

素晴らしい共同研究者と新しい環境から生まれた研究

タンパク質3Dドメインスワップリングの研究

奈良先端科学技術大学院大学
教授
廣田 俊



新しい研究を目指して、計算化学から振動分光学、生物無機化学、生体超分子化学と分野を変え、共同研究者に支えられて30年。

タンパク質の研究へ導かれて

人は慣れ親しんだ環境を変えるのに勇氣とエネルギーが必要である。常日頃新しい研究を始めたいと思うものの、研究を工夫することはできても、新しい研究を始めるのはなかなか難しい。私は小学生の頃、海外を含めて何度も転校している。小さい頃は転校がとて嫌だったが、大学に進学してからは、自ら環境を変えることを選択し、様々な環境で多くの人と出会い、研究を発展させることができた。子供の頃に環境を変えることに慣れ、このことが後の研究人生に大きな影響を与えたのだろう。

私が研究を始めたのは、京都大学工学部石油化学科の4年生として山邊時雄先生の研究室に配属されたときだった。山邊先生の研究室で修士課程まで進学したが、研究室には多くの博士後期課程学生や研究員が在籍していた。研究のスタートは計算化学だが、生体分子に関する研究に興味を持ち、修士課程1年の2月に分子科学研究所を訪問し、北川禎三先生にお会いした。その際、北川先生の研究に対する熱意に惹かれて、総合研究大学院大学の分子科学研究所へ進学することを決め、共鳴ラマン分光法を用いたヘムタンパク質の研究に没頭した。分子科学研究所には学生が非常に少なく、京都大学とは全く異なる雰囲気であったが、研究の楽しさとともに厳しさも教わった。

分子研での実験による研究は新鮮でとても楽しく、深夜遅く（時には朝まで）実験をしたのが懐かしい。私は実験について何も知らなかったが、当時、北川研の助手だった今は亡き小倉尚志先生に辛抱強くご指導いただき、感謝しかない。小倉先生は酸素

を水に還元する酵素であるシトクロムc酸化酵素の反応機構解明の研究を行っており、私もこの研究に参加する機会をいただいた。タンパク質のラマンスペクトルを測定するのに長時間の積算が必要だが、小倉先生は寿命が短い中間体のスペクトルを積算するため、測定の前まで一酸化炭素で試料を循環させた。光照射により一酸化炭素を解離させて酸素との反応を開始させ、生成した中間体のスペクトルを測定し、測定後、安定な一酸化炭素結合型を再生する「人工心肺装置」を開発しておられた。とても独創的な研究に魅了された。小倉先生は「世界トップを目指さないといけない。これなら自分は世界で1番と言える研究をきなさい」とよく言っておられた。小倉先生にもうお会いできないのは非常に残念だが、今でも小倉先生の教えを胸に、少しでも独創的な研究を目指したいと思っている。

博士後期課程3年生のとき、北川先生に無理を言って、スウェーデン、ヨーテボリ大学・チャルマース工科大学のPeter Brzezinski先生、Bo G. Malmström先生の元に留学する機会をいただき、短い期間ながら、エレガントに研究するヨーロッパの研究スタイルを感じる事ができた。また、学位取得後、ビタミンB₁₂のモデル化合物の研究で著名な、米国エモリー大学のLuigi G. Marzilli先生の元へ留学した。Marzilli先生の研究はとても緻密で、研究に対するこだわりの大切さを学んだ。若いうちに、異なる場所でいろいろな研究スタイルを学び、様々な経験をしたことが今の研究スタイルの構築に役立っている。

名古屋大学での出会い

1996年に名古屋大学大学院理学研究科の山内脩先生の研究室に助手として採用していただいた。山内先生は理学部長として大変お忙しい日々を過ごされておられたが、生物無機化学の特定領域研究の研究代表者としても金属錯体の弱い相互作用の研究をなさっておられ、多くの共同研究者をご紹介いただいた。その中の1人に中国の生物無機化学の先駆者であり、昨年亡くなった中国復旦大学の黄仲賢 (Zhong-Xian Huang) 先生がいる (図1)。黄先生は名古屋



ひろた・しゅん

1990年京都大学工学部石油化学科卒業，92年同大学大学院工学研究科分子工学専攻修了，95年総合研究大学院大学数物科学研究科機能分子科学専攻博士後期課程修了。日本学術振興会特別研究員PD，米国エモリー大学化学科博士研究員を経て，96年名古屋大学大学院理学研究科物質理学専攻（化学系）助手，2002年京都薬科大学薬学部助教授，07年奈良先端科学技術大学院大学物質創成科学研究科教授，18年同大学先端科学研究科教授，現在に至る。2000年日本化学会進歩賞，2020年日本化学会学術賞。
〔専門〕生物無機化学，生体分子科学，タンパク質化学。



