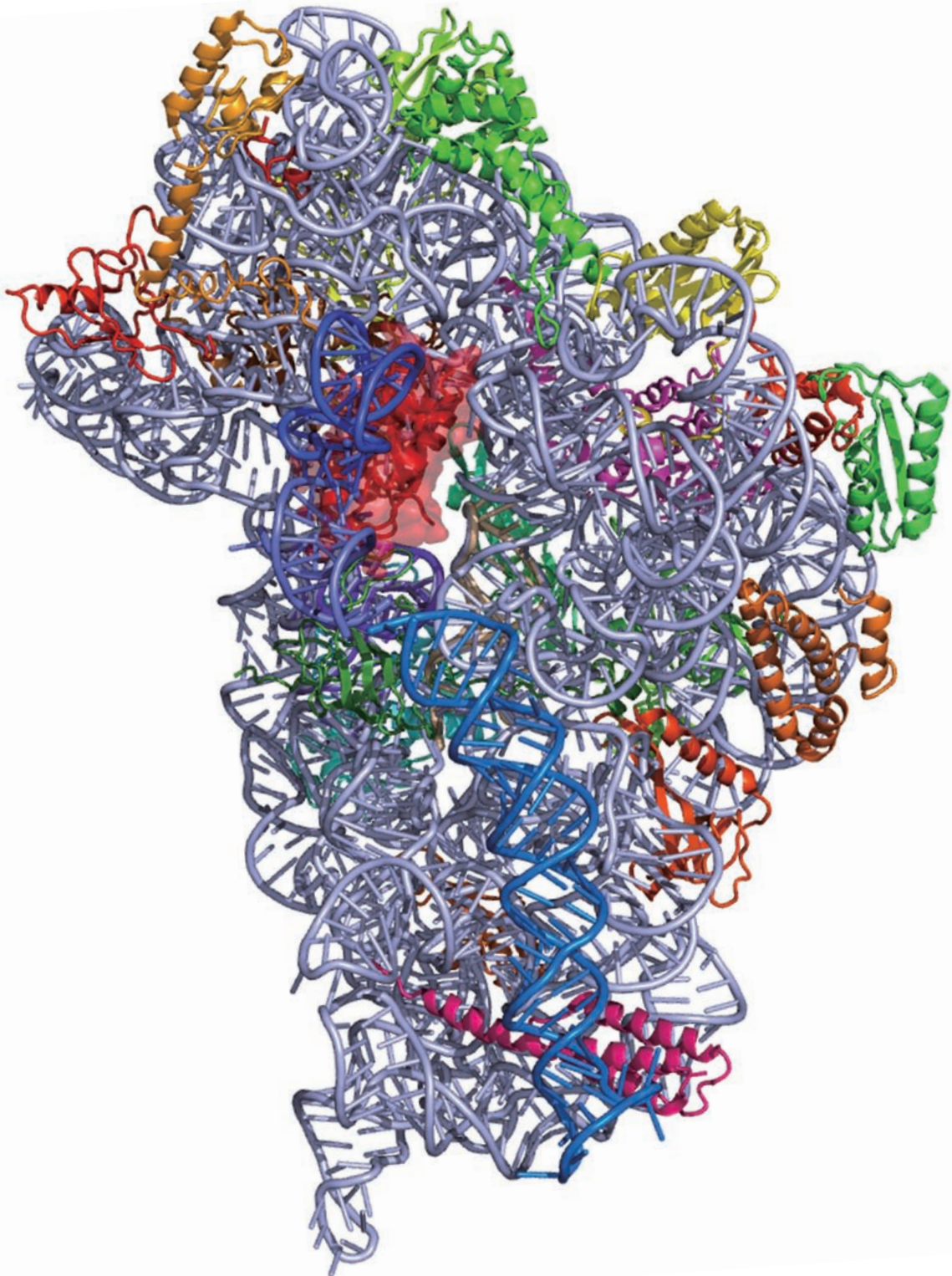


文部科学省

ターゲットタンパク 研究プログラム

Targeted Proteins Research Program



ごあいさつ..... 1

プロジェクトの背景

なぜ、構造解析の難しいタンパク質に挑戦するのでしょうか？..... 2

構造解析が難しい理由はいろいろあります..... 3

例えば、メタボの治療や予防も手がかかりはタンパク質 4

構造解析と機能解析のキャッチボールで理解が深まります 5

プロジェクトの概要

プロジェクトの目的・期待される成果・研究期間と予算 6

課題一覧

技術開発研究..... 7

ターゲットタンパク研究..... 8

技術開発研究課題紹介

「生産」領域 10

「解析」領域 14

「制御」領域 17

「情報プラットフォーム」領域 18

ターゲットタンパク研究課題紹介

「基本的な生命の解明」分野 20

ターゲットタンパク研究課題紹介

「医学・薬学等への貢献」分野 32

ターゲットタンパク研究課題紹介

「食品・環境等の産業利用」分野 42

ごあいさつ

ライフサイエンスは、生物が営む生命現象の複雑かつ精緻なメカニズムを解明する基礎科学として重要であるとともに、医療の飛躍的な発展、食料・環境問題の解決につながるなど、生活の向上および経済の発展に大きく寄与するものとして期待されています。

その中でも、生物機能の直接の担い手であるタンパク質の立体構造と機能の相関を解明する構造生物学は、ライフサイエンス全体の基盤としての役割を果たすと同時に、その研究成果が医薬開発や産業利用につながることから、欧米をはじめ世界各国で国家的な取り組みが行われています。

わが国においても、平成14年度より5 ヶ年にわたって実施された文部科学省の「タンパク3000プロジェクト」などにおいて、大型放射光施設や大規模NMR等最新の機器・施設を整備するとともに、多数の研究者を結集して多様なタンパク質の立体構造の解析を進めることによって、わが国の構造生物学の水準を飛躍的に引き上げてまいりました。

このような背景の下で、文部科学省大規模研究開発事業「ターゲットタンパク研究プログラム」が平成19年度より5 ヶ年計画で始動しました。本研究プログラムは、これまでに「タンパク3000プロジェクト」などで蓄積された構造生物学上の成果や整備された基盤を最大限に活用しつつ、現在の技術水準ではなお解析が困難ではあるが、学術研究や産業応用等に重要と考えられるタンパク質を主要ターゲットに選定し、それらの構造・機能相関の解析やそのために必要な技術開発を行うことを目的としています。

本研究プログラムは、構造生物学の進展に大きく寄与することを通じて生命科学の幅広い分野に貢献し得るのみならず、疾患関連タンパク質や食品、環境、産業利用等応用に直結する機能を有する多様なタンパク質をターゲットに取り入れて構造・機能解析を進めることによって、医療、環境、食品など社会・経済上の意義の高い研究成果を創出し得るものと期待されます。

この度、「ターゲットタンパク研究プログラム」にて現在鋭意推進中の43の研究課題について、各研究分野に分けてその取り組みを紹介し、さらに期待される本研究開発の成果等を紹介するパンフレットを作成しました。

また、「ターゲットタンパク研究プログラム」のホームページやシンポジウムの開催を通じて、研究内容やその成果を紹介していくことにしております。

日進月歩の激しい国際競争が展開されているこの分野において、本研究プログラムに参画している研究者はもとより、幅広い関連分野の研究者との交流・協力を強化しながら、わが国研究者の総力を結集して、未来を切り拓く創造的な研究成果を創出し、国民の皆様の期待に応えられるべく取り組んでまいりたいと考えております。

平成20年8月
ターゲットタンパク研究プログラム推進委員会
委員長 別府 輝彦

なぜ、構造解析の難しいタンパク質に挑戦するのでしょうか？

私たちの体は数十兆個もの細胞からなっており、一つひとつの細胞の活動が私たちの「生命」の基本となっています。細胞はさまざまな成分からできていますが、なかでもタンパク質は、細胞の活動を推し進め、調節するという大切な役割を果たしています。

細胞の中ではたらくタンパク質は何万種類もあり、それぞれが独自のかたち(立体構造)とはたらき(機能)をもっています。細胞の活動の鍵となるタンパク質の構造と機能を解明することは、生命のしくみを理解する上でとても重要です。また、多くの病気は細胞の活動の不調に由来するので、病気の治療法を開発するのにも大切です。さらに、動植物や微生物

物を上手に利用して食料や有用物質を生産するのにも、タンパク質の研究は貢献します。

これまでの研究により、タンパク質の構造を解析するための基本的な手法はほぼ確立されています。生命にとって重要なタンパク質の構造が次々に明らかになり、これに伴って機能の解明も大きく進みました。

しかし、タンパク質の構造は千差万別で、構造解析のしやすいものもあれば、難しいものもあります。構造解析が難しく、まだ構造が明らかになっていないタンパク質(高難度タンパク質)の中にも、重要な機能をもったものはたくさんあります。これからは、そのような高難

度タンパク質の構造と機能の研究にも挑戦していかなければなりません。

例えば、細胞膜に埋まった形ではたらく膜タンパク質は高難度タンパク質の代表ですが、膜タンパク質は細胞の内外の情報やもののやりとりにかかわるため、薬の重要な標的となっています。このため、膜タンパク質の構造解析を行い、その機能を明らかにすることは、薬の開発のためにぜひとも必要です。

また、細胞の中のタンパク質は単独ではたらいっているわけではなく、さまざまな機能をもったタンパク質が相互に関係しあっています。このようなネットワークの鍵となるタンパク質が高難度タンパク質である場合、その構造と機能を明らかにすることは、ネットワークの全体像を把握するのに欠かせません。

このように、高難度タンパク質の構造と機能の解明は、細胞の活動を通して生命を理解し、病気の治療などに役立てるという大きな意義をもった研究なのです。

構造解析が難しい理由はいくつもあります

1個のタンパク質分子はとても小さく、大きいものでも1mmの1万分の1以下です。このため、普通の顕微鏡で観察しても、その構造は見えません。タンパク質の構造を調べるためにもに使われるのは、「X線結晶構造解析」と「NMR(核磁気共鳴)」という方法です。最近では、電子顕微鏡を用いた「単粒子構造解析」という手法も利用されています。

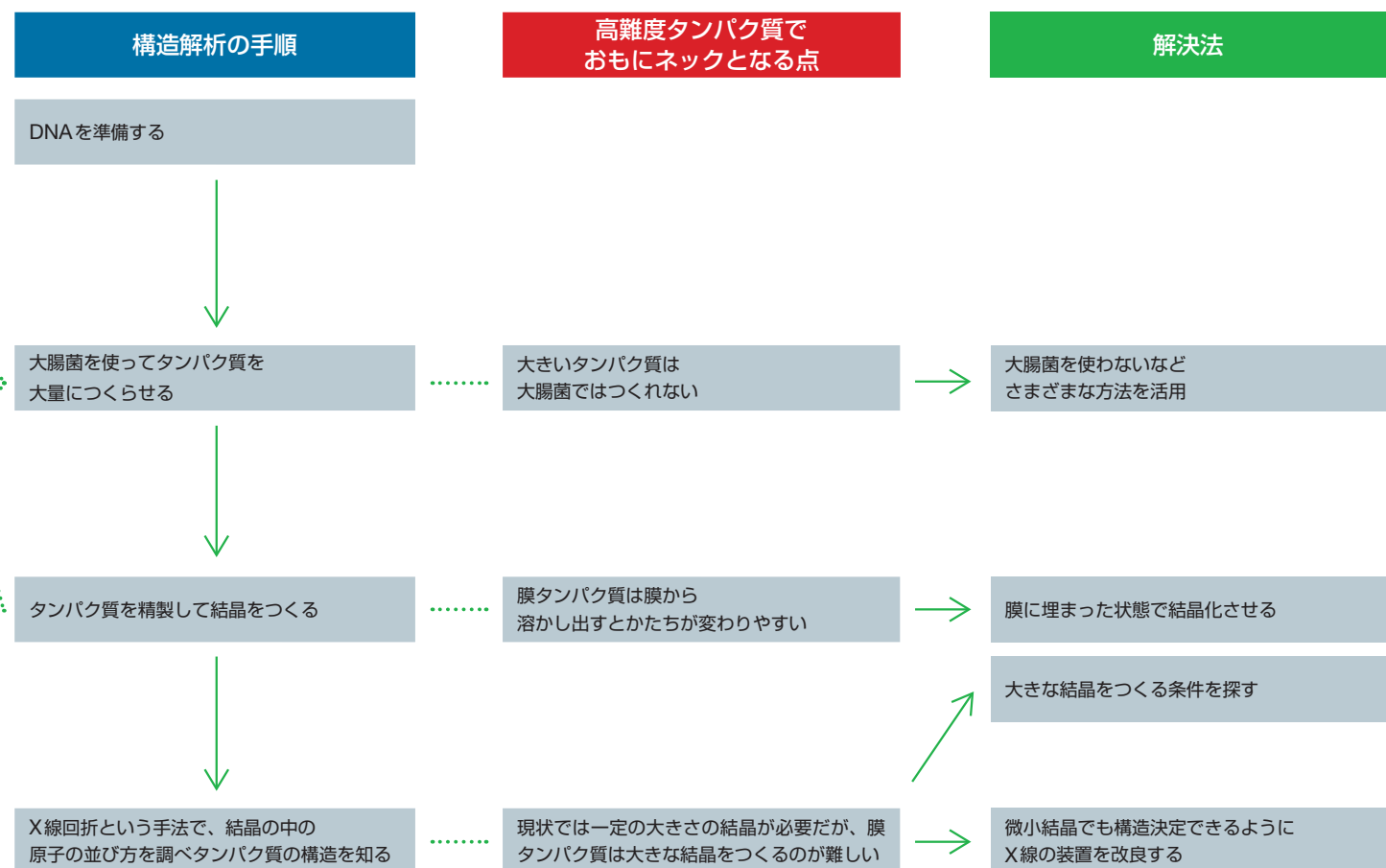
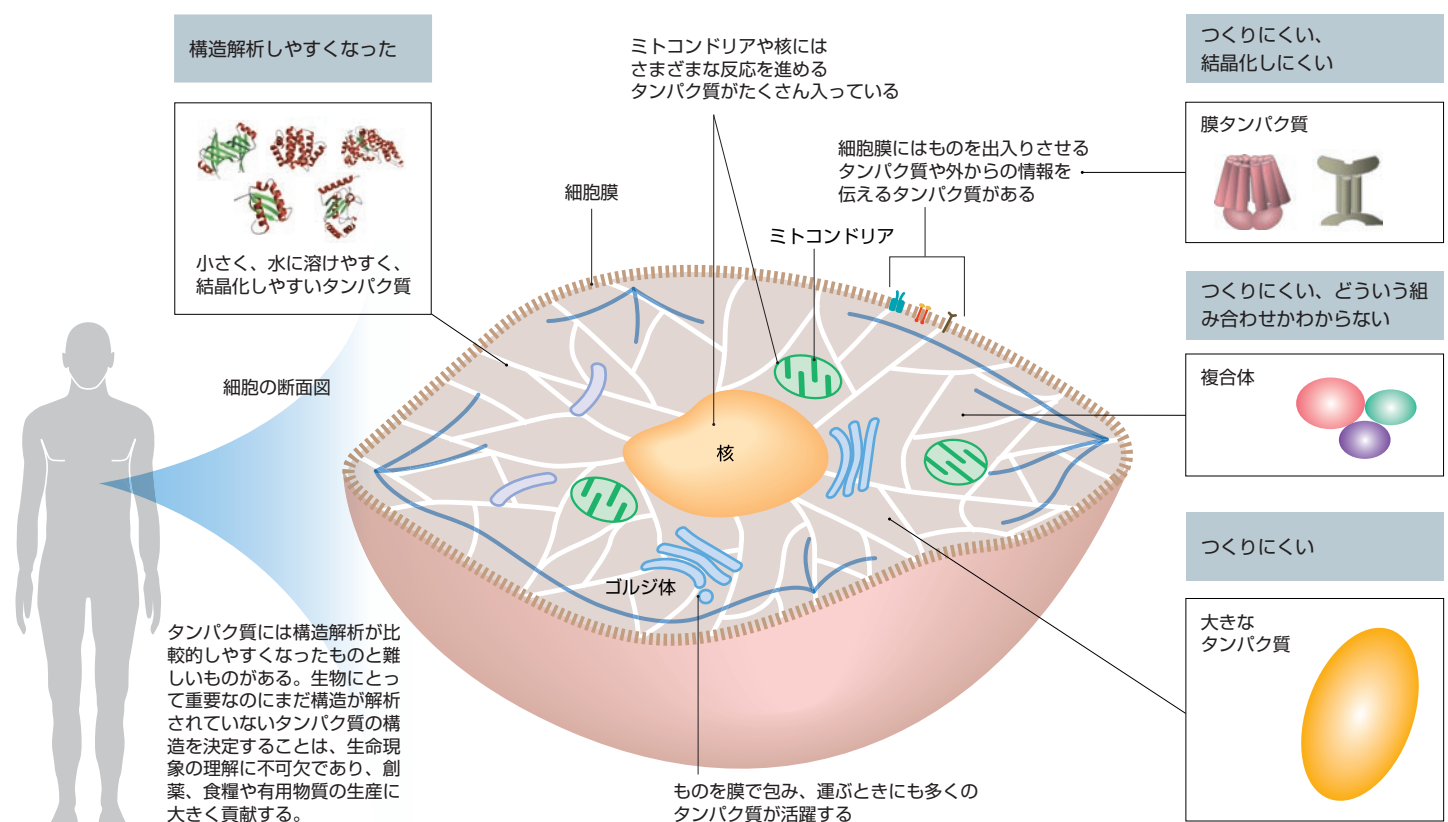
それぞれの方法について、高難度タンパク質の構造解析のための技術開発が進められていますが、もっとも一般的に使われるのはX線結晶構造解析です。X線結晶構造解析は、純度の高いタンパク質を一定量つくり、それを結晶化させてX線をあて、得られたデータを解析すると

いう手順で行われます。高難度タンパク質を対象とする場合は、少なくともそのうちのどこかがネックとなるのです。

例えば、とても大きいタンパク質の場合、「タンパク質をつくる」という段階がネックになります。タンパク質は、大腸菌にDNAを入れてつくらせるのが一般的ですが、大腸菌はあまり大きなタンパク質はつくってくれないことがよくあります。一方、細胞膜に埋まった状態ではたらく膜タンパク質の場合は、大腸菌がつくってくれるものの、膜の中での構造を保ったまま取り出すのが困難です。機能を理解するためには、はたらいているときの構造を知る必要がありますから、これは大問題です。

また、細胞の中では、タンパク質が何個が集まって複合体をつくり、その複合体がはたらくということもよくあります。そういう場合は、構成メンバーとなるタンパク質を大腸菌に一度につくらせますが、メンバーが正しく組み合わさった複合体を得ることはとても難しいのです。このほかにも、タンパク質にはそれぞれ個性があり、解析の手順のどこかでそれがネックとなる場合があります。

このように、一口に「高難度タンパク質」といっても、タンパク質によって難しい部分が違います。高難度タンパク質の研究に取り組むには、こうした困難を克服するための技術開発を進めていかなければなりません。



例えば、メタボの治療や予防も
手がかりはタンパク質

私たちの体にとって重要なのに、構造解析が難しいタンパク質にはどんなものがあるでしょうか。ここでは、メタボリックシンドローム（MS）・糖尿病と関係の深いものを紹介しましょう。

MSとは、過食や運動不足などによって内臓脂肪がたまり、血圧や血糖が上昇して心筋梗塞や脳卒中を起こしやすくなった状態を指します。内臓脂肪の脂肪組織は、筋肉や肝臓にはたらきかけるさまざまな物質を分泌します。健康な状態では、脂肪組織は「善玉物質」を分泌し、筋肉や肝臓での脂肪の燃焼を促すのですが、脂肪組織が肥大すると、善玉物質の分泌や作用が低下し、「悪玉物質」の分泌が増え、筋肉や肝臓に脂肪が蓄積して

MSを引き起こすのです。

そこで、善玉物質や悪玉物質がやってきたとき、細胞の中でどんなタンパク質がはたらくのかという視点から、この病気を理解しようという研究がさかんに行われています。こうした理解は、MSの治療薬の開発や予防法の確立につながるものと期待されます。

例えば、善玉物質の刺激ではたらくタンパク質の構造と機能を解明し、そのはたらきを強めるような物質を見つけられれば、それが治療薬の開発の手がかりとなります。「ターゲットタンパク研究プログラム」では、実際に、善玉物質の一種「アディポネクチン」に着目して、そのような研究を進めています。ターゲッ

トは、アディポネクチンが作用する際にはたらいくつかのタンパク質ですが、その中に、とりわけ構造解析の難しいものがあります。細胞膜にあるアディポネクチン受容体というタンパク質で、本研究プログラムに参加している東京大学大学院医学系研究科の門脇孝教授らが発見しました。

さらに、この受容体に結合する天然物質で、アディポネクチンより強い作用を示すものも発見しており、この天然物質をもとにMSの治療薬を開発できる可能性があります。そのため受容体の構造と機能はもちろん、この天然物質と受容体が結合したときの構造についても研究を進めています。

この例からもわかるように、高難度タンパク質の構造と機能を解明することは、病気の治療や予防に直接つながる、とても大事な研究なのです。

構造解析と機能解析の
キャッチボールで理解が深まります

タンパク質の中には、構造をただで、「このポケットにあの分子が結合して反応するのか」というように機能がすぐにわかるものがあります。しかし、高難度タンパク質の場合は、そもそも構造を解析するのがたいへんです。さらに、「何かが結合する場所」がいくつもあることが多く、それらが機能にどのように貢献しているのかを知ることは容易ではありません。また、何かが結合することにより、構造が大きく変わる場合もよくあります。

このため、高難度タンパク質の研究では、機能解析で得られた情報を用いて構造解析を進め、構造解析で得られた情報を機能解析に生かすというように、構造

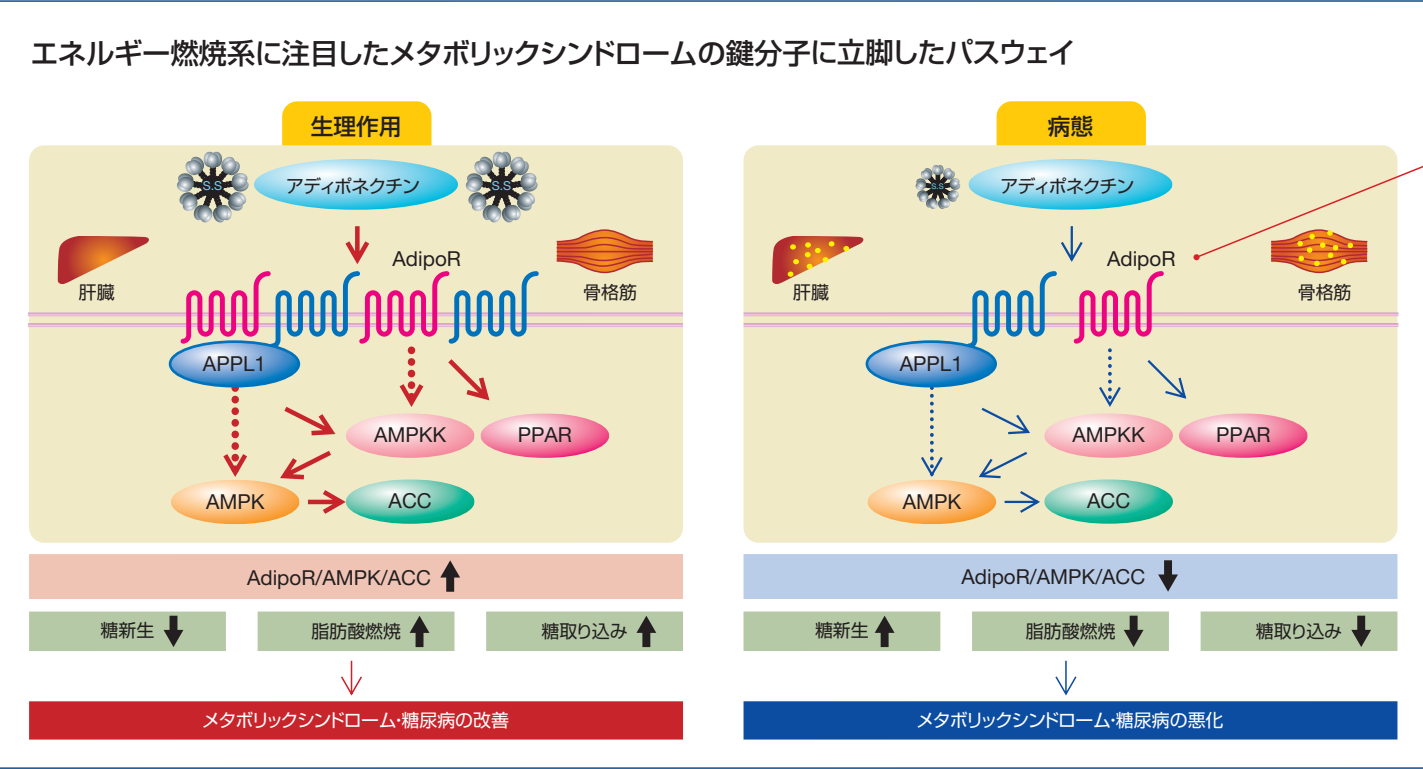
解析と機能解析が互いを少しずつ前進させるような地道な取り組みが行われています。

例えば、アディポネクチン受容体の場合、機能解析の側から、この受容体が細胞膜にどのように埋まっているのかについて重要な情報がもたらされました。この受容体の膜への埋まり方は、多くの膜タンパク質とは違っていると考えられ、構造解析も多くの膜タンパク質よりさらに難しいことがわかったのです。しかし、機能解析からは、このタンパク質の大量合成や結晶化を行うのに必要な情報も次々にもたらされており、それをもとに構造解析への挑戦が続いています。

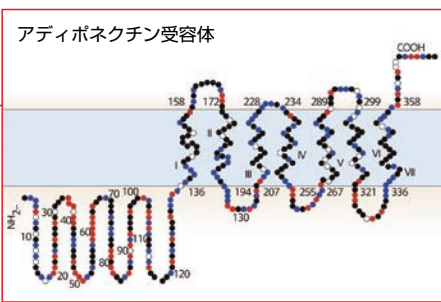
構造解析が進むと、「何かが結合しそ

うな場所」が明らかになってきます。アディポネクチンはどこに結合するのか、それより強い作用を示す天然物質はどこに結合するのか。結合したときに構造はどのように変化するのか。こうした構造解析からの情報が、より詳しい機能解析に役立ち、その機能解析からの情報が、さらに精密な構造解析へとつながります。こうした研究の積み重ねが、効果の高い薬の開発へと発展していくのです。

もちろん、このような「構造と機能のキャッチボール」で理解が進むのは、アディポネクチン受容体だけではありません。これまで構造が解析されず、機能も十分に解析されてこなかった数々のタンパク質について理解が進めば、さまざまな病気の治療や予防に役立つのはもちろん、細胞の活動、ひいては、広く生物学の世界に新たな見方がもたらされる可能性もあるのです。

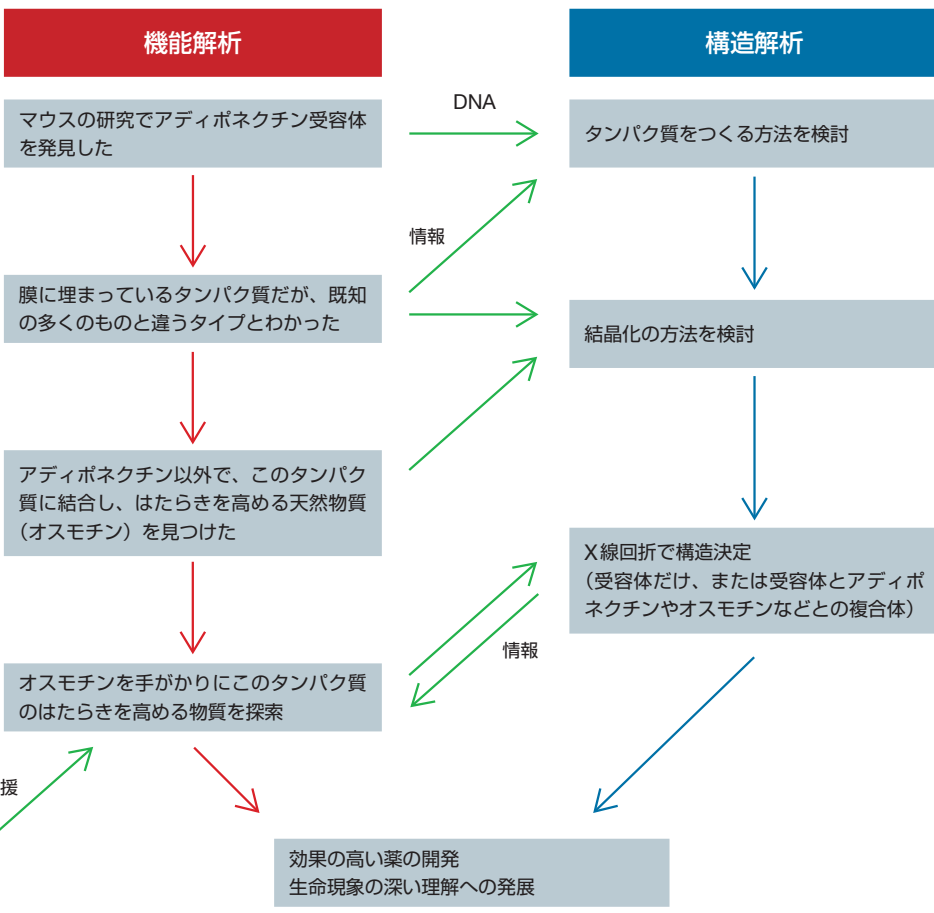


脂肪細胞から分泌されるアディポネクチンは、まず、細胞膜にあるアディポネクチン受容体（AdipoR）に結合する。この受容体からの情報によってAMPKKがAMPKという酵素をリン酸化・活性化する。アディポネクチンはおもに肝臓で糖新生を抑制するとともに、肝臓や骨格筋では脂肪酸の燃焼を促進している。これらの結果、メタボリックシンドローム・糖尿病が改善すると考えられている。ターゲットタンパク研究プログラムでは、アディポネクチン、AdipoR、AMPKK、AMPK、ACCなどを中心に構造と機能の解析を進めている。この研究課題の詳しい紹介はp.37参照。図版提供：門脇 孝



アディポネクチン受容体は、タンパク質のひもが細胞膜を貫いて往復するかたち折りたたまれていると考えられている。タンパク質のひもには始まりと終わりがあり、多くの膜タンパク質は、細胞膜の外側に始まりがくるが、この受容体では内側にきている。つまり、この受容体は、多くの膜タンパク質とは膜に埋まるときの向きが逆である。

