

文部科学省 キーテクノロジー研究開発の推進

「ターゲットタンパク研究プログラム」  
中間評価報告書（抄）

平成21年7月

ターゲットタンパク研究プログラム評価委員会

# — 目 次 —

はじめに .....	1
<b>I. 評価結果</b>	
1. プログラム全体の評価 .....	4
2. 課題評価	
— ターゲットタンパク研究課題 —	
2-1 「基本的な生命の解明」分野 .....	9
2-2 「医学・薬学等への貢献」分野 .....	21
2-3 「食品・環境等の産業応用」分野 .....	38
— 技術開発研究課題 —	
2-4 「生産」領域 .....	49
2-5 「解析」領域 .....	54
2-6 「制御」領域 .....	58
2-7 「情報プラットフォーム」領域 .....	60
3. 評価委員会委員名簿 .....	63

## はじめに

ターゲットタンパク研究プログラム（以下、「本プログラム」という。）は、「キーテクノロジー研究開発の推進」<sup>注1)</sup>の一環として、平成19年度より5か年の計画で開始された事業である。

ヒトゲノム解読完了により、タンパク質や遺伝子レベルで生命に対する理解が加速し、ヒトを始めとする動植物等の生物の複雑かつ精緻な生命現象の真髄に迫ろうとしている。生命の基本分子であるタンパク質の構造や機能を解析することができれば、生命現象の理解に必要な学術研究の発展に資するのみならず、その成果は人類の健康や福祉への貢献が大いに期待されているところである。第3期科学技術基本計画に基づく「分野別推進戦略」や「バイオテクノロジーによるイノベーション促進に向けた抜本的強化方策（ドリームBT ジャパン）」において、タンパク質の構造解析及び機能研究の重要性が謳われている。また、米国では、第3期 PSI (Protein Structure Initiative) において、より生物学的観点を強めた構造生物学プロジェクト (PSI Biology) が計画されるなど、米欧やアジア諸国等においても同様の研究が積極的に展開されており、我が国の国際競争力の維持や発展のためにも極めて重要な研究分野であるといえる。

本プログラムは、「タンパク3000プロジェクト」<sup>注2)</sup>（平成14年度～平成18年度）等から産み出された成果及び整備された基盤等を最大限に活用し、現在の技術水準では解明が極めて困難であるものの、学術研究や産業振興に欠かせない重要なタンパク質について構造と機能を解析し、その成果を社会貢献につなげることを目的としており、「ターゲットタンパク研究」と「技術開発研究」の2つの柱から構成されている。「ターゲットタンパク研究」では、ターゲットとなるタンパク質の構造と機能の解明を目指す「基本的な生命の解明」、「医学・薬学等への貢献」、「食品・環境等の産業応用」の3つの分野を対象としている。一方、「技術開発研究」は、現在の技術水準では解明が困難なタンパク質の解析を可能とするため、タンパク質の試料を作る「生産」、タンパク質の構造を解く「解析」、タンパク質の機能を知る「制御」、「生産」・「解析」・「制御」の情報を共有化させる「情報プラットフォーム」の4つの領域を対象としている。

なお、本プログラム実施にあたり、タンパク質の的確な選定がプログラムの成否に大きく影響することから、鍵となる生物機能の解明に立体構造の解明が寄与するか、構造解析の難易度の高いものが含まれているか等の観点でターゲットを選定している。

本年度は本プログラム開始3年目にあたるため、①個別の課題及びプログラム全体の実施状況、②技術開発研究の今後の在り方等について、公正かつ公平に評価を行うことを目的として、「ターゲットタンパク研究プログラム評価委員会」が設置され、平成21年3月から約4ヶ月の期間をかけ評価が行われた。本評価報告書はその結果を取りまとめて作成されたものである。

注1) キーテクノロジー研究開発の推進とは、平成17年度より始まった事業で、経済社会の発展や安全・安心の確保など我が国の維持・発展の基盤となるキーテクノロジー研究開発の更なる進展を図るため、以下の3つの研究領域に関して、競争的環境において研究開発を推進しようとするものをいう。

- ✓ 社会のニーズを踏まえたライフサイエンス分野の研究開発
- ✓ 次世代IT基盤構築のための研究開発
- ✓ ナノテクノロジー・材料を中心とした融合新興分野研究開発

注2) タンパク3000プロジェクトとは、平成14年度～平成18年度に実施された事業で、生命を司るのに重要なタンパク質のうち約3000種以上の基本構造・機能解析を行うとともに、タンパク質発現、解析等の関連技術の高度化、成果の適切な特許化を図ることを目的とした。最終的には、構造解析されたタンパク質数4517※(基本構造として4187※)、プロテインデータベース(PDB)登録数3923※、出願した特許数403※、論文発表数4195※の成果をあげるとともに、我が国の構造生物学の基盤を飛躍的に高めた。

※平成19年3月31日時点のデータ

## I . 評価結果

# 1. プログラム全体の評価

## 1-1. 総評

大型放射光施設やNMR施設等の研究基盤の整備や技術レベルの飛躍的な向上により、構造生物学のすそ野が広がった現在、タンパク質の立体構造情報に基づき、その機能メカニズムの解明を目指すアプローチは以前に比べると一般的になってきた。しかしながら、生命現象や疾患に重要な役割をつかさどる膜タンパク質、糖タンパク質、巨大複合体等の構造・機能解析は依然として解決困難であり、それゆえに挑戦的課題である。そのため、このような難解析性タンパク質等にターゲットを定めた構造・機能解析と、それに必要な技術開発を一体として行う「ターゲットタンパク研究プログラム」は国家プロジェクトとして極めて重要である。

本プログラムは、タンパク質の試料をつくる「生産」、立体構造を解く「解析」、機能を知る「制御」、情報を共有する「情報プラットフォーム」の4領域からなる「技術開発研究」と、「基本的な生命の解明」、「医薬・薬学への貢献」および「食品・環境等の産業応用」の3分野の個別研究課題からなる「ターゲットタンパク研究(個別研究課題)」の2本の柱から構成されている。

本プログラムの進捗に関して、「技術開発研究」はおおむね着実に研究開発を進めているといえる。「生産」は、その成果が直接目に見える形ではないものの、難解析性タンパク質の大量発現や結晶化に関する要素技術がいくつか完成段階にあるなど、着実に新技術の開発を進めており、これまでの成果、今後の見通しはともに評価できる。「解析」では、SPRING-8 やフォトンファクトリーにおいて、微小結晶しか得られない難解析性タンパク質のX線解析を可能にするマイクロフォーカスビームライン等の開発に向けて順調に進捗している。「制御」は、機能のみならず構造解析のための制御化合物(化合物プローブ)を取得するための公的な化合物ライブラリー整備という我が国独自・我が国初の取り組みを進めており、複数の個別研究課題でヒット化合物が得られるなどの成果が得られている。また、化合物ライブラリーの外部開放をすでに始めた点も高く評価できる。「情報プラットフォーム」については、利用者のインターフェースとなるポータルサイトの開設と更新、日欧米の既存データを網羅した非冗長アミノ酸配列データベースの作成等の成果をあげている点で、本プログラムの成果発信拠点としての基盤作りを評価できる。今後、本プログラムの成果を、一般に広く発信すべく、一層の研究開発推進を期待したい。さらに、研究成果を我が国全体で共有するための情報発信や、プログラム内のボトルネックや成功例の共有を通じた効果的な共同研究が実施されるための方策が、プログラム全体で議論されることを期待したい。

以上の「技術開発研究」の成果は、「ターゲットタンパク研究(個別研究課題)」において広く活用がなされ、すでに成果につながった事例が認められるなど、本プログラム内での連携が進んでいる。

「ターゲットタンパク研究(個別研究課題)」は、ターゲットとするタンパク質群を共通項にした研究が課題ごとに進められており、多くの課題で、構造・機能解析それぞれに十分な成果をあげていると評価できる。いくつかの難解析性タンパク質については、既に結晶化用タンパク質試料や微結晶が得られているなどの成果が認められる。本プログラムは、現在の技術水準では研究が極めて困難なタンパク質の構造・機能解析に挑戦することを目的の一つにしている。このため、難解析性タンパク質の立体構造解析は、

新規開発技術の基盤が整ったプログラム後半に加速することが必要である。

難解析性タンパク質の立体構造が明らかになれば、本プログラムの中心的課題として位置づけられた、「解析された立体構造を基にしたタンパク質の機能解析」の例が増えてくるものと期待される。本プログラムでは、13のターゲットタンパク質ネットワーク群を設定しており、それらに含まれる多種多様な難解析性タンパク質の構造解析には、「技術開発研究」の成果の活用が必要不可欠であることから、プログラム後半は、「ターゲットタンパク質研究(個別研究課題)」への技術移転や共同研究等の技術支援を一層進めるべきである。

「生産」、「解析」、「制御」、「情報プラットフォーム」の「技術開発研究」は、ライフサイエンス研究コミュニティや産業界から大きな期待が寄せられていることから、マイクロフォーカスビームラインや、タンパク質発現ライブラリー基盤等についても、早期の外部開放の検討を期待する。既に外部開放を開始している化合物ライブラリーについても、多くの者にとって利用しやすい公的化合物ライブラリーとして、さらに実績を積み重ねることを期待したい。また、「ターゲットタンパク質研究(個別研究課題)」においても、学術・産業応用に価値の高い成果が数多く生まれ、これらを基に、医療・食料・環境問題を解決するための新たな糸口を見出せることが期待される。産業応用に資するライフサイエンス基礎研究という本プログラムの主旨を十分に活かしつつ、社会への還元の道筋を具体的に検討することを期待する。

以上の点を踏まえて考えれば、全体として、本プログラムは順調に進捗していると判断できる。

## 1-2. 研究の進捗状況について

難解析性タンパク質の構造解析に向けた「技術開発研究」と「ターゲットタンパク質研究(個別研究課題)」は、全体として順調に進捗している。

「技術開発研究」の「生産」では、多数回膜貫通型タンパク質等を多様な無細胞タンパク質発現系において大量に生産する技術、キュービック液晶による膜タンパク質結晶化技術、蛍光分子団を導入してタンパク質精製・結晶スクリーニングを促進する技術、あるいは、抗体を用いたタンパク質結晶化技術の確立など、難解析性タンパク質の生産に向けた独創的な研究開発が展開されている。ただし、プログラム後半での個別課題への貢献が期待される成果が創出されつつある一方で、技術開発の成果の発信と連携がやや不十分である点も見受けられた。「解析」では、SPRING-8 やフォトンファクトリーのマイクロフォーカスビームラインの開発が順調に進捗している。また、固体NMR法やSAILアミノ酸による独創的な解析技術の高度化も進められている。「制御」では、短期間に我が国初の大規模公的化合物ライブラリーが整備され、その支援により、個別課題の研究者が成果を上げつつある。また、プログラム内のみならず一般の研究者にも公開を開始している。「情報プラットフォーム」では、本プログラムの研究成果や公知の研究情報の集約・発信・共有のためのプラットフォーム構築と、構造バイオインフォマティクスによるタンパク質複合体構造推定技術の研究開発が行われている。ポータルサイト構築や進捗マネジメントシステムによる報告書の共有など、本プロジェクトに必要なシステムの整備が進捗している。

「ターゲットタンパク質研究(個別研究課題)」では、構造・機能解析研究それぞれに十

分な成果をあげている。例えば、機能解析では、「非翻訳 RNA による高次細胞機能発現機構の解明」において、RNA 干渉で中心的な役割を担う難解析性タンパク質「Argonaute2」と結合する内在性の小分子 RNA の多くがトランスポゾンであることを明らかにするなど、各分野で先導的な研究成果が得られている。また、「キラル化合物の産業生産に有用な酵素の触媒反応機構の解明と高機能化」において、カルボニル還元酵素と補酵素の複合体立体構造の解析により酵素の機能解明が原子レベルで進み、その結果、補酵素要求性が NADPH から NADH へと変換された酵素の作成に成功するなど、構造情報に立脚した機能改変にまで進展した課題もある。この成果は、キラル化合物産業生産のコストダウンにもつながり、応用的にも重要である。

極めて解析が困難なタンパク質については、すでに発現・精製に成功し、結晶化条件の探索、微小結晶の取得に至っているものもあり、マイクロフォーカスビームライン等の難解析性タンパク質の解析のための技術が本格適用されるプログラム後半における構造解析に向けて順調な進展が認められる。

### 1-3. 研究体制について

本プログラムには理・工・医・薬・農学等の多様な分野における構造解析研究者、機能解析研究者、有機合成研究者等が参加している。全体交流会や個別の打合せ等を通じて情報交換や共同研究等を積極的に進めており、適切なマネジメントのもと、プログラムが実施されていると判断される。実際、個別にターゲットとするタンパク質群を共通項にした研究が進められており、多くの課題で、構造・機能解析それぞれに優れた成果をあげている。また、「技術開発研究」の支援により、個別課題の研究者が成果を上げつつある。本プログラムが着実に実施されていることは、推進委員長を核とする推進委員会の努力が大きいと考えられる。4名のプログラムオフィサーによる個別の研究課題に対するアドバイス等も適切に実施されている。また、人材育成に関しても、研究交流会等に若手研究者が多数参加していることから、着実に実施されているものと判断される。

プログラム外との連携に向けた活動としては、公開シンポジウム開催、パンフレット発行、あるいは情報プラットフォームによる研究成果の外部発信が行われており、外部との連携活動としては、国際宇宙ステーション・日本実験棟「きぼう」におけるタンパク質結晶化実験や、化合物ライブラリーの外部公開を行っている。今後は、他省の研究開発事業、例えば NEDO プロジェクト等との連携についても、プログラム内で議論が始まることを期待したい。

### 1-4. 今後の展望について

プログラム後半においては、生命現象の鍵となるタンパク質や難解析性タンパク質の構造解析を行い、立体構造をもとにした機能解析が各課題で展開されることを期待する。そのためには、「技術開発研究」の成果の活用が必要不可欠である。各参加研究者の交流を今後も一層盛んに行うとともに、情報プラットフォームを活用し、開発された技術、個別研究課題の成功例、あるいは技術的ボトルネック等を共有し、さらなる技術移転や共同研究を進めるべきである。なお、構造解析に最新の高度技術を適用する場合、「技術開発研究」から「ターゲットタンパク質研究(個別研究課題)」への単なる技術移転ではなく、共同研究を中心とした技術支援を行う必要がある。そのため、「技術開発研究」



では、多くの課題に同時対応可能な体制を構築することが重要である。また、個別研究課題のニーズに応えるよう、共同研究の結果をフィードバックしつつ、世界的な情勢もにらみながら継続的な技術開発を行う努力が望まれる。

「情報プラットフォーム」の本プログラムにおける役割は重大であり、良い結果が得られても外部への発信・共有が実現しなければ国家プロジェクトとしての意義は薄くなる。プログラム発の成果をアカデミアや産業界に広く公開し、皆が利用可能な状態にするべきである。そのため、情報プラットフォームからの情報発信については、今後の方針を含め、本プログラム全体の課題として検討し、より一層の活用が図られることを期待したい。

現時点での進捗・成果を踏まえれば、プログラム後半で学術・産業応用に価値の高い成果が数多く生まれ、これらをもとに、医療・食料・環境問題を解決するための新たな糸口を見いだせることが期待できる。多額の予算を投入する大型プログラムであることを重く受け止め、社会への還元の実策を講じることによりプログラムの完成度がより高くなるものと思われる。例えば、「医学・薬学等への貢献」分野では疾患の予防・診断・治療で鍵となるタンパク質を対象としているが、これらの中から、研究成果が将来の創薬につながることを期待したい。本プログラムでは、応用を見据えた研究課題を多数進めてはいるが、新薬創製や新品種開発までの過程では克服すべき課題が多数あることから、まずは、本プログラムにおいてその鍵となるタンパク質の構造および機能の解明とそれに基づく生物機能の解析を確実に進められたい。そこで得られた成果は、他の公的資金の活用や企業との連携等を通し、実用化されていくことが期待される。

本プログラムにより、わが国の構造生物学のレベルはさらに上昇し、国際的にも存在感を増している。今後は、技術開発の成果を可能な限り早期に外部に発信・提供し、我が国全体の研究レベルのかさ上げを図るべきである。特に、一般の研究者への化合物ライブラリーの公開や、マイクロフォーカスビームラインのビームタイムの供給は、技術開発の成果の社会還元として大きなものと位置づけられる。化合物ライブラリーについては、既に外部公開が開始され、プログラム後半に多くの成果が蓄積されることが期待される。ただし、現制度では、データのフィードバックや成果の公開を利用の条件としていることから、利用者が限定される懸念がある。本プログラム終了後に有料でも利用される魅力ある公的化合物ライブラリーの運営を目指すためにも、可能な限り利用者の声を踏まえ、化合物ライブラリーの構築・運営を進めるよう努力されたい。また、マイクロフォーカスビームラインや、タンパク質発現ライブラリー基盤等のその他の基盤についても、我が国全体の研究レベルを確実に向上させると見込まれることから、早期の外部開放に向けた検討を期待する。

本プログラムの「ターゲットタンパク研究(個別研究課題)」B課題、「技術開発研究」D課題については、既に複数のタンパク質の立体構造を解明し機能解明にも至った課題、難解析性タンパク質の構造解析に着手できる段階に近づきつつある課題、あるいは極めて難度が高いタンパク質をターゲットとしているが確実に準備が進んでいる課題等、これまでの研究資源投資の効果が現れており、今後優れた成果の創出や社会への還元が見込まれる課題が多数見受けられる。これら課題については途中で終了せず継続が必要である。継続により、本プログラムの価値は格段に向上することが期待される。

以上のように、本プログラムでは、「技術開発研究」と「ターゲットタンパク研究(個別研究課題)」のそれぞれにおいて、立体構造解析に取り組む構造生物学研究者と、主に機能の解析を行う研究者が連携を取りつつ、難解析タンパク質を含む、学術ならびに産業応用に重要なタンパク質ネットワーク群の作動機構解明に向けた研究を進めている。本評価結果を踏まえ、プログラム後半に向けて、総合的に研究開発の推進が図られることを期待する。