図1 2005年にミネアポリスで開催された生物無機化学国際学会にて

（右から）小谷明金沢大学名誉教授，山内脩名古屋大学名誉教授，故黄仲賢中国復旦大学名誉教授，筆者。

屋大学に長期滞在され，共同研究させていただいたが，その約15年後に黄研究室出身の研究者を紹介していただき，奈良先端科学技術大学院大学へ異動してから始めた研究を進展させることができた。

名古屋大学では，着任時から1名の修士課程学生と3名の学部4年生を指導することとなった。最初に指導した修士課程学生の遠藤正朗君と何か新しいことができないかと一緒に考えたものである。金属錯体の弱い相互作用で多くの研究成果を発表しておられた山内先生の研究からヒントを得て，金属タンパク質が複合体を形成すると，機能が変化するのではと考えた。そこで，金属タンパク質どうしでは相互作用を調べるのが困難であるので，相手タンパク質の代わりに電荷を有するペプチドを用いることにしたところ，相互作用により電子伝達タンパク質のプラストシアニンやシトクロム*c*の活性部位の構造が変化し，酸化還元電位も変わることを明らかにした¹⁾。山内先生の研究室に所属させていただいたからこそ生まれた研究である。

助手になって間もなく，分子科学研究所で研究会があり，京都大学へ移られたばかりの樋口芳樹先生（現，兵庫県立大学）による[NiFe]ヒドロゲナーゼのX線結晶構造解析の研究発表を拝聴した。この酵素による水素合成・分解反応はシンプルなのに，酵素はいくつもの活性状態と不活性状態を取っていた。私はこの酵素の反応機構に興味を持ち，樋口先生に共同研究をお願いした。その後，この酵素の研究を続け，約20年後に特任助教として奈良先端大に着任した太虎林さん（現，中国延辺大学）の研究で赤外分光法により新しい反応中間体が見つかり，さらに5年後にプロトンが移動した際のシ

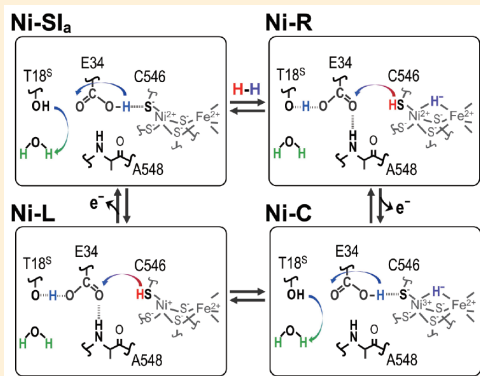


図2 ヒドロゲナーゼの水素合成・分解反応中のプロトン移動機構

水素分解反応は時計回りに進む。Ni-SI_aのNi²⁺イオンとFe²⁺イオンの間にはH₂が結合する空間があり，Ni-SI_aがH₂と反応するとNi-Rが生じる。Ni-Rでは，Ni²⁺イオンとFe²⁺イオンの間にヒドリドH⁻が架橋しており，NiFe活性部位は最も還元された状態である。Ni-RからNi-Cの反応では，NiイオンはNi³⁺へ酸化される。Ni-CからNi-L反応では，H⁻がプロトンとなり，NiイオンはNi⁺へ還元される。Ni-LのNiイオンがNi³⁺へ再酸化されるとNi-SI_aに戻り，反応サイクルが完成する。水素合成反応は反時計回りに進む。

STEIN残基のプロトン化・脱プロトン化の様子を観測することに成功した（図2）²⁾。

奈良先端科学技術大学院大学へ

名古屋大学では山内先生退職後，渡辺芳人先生が教授として着任され，短い期間であったがヘムタンパク質の反応機構に関する研究を学ぶことができた。その後，私は京都薬科大学へ助教授として移り，タンパク質の構造変化の研究に従事し，薬学研究者とも知り合いになることができた。その後，奈良先端科学技術大学院大学物質創成科学研究科（現，物質創成科学領域）の教授として採用していただいた。一緒に赴任する助教を探しているときに，奈良先端大に着任する前年の11月に筑波大学で特別講義をする機会を得た。このとき，博士後期課程3年生であった長尾聡さん（現，兵庫県立大学）と出会い，奈良先端大で新しい研究をスタートすることとなった。

奈良先端大では「超分子集合体科学研究室」に着任したが，合成超分子の研究を行っているスタッフや博士後期課程，前期課程2年の学生が多くいて，勉強になった。私はヘムタンパク質を含む金属タンパク質の研究を行ってきており，研究室では合成化学的にポルフィリン超分子を研究しており，2つの分野が融合して，タンパク質が同じ構造領域を分子間で交換して多量化