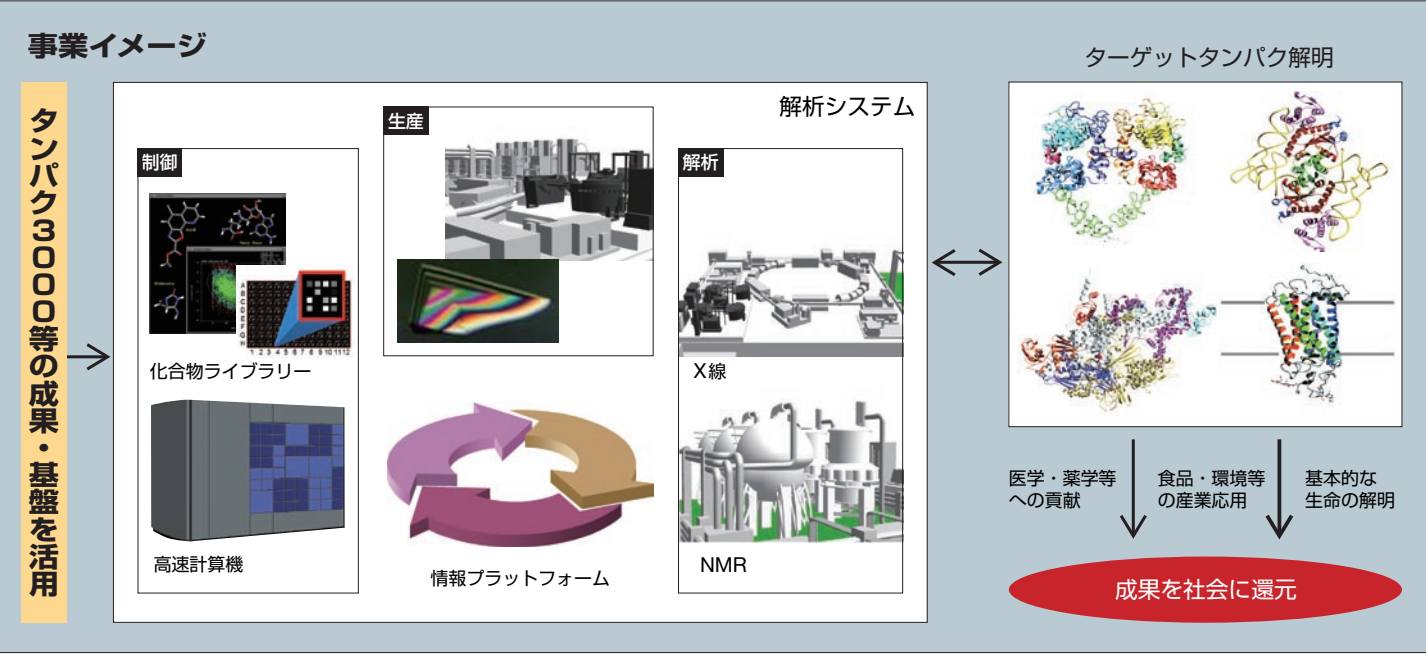
膜タンパク質である上に、きわめて珍しいタイプなので構造解析は難しい。このため、機能解析と構造解析の密接なやりとりで構造解析を進めると同時に機能についての理解を深める。その結果がメタボリックシンドロームの治療や予防に貢献するとともに、生命現象の深い理解にもつながる。図版提供：門脇 孝



プロジェクトの目的

ターゲットタンパク研究プログラムは、これまでのプロジェクト等によってもたらされた研究成果や研究基盤（NMRおよびX線結晶構造解析施設等）を活用し、現在の技術水準では構造解明がきわめて難しいものの学術研究や産業振興に重要なタンパク質をターゲットに選定し、高難度タンパク質の構造・機能解析のための技術開発を行いつつ、ターゲットタンパク質の構造と機能の解明をめざすプロジェクトです。「技術開発研究」

では、タンパク質試料をつくる「生産」、立体構造を明らかにする「解析」、および機能を操る「制御」の技術開発を、また、「ターゲットタンパク研究」では、基本的な生命現象の解明、医学・薬学等への貢献、および食品・環境等の産業応用に向けてターゲットとなるタンパク質群の構造・機能解析を、一つのプロジェクトとして進めています。



期待される成果

本研究プログラムから生み出される成果は、病気の診断・治療法の開発、劣悪な環境でも生育可能な植物や高生産性の食用作物の開発、環境修復に役立つ高機能化酵素の開発などの産業応用につながることが大いに期待されます。また、プログラムを進める過程でタンパク質研究における構造・機能解析の革新

的な技術が開発され、現在の技術では研究がきわめて難しいタンパク質の機能が明らかになると期待されます。このことは、タンパク質が担う新たな生物機能の発見など、学術面での成果に直結するでしょう。

研究期間と予算

平成19年度から23年度

平成19年度	平成20年度
55億円	52億円

課題一覧

ターゲットタンパク研究プログラムは、多様な専門分野の研究者が参加する大プロジェクトであるため、「技術開発研究」を4領域、「ターゲットタンパク研究」を3分野に細かく分け、これら7つの領域・分野を単位としてプロジェクトを運営しています。

技術開発研究

①「生産」、②「解析」、③「制御」、および、④生産・解析・制御の情報を効率的に共有化するための「情報プラットフォーム」の各領域で展開される技術開発を対象としています。これらはさらに、本研究プログラム支援のために共通性・汎用性の

高い技術を開発し、その技術を生かすためのシステム整備を行う課題（区分C）と、高難度タンパク質の構造・機能解析のための革新的技術の開発に挑戦する課題（区分D）に分かれています。

生産

テーマ	区分	代表研究者	代表機関	紹介ページ
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	C	横山茂之	理化学研究所横浜研究所	10
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	D	高木淳一	大阪大学蛋白質研究所	11
膜タンパク質結晶化の革新的支援法の開発		加藤博章	京都大学大学院薬学研究科	12
抗体を用いた膜蛋白質結晶化技術の確立		岩田 想	京都大学大学院医学研究科	13

解析

テーマ	区分	代表研究者	代表機関	紹介ページ
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	C	若槻壮市	高エネルギー加速器研究機構物質構造科学研究所	14
固体 NMR 膜蛋白質複合体構造解析技術	D	藤原敏道	大阪大学蛋白質研究所	15
SAIL 法による蛋白質構造解析技術の多様化		甲斐荘正恒	名古屋大学大学院理学研究科	16

制御

テーマ	区分	代表研究者	代表機関	紹介ページ
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	C	長野哲雄	東京大学大学院薬学系研究科	17

情報プラットフォーム

テーマ	区分	代表研究者	代表機関	紹介ページ
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	C	菅原秀明	情報・システム研究機構国立遺伝学研究所	18
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	D	由良 敬	お茶の水女子大学大学院人間文化創成科学研究科	19

ターゲットタンパク研究

ターゲットの生物学的な特徴により、「基本的な生命の解明」、「医学・薬学等への貢献」、および「食品・環境等の産業利用」の3分野に分かれ、下図に示すようなタンパク質群の構造と機能の解明をめざしています。各分野に、公募時に明示したターゲット研究を着実に進める課題（区分A）と、A以外の創造的な研究課題（区分B）が含まれています。

基本的な生命の解明 12課題

- ・物質の輸送
- ・タンパク質分解（品質管理、量の調節）
- ・遺伝子の複製、発現
- ・シグナル伝達
- ・酸化ストレス応答
- ・細胞接着
- ・好気呼吸

などに関わるタンパク質群

医学・薬学等への貢献 10課題

- ・メタボリックシンドローム
- ・神経疾患（アルツハイマー、神経細胞死）
- ・自己免疫疾患
- ・感染症（致死性の寄生虫）
- ・がん
- ・炎症
- ・線維化疾患（肝硬変、腎硬化症）

などに関わるタンパク質群

食品・環境等の産業利用 11課題

- ・植物の環境ストレス応答
- ・植物の成長制御
- ・有用物質生産（抗生物質、キラル化合物、機能性糖類）
- ・害虫や害獣の繁殖制御
- ・新規CO₂固定系
- ・甘味や旨味の受容

などに関わるタンパク質群

●「基本的な生命の解明」分野

対象としたタンパク質の立体構造と機能の解析を通して、生命科学に新たな展開をもたらすようなタンパク質ネットワーク、シグナル伝達経路あるいは代謝経路等について、その基本的なしくみの解明をめざしています。

テーマ	区分	代表研究者	代表機関	紹介ページ
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	A	今田勝巳	大阪大学大学院生命機能研究科	20
巨大で複雑なタンパク分解装置の動態と作動機構		田中啓二	東京都医学研究機構 東京都臨床医学総合研究所	21
オートファジーに必須な Atg タンパク質群の構造的基盤		稲垣冬彦	北海道大学大学院薬学研究院	22
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		西村善文	横浜市立大学大学院国際総合科学研究科	23
新規膜電位センサー蛋白群の構造と機能の解明		岡村康司	大阪大学大学院医学系研究科	24
小胞輸送を制御するタンパク質複合体の構造機能解析		若槻壮市	高エネルギー加速器研究機構 物質構造科学研究所	25
細胞接着装置構成タンパク質の構造生物学的研究	B	匂坂敏明	神戸大学大学院医学研究科	26
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		山本雅之	東北大学大学院医学系研究科	27
H ⁺ -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		阿久津秀雄	大阪大学蛋白質研究所	28
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		吉川信也	兵庫県立大学大学院生命理学研究科	29
創薬に繋がる V-ATPase の構造、機能の解明		岩田 想	京都大学大学院医学研究科	30
非翻訳 RNA による高次細胞機能発現機構の解明		濡木 理	東京大学医科学研究所	31

●「医学・薬学等への貢献」分野

重要と考えられるにもかかわらず、現在の治療方法では十分とはいえない疾患と関わるタンパク質群を対象としています。ごく低濃度で効果のある薬剤の創成など応用可能な技術の開発を視野に入れ、健康を害するような異物から身を守るしくみや、病気になり症状が現れるまでのしくみなどの解明をめざし、対象タンパク質群の構造・機能解析を進めています。

テーマ	区分	代表研究者	代表機関	紹介ページ
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	A	審良静男	大阪大学免疫学フロンティア研究センター	32
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		福井宣規	九州大学生体防御医学研究所	33
神経細胞死に関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		住本英樹	九州大学生体防御医学研究所 (九州大学大学院医学研究院)	34
アルツハイマー病治療薬創出に向けた γセクレターゼの構造解析と機能制御		富田泰輔	東京大学大学院薬学系研究科	35
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		北 潔	東京大学大学院医学系研究科	36
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 タンパク群の構造解析とそれに基づく機能解明及び治療法開発		門脇 孝	東京大学大学院医学系研究科	37
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	B	松島綱治	東京大学大学院医学系研究科	38
核内レセプターの新規機能解析と構造情報に基づいた線維化疾患治療法の開発		柳澤 純	筑波大学生命環境科学研究所	39
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		青木淳賢	東北大学大学院薬学研究科	40
セマフォリン及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		熊ノ郷 淳	大阪大学微生物病研究所 (大阪大学免疫学フロンティア研究センター)	41

●「食品・環境等の産業利用」分野

食糧生産や食品の消費、あるいは、身近なものから地球規模までさまざまな環境問題の解決等、衣食住と密接に関わり、また、学術的にも興味深いタンパク質群を対象としています。これらタンパク質群の構造・機能研究は、将来の我が国の産業を持続的に成長させていくために重要です。

テーマ	区分	代表研究者	代表機関	紹介ページ
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	A	永田宏次	東京大学大学院農学生命科学研究科	42
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		堀之内末治	東京大学大学院農学生命科学研究科	43
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		田之倉 優	東京大学大学院農学生命科学研究科	44
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		松岡 信	名古屋大学生物機能開発利用研究センター	45
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		村上 聡	東京工業大学大学院生命理工学研究科	46
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	B	寺沢宏明	熊本大学大学院医学薬学研究部	47
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		山下敦子	理化学研究所播磨研究所	48
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		橋本 涉	京都大学大学院農学研究科	49
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		三木邦夫	京都大学大学院理学研究科	50
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		清水 昌	京都大学大学院農学研究科	51
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		島本 功	奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス研究科	52

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：理化学研究所横浜研究所
代表研究者：横山茂之

タンパク質の機能と構造を調べるには、まず目的のタンパク質を合成・精製して試料をととのえます。立体構造を知るためにX線構造解析を行うには、試料タンパク質を結晶にすることが必要です。ところが、重要な生命現象を担うタンパク質の中には、合成や結晶化が難しいものが少なくありません。生体膜に埋

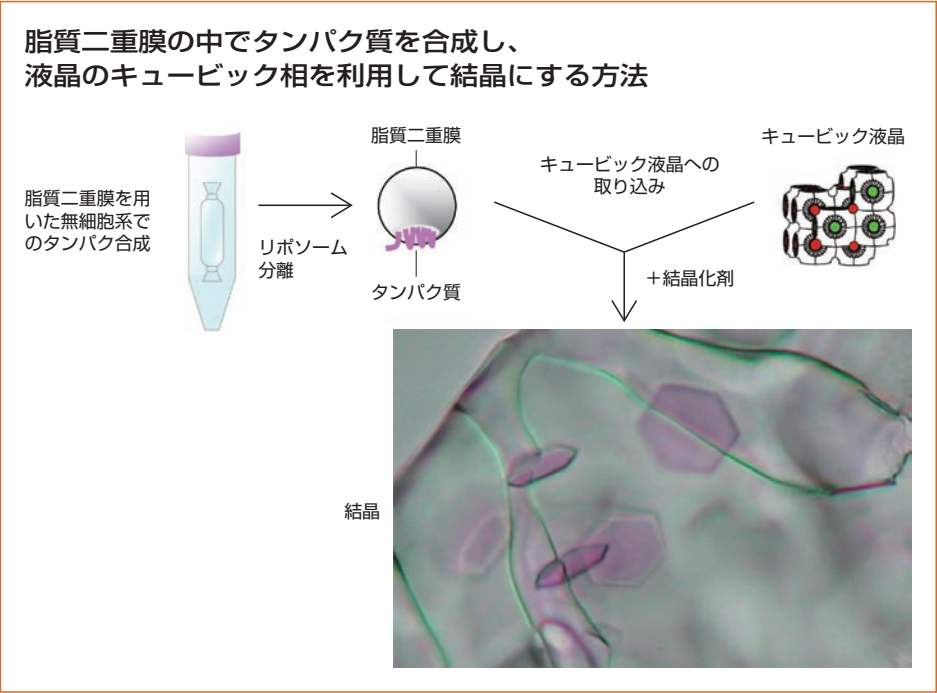
まるように存在する膜貫通型タンパク質やさまざまな分子が結合した巨大な複合体タンパク質はその代表的な例です。合成や結晶化の難点を解消する技術の開発は、タンパク質の機能と構造を知る上で大きな課題となってきました。私たちのグループの目標は、このための核心的な要素技術を開発することです。

解析に必要な量のタンパク質を得るには、大腸菌や酵母などの生きた細胞につくってもらう方法のほか、細胞の内容物を取り出して試験管内で目的のタンパク質を合成する無細胞タンパク質合成法が考案されました。この技術には、細胞にとって毒性をもつようなタンパク質でも扱える、いろいろな物質を加えて調べられるなどの利点があるため、大腸菌、小麦、ヒトなどに由来する細胞を活用する方法が工夫されています。

私たちの研究グループは、無細胞系に界面活性剤を加えたり、細胞膜に近い構造の脂質二重膜を加えて、膜タンパク質を合成することに成功したほか、ヒトの培養細胞を使って分子量15万を超える巨大タンパク質を合成することにも成功しています。この方法で、各種の受容体やその活性化酵素、イオンチャネルタンパク質、輸送タンパク質など40種類を合成して結晶化し、解析データを揃えたいと計画しています。

結晶化についても、私たちはさまざまな技術を提案してきました。脂質二重膜の中でタンパク質を合成し、そのまま結晶化する方法、液晶のキュービック相を利用して結晶にする方法、ゼオライトを活用する方法など、タンパク質の個性に合わせて安定的に結晶化する技術の開発を進めています。

タンパク質の構造と機能は表裏一体と言えるでしょう。私たちはこれからも、機能を表す代表的なタンパク質の構造を明らかにすることに貢献したいと考えています。



図版提供：横山茂之

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：大阪大学蛋白質研究所
代表研究者：高木淳一

構造解析が難しいタンパク質には二つのタイプがあります。一つは、決まった構造をとらなかったり、巨大な複合体を作ったりするために構造解析が技術的に難しいタンパク質。もう一つは、生産が難しいために、構造解析に必要な量を確保できないタンパク質です。

私たちは、これまでの経験から、難解析性タンパク質の多くは後者であると考えています。こうしたタンパク質の構造解析を行うには、「もっと生産量を増やす」か「少ない量で何とかする」という方法があります。私たちは、少ない量でも何とかするための有力な手段として、タンパク質にタグ（荷札）をつけ、そのタグを利用してタンパク質を見分ける技術を開発しています。

例えば、抗体は、決まったアミノ酸配列とだけ結合します。このアミノ酸配列をタグとして目的のタンパク質につけて

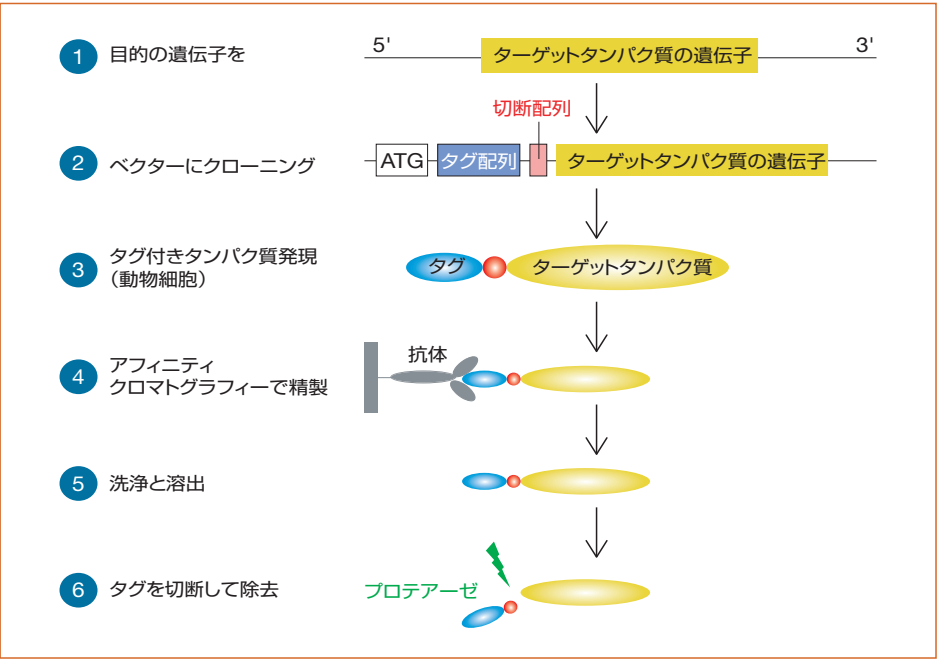
おけば、抗体は目的のタンパク質だけを選び出してくれます。抗体に蛍光色素をつけておけば目的のタンパク質だけが光るし、抗体を固定しておけば目的のタンパク質を精製することが可能です。このようなアミノ酸配列を「アフィニティタグ」、このタグに結合する抗体を「アフィニティタグ抗体」といいます。

生産の難しいタンパク質として、細胞外タンパク質や膜タンパク質があります。これらの多くは動物細胞を使わないと生産できず、生産できても極微量しか得られないのです。そういう場合に、アフィニティタグ抗体を用いれば、細胞が目的のタンパク質をつくっているかどうかの判別や、目的とするタンパク質の効率的な精製が可能になると期待されます。しかし、市販のアフィニティタグはさまざまな問題を抱えています。

そこで私たちは、微量のタンパク質で

も確実に検出・精製でき、誰もが簡単に使えるアフィニティタグ抗体の開発をめざしています。すでに2種類のアフィニティ抗体を得ており、タグとなる配列の決定や、目的のタンパク質にタグを付加するためのベクターの構築に取り組んでいます。また、抗体を用いず、短いペプチド同士の結合を利用するタグシステムの研究も進めています。

生産の難しい細胞外タンパク質や膜タンパク質の中には、医学的・生物学的に重要なものがたくさんあります。タグ技術の開発により、微量にしか得られないこれらのタンパク質の構造解析が進めば、医学・生物学の進展に大きく貢献することでしょう。



アフィニティタグを用いたターゲットタンパク質の精製。図版提供：高木淳

膜タンパク質結晶化の革新的支援法の開発

代表機関：京都大学大学院薬学研究科
代表研究者：加藤博章

膜タンパク質は生命現象において重要な役割を果たしており、創薬につながるものも多いのですが、構造解析は一般的に困難です。特に問題となるのは、タンパク質の生産と結晶化という二つの段階です。

タンパク質を生産するには、タンパク質の「設計図」が記録されているDNAを大腸菌などの細胞に導入し、その細胞を培養してタンパク質をつくらせるという方法がよく使われます。膜タンパク質の場合、細胞の膜に埋め込まれた状態で、しかも、生体内ではたらいっているのと同じかたちでつくらせたいのですが、細胞がいつもこの期待に応えてくれるとは限りません。もし、期待通りにつくってくれても、細胞の膜が膜タンパク質で満員になれば、それ以上はつくってくれません。というわけで、生体内と同じかたちの膜タンパク質を大量に生産するのは難しい仕事なのです。

一方、膜タンパク質は結晶化もたいへんです。膜タンパク質は界面活性剤を用いて膜から溶かし出し、結晶化させるのですが、このときに膜タンパク質が壊れてしまうことも多く、また、苦勞してつくった膜タンパク質が結晶化してくれないということも、よくあります。

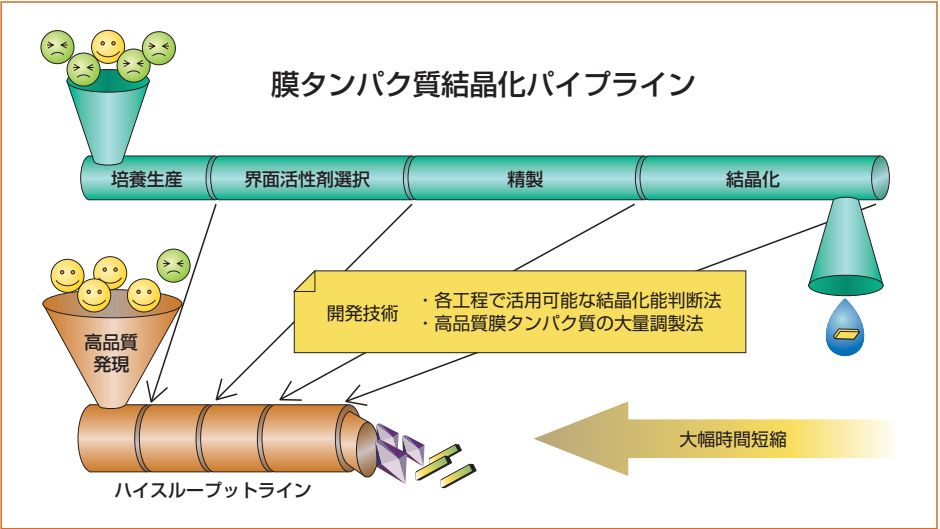
そこで私たちは、この二つの問題を解決する技術を開発し、膜タンパク質の構造解析に役立てたいと考えました。

一つは、少量の膜タンパク質を用いて、それが結晶化するかどうかを判定する技術で、分担研究者である理化学研究所播磨研究所の山下敦子チームリーダーが開発しています。目的の膜タンパク質に蛍光タンパク質で目印をつけ、細胞につくらせた未精製の膜タンパク質をゲルろ過という方法で分析するだけで、結晶化しやすいかどうかを判定できます。すでに細菌の膜タンパク質で成果を上げているので、当課題では、ヒトなど真核生物の

膜タンパク質にも適用できるようにし、合わせてハイスループット化も図ります。

もう一つは大量生産の技術です。この技術では、大腸菌ではなくメタノール資化性酵母を用います。この酵母にメタノールを与えて培養すると、ペルオキシソームという、膜で囲まれた小器官がどんどん大きくなります。このため、この膜に目的の膜タンパク質を集められれば、大量の膜タンパク質がちゃんと膜に埋め込まれた状態で得られるのです。私は以前から、膜タンパク質をペルオキシソームの膜内に引き込むはたらきのタンパク質の構造と機能を研究してきており、当課題では、多様な膜タンパク質をつくれる酵母を育種するつもりです。

以上の二つをつなぐ技術も開発し、結晶化しやすい膜タンパク質を大量につくれるようにしたいと思っています。



当課題では、培養によるタンパク質生産から結晶化までの各段階で、膜タンパク質が結晶化するかどうかを判定する技術や適切な生産・結晶化条件を見つけるのを助ける技術を開発する。その一方で、結晶化すると判定された膜タンパク質の大量生産系を確立し、両者を組み合わせて、X線構造解析に適した結晶を効率的に得られるパイプラインを構築する。図版提供：加藤博章

抗体を用いた膜蛋白質結晶化技術の確立

代表機関：京都大学大学院医学研究科
代表研究者：岩田 想

タンパク質にはさまざまなタイプのも
のがあり、タンパク質の種類によって構
造解析の難易度は異なります。中でも、
生体膜に埋まっている「膜タンパク質」
は超難関とされています。実際、2008
年7月時点でProtein Data Bank（タン
パク質の立体構造に関する国際的なデー
タベース）に登録されている約52,000
のタンパク質のうち、膜タンパク質は
200程度しかありません。

ですが、膜タンパク質は生命現象の基
盤となる役割を担っているものが多く、
また、創薬のターゲットとしても期待さ
れています。そのため、膜タンパク質の
構造を明らかにすることは、生命科学に
大きな進展をもたらす重要なステップな
のです。

では、なぜ膜タンパク質の構造解析は
難しいのでしょうか。もっとも大きな原
因は結晶化の過程にあります。タンパク
質を結晶化させるためには、いったん目
的的タンパク質を液体に溶かさなくては

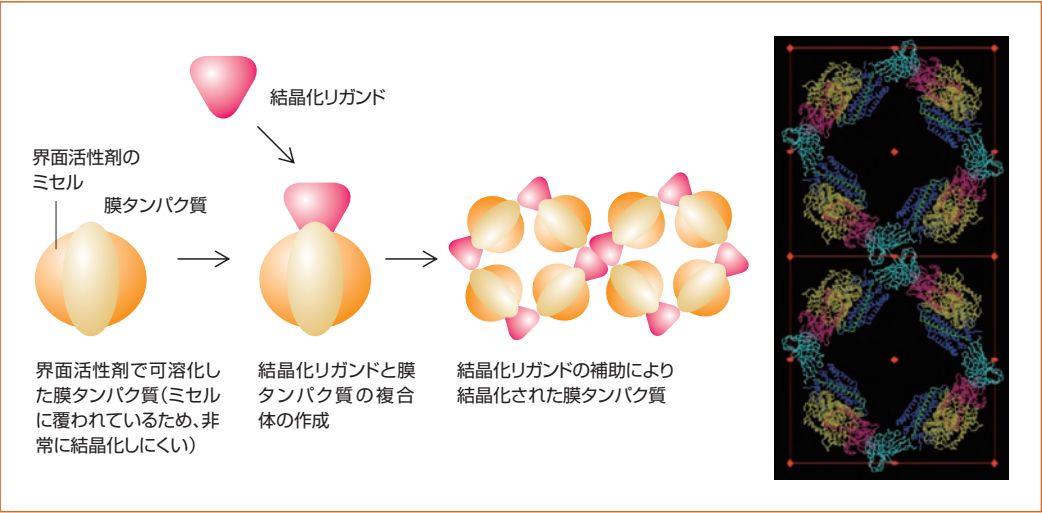
いけません。膜タンパク質の場合は水に
溶けにくい領域が多いため、界面活性剤
で溶かします。そのときに、界面活性剤
の集合体（「ミセル」といいます）が膜
タンパク質を覆い、結晶がでにくくな
ってしまうのです。

そこで、私たちは膜タンパク質の特定
の部分に結合する抗体をつくり、これを
利用して膜タンパク質の結晶をつくる技
術を開発しました。この抗体が結合する
ことで膜タンパク質の一部が安定化し、
さらに水に溶けやすい領域が広がるた
め結晶がでやすくなるのです。この方
法を試みたのは世界で私たちがはじめて
で、1995年に細菌の「シトクロム酸化
酵素」という膜タンパク質の結晶を得る
ことに成功しました。

当課題ではこの技術を発展させ、あら
ゆる膜タンパク質に適用できる普遍的な
方法を確立しようと考えています。理想
とする抗体は、膜タンパク質に結合しや
すく、また、水に溶けやすい立体部分に

しっかりと結合して、膜タンパク質の構
造を安定化させるような抗体です。

そうした抗体をつくるために、マウス
の免疫機構を用いて、上記のような抗体
を産生する技術を開発しています。膜タ
ンパク質が細胞膜にあるときのかたちを
保ったまま、マウスの体内に入れること
がポイントです。また、そのようにして
得られた抗体から、より優れた抗体を効
率よくふるい分ける方法や、進化分子工
学という手法で高機能の抗体をつくる技
術の開発にも取り組んでいます。そして、
最終的にはこれらの技術を組み合わせて、
理想的な抗体をつくるためのひとつのシ
ステムを構築したいと考えています。



抗体を用いた膜タンパク質の結晶化の原理。抗体が結晶化リガンド（結晶化の際に特定のタンパク質部分に結合する物質）の役割をする。いちばん右の画像は、実際に得られたシトクロム酸化酵素の結晶を構造解析し、ビジュアル化したもの。水色の分子が抗体を表している。図版提供：岩田 想

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：高エネルギー加速器研究機構物質構造科学研究所
代表研究者：若槻壮市

ヒトなら数十兆個あるとされる細胞の中では、さまざまなタンパク質が能動的に動いて生命活動を維持しています。生きているという状態を理解するために、細胞内のタンパク質のダイナミックな姿を原子のレベルでとらえたいというのが私たちの願いです。それを知るには、電子顕微鏡、NMR、質量分析などの方法がありますが、放射光X線によるタンパク質結晶構造解析は最も強力な手段です。

放射光X線とは、数十億電子ボルトまで加速した電子ビームを大きなリング状の磁場の中で高速回転させたときに発生するきわめて強いエネルギーをもつX線です。平行で強度が高く、波長を変えることができる放射光X線は、生体分子の立体構造を調べるのに頼りになる存在です。精製して結晶にしたタンパク質にX線をあてると、一部が電子によって散乱されるので、これを観測してタンパク質の中の電子の分布状態を計算によって求め、そこから原子の位置や全体の構造を

解明することができます。

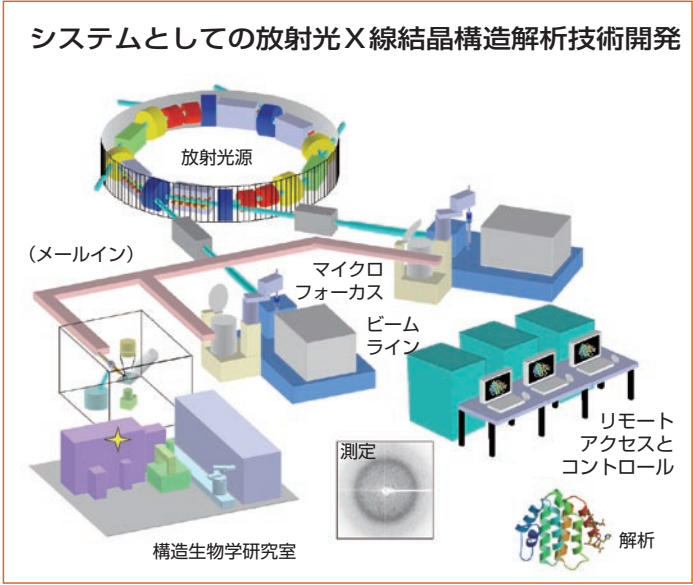
現在、世界には40以上の放射光施設があり、タンパク質の立体構造解析がさかんに行われています。日本では、理化学研究所のSPring-8（兵庫県西播磨市）と高エネルギー加速器研究機構のフォトンファクトリー（茨城県つくば市）が代表的な施設です。どちらの施設でも、基礎研究や産業利用が活発です。

私たちは、放射光施設をユーザーにとって使いやすいものにして、細胞生物学の研究者や医者さんも高い精度で安定した測定ができるようなシステムを開発するほか、解析が難しい膜タンパク質や大きな分子複合体、たくさんのタンパク質がつくる高次のネットワークなどを解析しようと工夫を重ねてきました。

「技術開発研究」における課題の一つは、数μm程度のきわめて小さい結晶しかつukれないタンパク質を解析するために低エネルギー高輝度マイクロビームラインを設計・建設することです。これま

