

題名	自然から自然科学へ
Title	From Nature to Natural Science
著者名	クルト・ヴェートリッヒ
Author(s)	Kurt Wüthrich
言語 Language	日本語・英語 Japanese, English
書名	稲盛財団：京都賞と助成金
Book title	The Inamori Foundation: Kyoto Prizes & Inamori Grants
受賞回	14
受賞年度	1998
出版者	財団法人 稲盛財団
Publisher	The Inamori Foundation
発行日 Issue Date	12/25/1999
開始ページ Start page	104
終了ページ End page	141
ISBN	978-4-900663-14-10

## 自然から自然科学へ

### クルト・ヴュートリッヒ

私は自然と身近に接しながら成長しました。私の人生の重要な時期に、スポーツ競技における極度のストレスに対する体の反応を通して自然を体験しました。仕事においては、生命の分子間に起こる相互作用のレベルにおいて自然が機能するメカニズムをより深く洞察することに集中しています。今日、このような特別な機会に私のこれまでの自然との係わり合いや自然科学の研究活動を振り返るという名誉に預かりました。

私はスイスで生まれ、幼年時代は小さな町リースのベルナーゼーラントに住んでいました。当時、ここは農地、森林、川に囲まれた田舎でした。ヴュートリッヒ家の祖先はもっと田舎の山岳地帯で、ベルン近くのエメンタールにあるトラブという農村の出身でした。近年、ヴュートリッヒ家の5人ものメンバーがスイスのサッカーチームあるいはアイスホッケーチームに選ばれてプレーしていることを考えてみると、この田舎という環境が特別な影響を及ぼしたに違いないと思われます。幼年時代、私たち家族は、父方の祖父が農夫だったため古い農家に住んでいました。その事実が当時の私の関心事に大きく影響していました。1961年の父のヘルマン・ヴュートリッヒの写真[photo 1]がここにあります。父は商人としての職についていましたが、育った環境に強く愛着を抱いており、家族は様々な農産物を作っていました。母のゲルトルド・ヴュートリッヒ・クーヘン[photo 1]はまさに家族の中心的存在でした。母はいつも活発な女性であり、私や2人の妹を育てる以外に、家の内外ですばらしい働きをしていました。これが1994年に撮った家族の写真です[photo 2]。

植物や動物に囲まれた田舎での環境との強い結びつきが、自然科学への興味をとても早い時期に呼び起こしてくれました。とりわけ、私はあらゆる種類の水生動物の行動について深い知識がありますが、これらの大部分は幼年期での観察によって養われたものです。その時期には私有のマス川で様々な研究や遊びを楽しみました。頻繁には行けませんが、昔から釣り旅行を楽しんでいます。1987年にはニュージーランドのフィティアンガにあるマーキュリーベイフィッシングクラブに行きました[photo 3]。このクラブには伝説的なアーネスト・ヘミングウェイとゼーン・グレイが当時メンバーとして名を連ねていました。職業に関して言えば、私は森林技術者になりたいと思っていました。その後この点に関しては気持ちが変わりましたが、今も所有している森林の世話をしています。ここには、曾祖父から始まって4世代にわたって植樹された木々が育っています。

学術的な仕事を目指して正規の教育を受け始めたのは1952年で、その年にリースの村の学校から「二カ国語」圏のビール／ビエンヌ市の近くのギムナジウムに転校しま

## From Nature to Natural Science

### Kurt Wüthrich

I grew up in close contact with nature. During an important period of my life I also experienced nature through the reactions of my body to extreme stress in competitive sports. In my professional life I concentrate on getting ever deeper insight into the mechanisms by which nature works on the level of the interplay between the molecules of life. Today it is a great privilege for me to reflect in these very special surroundings on some moments of my interactions with nature and my activities in natural science.

I was born in Switzerland and during my childhood I lived in the Berner Seeland, in the small town of Lyss. At the time of my childhood this was a rural area of farmland, forests and rivers. The roots of the Wüthrich family are in an even more rural, mountainous area, the farming village of Trub in the Emmental near Bern. This rural background must have a special impact, considering that in recent years no less than five members of the Wüthrich family were selected to play either on the Swiss soccer team or the Swiss ice hockey team. My interests during childhood were largely influenced by the fact that we lived in an old farmhouse, where my father's father had been a farmer. Although my father, Hermann Wüthrich, shown here in a snapshot taken in 1961 [photo 1], took up an occupation as a merchant, he remained very much attached to his upbringings and the family produced a wide range of farming goods. My mother, Gertrud Wüthrich-Kuchen [photo 1] was the true center of our family life. She has always been a very active woman, and in addition to raising me and my two younger sisters, who are shown here in a family picture taken in 1944 [photo 2], she did marvellous things in and around our farmhouse.

My intense contacts with the rural environment of plants and animals awakened my interest in natural science at an early age. In particular, I have a thorough knowledge of the behavior of all sorts of water animals, mostly through observations made during my childhood, when I enjoyed all aspects of work and fun with a private trout river. On rare occasions I continue to enjoy fishing trips, such as in 1987 with the Mercury Bay Game Fishing Club in Whitianga, New Zealand [photo 3], of which the legendary Ernest Hemingway and Zane Grey were members in their time. With regard to my professional life, I wanted to become a forest engineer. Although I subsequently changed my mind in this regard, I still enjoy tending the family forest, which now contains trees that were planted by four generations of my family, starting with my great-grandfather.

My formal training toward an academic profession started in 1952, when I



した。ギムナジウム時代には、私の興味は森林や釣り以外にも広がりました。幸運なことに、先生方のうちの2人は元大学教授であり、第二次大戦中のヨーロッパで学術研究の職を辞し、ビールに安息の場を見いだされたのでした。14~18歳の間は大学レベルの数学や物理学の教育課程を受けたのですが、この難題に取り組むことは非常に楽しいものでした。母は私がすでにこの頃には夜通し勉強し始めていたと言っています[photo 4]。その他フランス語、フランス文学、フランス演劇や映画にも熱中しました。これは級友や教師がビール/ビエンヌという二カ国語圏の特徴を持っていたという事実によって大いにやる気になったのでした。ビールのギムナジウムはマグリンゲンの近くのスイス連邦体育学校と非公式に関連があったので、スポーツ競技に対しての興味も湧きました。このように3つの分野すべてが今日に至る私の人生にとって重要な役割を担ってきたのです。物理学と数学は私の研究生活での重要な活動となり、パリや「地方」への定期的な来訪はフランスの食べ物、ワイン、文化の習得へと向けられ、スポーツ競技への定期的で積極的な参加の様子はヴァリセレン市シニアリーグのサッカーチームの写真でここにお見せすることができます[photo 5: 私は後列の右から2番目にいる選手です]。

私の研究生活としては、「磁気共鳴スペクトル分析法」と言われる技術の研究に35年以上深く関わってきました。まず、大学院での研究で、電子常磁性共鳴(EPR)、次に核磁気共鳴(NMR)を化学物理学プロジェクトで使い、1968年以後はNMRを生体高分子の分野に利用しています。振り返ってみれば、これは今年の京都賞の選考委員会が認めて下さった溶液中での蛋白構造決定に関するNMR法の開発につながるまっすぐな道ではありませんでした。時には、我々の発表した結果は疑われ、信じられませんでしたから、自分たちの活動を世間に説明する際に、研究目的を追求するためには相当の精神力と忍耐力も必要でした。

私が学生時代を送った1957~1964年は、NMRスペクトル分析法が化学分野で分析手段として導入されたばかりで、分子生物学は独立した学問として確立されておらず、原子解像レベルで最初の3次元蛋白結晶構造が現れたばかりの頃でした。ですから、ベルン大学での教育は今の研究のすべての領域をカバーすることはできませんでした。ベルン大学の学部もクラスも小規模で、1957年には学生3名が物理学を、7名が化学を専攻していました。私は化学と物理学の両方を専攻し、数学課程の集中プログラムに参加していました。一方では、線形代数、古典力学、化学熱力学に力を注ぎ、他方では合成ポリマーについての物理化学と、蛋白質や核酸の生化学の準備研究にも集中

transferred from the village schools in Lyss to the gymnasium in the nearby “bilingue” city of Biel/Bienne. During the gymnasium years my interests widened beyond forestry and fishing. We had the good fortune that two of our teachers were former University professors, who had left their academic positions elsewhere in Europe during the Second World War and found a haven in Biel. At age 14 to 18 we were presented with courses in mathematics and physics at university level, and we happily accepted the challenge. My mother claims that I started to work through the nights already during those years [photo 4]. Another focus was the French language, French literature, and French theatre and movies, which was largely motivated by the fact that the composition of our class as well as our teachers represented the bilingual character of Biel/Bienne. The Gymnasium Biel was informally attached to the Swiss Federal School of Sports and Gymnastics in nearby Magglingen, and thus my interest in competitive sports was awakened. These three areas all play an important role in my life up to the present days. Physics and mathematics are key activities in my professional life, regular visits to Paris and “les provinces” are devoted to French food, wine and culture, and my regular active participation in competitive sports is illustrated here with a snapshot of the senior league soccer team of the city of Wallisellen taken in 1984 [photo 5; I am the second player from the right in the back row].

My professional life includes more than 35 years of intense involvement with techniques referred to as “magnetic resonance spectroscopy.” First, during my graduate studies there was electron paramagnetic resonance (EPR), then nuclear magnetic resonance (NMR) applied to chemical physics projects, and since 1968 NMR with biological macromolecules. In hindsight it was not a straightforward avenue that led to the development of the NMR method for protein structure determination in solution, which has been cited by the selection committee for this year’s Kyoto prize. On occasion our results were met with doubts and disbelief, so that the pursuit of our goals also required considerable moral strength and perseverance in public representation of our activities.

