変することにより,減数分裂時に常染色体の一部で完全に 染色体が対合しないマウスを作成した¹⁵⁾.このマウスの精 巣の減数分裂時に,対合していない常染色体領域に RAD18 が局在していることが観察された.また,その領 域では転写が抑制されていることがわかった.このため, RAD18 は不対合かつ転写が抑制されている染色体領域に 集積する性質がある¹⁵⁾ことがわかった.一方,損傷トレラ ンスに関与する因子である Poln または UBC13 では,この ような性質はみられないことから, RAD18 は損傷トレラ ンスとは異なる役割を精巣で果たしていると考えられてい る¹⁵⁾.

7. おわりに(RAD18とがんとの関係)

このように、RAD18には損傷トレランスだけでなく、 多様な機能があると思われる.RAD18とがんとの関係に 関しても、今後の研究の進展が期待される.特に、 RAD18 ノックアウトマウスに UV を照射することにより, 皮膚がんが形成されるか調べることは重要であり、今後の 課題である.また、ヒトの初代培養細胞ではRAD18の発 現量が少ないのに対し、この細胞をSV40ウイルス由来 DNAを用いて細胞株(不死化)の状態にすると、RAD18 の発現量が増大する.また、多くのヒトがん由来の細胞株 で RAD18 の発現量が高いことがわかった.マウスの皮膚 組織においても、増殖が活発な領域で RAD18 の高い発現 が観察される.おそらくS期でRAD18の発現が正に制御 されていると考えられる¹⁴⁾. ただし、マウス野生型細胞と RAD18 欠損細胞を比較すると、通常の状態では増殖速度 に差はみられない". RAD18 は細胞増殖そのものではな く, 複製フォークの進行を円滑に進めるために必要な因子 であるため DNA 複製時に発現が正に調節されていると推 測される.このため、DNA 損傷を形成させるタイプの抗 がん剤に対する耐性に、RAD18の発現量が影響を及ぼし ている可能性が考えられる.多くの分野の研究者に興味を もっていただけると、うれしく思います.

- Broomfield, S., Hryciw, T., & Xiao, W. (2001) Mutat. Res., 486, 167–184.
- Masutani, C., Kusumoto, R., Yamada, A., Dohmae, N., Yokoi, M., Yuasa, M., Araki, M., Iwai, S., Takio, K., & Hanaoka, F. (1999) *Nature*, **399**, 700–704.
- Matsuda, T., Bebenek, K., Masutani, C., Hanaoka, F., & Kunkel, T.A. (2000) *Nature*, 404, 1011–1013.
- 4) Prakash, L. (1981) Mol. Gen. Genet., 184, 471-478.
- Hoege, C., Pfander, B., Moldovan, G.L., Pyrowolakis, G., & Jentsch, S. (2001) *Nature*, 419, 135–141.

- Tateishi, S., Sakuraba Y., Masuyama, S., Inoue, H., & Yamaizumi, M. (2000) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 97, 7927–7932.
- Tateishi, S., Niwa, H., Miyazaki, J., Fujimoto, S., Inoue, H., & Yamaizumi, M. (2003) *Mol. Cell. Biol.*, 23, 474–481.
- Watanabe, K., Tateishi, S., Kawasuji, M., Tsurimoto, T., Inoue, H., & Yamaizumi, M. (2004) *EMBO J.*, 23, 3886–3896.
- Kannouche, P., Broughton, B.C., Volker, M., Hanaoka, F., Mullenders, L.H., & Lehmann, A.R. (2001) *Genes Dev.*, 15, 158–172.
- 10) Yuasa, M.S., Masutani, C., Hirano, A., Cohn, M.A., Yamaizumi, M., Nakatani, Y., & Hanaoka, F. (2006) *Genes Cell's* 11, 731–744.
- Bailly, V., Lauder, S., Prakash, S., & Prakash, L. (1997) J. Biol. Chem., 272, 23360–23365.
- 12) Kannouche, P.L., Wing, J., & Lehmann, A.R. (2004) Mol. Cell, 14, 491–500.
- 13) Ohmori, H. Friedberg, E.C., Fuchs, R.P., Goodman, M.F., Hanaoka, F., Hinkle, D., Kunkel, T.A., Lawrence, C.W., Livneh, Z., Nohmi, T., Prakash, L., Prakash, S., Todo, T., Walker, G. C., Wang, Z., & Woodgate, R. (2001) *Mol. Cell*, 8, 7–8.
- 14) Masuyama, S., Tateishi, S., Yomogida, K., Nishimune, Y., Suzuki, K., Sakuraba, Y., Inoue, H., Ogawa, M., & Yamaizumi, M. (2005) *Genes Cells*. 10, 753–762
- 15) van der Laan, R., Uringa, E.J., Wassenaar, E., Hoogerbrugge, J. W., Sleddens, E., Odijk, H., Roest, H.P., de Boer, P., Hoeij-makers, J.H., Grootegoed, J.A., Baarends, W.M. (2004) *J. Cell Sci.*, **117**, 5023–5033.

