

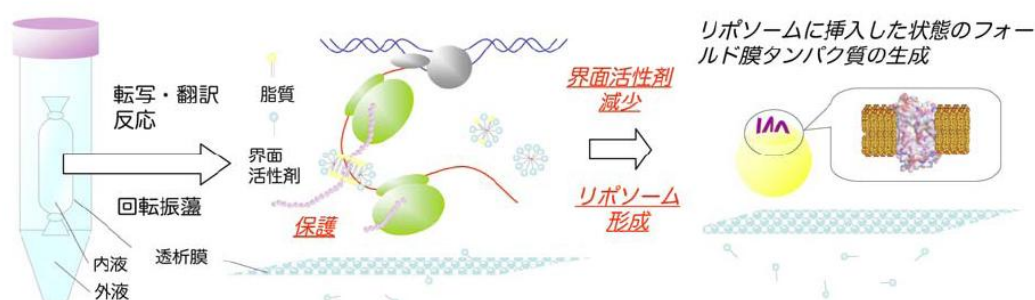
「技術開発研究」の成果

技術開発研究は、「生産」「解析」「制御」「情報」の4つの領域がそれぞれ着実な成果をあげ、ターゲットタンパク質研究の課題を強力に支援しています。

「生産」——重要なタンパク質を大量に作り、結晶化するために知恵を絞る

本プログラムの対象は、生物とヒトにとって重要であるのに、少ししか存在しなかったり、たくさんあっても取り出すのが難しかったりするタンパク質です。このようなタンパク質を大量に作るために、「生産」領域ではさまざまな手法を開発しており、2年余という短期間にもかかわらず、目標の達成に大きく近づいています。

重要なのに取り出しにくいタンパク質の代表格は「膜タンパク質」です。理研の横山グループは、以前から開発を続けてきた「無細胞タンパク質合成系」を利用して、膜タンパク質を天然に近い状態（膜に埋め込まれ、活性をもった状態）で大量に合成することに成功しています。まだ構造が解析されていない膜タンパク質をこの手法で得て、構造解析まで進めることも、プロジェクトの期間中に実現するのではと期待されています。



<図説明>無細胞タンパク質合成系による膜タンパク質の合成

また、非常に大きなタンパク質や、いくつかのタンパク質が集まって働く複合体も、生産が難しいものですが、これらについても、同グループでは、無細胞タンパク質合成系を利用して合成に成功しています。

同グループでは、その他に、哺乳類細胞、昆虫細胞、酵母を用いた合成系も開発しており、こうした技術を駆使して、プロジェクト内の十数課題の研究グループに対し、タンパク質の生産を中心とした支援を行っています。

一方、哺乳類細胞を使ってタンパク質をたくさん作らせるのに成功したのは、阪大の高木グループです。ヒトと大腸菌で似たような働きをするタンパク質であっても、詳しく見

れば、構造も機能も違います。このため、タンパク質の知見を医療や創薬に生かすには、ヒトや哺乳動物のタンパク質での研究が必要です。哺乳動物のタンパク質を作るには、哺乳類細胞を用いるのがいちばんですが、細胞を増殖させることや、目的のタンパク質を作る細胞を選別することが困難でした。高木グループでは、この困難を乗り越える手法を確立しました。すでにこの手法で作ったタンパク質が構造解析へと進んでいる例も複数あります。この手法は、世界でもまれな成功例であり、特許も申請していることから、今後は、広く世界で使われるものと期待されます。

タンパク質の構造を X 線で解析するにはタンパク質を結晶化させる必要があるため、「生産」領域では、タンパク質を作る技術だけでなく結晶化の技術も開発しています。膜タンパク質は結晶化も難しいのですが、京大の岩田グループは、抗体との複合体を作らせるという斬新な手法で結晶化を次々に成功させています。これまで結晶化されていないものや、結晶化させても、分解能が 10 Å 程度の解析結果しか得られなかったものについて、同グループでは、3.5 Å 以下の分解能が得られる非常に良質の結晶を得るのに成功しています。

「解析」——より少ない量のタンパク質でより高精度の解析を目指す

タンパク質の構造を解析するには、X 線を用いる方法と、NMR（核磁気共鳴）を用いる方法があります。「解析」領域では、両方の方法について技術開発を進めています。

複雑なタンパク質の構造解析を行うには、強力な放射光 X 線を使います。高エネ研の若槻グループは、日本にある 2 つの大型放射光施設で、これまでより優れた X 線を得るためのビームライン開発を行っています。その 1 つである SPring8 では、小さな結晶による回折実験のために 1 μm 平方以下に集光されたビームを作るのに成功しており、2010 年度からユーザー利用を開始する予定です。このビームは世界最高の集光度を誇り、10 μm 角以下の微小結晶でも構造解析が可能です。これまでは最低でも 20–30 μm 角の結晶が必要だったので、今回の成果により、大きな結晶の得にくいタンパク質にも構造解析の道が開かれたことの意義は非常に大きいと言えます。