During my student years from 1957-1964, NMR spectroscopy was just being introduced as an analytical tool in chemistry, molecular biology was not yet established as an independent discipline, and the initial three-dimensional protein crystal structures at atomic resolution were just emerging. My education at the University of Bern could thus not possibly cover the areas of our current research. The faculty and the student classes at this university were small, with three students



しました。ずっと後になってから、このように学部在学時代の研究をいろいろやったことが後の科学的な研究活動の素晴らしい基礎となったということを十分に認識できたのでした。1962年の春、ベルン大学からバーゼル大学へと移り、バーゼルでは「体育教師課程」に登録しました。1週間に約25時間集中的に運動をする以外に、人体解剖学と生理学の医学進学課程を受講しました。スポーツ競技を追求して自分自身に対して行った観察から得た経験とともに、これは私の研究分野に広がりを与えてくれました。1962年秋、バーゼル大学で化学教育課程を補うための活動も開始しました。この活動として、シルビオ・ファラブ教授との無機化学における博士論文作成や、合成有機化学、天然物化学、量子化学の研究課程があります。私の博士論文のテーマは自己酸化反応における銅化合物の触媒活性についてでした。このプロジェクトは物理研究所で使われている最先端のEPR分光計を用いた、磁気共鳴スペクトル分析法に関する最初の実験の経験となりました。実際の実験は低分子量の金属錯体を用いて行いましたが、研究の関心は主に銅含有金属蛋白質における構造-機能相関に向けられました。私は正規の大学教育課程を1964年3月に終え、その際に化学の博士号、ならびに「スイス連邦体育教師免許証」を取得しました。

1957年以後、私はスイス山間部のリゾート地でスキーのインストラクターとして冬のある時期を過ごしました。

1959年から、私は非常勤講師として働き、まずカントンシュレー・ソロトゥーンで物理学を、ビールのギムナジウムで化学を教え、最終的にバーゼルの女子ギムナジウムで体育を教えました。1961年に、ベルナーオーバーランドのSaanenmöserというリゾート地でスキーのインストラクターとして働いている時に、妻のマリアンヌ・ブリナー [photo 6]に出会いました。彼女は当時小学校教師でした。私達は1963年に結婚し、その後マリアンヌはバーゼル大学で勉強し始め、「スイス連邦体育教師免許証」を取得しました。私が博士課程を修了して数年後の1968年、息子ベルンハルトが生まれ、1970年にはカリンが家族に加わりました。これが家族のスナップ写真で、1972年にグライフェンジーの当時の住居で撮った写真 [photo 7]、1974年にベルンアルプスをハイキング中に撮った写真 [photo 8]、1984年にアリゾナで乗馬をしたときの休憩中の写真です [photo 9, 10]。

大学院での研究終了後、もう1年バーゼルに残り、溶液中の金属錯体についてのEPR研究に集中しました。バナジル塩溶液中での錯体形成平衡の温度変動に関する研究から得た結果をここに示しています [photo 11]。1965年春、私達はアメリカに行き、

majoring in physics and seven students majoring in chemistry in 1957. I majored in both chemistry and physics, and participated in an intense program of courses in mathematics. The emphasis was on the one hand on linear algebra, classical mechanics and chemical thermodynamics, on the other hand on the physical chemistry of synthetic polymers and the preparative biochemistry of proteins and nucleic acids. Only much later did I fully appreciate the extent to which this combination of undergraduate studies would provide an excellent foundation for my later scientific activities. In the spring of 1962 I moved from the University of Bern to the University of Basel, where I enrolled in the “Turn- und Sportlehrerkurs.” In addition to about 25 weekly hours of intense physical exercise, these studies included premedical courses in human anatomy and physiology. Combined with experience gained from observations made on myself in the pursuit of competitive sports, this provided an additional dimension to my education. In the fall of 1962 I also started activities to complement my training in chemistry at the University of Basel. This included work on a Ph.D. thesis in inorganic chemistry with Prof. Silvio Fallab, and courses in synthetic organic chemistry, natural product chemistry and quantum chemistry. The subject of my Ph.D. thesis was the catalytic activity of copper compounds in autoxidation reactions. This project led to my initial practical experience with magnetic resonance spectroscopy, using a state-of-the-art EPR spectrometer available in the physics institute. Although the actual experiments were performed with low molecular weight metal complexes, the interest of the study was mainly focused on structure-function correlations in copper-containing metalloproteins. My formal university education was completed in March 1964, when I obtained both a Ph.D. degree in chemistry and the “Eidgenössisches Turn- und Sportlehrerdiplom.”

From 1957 onward I spent part of the winters as a ski instructor in Swiss mountain resorts. Starting in 1959 I also accepted part-time teaching jobs, first teaching physics at the Kantonsschule Solothurn, then chemistry at the Gymnasium Biel, and finally gymnastics at the Mädchengymnasium in Basel. In 1961, while on my job as a ski instructor in the resort town of Saanenmöser in the Berner Oberland, I met my wife, Marianne Briner [photo 6], who at the time was an elementary school teacher. We were married in 1963, and Marianne then started studies at the University of Basel that lead to the “Eidgenössisches Turn- und Sportlehrerdiplom.” After several years on the road during my postdoctoral years, we started a family, with our son Bernhard being born in 1968 and our daughter





photo 1

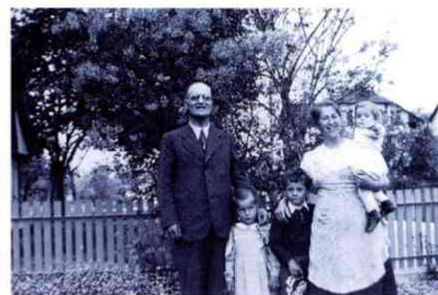


photo 2



photo 7



photo 8



photo 3



photo 4



photo 9



photo 10



photo 5



photo 6

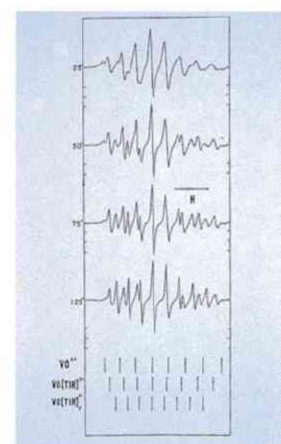


photo 11

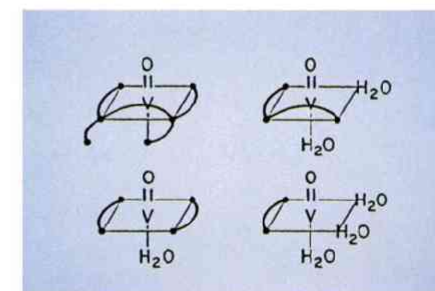


photo 12



博士課程修了後の教育を受けるためにカリフォルニア大学バークレー校のロバート・E・コニック教授のところで研究に加わりました。バークレーでは、金属イオンと金属錯体の水和に関する研究にEPRを用いた以外に、 $^{17}\text{O}$ 、 $^2\text{H}$ 、 $^1\text{H}$ のスピン緩和測定にNMRを用いました[photo 12]。自分の研究プロジェクトに加えて、バークレー時代は核スピン緩和理論、群論、量子力学についての集中研究課程に専心し、バスケットボールを集中的に練習し、アメリカンフットボールにもある程度触れることができました。

1967年10月、私はニュージャージー州のモリーヒルにあるベル研究所でロバート・G・シャルマン博士の生物物理学部に加わりました。当時、ベル研究所は物理学と物理化学の研究に関して世界の最先端をいく場所でした。私は最初の超伝導高解像能NMRスペクトル測定器の1台を保守する責任を与えられました。このNMRスペクトル測定器は220MHzというプロトン共鳴周波数で作動しました。蛋白質の構造と機能に関する研究に十分な測定時間を使うことができました。それまでの経験から、私の興味はポリペプチド鎖よりも金属中心の方に向けられました。高解像能NMRを使った私の初期のプロジェクトはすべてヘム蛋白質に関して行わなければなりませんでした。蛋白質のチトクロームcが生物学的機能において交互に採用する酸化還元状態のNMRスペクトルの相違に関するそれまでの研究発表に興味をそそられました。これによって構造に依存する化学シフトに大きな差があることがわかったからです。数ヶ月間の集中研究後には、構造シフトならびに超微細シフトを明らかに示す新たなデータによってこの初期の結果はさらに広がりを持つことができました[photo 13]。このためにヘム蛋白質の活性部位の電子構造が新たに研究できるようになりました。救急室で自分の腕から採血した血液試料を用いて、ベル研究所の日本人同僚のヤマネ・テツオ博士は「ヘモグロビン (KW)」を調製し、数ヶ月以内に、私達はヘモグロビン[photo 14]などの酸素結合性ヘム蛋白質のNMRスペクトルから構造-機能相関に関して情報を得る新しい道の発見に成功しました。これらのプロジェクトを選択したのは幸運でした。1968年に利用できた装置の感度およびスペクトル解像度は限られていたために、ヘム蛋白質は構造生物学においてNMRの適用を成功させる唯一のものだったのです。米国物理学会の年次総会での講演に招待されたり、ニューヨークの記者会見に呼ばれたり、*Physics Today*に特別記事を依頼されたり、その後「権威のある引用」となった総説[photo 15]を書いたり、当時これはかなりの関心を引き起こしました。何年後には、特殊なNMRスペクトルの特徴によってこのような金属蛋白質に関する初期の研究が可能になり、3次元蛋白構造決定のNMR法の開発の様々な局面において非

Karin joining us in 1970. The family snapshots were taken in 1972 at our residence at the time in Greifensee [photo 7], in 1974 during a hike in the Bernese alps [photo 8], and in 1984 during a break when riding horses in Arizona [photo 9, 10].

After finishing my graduate studies I spent another year in Basel concentrating on EPR studies of metal complexes in solution, as illustrated here by results obtained from studies of the temperature variation of complexation equilibria in a solution of vanadyl salts [photo 11]. In the spring of 1965 we moved to the USA, where I joined Prof. Robert E. Connick at the University of California, Berkeley, for postdoctoral training. We used NMR spin relaxation measurements of  $^{17}\text{O}$ ,  $^2\text{H}$  and  $^1\text{H}$  in addition to EPR for studies of the hydration of metal ions and metal complexes [photo 12]. Besides my research projects, the Berkeley period was devoted to intensive course work on the theory of nuclear spin relaxation, group theory and quantum mechanics, to extensive practice of basketball, and to some contacts with American football.

