

断想：研究の軌跡と海

左右田 健 次*

私は微生物生化学，詳しくは微生物酵素科学を専門としており，海洋とは直接，関係はありません．2008年11月，海洋化学研究所の講演会で，桑本融先生と宗林由樹先生から「私の研究と海」に関して話をするようにとのご下命がありました．非専門家の私には準備のしようもなく，心もとないままお引き受けして，「研究の軌跡と海」と題して，幾ばくかの回顧談をしました．その冷汗三斗の話を文章にするのは，さらに面映ゆい限りです．「断想」としたのは，そのためです．

しかし，ひるがえって，私の研究を回顧しますと，対象としてきた微生物，ひいては，生命は，「海」と意外に深い関係にあることに思い至ります．先ずは「生命の誕生」と「海」について記します．

生命の誕生と海：

46億年前，太陽系に宇宙塵とガスの塊として誕生した地球はやがて，衝突熱の蓄積などで何万度かの高熱になり，マグマの惑星となりました．その膨大な熱エネルギーを宇宙空間に放射して，比較的温和な様相を呈したのは40億年前といわれています．温和といっても，地表の温度は120°Cを超え，海も川も煮えたぎっていたことでしょう．この原始地球の大気成分は，CO₂，CO，N₂，H₂O（水蒸気）などから構成され，O₂はほとんど存在せず，当然，O₃もオゾン層もなく，地球表面には太陽からの強烈な

紫外線が降り注ぎ，大気成分は励起されて，反応し合いました．そして，HCHO，HCN，O=C=C=C=O（カーボンサブオキシド）などの簡単な有機化合物が生成し，これらもたがいに反応して，DL-アミノ酸，核酸塩基，糖，有機酸などが生じ，さらに反応は進んでタンパク質，RNA，DNA，多糖などのいわゆる生体高分子が生成しました．DL-アミノ酸のうち，L-エナンチオマーだけが選択的にタンパク質に取り込まれました．このようなホモキラリティーが生じた機構は十分には解明されていませんが，生命誕生に重要なステップでした．このような化学進化と呼ばれる過程で生じた種々の有機化合物は無機化合物とともに海に溶けて，高い濃度になり，高分子化合物の凝集力などによって，ドロドロした原始スープになりました．これから，さらにコアセルベート（液滴）が形成され，内部と外界を隔てる膜ができました．このような生体成分を含んだコアセルベートが何千万年，何億年の間に体制化され，一定の方向に秩序正しく動き出した，つまり代謝が始まったのが，生命の誕生といわれています．

このようにして，生命が生じたのは，紫外線が適度に吸収された浅い海あるいは地熱のエネルギーの供給される海底の熱水噴出孔域とも，さらに紫外線が適度に入り，界面活性の影響も受ける浅海の岩石の微細な割れ目とも言われています．いずれにしても，生命には水が絶対に必要ですから，原始スープを含み，強い紫外線

*京都大学名誉教授

を減衰してくれる海のどこかが誕生の場であることは確かです。陸上では、たとえ生命が生まれても、強い紫外線によって、すぐに死滅した筈です。海水と生体の成分が似ているという素朴な説明も一つの根拠といえるでしょう。このような生命の誕生の道筋、特に化学進化の過程は、実験によってある程度証明されている上に、科学的演繹によってもかなり支持されています。

最初の生命は120°C以上の海で生まれましたから、現在の好熱性細菌に近い存在であり、DNA解析からも最古の生物は好熱性細菌といわれています。原始生物はもっぱら安全な海の中で生活し、進化を続けて、今から23億年ほど前に太陽のエネルギーを直接利用する光合成細菌が現れ、水とCO₂から糖などを合成し、O₂を放出するようになりました。無酸素に近かった地球表面に、O₂がしだいに充満して、それにつれて活性酸素が作られると、ほとんどの原始微生物はその毒性のために死滅したといわれています。しかし、細胞内にスーパーオキシドジスムターゼやカタラーゼを作って、活性酸素毒性を消去する能力をもった細菌が現れ、再び進化が続けられました。さらに、O₂を積極的に利用し、能率よく生命活動を行う好気性生物も現れ、多数派になりました。O₂からO₃が作られ、オゾン層が形成されて、紫外線が吸収されるようになると、体表面を殻や毛で覆って紫外線を防御する生物が現れ、陸地上がって生育するようになりました。そして、直接、間接に太陽エネルギーとO₂を利用しつつ、生存圏を広げて進化を続け、40億年の栄枯盛衰の果てに現在の地球には3千万種を越す生物が生存しているそうです。さて、生命と海の関係の話はこれくらいにして、私自身の研究と海との接点のいくつか記します。

