

N

祝 2008ノーベル化学賞受賞

研究の原点は、 長崎大学にある。

しもむら ちかお
下村 脩 博士

細胞の「標識」となつてタンパク質などの動きを観察できる

緑色蛍光タンパク質(GFP)を使った技術は、

今や世界中の研究室で欠かせない「道具」になっています。

そのGFPの発見で、

2008年のノーベル化学賞を受賞した下村先生。

若き日、研究者として歩むきっかけとなつたのが、

長崎医科大学附属薬学専門部(現長崎大学薬学部)への入学でした。

原爆の惨禍、戦後の混乱期を乗り越え、

日本、そしてアメリカで地道な実験を重ねた日々。

そして、オワンクラゲから発光タンパク質イクオリンを発見し、

GFPを抽出した経緯など、

一昨年、長崎大学での講演で語られた研究一筋の半生をご紹介します。

G.L.P. : Green Fluorescent Protein



プロフィール

1928年京都府生まれ。1951年長崎医科大学附属薬学専門部(現長崎大学薬学部)卒業。1960年フルブライト留学生としてアメリカに渡り、プリンストン大学で研究員として3年間過ごす。名古屋大学助教授、プリンストン大学上席研究員、ボストン大学客員教授などを経て、1983~2001年ウッズホール海洋生物学研究所上席研究員。現在、マサチューセッツ州の自宅で研究を続けている。

発光生物の研究 ～半世紀の歩み～

下村：私がどのようにしてオウゴンクラゲの研究をはじめ、イクオリンとGFPを発見し、現在のGFP隆盛の時代に至ったかを顧みずと、それは偶然の出来事や幸運の重なり、人びとの好意や援助、それにサイエンスの進歩、特に遺伝子学の進歩などによるもので、それらの事情がわずかでも違っていたら、イクオリンとGFPは現在、知られていないと思います。ひと口に言いますと、まったく奇跡的な幸運でありました。

研究の道を決定付けた 長崎医科大学附属薬学専門部

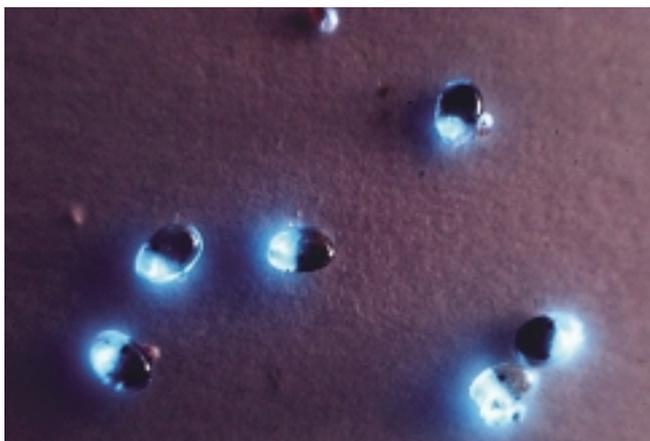
幼い頃、家族は軍人だった父親に従い、各地を転々とした。旧制中学時代には両親の美家のある長崎県で過ごし、16才のとき原爆を体験する。

話は63年前に遡ります。1945年8月9日、長崎に原爆が落ち、8月15日に戦争が終わりました。私は当時、諫早中学5年生で、学徒動員で長崎市から少し離れた諫早郊外にあった海軍の飛行機エンジン修理工場で働かされておりました。長崎の工場に動員されていた同級生の多くが原爆で亡くなっております。

私は終戦と同時に中学卒業となり、上の学校に行くためにいろいろ努力しましたが、どこも受け入れてくれませんでした。2年が経ち、遂方に暮らしていたところ、自宅近くに原爆で破壊された長崎医科大学附属薬学専門部(現長崎大学薬学部)の仮校舎が移って来たのです(②)。私はそこに偶然にも



①1939年、下村氏の叔母の家(佐世保)で撮られた家族写真。当時10才の下村氏(2列目右端)父(前列右から2番目)母(前列左端)(牧野美根子氏提供)



④ウミホタル(Cypridina hilgendorffii)



⑤ウミホタルルシフェリンの結晶(1956)



②原爆で破壊された長崎医科大学附属病院



③恩師、長崎大学薬学部の安永峻五教授(1911 - 1959)