In October 1967 I joined the biophysics department of Dr. Robert G. Shulman at Bell Telephone Laboratories in Murray Hill, New Jersey. Bell Labs. at the time was a world-leading place for research in physics and chemical physics. I was given responsibility for maintenance of one of the first superconducting high resolution NMR spectrometers, which operated at a proton resonance frequency of 220 MHz. Plenty of instrument time was available for research on protein structure and function. Due to my background my interest was focused on metal centers rather than polypeptide chains, and all my initial projects in high resolution NMR had to do with hemoproteins. I was intrigued by previous publications on NMR-spectral differences between the reduced and oxidized states that the protein cytochrome c adopts interchangeably in its biological function, since these indicated large differences in conformation-dependent chemical shifts. After several months of intense work these earlier results could be expanded with new data that manifest conformation shifts as well as hyperfine shifts [photo 13], which enabled novel studies of the electronic structure of the active site in this protein. Using blood sampled from my arm in the first aid station, a Japanese colleague at Bell Laboratories, Dr. Tetsuo Yamane, prepared "hemoglobin (KW)," and within a few months we found entirely new avenues of deriving information on structure-function correlations from the NMR spectra also for hemoglobin [photo 14] and other oxygen-binding hemoproteins. These projects were a lucky choice: with the limited sensitivity and spectral resolution of the instrumentation available in 1968, hemoproteins gave



常に役に立ちました。

ヘム蛋白質の総説 [photo 15] は、ETHチューリッヒによって「大学教授資格論文」として受理され、1969年10月に私はスイスに帰国しました。ETHに入った当初から、以前のベル研究所と同様にNMRとEPR装置が十分に備わったところを準備されていました。当時はこのようには感じなかったかもしれませんが、1980年に正教授となるまでの10年間以上、学部の教職員の職についたことは非常によい機会を与えてくれました。ETHでは、このようにして授業の重荷と管理義務の両方から解放されたので、私は金属蛋白質に関する研究の継続、ならびにペプチドや小蛋白質の系統的NMR研究に関する新しい計画を開始することに十分に集中することができました。「生物学的研究におけるNMR：ペプチドと蛋白質」という研究論文を書く時間もありました。この論文はその後、荒田洋治博士と甲斐正恒博士が日本語に訳してくださいました [photo 16]。1975年に、この本で扱った主題に関して総合的な調査に着手するのは理にかなったことでした。この研究に費やした努力は以後の年月の研究プロジェクトを計画する際にかなり役に立ちました。

科学研究は依然として私の職業生活の中心でありましたが [photo 17は1998年にNMR研究室で撮ったもの]、その他の活動にも時間とエネルギーを注ぎました。これらの活動の大半は社会に対する奉仕と思われるかもしれませんが、科学者としての私自身の形成に大きな影響を与えてくれ、ずっと続く個人的友情関係を築かせてくれました。少し説明しますと、私が研究以外に関与したのは主に国際生物物理学連合 (IUPAB) と国際科学連合会議 (ICSU) に関わるものでした。私は会議のメンバー、IUPABの事務局長・副会長として働き、ICSUの「総合委員会」と「科学者自由交換に関する常任委員会」のメンバーとしても働きました。余談ですが、私がIUPABの事務局長に選ばれたのが、1978年のIUPAB会議で、場所はこの京都国際会館だったのです。事務局長としての6年間はいろいろと時間をとられて大変忙しい時期でした。逆に好ましい点としては、それまでに大半を教科書やその他の文献から名前を知っていた多くの素晴らしい先輩の科学者たちにお目にかかれたことです。一例を示すと、構造生物学は1978～81年にIUPABでブリトン・チャンス、ヘンリック・アイゼンバーグ、デヴィッド・フィリップス、フレッド・リチャード、和田昭充らという真に優秀な面々によって発表されました。仕事上の会議ならびに社交的な集まりの場で、論文に発表するよりもずっと前に最新の研究結果を検討しただけでなく、このような素晴らしい同僚がどのように研究を追求しているかということを観察するチャンスを与えてもらいました。

unique opportunities for successful early applications of NMR in structural biology. At the time this stirred considerable interest, as manifested by an invitation to lecture at the Annual Meeting of the American Physical Society, a press conference in New York, a feature article in *Physics Today*, and a review [photo 15] that subsequently became a “citation classic.” Many years later the special NMR spectral features that enabled the early work with these metalloproteins were a great help in various aspects of the development of the NMR method for three-dimensional protein structure determination.

The hemoprotein review [photo 15] was also accepted as a “Habilitationsschrift” by the ETH Zürich, and in October 1969 I returned to Switzerland. From the start at the ETH I was equally well equipped with NMR and EPR instrumentation as previously at Bell Telephone Laboratories. Although I may not have felt this way at the time, it was also a great opportunity to occupy junior faculty positions for more than 10 years, before being named a full Professor in 1980. Being thus free of both heavy teaching loads and administrative duties within the ETH, I could fully concentrate on the continuation of studies with metalloproteins and the start of a new program of systematic NMR investigations with peptides and small proteins. There was also time left to write a monograph, *NMR in Biological Research: Peptides and Proteins*, which was subsequently translated into Japanese by Dr. Yoji Arata and Dr. Masatsune Kainosho [photo 16]. In 1975 it was still within reason to prepare a comprehensive survey of the subject treated in this book. The effort invested in completing this task paid rich dividends in the planning of our research projects for the following years.

Although scientific research has always been the main focus in my professional life [photo 17 was taken in the NMR laboratory in 1998], some other activities also represented major commitments of time and energy. Most of these activities may be considered a service to the community, but they had a big impact on my formation as a scientist and resulted in many lasting personal friendships. Let me explain: One of my biggest outside commitments was with the International Union of Pure and Applied Biophysics (IUPAB) and the International Council of Scientific Unions (ICSU). I served as Council member, Secretary General and Vice President of IUPAB, and as a member of the “General Committee” and the “Standing Committee on the Free Circulation of Scientists” of ICSU. By the way, my election as Secretary General of IUPAB took place here in the Kyoto International Conference Hall, as part of the 1978 IUPAB Congress. During my six-year term



IUPAB会長とは特に親密な共同研究を行い、最初の3年間は江橋節郎教授と仕事をしました。本日江橋教授がいらして下さってうれしい限りです。次の3年間はリチャード・ケインズ教授と仕事をしました。リチャード・ケインズはチャールズ・ダーウィンの曾孫にあたります。IUPABに関連して1982/83年にヨーロッパと極東と一緒に旅行している間、ダーウィン没後100周年を記念し「ダーウィンの講義」を10回以上発表するのを聞きました。その代わりに、リチャードは生体分子のNMRスペクトル分析法について何度も聞くことになりました。ICSUでは、個人的なつきあいは生物物理学を超えて、あらゆる科学部門の代表的な人々に及びました。私はそれまでは全く知らなかった仕事にも関与するようになりました。最も注目に値するものは、1981~83年の中国と台湾の学会や政府の役所との大量の通信と個人的なやりとりでした。当時、中国は科学連合に加入する準備をしていたので、私達は「中国北京の中国生物物理学学会」と「中華民国台北の中国生物物理学学会」の2つがIUPABに対し遵守する条件について交渉しました。この交渉を行うために多くのきわめて正式な文書連絡を行ったり、両国を訪問して自分で交渉もしました。IUPABとICSUの活動が最も強調したのは発展途上国の科学者との交流をもつことで、私はアフリカ、極東、ラテンアメリカでのサマースクールとシンポジウムの開催準備に関与しました。このようなことはすべて私の世界観に大きな影響を及ぼしました。互いに意見交換するという意味で非常によく似た思い出は、ETHでの職以外の活動に関連しています。たとえば、雑誌や本の編集者、編集委員会のメンバー、科学会議の準備、企業との協議調整などの仕事があげられます。今日振り返ってみると、このような正規の職務外の活動が、科学上の意見交換にとっても人間関係にとっても、私の職業生活において最も貴重な要素となっています。

私の研究室での業績について振り返ってみましょう。大きな変化は1974年から1976年の間に起きました。1970年から75年の間、私は小グループのスイスの科学者たちと研究をしていました。そのメンバーは2~4名の大学院生、ルドルフ・バウマンという化学工学者、博士課程修了後の仕事仲間であるレグラ・ケラー博士でした。バウマンはのころずっと私と一緒に研究を続けており、ケラーは1970年から82年まで私のグループでヘム蛋白質に関する研究を積極的にうまく遂行していました。1976年には、気づいてみると突然20名以上の博士課程修了後の研究員や世界中から来た学生などのグループと研究をすることになっていました。私達は新しい実験と戦略を作り出すことを開始し、最終的に蛋白質構造決定に関するNMR法の完成に至りました。これに

as Secretary General the demands on my time were quite heavy. The sunny side of the story was that I met a large number of eminent scientists, whose names I had previously mostly known from textbooks and other literature. To give just one illustration, structural biology was represented in the IUPAB Council from 1978-81 by Britton Chance, Henryk Eisenberg, David Phillips, Fred Richards and Akiyoshi Wada, a true center of excellence! In the business meetings as well as in the social gatherings we not only discussed the latest research advances long before they appeared in publications, but I also had the opportunity to observe how these more senior and already highly distinguished colleagues pursued their work. There was a particularly close collaboration with the IUPAB Presidents. During a first three-year term this was Prof. Setsuro Ebashi. I am very happy that Professor Ebashi is here with us today. During a second term the new President was Prof. Richard Keynes. Richard Keynes is a great-grandson of Charles Darwin. During IUPAB-related joint travel in Europe and the Far East in 1982/83, I listened to more than 10 presentations of his "Darwin Lecture" commemorating the 100th anniversary of Darwin's death; in return, Professor Keynes lived through a heavy dose of biomolecular NMR spectroscopy. In ICSU, personal contacts went beyond biophysics and included representatives of all branches of science. I also got involved in business that had so far been foreign to me. Most notable were extensive correspondence and personal interactions with Academy and Government offices in China and Taiwan during the period 1981-83, when China was ready to join the Scientific Unions. We negotiated terms and conditions for adherence to IUPAB of both "The Biophysical Society of China located in Beijing, China" and "The Chinese Biophysical Society located in Taipei, China," which involved extensive, highly formal correspondence as well as visits and personal negotiations in both countries. Much emphasis of the activities of IUPAB and ICSU was on exchange with scientists in developing countries, and I was involved in organizing summer schools and symposia in Africa, the Far East and Latin America. This all greatly influenced my outlook to the world. Very similar memories of give and take relate to other activities outside of my ETH position, for example, jobs as an editor of journals and books, membership on editorial boards, organization of scientific meetings, and consulting arrangements with industry. From today's perspective these extracurricular activities have been most valuable elements of my professional life, both for the scientific contacts and the personal relations.

