

# 「高度好熱菌丸ごと一匹プロジェクト — 基本的生命現象の系統的解析 — へ向けてのボランティア



研究ノート

倉光 成紀\*

## Volunteer for “Structural-Biological Whole Cell Project — Systematic Analyses of Basic Biological Phenomena —”

**Key Words :** *Thermus thermophilus* HB8, Minimum Gene Set,  
Whole Molecules, Unknown Function, Proteome

生命が生きて行くために最小限必要な基本的遺伝子は約1000個である。それらの遺伝子のほとんどが、高等生物を含めたすべての生物に共通であるにもかかわらず、そのうちの約1/3の遺伝子は、全く機能未知である。これらを含めた基本的生命現象を系統的に解明するために、「構造生物学的解析に適した高度好熱菌細菌を、蛋白質・核酸を始めとする生体高分子からなる超分子マイクロマシン、あるいは、モデル生物として捉える。そして、そこに存在する低分子・高分子すべての生体分子の機能を立体構造に基づいて解析して、『高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 丸ごと一匹』を物理化学の言葉で説明する」ことを最終目標とする、生命科学の基礎的研究分野における壮大なプロジェクトのボランティアを始めている<sup>1)</sup>。そのために、

- (1) 生物材料として、遺伝子操作系が確立した生物の中で、最も高温で生育する高度好熱菌 *T. thermophilus* を用いる。
- (2) 生体分子の解析方法としては、X線結晶解析やNMRなどの構造生物学的解析方法のほか、蛋白質工学的解析方法を始めとするあらゆる機能解析法を駆使する。

### 1. 細胞モデルとして高度好熱菌 (*T. thermophilus*) を選んだ理由

かつて、世界中の分子生物学者が、研究対象を大腸菌 K-12 株、そのファージを  $\lambda$  や T4、などと決めて皆で集中的に研究し、大成功を取めた。本プロジェクトの生物材料として高度好熱菌 (*T. thermophilus* HB8<sup>2)</sup> (図1, 2)) を選ぶ理由は、

- 1) 遺伝子操作系が確立した生物の中で、もっとも高温で棲息する。
- 2) 蛋白質の安定性が高く、結晶化も容易なので(我々がこれまでに扱った蛋白質(表1)<sup>3)</sup>は、すべて結晶化した)、X線結晶解析・NMR等の構造生物学的解析や機能解析に適している。
- 3) ゲノムサイズは1.8 Mbp(図2<sup>1)</sup>)と小さく、細胞の生命活動に必須な遺伝子のみを進化の過程で保持してきたと考えられるが、最少培地で生育するために必要な遺伝子は一揃持っている。
- 4) 大腸菌と共通点が多いため、大腸菌で確立された遺伝子操作系も使用可能である。
- 5) 細胞にとって基本的で重要な酵素蛋白質(例えば、DNA修復系酵素(表1)<sup>3)</sup>)は、ヒトなどの高等動物とも相同性が高く、その立体構造や機能発現機構はほとんど同じである。従って、この高度好熱菌で解明された生命現象の殆どは、ヒトを含めたあらゆる生物に共通である。

### 2. 本プロジェクトの進行手順

以下の1)-5)を、可能な箇所から同時進行で行う。

\*Seiki KURAMITSU  
1949年9月9日生  
1977年大阪大学大学院理学研究科、  
生物化学専攻、博士課程修了  
現在、大阪大学大学院理学研究科、  
生物科学専攻、生物物質学大講座、  
教授、理学博士、生化学、蛋白質  
工学、分子生物学  
TEL 06-850-5433  
FAX 06-850-5442  
E-Mail kuramitsu@bio.sci.osaka-u.ac.jp



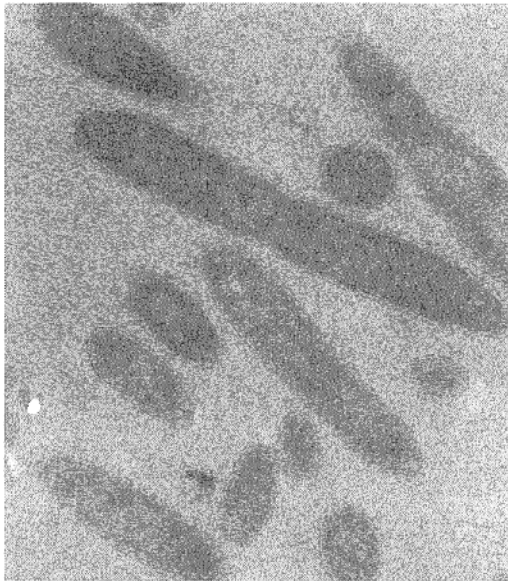


図1 *T. thermophilus* HB8の電子顕微鏡写真 (田中容子, 小野拓郎)