微生物との出会い

このように最初の生命として地球に生まれた細菌が進化を続けた結果、20億年ほど前に、細胞液中にDNAが浮遊しているような原核生物（広い意味の細菌）から核膜で囲まれた真核生物が現れてきました。酵母とカビです。これらが元になって、数々の真核生物が現れ、今、人類はその進化の頂点に立っているのです。さて、私の生家は愛知県の東南部、三河の田舎で3百年あまり続いた作り酒屋でした。左右田という苗字は生家のあたりに集中して多く、他は東京に見られます。1590年、徳川家康は豊臣秀吉の命により、三河から江戸に移りました。その折、選抜をして優秀な家来を江戸に連れて行きました。旗本八万騎などと呼ばれる普代の臣です。しかし、私の先祖は、おそらく選抜試験に落ちて田舎で酒を作ることになったのでしょう。

日本酒はまず、蒸米を麴カビのアミラーゼで加水分解して糖を生成し、これに乳酸菌などが働いた後、酵母 *Saccharomyces cerevisiae* がアルコール発酵を起こして造られます。私は生まれながらにして、海で誕生した微生物の3つの代表であるカビ、細菌、酵母の活動する環境で育ったといえます。高校時代、父は私に酒販売の商業を学ばせようとして、商学部か、経済学部に進むように勧めました。家業から離れたい下心を持っていた私は、得意でもない自然科学を志望しました。これには、高校時代の恩師で化学を教えていただいた村瀬重夫先生の影響もありました。村瀬先生は私たち高校生にNoyesの英文テキストをガリ版で刷って定性分析の実験を教えられ、石橋雅義「基礎定量分析法」上、下（富山房）を買うように勧められました。さて、両親との妥協の産物として、酒造の中心地である伏見、灘に近い京都大学の農芸化学科で発酵化学を学ぶことに決めました。

一方、中学時代から登山部に所属していた私にとって、今西錦司、桑原武夫、西堀栄三郎、酒戸弥二郎などの活躍した京都大学や三高の山岳部はまぶしいほどの存在でしたから、その魅力の方が大きかったかも知れません。

最初の研究と海

私が京都大学に入ったのは、昭和27年（1952年）。まだ、戦後の名残が食糧不足の形で残っていました。教養部では、今西錦司先生の「文化人類学」、松平千秋先生の「ギリシャ文学入門」、吉川幸次郎先生の「中国文学入門」など、魅力的な講義を聴くことができましたが、山岳部はさらに魅力的でした。2年後に、専門の農芸化学科に進み、醸造学・発酵生理学の片桐英郎先生の研究室に入りました。卒業研究は「界面活性剤による不溶性タンパク質の可溶化」という界面化学に近いテーマで面食しました。片桐先生は応用微生物学の研究者ながら、物理化学的な面にも関心が強く、世界で最初に酵素的ラセミ化を発見して学士院賞を与えられています。大学院に進みますと、一転して微生物のアミノ基転移酵素の研究をすることになりました。微生物の酵素が対象ですが、酒造りにはあまり関係がなく、生化学の色濃い研究課題でし

た。直接の指導者、栃倉辰六郎先生（現・名誉教授）もまた、新潟県長岡の造り酒屋のご出身でありながら、微生物生化学の研究者でありました。当時の京大は自由というか、いい加減というか、農芸化学科で基礎生化学や有機化学などの研究が中心に行われ、林産化学研究室の館勇先生のグループは電気分析のポーラログラフイーの研究が主体でした。他方、理学部の生化学研究室では稲の病気、茶のテアニンや真珠の研究といった実学の研究が行われていました。私は相変わらず、登山に明け暮れしながら、いろいろな微生物から酵素を単離して、酵素活性を測り、性質を調べました。栃倉先生を通じ、当時の千葉大学腐敗研究所相磯先生が深海魚の鱗から単離された *Flavobacterium lutescens* という黄色細菌を分与して頂き、この細胞にアミノ酸のリジンのアミノ基を α -ケトグルタル酸に転移して、グルタミン酸と未知の化合物を生成する酵素反応を見いだしました。この酵素はリジンの2個のアミノ基のうち、末端の ϵ -アミノ基を特異的に転移する新酵素であり、リジン ϵ -アミノトランスフェラーゼと命名して、性質も調べて英語論文にしました。この酵素反応では図1に示すように、リジンの末端アミノ基が転移してアルデヒドに変化した生産物が、

