生効率、いわゆる量子収率 (ΦL) は下記の式で表わされる。

$$\Phi L = \Phi R \times \Phi S \times \Phi F \quad (1)$$

本式によれば、発光量子収率 ΦL は発光種となる物質の生成収率 ΦR 、励起分子生成過程における一重項励起分子の生成収率 ΦS 、および発光体の一重項励起状態の蛍光量子収率 ΦF の積ということになる。セレンテラジンの生物、化学発光の量子収率はそれぞれ 0.2⁽¹⁰⁾ および 0.002⁽¹¹⁾ と測定されている。この値は発光反応の標準物質として知られるルミノールの量子収率 0.01 と比べても遜色なく、比較的高い効率をもつ発光物質といえる。では、どうして高い ΦL が得られるのであろうか。

セレンテラジンの生物、化学発光ともにセレンテラミド生成収率は高く、 ΦR は高値である。また、 ΦF は DMSO (ジメチルスルホキシド) 中において、セレンテラミドのアミドアニオンおよび中性型ともに 0.2 以上の高値である。よって、ジオキセタン中間体の熱分解により、高い ΦS 値が得られれば高い ΦL になるであろう⁽⁹⁾。ただし、単純な 1,2-ジオキセタンの熱分解反応

で、高いΦS値が得られるのかという問題がある。

この高効率化の説明として、CIEEL (chemically induced electron exchange luminescence) 機構⁽¹²⁾や電荷移動機構⁽¹³⁾が提案されている。詳しい議論は他の論文⁽¹⁴⁾にゆずるが、CIEEL機構では、ジオキセタン中間体の熱分解の際にラジカルが生じ、これらの分子間の電子移動に伴ってセレンテラミドアニオンの一重項励起分子が発光することを予想しているが、電荷移動機構では、ジオキセタン中間体の熱分解の際に遷移状態の電荷移動が起こって励起一重項状態を与えるとしている。ともに高いΦS値を説明可能であるが、どちらか一方の経路なのか、同時に両方の経路が存在するのか、それとも別の機構が存在するのか、なお検討は必要であろう。

発光蛋白質はCa結合蛋白質ファミリーの一員!!

発光蛋白質が初めて同定されたのが1962年であるが、その後20数年を経た1985年に、初めて発光蛋白質エクオリンの一次構造が、遺伝子構造より決定された⁽¹⁵⁾。さらにクリチン⁽¹⁶⁾、マイトロコーミン⁽¹⁷⁾、そしてオペリン⁽¹⁸⁾の構造が決定された。同定された4つのアポ蛋白質一次構造は当然ながら、たとえばエクオリンに対し、61.9

% (クリチン)、68.8% (マイトロコーミン)、68.8% (オペリン)と、高い相同性がある。これら蛋白質は189個のアミノ酸残基(ただし、マイトロコーミンは190個)からなる蛋白質であり、カルシウムイオン結合能をもつEFハンドモチーフを3つ有している。これは、他のルシフェラーゼにない発光蛋白質の大変ユニークな点である。なぜなら、他のカルシウム結合蛋白質は、生物発光に関わるものは皆無なのである。ただ面白いことに、ウミシイタケにはセレンテラジンと結合可能なカルシウム結合蛋白質⁽¹⁹⁾が存在するが、発光活性はなく、ウミシイタケルシフェラーゼは発光蛋白質と構造相関性が少ない蛋白質⁽²⁰⁾であった点である。つまり、構造的にみると、発光蛋白質はセレンテラジンをルシフェリンとする酵素のファミリーの一員というより、カルシウム結合蛋白質のファミリーの一員なのである。

