

# 理研ニュース

No.175 January 1996

理化学研究所

2 ● 年頭ごあいさつ

理事長 有馬朗人

3 ● SPOT NEWS

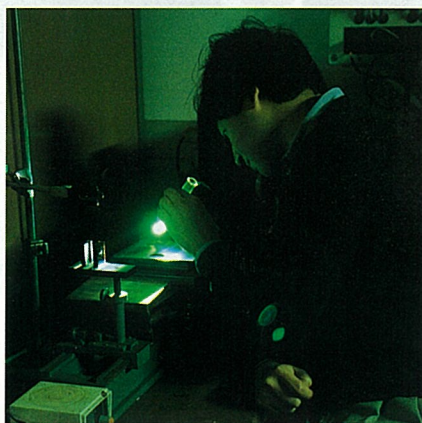
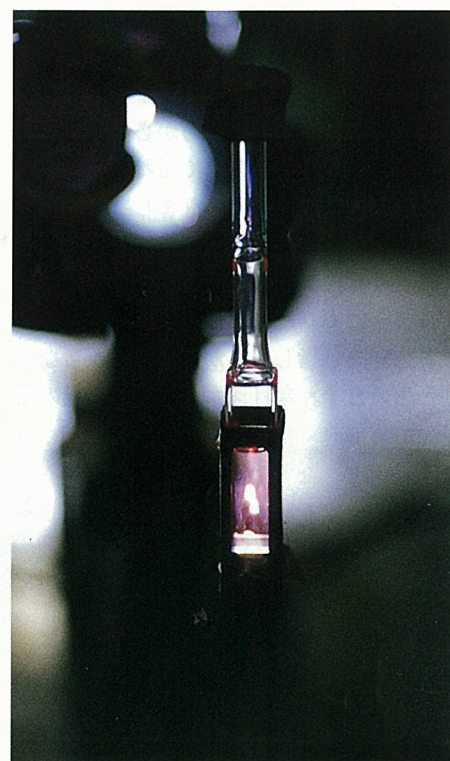
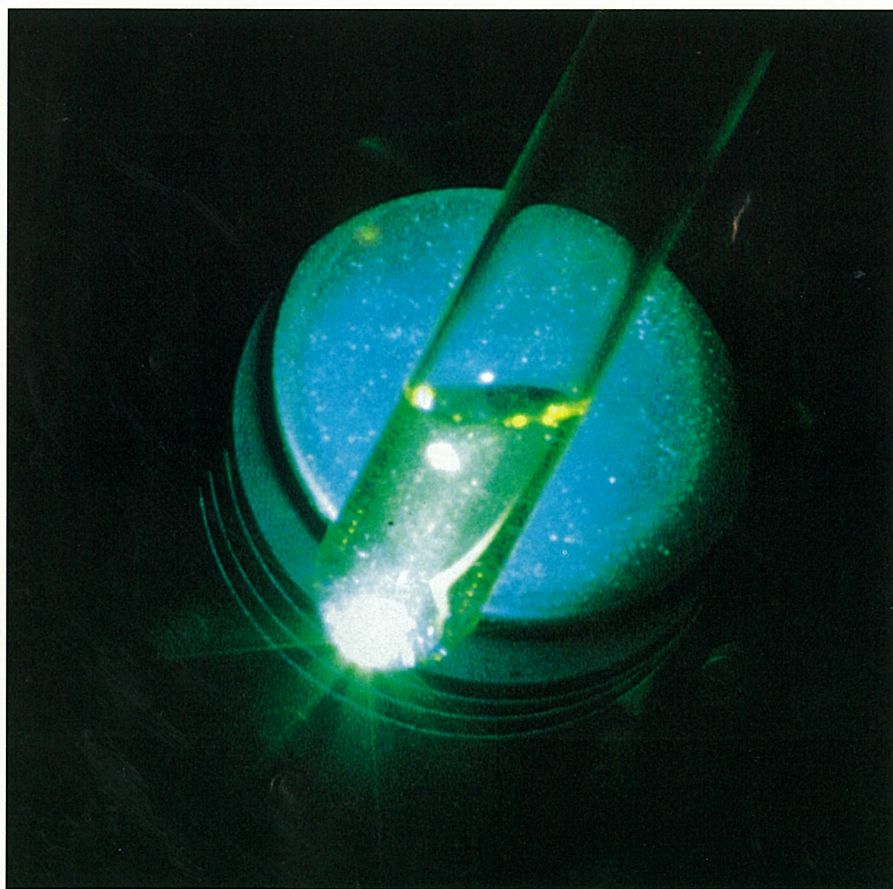
パプアニューギニア高地人と窒素源の有効利用

4 ● 研究最前線

一酸化窒素の生体における第4の働きを発見

8 ● 原酒

文化人としての岩波茂雄(1)



研究最前線より、酵素の光感応性の研究  
(記事は2ページ)

