

## 農芸化学における蛋白質研究

九州大学農学部 林 勝哉

### I. 戦後期(昭和20年(1945)~35年(1960))

赤堀四郎先生の名著「アミノ酸及蛋白質」(昭和18年度初版, 共立出版)にみられるとおり, 戦前においてすでにタンパク質研究に用いられる各種物理化学的手法の基礎は確立されており, また酵素反応の定常状態速度論などもほぼ完成された状況にあった。その後, 第二次大戦開始以来終戦をはさんだ10年たらずの間は完全に学術情報欠如の時代であった。この情報暗黒時代に外国においてどのような研究の進展があったかは, 終戦期でのすべての者の関心事であった。終戦後数年を経て外国の文献がわずかながらも入手できるようになると, 当時物資不足で満足な実験ができなかったこともあって, 多くの人が先を争うように新知見を仕入れ, これを雑誌に投稿したり, 談話会で紹介したものであった。このような背景により, 数年も経ずして充実した著書(たとえば, 「蛋白質化学」, 昭和29年, 共立出版; 「酵素研究法」昭和30年, 朝倉書店)が次々に刊行された。「蛋白質・核酸・酵素」の発刊もこのころである。一方, 談話会の多くは発展的にシンポジウム(たとえば, 酵素化学シンポジウム, 蛋白質構造討論会)の形へと移行した。戦後期は本格的な研究への前段階であったが, このような準備が着々となされていたのである。

戦中, 戦後の数年間, わが国での研究が中断を余儀なくされていたころ, 欧米のタンパク質研究は動乱のさなかにありながら着実に進展していた。その主なものは, イオン交換樹脂によるアミノ酸分析法, セルロースイオン交換樹脂の開発, 超遠心分離機, 電気泳動装置, 分光光度計の実用化などであった。戦後のタンパク質化学(あるいは生化学全般)を支えているものは, クロマトグラフィと分光機器と言われているが, これらの基礎的技術はこの時代に確立されていたのである。アミノ酸銅塩の分別沈殿あるいはアミノ酸エステルの分別蒸留等を用

いて, ひとつのタンパク質のアミノ酸組成を決めることは, 戦前においては一人の研究者の一生の仕事と言われていた。このような仕事を上記の装置, 技術によって数日間で終了すること, それにましてアミノ酸配列まで決められたこと(インシュリン, Sanger, 昭和28年(1953))は, まったくの驚きであった。

わが国においても, 昭和26年ごろから, ベックマンDU分光光度計, スピコンE型超遠心分離機などが輸入, 設置されるようになり, タンパク質の分光分析, 均一性, 分子量などの測定ができるようになった。しかし, これらの輸入機器は高額なものであり, どこにでも設置するというわけにはゆかなかった。わが国におけるタンパク質研究の中心機関であり, そこに最新鋭の機器を設備し, これを全国的に共通で利用するという目的で, 大阪大学に蛋白質研究所が設立されたのは, このころ(昭和33年)であった。

昭和30年代に入ると, 外国ではディスク電気泳動法, ゲル濾過法が開発され, 実験的手法はますます豊かになってきた。ミオグロビンのX線解析の結果が発表されたのは昭和35年(1960)であり, これもわが国のタンパク質研究者に衝撃を与えた成果であった。このころになるとわが国の世情も戦後の混乱期を終り, 上昇の機運をみせつつあった。タンパク質研究もこのような事情を反映し, 本格的な段階を迎える状況になった。

### II. 高度成長期(昭和36年(1961)~54年(1979))

#### 1. 前期(1960年代)

先にもふれた「アミノ酸及蛋白質」には, 和文の参考書として, 近藤金助著「蛋白質物理化学」, 鈴木梅太郎著「蛋白質化学実験書」, 田所哲太郎著「蛋白質化学」がとりあげられている。このことは, 戦前におけるわが国のタンパク質研究の主流が農芸化学者によって占められていたことを如実に物語っている。この伝統のもとでの農芸