Let me return to the developments in my research laboratory. A big change



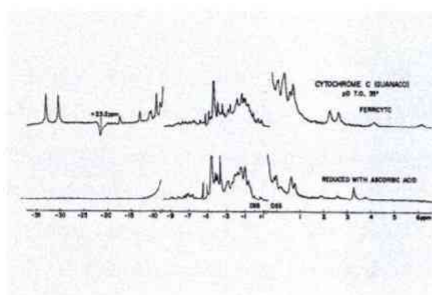


photo 13

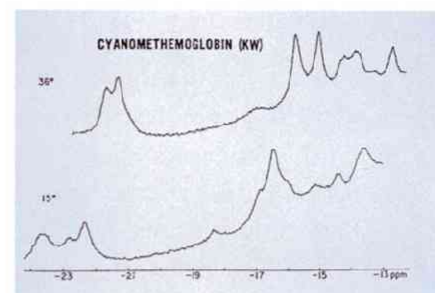


photo 14

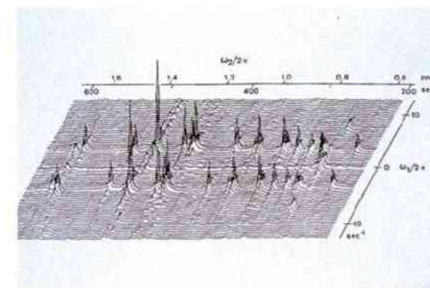


photo 19

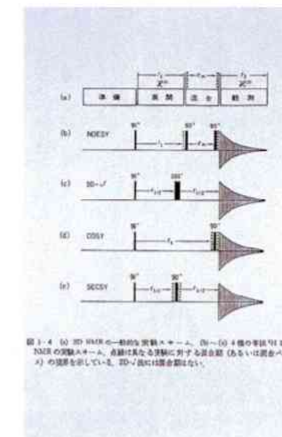


photo 20

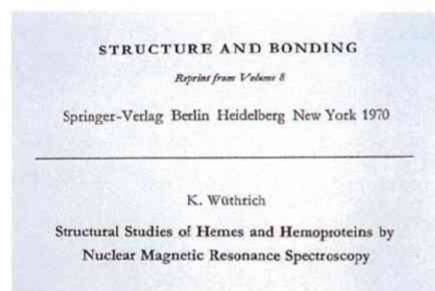


photo 15



photo 16

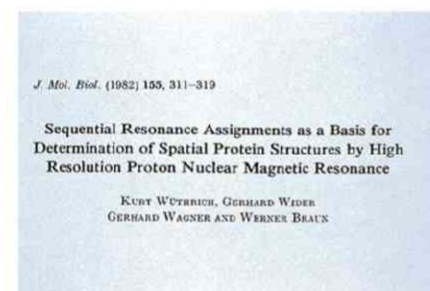


photo 21

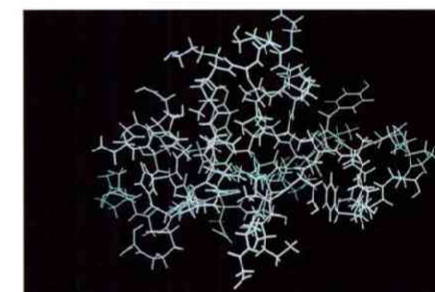


photo 22

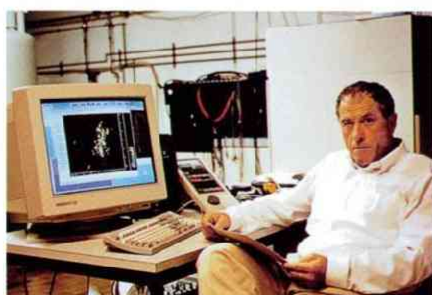


photo 17



photo 18

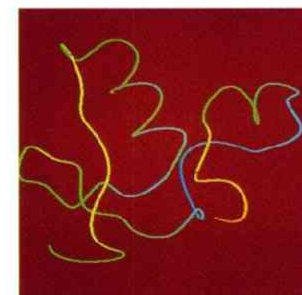


photo 23



photo 24



は3次元高分子構造に対して直接的に関係することが可能なNMRパラメータとしての核オーバーハウザー効果 (NOE) の確認がありました。蛋白質の数千のNMR線に対して何百という配列特異的な割当を行うための「連続的割当法」においても、NOEは重要な役割を担っていました。高分子の研究に対する2次元 (2D) NMR法の開発は、リチャード・エルンスト教授との共同プロジェクトとして1976年に開始されました。エルンスト教授は1991年にノーベル賞を受賞されました。非常に幸運なことに、日本から優秀な博士課程修了後の研究員である永山国昭博士[photo 18]がこの野心的なプロジェクトに参加してくれました。1977年に、蛋白質の2次元NMRスペクトルを初めて記録しました。これが、いわゆる2次元J解像NMRスペクトル[photo 19, 20(c)]です。1980年までに、私達は初期の蛋白質構造決定の準備に4つの2次元NMR実験を集めて整理しました。その4つとは、COSY (2次元相関スペクトル分析法) [photo 20(d)], SECSY (2次元スピン-エコー相関スペクトル分析法) [photo 20(e)], FOCSY (2次元折りたたみ補正相関スペクトル分析法) およびNOESY (2次元核オーバーハウザー増強スペクトル分析法) [photo 20(b)]です。このような頭文字を決定するのは当時、非常に楽しいことでした。やがて、私のグループは日常的に2次元NMR実験を用い始め、10年以上の蛋白質に関する1次元NMRスペクトル分析法による実験は、2次元NMRの新たな可能性と運良く有益に結合しました。とにかく、NOESYとCOSYは今日でも依然として重要な実験であるのに対して、SECSYとFOCSYはその後の技術的進歩のために残ることができませんでした。

1982年に連続的に発表した4報の論文シリーズは、2次元NMRを用いた連続的割当法を総合的に説明したもので、この論文の最初の1報はNMRによる蛋白質構造決定に関して現在用いられている方法を概説したものです[photo 21]。測距マトリックスのディスタンスジオメトリアルゴリズムと効率的ソフトウェアでの実行に関する集中的研究に2年以上かけた後に、球状蛋白質、雄牛の精液中のプロテアーゼ阻害因子 (BUSI) の最初のNMR構造決定を完成することができました。BUSIの完全な原子解像レベルのNMR構造図をphoto 22に示し、photo 23の単純化した図からはこの蛋白質のポリペプチド骨格の折りたたみ状態がわかります。photo 24には構造決定中に記録したBUSIのコンピュータディスプレイとともにティモシー・ハーベル (左) とマイケル・ウィリアムソンが写っています。多かれ少なかれNMRによる蛋白質構造決定に直接的に貢献してくれた私のグループのその他の優秀な若い科学者全員をここで適切に評価することはできません。ゲルハルト・ワグナーはプロジェクトの各段階に関与し

had occurred between 1974 and 1976. From 1970-75 I had been working with a small group of mostly Swiss scientists, *i.e.*, two to four graduate students, a chemical engineer, Rudolf Baumann, who has stayed with me throughout all these years, and a postdoctoral associate, Dr. Regula Keller, who pursued a highly successful research program with hemoproteins in my group from 1970 to 1982. In 1976 I found myself suddenly surrounded by a group of over 20 postdoctoral fellows and students from all over the world. We started to develop new experiments and novel strategies that eventually resulted in the NMR method for protein structure determination. This included the identification of the nuclear Overhauser effect (NOE) as a NMR parameter that can be related in a straightforward way to three-dimensional macromolecular structures. The NOE had a key role also in the "sequential assignment strategy" for obtaining sequence-specific assignments of the many hundred to several thousand NMR lines in a protein. The development of two-dimensional (2D) NMR techniques for macromolecular studies was started in 1976 as a joint project with Prof. Richard Ernst, who became a Nobel laureate in 1991. We were very fortunate that an outstanding postdoctoral fellow from Japan, Dr. Kuniaki Nagayama [photo 18], joined us for this ambitious project. In 1977 the first 2D NMR spectrum of a protein was recorded, a so-called 2D J-resolved NMR spectrum [photos 19 and 20(c)]. By 1980 we had assembled four 2D NMR experiments that provided for the initial protein structure determinations: COSY (2D correlated spectroscopy) [photo 20(d)], SECSY (2D spin-echo correlated spectroscopy) [photo 20(e)], FOCSY (2D foldover-corrected correlated spectroscopy) and NOESY (2D nuclear Overhauser enhancement spectroscopy) [photo 20(b)]. It was a lot of fun at the time to decide on these acronyms! Soon my group started to use 2D NMR experiments in daily practice, and the experience from more than a decade of one-dimensional NMR spectroscopy with proteins was happily and profitably married with the new potentialities of 2D NMR. By the way, NOESY and COSY are still key experiments today, whereas SECSY and FOCSY did not survive subsequent technical advances.

