酵素設計研究で著名な Homme Hellinga

Designer Debacle

実績と真実と責任と

Nature Vol. 453 (275-278) / 15 May 2008

著名な研究者と大学院生、そして重要論文 2 報の撤回。化学界を揺るがせた 1 つの事件を Erika Check Hayden が報告する。

L. TODD/DUKE PHOTOGRAPHY

Mary Dwyer は、博士課程の指導教官選びをしていた。第 1 候補が Homme Hellinga だった。Hellinga はデューク大学医療センター（米国ノースカロライナ州ダラム）に所属する生化学の研究者で、画期的な発想と興味深い研究プログラムをもっていた。そのうえ Dwyer とは、タンパク質の構造と機能の関係に関心があるという共通

点があった。ただし、1 つ問題があった。Dwyer は、Hellinga 研究室の複数の学生から、応募しないほうがいいと注意されていたのだ。「かなりきつियो。ほかにもいい研究室はあるし」と彼女はいわれていた。ある学生は彼女を物陰に連れて行って、Hellinga と一緒に研究するのはとてもむずかしいので研究室に来るべきではない、とき

りいい放った。この学生は、その当時、Hellinga を指導教官として博士号を取得した学生よりも Hellinga の研究室を途中でやめる学生のほうが多かったことを覚えている。

それでも Dwyer は、Hellinga の研究グループの下で短期の研修実験をした。別に気がかりな点はなかった。「たぶん、やっていけると思いました」と彼

女は当時を思い起こす。こうして、彼女は、Hellinga 研究室での博士課程を決めた。今から約 9 年前のことだった。

Hellinga の指導の下で行われた Dwyer の研究は、*Nature*、*Science* 両誌を含むいくつかのジャーナルでの重要論文の発表につながり、既に輝かしいキャリアをもっていた Hellinga はさらなる名声を得た。ところが 2007 年、ある研究者が Hellinga の論文に問題を見つけ、2 報の論文は撤回に追い込まれた。すると Hellinga は、Dwyer に矛先を向け、データをねつ造したと責めた。この事件は、論争と非難を巻き起こし、その一方で、最先端の研究に取り組む研究者に対するプレッシャーの大きさを浮き彫りにした。

Hellinga は、大胆な研究者であり、輝かしい業績もある。*Nature* に発表した最初の論文¹以降、Hellinga の関心は、「タンパク質の機能が、アミノ酸配列にどのようにコードされているのか」の一点に絞られていた。このコードを解読することは、科学界の大きな目標の 1 つとなっている。これが解明されれば、オーダーメイドのタンパク質を設計できるようになるからである。1991 年、Hellinga は、ポスドク時代の指導教官だったエール大学（米国コネチカット州ニューヘブレン）の Frederic Richards とともに、まさにタンパク質を設計するためのコンピュータープログラム「DEZYMER」を発表した²。これは、目的の構造や機能を備える可能性のあるタンパク質のアミノ酸配列を予測するプログラムで、予測されるアミノ酸配列の中には、自然界に存在しない配列も含まれる。

この研究に取り組むには、Hellinga は、うってつけだった。Hellinga を知る者は彼を評して、自分の頭のよさに大いに自信をもち、大きな課題だけに興味をもつ、と話している。例えばある研究者は、Hellinga が同僚に、「僕はダーウィンより有名になれるかな」と聞いていたことを思い出す。世間の傲慢だという評価に同意するかと聞かれた

タンパク質の設計

タンパク質は、DNA に遺伝情報として保管されており、必要に応じてアミノ酸に翻訳され、それらが複数結合し折り畳まれてできる。生物が作り出すタンパク質の多くは、代謝反応や免疫反応、エネルギー反応など、特異的で反応性の高い優れた機能をもつ。そこで、アミノ酸の配列をコンピューターで設計して、今あるタンパク質を改良したり、新しいタンパク質を合成したりすれば、新薬の開発など医療への応用や工業的応用など大きな利益を生むことになる。一般にタンパク質を構成するアミノ酸は 20 種類あり、また折り畳みの方法を考え合わせると、非常に多くの種類のタンパク質構造が考えられる。その中から、目的の機能をもつタンパク質を得ることは、なかなかたいへんなことである。

Hellinga は、次のように答えた。「そういう見方には賛同できませんね。ただ傲慢な性格に見えることがあるかと聞かれれば、おそらくみえると思います。むずかしい実験を試みる場合には、『よし、実験をするのは今だ。努力して、挑戦するだけの方法もアイデアもそろっている』といえるだけの自信が必要なのですから」。