で行われてきた重い原子セレンを取り込ませて位相を知る方法から、タンパク質が本来もっているイオウを手がかりにする新しい方法「低エネルギー SAD法」を積極的に活用していきたいと考えています。

放射光X線を利用したタンパク質の立体構造解析には多くの要素技術があり、各方面と連携して技術開発を進める必要があることを実感しています。



図版提供：若槻壮市

固体NMR膜蛋白質複合体構造解析技術

代表機関：大阪大学蛋白質研究所
代表研究者：藤原敏道

タンパク質の構造解析の手法の一つとして、NMR（核磁気共鳴）法があります。水素などの原子核がとても小さな磁石のように振る舞うことを利用した手法で、タンパク質を強い磁場の中に置き、外からラジオ波をあててさまざまな信号を測定します。信号からは、タンパク質をつくっている原子同士の位置関係がわかるので、構造が明らかになるのです。

NMRを測定するときは、タンパク質を水などの液体に溶かすのがふつうです。溶液の中ではタンパク質が高速で動き回っているため、タンパク質の向きによる信号の違いは平均化され、構造解析に必要な情報がくっきりと現れます。しかし、運動の遅い大きなタンパク質や、液体に溶かすとかたがちが変わってしまう膜タンパク質には、この方法は使えません。

固体NMRは、そんな場合に有力な手

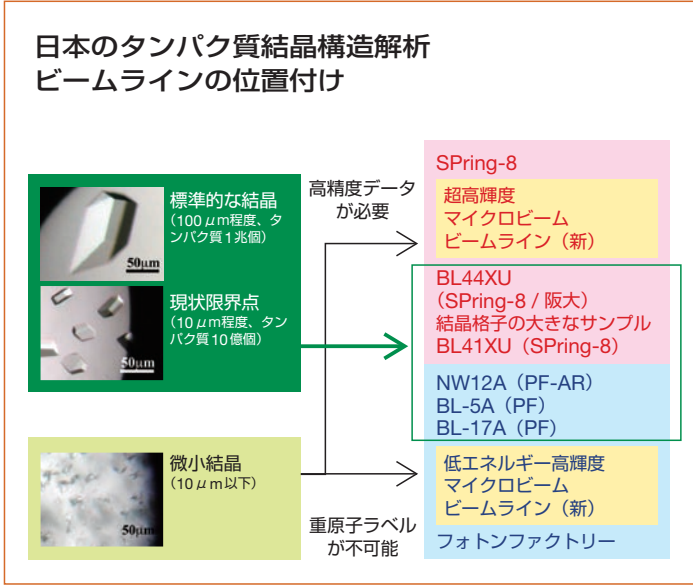
法です。固体試料を対象としたNMR測定では、タンパク質が運動できないことを逆手にとって、溶液の場合とは少し違う形式で信号を得ることができます。また、固体といっても、X線構造解析のように結晶にする必要はありません。このため、大きな球状の膜など、ごく一部だけを見れば平面膜であるが全体としては特定の方向を向いていない膜において、タンパク質分子が膜に対して決まった向きで埋め込まれている試料なら、固体NMRで構造解析ができるのです。

しかし、固体NMRには感度と分解能（値の近い信号を区別する能力）が低いという欠点があります。それを克服するためのさまざまな技術を開発し、実際に膜タンパク質の構造決定ができることを示すのが私たちの目標です。

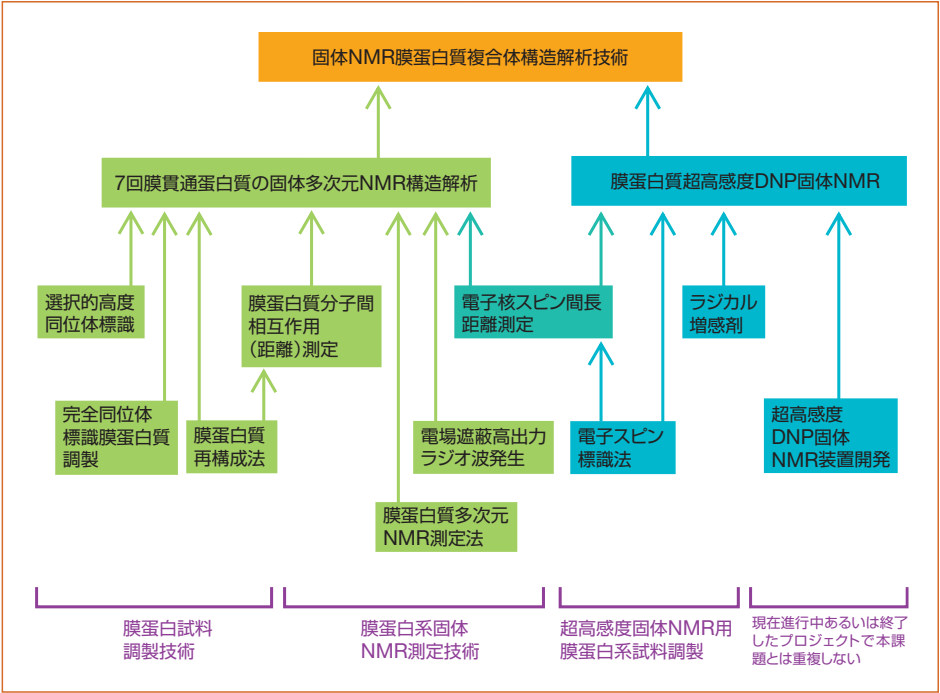
具体的には、膜タンパク質のうち、膜

に埋め込まれた部分と膜から外に出ている部分を区別して信号を得ることや、タンパク質を構成するアミノ酸のうち、特定の原子だけが信号を出すようにして解析しやすいデータを得ることなどを考えています。また、これまでのデータをデータベース化して、どんな構造ならどんなデータが現れるかを予測し、構造解析を効率化することも計画しています。これらによって、ハロロドプシンという大きな膜タンパク質とこのタンパク質からの情報を細胞内に伝えるタンパク質の構造を決定したいと考えています。

その一方、原子核ではなく電子の「磁石」を利用して、感度をこれまでの100倍以上に上げる技術の開発にも取り組みます。電子を利用する手法は以前からありますが、膜タンパク質に適用するためには、磁石としての電子を与えるためのラジカル試薬の開発や電子を狙った場所に入れる手法の開発も必要です。そのようにして用意した試料に、ラジオ波よりずっとエネルギーの高いテラヘルツ波をあててNMR測定を行う予定です。



図版提供：若槻壮市



固体NMRでの構造解析を達成するため、さまざまな技術開発を行う。図版提供：藤原敏道

SAIL 法による 蛋白質構造解析技術の多様化

代表機関：名古屋大学大学院理学研究科

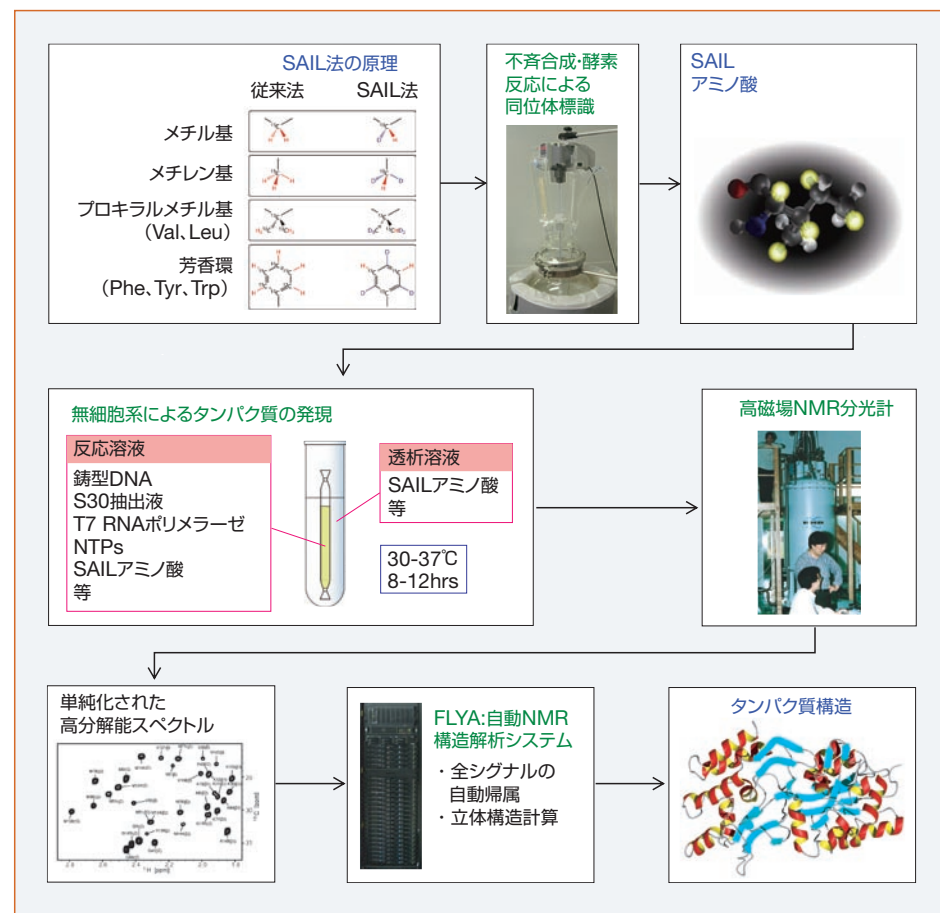
代表研究者：甲斐莊正恒

前ページにもあるように、NMRはタンパク質の構造解析手法として広く使われています。X線構造解析ではタンパク質を結晶化させる必要がありますが、NMRは生体内に近い水溶液中のタンパク質を対象とできるのが重要な利点の一つです。

NMRの信号は、原子核同士の位置関係についての情報を与えてくれます。原子数が少なければ、それらの情報からタンパク質の立体構造を解析することは従来の手法でも可能です。しかし、タンパク質が大きくなると、運動が遅くなって

NMR信号が幅広くなる上に、信号の数も増えて互いに重なりあうため構造解析は難しくなります。そこで私は、多すぎる情報量をなんとか減らし、しかもより正確な構造を得たいと考え、SAIL法を編み出しました。そのアイディアの鍵は、安定同位元素の利用にあります。

NMRで最もよく利用される水素原子の場合、安定同位元素として通常の水素(H)と原子量が2倍の重水素(D)があります。これらは化学的にはよく似ていますが、NMR信号の共鳴周波数が大きく異なります。天然のタンパク質中の水



SAIL法の概念図。重水素を組み込んだアミノ酸は、発酵や有機合成などさまざまな手法を駆使して合成される。右下のリボン図はSAIL法で構造解析されたマルトース結合タンパク質。NMRで精密に構造解析されたタンパク質としては過去最大である。図版提供：甲斐荘正恒

16

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：東京大学大学院薬学系研究科

代表研究者：長野哲雄

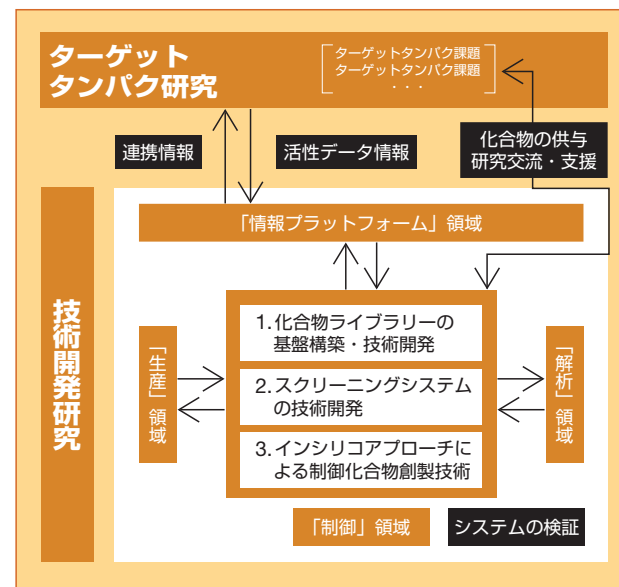
『ターゲットタンパク研究プログラム』では、タンパク質の構造や機能を明らかにするとともに、タンパク質の活性を制御するはたらきをもつ比較的低分子の化合物をつくり出したり見つけ出したりして、研究に提供することも大きな目標の一つになっています。

例えば、あるタンパク質をはたらかなくする物質があれば、もともとそのタンパク質がどんな機能をもっているのかを知る有力な材料になりますし、さらに病気の治療や発症予防につながる可能性もあるでしょう。タンパク質の制御化合物は、基礎的な研究にも新しい薬を見つけ出すなどの実用的な面にも大いに貢献するはずで。私たちは、この研究プログラムの社会還元に寄与することをめざして仕事を進めています。

さて、制御化合物をつくり出すために必要なことがいくつかあります。中でも

まず大切なのは、しっかりした化合物ライブラリーを構築することだと私は考えています。化合物ライブラリーとは、制御する働きをもつ化合物をきちんと集めて保管し、探索できるしくみを整え、必要に応じて研究者に提供するシステムです。これまで日本では個別の研究者が小規模に収集するに留まっていますが、米国や韓国では国が先頭に立って大規模に事業を進めています。

私たちは、東京大学に「生物機能制御化合物ライブラリー機構」を立ち上げ、施設を整備して、現在、7万種の化合物を収集・保管しています。最終的には十



図版提供：長野哲雄

数万種の化合物を提供できる体制を構築する予定です。ライブラリーには、タンパク質の構造研究者や有機合成の専門家、分子生物学や医学の研究者などのチームが参加しています。

さらに化合物を選別するスクリーニングシステムの開発も大切です。そこでは化合物アレイや検出装置など、新しい技術開発も求められています。また、構造や物性などのデータをもとにコンピューター上で制御化合物を予測したり、つくったりする技術の開発にも併せて力を注ぐ必要があります。

こうした基盤が整備されれば、弱いとされてきた日本の創薬科学の足腰がしっかりできあがるでしょう。タンパク質については、遺伝子から出発し、構造、機能、制御物質とその利用までを考えたシステムづくりがあってはじめて成果を社会に還元できると考えています。



図版提供：長野哲雄

17

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：情報・システム研究機構国立遺伝学研究所
代表研究者：菅原秀明

「タンパク3000プロジェクト」や「ターゲットタンパク研究プログラム」などで得られたたくさんの成果を利用しやすいデータベースとして公開し、今後の研究や開発のために使い勝手のよいものにしていくのが私たちの仕事です。

これまで行われてきた研究から、タンパク質のアミノ酸配列、立体構造、機能について数多くのデータが得られ、データベースがつくられてきました。

アミノ酸の並び方については、2008年に入り各種データベースに登録された数が800万件を超えて増え続けています。立体構造については、PDBj（日本蛋白質構造データバンク）に、NMRやX線結晶解析によって明らかになったデータが登録され、検索できるようになっています。その数はすでに万のケタに達しています。機能については、そのはた

前をもつタンパク質が多数知られており、まだ構造がわからないものも少なくないのが現状です。

このように個別のタンパク質についてのデータが刻々と増加する一方、さらにそれらがいつどこでつくられるか、指令する遺伝子はどんなものか、それをもつ生命体のゲノムはどんな塩基配列をもつか、またタンパク質どうしの相互作用やネットワークといったダイナミックな振る舞いについても、各分野の研究者の手で多くの事実が明らかにされ、成果がデータとして蓄積されています。こうした情報を創薬などに役立てるには、それぞれのタンパク質の物質としての性質やほかの化合物の情報、疾患についての情報、実験や解析技術の情報もあわせて必要です。

私たちの今回のテーマである情報プラットフォームづくりとは、これまでバラ

バラにつくられてきたデータベースを集めてまとめあげ、情報をみんなで共有し活用できるような広場をつくり、整えることです。そのためには用語や概念の整理、知財についての法的な整備も必要です。プラットフォームは、情報を研究者どうしで共有する場であるとともに、広く社会に発信する役割も果たすことになるでしょう。役立つ情報は研究開発の支えになるばかりでなく、知識を次の世代に伝える基盤でもあるのです。

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

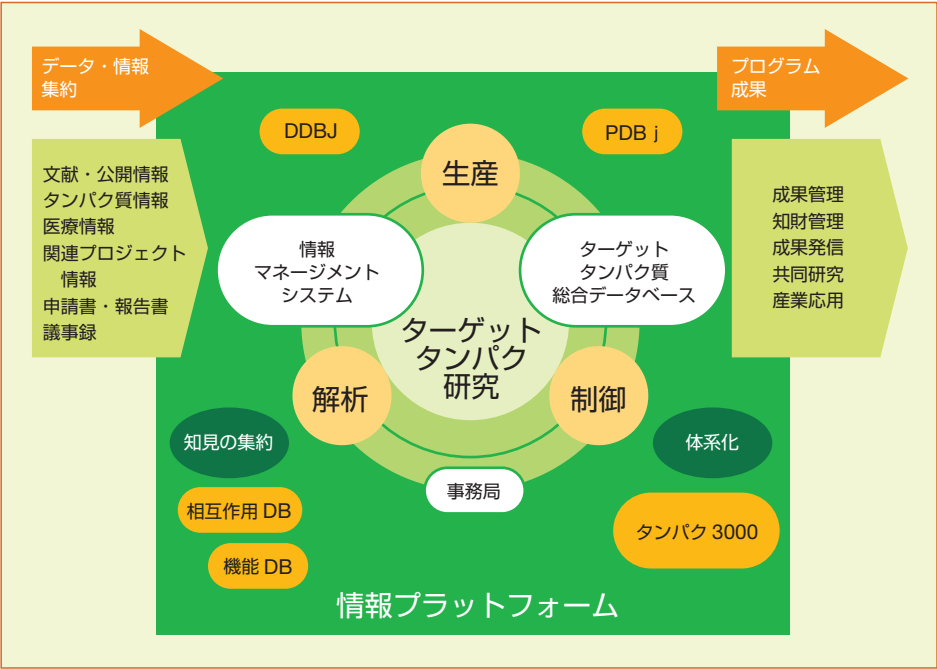
代表機関：お茶の水女子大学大学院人間文化創成科学研究科
代表研究者：由良 敬

多くの研究チームがX線構造解析やNMRを用いてタンパク質の構造解析を進めている一方で、私たちは「バイオインフォマティクス」とよばれるまったく異なるアプローチでタンパク質の立体構造の解明に迫っています。バイオインフォマティクスとは生命現象に関する情報を計算機を用いて解析する学問で、ゲノムプロジェクトで得られた膨大な塩基配列データを読み解く必要から急速に発展してきました。タンパク質の分野では、立体構造の予測や比較、またタンパク質間の相互作用を予測する研究などがさかんに行われています。そのような研究の一つとしてわたしが当課題で取り組んでいるのは、複数のタンパク質のパーツから構成される巨大なタンパク質を、個々のタンパク質の構造から予測するための技術開発です。

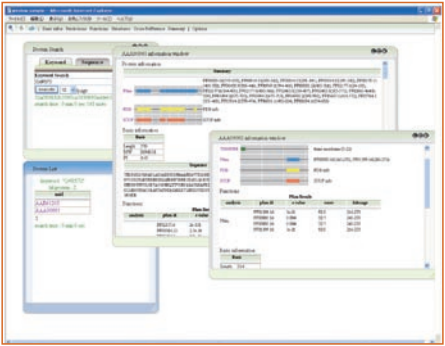
あらゆる生命現象は一つのタンパク質のはらたきによるものではなく、いくつものタンパク質がネットワークを形成し、作用し合うことで引き起こされます。そのため、生命現象のしくみを分子レベルで理解するためには、複数のタンパク質が集まってできる複合体の立体構造を知ることが重要になります。ところが、X線構造解析やNMRでは、結晶をつくるのが難しいなどの理由から、複合体の立体構造データはおろか、タンパク質単体のデータもなかなか得られません。また、真核生物がもつタンパク質は、いくつものドメインが連結して一つの大きなタンパク質を形成している場合が多く、このようなタンパク質についても全体の立体構造を決定できることはまれです。

そこで私たちは、調べたいタンパク質の立体構造を相同タンパク質（進化上、

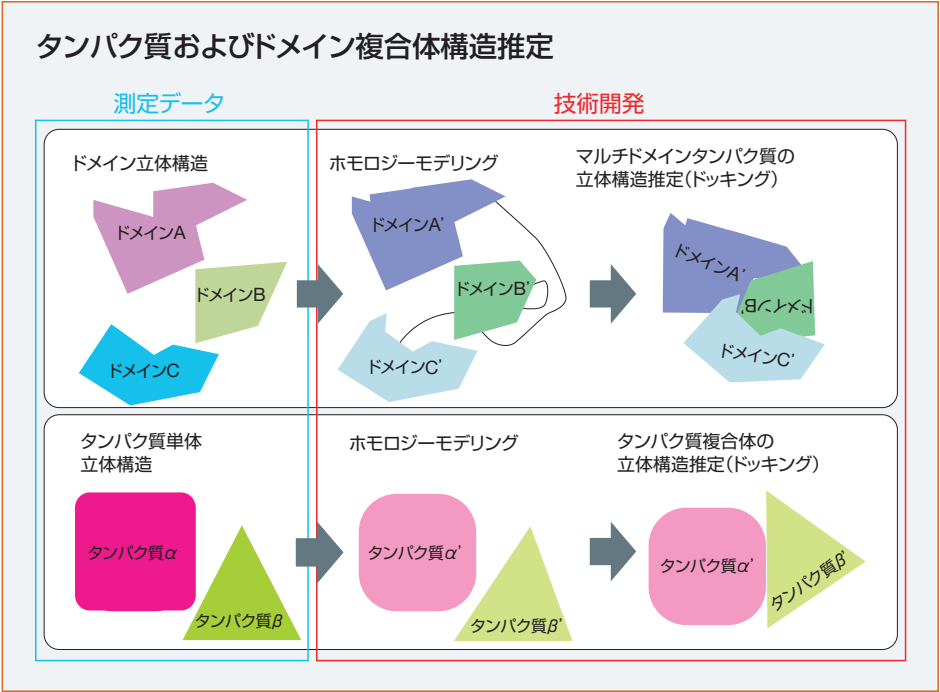
類縁関係にあるタンパク質）の構造から高い精度で予測し、タンパク質単体の構造から複合体の全体構造を、またドメインの構造からタンパク質の全体構造を予測するための技術を開発することにしました。タンパク質の立体構造を予測する方法として、「ホモロジーモデリング」というものがあります。これは、すでに立体構造がわかっている相同タンパク質をベースのかたちとし、そのタンパク質と調べたいタンパク質のアミノ酸配列を照らし合わせることで、調べたいタンパク質の立体構造を構築していく方法です。私たちはこのホモロジーモデリングの精度向上に取り組んでいます。それと並行してドメインまたはタンパク質が結合する部分の予測法を開発し、最終的にはホモロジーモデリングと組み合わせ、複数のドメインからなるタンパク質や複合体の立体構造を推定するシステムをつくりたいと考えています。これは、複合体の結晶や安定な状態のタンパク質をつくるためのヒントとなる知見が得られる技術でもあります。



情報プラットフォームの位置づけ。図版提供：菅原秀明



ターゲットタンパク研究プログラムのホームページ (<http://www.tanpaku.org>) がポータルサイトとなり、ログインすると、ターゲットデータベース、化合物データベースなどを閲覧できるようになる。この図はターゲットデータベースのイメージ。図版提供：菅原秀明



複数のドメインからなるタンパク質およびタンパク質複合体の構造推定。ドメインやタンパク質単体の測定または予測データから全体の立体構造を予測する技術を開発する。図版提供：由良 敬

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：大阪大学大学院生命機能研究科
代表研究者：今田勝巳

細菌の中には、生物に感染して病気を引き起こすものがたくさんあります。例えば、赤痢菌やサルモネラ菌は、ヒトの腸内の細胞に感染し、下痢や発熱を引き起こします。こうした病原性細菌は、狙った細胞の内部を自分が入り込みやすい環境に変えてから侵入します。そのために、病原性細菌はエフェクターという一群のタンパク質をつくり、相手の細胞に送り込んで、その生理機能をコントロールします。病原性細菌の表面には、エフェクタータンパク質を細胞に送り込むための分泌装置があります。

分泌装置には、III型とIV型の2種類が知られています。どちらも多種類のタンパク質が集まってできている複合体です。III型分泌装置はサルモネラ菌などで見られるもので、当課題の分担研究者である大阪大学大学院生命機能研究科の久堀智子特任助教らが世界で初めて精製

し、電子顕微鏡で観察した結果、ぺん毛の付け根とほぼ同じ構造体であることが明らかになりました（ぺん毛は、細菌が泳ぐときに使う長いしっぽのような毛で、船のスクリューのように回転します）。一方、IV型はレジオネラ菌などに見られますが、その構造はまだはっきりしていません。

どちらの分泌装置も、病原性細菌の成分の中からエフェクタータンパク質だけを選び出して、絶妙なタイミングで、必要な量だけ細胞に送り込むというすぐれものです。私たちは、III型とIV型の分泌装置がエフェクタータンパク質をどう認識し輸送しているのか、また、輸送のためのエネルギーはどのように供給されているのかを明らかにしたいと思っています。

しかし、分泌装置を構成するタンパク質は離合集散を繰り返しています。このような複合体を、ちゃんと機能するかた

ちで結晶化させることはなかなかたいへんです。そこで、構造解析する試料のデザインが必要になります。例えば、結晶化しにくい部分を除去したタンパク質をつくる、相互作用が強くなった変異タンパク質を探索・作成し、部分複合体を得るなどの手法を使って研究を進めています。こうすることで、構造解析に適した試料を調製することができ、いくつかのタンパク質の構造が明らかになりつつあります。

研究の成果として分泌装置の働きを抑える方法を見つけることができれば、病原性細菌は感染できなくなり病気を予防できます。この治療法は、抗生物質と違い細菌を死滅させるわけではないので、耐性菌ができにくいという利点があり、これまでにない感染症治療薬の開発につながると期待されています。

巨大で複雑なタンパク質分解装置の動態と作動機構

代表機関：東京都医学研究機構東京都臨床医学総合研究所
代表研究者：田中啓二

体の細胞の中ではさまざまなタンパク質がはたらいています。その一方で、役割を終えて不要になったタンパク質や、有害なタンパク質もあります。こうしたタンパク質を見分けて分解・除去するのがプロテアソーム（26Sプロテアソーム）です。プロテアソームは、タンパク質の寿命を決め、細胞内のタンパク質の量を調節しています。このようなタンパク質の死の制御は、代謝調節や免疫応答など多くの重要な生命活動に関与しているため、タンパク質の合成システムよりもむしろ重要なのではないかと近年注目を集めています。

私たちはこのプロテアソームの作動機構の解明をめざし、これまで10年間にわたって立体構造を解析してきました。プロテアソームは約100個もの分子からなる巨大なタンパク質複合体で、図のように、円筒の両端に蓋がついたかたちをしています。分解の標的となったタンパ

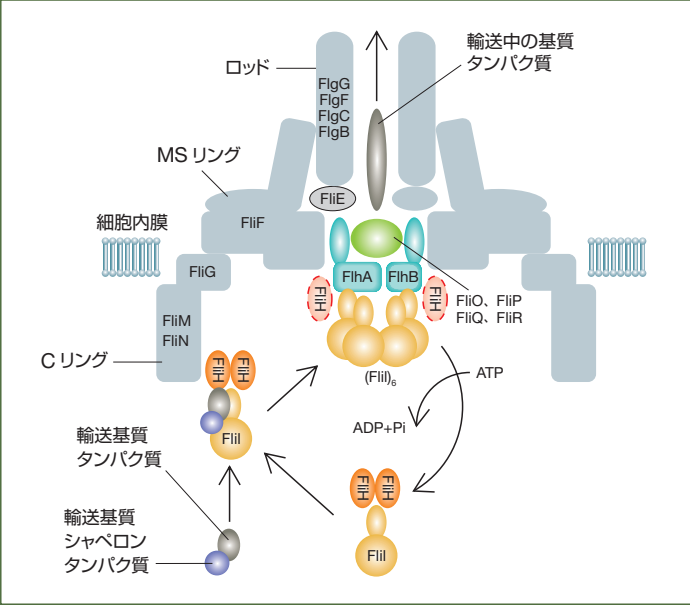
ク質は円筒の中に取り込まれて分解されます。私たちはこれまでに、触媒としてはたらく円筒の中央部分（20Sプロテアソーム）の構造解析に成功していますが、調節部位（基底部と蓋部）についてはまだ詳細な構造が明らかになっていません。そこで私たちはこれらの構造解析に取り組み、プロテアソーム全体の構造を明らかにしていこうと考えています。

また、多数の分子が集まってプロテアソームができるときには、シャペロンと呼ばれるタンパク質が必要です。私たちはすでにプロテアソームの形成を支援する複数のシャペロンを発見しているので、それらの構造を解析するとともに、新たなシャペロンを発見し、プロテアソームがかたちづくられていく過程に迫りたいと考えています。細胞内にはプロテアソームのような複合体が他にもたくさんありますが、それらの形成過程はほとんど知られていません。この研究でプロ

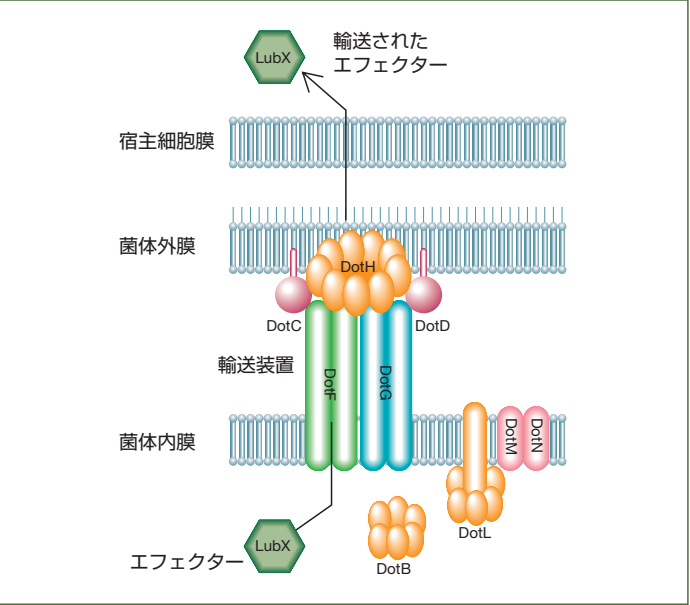
テアソームの形成過程が明らかになれば、他の複合体形成過程の解明にも貢献できるはずです。