# 世界の持続性ある発展を目指して

理事長 有馬朗人

新年おめでとうございます。ここに、新年のご挨拶を皆様に申し上げたいと思います。資源の少ない日本にとって、科学技術の発展ということは極めて重要なことであると思います。幸いにもこの2～3年、国および社会全体が科学技術の重要性に関心を寄せてくださり、様々な施策がとられるようになりました。

科学技術を発展させるということは、本質的には人類の将来に備えていくことであると、私は考えております。そして人類の将来にとって今何が必要かといいますと、それは最近よく言われるように持続性のある発展でありましょう。発展が止まってしまうと、人間の習いとして、あまり元気がでなくなります。元気がでるようになるためには、少しでも良くなる方向を目指していかなければならないと思います。今日、すでに地球規模の環

境公害問題があり、やがて来るであろうエネルギーの不足あるいは人口過剰による食糧の不足という事態を考えますと、人類にとって非常に大切なことは、持続性のある発展ということであると思います。このことは私が申し上げるまでもなく、非常に多くの識者がすでに認識しておられることであって、私もその人々に賛意を表している一人に過ぎません。

理化学研究所の使命も、この持続性を成し遂げるために科学技術を進めるといふことであると考えております。そこで私たちが心すべき事は、この科学技術が必ず人類にとって役に立つという方向を目指していくことだと思っています。そのために国際的に共同して研究を進めていくことが重要でありますので、私は、更に国際的な協力体制を強めていきたいと思っております。その手段として大き

な設備が必要な場合もあります。その典型的な例は、平成9年度に一部共用開始が予定されています大型放射光施設SPring-8であります。またリングサイクロトロンをはじめ、加速器を中心にした原子核グループの国際協力も進めております。それ以外にも、脳の研究であるとか、様々な分野で理化学研究所は、世界の人々と協力して研究を進めております。

幸い、昨年11月に科学技術基本法が成立し、科学技術を国の政策の中核に据えようという気運が広がっております。今後、科学技術基本法に基づいて、科学技術をますます促進していくための基本計画がたてられると思います。こうした政策とともに、理化学研究所も日本の開かれた研究所、そして世界の理研として発展していきたいと思っております。皆様のご協力をお願いする次第です。



## パプアニューギニア高地人と窒素源の有効利用

パプアニューギニアはニューギニア本島の東半分とそのまわりに散在する島々からなる国で、面積は約50万km<sup>2</sup>、人口270万で、オーストラリア大陸の北に存在している。南方は平地で低いが、中央部は2,000~3,000mの険しい山脈が連なっている。この地帯には標高1,500~2,500mのところになずかな台地が散在し、ここに人々が住んでいることが知られるようになったのは1930年代になってからである。パプアニューギニア高地人の実態については早くからオーストラリアの学者により広範囲な調査がおこなわれ、1947年、HipsleyとClementsがパプアニューギニア高地人はサツマイモを主食とし(写真)、動物性タンパクをあまり摂取しない低タンパク・低エネルギー食であるにもかかわらず筋骨たくましく、山野を駆けめぐっており、このような現象の栄養学的説明が困難であることを示した。パプアニューギニア高地人の栄養学的な課題を解明する手段として、Omen(1970)は腸内細菌に着目し、分子状窒素を固定する腸内細菌の存在を示し、パプアニューギニア高地人の腸内から窒素固定能を有する腸内細菌(*Klebsiella aerogenes*)を発見し、こ

れが低タンパク栄養におけるパプアニューギニア高地人の窒素源確保に重要な役割を演じていることを示唆した。

筆者はヒトのタンパク供給における腸内細菌の役割を解明する研究の一環として、パプアニューギニア高地人の腸内細菌を検索し、それらの窒素固定能やアンモニア利用能について調べ、パプアニューギニア高地人の腸内細菌をもった動物(ノトバイオート動物)を作出し、それらのタンパク合成能についても調べた。パプアニューギニア高地人と日本人の腸内細菌の構成を比較すると、図1に示すように日本人のそれに比べて、*Eubacterium aerofaciens*、嫌気性ラセン菌、*Lactobacillus vitulinus*および*Sarcina ventriculi*などが多く検出され、これまで報告されているサルやブタの腸内細菌の構成に類似しているようであった。

窒素固定能を調べる目的で、嫌気性(重窒素：アルゴン、2：8)の液体培地に分離株を接種し、窒素ガスの利用能をみると、重窒素を大量に取り込む細菌は検出されることはなかった。一方、アン