## 1-5. その他特記事項

特になし。

## 2. 課題評価

### － ターゲットタンパク研究課題 －

#### 2-1 「基本的な生命の解明」分野

課題番号 生命 A 1

課題名 細菌のタンパク質分泌装置と輸送基質タンパク質群の構造・機能解析

代表機関・代表研究者：大阪大学・今田 勝巳

##### 1. 総評

本研究課題は、細菌の宿主細胞への注入装置を構成するタンパク質の構造と機能を明らかにすることを目指している。これまでに III 型および IV 型の分泌装置、輸送装置を構成する複数のタンパク質について構造を決定している。また、それらタンパク質の結晶化や複合体の精製等による構造を基盤とした機能の解明が進んでおり、構造・機能解析共に順調に推移していると評価される。今後、これらのタンパク質群に含まれるすべての構造が決定される可能性とともに、病原細菌のエフェクターの輸送機構の解明への繋がりが期待される。

これらの内容を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた成果は、優れた水準に達していると評価できる。

##### 2. 研究の進捗状況について

目標とした細菌の分泌装置と輸送装置タンパク質に関して、プロジェクト開始時の達成目標のうち複数の構造決定がなされた。III 型分泌系の細胞質コンポーネントと IV 型注入系のコンポーネント構造解析等に加えて、装置構成タンパク質の大量発現系を確立している。これらタンパク質の機能解析も進められている。また、III 型輸送の動力源がプロトン駆動力であるとの原理的な発見を行う等、研究は順調に進展している。結晶化の困難なものに対する変異体の工夫により、今後、着実な展開が期待できる。

##### 3. 研究体制について

上記の進捗状況から推察されるように、研究グループ内では、同じ大学で活動していることもあり、連携して研究が進められ、効果もあがっている。一方、他のグループとの交流は情報交換程度で、他の課題の成果が役立っているようにはみえない。

##### 4. 今後の展望について

これまでの進捗状況と成果から、今後の展開が期待される。すでに、それに備えた III 型分泌系膜コンポーネントの精製や IV 型分泌系の主要コンポーネントの結晶化の検討が進められている。さらに、ターゲットとしているタンパク質の相互作用のインターフェースの決定やそれに伴う制御戦略の確立に期待したい。このままの目標達成に向けて進捗することを期待する。

##### 5. その他特記事項

この課題の成果は、本プログラム以外の研究支援を得ているような規模であるが、それらとの区別がわかりづらい。

課題番号 生命 A 2

課題名 巨大で複雑なタンパク分解装置の動態と作動機構

代表機関・代表研究者：東京都医学研究機構 東京都臨床医学総合研究所・田中 啓二

## 1. 総評

本研究課題は、分裂酵母とヒトを対象として、プロテアソーム複合体とその構築にかかわるシャペロンの構造解析を行い大きな成果を挙げつつある、レベルの高い研究である。酵母のプロテアソーム複合体構築に関与するシャペロン Dmp1-Dmp2 複合体と Dmp1-Dmp2- $\alpha$ 5 複合体ならびに Dmp2 のヒトホモログ PAC3 の立体構造を X 線結晶解析で決定した。さらに、酵母の 19S 制御因子複合体の分子集合シャペロン Rpn14 の構造を X 線結晶解析で決定した。20S プロテアソームの分子集合に関与するシャペロン Ump1 の構造と、PAC3-PAC4 複合体の構造については NMR で解析した。また、Dmp1-Dmp2 複合体が  $\alpha$ 4 サブユニットを正確に配置する機能を果たしていることを明らかにした。このように、本研究はこれまでの成果を基盤として計画された最先端の挑戦的な課題であるにも関わらず、十分な成果をあげつつある。ただし、構造と機能の関係は必ずしも明瞭ではないため、今後のさらなる解明に期待したい。優れた論文を発表している点は高く評価できる。

これらの内容を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた成果は、優れた水準に達していると評価できる。

## 2. 研究の進捗状況について

プロテアソーム複合体とその構築に関与するシャペロンの構造と機能に関して、出芽酵母とヒトを対象として研究を行った。酵母の 26S プロテアソームについては、安定化変異体を作成して結晶化条件を決定し、微小結晶を得た。酵母のプロテアソーム複合体構築に関与するシャペロン Dmp1-Dmp2 複合体と Dmp1-Dmp2- $\alpha$ 5 複合体の立体構造を X 線結晶解析で決定した。さらに、Dmp2 のヒトホモログ PAC3 の構造を X 線結晶解析で決定した。また酵母の 19S 制御因子複合体の分子集合シャペロン Rpn14 の構造を X 線結晶解析で決定した。20S プロテアソームの分子集合に関与するシャペロン Ump1 の構造と、PAC3-PAC4 複合体の構造については NMR で解析した。また、Dmp1-Dmp2 複合体が  $\alpha$ 4 サブユニットを正確に配置する機能を果たしていることを明らかにした。このように、本研究課題は十分な成果をあげつつあるが、構造と機能の関係は必ずしも明瞭ではないので、今後の解明に期待したい。優れた論文を発表している点は高く評価される。このように、目標達成に向けて順調に進捗している。

## 3. 研究体制について

研究代表者の強力なリーダーシップでグループ内の研究が進展している。技術的には新しいものとは考えにくく、特に技術的困難もないため、他のグループとの連携はそれほど必要ないとも思われる。研究代表者が生化学的研究を担当してプロテアソーム関連分子の集合体を発見し、その構造解析を分担者が担当する体制をとり、前者のアクティビティと進捗状況に平行して、バランス良く成果が創出され、連携がなされている。このことは、発表論文の著者名から推察される。しかし、成果報告票の記述中には分担者名が明確でないことから、正確な評価が困難である点も見受けられた。実施課題間の連携については大型設備の共同利用と情報プラットフォームへの登録等に限られている。

## 4. 今後の展望について

研究の着実な進捗が見られ、今後のテーマは今回の成果に基づいて計画されている。グループ内での各分担者の努力と相互の連携を強めることにより、構造を基盤とした機能解析が進展すると、世界を先導するさらに優れた成果が期待できる。

## 5. その他特記事項

特になし。

**課題番号 生命 A 3**

**課題名 オートファジーに必須な Atg タンパク質群の構造的基盤**

**代表機関・代表研究者：北海道大学・稲垣 冬彦**

## 1. 総評

オートファジーは、細胞内のタンパク質を分解するシステムのひとつである。生体の恒常性の維持に重要な役割を果たしている。分解されるタンパク質等は、二重膜に囲まれ小胞（オートファゴソーム）となり、最終的にリソソームや液胞と融合しペプチドやアミノ酸になる。小胞形成には、Atg タンパク質群が関わっている。本研究チームは、この Atg タンパク質群のタンパク質の構造と機能について研究を進めている。個々のタンパク質及びタンパク質複合体の構造の解析は着実に進展している。また、構造解析の結果がタンパク質やタンパク質複合体の機能解析に活用されている。構造研究グループと機能解析グループの連携もよく、今後、さらに大きな成果があげられると期待される。

以上の点を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた成果は、極めて優れた水準に達していると評価できる。

## 2. 研究の進捗状況について

これまで独創的に進めてきたオートファジーに係わる Atg 遺伝子研究に構造解析の要素を加えた研究課題であり、目標に向けて着実に成果は得られている。結晶解析が順調に進み、それに基づいた Atg8 と Atg12 の複合体の構造解析は、今後の本格的解析への土台となると考えられる。構造解析の結果を基盤とした機能解析も進んでいる。研究成果は高いレベルの国際誌に発表されている。

## 3. 研究体制について

構造研究グループと機能研究グループの連携がとられている。また、他のグループとの連携もとられている。共著も多く、機能研究と構造研究の連携の良い面が現れている。

## 4. 今後の展望について

本研究課題の進捗状況については、オートファジーに係わるタンパク質の構造面からの解析によりオートファジーの分子機構の研究が大きく進展すると思われる。今回の結晶解析の結果や、それに基づいた機能解析は着実に行われており、優れた成果に繋がると考えられる。

## 5. その他特記事項

特になし。

**課題番号** 生命 A 4

**課題名** クロマチン上での基本転写因子、転写制御因子、ヒストン修飾因子の構造生物学

**代表機関・代表研究者**：横浜市立大学・西村 善文

## 1. 総評

本研究課題は、クロマチン上での遺伝子発現制御機構を構造的に解明することを目指して、基本転写因子と、転写制御因子やヒストン修飾因子の相互作用と構造を解析しようとするものである。基本転写因子として TFIIIE と TFIIH を取り上げ、それらの複合構造を世界に先駆けて結晶及び NMR により解明した成果は、転写因子の相互作用の分子機構を理解する上で、今後の展開に大きな成果であると高く評価する。一方、目標に掲げた転写制御因子やヒストン修飾因子については途上にある。

また、構造解析に基づいた機能解明も進められているが、その成果は構造解析に比較すると発展途上にある。なお、成果と今後の計画内容に関して、成果報告票への記載に不十分な点があった。

これらの内容を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた成果は、優れた水準に達していると評価できる。

## 2. 研究の進捗状況について

ヒト基本転写因子 TFIIIE 及び TFIIH の複合構造を結晶のみならず NMR により決定したことは、高く評価される。また、基本転写因子の相互作用の機構を分子レベルで明らかにしており、目的に向けて十分な進捗が認められる。転写制御因子やヒストン修飾因子に関しては、前者とメチル化アルギニンや複合体の結晶構造解析を、後者についてはメチル化酵素ヌクレオメチリンのドメイン結晶構造の解析等が進められている。機能解析は基本的には構造解析に基づいて進められているが、構造解析成果に比較すると、この段階の進捗状況としては、やや遅れている。

## 3. 研究体制について

課題内では頻繁な情報交換が行われているが、成果に反映されるほどの密な連携はみられない。一方、プログラム内での連携は、名古屋大学との共同研究により進められている。

## 4. 今後の展望について

構造解析の方法として、従来の X 線結晶構造法に加えて、NMR を駆使しており、他の構造解析グループと異なる特徴を持つことから、これまでの実績から優れた成果が期待できる。転写制御因子の構造解析は機能解析にも大きな影響をもたらすと思われるが、これまでの研究成果と内容からプログラム期間内には過剰な期待であろう。それに関して、少なくとも成果報告票上では、プログラム後半の具体的計画が明確にはなっていない。成果と計画の正確な報告が、今後の展望にも影響すると思われるが、充分でない。この点は今後留意すべきである。

## 5. その他特記事項

特になし。

**課題番号 生命 A 5**

**課題名 新規膜電位センサー蛋白群の構造と機能の解明**

**代表機関・代表研究者：大阪大学・岡村 康司**

## 1. 総評

本研究課題は、膜電位変化のトランスダクションメカニズム解明を目指し、Voltage-Sensitive Phosphatase (VSP)と Voltage Sensor Only Protein (VSOP)といったタンパク質群を標的として、その構造と機能の解析を行うものである。これまで VSP の細胞内ドメインの構造が解明され、両タンパク質の機能解析も着実に進んでいる。優れた成果までには至っていないが、いくつかの基盤整備はすすんでいる。一方、本研究課題の主目的であるセンサー機構の立体基盤の解明は、まだ初期段階にあり、この点を克服するために、具体的かつ十分な戦略を練る必要があることに留意されたい。

これらの内容を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた成果は、十分な水準に達していると評価できる。

## 2. 研究の進捗状況について

VSP の細胞内ドメイン、Phosphatase and Tensin Homolog Deleted from Chromosome 10 (PTEN)様ドメインの結晶構造解析を進め、3次元構造を明らかにした成果は評価に値する。また、VSOP がダイマーを形成し、これに細胞内領域が関わることも明らかにした。一方、VSP 及び VSOP に関する機能解析では、VSP の電位センサードメインの電荷がセンサー機能に重要であることや、VSOP がモノマーとして機能できることなどを明らかにし、一定の評価に値する成果を出している。しかし、本研究課題の最終目標に迫るためには、電位変化がどのようにして PTEN 様ドメインの酵素活性化もしくは VSOP のプロトン透過性を制御しているのか解明が必要であるが、その点に関しては、まだ、基礎的検討段階である。

## 3. 研究体制について

同じ機関内で地理的に連携が可能な体制にあり、構造解析と機能解析グループはそれぞれ成果を挙げているが、十分な連携の上で研究が展開しているまでには至っていない。本研究課題の代表研究者が、機能を担当するだけでなく、結晶化と構造決定の問題点に充分踏み込むことも有効と思われる。

## 4. 今後の展望について

VSP と VSOP の電位センサードメインの構造的基盤が準備されたので、それに基づいたリガンド分子の検討等の適切な計画がなされており、今後の成果が期待される。しかし、一方では、センサー機構の立体構造から解析する基盤は整備されてきたものの、電位変化が PTEN 様ドメインの活性化やプロトン透過性をどのようにして制御するかを明らかにする戦略や、研究者間の連携の具体性が、少なくとも成果報告票上では、充分には示されておらず、その達成度には疑問が残された。

## 5. その他特記事項

特になし。

**課題番号 生命 A 6**

**課題名 小胞輸送を制御するタンパク質複合体の構造機能解析**

**代表機関・代表研究者：高エネルギー加速器研究機構・若槻 壮市**

## 1. 総評

小胞輸送を制御する難度の高いタンパク質群 Rab5 GTPase と AtVps9a の構造を解析し成果を挙げている。しかし、構造と機能との関連に関する研究成果は十分でない。構造グループと機能グループのより強い連携が望まれるが、その成果は細胞機能の解明に重要な知見を与えるものであり、現在その方向に向かい成果があがりつつある。

これらの内容を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた成果は、優れた水準に達していると評価できる。

## 2. 研究の進捗状況について

小胞体輸送を制御するタンパク質複合体については、その機能・構造解析の難度は高いと同時にその解明が待たれているものであるが、本研究では、それに挑戦し、現在着々と成果をあげつつあると判断される。そのなかで Rab5 GTPase と AtVps9a の構造を決定した研究成果は評価できる。しかし、構造と機能との関連については必ずしも十分な研究が行われていないように思われる。

## 3. 研究体制について

構造グループと機能グループがそれぞれ研究を行っている。しかし、重要な成果が出ているのは、連携によるものではないと思われる。少なくとも、成果報告票上には、両グループの共著による論文が見受けられない。構造グループと機能グループがより連携し、構造を基盤に機能解析すべきであろう。

## 4. 今後の展望について

構造と機能の関係が明らかになれば、さらに研究が発展するものと思われる。そのことは、いつに構造グループの努力に依存している。結晶解析レベルまで達したタンパク質があることから、今後の成果創出に期待したい。

## 5. その他特記事項

特になし。



## 課題番号 生命 A7

### 課題名 細胞接着装置構成タンパク質の構造生物学的研究

代表機関・代表研究者：神戸大学・匂坂 敏朗

#### 1. 総評

細胞接着装置構成タンパク質の構造と機能に関する研究において、ネクチン-アフアディン系、カドヘリン-カテニン系、クローディン-ZO タンパク質系等について、代表者と多数の分担者それぞれの努力と連携とにより、多くの優れた研究成果をあげつつある。構造解析は、X線結晶解析が結晶化の段階で困難に面しているが、電子顕微鏡単粒子解析と NMR については、ほぼ順調に進展している。今後は、X線結晶解析と NMR による高解像度の解析をさらに進展させる必要がある。

これらの内容を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた成果は、優れた水準に達していると評価できる。

#### 2. 研究の進捗状況について

ネクチン-アフアディン系とネクチン様分子の機能解析、カドヘリン-カテニン系の機能解析及び、クローディン-ZO タンパク質系の機能解析は大きく進展し多くの成果を得た。さらに、トモシンの機能解析が進展し、新しい神経伝達物質放出機構の提案に繋がった等、機能解析の面では優れた成果をあげている。このように、機能解析グループの研究成果は極めて優れているが、代表研究者自身による貢献が一層望まれるところである。

構造解析の面では、ネクチンの細胞外ドメインの大量発現を達成し、結晶化の条件探索中である。ネクチンとカドヘリンの細胞外領域全長の電子顕微鏡単粒子解析から、全体像を得た。クローディンの大量精製系を確立、安定同位体標識試料を調製し NMR データを取得した。PDZ ドメイン中、リン脂質結合部位を決定した等の成果はあるものの、機能解析に比べれば、構造解析の成果は物足りない。

機能解析に関する論文発表は、質、量ともに十分である。

#### 3. 研究体制について

機能解析グループ（分子生物学・生化学グループ）がタンパク質の大量発現・精製を行い、構造生物学グループが結晶化や電子顕微鏡試料調製等を行っている点で、実施課題内の連携は効率的・効果的に行われている。構造解析グループと機能解析グループの情報共有・連携も行われているが、構造解析があまり進展していないことから、両グループの連携による成果はあがっていない。

なお、電子顕微鏡による構造解析が、同グループが進めている機能解析以上の結果は提供していないように思われる。

情報プラットフォームに進捗状況を登録することにより、他の実施課題のグループとも連携を行っている。

#### 4. 今後の展望について

機能解析と構造解析の連携の成否は、顕微鏡解析を機能の成果にどのように結び付けるかが、決め手と思われる。

それぞれの分担者が成果をあげつつあり、構造解析については、X線、NMR 等による高解像度の解析の進展により、今後さらに優れた成果をあげることが見込まれる。

#### 5. 特記事項

特になし

**課題番号 生命B1**

**課題名 発癌性物質や酸化ストレスに応答する生体防御系センサーの構造基盤**

**代表機関・代表研究者：東北大学・山本 雅之**

## 1. 総評

生体防御応答の中核をなす Keap1-Nrf2 系による酸化ストレス感知、並びに Nrf2-Maf による DNA 配列認識と転写活性化の分子機構に関し、構造解析研究と機能解析研究が極めて順調に進められている。成果の論文発表も十分に行われている。

これらの内容を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた成果は、極めて優れた水準に達していると評価できる。