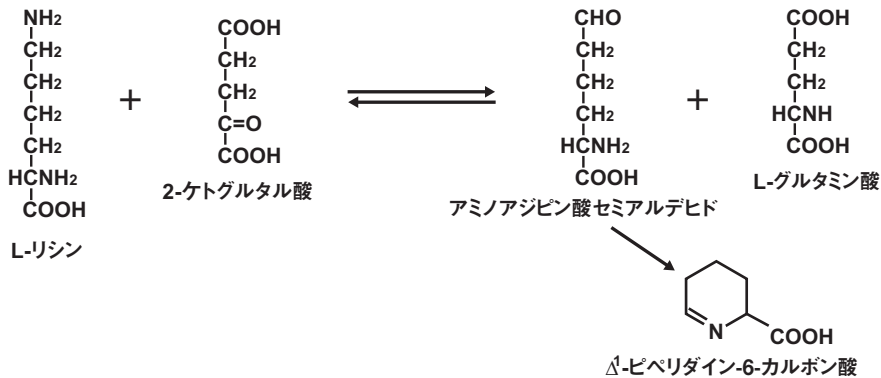


図1：リジン ϵ -アミノトランスフェラーゼの反応式

α -アミノ基とアルデヒドの間の非酵素的な分子内求核攻撃によって脱水閉環して、 β -ピペリダイン-6-カルボン酸を生成します。普通のアミノ基転移酵素反応では、平衡はほぼ、1 : 1 で反応は可逆ですが、この酵素の反応では、不可逆に近い点に大きな特色があります。

駆け出し研究者として

この酵素は、その後、外国の人たちも含め、多くの人がいろいろな微生物を使って調べましたが、結局、不思議なことにこの深海の細菌だけに存在することが実証されました。登山熱に浮かれていた私が、このユニークな酵素を発見したのは、幸運であったと思います。本酵素は今も、抗生物質の原料などの工業生産に米国と国内の製薬会社によって利用されていますが、当時の私にはそのような応用への先見性も知識もなく、特許出願などは念頭にありませんでした。1957年、国際酵素化学シンポジウムが日本で最初の生化学分野での国際会議として、前半が東京の学士会館で、後半は舞台を京都に移して京大で開かれました。論文で名前を知っている著名な海外の研究者の講演を身近で聴けたのは大きな刺激になりました。ちょうど、この頃は近代生化学の勃興期といえる時期に当たり、分子生物学の根幹を築いたクリック、ワトソン、

ウィルキンスのDNAの2重らせん構造が提案され、酵素の構造や反応機構なども解明され始めました。微生物酵素の研究がまとまって、学位をとり、片桐先生の後任として武田薬品工業の研究所から新しく教授として来られた緒方浩一先生の研究室の助手になりました。片桐先生のお弟子さんではありますが、民間の会社で過ごされた緒方先生は広い視野も持ち、スケールの大きな方でした。

私の研究が少し世間の関心を惹いたのか、1963年、アミノ酸生化学の世界的中心と目されていた米国ボストンのタフツ大学医学部生化学教室のA.マイスター先生の研究室で研究する機会が与えられました。マイスター研究室では、アスパラギン酸を脱炭酸してアラニンを精製する酵素が、硫黄アナログであるシステインスルフィン酸のスルフィン酸基を脱離する新しい反応(図2)を見いだして、酵素の性質を解明しました。一つ論文を書いた後、当時、流行し始めたタンパク質の生合成の化学的面の研究に従事しました。マイスター先生は医学部出身の生化学者でありながら、有機化学と分析化学に強い関心を持ち、その研究の進め方に私はかなり影響を受けたと思います。ボストンはハーバート大学、MIT、タフツ大学、ボストン大学やいろいろな研究所が集まる米国きっての学術の

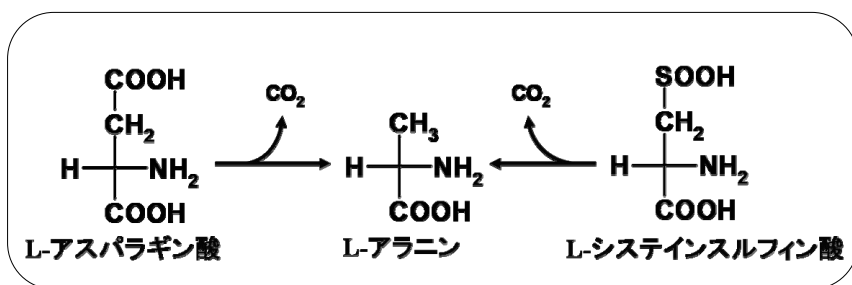


図2：アスパラギン酸デカルボキシラーゼ反応とシステインスルフィン酸のスルフィン酸基脱離反応

街です。チャールズ川がゆったりとボストン湾に注いでおり、ヨットに乗ったり、マサチューセッツ州の北に連なるジョックロワ山やワシントン山などに登ったりしました。米国建国の史跡とともに自然にも恵まれたニューイングランドの街であり、幾人かの生涯の友人知己を得たのは幸いでした。1964年夏、ボストン滞在中、ニューヨークで第6回国際生化学連合会議が開かれ、京大医化学の早石修先生が千人を越す聴衆を前にして素晴らしい特別講演をされ、日本の生化学も国際的な舞台で注目される時代になったことを実感しました。