受け入れてもらいました。そして、ここで学んだことが、将来の化学研究への道を決定付けたのでした。

長崎医科大学附属薬学専門部を卒業後、長崎大学薬学部(名称が変わった母校)の安永峻五教授(③)のもとで実験実習指導員を務めた。

安永先生は非常に温厚で親切な方で、4年後、私を1年間内地留学に出してくださいということになりました。安永先生と同郷山口県)で、高名な名古屋大学の分子生物学の江上不二夫先生を紹介してくださいと、このことで、安永先生とともに名古屋へまいりましたが、江上先生はあいにく出張中でした。それで同じ山口県出身の平田義正先生の有機化学研究室に挨拶に寄り、しばらくお話をしました。すると、別れ際に平田先生が、「私のところに行きましょう」とおっしゃった。安永先生は困惑されましたが、当時の私は分子生物学も有機化学も何も知らないのでもちろん構わず、これが天の指図だと思って、平田先生の研究室に行くことにしました。

ウミホタルのルシフェリンの 結晶化に成功

平田先生から与えられた仕事は、ウミホタルの発光の基であるルシフェリンの精製と結晶化でした(④)。当時の常識では、ルシフェリンの化学構造を研究するためには、まずルシフェリンの結晶化が一番良い方法でした。ウミホタルのルシフェリンは非常に酸化されやすく、プリンストン大学の学者などが20年以上前から努力していましたが成功していませんでした。私は検討した上で、物質が酸化しないよう抽出などの作業を、爆発

の危険性がある)水素ガス中で行いました。ほとんど毎日徹夜で仕事をしましたが、失敗の繰り返しでした。

そして、実験をはじめて10カ月後の1956年2月、結晶化は偶然のことから解決したのです。その前夜、相変わらず結晶をつくる努力を続けていましたが、夜10時頃には実験のアイデアがなくなっていました。まだ少量の精製したルシフェリンが残っていましたので、翌日アミノ酸分析にまわすつもりで、濃塩酸を加えました。黄色だらたルシフェリンはたちまち濃い赤に変わりました。この夜は、その溶液をそのまま実験机の上に放置して帰りました。

翌朝来てみると、暗赤色だらた溶液が無色透明に変わっていました。よく見ると、微量の黒い沈殿物が試験管の底にあつたので顕微鏡で調べました。それは赤い針状結晶で、ルシフェリンの結晶でありました⑤。

私は本当につわいしく、興奮して夜も眠れないほどでした。濃塩酸で結晶化したのは意外でしたが、成功の一因は、夜、皆が帰った後、暖房のガスストーブが切つてあり、室温が下がっていたこともありました。

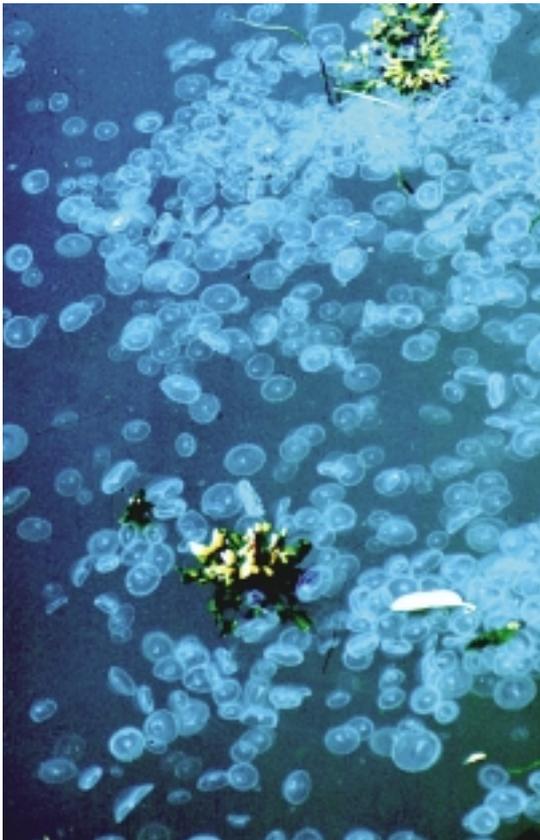
後から考えると、このときの私の最も大きな収穫は、どんな難しいことも努力すればできるという自信でした。この偶然の成功は、終戦以来、灰色であつた私の将来に光を与えたのです。

