

解説

構造生物学におけるタンパク質結晶学の現状と将来

三木 邦夫

京都大学大学院理学研究科*

Protein Crystallography in the Field of Structural Biology

Kunio MIKI

Graduate School of Science, Kyoto University

The scientific role of protein crystallography is absolutely important in the field of structural biology. Crystallography is the most powerful technique to determine the three-dimensional structures of the biologically important protein molecules, especially those of supramacromolecular complexes with very high molecular weight. Recent development of gene technology and the utilization of synchrotron radiation enabled us to promote a drastic progress of protein crystallography. Consequently, the number of the three-dimensional structures established is dramatically increased in these 10 years. The current and future aspects of protein crystallography and structural biology are described in this review.

1. 生命科学における構造生物学

生体を構成する主要な物質は、核酸（DNA：デオキシリボ核酸，RNA：リボ核酸）とタンパク質である。これらはヌクレオチドやペプチドが重合した高分子化合物（ポリヌクレオチドおよびポリペプチド）である。分子生物学はこれらの構造の解明と遺伝子の作用機構の理解の上に発展した学問であるといえる¹⁾。生物を形づくる細胞の進化を考えれば、まず、遺伝情報を伝達する機能と実際の生体反応を触媒する機能を両方持ち合わせるRNAの進化をあげることができる。その後、タンパク質が効率よく合成される系が発達して、主な遺伝情報伝達機能はDNAに引き継がれ、タンパク質が主として反応の触媒機能をつかさどるようになった。その結果、RNAはタンパク質合成を指令することを主たる機能とする仲介者としての役割になった。よく知られているように、現存の生物細胞では、DNAが遺伝情報の貯蔵庫、RNAがタンパク質合成の指令を行う仲介者、タンパク質が生体反応の高度な触媒機能の担い手という役割分担がなされている。

私たち生物の生命維持の分子機構を理解するためには、生物の細胞内で起こる化学反応を分子論的に理解することが必要である。上に記したように、タンパク質が生体内の反応を触媒しており、これを理解することはタンパク質がつかさどる反応の機構を理解することに他ならない。

タンパク質は20種類のアミノ酸が重合したポリマーで

あり、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識別したり、特定したりすることができる。しかしながら、タンパク質が持っている固有の生理学的機能はアミノ酸の配列からは直接理解できない。なぜなら、タンパク質はその鎖が折れ畳まれて三次元立体構造（三次構造）を形成して初めて、そのタンパク質が持っている固有の機能、すなわち、タンパク質がつかさどる触媒反応に対する活性が発現されるからである。生体内反応の触媒として働くタンパク質のほとんどは、アミノ酸が単に連なった鎖状で存在するのではなく、折れ畳むことによってコンパクトな球状になるのである。その折れ畳まれ方には一定の秩序があり、らせんやシートなどの特徴的な二次構造が集まることによって一つの立体構造が形成される。この結果、一次構造の上では非常に離れた位置にある2つのアミノ酸残基が、立体構造を形成すれば極めて近い距離にあるということは、ごく普通に起こることになる。多くの場合、タンパク質がつかさどる触媒反応は、大きなタンパク質分子のごく一部分がその中心的役割をもって働いており（活性部位とか活性中心とか呼ばれる）、そのような部位は一次構造の上でははるかに離れた何箇所かのアミノ酸残基が集まって形成されていることが通常である。これが一次構造だけからではそれぞれのタンパク質に固有な生理学的機能を理解できないとするゆえんである。

したがって、タンパク質の機能を理解するためには、正

* 京都大学大学院理学研究科化学専攻 〒606-8502 京都市左京区北白川追分町
TEL 075-753-4029 FAX 075-753-4032 E-mail miki@kuchem.kyoto-u.ac.jp

確な立体構造を、それも原子レベルでの三次元構造を知ることが不可欠である。「構造生物学」というのは、生体高分子の立体構造を基盤として、生物学における生体反応を理解する、とするものであり、ここ数年、生命科学の分野で特に注目を集めている学問であるといえる。このことばは、やや広義に解釈して使う人も見受けられるが、その意義の原点は上記のようなものであろう。タンパク質の機能の理解にその立体構造が不可欠ということは、生命科学における普遍的な命題であることは明らかである。それにもかかわらず、「構造生物学」ということばの出現ならびに脚光がここ数年のことであるのには理由がある。立体構造が決定されるとそのデータベースであるタンパク質データバンク、PDB (アメリカ合衆国・ブルックヘブン国立研究所) に原子座標が登録される。図1はタンパク質データバンクに年ごとに登録された立体構造の数の推移である。この図で明らかのように、今からはほぼ10年前の1980年代半ばまでは、毎年新たな決定されるタンパク質の立体構造はわずか30程度に過ぎない状態が続いていた。ところが、これは1980年代後半から一変し、1990年代には指数関数的にその数が増加している。この2~3年は毎年1,500を越える立体構造が登録されている。すなわち、少なくとも1980年代まではタンパク質の立体構造を決定するという事は決して身近なものではなく、そう容易に取り組める研究ではなかったのである。この状況が変わってかなりの数のタンパク質立体構造が毎年世に出されるようになり、生命科学の分野において立体構造決定を身近なものに感じることができるようになると、生化学、生物化学の研究者の間にも、ターゲットにしているタンパク質分子の立体構造がないために自分たちのタンパク質の機能研究が行き詰まっていて、これを打ち破るためには立体構造を決定することが必要だという機運が高まってきた。まず、立体構造を明らかにして、それから機能探求のさらに奥深い生化学