さらに、私たちは、プロテアソームが分解する相手を見分けたり、取り込んだりするときにはたらく因子についても研究を進めていきます。

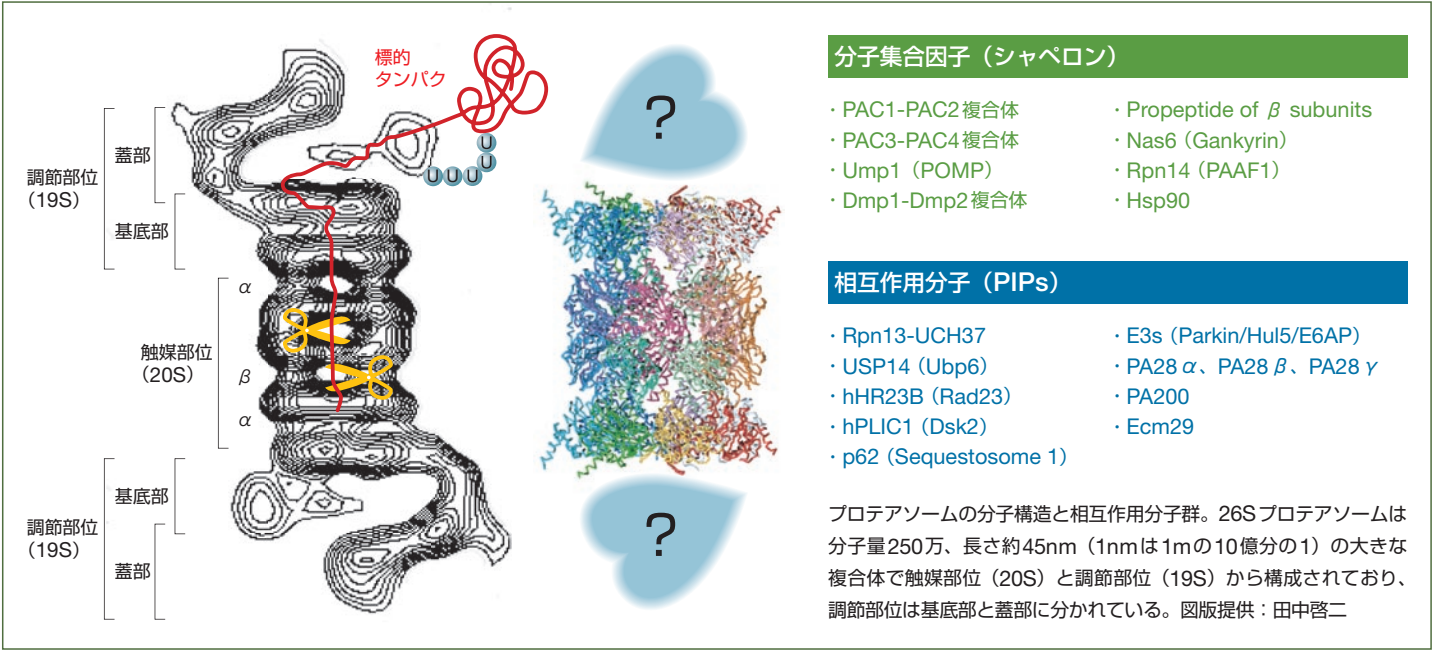
以上のような研究は、薬剤開発への応用も期待されます。たとえば近年、プロテアソームのはたらきを抑える薬が多発性骨髄腫の特効薬的抗がん剤として世界中で使用されています。また、社会の高齢化に伴って患者数が増えているパーキンソン病やアルツハイマー病などもプロテアソームの破綻が一つの原因として知られています。プロテアソームの解析は、細胞の生命活動の理解はもちろんのこと、医学分野にも多大なる貢献をもたらすでしょう。



ぺん毛III型分泌系の模式図。輸送装置の中核は、3種類の細胞質コンポーネント（FliI, FliH, FliJ）と6種類の膜コンポーネント（FliO, FliP, FliQ, FliR, FliA, FliB）からなる。輸送に伴い、細胞質コンポーネントは離合集散を繰り返す。図版提供：今田勝巳



レジオネラIV型分泌系の模式図。ここに示した輸送装置中核以外に、少なくとも4種類の細胞質（lcmS、W、Q、R）、1種類のペリプラズム（lcmX）、11種類の膜コンポーネント（DotA、E、I、J、O、P、U、V、lcmF、T、V）が関与する。図版提供：大阪大学微生物病研究所 永井宏樹（分担研究者）



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：北海道大学大学院薬学研究院
代表研究者：稲垣冬彦

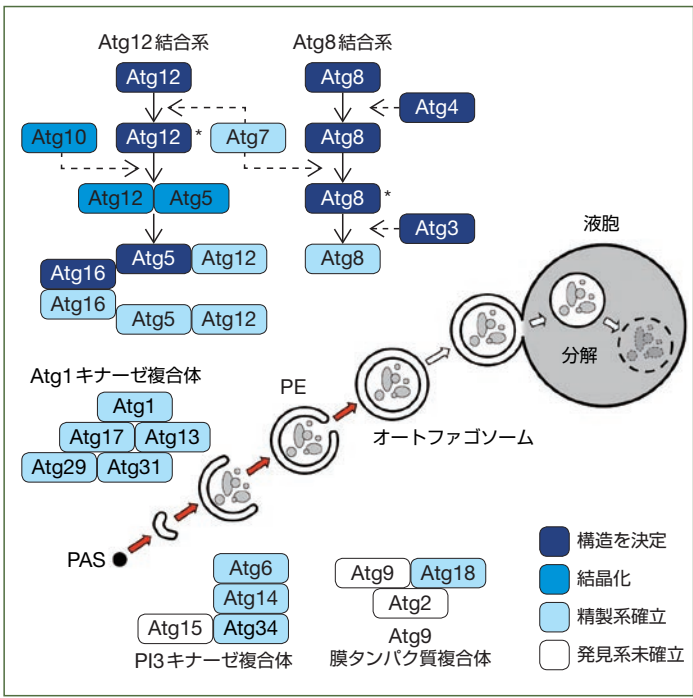
酵母からヒトまで、あらゆる真核細胞は細胞の中のタンパク質を分解するしくみをもっています。このしくみが「オートファジー」です。オートファジーは、栄養不足のときに細胞内のタンパク質をアミノ酸に分解して生命維持に必要な最小限のタンパク質を合成したり、異常なタンパク質や不要なタンパク質を掃除するなど、生物にとって重要な役割を担っています。この現象は半世紀近く前から観察されていましたが、1990年代初頭に酵母を使ってその詳細な機構をはじめて明らかにしたのは、自然科学研究機構基礎生物学研究所の大隅良典博士（当課題の分担研究者）を中心とする日本の研究者たちでした。

オートファジーは次のようなプロセスで進みます。まず、分解すべきタンパク質やオルガネラが二重の膜構造に取り囲まれ、オートファゴソームと呼ぶ小胞が

できます。小胞の形成には、Atgタンパク質群と呼ばれるたくさんの未知のタンパク質がネットワークをつくってはたらいっていることがわかってきました。オートファゴソームはやがて細胞の中のリソソームや液胞と融合し、さまざまなタンパク分解酵素のはたらきによってアミノ酸やペプチドに分解されます。

タンパク質の構造をNMRやX線を使って調べ、創薬に結びつけることも念頭に研究を行ってきた私たちのグループは、「タンパク3000プロジェクト」以来、大隅グループと連携してAtgタンパク質群の構造や機能を明らかにする研究を進めてきました。すでに6種類以上のタンパク質の構造を解明し、それぞれの役割やネットワークについて報告しています。

オートファジーの研究が世界中で活発なのは、基本的な生命現象の解明につながるばかりでなく、医療や難病の理解に



Atgタンパク質群のネットワークと研究の進展。図版提供：稲垣冬彦

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：横浜市立大学大学院国際総合科学研究科
代表研究者：西村善文

ヒトの細胞では、全長約2mのDNAがびっしり折りたたまれて、直径わずか数μmの核に収納されています。このような状態から、いったいどのようにして特定の場所のDNAが読み取られるのかとも不思議です。

折りたたまれたDNAを詳しく見ると、DNAの鎖がヒストンというタンパク質に巻きついた数珠状の構造を取っています。これをクロマチンといいます。ヒストンはもともと正の電気を帯びており、負の電気を帯びたDNAとしっかり結合しているのですが、遺伝子の発現が起

る際には、ヒストンの一部でアミノ酸が変化し（この場合は「アセチル化」という反応が起きます）、そこの部分は正の電気を失います。すると、DNAの鎖がヒストンから離れて、そこにさまざま

なタンパク質が作用することで転写が始まるのです。また、「脱アセチル化」という逆の反応が起るとクロマチンの構造は固くなり、転写は抑えられます。

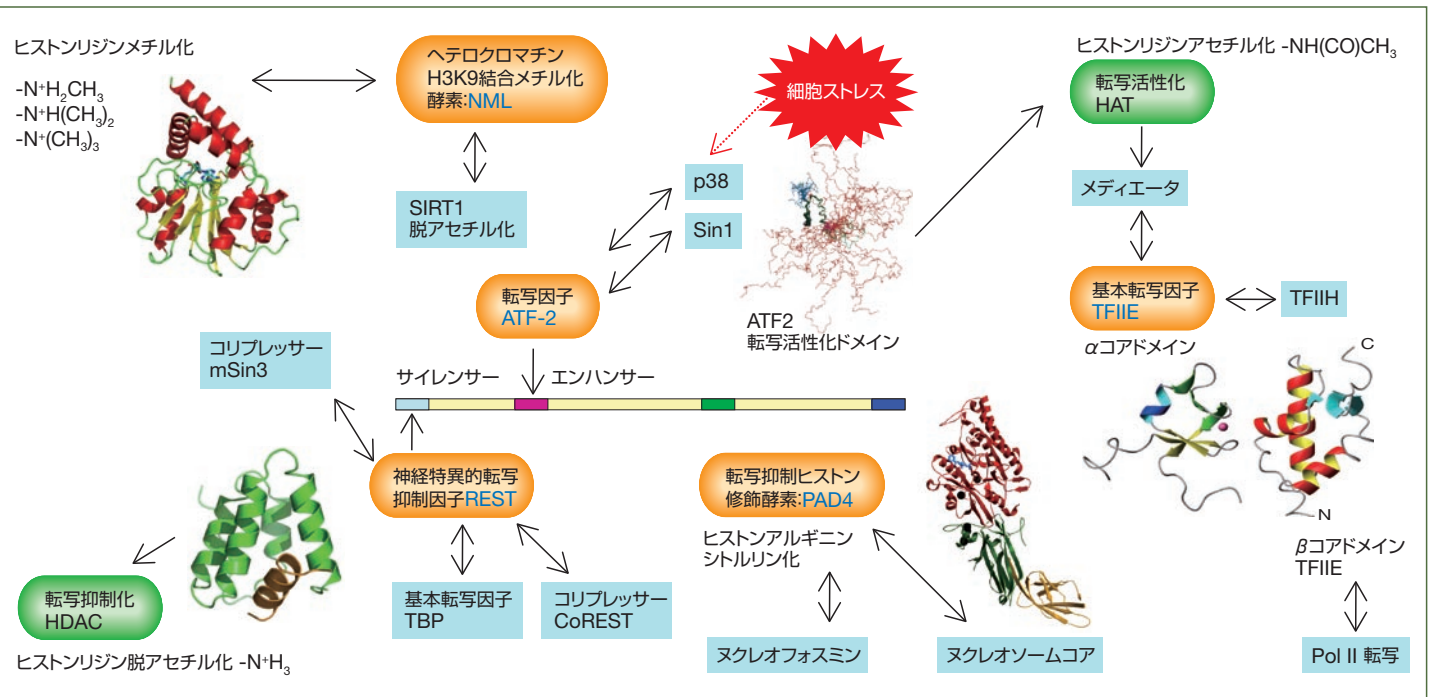
こうしたクロマチン上での現象には、たくさんのタンパク質がネットワークを形成し、複雑に関わりあっています。ここ20年の間に、日本の研究者たちが転写に関わるタンパク質をいくつも発見し、その機能を明らかにしてきました。私たちはこれらのタンパク質を軸にして、ネットワークの各接点におけるタンパク質複合体の構造を解析し、転写が起

るしくみを探っています。

これまで、転写の開始に関わるTFIIEというタンパク質の核となる部分や、転写の調節に関わるATF-2やRESTというタンパク質の作用を起こす部分の構造を

明らかにしました。構造解析の結果から、これらのタンパク質は構造の一部が不安定で形が定まっておらず、ほかのタンパク質と結合することで決まった形をとるという変わった性質をもつことがわかりました。今後の研究で、こうした構造面の性質と機能の関係を明らかにしようと考えています。

また、クロマチン構造の変化に関わるPAD4というタンパク質とヒストンとの複合体構造の解析も終了しています。さらに、クロマチンの構造を強固にさせて転写を抑えるNMLというタンパク質も最近見つかっており、このタンパク質の構造を分担研究者である横浜市立大学大学院国際総合科学研究科の佐藤衛教授と清水敏之准教授らのチームが調べています。



転写に関わるタンパク質のネットワーク。転写にはいくつものタンパク質が複雑なネットワークを形成し、作用しあっている。具体的には、ヒストンタンパク質のアセチル化や脱アセチル化、そのほかシトルリン化やメチル化がこのネットワークのもとで制御され、クロマチン構造の変化に関わっている。オレンジ色で示したのは、日本人が発見に関わったタンパク質。図版提供：西村善文

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：大阪大学大学院医学系研究科
代表研究者：岡村康司

細胞膜は、細胞の内と外を厳重に仕切っているようですが、実は物質の出入りを可能とする特殊なしくみを備えています。その一つが、イオン専用の通り道「電位依存性イオンチャネル」です。その実体は細胞膜に存在するタンパク質で、「電位センサー」部位と「小孔」部位からなっています。電位センサーが細胞内外の電位差（膜電位）を感知して、必要に応じて小孔が開閉されるのです。すると、細胞内外間で、イオンの移動が生じるのです。

イオンの移動が起こると、電荷の分布状態が変わります。神経細胞や筋細胞では、こうしたイオンの移動により活動電位などが発生し、細胞から細胞へ電気信号の伝達が起こります。このことは昔からよく知られています。

ところが私たちは、2005年と2006年と続けて二つ、いわば変わり者の「電位依存性タンパク質」を見つけました。電位センサー部位はあるのですが、小孔部位のないタンパク質です。このようなタイプは、それまでまったく知られてい

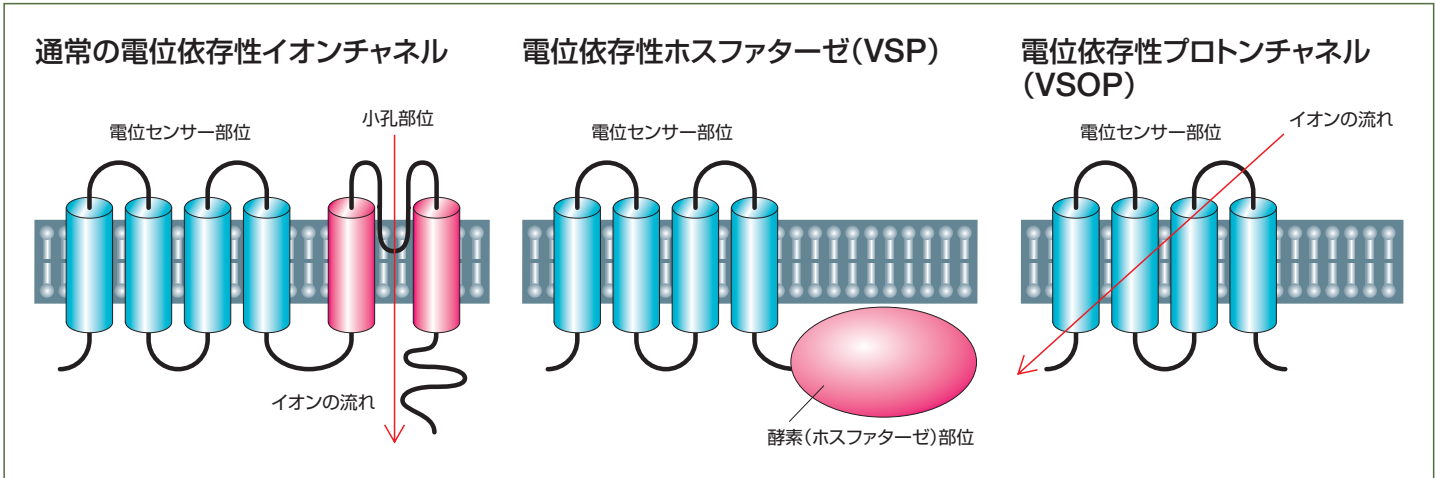
ませんでした。

一つはVSPと呼ばれるタイプで、小孔のかわりに、酵素のはたらきをする部位をもつものです。電位センサーが感知した膜電位に応じてその酵素が活性化され、細胞内に化学的な情報が伝達されるのです。この酵素は、リン脂質を分解する脱リン酸化酵素（ホスファターゼ）で、がんを抑制するはたらきをもつPTENという酵素とよく似ていることがわかりました。

もう一つはVSOPと命名したタンパク質で、電位センサー部位のみが単独に存在するタイプです。驚くべきことに、小孔がないにもかかわらず、プロトン（水素イオン）に通り道を提供していることが判明したのです。これまでプロトンを通すイオンチャネル（プロトンチャネル）の実体は、よくわかっていませんでした。このタンパク質は、神経系や免疫系の細胞に存在しており、活性酸素やpHの制御と関連しているようです。

私たちは、これら両タンパク質を結晶化し、その立体構造を解析することで、そ

のはたらくしくみを詳細に知ろうとしています。それがわかってくれば、さまざまな細胞が膜電位の変化をどのように利用しているのかが、詳しくわかるようになってくるでしょう。神経や筋肉のはたらきはもちろん、がんや免疫反応のしくみについての理解も深まるので、将来、これらのしくみに関連する疾患の治療薬の開発にもつながっていくと期待されます。



電位センサーをもつタンパク質の比較。当課題では、酵素が結びついた電位依存性ホスファターゼ（VSP）と、電位センサーのみの電位依存性プロトンチャネル（VSOP）の立体構造を解析する。図版提供：岡村康司

小胞輸送を制御するタンパク質複合体の構造機能解析

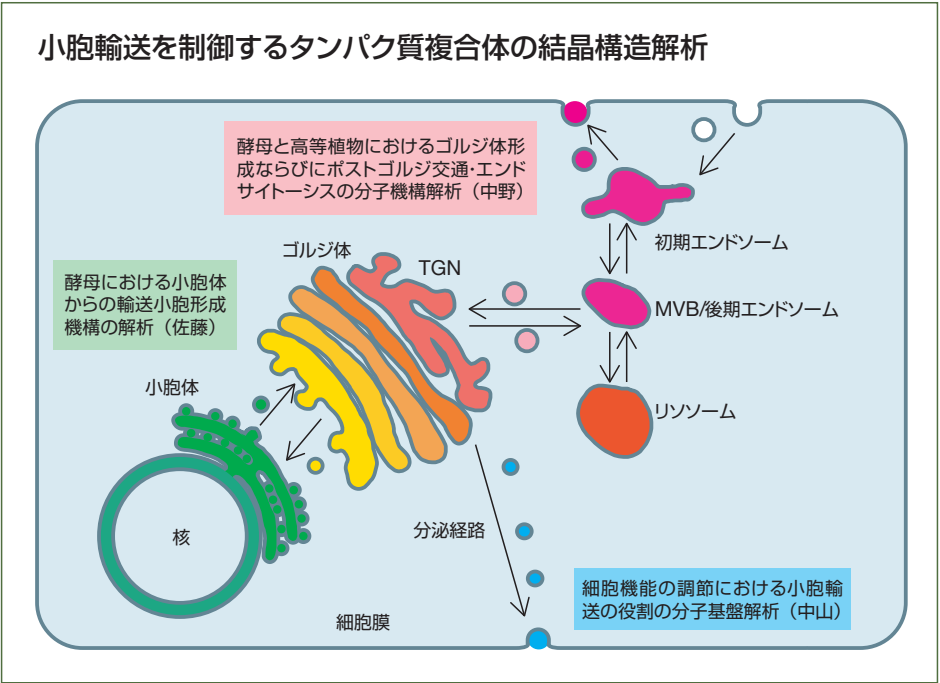
代表機関：高エネルギー加速器研究機構物質構造科学研究所
代表研究者：若槻壮市

私たちの体は約60兆個の細胞からできており、その細胞一つひとつが生物をつくる基本単位になっています。さらに細胞の中には膜で囲まれた「細胞小器官」という小さな区画がいくつもあり、細胞にとって必要なあらゆる仕事を分業しています。それぞれの細胞小器官で、はたらき手となるタンパク質や材料は異なります。そのため細胞小器官の間では絶えずさまざまな物質が移動しています。ただし、これらの物質が当てもなく浮遊しているだけでは、目的地になかなかたどり着けません。そこで、細胞内には「小胞輸送」というしくみが備わっています。小胞とは、細胞小器官の膜がくびれ、切り離されることでできる小さな袋のことです。膜がくびれるときに、細胞小器官の中にある物質が小胞に積み込まれま

す。そして、小胞が目的となる細胞小器官まで移動すると、今度はその細胞小器官の膜と融合して、積まれていた物質が受け渡されるのです。

小胞は、細胞小器官の間を複雑に行き来しています。こうした小胞輸送の一連のしくみは、さまざまなタンパク質複合体のはたらきによって制御されています。私たちは「タンパク3000プロジェクト」で、小胞輸送に関わるタンパク質の構造解析について、多くの成果を蓄積してきました。ただし、これらのタンパク質はいずれも水に溶けやすく、結晶化しやすいものばかりでした。実は、小胞輸送に関わるタンパク質は、複合体をつくっていたり膜に埋もれて存在する場合が多く、それらは元の構造のまま結晶化するのがとても難しいのです。

しかし、小胞輸送の仕組みを理解するためには、これを避けて通ることはできません。今回のプロジェクトで、私たちは難度の高いタンパク質複合体や膜に埋まった部分の構造機能解析に挑戦しています。まず、分担研究者である東京大学大学院理学系研究科の中野明彦教授、同大学院総合文化研究科の佐藤健准教授、京都大学大学院薬学研究科の中山和久教授のチームが、小胞輸送の諸過程でどのようなタンパク質が関わっているか、また、それらのタンパク質がどのようなネットワークを形成しているかを明らかにします。そうして得られた知見に基づいて、代表研究者である高エネルギー加速器研究機構のチームがタンパク質複合体や膜に埋まった部分のX線結晶構造解析を行い、これまで積み重ねてきた成果を発展させていこうと考えています。今後も世界をリードする研究を展開し、小胞輸送を制御するメカニズムの全体像に迫っていきます。



小胞輸送は、小胞体、ゴルジ体、トランスゴルジ網（TGN）からエンドソームを経てリソソームへ、あるいはゴルジ体から細胞膜、または細胞膜からエンドソームへと複雑な経路によって制御されている。図版は京都大学大学院薬学研究科 中山和久（分担研究者）らが作成したものを若槻壮市らが改変

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：神戸大学大学院医学研究科
代表研究者：匂坂敏朗

体の組織や臓器は、細胞が周囲の細胞と接着することで形成されています。細胞と細胞をくっつけているのは、細胞膜にある接着装置です。この装置は、接着剤のはたらきをするタンパク質をはじめとして、数多くのタンパク質からできています。接着装置の異常はがんなど多くの疾患の原因になっており、現在の生物学・医学上の最も重要な課題の一つになっています。

皮膚の表面や消化管の内面を覆っている上皮細胞では、アドヘレンスジャンクション(AJ)とタイトジャンクション(TJ)と呼ばれる2種類の接着装置が細胞同士を接着させています。AJではカドヘリンとネクチン、TJではクローディンという

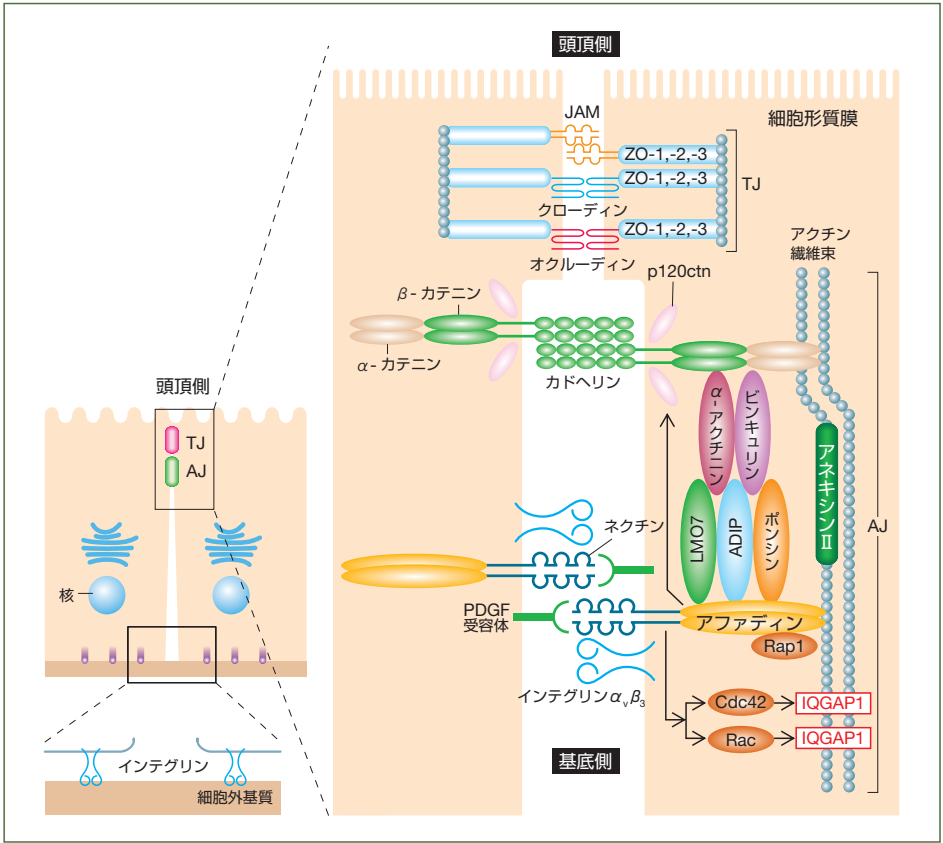
タンパク質が主要な接着剤としてはたります。これらの接着分子はいずれも当課題の分担研究者(理化学研究所神戸研究所の竹市雅俊所長、神戸大学大学院医学研究科の高井義美教授、同研究科の古瀬幹夫教授)が世界で最初に発見しており、日本の細胞接着研究は世界の最先端にあると高く評価されています。

接着分子の周囲には、いくつものタンパク質複合体が集まっていて、接着分子と細胞骨格(アクチン繊維束)を結びつけたり、接着分子の機能を制御したりしています。それぞれの複合体は多数のタンパク質から構成されているため、接着装置全体の構造と機能を理解するためには、接着分子の構造はもちろん、個々の

複合体の構造を解析することが必要です。

接着装置は細胞を接着させるだけでなく、細胞の他の装置と連動して細胞の運動や増殖、死などを制御しています。例えば、細胞間の接着は、増殖しながら運動している細胞同士が衝突して接触することによって始まります。このときにできる未熟なAJ(ネクチン-アフアディン系)は、細胞の増殖と運動を促進する装置の構成分子と直接結合して、細胞の増殖と運動を停止させるというはたらきもします。この、細胞接触による増殖と運動の停止の機構が、がん細胞では破壊されている結果、異常増殖と浸潤・転移が引き起こされるのです。

本研究では、このようにがんに深く関わる上皮細胞の接着装置のほか、循環器疾患に関わる内皮細胞、神経疾患に関わる神経細胞の接着装置に焦点を絞り、これらの装置を構成する分子、複合体および膜ドメインの構造を、NMR、X線結晶解析、クライオ電子線断層法により解析し、細胞接着装置の構造と機能を明らかにします。本研究により、接着装置の構成タンパク質の新たな機能が発見されれば、その構成タンパク質に対する阻害物質や促進物質を作成することにより、上記の疾患の病態解明や新たな治療法の開発ができるのです。



細胞同士の接着には、接着分子だけでなく、数多くのタンパク質が関わっている。図版提供：匂坂敏朗

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：東北大学大学院医学系研究科
代表研究者：山本雅之

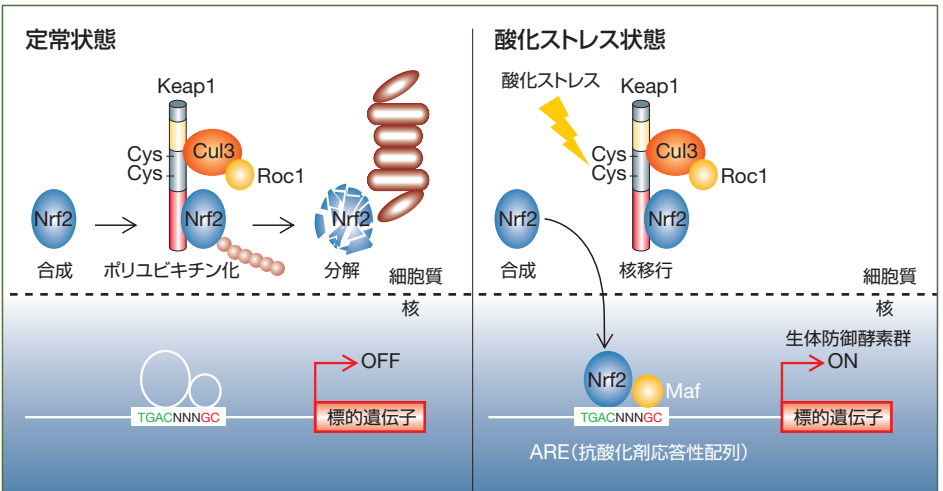
癌や動脈硬化、糖尿病などの原因の一つとして、毒性化学物質が細胞を傷つけることがあげられます。ここでいう毒性化学物質とは、他の分子から電子を奪う性質をもった「親電子性分子」や、酸素からできる「活性酸素」のことで、細胞中の遺伝子DNAに直接作用して変異を引き起こします。いずれも、食物や大気に含まれているので、日々の生活を営む以上、体内への取り込みは避けられません。つまり、私たちは常にその危険にさらされているのです。

しかし、ヒトの体は、こうしたストレスを感知して、無毒化する「しくみ」を備えています。私たちは、このしくみに関係するタンパク質の解析に、これまで取り組んできました。中でも、中心的な役割を担っているのが、親電子性分子や活性酸素ストレスを感知するセンサータンパク質Keap1です。このタンパク質は細胞質にあって、ストレスのないときはNrf2という転写因子のはたらきを抑えています。しかし、Keap1がストレ

スを感じるとその抑制は解かれ、Nrf2は活性化して細胞質から核へ移動します。そして、Nrf2はストレスから身を守るために必要な抗酸化酵素群や解毒酵素群の遺伝子を発現させる(遺伝子DNAの情報をもとに酵素をつくらせる)のです。

とはいえ、Keap1が親電子性分子や活性酸素のような多様なストレス分子を感知して、ストレス状態にあることを細胞内に伝える詳しい分子機構はまだ解明されていません。ストレスのないとき、Keap1はNrf2の分解を促すことでその活性を抑えています。その詳しい機構を知るには、Keap1とNrf2の複合体の構造を解析することが必要です。また、Nrf2が遺伝子を発現させるときには、別の転写因子も加わります。Nrf2とその転写因子とDNAの複合体の構造も解析して、特定の遺伝子が発現するしくみを解明したいと思っています。さらに、マウスを使ってこれらのタンパク質の機能を調べることを計画しています。

最近の研究から、このストレスに対する応答機構が適切にはたらかなくなると抗癌剤が効きにくくなる場合があることがわかってきました。肺癌患者のKeap1には変異が多く、Nrf2のはたらきを抑えることができません。つまり、ストレス応答系が常に活性化されているのですが、そのために薬剤耐性を示す遺伝子も活性化され、抗癌剤が効きにくくなるのです。私たちの研究でNrf2の阻害剤を見つければ、抗癌剤と併用することにより、この問題を解決できる可能性もあります。これに限らず、Keap1-Nrf2制御システムをタンパク質の構造という視点から精密に理解できれば、将来の疾患予防につながることでしょう。



Keap1はNrf2にポリユビキチンという目印をつけ、Nrf2の分解を促すが、ストレスを感知するとNrf2を認識しなくなる。そのため、Nrf2は分解されなくなり、核に移行して生体防御酵素群の遺伝子を活性化する。勝岡史城,山本雅之,細胞工学25,153-156(2006)の図3を一部改変

H⁺-ATP 合成酵素膜内在F₀の機能構造と不正規構造の固体NMRによる解明

代表機関：大阪大学蛋白質研究所
代表研究者：阿久津秀雄

ヒトの体は細胞からなっていますが、その細胞には核をはじめ、ミトコンドリア、ゴルジ体などさまざまな細胞小器官があります。このような細胞を真核細胞といい、真核細胞からなる生物を真核生物といいます。一方、細菌は1個の細胞からなり、その細胞には核も他の細胞小器官もありません。このような細胞を原核細胞といい、原核細胞からなる生物を原核生物といいます。