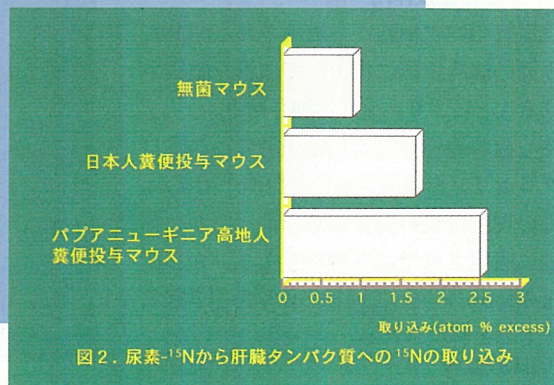
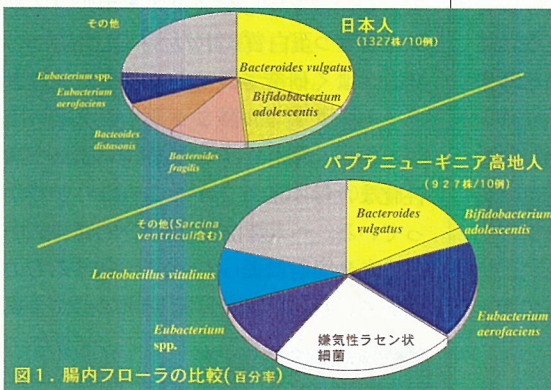
パプアニューギニアの人々の食事風景  
(提供：大阪市大生活科学部 奥田豊子教授)

モニア利用能を分離株で検索してみると、日本人成人にも多く常在している菌種でもパプアニューギニア高地人の糞便から分離された同一菌種の菌株は優先的にアンモニア態窒素を菌体内に取り込むことが明らかになった。パプアニューギニア高地人に<sup>15</sup>N-尿素を経口投与したところ、<sup>15</sup>Nの体内貯留が高く、また、血しょうタンパクのアミノ酸分画を調べた成績でリジン分画への<sup>15</sup>Nの取り込みが認められている。これは腸内細菌による尿素からのリジンの合成と関連していることが示されている。ヒトの腸内で優勢に常在している嫌気性菌の一部は尿素を分解し、アンモニアの供給源として重要である。おそらく、パプアニューギニア高地人の腸内では尿素分解細菌やアンモニア利用細菌により、アミノ酸の合成がなされ、これが永年の低タンパクへの適応として促進されているものと思われる。

さらに、パプアニューギニア高地人の腸内細菌を有しているノトバイオート動物に<sup>15</sup>N-アンモニアを投与すると図2に示すように、日本人の糞便内細菌を有している動物と比較して、肝臓内タンパクの貯留が高いことが明らかとなった。

いまや、わが国は飽食の時代である。それにとまなう成人病は急速に増加している。近い将来、タンパク資源の枯渇、人口の増加、環境破壊など人類が直面する問題は多い。そのような中で低タンパク栄養の限界ともいえるパプアニューギニア高地人から窒素源の有効利用について教えられることは多いように思われる。

培養生物部 分類室  
室長 辨野義己



# 一酸化窒素の生体における第4の働きを発見

「光感性ニトリルヒドラターゼのNOの光解離による活性化機構の研究」より

当研究所では、分野が異なる研究者同士が様々な場面、方法で研究の交流を図っています。そこでは研究者個人のユニークな発想や専門分野に裏づけされたアイデアが、ディスカッションを通して交流し、その結果、新しい研究アイデアとして生まれ変わるケースがよくあります。

今回は、化学工学研究室遠藤勲主任研究員がオーガナイザーとなって、分野が異なる3つの研究室の研究者を集め、研究会を頻繁に開き、個々の研究者の発想、アイデアを抽出し、研究方針やアプローチの方法を定めて、研究が進められているケースをご紹介します。

一酸化窒素 (NO) は一酸化炭素以上に血液中のヘモグロビンと結合しやすく、ヘモグロビンの酸素供給能を阻害する有害な物質である。しかし、近年、この一酸化窒素が生体内で合成されており、生理的に重要な働きを果たしていることが明らかになってきた。

当研究所でもこの一酸化窒素の役割やその化学的、物理的性質について早くから研究を行ってきたが、最近、あるバクテリアの酵素の光反応の研究から、生体における一酸化窒素の新しい機能を初めて見出すことに成功した。そこで、「光感性ニトリルヒドラターゼのNOの光解離による活性化機構の研究」を中心にして、一酸化窒素の生体における機能と役割について紹介する。

## 生体における3つの機能の発見でNOに注目が集まる

Science誌の1992年の“Molecule of the Year”に指名されたのは、一酸化窒素 (NO) である。この単純な構造の分子が注目を集めた理由は、1980年代後半あたりから、哺乳類の身体の中でNO分子が生成されているだけでなく、以下のように重要な役割を果たしていることが明らかになって来たからである。

ラットの餌に含まれる硝酸塩及び亜硝酸塩の量と、排泄物に含まれるそれらとを比較すると明らかに後者のほうが多くなる。これは生体内でこれらの物質が合成されていることを示しており、現在では、アミノ酸の一種であるL-アルギニンがNO合成酵素により酸化されてNO分子ができ、そのNO分子が酸化されて最終的に硝酸イオンや亜硝酸イオンとなって体外に排泄されることによるものと考えられている。

生理的環境下でのNO分子の寿命は約6秒にすぎない。このような不安定な物質が生体に対してどのような役割を果たしているのだろうか。その機能は発生部位によって異なることが最近になって次々とわかってきた。

