

5-2 タンパク3000プロジェクト

タンパク3000プロジェクトは、産学官の最適な研究機関によって国家的・社会的課題に対応した研究開発プロジェクトに重点的に取り組む「新世紀重点研究創生プラン(RR2002)」の一環として、文部科学省が2002年度より開始したものである。世界最先端設備（大型放射光施設、NMR等）を駆使して、我が国発のゲノム創薬の実現等を目指し、我が国の研究機関の能力を結集して、約3000種のタンパク質の立体構造及びその機能を解析するとともに、成果の特許化まで視野に入れた研究開発を推進している。

タンパク質は、複雑な生命現象を司る基本的な物質であり、多くの疾患はタンパク質の様々な働きに関連している。そのため、疾患にかかわるタンパク質の構造及び機能を解析すると、タンパク質の働きを制御することができる化合物を予測することができ、創薬プロセスを大幅に短縮することが可能となる。

タンパク質そのものは全体で約10万種類以上あるとも言われているが、タンパク質を構成する基本構造は、約1万種類程度しかないと考えられている。その1/3にあたる3000構造の解明を目指して研究ポテンシャルを結集し、戦略的に資源を投入して取り組むことにより、世界に先駆けて成果を得て、適切な権利化・技術移転を図ることが重要となる。これに基づき研究成果を迅速に国民の健康増進、

長寿に反映させることをプロジェクトは目標とする。

タンパク3000プロジェクトは（図1）、大学等により実施されている500個の解析を目指した個別的解析プログラムと理化学研究所にて実施されている2500個の解析を目指した網羅的解析プログラムから構成される。ここでは、本プロジェクトの委託を受けた理化学研究所 構造プロテオミクス研究推進(RSGI: RIKEN Structural Genomics/Proteomics Initiative)が進める、播磨研究所 放射光科学総合研究センターでの活動を紹介するとともに、今年で最終年度を迎えたタンパク3000プロジェクトに続く新たなプロジェクトの動きを報告する。

1. 放射光システム生物学研究グループ

当グループはタンパク質を始めとする生体分子の立体構造を基にして、一つの細胞全体の生命現象を、原子レベル（物理化学的レベル）で理解することを目指している「高度好熱菌 丸ごと一匹 プロジェクト」を推進している。その目的に最も適したモデル生物として、「遺伝子操作系が存在する生物の中で、最も高温で生息する」という2つの条件を満たす高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 を選んだ。