格好のよい標的分子

2002 年頃、Hellinga は、それまでに取り組んできた研究の中で最も困難な課題に取り組むことを決めた。それは、これといった活性のないタンパク質を高活性酵素に、具体的にはトリオースリン酸イソメラーゼ（TIM）という生物触媒に大きく作り変えることだった。この酵素は、ほとんどの生物にみられる解糖系という一連の生物学的反応の一部を担っている。この Hellinga の目標は大胆なものだった。当時、活性の弱い酵素は設計されていた³が、TIM ほど高活性の酵素はなかった。TIM は、その極めて高い活性効率から、「完璧な酵素」と考えられていた（P.25 の図参照）。

Hellinga は、Dwyer ともう 1 人の学生 Loren Looger を選び、大腸菌を使ってこの研究プロジェクトに取りかった。2 人の学生の役目は、大腸菌

のリボース結合タンパク質（酵素活性なし）を TIM に変換させることだった。Looger と Hellinga は、リボース結合タンパク質の構造を変えて TIM の機能をもつようにする方法をモデル化しようと、まず、コンピュータープログラムを作成した。Dwyer は、このプログラムを使って変異型リボース結合タンパク質（「NovoTIM」と命名）を設計し、その作用を実験室で検証した。

自分自身を「相当に保守的な人物」と評する Dwyer は、このプロジェクトの成功には懐疑的だった。「いつも疑問を抱いていました」と彼女はいう。Dwyer は、設計したタンパク質 25 種の検証に約 6 か月間を費やし、そのうちの数種に活性があることを発見した。しかし、同時にいくつかの問題にも気づいていた。大腸菌に産生させた NovoTIM タンパク質の量が、大腸菌が自然に産生する野生型 TIM タンパク質に比べて、かなり少なかったのである。それに NovoTIM タンパク質は、非常に不安定だった。

こうした問題点のせいか、NovoTIM の活性に関する Dwyer の実験データにはばらつきがみられた。酵素の動力学的パラメータ（酵素の動きを記述する特性）の測定で、必ずしも同じ結果が得られなかったのである。「データの

ばらつきのため、動力学パラメータの確定はできない感じがしました」と Dwyer は、当時を思い起こす。研究室の同僚と実験を行っても、「測定結果は大きくぶれていました。しかしその理由はまったくわかりませんでした」と Dwyer はいう。そうしたばらつきは、「(このような) 実験では、当然予想されます」と Hellinga は話す。

2004 年初頭、Hellinga の論文発表の準備ができた。3 月 29 日には NovoTIM について記述した論文が *Science* に投稿され、5 月 6 日に受理された。この論文には、Dwyer が気にかけていたデータのばらつきに関する記述はなく、得られた最良のデータだけが示され、合成の成功が高らかに宣言⁴されていた。論文には、「我々は、コンピューターによる設計技術を使って、触媒活性のないタンパク質をトリオスリン酸イソメラーゼに変換することに成功した」と記されていた。

この *Science* の論文では、Dwyer が筆頭著者で、Hellinga と Looger が共著者だった。Looger は、その年にデューク大学を離れ、現在はハーワード・ヒューズ医学研究所ジャネリアファ-

ム (米国バージニア州) で研究を進めている。しかし Dwyer は、この論文発表を手放して喜ばなかった。「祝杯をあげるには、なにか違和感がありました。私としては、データのばらつきの問題を (そのほかにも見つかった奇妙な結果とともに) 詳しく検証したかったのです。ゴールには到達していないという感じがしていました」と彼女は回想する。

当時、このような懸念を Hellinga に訴えた、と Dwyer は話す。Hellinga は、自分が Dwyer やそのほかの研究員に対して、時期尚早な論文発表を強制したことはない、と語っている。「このことについては、関係者の間でとても慎重に議論し尽くしました」。

同じ年の 9 月、Hellinga は、米国立衛生研究所から、創設されたばかりの 9 つの所長パイオニア賞のうちの 1 つを受賞し、向こう 5 年間に 250 万米ドル (約 2 億 6250 万円) を受け取るようになった。10 月には、フォーサイト・ナノテク研究所 (米国カリフォルニア州パロアルト) から実験研究部門のファインマン賞と賞金 1 万米ドル (約 105 万円) を贈られた。それとほぼ同時期に、Hellinga と妻 (デューク大学の構造生