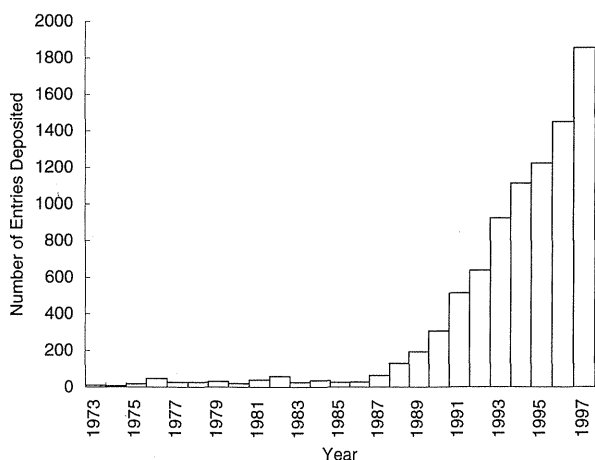


Figure 1. Number of atomic coordinates entries of protein three-dimensional structures deposited by year with the Protein Data Bank (PDB).

的研究を進めるという姿勢が前面にできるようになった。すでに示したように、タンパク質の機能を理解するために原子レベルでの立体構造が不可欠であることは、生命科学での普遍的な本命題であるが、ようやくその王道的なアプローチが表にできるようになったと言える。これが数年前になってようやく「立体構造から生物学を論ずる」という『構造生物学』という概念があらためて認識されることになった主たる理由である。この数年来、生物学関連のジャーナルには、毎号といってよいほど新しいタンパク質の立体構造の報告が掲載されている。また、“Acta Crystallographica Sect. D.” (1993年1月)、“Structure” (1993年9月)、“Nature Structural Biology” (1994年1月)など、新しい生体分子構造に関する専門誌が近年相次いで創刊されている。

図1に示されたエントリー数の合計は、現在では7,000を越えるまでになった。生体高分子の立体構造を決定するための有力な方法はX線結晶解析とNMR法であるが、7,000を超えるエントリー数のうち、その歴史が浅いこともあるが(初めての登録は1991年)NMR法による構造決定は十数%である。残り80%以上がX線結晶解析法によるものであり、これまでこの方法が圧倒的に多くの立体構造情報を提供してきた。したがって、1980年代後半からの立体構造エントリー数の飛躍的な増加も、このX線結晶解析法の進歩に負うところが大きい。X線結晶解析法の近年の進歩の状況やその原因に触れる前に、まず、この方法の概要について述べる。

2. X線結晶解析法

X線結晶解析によるタンパク質の立体構造決定の道筋を図2に示す。ここでは極めて簡単にその流れを紹介することしかできないので、詳しくは参考文献を参照されたい²⁻¹⁰⁾。

X線結晶解析を始めるには、まず目的タンパク質を精製することが必要である。次の段階である結晶化においては、条件検索に大量の試料を必要とする場合が多い。タンパク質のX線結晶構造解析の道筋には、大きな障壁となる2つの本質的な問題があると言われるが、その第一は結晶化である²⁻⁴⁾。現在では、汎用的なスクリーニング試薬の利用など、いくつかの系統的な結晶化条件検索法が開発されてはいるが、根本的には地道な試行錯誤の繰り返しに頼る部分が多く残されている。しかしながら、どのような分子もそれ自身で整列する性質を持っているため、この試行錯誤の繰り返しの結果、X線結晶構造解析に供することのできる結晶が得られることも多い。タンパク質の結晶化は、有機、無機化合物の場合と異なり、これを添加することで溶液中のタンパク質の溶解度を低下させる沈殿剤を用いて、その濃度を極めて微妙に制御することによって結晶に導く。もちろん、沈殿剤以外にも結晶化に影響を与える因子は多くあり、McPherson¹¹⁾によると表1に示

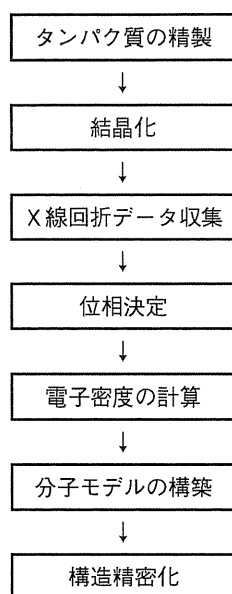


Figure 2. The outline of actual experimental and computational stages of X-ray crystal structure determination of protein molecules.