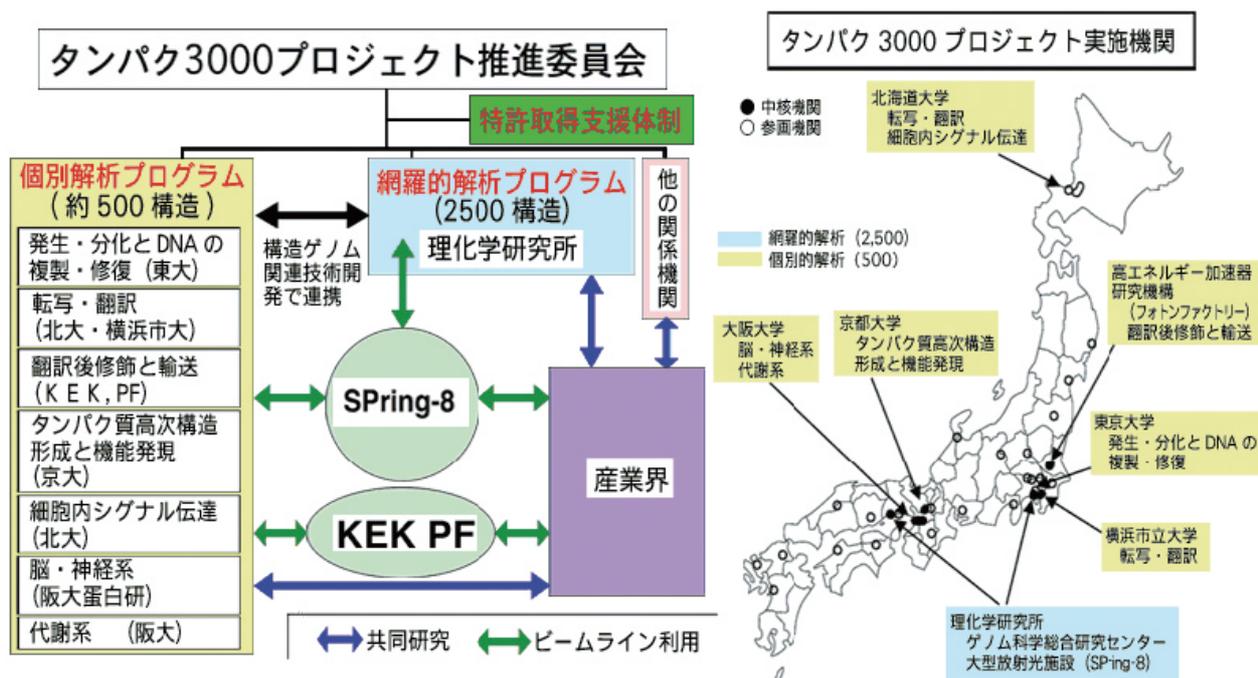


図1 タンパク3000プロジェクト

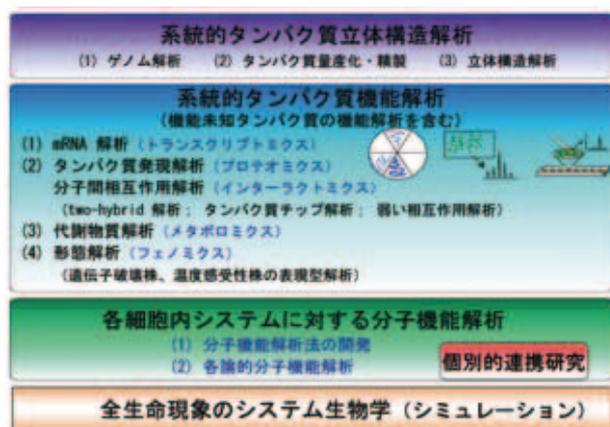


図2 高度好熱菌丸ごと一匹プロジェクト
—基本的生命現象の系統的解明—

その研究は図2に示す4段階で進行すると考えられる。

- 第1段階：ゲノムワイドなタンパク質の立体構造解析
- 第2段階：ゲノムワイドなタンパク質の分子機能解析
- 第3段階：各細胞内システムの各論的個別解析
- 第4段階：予測可能なレベルのシステム生物学
(シミュレーション)

これまでに、第1段階に重点を置きつつ、第2段階や第3段階の一部を進めてきたが、タンパク3000プロジェクトからの部分的なサポートにより、第1段階が加速された。

このようにして、高度好熱菌でシステム生物学の学問基盤が整備でき、シミュレーションが生命現象の単なる説明ではなく、生命現象を予測できる段階に達するとすれば、「我々人類は、生命現象を理解できた」と言える時代に近づく。ヒトなどの場合には、さらに、組織レベル、個体レベルでの理解が必要となるが、高度好熱菌研究を利用した学問基盤の整備によって、ヒトの病気の治療や予防も大きく様変わりすると期待される。

これまでに、約320種類のタンパク質の立体構造が解析済みである。我々のグループ以外の80種類と合わせると、約400種類のタンパク質の立体構造が解析されたことになる。これは全タンパク質の18.3%に相当し、高度好熱菌のプロジェクトが始まって数年間で、これまでもっとも多くの立体構造が解析された大腸菌の18.7%とほぼ同じレベルに達したことになる。さらに、高度好熱菌の場合には、これに加えて3Å以上の良質なX線回折データが得られているタンパク質が現時点で100種類以上存在するので、近いうちに、本高度好熱菌が世界でもっともタンパク質の立体構造解析がなされたモデル生物になると考えられる。

2. 先端タンパク質結晶学研究グループ

当研究グループでは、タンパク3000プロジェクトの一環として、結晶構造解析を用いた構造ゲノム的研究及び関連

技術開発を行っている。タンパク3000プロジェクトでは、より解析困難なタンパク質をより少ない人員でより多く解析することが要求されており、それらを達成するための技術開発が欠かせない。これまで蓄積された構造決定プロセスの標準化に関するノウハウを効率化に結びつけるため、構造解析支援ソフトウェアの開発・効率化に対応した結晶凍結法や位相決定法などの要素技術開発・ラボ用ロボットシステムの導入などを行ってきた。

