

私と LTM センター，そして極低温電子顕微鏡

My Research in LTM Center using Cryo-Electron Microscopes

光岡薫

京都大学低温物質科学研究センター

K. Mitsuoka

Research Center for Low Temperature and Materials Sciences, Kyoto University

私は平成 14 年度の低温物質科学研究センター発足に伴い、理学研究科生物物理学教室の助手から、センターの助教授に着任しました。以来、短い期間ではありましたが、センターの専任教官の一人として、皆様の協力の下、なんとか研究を続けていくことができました。特に昨年のノーベル化学賞は、私が共同研究していた Peter Agre 教授が受賞し、私が現在も立体構造研究を行っているアクアポリンという水を選択的に通す膜タンパク質も有名になりました。この機会に、より一層の研究の発展を遂げられるよう、努力していきたいと思っております。

私事で恐縮ですが、平成 16 年 4 月より産業技術総合研究所がバイオ産業情報化コンソーシアムと共同して設立した生物情報解析研究センターに、主任研究員として移動することになっております。もちろん、京都大学は研究を行うのに最高の環境なのですが、私は自分のいい加減な性格から、一つのところに長くいると研究に対する緊張感が維持できない傾向があり、研究の発展のためには、今の機会に移動し小さな研究グループを率いるようにするのが望ましいと思っております。京都大学には生物物理学教室での助手時代も含めると 6 年 5 ヶ月もお世話になりました。

東京大学大学院理学系研究科で博士課程を修了し、ポスドク（リサーチアソシエイト）として、けいはんな学研都市にある松下電器産業（株）国際研へ就職以来、私は京都府に住んでおりますので、京都府には 10 年間お世話になったこととなります。最初にこちらに来る時には、こんなに長く住むことになるとは思っていませんでしたが、良い研究環境のため離れがたく、気が付けば 20 世紀を過ぎて、かなり経っていました。京都大学を離れるのに際して、私と LTM センターの関わりをお話したいと思っておりますが、そのためには松下電器入社頃から話を始めることとなります。

東京大学では若林健之教授（現帝京大学）の下で電子顕微鏡を用いた筋肉の構造解析を行っていました。当時、私が生体高分子の高分解能構造解析の第一人者と認識していました現理学研究科の藤吉好則教授に、松下電器国際研で新たに持つグループに参加して欲しいと声をかけて頂き、そのグループで研究することとなったのが、極低温電子顕微鏡との出会いとなります。

極低温電子顕微鏡とは、液体ヘリウムで試料を冷却できる試料ステージを持つ電子顕微鏡で、現在のセンター長である水崎先生や生物物理学教室の山岸先生の協力の下、藤吉好則教授を中心に開発され、京都大学旧極低温研究室の建物に隣接する形で最初に設置されました。この試作機とも言うべき極低温電子顕微鏡を、第一世代と我々は呼んでいます。そして、その開発をふまえて実用的なモデルである第二世代の極低温電子顕微鏡が蛋白工学研究所（現生物分子工学研究所）に設置されて、膜タンパク質の二次元結晶から高分解能のデータが安定して得られはじめていたのが、私が藤吉グループに入ったときの状況でした。

その第二世代に対し、松下電器国際研に入った極低温電子顕微鏡は第三世代で、熱電界放出型の電子銃を持つもので、これにより特に傾斜像から安定して良いデータを得られるようになりました。また、この電子顕微鏡はスロースキャン CCD カメラも持っており、これは効率よく高分解能電子回折を得るのに大変有効でした。これにより、蛋白工学研究所の木村能章さんとも協力し、バクテリオロドプシンという光のエネルギーを用いて水素イオンを細胞の内から外へ輸送する膜タンパク質の構造を 3Å 分解能で解析することができました[1]。ただ、バクテリオロドプシンは天然で二次元結晶を作っており、既に電子顕微鏡による 3.5Å 分解能の構造解析から原子モデルが提出されていました。

