CRDS-FY2011-WR-06

俯瞰ワークショップ

ライフサイエンス分野の俯瞰と重要研究領域「ゲノム・融合分野」

構造生命科学（タンパク質・構造生物学）　検討報告書

独立行政法人科学技術振興機構 研究開発戦略センター
Center for Research and Development Strategy, Japan Science and Technology Agency

Executive Summary

科学技術振興機構（JST）研究開発戦略センター（CRDS）ライフサイエンス・臨床医学ユニットでは、「ライフサイエンス分野俯瞰ワークショップ」からライフサイエンス重要領域を選定し、詳細調査活動を行い、その結果を順次報告書にまとめてきた。ライフサイエンス重要領域の１つとして選定した「ゲノム・融合分野」では、まずゲノム科学を中心に詳細な調査を行い、既に報告書も刊行した。次に、本分野におけるもう１つの基軸である機能分子（タンパク質等）に関する調査を進めた。調査を通して、これまで国のプロジェクト等で整備されたタンパク質構造解析拠点や技術体系等の国際的な先進性を確認する一方で、疾患や生命現象に関わる重要タンパク質の多くの構造は未だに決定されていないことも明らかになった。タンパク質構造解析の整備された基盤を用い、ライフサイエンスの進展にとって真に重要なタンパク質について、例えその難易度が高くとも、戦略的に構造解析を実施する必要がある。そこで、そのような戦略性を持った次世代構造生物学を俯瞰・議論するワークショップを開催した。次世代の構造生物学は、生命科学研究と構造生物学との、先端的でかつ有機的な連携から生まれるとの考えから、「構造生命科学」をキーワードとしてワークショップを開催した。

ワークショップには、構造生物学分野ならびにライフサイエンス分野の双方から、代表的な研究者を招聘した。ワークショップは３部構成となっており、セッション１では構造生物学領域の大型国家プロジェクトである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」の成果と課題の共有を行った。セッション２では、構造生物学研究者から構造解析拠点や新技術の紹介を受けた後、ライフサイエンス分野の研究者から、国内で発見、研究されている重要タンパク質でも、未だ構造が解かれていないものが数多く存在することを例示して頂くと同時に、次世代構造生物学に対する提言を頂いた。それらを受けた討論の中で、構造動態を解析するためにシミュレーション技術開発が必要であるなどの具体的研究課題を取り上げるとともに、生命科学と構造生物学の共同研究体制、人材育成とそれに向けた長期的ファンディングといった課題も議論した。さらにセッション３にて総合討論を行い、日本のライフサイエンスへ構造生命科学が資するところを議論した。創薬研究の実例から、ありとあらゆる人（有機化学研究者から臨床医、製薬企業）が連携することで初めて創薬までたどり着けることが例示され、「構造生命科学」においても必要なものはすべて動員して課題に取り組む姿勢の重要性が指摘された。それに対し、構造生物学研究者の認識も一致していた。

我が国は、世界的にトップを争う生物学研究者、医学研究者、ケミカルバイオロジー研究者、構造生物学研究者を多数抱えている。構造生物学分野でのさらなる成果を求めてもおかしくないと考える。構造生物学分野のさらなる進展のための方策として、本ワークショップで明確に示されたことは、構造生物学コミュニティーと他のライフサイエンス分野のコミュニティーとの連携のさらなる深化である。これまでは、構造生物学研究者と他のライフサイエンス分野の研究者との、異分野間での連携であったと思われる。先端的な部分に関しては、スペシャリスト間の連携という形にならざるを得ないと考える。しかしながら、構造生物学分野でも確立した基盤部分は、様々な分野からの活用を推進すべきで

ある。構造生物学の施設や技術体系を特殊なものとせず、ライフサイエンス全般の発展に必要な基盤技術として一般化を促進することが必要である。分子生物学がそうであったように、構造生物学がライフサイエンス全体の推進力の１つとして一般化、融合化することは、本ワークショップでキーワードとした「構造生命科学」の目指すビジョンの１つであろう。構造生物学と生命科学という２つのもののマッチングから生み出される「構造生命科学」という新しい切り口について、そのビジョン、技術的な問題、システムの問題を、本ワークショップにて整理することが出来た。本ワークショップで導き出されたものが、今後の研究者コミュニティーの意識改革や本分野の推進に向けた政府施策のガイドとなることを期待したい。