### (1) 血管拡張作用

血管の内皮細胞から放出されるNOは、周囲の筋肉組織に作用して血管を弛緩させることにより血流を増加させる。狭心症の発作を起こした患者に、ニトログリセリンを服用させると発作が治まる。この理由は長い間分からなかったが、体内に吸収されたニトログリセリンから微量のNOが発生して同様の作用を引き起こすものと解釈される。

### (2) 外敵に対する防御システム

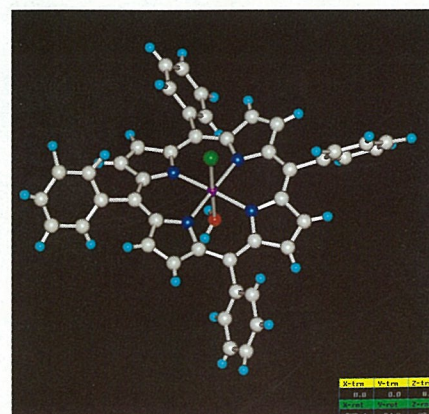
免疫細胞マクロファージが生成するNOは、侵入してくるバクテリアなどの外敵を殺傷する。まず、生成されたNOが $O_2^-$ と反応して過酸化亜硝酸(HOO-NO)ができる。この分子は容易に分解してOH $^-$ とNO $_2^-$ を発生し、外敵に作用して死滅させる。

### (3) 神経細胞間の情報伝達

脳内でNO合成酵素により生成されるNOは脳細胞が情報を伝達したり消去したりする機能、すなわち記憶と学習に深く関与している。

## NO錯体(ニトロシル錯体)の光化学的研究

このように生体で発生するNOは多くの生理機能をもつが、その一方で、NOは様々な金属と結合して種々の化合物(錯体)をつくることが知られている。その中で、血液中のヘモグロビンなどのヘム蛋白質(鉄を中心金属とするポルフィリン環をもつ蛋白質)中のヘム鉄とNOとの結合はよく研究されている。また、カタラーゼやグアニル酸シクラーゼなどいくつかのヘム酵素ではNOの作用によって活性化または不活性化がおこることがわかっている。ヘム蛋白質を含むNO錯体の中には、光照射によってNOを解離するものがあり、反応物理化学研究室では、金属ポルフィリンを材料としてその光反応の



金属ポルフィリン

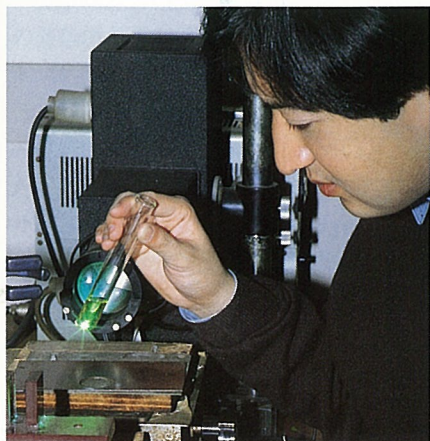
研究を行ってきた。最近、ひょんなことからこのNO錯体の光化学的研究と、それまで全く無関係であったある非ヘム鉄をもつ蛋白質の研究とが結び付いた。

### 光感性ニトリルヒドラターゼ： 晴天と曇天で酵素の機能が変わる?!

本研究のきっかけはニトリルヒドラターゼ（以下NHase）と呼ばれる酵素の研究から始まった。NHaseはニトリルからアミドを合成する酵素であり、非ヘム鉄またはコバルトを含む発色団を有する $\alpha$ サブユニットと金属原子を含まない $\beta$ サブユニットからなる。日東化学工業（株）はアクリルアミドの工業生産に利用する目的でNHase活性（アミド合成能）を有するいくつかの菌株を探し、発見した。

ところが、これらの菌株のうち、*Rhodococcus*や*Brevibacterium*の酵素活性は実験のたびに値が異なっていた。そこで得られたデータを詳細に検討した結果、晴天の日と曇天の日にリンクして酵素活性が変化することがわかった。“酵素が光に鋭敏に反応する”のである。化学工学研究室では、この性質をもった*Rhodococcus* sp. N-771を日東化学工業（株）からもらい受け、光感性の機構の研究を行うことにした。