立石 智 (熊本大学発生医学研究センター 器官形成部門組織制御分野)

RAD18 regulates DNA damage tolerance Satoshi Tateishi (Cell Genetics, Institute of Molecular Embryology and Genetics (IMEG), Kumamoto University, Honjo 2–2–1, Kumamoto 860–0811, Japan)

酵素科学と理論化学との連携 一酵素研究の新しいパラダイムを求めて―

1. はじめに

1897年に Buchner は酵母無細胞抽出液中でのアルコー ル発酵を発見した.これは生物体内の反応が生命のない生 体触媒(酵素)によって進められることを最初に示したも ので,現代酵素化学の基礎を成すとともに生化学の発展の 端緒となった.それ以来,酵素学はまさに経験的な学問の 代表として生化学の発展を先導してきたと言ってよい.近

みにれびゆう

年は遺伝子工学の発展と立体構造解析法の進歩により、多 くの酵素の三次元構造が解明され、それを踏まえて、反応 機構が精密に解明されるようになってきている.その意味 で. 酵素科学はいまルネッサンスの真っ直中にあると言う ことができる. ではこれからの酵素科学はどのような発展 を遂げるのであろうか. 酵素科学は exact science になり. 酵素を望む活性と望む特異性、調節性をもつものに設計し 直すことができるようになるのであろうか. 我々はこのよ うな方向への第一歩として,酵素科学と量子化学との連携 により、ビタミン B12 補酵素が関与する酵素を研究対象と して,酵素反応機構の理論化学的検証を行ってきた. さら にその発展として、活性部位アミノ酸残基に変異を導入し た場合の効果を非経験的に(計算化学的に)予測し、その 結果を遺伝子工学的に得た変異型酵素の活性と比べること で,計算化学的変異によるアミノ酸残基の機能解析の有効 性を検証した.これらの研究は、酵素研究の新しいパラダ イムを求めて、酵素反応機構を非経験的に研究することの 可能性を探るために行ったものである.

2. 研究対象とした酵素

本研究では、研究対象としてビタミン B12 補酵素(アデ ノシルコバラミン:AdoCbl)(図1A)が関与するジオー ルデヒドラターゼを選んだ.本酵素は酵素反応において AdoCbl から生じた有機ラジカルを触媒ラジカルとしてラ ジカル機構で反応を触媒する1~3). ラジカルの高い反応性 を触媒に利用する一連の酵素をラジカル酵素と定義する と、本酵素は B₁₂ 関与ラジカル酵素の一つである。筆者の 1人(虎谷)はこれまでに本酵素の反応機構を精密に解明 し、それを拡張して"酵素的ラジカル触媒 (enzymatic radical catalysis)"という概念を提唱してきた1~3). これは非極 性機構で進行する酵素反応において働く触媒機構の代表的 なものとして位置付けられるが、そのエネルギー論的妥当 性は検証できていなかった. そこで、本酵素の立体構造を 解明し4~7),詳細な反応機構を提唱した1~3)のを機に、ラジ カル触媒という機構概念が理論的に可能であるかどうかを 検証すべく本研究を行った.その結果,酵素学と理論化学 との連携により、全酵素モデルを扱える OM/MM 計算、 計算化学的変異といったキーワードで表わされる普遍的に 応用可能な研究法を用いることが有効であるという結論に 到達したのでここに紹介する.