特に、より解析困難なタンパク質に対応するために、下記に述べる自動解析システム・構造評価システム・重原子検索システム3つの構造解析支援ソフトウェアの開発の高度化を行った。その結果、経験の浅い人材でも可能な構造解析の自動システムが完成し、またモデルチェック作業の効率が大幅に改善された。これらのソフトウェアは、当グループ以外での使用および製品化を想定し、汎用性・移植性の高いものとした。さらに構造ゲノム科学を利用した創薬技術の開発を目指し、蛋白質構造解析コンソーシアム（製薬9社から12名が参加）と共同で結晶構造解析を行い、相互の技術向上を図った。

2-1 自動解析システム

自動解析システムは、当グループで標準化された解析手順を自動化することにより、経験の浅い担当者でも正しい手順で解析ができるようにすることを目的としたシステムであり、位相計算・自動モデル構築・構造精密化を視野に入れている。これらの機能はX線構造解析・計算機に関する最小限の知識で操作できる。また手順が規格化されていることから、指導者による助言が容易になる。2005年度は、現在最も手間のかかっているモデルチェック作業の効率化を行った。このモデルチェック機能（図3）により、アミノ酸配列の確認・立体化学的妥当性の確認・結合水の妥当性の確認・水素結合など非共有結合相互作用の妥当性の確認が自動的に行える。

PDB登録前のモデル確認のみならず、経験が十分でない

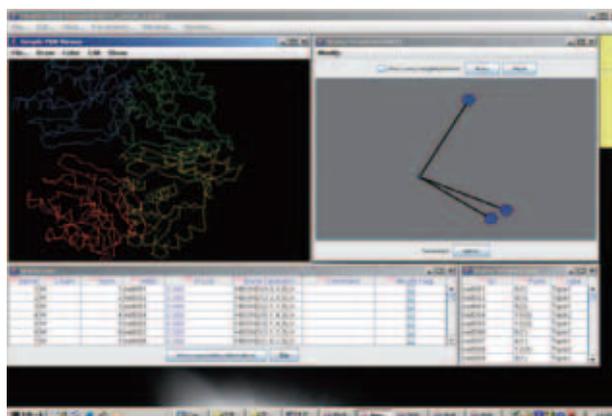


図3 自動解析システムのモデルチェック機能

解析担当者が構造精密化を効率的に進めるためにも役立つ。

2-2 構造評価システム

構造評価システムは、解析された結晶構造から論文作成等に必要の構造評価基礎データを自動的に作成することにより、研究者による同作業を効率化することを目的としたシステムである。今まで研究者が手間と時間をかけて行っていた構造評価作業が効率化できる。また、将来的にタンパク質の耐熱性や結晶性などのタンパク工学的手法による改善技術の開発基盤となることが期待される。2005年度は、現在最も手間のかかっているタンパク質の分子表面解析、すなわち、パターン分析（保存度・疎水性・電荷等の分子表面における分布の評価）および結晶パッキング評価の自動化を行った。図4に評価システムの分子表面解析機能を示す。

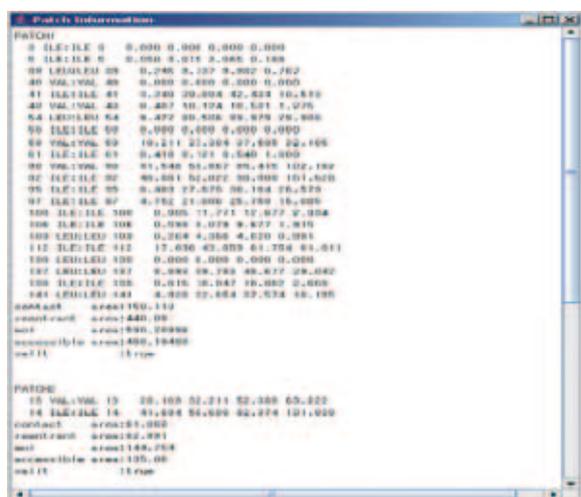


図4 評価システムの分子表面解析機能（バッチ検出部の計算結果）

2-3 重原子検索システム

重原子検索システムは、既知の重原子誘導体をデータベース化することにより、経験の浅い担当者でも試すべき重原子試薬が簡単に検索できるようにすることを目的としたシステムである。H17年度は、ホモロジーモデリング・二次構造予測・重原子結合モチーフ等を考慮した検索を導入することによる高度化を行った。その結果、候補の重原子試薬に成功期待値（スコア）が付くため、そのスコア順に重原子化実験を行うことでより効率的な重原子誘導体作成が可能になった。また、本システムのWEBでの公開（<http://hatodas.harima.riken.go.jp/>）を行った。図5にHATODASシステムのメイン画面を、図6に見つかったHg結合のモチーフを示す。