表1 タンパク質結晶化に影響を与える因子 (文献11による)

- 1) 沈殿剤の濃度
- 2) タンパク質の濃度
- 3) 温度
- 4) pH
- 5) 圧力
- 6) 還元剤や酸化剤の含有度
- 7) 基質, 補酵素, 配位子
- 8) タンパク質の純度 (精製度)
- 9) タンパク質の精製, 貯蔵の仕方
- 10) タンパク質 (加水) 分解
- 11) タンパク質の新しさ古さ
- 12) 変性の程度
- 13) 振動や騒音
- 14) 結晶化試料の量
- 15) 金属イオン
- 16) 種結晶
- 17) アモルファス沈殿
- 18) 緩衝液
- 19) 清潔度
- 20) タンパク質が単離された組織や種
- 21) 重力, 対流

すものがそれに該当するとされている。原則的には、結晶化に影響するそれぞれの因子を最適化することが必要であり、これが結晶化を試行錯誤の伴う困難な作業にしているといえる。

結晶が得られると、その結晶の X 線回折データを測定する。実験室系の X 線回折装置の進歩 (安定で強力な X 線発生源の確保, X 線ビーム集光技術の確立, イメージ

ングプレートなどの優れた検出器の出現, それらのコンピュータ制御法の開発など) とともに, ここでは, シンクロトロン放射光の利用が極めて大きな寄与をするようになった¹⁰⁾, これについては後で述べる。

次の段階は, もう一つの本質的な障壁と言われる位相決定である。位相決定とは, いわゆる「構造を解く」ということを意味する。結晶中の電子密度がそのフーリエ変換から得られる結晶構造因子は一般に複素量であるが, 実験で得られる X 線回折強度からはその絶対値 (構造振幅) だけが求められる。したがって, これに位相角を付けて複素量にする必要があるため, 位相決定と呼ぶのである。これについては, 目的とするタンパク質に類似する構造が全く存在しない場合と, 類似の構造が存在する場合で分けて考えることができる。

一般に新しい未知のタンパク質の場合, 類似構造は存在しないかあるいはその存在がその時点ではわからない。この場合には位相問題解決の手段は, 多重同型置換法 (MIR 法) の適用が長年唯一の方法であった。これが唯一でなくなったのは, シンクロトロン放射光の汎用的な利用による多波長異常分散法の登場によるのであるが, これについても後で述べる。重原子多重同型置換法は, 元のままの結晶 (native 結晶と呼ぶ) とは別に白金や水銀などの重金属原子を含む重原子化合物を付加した結晶 (重原子誘導体結晶と呼ぶ) を作成し (通常 2 種類以上), その回折強度の変化に基づいて元の native 結晶の反射の位相を決定するものである。この重原子誘導体結晶の調製には通常ソーキング法が用いられる。タンパク質結晶の容積のほぼ半分は溶媒 (水) 分子に占められており, この溶媒分子は束縛されることなく自由に結晶外の溶液と入れ替わるため, タンパク質の結晶 (native 結晶) を重原子化合物の溶液に浸すと, 重原子化合物は結晶中に浸透して結晶中のタンパク質分子表面に結合するのである。この時, 結晶中に浸透してタンパク質に結合した重原子化合物が, 元の native 結晶の結晶格子を壊さないことが重要な点で, その場合にだけ重原子の同型置換体として, “同型置換法” に用いることができる。

図 1 に示したように, 多くのタンパク質の立体構造データが蓄積されてくると, 結晶構造を求めようとするタンパク質と類似の構造が存在する場合がでてくる。これは, 由来が異なる同じ働きのタンパク質では一般に見受けられることであるし, その場合を含めて, 一次構造を比較すれば, その立体構造の類似性を十分に高い確率で推測することもできる。また, 進化の過程では, 新しいタンパク質は, それまでに存在する機能的かつ合理的な構造をとっている古いタンパク質の改造でつくられていることが多いといえる。これは進化において, 立体構造の保存性が一次構造の保存性を上回っているという現象を示してきた。一次構造に顕著な類似性が観測されなくとも, その立体構造には明らかな相同性がある, すなわち, 一次構造の類似性を

はるかに超えて、立体構造が相同なタンパク質が存在する例は極めて多く見いだされている。したがって、そのような構造に類似性があるタンパク質が存在する場合には、分子置換法 (MR 法) と呼ばれる、類似の構造を最初のモデルにしてターゲットの結晶構造を解く、つまり、その位相問題を解決するという方法が可能になる。