渡米、オワンクラゲの研究へ

1960年、プリンストン大学のジョンソン博士の招きで、フルブライト留学生として渡米。横浜から氷川丸の最後の航海⑥で太平洋を横断しシアトルへ。さらに3日3晩の汽車の旅で大陸を横断し、ようやくプリンストンに到着した。



⑦オワンクラゲ 学名はイクオリア・イクオリア(*Aequorea victoria*)。刺激すると傘の縁が緑色に光る。写真のオワンクラゲは直径7~10cm。



⑨実験材料のオワンクラゲは実に豊富だった。



⑧1961年、フライデーハーバー。対岸に臨海実験所が見える。生物学者の聖地と呼ばれるほど由緒ある研究所だ。



⑥1960年8月、横浜から氷川丸の最後の航海で、渡米。シアトルまで13日かかった。

ジョンソン博士は初めてお会いしたとき、オワンクラゲ⑦がどんなにたくさんいて、どんなに美しく光るかということに熱い口調で説明し、私にオワンクラゲの発光物質の研究をする気があるかと尋ねました。私はボスの言つことですが、何も反対する理由がありませんからはい、やりましょう」と返事をしました。

翌年6月にフライデーハーバー(シアトル北方の小島)のワシントン大学臨海実験所に行きました。フライデーハーバーは景色の美しい小さな漁村でした⑧。私はそこで、すぐにオワンクラゲから発光物質を抽出する実験をはじめました。実験材料のオワンクラゲは実に豊富で、研究所の桟橋の前をぞくぞくと通ります。それを手網ですくって実験に使いました⑨。

ジョンソン博士と、 気まずい雰囲気

当時、すべての生物発光は、ウミホタルのよう(ルシフェリン)と(ルシフェラーゼ(酵素)の反応で発光する)信じられていました。ジョンソン博士と私は、一生懸命それを抽出しようとしたが、どうしてもうまくいきません。そこで私は、どんな物質でもいから光る物質を抽出することにしよう」と実験方針を変える提案をしました。しかし、私の考えは理解してもらえず、結局、ジョンソン博士と私は実験台を区切って、それぞれ別の実験をすることになり、たいへん気まずい雰囲気になってしまいました。

発光物質は、発光する形が変わるため、光らなくして抽出しなければなりません。私は、実験方針に自信はありましたが、数日で行き詰まり、昼も夜も考え続けました。しばしばボートで漕ぎ出て、暖かい日差しの下で横たわり、波に揺られて考えました。

にかけて急激に発展し、イクオリンは人工的に作れるようになりました。ところが不思議なことが起きました。あれほど沢山いたフライデーハーバーのオウクラゲが完全に消え失せたのです。奇妙なタイミングの一致ですが、もしこのようなことが30年前に起きていたら、オウクラゲの化学的研究はほとんど不可能で、イクオリンとGFPは発見されなかったでしょう。

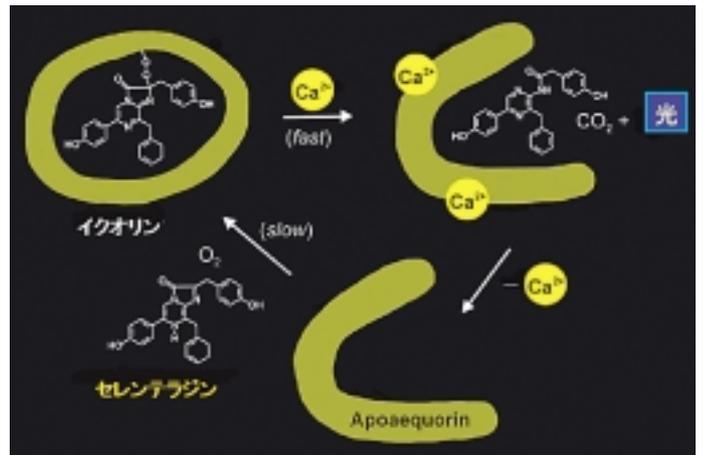
90年代に入ると、今回ノーベル賞共同受賞者であるコロンビア大学のマーティン・チャルフィー教授が、GFPを実際に細胞内に入れ、発光させることに成功。そしてカリフォルニア大学のロジャー・チェン教授は、緑色以外の色でも光る技術を開発(16)。下村先生の発見が他の研究者へ引き継がれ大きな業績へとつながった。