アミド合成能のない菌体に光を当てると、NHaseは活性型となりアミド生産能が

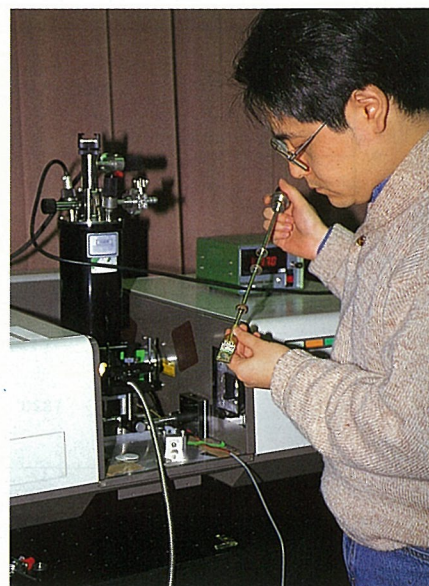


NHaseの光感性の研究

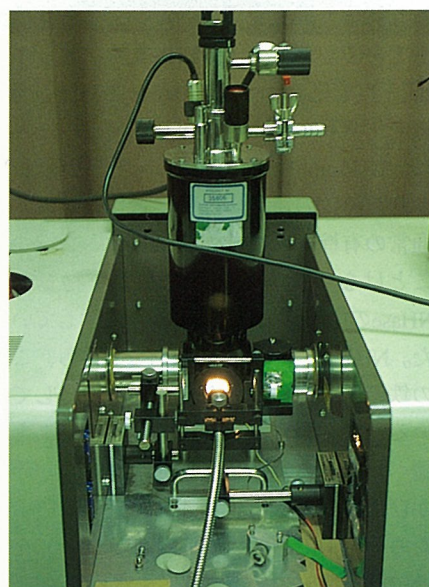
発見・上昇した。さらにこの菌体を好気的な条件化で暗中に放置すると、NHaseは再び不活性化し、アミド合成能を失った。単離精製したNHaseでも同様な光活性化現象がみられたが、暗で、酸素による不活性化は起こらなかった。このNHaseの光による活性化、及び菌体中でのみ起こる不活性化のメカニズムは、大きな疑問であった。活性化の前後でNHaseの紫外・可視吸収スペクトルが変化することから、NHaseの非ヘム鉄中心を含む発色団が何らかの構造変化を起こすことが予想された。鉄原子の酸化還元やキノン類など他のコファクターの関与による説明を試みたが、結局解決できなかった。

### NHaseにNOが結合していることを発見

この問題を解決するため、光合成科学研究室では、NHaseのフーリエ変換赤外スペクトル（FTIR）を測定した。FTIRを用いると、蛋白質中の様々な原子団の赤外線吸収を観測することにより、その構造を調べることができる。NHaseの光活性化の前後でスペクトルを測定し、その差を



NHaseのフーリエ変換赤外スペクトルの測定



フーリエ変換赤外スペクトル測定装置

図1 NHaseの光誘起FTIR差スペクトル

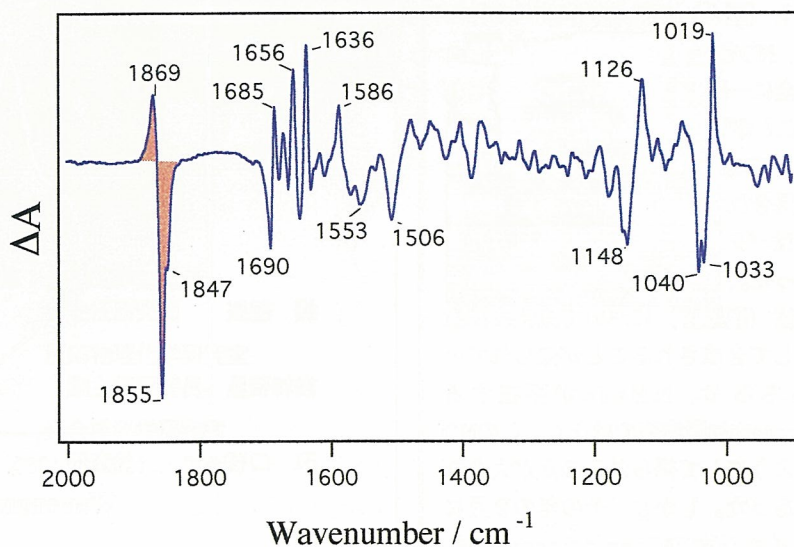
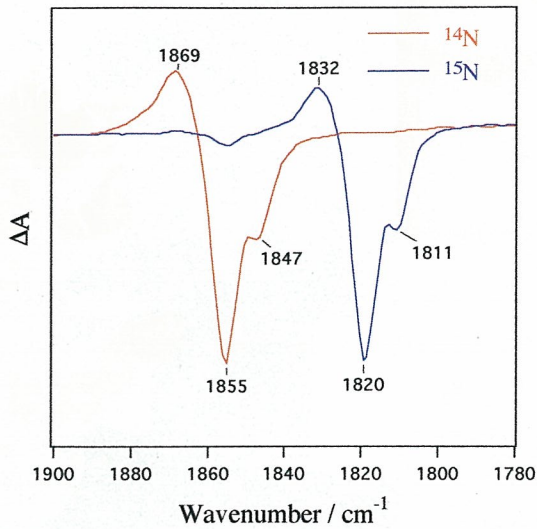