## 2. 研究の進捗状況について

Keap1 の Nrf2 結合ドメイン (Keap1-DC) と Nrf2 由来 DLG ペプチドの共結晶構造解析、全長 Keap1 二量体の電子線単粒子解析、並びに Keap1 複合体の新規構成因子 p62 と Keap1-DC との複合体結晶構造解析に成功した。また、MafG 二量体と標的 DNA 複合体の結晶構造解析を行い、Maf の特異的 DNA 結合機構を解明した。さらに、肺癌患者における Keap1 あるいは Nrf2 の変異が抗がん剤耐性を引き起こすことを明らかにし、耐性克服のために Nrf2-Maf 転写因子阻害剤の開発についても研究が進められた。また、オートファジー不全により蓄積する p62 によって Nrf2 が活性化される機構を明らかにしている。研究成果は、現在投稿中や準備中のものも含め、レベルの高い内容であり、優れた成果をあげている。

## 3. 研究体制について

機能担当の代表研究者（山本教授）のリーダーシップの下、構造研究グループと適切に連携して研究が進められている。また、他のグループ（田中啓二グループ、長田裕之グループ）と連携も積極的に行い、成果をあげている。

## 4. 今後の展望について

本研究課題により、生体防御センサー機構及び生体防御酵素群の転写活性化機構が、構造と機能の面から解明されることが期待できる。Nrf 生体防御系は正常細胞では生体防御に働くが、がん細胞ではがん細胞を抗がん剤から守る方向に働く。従って、本研究課題の進展は健康増進薬の開発と同時に新しいがん治療薬（抗がん剤の効果を増進する）の開発に繋がる可能性がある。

本研究課題の実施期間は3年間であり、平成21年度で終了する予定であった。研究の進捗や今後の展望を踏まえて考えれば、本研究課題は、特に積極的に実施期間を延長すべきと判断される。

## 5. その他特記事項

特になし。

## 課題番号 生命B2

### 課題名 H<sup>+</sup>-ATP 合成酵素膜内在 Fo の機能構造と不正規構造の固体 NMR による解明

代表機関・代表研究者：大阪大学・阿久津 秀雄

#### 1. 総評

大腸菌、好熱菌、ヒトの Fo 中の c-リングの構造を固体 NMR によって解き明かすことを目指している。3種類の c-リングの構造解析のうち、大腸菌は完了し次のステップに進む段階にある。固体 NMR にプロトンを取り入れる方法論の改良にもメドがついてきている。また、研究困難な膜タンパク質サブユニット c に対する試料の調製法や安定同位体の標識法等が検討されているのが現状で、これまでの成果は優れているとはいいがたいが、目標達成に向けての基盤とさらなる研究成果を蓄積できる準備状態にある。さらに、挑戦的な課題であり、目標達成のためには、膜タンパク質のもつ、方法論上困難な課題も含んでいる。

これらの内容を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた成果は、十分な水準に達していると評価できる。

#### 2. 研究の進捗状況について

大腸菌、好熱菌、ヒトの Fo c-リングの固体 NMR による構造解析のうち、大腸菌はほぼ終了している。また、好熱菌 c-リングの安定同位体標識試料の調製や、プロトンを固体 NMR による構造解析に使用する方法論の開発等さらなる解析に向けた基盤整備が整いつつあり、順調に進捗している。しかし、基盤整備が多かったため、研究成果の発表論文はやや精彩を欠いている。

#### 3. 研究体制について

2グループからなる焦点を絞った小さな班構成である。具体的な連携活動は好熱菌の c-リングの解析であるが、問題はないと考える。

#### 4. 今後の展望について

これまでの研究の進展と方法論の開発から考えて、残された2種類の c-リングの構造解析にも基本的には問題はないと判断される。また、NMR による膜タンパク質の構造解析から得られる成果は、他の方法では得ることができないことから、ユニークな成果が期待できる。また、これまでの基盤準備状況から、今後、論文発表とさらなる研究の展開が期待できる。

本研究課題の実施期間は3年間であり、平成21年度で終了する予定であった。研究の進捗や今後の展望を踏まえて考えれば、本研究課題は、実施期間を延長すべきと判断される。

#### 5. その他特記事項

特になし。

**課題番号 生命B3**

**課題名 ミトコンドリア呼吸の作用機序の全容の解明を目指す高分解能立体構造解析と機能解析**  
**代表機関・代表研究者：兵庫県立大学・吉川 信也**

## 1. 総評

本研究課題は、ミトコンドリア系という生命の本質的営みを担う領域への挑戦である。具体的にはミトコンドリア呼吸系の作用機序について、必要な酵素の構造解析、プロトンポンプの機構、相互作用等の広範囲な研究を展開している。この課題の成果は着実にあがっている。しかし、それらの成果は構造系にかたより、ミトコンドリア系の構造と機能解析の関連性があげられていない。構造系の研究はこれまでの研究成果の延長上での展開が期待されるが、課題内各研究グループ間の密な連携による、ミトコンドリア系の機能と構造に関する新しい成果に向けた戦略と努力がみえにくい。

これらの内容を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた成果は、十分な水準に達していると評価できる。

## 2. 研究の進捗状況について

ミトコンドリア呼吸系の全容解明に向けて、巨大膜タンパク質である NADH-ユビキノン還元酵素や Fo-F1ATPase の構造解析が進められ、二次元結晶が得られている。また、チトクロム酸化酵素の X 線構造解析のデータも得ている。これら評価に値する構造解析の成果は、本研究目的に向けて重要でさらなる進展が期待できる。しかし、個々のグループの研究成果の進展に比して、3 研究グループ間の連携や機能解析との関連性は、効果的かつ順調な進捗状況にあるとは言いがたい。

## 3. 研究体制について

ミトコンドリア系における研究という点では、3つの研究グループは共通のテーマで進めているが、酵素の構造解析やプロトンポンプ機構の解析は独自の成果に留まり、連携体制によって得られた部分がみえてこない。研究組織が構造解析グループに偏っている様に見受けられるが、構造から情報の機能解析への展開について、十分な検討がなされているのか否か疑問が残された。

## 4. 今後の展望について

構造解析では優れた成果があがっており、論文発表と今後の展開が期待される。特に、巨大タンパク質複合体の構造解析で二次元結晶を得ているので、さらに高分解能の二次元結晶や三次元結晶を得て目標を達成することが期待される。また、チトクロム酸化酵素の水素原子位置決定可能な高分解能構造解析を進め、プロトンポンプ機構の構造生物学的基盤を解明することが期待される。一方、得られた構造解析をミトコンドリア系の機能に関連付けるための戦略と努力が見えにくい。

本研究課題は生命の本質に迫るテーマであり、本研究に参加する構造と機能解析グループによる協力により、根本的理解に迫るべきであろう。

本研究課題の実施期間は3年間であり、平成21年度で終了する予定であった。研究の進捗や今後の展望を踏まえて考えれば、本研究課題は、実施期間を延長すべきと判断される。

## 5. その他特記事項

特になし。

## 課題番号 生命B4

### 課題名 創薬に繋がる V-ATPase の構造、機能の解明

代表機関・代表研究者：京都大学・岩田 想

#### 1. 総評

バクテリア型 V-ATPase を構成するタンパク質や複合体の X 線結晶構造解析が目標どおりに順調に進捗している。機能解析においても、ATP 合成活性の測定法の確立や 1 分子測定系による酵素反応過程の詳細な解明がなされ、特異的阻害剤のスクリーニングも順調に進められている。しかしながら、本研究課題の目標である「創薬に繋げる」ためには、ヒト型 V-ATPase の構造・機能解析に関する成果が必須であるが、この面でのアプローチに明確さが欠ける印象である。

これらの内容を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた成果は、優れた水準に達していると評価できる。

#### 2. 研究の進捗状況について

腸球菌由来 V-ATPase の膜内リング及び好熱菌由来 V-ATPase の  $A_3B_3$  複合体の X 線結晶構造を解明した。好熱菌由来 V-ATPase の EG 複合体の X 線結晶データを収集し、解析を進めているところである。腸球菌由来 V-ATPase の外周固定子の溶液構造を X 線小角散乱により解明した。V-ATPase の各サブユニットや複合体の結晶化も進んでおり、構造解析の見通しが得られている。

機能解析においても成果を得ている。即ち、ATP 合成活性測定系を確立し、1 分子測定系により酵素学的パラメーターを決定した。また、膜内リングへの  $Na^+$  結合の測定に成功し、イオン輸送過程におけるイオンの結合・解離メカニズムを明らかにした。

特異的阻害剤の探索においても、ジシクロヘキシルカルボジイミド及びトリブチルチンクロライドによる阻害機構を明らかにしたうえ、コンビナトリアル合成技術の開発、*in silico* スクリーニング、化合物ライブラリーからのスクリーニング等を駆使して、ヒット化合物を得ている。論文発表は、引用度の高い雑誌に多数なされている。

計画予定に記載されたヒト型 V-ATPase の解析や成果が見あたらない点が気になりある。

#### 3. 研究体制について

京都大学（代表機関）構造解析グループと、分担機関である理化学研究所の機能解析グループは、適切な連携の下に、研究を推進している。また、これらのグループ間、及び、静岡県立大学の合成グループとの間でも情報交換、情報共有は図られている。さらに、タンパク生産（理研、横山茂之グループ）、*in silico* スクリーニング（理研、田仲昭子グループ）、化合物ライブラリー（東大、長野哲雄グループ）など、プログラム内部の技術開発グループとの連携も活発に行われている。しかしながら、阻害剤候補化合物の合成グループと、他のグループの連携の成果はまだ表には現れてきていない。

#### 4. 今後の展望について

バクテリア型 V-ATPase のサブユニットや複合体の構造解析、反応機構解析、並びに特異的阻害剤のスクリーニングがいずれも順調に進められているが、骨粗しょう症などの治療に向けた阻害剤開発のためのヒト型 V-ATPase の構造・機能解析に関する成果が見受けられない。バクテリア型 V-ATPase の阻害剤に関する成果を医薬品開発に発展させるためにはヒト型 V-ATPase の研究とその成果・情報を早くから考慮する必要があると思われる。ヒト型 V-ATPase へのアプローチ、及び、阻害剤候補化合物合成グループと他の研究グループとの間の具体的な連携計画を明確にする必要がある。

本研究課題の実施期間は 3 年間であり、平成 21 年度で終了する予定であった。研究の進捗状況や今後の展望を踏まえて考えれば、本研究課題は、実施期間を延長すべきと判断される。

#### 5. 特記事項

特になし。

**課題番号 生命B5**

**課題名 非翻訳 RNA による高次細胞機能発現機構の解明**

**代表機関・代表研究者：東京大学・瀧木 理**

## 1. 総評

本研究課題は、non-coding RNA の機能発現の構造基盤の解明を目的としている。これまで、tRNA 及び rRNA の機能発現に必須な転写後塩基修飾酵素を対象として数多くの極めて優れた成果をあげてきている。この成果は、本研究に所属する5つのグループの緊密な連携の上に成り立っており、共同研究として高く評価できる。これら成果はトップクラスの雑誌に多数発表されている。また、今後の研究の対象となる siRNA/miRNA などの小分子 RNA に関してもその成熟・機能発現に関与するタンパク質の構造解析に向けた試料調製と機能解析が順調に進められている。構造基盤解析のための準備も整っており、今後の成果も期待できる。

これらの内容を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた成果は、極めて優れた水準に達していると評価できる。

## 2. 研究の進捗状況について

本研究では、non-coding RNA の機能発現に必要な塩基修飾反応とタンパク質結合反応の立体的基盤の解明を、様々な RNA と修飾酵素、RNA と結合タンパク質の複合体の結晶構造を網羅的に解明することにより行おうとしている。これまで、特に、tRNA 修飾酵素群・tRNA 多重複合体と rRNA の修飾酵素の多数の複合体等の結晶構造解析が行われ、それに基づく反応機構の解明においても目覚ましい成果をあげている。これに続くべき、siRNA/miRNA の機能発現機構の解明に向けても、これに関わる修飾酵素 Pimet や Dicer/Argonaute/TRBP2 複合体の精製などに成功しており、構造解析に向けた試料調製が順調に進められている。また、機能研究においても、Argonaute タンパク質と相互作用する小分子 RNA 及びタンパク質の同定、Argonaute タンパク質の機能ドメインの解析、piRNA メチル化酵素の機能解析など今後の発展が大いに期待できる。

## 3. 研究体制について

本研究課題では、代表者を含む3つの構造グループと RNA 修飾酵素と RNAi を専門とする2つの機能解析グループが、適切に連携して研究を進めて、構造の裏付けを機能でとり、機能での発見を構造につなげるといった極めて有機的な共同研究を行っており、それぞれが優れた研究成果をあげていることは高く評価できる。すでに3報の共著論文を発表している。技術開発研究との共同研究も進められている。

## 4. 今後の展望について

上述のとおり、本研究課題では、各々グループの技術水準が高く、また、それぞれが有機的に連携して研究を展開している。さらに、今後の展開の焦点である siRNA/miRNA の構造基盤解明においても、その成熟・機能に関与するタンパク質の構造解析に向けた試料調製と機能解析が順調に進められてきていることから、今後も小分子 RNA による遺伝情報のサイレンシングに働く複合体の構造解析を中心に更に優れた成果が得られこの分野での新知見に向けた展開に期待できる。延長が認められれば、RNA 医薬など医療分野への発展も期待したい。

本研究課題の実施期間は3年間であり、平成21年度で終了する予定であった。研究の進捗や今後の展望を踏まえて考えれば、本研究課題は、特に積極的に実施期間を延長すべきと判断される。

## 5. その他特記事項

特になし。

## 2-2 「医学・薬学等への貢献」分野

課題番号 医薬A1

課題名 自然免疫システムにおける病原体認識に関わる分子群の構造解析

代表機関・代表研究者：大阪大学・審良 静男

### 1. 総評

機能解析では、これまで代表研究者が行ってきた、それぞれの経路の生物学的役割を明らかにする方向で推移しており、いくつかの成果もあがっている。今後とも継続して注目される成果を輩出することが期待される。ただし、これらの成果は、研究代表者の従来の実績を考えると想定範囲内ともいえる。本研究課題の目標達成は分子群の結晶構造解析とそれを活用した機能解析である。構造解析に向けた期待できる基盤は準備されてきたが、機能解析に比べて遅れている。TLR 関連タンパク質の結晶化に成功すれば、自然免疫システムの機構の解明が大きく進展することが期待できるだけに、今後はこうした点を改善して研究課題の遂行していただきたい。

これらの内容を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた成果は、十分な水準に達していると評価できる。

### 2. 研究の進捗状況について

本研究課題では、いわゆるパターン認識受容体と称される TLR 及び RIG-1 など自然免疫に関わる受容体のリガンド認識の立体構造とその機能を明らかにすることを目的としている。これまでの研究では、機能解析に関しては、予想通りの極めてレベルの高い成果をあげ、引用度の高い雑誌に多数の論文を発表しており、十二分に進捗しているといえる。一方、肝心の対象タンパク質の結晶化とそれと補い合うこれらタンパク質自身の機能解析（例えば、変異導入によるパターン認識の変化）などは遅れているようであり、十分な情報の提供（例えば、どのような変異タンパク質か、どのようなドメインを対象として発現させているか、どのように結晶化を行っているのか、など）は、なされていない。TLR タンパク質の大量発現はできているが精製には問題が残っている。また、結晶化については、微結晶は得られているものの X 線構造解析に適した結晶は得られておらず、結晶化条件の検討段階にある。

タンパク 3000 プロジェクト等では結晶化のノウハウ蓄積等の成果をあげてきたが、一方では困難な結晶化への挑戦を避けてきたとの意見もある。その意味でも、本研究課題では研究者間の連携を緊密にして、目標とする難解析性タンパク質構造解析を成功させるべく、さらなる努力を期待する。

### 3. 研究体制について

同一大学内のグループとの緊密な連携はなされていると想定されるが、本成果報告書からは、構造解析グループの構成メンバーの組織や顔が見えなかった。目標としているターゲットタンパク質の大量精製が容易でないことは理解できるが、もう少し成果創出に向けた議論や工夫がなかったのか疑問が残る。代表研究者には、この研究プログラムの目的をもう一度認識し、それに沿った研究の遂行に努めていただきたい。産業界への波及効果も期待されるので、オールジャパンでの難解析性タンパク質の結晶化克服のノウハウ共有等を検討すべきである。

### 4. 今後の展望について

構造解析では、まず結晶化を成功させることが重要であるが、さらに大きな結晶を作製することより小さくても品質の高い結晶が得ることが現実的であり、その成功事例を目指すべきである。すなわち、技術開発解析 C の成果を活かした SPring-8、フォトンファクトリーでのマイクロフォーカスビームラインの利用が重要である。

機能解析では、臨床応用への可能性を見据えた基礎研究を目指すべきであり、創薬へ貢献として考

えられるのは、製薬企業が魅力を感じる学としての基礎研究の成果の創出である。平成22年度以降の立体構造を基にした *in silico* 創薬は、仮に実施しても機能解析の一環かつ創薬への橋渡しの役割程度であると割り切るべきである。

本研究で、自然免疫システムの構造生物学的基盤が得られるものと期待したい。

## 5. その他特記事項

特になし。



## 課題番号 医薬 A 2

### 課題名 タンパク質構造に立脚した DOCK2 シグナル伝達機構の解明と創薬研究への応用

代表機関・代表研究者：九州大学・福井 宣規

#### 1. 総評

免疫系特異的に発現する CDM ファミリー (Rho ファミリーの GEF のうち、DH 領域を持たず、代わりに DHR2 領域を持つもの) 分子である DOCK2 とこれと相互作用する ELM0 や Rac との複合体の構造解析が円滑に進められ、さらに、構造解析に基づく制御化合物の探索も進められている。

DOCK2 信号伝達系タンパク質の構造解析とそれに基づく機能解明から、免疫系細胞の理解が大きく進むと考えられる。これにより、自己免疫疾患や移植片拒絶に関する理解と治療法の開発に大きく寄与することが期待できる。

これらの内容を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた成果は優れた水準に達していると評価できる。