このように細胞のつくりはすいぶん違います。細胞の活動には共通するところもたくさんあります。例えば、真核生物も、多くの原核生物も、細胞の中でエネルギーを流通させるのにATPという物質を利用しています。外界から多様な方法で取り込んだエネルギーを、最終的にATPというエネルギーの高い物質に変え、まるで通貨のように細胞内の各所

で利用しているのです。

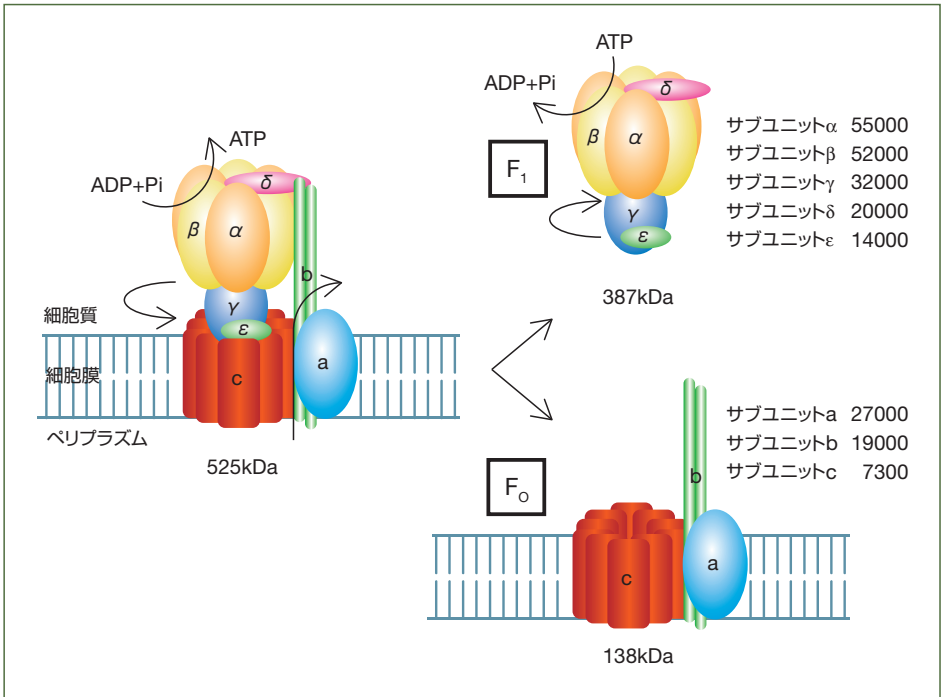
私たちは、細菌がATPをつくるときにはたらく、H⁺-ATP合成酵素（F₁-F₀ ATP合成酵素）を研究しています。（右ページの課題には真核細胞がATPをつくるときにはたらくF₁-F₀ATP合成酵素が出てきますが、両者の基本構造とはたらはよく似ています。）

H⁺-ATP合成酵素は多くのタンパク質部品（サブユニット）からなる複雑な複合体ですが、大きくF₀とF₁に分けられます。F₀は細菌の細胞膜に埋め込まれており、F₁は細胞膜のすぐ内側にあって6枚羽根のプロペラのようなかたちをしています。細胞膜の外側にあるプロトンがF₀を通して細胞の中に流れ込むと、F₁の軸が回転し、それにより羽根の一部がピストン運動をしてATPをつくり出します。F₀は、プロトンの流れをF₁の回

転に変える重要なはたらきをしているのです。

しかし、F₀は膜に埋め込まれているため、まだ構造解析は成功しておらず、その機能の詳しいメカニズムはわかっていません。そこで、私たちはまず、F₀のうちでもプロトンの流れを自分自身の回転に変えるc-リングという部分に焦点を絞って構造解析に取り組みます。構造解析は固体NMRという方法で行うため、c-リングの構成原子の一部をNMR測定に適した同位体に変え、膜に埋め込まれた状態の試料を用意します。それと並行して、NMR測定法自体も開発していきます。その後、F₀全体の構造と機能の解析に進む計画です。

F₀の機能はヒトなどの真核生物でも同じであり、この研究には、生物にとってもっとも重要なエネルギー変換のしくみを明らかにするという大きな意義があります。また、ヒトのバッテン病という遺伝子病では、c-リングの構成単位であるサブユニットcが脳神経細胞に蓄積され、細胞に障害を与えることがわかっています。そのメカニズムの解明にも、私たちは取り組む予定です。



H⁺-ATP 合成酵素はF₀とF₁に分けられる。F₀はc-リング（10～15個のサブユニットcからなる）と、2個のサブユニットb、1個のサブユニットaからなる。図版提供：阿久津秀雄

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：兵庫県立大学大学院生命理学研究科
代表研究者：吉川信也

左ページの課題は、細菌がATPをつくるときにはたらく酵素を対象にしていますが、私たちは、ヒトをはじめとする真核生物の細胞（真核細胞）がATPをつくるしくみを研究しています。真核細胞は糖をおもなエネルギー源としており、糖を分解して得たエネルギーをATPというかたちに変えています。その仕事を担当しているのが、ミトコンドリアという細胞小器官です。

ミトコンドリアには外膜と内膜と呼ばれる二つの膜があり、内膜にATPをつくるための4種類の膜タンパク質複合体酵素が埋め込まれています。これらをまとめてミトコンドリア呼吸系と呼びます。4種類の酵素のうち3つは、糖の分解で得られたエネルギー（実際にはエネルギーの高い電子）を使って内膜の内側

から外側へとプロトン（H⁺）をくみ上げます。すると、内膜の外側にはプロトンがたまっていきます。たまったプロトンが、F₁-F₀ATP合成酵素を通して内膜の内側に流れ込むとき、ATPがつくれるのです。

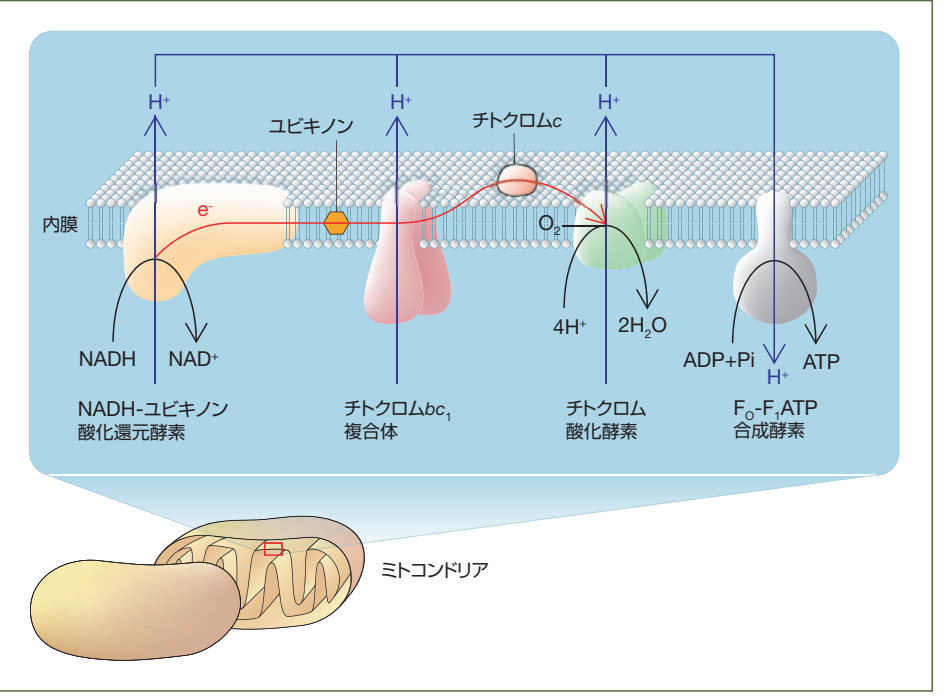
すいぶん複雑なしくみですが、このようにして、糖のエネルギーは最終的にATPに変換されます。ATPを得ることは細胞の活動、ひいては生命の維持に欠かせませんから、このしくみをタンパク質の構造に基づいて詳しく理解することはとても重要です。

しかし、内膜にある4種類の酵素のうち、NADH-ユビキノン還元酵素とF₁-F₀ATP合成酵素については、まだ部分構造しか解析されていません。私たちは、この二つの酵素の結晶化条件をこれ

までに探索してきており、当課題で結晶化を達成して構造解析を成功させたいと考えています。また、私たちは1995年に、チトクロム酸化酵素のX線結晶構造解析に成功し、その後も解析の分解能を向上させてきています。当課題では、さらに高い分解能でこの酵素の構造解析を行うとともに、プロトンの通り道にある原子の電子状態を、赤外分光法という手法で調べます。何がどこにあるのかを原子レベルで決定した上で、そこでどんなことが起こっているのかを明らかにしようというわけです。そのために、赤外分光法を高感度化する研究も進めます。

個々の酵素のはたらきはもちろんですが、それらの相互作用の解明もミトコンドリア呼吸系のしくみを理解する上で重要です。私たちは、上の3種類の酵素間の相互作用や、チトクロムcとチトクロム酸化酵素の間の相互作用を、NMRやX線構造解析により解析する予定です。

これらの研究により、長年にわたって研究してきたミトコンドリア呼吸系の作用の全容を解明するのが、私たちの大きな目標です。



糖は細胞内で徐々に分解され、その過程で、糖がもっていたエネルギーの大部分が電子に移る。そうしてできたエネルギーの高い電子がミトコンドリア内膜にある3種類の酵素を渡り歩き、酵素は電子のエネルギーを用いてプロトンを内膜の内側から外側へくみ上げる。くみ上げられたプロトンがF₁-F₀ATP 合成酵素を通して流れ込むときにATPがつくれる。図版提供：吉川信也

創薬に繋がる V-ATPaseの構造、機能の解明

代表機関：京都大学大学院医学研究科
代表研究者：岩田 想

細胞の中では、エネルギー生産や物質の輸送などさまざまな活動が行われていますが、その効率や細胞内の環境によって大きく左右されます。細胞内の環境の良し悪しを決める大きな要素の一つはpH（酸性やアルカリ性を示す指標となるもの）です。通常、細胞内のpHは厳密に調整されており、細胞の活動が効率よく進むための環境が整っています。

pHの調整役として働いているのはV-ATPaseという酵素です。この酵素は、ヒトなどの真核生物の生体膜に存在し、水素イオンを膜の外から中に運ぶことで膜内のpHを調整しています（水素イオン濃度が高いほど酸性になります）。また、V-ATPaseは骨の形成に関わる破骨細胞やがん細胞の膜にも存在しており、骨粗鬆症やがん細胞の増殖・転移に関与していることがわかっています。そのため、V-ATPaseのはたらきを阻害する物質は、こうした疾患の治療薬として期待

されているのです。

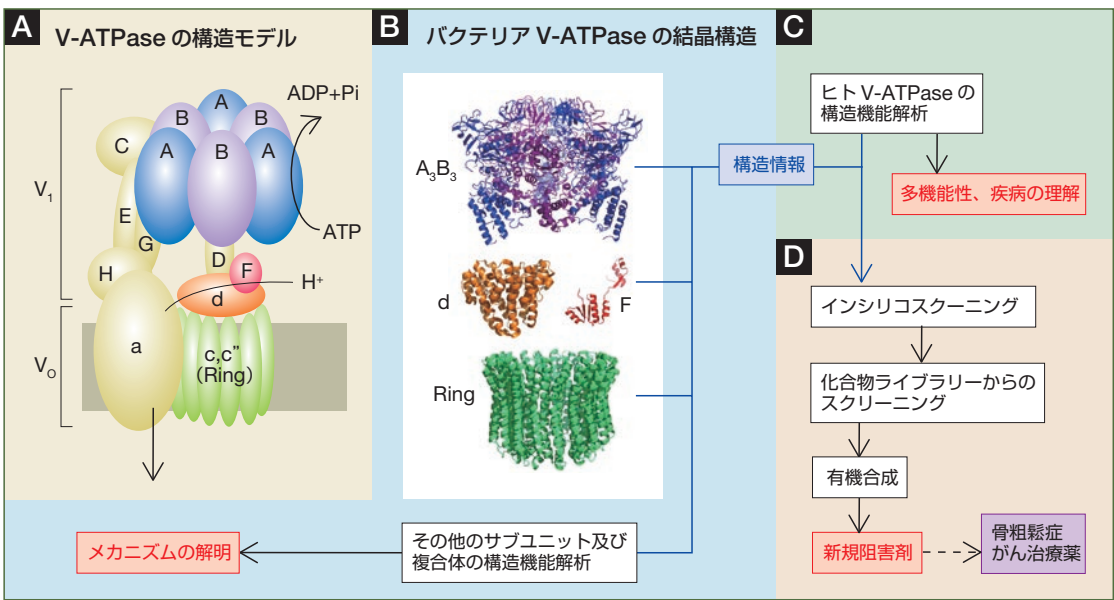
私たちは、細菌のように核をもたない原核生物にもV-ATPaseと似た酵素があることを発見しました。すでにこの酵素の構造や機能について多くの成果を出しており、当課題では、原核生物のV-ATPaseをモデルとして利用し、ヒトのV-ATPaseを阻害する物質を見つけようと考えています。

V-ATPaseのはたらきしくみについて、次のようなことがわかっています。V-ATPaseは図Aのように膜の外にあるV₁と膜の内部にあるV₀からなり、V₀には車輪のように回転する「ローターリング」という構造があります。V₁の部分でATPからエネルギーを取り出し、そのエネルギーでV₀のローターリング部分が回転すると、水素イオンが膜の外から中に移動します。水素イオンが入ってくると膜の内部は酸性に傾くのです。

V-ATPaseの阻害剤を見つけるために

は、このしくみを分子レベルで理解しなければいけません。そこで、私たちはV-ATPase複合体の構造解析に取り組んでいます。V-ATPaseはいくつもの部品（サブユニット）からなる「超複合体」という複雑な構造をとっているため、一気に全体の立体構造を明らかにすることが難しいので、部分的な構造解析を積み重ね、全体構造を理解していく方向でも研究を進めています。

現在では、次のステップにも取りかかっており、コンピューターを用いて阻害剤となる候補化合物をいくつか選別し、実験によってさらに絞り込んでいます。最終的には、得られた化合物の構造をもとにしてV-ATPaseの新しい阻害剤を創出したいと考えています。



計画の流れ。バクテリア（細菌）のV-ATPaseの結晶構造をモデルに、ヒトV-ATPaseの構造と機能を解析して、V-ATPaseの性質や疾病が生じるメカニズムを明らかにする。一方、構造解析の結果を用いてV-ATPaseを阻害する物質をつくり、骨粗鬆症やがんの治療薬開発につなげる。図版提供：京都大学大学院医学研究科 村田武士（分担研究者）、岩田 想

非翻訳RNAによる 高次細胞機能発現機構の解明

代表機関：東京大学医科学研究所
代表研究者：濡木 理

「非翻訳RNA」という種類の分子が最近注目されています。これは、翻訳されないRNA（リボ核酸）のことです。細胞内では、遺伝子の情報がRNAに転写され、それがタンパク質に翻訳されると「遺伝子発現」が起こっていますが、RNAの中には、翻訳されずに非翻訳RNAとして機能を発揮するものが、かなり存在することが判明しました。

古くからよく知られている非翻訳RNAは、「rRNA（リボソームRNA）」と「tRNA（転移RNA）」で、これらがタンパク質の合成に関与していることは有名です。ところが、この二つ以外の非翻訳RNAは、近年発見されたものがほとんどで、その機能については、まだ解明の途上にあります。ただし、遺伝子発現を調節することにより、細胞の高次機能（発生や分化、増殖など）を微調整している例が数多く明らかになってきました。また、タンパク質と複合体をつくっ

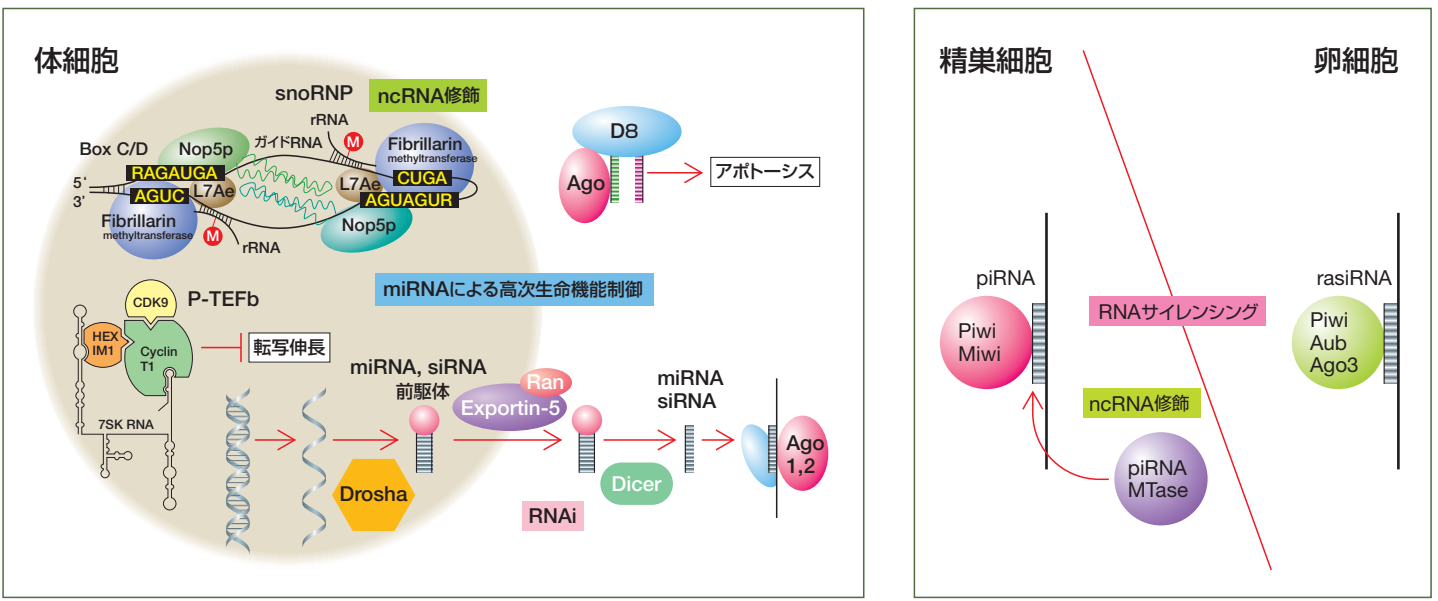
て機能を発揮するということもわかってきました。私たちは、非翻訳RNAとタンパク質の複合体の構造解析を行い、その機能の全貌を解明していく計画です。

解析対象には、私たちの研究グループにより機能解明がある程度進んでいるRNAとタンパク質のセットを選びます。例えば、非翻訳RNAによる遺伝子発現の抑制作用（「RNAサイレンシング（RNA干渉）」）に関与するタンパク質とその複合体です。この作用は、「siRNA（低分子干渉RNA）」や「miRNA（マイクロRNA）」といった非翻訳RNAが、Argonauteやその他のタンパク質と相互作用することで起こります。miRNAはアポトーシス（細胞死）や細胞のがん化などにも関与しますが、その作用にもArgonauteやその他のタンパク質が関わっており、それらも解析します。

また、非翻訳RNAの働きに影響を及ぼす修飾作用に関与するタンパク質とそ

の複合体も解析します。具体的には、「piRNA（精巣に存在する非翻訳RNA）」のメチル化酵素や、rRNAを修飾する「snoRNP（核小体に存在する非翻訳RNAのタンパク質複合体）」などです。

さらに、まだ発見されていない未知の非翻訳RNAとその作用についても発見していく計画です。まずは、タンパク質Argonauteに結合するRNAを網羅的に探索し、機能と構造の解析を進めます。そして、これらの研究を通して、生命現象のしくみの解明のみならず、創薬や医療にも貢献したいと願っています。



研究対象にする非翻訳RNAの作用。非翻訳RNAの化学的修飾やRNAサイレンシング、高次生命機能制御（アポトーシスなど）を研究する。色付きの丸で示してあるのがタンパク質。siRNA、miRNA、snoRNP、piRNA、rasiRNAが非翻訳RNA。ncRNA：非翻訳RNA。Ago：Argonauteタンパク質。図版提供：濡木 理

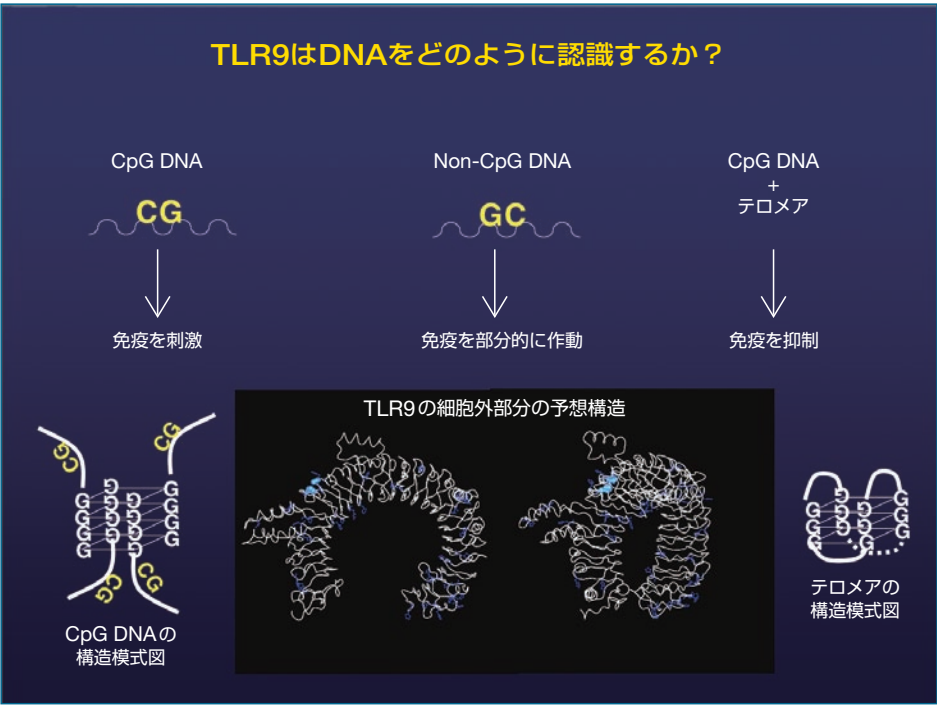
自然免疫システムにおける
病原体認識に関わる分子群の構造解析

代表機関：大阪大学免疫学フロンティア研究センター
代表研究者：審良静男

自然免疫が注目を集め、ここ10年、研究が急速に進んできました。獲得免疫の前段階である自然免疫も、私たちヒトをはじめとする高等動物において生体の防御システムを担っていることが理解されるようになり、かつては免疫システムに非自己として認識されることはないと考えられていた核酸（DNA、RNA）が、自然免疫を引き起こすことが明らかになりました。研究がさらに進めば、将来有用な核酸ワクチンができるほか、核酸による自然免疫反応をうまく制御することによってアレルギー疾患やリウマチなどの自己免疫疾患を治療できるのではないかと、医療に生かす期待が膨らんでいます。それでは核酸はどのようなしくみで自然免疫を引き起こすのでしょうか。入り口になっているのはおもに「Toll様受容

体（TLR）」と呼ばれるセンサーです。ヒトでは10種類のTLRが知られていて、このうち核酸に対応するのはTLR9など数種類です。どのセンサーがキャッチするのかは、相手がDNAかRNAか、二重鎖か一重鎖か、右巻きか左巻きかなど、核酸の構造によって決まっています。非自己である病原体の核酸、また自分由来でも傷ついたり壊れたりした核酸があると、これらのセンサーがキャッチして細胞内に信号を伝え、インターフェロンやサイトカインがつくられます。このような大阪大学微生物病研究所の石井 健准教授（当課題の分担研究者）らとの共同研究成果によって核酸が免疫反応を起こすしくみがだんだん明らかになってきました。最近注目されているのは、特定の6塩

基からなる配列を含む「CpGDNA」とよばれるDNAです。TLR9にキャッチされて、マウスにおいて抗がん、抗アレルギー、耐感染症などの作用を発揮することが明らかになりました。ヒト型もつくられて、臨床効果が調べられています。私たちがぜひ明らかにしたいのは、TLR9がどのようにDNAを認識するか、その詳しいしくみです。そのためには、TLR9やDNAと結合したTLR9の構造を知ることが不可欠です。分担研究者である大阪大学蛋白質研究所の中川敦史教授のグループとの共同研究によりこれらの結晶化にも成功しているので、今回の研究においてX線解析で構造を解明し、今後の展開の基盤をつくりたいと考えています。



DNAの構造とそれがTLR9にキャッチされたときの反応の違いCpGDNA、non-CpGDNA、CpGDNA+テロメアの機能の違いを、それぞれとTLR9との複合体の構造から探りたい。図版提供：大阪大学微生物病研究所 石井 健（分担研究者）

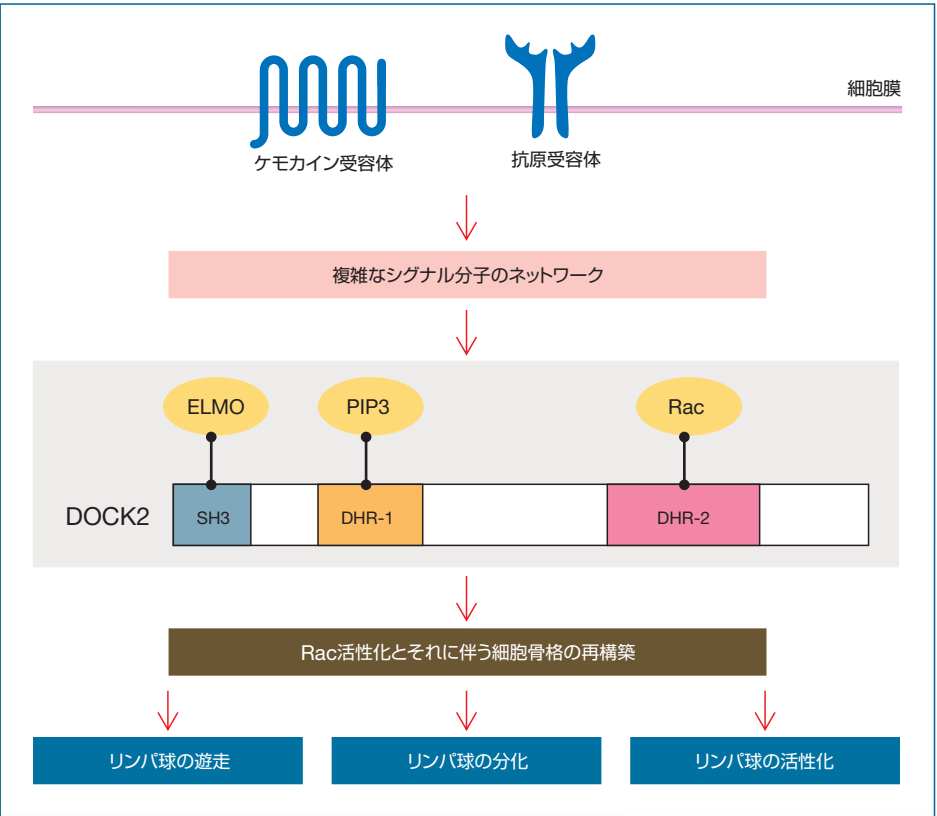
タンパク質構造に立脚した
DOCK2シグナル伝達機構の解明と創薬研究への応用

代表機関：九州大学生体防御医学研究所
代表研究者：福井宣規

体をさまざまな感染から防御する免疫反応が起こるために、各種の免疫系細胞が働いています。これらの細胞の特徴の一つは、感染に素早く対応するため体内を絶えず動き回っているということです。私たちが発見したDOCK2というタンパク質は、リンパ球の内部に存在し、その移動（遊走）を制御している重要な因子です。私たちの研究チームでは、DOCK2についてさらなる解析を続け、免疫系疾患の治療に役立つ薬の開発につなげていきたいと考えています。これまでの知見から、リンパ球などの免疫系細胞に移動を命じる最初のシグナルは、細胞外のタンパク質（ケモカイン）

によってもたらされることが明らかになっています。ケモカインはリンパ球の細胞膜にある受容体に結びつき、その刺激が細胞内部に存在する因子に次々と伝わっていくのです。最終的にはRacという分子が活性化されてアクチン繊維に働きかけ、細胞の移動が起こります。DOCK2は、このRacの活性化に不可欠の分子です。またDOCK2はこれ以外にも、Racの活性化を介して、抗原の認識やアレルギー反応の制御に関わることがわかっています。そこで私たちは、DOCK2を中心に、Rac活性化に至るシグナルの伝達経路に

関与する分子の立体構造と機能を詳細に研究し、どんな分子がどのような相互作用を行っているのかを明らかにしようとしています。また、DOCK2は1828個のアミノ酸からなる大きな分子です。そこで、どの部位がどのような反応に関わっているのかも明らかにしていきたいと考えています。体を守るはずの免疫システムが、自分自身の体を攻撃して深刻な問題を引き起こすことがあります。自己免疫疾患や臓器移植での拒絶反応です。私たちは、DOCK2をもたないマウスを作製し、そのマウスに心臓移植を行ったところ、免疫抑制剤を使用しなくても、移植心臓が長期にわたり生着できることを見いだしました。したがって、DOCK2の働きを阻害して、リンパ球の移動を阻止する薬が開発できれば、これらの不適切な免疫反応を抑制することができると期待できます。この研究を通じて、私たちはDOCK2のシグナルを阻害する薬の候補化合物を探していきたいと考えています。



リンパ球においてDOCK2は、Racを活性化する鍵分子である。Racは、ケモカインの受容体や抗原の受容体のシグナルが細胞内に伝わった結果、DOCK2を介して活性化され、アクチン繊維などの細胞骨格の再構築を引き起こし、それにより、さまざまな細胞高次機能を制御している。図版提供：福井宣規

神経細胞死に関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：九州大学生体防御医学研究所（九州大学大学院医学研究院）
代表研究者：住本英樹

アルツハイマー病やパーキンソン病など「神経変性疾患」と呼ばれる病気は、神経細胞がだんだんに死滅し、神経系の機能に障害をきたすことで発症します。しかし、発症にいたるまでのメカニズムは十分に解明されておらず、確実な治療法はほとんどありません。社会の急速な高齢化によって治療法の確立が急がれる中、あらゆる方面からの研究がさかに行われています。

神経細胞の死滅は、活性酸素によって引き起こされます。私たちは神経細胞で活性酸素が生成されるしくみを探ってきました。活性酸素を生成するのは、NADPHオキシダーゼ（Nox）という酵素です。通常、Noxはそのままでは不活性な状態ですが、いくつかのタンパク質が協調してNoxにはたらきかけると、Noxは活性化され、活性酸素をつくるようになります。

ヒトの場合、NoxはNox1～Nox5という5種類があり、神経細胞ではNox1、2、4などが働いています。私たちは、

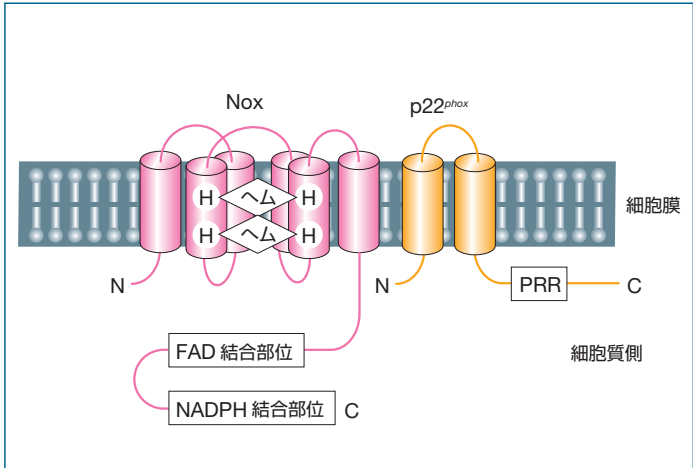
Nox4の発見、Nox1を活性化するタンパク質の発見、Nox2の活性化機構の研究などを行ってきました。こうした経験と実績を生かし、当課題ではNox本体の構造解析に取り組んでいます。