このように位相問題を解決することができれば、結晶内の電子密度分布を手に入れることになる。電子密度のかたちは、そこに存在する分子の形状を反映することになり、これに分子モデルを構築することが可能になる。近年のコンピュータの進歩の中でも、高性能のグラフィックスワークステーションの汎用化が、この作業の困難さを軽減することに大きく貢献した。この時、妥当な分子モデルが構築できる電子密度を得るためには (これにはもちろん先に述べた位相がどれくらい正確に決まったかに大きく左右されるのだが)、分解能 (測定された反射の最少の面間隔) としては、一般的には 3.0 \AA 程度が必要であると考えられる。

分子モデルが構築されると、これから各原子の座標を求めることができる。これから結晶の回折強度データに相当する構造因子の絶対値 (構造振幅) を計算で求めることができる。これを最小自乗法によって測定された実測の値に近づけるように、分子モデルの精密化を行う。最終的には計算値と実測値の一致の程度を R 因子で評価する。これが十分に高い精度であることを確認して、結晶構造の決定は完了する。

3. タンパク質結晶学の近年の進展

1950年代終わりに成し遂げられた Kendrew と Perutz によるミオグロビンおよびヘモグロビンの結晶構造解析の成功がタンパク質結晶学の歴史の始まりであるが、その後の長い間、多くの困難が伴い長い期間を要する研究方法であるという感が常につきまとった。そのため、タンパク質の機能理解における立体構造の重要性にもかかわらず、生命科学の分野において、立体構造に立脚した研究は遅れをとらざるを得なかった。タンパク質の三次元構造を知ることには、一種の大きな障壁が長年存在したのである。

この状況が1990年代に入って大きく変化したことは、先にタンパク質データバンクの立体構造数で示した (図1)。このような X 線結晶解析による構造決定の急成長をもたらした直接的な原因には、大きく2つのことが考えられる。1つは遺伝子工学の進歩であり、他の1つはシンクロトロン放射光の汎用的な利用である。タンパク質結晶化のためには十分に精製されたタンパク質標品を、他の物理化学的な測定法に比して極めて多量に必要とする。遺伝子工学の技術は、生体内で極めて重要な役割をしているにもかかわらず、本来細胞内の存在量が少ないがゆえに、それまで X 線結晶学の対象になり得なかったタンパク質を量的に確保し、その結晶化と立体構造決定を可能にした。

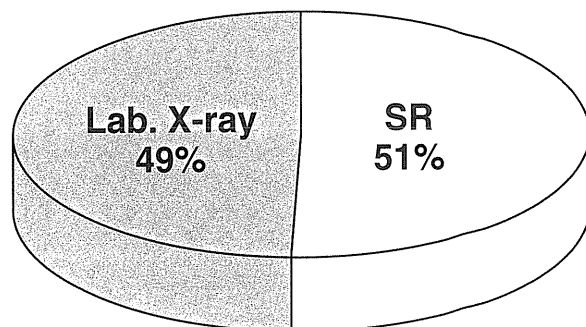


Figure 3. Statistics for the X-ray source used in protein crystallography on the basis of papers of protein structure determination appeared in four journals, Nature, Science, Nature Structural Biology and Structure published in 1996. Lab. X-ray: laboratory source X-rays, SR: synchrotron radiation.

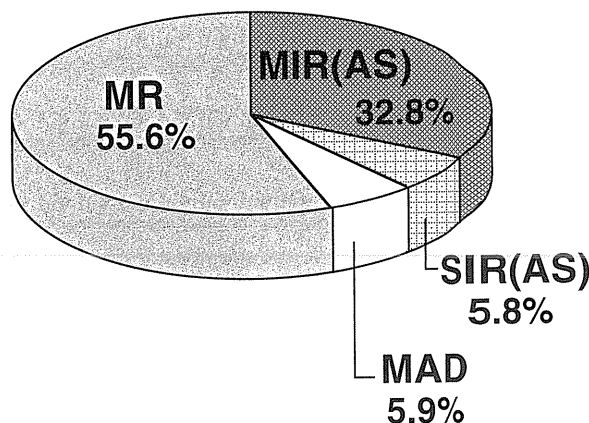


Figure 4. Statistics for the phase determination method used in protein crystallography in four journals, Nature, Science, Nature Structural Biology and Structure published in 1996. MIR (AS): multiple isomorphous replacement method including the case where the anomalous scattering is taken into consideration in the measurement, SIR (AS): single isomorphous replacement method, MAD: multi-wavelength anomalous dispersion method.