そこで、代表的カルシウム結合蛋白質であるカルモジュリン、ウミシイタケルシフェリン結合蛋白質と発光蛋白質の一次構造を比較してみた結果⁽²¹⁾を図3に示す。発光蛋白質に存在するEFハンド構造のドメインIIおよびIIIは、代表的なカルシウム結合蛋白質であるカルモジュリンのドメインIIIおよびIVと高いアミノ酸残基の相同性を示している。一方、カルモジュリンのドメインIIに相

a:	VKLTSDFDNPRWIGRHKHMFNFDVNHNGKISLDEMVKASDIVINNL	(48)
b:	VKLRPNFDNPKWVNRHKHMFNFDLINDGDKITLDEIVSKASDDICAKL	(48)
c:	VKLTTDFDNPKWIARHKHMFNFDLINSNGQINLNEMVHKASNIICKKL	(48)
d:	VKLTPDFDNPRWIKRHKHMFDFLDINGNGKITLDEIVSKASDDICAKL	(48)
e:	PEVTASERAYH LRKMKTRMKRVDTVGDGFISREDYELIA VRIAKI	(45)
f:	ADQLTEEQ IAEFKEAFSLFDKDGDTITTKELGTVMR SL	(39)
a:	G ATPEQAKR HKDAVEAFFGGA GMKYGVETDWPAY IEGWKKLATD	(92)
b:	G ATPEQTKR HQDAVEAFFKKI GMDYGKEVEFFPAF VDGWKELANY	(92)
c:	G ATEEQTKR HQKCVEDFFGGA GLEYDKDWTWPEY IEGWKRLAKT	(92)
d:	E ATPEQTKR HQVCVEAFFRGC GMEYGKEIAEPQF LDGWKQLATS	(92)
e:	AKLSAEKAEETRQEFLLR V ADQLGLAPGVRISEAAVNATDS	(87)
f:	G QNPTEAE LQDMINEVDADGNG TIDFPEF LTMMAR	(75)
a:	ELEKYSKNQITLIRLWGDALFDIIDKDQNGAISLDEWKAYTKSDGIIQ	(142)
b:	DLKLWSQNKSLIRDWGEAVFDIFDKDGSGLSLDEWKAYGRISGICS	(142)
c:	ELERHSKNQVTILIRLWGDALFDIIDKDRNGSVSLDEWIQYTHCAGIQQ	(142)
d:	ELKKWARNEPTLIREWGDVAFDIFDKDGSGLTITLDEWKAYGKISGISP	(142)
e:	LLKMAEEKAMAVIQSLIM YDCIDTDKDGYSVSLPEFKAFLQAVGPDI	(134)
f:	KMKDTS EEE IR EA FRVFDKDGNGYISAAELRHVMTNLGEKL	(117)
a:	SSEDCEETFRVCDIDESGQDLVDDEMTRQHLGFWYTMDPACEKLYGGAVP	(189)
b:	SDEDAEKTFFKHCPLDNSGKLDVDEMTRQHLGFWYTLDPNADGLYGNFVP	(189)
c:	SRGQCEATFHAHCDLSDGKLDVDEMTRQHLGFWYSVDPTCEGLYGAVPY	(190)
d:	SQEDCEATFRHCDLSDSGDLVDDEMTRQHLGFWYTLDPEADGLYGNVP	(189)
e:	TDDKAITCFNTLDFNKNNGGISRDEFLVTV NDFFLGLLEETALANAFYGDLL	(184)
f:	TDEEVDEMIREADIDGDGQVNYEEFVQMMTAK	(148)

図3 ■発光蛋白質、カルモジュリン、ウミシイタケルシフェリン結合蛋白質の一次構造の比較

a: アポエクオリン(pAQ440), b: アポクリチン(pCL41), c: アポマイトロコーミン(pMII7), d: アポオペリン(pOLI01), e: ウミシイタケルシフェリン結合蛋白質, f: ヒト カルモジュリン。蛋白質中のカルシウム結合部位(EFハンド構造)を下線で示す。

当する部分は発光蛋白質にもウミシイタケルシフェリン結合蛋白質にも存在しておらず、また発光蛋白質ではC末端側が長いなど、一見してその特徴を読みとることができる。また、アミノ酸残基の存在比率を比較してみると、他のカルシウム結合蛋白質に比べ、His 残基(4~8個)や Trp 残基(6 個)が非常に多いことなどが明らかである。