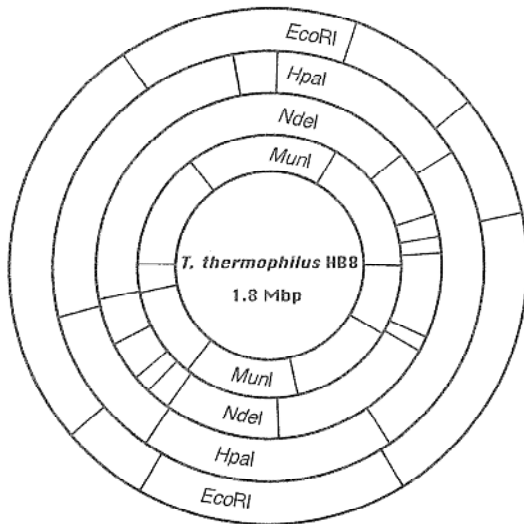


図2 *T. thermophilus* HB8の遺伝子地図<sup>1)</sup>

表1 高度好熱菌 *T. thermophilus* DNA 修復系酵素群研究の進行状況

(○:完了 △:進行中)

DNA 修復系	酵素名	遺伝子のクローニング	蛋白質量産化	機能解析
光回復	photolyase	○	○	△
塩基除去修復	MutM	○	○	△
双鎖DNA除去修復	UvrA	○	○	△
	UvrB	○	○	△
	UvrC	△		
	UvrD	○	△	△
ミスマッチ修復	MutS	○	○	△
	MutL	○	○	
	MutH	△		
組換え修復	RecA	○	○	△
	DNA polymerase	○	○	△
	DNA ligase	○	○	△

1) 遺伝子解析(全ゲノムの塩基配列決定)

全ゲノムの塩基配列決定に関して、本高度好熱菌 DNA は GC 含量が 70% と高いため、その塩基配列決定は難しいと考えられた時代があった。そこでパイロット実験として、コスミド一つ(40 kb)の塩基配列を決定したが、何ら問題は生じなかった。逆に、本高度好熱菌の GC 含量が高いことを利用すれば、ORF が容易に推定できることが明らかになった(図3)。

2) 各蛋白質の量産化

1) で塩基配列が決定された遺伝子から順に、以下3)-5)を担当するグループによって、各蛋白質の量産化を行う。将来、各蛋白質の量産化プラスミドや精製蛋白質を供給する機関ができれば、この方面の基礎科学は飛躍的に発展するであろう。

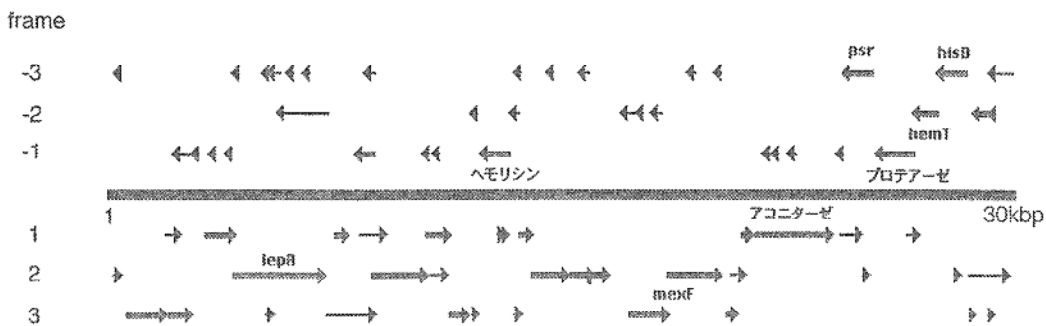


図3 コスミド中の遺伝子(ORF)。

太い矢印は、使用コドンに基づいて予想された遺伝子。名前が記された遺伝子は、いずれかの生物ですでに研究がなされている遺伝子。名前のないものは、機能未知の遺伝子。細かい矢印は、50以上のアミノ酸残基が繋がってはいるが、使用コドンから真の遺伝子ではないと判定されたORF。この図から、遺伝子(太い矢印)が、すき間無く、重なり無く、並んでいることがわかる。

### 3)各蛋白質の立体構造解析

約1000種類程度しかないと推定されている蛋白質立体構造の基本的パターン<sup>4)</sup>のうち、相当数が決定できるであろう。そうなれば、蛋白質の立体構造予測の道も開ける。

