

タンパク質および核酸の生合成研究

東北福祉大学 志村 憲助

はじめに

生体物質の生合成反応は、生物生産を基本とする農業にとってきわめて重要な意義を持つものである。ところが意外にも、第二次大戦終了時点の1945年ごろでは、タンパク質、核酸、糖質、脂質など重要な生体成分が、生体内でどのような機構によって合成されているかについては、ほとんど明らかでなかった。それまでの生物化学分野の研究は、低分子化合物を中心にした生体成分の分析的な研究が大半を占め、一方体内代謝に関しては、いわゆる消化・吸収・排泄という物質の分解方向の研究が主流であった。生合成の研究が本格的に動きはじめ成果が現れ出したのは1950年に入ってからである。

本節は、生合成という観点から、農芸化学分野で行われてきた研究を概観しようとするものである。しかし、多くの生体成分について触れることは紙面の関係で難しいので、ここでは、筆者の研究領域であるタンパク質、核酸およびアミノ酸の生合成を中心に戦後から現在までに至る研究の進展の様子についてまとめたことをご了承いただきたい。タンパク質・核酸の生合成に焦点を絞ったもう一つの理由は、この分野の研究が急速に進展し、近代生物化学の新しい学問領域（分子生物学）を形成するに至ったからである。また、アミノ酸の生合成研究は、わが国の農芸化学分野の研究者を中心に顕著な進展を遂げ、アミノ酸醗酵と呼ばれるようになった独創的な応用分野へと発展したのである。これらの研究は、いずれも今日のバイオテクノロジーの基礎として重要な役を担っているが、農芸化学分野ではかなり早い時期からすでにその芽生えがあり多くの研究者によって育成されてきたことを指摘しておきたい。

I. 戦後期の思い出

敗戦直後の日本が直面した最大の難関は、食糧自給事情の極端な悪化であった。米軍が配給してくれた玉蜀黍

と脱脂大豆で国民はかろうじて命をつないでいた。その屈辱のなかで、一日も早く日本の食糧自給体制を取りもどし自立したいという願いが強くなっていったのも当然である。農地改革による新しい農業政策の出発と相まって、農学分野の研究開発に各方面から多くの期待が寄せられた。筆者はこのような大きな変革期に大学院生として学び、専門分野としてタンパク質を、具体的な研究課題としてその生合成機構の解明を選んだ。また、当時の日本人の食糧の実体から憂慮されたことの一つは、米食を主体にした食物中のタンパク質の不足、さらに、タンパク質の質の問題であった。必須アミノ酸を工業的に生産し、栄養改善に役立たせることはできないであろうか？ この問題をもう一つの筆者の研究課題として取り上げた。当時はビタミンをはじめとし天然化合物を有機化学的に合成しようとする考え方が主流であったが、筆者は、有機合成の能力を越えた領域に、生合成の新しい活躍の場が開けるのではないかと期待した。

筆者がタンパク質生合成研究を始めた1948年ごろは、タンパク質はアミノ酸から作られるであろうという以上に何も知られていなかった。さらにタンパク質そのものの構造も、ごく一部の繊維状タンパク質以外は全く不明であった。種々の条件を考慮して、筆者らは、カイコの絹糸腺でのフィブリン合成系を研究材料に選んだ。絹糸腺では1種類のタンパク質のみが特異的に高い活性で合成され、生成するフィブリンの構造がある程度推定されていたなどの利点は魅力的であった。その時点では、米国で H. Borsook が網赤血球を使用して、放射性アミノ酸のヘモグロビンへの取り込み実験を進めていた。しかし日本では放射性化合物は入手が禁止されており、ATP でさえも自分で動物筋肉から調製して使用するという状態で、わが国の研究環境は貧困そのものであった。それにもかかわらず、研究者の研究意欲は寝食も忘れんばかりで、老教授も若手の大学院生も、むさぼ