現在まで、発光蛋白質の活性発現メカニズムは、上記の構造的な特徴より論じられてきた経緯がある。そこで、いくつか明らかになった点を列挙しよう。EF ハンドの各ドメインの6番目にあたる Gly 残基を Arg 残基にした場合、ドメインⅢの変異体のみ活性発現の低下がみられず、このドメインがカルシウム結合部位として、活性発現に関与しない可能性が指摘されている⁽²²⁾。一方、C末端の Pro 残基を1個削除したエクオリンやマイトロコーミン変異体では生物発光が激減するので、このC末端の Pro 残基が発光に重要である点が指摘されている。たった1個のアミノ酸残基が活性発現に重要であることは特筆すべきことであるが、この末端 Pro 残基が蛋白質の安定性に寄与するのか、セレンテラジンや酸素分子の再構成に必須であるのか、その機能は不明のままである⁽²³⁾。さらに、エクオリンの His 残基および Trp 残基を、それぞれ Ala 残基や Phe 残基などに置換した変異体では、His-16, His-58, His-169, Trp-108, および Trp-173 の変異体で顕著な発光活性の低下がみられる各変異体を比較した結果、His-16, Trp-108, および Trp-173 の変異体では二次構造の変化に起因する活性低下の可能性が考えられている。一方、His-58 および His-169 については、構造変化が原因でなく、活性発現に直接関与する可能性が指摘されている^(24,25)。しかし、高次構造解析の証明がないのが現状である。

発光蛋白質の複合構造を探る

発光蛋白質は無酸素状態でもカルシウムイオンの結合により瞬間的に発光することから、アポ蛋白質、セレンテラジンおよび酸素分子からなる高エネルギー状態が、非常に安定に保たれている複合体であると考えられる。この高次構造は当然興味深いものであるが、現在までエクオリンの結晶化に成功したという論文⁽²⁶⁾はあっても、構造が解明されたという報告はない。一方、4種類のカルシウム結合蛋白質の高次構造を基に、オペリンの構造モデルとして、セレンテラジンが蛋白質の疎水コアにコンパクトに収まる高次構造が提案されている⁽²⁷⁾。やはり、早急に結晶化、高次構造解析は必要であろう。

図 4 ■ 発光蛋白質の空間的な相互関係模式図

複合体におけるアポ蛋白質、セレンテラジンと酸素分子の空間的配置および予想される分子間力を図示した。

さて、この複合構造の最も大きな問題が、アポ蛋白質、セレンテラジン、酸素分子の空間的な関係であろう。図4に、筆者のグループが考える発光蛋白質の空間的な相互関係を模式的に示した。いくつかのポイントを論じよう。

第一に、酸素分子はどこに存在するかである。エクオリンの亜硫酸水素ナトリウム処理によって単離された不安定な黄色化合物が2-ヒドロキシセレンテラジンと決定され、蛋白質内セレンテラジン構造が2位-ペルオキシドであるという説が提案されていたが、セレンテラジンやその類縁体の NMR 測定より確認されている⁽⁹⁾。

第二に、2位-ペルオキシドセレンテラジンのドナー残基が存在するか否かである。アポエクオリンを His 残基特異的修飾剤であるジエチルポリカーボネート (DEPC) により化学修飾した場合、発光可能なエクオリンには再生されないが、エクオリンを化学修飾しても発光活性に影響が少ないという結果は、ドナー残基としての His 残基の可能性を示唆している。さらに、His-58, および His-169 残基特異的変異体における著しい活性低下が、この可能性を支持していると思われる⁽²⁵⁾。His-58, および His-169 の空間配置の決定がその答えになるであろう。