目　　次

Executive Summary

１．趣旨説明 …… 1

２．発表・討論概要 …… 4

セッション１：「日本の構造生物学の現状」 …… 4

セッション２：「ライフサイエンス潮流の中で期待
される次世代構造生物学とは」 …… 11

セッション３：「総合討論」 …… 44

３．まとめ …… 58

４．考察 …… 60

付録　ワークショップ参加者一覧 …… 63

1．趣旨説明

独立行政法人科学技術振興機構（JST）研究開発センター（CRDS）は、「社会ニーズを充足し、社会ビジョンを実現する科学技術の有効な発展に貢献する」ことを目的とし、科学技術の全分野を対象にして、政府への戦略提言を行っている。具体的には、特定の科学技術分野全体を俯瞰し、議論の場を形成した上で重要テーマなどの系統的な抽出、研究開発状況や技術レベルの国内外比較を行い、それらを踏まえた戦略提言を作成し公表している。

JST-CRDS ライフサイエンス・臨床医学ユニットでは、「ライフサイエンス分野俯瞰ワークショップ」からライフサイエンス重要領域を選定し（「2010 年ライフサイエンス分野俯瞰ワークショップ」報告書[1]参照）、詳細調査活動を行い、その結果を順次報告書にまとめてきた。「ゲノム・融合分野」では、ゲノム科学を中心に詳細な調査を行い、研究課題を抽出して報告した（図 1-1、ライフサイエンス分野の俯瞰と重要研究領域「ゲノム・融合分野」検討報告書[2]参照）。「ゲノム・融合分野」におけるもう 1 つの基軸である機能分子（タンパク質等）に関する研究領域についても調査を進めてきた。調査を通して、これまで国のプロジェクト等で整備されたタンパク質構造解析拠点や技術体系等の重要性を確認した。タンパク質構造解析を中心とする技術進展は、構造生物学と先端的ライフサイエンス領域との融合を促し、新たな研究領域を生み出すことが期待される。その領域を「構造生命科学」と名付け、その可能性を検討することとした（図 1-2）。

タンパク質を中心とした構造解析研究は、現在は構造生物学と呼ばれる研究領域を形成している。日本では、SPring-8 に代表される国内の大型放射光施設の整備に伴い、多数のタンパク質構造が網羅的に決定されてきた。平成 19 年度からは、解析が困難であるが学術的に重要なタンパク質を解析ターゲットに選定し、その構造・機能相関解析を技術開発とともに進める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（以下本文中では、ターゲットタンパク、と称する）」が 5 ヵ年計画で進んでいる。この間に、世界ならびに国内の構造生物学の潮流は、“構造を解く”だけの研究から、“構造を使う”研究へと変貌してきた。特に医学・医療への応用への流れが特徴的であり、欧米にまたがる非営利の国際構造解析コンソーシアムである SGC（Structural Genomics Consortium）では、グラクソスミスクライン社、ノバルティス社、ファイザー社、イーライリリー社等のメガファーマからの出資も受けて、医薬品開発を目的とした構造解析研究を進めている。米国 NIGMS（National Institute of General Medical Sciences）が研究資金を提供する構造生物研究に関するイニシアチブ PSI（Protein Structure Initiative）の中では、Biology Network という大型プロジェクトが動いており、健康と疾患をテーマに、米国内 4 大構造解析拠点と膜タンパク解析 9 拠点に、2010 年からの 5 年間でそれぞれ 1 億 4 千万ドル、7 千 5 百万ドルの資金が提供されている。

1 http://crds.jst.go.jp/output/pdf/10wr10.pdf
2 http://crds.jst.go.jp/output/pdf/10wr14.pdf