るようにして研究に熱中し実験を楽しんだ。戦争からの開放の喜びがそうさせたのであろう。戦前戦後を通じて日本の研究者がもっとも生き生きと活動した一時期であったと、今あらためて懐かしく思い返される。その代表的な象徴が、生物科学領域では“酵素化学シンポジウム”といえよう。明治以来の学界のセクショナリズムの壁を打ち破って、新しい生物科学を樹立させようと、理、医、農、薬の各分野の有志が集合して自然発生的に生まれたシンポジウムであった。第1回の集りは東大理学部で1948年7月の暑い盛りに開かれた。世話人代表として農芸化学からは坂口謹一郎先生が参画されていた。「酵素とは何ぞや」といった素朴な質問まで飛び出す赤裸々な雰囲気、このシンポジウムは、その後の日本の生物科学の発展に対し大きな原動力となった。タンパク質の生合成に関連したものとしては、動物系では筆者らの絹タンパク質の生合成、微生物系として須田正己氏ら（阪大微研）の適応酵素の生成、福本寿一郎氏（大阪市大工）らのアミラーゼおよびプロテアーゼの生産などが、このシンポジウムの初期に登場した研究であった。

1950年ごろになると、戦後の混乱期もようやく峠を越し、大学などの研究も軌道にのり始めた。放射性同位元素の輸入が解禁となり、日本の生物科学研究は新しい時代を迎えた。筆者らも早速 $Ba^{14}CO_2$ を購入して、おそるおそる ^{14}C -グリシンを合成し、絹糸腺系でのフィブリンへの取込み実験を始めた。そのときのガイガーカウンターの音が今でも耳に残っている思いである。しかし、当時の放射能に対する周囲の人々の警戒心は大学内でさえも相当厳しく、いろいろと困難な場面も経験させられた。放射性同位元素の取扱い規定が制定されたのは、それからしばらく後のことであった。

フィブリン合成の無細胞系を確立しようとあれこれ試行錯誤を繰り返していたある日、Hoagland 氏ら (1955) のラット肝でのアミノ酸活性化反応の報告に接した。そのときに受けた強烈な印象は、私にとっては生涯忘れることができない。それまで未知のペールに包まれていたタンパク質生合成研究に、夜明けを知らせる光が見え始めたのである。続いて sRNA (tRNA) の発見、タンパク質合成の場としてのリボソームの登場と、タンパク質生合成研究はせきを切った奔流のように新しい領域へと流れ出した。筆者らも、その激しい流れのなかに巻き込まれながらも、研究の独自性に心がけた。タンパク質生合成研究は、このようにして真核生物系が先行し、やや遅れて大腸菌を中心とした前核生物系が急速に広まり、次の興隆期へと移行した。

一方、アミノ酸生合成研究もその先駆的な実験が行われており、農芸化学分野では二つの流れが芽を出した。一つは、調味料としてグルタミン酸を微生物によって生産しようとするもので、グルタミン酸醗酵の初期の研究である。これについては本誌Ⅲに詳しく記述されているのでここでは割愛する。もう一つの流れは、必須アミノ酸の工業的生産を目的とした研究である。ここには、食糧不足時代での栄養補強という背景があった。筆者らは後者の立場をとり、アミノ酸として、日本人の食生活において不足が心配されていた L-スレオニン、ついで L-リジンを取り上げた。当時は L-スレオニンの生合成経路は不明であったので、まずその解明から始め、アスパラギン酸からホモセリン、ホスホ・ホモセリンを経てスレオニンが合成されることを明らかにした (1956)。そのころから各種アミノ酸の生合成経路の研究が世界的に盛んになり、ほとんどのアミノ酸の生成経路はこのころまでに解明された。代謝調節機構の一つとして重要な“フィードバック阻害”の現象が Umbarger (1956) によって発見されたのもこのころであった。しかも彼の最初の観察は、L-スレオニン脱アミノ酵素の L-イソロイシンによる阻害ということで、筆者にはとくに感銘深く思い出されるのである。それから3年後に、筆者らが偶然発見したイソロイシン醗酵の機構が、スレオニン脱アミノ酵素のフィードバック阻害と密接に関係しているとは、そのときにはまったく気づかなかった。