A series of four papers published back-to-back in 1982 provides a comprehensive account of the sequential assignment strategy with 2D NMR, and the first one of these papers outlines the presently used strategy for protein structure determination by NMR [photo 21]. It still took two more years of intense work on metric matrix distance geometry algorithms and their implementation in efficient software packages until the first NMR structure determination of a globular



てくれ、アニル・クマールは最初に2次元 NOESY実験を記録し、ゲルハルト・ヴィダーは2次元NMRスペクトル分析法および連続的割当法に大きな貢献をしてくれ、ヴェルナー・ブラウン、マーチン・ビレターと日本人の共同研究者・郷信広教授はNMRデータの構造解析に関する理論的研究という研究室の伝統となる研究を始めたのでした。このようなすべての共同研究者、1976年から84年の「冒険的時代」にやってきたその他多くの学生や博士課程修了後の研究者は、そのうちに非常に成功し、独立した学問の道を歩み始めました。

蛋白質の最初のNMR構造決定は、予想外の新しいやりがいのある仕事へと発展しました。1984年春にいくつかの講義でBUSIの構造[photo 22]を発表した際に、反応は不信と提案の混じったもので、我々の出した構造は相同蛋白質の結晶構造後にモデルを作ったに違いないというものでした。明らかに、構造生物学の社会はNMRの役割を新種の補足データを与えることができるが、原子解像レベルで新規の構造決定には適していないと完全に決めつけていました。この考えはNMRの分野で著名な何名かの共同研究者によっても表明されたのでした。1984年5月14日にミュンヘンでのセミナーの後の議論で、1988年にノーベル賞を受賞したロバート・フーバーは彼の研究室でX線結晶構造解析によって、私の研究室ではNMRによって新しい蛋白質構造を別々に解析することで、この問題を解決しようと提案しました。この目的のために、私達はそれぞれヘキスト社から $\alpha$ -アミラーゼ阻害剤のテンダミスタットを十分に供給されました。溶液中ではNMR[photo 25, 26]によって、単結晶中ではX線回折によってテンダミスタットの事実上同一の3次元構造を求めることができました。photo 27はNMRによる溶液構造でのポリペプチド骨格の重なりを表したもので、青色線の束で示し、X線解析による結晶構造は赤色線と結晶のB因子を示唆する黄色円によって示しています。2つの構造がほぼ同一であることは、赤色線が青色線の束の内部にあり、大半の青色線は黄色円を通過しているという事実から明らかです。テンダミスタットの経験は完全に問題を解決してくれました。これは*Journal of Molecular Biology*の精製テンダミスタット構造に関する50ページの報告書の付属として、1988年に発表された以下の文書で報告されました。「編集者の注：私達は十分な裏付けデータを付けてこの論文を発表するという手段をとった。というのはこれは2次元NMRで詳細に解明した初めての高分解像構造だからである。したがって、この場合すべてを完全な形で発表するべきであると思うが、先例とはならない。X線蛋白質結晶構造解析で実行されたように、将来このような裏付けデータはデータバンクに蓄積できると期待されるか

protein, bull seminal protease inhibitor (BUSI), could be completed. A view of the complete atomic resolution NMR structure of BUSI is afforded by photo 22, the simplified presentation of photo 23 shows the polypeptide backbone fold in this protein, and photo 24 shows Timothy Havel (left) and Michael Williamson with a computer display of BUSI recorded in the course of the structure determination. It is not possible here to do proper justice to all the other brilliant junior scientists in my group who contributed in more or less direct ways to the method of protein structure determination by NMR. Let me just mention that Gerhard Wagner was involved in each step of the project, Anil Kumar recorded the first 2D NOESY experiments, Gerhard Wider made key contributions to 2D NMR spectroscopy and to the sequential assignment method, and Werner Braun, Martin Billeter and a Japanese colleague, Prof. Nobuhiro Go, started a tradition in my laboratory of theoretical work on the structural interpretation of NMR data. All these colleagues, and many additional students and postdoctoral associates from the "heroic period" 1976-84 have in the meantime started highly successful independent academic careers.

The completion of the first NMR structure of a protein brought new, unexpected challenges. When I presented the structure of BUSI [photo 22] in some lectures in the spring of 1984, the reaction was one of disbelief and suggestions that our structure must have been modeled after the crystal structure of a homologous protein. Apparently the structural biology community had thoroughly adjusted to the role of NMR as a method that could provide some exotic supplementary data, but which would not be suitable for *de novo* structure determination at atomic resolution. In a discussion following a seminar in Munich on May 14, 1984, Robert Huber, who became a Nobel laureate in 1988, proposed to settle the matter by independently solving a new protein structure in his laboratory by X-ray crystallography and in my laboratory by NMR. For this purpose, each one of us received an ample supply of the  $\alpha$ -amylase inhibitor Tendamistat from Hoechst AG. Virtually identical three-dimensional structures of Tendamistat were obtained by NMR in solution [photos 25 and 26] and by X-ray diffraction in single crystals. The photo 27 shows a superposition of the polypeptide backbone in the NMR solution structure, represented by a bundle of blue lines, and the X-ray crystal structure, represented by a red line and yellow circles indicating the crystallographic B-factors. The near identity of the two structures is manifested by the facts that the red line is within the bundle of blue lines, and that most of the blue lines pass



らである」。これはその後のメタロチオネインのNMR構造決定[photo 28]の背景下で特に有望でした。1985年6月、エール大学とピッツバーグ大学で小さい金属を多く含む蛋白質の最初の1つの構造を示しました。ここで、私達のNMR構造とは大きく異なるメタロチオネインの結晶構造に直面しました。間違った結晶構造はその後*Science*の特別記事で発表されたのに対して、*Nature*はNMR構造に関する私達の論文を却下しました。6年後、メタロチオネインの結晶構造は再度決定され、NMR構造とは非常に緊密に一致していることが判明しました。当時スイスのシステムでは、終身在職権の決定などの昇進が、最も影響のある雑誌の発表記録とはそれほど密接な関係がなかったのは幸運なことでした。

1984年の晩夏にBUSIのNMR構造に関する研究を終える頃には、私はIUPABの事務局長として6年間の任期も終えようとしていました。私はペースを変える必要があったので、1年間の有給休暇をとることを申請しました。ベルナーオーバーランドの雄大で美しい山間のリゾート地であるヴェンゲンで結局18ヶ月間近く過ごしました[photo 29, 30]。BUSIの構造決定に関しては、長期目標を達成していたので、新たなインスピレーションが必要でした。自分のデスクからユングフラウ地域の景色の眺めを楽しんでいる時にそのインスピレーションがわきました[photo 31]。当時は1983年にコーネル大学で講義をしたベーカー講義シリーズの研究論文を書く約束をしていました。ヴェンゲンでは1人で大半の時間を過ごし、家族は週末や休暇の時にこちらにやってきましたので、仕事は非常にはかどりました。最も重要なことは、1977~84年の私の研究グループの主な成果をまとめた「蛋白質と核酸のNMR」という研究論文を書き終えたことでした。最初のNMR構造決定への批判的な反応を考えながら、私は完全に詳細なやり方で私達の研究を報告することが重要なことだと思いました。この研究論文はその後京極好正博士と小林祐次博士が日本語に訳してくださいました[photo 32]。多くの書き物をした以外に、少し距離を置いたところから私の研究グループを指導することは驚くほどうまくいくことがわかりました。このことは私の研究仲間がすぐれていたことを確かに語るものです。しかし、ヴェンゲンで最も重要な仕事は冬はスキー、夏はジョギングや登山をしたことでした。日記によると、1984年12月1日から1985年4月半ばまでスキーをしなかった日は1日もありませんでした。ミューレンの連邦体育学校のスキーの分校にも戻りスキー技術をみがき、ヴェンゲンの有名なラウバーホルンスキー競技大会[photo 33]の組織に参加しました。

ヴェンゲンで2回目の冬をスキーをしてすごした1986年春、私はチューリッヒや世

through the yellow circles. The Tendamistat experience eventually settled matters once and for all, as documented by the following statement, which was published in 1988 as an addendum to our 50-page report on the refined Tendamistat structure in the *Journal of Molecular Biology*: “Editor’s Note: We have taken the step of publishing this paper with full supporting data since it is the first high resolution structure worked out in detail by 2-D NMR. We therefore think that in this one instance everything should be published in full, but it does not set a precedent, since it is hoped that in the future, such supporting data can be deposited in a data bank, as is the practice in X-ray protein crystallography.” This was particularly comforting in the context of the subsequent NMR structure determination of metallothionein [photo 28]. In June 1985 I presented the structure of a first one of these small, metal-rich proteins at Yale University and at the University of Pittsburgh, where I was confronted with a crystal structure of metallothionein that was very different from our NMR structure. The erroneous crystal structure was then published as a feature article in *Science*, whereas *Nature* rejected our paper on the NMR structure. Six years later the crystal structure of metallothionein was redetermined and found to coincide very closely with the NMR structure. Fortunately, in the Swiss system at the time, tenure decisions and other promotions were not too closely linked to one’s publication record in highest-impact journals!

By the time we had finished work on the NMR structure of BUSI in the late summer of 1984 I was also finishing my 6-year term as Secretary General of IUPAB. I needed a change of pace and therefore asked for a sabbatical leave. I ended up spending almost 18 months in Wengen, a beautiful mountain resort in the Berner Oberland [photos 29, 30]. With the structure determination of BUSI a long-term goal had been reached and there was a need for new inspiration, which I obtained when enjoying the view of the Jungfrau region from my desk [photo 31]. At the time I was committed to write a monograph on the Baker Lectures, which I had delivered in 1983 at Cornell University. As I spent much of the time alone in Wengen, with my family joining me for weekends and vacation periods, work progressed well. The monograph “NMR of Proteins and Nucleic Acids” covers primarily work in my research group during the period 1977-84. Considering the critical reaction to the initial NMR structure determinations, I felt that it was important to document our work in a complete and detailed fashion. This monograph was subsequently translated into Japanese by Dr. Yoshimasa Kyogoku and Dr. Yuji Kobayashi [photo 32]. Besides getting a lot of writing done, it turned out that directing my research