化学者 Lorena Beese) はエール大学など複数の機関から招へいを受け、その検討をしていた。そこで、デューク大学は 2005 年 4 月、Hellinga をジェームズ・B・デューク生化学教授に任命し、翌年には Beese が同じ名誉にあずかった。さらに、デューク大学は、生物学的構造・設計研究所を創設し、Hellinga 夫妻を共同所長に任命した。

運命の書簡

2004 年 12 月、Hellinga の机上に 1 通の書簡が置かれた。しかし降ってわいた数々の栄誉の中ですっかり見過ごされていた。突如大出世した Hellinga にとっては、無理からぬことだったかもしれない。「拝啓 Hellinga 教授殿」で始まるこの書簡には、「私たちとの共同研究にご興味はございますか」と記されていた。

書簡の差出人は、ニューヨーク州立大学バッファロー校 (米国) に所属する化学生物学者の John Richard であった。彼は、それまでにウィスコンシン大学マディソン校の Perry Frey、ブランダイス大学 (米国マサチューセッツ州ウォルサム) の Bill Jencks、現在カリフォルニア大学アーバイン校に所属する Irwin Rose という酵素学の大家たちとの共同研究を行ってきていた。特に Rose は、ユビキチンというタンパク質が、ほかのタンパク質に印をつけて細胞内で破壊されるようにする過程を発見したことにより、2004 年のノーベル化学賞を共同受賞している。

Richard は、TIM によって触媒される反応を解析する方法を開発した^{5,6}。彼は、*Science* 誌に掲載された Hellinga の論文を読み、NovoTIM と普通の TIM の特性を比較することを思い立ったのだった。そしてこの実験を Hellinga に提案したが、Hellinga からの返事はなかった。「優先順位の高い実験ではなかったのです」と Hellinga は話す。

Hellinga と Richard の科学的文化背景は、大きく異なっている。Richard

は、機構的酵素学を習得し、物理有機化学の研究で知られている。物理有機化学は、「はやり」の研究分野とはいえない。その理由は、「容易な実験がすべて行われてしまったから」なのかもしれない、と Richard は話す。Richard は、注意深さと綿密さが求められる物理有機化学の世界で尊敬を集めている。「今日、酵素を研究する物理有機化学者の中で、彼が第一人者の 1 人であることは明らかです」と語るのは、パデュー大学（米国インディアナ州ウェストラファイエット）に所属する生化学者 Joseph Kappock である。これとは対照的に、Hellinga のタンパク質設計というホットな研究分野は、自然を理解するだけでなく、自然を改良することをめざすために、大胆さが求められる。

2006 年 7 月、Richard は、カリフォルニア大学バークレー校（米国）の Jack Kirsch 名誉教授（化学）と Hellinga の *Science* の論文について議論していた。そのころカリフォルニア大学バークレー校では、Hellinga が、その研究に関するセミナーを行っていた。8 月 9 日、Kirsch は Hellinga に電子メールを送った。「(Richard から) 試料を請求する電子メールを君に送ったと最近聞いたが、彼に試料を送れない理由があるのかい」といった文面だった。

この電子メールが事態を円滑に進めるうえで役立ったようで、10 月 20 日になると、Hellinga が Richard に対して、*Science* の論文のために作製した NovoTIM の DNA 鋳型を送ることを了解したと連絡した。Hellinga はさらに、Dwyer と別の研究員がその前年に作製した NovoTIM の 2 番目のバッチの DNA 鋳型も送った。これらの新しいタンパク質について記述した論文は、*Journal of Molecular Biology* でまもなく発表されることになっていた⁷。Hellinga は、Richard のために、すべての NovoTIM の発現方法と精製方法を記し、「実験の成功をお祈りするとともに、これらの設計されたタンパク質のプロフィールを楽しみにしています」

というメッセージを書き添えた。

バッファローの研究室で、Richard は、ラボテクニシャン Astrid Koudelka を起用して NovoTIM の実験プロジェクトを行った。Koudelka は、Hellinga のノートに記されていた通りに、段階溶離法を使って NovoTIM の精製を行った。ところが、問題が生じた。段階溶離法では、NovoTIM をほかの混入タンパク質から分離できなかったのである。