Noxは細胞膜に埋まるような状態で存在しており、電子を細胞の内側から表面側へと運んで表面側で活性酸素を発生させると考えられています。Noxの立体構造が明らかになれば、電子がNoxの中をどのように伝わるかというしくみがわかる可能性があります。Noxの大量生成や結晶化など構造解析を行うまでの道りは容易ではありませんが、チャレンジする価値は高いのです。また、これと同時にNoxの生化学的な性質を探る研究にも取り組んでいます。

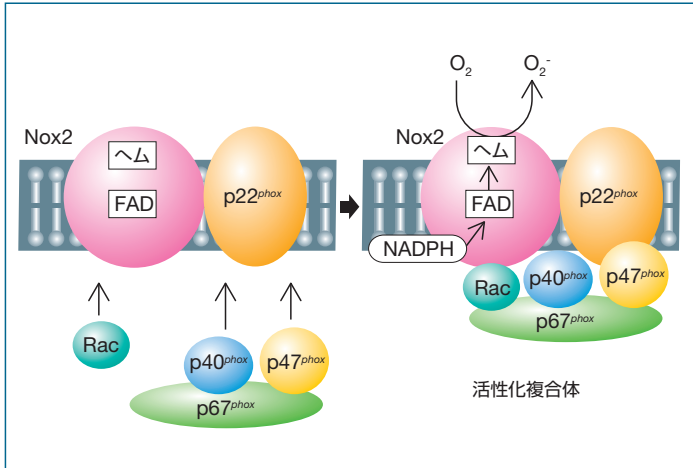
一方、Noxにはたらきかけて活性化させる一連のタンパク質群も、私たちの重要なターゲットです。これらのうち、すでに大量生成の方法を確立しているタンパク質については、さっそく結晶化を行い、構造解析を進めます。そして、

4～5年目にはNox1およびNox2に作用するタンパク質間の相互作用を阻害する物質を見つけ、神経変性疾患の治療薬を開発するための基盤をつくっていく予定です。

一方、活性酸素は生体内でさまざまな役割を担っているため、その発生源となるNox関連のタンパク質は神経変性疾患だけでなく、感染症の防御や耳石の形成、甲状腺ホルモンの合成、血圧の調節などにおいても重要な働きをしていることがマウスの実験で報告されています。この研究プログラムでの私たちの研究成果は、さまざまな病気の理解と治療法の開発に貢献できるはずです。



Noxは膜に埋まるように存在する膜貫通型タンパク質で、p22^{phox}と複合体を形成している。この複合体の構造解析をめざす。図版提供（2点とも）：住本英樹



Nox2の活性化機構。Rac、p40^{phox}、p47^{phox}、p67^{phox}との相互作用によって活性酸素であるO₂⁻が生成される。p40^{phox}の構造はすでに解析済みであり、当課題ではp47^{phox}、p67^{phox}の構造、3者の複合体の構造解析が、目標。

アルツハイマー病治療薬創出に向けたγセクレターゼの構造解析と機能制御

代表機関：東京大学大学院薬学系研究科
代表研究者：富田泰輔

社会の高齢化が進むにつれ、認知症患者の数も年々増えています。認知症のうちでも、最も多いものの一つがアルツハイマー病です。国内ではアルツハイマー病の症状を抑える薬がすでに使用されていますが、病気のもとを断つ薬は世界的に見てもまだ実用化されていません。介護問題などに対する社会の関心が高まる中、アルツハイマー病の根本的な治療法の確立が急務となっています。

アルツハイマー病は脳内でAβというペプチドが集まって固まり、これが蓄積されることで引き起こされます。Aβはアミロイド前駆体タンパク質（APP）という物質から切り出されてできるペプチドで、切り出しの最終段階で働くのがγセクレターゼという酵素です。現在、γセクレターゼを阻害する物質を見つけて、アルツハイマー病の根本治療薬を開発しようと、世界中の研究者がしのぎを削っています。

私たちは、より確実な根本治療薬の開発をめざし、γセクレターゼの作用機構

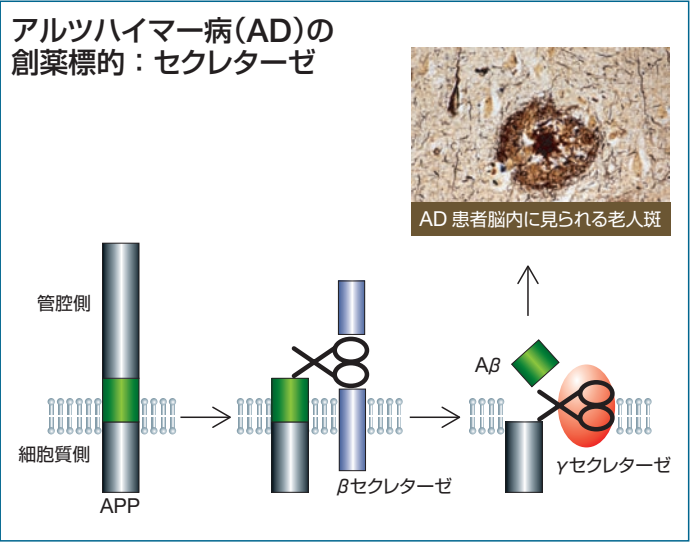
を分子レベルで解明しようと取り組んでいます。まず中心に行っているのは、γセクレターゼの構造解析です。γセクレターゼは4つの因子からなる巨大な複合体で、しかも、その大部分が細胞膜に埋まっています。このようにきわめて珍しい性質をもつため、γセクレターゼの構造解析は技術的にとても難しく、Aβ切り出しの機構を構造面から説明するような知見は皆無なのです。

そこで私たちは、さまざまな角度から撮影した分子の写真を用いてγセクレターゼの全体構造を明らかにする「単粒子解析法」による構造解析と、細胞膜から外に出ているニカストリンという部分のX線結晶解析を行ってきました。ニカストリンはγセクレターゼが基質を認識する部分であり、構造解析から機能を解明する上で、非常に重要な部位なのです。

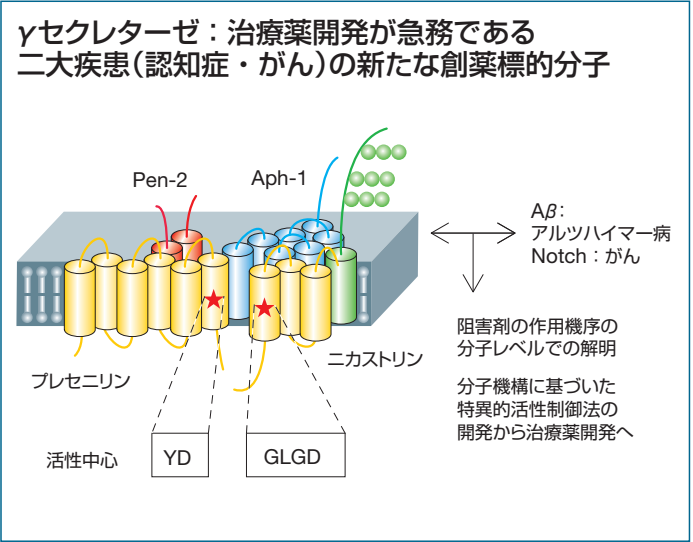
また、同時にγセクレターゼの活性を制御する化合物や機能抗体の開発も進めており、すでに特許を取得しているものもあります。こうした研究をさらに推し

進め、3年間で初期の構造解析を完了させたあと、オリジナルの化合物や抗体を用いてγセクレターゼの構造と活性の相関関係を明らかにしようと考えています。

一方、γセクレターゼはAβ産生のほかに、生物の発生や分化に関わるNotchという重要なタンパク質の切り出しも行っています。特に近年、Notchとがんの関係が明らかになりつつあり、私たちはがんの治療薬の開発をめざした研究も始めました。アルツハイマー病やがんの治療という現代社会の大きなニーズに応えられるよう、γセクレターゼの機構解明にこれからも全力で取り組んでいきたいと思っています。



γセクレターゼはAβの膜に埋まっている部分を切る。図版提供：富田泰輔、老人斑の写真提供：東京大学大学院医学系研究科 岩坪 威（分担研究者）



γセクレターゼは4つの因子からなる。図版提供：富田泰

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：東京大学大学院医学系研究科
代表研究者：北 潔

寄生虫であるトリパノソーマ科の原虫が引き起こす致死性疾患、トリパノソーマ症。WHOにより、制圧すべき感染症の一つに挙げられています。アメリカ型の原虫の場合はシャーガス病、アフリカ型の原虫の場合は睡眠病となり、毎年数十万人以上もの新たな患者が発生しています。家畜にも感染し、年間数十万頭もの牛が死んでいるのです。

私たちは、これまでの研究で、トリパノソーマ症を制圧する創薬開発に有望なターゲットを発見しました。その一つは、原虫の核酸（DNAやRNA）の材料を合成する反応経路にかかわる酵素群で

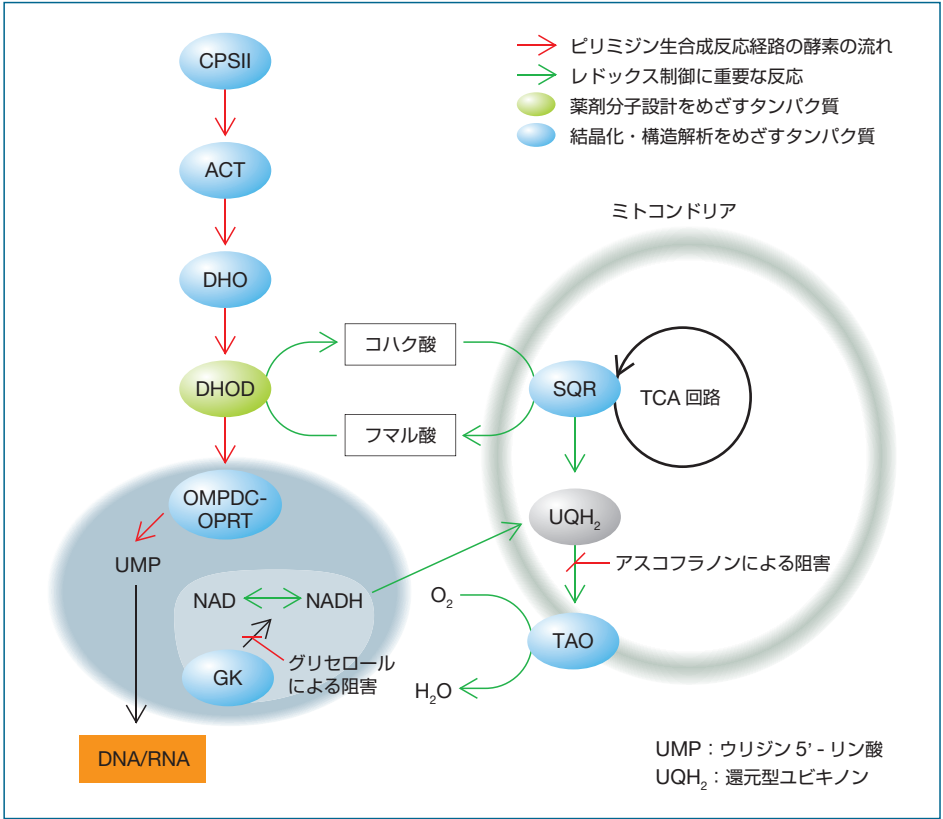
す。もう一つは、原虫細胞の酸化・還元状態を調節する反応経路（レドックス制御）にかかわる酵素群です。実はトリパノソーマ原虫では、この両反応経路がつながっており、これらの酵素群は原虫の生存に大きな影響をもっているのです。

薬を開発する上で重要な要件は、原虫には効果を及ぼすが、人や家畜には悪影響がないことです。例えば、DHOD（ジヒドロオロト酸脱水素酵素）は、トリパノソーマ原虫の核酸材料（ピリミジン）を生成する経路の第4番目の酵素で、この酵素の有無は、原虫の生死を左右することがわかっています。ところが、

DHODは哺乳類にも重要な酵素です。そこで、原虫の酵素群だけを阻害する方法を見つけることが必要なのですが、幸い、DHOD遺伝子は他のいくつかの酵素遺伝子と協力して一つの遺伝子のように振る舞うので、それを利用することができそうです。

また、アフリカ型原虫は、宿主（感染した相手）の血中で、シアン耐性型の特殊な酵素TAOを使用しますが、この酵素は哺乳類の細胞には含まれません。そして、糸状菌が産生する物質（アスコフラノン）が、このTAOを阻害するとわかりました。

このように、原虫の核酸生成経路とレドックス制御経路に関与する酵素群の研究から、原虫を特異的に死滅させられる創薬が開発できる可能性が非常に高く、すでに国際的な開発競争が始まっています。私たちは、これら酵素群の精密な立体構造の解析を進め、1日でも早く、抗トリパノソーマ薬の分子設計に結びつけたいと思っています。さらに、こうして得られた知見は、他の寄生虫の創薬研究にも活かせるとの期待も高いのです。



ピリミジン生成とレドックス制御の反応経路。UMPを生成するピリミジン生成反応では6つの酵素、CPSII、ACT、DHO、DHOD、OMPDC-OPRTが働いている。レドックス制御反応で重要な酵素SQRは、ミトコンドリアでの酸化反応で働いている。アスコフラノンによるアフリカトリパノソーマの酵素TAOの阻害効果は、酵素GKを阻害する薬（グリセロール）との併用で高まる。図版提供：北 潔ほか

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
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：東京大学大学院医学系研究科
代表研究者：門脇 孝

我が国の死因の第1位にある心疾患や脳血管疾患は、メタボリックシンドローム（MS）や糖尿病が主要な原因となっています。私たちは、MSや糖尿病が起こるしくみを長年にわたって研究してきており、アディポネクチンの欠乏・作用低下が大きな原因の一つであることを突き止めました。

アディポネクチンは脂肪組織から分泌される「善玉物質」で、肝臓や骨格筋での脂肪の燃焼を促します。肥満により脂肪組織が肥大するとアディポネクチンの分泌・作用が低下し、それに伴って脂肪の蓄積を促す悪玉物質が分泌されるようになり、それがMSや糖尿病につながるのです（p.4参照）。

アディポネクチンが肝臓や骨格筋など

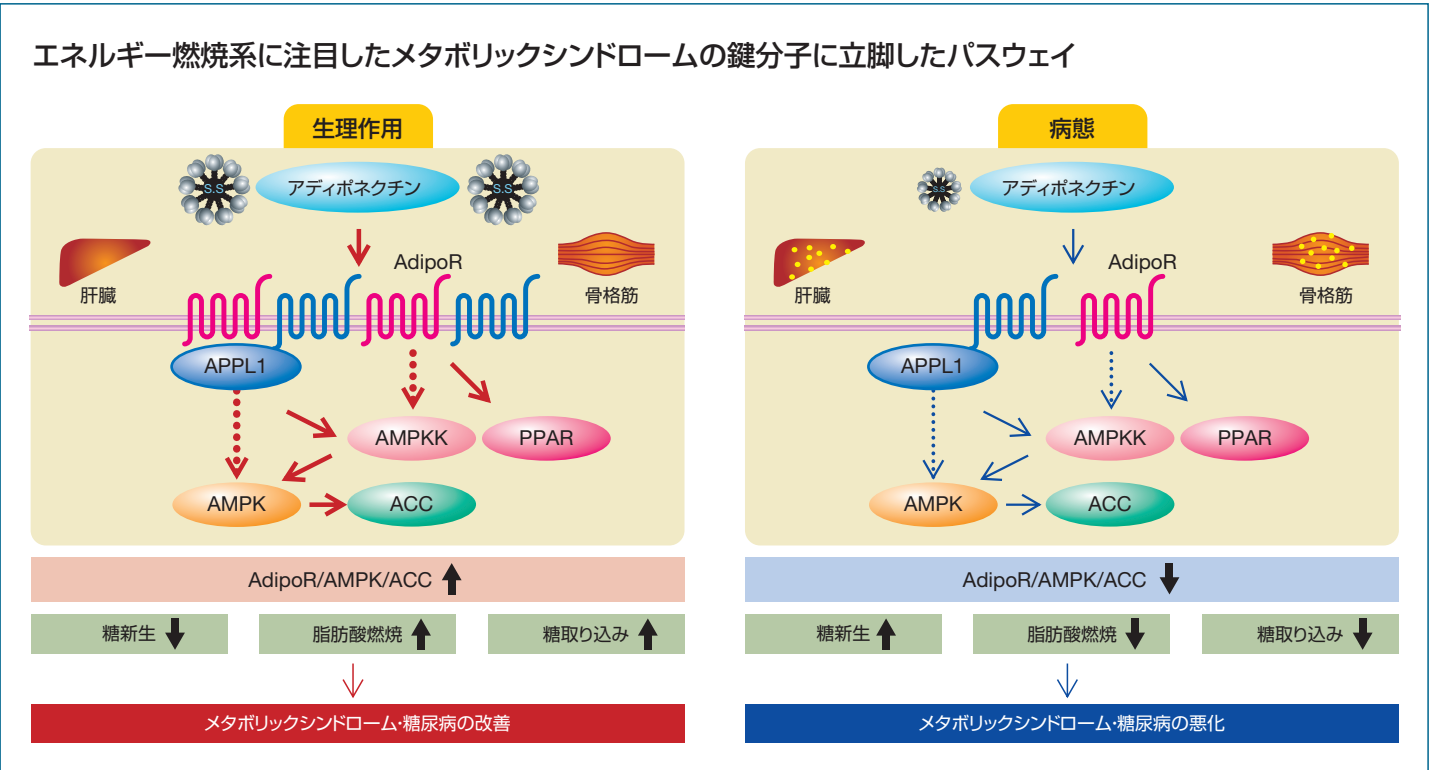
の細胞膜にあるアディポネクチン受容体（AdipoR）に結合すると、細胞内ではAMPKKがAMPKという酵素をリン酸化・活性化して脂肪の燃焼を促します。AdipoRを発見したのも、AMPKを介して脂肪の燃焼が起こることを明らかにしたのも、私たちです。

本課題では、AdipoR、AMPK、ACCをおもなターゲットとして、立体構造を明らかにし、はたらきを制御する物質を見つけてMSや糖尿病の治療薬開発につなげることを目標にしています。

すでに私たちは、オスモチンという天然物質が、AdipoRに結合し、AMPKを活性化させることを見いだしています。オスモチンは、アディポネクチンの100分の1程度の濃度で同程度の作用を

発揮するので、薬の手がかりとして重要です。このため、AdipoRの構造を解析し、オスモチンが結合する場所を明らかにしたいと考えています。AdipoRは解析の難度が非常に高いものですが、さまざまな工夫をして取り組みます。

AMPKは3種類のパーツからなる複合体で、各パーツの比率が正しい複合体を得ることが困難ですが、その点を克服して構造を解析し、この酵素の活性を高める物質を探索します。一方、ACCは脂肪を燃焼させるのではなく、合成するはたらきの酵素です。AMPKはこの酵素のはたらきを抑えることで、脂肪の燃焼を促しています。このため、ACCの構造解析を行い、はたらきを阻害する物質を見つけたいと考えています。



アディポネクチンが肝臓や骨格筋などの細胞の膜にあるアディポネクチン受容体に結合すると、細胞内でAMPKが活性化され、脂肪の酸化（ゆるやかな燃焼）が促される。図版提供：門脇 孝

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：東京大学大学院医学系研究科
代表研究者：松島綱治

人間の体を病原体から守る免疫防御反応では、白血球が病原体の侵入した場所にいち早く集まり攻撃します。このとき、白血球が必要な場所に集まる（遊走する）ための目印となる物質がケモカインです。ケモカインは、最近、エイズウイルスの感染やがんの転移にも関わっていることがわかるなど、さまざまな疾患の治療につながる物質として注目されています。

関節リウマチや動脈硬化などの慢性炎症性疾患は、炎症の起こった場所に白血球が集まりすぎて炎症が悪化します。従来の治療薬は白血球の集まりのみならず免疫反応を全体的に抑えるため、十分な効果を得ようとすると副作用が強くなってしまいます。そこで、白血球の行き過ぎた集まりだけを抑えたいという期待から、ケモカインの作用を阻害する薬の開発が世界中で行われています。

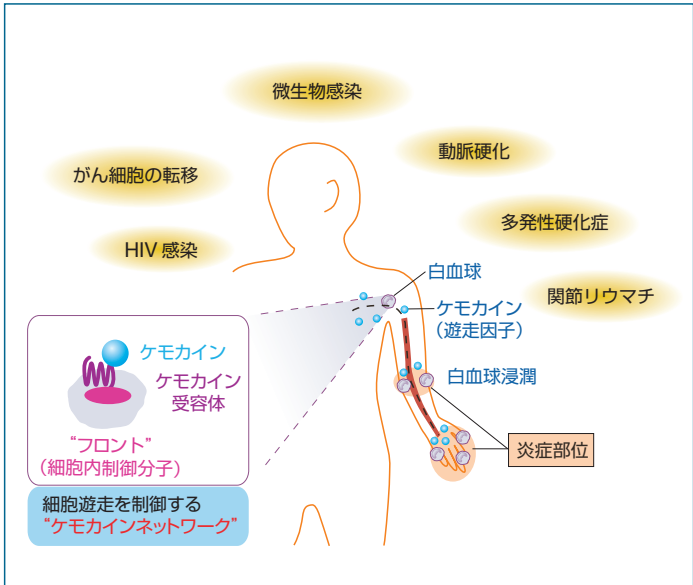
そのほとんどは、ケモカインが白血球

の細胞膜にあるケモカイン受容体に結合するのを阻害しようというもので、これまでに開発は成功していません。そこで私たちは、細胞の中に着目しました。ケモカインが受容体に結合してから白血球が遊走を始めるまでに、白血球の中では次々に反応が起こります。この一連の反応の一部を断ち切って、遊走を抑えようと考えたのです。

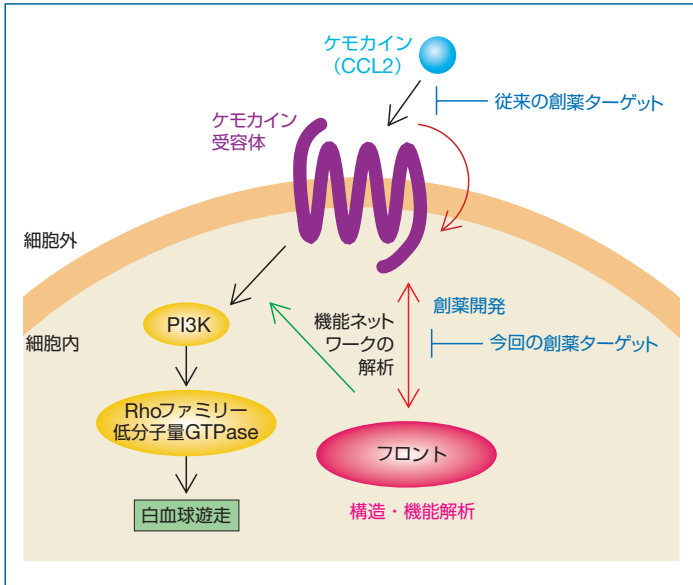
最初のケモカインCXCL8およびCCL2を発見するなど、私は、20年以上一貫して免疫システムの制御に関する研究を展開し、治療薬開発に貢献してきました。そのような研究の中で、最近、CCL2の受容体に結合する新しい分子を見つけました。「フロント」と名づけたこの分子は、ケモカインが受容体に結合したというシグナルを白血球内部に伝えて遊走を引き起こします。そのため、私たちは受容体とフロントの間の結合を阻

害する物質は、治療薬の候補となると考えました。

そこで私たちはCCL2、受容体、フロントをケモカインネットワークと定義し、分担研究者の熊本大学大学院医学薬学研究部の寺沢宏明教授のグループと協力して、このケモカインネットワークの構造と機能を解析し、ネットワークを制御できる化合物を探索しています。この化合物の探索には東京大学大学院薬学系研究科の長野哲雄教授と同大学生物機能制御化合物ライブラリー機構の岡部隆義特任教授のご協力をいただいています。フロントはこれまでに報告されているどの分子にも類似していないため、構造解析は工夫とノウハウで克服します。フロントとその周辺のネットワークが解明されれば、創薬に新たな道が開けると信じています。



ケモカインネットワークに関わるさまざまな疾患。図版提供：松島綱



ケモカインネットワークを解析して、慢性炎症性疾患の治療薬開発に役立てる。図版提供：松島綱治

核内レセプターの新規機能解析と構造情報に基づいた 線維化疾患治療法の開発

代表機関：筑波大学生命環境科学研究科
代表研究者：柳澤 純

私たちの組織や臓器は、コラーゲンなどの線維が存在するおかげで構造が保たれています。ところが、これらの線維が異常に増えてしまうことがあるのです。すると、組織は硬くなり、正常な機能が営めなくなり、例えば腎臓の糸球体硬化症、あるいは肝硬変や肺線維症などの線維化疾患が引き起こされます。有効な治療薬はまだ見つかっていません。

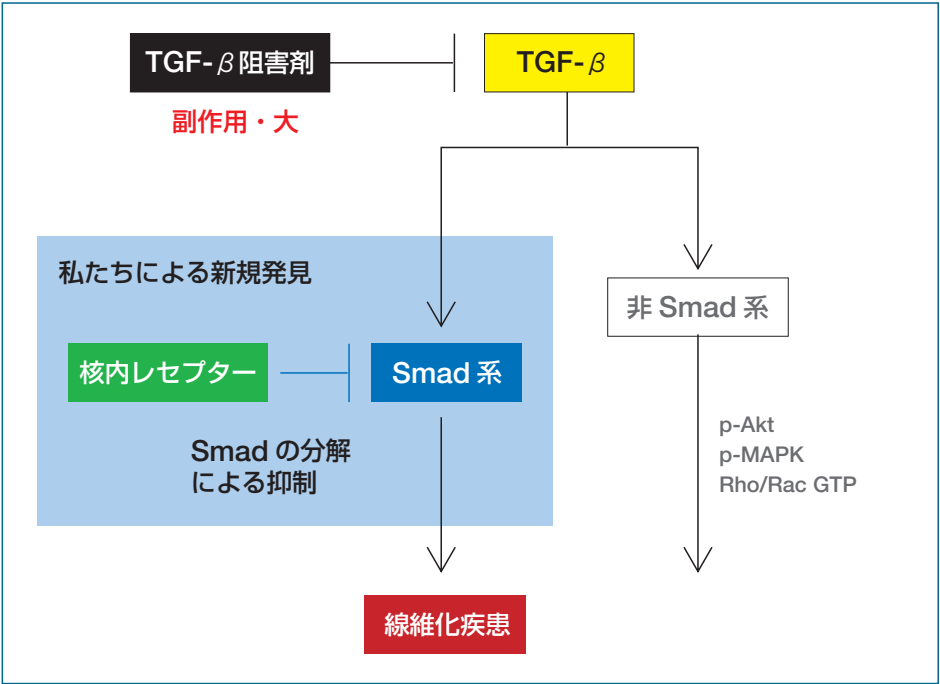
異常な線維化を引き起こす原因が、TGF- β という増殖因子のシグナルの過剰な活性化だということはわかっています。TGF- β が細胞膜にあるレセプターに結合すると、そのシグナルは細胞内のSmadというタンパク質分子に伝わります。そして、Smadは細胞の核内へ移動して線維の合成にかかわる遺伝子の転

写（遺伝子をもとにタンパク質がつくられる際の最初の段階）を促進し、線維化がもたらされるのです。TGF- β の阻害剤を投与すれば、線維化が防げるのですが、TGF- β には他にも重要な働きがあるので、それを阻害しては深刻な副作用が引き起こされてしまいます。

そこで私たちの研究チームでは、TGF- β シグナルが、線維化の起こる組織においてでのみ阻害されるような方法を研究しています。この方法の鍵は核内レセプターという分子が握っていることがわかっています。核内レセプターは、ホルモンなどのシグナルを受け取ると、核内で遺伝子の転写を調節するようにはたらく物質の総称で、組織や臓器により、さまざまな種類が存在します。私たちは、

ある核内レセプターが、「タンパク質分解」というそれまで知られていなかった作用を発揮し、Smadを分解することを発見したのです。

これまでの研究で、このSmadの分解は、複雑なタンパク質複合体の形成を介して起こることがわかっています。今後は、この複合体の反応を、タンパク質の立体構造レベルで詳しく解析していくことにより、線維化の起こる組織で特異的にTGF- β シグナルを阻害する薬の候補化合物を開発していく計画でいます。そこで、タンパク質の構造と機能の知識に加えて、薬化学の知識を高いレベルで統合していくことが必要となります。そのため私たちは、分子生物学を専門にした筑波大学のグループ、構造生物学を専門とした横浜市立大学のグループ、有機化合物の合成を専門とした東京大学のグループ、薬剤のスクリーニングを行う株式会社アックスのグループ、そして、臨床への応用を担当する東京慈恵会医科大学のグループが連携して、多角的に研究を進めていきます。



線維化シグナルは、TGF- β からSmadに伝わる。このSmadと核内レセプター（ERaなど）が複雑なタンパク質複合体を形成し、Smadが分解される。複合体の構成因子には、ユビキチンリガーゼ（Smurf）という酵素や未知の転写因子などが含まれる。この複合体を結晶化して、立体構造を解析し、分解反応の詳細を明らかにしていく。図版提供：柳澤 純

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：東北大学大学院薬学研究科
代表研究者：青木淳賢

細胞外の物質の代謝に関わるNPPというタンパク質群があります。最近、NPPが体内で種々の重要な役割を果たし、がんなどの病気にも深く関係していることがわかってきました。こうした成果には、私たちを含めた日本人研究者も大きく貢献してきました。世界中の研究者がNPPに着目し始めている中、私たちは創薬をめざした研究にいち早く取り組んでいます。

NPPは全部で7種類あり、私たちが当課題で扱うのはNPP1とNPP2とNPP6です。NPP1は骨の石灰化を調整している酵素で、最近ではヒトで、NPP1の遺伝子の異常により靱帯の一部が骨化する後縦靱帯骨化症という病気が引き起こされることがわかってきました。さらに、NPP1が糖尿病に関係している可能性も報告されています。

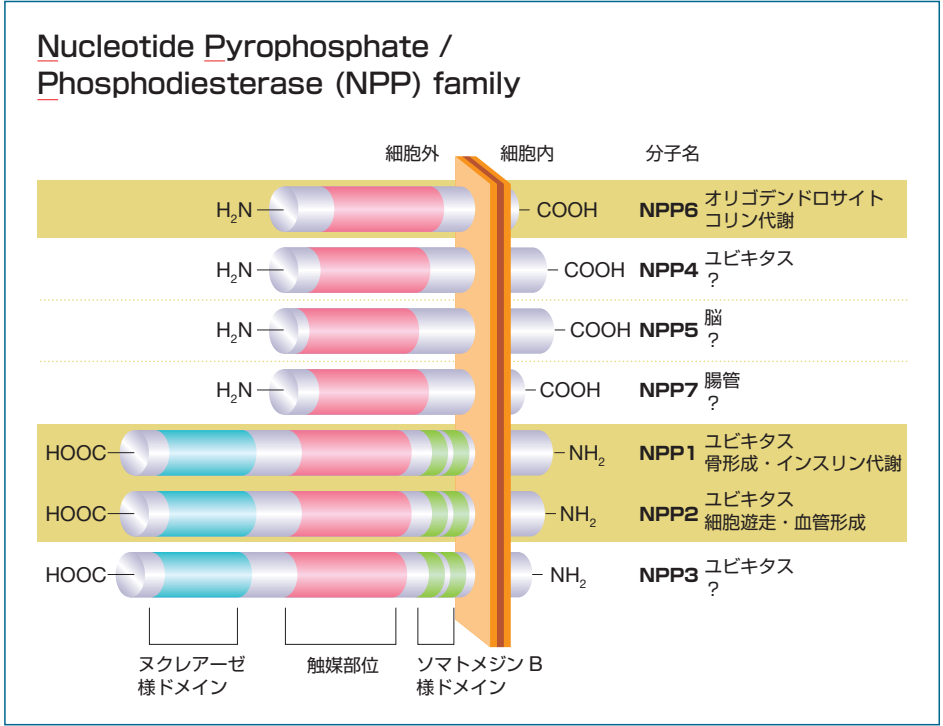
NPP2はリゾホスファチジン酸（LPA）という物質を産生します。LPAは、がんにもみられる細胞増殖や細胞の浸潤・転移、そのほかにも傷の治癒、脳神経系の発達や分化、血管の形成などさまざまな生命現象に関与しています。実際、がん細胞でNPP2のはたらきが強くなっていることが報告されており、また、私たちはNPP2がアレルギーなどで生じる炎症にも関与していることを見いだしています。