一般的に大きなタンパク質の結晶をつくることはたやすいことではないが、シンクロトロン放射光は、実験室系の X 線では有為な回折強度を測定できない微小結晶からの高精度の測定を可能にし、また概して X 線の損傷を受けやすいタンパク質結晶に対して、致命的な損傷を受ける前に迅速に測定を完了することも可能にしたのである。図3には1996年に発刊された4種の主要なジャーナルにおける結晶構造の報告で、どのような X 線源が使われて構造解析が行われたかという統計をとったものである。報告の半分以上がシンクロトロン放射光によるものであるという結果は、ほとんどの研究者がその利用のためにはタンパク質結晶を持ち運ぶ旅行を強いられるというその立地的な条件を考えると、現在いかにシンクロトロン放射光がこの分野で汎用的なものになったかということを実に表している。

さらに、シンクロトロン放射光の利用と遺伝子工学との融合をもたらした進歩として、多波長異常分散法 (MAD法) による位相決定をあげることができる。すでに述べたように、新規のタンパク質の位相決定には、従来、複数の重原子誘導体結晶を調製する重原子多重同型置換法が唯一のものであった。しかし、波長可変なシンクロトロン放射光の出現は、この状況を大きく変え、結晶構造解析にとっての一つの大きな障壁を低くすることになった。シンクロトロン放射光を利用して、測定に用いる波長を自由に選ぶことによって、異常分散効果を最も効率的に測定することが可能になる。また、遺伝子工学の技術を用いて、大腸菌のメチオニン要求株に目的タンパク質の発現系を作り、メチオニンの代わりにセレンメチオニンを含んだ培地でこれを培養することによって、タンパク質内のメチオニンのイオウ原子をセレン原子に置き換えたセレンメチオニンタンパク質を調製することもできるようになった。そのセレンの回折データを異常分散効果を効率的に検出する複数の波長で測定して、位相決定へと導くのが多波長異常分散法である。セレンメチオニンタンパク質を用いるこの方法では、ただ一つの結晶だけを測定に用いることで、結晶の同型性が損なわれる危惧を全く排除して、質の高い電子密度図を得ることができる。図4には、図3と同じく1996年発行のジャーナルでの統計で、どのような方法が「構造を解く」ということに用いられたかが示されている。これを見ると、まず、立体構造の解析例の蓄積は、分子置換法による位相決定を過半数にしていることがわかる。さらに、未知の新しいタンパク質の解析の場合、これまでの重原子多重同型置換法に加えて、異常分散効果の測定を必須とする単一同型置換法や上に述べた多波長異常分散法の割合が増加している。多重同型置換法の場合でも、用いる重原子誘導体の金属原子の異常分散効果が最も有効に測定できる波長を用いることもごく一般的に行われるようになっている。このことを含めて、シンクロトロン放射光は、結晶構造解析の困難な問題であった位相決定に、大きな解決の糸口を提供した。

このように、遺伝子工学の進歩とともに、シンクロトロン放射光の汎用的な利用が、タンパク質結晶学の飛躍的な進歩を導き¹⁰⁾、ひいては「構造生物学」という学問分野の認識を高めたのである。

4. タンパク質結晶学のさらなる飛躍

タンパク質結晶学の分野における今後の構造生物学研究のターゲットとしては、まず、超分子タンパク質複合体の構造決定をあげることができる。すでに述べたようにタンパク質結晶学は、このような巨大分子量の複合体の原子レベルの構造決定に極めて有利で、最も強力な方法である。生体超分子複合体は、複数のタンパク質サブユニットが会合して、より高度な機能を発現する。すでに20年以上も前のことになるウィルス結晶学の始まりは、このような超

分子の会合構造とそれから導かれる新たな機能が、この分野での研究対象となったきっかけであると思われる。近年の立体構造研究の成果に呼応するように、この数年はこのような超分子複合体の立体構造解析の大ラッシュであった。1994年8月にはウシ心筋ミトコンドリアのATP合成酵素¹²⁾、同じく10月には大腸菌のシャペロニンであるGroEL¹³⁾の構造が決められた。ATP合成酵素は文字どおり我々の生命エネルギーであるATPを生産するもので、9つのサブユニットからなり分子量は30数万である。シャペロニンは他のタンパク質の折れたたみを触媒するタンパク質で、等しい14個のサブユニットからなり分子量は80万を越える。いずれも生体内反応の鍵を握る極めて重要な超分子複合体である。1995年4月には古細菌のプロテアソーム¹⁴⁾の構造が決められ、驚くべきことにその分子構築と形状はシャペロニンのそれに極めてよく似ていることがわかった。プロテアソームは不要になったタンパク質を分解するというタンパク質分子の終焉に関与する複合体であるが、これが合成されたタンパク質が正しく立体構造を形成するのを助ける、すなわち、生まれたばかりのタンパ