#### 2. 研究の進捗状況について

本研究課題は DOCK-2 という一つの分子に絞って、その構造と機能を解析し、学術的に優れた業績を着実に挙げている。DOCK-2 の N 端ドメインについては、ELM01 の該当ドメインとの複合体の構造解析を行い、インターフェースの同定に成功している。また、DHR2 ドメインと Rac1 複合体の精製にも成功し、完全長の DOCK-2, ELM01, Rac (T17N) の 3 者複合体の調製にも成功している。さらに、DOCK-2 と 130 種の Rac 変異体との結合を古典的な Rac GEF と比較することで両者での認識の違いを同定している。さらにこれを基に、制御化合物のスクリーニングを行い、DOCK-2/Rac の結合を特異的に阻害する化合物も見出している。機能解析に関しても、好中球遊走において、PIP3 が産生されると DOCK2 が細胞膜に移行し、次いで PA との相互作用により DOCK2 は先端端に局在化し、そこで Rac の活性化を行うというメカニズムを明らかにした。このように、本研究では、DOCK-2 について、その構造・機能解析、制御化合物の探索の全てにわたって、順調に研究を展開している。

#### 3. 研究体制について

機能解析を分担する福井宣規研究代表者のリーダーシップの下、構造解析グループと適切に連携した研究が行われ、また、技術開発「制御」との連携もとられている。その結果、タンパク質の機能解析と構造決定、それに基づく制御化合物の探索の 3 つの課題が極めて順調に展開されている。

#### 4. 今後の展望について

DOCK2 に関わる機能解析については、今後も継続して興味ある成果を輩出することが期待される。

#### 5. その他特記事項

本プログラム外の展開ではあるが、創薬研究として真のリード化合物創成を目指すのであれば、早い時点で最低限の一般薬理、安全性、薬物動態試験等の実施が期待される。また、将来の産学連携等も視野に入れた知的財産化の戦略も必要である。

## 課題番号 医薬 A 3

課題名 神経細胞死に關与する活性酸素発生源の解明と構造生物学的手法を駆使した阻害剤創成  
代表機関・代表研究者：九州大学・住本 英樹

### 1. 総評

活性酸素を発生する酵素 NADPH Oxidase (Nox) は、6 回膜貫通型タンパク質であり、その構造と機能の解明という本研究課題は、難度の高い課題である。Nox タンパク質の大量発現系の構築、Nox2 の C 末端の NADPH 結合ドメインの結晶構造の解明は大きい成果である。また、Nox の活性発現に必須の「Nox と p22<sup>phox</sup> との会合」の分子機構を解明し、Nox の活性調節の構造生物学的解明を進展させた。全体として、タンパク質の大量精製による結晶化、機能解析、制御などをバランスよく推進しており、現時点において大きな成果は出ていないが、着実な進展が期待される。

これらの内容を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた成果は、優れた水準に達していると評価できる。

### 2. 研究の進捗状況について

構造解析の進捗状況は次の通りである。Nox2 の C 末端の NADPH 結合ドメインの結晶構造決定は、Nox2 本体に関する世界初の 3 次元構造解明であり、大きな成果である。全長型 Nox についても、大量発現系の開発において進展が見られつつある。また、全長型 p47 タンパク質の無細胞系発現に成功し、SAIL 法による構造解析に向けての最初のステップを進めた。

一方、機能解析の進捗状況は、次の通りである。Nox とその活性化に必須である p22<sup>phox</sup> との会合の分子機構を解明した。特に Nox の 6 つの膜貫通セグメントの中で、p22<sup>phox</sup> との会合に關与するセグメントを同定した。また、Nox2 と p47 の結合を阻害するペプチドの探索、Nox の細胞内局在化機構の解明など、本プログラムの趣旨にあった研究活動を展開している。

論文発表も十分になされている。

### 3. 研究体制について

課題内では、住本グループと稲垣グループは、九州大学と北海道大学という地理的な制約を超えて、連携良くそれぞれの分担研究を行っている。また、技術開発研究のグループとも連携して成果をあげており、研究代表者は適切にマネジメントを行っている判断される。また、技術開発研究「解析 (D)」の甲斐荘グループ、「情報 PF (D)」の藤グループや、ターゲットタンパク質研究「生命」の岡村グループと共同研究を展開しており、成果創出に向けた取り組みを活発に展開している。ただし、神田グループからの成果が見当たらない点が危惧される。

### 4. 今後の展望について

6 回膜貫通タンパク質である Nox は、まず大量発現系の開発において大きい困難が予測されたが、一部修飾を加えた Nox2 発現を大きく増大させることに成功しており、タンパク質生産に関しては成果が得られるものと期待できる。さらに、高温で生育する紅藻に見出された Nox ホモログ遺伝子を用いたタンパク質発現系の成果にも期待できる。対象タンパク質群の発現・精製系の構築は着実になされており、本研究課題全体の成果を取り入れることによって、結晶化、構造解析への展望が開けるものと期待される。既に PDB に数多く登録した実績を踏まえ、6 回膜貫通タンパク質の構造解析を成功させることを期待する。

また、膜タンパク質の単粒子解析を検討することも必要であるが、その分野のノウハウを有する研究者との緊密な連携も活かして無駄のない研究を進めるべきである。ただし、単粒子解析の成果が創薬に役立つレベルに到達するかどうかは疑問である。

Nox に対する阻害剤の創製に関しては、構造に基づく最適ペプチドを構築し、そこから低分子化合物のスクリーニングを行うという方針である。有効なスクリーニング系を確立することにより、制御

化合物の取得が見込まれるが、現グループだけでスクリーニングがどこまでできるかについては危惧を感じる。また、最適なペプチドの探索に成功したとしても、そこから非ペプチド化は意外と困難な場合がある。制御化合物の探索を目指すならば、最初から技術開発研究「制御」グループと連携した化合物スクリーニングあるいは *in silico* スクリーニングを検討することがより効率的である。短期間の公的プロジェクトでは、「ヒット化合物の取得に早く到達する」という目標に徹することも重要である。

## 5. その他特記事項

特になし。

## 課題番号 医薬 A 4

### 課題名 アルツハイマー病治療薬創出に向けた $\gamma$ セクレターゼの構造解析と機能制御

代表機関・代表研究者：東京大学・富田 泰輔

#### 1. 総評

アルツハイマー病関連の研究は、医学・薬学として意義が高く、かつ競争も激しい分野であり、期待も大きい。標的とする $\gamma$ セクレターゼの構造解析は学術的に意義があり、また、創薬産業への波及効果も高いものである。

現時点では、技術開発研究との連携を含めて種々検討が進んでいるが、構造解析に比べ、機能制御が先行しすぎていることが危惧される。実際、現段階での構造解析研究の成果は乏しい。一つのサブユニットの細胞外ドメインの発現が進み、また、クライオ電子顕微鏡による観察が行われているが、これで、 $\gamma$ セクレターゼの本質に迫れるかは不明である。しかも、一連の機能解析は、代表機関の従来の実績を考慮すると想定範囲内ともいえる。本研究課題では構造解析と機能制御のバランスが重要であり、構造解析の知見を活かしつつ、制御化合物の探索に取り組むことに意義がある。今後は、構造解析面での目標を明確にし、制御面での進捗等を活かすべきである。

これらの内容を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた成果は、十分な水準に達していると評価できる。

#### 2. 研究の進捗状況について

構造解析については、 $\gamma$ セクレターゼを構成する4つの膜タンパク質のうち、ニカストリン細胞外ドメインの均一なN型糖鎖付加体を大量に生産することができた。16カ所の糖鎖のうち6カ所の除去に成功した。糖鎖除去を進め、更に結晶化妨害要因を克服して、結晶化を成し遂げようとしている。また、 $\gamma$ セクレターゼ複合体の大量生産、精製し、電子顕微鏡像から単粒子解析を行った。このように、種々の準備が検討かつ構築されつつあることは理解できるが、結晶構造解析あるいは単粒子構造解析がどこまで達成されたかが不透明である。成果として記載されたPDB未登録の構造解析1件についてもその内容（解像度等）は、不明確である。今後、戦略を絞って構造解析に専念しなければ、目標の達成は相当に困難であることが予想される。

一方、機能制御については、オリジナルな化合物ライブラリーの整備、ニスカリンに対する阻害活性を持つ化合物の選別、抗ニカストリン抗体の開発、 $\gamma$ セクレターゼ阻害化合物スクリーニング系の構築、プレセニリン中の基質結合・切断部位の同定など、種々の成果が得られつつある。さらに、アルツハイマー病モデルマウスを確立したことは評価される。今後、各々の研究が融合して展開することが期待される。

#### 3. 研究体制について

成果報告票に記載のとおり、3つのグループ間での情報の交換・共有化は十分になされおり、プログラム内部の他の実施課題、技術開発研究「生産(C)」横山グループ、「制御(C)」長野グループ、「生産(D)」浜窪グループ、ターゲットタンパク質研究「医薬」北グループとの共同研究・連携を行っている。しかし、具体的にどのように展開されているかは成果報告票からは、読み取ることができない。上述したように、機能解析面に比べ、構造解析面が遅れているように思える。

#### 4. 今後の展望について

自己評価にもあるように、最初の3年間で構造解析に必要な新規阻害物質や阻害抗体の開発と $\gamma$ セクレターゼの基本的な構造の理解について、今後2年間でこれらを組み合わせ、構造の変化を解明する計画である。このうち、阻害物質と抗体の開発は順調に推移しているように見えるが、タンパク質構造の解析自体の戦略がはっきりしない。例えば、ニカストリンの細胞外ドメインをどのように位置づけているのか、また、 $\gamma$ セクレターゼの本体であるプレセニリンの構造解析をどう進めるのか、何

を構造解析の最終到達点とするのか、明確に意識して研究遂行にあたることが望まれる。

## **5. その他特記事項**

特になし。

課題番号 医薬A5

課題名 核酸およびレドックス調節パスウェイを標的とする抗トリパノソーマ薬の開発

代表機関・代表研究者：東京大学・北 潔

## 1. 総評

トリパノソーマ症の病原体の核酸生合成経路とレドックス制御経路に関与する DHOD、QFR、TAO などの酵素群の結晶構造解析とそれに基づいた阻害剤の開発に向け、本研究課題は順調に進められている。本プログラムの目的は、生理的または病的に重要なタンパク質の構造と機能を解明し、これに基づき制御化合物を取得することであるが、本研究課題は、トリパノソーマの生存に必要な酵素群を対象に既に構造解析、機能解析、及び制御化合物の最適化を行っており、今回のプログラムのモデルとなる活動を展開している。

これらの内容を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた成果は、極めて優れた水準に達していると評価できる。

## 2. 研究の進捗状況について

本研究課題は、トリパノソーマの生存に必須の酵素群をターゲットにその構造と機能を明らかにし、それらに対する制御化合物の合成を行うことを目的としている。構造解析結果に基づいた *in silico* スクリーニングから *T. cruzi* DHOD の強力な制御化合物を見出し、本制御化合物を最適化する段階に入っている。また、QFR の阻害剤フルトラニルの結合部位の同定、並びに TAO と GK についても結晶化が進んでおり、研究は極めて順調に進捗していると認められる。

## 3. 研究体制について

標的酵素の精製・結晶化、結晶解析、構造情報に基づいた薬剤分子設計、化合物の合成といった様々な研究課題について、代表研究者のリーダーシップの下で効果的な連携が図られていると判断される。課題内連携と共にプログラム内の技術開発研究「生産」、「制御」等との連携が活かされていることも評価される。

## 4. 今後の展望について

本研究課題では、標的タンパク質の精製・結晶化・構造解析と、これに基づく *in silico* スクリーニングと制御化合物の合成・阻害効果の検討・共結晶解析が行われ、生産的なフィードバックシステムが完成しており、本プログラムのモデルの一つと評価できる。既に、新規化合物の開発段階にある DHOD、QFR に加え、いくつかの酵素の精製、結晶化も進んでおり、今後の成果も十分に期待できる。

## 5. その他特記事項

本プログラム外の展開ではあるが、創薬研究として真のリード化合物創成を目指すのであれば、早い時点で最低限の一般薬理、安全性、薬物動態試験等の実施が期待される。企業利益の面から製薬企業の参画が難しいと思われるが、実用化までを視野に入れた計画に基づいて研究を展開することが望まれる。

課題番号 医薬 A 6

課題名 メタボリックシンドローム・糖尿病の鍵分子アディポネクチン受容体 AdipoR/AMPK/ACC  
タンパク質群の構造解析とそれに基づく機能解明及び治療法開発

代表機関・代表研究者：東京大学・門脇 孝

## 1. 総評

極めて広汎な分野を対象としており、様々な分子の構造決定と制御物質の探索に向け準備している段階と見受けられる。糖尿病関連鍵分子である AdipoR や ACC 等というタンパク質群の構造解析については、今後の後半に成果が委ねられている状況である。強力な研究グループと研究チームを組んでおり、タンパク質の大量発現系の開発は大いに進捗している。また、機能解析において、生化学的知見も多く得られている。AMPK 活性スクリーニング法の開発を行い、制御化合物の探索も進展しつつある。

研究代表者は本分野で先導的研究者であり、今後に期待したいが、現時点でグループ全体の論文発表がないのは問題である。本研究は、5年間の研究計画であるので、今後の動向を見守りたい。

これらの内容を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた成果は、十分な水準に達していると評価できる。

## 2. 研究の進捗状況について

本研究課題は、アディポネクチン、アディポネクチン受容体 (AdipoR) とその下流の AMPK、ACC、さらに AMPK の調節分子である LKB1、CaM キナーゼなど多数の分子の構造・機能解析と制御化合物の探索を対象とする極めて広汎な研究課題である。これまでの構造決定の成果としては、CamKK2 とその制御化合物の複合体、AMPK の  $\alpha 2$  サブユニットのキナーゼドメインとその制御化合物 Compound C 複合体の立体構造が解明された。また、AMPK 活性スクリーニング法を開発した。さらに、AMPK、ACC の制御化合物について、*in silico* スクリーニング及び化合物ライブラリーを利用して探索している。

ただし、本研究課題の主な対象である難解析性タンパク質の AdipoR、AMPK、ACC については、構造解析に向けた具体的な対策が不透明である。

論文発表はグループ全体で 0 報である。代表研究者は、Adiponectin、Adipocyte 関連の論文を多数出版しているが、本研究課題に関連する論文は未だ報告されていない。

## 3. 研究体制について

本研究課題は対象とするタンパク質が極めて広汎で、かつ、日々、新たな知見が加わっている分野である。その中で、代表者の生物学グループ、構造決定の横山グループ、*in silico* スクリーニングの田中グループなどとの連携は、研究代表者のリーダーシップの下、適切に行われていると判断される。

また、プログラム内部の他の実施課題との連携に関しても、抗体作成において技術開発研究「生産 (D)」岩田グループと、制御化合物探索において「制御 (C)」長野グループと連携している。

ただし、制御化合物の合成展開を本格的に開始するに十分な基礎となる成果は、現時点では見出せていない。

## 4. 今後の展望

上述したように、本研究課題の対象は広汎であり、また、極めて難度の高いものが多い。さらに、競争の極めて激しい分野であるので、楽観は許されない。しかしながら、次の段階への準備は適切になされているものと判断される。タンパク質の大量発現系の開発は大いに進展していることから、研究を継続して進め、メタボリックシンドローム、糖尿病関連鍵分子である AdipoR、AMPK、ACC タンパク質群の構造と機能の解明を期待したい。

技術開発研究「制御」との連携は重要であるが、本研究課題の進捗を踏まえて、どこまで将来の創

薬を意識すべきか再考が必要ではないか。優先すべき標的タンパク質を絞り、その構造解析に有利な制御化合物を探索して複合体情報等を取得することが本研究課題の大きな目標である。その先に、*in silico*制御化合物設計等の道筋がある。

## 5. その他の特記事項

特になし。



## 課題番号 医薬B1

### 課題名 ケモカイン-ケモカイン受容体-シグナル制御分子フロントファミリーの構造・機能ネットワーク解析からの免疫システムの解明および創薬開発

代表機関・代表研究者：東京大学・松島 綱治

#### 1. 総評

対象タンパク質であるフロントは、代表者が見出した新規のタンパク質で、ケモカイン受容体のC末端部分に結合してその作用を伝えることが明らかになっており、その作用を阻害することで、炎症などの抑制が期待される。本研究課題においては、フロントの全長タンパク質の結晶化に成功し、CCR2のC末端領域とフロントのC末端の結合をNMRにより解明している。これらは、順調な進展と評価できる。また、このNMRによって構築した複合体モデルを利用した化合物スクリーニングを展開し、フロントの制御化合物として、既にいくつかの化合物を見出したことも評価される。ただし、これが実際に抗炎症作用を発揮し、適応疾患が見出されるかについては、十分な検証が必要である。

全体としては、目標達成に向けて構造解析・機能解析とも順調に進捗している。また、研究課題内、研究課題間の連携も円滑に行われており、優れた成果が今後期待できる。

これらの内容を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた成果は、優れた水準に達していると評価できる。

#### 2. 研究の進捗状況について

本研究課題で対象としているフロントは、代表者が見出した新規タンパクで、ケモカイン受容体CCR2のC末端に結合するものである。これまでの研究で、フロントの全長タンパク質の大量発現・精製・の結晶化に成功し、CCR2のC末端領域(Pro-C)とフロントのC末端(FNT-C)の結合の詳細をNMRにより解明した。機能解析の面では、フロントがCCR5とも相互作用することも明らかにし、フロントの遺伝子改変マウスの作成も進行中である。また、フロントとCCR2-C末端の結合を指標とするアッセイ系を立ち上げ、これを用いて、化合物スクリーニングを行い、この結合を阻害する複数の制御化合物を同定している。さらに、その一部で実際に白血球の遊走を阻害する効果を示すことを確認するなど、目標達成に向け、極めて順調な進捗と評価できる。ただし、本成果がフロントファミリーの解明が慢性炎症疾患治療薬の開発にどの程度貢献するかについては、モデル動物で検証することが必要である。

#### 3. 研究体制について

研究課題内の構造解析研究の寺沢グループと機能解析研究の松島グループは、適切に連携して研究を進めている。また、技術開発研究「制御」との化合物スクリーニングに関する連携、「生産(C)」セルフリーサイエンスとの小麦胚芽無細胞系によるタンパク質生産に関する連携、「生産(D)」浜窪グループとのCCR2の発芽ウイルス上への発現に関する連携が効果的に実施されており、成果創出に向け、適切な連携活動を展開しているものと評価できる。

