

下村脩博士によるオワンクラゲの 緑色蛍光タンパク質 (GFP) の発見

常務理事 池上 正人

2008年に神経生物学者のマーティン・チャルフィー博士（コロンビア大学）、化学者のロジャー・チェン博士（カリフォルニア大学サンディエゴ校）とともにノーベル化学賞を受賞した名古屋大学特別教授で、アメリカウッズホール海洋生物学研究所・元上席研究員の下村脩博士が昨年（2018年）10月19日に逝去されました。90歳でした。博士は「オワンクラゲの緑色蛍光タンパク質（GFP）の発見」で、チャルフィー博士とチェン博士は「GFPの生命科学分野への応用開発」で受賞されました。GFPは、生命科学分野の研究で広く利用されており、現在では生命科学を学ぶ大学生なら誰でも知っている



でも有名なタンパク質です。私もウイルスの複製機構の研究で、組換えDNA技術を用いてウイルスタンパク質とGFPとの融合タンパク質を生細胞内で発現させて、生きた細胞内で緑色に光るGFPを目印にウイルスタンパク質の挙動を調べたものです。

下村博士のノーベル化学賞受賞対象の研究内容（GFPの精製と構造決定）についてご紹介したいと思います。博士は発光生物の発光の仕組みに興味を持ち、1959年にはウミホタルの発光物質ルシフェリンの精製と結晶化に世界で初めて成功しました。この研究がプリンストン大学のジョンソン教授に高く評価され、フルブライト留学生として渡米し、教授のもとでオワンクラゲの発光の仕組みの研究を始めることになりました。

当時すべての生物発光はホタル、夜光虫、キノコなどと同じように“ルシフェリン-ルシフェラーゼ系”によっておこると信じられており、下村博士はオワンクラゲの発光もこの系によって起こると考えてルシフェリンとルシフェラーゼの精製実験を開始しました。しかしルシフェリンとルシフェラーゼの精製はうまくいきませんでした。そこでオワンクラゲはルシフェリン-ルシフェラーゼ系とは別の系で発光していると考え、その発光物質の精製を試みました。しかし、この未知の発光物質に関しては全く情報がありません。無数の可能性のある方法を、何度も何度も試行錯誤しながら実験を進めていきました。発光物質を抽出するためには発光能力を保ったまま抽出しなければなりません。それで阻害物質を使って酵素反応や酸化反応を止めてから発光物質を精製しようとしたのですが、考えられるかぎりの色々の阻害物質を使ってもうまくいきませんでした。精製に行き詰ってから1週間くらいたったある時、「発光反応は多分タンパク質と密接な関係があるから精製溶液のpHを変えることにより発光を止めることが出来るかもしれない。」と、突然ひらめき、pHと発光の関係について実験をしたところ発光はpH4で止まり、中性に戻してみるとま

た光だしたのです。博士の予想が的中したのです。さらに海水中にはカルシウムイオンが多く含まれています。さらに発光を止めるためにはカルシウムイオンの濃度を下げることが有効であることに気づきました。この2つのひらめきにより博士は未知の発光物質を精製することが出来ると確信したそうです。そしてついに1962年発光物質の精製に成功しました。発光物質はクラゲの学名に因んでイクオリンと命名しました。さらにイクオリンの精製過程で、もう一つの発光物質 GFP を副産物として発見し、精製にも成功しました。

生物の体の中にある、ほんのわずかな正体不明の物質を取り出す方法を試行錯誤しながら検討している時には、大量の材料が必要とされます。下村博士は、一日に500匹ものオワンクラゲを採集して、実験に供しました。イクオリンの構造の研究を行っているときには夏の間には家族全員で5万匹以上のクラゲを採集していたとのこと。その時の1日のスケジュールは、朝6時にクラゲ採集を始め、8時に急いで朝食を取り、そして研究室に行って抽出準備、午後1時から5時までイクオリンの抽出、夜7時から9時までは翌日のためのクラゲ採集の準備にあてていたとのこと。日曜日以外は毎日15時間労働です。イクオリンと GFP の精製や構造決定の研究はとても時間のかかる、根気と体力のいる研究でした。

発光物質イクオリンの精製に成功した翌年(1963年)の9月に帰国し、名古屋大学理学部附属水質科学研究施設助教授に着任しました。しかし当時の日本とアメリカとの研究環境には大きな差があり、日本ではイクオリンの発光機構を解明することは不可能に近いと考え、1965年10月に名古屋大学を退職し、プリンストン大学上席研究員として再び渡米しました。

博士はオワンクラゲから発光物質イクオリンの精製に成功しましたが、不思議なことにオワンクラゲの発光は緑色なのに、イクオリンの発光は青色なのです。この点を解明するためプリンストン大学での研究が始まったのです。1974年になってやっと GFP の性質を明らかにし、クラゲが緑色に光るのはイクオリンの発光エネルギーが GFP により緑色蛍光に変換されるからであることを明らかにしました。そして1979年になって GFP の蛍光発色団の構造が決定されたのです。発色団の構造決定には1回の実験に100 mg ぐらいの GFP が必要でしたが、クラゲから得られる GFP は1年に30 mg ぐらいにすぎず、したがってその実験に要する GFP を集めるのに何年もかかったそうです。

既知のすべての蛍光タンパク質は、タンパク質と蛍光物質分子が結合してできた複合体でしたが、GFP の発色団はタンパク質のペプチド鎖中にある3アミノ酸残基(セリン⁶⁵-チロシン⁶⁶-グリシン⁶⁷)であることが分かったのです。つまり GFP は紫外光に励起して、GFP そのものが緑色蛍光を発したのです。1979年のこの結果は、丁度そのころ開発された組換え DNA 技術を用いて GFP 遺伝子のクローニングが可能なることを示し、その後の GFP の実用化研究の驚異的発展のシーズ(種)となったのです。

GFP の生命科学研究への応用分野では、共同受賞者のチャルヒー博士とチェン博士が大きく貢献しています。チャルヒー博士は GFP をオワンクラゲ以外の生物体内に発現させようと考え、組換え DNA 技術を用いて大腸菌や線虫に GFP 遺伝子を導入

しました。そして生きたままの大腸菌や線虫の細胞内で GFP が緑色に光るのを観察したのです。この結果は組換え DNA 技術を用いて目的タンパク質と GFP との融合タンパク質を作製すれば、生きた細胞内で GFP を目印に目的タンパク質の挙動を観察することができる可能性を示しています。すなわち生命科学研究のツールとして利用できる可能性を示したのです。チェン博士はクローン化された GFP 遺伝子にランダムに変異を導入し、その中から蛍光の波長が変わったタンパク質を選び出すという方法で、青色蛍光タンパク質 (BFP)、黄色蛍光タンパク質 (YFP)、シアン色蛍光タンパク質 (CFP) を次々に作り上げました。これによって注目する 2 つ以上のタンパク質を違った色の蛍光タンパク質で標識して、生きた細胞内で相互作用するかどうかを確かめることが可能になったのです。

GFP の実用化にはアメリカ科学者チャルヒー博士とチェン博士の貢献は大きいといえますが、それと同等に GFP の第一発見者である下村博士の研究が評価され、ノーベル化学賞の受賞対象となったのです。これは実用化研究のシーズとなる基礎研究の重要性を示しているものといえます。

東北大学名誉教授