化学者の、この時期すなわち本格的な研究再開の時期での研究成果は顕著なものがあつた。

農芸化学の分野は、多種多様な生物資源を研究材料として扱えるという特色を持っており、この時期にはこれらの豊富な生物材料から多種の新タンパク質、新酵素が農芸化学者の手で分離精製された。とくに、微生物を材料としてこれから酵素を取り出し精製するという事は、農芸化学者の独壇場であつた。ブローナーゼ（野本正雄ら、理研）、アミラーゼ類（福本寿一郎ら、大阪市大、大阪市工研）をはじめとして、多種の酵素類が主として微生物関連の研究室で分離され、同時にこれらの新酵素を用いる各種物質の工業的生産の研究が活発になされた（詳しくは、バイオサイエンス年表、化学と生物、22, 639 (1985) を参照されたい）。しかし、これらの研究の多くでは、工業的応用という側面が強調されたこともあり、本格的、基礎的な方向がとられず、むしろこの方面は理学系の研究者が受け持つという傾向にあつた。しかし、農芸化学系の研究室で、基礎的なタンパク化学、酵素化学の研究がなされていなかったということではなく、主に生物化学の研究室で基礎的研究が着実に進められていた。東大の今堀和友研究室では、タンパク質の高次構造が物理化学的手法を用いて研究されており、球状タンパク質に $\beta$ 構造が存在することを見出すなど、顕著な業績が挙げられていた。京大では、秦、広海、千葉、森田教授の研究室でそれぞれ活発な研究がなされており、また九大の船津研究室では、一次構造、酵素の活性中心の仕事がなされた。

この時代において、国外では等電点電気泳動法、アフィニティ・クロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィーなどの実験技術が開発され、不溶性酵素の研究開始、酵素-基質複合体（リゾチーム）の三次元構造の決定など、画期的な成果が次々に発表されている。一方、国内ではアミノ酸自動分析計の普及に支えられて一次構造の研究が盛んとなり、また化学修飾法と分光学的方法を組み合わせて酵素の活性中心、酵素-基質複合体の研究が精力的にすすめられた。さらに、CD、ORD などによるタンパク質高次構造の研究も活発になされ、ある意味ではタンパク化学研究の全盛時代であつたとみることができる。

## 2. 後期（1970年代）

この時代になると、画期的な測定機器あるいは研究手法の開発は比較的ゆるやかになるが、タンパク質の基礎的研究は完熟期に入るとともに、研究対象が広がり、複雑な系の中でのタンパク質の機能を追及するという傾向が現れ始めた。

固定化酵素とその応用についての研究は、この時期になって急速に進展を見せ始め、これに同調して酵素の安定化問題、耐熱酵素の検索などが盛んに取り扱われるようになった。一方、遺伝子操作の研究は、制限酵素、リガーゼ、逆転写酵素などいわゆる核酸関連酵素の研究を著しく促進させた。前にもふれたように、各種の生理的現象あるいは疾病など複雑な系のなかでのタンパク質の機能およびその調節機構が研究対象とされるようになったのもこの時代の特色といえよう。たとえば、発癌タンパク質、血圧調節に関与する酵素類、胚発生に関連するタンパク質、細胞内でのタンパク質の代謝回転など、新しい型の研究対象に多くの研究者の目が向けられるようになった。このように、数年前までは、タンパク質研究が主に理・農系でなわれていたという状況は大きく変化し、医・農・薬の生物系の研究者の役割が急増するようになった。