#### 4. 今後の展望について

フロントは、新規タンパク質であり、本研究課題で今回明らかになったように、CCR2のみならずCCR5にも結合してその作用を介達するなど、オリジナルかつ有力な薬物標的と考えられる。全長CCR2-全長フロント複合体等の立体構造解析が期待できる。全長CCR2-全長フロント複合体の結晶構造解析が達成されれば、その後の制御化合物スクリーニングもより合理的に加速されるであろう。

本研究課題の実施期間は3年間であり、平成21年度で終了する予定であった。研究の進捗や今後の展望を踏まえて考えれば、本研究課題は、実施期間を延長すべきと判断される。

## 5. その他特記事項

本プログラム外の展開ではあるが、創薬研究として真のリード化合物創成を目指すのであれば、早い時点で最低限の一般薬理、安全性、薬物動態試験等の実施が期待される。また、将来の産学連携等も視野に入れ、知的財産化の戦略も必要である。

## 課題番号 医薬B2

### 課題名 核内レセプターの新規機能解析と構造解析に基づいた線維化疾患治療法の開発

代表機関・代表研究者：筑波大学・柳澤 純

#### 1. 総評

臓器や組織の過剰な繊維化による糸球体硬化症、肝硬変、肺繊維症など、未だ有効な治療法のない繊維化疾患の主要原因は TGF- $\beta$  /Smad の異常亢進であると考えられている。本研究において、核内受容体 PPAR $\gamma$  や VDR が転写活性とは別に Smad と複合体を形成してその分解を促進し、TGF- $\beta$  経路を遮断することが見出された。線維化疾患治療のための創薬に貢献することが期待される Smad 分解促進作用を有する制御化合物を探索することを目的として、Smad 分解活性を有する核内受容体 PPAR $\gamma$  の構造と機能を解析していた。また、PPAR $\gamma$  の転写活性化に影響を与えず、Smad 分解を促進する制御化合物の同定に成功した。さらに、その効果を *in vivo* の病態モデルで確認することなどにより、優れた成果をあげ、その最適化など新しい段階に入ったと考える。

これらの内容を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた成果は、極めて優れた水準に達していると評価できる。

#### 2. 研究の進捗状況について

PPAR $\gamma$  リガンド結合領域と化合物の複合体構造情報を取得するとともに、TGF- $\beta$  シグナルを遮断する化合物スクリーニング系を構築することによって、Smad の分解を促進する化合物設計を実践し、制御化合物を取得したことは高く評価できる。また、VDR に結合して Smad 分解を促進する化合物の探索からも制御化合物が得られた。さらに、腎の線維化モデルを確立し、探索された候補化合物の繊維化が抑制されることも確認した。このように研究の進捗は極めて順調であり、予定を上回る成果も得られている。一方、これらの受容体と Smad の複合体の構造解析は、Smad の不安定性などのため、やや遅れている傾向にある。

#### 3. 研究体制について

代表研究者の適切なマネジメントの下、構造解析グループ、機能解析グループ、合成グループがそれぞれ役割分担を明確にし、極めて適切に連携して研究を進めている。また、制御化合物取得に向けた連携も円滑に運用されており、技術開発研究「制御」との連携も十分である。

#### 4. 今後の展望について

これまでの研究で、制御化合物を同定し、その活性を確認するなど大きな成果をあげてきた。今後、各核内受容体と Smad の複合体の構造解析が進むことで、最適化に向け弾みがつくものと思われる。

本研究課題の実施期間は3年間であり、平成21年度で終了する予定であった。研究の進捗や今後の展望を踏まえて考えれば、本研究課題は、特に積極的に実施期間を延長すべきと判断される。

#### 5. その他特記事項

本プログラム外の展開ではあるが、創薬研究として真のリード化合物創成を目指すのであれば、早い時点で最低限の一般薬理、安全性、薬物動態試験等の実施が期待される。また、将来の産学連携等も視野に入れ、知的財産化の戦略も必要である。

## 課題番号 医薬B3

課題名 がんや様々な疾病に関与する NPP ファミリータンパク質の機能構造解析から創薬まで

代表機関・代表研究者：東北大学・青木 淳賢

### 1. 総評

本研究課題で取り上げている NPP は、病態的意義の高いものであり、ターゲットタンパク研究プログラムで取り上げるのにふさわしいものといえる。NPP2 の肺線維症への関与、MPP6 の腎近位尿細管におけるコリン再吸収の促進作用を見出す等、機能解析は大きい成果をあげたといえる。また、NPP 活性の測定法を開発し、それを利用した化合物スクリーニングにより、制御化合物を見出したことも評価できる。

ただしその一方で、これらの成果を拡張するための、タンパク質の構造決定がやや遅れている傾向にあることは、今後是正すべき問題点といえる。NPP ファミリー中、NPP2、NPP6 については大量生産に成功しているものの、結晶化を成功に導く具体的な方策が乏しいように見受けられる。

これらの内容を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた成果は、十分な水準に達していると評価できる。

### 2. 研究の進捗状況について

構造決定、機能解析、化合物スクリーニングの3つの目標のうち、機能解析に関わる生理機能・病態的意義の解析と化合物スクリーニングは順調に進捗している。NPP2 が間質性肺炎に関わること、NPP6 がコリンの体内分布の決定因子となること等、両タンパク質の機能について極めて興味深い知見を得ており、また、両酵素の化合物スクリーニング系を確立し、制御化合物の取得にも成功していることは、一定の成果が得られているものと評価できる。

一方、両酵素タンパク質の構造解析については、タンパク質の単離精製は可能となったが、構造決定の前提となるタンパク質の結晶化と酵素活性発現の分子機構の解明は進んでいない。糖含量が高いため、結晶化作業は難航しており、糖鎖をどのように処理し、どのように結晶化を進めるかの戦略が決定していないようである。糖タンパク質を取り扱っている他のグループとの連携が望まれる。構造解析に成功しなければ、制御化合物の最適化も進まないことが予想されるからである。

成果に関する論文発表については、引用度の高い雑誌に多数の論文を発表している。

### 3. 研究体制について

タンパク質の生産グループ、機能解析グループ、構造解析（結晶化）グループ、制御化合物探索グループの間で、情報共有と円滑な連携がなされている。また、他の課題との連携に関しても、技術開発研究「制御」長野グループや、北大・稲垣冬彦グループ（NMR）と共同研究を進めている。

しかしながら、成果としては、機能解析が先行しており、今後はタンパク質自体の構造解析研究の強化が望まれる。

### 4. 今後の展望

NPP2、NPP6 の機能解析と制御化合物の探索研究は、今後さらなる発展が期待できる。特に、NPP2 の制御化合物は、難治性疾患であり有効な治療法のない突発性間質性肺炎の治療薬開発に貢献する可能性がある。ただし、制御化合物の探索にある程度成功しているが、初期スクリーニングであるにしても、4,000 化合物は余りに少ない。技術開発研究「制御」長野グループとの連携により、さらに優れた制御化合物の探索に期待したい。

本研究課題の目標は、標的タンパク質の構造解析・機能解析に基づく創薬の推進であることから、本研究課題の成否は今後のタンパク質結晶化の成否に大きく依存すると考えられる。ここでのブレイクスルーが望まれる。

本研究課題の実施期間は3年間であり、平成21年度で終了する予定であった。研究の進捗状況や

今後の展望を踏まえて考えれば、本研究課題は、実施期間を延長すべきと判断される。

## 5. 特記事項

特になし。

## 課題番号 医薬B4

### 課題名 セマフォリンおよびセマフォリン受容体分子群をターゲットにした構造・機能解析と治療法開発

代表機関・代表研究者：大阪大学・熊ノ郷 淳

#### 1. 総評

セマフォリン分子とその受容体、及びセマフォリンシグナルを担う細胞質側因子の構造解析は順調に進められ、セマフォリンの生理機能の解明とこれらに作用する制御化合物の探索など、システマティックに研究を遂行している。グループ間の連携は円滑に行われ、具体的な成果もあがってきており、研究の進捗状況は極めて良好である。アトピー性皮膚炎などの治療に対する新規治療標的となりうる機能研究を進めたことも、医学・薬学等への貢献として評価できる。今後は、受容体との複合体の結晶構造を目指すべきである。

これらの内容を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた成果は、極めて優れた水準に達していると評価できる。

#### 2. 研究の進捗状況について

神経、免疫、心血管系でのガイダンス因子であるセマフォリンについて構造決定と制御の研究を行っている。すでに、セマフォリンのひとつ Sema6A の細胞外ドメインの立体構造の解明に成功している (3.1 Å 分解能) ほか、Sema3A の安定変異体を作成し、大量精製を行っている。また、受容体である plexin-2 に予備的検討を行っている。セマフォリンシグナルに関連する細胞内因子 CRMP1 及び CRMP2 の二次元 NMR 法による構造解析にも積極的に取り組んだことも評価したい。

また、それぞれのセマフォリン分子の生理機能についての研究を行い、セマフォリン分子群及びセマフォリン受容体分子群が種々の免疫病態に関連していること、Sema3A が環状ペプチド依存性チャネルを活性化して軸索反発作用を有すること、心臓・脈管系形成においてもセマフォリンがガイダンス作用を有することなど、免疫、心・血管系、神経系における機能を明らかにした。さらに、これらの作用を模倣ないし阻害する化合物のスクリーニングも行われており、研究は順調に進捗していると判断される。さらに、免疫機能に関わる動物モデル、アトピー性皮膚炎モデル動物等でセマフォリン分子群を検証したことは、疾患治療法に繋がる成果であると評価できる。

これらの成果は、引用度の高い雑誌に論文として多数発表されている。

#### 3. 研究体制について

本研究では、これまでセマフォリンの生物学的研究を行ってきたグループが構造生物学者と組むことにより短期間で Sema6A の構造決定に成功するなど、研究課題内研究者間の連携は円滑に運用されている。さらに、技術開発研究「制御 (C)」長野グループの化合物ライブラリーを用いた作用物質のスクリーニングやリコンビナントタンパク質の薬理活性の検討など、技術開発研究との連携にも積極的に取り組んでいる。

#### 4. 今後の展望について

上述の実績を踏まえると、今後研究を継続すれば、Sema 単独に加えて、その受容体の構造決定、さらには、複合体の結晶解析による結合インターフェースの決定などに進展する可能性が高い。さらに、セマフォリンのシグナル伝達機構、機能解析、制御化合物の探索など、今後も大きな成果が得られることが十分期待できる。

本研究課題の実施期間は3年間であり、平成21年度で終了する予定であった。研究の進捗や今後の展望を踏まえて考えれば、本研究課題は、特に積極的に実施期間を延長すべきと判断される。

## 5. その他特記事項

本プログラム外の展開ではあるが、創薬研究として真のリード化合物創成を目指すのであれば、早い時点で最低限の一般薬理、安全性、薬物動態試験等の実施が期待される。また、将来の産学連携等も視野に入れ、知的財産化の戦略も必要である。

## 2-3 「食品・環境等の産業応用」分野

課題番号 食環A1

課題名 害虫の繁殖抑制に応用可能なリガンドと受容体膜タンパク質の構造・機能解析

代表機関・代表研究者：東京大学・永田 宏次

### 1. 総評

本研究課題は、カイコガとアワヨトウの性フェロモン合成に関する活性化ペプチド (PBAN)、その受容体 PBANR および性フェロモン生合成の鍵酵素等をターゲットとする構造と機能の解析により、将来的には蛾の繁殖の人為的抑制による害虫防除法を開発することを最終の目標としている。カイコガ PBAN については、NMR によって構造を解明して C 末端のアミドが  $\beta$  ターン構造の安定化と生物活性に必要であることを明らかにし、昆虫細胞を用いた PBAN 活性評価系を構築した。PBAN 受容体については、大量調製、結晶化ができる段階になった。これらの成果は重要なものである。現在研究途上であり、これまでのところ特に大きなインパクトはないが、今後の展開によっては応用上興味ある研究として発展するであろう。研究はおおむね順調に進捗し、論文の発表数も十分である。

これらの内容を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた成果は、優れた水準に達していると評価できる。

### 2. 研究の進捗状況について

食料の生産を左右する害虫の抑制に関与する目的の明確な研究であり、この研究のターゲットタンパク質として、興味あるペプチドおよびその受容体を選び研究を開始している。カイコガフェロモン生合成の活性化に必須な PBAN の活性断片の構造を NMR で解明して C 末端アミド化による活性化と構造の関係を明らかにした。PBAN 受容体の構造解析はやや難航しているが、受容体 PBANR の酵母と昆虫細胞での発現を確認し、大量調製、結晶化ができる段階になった。また、PBAN 活性検定系の構築にも成功している。このように、研究が着実に進捗しつつある。

### 3. 研究体制について

研究代表者と分担者との間の連携は十分である。遺伝子の単離とタンパクの発現系の確立、大量調製と立体構造解析、アッセイ系の確立と活性測定、化学合成と微量分析など、役割分担は明確であり、連携を密にして業務を遂行している。他のグループとの連携も必要に応じて行われているが、今後、さらに実施課題間の連携を強化し、研究を促進することを期待したい。

### 4. 今後の展望について

今後の年次活動計画は分担者への振り分けが明確にされており、PBAN 受容体の結晶化が進んで X 線による構造決定が成功すると飛躍的進展が見込まれる。

### 5. その他特記事項

特になし。



**課題番号 食環 A 2**

**課題名 抗生物質やその他の有用物質生産に利用可能な鍵酵素の構造・機能解析**

**代表機関・代表研究者：東京大学・堀之内 末治**

## 1. 総評

発酵産業上、重要なタンパク質に焦点を絞り、その構造と機能の解析に向けて順調に成果が上がりつつあると判断される。

放線菌のカタボライト抑制におけるグルコースセンサーとして働く G1kA タンパクの立体構造を X 線結晶解析で決定し、グルコースとの相互作用による構造変化を明らかにした。

また、放線菌の二次代謝産物の生産を活性化する制御タンパク AfsS の NMR 解析により、活性化に関与すると考えられる局所構造を明らかにするなど、基礎的な成果を上げつつある。新たな有用酵素の開発などへ進展する可能性があるが、各項目の研究を速やかに行い、特許出願と報文の数を増やすことが望まれる。

これらの内容を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた成果は、優れた水準に達していると評価できる。

## 2. 研究の進捗状況について

本研究課題はわが国の産業上、重要な分野である発酵学における学術・応用の両面で重要な放線菌のタンパク質について、特に重要なものの立体構造を明らかにすることを目的としたものであり、放線菌のカタボライト抑制の鍵酵素である G1kA の構造決定、グルコース依存的な構造変化などの研究で大きな成果を挙げている。また、二次代謝産物生産を活性化する酵素である AfsS の局所構造を明らかにしている。研究のオリジナリティもあり、順調に研究が進んでいるといえる。

## 3. 研究体制について

目標達成の情報共有など課題内の研究者間の連携は十分に行われていると判断される。

## 4. 今後の展望について

放線菌の二次代謝と形態分化に関与するタンパク質の構造と機能の解明は進展しつつあり、その応用としての、制御タンパクの改変・改良などが今後の研究として期待できる。

さらに、残されたタンパク質の構造解析が進み、さらにこれらの成果を産業応用につながる方向での展望が期待される。

## 5. その他特記事項

特になし。

**課題番号 食環 A 3**

**課題名 乾燥・高温ストレス耐性作物の開発に役立つ転写制御タンパク質の構造・機能解析**

**代表機関・代表研究者：東京大学・田之倉 優**

## 1. 総評

本研究課題では、植物の乾燥・高温ストレスによる遺伝子発現を調節する転写因子、AREB1 と DREB2A などの構造を解明するため、高発現系の構築、DNA との共結晶の作製、AREB1 の転写活性化ドメインのリン酸化による構造変化の解析などが行われている。AREB1 と DREB2A の構造決定には至っていない。構造解析とは独立して機能解析の研究は進展しているが、構造と機能の関係に関する知見は乏しい。転写因子や、転写因子と DNA 複合体の新規な構造が得られれば、DNA 認識構造および転写活性化機構が明らかになると期待される。そのための準備は順調に進捗していると考えられる。

これらの内容を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた成果は、優れた水準に達していると考えられる。

## 2. 研究の進捗状況について

ストレス耐性発現制御因子 AREB1、DREB2A の構造解析のための高発現系の構築、DNA との共結晶の作製、AREB1 の転写活性化ドメインのリン酸化による構造変化の NMR による解析などが進展している。DREB2A の分解に関与する DRIP1 の発見、AREB1 を標的とするプロテインキナーゼの解明など、目標の達成に向けた研究の進捗が十分に認められる。機能解析においても、シグナル伝達系の上流因子の解析にも進展が見られる。AREB1 と DREB2A などの構造は未だ決定されていない。

## 3. 研究体制について

グループ内では、タンパク構造解析と植物体シグナル伝達系の専門家の間での密接な連携により、研究成果の創出が加速されている。3名の博士研究員、4名の技術補佐員が参加し、代表者の強力なリーダーシップの下で研究が進められている。グループ間では、高エネルギー加速器研究機構フォトンファクトリーの利用や情報プラットフォームへの成果の登録などの連携が行われている。

一方、構造と機能グループとの優れた共著論文が出ているが、構造に関するものではない。構造から得られる機能に関する新知見を期待する。

## 4. 今後の展望について

AREB1 と DREB2A の構造解析の結果は得られると予測される。転写因子や、転写因子と DNA 複合体の新規な構造を明らかにすることができれば、新しい研究の発展が見込まれる。将来的には、ストレス応答の分子機構の全容が解明され、この情報を基にした環境ストレス耐性作物作出技術の開発が期待される。

## 5. その他特記事項

特になし。

**課題番号 食環 A 4**

**課題名 環境ストレス耐性作物の開発に役立つ転写制御タンパク質の構造・機能解析**

**代表機関・代表研究者：名古屋大学・松岡 信**

## 1. 総評

本研究課題はジベレリン (GA) 受容体の構造解析の結果からストレス耐性機構を解明する目的で出されたものである。GA 情報伝達に係わる 3 種類のタンパク質の構造を明らかにし、GA 情報伝達機構を解明しようとする先端的研究であり、3 種類のタンパク質のうち、GA 受容体 GID1 の構造を決定し、構造に基づく機能解析も着実に進捗している。