図2  $^{15}\text{N}$ 置換によるFTIRバンドのシフト



とれば、活性型と不活性型との間で変化した部分の構造を調べることができるはずである。得られたFTIR差スペクトル(図1)を見ると、予想外に、蛋白質の構造変化を示す領域(1750 $\text{cm}^{-1}$ 以下)以外に、1855 $\text{cm}^{-1}$ 付近に大きなバンドが観測された。この領域には生体系に含まれる通常の有機化合物は決してバンドを持つことはなく、何か非常に奇妙な物質がNHaseの中に含まれていることを示していた。NHaseが非ヘム鉄を含むことから、この鉄原子に何か小さな化合物が結合していると考え、様々な金属錯体のデータを調べたところ、NO-鉄錯体の可能性が浮かび上がってきた。このことを確かめるため、窒素源(天然にはほとんど $^{14}\text{N}$ )を $^{15}\text{N}$ の安定同位体に置換した培地で菌体を培養し、 $^{15}\text{N}$ 置換したNHaseを調製してFTIRスペクトルを測定した。その結果、期待通り、 $^{14}\text{N}$ から $^{15}\text{N}$ への置換に伴う低波数シフト(図2)が見られた。このシフト量は、NOを仮定して計算した理論値とほぼ完全に一致し、NHaseにNOが含まれていることが明らかとなった。

こうしてNHaseにNOが存在していることが発見された当時(94年7月)、NO合成酵素はバクテリアでは未だ発見されていなかった。NOは硝酸を還元できる一部の細菌(脱窒菌)においてのみ中間生成物として合成されることが知られていた。もちろん、NHaseが存在する*Rhodococcus*は脱窒菌ではなく、このNOがどのようにして得られるのかが大きな問題であった。しかし、その年の9月には、アイオワ大のChenとRosazzaが、

*Nocardia*という細菌からNO合成酵素を発見したことを報告した。*Nocardia*は*Rhodococcus*と近縁の種であり、実際*Nocardia*種の中にはNHaseを有する種も存在する。このことは*Rhodococcus* sp. N-771も類似のNO合成酵素

を持っていることを示唆しており、現在、NO合成酵素の単離が精力的に行われている。

### NHaseの光活性化機構を解明

では、いったいNHaseに結合したNOと、光活性化現象とはどのような関係がある

のだろうか?この問題は、ニトロシルヘム蛋白質の光化学を研究していた反応物理化学研究室の協力のもとに以下のように解明された。図3に示すように、不活性型NHaseに結合したNOのFTIRバンド(A)は、光照射によって活性型になるに伴い消失した(B)。ところが、この活性型NHaseに外からNOを加えると、酵素は再び不活性型となり、NOのFTIRバンドは回復した(C)。さらに光照射を行うと活性型となり、FTIRバンドは消失した(D)。このような、NOの光解離とNO再添加によるNHaseの活性・不活性のスイッチングは紫外・可視吸収スペクトル、ESRスペクトルでも確認された。さらに、NO捕捉剤によって、実際に光照射時にNHaseからNOが放出されることも確認された。こう

図3 NOの脱着実験

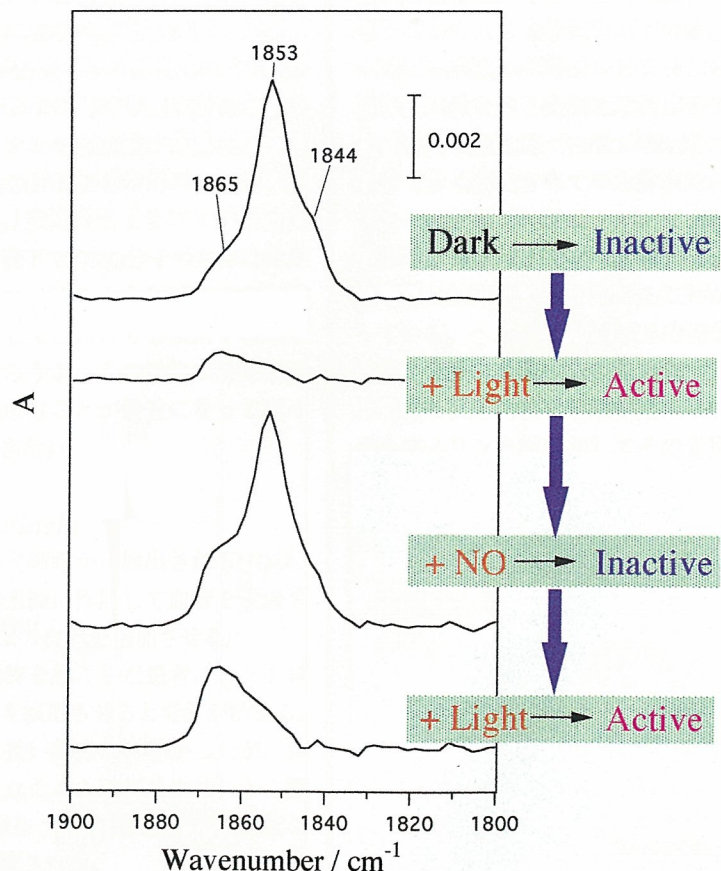
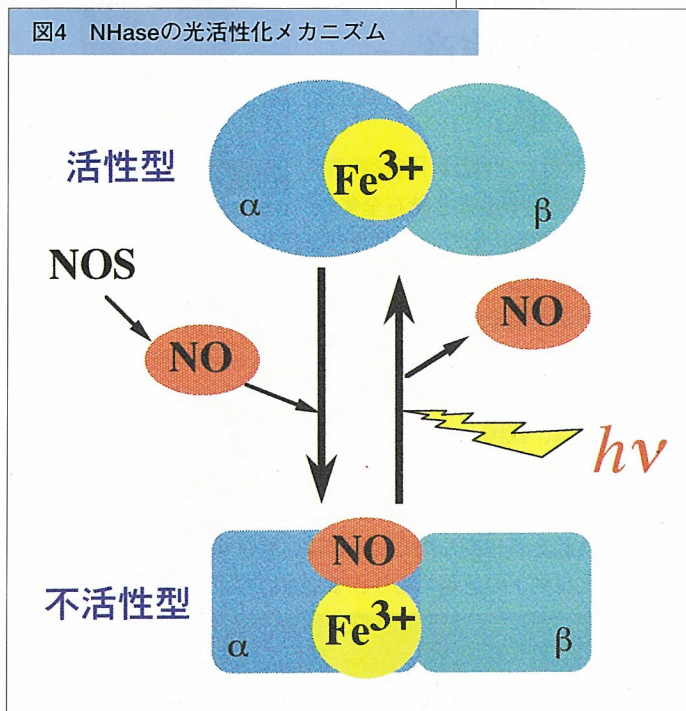


