

運営委員に就任して

◇運営委員になって-----夢を育むSPring-8

大阪大学 蛋白質研究所

月原 富武

新しく運営委員になったということで、光彩に掲載する文章を書くようにとの依頼を受けた。適切な内容になるかどうか解らないが、第3世代放射光SPring-8への思いを綴ってみたい。

私は、より階層の高い、生体超分子複合体のX線結晶構造解析を目指してきた。そこには複雑な相互作用によって、生命の営みを支える高度な制御が達成されているはずである。生命活動を可能にしている高度な制御機構を、立体構造の中に見い出すのを主題にしている。

ウイルス等の生体超分子複合体の回折実験を、回転対陰極を使用して行っていた時は、20時間かけて1枚の振動写真をとっていた。そのために1セットのデータをそろえるのに数ヶ月掛かるのが当たり前であった。それが放射光を利用できるようになって、1分ないし数分で1枚の振動写真を撮れるようになり、こうした実験も余り苦にならなくなった。こうして、膜タンパク質複合体やウイルスなどの生体超分子複合体の結晶構造解析を、2.8Å程度の高分解能で行うことができた。

この程度の分解能の構造解析でも極めて多くの構造情報を得ることができたが、更に詳細な構造を知りたいという要求が一層強くなっている。回折像を良く見ると、更に高分解能の回折斑点を確認することができるが、それらの強度は弱くてS/Nの高い強度データを得ることはできない。そこで、輝度が高く平行性の良い第3世代放射光によって、高分解能の回折実験を行いたいというのが、SPring-8を利用したいひとつの動機である。もうひとつは、格子が2000Åに達する結晶もあり、これらの回折実験を可能にするためには、SPring-8の利用が不可欠であることによる。これができれば、結晶化可能と思われるすべての生体物質の結晶構造解析が現実のものになる。

強い光を当てれば結晶の損傷も大きくなる心配もある。結晶を100K程度に冷やすことによって損傷を抑えることができる。しかし、常温で作成した結晶を急冷するとモザイク幅が増えることが多い。モザイク幅を増やさないで、100Kまで冷やす方法がいろいろ工夫されている。これまでの経験では膜タンパク質複合体では、0.05×0.05×0.05mmの小さい結晶を急冷することによって、これが可能になる。輝度が高く、焦点を小さく絞れるSPring-8では小さな結晶を利用することは、得意なところである。第3世代放射光と低温技術が生体超分子複合体の高分解能結晶構造解析に道を拓くといえる。

小さな結晶が使えることは、通常のタンパク質も同様である。ESRFの経験から、タンパク質では0.02×0.02×0.02mmでも構造解析できるようになってきた。今は回折実験に使われていない、細い髭のような結晶の多くはSPring-8では使用可能になるのではないか。このことによる構造解析の拡がりには計り知れないものがある。

強い光は、同時反射を利用して位相を実験的に決定することも可能にする。これによ

て決定できる位相は決して多くはないが、決定された一部の反射を元にして位相の拡張を行って構造解析を行う道も出てきた。

第3世代放射光と低温技術は、通常のタンパク質構造解析では1.0Å分解能程度の解析例を増やす。そうすると低分子と同様な直接法による解析も可能性が出てくる。その他にも、測定精度が飛躍的に改善されることによって、多波長異常散乱法やラウエ法にも新たな可能性が出てくる。

回折法による生体物質の構造研究に限ってみても、SPring-8は多くの新しい可能性をもたらすことは、疑問の余地はない。取り分け新しいことを述べた訳ではないが、もうすぐ光が出るようになり、又ESRFなどでの実績が出てきていろいろな夢が現実近づき、又新たな夢が広がっているのを実感している。SPring-8を多くの利用者が広く活用して、創造性豊かな研究を繰りひろげることのできる条件が、早期にできることを期待している。

◇SPring-8・タンパク質結晶学・構造生物学

京都大学 大学院理学研究科

三木 邦夫

今年の4月から、SPring-8利用者懇談会の運営委員を務めさせていただいております。SPring-8は、いよいよ待望の光が出る時を迎えようとしています。SPring-8への期待がまさに高まっている時期に、懇談会の仕事をお手伝いすることは、その責任の重さも感じております。この機会に、私たちのタンパク質結晶学の分野で、SPring-8に対する期待が非常に大きいことを、その背景を含めて少し述べさせていただきたいと思っております。