第三に、セレンテラジンの各置換基とアポ蛋白質の関係である。セレンテラジンはウミボタルシフェリンと同様、イミダゾピラジノン環を有するが、その側鎖は2位が4-ヒドロキシフェニルメチル基、6位が4-ヒドロキシフェニル基、8位がベンジル基である。問題は、これら側鎖が複合体形成において精密に認識されるかどうかである。この場合、セレンテラジン類縁体の生物発光活性が

らせレンテラジン側鎖の立体効果が、複合体形成に影響するか、発光反応過程に直接影響するかを区別することは難しいように思える。しかし、以下の点は確認できたと思われる。

すなわち、2 位に関してはベンジル基では活性が保持されるが、シクロヘキシルメチル基では大きく発光活性が低下することから、4-ヒドロキシフェニルメチル基の平面なベンゼン環とアポ蛋白質との間に疎水的相互作用が存在する点、6 位に関しては4-メトキシフェニル基や3-ヒドロキシフェニル基置換体では発光活性が消失することから、6 位フェニル基上の水酸基はアポ蛋白質との間に静電的相互作用が存在する点、さらに8 位に関してはアドマンチルメチル基などに置換しても活性は保持されるが、メチル基では活性が消失することから、何らかの立体認識は存在する可能性がある点などである⁽⁹⁾。

では、発光蛋白質内で何が起きているのか？

発光蛋白質による発光は、その最大の特色でもあるカルシウムイオンの特異的結合によって引き起こされる生物発光である。発光蛋白質分子のカルシウム結合部位にカルシウムイオンが結合すると、高次構造に変化が起こり、酸素添加酵素となり、分子内酸素によるセレンテラジン酸化を触媒する。この発光反応では、酸素酸化によりセレンテラジンはジオキセタン構造を有する高エネルギー中間体を形成し、これが脱炭酸反応より励起状態のセレンテラミドを生成し、この励起エネルギーが光エネルギーとして瞬時に発せられる。一見、わかってしまったように思える生体反応であるが、本当であろうか？

セレンテラジンの量子収率が0.002(DMSO中)に対し、エクオリンが0.2である点を考慮すれば、発光蛋白質内で発光反応がきわめて効率よく行なわれていることが容易に理解できるであろうが、これは生物発光が化学発光と同一反応機構か否かという問題の解決をより難しくしているようである。また、*in vitro* でこの反応をみた場合、発光蛋白質にカルシウム添加直後、瞬間発光が確認され、数秒間で反応は収束することは明らかであるが、個々の反応がどのレベルの時間オーダーであるか解明されていない。一方、カルシウムイオンの結合部位は3つ存在するが、有効なカルシウムイオンは少なくとも3つは必要でないことは明らかである⁽²⁸⁾。ただ、1個目のカルシウムイオンの結合で反応が始まるかどうかは不明である。発光蛋白質にカルシウムイオンが結合して生物発光する反応の動的過程の解析が必要であろう。

一方、エクオリン変異体において、Trp-86をPhe残

基に置換した場合、発光色が変化するという結果⁽²⁴⁾が得られている。この残基が発光活性部位周辺に配位することが明らかになったわけであるが、問題は、どうして発光色は変化するのか、つまり生物発光時の発光種である一重項励起セレンテラミド構造の特定である。発光蛋白質の生物発光における発光種は通常465 nmであるが、400 nmの発光種が変異体で生成したわけである。現時点で465 nmの発光はフェノレートイオン、400 nmの発光は中性種への帰属⁽⁹⁾という考えを支持したいが、化学発光のアミドアニオンの生成が、生物発光では起こりにくいことの説明は必要であろう。発光蛋白質内で何が起きているのか、不明な点はたくさんある。

発光蛋白質は生命科学の先端ツールの一つ

高感度カルシウムイオン検出系として有名な発光蛋白質であるが、その使用法は90年代に入り大きく様変わりしたようである。これは、現代生命科学では、物質に裏打ちされた生物学の重要性が認識され、細胞1個あるいは細胞内の特定の部位レベルでの生体情報測定的重要性が増したためである。そのため、生体情報を直接的あるいは間接的に観測するバイオイメージングが脚光を浴びている。