この時代の農芸化学分野でのタンパク質研究も、上述の傾向を反映して大きく変化しつつあつたとみることができよう。とくに、固定化酵素による物質生産および遺伝子操作によるタンパク質の生産は農芸化学者の最大の関心事であり、これに関連する研究が多くの研究室で行われるようになった。固定化酵素の研究は、バイオリクターによる物質生産の基本的な課題であり、また、農芸化学分野における最大の課題のひとつでもあるので、これに対して多くの研究者が勢力を集中した。とくに、田辺製薬の千畑一郎グループ、工業技術院発酵研の鈴木英雄グループの業績は顕著であつた。バイオリクターにおいては、酵素の安定性がその成否を決める重要な因子となる。これに関して耐熱酵素の検索その耐熱機構の研究が、東大・太田研究室をはじめ、多くの研究室でなされた。一方、極端な環境条件に耐える酵素として、耐アルカリ性酵素が理研・掘越研究室で発見されたことは、酵素の工業的利用と関連して、注目すべき成果であつた。バイオリクターに関するもうひとつの重要な課題は、その化学工学的解析である。農芸化学の分野からこの問題に取り組んでいるのは、京大・松野隆一グループ、東大・中村厚三グループなどであるが、それぞれ独自の成果を挙げている。

遺伝子操作の進歩は、ヌクレオチドの合成、分解に関する酵素類、とくに制限酵素の研究に強く依存している。農芸化学分野では主に微生物が産生する核酸関連酵素が研究対象とされてきたが、これに関する理研・安藤忠彦研究室の先駆的研究業績は特筆に値するものである。一方、農芸化学関連の企業の研究室においても、微生物の核酸関連酵素の研究が勢力的に進められ、各種の

酵素が開発され、これらが市場に供給されていること衆知の事実である。

### III. 1980 年代

この時代は、高度成長期後半の延長であり、とくに大きな変化はみられないという状況にある。しかし、そのなかにもいくつかの新しい傾向をさがすことができる。わが国でのタンパク質の基礎的研究の状況を最もよく反映していると思われる「タンパク質構造討論会」(第 34 回(昭和 58 年)～第 36 回(昭和 60 年))の総演題を集め、分類してみると、NMR による構造解析(16)、一次構造(12)、レーザ光散乱・ラマン分光による構造解析(4)、コンピュータ利用(3)、遺伝子操作利用(3)(括弧内は演題総数 85 中の演題数)、となっている。なお、農芸化学分野からは、京大・広海啓太郎研究室、九大・船津草喜研究室などから、計 10 題たらずの報告がなされている。

この例から明らかなように、1980 年代での基礎研究では、(1)高性能の分光学的方法、とくに NMR を用いる構造研究、(2)遺伝子操作による変異タンパク質の作製および DNA の塩基配列に基づくタンパク質構造の推定、(3)コンピュータを用いた分子軌道法計算、構造解析、二次および三次構造の予測、などが新しい傾向として現れてきている。なお、これらの基礎研究に対する農芸化学系研究者の寄与は、数のうえでは必ずしも大きくないとみることができる。

一方、1980 年代には、バイオテクノロジーの声がますます高くなり、遺伝子操作あるいは細胞融合などによるタンパク質生産技術も実用の段階を迎えようとしている。この方面における農芸化学系研究者の活躍ぶりはいまだら強調する必要はなからう。しかしながら、バイオテクノロジーの必要性、有効性が喧伝されているわりには、その実用化が遅れているのも事実のようである。たとえば、バイオテクノロジー分野で最も期待されている抗体、ホルモンなどの医薬用タンパク質の生産は、特許などの競合も加わって、ほとんど実用的レベルに達していないといっても過言でない。これに反し、農芸化学の独壇場である微生物酵素の生産技術は順調に進歩し、これによってバイオリクターによる各種物質の生産も好調に伸びつつあるようである。

### IV. 21 世紀への展望

1980 年代におけるタンパク質研究の流れは、すべての学問領域がそうであるように、研究領域あるいは研究法の分極化の傾向を示している。現在タンパク質研究

は、1) 単離タンパク質を用いる基礎研究、2) 複雑な生物現象におけるタンパク質機能の解明、3) タンパク質利用に関連する基礎研究と分極しつつある。この傾向はさらに深まって 21 世紀に向うものと思われる。