一方で、生命科学の進展は、疾患や生命現象に関わるタンパク質の発見を促したが、こうした重要タンパク質の多くの構造は未だに決定されていない。JST-CRDS で実施したライフサイエンス研究者へのインタビューからは、構造未決定の重要タンパク質が多く存在し、その中には日本人が発見したものも多く含まれていることが明らかになった（本文参照）。今後も日本のライフサイエンス研究の進展に伴い、様々な重要タンパク質が明らかにされるであろう。またその中で、構造解析情報は重要タンパク質の機能発現機序を解明するために、その重要性を増してゆくものと考えられる。タンパク質立体構造と機能解明を有機的に結合させることは、ライフサイエンス分野発展の原動力となると同時に、医薬開発や産業応用に直結することが期待される。特定の標的タンパク質のみに結合する分子標的医薬の開発はその好例である。構造生物学と先端的ライフサイエンス研究との融合から生まれる「構造生命科学」は、“原子レベルで生命を見る、知る、そして使う”というところまで進展し、ライフサイエンス分野の革新に繋がるものと期待される（図 1-3）。

本ワークショップは、次世代構造生物学としての「構造生命科学」に関する最新情報収集ならびに議論の場として位置付けている。本ワークショップは 3 部構成となっており（図 1-4）、それぞれのセッションで以下の成果が得られることを期待した。

＜セッション 1 ＞　ターゲットタンパクの成果と課題の共有
＜セッション 2 ＞　構造解析拠点や新技術の共有、生命科学の視点からの提言
＜セッション 3 ＞　日本のライフサイエンス研究へ構造生命科学が資するところ、新たな知見を得る可能性、科学技術政策重要課題への寄与を整理