GFPは現在、生物学の基礎研究に不可欠な道具になっています。他の分野にも応用されており、その範囲は想像を絶する感があります(17)。

私は過去50年間、生物発光の研究をしましたが、生物発光の基礎分野は、もともと未開拓な分野であります。生物発光の応用や利用の研究をする人は、年ごとに増えていますが、生物発光がどのような化学反応で起きているかという基礎研究をする人は、この50年で徐々に減り、現在では世界に数人いるかどうかも分かりません。応用はもちろん大事ですが、基礎研究がなくては応用はあり得ません。将来の発展のために、若い人が基礎研究に目を向けてくれることを願って、私の話を終りたいと思います(18)。

本文(YFP)は、2007年10月に開催された長崎大学薬学部地域薬劑師卒業後教育研修センター講演会における下村先生の講演として長崎大学薬学部長薬同窓会会報32号(1005号)に下村先生が寄稿した「発光生物研究40年」をもとに編集しました。

検出/測定目的	GFPと蛋白または生物、方法
ハロゲンイオン	YFP
カルシウムイオン	CFP-YFP-Calmodulin (Cameleon) [FRET] YFP-Calmodulin (Camgaroo) GFP-Calmodulin (Pericam)
マルトース	BFP-YFP-マルトース結合蛋白 [FRET]
カドミウム、亜鉛	オタマジャクシ中、GFP-metallothionein promoter (マウスより)
匂い(揮発性分子)	線虫、BFP-YFP-臭覚神経蛋白 [FRET]
害虫駆除剤やサリン	バクテリア中、GFP-有機磷化合物加水分解酵素
爆薬TNT	バクテリア中、GFP-TNT分解酵素
癌細胞	GFPラベル、多種
薬のスクリーニング	GFP-バクテリアや細胞、多種
土壌中の水分不足	GFP-植物

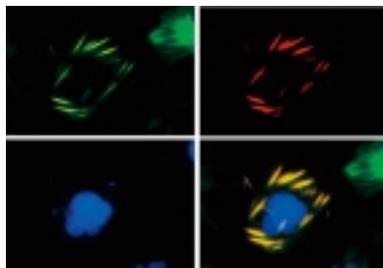


⑭イクオリンの発光と再生の模型図。イクオリンは分子量約2万の球状タンパク質で、中心にセレンテトラジンの過酸化物を持っている。カルシウムイオンが存在すると、タンパク質と結合して形が変わり、内部で化学反応が起きて青い光が出る。生成したタンパク質に、セレンテトラジンを加えると元のイクオリンに戻る。GFPは、イクオリンの青い光を受けて、緑色の蛍光を放つ。

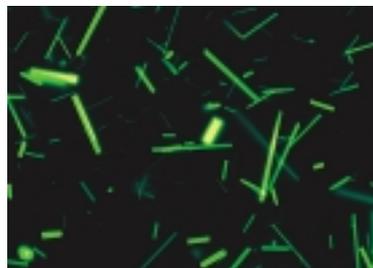
⑰GFP系蛍光タンパク質を使った種々のセンサー



⑱オウクラゲに関する研究についてまとめた下村先生の著書。本誌1ページの下村先生のサインは薬学部の同窓会に寄せたこの本に記したものです。



⑲GFPの発見以後、さまざまな色の蛍光物質が開発・利用されている。写真の緑色に光る部分がGFPによる蛍光。



⑳GFPの結晶

①⑱を除く本文中の写真や図などは、下村先生の提供です。

ノーベル賞授賞式 | in Stockholm

ノーベル賞受賞者らがサインをするという慣例がある、ノーベル博物館のカフェの椅子の座面裏。

左からマーティン・チャルフィー氏、下村先生、ロジャー・チェン氏。(授賞式前の講演会にて)

授賞式会場のコンサートホール。2008年12月10日、下村先生は化学賞のメダルと賞状を授与された。