ジオールデヒドラターゼは1,2-ジオール類およびグリ セロールを相当するアルデヒドへと脱水する反応(図1B) を触媒する. Abeles ら[®]および Rétey ら[®]の標識実験及び分

光学的研究により最小機構が確立され(図1C),これはそ の後すべての AdoCbl 関与酵素にあてはまることが確認さ れた. 虎谷らは安岡教授グループとの共同研究により本酵 素の立体構造を解明し⁴⁾、その構造に基づいて最小機構で は未解明であった点を次々に解明した. すなわち, 触媒ラ ジカルの生成反応として重要な AdoCbl の Co-C 結合のホ モリシスは, AdoCbl のコバラミン部分とアデニン部分と が酵素中のそれぞれの結合部位と強く相互作用することに より Co-C 結合が結合角と結合距離の両方に大きなひずみ を受けて起こること(立体的ひずみモデル)5.6,またこう して生じたアデノシルラジカルのラジカル中心である C5' は基質から6.6Å離れているが、Co-C結合が開裂すると リボース部分が回転可能となり、反時計方向に 94°回転す ることにより基質のC1に最も近付くこと(リボース部回 転モデル)が明らかとなった(図 1D)^{5,7)}.その際,最も近 くにくる水素原子が引き抜きに好適な位置にあって立体特 異的に引き抜かれること(水素引き抜きの立体特異性), また標識実験により示唆された立体化学経路もすべて立体 構造に基づいて解明された". さらに部位特異的変異の導 入により、活性部位アミノ酸残基のうち、E170、D335、 H143の三つが触媒残基であることが明らかとなった¹⁰. このうち E170 と D335 の-COO は基質および中間体ラジカ ルの結合と配向に重要であり、H143はプロトン化されて いない状態で反応に関与することが示唆された11.以上の ような生化学実験の結果と立体構造とを総合して、図1E に示した精密反応機構を提唱するに至っている¹⁾.

全酵素モデルを用いた理論計算による 反応機構の検証

筆者の1人(虎谷)はB₁₂酵素の反応機構をラジカル酵素一般に拡張して酵素的ラジカル触媒という概念を世界に 先駆けて提唱した²⁾.すなわちラジカル触媒は大きな活性 化エネルギーをもつ一つの遷移状態の"山"を複数の小さ な"山"に分割することで,活性化エネルギーを小さくす る機構である(図2A).この点では共有結合触媒に類似し ているが,より大きな活性化エネルギーを必要とする反応 でも触媒できる点が特徴である.

しかし,これはあくまでも机上の空論であり,実証を要 する. ラジカル酵素についてこのエネルギー論を検証する 手段が他にないので,理論化学的検証を試みた.まずは基 質1,2-プロパンジオール,エチルラジカル (アデノシル ラジカルのモデル),K⁺の2水和物のみから成る23原子 程度の小さなモデルを用いて高精度の密度汎関数 (DFT)



みにれびゆう

法による計算を行った^{12,13}. DFT 法では全エネルギーが電 子密度の関数として求められる.このレベルの計算に用い た基底関数は内部軌道の電子も考慮に入れている.全反応 経路に沿って各段階のエネルギーの和を求め,基質や中間 体,遷移状態の最適化された構造と共に図 2B に示した. 基質 1,2-ジオールが K⁺に配位した状態(2)から生成物 1,1-ジオール(正確に言えば生成物の水和物)に至る反応 において,水素の引き抜き(2→4),OH 基移動(4→6), 水素の引き抜き返し(6→8a)の三つの過程で遷移状態 (TS1~3)が存在した.この結果は図 2A の予想パターン と一致しており,かつ活性化エネルギーの大きさは最大で も 18.7kcal/mol 程度であったことから,図 2A に示したラ ジカル触媒はエネルギー的にも十分起こり得ることが示唆 された.

しかし,図2Bのエネルギーダイアグラムにおいては, 活性化エネルギーが最大であったのはOH基移動過程であ り(TS2),OH基移動が全体の律速過程であることを示唆 する.しかし,生化学実験では水素引き抜きまたは引き抜