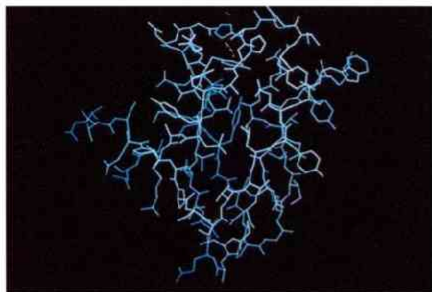


photo 25

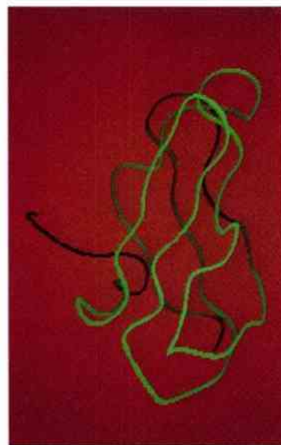


photo 26



photo 31

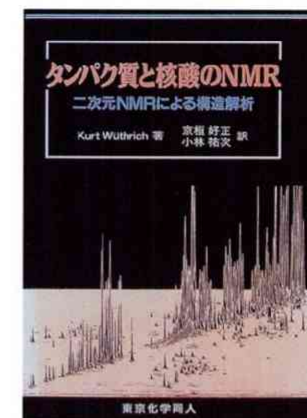


photo 32

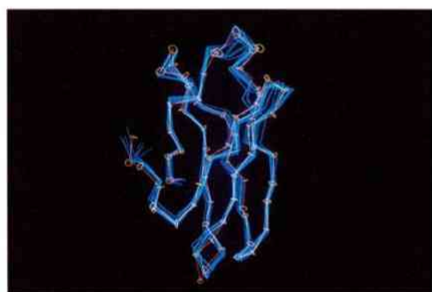


photo 27

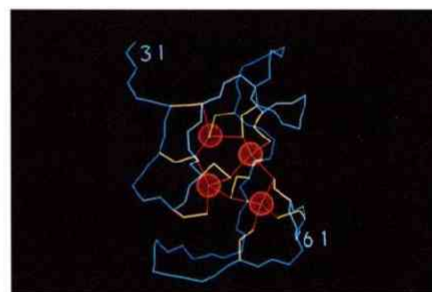


photo 28



photo 33

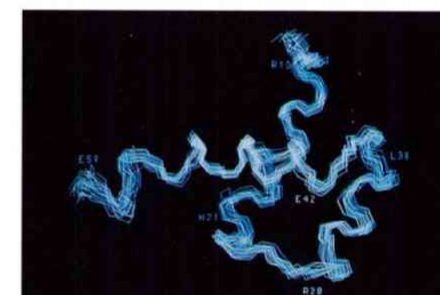


photo 34



photo 29



photo 30

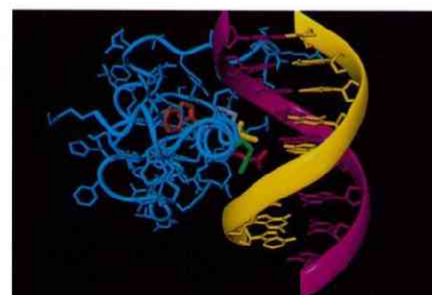


photo 35

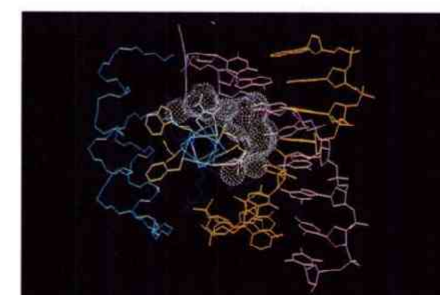


photo 36



界で新しい仕事に挑戦する準備ができたと思いました。私の新書の初版が数週間で売り切れたという事実からもわかるように、NMRによる蛋白質構造決定をその頃には信じてくれる人もいました。私達は生物学的に重要な系列にこの技術を適用するために生化学者や分子生物学者と新たな接触を持つようになりました。より高等な生物における転写調節の構造的な基礎に関する非常に有意義な共同研究が、バーゼル大学のバイオセンターのウォルター・ゲーリング教授の協力を得て1988年に開始されました。プロジェクトにおけるNMRの役割はアンテナペディアのホメオドメイン [photo 34] とオペレーターDNAとの複合体 [photo 35] の構造決定を行うことで、特異的なDNA認識に対する水和水の役割に関して全く新しい識見を得ることができました [photo 36]。同じ頃、サイクロスポリンAとヒトのサイクロフィリンAに関する研究の共同プロジェクトを以前に大学院学生であったハンス・セン博士とサンドツ社の彼の研究チームとともに開始しました。サイクロスポリンAは免疫抑制剤で、臓器移植の移植片拒絶の予防に対して有効な治療薬として広く使われています。基礎科学の他に、このプロジェクトは重大な経済的、臨床的意義も有していました。レセプター-サイクロスポリンA複合体のNMR構造 [photo 37] は直接に実用的な影響を持っていました。というのは、結合した薬剤分子の構造は当時唯一入手できた他の情報とは大きく異なっていることが明らかになったからです。すなわち、遊離サイクロスポリンAのX線結晶構造とNMR溶液構造についてです。photo 38とphoto 39は、遊離サイクロスポリンAとレセプター-バウンドサイクロスポリンAの構造をそれぞれ示しています。関係者全員にとって、これは全く予想もしないことで、様々の理由から驚くべき結果であったのです。サイクロスポリン/サイクロフィリンプロジェクトもその後溶液中でNMR、単結晶中でX線回折によって求めたデータを併用使用したものでした。ポリペプチド骨格の完全に配列特異的なNMR割当に基づいて、規則的な2次構造成分間のすべての結合に関してサイクロフィリンAの2次構造を求めました [photo 40]。X線回折法を用いて、2.8Å解像度での電子密度地図をサンドツで求めました。これは2次構造に関するNMR情報を使用して、非常に効率的にトレースすることができました。

ブルックハイブズ蛋白質データバンクに入れた40以上のNMR構造のうちの最後の例として、プリオン蛋白質についてお話ししたいと思います。プリオン蛋白質は伝染性海綿状脳症 (TSE) と関連があります。この病気は神経変性疾患であり、プリオンという新しい感染因子によって引き起こされるという証拠があげられています。TSEにはヒトのクロイツフェルト-ヤコブ病、ヒツジのスクラピー、ウシの海綿状脳症

group at a distance was surprisingly successful, which certainly speaks in favor of my research associates. However, the most important occupation in Wengen was skiing in the winter, and jogging and mountain climbing in the summer. According to my diaries I did not miss a single day of skiing from December 1, 1984 to April 10, 1985. I also returned to the skiing outstation of the Federal Sports School in Mürren to polish my skiing technique, and participated in the organization of the famous Lauberhorn ski race in Wengen [photo 33].

In the spring of 1986, after a second winter of skiing in Wengen, I felt prepared to face new challenges in Zürich and around the world. Protein structure determination by NMR had by now found its believers, as documented by the fact that the first printing of my new book was sold out within a few weeks. We established new contacts with biochemists and molecular biologists to apply the technique to biologically relevant systems. A most fruitful collaboration on the structural foundations of transcriptional regulation in higher organisms was started in 1988 with Prof. Walter Gehring of the Biocenter at the University of Basel. The NMR part of the project yielded structure determinations of the *Antennapedia* homeodomain [photo 34] and its complex with the operator DNA [photo 35], and provided entirely novel insights into the role of hydration water for specific DNA recognition [photo 36]. At around the same time a joint project of studies with cyclosporin A and human cyclophilin A was started with a former graduate student, Dr. Hans Senn, and his research team at Sandoz AG. Cyclosporin A is an immunosuppressant in widespread use as the favored therapeutic agent for prevention of graft rejection in organ transplantations. In addition to the basic science, this project thus also had important economic and clinical interest. The NMR structure of the receptor-cyclosporin A complex [photo 37] had immediate practical impact, since the structure of the bound drug molecule turned out to be very different from the only other structural information available at the time, i.e., an X-ray crystal structure and a NMR solution structure of free cyclosporin A. The photos 38 and 39 show, respectively, the structures of free and receptor-bound cyclosporin A. It was, for all involved, a completely unexpected and for many reasons surprising result! The cyclosporin/cyclophilin project subsequently also included combined use of data obtained by NMR in solution and by X-ray diffraction in single crystals: Based on complete sequence-specific NMR assignments of the polypeptide backbone, the secondary structure of cyclophilin A with all connections between the regular secondary structure elements was determined [photo 40]. Using



(BSE) すなわち「狂牛病」などがあります。「蛋白質にのみ基づく仮説」によれば、TSEの発症はプリオン蛋白質の構造変化に関係があるということが示唆されることは、構造生物学者にとっては特に興味をそそられます。ETHチューリッヒのルーディ・グロックシューバー教授との共同プロジェクトで、私達は1996年4月にプリオン蛋白質のC末端半分の構造決定[photo 41]を完成しました。その時英国でのBSE危機が勃発して10日ほどたっていました。この時機であったために、プリオン蛋白質構造は科学文献ならびに大衆メディアでかなり見られるようになりました。photo 42はプリオン蛋白質の構造が*Nature*に発表された日に、日刊紙*Le Matin*に書かれた見出しです。1997年に、私達は完全なプリオン蛋白質の構造を特徴づけることに成功しました。この分子のN末端半分はかなり柔軟な伸展コイルを構成していることがわかります[photo 43]。この結果は、部分的に構成したポリペプチド鎖の特徴を表すためにNMRの独特の力を顕著に示したものです。プリオン蛋白質[photo 43]の場合には、長い柔軟な尾部の存在から、蛋白質の良性の細胞型が疾患誘発性のスクラピー型へと移行する新しい道が示唆されました。

前述の3つのNMR構造決定は、主に生物学的、生物医学的背景からこの発表のために選択しました。ホメオドメイン[photo 34-36]は高等生物の遺伝子発現調節に関与しており、そのために細胞生物学の興味の中心となっています。サイクロフィリンと薬剤サイクロスポリンA[photo 37-39]は免疫抑制の領域ではパラダイムとなっており、プリオン蛋白質[photo 41, 43]は生物医学的研究でもう1つのかなり目に見える領域に関与しています。私の研究室でここ10年間追求してきたその他の蛋白質構造決定は、酵素学、毒性学、シャペロン媒介性の蛋白質の折りたたみ、細胞間信号伝達などの別の分野に関係したものです。高い水準の構造決定を維持するために必要な極めて高度の専門化が現代生物の広い範囲の様々な主題に適応する対応物を有するということは、私の研究生活の質を大いに高めてくれています。

過去と現在の多くのプロジェクトにおいては、主な興味は構造決定を超え、生体高分子に関する物理化学あるいは方法開発にまで及んでいます。多くの方法によって、これらはNMR構造決定を補完する非常に刺激的な研究となっています。ここからは私達のこの活動の一面について説明したいと思います。

3次元構造決定以外に、NMRは生体高分子の構造平衡と様々な構造状態につながる速度過程に関する定量的情報を提供しています。溶液中のNMRスペクトル分析法のこのような可能性から、蛋白質折りたたみ問題に関連した研究において広範に適応

X-ray methodology, an electron density map at 2.8 Å resolution had been obtained at Sandoz, which could then be traced very efficiently with the use of the NMR information on the secondary structure.