化学研究所での研究

その年の秋、東京オリンピックが開催され、翌年、朝永振一郎先生がノーベル賞を受賞されました。2年ぶりに帰国し、化学研究所微生物生化学研究部門に移りました。京大の化学研究所は1926年に創設され、当初から学際的な研究室構成になっていて、放射化学研究部門には重松恒信先生が海洋化学にも関係の深い分析化学を研究しておられました。私は化学研究所に移って暫くは、もっぱら微生物酵素の分子レベルの研究を続け、特に海洋化学に関係した研究はしていません。ただ、先にふれた深海由来の細菌のリジンε-アミノトランスフェラーゼは帰国後も中心テーマの一つとして構造や反応機構、酵素的分析への応用などを研究し、その成果は3人の大学院生の学位論文として結実しました。1983年、フランス外務省から招聘されて、たまたまフランスから研究に来ていたパトリック・ショカ君と一緒に、3週間余りフランス各地の大学や研究所を回りました。外務省が先に手配してくれているので、パリから遠いナント、マルセユ、カルカソンヌなどを訪れても、丁重な扱いを受け、快適な旅を楽しみながら、多く

の研究者と酵素や微生物を論じる日々を送りました。ショカ君はポリテクニク出身の俊秀であり、1時間でも日本語で講演できる研究者でしたから、私にとって、またとない同行者であり、通訳でありました。南仏旅行の途中、サントロペからモナコに入り、有名な海洋博物館を訪れました。代々の国王が、航海と海洋学に堪能であっただけに、充実した数々の所藏品と親切な展示は印象的でした。館員の一人が私たちの深海由来の細菌酵素の研究に関心を持ってくれ、歓談しました。

米国、サンディエゴでの国際シンポジウムの折に訪問したスクリップス海洋研究所の施設や水族館も印象に残っています。さらに後年、ハワイ島の海に近い溶岩台地にある深海科学研究所を訪れ、室戸の同種の研究所と比べて、規模が大きく、総合的に深海水を研究しているのに驚きました。深海水と表面水との温度差を利用して大規模に発電を行い、余剰電力を電力会社に供給しており、深海の各化学種を連続的に分析し、魚類、貝類、藻類を培養していました。この研究所や台湾南端にある海洋研究所を含め、当時は深海の微生物、特に分子レベルでの研究を進めているところは、ほとんどありませんでした。そのうち、高温あるいは低温でしか生育できない微生物の酵素を対象にするようになり、極限微生物の酵素の研究に関する海外の学会に出たり、シンポジウムに招かれました。海洋微生物学の時代がはじまったのです。ニュージーランドのハミルトンで開催された極限微生物のシンポジウムに出た折に訪れたこの地の大学に、当時としては珍しい極限性微生物や酵素の研究センターが設置され、欧米からの研究者も交えて組織的に研究が行われている状況は印象的でした。学会の企画したエクスカッションに参加して「サーマルバレー」という名前の好熱

の渓谷を訪れました。小道に沿って流れる谷の水は55℃で、その中には熱に強い藻や水草も生えていました。渓谷の中ほどにある湖は75℃の湯をたたえ、湯気が立っていました。用意の良い研究者たちは、長柄の採取器を使って、この高熱の湖水を魔法瓶にとり、好熱細菌の単離に使っていました。

高い温度に弱いのは、生物の通性の一つです。ライオンやワニのような猛獣も沸騰水の中に入れたら、ひとたまりもありません。一般の生物のタンパク質やDNAなどは高温では独自の立体構造を失い、変性して機能を失うからです。しかし、温泉や海底の熱水噴出孔付近などには100℃を越す高い温度の環境でないと生育できない好熱細菌が存在しています。120℃付近であったといわれている原始地球に生まれた微生物は、前に触れたように好熱性であったと推測されます。これらの好熱性微生物のタンパク質は同じタンパク質である卵の白身のように、どうして変性して茹であがらないのでしょうか。

X線結晶学やNMR、極低温電子顕微鏡などの手法を使って、タンパク質の3次元構造が広く解明されるようになり、当然、耐熱性酵素の構造も研究されています。それらの結果によると、種々の耐熱性タンパク質はそれぞれ異なる機構で、構造を安定化していることが分かってきました。たとえば、分子内に形成されている多くの水素結合が安定化の主体になっているもの、疎水性のアミノ酸残基が適当な部位にあって、分子全体を強固にしているもの、あるいは多くのイオン結合が構造維持に働いているものなど、さまざまです。全ての高熱性タンパク質に適応される安定化機構はないといわれています。一方、低温で効率高く作用する低温性酵素では、活性中心の構造が低いエネルギー変化で構造に影響を受けて触媒反応を効率よく進めて

います。また、一般には塩濃度が高いとタンパク質は変性を受けやすいのですが、逆に高濃度の塩の存在で安定化される酵素もいくつか知られています。塩田、岩塩鉱、死海などには好塩性微生物が生息して、いろいろな好塩性酵素を生産しています。