A. アデノシルコバラミン (AdoCbl). B. ジオールデヒドラ ターゼが触媒する反応.C. AdoCbl 関与酵素反応の最小機構. (1)Co-C 結合のホモリシス. (2) アデノシルラジカルによって 触媒される分子内基転移反応.SH,基質;S・,基質ラジカ ル;PH, 生成物;P・, 生成物ラジカル. [Co], コバラミン部 分;X, 転移する基.D. 触媒ラジカルの生成と基質への接近. (1) フリーの AdoCbl. (2) AdoCbl が酵素に結合すると立体的ひ ずみを受けて Co-C 結合が開裂しラジカルが生成. (3) ラジカ ル炭素 C5'はリボース部が回転して基質に接近. E. ジオール デヒドラターゼの精密触媒機構. (S)-1,2-プロパンジオールと の反応のみを示す. (R)-体基質との反応は文献7参照.-Co-, コバラミン部分;Ade, 9-アデニニル基;Im, イミダゾール 基.残基番号はαサブユニットのもの.休止状態のホロ酵素 (1)に基質を加えると、基質は二つの OH 基が K⁺に配位してい る水分子を置換して K⁺に結合する(2). 酵素が基質結合型にコ ンホメーション変化すると、AdoCblのCo-C結合の立体的ひ ずみが増してホモリシスの引き金が引かれる.生じたラジカル 中心はリボース部の回転により基質に接近し(3),立体特異的 に pro-S 水素原子を引き抜いて基質ラジカルと 5'-デオキシア デノシンとを生成する(4). 基質ラジカルは活性部位残基との 相互作用により2位OH基が1位に移動(5)して生成物ラジカ ルに転位する(6). その後, 生成物ラジカルのラジカル中心 C2 が 5′-デオキシアデノシンのメチル基から水素原子を引き抜き 返して1,1-ジオールとアデノシルラジカルとを生じる(7),前 者は脱水されて生成物となり(8),酵素から解離する.基質フ リー型へのコンホメーション変化に伴い、後者は二価コバルト 種と再結合して補酵素が再生される(1).

き返しの過程が律速であることがデューテリウム速度論的 同位体効果(KIE)の値から示されており⁸⁰,計算結果は これに反する.この原因は活性部位残基の寄与を一切考慮 に入れていないことにあると考えられた.また,もう一つ の問題点は1,1-ジオールラジカルは先に脱水が起こって 安定なアルデヒドラジカル(7b)となり易く,深いポテ ンシャルの谷に落ち,そこからの水素引き抜きは大きなエ ネルギーを要することである.しかし,実験的には生成物 のカルボニル酸素はS体基質の場合は1位OH基由来, *R* 体基質の場合は2位OH基由来であることが示されてい る⁹⁰.6→7b→8b→9の経路ではカルボニル酸素は常に1位 OH基由来となるので,これも実験事実に反する.実際の 反応では活性部位残基の寄与により,脱水が先行する経路 は起こらないように制御されていると考えられた.

これら二つの問題点はいずれも活性部位残基の寄与を考 慮に入れると解決できるのではないかと考えて、酵素の全 構成原子から成る"全酵素モデル"を用いた計算を行うこ ととした. このモデルはより現実に近いモデル(大規模現 実系モデル)であるが、現在の計算機能力では酵素を構成 する 13,543 原子のすべてを取り込んだモデルで精度の高 い量子化学計算を行うことはできない、そこで、基質、ア デノシルラジカルのリボース部分,K⁺,および六つのア ミノ酸残基から成る活性部位を OM 領域として DFT 法に よる量子化学(高精度)計算を行い、他方、それ以外の原 子は MM 領域として分子力学(低精度)計算を行った¹⁴⁾. その結果,図2Cに示した通り、この場合も1.2-ジオール から1,1-ジオールへの転位反応において三つの遷移状態 が存在し、活性化エネルギーの大きさはTS3>TS1>TS2 の順であった.これは予想通りであり,OH 基移動に対す る活性部位残基の寄与(図2Cの最適化構造参照)により TS2 が安定化された結果であると考えられる. H143 のプ ロトン化状態の影響を計算で求めたところ、プロトン化さ れていると1.2-ジオールラジカルのアルデヒドラジカル への脱水が容易に起こってしまい、これから9への水素引 き抜きは大きなエネルギーを要することが分かった.ま た, pH-活性プロフィールも考え合わせると, H143 はプ ロトン化していない形で2位 OH 基との水素結合により TS2 を 1.6kcal/mol 程度安定化すると予測される(HIE モ デル).一方,H143と基質の水素結合が存在しない状態で も (HID モデル), E170 の-COO⁻による1位 OH 基の脱プ ロトン化により, TS2 が 5.6kcal/mol 安定化されることが 分かった.したがって, OH 基移動の過程(4→6)におい ては, E170の寄与が最も重要であると結論できた.しか

図1 アデノシルコバラミンが補酵素として関与する酵素反応 とその機構





図3 計算化学的変異による活性部位アミノ酸残基の機能解析 A.活性部位のアミノ酸残基(立体図). PDO, 1,2-プロパンジオール.残基番号はαサブ ユニットのもの.B.計算により求めた変異型酵素の活性化エネルギーと相対活性.水色柱 および青色柱はエネルギー障壁の高さ,青色は律速過程となるエネルギー障壁を表す.赤色 柱は律速過程のエネルギー障壁から求めた酵素活性の予測値,ピンク色柱は変異型酵素を調 製して測定した酵素活性の実測値を示す.