As a last example from among the more than 40 NMR structures that we have deposited in the Brookhaven Protein Data Bank, I would like to mention the prion protein. Prion proteins are related to transmissible spongiform encephalopathies (TSE), which are neurodegenerative diseases for which there is evidence that they are caused by a novel infectious agent, the prion. TSEs include Creutzfeldt-Jakob disease in humans, scrapie in sheep, and bovine spongiform encephalopathy (BSE) or “mad cow disease.” It is particularly intriguing to structural biologists that according to the “protein-only hypothesis,” the onset of TSE might be related to a change in conformation of the prion protein. In a joint project with Prof. Rudi Glockshuber at the ETH Zürich we completed a structure determination for the C-terminal half of the prion protein in April 1996 [photo 41], barely 10 days after the BSE-crisis in Great Britain broke into the open. With this timing the prion protein structure had high visibility in the scientific literature as well as in the popular media. The photo 42 shows the headline of the daily newspaper *Le Matin* on the day when the prion protein structure appeared in *Nature*. In 1997 we succeeded to characterize the structure of the intact prion protein, which includes that the N-terminal half of the molecule forms a highly flexible extended coil [photo 43]. This result is a striking illustration of the unique power of NMR to characterize partially structured polypeptide chains. In the case of prion proteins [photo 43] the presence of a long flexible tail indicates novel avenues for the transition of the benign cellular form of the protein to the disease-related scrapie form.

The three aforementioned NMR structure determinations were selected for this presentation primarily because of the biological and biomedical background. Homeodomains [photos 34-36] are involved in the control of gene expression in higher organisms and are thus of central interest in cell biology. Cyclophilins and the drug cyclosporin A [photos 37-39] represent a paradigm in the field of immune suppression, and the prion protein [photos 41 and 43] relates to another highly visible area of biomedical research. Other protein structure determinations pursued during the last 10 years in my laboratory relate to yet different fields, such as enzymology, toxicology, chaperone-mediated protein folding and intercellular signaling. It adds greatly to the quality of my professional life that the quite extreme specialization needed to maintain a high standard of structure determination thus has a



されることが明らかになったというのは全く当然のことです。これらはNMR構造決定よりもずっと長い歴史があります。この主題に関する私達の研究では主に蛋白質のBPTIに注目しており、NMR構造を示す20個の配座異性体の重ね合わせとしてここに示します[photo 44]。1979年に配列特異的な共鳴割当の到来前に、速度過程は極めて高い時間分解能で研究することができましたが、空間分解能を求めることができませんでした。それにもかかわらず、当時すでに蛋白質動態に関するNMR観察は蛋白質構造の理解に絶大な影響を及ぼしました。これはフェニルアラニンとチロシンの「環フリップ」[photo 45]でうまく示されており、蛋白質コアで協奏的な大きな振幅の内部運動の周波数を示しています。ミリセカンドからマイクロセカンドの時間尺度でのこのような環フリップ運動の観察は、以下の理由で本当に驚きでした。BPTIの精製したX線結晶構造において、フェニルアラニンとチロシンの芳香環は最も明確な側鎖に入っており、温度因子はごくわずかです。各環内で、個々の原子がもつ温度因子の相対的値は末梢に向かうにつれて増加していたので、最大の位置の不確定は、環フリップ中に広範な動きをしている4つの環の炭素原子C2、C3、C5、C6よりもC $\beta$ -C1結合から対称軸上の末梢C4原子[photo 45]に対して示されています。その後理論的な研究によってこの明らかな矛盾点は解決しました。結晶構造解析の温度因子は、C $\alpha$ -C $\beta$ 結合に関する多くの回転状態の例を示すものですが、これらは環フリップについては明らかにしていません。というのは、C $\beta$ -C1結合についてのすべての非平衡回転状態の集団はほとんどないぐらいわずかだからです。NMRによって認められるC $\beta$ -C1結合に関するフリップ運動は低周波数で起こりますが[photo 46]、これらは極めて迅速な180°回転で、見分けがつかないような2つの環の平衡配向をつないでいます。他の蛋白質の環フリップの証拠は他の研究グループによって示されており、結局環フリップ現象は溶液中および結晶中の球状蛋白質の一般的特徴であることが明らかになりました。これらは、60~100kJ/molの活性化エネルギーを持ち、振幅は1Åよりも大きく、活性化容積は約50Å<sup>3</sup>という偏在する低周波数の内部運動を示し、多くの原子基の協奏的置換に関与しています[photo 45]。ダイナミックな過程に関するデータはその後配列特異的なNMR割当と組み合わせることができると、蛋白質の速度過程の説明に関する空間時間的分解能はX線結晶構造あるいはNMR構造を参照にして求められました。ここに、BPTIのNMR構造に関する内部運動の周波数をマッピングによって示したのがあります[photo 46]。環フリップ以外に、このマップにはRとSのキラル状態との間のジスルフィド結合の交換に関するデータ、ならびに大量の溶媒による内部の埋没水和

counterpart of applications to a wide range of different topics in modern biology.

With many of our projects in the past and at present, the main interest goes beyond structure determination and bears either on the physical chemistry of biological macromolecules or on methods development. In many ways these studies are a highly stimulating complement of NMR structure determinations. The remainder of the present account is devoted to this facet of our activities.

In addition to three-dimensional structure determination, NMR can provide quantitative information on conformational equilibria in biological macromolecules and on the rate processes that connect the different conformational states. Quite naturally these potentialities of NMR spectroscopy in solution have found extensive applications in studies related to the protein folding problem. They also have a much longer history than NMR structure determination. Our own work on this topic was largely focused on the protein BPTI, which is shown here as a superposition of 20 conformers that represent the NMR structure [photo 44]. Before the advent of sequence-specific resonance assignments in 1979, rate processes could be studied with remarkably high temporal resolution, but one could not yet obtain spatial resolution. Nonetheless, already at that time some NMR observations on protein dynamics had a profound influence on the understanding of protein structure. This is well illustrated by the “ring-flips” of phenylalanine and tyrosine [photo 45], which manifest the frequencies of concerted, large-amplitude internal motions in the protein core. Observation of such ring-flipping motions on the millisecond to microsecond time scale was a genuine surprise for the following reasons: In the refined X-ray crystal structure of BPTI the aromatic rings of phenylalanine and tyrosine are among the best-defined side chains, with the smallest temperature factors. In each ring the relative values of the temperature factors for the individual atoms increase toward the periphery, so that the largest positional uncertainty is indicated for the peripheral C4 atom on the symmetry axis through the C $\beta$ -C1 bond [photo 45], rather than for the four ring carbon atoms C2, C3, C5 and C6, which undergo extensive movements during the ring flips. Theoretical studies then resolved this apparent contradiction: the crystallographic temperature factors sample multiple rotation states about the C $\alpha$ -C $\beta$  bond, but they do not manifest the ring flips because the populations of all non-equilibrium rotational states about the C $\beta$ -C1 bond are vanishingly small. Although the flipping motions about the C $\beta$ -C1 bond seen by NMR occur with low frequencies [photo 46], they are very rapid 180°-rotations connecting two indistinguishable equilibrium orientations of the ring.