NPP6はコリンを生成します。コリンは生体にとって必須な栄養成分であり、その欠乏によって脂肪肝、脳神経の発達異常など重篤な症状が引き起こされることが知られています。また、脊髄の損傷などで神経細胞の軸索が傷ついたときに、NPP6のはたらきによって回復が妨げられることもわかっています。

このように、NPPは創薬のターゲッ

トとして非常に魅力的なタンパク質なのです。NPPは細胞膜に外から突きささったようなかたちで存在していますが、私たちはNPPの構造解析に向けて研究を進め、すでにNPP1と2と6の精製法を確立しました。ただし、NPPには長い糖の鎖が結合しているので、全体を結晶化するのには難しいかもしれません。そうした場合を想定して、分担研究者である東京大学医科学研究所の濡木理教授のグループが触媒部位のみを切り出してつくり、結晶化させる方法を試みています。

また一方で、やはり分担研究者の東北大学大学院薬学研究科の徳山英利教授のグループと岩瀬好治教授のグループがもっている約6000種類の化合物から、化学的な手法でNPP1、2、6の阻害剤を見つけ出す研究を行っています。計画の後半では、NPPと基質（NPPが反応させる物質）や阻害剤が結合した構造を明らかにし、そこから得られた知見をもとに、阻害効果の高い化合物をつくらうと考えています。



7種類のNPPとその機能。図版提供：青木淳賢

セマフォリン及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：大阪大学微生物病研究所（大阪大学免疫学フロンティア研究センター）
代表研究者：熊ノ郷 淳

セマフォリンというタンパク質群には、30以上の種類が見つかっていて、生命現象において多彩な活性を示すことが知られています。分泌されるタイプと細胞膜に存在するタイプとがありますが、どちらも「セマドメイン」と呼ばれるアミノ酸配列をもっているのが、このタンパク質群の特徴です。それぞれのセマフォリン分子には、特異的に結びつくことのできる受容体が存在します。セマフォリンとその受容体との結合により、細胞間での情報の伝達が生じることになります。

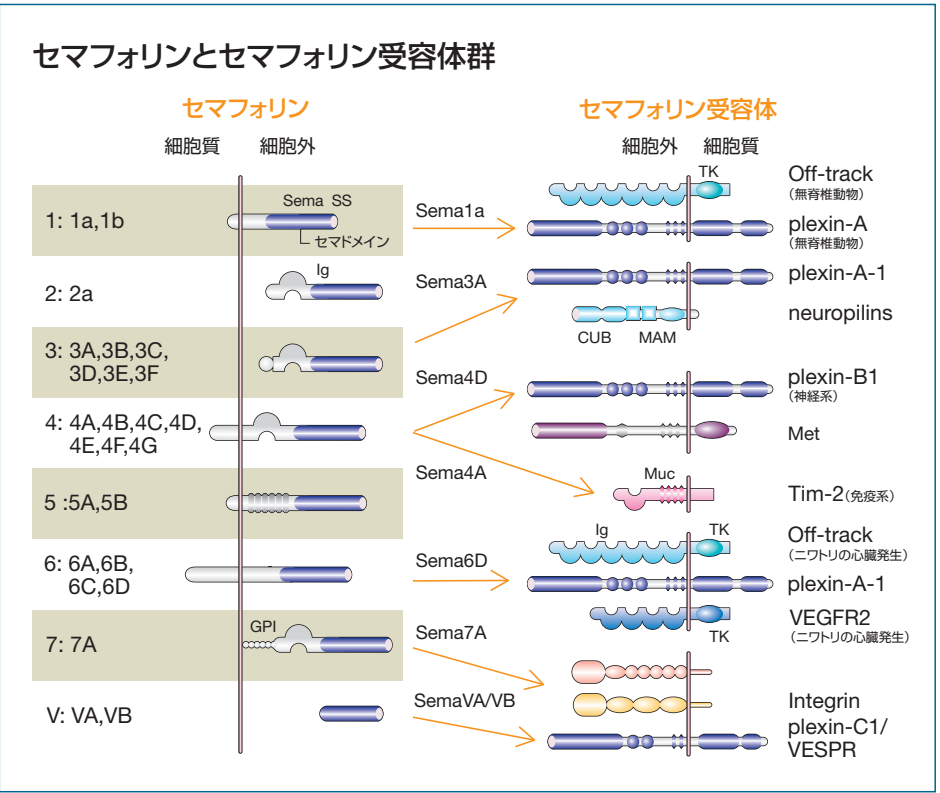
セマフォリンの重要性が最初に注目されたのは、1990年代初めのことです。神経活動に伴って神経細胞の軸索が伸長

し、神経の回路網が形成されますが、このときに、軸索の伸びる方向を決める要因の一つが、神経細胞間でのセマフォリンとその受容体との相互作用だったのです。ただし、セマフォリンの場合、軸索を伸ばすのではなく、軸索に対する反発を生じさせて伸長を抑制することにより、伸長方向を制御するという性質が最初に発見されました。最近の研究では、このセマフォリンのはたらきを阻害することにより、神経の再生を誘導できる可能性が見つかっています。

セマフォリンはまた、免疫系においても重要なはたらきを示すことを、私たちが最初に発見しました。病原体や異物に対して免疫反応が起こるには、T細胞や

B細胞、樹状細胞などの各種の免疫系細胞が活性化される必要があります。そうした細胞の活性化に、セマフォリンとその受容体の相互作用が関与していることがわかったのです。そのほかにも免疫反応のいろいろな場面で、この分子群が活躍していることが明らかになりました。

セマフォリンとその受容体分子群のはたらきは、これだけにとどまりません。血管の形成、がんの進行、骨代謝の制御など、広範囲にわたる分野での作用も明らかになってきています。したがって、これらの分子群の機能を解明していくことにより、さまざまな疾患の治療薬を開発できる可能性があるのです。しかし、薬の開発を進めるには、これらの分子について、構造と機能を詳しく解明することが必要です。これまでは質の高い試料が得られなかったこともあり、構造はもちろん、生化学的な機能解析も十分には行えませんでした。そこで今回の研究では、試料の作製にさまざまな工夫をこらし、これらの分子群の構造解析を総合的に進めていきます。そして、その知見をもとに、分子間の相互作用を明らかにしていき、セマフォリンのはたらきを促進したり阻害したりする薬を探していく計画です。



セマフォリンは、細胞外に「セマドメイン」という共通のアミノ酸配列をもっている。セマドメインに隣接する部分の構造の違いにより、7つのサブファミリーに分けられる。その他、ウイルスのもつタイプ（V）が存在する。図版提供：熊ノ郷 淳

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：東京大学大学院農学生命科学研究科
代表研究者：永田宏次

農業は食料の増産に大きく貢献してきました。現在も、地球上の膨大な人口を維持するためには食糧生産に農薬の使用が欠かせません。しかし、近年その毒性や難分解性による健康被害や環境汚染の可能性が問題となっており、そういう心配のない新しい農薬の開発が求められています。その方法の一つとして、昆虫の「性フェロモン」を利用するものがあります。

昆虫の性フェロモンはオスかメスのどちらか（あるいは両方）が分泌する物質で、オスとメスとが会うための「会話」にあたります。この性フェロモンを利用すれば、特定の害虫をおびき寄せて駆除したり、オスとメスとの会話を邪魔して出会いの機会を減らしたりすることができます。さらによいことに、性フェロモ

ンは同じ種類の昆虫の間でのみ有効なので、他の生物に対しては効果も毒性も示しません。生態系を乱すこともなく、安全なのです。

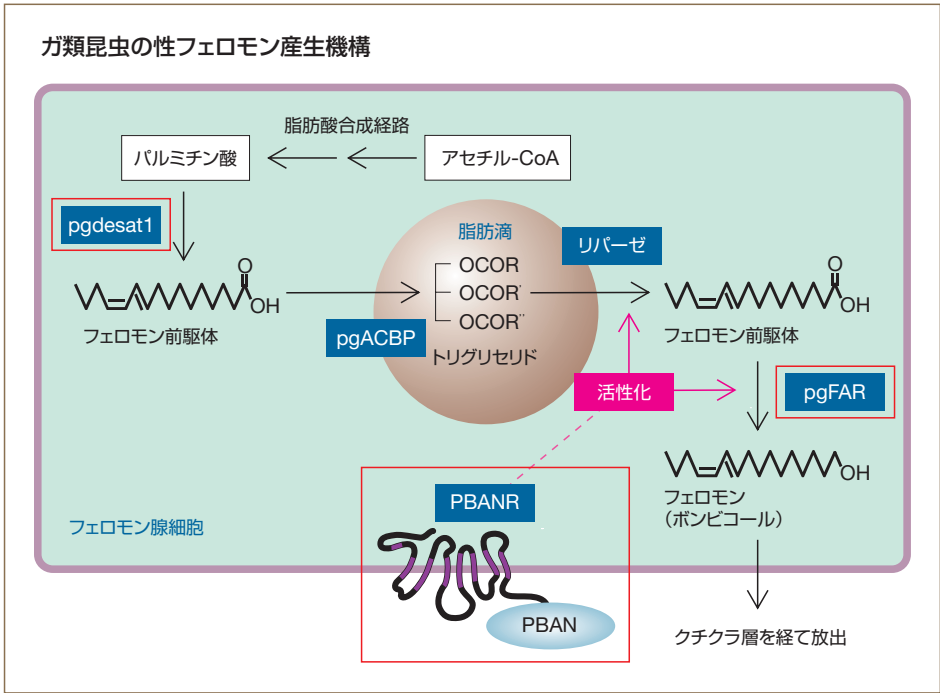
そこで、私たちは農業における最大の害虫であるガ（蛾）の性フェロモンを対象に研究を行っています。性フェロモンの合成や受信に関わるタンパク質の構造を調べ、新しい農薬開発のための情報を集めるのが目的です。

これまでの研究により、交尾期になるとメスのガの生体内でPBANと呼ばれるホルモンが分泌されることが知られています。このホルモンがフェロモン腺の細胞膜上のPBANRと呼ばれる受容体（これが「鍵穴」、PBANが「鍵」にあたる）に結びつくと、細胞内で性フェロモンの合成が活性化されます。このPBANと

PBANRを構造解析した情報により、PBANに似た偽物の「鍵」をつくり出し農薬として用いれば、正しい鍵が結びつきにくくなり、性フェロモンの合成をできなくすることが可能です。さらに、PBANの仲間は性フェロモン合成の活性化だけでなく、さなぎになるのを促進したり胚を休眠させたりと、多様な機能をもっているので、偽物の鍵は害虫のさまざまな成長段階の制御に役立ちます。

また、細胞内で性フェロモンを合成するにはpgdesat1やpgFARという酵素がはたらきます。これらの酵素はガの種類によって少しずつ違い、できてくるフェロモンもそれぞれ異なります。そこで、これらの酵素の構造を解析し、性フェロモンを効率よくつくれるように酵素を改変したり、酵素のはたらきを阻害する物質を探索したりすることを計画しています。いずれも、農薬への応用が期待される研究です。

実は、哺乳類にもPBANとPBANRによく似たホルモンがあり、摂食抑制、ストレス反応調節、痛み制御、骨量調節に関わっていることが知られています。今後の研究によっては、農業だけではなく我々の健康増進に役立つ知識が見つけれられるかもしれません。



カイコガのフェロモン腺細胞における性フェロモンの産生機構。PBAN（フェロモン生合成活性化神経ペプチド）というホルモンが細胞膜にあるホルモン受容体PBANRに結合することで、フェロモンの合成が活性化される。赤で囲んだのが、当課題でターゲットとしているタンパク質。図版提供：理化学研究所基幹研究所 松本正吾（分担研究者）

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：東京大学大学院農学生命科学研究科
代表研究者：堀之内末治

生物がつくる物質のうち、糖、アミノ酸、脂質、核酸など、多くの生物に共通でその生物の生命活動に必須な物質を一次代謝産物と呼びます。一方、一次代謝産物からつくり出され、その生物の生命活動に必須でない独特な物質を二次代謝産物と呼びます。抗生物質や色素がその代表例です。人類は昔から、これらの二次代謝産物を薬・香料・染料などの生物資源として利用してきました。

土壌細菌である放線菌は抗生物質などさまざまな有用な二次代謝産物をつくり出します。私たちはその生産のしくみを明らかにし、二次代謝産物の増産や、新たな二次代謝産物の生産に役立てたいと考えています。そのために、生産の鍵となる酵素の構造を解析し、反応機構を詳しく調べます。さらに、その結果に基づいて

酵素の改良を進めていきます。構造解析は、分担研究者である東京大学大学院農学生命科学研究科の田之倉優教授のグループと共同で行います。

当課題では、放線菌がグリキサゾンという二次代謝産物をつくるときにはたらく酵素に注目しました。中でも、GriI、GriHという酵素は、強度と耐熱性に優れたプラスチック（ポリベンズオキサゾール）の原料合成に利用でき、GriFという酵素も有用物質の生産に利用できるので、この3種類の酵素の構造と機能の解析に取り組みます。

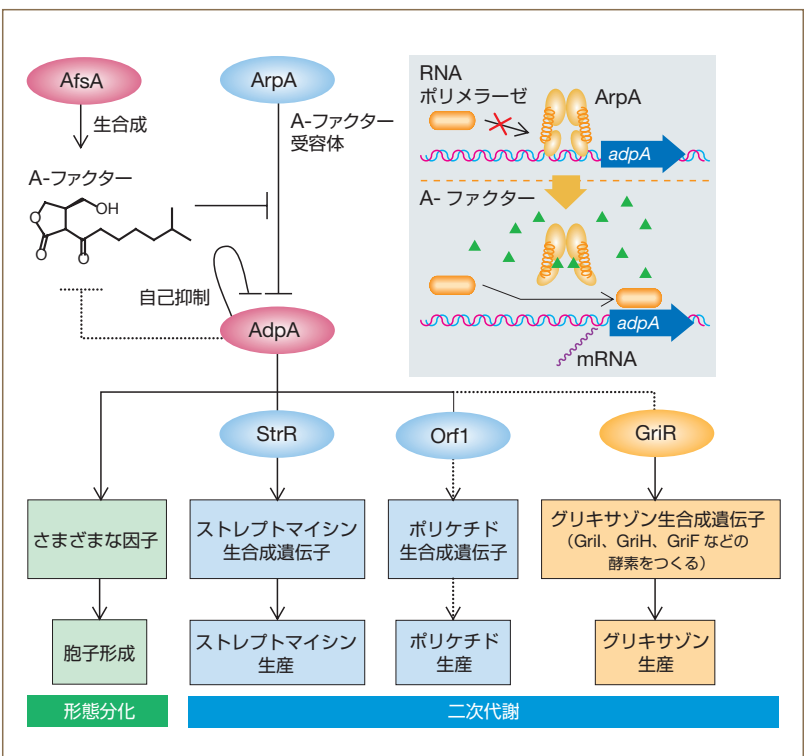
また、グリキサゾンやほかの二次代謝産物の生産は、Aファクターというホルモンによって制御されています。私たちは、この機構にいくつものタンパク質が複雑に関係していることを突き止めてお

り、そのうちでも、制御の要であるA-ファクター合成酵素（AfsA）と転写因子（AdpA）の構造と機能の解析を行います。

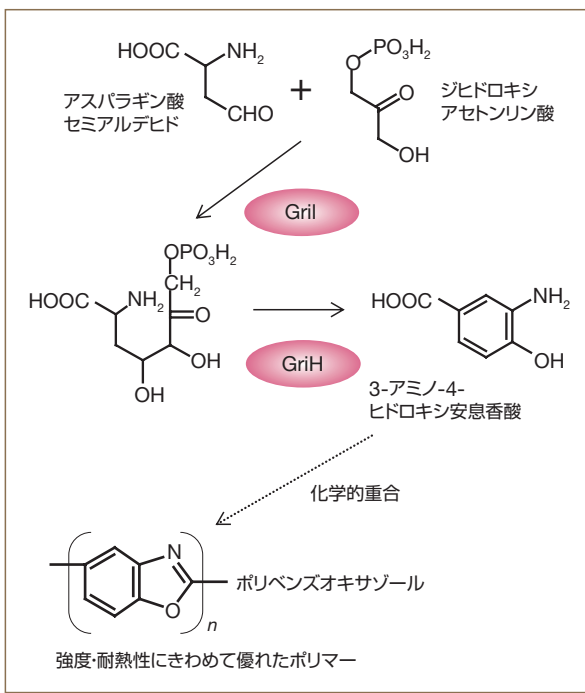
これらの研究をもとに、酵素を用いて有用物質を効率よく生産できるようにするのが第一の目標ですが、並行して、放線菌から新たな有用酵素を「発掘」することにも力を入れます。

一方、私たちは、ウコンの薬効成分であるクルクミンの合成酵素をイネから発見しています。この構造解析も進め、産業応用につなげたいと考えています。

酵素を利用する生産法は従来の生産法に比べて低コストの上、効率も良く、環境負荷も格段に低くてすみます。また、バイオマスが原料であるため、資源の有効利用や二酸化炭素削減の観点からも期待される技術なのです。



放線菌による二次代謝産物の生産は、Aファクターというホルモンのかかわる複雑な経路で制御されている。図版提供：堀之内末治



放線菌がグリキサゾンという物質をつくるときにはたらく酵素（GriI、GriH）は、強度・耐熱性にきわめて優れたポリマー（スーパーエンジニアリングプラスチック）の原料をつくるのに利用できる。図版提供：堀之内末治

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：東京大学大学院農学生命科学研究科
代表研究者：田之倉 優

人口の増加で食糧需要が急増する一方、地球温暖化や異常気象によって農業を取り巻く環境が変化しており、作物生産の将来が心配されています。安定した食糧供給のためには、環境が悪くても収穫できる作物を開発しておく必要があります。

乾燥や高温にも耐えられる作物づくりをめざして、植物が本来もっている環境対応能力が生まれるしくみを解明し、それを活用する研究が進んでいます。植物は、乾燥した環境では葉から水分が蒸散しないように気孔を閉じ、塩分が濃い環境では耐塩性を高めるなどして環境に適応しているのです。

当課題の分担研究者である東京大学大学院農学生命科学研究科の篠崎和子教授のグループは、温度、湿度、日照などの条件を人工的に変えられるバイオトロンの中でモデル植物のシロイヌナズナを育

て、植物が乾燥や高温に耐えるしくみを分子レベルで明らかにしてきました。乾燥や高温に耐えるためにたくさんの耐性遺伝子が発現し、それらはさらに転写因子によってコントロールされていることがわかってきました。

その中でも特に重要な転写因子が2種類あります。それが「AREB（エーレブ）群」と「DREB2（ドレブ2）群」です。「ターゲットタンパク研究」では、それらのうちでもいちばん重要なAREB1とDREB2Aを取り上げることにしました。どちらも複雑な構造をもつタンパク質で、田之倉グループはこれらを大量発現・精製し、NMRやX線結晶解析で立体構造を決める計画です。

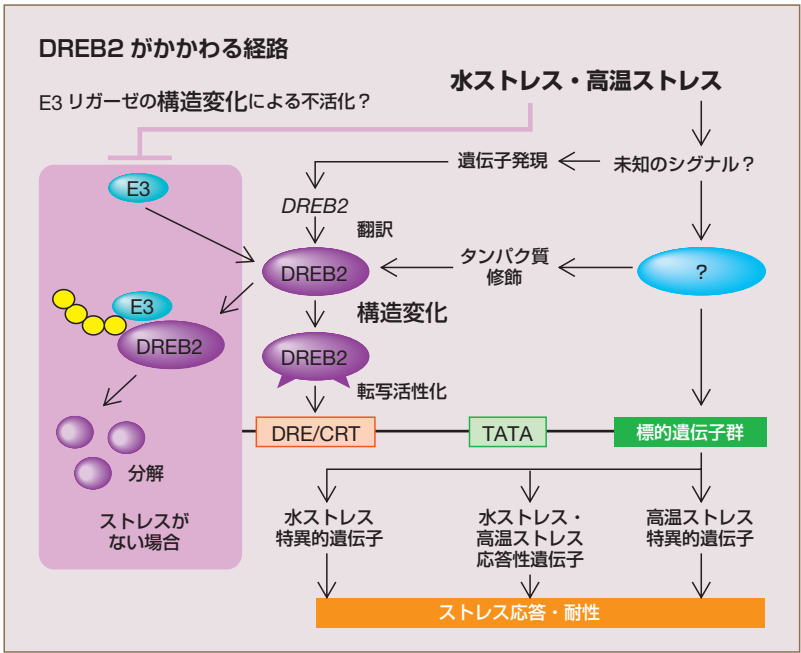
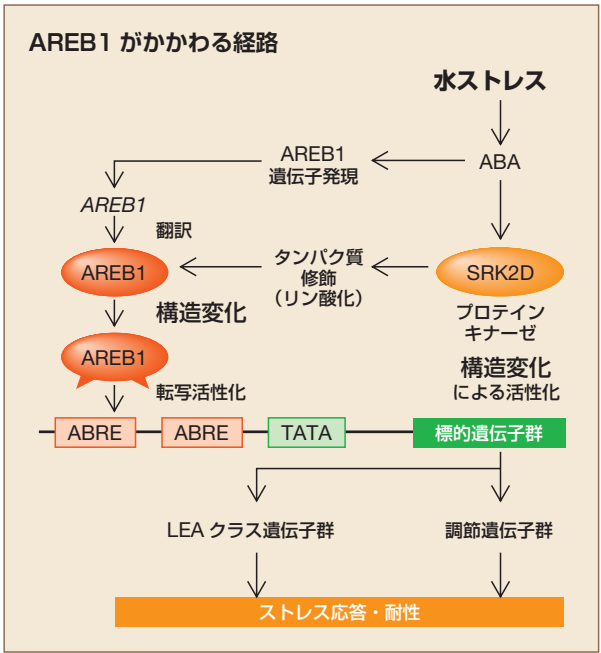
水が不足したり塩分濃度が高くなったりとすると、植物ホルモンのアブシジン酸（ABA）が合成され、これがプロテインキナーゼというリン酸化酵素を活性化し

ます。するとふだんははたらいていないAREB1がリン酸化されて活性型になり、遺伝子の発現を誘導します。こうして植物は乾燥した環境に耐える能力をもつようになるのです。

一方、DREB2Aは乾燥や塩分のほか高温にも耐えられる性質を与える遺伝子を誘導する転写因子です。植物の中で合成されてもふだんはすぐに分解されてしまいが、高温や乾燥条件ではDREB2Aの構造が変化して分解されずにはたらくようになると考えられています。今回の研究では、この転写因子の活性型と非活性型の構造や機能を詳しく調べ、将来人間の手で必要な時に転写因子を活性化できるようにして、乾燥や高温に耐える作物を開発したいと考えています。実現すれば、植物が育ちにくい地域の緑化にも役に立つでしょう。

シロイヌナズナが環境ストレスに対応するネットワーク

図版提供：東京大学大学院農学生命科学研究科 篠崎和子（分担研究者）



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：名古屋大学生物機能開発利用研究センター
代表研究者：松岡 信

動物にホルモンがあるように、植物にもホルモンがあります。その一つがジベレリンです。ジベレリンは、苗が異常に大きくなる「馬鹿苗病」というイネの病気から発見されました。発見の経緯からわかるように、このホルモンは植物の細胞を伸長させて、生長を促す作用があります。

それでは、ジベレリンはどのようにして植物の生長に作用するのでしょうか。ジベレリンがないときは、DELLAというタンパク質が植物の生長を抑えています。ところが、ジベレリンがあると、ジベレリンは細胞の核の中でGID1というタンパク質と結合し、これがさらにDELLAと結合してジベレリン-GID1-DELLA複合体をつくります。続いて、GID2というタンパク質が、複合体中のDELLAにユビキチンという小さなタン

パク質を付け加えます（ユビキチン化といいます）。ユビキチン化されたDELLAは、26Sプロテアソームという酵素によって分解されてしまいます。すると、DELLAによって抑えられていた植物の生長が起こるのです。

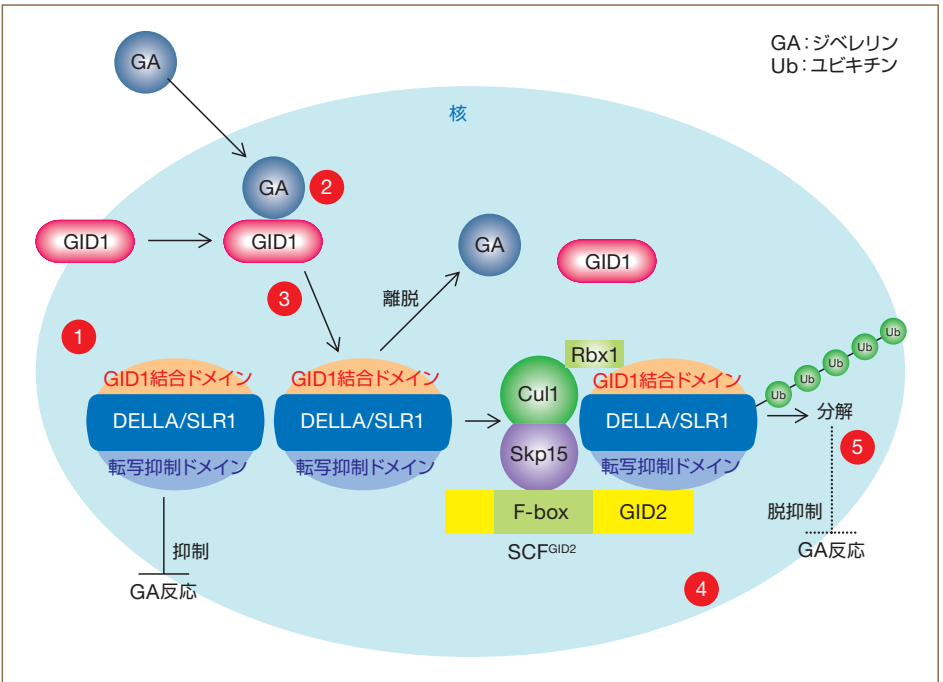
このように、ジベレリンの作用はGID1、DELLA、GID2という3つのタンパク質が次々に相互作用することで発揮されます。最近、このうちのDELLAが、植物のストレス耐性の鍵となるタンパク質としても、機能していることが明らかにになりました。つまり、この3つのタンパク質は、ジベレリンが来たぞという情報を伝えるだけではなく、ストレスに対応するときにも、情報を伝える働きをしていると考えられます。

そこで私たちは、ジベレリンと結合するGID1、植物の生長を抑制する

DELLA、DELLAの分解を招くGID2という3つのタンパク質について、それぞれの立体構造を調べることにしました。そして、これらの構造から、植物の生長やストレス耐性が起こるしくみを理解しようとしています。

この研究が進むと、タンパク質同士の相互作用において重要な役割を果たすアミノ酸残基（タンパク質分子で、もとのアミノ酸1個分にあたる場所）が明らかになることが期待されます。このアミノ酸残基を他のものに変えると、ストレス耐性のある作物を新たにつくることができるかもしれません。

このように、GID1、DELLA、GID2という3つのタンパク質の構造を解析することは非常に有用ですが、結晶化が難しいため、まだ誰も成功していません。私たちは、その研究の先駆けとなり、農作物の増産に貢献したいと願っています。



ジベレリンが植物に作用するときには、細胞の核の中でGID1、DELLA、GID2というタンパク質が次々にはたらく。図版提供：松岡 信

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：東京工業大学大学院生命理工学研究科
代表研究者：村上 聡

薬剤を使った化学療法は、病原性細菌やがん細胞そのものを排除でき、病気を原因から絶つ治療として重要です。しかし、近年、病原性細菌やがん細胞に薬が効かなくなる“薬剤耐性化”という現象が医療現場の脅威となっています。特に、病院内で抵抗力の低下した患者たちが感染症を起こす院内感染は大きな問題です。

薬が効かなくなるおもな原因は、病原性細菌やがん細胞にある多剤排出トランスポーターが薬剤を排出するためです。多剤排出トランスポーターは細胞膜にあるタンパク質で、細菌からヒトに至る多くの生物に共通に存在し、薬剤や毒物などの異物を細胞の外に送り出すはたらきをします。

一般に、細胞ではたらくタンパク質は、決められた相手にしか作用しないという

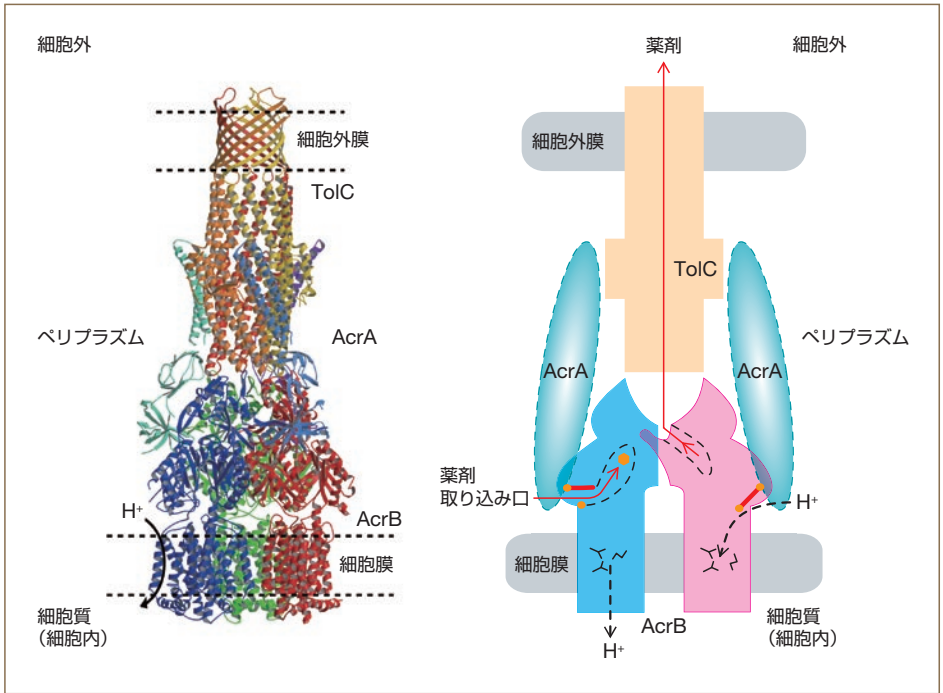
性質があります。しかし、多剤排出トランスポーターは例外的に、いろいろな薬剤を認識して排出します。そのため、多くの薬剤が効かない“多剤耐性”という現象が起こるのです。