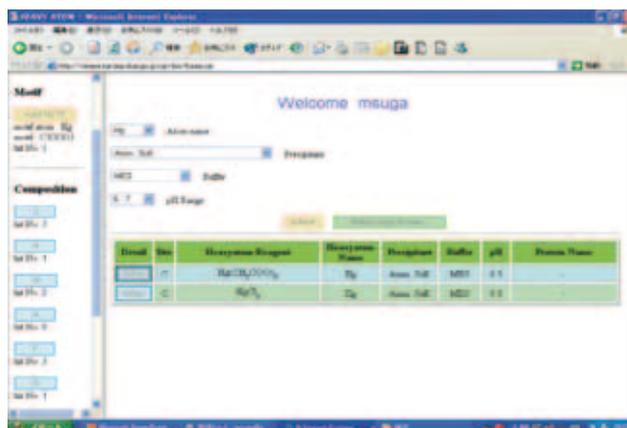


図5 HATODASシステムのメイン画面

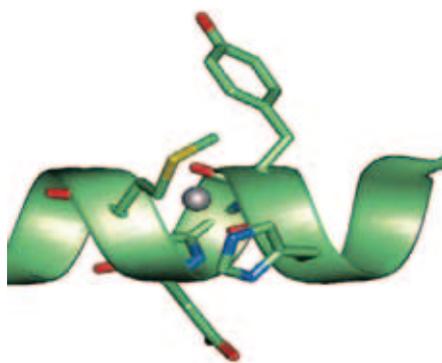


図6 見つかったHg結合モチーフ

3. タンパク質解析要素技術開発プロジェクト

タンパク3000プロジェクトは2006年度で最終年度を迎え、次年度以降の新たなプロジェクトに向けての動きが活発化している。SPring-8では現在、タンパク3000の支援を受けて、専用ビームタイムを設けた3本の共用ビームライン（大学等の個別的解析プログラム部分）と2本の理研ビームライン（理研の網羅的解析プログラム部分）を含めた合計5本の構造生物学ビームラインを対象に運転を行い、本プロジェクトの結晶構造解析成果に大きく貢献している。

今後は重要な生命現象や疾病、障害に関わる解析の高難度のタンパク質の立体構造解析が期待されているが、これらは良質な結晶にならず10ミクロン以下の微小結晶しか得られないことが多い。結晶構造解析では、高精度の回折強度データを収集する必要がある。しかし、回折強度は結晶の体積に比例するため、微小結晶からの回折強度は非常に弱く、精度や分解能の不足により現在の放射光ビームラインでの構造解析は事実上不可能である。

そこで次年度以降は第一に、10ミクロン以下の微小結晶の構造解析に最適化した高輝度マイクロビームビームライ

ンを開発する。微小結晶構造解析では、X線ビームを照射して得られる微弱な回折強度の高精度測定技術が要求される。そのためには、結晶の大きさに見合ったマイクロオーダーの超高輝度マイクロビームを生み出す技術開発が不可欠である。第二に、低エネルギーX線ビームに最適化したマイクロビームビームラインを開発する。重原子誘導体を調製することが難しい解析の高難度のタンパク質の構造解析には、低エネルギーX線を利用した短波長異常分散(SAD)法の発展が必要である。微小結晶にマイクロビームを安定照射するためには、サンプル位置でサブマイクロ精度のビーム位置安定性・強度変動の最小化が求められる。加えて、微小結晶の操作技術やサブマイクロ以下の高精度ゴニオメータなど、実験ステーション周辺にも多くの技術革新が必要である。

2006年度タンパク質解析要素技術開発プロジェクトとして、超高輝度マイクロビームビームラインの全体設計およびメールインデータ収集・遠隔データ収集等のリモートアクセス技術の調査を行う。そしてビームラインに必要な要素技術の中から、安定な高輝度マイクロビームの生成において重要な役割を果たす超高精度X線分光器を開発する。

次年度以降の新たなプロジェクトでは、膜タンパク質やタンパク質複合体などの解析の高難度のタンパク質をターゲットとした「タンパク質の構造と機能の解析の推進」を目標としており、SPring-8での結晶構造解析への要求がさらに高まるものと予想されている。

理化学研究所 構造プロテオミクス研究推進本部 副本部長
理化学研究所 播磨研究所 放射光科学総合研究センター
グループディレクター
横山 茂之