そこで Richard の妻で化学者の Tina Amyes が、NovoTIM の動力学的パラメータの 1 つであるミカエリス定数を測定した。すると、その値が、Hellinga の *Science* の論文で報告された値とは異なっており、むしろ天然の野生型大腸菌 TIM の値に近いことがわかった。Amyes は、2007 年の上半期ずっと NovoTIM の研究を行ったが、Hellinga の報告内容は再現されず、実験結果からは、「NovoTIM」とされたものが実は野生型 TIM であったことだけが示唆された。

次に Koudelka は、Hellinga の手順を修正して、段階溶離法よりも強力な連続溶離法を使って精製を試みた。すると、NovoTIM と混入物がきれいに分離された。ところが、Amyes がこの高純度の NovoTIM の解析を行ったところ、酵素活性が検出されなかった。これに対して、混入タンパク質には活性があることが確認され、その外観は野生型大腸菌 TIM そっくりだった。

2007 年 7 月の段階で、Richard の研究グループは、Hellinga の実験で何か手違いがあったことを確信した。すなわち、Hellinga の研究室では段階溶離法を使ったために、大腸菌で普通にみられる野生型 TIM から NovoTIM を分離することに失敗したのだという感触を得ていたのだった。そして産生された NovoTIM は不活性で、Hellinga が論文で報告した活性のすべては、NovoTIM に混入した野生型 TIM による可能性が極めて高くなった。「これには、ちょっと疲れました。かなりの時間とお金と資源を使ったのに、ほとん

Hellinga の研究結果を再現できなかった Tina Amyes (左) と Astrid Koudelka

ど何も達成できず、何か手違いがあった、ということしかわからなかったのですから」と Richard はいう。それでも彼の研究チームは、科学上の記録の誤りを正すということに義務感をもっていた。「『これは誤っているので、破棄して研究を続けよう』とするのは、科学界に対してフェアじゃないと思うのです」と Koudelka はいう。

すばやかた対応

7 月 26 日、Richard は長文の電子メールを Hellinga に送った。その中で、Richard の研究チームが集めた証拠を説明し、Hellinga のほかの論文の一部にもあると考えられる問題点を指摘した。Richard は、このメールの写しを *Science*、*Journal of Molecular Biology* 両誌のエディターと別の 2 人の化学者に送付した。「こうした問題には、臨機応変な対応が必要だと思われます。このようなメールを差し上げるのは、私にとっても非常に心苦しいということをどうかご理解ください」と Richard は記した。

この時の Hellinga の対応は素早かった。Hellinga は、7 月 30 日の電子メールで、「重要な実験については、研究グループの何人かの研究員が、別々に数回繰り返して実施いたしました」と記した。その中には、NovoTIM の活性を検出したテストに対する陰性対照実験も含まれていた。この陰性対照

実験（いずれの論文にも触れられていない）では、精製されたリボース結合タンパク質に活性がないことが判明した、と Hellinga はいった。しかし彼は、NovoTIM をもう一度調べることに同意した。「ご教示くださったものと類似した方法で、精製を行ってみます」と Hellinga は記した。

その間、Dwyer は、Richard と Hellinga の間でのやり取りについて、何も聞かされなかった。彼女は 2004 年に博士号を取得した後、2005 年に Hellinga の研究室から別の学科の研究室に移り、ポストドク研究を進めていた。そのため、祝日の 2007 年 9 月 3 日（Labor Day）に、NovoTIM の問題点について今週後半に話したい、という Hellinga からの電子メールを受け取ったとき、あまり深刻に受け止めていなかった。これに対し、Dwyer の新しい指導教官だった Donald McDonnell 教授（薬理学、がん生物学）は、1 人で Hellinga に会ってはならないと Dwyer に忠告した。McDonnell は、Dwyer と同じ立場で Dwyer を弁護できる者に同行してもらうべきだと感じたのだ。McDonnell は、その週の後半に、Dwyer、Hellinga に生化学科の 2 人の教官を加え、話し合いを行った。その場で、Hellinga は思いも寄らない爆弾発言をしたのだった。「Hellinga 先生は、『君が、これをねつ造したと断言せざるを得ない』といい、同様の発言を何度も繰り返したのです。それは、恐ろしかったです」と Dwyer は話す。

Dwyer の指導教官、Dwyer を弁護し、彼女は自分が無実であることを明確に主張した。「その時私は、『そんなこと、ばかっています。私はねつ造なんてしていません』といました。Hellinga 先生が話したことは真実ではありません」と彼女は話す。