ハロゲン化合物代謝酵素

地球上の水の94%に当たる海水は3.5%前後の塩分を含み、各地に岩塩層が存在します。塩は広く食品や工業に利用されている一方、量的には僅かですが、いろいろな有機ハロゲン化合物が天然に存在しています。抗生物質のクロラムフェニコールにはニトロ基とともに塩素が含まれています。抗精神病薬、クロールプロマジンにも塩素が含まれています。ヨウ素は微量必須元素の一つであり、哺乳類の甲状腺ホルモンはチロキシンなどの含ヨウ素アミノ酸が主体です。海藻中では、ハロペルオキシダーゼの作用でさまざまな有機ハロゲン化合物が合成されています。一方、工業的には種々の有機ハロゲン化合物が大量に合成され、工業薬品、医薬品などの中間体として利用されています。以前、殺虫剤として広く使われたBHC（ヘキサクロシクロヘキサン）やDDT（*p,p'*-ジクロロジフェニルトリクロロエタン）や除草剤、2,4-ジクロロフェノキシ酢酸などは代表的な合成塩素化合物です。しかし、有機ハロゲン化合物の代謝は環境科学の領域で研究されていたものの、酵素科学の立場から研究対象にした例は多くありませんでした。私たちは *Pseudomonas*, *Xanthobacter*, *Rhizobium* 属などの細菌に2-ハロ酸デハロゲナーゼ (DEX) を見だし、組織的に研究しました。この酵素は図3に示すように、2-ハロ酸からハロゲンを脱離して2-ヒドロキシ酸を生成する反応を触媒します。こ



タイプ I	L → D	立体反転
タイプ II	D → L	立体反転
タイプ III	L → D L → D	立体反転

図3：立体特異性による2-ハロ酸デハロゲナーゼの分類

これらの酵素は基質に対する立体特異性に基づいて3グループに分類されます。

- (1) L-DEX：L-2-ハロ酸に特異的に作用し、D-2-ヒドロキシ酸を生成する。

たとえば、L-2-クロロプロピオン酸から塩素が脱離して、D-乳酸を生じる。

- (2) D-DEX：D-2-ハロ酸からL-2-ヒドロキシ酸が生成する。

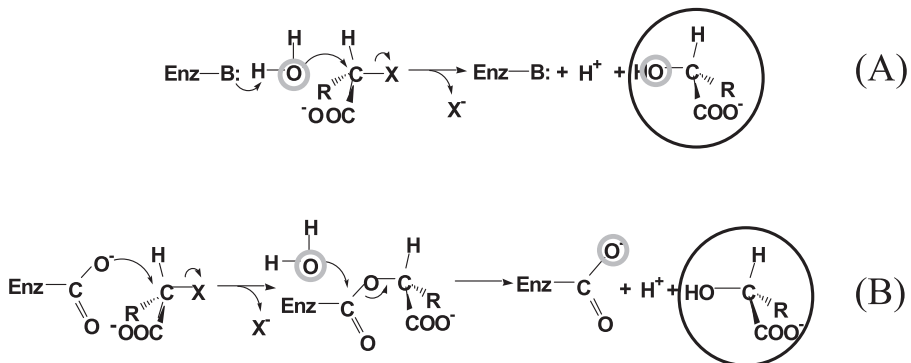
- (3) DL-DEX：私たちが *Pseudomonas* 属細菌に発見した酵素で、2-ハロ酸のD、L-両エナンチオマーに作用して、立体反転して対応する2-ヒドロキシ酸を生成する。

このほかに、D、L-両異性体に作用して、立体保持で2-ヒドロキシ酸を生じる酵素が報告されたものの、その結果は否定され、やはり

立体反転で脱ハロゲンが起こる DL-DEX であることが分かりました。いずれにしても、これら3群のDEXは立体反転で酵素反応が進む点に特徴があり、数ある酵素の中で極めて異例です。さらにDL-DEXはラセマーゼ、エピメラーゼ以外で、DおよびL-エナンチオマー両方に作用する点でも他にほとんど例がありません。私たちはこれらのDEXの構造や性質を明らかにするとともに、触媒機構を研究しました。

ハロ酸デハロゲナーゼの触媒機構

DEX反応の可能な機構は図4の(A)、(B)いずれかです。(A)では酵素活性中心の塩基性アミノ酸残基によって活性化された水分子が直接、基質を求核攻撃し、ハロゲンイオンが遊離するとともに、2-ヒドロキシ酸が生成します。一方、(B)においては、酸性アミノ酸残基のカルボキシル基の酸素が2-ハロ酸のα-炭素を求核攻撃してハロゲンイオンが脱離し、エステル中間体ができ、水分子がエステル結合のカルボキシル炭素を求核攻撃して、2-ヒドロキシ酸が生じ、酸性アミノ酸残基が再生します。L-2-クロロピオン酸を基質として、 H_2^{18}O 中でシングルターンオーバー（基質より