II. 高度成長期の状況

1960年池田内閣の誕生を契機にして、わが国の経済はいわゆる高度成長期へと進んでいく。このころから“molecular biology”の言葉が国際的に使われるようになった。タンパク質および核酸の構造研究と生合成研究を中軸にして急速に発展してきた新しい生物科学の領域を指したものである。生物化学というのは、本来分子 (=化学) レベルで生物現象を解明しようとしてきた学問領域であるから、いまさら分子などという言葉を持ち出さなくてもという声も当時はかなり聞かれた。しかし実際には、国際的にも国内的にも molecular biology の名称とその包含する学問領域の理解は次第に定着していった。

さて1960年代が進むにつれ、タンパク質および核酸の生合成研究は一段と進展し、とくに前核生物系の研究が顕著であった。丸尾文治氏ら (東大応微研) は、*B. subtilis* でのアミラーゼの生成・分泌について研究を始めた。また、同研究グループの一人で米国に渡った野村真康氏 (ウィスコンシン大) は、リボソームを中心に多

彩な研究を展開した。水島昭二氏(名大農)はその共同研究者として大腸菌リボソームの30Sサブユニットの再構成に成功した。画期的な成果として高く評価されている。

1960年代後半に入ると、タンパク質合成反応は、開始反応、伸長反応、終止反応に分別整理され、研究陣もそれぞれ分業化が進んだ。筆者らは、伸長反応に焦点を絞って研究を進めた。フィブリン合成系で3種のタンパク質因子が伸長反応に必要なことを初めて明らかにした。Lipmannら(1966)によって大腸菌で分離された3種の伸長因子に基本的にはそれぞれ対応するもので、伸長反応の普遍性が明らかになった。しかし、後述するように、真核生物の伸長因子は前核生物よりはより複雑な系を構成していることがその後明らかになり、この研究はなお進展を続けている。

tRNAが発見されて間もなく、絹糸腺中のtRNAのアミノ酸受容活性と絹タンパク質のアミノ酸組成との間に対応関係が存在することが見出された。生物としては当然のことにように思えるが、実はこのような関係がはっきりと観察される組織はきわめて少なく、これまでのところ絹糸腺がもっとも明確な組織とされている。この事実は広く興味を呼び、日本をはじめ、米国、フランス、カナダなどいくつかの研究チームがこの問題の研究を展開した。遺伝情報の特異的発現、tRNA前駆体のプロセッシングなど詳細な研究が進められ、tRNA生合成研究の先駆的な役割を果たした。

フィブリンのアミノ酸組成の特徴から、そのmRNAもきわめて特異性の高いものと推定され、すでに1950年代の終りごろから筆者らも含めてフィブリンmRNAの単離が再三試みられたが成功までには至らなかった。1972年米国のカーネギー発生学研究所のBrownの研究室で、鈴木義昭氏(基礎生物研)によってフィブリンmRNAが単離された。純度の高い標品として単離された最初のmRNAがフィブリンmRNAであったことは、筆者らにとってはとくに感慨深いものがあった。

分子生物学領域の研究が進展するなかで、安藤忠彦氏(理研)によって発見(1965)されたヌクレアーゼS1は、タンパク質および核酸の生合成研究に広く利用され役立っている。S1は真核生物(麴菌)から最初に分離されたDNA上の特定部位を認識して働くエンドヌクレアーゼで、1本鎖DNAおよび1本鎖RNAに作用する。DNAの構造と機能の解析、組換えDNAの作製など、遺伝子操作技術に欠くことのできない有用な酵素である。

1960年前後から、いわゆるアミノ酸醗酵の技術が日本で誕生し、農芸化学の新しい領域が開かれようとしていた。前節でも述べたように、そのころ筆者らはスレオニン生合成代謝系を追究していたので、醗酵法によるスレオニン生産を目的として、当時東北大学農学部の植村定治郎氏らと共同研究を行った。スレオニンの前駆体となりそうな種々の化合物を培地に添加していたある日、 α -アミノ酪酸添加によって、目的としたスレオニンではなくL-イソロイシンが蓄積することを見出した。この偶然の発見は、間もなく日本のいくつかの企業によってイソロイシン醗酵として実用化され、純品の生産がもっとも困難と思われていたL-イソロイシンが、意外にもアミノ酸醗酵の早い時期に生産されるようになった。一般に必須アミノ酸類の生合成代謝系には、二重三重の代謝制御の網がかかけられているので、特定のアミノ酸を高濃度に蓄積させるのは容易でないが、上記の実験はその障壁を乗り越える方法を示したもので、以後のアミノ酸醗酵研究に指針を与えた。