私たちは、タンパク質の立体構造に基づいて生体内の化学反応を理解し、生命が維持される分子機構を解き明かすことを、その研究の目的にしています。私たちの身体の中の化学反応を実際につかさどっているのはすべてタンパク質です。タンパク質、20種類のアミノ酸が重合したポリマーで、そのアミノ酸の配列（一次構造）によって個々のタンパク質を特定することができますが、タンパク質が持っている固有の物理学的機能は、そのアミノ酸配列から直接理解することはできません。なぜなら、タンパク質はポリマーの鎖が折れ畳まれて三次元立体構造（三次構造）を形成しないと、その固有の生理学的機能を発現することができないからです。その折れ畳まれ方には一定のルールがあり、特徴的な二次構造（らせんとシート）が集まって一つの立体構造が形成されるのです。

したがって、タンパク質の働きは、それが折れ畳まれた状態での構造、すなわちその立体構造を、それも原子のレベルで知らなければ本質的に理解できません。たとえば、酵素反応がどのようなメカニズムで起こっているかということは、その触媒部位でどのようなアミノ酸残基が作用するかを知ることが必要です。生体高分子の立体構造を決定するための最も有力な方法の1つはX線結晶解析ですが、この方法で1つのタンパク質の構造を決定するには、種々の困難が伴い長い期間を要することはこれまでの通常でした。そのため、タンパク質の機能理解のために立体構造が不可欠であるという事実にもかかわらず、その

構造決定はそう簡単ではないという感がつきまってきました。

このような認識は、このところ大きく変わったといえます。ここ数年で、X線結晶学によって決定されるタンパク質立体構造の数は飛躍的に増加しました。新しくタンパク質の立体構造が決定されるとタンパク質データバンクに登録されますが、1990年の4月には535しかなかった登録数が、3年後の93年4月には1,110と倍以上に急増しています。その3年後の96年の4月には、さらにその4倍の4,432の構造が登録されるまでになりました。タンパク質の立体構造が枚挙されるようになると、“立体構造から生物学を論ずる”という意味での「構造生物学」が注目され、あらためて立体構造の機能研究における重要性が唱われるようになりました。このようなタンパク質結晶学の劇的な進歩をもたらした原因には、いくつかのことがあげられますが、その1つは疑うまでもなく、シンクロトロン放射光の汎用的な利用です。シンクロトロン放射光は、微小結晶からの測定を可能にしたのみならず、その波長可変性を最大限に利用して最も効果的に異常分散を測定することによって、タンパク質結晶学の最もやっかいな位相問題の解決に新しい道を開きました。わが国では高エネルギー物理学研究所の放射光実験施設でのビームラインが果たした貢献は、極めて大きいものがあります。しかし、国の内外からの研究者の実験の要望に応えるには、その容量が十分でないという状況がこの何年か続いています。慢性的なビームタイムの不足は、やりたい実験はたくさんあるのにビームタイムがないという、研究者にとっては最もつらいストレスを強いてきました。もちろん、この間に放射光実験施設の関係者の多大なご努力があり、タンパク質結晶学のビームラインは増設を重ねてきました。それでも先に述べたストレスは完全には解消されず、ビームラインはいくつあっても足りないというのが、この分野における偽らざる印象であるといえます。したがって、私たちのSPring-8への期待は掛け値なしに大きいものがあり、次世代の放射光を用いたタンパク質結晶学による構造生物学研究のさらなる進展は、多方面からの期待を一身に集めています。さらにこのSPring-8の8 GeVのエネルギーは、タンパク質結晶学での新しい研究法の開拓の可能性も秘められており、SPring-8でこそ実現できる科学にも期待が寄せられています。これにもいくつかの可能性を考えることができますが、たとえば、時間分割ラウエ法を用いた動的構造研究などは、まず挑戦すべき分野であると思われます。この方法によって、結晶内でのタンパク質分子が関わる生体反応の過程を動的に観察することができるようになれば、これまで静的な構造のみを対象にしてきたタンパク質結晶学にとっては、まさに大きな夢の実現になります。この研究分野については、現在、科学研究費・重点領域研究「動的蛋白結晶解析」（領域代表者、坂部知平・筑波大学教授）が進められており、その研究方法の基盤が築かれようとしております。その成果を踏まえたSPring-8での研究は、まさにその未知のエネルギーとともに、新しい科学における期待の中心であると思われます。

私は、これまで「X線構造生物学」サブグループの世話人として、多くのサブグループメンバーの方々とともに、生体高分子結晶構造解析・共用ビームライン（建設責任者：神谷信夫・理化学研究所副主任研究員）の建設をサポートしてきました。運営委員としては、より広い視野にたったSPring-8の広範な科学への貢献を考えて、少しでもお役にたてればと思っております。特に、このSPring-8はアジアの関連科学分野の核として機能することも、その多くの期待の中の重要な1つであろうと思います。SPring-8には、たとえば構造生物学への貢献と同様に、このような立場での貢献も確実に果たして行く使命があると認識しております。