以下、セッション毎に発表と討論をまとめ、最後に JST-CRDS としての考察を記載する。

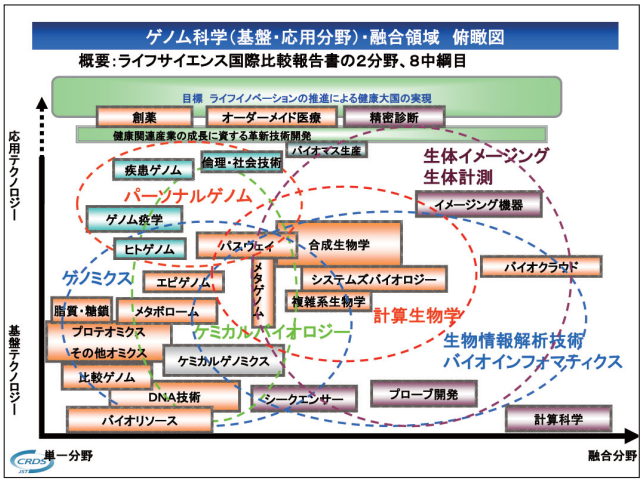


図 1-1

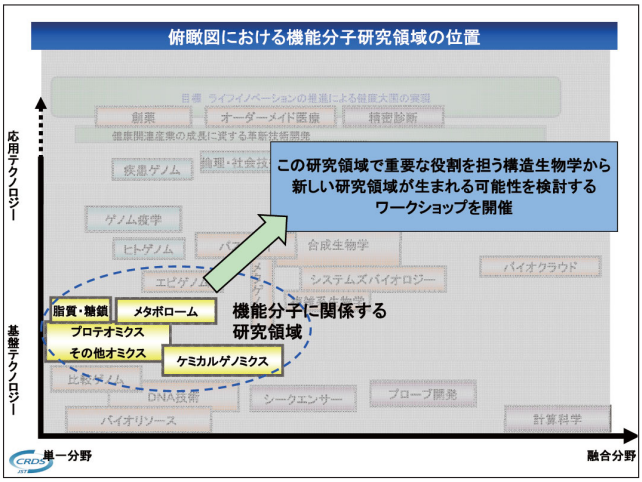


図 1-2

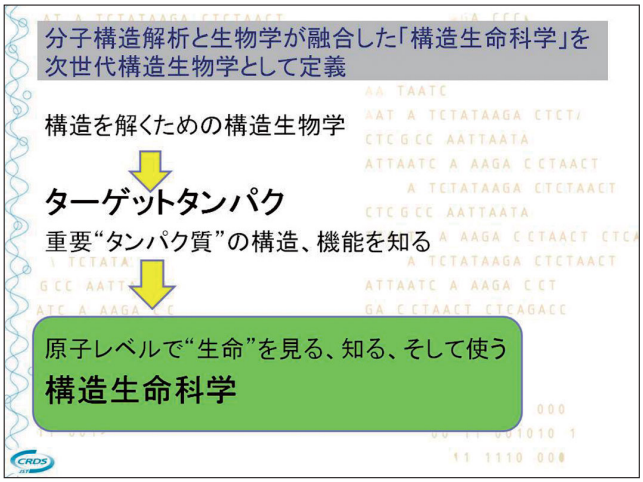


図 1-3

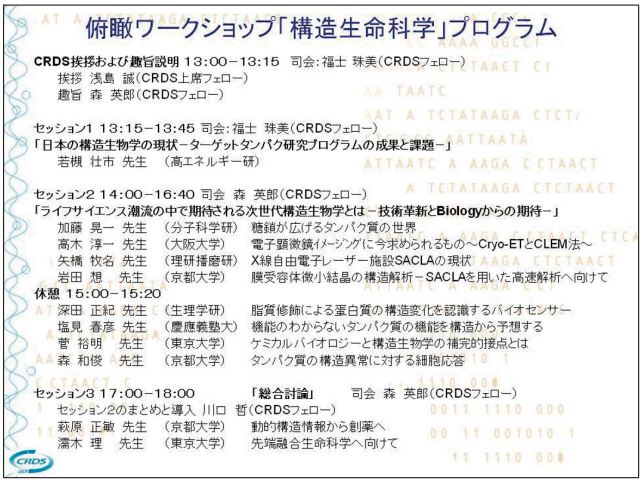


図 1-4

2．発表・討論概要

セッション１：「日本の構造生物学の現状－ターゲットタンパク研究プログラムの成果と課題－」

若槻　壮市　教授　（高エネルギー加速器研究機構・構造生物学研究センター）

- ターゲットタンパクの重要な課題は、解析するのが難しいタンパク質の構造を解析することである。それを可能にする技術開発を進め、構造解析を行った。ターゲットタンパクの成果としては、国際的な地位の確立、場の生物学の解明進展、階層構造のダイナミクス研究開始などが挙げられ、“解く構造”研究としては成果が上がった。一方で構造生物学研究コミュニティーはまだ“内向き”と評価されることもあり、他分野との融合をさらに推し進める必要がある。また国際競争も激しさを増しており、キーテクノロジー開発と活用を促進し、日本のライフサイエンス分野の発展への更なる貢献が求められている（図 2-1、図 2-2）。
- 技術開発については、SPring-8 に世界最高輝度の放射光マイクロビームラインを完成させた。またフォトンファクトリーには相補的な低エネルギー X 線マイクロビームラインを開発し、位相が簡単に解析できるようにした。核磁気共鳴（NMR）に関しては、セイル法という高分子量のタンパク質でも構造解析ができる技術が完成した（図 2-3 から図 2-8）。
- 国際的に評価の高い解析例としては、ヒトの数多くの病気に関係しているセマフォリンとその受容体プレキシンからのシグナル伝達が生じる構造的な機序を解明した研究が挙げられる（図 2-9）。
- ターゲットタンパク内での人材育成にも力を入れており、全体の研究従事者 569 人のうち、220 人が若手といえる研究者である（図 2-10）。
- ターゲットタンパクでは、研究基盤とターゲット研究プロジェクトの 2 階層に分けて研究推進を行った。ターゲット研究プロジェクトではインパクトの高い生物学的に意味のある構造機能解析が数多く発表されている（図 2-10、図 2-11）。研究基盤からはマイクロビームなどの新技術も創出し、化合物ライブラリーも整備した。製薬企業への施設開放も進めている。一方で、海外の方が進んでいる新規技術（クライオ電子線トモグラフィー、X 線自由電子レーザーなど）が幾つかあり、それらにキャッチアップすることは課題として挙げられる。また異分野融合の加速に向けては、生物学と構造解析の両方に対応できる人材の育成戦略が必要である（図 2-11）。
- 電子顕微鏡での構造解析技術のトピックスとしては、単粒子解析、収束イオンビーム（FIB）による試料スライスを用いたトモグラフィーが挙げられる。新技術へのキャッチアップが必要である（図 2-12）。
- 真核生物のタンパク質の 40% 程度は天然変性状態にあり、柔らかな構造をとっている。これらの柔らかな相互作用を解析するには NMR が適している。またタンパク質の動的な構造変化を解析するためにも NMR は重要な技術であり、今後の活用と更なる技術革新が必要である（図 2-13、図 2-14）。
- 米国スタンフォード大の X 線自由電子レーザー（XFEL）施設 LCLS が 2009 年に世