このようにして、グルタミン酸から始まったアミノ酸醗酵はたちまちのうちにその他のアミノ酸に広がり、農芸化学関連の企業はこの分野に積極的に進出した。それぞれのアミノ酸に適した生産方法が考案され、アミノ酸醗酵は質量ともに世界に誇りうる工業へと発展した。

III. 最近の状況

1970年代に入ると、タンパク質合成研究の趨勢は再び真核生物系に向きを変じた。生物科学分野の研究者の興味が、より高次の生命現象の解明に向けられ始めたのである。筆者らは引き続き絹糸腺系で研究を進めてきたが、フィブリンが大小2本のペプチド鎖(H鎖およびL鎖)からなることを明らかにし、新たにL鎖のmRNAを単離した(1982)。H鎖およびL鎖の遺伝子はそれぞれ別個の染色体に所属し(1984)、両鎖遺伝子の同調的情報発現の機構解析へと研究は進んでいる。また、L鎖はフィブリンの分泌機構に関与することが明らかとなり、その機能の分子論的解明に研究の焦点が移った。一方、水野重樹氏ら(東北大農)は、後部絹糸腺より調製したフィブリンH鎖遺伝子のヌクレアーゼ感受性と転写活性との間に明らかな関連性が存在することを実証し、クロマチン構造と特異的情報発現との関係を追究する実験系を確立した。今後の進展が期待される。

真核細胞でのタンパク質合成の伸長反応に必要な伸長因子に関して、江尻慎一郎氏ら(岩手大農)は独自の研究を展開している。伸長因子1は高分子量(EF-1_H)の形で存在し、動物(カイコ)と植物(小麦胚芽)とも

に4種のサブユニット (α , β , β' , γ) から構成されていること、さらに β のリン酸化反応が活性調節に密接に関与することなど、重要な新事実を発見し注目されている。

最近千葉英雄氏ら(京大農)は、乳腺での乳タンパク質の生合成研究を進めている。タンパク質生合成を生理学的側面から追究する系として興味深い。乳タンパク質、とくにカゼイン類の前駆体からのプロセッシング反応(リン酸化、糖鎖の付加など)による成熟過程とカゼインミセル形成との関係、ホルモン作用によるカゼイン生合成の調節、グルココルチコイド-レセプター複合体によるカゼイン mRNA 生合成促進機構の解析、カゼイン遺伝子の微生物系への導入など多彩な研究が展開されている。

植物でのタンパク質生合成研究では、深沢親房氏(食総研)、森友彦氏(京大食研)らにより、大豆などの種子貯蔵タンパク質の生合成が分子レベルで進められている。大豆種子の登熟過程におけるタンパク質顆粒中の7Sおよび11Sグロブリンの変動の解析、mRNAの単離と無細胞系での大豆タンパク質の生合成、サブユニットタンパク質遺伝子構造の解析など、大豆タンパク質生合成をめぐる基本的な実験が集積されてきた。これらの成果が、種子タンパク質の品質の改良、生産量の増大など農業生産に実際に役立つ日が早期に訪れることを強く望みたい。

1972年米国のP. Bergにより遺伝子操作技術が開発され、これを利用したタンパク質生合成研究が爆発的な勢いで広がった。30年にもわたり蓄積されてきたタンパク質および核酸生合成研究の成果が、応用面でも見事に役立ちえたのである。人間のインシュリン、インターフェロン、生長ホルモンなど医薬品として強く要望されていたタンパク質の微生物による合成にまず目が向けられ、続いて各種動植物性タンパク質とくに酵素類の生合成へと研究は広がっていった。1986年現在、上記3種の薬用タンパク質は欧米で市販品として出される段階にまで至り、日本でもそれらの一部が量産できるようになった。このようにして、遺伝子操作技術の応用による特定タンパク質の合成は着実に進展しているが、タンパク質の種類によっては種々の難関が生じ、なお多くの基礎研究を必要としている。真核生物遺伝子中のイントロンの存在、mRNAのスプライシング、タンパク質生合成のプロセッシング反応、分泌反応など現在われわれが知りえた情報だけでもこのように高度に特異性を持った反応が、遺伝子からタンパク質にいたる過程に介在していることを十分考慮すべきであろう。