これらの内容を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた研究成果は、優れた水準に達していると評価できる。

## 2. 研究の進捗状況について

本研究は GA のシグナル伝達系で重要な働きをする 3 種のタンパク質 GID1、DELLA、GID2 の立体構造と機能を解明することを目的とし、さらに、DELLA タンパク質が同時にストレス耐性機構の重要タンパク質としても機能していることから、これをストレス耐性植物の育種に活用することを最終目標としている。これまでに GA を結合した受容体 GID1 の X 線結晶構造解析に成功して GA 結合に重要なアミノ酸残基を明らかにし、その成果は昨年トップクラスの雑誌に掲載された。

## 3. 研究体制について

グループ内での構造解析担当者（京都大学）と機能解析担当者（名古屋大学）の間の連携は密接である。グループ間の連携については、情報プラットフォームへの登録を完了したほか、化合物ライブラリーの利用にも着手している。

## 4. 今後の展望について

GA シグナル伝達系の 3 種のタンパク質全ての構造と機能が詳細に解明されれば、非常に優れた成果となる。

## 5. その他特記事項

この研究の最終的な目標はストレス耐性植物の育種であろうが、そこに達するには、本研究課題内での研究をさらに加速し、本プログラムの外での積極的な応用展開へ繋げるべきであろう。

**課題番号 食環 A 5**

**課題名 多剤耐性化の克服を目指した薬剤排出トランスポート・マシーナリーの構造生物学**

**代表機関・代表研究者：東京工業大学・村上 聡**

## 1. 総評

本研究課題は実用上の問題と関連した重要なものである。その成果を臨床に生かすことができる方法を見出し、実用化されるならば、理想的である。その方面への展開を期待したい。

今回の成果は、過去の業績が主体であり、新たに進捗した点が少ないと思われる。また、グループ内の連携も十分ではなく、直接関連するものは総説1編のみであり、残りの9報はプロジェクトの適切なマネジメントが認められない。新しい知見としては、研究代表者が発見した、排出トランスポーターと膜融合タンパク質との間の相互作用の強い細菌が挙げられる。研究を継続するとすれば、この複合体の構造解析に特化すべきであろう。

これらの内容を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた成果は、十分な水準に達していると評価できる。

## 2. 研究の進捗状況について

研究代表者が、排出トランスポーターと膜融合タンパク質との間の相互作用の強い細菌（緑膿菌の類縁菌）を発見したことは一定の進展といえる。

また、目標に向けて、基盤となる材料や方法の確立はみられるが、成果としてはまだ論文となるレベルではない。立体構造解析が容易でないことは理解するが、もう少し目標に近づいた成果が望まれる。

全体的に進捗状況が不十分のようである。

## 3. 研究体制について

代表研究者の勤務地の変更もあり、今後、他大学との共同体制の構築が課題であろう。

## 4. 今後の展望について

プロジェクト研究としてのまとまりがなく、進捗状況も不十分である。しかし、重要で難度の高い課題であり、構造解析の結果と機能解析の結果により、多剤耐性化の解消法が見出せることを期待したい。

## 5. その他特記事項

特になし。

**課題番号 食環B1**

**課題名 齧歯類ペプチド性フェロモンファミリーの構造と機能の解明：ネズミの環境問題の解決に向けて**

**代表機関・代表研究者：熊本大学・寺沢 宏明**

## 1. 総評

本研究課題は齧歯類の性フェロモンの構造と受容体の相互作用について立体構造レベルで解析し、その成果をネズミの個体数の制御などに役立てようとするものである。本研究課題で、マウスオス特異的フェロモン ESP1 の構造が決定された。また、ESP1 受容体と相互作用する ESP1 の領域が同定された。一方、ESP1 受容体として V2Rp5 が発見され、大腸菌での V2Rp5 の発現に成功している。V2Rp5 の構造決定には至っていないが、ESP1 受容体の構造が明らかになれば、研究に新しい展開が見られる可能性がある。

本研究課題に関しては、NMR により小ペプチドの構造決定や阻害剤のスクリーニングを行った点、受容体の構造が決まっていない点、あるいは食料・環境問題解決までの距離の点で評価の分かれるところであるが、総じて、本研究課題の進捗および成果は優れている。

これらの内容を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた成果は、優れた水準に達していると評価できる。

## 2. 研究の進捗状況について

マウスオス特異的フェロモン ESP1 の構造を決定すると共に、ESP1 の受容体 V2Rp5 を同定し、大腸菌で発現させることに成功している。V2Rp5 の構造決定には至っていないが、V2Rp5 と相互作用する ESP1 の領域を同定している。したがって、研究は順調に進んでいると思われる。

## 3. 研究体制について

研究課題内での連携、化合物の設計と提供などに関する他グループとの連携、情報プラットフォームへの成果登録などは高く評価できるが、共同研究者との役割分担が明瞭でないと思われる点も見受けられる。

## 4. 今後の展望について

今後、ESP1 受容体の構造や、ESP1 と ESP1 受容体複合体の構造決定、アゴニスト・アンタゴニストの開発、ESP 刺激による脳活性化部位の同定とフェロモン効果の検証などが順調に進めば、野生ネズミの制御薬の開発という最終目標の達成に近づく可能性もある。

マウスからラット、野生ネズミへの進展が待たれる本研究課題は応用価値が高いので、早期に成果を特許出願するべきであろう。

本研究課題の実施期間は3年間であり、平成21年度で終了する予定であった。研究の進捗や今後の展望を踏まえて考えれば、本研究課題は、実施期間を延長すべきと判断される。

## 5. その他特記事項

本研究課題については、食料・環境問題解決までの距離必ずしも近いとは言えないが、応用展開を考慮した研究は重要と思われる。

## 課題番号 食環B2

### 課題名 新規味物質・味評価法開発に重要な味覚受容体の構造・機能解析

代表機関・代表研究者：理化学研究所・山下 敦子

#### 1. 総評

本研究課題は食品産業分野において重要なテーマであり、その成果が待望されるが、難度の高い研究課題である。そのため、現在の段階ではまだ十分な成果がでていないと難しい、最終的な目標達成にはまだ遠い道のりがあり、単純な実施期間の延長では解決が困難であると思われる。今までの研究で、甘味/旨味受容体の味認識ドメインについて、昆虫細胞における発現系を見出して、機能単位であるヘテロ二量体として安定に調製し、結晶様のものを得た。また、甘味受容体の変異体解析を行い、受容体の膜移行性を評価し、甘味応答が消失する一残基変異体を見出した。さらに、甘味阻害物質ギムネマ酸の作用点が甘味受容体であることを明らかにした。このように、甘味受容体の機能の解析については、成果が得られつつあるが、X線結晶構造解析については、さらに良質の結晶を作成する条件を確立する必要がある。今後は甘味/旨味受容体の立体構造の決定に向けてさらに研究を加速する必要があるが、そのための準備段階の研究としては十分といえる。

これらの内容を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた成果は、十分な水準に達していると思われる。

#### 2. 研究の進捗状況について

甘味/旨味受容体の機能に関しては、甘味受容体の変異体解析を行って、受容体の膜移行性を評価し、甘味応答が消失する一残基変異体を見出した。また、甘味阻害物質ギムネマ酸の作用点が甘味受容体であることを明らかにした。構造解析については、甘味/旨味受容体の細胞外味認識ドメインについて、結晶化に適したコンストラクトと昆虫細胞における発現系を見出して、機能単位であるヘテロ二量体として安定に調製し、結晶様のものを得た。しかし、タンパク質の発現や結晶化に時間がかかっており、現時点では準備段階の域を脱していない。今後は、さらに良質の結晶を調製する条件を確立して、X線結晶解析を成功させる必要があるが、そのための準備は着実に進捗しているといえる。

#### 3. 研究体制について

実施課題内における研究代表者（構造生物学的手法）と分担者（分子生理学的手法）の連携は十分である。他グループとの連携も、昆虫培養細胞技術を有効に利用したほか、今後もSPRING-8マイクロフォーカスビームラインや化合物ライブラリーの有効利用を検討している点が評価できる。タンパク質の発現と結晶化に関しては、技術開発・生産領域チームとの連携を深め、問題の解決を図る必要がある。

#### 4. 今後の展望について

タンパク質の発現や結晶化がうまくいけば研究が進展すると思われるが、構造解析に至るまでに時間がかかれば、ある程度の進捗は望めるが、最終目標である味覚の認識機構の分子レベルでの解明には遠い道のりがある。

本研究課題の実施期間は3年間であり、平成21年度で終了する予定であった。研究の進捗や今後の展望を踏まえて考えれば、本研究課題は、当初の予定通り、3年間とすべきと判断される。実施期間を延長する場合は、研究計画を見直し、着実に成果を積み上げていくことが必要である。

#### 5. その他特記事項

特になし。

## 課題番号 食環B3

### 課題名 多糖の輸送・分解に関わる細菌由来超分子の構造生物学とその食品・環境分野への応用

代表機関・代表研究者：京都大学・橋本 渉

#### 1. 総評

細菌の多糖の輸送・分解機構に係わるタンパク質の中で、細胞表層受容体や多糖分解酵素の構造が決定された。また、ABC インポーターの構造も解析されている。したがって、目的に向けて研究が進展しているといえる。また、構造を基盤にした機能解析研究も進展している。今後、精力的に研究が行われ、「スフィンゴモナス属細菌 A1 株」由来超チャネルの構造と機能がかなり明らかになってくるものと期待されることから、初期の目的の一つである食品・環境分野への応用への方向も検討すべきである。

これらの内容を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた成果は、優れた水準に達しているとは評価できる。

#### 2. 研究の進捗状況について

細菌表層に存在する超分子の構造解析を目的として行われている研究課題である。広く多くの分子について研究を行っており、一部の分子については構造解析、そして機能解析が進んでいる。

アルギン酸の細胞表層受容体、ABC インポーター、多糖分解酵素の X 線結晶解析・機能解析、いずれも十分に進捗している。

#### 3. 研究体制について

実施課題内での連携はとれている。解析難度の高いタンパク質の分析技術について、他のグループからの情報入手に努めている。さらに連携を強化すれば、よりよい成果があがるであろう。

#### 4. 今後の展望について

研究計画が順調に達成されており、ABC インポーターによる多糖の取り込み機構、各種の多糖分解酵素に関する基礎的な構造・機能の研究が豊富な成果をあげているので、今後は、新規食品多糖の開発、バイオフィilm除去を基本とした感染症の治療など実用的な成果につながる可能性は、十分にある。

構造および機能解析が進んだ後、その成果を食品・環境分野などの応用研究へつなげていくべきであろう。

本研究課題の実施期間は3年間であり、平成21年度で終了する予定であった。研究の進捗や今後の展望を踏まえて考えれば、本研究課題は、特に積極的に実施期間を延長すべきと判断される。

#### 5. その他特記事項

特になし。

**課題番号 食環 B4**

**課題名 新規炭酸固定系を構成する酵素群の構造機能解析と機能改良**

**代表機関・代表研究者：京都大学・三木 邦夫**

## 1. 総評

*T. kodakaraensis* の新規炭酸固定系の 3 酵素、AMP phosphorylase、R15P isomerase、及び Rubisco の構造・機能解析が行われている。構造を基にした高活性型 Rubisco の作出にも予定より早く成功しており、研究は順調に進展している。PDB 登録、論文発表も順調であり、特許出願もある。優れた研究であると判断される。

これらの内容を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた成果は、優れた水準に達していると評価できる。

## 2. 研究の進捗状況について

新規の炭酸固定系を構成する酵素群の構造と機能解析を推進しており、そのうち重要なものについては構造・機能解析が順調に進んでいる。Rubisco の高機能型変異体の創製については、すでに最終年度の目標を達成した。PDB 登録、論文発表も順調であり、特許出願もある。

## 3. 研究体制について

グループ内の連携は適切である。他グループとの連携もある。研究代表者は、放射光 X 線解析技術の分担研究者となっており、このグループ自体の技術的レベルは高く、他グループへの依存度は低い。情報プラットフォームへの登録も行っている。

## 4. 今後の展望について

構造と機能の解析が並行して進められており、その効果が期待できる。さらに研究を続ければ、大きな成果が見込まれるであろう。より機能の高い Rubisco 等の作出が成功することを期待したい。

本研究課題の実施期間は 3 年間であり、平成 21 年度で終了する予定であった。研究の進捗や今後の展望を踏まえて考えれば、本研究課題は、実施期間を延長すべきと判断される。

## 5. その他特記事項

本研究課題は、温室効果ガスである CO<sub>2</sub> の固定に関して、効率的なシステムの開発につながる研究である。今後、環境問題との関わりをより明確にし、プログラム外での研究開発を含めた応用展開に期待したい。



## 課題番号 食環B5

### 課題名 キラル化合物の産業生産に有用な酵素の触媒反応機構の解明と高機能化

代表機関・代表研究者：京都大学・清水 昌

#### 1. 総評

本研究課題は、学術的にも応用上にも重要な、微生物酵素によるキラル化合物の生産に関して、各種酵素の立体構造の解明と反応機構の解析を行い、さらには酵素の特性に関与するアミノ酸を計画的に置換して、酵素の特性を改良することを目指すものであり、研究は順調に進んでいる。具体的には、キラル化合物の生産に有用な炭素二重結合不斉水素添加酵素として、旧黄色酵素と補酵素との複合体の構造を決定し、活性部位を形成するアミノ酸残基を同定した。 $\beta$ -ヒドロキシ- $\alpha$ -アミノ酸合成酵素として、スレオニンアルドラーゼと補酵素 PLP との複合体の構造を決定した。キヌクリジノン還元酵素と補酵素との複合体構造を決定し、基質結合部位の構造を明らかにするとともに、NADPH から安価な NADH へと補酵素要求性を変換した変異体酵素を作成した。さらに、カルボニル還元酵素 S1 と補酵素との複合体構造と、共役ポリケトン還元酵素 CPR-G2 の立体構造を決定し、基質選択性を決定する構造情報を得た。このように、目標達成に向けて、着実に研究が進展しており、研究期間中に多くのキラル化合物合成関連酵素の構造と機能が明らかになり、高能率キラル化合物合成系が作出できる可能性が極めて高い。PDB への 5 件の登録と 9 件の論文発表など、学界への貢献も十分である。

これらの内容を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた成果は、極めて優れた水準に達していると評価できる。

#### 2. 研究の進捗状況について

キラル化合物合成酵素の構造と機能を明らかにするとともに、酵素を改変して高能率キラル化合物合成系を作出しようという目標に向かって、種々のキラル化合物合成関連酵素の構造を決定し、構造を基盤にして基質特異性や触媒反応機構などについて多くのめざましい知見を得た。キラル化合物の生産に有用な炭素二重結合不斉水素添加酵素として、旧黄色酵素と補酵素との複合体の構造を決定し、活性部位を形成するアミノ酸残基を同定した。 $\beta$ -ヒドロキシ- $\alpha$ -アミノ酸合成酵素として、スレオニンアルドラーゼと補酵素 PLP との複合体の構造を決定した。キヌクリジノン還元酵素の補酵素複合体構造を決定し、基質結合部位の構造を明らかにするとともに、NADPH から安価な NADH へと補酵素要求性を変換した変異体酵素を作成したことは特筆するに値する。さらに、カルボニル還元酵素 S1 と補酵素との複合体構造と、共役ポリケトン還元酵素 CPR-G2 の立体構造を決定し、基質選択性を決定する構造情報を得た。このように、研究は目標に向かって十分に進捗している。

#### 3. 研究体制について

実施課題内の研究分担関係は明瞭で、構造解析（分担者）と機能解析（代表者）の連携がなされている。高エネルギー加速器研究機構フォトンファクトリーのビームラインを利用して高分解能の構造決定を行い、情報プラットフォームに登録するなど、他グループとの連携も十分に行われている。

#### 4. 今後の展望について

研究の進展により、キラル化合物合成に役立つ種々の酵素を高機能化することが可能になり、食品・環境分野に大いに貢献することが期待できる。多種類の酵素について構造と機能の解析が進んでおり、*in silico* 解析を併用した研究の効率化も有望と思われる。活発な研究が行われており、高能率キラル化合物合成系の作出まで研究が進展する可能性が高い。得られた知見を基にしたキラル生体触媒ライブラリー構築にも期待が持てる。

本研究課題の実施期間は 3 年間であり、平成 21 年度で終了する予定であった。研究の進捗や今後の展望を踏まえて考えれば、本研究課題は、特に積極的に実施期間を延長すべきと判断される。

#### 5. その他特記事項

特になし。

**課題番号 食環B6**

**課題名 バイオマス植物の開発および食糧増産に役立つ植物環境応答タンパク質の構造・機能解析**

**代表機関・代表研究者：奈良先端科学技術大学院大学・島本 功**

## 1. 総評

植物の開花・生長制御に係わるフロリゲンとして発見したタンパク質、そして、その受容体の構造を決定した。さらに、それらの相互作用の解析から開花制御に関与していることを明らかにしている。一方、植物免疫に関わる複合体の相互作用を解析するなど、これらの研究成果は高く評価できる。

本研究課題は食品・環境分野における将来の応用も目指した研究であり、またすでに基礎的には順調な研究成果が上がっている。その内容も興味あるものであり、今後の進展が期待される。

これらの内容を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた成果は、優れた水準に達していると評価できる。

## 2. 研究の進捗状況について

植物の開花誘導因子フロリゲンとしての Hd3a タンパク質とその受容体 GF14c、開花制御に関わる転写因子 OsD1F1 の3者複合体の構造と機能を解明するとともに、イネにはもう一つのフロリゲン RFT1 があることを明らかにした。植物免疫応答の鍵因子である低分子量 G タンパク質 OsRac1 が、活性酸素生成をつかさどる NADPH オキシダーゼ (OsrbobB) と直接相互作用することによって、その活性を制御していることを明らかにした。その他、OsRac1 と複合体を形成する植物免疫タンパク質として RACK1 や Stil を同定した。このように、研究は順調に進捗している。