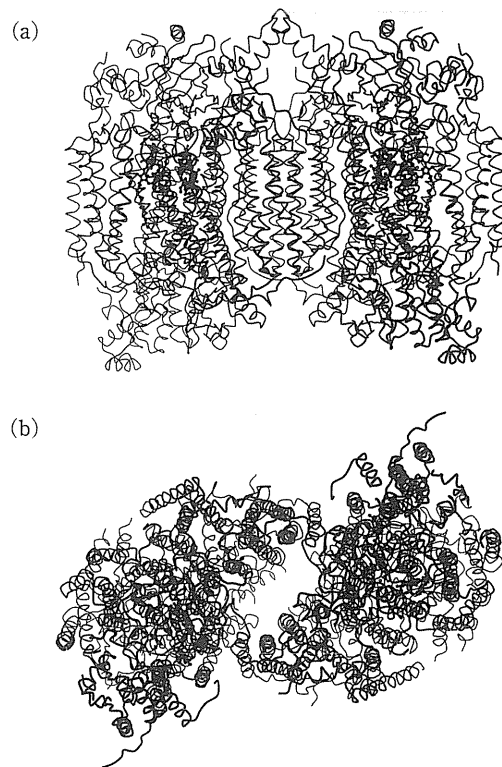


Figure 5. Three-dimensional structure of bovine heart cytochrome c oxidase¹⁴⁾. (a) A view of the dimeric structure composed of 13 protein subunits in its monomer with a non-crystallographic 2-fold axis (vertical). Many α -helices are components of the membrane part of the complex. Metal cofactors are bound in the subunit I which is located in the central part of the monomer. (b) A different view (90° rotation around the horizontal line of the figure (a)) showing two monomers at the left and right sides. Both figures were drawn by the PDB coordinates (1OCC).

ク質の生育にかかわる複合体と構造上よく似ているということは、生命の誕生と死についての自然の運命的な支配のようなものさえ感じさせる。さらに1995年8月には、呼吸鎖の末端に位置してエネルギー変換に重要な働きをする酵素、チトクロムc酸化酵素の構造決定が日独でそれぞれ独立に発表された（前者はウシ心筋ミトコンドリア由来¹⁵⁾、後者は土壌細菌由来¹⁶⁾）。図5に13のサブユニットをもつ膜タンパク質複合体であるウシ心筋ミトコンドリア由来のチトクロムc酸化酵素の立体構造を示す¹⁵⁾。同じく1995年4月に報告された光合成細菌の集光性アンテナ複合体¹⁷⁾と同様、生体膜中に存在する完全な膜タンパク質であり、膜タンパク質の構造生物学の今後のさらなる重要性を示唆している。すでに10年以上前になる光合成反応中心複合体における構造解析の成功¹⁸⁾、その後のポリリンの構造決定^{19,20)}に続いて、これらの膜タンパク質複合体の構造が明らかになったことは、基本的には複雑な複合体構造をとり、かつその結晶化に大きな困難が伴う膜タンパク質への挑戦が、たゆまなく続いていることを示すものである。その後もこのような超分子（膜）タンパク質複合体の結晶構造決定は着実に進行している。その主なものだけを紹介すると、ラン色細菌の光化学系I複合体²¹⁾、 α -ヘモリシン²²⁾、複数の種由来のチトクロムbc₁複合体^{23,24)}、酵母由来のプロテアソーム（古細菌のものとは異なりヘテロな複合体構成をとっている）²⁵⁾、大腸菌のシャペロニンGroELとその補シャペロニンGroESとの複合体²⁶⁾、タンパク質と二重らせんDNAとの複合体であるヌクレオソーム・コア²⁷⁾、高度好塩菌のバクテリオロドプシン²⁸⁾、カリウムチャンネル²⁹⁾、古細菌のシャペロニン³⁰⁾など多くの例がある。決定できる分子の大きさに制限なく原子レベルでの三次元構造が得られるX線結晶学では、膜タンパク質を含む巨大分子複合体における超分子機構の解明、超分子が関与する生体触媒反応機構の解明こそ、その有効性を最大に示すことができるものであると考えられる。

5. おわりに

構造生物学における超分子タンパク質複合体の構造が現代の科学において大きな注目の的であることは、超分子複合体のX線結晶構造解析の成果に対して2つのノーベル賞が授与されたことから窺うことができる。すなわち、1988年には図6に示す光合成反応中心複合体の構造決定¹⁸⁾に対してJ. Deisenhofer, H. Michel, R. Huberに、昨年1997年にはATP合成酵素の構造決定¹²⁾に対してJ. E. Walker (P. D. Boyer, J. C. Skou への共同授賞)に、それぞれ化学賞が授与されている。このWalkerらの受賞に関して「タンパク質結晶学における放射光利用とノーベル賞」と題した本誌への短文³¹⁾で、我が国の放射光施設におけるタンパク質結晶解析のためのビームタイムの現状も合わせて簡単に紹介したので、ご参照いただければ幸いである。ここでの重複は避けるが、フォトンファクトリーのタ