その背景のもと、従来、発光蛋白質を細胞内に封入後、細胞内でのカルシウムイオン量の変化を測定する方法が採られ、シグマ社製の天然エクオリンより筋肉細胞などでのカルシウムイオンの変動が測定されてきた⁽²⁹⁾。しかし最近では、アポ発光蛋白質遺伝子を直接細胞導入・発現させ、その後、基質であるセレンテラジンを加え、細胞内で発光可能な発光蛋白質に再生させ、カルシウムイオン含量の変動を測定する方法が採られている。その結果、たとえばアポエクオリン遺伝子を酵母細胞に導入して細胞内カルシウム量をリアルタイムに測定する系⁽³⁰⁾や、ミトコンドリア移送シグナルペプチド配列をアポエクオリンに付加させた遺伝子を作製して細胞内ミトコンドリア特異的カルシウムイオンの変動を測定する系⁽³¹⁾などが構築されている。発光蛋白質のN末端はC末端に比べ、他のドメインの付加が可能である。そのため、発光蛋白質では分子デザインの可能性が大きく、今後さらにその用途は広がるであろうと予想される。

*

発光クラゲ由来発光蛋白質の発光機構は明らかになりつつあることは確かであるが、逆にわからない点も増えてきたようである。一つの解答は、発光蛋白質の高次構

造解析解明にあるが、それだけでは解決し得ない点もあることは、本稿を読んだ方ならば理解していただけたと思う。当然のことながら、化学的、生物学的アプローチの延長線上にその答えはある。

文献

- 1) 羽根田弥太：“発光生物”，恒星社厚生閣，1985。
- 2) O. Shimomura, F.H. Johnson & Y. Saiga : *J. Cell. Comp. Physiol.*, **59**, 223 (1962).
- 3) F.H. Johnson & O. Shimomura : *Methods Enzymol.*, **57**, 271 (1978).
- 4) O. Shimomura, F.H. Johnson & Y. Saiga : *J. Cell. Comp. Physiol.*, **62**, 1 (1963).
- 5) P.J. Herring : *Mar. Biol.*, **53**, 223 (1979).
- 6) O. Shimomura, F.H. Johnson & Y. Saiga : *J. Cell. Comp. Physiol.*, **62**, 9 (1963).
- 7) H. Moris, O. Shimomura, F.H. Johnson & J. Winant : *Biochemistry*, **13**, 2656 (1974).
- 8) F. McCapra & M.J. Manning : *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 467 (1973).
- 9) 平野 誉, 大橋 守 : 有機合成化学会誌, **54**, 596 (1996).
- 10) O. Shimomura & F.H. Johnson : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **44**, 340 (1971).
- 11) K. Teranishi, K. Ueda, H. Nakao, M. Hisamatsu & T. Yamada : *Tetrahedron Lett.*, **35**, 8181 (1994).
- 12) F. McCapra : *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 946 (1977).
- 13) F. McCapra : *J. Photochem. Photobiol. A Chem.*, **51**, 21 (1990).
- 14) Y. Ohmiya & T. Hirano : *Chemistry & Biology*, **3**, 337 (1996).
- 15) S. Inouye, M. Noguchi, Y. Sakaki, Y. Takagi, T. Miyata, S. Iwanaga, T. Miyata & F.I. Tsuji : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **82**, 3154 (1985).
- 16) S. Inouye & F.I. Tsuji : *FEBS Lett.*, **315**, 343 (1993).
- 17) T.F. Fagan, Y. Ohmiya, J.R. Blinks, S. Inouye & F.I. Tsuji : *FEBS Lett.*, **333**, 301 (1993).
- 18) B.A. Illarionov, V.S. Bondar, V.A. Illarionova & E.S. Vysotski : *Gene*, **153**, 273 (1995).
- 19) S. Kumar, M. Marrylock, K.A. Walsh, M.J. Cormier & H. Charbonneau : *FEBS Lett.*, **268**, 287 (1990).
- 20) W.W. Lorenz, R.O. McCann, M. Longiaru & M.J. Cormier : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88**, 4438 (1991).
- 21) F.I. Tsuji, Y. Ohmiya, T.F. Fagan, H. Toh & S. Inouye : *Photochem. Photobiol.*, **62**, 657 (1995).
- 22) F.I. Tsuji, S. Inouye, T. Goto & Y. Sakaki : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **83**, 8107 (1986).
- 23) M. Nomura, S. Inouye, Y. Ohmiya & F.I. Tsuji : *FEBS Lett.*, **295**, 63 (1991).
- 24) Y. Ohmiya, M. Ohashi & F.I. Tsuji : *FEBS Lett.*, **301**, 197 (1992).
- 25) Y. Ohmiya & F.I. Tsuji : *FEBS Lett.*, **320**, 267 (1993).
- 26) L.I. Hannick, D.C. Prasher, L.W. Schultz, J.R. Deschamps & K.B. Ward : *Proteins*, **15**, 103 (1993).
- 27) S. Tatyana : “Protein Folds—A Distance-based Approach”, CRC Press Inc., 1995, p. 308.
- 28) O. Shimomura : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **211**, 359 (1995).
- 29) J.R. Blinks, F.G. Prendergast & D.G. Allen : *Pharmacol. Rev.*, **28**, 1 (1976).
- 30) J. Nakajima-Shimada, H. Iida, F.I. Tsuji & Y. Anraku : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88**, 9046 (1991).
- 31) R. Rizzuto, W.M. Simpson, M. Brini & T. Pozzan : *Nature*, **358**, 325 (1992).