## 3. 研究体制について

研究課題内の連携は、情報の共有、発現系の供与と立体構造情報の提供など、十分に行われている。他の研究課題との連携としては、化合物ライブラリーや *in silico* スクリーニング手法の活用による、フロリゲン受容体の制御化合物のスクリーニングについて検討が進められている。

## 4. 今後の展望について

先駆的な研究が行われている。フロリゲン複合体の構造が明らかになれば、開花制御の分子機構が解明できると考えられる。また、植物免疫複合体の構造と機能に関する解析が進めば、耐病性の分子機構の解明につながると思われる。

本研究課題の実施期間は3年間であり、平成21年度で終了する予定であった。研究の進捗や今後の展望を踏まえて考えれば、本研究課題は、実施期間を延長すべきと判断される。

## 5. その他特記事項

食品・環境分野において重要な課題を推進しており、成果も順調である。この成果を応用上の問題とどう結びつけるのか方向を示し、本プログラムの外で積極的な応用展開がなされることを期待したい。

## 一 技術開発研究課題 一

### 2-4 「生産」領域

#### 課題番号 生産C

#### 課題名 タンパク質生産技術開発に基づく「タンパク質発現ライブラリー基盤」の構築

代表機関・代表研究者：理化学研究所・横山 茂之

#### 1. 総評

本研究課題は広くタンパク質生産技術を開発することにより、タンパク質発現ライブラリーを構築することを目的に発足している。タンパク質の有効利用のためには、研究対象となるタンパク質を手に入れることから始まり、次いで大量生産技術の開発ということになるが、本研究プログラムの性格上、ここでの生産は研究(構造・機能解析)に十分な量の質の良いタンパク質を手に入れる手法の開発が主体となる。

すでに多くのタンパク質生産方法が開発されてはいるが、タンパク質は千差万別で広範な発現ライブラリーの構築が必要なことがうなずける。特にここでは膜タンパク質、高分子量複合体、巨大タンパク質等の高難度タンパク質をターゲットに細胞系、無細胞系での発現に広範で卓抜した工夫が試みられ、いくつかの利用価値の高い方法の開発に結実している。

さらに一歩進めて、結晶化が容易で、その上構造解析しやすい方向に特化した形でタンパク質を生産する工夫も試みられ、ある程度の成功を取めている。特にこの延長線上に進展している「キュービック液晶法による膜タンパク質の結晶化」法は画期的で特筆すべき成果である。

本研究課題は目的タンパク質を手に入れるというタンパク質研究の根源的な要求を満たそうという、基盤をなす技術開発研究であり、プログラムの推進に当たり、実に重要な位置を占める。本研究課題は、特に問題であった高難度タンパク質の、構造解析に特化した生産に向けての、広範で利用価値の高い生産方法を着実に確立している。まだ2年に満たない研究期間の業績としては高く評価できると思われる。発現ライブラリーというからには、さらに努力をして、できるだけ広範なタンパク質に応用できるものとすべきである。その上でデータベース化して、発現・構造解析に向けて最適の生産方法の候補が瞬時に見出せるようにすることが重要である。

本研究課題はあまりにも巨大なプロジェクトであり、十分な成果が上がっているかどうかを正確に判定することは困難であるが、本研究課題の研究の進展具合、成果の質と量については満足すべきもので、プログラムへの貢献度も大きいと判断する。

これらの内容を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた成果は、優れた水準に達していると評価できる。

#### 2. 研究の進捗状況について

数百種に及ぶ高難度タンパク質をサンプルタンパク質として、種々の細胞系・無細胞系での効率的条件下で発現をおこない、発現効率のスクリーニングによりさらなるコンディショニングが、広範に行われている。これらの研究は独創的な計画の下に着実に進行し、またいくつかは完成している。広範なタンパク質の効率的生産へ向けての手法が着実に確立されつつある。

一方、生産するだけでなく、構造解析を視野に入れた、すなわち、解析に特化した生産方法の開発にも目が向けられており、非天然型アミノ酸の導入や、結晶化しやすい形での膜タンパク質の生産など、工夫を凝らした生産方法の開発も進行している。さらにタンパク質巻き戻しの技術の開発も並行して進行している。特筆すべきは、キュービック液晶法による膜タンパク質の結晶化法で、独創的なタンパク質解析法が進展している。

このように、高難度タンパク質の生産・解析に向けた、広範な研究が着実に進行しており、データベース化の目標に向けてかなり接近できていると思われる。

### 3. 研究体制について

課題内での連絡会議も頻繁に行われ、課題内での情報共有も円滑に行われているため、研究課題内における情報共有・連携体制については問題ない。プログラム内部の他の研究課題との情報共有・連携に関しても、この研究課題で得られた情報が他のいくつかの研究課題と共有されており、また他の研究課題のいくつかの情報がこの研究課題で利用されるといった具合で、研究課題間の情報交換・研究連携が円滑に行われている。本研究課題はタンパク質を生産するというタンパク質研究の根幹をなすものであり、それだけに期待も大きい。全国のタンパク質研究者に向けてタンパク質生産に関する成果を発信して行く義務がある。

### 4. 今後の展望について

本研究課題の目標到達点は、現在得られている結果の延長線上に存在していると思われる。今までに得られた生産・解析方法をさらにシェイプアップする、新たな生産・解析方法を開発する、などさらなる努力を積み重ねることにより、より簡便で確実な、高難度タンパク質の生産・解析をデータベース化できるものと考えられる。さらにハードルをあげて、超高難度タンパク質の生産・解析へ向けての挑戦に期待したい。

しかしながら、広範な生産系の開発には限界があるので、むしろ発現するモデルタンパク質の数を広範に増やし、どのような性質のものはどの発現系・発現条件を選択するのが良いか分かるようなデータベース作成の方向へと発展することが期待される。本研究課題もその方向に進んでいることがうかがえる。

### 5. その他特記事項

特になし。

**課題番号** 生産D1

**課題名** 新規タグ技術を中心とした膜蛋白質・細胞外蛋白質の高品質生産と精製システムの開発

**代表機関・代表研究者**：大阪大学・高木 淳一

## 1. 総評

新たに開発したオリジナリティのある新規タグ技術を活用して実績を上げつつ、今後の高速スクリーニングを目指していることを評価する。この手法をより一般化し、誰もが使えるよう、さらなる改良にも努力している。本研究課題は、地道にかつ継続的に行うテーマである。

これらの内容を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた成果は、優れた水準に達していると評価できる。

## 2. 研究の進捗状況について

目標達成への進捗は順調であり、新規タグ技術を活用して実績を上げつつある。たとえば、分担研究となった「医薬・薬学への貢献」課題の中で、短期間でのセマフォリン (sema6A) の構造解析に成功するなど、確実な成果をあげてきたことを評価したい。今後の高速スクリーニングも多くの成果をあげるものと期待している。

## 3. 研究体制について

プログラム内のいくつかの個別課題との連携が上手く進んでいる。その実績を踏まえて、他の個別課題が抱える問題の克服に向けてさらなる連携を行うことが期待できる。

## 4. 今後の展望について

ターゲットタンパク研究プログラムでは、生産・精製が最も重要な基盤であり、本研究課題はこれからの展開も十分に期待がもてる。

本研究課題の実施期間は3年間であり、平成21年度で終了する予定であった。研究の進捗や今後の展望を踏まえて考えれば、本研究課題は、特に積極的に実施期間を延長すべきと判断される。

## 5. その他特記事項

特になし。

**課題番号 生産D2**

**課題名 膜タンパク質結晶化の革新的支援法の開発**

**代表機関・代表研究者：京都大学・加藤 博章**

## 1. 総評

膜タンパク質結晶化について、ユニークでオリジナリティの高い研究開発である。これまでの投資額を考慮しても、いくつかの要素技術開発が進み、まずまずの成果を上げつつある。ただし、この技術開発の普遍性にはやや疑問がある。今後のプログラム内部への研究支援・貢献に期待できる、膜タンパク質の発現系の新たな方法論の確立に結びつけるべきである。

これらの内容を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた成果は、十分な水準に達していると評価できる。

## 2. 研究の進捗状況について

技術要素としてシンプルであり、定められた目標に向かって進展した。それなりの成果をあげているので、さらなる実績を期待する。そのためにも他のタンパク質にも応用の可能性を今後広げていく必要がある。その他に、タンパク質の発現量を *in vivo*、分泌分画で見出す簡便法の開発、結晶化しやすいか否かの判定法などすぐに実用可能な方法の開発もなされている。さらに膜タンパク質の大量発現のためにミトコンドリア膜の利用法の開発に向けての研究もスタートしている。

## 3. 研究体制について

マネジメントは特に問題なく、代表機関を含めた課題内の連携は十分である。一方、プログラム内部への研究支援を考慮すると、現時点から、個別課題が抱える膜タンパク質結晶化への問題を意識しながら研究を進めるべきである。しかし、情報プラットフォームの活用が少なく、もう少し広く外に向けての発信が期待される。

## 4. 今後の展望について

本プログラムは“生産・結晶化”が基盤であり、構造解析等はタンパク質をモノとして取り扱うことができれば先に進まないと考えられるため、生産に関わる新規な技術開発は重要なテーマである。

しかし、本研究課題の手法が適用できるタンパク質が限定される恐れが払拭されていない。ペルオキシソーム上での外来タンパク質（ターゲットタンパク）の発現・結晶化実績を早急に示す必要がある。また、ミトコンドリア膜を利用した膜タンパク質の大量発現についても、今後の進展を見守る必要がある。この研究の遡及性についてもやはり不安が残る。

本研究課題の実施期間は3年間であり、平成21年度で終了する予定であった。研究の進捗や今後の展望を踏まえて考えれば、本研究課題は、実施期間を延長すべきと判断される。

## 5. その他特記事項

特になし。

**分野** 技術開発研究（生産D3）

**課題名** 抗体を用いた膜蛋白質結晶化技術の確立

**代表機関・代表研究者**：京都大学・岩田 想

## 1. 総評

膜タンパク質結晶化は困難を伴うが、本プログラムとして克服すべき最重要課題である。代表機関は抗体を用いた膜タンパク質結晶化について既に実績があり、個別課題からの技術的な協力要請・期待に応える技術開発を確立し、成果を挙げてきている。多くの膜タンパク質に応用可能であり、今後、継続してプログラム内の多くのチームと連携を組むものと期待する。

これらの内容を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた成果は、極めて優れた水準に達していると評価できる。

## 2. 研究の進捗状況について

膜タンパク質の結晶化に特化して技術開発に取り組んだ結果、一連のすぐれた成果を上げていることを評価する。目標の設定が的確で、当初計画に添って進展が見られ、多くの膜タンパク質の構造決定に成功している。

## 3. 研究体制について

他の「生産」技術開発研究課題との連携を含めて、プログラム内での連携は良い。研究体制に関して問題は認められず、今後に期待できる。

## 4. 今後の展望について

将来への展開が具体的であり、今後、膜タンパク質の解析が進展する期待がもたれる。比較的よく知られた技法であるが、この分野の国際的なリーダーの一人であり、それにふさわしい成果が出ているし、今後も出続けると思われる。

本研究課題の実施期間は3年間であり、平成21年度で終了する予定であった。研究の進捗や今後の展望を踏まえて考えれば、本研究課題は、特に積極的に実施期間を延長すべきと判断される。

## 5. その他特記事項

特になし。

## 2-5 「解析」領域

課題番号 解析C

課題名 高難度タンパク質をターゲットとした放射光 X 線結晶構造解析技術の開発

代表機関・代表研究者：高エネルギー加速器研究機構・若槻 壮市

### 1. 総評

X 線解析は現在、最も確実に利用価値の高いタンパク質構造解析方法といえる。放射光の利用で X 線解析は格段に利用価値が高まった。しかしながら、X 線解析は結晶構造解析であり、多くのタンパク質において良好な結晶を得ることは困難を極めている。そこで本研究課題では超微小結晶でも解析できるようなハード・ソフトを構築して、X 線解析の利用価値を格段に向上させる努力がなされている。放射光施設を利用しやすいものとするための努力もなされており、さらに簡便に位相を決めるためのハード・ソフトの開発も進行している。このように本研究課題では、タンパク質の X 線解析による構造解析をより簡便で確実にを行うためのハード・ソフトの開発が独創的な発想により、着実に進められている。

本研究課題は本研究プログラムにおいて、1つの根幹を成す課題であり、早急な進展が期待される。しかしながら、本研究課題には設計図からスタートするといった地道な研究開発が多い。それにもかかわらず、かなりの進展を見せており、高く評価できる。更なる努力により、X 線解析によるタンパク質の構造解析をより簡便で確実なものとしていただきたい。

これらの内容を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた成果は、優れた水準に達していると評価できる。

### 2. 研究の進捗状況について

本研究課題内の各グループは放射光 X 線結晶構造解析技術の開発という目標を踏まえて、より高度な解析、より使いやすい装置への改良に向けて努力を続けており、着実に各研究開発が進行している。

理研播磨 (SPring-8) では、超微小結晶から解析に十分なデータを取得するために、超高輝度マイクロビームラインの設計が進み、それに対応して、超高精密度 X 線分光器の試作、2次元 X 線検出器の研究開発、微小結晶観察用同軸高倍率顕微鏡の試作等が進行している。高エネルギー加速器研究機構 (フォトンファクトリー) では、位相決定の煩雑さを軽減する目的で、軽原子の異常分散を用いた位相決定のために、低エネルギーマイクロビームラインの設計やそれに対応した付随装置や解析法の開発が進んでいる。北大グループは低エネルギー X 線測定に不可欠なキャピラリートップマウント法の改良・開発を試み、試作品を完成させている。京大グループは利用者の便宜を図るために、フォトンファクトリーと SPring-8 の結晶交換ロボットを共通の手法で使用できるように改良を試みている。阪大のグループは微小結晶からのデータ収集処理技術の開発を行っており、部分反射のみからのデータ収集法の開発、放射線損傷モニターの開発、複数の結晶からの回折が重なり合ったデータの処理方法の開発などを進めている。

ほとんどの研究開発が順調に進行しており、いくつかはほぼ完成の域に達しているようで、本研究課題の現時点での進行状態は良好であると判定できる。

### 3. 研究体制について

課題内の連携は良好であるが、さらに緊密な連携を希望したい。本研究課題内の研究開発は、互いに関連が深いもの、そうでないものがあるが、それでも相手の不足しているところを補うという点で関連しあっている。本研究課題は、最終的に放射光を使いやすいものとするという目的で一致しているので、研究課題内の連携は大切である。本研究課題には、この分野の日本におけるエキスパートが結集していることから、お互いに切磋琢磨し、英知を集結して目標に向かって邁進されたい。

プログラム内部の他の研究課題との連携は、本研究課題の性質から見ても、緊密であって当然であ



る。多くの研究課題との連携がなされており、特にビームラインの配分による協力は高く評価できる。

#### 4. 今後の展望について

本研究課題内の研究開発は進行中のもの、ほぼ完成に至ったものがあるが、いずれにせよ、それぞれの研究開発が、放射光の利用価値を格段に高める上で欠かせないものである。1日も早い完成を期待したい。

理化学研究所播磨研究所では超高輝度マイクロビームラインの完成が間近である。早急に利用できる段階にまで完成度をもち上げる。高エネルギー加速器研究機構では低エネルギーマイクロビームラインの設置完了と利用できる段階へとシェイプアップする。北海道大学のグループはキャピラリートップマウント法を使用しやすい形で完成する。京都大学のグループは両放射光施設に共通な結晶交換ロボットを完成し、さらに使いやすいものへと改良する。大阪大学のグループは微小結晶からの回折強度データ収集法の開発を完成し、放射線損傷の激しい微小結晶からのデータ収集効率の向上などの改良を進める。各研究開発には、以上の通りの進展が期待される。

本研究課題の目標が達成されれば、放射光施設の利用価値を格段に高めることは間違いない。

#### 5. その他特記事項

特になし。

## 課題番号 解析D1

### 課題名 固体 NMR 膜蛋白質複合体構造解析技術

代表機関・代表研究者：大阪大学・藤原 敏道

#### 1. 総評

本研究は固体 NMR を用いて膜タンパク質複合体の構造解析技術を開発するもので、選択的同位体標識した 7 回膜貫通タンパク質の構造決定法の確立と、固体 NMR の Dynamic Nuclear Polarization (DNP) 法を用いた高感度化を目的としている。本技術はターゲットタンパク研究プログラムの基盤技術の一つとして重要であり、本当に役立つレベルに到達させることが望まれる。これまでのところ様々な困難に遭遇しつつも地道な努力もあって、ある程度の改良と進展が見られる。膜タンパク質の膜外の可動部分の構造解析は順調に進展しているものの最も困難な膜内部分の構造解析は分解能の低さもあり、構造決定には至っていない。固体 NMR でしか得られない情報が一層求められるところである。他のグループとの連携は十分に行っている。

これらの内容を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた成果は、十分な水準に達していると評価できる。

#### 2. 研究の進捗状況について

現在のところ、多くの問題を抱える固体 NMR 利用価値を高める方向への地道な努力が認められ、ある程度の方向性は見えてきているが完成には未だ余程の努力が必要であろう。同位体ラベルの手法の進展は進んでいる。DNP 法を用いた感度向上手法は、多くの点でマサチューセッツ工科大学の Griffin 教授らと同じ手法を用いているが、超高磁場でこの手法を開発しつつあることは評価できる。これについては、デモデータだけでなく、膜タンパク質で感度が向上する成果が望まれる。また、高磁場を用いる利点である分解能の向上によって全体構造解析を達成することが望まれる。

#### 3. 研究体制について

現段階では外に向けて連携を呼びかける域には達していないと思われる。試料調製や構造決定に必要なシミュレーション手法の開発など要素技術について、グループ内やプログラム内での連携は良好と思われる。ただし、同様な固体 NMR を用いる阿久津グループとの連携がどのようになっているのかが、見えづらい。また、計画したターゲットタンパク質の解析については、実質的な取り組みがなされているかは、未だしといったところである。

#### 4. 今後の展望について

到達点は、固体 NMR を用いて巨大膜タンパク質の構造解析まで行うことであるが、主要な解析手法となるのは、相当困難ではなかろうか。他の手法との差別化とユニークな成果が見込まれるかの判断は難しい。しかし、この種の研究の地道な努力は必要である。また、700MHz で超高感度化を達成できれば（タンパク質レベルで）900MHz でも挑戦することを期待したい。