(超分子化)する3Dドメインスワッピングの研究が誕生した(図3)。3Dドメインスワッピングでは、分子内の相互作用が分子間の相互作用に置き換わるため、分子をデザインすることにより、様々な構造の超分子を作製できる³⁾。「超分子集合体科学研究室」に着任したからこそ生まれた研究である。

奈良先端大に着任して5ヵ月経った9月にポーランド・ヴロツワフでの国際学会に参加した。この学会では、光合成反応中心の3次元構造の決定でノーベル化学賞を受賞されたRobert Huber先生の基調講演のほかに、RNase Aの3Dドメインスワッピングの基調講演もあり、この講演を聞いてヘムタンパク質にも同じ現象が起きるのではないかと直感した。大学に戻って調べると、シトクロムcがポリマー化することが1962年に報告されていた。また、初めて3次構造が明らかとなったタンパク質であるミオグロビンの2量体が得られることがわかった。そこで、すぐにミオグロビンの多量化の研究を開始した。次の年には配属された学生とともにシトクロムcの多量化の研究を開始し、シトクロムcが3Dドメインスワッピングによりポリマー化する機構を解明した⁴⁾。3DドメインスワッピングではX線結晶構造解析が決め手になっており、樋口先生に大変お世話になった³⁾。このように国際学会の講演には研究のヒントがあり、若い人には積極的に海外の研究に触れる機会を大切にしてほしい。

グローバルに支えられて

学部生の頃、同級生にタイからの留学生がいた。また、山邊研や北川研には中国やロシアからの留学生、助手になった山内研には中国やバングラデシュからの留学生がおり、留学生を身近に感じていたとは言うものの、当時の留学生は日本人学生に比べて圧倒的に少なかった。その後、コロナ禍前のグローバル化の推進により、留学生数は飛躍的に増えた。多くの先人たちがヨーロッパやアメリカで新しい学問を学んで日本の科学の発展に大きく寄与されてこられたが、今後、これら日本で教育を受けた留学生が自国の科学の発展に寄与されること

を切に願う。

名古屋大学で出会った留学生や研究者には自国の学生や研究員に奈良先端大を紹介していただいた。中でも、中国からの留学生であった張鋒さん(中国遼寧大学)には奈良先端大へ多くの中国人留学生を紹介いただいた。上述の黄先生には黄研究室の出身者を紹介していただき、王中華さん(中国西華師範大学)は博士研究員としてシトクロムcのポリマー化の解明に寄与し⁴⁾、林英武さん(中国南華大学)はJSPSの外国人特別研究員として、異なる活性部位を有するミオグロビン2量体の構築に成功した⁵⁾。多くの共同研究者に支えられて研究を発展させることができた。

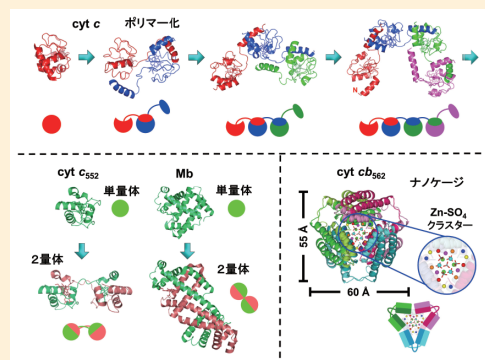


図3 タンパク質の3Dドメインスワッピング

おわりに

私が研究を続けられているのは、新しい環境で多くの素晴らしい共同研究者に支えられたからである。本当に人との繋がりが大切である。また、新しい考えを取り入れることができたのは、環境の変化により生じた縁による。融合研究の大切さが謳われて久しいが、私の場合、環境変化が研究の融合に大きく寄与したように思う。これからは環境が大きく変わる機会はあまりないかもしれないが、新しいことに積極的に挑戦していきたい。

最後に、誌面の都合上本文では記載できなかった多くのご指導いただいた先生方、共同研究者の皆様に深く感謝する。また、名古屋大学、京都薬科大学、奈良先端科学技術大学院大学と一緒に研究した学生の皆さんに感謝する。

- 1) a) S. Hirota et al., *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 8177; b) S. Hirota et al., *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 849.
- 2) a) H. Tai et al., *Angew. Chem., Int. Ed.* **2014**, *53*, 13817; b) H. Tai et al., *Angew. Chem., Int. Ed.* **2019**, *58*, 13285.
- 3) 総説: a) S. Hirota, S. Nagao, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2021**, *94*, 170; b) S. Hirota et al., *Chem. Commun.* **2021**, *57*, 12074.
- 4) S. Hirota et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2010**, *107*, 12854.
- 5) Y.-W. Lin et al., *Angew. Chem., Int. Ed.* **2015**, *54*, 511.