単離したタンパク質を用い、その構造と機能を追及する基礎研究は測定装置の精度に強く依存しながら精密化してゆくことは当然である。さらに基礎研究の今後の精密化を支えるものとして、2つの因子が考えられる。それはコンピュータの利用と遺伝子操作技術の援用である。測定機器の精密化は、装置部分の高性能化とともに、内蔵コンピュータあるいはオンライン上のコンピュータによる装置部分の作動の制御および測定値の一次的処理(たとえばフーリエ変換)の高性能化によって初めて実現される。現在でも多くの測定機器がコンピュータを内蔵しているが、今後このコンピュータはますます高性能になることは容易に想像される。一方、測定値の二次的処理、構造解析、分子軌道法などによる微細構造あるいは反応性の予測には、高速、大容量のコンピュータを必要とするが、現在でもスーパー・コンピュータの使用は可能であり、また将来のコンピュータ・サイエンスの進歩を考えると、このような解析の実行を妨げる障害はまったくないとみることができる。現在遺伝子 DNA の塩基配列の部分的な入替えあるいは小型遺伝子の化学合成技術が開発されている。したがって、部分的にアミノ酸残基を置換したタンパク質を遺伝子操作の技術を用いて作ることが可能であり、近い将来には、設計した形のタンパク質を作ることも可能にならう。このような技術の進歩は、旧来のタンパク質の化学修飾法などを完全に不用のものとし、構造と機能の研究を飛躍的に進展させるものと推定することができる。

現在におけるタンパク質研究の分極した領域のひとつは、複雑な系におけるタンパク質の機能の追及がある。すなわち、発生、分化、形態形成、疾病などのようなきわめて複雑な系のなかでのタンパク質の機能を研究しようという傾向が、近時とくに大きくなりつつある。このような領域では、広い意味での代謝調節の情報をにやう情報分子としてのタンパク質(ホルモンタンパク質など)の研究、作用分子としてタンパク質(酵素など)の作用機構およびその調節機構の研究などが中心課題となる。この種の研究においては、実験系の無分別な抽象化は無意味になるので、複雑な系をなるべくインタクトな状態で取り扱わなければならない。したがって、系を非破壊的に測定する技術が必須となり、また、測定値を定量的に解析する手法も必要になる。

酵素、医薬用タンパク質あるいは食品タンパク質の生

産・利用は、遺伝子操作、細胞融合、バイオリクターなどの技術の進展に伴ってますます多彩になるであろう。しかし、この分野でも効率的な遺伝子合成および改変の技術、遺伝子発現の制御、タンパク質のプロセッシング、分化細胞あるいはハイブリッド細胞の培養技術、膜透過など多くの問題に対して、解決すべきものが多く残されている。たとえば、ドラッグ・デザインと典型的に、ある特殊機能を持つタンパク質を設計し、DNA を合成し、これに遺伝子操作法を適用し目的とするタンパク質を作り出すことは、近い将来に実現される可能性があると推定される。この場合のタンパク質設計においては、たんにアミノ酸配列を決めることは無意味である。タンパク質の機能は高次構造で定まる。したがって、どのようなアミノ酸配列であればこのような高次構造にな

るはずであるという、高次構造推定の技術の確立がなければ、すべてが無意味になる。これからのタンパク質利用については、このような基礎的研究がより重要になると思われる。

タンパク質の機能を利用したコンピュータ素子（バイオチップ）の高速演算性、その実現の可能性などは現時点では論議の域を出ていない。しかし、科学の進歩は計り知れないものがあるので、あるいは 21 世紀初頭にはこのようなことも現実のものとなり、農芸化学分野の研究者、技術者がコンピュータの設計・製作にたずさわっていることになるかもしれない。このように、タンパク質の機能を利用する途は限りなく広く、今後開拓されるべきものは数多く残されている。