そのバクテリオロドプシンの研究が順調に進んでいた頃、Johns Hopkins 大学の Peter Agre 教授が発見したヒトの赤血球に大量に存在する水チャネル、アクアポーリン 1 の二次元結晶が、Basel 大学の Andreas Engel 教授の下で研究を行っていた Thomas Walz (現在は Harvard 大学医学部) により作製されていました。そして、極低温電子顕微鏡を使用した共同研究を開始することができ、3.8Å という分解能の構造解析から原子モデルを提案することができました[2]。この原子モデルは、水の選択性のメカニズムやアクアポーリン 1 が水素イオンを通さない理由が良く説明できるものでしたので、その構造と機能の関係の解明が、昨年度の Peter Agre 教授のノーベル賞に貢献したと思っております。

アクアポーリン 1 の研究中に、藤吉に続いて私も京大に移って、京大にも第三世代極低温電子顕微鏡が導入されました。現在の低温物質科学研究センターには、二台の極低温電子顕微鏡が設置されており、海外から共同研究者が顕微鏡を使用に来たときにも、もう一台を使用できる環境となっています。また、一方の電子顕微鏡は自動試料トランスファー装置が付いており、極低温電子顕微鏡の扱いに慣れていない人でも、安全に使用できるよう改良されており、我々はこれを第 3.5 世代と呼んでいます。

第 4 世代は、これにエネルギーフィルターを加えたもので、理化学研究所播磨研究所と私が移動する生物情報解析研究センターで稼働しています。これまでの電子顕微鏡は加速電圧が 300kV なので、鏡体のサイズが大きく天井の高い大きな部屋が必要です。そこで、より小さくできる加速電圧 200kV に改良した第 5 世代を現在開発中です。LTM センターが移る予定の工学部跡地に設置したいと考えていますので、早いタイミングでの跡地の使用開始実現に向けて、皆様の協力をよろしくお願い致します。

また研究の方は、アクアポーリン 1 に引き続いて、脳に多く発現しているアクアポーリン 4 の構造を、昆虫細胞を用いて発現した膜タンパク質を用いて、最近得ることができました。そのアクアポーリン 4 の構造解析を終えたタイミングで移動できることは、幸運だったと思っています。これからは、この研究を発展させて、昆虫細胞を用いているいろいろなアクアポーリンを大量発現して、極低温電子顕微鏡により結晶構造解析していきます。また、最近では単粒子解析という、結晶を作らずに生体高分子を電子顕微鏡により直接像観察することで構造解析ができる方法が、非常に速いスピードで発展しています。第四世代極低温電子顕微鏡が持つエネルギーフィルターは、単粒子解析で行う分子の向き決定に有利であると考えられており、この方向にも研究を発展させていきたいと思っています。

このように、極低温電子顕微鏡という研究装置の開発と、実際の膜タンパク質の構造解析を平行して我々は研究を進めてきました。この両輪がバランス良く回っていくことが、良い結果を得るのに不可欠だと思っています。LTM センターも、寒剤供給や共通機器という支援部門と、研究部門という両輪を持ちますが、これからは、この二つの部門の仕事を協調させていくことが、センターの発展のために欠かせないと思います。

最後に藤吉好則教授を始め、すべての共同研究者の皆様と、短い期間ではありましたが、大変お

世話になった LTM センターの皆様に深く感謝したいと思います。LTM センターのますますの発展を期待しています。

参考文献

- [1] Y. Kimura, D. G. Vassilyev, A. Miyazawa, A. Kidera, M. Matsushima, K. Mitsuoka, K. Murata, T. Hirai, and Y. Fujiyoshi, *Nature* **389**, 206-201 (1997).
- [2] K. Murata, K. Mitsuoka, T. Hirai, T. Walz, P. Agre, J. B. Heymann, A. Engel, and Y. Fujiyoshi, *Nature* **407**, 599-605 (2000).