次期プロジェクト研究ターゲット

疾病、老化に関連した**ヒト由来タンパク質**の構造解析

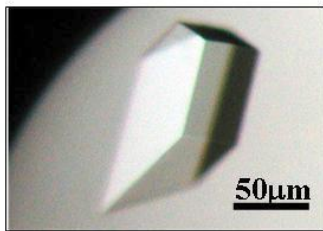
代表例

- 遺伝病 筋ジストロフィー、ファブリ病
- がん
- 感染症 エイズ、インフルエンザ、肝炎、マラリア、BSE
- 老化 アルツハイマー病

極めて低い発現レベル・結晶化の困難さ
→ 解析に不十分なサイズの結晶

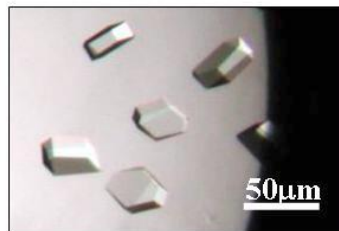
標準的な結晶

50~100マイクロメートル



現状限界点

20~30マイクロメートル



微小結晶

10マイクロメートル以下



解析ターゲット

現在のビームラインでは、回折データ測定・位相決定が困難

<図説明> SPring8 のターゲットタンパクビームライン (BL32XU) が目標とする解析ターゲット

もう1つの大型放射光施設、Photon Factory では、波長の長い X 線用のビームラインを建設中です。X 線結晶解析では、重い原子が解析の手がかりになるので、タンパク質分子の中に人工的に重い原子を導入する必要があります。しかし、波長の長い X 線を使うと、タンパク質の中にもともとある硫黄原子が手がかりとなるので、天然のタンパク質をそのまま構造解析に使うことができます。そのため、波長の長い X 線ビームを整備することは、結晶構造解析の適用範囲を広げるのにとっても重要なのです。

このように、同グループでは、2つの大型放射光施設の特徴を生かして、高度な結晶構造解析を実現するという目標に向かって前進しています。

NMR を用いた構造解析技術でも、重要な成果が上がっています。従来、NMR で構造解析できるタンパク質はアミノ酸残基が 200-300 個程度の小さいものに限られていましたが、この上限を数倍に拡大する手法が SAIL 法という日本のオリジナル技術です。その開発者が率いる名大の甲斐荘グループは、タンパク質の生物機能に深くかかわるアミノ酸残基に結合している水酸基プロトンの交換速度を、SAIL 法を用いて直接観察することに成功しました。

NMR では、通常、水に溶かした状態のタンパク質を対象としますが、これを固体のタンパク質に広げる研究も進んでいます。固体に適用する場合の最大の問題は、測定感度が低いことですが、阪大の藤原グループでは、プロジェクト開始からの2年余で感度を30倍も向上させており、あと一息で実際の構造解析に使えるところまでできています。

「制御」——タンパク質の働きを活発にしたり抑えたりする化合物を提供

「制御」領域では、東大の長野グループが、化合物ライブラリーの構築とサンプル提供を行っています。

膜タンパク質や、酵素として働くタンパク質には、小さな分子が入り込む「ポケット」があり、生体内では、そこに特定の分子が結合することが引き金となって、その後の反応が次々に進んでいきます。本来とは違う分子でちょうどポケットに入るものがあると、その分子がポケットに入ってしまう、本来の分子が引き起こさずだった反応を止めてしまうことがあります。あるいは逆に、反応をさかんにすることもあります。

このような分子は、タンパク質の働きを制御するのに使えるので、タンパク質の構造と機能の知見を応用に展開する際に欠かせません。特に、病気に関係するタンパク質の働きを制御するものは、医薬品の候補として重要です。しかし、現在入手可能とされる化合物は5000万種以上もあるので、その中からやみくもに探すのでは、とても効率が悪くなってしまいます。そこで、本プログラムでは、タンパク質のポケットに入る可能性の高い化合物を集め、形や特徴によって分類整理した「化合物ライブラリー」を構築しているのです。

すでに、収集した化合物は15万種に達しています。ターゲットタンパク質研究の35課題のうち、医薬分野を中心とした半数近くに対し、ライブラリーからの化合物提供が行われており、サンプル提供は27万件にのぼっています(2009年11月末現在)。また、化合物ライブラリーは、プロジェクト外の研究者にも公開しており、26万件のサンプル提供を行っています(同)。

製薬会社は、それぞれ独自の化合物ライブラリーをもっていますが、大学や公的研究機関の研究者はそれにアクセスすることができません。また、研究者が独自にライブラリーを購入する場合は、多額の費用がかかります。これに対し、本プログラムの化合物ライブラリーは、各研究者の共通基盤とすることで化合物の共同購入となり、研究費の節約になることから多くの研究者に歓迎されています。

タンパク質の構造に基づいた創薬の例としては、インフルエンザ治療薬のリレンザ®、タミフル®、エイズ治療薬のビラセプト®などがあります。これらは、本来ポケットに入る分子と似た分子の中から、薬の候補化合物が選ばれ、実用化につながりました。しかし、優れた化合物ライブラリーがあれば、本来の分子とは似ていなくても、薬の候補となるものが見つかる可能性が高まります。こうした背景から、タンパク質の構造解析の結果を最大限に活かして創薬を効率的に進めるために、欧米や韓国でも、公的な化合物ライブラリーの整備には力を入れており、日本も負けていられない状況にあります。

「情報」——プログラム内の情報共有とプログラム外への情報公開

遺伝研の菅原グループが、情報共有と情報公開を実現する情報プラットフォームを構築・運用しています。このプラットフォームは、本プログラムに参加している 700 人以上の研究者をつなぐ働きをしています。プログラム参加者は、本プログラムで取り組んでいるタンパク質や新しい技術など現在進行中の状況を、ウェブを介して相互に閲覧することができるのです。

その一方で、このプラットフォームは、プログラムの外の方々にも、プログラムで何が起きているか、何が達成されたかをお知らせする場となっています。プログラムが明らかにしたタンパク質の構造と機能、成果の結実である論文の情報をウェブから公開し、広く一般に対する説明責任を果たそうとしています。