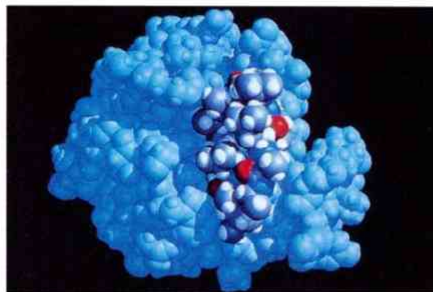


photo 37

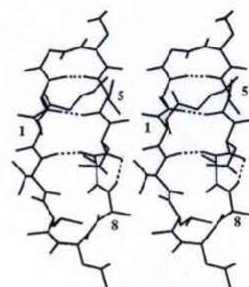


photo 38

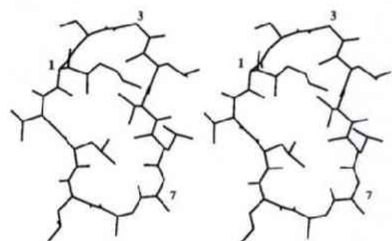


photo 39

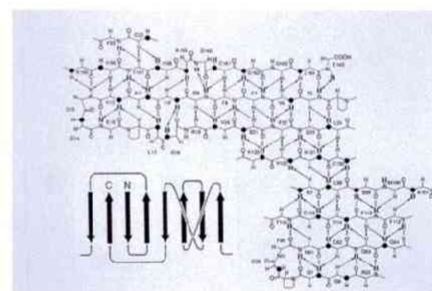


photo 40

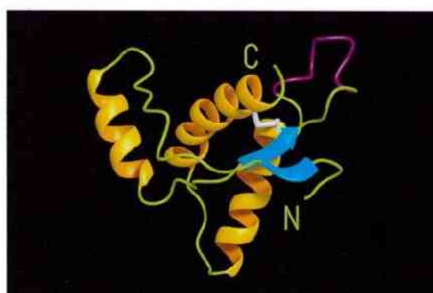


photo 41



photo 42

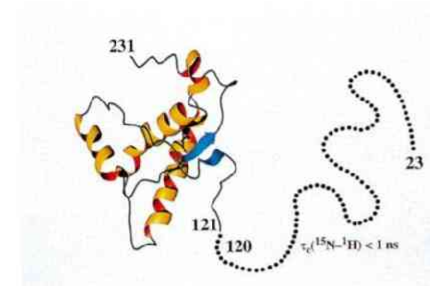


photo 43

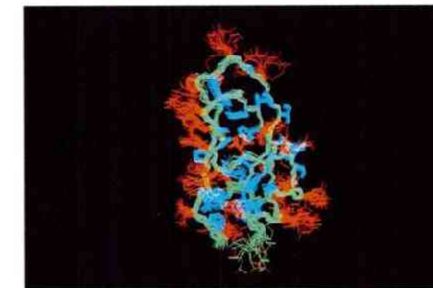


photo 44

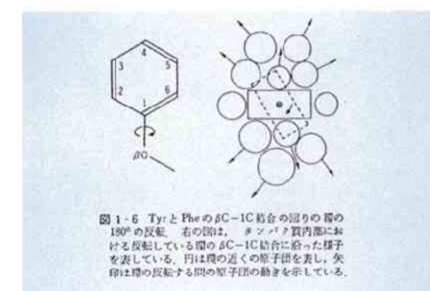


photo 45

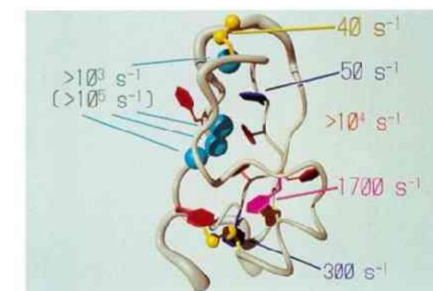


photo 46

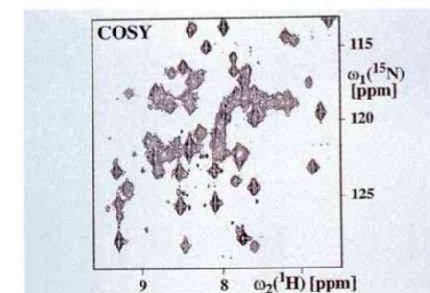


photo 47

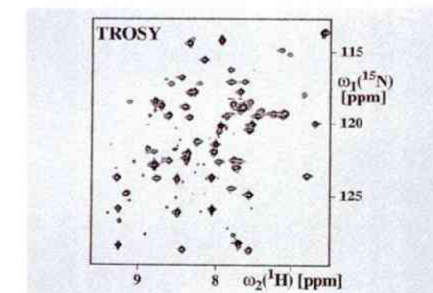


photo 48



水分子の交換に関するデータが含まれています。

方法開発に関して、1986年までに生体分子のNMRはかなり競争領域へと進化しました。その結果見られた進歩の多くは、安定同位元素で蛋白質と核酸を標識するという新しい方法の導入と緊密に結びついていました。この分野は日本人の共同研究者の荒田、甲斐、京極博士が長年専門的な先駆者として活躍しておられます。1984年までの私達のプロジェクトはほとんどすべて方法開発に向けられていましたが、現在は特定の構造決定から生じた技術的問題に関して研究しています。その例として、蛋白質-核酸複合体とオリゴマー蛋白質の研究への「半フィルター」の導入があります。半フィルターはアンテナペディアホメオドメイン-DNA複合体の構造決定[photo 35]とサイクロフィリンA-サイクロスポリンA系の研究[photo 37-39]において重要な役割を果たしました。

NMR構造決定の基本的な拡大は、溶液中の蛋白質水和の研究においてNMRの使用が成功したことが原因でした。水和に関するNMR研究への私の関与は、30年以上という期間にかけてこのように発展してきたということを考えると、ここでいくらか興味を引くものかもしれません。1965-67年にかけてパークレーに博士課程修了後滞在している間、私は金属イオンと金属錯体の水和に関する研究[photo 11]に職業生活のほぼ3年を費やして専念しました。この研究を進めて蛋白質中の金属中心や広く生体高分子へと拡張したいという強い気持ちを抱きました。このようにして、1967年にベル研究所との最初の契約は、金属酵素のカルボキシペプチダーゼAの活性中心の水和に関する研究でした。蛋白質溶媒和の特徴付けにかけた無駄な努力で20年間を費やし挫折した後、1989年にはNMR法によって最終的に蛋白質と核酸中の個々の水和水分子の位置を決定することができるところまで進歩したのです。今日、水和水の高解像能NMR観察によって、X線結晶構造解析で得られるデータと相補性の高い高分子の水和を新たに探究できることが明らかになっています。たとえば、溶液中の水和に関するNMR研究から、遺伝子発現の転写調節におけるDNA認識の動態を全く新規に観察できるようになりました[photo 36]。

NMR法の最新の進歩は横緩和最適化スペクトル分析法 (TROSY) の導入であり、これによって従来のNMR法で可能であったよりもずっと大きな分子量についての研究への道が開かれたのです。TROSY実験においては、分子量が大きくなるにつれて共鳴線幅の増大を大きく抑制することができます。これは従来のNMR法においては極めて大きな限定因子となっていました。溶液中NMR実験は現在、100,000ダルトン

Evidence for ring flips in other proteins was presented by other research groups, and eventually the ring flip phenomenon turned out to be a general feature of globular proteins in solution and in crystals alike, manifesting ubiquitous low-frequency internal motions that have activation energies of 60-100 kJ mol<sup>-1</sup>, amplitudes larger than 1 Å and activation volumes of about 50 Å<sup>3</sup>, and involve concerted displacement of numerous groups of atoms [photo 45]. When the data on dynamic processes could subsequently be combined with sequence-specific NMR assignments, spatio-temporal resolution for the description of rate processes in proteins was obtained, either by reference to the X-ray crystal structure, or the NMR structure. Here, this is illustrated by a mapping of the frequencies of internal motions onto the NMR structure of BPTI [photo 46]. In addition to the ring flips this map includes data on the exchange of a disulfide bond between the R and S chiral states, and on the exchange of internal, buried hydration water molecules with the bulk solvent.

With regard to methods development, biomolecular NMR had by 1986 evolved into a highly competitive field. Many of the resulting advances were intimately linked with the introduction of new strategies to label proteins and nucleic acids with stable isotopes, which has long been a speciality pioneered by our Japanese colleagues, in particular Drs. Arata, Kainosho and Kyogoku. Although our projects up to 1984 were devoted nearly entirely to methods development, we now worked mainly on technical problems arising with particular structure determinations. An example is the introduction of “half-filters” for studies of protein-nucleic acid complexes and oligomeric proteins. Half-filters had a crucial role in the structure determination of the *Antennapedia* homeodomain-DNA complex [photo 35] and the studies of the cyclophilin A-cyclosporin A system [photo 37-39].

A fundamental extension of NMR structure determination resulted from the successful use of NMR for studies of protein hydration in solution. My involvement with NMR studies of hydration may be of some interest here, considering that it has so far extended over a time span of more than 30 years: During my postdoctoral stay at Berkeley from 1965-67 I devoted almost three years of my professional life to investigations of the hydration of metal ions and metal complexes [photo 11]. I was highly motivated to extend such studies to metal centers in proteins, and quite generally to biological macromolecules. Thus, in 1967 my initial contract with Bell Telephone Laboratories was for investigations of the hydration of the active center in the metalloenzyme carboxypeptidase A. In 1989, after two decades of frustration



を超える分子量でも十分に行うことができます。これは、110,000ダルトンの分子量をもつ蛋白質の従来の2次元NMRスペクトル[photo 47]を、対応するTROSYスペクトル[photo 48]と比較したもので、ここで線幅は個々の等高線の直径によって示されています。

講演の終了が迫ってきましたが、ここで稲盛財団と京都賞を設立して下さいました稲盛和夫理事長の寛大さ、さらに京都賞委員会の立派なメンバーの方々の支援に対して深く感謝申し上げたいと思います。この最高に幸せな日々に私に与えられる先端技術部門における京都賞は、私の研究室で研究に励んでいる多くの大学院生や博士課程終了後の研究者たちの熱心な努力と発明力に対する褒美であり、生体分子のNMR領域に携わる多くの科学者たちに対する贈り物でもあります。彼ら全員の貴重な貢献に対して深く感謝したいと思います。今回の講演で「新しい発見への道は何度も立ち止まらなければならない曲がりくねった一本の道であり、その道は、仕事上の進歩につながるだけでなく生活の質を上げることができる」というメッセージを伝えることができたいと思います。私が受けた教育も若いときの体験も、非常に広範囲であったことが幸いしたと思っています。努力する中で常に重要であったのは、様々の異なる主題における知識をいろいろと組み合わせることです。興味を持って熱心に追求したことはすべて、少なくとも人の知性の育成には効果を示し、その結果必然的に仕事においても私生活においても進歩を遂げる一助となるということをはっきりと理解することは重要なことでした。自然科学の分野で仕事をする私達は、自然は私達が追い求めている秘密を持っているということを常に覚えておかなければなりません。自然の秘密の探究に十分に頭と体を使うことで、最終的に、解明の新しい水平線が開けてくるのです。

about futile attempts to contribute to the characterization of protein solvation, NMR techniques had finally advanced to the point where the locations of individual hydration water molecules in proteins and nucleic acids could be determined. Today, high resolution NMR observation of hydration water reveals new insights into macromolecular hydration that are highly complementary to the data obtained with X-ray crystallography. NMR studies of hydration in solution led, for example, to entirely novel insights into the dynamics of DNA recognition in the transcriptional control of gene expression [photo 36].

A most recent advance in NMR techniques is the introduction of transverse relaxation-optimized spectroscopy (TROSY), which opens an avenue for studies of much larger molecular sizes than is possible with conventional NMR methods. In TROSY experiments the increase of the resonance line width with increasing molecular size, which is a strictly limiting factor in conventional NMR, can be largely suppressed. Solution NMR experiments can now be performed with molecular sizes well in excess of 100,000 Daltons. Here, I compare a conventional 2D NMR spectrum of a protein with molecular weight 110,000 Daltons [photo 47] with the corresponding TROSY spectrum [photo 48], where the line widths are represented by the diameters of the individual contour lines.

As I come to the close of my lecture, I want to express my deep gratitude to President Kazuo Inamori for his generosity in establishing the Inamori Foundation and the Kyoto Prizes, and to all the esteemed members of the Kyoto Prize committees for their support of the good cause. The Kyoto Prize in advanced technology that has been bestowed upon me during these happy days is a reward for the enthusiasm and ingenuity of the many graduate students and postdoctoral fellows who worked in my laboratory, and it is also a tribute to the large community of scientists in the field of biomolecular NMR. I feel deeply indebted to them all for their important contributions. I hope that I was able in this lecture to convey the message that the avenue to new insights can be a winding road, with frequent stops that may enhance the quality of life as well as contribute to professional advancement. I feel very privileged that both my education and my early practical experience were very broad. It is the combination of knowledge in many different subjects that has always been important in my endeavors. It was important for me to realize that any subject pursued with interest and intensity will at the very least contribute to the training of one's intellectual capacities, and thus inevitably contribute to advancement in professional and private life. Those of us who work



in natural sciences should always remember that nature holds the secrets that we are after. Using body and mind generously in the search of nature's secrets will eventually guide us to new horizons of enlightenment.



稲盛財団1998——第14回京都賞と助成金

発 行 1999年12月25日

制 作 財団法人稲盛財団

京都市下京区四条通室町東入函谷鉾町88番地 〒600-8009

電話〔075〕255-2688

**ISBN4-900663-14-10 C0000**