みにれびゆう

◆図2 酵素的ラジカル触媒の概念とエネルギーダイアグラムの計算値

A. 概念図. (1)触媒ラジカルがない場合. (2)触媒ラジカル がある場合. B. 小さなモデルを用いた密度汎関数法による 計算. C. 全酵素モデルを用いた QM/MM 法による計算. TS1, 基質からの水素引き抜きにおける遷移状態; TS2, 基 質ラジカルからの OH 基移動における遷移状態; TS3, 5'デ オキシアデノシンからの水素引き抜き返しにおける遷移状 態.

し、このモデルでもまだ不十分な点がある. EPR 測定に より定常状態で観測されるラジカル中間体は1,2propanediol-1-yl radical (基質ラジカル)と同定されたが¹⁵, 図 2C のエネルギーダイアグラムでは生成物ラジカル (6) が観測されるはずであり、実験事実と一致しない. これに ついては QM 領域をさらに拡大したモデルで計算するこ とにより解決することが期待される.

4. 計算化学的変異によるアミノ酸残基の機能解析

計算化学ではモデルに摂動を与えて計算し,その効果を 見積もることが容易に行える.この特色を生かして,アミ ノ酸残基を別の残基に変えて計算することで特定残基の機 能を解析する試みを行った¹⁶⁾.

図 3A に活性部位の立体構造を示した.基質(PDO)の 2位 OH 基が1位に移動する過程で E170 の-COO-による1 位 OH 基の脱プロトン化が TS2 の安定化に重要であると いう結果が OM/MM 計算で得られたが、驚いたことに E170AではTS2のエネルギーは野生型より少し高い程度 で、E170A/E221Aの二重変異で初めて大幅に高くなる。 これは E221 が E170 の働きを代替するためであることが 最適化構造より示唆された.しかし, E221 が E170 を代替 する場合(E170AやE170Q)は1,1-ジオールラジカル中 間体の結合コンホメーションは野生型の場合とは当然のこ とながら変化しており、そのために5'-デオキシアデノシ ンから2位への水素引き抜き返しが立体的要因でうまくい かず TS3 のエネルギーが高くなる.全体の反応における 律速過程は、野生型では図 2C から分かるように TS3 を経 由する過程すなわち水素の引き抜き返しである^{12,16}. H143A では OH 基移動の遷移状態(TS2)のエネルギーが 高くなって TS3 のそれに近付くため、デューテリウム KIE が野生型に比べて小さくなり、水素引き抜きが完全律

速ではなく部分律速となる実験事実¹¹¹もよく説明できる. E170Q や E170A も水素引き抜き返しが律速, E170A/E221A では OH 基移動が律速とそれぞれ予想され,これらの活性 化エネルギーの値から触媒活性を予測すると図 3B の赤柱 のようになる¹⁶⁰.実際にこれらの変異型酵素を調製して測 定した結果がピンク色柱の値であり,予測値と実測値がか なりよく一致していることが分かった.このことは計算化 学的変異による活性部位アミノ酸残基の非経験的機能解析 が有効であり,将来的には半定量的に行える可能性を示し ている.