図4 NHaseの光活性化メカニズム



研究室を超えた合同ミーティング



して、図4に示すような、NOの結合とその光解離によるNHaseの活性制御のメカニズムが明らかとなった。

この成果は、先に紹介したNOの(1)血管拡張作用、(2)外敵に対する防御システム、(3)神経細胞間の情報伝達に加えて、(4)酵素の光応答反応の制御を初めて見いだしたものである。

### 現状の課題と今後の展望

上記のように、NHase光応答反応が光によるNOの脱着によることは明らかとなったが、その反応の詳細なメカニズムは依然としてわかっていない。そこで、現在、当研究所に所属する広範な分野の研究者と東京大学工学部長棟研究室は、このメカニズムを解明すべく、様々な角度から研究を行っている。

化学工学研究室ではNOを結合した状態の発色団を含む30残基程度のフラグメント(結晶)を単離することに成功し、生体分子解析室の協力のもとにこの発色団の詳細な構造解析に取り組んでいる。また、これまでの研究から光応答部位は $\alpha$ サブユニット上にあることがわかっているが、光活性化や酵素活性の発現には $\beta$ サブユニットの存在が不可欠であることがわかっており、この $\beta$ サブユニットの役割も注目される。このため、同研究室ではNHaseの変異体を作製し、 $\beta$ サブユニットの機能を調べている。

光合成科学研究室では、共鳴ラマン分光を用い、鉄原子とそれを取り囲む配位子との結合を直接観測し、その構造を明らかにしようとしている。

反応物理化学研究室ではNHaseの活性変化のダイナミクスの研究を行っており、これまでにNOの光解離は照射後フェムト秒( $10^{-15}$ 秒)オーダーの短時間でおこるのに対し、NOが取り込まれるのはミリ秒単位ときわめて遅いこと、また光活性化の量子収率は約0.5ときわめて高いことなどを明らかにしている。さらに化学工学研究室では、最近、NHaseの良質な結晶を得ることに成功しており、結晶学研究室、生物物理学研究室とともにX線結晶構造解析によるNHaseの3次元構造の決定を進めている。将来、植物生理学の研究者らと交え、NOの植物細胞内での役割はどのようなものか、NOの生物全般に関わる生理作用の研究として展開することが期待される。

文責：総務部広報室

監修：化学工学研究室

主任研究員 遠藤 勲

反応物理化学研究室

副主任研究員 星野幹雄

光合成科学研究室

研究員 野口 巧



遠藤 勲主任研究員



星野幹雄副主任研究員



野口 巧研究員



# 文化人としての岩波茂雄(1)

## —「科学叢書」の発行と寺田寅彦—



著者近影

今年の8月から9月にかけて、私は東京駅の近くに2週間程滞在した。その1日、神田神保町の古本屋街に行った。ここを訪れるのは、40年振であった。地下鉄の駅を出て目に入ってきた街は、昔の面影を全く止めていなかった。何軒かの店を覗いて何冊かの本を捜して買って来たが、40年前この街にあった岩波書店は、私の青春時代の1頁を記した所であった。その当時友人の出身校であった小諸のN高等学校の先輩で、教育大学の学生だったKさんが、岩波書店の夜間受付としてアルバイトをしていた。当時、岩波の終業時間は確か4時だったので、4時から彼は岩波書店の食堂で電話番をしていたのだ。2人の学生が交替で詰めていたが、Kさんのいる日に友人たちが集まった。お義理にも立派とはいえない食堂で、その片すみにピアノが置いてあったのが思い出される。初代社長であった岩波茂雄は長野県の出身だったので、長野県の苦学生をいつも働かせていたのだ。あれから私も苦学生としての生活が始まって岩波書店から足が遠のいたが、いつも何かしら親しみもち続けていた。