その数週間後、McDonnell、Hellinga、Dwyer と生化学科科長が再び話し合いの席についた。そこには、研究者である Dwyer の夫も同席した。

TIM の働き

トリオースリン酸イソメラーゼ (TIM) は、糖代謝の 1 つの重要な段階を触媒する酵素で、ほとんどの生物にみられる。TIM (活性部位を赤で表示) により、細胞内で 2 種類の糖 (DHAP と GAP) が、エンジオールという中間分子を介して効率的に相互変換する。コンピュータプログラムを使うと、この効率的な酵素をゼロから設計することができる。

Dwyer は、Hellinga に対して実験ノートデータを示し、それで嫌疑が晴れると思っていた。ところが、「Hellinga 先生は、そんなものを見たくはなかったのです。ただ単に私のせいでこうなった。それだけだったのです」と Dwyer は当時を思い起こす。Hellinga の記憶は、これとは異なる。「それは事実ではありません。もちろん私はデータを見ました。私の研究室でも実験を繰り返してみました」と彼はいう。

10 月 8 日に Hellinga は Richard にメールを送った。そこには、「当方の研究室で、NovoTIM の反復実験を完了しました。私たちが設計した NovoTIM には酵素活性がなく、論文で報告した活性は、混入物の活性によるものであり、それが外因性の野生型トリオースリン酸イソメラーゼである可能性が非常に高いというご指摘については、私も同意見です」と記されていた。また、Hellinga は、陰性対照実験を繰り返し、「段階分離法で抽出された野生型リボース結合タンパク質で TIM 活性」が確認されたと記した。

さらに Hellinga は、今回の反復実験が 3 人の研究員によって行われたと記し、「ただし、Science の論文での実験責任者であり、Journal of Molecular Biology の論文における陰性対照実験で大きな責任をもつ論文著者 Mary Dwyer は、今回の反復実験に携わっておりません」と付け加えた。実験に関して主たる責任を負う研究者が Dwyer

だと名指したことは、Hellinga が Richard に宛てた 7 月 30 日の電子メールで、「何人かの研究員」が関与したと記したことと矛盾しているように思われた。これに対して、Hellinga は、Nature に対して、この 7 月 30 日の電子メールは「やや不正確」であったとし、陰性対照実験を実施したのは Dwyer だけだったと明確に語った。

Richard への Hellinga のメールには、さらにこう記されていた。「Dwyer に説明を求めるため、彼女と連絡を取りました…。この問題は、さらなる調査のために、医学系大学院の学院長室に付託されており、現在、調査が進められているところです」。

研究上の不正行為に関する委員会では、正式な調査公聴会を 12 月に開催し、そこで Dwyer は、彼女自身に対する申立てについて弁明することを求められた。そして 2008 年 2 月 4 日、Dwyer は、実験結果の改ざんとねつ造に関して、彼女の潔白が証明されたことを知らせる書簡を医学系大学院の副学院長 Wesley Byerly から受け取った。

責任はどこに

しかし調査の話は、既に広まっており、指導教官が学生を不正行為で非難することが間違いだと考える化学者は激怒した。Frey は、次のように語る。「こうした行為こそが非難されるべきです。学生に指示を与え、データとその解釈に関する問題点を発見できるように学生

不純物の混入の可能性を警告した John Richard

を導き、数々の落とし穴を学生に教えることは、指導教官の責任なのです」。

2008年2月になって、*Science* の論文と *Journal of Molecular Biology* の論文のいずれもが正式に撤回された。「論文に記述された試料中で観察されたトリオースリン酸イソメラーゼの活性は、野生型 TIM 由来の不純物が原因となっている可能性がある」と *Science* の撤回声明には記されていた。*Journal of Molecular Biology* の撤回声明もこれと似た内容だった。Hellinga の研究室が、単純な不純物の混入の問題でだまされたことに化学者は驚いた。「タンパク質の精製が不十分だったなんて、特にこの種の論文では、お粗末なミスとしかいいようがありません」とウィスコンシン大学マディソン校の Wallace Cleland は話す。

それでも、実際に何が起こったのかは、今もって正確に解明されていない。3月10日に *Science* は、Richard と Kirsch のそれぞれの書簡を掲載し、その中で両氏は、今回の論文撤回で解決されていないと考えられる論点を列挙している。例えば、NovoTIM の動力学的測定値として Hellinga が報告したものは、野生型 TIM の測定値とは異なっている。Hellinga の論文で示された活性がすべて野生型 TIM に由来すると考えると、この事実の解釈はむずかしい。