プロフィール

島田 昌一 (Shoichi Shimada) 昭和35年4月17日生<略歴>昭和61年大阪大学医学部医学科卒業/63年同医学部助手/平成6年同講師/8年同助教授、現在にいたる<研究テーマと抱負>神経系におけるトランスポーターの解析、感覚器に特異的に発現する遺伝子の解析<趣味>尺八

下山田 真 (Makoto Shimoyamada) 昭和38年5月23日生<略歴>昭和61年東北大学農学部食糧化学科卒業/平成3年同大学大学院農学研究科博士課程修了/同年岐阜大学農学部助手、現在にいたる<研究テーマと抱負>「食品成分の相互作用を介した機能発現」と「低温下における食品の物性変化」の2本立でがんばっています<趣味>将棋, スキー, 旅行

杉山 政則 (Masanori Sugiyama) 昭和25年10月1日生<略歴>昭和49年広島大学工学部醸酵工学科卒業/51年同大学大学院工学研究科修士課程修了/同年同工学部助手/62~63年パリ・パスツール研究所生物工学部門研究員/平成元年広島大学医学部助教授/4年同教授、現在にいたる。この間、平成2年日本醸酵学会(現日本生物工学会)斎藤賞受賞<研究テーマと抱負>肝癌細胞増殖に関わる細胞内シグナル伝達機構、抗生物質合成および耐性の分子生物学、抗癌剤結合蛋白質のX線結晶構造解析など<趣味>シャンソン, クラシックなどの音楽鑑賞

鈴木 昭憲 (Akinori Suzuki) Vol. 35, No.3, p.233 参照

田中 伸和 (Nobukazu Tanaka) 昭和32年3月23日生<略歴>昭和55年名古屋大学理学部生物学科卒業/62年同大学大学院農学研究科博士後期課程修了(農博)/同年ダイセル化学工業(株)入社、総合研究所勤務/平成6年広島大学遺伝子実験施設助手/8年同助教授、現在にいたる<研究テーマと抱負>rol遺伝子とオーキシン・シグナル・伝達系との関係を解明したい。植物のプロト・オンコジーンを探したい<趣味>お笑い観賞(爆笑問題注目中), ドワーフ・ハムスター飼育

茅野 充男 (Mitsuo Chino) Vol. 30, No. 5, p. 299 参照