細菌の中でも、大腸菌、緑膿菌などのグラム陰性菌は、細胞膜の外側に細胞外膜というもう1枚の膜をもっています。このため、薬剤の排出は、細胞膜にある多剤排出トランスポーター（AcrBやMexB）と、細胞外膜にある外膜チャンネル（TolCやOprM）、そして両者をつなぐアダプター（AcrAやMexA）の3種類のタンパク質からできた複合体（トランスポート・マシーナリー）が行っています。

私たちのグループは、2002年に大腸菌の多剤排出トランスポーターの結晶構

造解析に成功しました。これは世界で初めてのことで注目を浴びました。また、2006年には、このトランスポーターと薬剤が結合した状態での構造も決定し、多剤排出のメカニズム解明に向けて一歩前進しました。また、分担研究者である北里大学基礎研究所の中江太治博士のグループは、緑膿菌の外膜チャンネルとアダプターの構造を決定しています。

残された課題は、実際に機能している状態のトランスポート・マシーナリーの全体構造を明らかにすることと、さまざまな病原性細菌のもつ多剤排出トランスポーターのはたらきを詳細な立体構造に基づいて解明することです。私たちはこの課題に取り組み、得られた情報は、トランスポート・マシーナリーによる薬剤排出を阻害する薬や、排出されずに細菌内にとどまり効果を発揮する薬など、多剤耐性化問題を解決してくれる特効薬の開発につなげたいと考えています。



左：細胞膜、細胞外膜を貫く大腸菌薬剤排出トランスポート・マシーナリーの概念図。緑膿菌でも同様だが、タンパク質の名称は上からOprM、MexA、MexBとなる。右：薬剤排出トランスポート・マシーナリーを介して排出される薬剤分子の流れ。図版提供：村上 聡

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：熊本大学大学院医学薬学研究部
代表研究者：寺沢宏明

フェロモンは、生物同士がコミュニケーションをとるための化学物質です。具体的には、昆虫や哺乳動物のオスがメスを引き寄せる物質や、逆にメスがオスを引き寄せる物質などが知られています。フェロモンは、生物が子孫を残して種を保存する上で重要なはたらきをしています。

私たちは、齧歯類（ネズミやラット）のフェロモンの研究に取り組んできました。齧歯類は鼻腔にある鋤鼻器官^{じよび}というところでフェロモンを感知します。フェロモンの候補として、低分子有機化合物やペプチド性物質（小さなタンパク質）が尿から見つかっていましたが、どちらも実際に鋤鼻器官で感知されているという証拠はありませんでした。

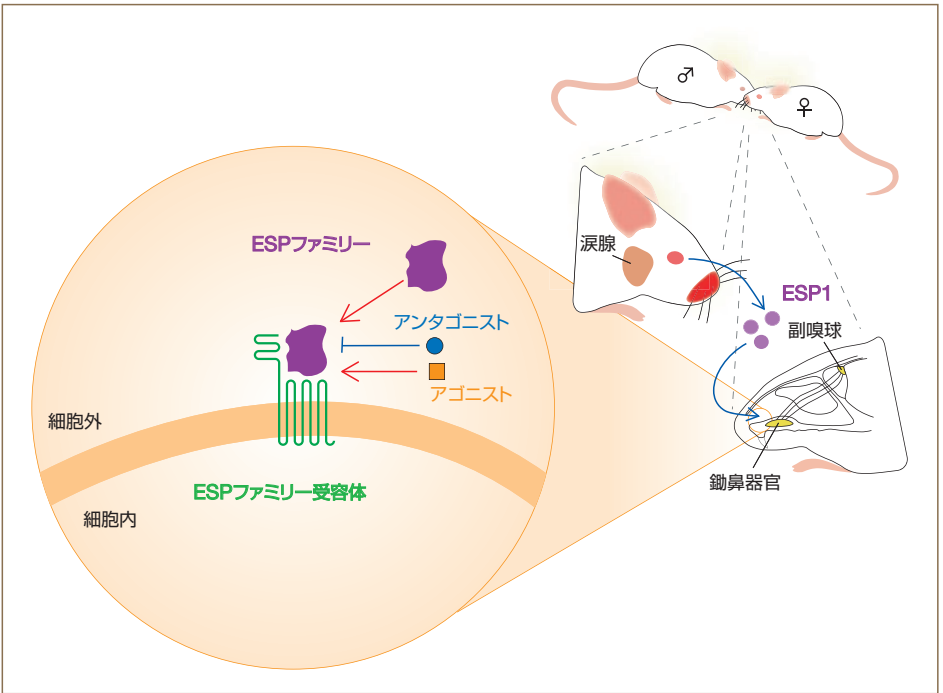
当課題の分担研究者である東京大学大学院新領域創成科学研究科の東原和成准

教授らのグループは、マウスの涙腺から、オスだけがつくり、メスの鋤鼻器官の細胞に作用するフェロモン活性物質を発見しました。これはペプチド性物質であり、ESP1と名づけられました。この物質をコードする遺伝子には、よく似たものが数十種類もありました。つまり、ESP1の仲間は数十種類もあるわけです。そこで、これらをまとめてESPファミリーと呼ぶことにしました。その中には、メスだけがつくるものもありました。

当課題では、このESPファミリーのさらなる解明を進めます。ESPファミリーは、マウスだけでなく、ラットや野生のドブネズミなどもつくります。そして、鋤鼻器官の細胞にあるそれぞれの受容体に結合し、フェロモン活性を発揮します。このため、私たちはまず、さまざま

な齧歯類のESPファミリーがどの受容体と対応するのかを調べます。また、ESPファミリーの立体構造を解析し、受容体との接合面がどのようなになっているのかも明らかにしていきます。さらに、ESPファミリー自身と、受容体を活性化させる物質（アゴニスト）や活性を抑える物質（アンタゴニスト）を用いて、フェロモンの効果や行動への影響を検証していく予定です。

現在、日本の都市部ではクマネズミやドブネズミが増加し、衛生環境の悪化が懸念されています。また、海外の穀倉地帯でもしばしばネズミの大発生が起こり、数十億円規模の被害が生じています。私たちは上述の研究を通して、フェロモンを用いて齧歯類の個体数をコントロールする方法を開発し、このような問題の解決に役立てたいと考えています。ESPファミリーは、実際に作用するときのかたちを突き止めるのが難しいタンパク質ですが、構造解析と機能解析を組み合わせて、課題に取り組んでいきます。



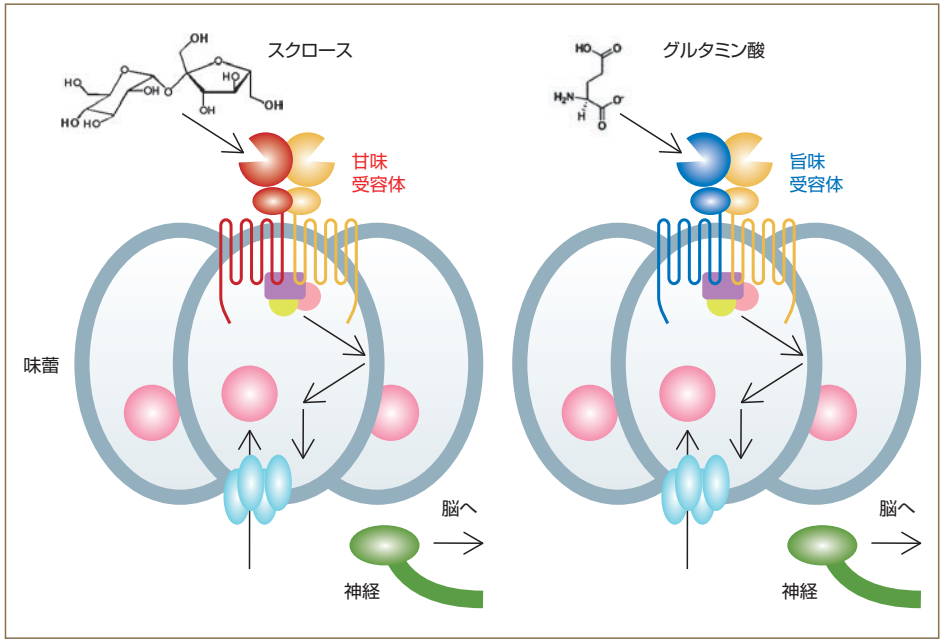
オスマウスの涙腺から分泌されるESP1は、顔をこすりつけあうことによってメスに伝えられる。ESP1はメスの鋤鼻器官の受容体に作用し、フェロモン活性を発揮する。図版提供：東京大学大学院新領域創成科学研究科 東原和成（分担研究者）

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：理化学研究所播磨研究所
代表研究者：山下敦子

ヒトは、甘味・塩味・酸味・苦味・旨味の5種類の味を感じます。そのうち、砂糖など糖類によって引き起こされる甘味と、グルタミン酸などアミノ酸による旨味は、快い感覚を引き起こす味として私たちの食生活を豊かにしています。これらの味は、口に入れた食物が生体に欠かせないエネルギー源（糖類など）やタンパク質源（アミノ酸など）を含むことを示すシグナルになっていると考えられています。

甘味物質や旨味物質の探索や開発の歴史は長く、今では人工の味物質をいろいろ見かけます。しかし、そのほとんどは食品から抽出されたり、偶然発見されたりしたものです。また、味物質の評価もヒトの舌による官能試験に頼っているのが現状です。舌で味物質を感知する詳しい機構がわかれば、これまで以上に科学的・合理的な方法での味物質の探索が可能になるでしょう。



甘味・旨味受容体の模式図。図版提供：山下敦子

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：京都大学大学院農学研究科
代表研究者：橋本 渉

自然界において、細菌は集まって街を形成し、その中で情報をやり取りして暮らしています。こうした細菌のコミュニティは、細菌自身が分泌するネバネバした物質で囲まれています。この物質を「バイオフィーム」といいます。バイオフィームはあらゆるものに付着して存在します。身近な例を挙げれば、配水管のぬめりや歯の表面に付く歯垢が、実はバイオフィームなのです。ときには細菌が体の細胞や食べ物にくっつくのを助けて、感染や腐食を引き起こしたりします。

多くの人が経験したことがあると思い

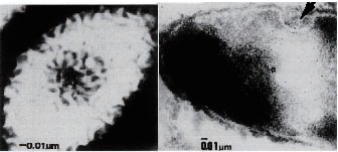
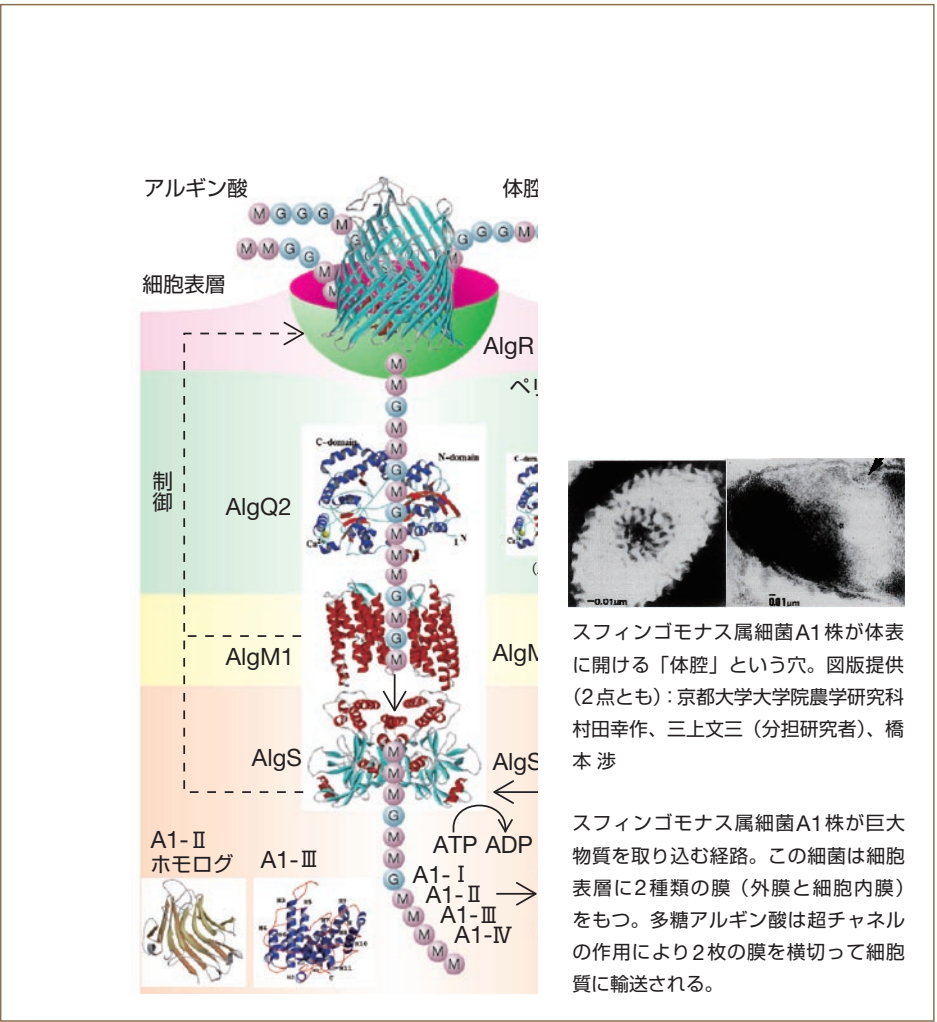
ますが、配水管のぬめりや歯垢はなかなか取れません。バイオフィームは殺菌や洗浄に耐える頑固な膜なのです。こうしたことから、バイオフィームを分解・除去する方法の開発は、医療・食品・環境の分野でとても期待されています。一方、バイオフィームは粘性を加える添加物として食品の分野で利用されており、バイオフィームを改良して新しい食品素材をつくる研究も活発に行われています。

バイオフィームの主成分は多糖（糖がたくさんつながったもの）です。私たちは巨大な多糖を分解する「スフィンゴモ

ナス属細菌A1株」という細菌に着目しました。この細菌は、自分の体の表面に大きな穴を開けて、巨大分子であるアルギン酸（多糖の一種）を丸呑みし、体内で細かく刻んで吸収するという非常に巧妙なしくみをもっています。これを「超チャンネル」といいます。超チャンネルにおける多糖の輸送や分解のメカニズムは、バイオフィームの除去や分解、性質改良のための大きなヒントになるはずです。

超チャンネルではさまざまなタンパク質が働いています。私たちは超チャンネルの入り口で体外のアルギン酸を捕らえる「フラジェリンホモログ」というタンパク質や、細胞膜を通してアルギン酸を細胞内に運ぶ「ABCインポーター」というタンパク質の構造解析に取り組んできました。解析の結果をもとにタンパク質の構造と機能の関係を明らかにし、細菌の超チャンネルを利用した感染症治療や腐食の防止に役立てたいと考えています。

また、このスフィンゴモナス属細菌やバチルス属細菌のなかではアルギン酸をはじめとするさまざまな多糖の分解酵素がはたらいています。これらについてはX線構造解析を終えており、さらに精密な構造解析を進めます。これらのなかには、重篤な呼吸器疾患を引き起こす緑膿菌のバイオフィームを除去する酵素もあり、治療薬をめざして分子の設計を進めています。医療への応用が現実味を帯びてきました。



スフィンゴモナス属細菌A1株が体表に開ける「体腔」という穴。図版提供（2点とも）：京都大学大学院農学研究科村田幸作、三上文三（分担研究者）、橋本 渉

スフィンゴモナス属細菌A1株が巨大物質を取り込む経路。この細菌は細胞表面に2種類の膜（外膜と細胞内膜）をもつ。多糖アルギン酸は超チャンネルの作用により2枚の膜を横切って細胞質に輸送される。

新規炭素固定系を構成する酵素群の構造機能解析と機能改良

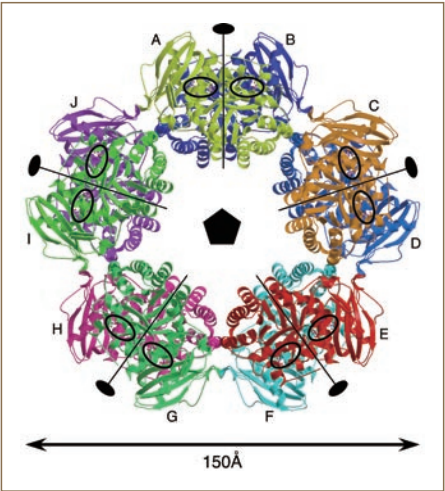
代表機関：京都大学大学院理学研究科
代表研究者：三木邦夫

地球温暖化の原因として二酸化炭素の増加が問題になっていますが、大気中の二酸化炭素はいつまでも同じかたちで同じ場所に留まっているわけではありません。地球上に存在する炭素は、大気や海洋、生物の体内などの間で循環しており、さまざまな化合物として存在します。大気中の二酸化炭素は、植物や一部の細菌によってその体内に取り込まれ、グルコースなどの有機炭素に変えられるのです。このように、二酸化炭素を有機炭素に変えることを「炭酸固定」といいます。炭酸固定の過程に手を加えて、二酸化炭素から有機炭素に変わる反応の効率を上げることができれば、大気中の二酸化炭素量の減少につながるかもしれません。また、農業の生産効率の向上に寄与する可能性もあります。

生物が行う炭酸固定として、今のところ4種類のパターンが知られています。中でもすべての緑色植物が行うCBBサイクルという経路を用いた炭酸固定は、地

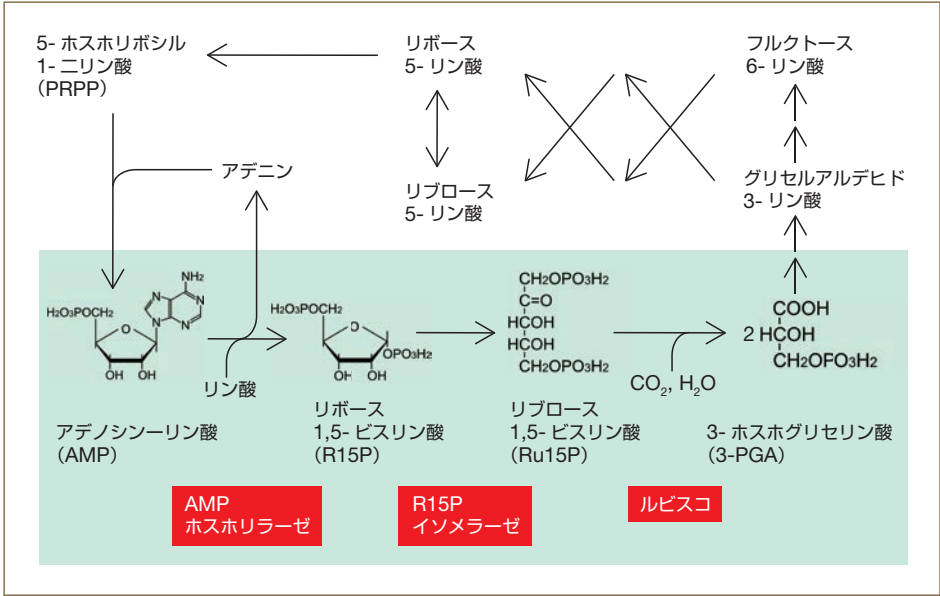
球上に存在する大部分の二酸化炭素の消費に寄与しています。CBBサイクルではたらくのはルビスコ（Rubisco）という酵素です。ルビスコは全部で4種類あり、このうち私たちは古細菌にのみ存在するタイプⅢルビスコを発見しました。タイプⅢルビスコの構造を解析したところ、ほかのルビスコとはかなり異なる立体構造をしていることがわかりました。さらに、タイプⅢルビスコが作用する炭酸固定の経路を調べたところ、ある可能性が浮かび上がってきました。タイプⅢルビスコが作用する炭酸固定の経路では、ほかの4パターンの経路には見られないまったく新しい2種類の酵素が関与していたのです。つまり、このことは第5の炭酸固定経路が存在する可能性を示唆します。

そこで、私たちはこの新しい経路に関わる2つの酵素の構造と機能を調べています。これらの酵素は、今まで知られていなかった生物反応にはたらくため、酵



超好熱菌のタイプⅢルビスコ。特異な五角形型立体構造をとっている。図版提供：三木邦夫

素反応の仕組みに関する新しい知見が得られるかもしれません。一方、タイプⅢルビスコは深海の熱水噴出孔など高温の環境で生息している超好熱菌から得られた酵素であるにも関わらず、常温の光合成細菌の細胞内でも炭酸固定をすることがわかりました。さらに、タイプⅢルビスコの遺伝子が一部変化した酵素を光合成細菌に導入したところ、通常のタイプⅢルビスコを入れた細菌と比べて、増殖スピードが格段に速くなりました。私たちはタイプⅢルビスコを改良し、常温において優れた炭素固定能力をもつルビスコをつくらうと考えています。



タイプⅢルビスコが関与する第5の新規炭酸固定経路。赤で囲んだのは当課題で解析する酵素。図版提供：京都大学大学院工学研究科 今中忠行、跡見晴幸（分担研究者）

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

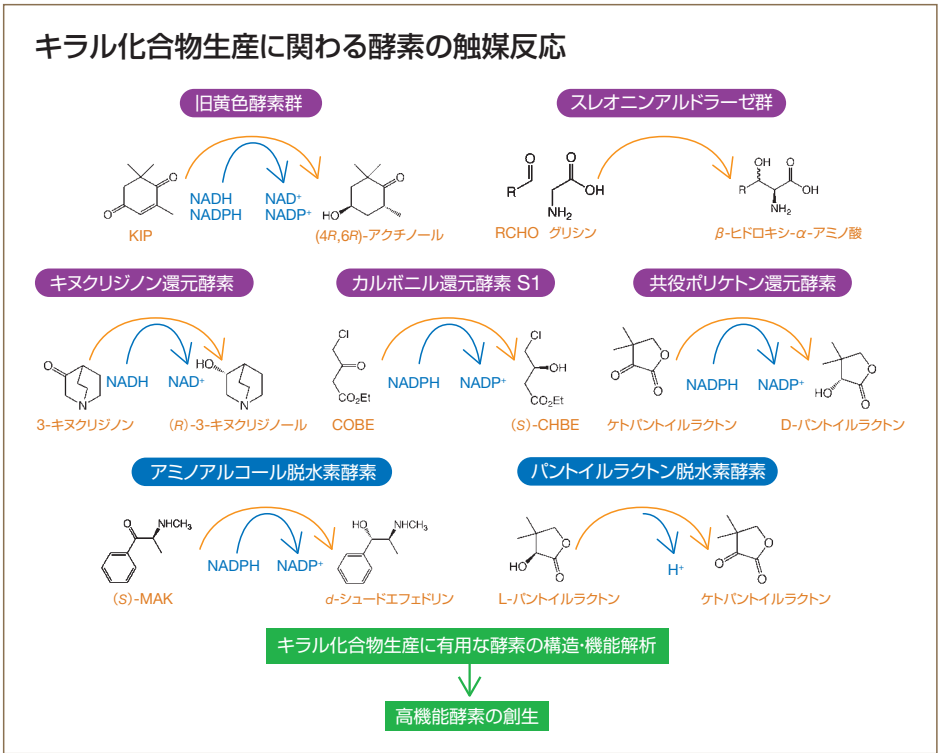
代表機関：京都大学大学院農学研究科
代表研究者：清水 昌

右手をどのように動かしてみても、左手にはなりません。しかし、右手を鏡に映してみると、左手と同じ形に見えます。この右手と左手のような関係を、鏡像関係といいます。実は化学の世界にも、私たちの両手のように、鏡像関係にある化合物があります。それが「キラル化合物」です。聞きなれない名前ですが、キラル化合物は身近なところにたくさんあります。たとえば、私たちの体に含まれるアミノ酸もキラル化合物です。近年、キラル化合物は医薬品製造の中間原料として需要が高まっています。医薬品として用いられるのは、右手と左手にあたるキラル化合物のうちどちらか一方だけの場合がほとんどだからです。このため、狙ったキラル化合物だけを効率

よく大量に生産することは、医薬品産業にとってたいへん重要です。キラル化合物の合成には、有機合成、酵素、微生物が利用されています。その中でも酵素（反応の触媒としてはたらくタンパク質）を利用する方法は効率的で、環境にもやさしいといわれています。たとえば、喘息治療薬やアルツハイマー病治療薬の原料である（R）-3-キヌクリジノールというキラル化合物は、何段階もの有機合成反応を行って合成されていますが、キヌクリジノン還元酵素という酵素を使うと、1段階で合成できるのです。しかし、酵素がどのようにしてキラル化合物の合成を促進するのか、という触媒反応のしくみについては未解明な部分がたくさんあります。そこで私たちは、

キヌクリジノン還元酵素をはじめ、キラル化合物の合成に有用な7種類の酵素の構造を解析することにしました。さらに、これらの酵素と基質（酵素が反応させる相手物質）の複合体もつくって、その構造を解析します。これらの構造から、酵素が決まった基質だけを反応させるしくみや、キラル化合物の一方だけをつくりだすしくみがわかってくると思います。こうした理解をもとに天然の酵素を改変し、より効率の高い酵素や、天然の酵素ではつくれない物質をつくる酵素を新しく作り出すのが私たちの目標です。一般に、酵素と基質が結合すれば反応が進んでしまうので、酵素と基質の複合体の結晶を得ることは困難とされています。このため、基質と似たかたちだが反応はしない物質を使うなどして構造解析に取り組みます。

キラル化合物は、医薬品産業だけでなく、化学工業や農業分野でも必要とされています。私たちの経験と実績を生かしてキラル化合物の合成に役立つ酵素を多数つくり出し、産業に貢献できればと思います。



キラル化合物の合成に有用な7種類の酵素。たとえば、旧黄色酵素は抗酸化作用をもつキサントフィルの合成中間体、アミノアルコール脱水素酵素は気管支拡張作用のあるd-シュードエフェドリンなど、さまざまなキラル化合物の合成に利用できる。図版提供：清水 昌

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：奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科
代表研究者：島本 功

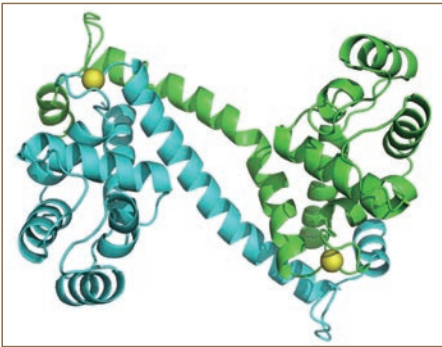
世界の人口は増え続けており、食糧、特に穀物の不足が深刻化しています。穀物の不足は価格高騰を招き、途上国に飢餓や貧困をもたらしています。米以外の穀物を輸入に頼る日本にとっても、穀物不足は大きな問題です。

一方、近年、植物由来の原料から自動車などの燃料をつくる動きもさかんになっています。「バイオマス燃料」です。石油や石炭などの化石燃料には限りがありますが、植物は次々に育つので、バイオマス燃料は資源枯渇を防ぐのに役立つと考えられています。また、燃やしたときに出る二酸化炭素は植物が育つときに吸収したものであることから、地球環境にやさしいとの期待もあります。

こうした背景から、農作物やバイオマス燃料の原料となる植物の生産量を増やすことが強く求められています。しかし、

病気や乾燥、強い光などの環境ストレスが原因で、農作物の生産量は本来の20%にまで下がっているといわれています。環境ストレスに強い植物を開発できれば、生産量を大幅に増やせる可能性があります。

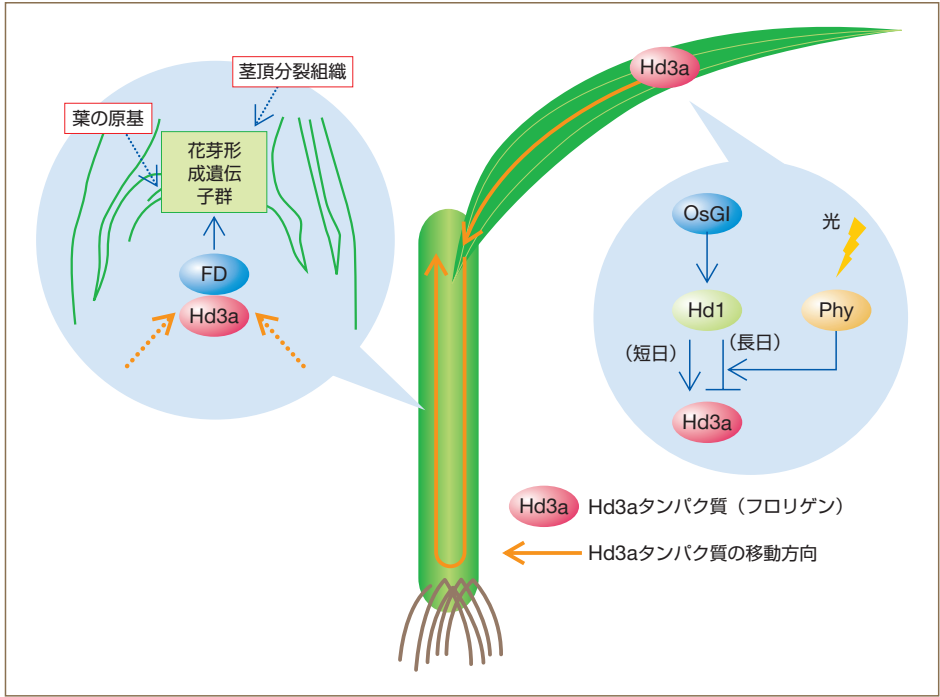
私たちは、植物が光に応答するときにはたらくタンパク質について研究しています。光は、植物の色素に含まれるフィトクロムというタンパク質によって受容されます。この情報は光情報伝達因子を通じて、GI、Hd1、Hd3a、FDという4つのタンパク質に伝わり、これらが生長や開花を制御するのです。当課題では、この4つのタンパク質の構造解析を行い、植物が光という刺激に対して応答するしくみを明らかにします。特に私たちが同定した花成ホルモン（Hd3a）について研究を行います。



活性酸素生成のキー酵素であるNADPHオキシダーゼのN末端は2量体を形成している。図版提供：横浜市立大学大学院国際総合科学研究科 清水敏之（分担研究者）

一方、私たちは、イネに含まれるRacというタンパク質が、病気の発生を抑えるスイッチとして機能していることを明らかにしました。病原体が入ってくると、RacはNADPHオキシダーゼ（リボン図参照）やCCRという酵素にはたらきかけてこれらを活性化し、活性化した酵素が病気に抵抗するための物質（活性酸素とリグニン）をつくるのです。本課題では、このRac、NADPHオキシダーゼ、CCRという3つのタンパク質の構造を解析し、Racが二つの酵素のそれぞれとどのように相互作用し、活性化するのかを明らかにします。

これらの研究が進むと、植物がどのようにして病気などのストレスに対処しているのか明らかになるでしょう。さらに、これらのタンパク質を利用して、さまざまなストレスを効率的に防御する植物をつくることもできるでしょう。ストレスを防御して作物の損害を抑えることができれば、低農薬農業を実現できるだけでなく、食糧や燃料となる植物を安定して生産できるようになるかもしれません。



花成ホルモン（Hd3a）による植物の開花のしくみ。当課題で構造解析を行うタンパク質が示されている。図版提供：島本 功

表紙：リボソーム30Sサブユニットとその成熟因子RbfAの複合体構造。リボソームはタンパク質(各色)とRNA(灰色または青色の部分)で構成され、大部分はRNAである。RbfA(赤)は、サブユニットの会合に重要なヘリックス(濃青)の裏側に入り込むように結合していた。図版提供：理化学研究所横浜研究所 横山茂之

**文部科学省
研究振興局ライフサイエンス課**

〒100-8959 東京都千代田区霞が関 3-2-2
TEL : 03-5253-4111 (代表)
FAX : 03-6734-4109

**ターゲットタンパク研究
プログラム事務局**

〒113-8657 東京都文京区弥生 1-1-1
東京大学大学院農学生命科学研究科内
TEL : 03-5841-5167
FAX : 03-5841-8031

<http://www.tanpaku.org/>

平成 20 年 8 月作成