本研究課題の実施期間は 3 年間であり、平成 21 年度で終了する予定であった。研究の進捗や今後の展望を踏まえて考えれば、本研究課題は、実施期間を延長すべきと判断される。

#### 5. その他特記事項

特になし。

## 課題番号 解析D2

### 課題名 SAIL法による蛋白質構造解析技術の多様化

代表機関・代表研究者：名古屋大学・甲斐荘 正恒

#### 1. 総評

独創的な Stereo-Array Isotope Labeling (SAIL)法は、概念を含めて基本的なところは本プログラム前に既に完成している。したがって、個別課題のタンパク質構造解析技術が要求する多様化に対して、本法の実用化をどこまで進化させ普及に必要な開発が行われたか、またどの程度浸透させて実績を挙げたかが評価の焦点である。残念ながらこの点に関しては、現時点で目標に達していないと思われる。本法が一般化、多様化されるかどうかは費用対効果から難しいのではないだろうか。しかしながら、本法の発信と高度化に熱心に取り組んでいる。

これらの内容を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた成果は、優れた水準に達していると評価できる。

#### 2. 研究の進捗状況について

本研究課題におけるハードルであった同位体ラベル化タンパク質の発現の目途がついたこと、さらには高価なラベル化アミノ酸の再利用の可能性も見出されたことなど、本法の利用価値は向上した。さらには、解析法についても着実に進展している。しかしながら、プロジェクト期間中に本法でしか得られない解析例が見出されるかどうかについては、疑問が残る。

#### 3. 研究体制について

研究体制については単独研究であるので問題はないだろう。Guenter 研究室（独）との連携も進んでいるようである。今後は利用者の輪を広げていく努力が必要と思われる、そのためには個別課題克服に向けた本法適用のメリットを十分に伝える研究成果をあげなければいけない。具体的な解析例を増やし、ニーズ探索や幅広い連携を期待する。

#### 4. 今後の展望について

分子量限界を超えた NMR 測定技術革新として SAIL 法は高い評価を得たが、NMR の機能解析への展開については高いコストの問題もあり、ニーズが乏しいのではないだろうか。それを克服するためにも個別課題に貢献する実績を期待したいところである。大きな成果の発信となる発見が求められる。ユーザーが SAIL 法を利用する機会を増やすために、そのタンパク質が本法による解析に向いているかどうかを判定して表示するツールを作れば、一般のタンパク質研究者が本法をより理解して利用の機会を増やすかもしれない。

本研究の実施期間は3年間であり、平成21年度で終了する予定であった。研究の進捗や今後の展望を踏まえて考えれば、本研究課題は、実施期間を延長すべきと判断される。

#### 5. その他特記事項

特になし。

## 2-6 「制御」領域

課題番号 制御C

課題名 化合物ライブラリーの基盤構築とタンパク質制御技術の開発

代表機関・代表研究者：東京大学・長野 哲雄

### 1. 総評

本格的な化合物ライブラリーの構築とスクリーニング拠点構築の第一歩を踏み出した。代表研究者の強い意気込みを感じる。中間評価の時点で既にターゲットタンパク研究の個別課題(医学・薬学等への貢献等)との連携が実施されており、本研究課題の存在意義、必要性は改めて実証されたといえる。加えて、化合物ライブラリーのプログラム外への一般公開も開始しており、短期間で「制御」にふさわしい基盤を構築し、かつ機能させ始めていることは評価したい。

本研究課題の目的は、化合物プローブを効率よく取得し、いわゆるケミカルバイオロジー研究を推進するという、「創薬基礎研究基盤」を構築することである。その点をより明確にし、プログラムの後半は、情報の共有と成果の発信を積極的に行い、制御化合物を活用したタンパク質の機能解析への貢献に専心するべきである。しがたって、ヒット化合物から直接的に医薬品開発を行うことが本研究課題の軸ではないことから、化合物ライブラリーの構築は、特に「低分子」化合物に限定する必要はないともいえる。また、天然物化学等もより積極的に活用するべきである。

今後、外部利用を通じて産業界との連携にも積極的に取り組むならば、情報公開について十分考慮した新たな仕組み・ルール作りが求められる。産業界における医薬品開発に関わる成果は、論文発表が出来ない、あるいは特許の出願を遅らせたい等、成果の公開・知財の取り扱いにアカデミアと相反する事項が多い。スクリーニング結果の報告義務や、成果の公開が義務づけられていることは、産業界に対してハードルを高くしているものと思われる。

全体としては、化合物ライブラリーの構築・拡大が着々と進んでおり、また、効率的なスクリーニング法もいくつか開発されていることから、着実に研究課題が進展していると判断される。以上の内容を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた成果は、優れた水準に達していると評価できる。

### 2. 研究の進捗状況について

標的タンパク質の複合体構造解析、機能解析等へ貢献する化合物ライブラリーの構築は達成されつつあり、計画に従い順調に進捗している。また、スクリーニング結果の蓄積、スクリーニング法の開発についても、良好な進展が見られる。

ケミカルバイオロジー研究の推進という点においては、優れた進捗が認められ、ターゲットタンパク研究の個別課題との連携も充分推進されている。

### 3. 研究体制について

化合物ライブラリーとスクリーニング拠点の構築という目的に沿った適切な体制が組み立てられており、代表機関を中心とした連携は十分であろう。また、ターゲットタンパク研究の個別課題との連携も実績を上げつつある。ただし、理化学研究所和光研究所との関係は不明確であると感じられた。基礎研究に主眼を置いたこの種の化合物ライブラリーは、統一的に運用する方が良いのではないかという疑問も残った。また、合成化合物と天然化合物、ランダムスクリーニングと *in silico* スクリーニングの役割分担と有機的連携が不明確であると感じられた。SBDD (Structure-Based Drug Design) のためのバーチャルスクリーニングと化合物ライブラリー基盤がタイアップしている点は効率的であるが、他のバーチャルスクリーニング研究者も自由に参入できるよう、ライブラリー化合物のリスト(構造情報や CAS 番号など)には制限をかけることなく広くデータを公開した方が、ライブラリー基盤全体の利用促進につながると考えられる。

#### 4. 今後の展望について

本研究課題の目標を明確にし、化合物ライブラリーがより適正に運用されることを望む。

今後順調に研究開発が進展すれば、ケミカルバイオロジー研究の推進という研究面の成果は十分見込まれる。一方で、ケミカルバイオロジーの推進という点においては、公的ライブラリーとして、より多くの研究機関に利用されることがさらなる波及効果につながる。そのため、プログラム後半では、ターゲットタンパク研究の個別課題との連携数をさらに増やすことが期待される。また、将来的な公的ライブラリー運用を視野に入れて、本プロジェクト外（一般の産官学）への開放を積極的に進め、克服すべき課題等を明確化し、現時点から対策を講じるべきである。3年間で43億投資したシステムの管理・運用、ライブラリー化合物の品質・保管量維持等は予想以上に大変である。本プロジェクト終了後に投資価値、存在意義、利用ニーズが問われるであろう。

#### 5. その他特記事項

特になし。

## 2-7 「情報プラットフォーム」領域

課題番号 情報C

課題名 ターゲットタンパク研究情報プラットフォームの構築運用

代表機関・代表研究者：情報・システム研究機構・菅原 秀明

### 1. 総評

タンパク3000プロジェクトは目標解析数を超えて、数的には大成功であったが、研究情報プラットフォーム（以下、情報PFと略す）の構築という点が幾分軽視され、オールジャパンでの成果共有が不十分であったとの指摘があった。この「成果共有」とは、他者が出した成果を別の者が利用する際の障害をなるべく取り除き、相互利用を促進することである。情報の場合、データが未公開状態であることは最大の障害であり、本事業費で生産されたデータが原則的に誰でもすべてダウンロードでき、多目的な二次利用が制限されない環境づくりを統合的に目指すことは、この情報PFの最大の使命である。成果共有の推進に向けて情報PFがイニシアティブを発揮できるよう本プログラム統括者の指導力も必要であり、もし公開ポリシーについてプログラム内部で意見が対立した場合には、プログラム外の利用者の視点に立って成果共有が容易に進む道を選択されたい。前プロジェクトの反省も踏まえ、本研究課題では、個別研究課題の分担研究者への情報基盤提供だけでなく、最終的にはオープンに成果提供することを視野に入れる必要がある。情報だけでなく、生産、解析、制御の基盤をより効率的に利用させるためにも情報PFが果たすべき役割は大きい。本研究プログラム自体が基礎・モデル研究プログラムであり、得られた結果が広く利用できる体制を作るためにもさらなる尽力が必要である。研究面におけるプログラム全体の連携をこれまで以上に促進させる成果が情報PFに求められるため、本研究課題の実施者は、自らの研究課題をプログラム全体の問題として本気で取り組む姿勢が重要であり、自己満足や一部の研究課題のみを満足させるシステム開発に陥ることがないよう、自ら提案する各システムの必要性や費用対効果について判断できる専門家をプログラム外からも交えてオープンに議論する場も必要である。多くのシステム開発が行われているが、それぞれの開発コストと運用コストが明確化されていないため、総額として現在の予算規模が適切であるかどうか意見が分かれるところである。また、本事業の他の課題の実施者からの利便性に関する評価が十分に得られていない印象もあった。

これらの内容を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた成果は、十分な水準に達していると評価できる。

### 2. 研究の進捗状況について

ポータルサイト、進捗マネジメントシステムにおける報告書の共有、予約システムの開発など事務的なツールは進捗がみられ、さらに利用もされており、プログラムに最低限必要なシステムの整備は適正に進捗している。

実験マネジメントシステムについては意欲的な取り組みがなされており、実験プロトコルの標準化に向けて他の研究課題の実施者から協力を得てプロトコルデータをオントロジーとして作成し共有化させる努力は着実な進捗がみられ評価できる。一般的な意味での「実験プロトコルの標準化」といえば、「ラボ間で異なりがちな実験方法を一致させることにより、異なるラボで得られたデータが相互に比較統合可能になる」といったメリットが明確であるのに対し、この課題では「記述方法の標準化」の方に重点を置いているため、そのメリットが他の研究課題の実施者から十分に理解されていない感がある。オントロジーを使った記述はデータの機械可読性を高める観点から重要であるが、できるだけ早期にそのメリットを実例として示し、他の研究課題の実施者から実験情報を統合化する活動への理解と協力を十分に得ていただきたい。

研究成果のデータベースであるターゲットDBについては、PDBjや理研との連携関係を形成することでタンパク3000事業の成果統合にむけた着実な進展がみられる。一方で、しっかりした情報基盤をもたない大学等からのデータ回収をいかに行うかが課題である。まずは本事業で回収を急ぐべきデータ、つまり、理研以外の大学等においてタンパク3000事業費により生産され未だ公開されていないデータを回収して公開化すること、および、本ターゲットタンパク研究プログラムタンパクの

事業費で生産されるデータの公開化を進めることを、この情報 PF から着実に実施していく必要がある。情報 PF は、どれだけシステムを作ったかを進捗報告するだけでなく、未公開データをどれだけ公開して成果共有を推進したのか進捗報告も求められる。

### 3. 研究体制について

情報 PF 内における分担はうまく行われている。一方で、情報 PF が個別課題間の連携を生み出すのにどれだけ貢献しているかが見えていない。この連携促進こそ情報 PF の活動の骨格であるが、各課題が互いに連携するかしないかは最終的には各課題の意思に委ねられるため、情報 PF だけの問題ではない。一般的に各研究者は自ら進んで情報提供をすることは少ないので、情報 PF がシステム作りだけで空回りしないように、プログラム全体としてのトップダウンの施策も必要である。

一方、情報 PF は他の課題からデータを出させるだけでなく、自らのデータを進んで共有化する余地も大きく残されている。本事業で生産されるデータは実験データだけでなく、システムのプログラム等も含まれる。本事業費で開発したと報告しているシステムを自らだけで運用サービスするのではなく、オープンソースによる共有化を進めることで、他の利用者が情報 PF の成果を自分のラボ内でも完全に再利用できるように提供し、データ面での成果共有を情報 PF が自ら率先して示すことは、各個別課題のデータ公開を促す上でも見本となるだろう。

今後計画されている個別マネジメントシステム（LIMS）は本プログラム終了時にデータを保全する仕組みとしても大変重要であるが、どのように構築していくかの見通しが現時点で明確化されていない。LIMS の構築は現場のニーズに即応できる体制で臨まないと研究活動全体への影響も大きく、LIMS 提供については慎重な計画性が要求される。まずは LIMS 構築を望む、あるいは緊急性の高いラボから優先順位をつけて LIMS を提供する一方で、最終的にはすべてのラボからデータ回収を確実に実施する方策が必要である。本ターゲットタンパク研究プログラムの事業費で生産されるデータの公開共有化をこの情報 PF から確実に実施していくために、情報 PF では、各研究者が生産するデータのリストを作成して進捗MSに掲載し、それぞれのデータ回収に適切な方法とコストを見積もり、実施計画を具体化すべきである。

### 4. 今後の展望について

この情報 PF はデータベースにかなりの重点を置いているが、バイオインフォマティクスはデータの解析だけでなく、本プログラムで高度化が進む実験技術を利用する上でも工夫次第で多くのことができる。たとえば、SAIL法のようにタンパク質中に埋もれているセリンの解析を行う優れた技術がプログラム内にあるのであれば、情報 PF としては、利用者が自分のタンパク質のアミノ酸配列をクエリーとしてデータベース検索した際に、SAIL法で解析するのに使えそうなアミノ酸があればその存在情報を合わせて提示するようにシステムを構成するなど工夫する余地は大きい。今後はデータの統合だけでなく、個々のタンパク質の特徴と各実験技術の特徴をマッチングさせる統合化にもバイオインフォマティクスを活用すべきである。

### 5. その他特記事項

特になし。

## 課題番号 情報D

### 課題名 タンパク質の複合体構造を推定するための構造バイオインフォマティクス

代表機関・代表研究者：お茶の水女子大学・由良 敬

#### 1. 総評

高難度のタンパク質複合体構造解析には多大な時間と経費がかかること、その成果から大きな波及効果が期待されること、等を考慮すると、高精度モデリング手法の確立・有効利用は重要である。タンパク質複合体の構造予測は難しい課題であり、これまで多くの試みがなされているがよい手法は未だ開発されておらず、挑戦的なテーマである。要素技術のブラッシュアップからそのインテグレーションまで、複合体構造の推定に具体的に挑戦する試みはこれから実施することになっており、最大の難関を実施者らが解決できる見込みを示すデータが現時点では示されていないが、機能解析への展開にも関わる重要な分野であること、また、産業界では構造バイオインフォマティクスが少し軽視される傾向にあるため、本プログラムでは特に構造バイオインフォマティクスの将来的な有益性にむけて産業界の代わりに開拓的研究を行う必要がある。実施者らは唯一のバイオインフォマティクスD課題として新たな可能性を切り開こうとしている。

これらの内容を踏まえて考えれば、本研究課題の進捗及び得られた成果は、優れた水準に達していると評価できる。

#### 2. 研究の進捗状況について

進捗は認められ計画的に進んでいるが、現時点において実施者が生み出したこれまでの成果は従来の技術を大きく越えるものではない。実施者が開発したアラインメント技術についても、Clustal Wと比較するのではなく、立体構造情報を考慮に入れた他の最新の手法との比較データが示されていないためブレイクスルーを評価できないが、タンパク質のモデリング、会合様式の解明等のソフトの開発の進展はうかがえる。複合体形成における構造の induced fit 等の変化は最終的な予測の成否に大きな影響を及ぼす要因であるが、実施者の説明からは構造変化が予測成功率に与える影響を過小評価しているように思われる。本研究課題がD課題であることから、現時点でこの複合体形成状態の探索問題にブレイクスルーを生み出せると思わせるようなデータが求められる。複合体構造予測は最も重要な課題のひとつであり、本プログラムではバイオインフォマティクスとして唯一のチャレンジングな課題であるため、たとえ現時点でネガティブな結果が出ていたとしても、工夫を凝らしながら難関に果敢に挑戦しているのであれば、実施継続を支持したい課題ではある。

#### 3. 研究体制について

共同研究に関しても真摯に努力しており、役割分担、連携等も適切であると感じられた。最後のインテグレーションのステップではより密な連携が必要になり、代表者にはイニシアティブを発揮して有用なシステム提供を目指していただきたい。また今後は、他の課題との連携を増やして有用性を具体的に示すとよい。

#### 4. 今後の展望について

構造バイオインフォマティクスはこれまでかなりのアプローチがなされており、劇的なブレイクスルーはそう簡単には望めないが、その時点で最良な手法を本プログラムに提供しつづけることは必要であり、会合体形成の可能性、その形状などの情報が得られればタンパク質の機能・制御の解明につながり、有効な情報が得られる。この方向に向かっての進展も期待したい。

本研究課題の実施期間は3年間であり、平成21年度で終了する予定であった。研究の進捗や今後の展望を踏まえて考えれば、本研究課題は、実施期間を延長すべきと判断される。

#### 5. その他特記事項

特になし。



### 3. 評価委員会委員名簿（敬称略：五十音順）

委員名	所属	役職
石井 茂孝	野田産業科学研究所	副理事長
井本 泰治	崇城大学生物生命学部	教授
魚住 武司	東京大学	名誉教授
大島 泰郎	共和化工株式会社環境微生物学研究所	所長
上野川 修一	日本大学生物資源科学部	教授
桐野 豊	徳島文理大学	学長
◎ 郷 通子	情報・システム研究機構	理事
豊田 哲郎	理化学研究所生命情報基盤研究部門	部門長
夏目 徹	産業技術総合研究所バイオメディシナル情報研究センター	チーム長
成宮 周	京都大学大学院医学研究科	教授
西島 和三	持田製薬株式会社医薬開発本部	主事
西島 正弘	国立医薬品食品衛生研究所	所長
垣生 園子	順天堂大学医学部	客員教授
平野 久	横浜市立大学大学院国際総合科学研究科	教授
○ 森島 績	立命館大学生命科学部	客員教授
◎ 主査		
○ 副主査		