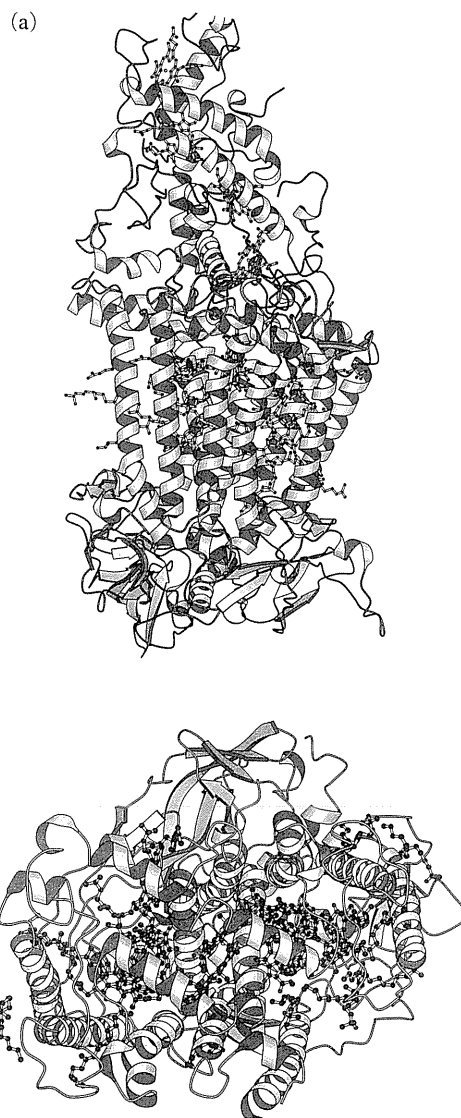


Figure 6. Three-dimensional structure of the reaction center from a photosynthetic bacterium, *Rhodospseudomonas viridis*¹⁸⁾. (a) A view of the structure where transmembrane α -helices of L and M subunits are located in the central part, whereas cytochrome and H subunits are at the top and bottom parts, respectively. Photosynthetic pigments such as bacteriochlorophylls and quinones are associated with the central L and M subunits. (b) A top view (90° rotation around the horizontal line of the figure (a)). Both figure was drawn by the PDB coordinates (1PRC).

ンパク質結晶学のビームラインの極めて重要な貢献はここでも申し添えたい。図7には、図3、図4と同様に、1996年発行のジャーナルの統計によるタンパク質結晶構造解析に用いられたシンクロトロン放射光施設を示している。これまでに高い評価を裏付けるように、フォトンファクトリーのビームラインが、その評価どおりの貢献をしているのが伺える。この時点ですでに、第三世代放射光であるESRFが出現しているが、これに加えて、我が国でも、第三世代の大型シンクロトロン放射光SPring-8が昨春秋に稼働し始めた。ここでのタンパク質結晶学のビームライ

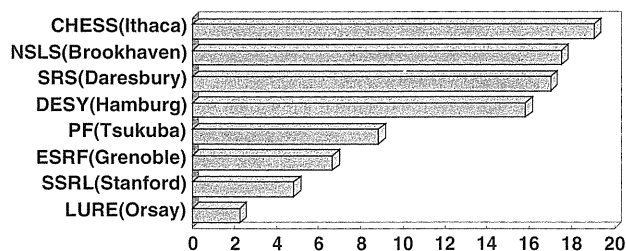


Figure 7. Statistics for synchrotron facilities used in protein crystallography in four journals, Nature, Science, Nature Structural Biology and Structure published in 1996.

ンも順調な立ち上がりを見せている。さらに、これまで静的構造を対象としてきたタンパク質結晶学に対して、時間分割ラウエ法によって生体内化学反応の動的解析に道を開き、将来への大きな夢をもたらすことも可能であろう。今後、タンパク質結晶学による構造生物学研究にますます拍車がかかることが期待できる。

図の作成と統計に協力して下さった京都大学大学院理学研究科の喜田昭子博士、大学院生の北野 健、禾 晃和、藤橋雅宏の諸氏に感謝する。なお、本内容の一部は、「高輝度放射光がめざす戦略的应用研究—Technology Vision SR 2010—(尾嶋正治, 太田俊明, 神谷幸秀編著)」(東京大学 VSX 高輝度光源利用者懇談会・WORDS)に記載したものの改編を含んでいる。