岩波茂雄は明治14年長野県の諏訪に生まれた。東大の哲学科を出て、神田高等女学校の教頭として4年半程働いたが、経営方針に飽き足らないのと、教えることのおそれもあると、当時としては商人が一番低い身分と思われていた時代に、人のために必要な品物となるべく廉価に提供すれば、人々の必要を充たし、自分の生活も成り立つ。商人は社会的任務を尽くすことにおいては必ずしも卑しいものではないと、自分で荷車を引いて古本市場から本を仕入れて、神保町に古本屋を開業した(大正2年)。その1年後古本屋と並行して出版業を始めた。その時、一面識もなかった漱石に「岩波書店」の看板を書いて貰った(この看板は関東大震災で焼失)。これが縁で最初に出版したのが漱石の「こころ」で、しかも自費出版であった。漱石はこの本を発行する中で岩波の人間性にほれ込み、その後、すべての著作を岩波から出版することになったが、漱石を通して漱石門下の人々と接するようになり、その中の一人であった寺田寅彦(大正14年～昭和10年理研の主任研究員だった)は、後に自然科学叢書関係の出版に中心的な役割を果たした。

岩波は学者でもなく学者的でもなかったが、大学で哲学を学んだことが彼に原理として、殊に文化の根底としての哲学を意識させると共に、認識、知識の重要性、即ち真理と真相とを追究する精神が何よりも重要だということを、自覚させた。そして彼に日本に於ける出版業者としての新紀元を開く見識を与えた。日本文化への貢献という大それた野心はなかったが、学問を少しでも学び文化の意味を感じたことが事業の拡大、充実するにつれて、出版業者として意識的、意欲的になり、更に理想的となり、出版を以て文化に貢献しようとの念願が確固たるもの

のとなった。

岩波の最初の出版は「哲学叢書」であった(哲学叢書と漱石全集の 著者近影 売れ行きが関東大震災で焼失した、岩波書店の再建を支える元になった)。次に日本に最も欠けた科学的知識の探求、及び普及のために出版を通じて努力を捧げたのも必然的な推移であった。大正11年「科学叢書」を寺田寅彦、石原純の編集で発行を開始した。その発刊に当たって岩波は書いている。「科学知識の欠乏は、我国人の著しい弱点であります。それは殖産工業の上に憂うべき結果をもたらすのみならず、更に根本的に宇宙人生に対する眼界の狭小、偏見の横行を招来すると思えます。我国の文化を真に高く築くためには、科学知識の愛求の念を強めることは刻下の急務であり、また永遠の策であります。小生はこの主旨を以て、つとに権威ある科学書の刊行を企てております。」原理の学としての哲学を尊重し、民族や世界の文化財の最も重要なものとしての古典を認識し、真実の論理と現象を開示するものとしての人事については歴史学、社会科学、自然現象については数学、自然科学の探求及び普及に貢献しようとした岩波の基本的見識は、実に正大であり、確実であり、この点においては、世間の学者より更にしっかりと真の学問的精神を把握し、しかもこれを自家の出版に於いて力強く実現し得た岩波のこの精神に基づいて、出版を実施するに当たって、その書物そのものの価値、その社会に及ぼす効果を第一に置いて、儲けは第二にした。又、真理、真実を認識することを第一義としたこと、広くあらゆる教義、思想、主義に真理を認め、偏った出版をしなかった。そのために軍国主義の強まる中で、昭和15年、津田左右吉の著書が出版法違反で起訴されたこともあった。

本づくりについても装幀の堅牢、印刷の鮮明と正確、用紙の良質、落丁の皆無などを志し、日本の出版界の水準を高めた。



神田神保町古本屋街

又、良いものを安くを志し、定価販売を実行した(大正8年頃までは、小売店で定価から割り引いて売っていたが、安く売らなければ最初から安い定価を付けてその通りに売る)。昭和14年には紙不足問うこともあって、買い切り制度(返本できない)を取り入れ、それが今でも続いている。

(以下次号)

研究機器開発技術室 古山公子

### 編集後記

あけましておめでとうございます。

今月号の研究最前線は、「一酸化窒素の生体における第4の働きを発見」を紹介しました。この研究は、分野が異なる研究者が交流することにより、新しいアイデアが生まれ、研究方針などを定めて進められており、幅広い分野の研究者を糾合できる当所の特徴を活かした研究課題といえます。

本年も、理研ニュースの内容の充実に一層努めたいと思います。

## 理研ニュース No.175 January 1996

発行日：平成8年1月15日

編集発行：理化学研究所総務部広報室

〒351-01 埼玉県和光市広沢2番1号 電話(048)462-1111(代表)

製作協力：株式会社エフピーアイ・コミュニケーションズ