エステル中間体

図4：2-ハロ酸デハロゲナーゼ反応の可能な反応機構

酵素の量が圧倒的多い条件下) と普通のマルチプルターンオーバーの反応を行いました。図5に示すように、生成した乳酸への ^{18}O の取り込みは、シングルターンオーバー反応では10%以下であり、マルチプルターンオーバーの場合には95%以上です。つまり、溶媒の水の酸素原子が酵素分子に取り込まれた後、基質に移行したのです。

さらに H_2^{18}O 中でマルチプルターンオーバー反応を行った L-DEX を回収して、 H_2O 中でシングルターンオーバーとマルチプルターンオーバー反応を行ったところ、シングルターンオーバー反応では、90%以上の乳酸に ^{18}O が取り込まれ、マルチプルターンオーバー反応では5%以下でした。このマルチプルターンオーバー反応を行った酵素をリシルエンドペプチダーゼで切断し、生成したペプチド断片の分子量を測定し、各ペプチドの推定分子量を比較した結果、6-11位のヘキサペプチド、Gly-Ile-Ala-Phe-Asp-Lys に取り込まれたことが明らかになりました。さらに、このペプチドを LC/MS/MS で分析したところ、Asp10 に ^{18}O が2個取り込まれたことが明らかになりました。以上の結果から、L-DEX 反応はエステル中間体を形成する (B) の機構で進むことが証明されまし

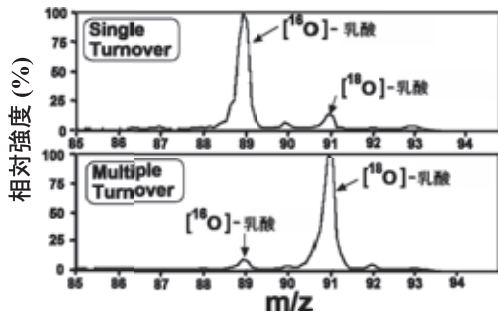


図5： $\text{H}_2^{18}\text{O}_2$ 中の L-DEX 反応で生成した乳酸の分子量

た。一方、DL-DEX 反応は同様の実験から、対照的に (A) の機構で水分子の直接的求核攻撃により起こることが明らかになりました。これらの DEX はいずれも、F を脱離する能力はなく、別に脱フッ素を特異的に触媒する酵素が存在します。

FAD 酵素と抗ガン性酵素

1976年、酵母、*Hansenula mrakii* の細胞に発見した2-ニトロプロパン・ジオキシゲナーゼは生化学領域ではほとんど研究されていなかったニトロ化合物の代謝に関連した酸素添加酵素であり、FAD を補酵素にしています。このジオキシゲナーゼ反応では O_2^- が必須中間体として生成し、NADPH やタイロンなど、いろいろな O_2^- 消去剤の添加によって、反応は停止します。この一風変わった酵素の性質や反応機構を浅田浩二先生との共同で研究しました。また、不完全菌の *Fusarium oxysporum* の菌糸中には同様にニトロアルカンを酸化する新酵素ニトロアルカンオキシダーゼを見だし、性質や反応機構を解明しました。

さらに、不完全菌、*Trichoderma viride* が、リジンの α -アミノ基を酸化して、 α -ケト- ϵ -アミノカプロン酸を経て、 Δ^1 -ピペリダイン-2-カルボン酸が生じる反応を触媒するリジン α -オキシダーゼを生産することを、日下部均氏との共同研究により発見しました。この酵素はFADを補酵素とし、興味深いことに抗ガン性を示します。ガン細胞は正常細胞に比べて、栄養要求性が高いため、血液中にあるガン細胞の栄養として必要な化合物を酵素で分解すると、ガン細胞の生育が阻害されます。これより前、私たちは最初に細菌のロイシンデヒドロゲナーゼがエールリッヒ腹水ガン細胞の生育を抑える事実を見だし、その後、グルタミンナーゼ、メ

チオニンγ-リアーゼなども抗ガン性を示すことを明らかにしました。ガン細胞に生育阻害を示しても、異物である微生物酵素による抗原抗体反応の抑制や血中安定性を保つ必要性など、臨床への適応にはいくつかの問題があります。メチオニンγ-リアーゼについては、岡山大学の稲垣賢二教授の研究室でカリフォルニア大学の研究者との共同のもとに研究が続けられています。

これらの研究はいずれも微生物の酵素を分子レベルで解き明かすことを目的としたもので、海洋と直接、関係はありません。しかし、京大の化学件研究所には有機化学、物理化学、高分子化学、分子生物学などの研究者が集まっています、本質的に学際的な学問である酵素科学の研究には、またとない研究の場でありました。さらに、フランス、ドイツ、イタリア、ロシア、韓国、インド、中国、マレーシア、カナダ、ブルガリア、タイ、キューバなどの若い俊秀が研究室に来て、国際的な雰囲気の中で研究できたのは、幸いでした。「国際的」ということは、研究への視点、アプローチや方法論などが、研究者たちの出身国、つまりその国の大学によって、それぞれ違うので、研究室全体の視点が広くなり、多様な研究を続けることができました。