IV. 21世紀への展望

真核生物では、そのDNAに含まれる遺伝情報の数%程度が通常の状態では発現されている。このような特定遺伝情報の選択的発現とその調節機構の解明は、今後も重要な研究課題である。クロマチンの構造とその機能発現については、1974年のヌクレオソーム発見以来、多くの研究が行われてきたが、なお不明の部分が多い。障壁の一つは、クロマチン中に含まれる数百種といわれる非ヒストンタンパク質の研究の遅れである。地道で組織的な研究の展開が必要である。一方、RNAポリメラーゼに関しても、真核生物は前核生物に比して複雑で研究が大きく遅れている。この酵素の働く場がクロマチンであることがいっそう解析を難しくしている。この複雑な系の解析は21世紀に持ち越される可能性が大きい。

細胞質に含まれる種々のRNAは、mRNA前駆体のスプライシングをはじめとして、予想以上に多彩な反応に関与するのではないかと推定される。生物はRNAを特異的認識の道具として広く使用している可能性がある。さらにそれらの作用の基本には、タンパク質と核酸との相互作用という重要な問題がかくされている。両者の特異的認識の基本原則は現在のところまったく不明で、21世紀に期待される重要課題の一つである。

これに関連して、現在H.G. Wittmann一派が精力的に進めているリボソーム研究は、今世紀末までにはほぼ完成に近づくのではないかと期待される。リボソームの立体構造が組み立てられ、その舞台の上にアミノアシル-tRNA、mRNA、各タンパク質因子およびGTPが配置され、それらの相互作用が動的に把握されるようになるであろう。この系は、GTPの化学エネルギーが機械的運動を伴うペプチド鎖の伸長反応に変換される系としても興味深いもので、これらの様子がコンピューターの力を借りて画像として描き出されるようになるかもしれない。

タンパク質、核酸をはじめ多くの生体成分は、代謝回転によって絶え間ない流れのなかに存在することは、古くSchönheimerの実験以来よく知られているところである。この代謝回転の動きこそが生命の本質であって、そこに含まれる反応は生体成分の合成と分解である。生合成反応の大きな意義をここに求めたい。同時にこれは細胞レベルでの分解反応にもあてはまる。合成と分解は現象の表と裏の関係にあるとみてよいであろう。両反応の統一的取扱いは今後の興味ある課題である。なお動物体タンパク質の分解反応については内藤博氏ら(東大農)が研究を進めている(本誌「食品・栄養学」参照)。

21世紀は“バイオ”の時代といわれている。そこにはさまざまな意味や願望がこめられているであろう。筆者は、世界の人々が生物すべてを等しく尊重して、生物の命を本当に大切にす時代であってほしいと願っている。科学技術はもちろん、政治や経済もそのことを最重要事項に位置づけてほしい。限られた空間と限られた資源しかない地球上で、人類も含めてすべての生物が共存し続けていくためには、人間の生物に対する深い理解と知性ある行動が、よりいっそう重要かつ緊急な条件となってきた。20世紀は、人間の欲望を満たすための無計画な資源の浪費や無意味な戦争などもまだ可能であったか

もしれないが、21世紀にはもはやそれを許してはならないであろう。21世紀の人類にはより高い価値観が要求されている。振り返ってみると、われわれも生物科学分野でそれぞれの研究活動を通して多くの知識を獲得してきた。これからもさらに数々の新しい発見が続き、生物科学は生命の神秘性を少しずつ狭めていくことであろう。この非情ともいえる科学のメスに対して、それは疑いもなく将来の人類にそして生物に幸福をもたらすものと信じ切っていてよいものであろうか。21世紀の生物科学者には、このような課題も迫ってくるように思えてならない。