参考文献

- 1) 例えば, B. Alberts, D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts and J. D. Watson: *Molecular Biology of the Cell*, Third Edition, Garland (1994) (邦訳, 中村, 藤山, 松原 監訳, 細胞の分子生物学, 第3版, 教育社, 1995).
- 2) A. McPherson: *Preparation and Analysis of Protein Crystals*, John Wiley (1982).
- 3) A. Ducruix and R. Giege: *Crystallization of Nucleic Acids and Proteins, A Practical Approach*, Oxford University Press (1992).
- 4) H. Michel, Ed.: *Crystallization of Membrane Proteins*, CRC Press (1991).
- 5) T. L. Blundell and L. N. Johnson: *Protein Crystallography*, Academic Press (1976).
- 6) H. W. Wyckoff, C. H. W. Hirs and S. N. Timasheff (eds.): *Diffraction Methods for Biological Macromolecules, Parts A and B, Methods in Enzymology, Vols. 114 and 115*, Academic Press (1985).
- 7) D. E. McRee: *Practical Protein Crystallography*, Academic Press (1993).
- 8) J. Drenth: *Principles of Protein X-ray Crystallography*, Springer (1994).
- 9) C. W. Carter, Jr. and R. M. Sweet (eds.): *Macromolecular Crystallography, Parts A and B, Methods in Enzymology, Vols. 276 and 277*, Academic Press (1997).
- 10) J. R. Helliwell: *Macromolecular Crystallography with Synchrotron Radiation*, Cambridge University Press (1992).
- 11) A. McPherson: *Methods in Enzymology*, **114** (see ref. 6), 112 (1985).
- 12) J. P. Abrahams, A. G. W. Leslie, R. Lutter and J. E. Walker: *Nature*, **370**, 621 (1994).
- 13) K. Braig, Z. Otwinowski, R. Hegde, D. C. Boisvert, A. Joachimiak, A. L. Horwich and P. B. Sigler: *Nature*, **371**, 578 (1994).
- 14) J. Löwe, D. Stock, B. Jap, P. Zwickl, W. Baumeister and R. Huber: *Science*, **268**, 533 (1995).
- 15) T. Tsukihara, H. Aoyama, E. Yamashita, T. Tomizaki, H. Yamaguchi, K. Shinzawa-Itoh, R. Nakashima, R. Yaono and S. Yoshikawa: *Science*, **269**, 1069 (1995).
- 16) S. Iwata, C. Ostermeier, B. Ludwig and H. Michel: *Nature*, **376**, 660 (1995).
- 17) G. McDermott, S. M. Prince, A. A. Freer, A. M. Hawthornthwaite-Lawless, M. Z. Papiz, R. J. Cogdell and N. W. Isaacs: *Nature*, **374**, 517 (1995).
- 18) J. Deisenhofer, O. Epp, K. Miki, R. Huber and H. Michel: *Nature*, **318**, 618 (1985).
- 19) M. S. Weiss, U. Abele, J. Weckesser, W. Welte, E. Schiltz and G. E. Schulz: *Science*, **254**, 1627 (1991).
- 20) S. W. Cowan, T. Schirmer, G. Rummel, M. Steiert, R. Ghosh, R. A. Paupit, J. N. Jansonius and J. P. Rosenbusch: *Nature*, **358**, 727 (1992).
- 21) N. Krauß, W. Hinrichs, I. Witt, P. Fromme, W. Pritzkow, Z. Dauter, Ch. Betzel, K. S. Wilson, H. T. Witt and W. Saenger: *Nature*, **361**, 326 (1993).
- 22) L. Song, M. R. Hobaugh, C. Shustak, S. Cheley, H. Bayley and J. E. Gouaux: *Science*, **274**, 1859 (1996).
- 23) D. Xia, C.-A. Yu, H. Kim, J.-Z. Xia, A. M. Kachurin, L. Zhang, L. Yu and J. Deisenhofer: *Science*, **277**, 60 (1997).
- 24) Z. Zhang, L. Huang, V. M. Shulmeister, Y.-I. Chi, K. K. Kim., L.-W. Hung, A. R. Croft, E. A. Berry and S.-H. Kim: *Nature*, **392**, 677 (1998).
- 25) M. Groll, L. Ditzel, J. Löwe, D. Stock, M. Bochtler, H. D. Bartunik and R. Huber: *Nature*, **386**, 463 (1997).
- 26) Z. Xu, A. L. Horwich and P. Sigler: *Nature*, **388**, 741 (1997).
- 27) K. Luger, A. W. Mäder, R. K. Richmond, D. F. Sargent and T. J. Richmond: *Nature*, **389**, 251 (1997).
- 28) E. Pebay-Peyroula, G. Rummel, J. P. Rosenbusch and E. M. Landau: *Science*, **277**, 1676 (1997).
- 29) D. A. Doyle, J. M. Cabral, R. A. Pfuetzner, A. Kuo, J. M. Gulbis, S. L. Cohen, B. T. Chait and R. MacKinnon: *Science*, **280**, 69 (1998).
- 30) L. Ditzel, J. Löwe, D. Stock, K.-O. Stetter, H. Huber, R. Huber and S. Steinbacher, *Cell.*, **93**, 125 (1998).
- 31) 三木邦夫: *放射光*, **11**, 48 (1998).