また、Kirsch は、*Science* の論文に示されたほかの実験についても疑念を呈し、「タンパク質の設計が成功だった

と考えれば、つじつまが合う」と記している。例えば、TIM 酵素が欠如した大腸菌では、NovoTIM が野生型 TIM の代わりになり得ると報告された。そして別の試験では、DEZYMER が予測した通りに、変異型 NovoTIM の活性が低下したとされた。もし設計された酵素が不活性であれば、これらの結果は筋が通らないのである。

Hellinga は、Kirsch と Richard が提起した問題点を説明できないでいる。Dwyer は、タンパク質発現とアッセイ結果のばらつきに関する問題が原因の一部だと考えており、当時を振り返って、変異型 NovoTIM の活性低下と思われた観察結果は、実験誤差を考慮に入れば、実際には微々たるものだったと話している。しかし、どこで間違えたのかを明確に答えられる者はいない。これが Richard には悔しいのである。真相究明のために相当な時間と資源を使ってしまったからである。

それでも Richard の研究のおかげで、かつて Hellinga が成功を宣言したブレークスルーが、別の研究チームによって実現された。この3月、ワシントン大学（米国シアトル）に所属する生化学者 David Baker が、コンピュータープログラムを使って、活性を有する酵素を設計できることを実証した2報の論文を発表したのである^{8,9}。

一方、Hellinga 自身を調査対象とすべきなのかどうかを問う研究者もいる。もし不正行為の主張が「根拠がなく、悪意のある無謀なものであれば、現行の大学の規則と手順に従って対処する」というデューク大学の方針を指摘する研究者もいる。

Hellinga は、自分自身を調査対象とする旨の正式な通知を受けていない、と話す。デューク大学は具体的なコメントを表明しておらず、「本学は、Hellinga 博士による論文撤回が、科学界で相当な論争を生んだことを承知しております。今後も、この論争の推移を見守り、現在は、これまでに提起されたさまざまな論点の評価を行っていま

す」という声明を発表しただけである。

NovoTIM 実験に関して何か別の方法で行って見たかったか、という質問を受けた Hellinga は、「今回のような問題が起こらなければよかったと思っています」と答えた。また、研究室が性急に事を運んだのではないか、という問いに対しては、「当時の研究の蓄積から考えて、性急ではなかったと思います。もちろん、問題が起こっていることがわかっていれば、あのようなスピードでは進めなかったと思います」と答えた。

Dwyer の場合、この経験による心の動揺が今も続いている。「問題点を探し出せなかったことに、とても強い罪悪感をもっています。でも、探し出せなかったというのは事実であり、それを受け止めて生きていくしかありません。本当に苦しい日々でした」と彼女は話す。今は、自分の人生とキャリアを前進させようと努力している、と彼女はいう。現在、彼女は新しい研究室で、内分泌学という新しい研究分野の研究を McDonnell と進めている。でも時々、何年も前に彼女を Hellinga の研究室には来ないほうがいいといっていた人々のことを思い返すことがある、と彼女は語る。もし、そうした人々の忠告に耳を傾けていたならば、どれほど状況は変わっていただろうか、と彼女は自問する。「当時、みんな警告を受けていたのに、誰も聞き入れませんでした。今なら聞き入れるかもしれませんね」。

Erika Check Hayden は、*Nature* のサンフランシスコ事務所に所属するシニアレポーター。

- Hellinga, H. W. & Evans, P. R. *Nature* **327**, 437-439 (1987).
- Hellinga, H. W. & Richards, F. M. *J. Mol. Biol.* **222**, 763-785 (1991).
- Bolon, D. N. & Mayo, S. L. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **98**, 14274-14279 (2001).
- Dwyer, M. A., Looger, L. L. & Hellinga, H. W. *Science* **304**, 1967-1971 (2004).
- O'Donoghue, A. C., Amyes, T. L. & Richard, J. P. *Biochemistry* **44**, 2610-2621 (2005).
- O'Donoghue, A. C., Amyes, T. L. & Richard, J. P. *Biochemistry* **44**, 2622-2631 (2005).
- Allert, M., Dwyer, M. A. & Hellinga, H. W. *J. Mol. Biol.* **366**, 945-953 (2007).
- Jiang, L. et al. *Science* **319**, 1387-1391 (2008).
- Röthlisberger, D. et al. *Nature* **453**, 190-195 (2008).

2008年5月15日号の Editorial (258 ページ) 参照。