### 4)各蛋白質の機能解析

3)の立体構造解析の結果を参考にしつつ、あらゆる方法を組み合わせる。各研究者はこれまでの専門を生かしつつ、今までの研究を好熱菌蛋白質を対象として行えば良く、本プロジェクトの中でも、最もスムーズに行える部分であると考えられる。

### 5)機能未知の蛋白質の機能解析

ON-OFF可能なプラスミド、遺伝子破壊株、蛋白質の二次元電気泳動、低分子・高分子を含めた全分子の同定、立体構造解析など、現存する解析法と新たに開発する解析法を駆使する。

このようにして、機能未知な各蛋白質の個々の機能を解明した後、次に複合系生体分子の解析を行い、より高次の生命活動の解析を行う。

我々の経験によれば、一つの酵素蛋白質について立体構造から機能までを徹底して解析しようとするれば、10人の研究者で少なくとも10年間は要する。本高度好熱菌には約1500種類の蛋白質があるので<sup>5)</sup>、一通り研究するだけでも、1000人の研究者で100年以上を要する。さらに、それら複合系の相互作用までも解析しようとする、気が遠くなるような年月を要する。しかし、その研究過程で得られる成果にはかり知れないものがあることは、容易に想像できる。

最近では種々の生物の遺伝子が次々と決られ、機能未知遺伝子の機能解明が試みられているが、蛋白質の安定性が低かったり、蛋白質の結晶化が難しいために、必ずしも成功していない。また、耐熱生物であっても遺伝子操作系が無いことがある。蛋白質やDNA分子の立体構造に基づいて細胞全体を理解しようとするならば、遺伝子操作系が確立した生物の中で、もっとも耐熱性が高いもの(*Thermus thermophilus*)を選ぶのが得策と考えられる。さらにこの高度好熱菌のように小さなゲノムに残された遺伝子は、あらゆる生物に必須で共通な遺伝子を持っている確率が高い。したがって、構造生物学的解析法

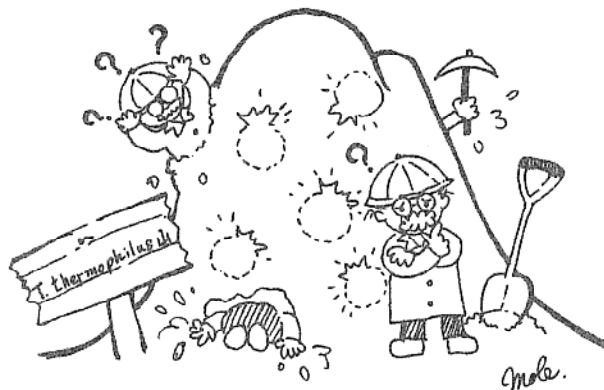


図4<sup>1)</sup> *T. thermophilus* 山は宝の山。気ままに掘っても見つからぬ。皆で一緒に探しましょう。

その他の解析法を駆使して、この高度好熱菌を多くの研究者が協力して系統的に研究することは、基本的生命現象を発見するための近道であると考えられる(図4<sup>1)</sup>)。これらの基礎的研究の成果は、種々のゲノムプロジェクトを始め、関連する学問分野に多大の影響を及ぼし、新たな科学技術の進展や新しい産業の創出にもつながると考えられる。

### 参 考 文 献

- 1) 倉光成紀, 河口真一(1996)バイオサイエンスとインダストリー 54, 644-646 (home page: <http://www.bio.sci.osaka-u.ac.jp/~kuramitu/>)
- 2) Oshima, T. and Imahori, K. (1974) *Int. J. Syst. Bacteriol.* 24, 102-112
- 3) Kato and Kuramitsu (1993) *J. Biochem.* 114, 926-929; Takamatsu *et al.* (1996) *Nucleic Acids Res.* 24, 640-648; Yamamoto *et al.* (1996) *Gene* 171, 103-106; Kato *et al.* (1996) *J. Biol. Chem.* 271, 9612-9618; Okamoto *et al.* (1996) *J. Biochem.* 119, 135-144; Nakagawa *et al.* (1997) *J. Biol. Chem.* 272, 22703-22713; Hiramatsu *et al.* (1997) *Gene* 199, 77-82; Kato *et al.* (1997) *J. Bacteriol.* 179, 6499-6503
- 4) Chothia, C. (1992) *Nature* 357, 543-544
- 5) Kawaguchi, S. and Kuramitsu, S. (1995) *Electrophoresis* 16, 1060-1066