好熱性、低温性微生物の酵素

定年の少し前、高い温度で生育する好熱性細菌の酵素を研究するようになり、海洋との関係が深くなりました。私たちの研究室において、高温で作用し、熱に強い耐熱性酵素の研究を最初に始めたのは、耐熱性ロイシンデヒドロゲナーゼを研究対象にした大島敏久さんでした。その後、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼを始めとする耐熱性ピリドキサル酵素にも研究を広げていきました。大島さんは大学院修了

後、京都教育大学、徳島大学で好熱性微生物の酵素の研究を続け、現在、九州大学で超耐熱性酵素を中心にいろいろな極限性酵素の構造や反応機構、応用を研究し、国際的に活躍しています。一方で、私は水の物性と酵素の関係に興味を持っていましたので、グリセリンや糖の存在下、 -30°C や -40°C での酵素反応を水の活量変化を考慮に入れて研究しようと思ひ、先ず低温で作用する酵素の研究を始めました。私の定年退官後も、低温性細菌の酵素の分子生物学的あるいは構造生物学的研究は、化学研究所で江崎信芳教授や栗原達夫準教授などによって続けられました。

関西大学工学部生物工学科

定年が近づいた頃、設立間もない関西大学の生物工学科に来るようにとのお誘いを受ました。ここには、私たちの研究室出身の老川典夫さんが常勤講師として研究をしていました。定年前の数年間は、海外でのシンポジウムなどに出ることが多く、学会の会長を務めたり、一方では、ヒマラヤ東端の中国雲南の山の学術登山隊の総隊長になるなど、多事多端の中に、あわただしく時が過ぎました。平成8年、関西大学に移ってからは、生体分子工学研究室で、現在、教授の老川さんと微生物酵素や植物酵素の研究も行いました。耐熱性のアラニンアミノトランスフェラーゼなどの研究とともに乳酸オキシダーゼのエナンチオ選択性と水素化ほう素ナトリウムの還元力を共役させた系を利用した乳酸の両エナンチオマー生産の応用研究も行いました。さらに植物にアミノ酸ラセマーゼの存在することを世界で最初に見だし、酵素科学的性質を明らかにしました。一方、南極の海水から新しい低温細菌 (*Flavobacterium fragidimaris*) を単離しました。この菌は図6に示すように、

15°Cが最適生育温度であり、4°Cでも生育できるのに、25°C以上では生育できません。この細菌の細胞から低温で効率的に作用するアルコールデヒドロゲナーゼ、アスパルターゼなどの酵素を精製して性質を調べたところ、低温性を示すだけでなく、70°C以上で極めて良く作用し、安定な好熱性、耐熱性をもつことがわかりました。南極海の低温で生育する細菌の酵素が低温でよく働くのは合理的ですが、高い温度において安定であることは矛盾しています。しかし、3種ほどの酵素は同様な性質を示し、これは世

界でも最初の例であります。3次元構造(図7)を詳しく調べると、常温性の生物由来のアルコールデヒドロゲナーゼのサブユニットには活性中心とその近傍に2原子のZnが結合しているのに、この低温菌の酵素には活性中心に1原子だけが存在しています。構造の比較や柔軟な部分構造の解析などから、普通の酵素では、非活性中心のZnがその付近や近くの活性中心の構造をある程度強固にしているのに対し、非活性中心のZnが存在しないと、近傍の活性中心の構造が柔軟になり、低温でも、つまりエネルギー変化が少なくても、この部分の構造が変化して、触媒作用を示すことが推論されました。一方、この低温菌の酵素では、全体の分子の構造を保っているβ-バレル構造の疎水性が高いので耐熱性を示すことも明らかになりました。

このように、本酵素が好冷性と耐熱性を併せもつことは、この細菌の生育環境と矛盾します。あえて、想像するなら、この細菌の祖先は火山島などの高熱地帯に生息していたのが、海に流されて南極海に到達し、ここでは低温に適応して、好冷性酵素を生産するようになったのでしょう。しかし、アルコールデヒドロゲナーゼのような