5. おわりに

以上のように,酵素科学と理論化学との連携研究によ り、実験的には困難であったラジカル転位の機構を検証 し、活性部位アミノ酸残基の貢献度を評価することができ た. また,理論化学計算の特長を生かした計算化学的変異 という新しい試みにより,活性部位アミノ酸残基の機能解 析と変異型酵素の活性予測を行った、その結果は実際に構 築した変異型酵素を用いた活性測定結果とよい一致を示し た.これらの結果は理論化学との連携により,酵素研究特 に精密反応機構研究において極めて有効な研究方法が生ま れることを示している.もちろん,理論化学的アプローチ はどの酵素でもすぐに使えるという段階にはまだない. 少 なくとも基質が結合した酵素の活性部位の三次元構造(反 応系の初期構造)が明らかになっており、なおかつ種々の 生化学的および生物物理学的解析により、反応経路の大筋 が予測されて(すなわち生成系の構造が予測できて)初め て遷移状態の予測が可能になる.遷移状態はコンピュー ターから自動的に発生させられるものではないことを知っ ておく必要があろう.このような限界を知った上で理論化 学と連携すれば、酵素科学はこれまでに例のない強力な非 経験的研究法を手にすることができることは確かである. 近い将来、このような試みがいろいろな酵素について行わ れ、21世紀の酵素研究法の一つとして確立されることを 期待したい. さらに,理論と実験結果をよりよく一致させ るためには、酵素分子全体を QM レベル(高精度)で取 り扱えることが理想であり、計算機能力の飛躍的向上が待 たれる.

謝辞

X線結晶構造解析は姫路工業大学 安岡則武教授グルー

プ(当時)との共同研究の成果であり,同教授を初めとす る共同研究者の方々に厚くお礼を申し上げます.また,変 異型酵素を用いた実験に協力していただいた岡山大学自然 科学研究科酵素機能設計学研究室の共同研究者各位に深く 感謝します.

- 1) Toraya, T. (2003) Chem. Rev., 103, 2095-2127.
- 2) Toraya, T. (2000) Cell. Mol. Life. Sci., 57, 106-127.
- 3) 虎谷哲夫 (2002) 生化学, 74, 87-102.
- Shibata, N., Masuda, J., Tobimatsu, T., Toraya, T., Suto, K., Morimoto, Y., & Yasuoka, N. (1999) *Structure*, 7, 997–1008.
- Masuda, J., Shibata, N., Morimoto, Y., Toraya, T., & Yasuoka, N. (2000) *Structure*, 8, 775–788.
- Shibata, N., Masuda, J., Morimoto, Y., Yasuoka, N., & Toraya, T. (2002) *Biochemistry*, 41, 12607–12617.
- 7) Shibata, N., Nakanishi, Y., Fukuoka, M., Yamanishi, M., Yasuoka, N., & Toraya, T. (2003) J. Biol. Chem., 278, 22717–22725.
- Abeles, R.H., & Dolphin, D. (1976) Acc. Chem. Res., 9, 114– 120.
- Rétey, J., Umani-Ronchi, A., Seibl, J., & Arigoni, D. (1966) Experientia, 22, 502–503; 22, 72–73.
- Kawata, M., Kinoshita, K., Takahashi, S., Ogura, K., Komoto, N., Yamanishi, M., Tobimatsu, T., & Toraya, T. (2006) *J. Biol. Chem.*, 281, 18327–18334.
- 11) Kinoshita, K., Kawata, M., Ogura, K., Yamasaki, A., Watanabe, T., Komoto, N., Hieda, N., Yamanishi, M., Tobimatsu, T., & Toraya, T. (2007) *Biochemistry*, in press.
- 12) Toraya, T., Eda, M., Kamachi, T., & Yoshizawa, K. (2001) J. Biochem., 130, 865–872.
- 13) Eda, M., Kamachi, T., Yoshizawa, K., & Toraya, T. (2002) Bull. Chem. Soc. Jpn., 75, 1469–1481.
- 14) Kamachi, T., Toraya, T., & Yoshizawa, K. (2004) J. Am. Chem. Soc., 126, 16207–16216.
- 15) Yamanishi, M., Ide, H., Murakami, Y., & Toraya, T. (2005) *Biochemistry*, 44, 2113–2118.
- 16) Kamachi, T., Toraya, T., & Yoshizawa, K. (2007) Chem. Eur. J., 13, 7864–7873.

虎谷 哲夫¹, 蒲池 高志², 吉澤 一成²
(¹ 岡山大学大学院自然科学研究科,
²九州大学先導物質科学研究所)

Cooperation between enzyme science and theoretical chemistry for a new paradigm in enzyme research Tetsuo Toraya¹, Takashi Kamachi² and Kazunari Yoshizawa² (¹Graduate School of Natural Science and Technology, Okayama University, Tsushima-naka, Okayama 700-8530, Japan and ²Institute for Materials Chemistry and Engineering, Kyushu University, Fukuoka 819-0395, Japan) 投稿受付: 平成 19 年 9 月 28 日