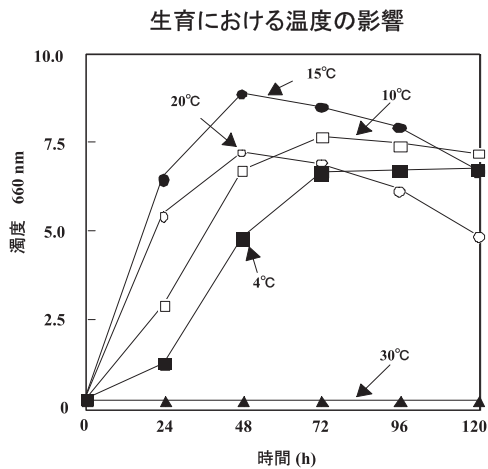


図6: *Flavobacterium fragidimaris* の生育曲線

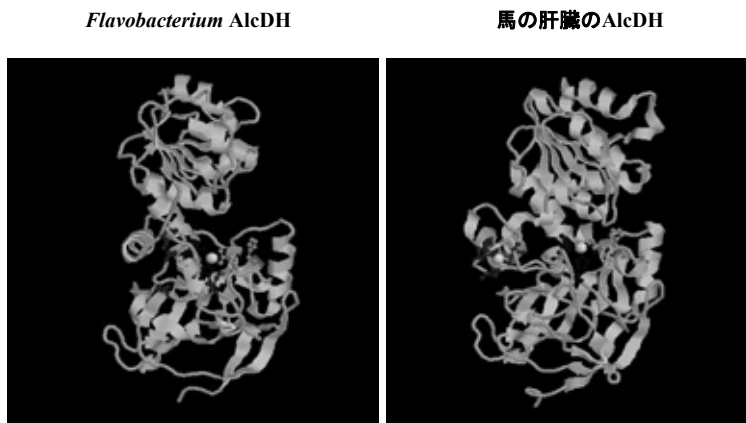


図7: アルコールデヒドロゲナーゼの三次元構造の比較 (●: Zn 原子)

いくつかの酵素では、不要になった耐熱性を捨てきれずに、盲腸のようにもっているのかも知れません。

そして今……

今春3月で関西大学生物工学科の非常勤講師の任期が終わり、長い間かかわってきた大学との直接的な関係はなくなりました。一方では、思いがけず、海洋との関係が生まれました。館紳さんは昭和25年、京大農芸化学科を卒業後、カネカで研究開発に従事され、社長として同社の発展に貢献され、関経連でも活躍されるとともに、日本化学会、日本化学工学会会長も歴任されました。社会活動にも熱心で、国際教育学会特別顧問や禁煙科学会会長として青少年の科学教育や情操教育にも尽くされました。父上は京大農芸化学科教授としてポーラログラフイーの研究で、学士院恩賜賞を受けておられ、私の恩師の一人でもあります。館さんは、海底の地層に生息する未開拓の微生物の基礎、応用両面に関心を持たれて、平成17年に、NPO法人ジオバイオテクノロジー振興会議（GBO）を設立され、理事長として活動を開始されました。これは、館さんの視野の広さと先見性を象徴しています。しかし、平成19年春、志半ばにして急逝されました。驚いたことに、私がその後任の理事長に任命されました。GBO活動が始動した大切な時期にあたり、また、その重要性は認識していましたので、心もとないながら引き受けました。現在、大学や企業の若い人々とともに、海底コアの微生物や酵素、遺伝子資源の収集、保存、研究のお手伝いをしています。地球表面の70%を占める平均深度3,800mの海洋、特にその海底コアは、今までに研究された生物圏よりもはるかに大きな未知の生物圏ですから、大きな意義をもつ仕事です。若い研究者と海底

コアの未知の微生物、遺伝子や酵素の可能性について歓談するのは、私にとって最も楽しい時間です。

こうして、研究の軌跡を振り返ってみると、なんと多くの人々に恩恵を受けてきたことかと、感動します。かつて、実験台を共にして、深夜まで研究し、ラーメンをすすった若き学生の何人かは、私よりずっと立派な仕事を成し遂げて、名誉教授になっています。味園春雄さん、田中英彦さん、当山清善さん、森口充瞭さん、寄藤高光さんなどです。そして、大島敏久さんは九州大学教授、八木年晴さんは高知大学教授、谷沢克行さんは大阪大学教授、江崎芳信さんは京都大学副学長、吉村徹さんは名古屋大学教授、中山亨さんは東北大学教授、黒田俊一さんは名古屋大学教授、和田大さんは北海道大学準教授、横井川久己男さんは徳島大学教授、麻田恭彦さんは香川大学教授、澤嘉弘さんは島根大学教授、安田正行さんは琉球大学教授、稲垣賢二さんは岡山大学教授、老川典夫さんは関西大学教授、永田信治さんは高知大学教授、若山守さんは立命館大学教授、栗原達夫さんは京都大学準教授、片岡邦重さんは金沢大学準教授、田村隆さんは岡山大学準教授、三原久明さんは立命館大学準教授などなど。スイス、イタリア、韓国、中国、タイ、フランスなどの大学や研究所などにも幾人かが活躍しています。孔子の「後生畏るべし」という言葉に、あらためて感動します。「山を想えば人恋し、人を想えば山恋し」。登山家にして詩人であった信州の百瀬慎太郎の詩の一節です。昔、登った山々を想うと、ともに登った人たちが想われる。ともに登ったあの人、この人を想うと、登ったあの山、この山が恋しい。私の好きな詩です。昔の研究を振り返るたびに、この詩を思い出します。