界で初めてXFELの発振に成功し、その利用研究が始まっている。日本でも今年6月に理化学研究所播磨研のXFEL施設SACLAにてXFELの発振に成功した。これらXFELを用いることで、これまで不可能であったナノ結晶（タンパク質を数十から数千分子しか含まない超微小結晶）の構造解析が可能になり、結晶化が困難なタンパク質の構造解析が飛躍的に加速すると考えられている。XFELの研究分野は始まったばかりであり、技術開発課題が数多く存在し、世界の中では日本は優位な立場にある。EUのXFEL施設は2015年に完成予定であり、SACLAは世界で最もエネルギーの高いXFELを発振している（図2-15から図2-17）。

- 電子顕微鏡やXFELを用いると、数百万というイメージをとることが可能である。そこから構造やダイナミックな構造変化の解析が可能になるが、その際には多様体解析という数学手法を用いる。このような解析を一般的なものにするためには、構造解析と数学、数理科学との共同作業が必要となる（図2-18）。
- 分解能や特性の異なる複数の構造解析手法を組み合わせ、それらの相関を用いて多面的に構造やその動態あるいは階層的なダイナミクスを解析する手法（相関構造解析法）の開発も重要であり、国内でもその萌芽的研究が進んでいる（図2-19から図2-21）。
- 米国では、NIHだけでも構造生物学関係研究に年間6億ドルもの研究費が使われている。iPS細胞の山中先生の米国UCSFラボも米国PSIのセクターと構造生物学関連の共同研究を始めたとの話もある。研究費の大きさに関しては、米国内でもコストパフォーマンスを疑問視する声がある。しかしながら、このような米国での圧倒的物量作戦に対して日本はどのように工夫して太刀打ちしていくか、対抗戦略を考えるべきである。（図2-1、図2-22）。
- ヨーロッパでは、Instructというフレームワークが今年の4月から動き始めた。またアジアの攻勢も激しくなっている。韓国ではPohang Free Electron Laser Facilityが韓国浦項に建設中であり、XFELの世界に参入を図っている（図2-23）。
- とかく日本の構造生物学は内向きという批判を受けることがあるが、構造生物学の研究者としては、生命科学、医学、薬学、農学等と本当に強く結びついた「構造生命科学」への転換の必要性を認識し、その方向へ進んでいるつもりである。この流れを今後どのように発展・展開するのかということを、本日議論したい。また技術的観点からは、原子から個体へと構造をシームレスに繋げるために、構造解析技術の谷をどのように埋めるのかについても議論したい。そのような議論の先には、社会還元という課題に対する答えがあると考えている（図2-24）。

（質疑応答ならびに討論）

- 糖尿病の鍵分子であるアディポネクチンレセプターは7回膜貫通型の膜タンパク質であり、その立体構造はまだ解明されていない。ターゲットタンパク内の共同研究で、アディポネクチンレセプターの立体構造を認識する抗体の作製には成功し、ある程度の結晶がとれており、今後の立体構造解析に期待している。また、アディポネクチンレセプターを活性化する低分子化合物は既に見出しており、その低分子とアディポネクチンレセプターとの共結晶の構造解析から、低分子化合物の最適化を行っていきたい。これらの5年間の共同研究の経験から言って、構造生物学研究のフォーカスが

重要タンパク質に向かったという点で構造生物学コミュニティーの意識改革は進んだと思う。しかしながら技術的な視点では、最もチャレンジングな、最も高難度の、疾患関連タンパク質あるいは創薬有力ターゲットへのブレークスルーを得るにはまだ至っていないと感じる。膜タンパクに対する立体構造の解析や結晶化については、まだ試行錯誤の部分が非常に多いと感じている。医学・薬学・農学等の生物系の研究者と構造生物研究者が濃密なフィードバックを行いながらブレークスルーを得るという、本当の意味での異分野融合にはまだ十分に至っていない。また今後は数理科学研究者との融合も重要であると考える。タンパク 3000 プロジェクトをホップとすれば、ターゲットタンパクはステップであり、今後新しいプロジェクトをジャンプという段階にしていかなくてはならないと思っている。

- アディポネクチンレセプターのような非常に構造解析が難しいタンパク質の構造を解くことは、ターゲットタンパクの最重要課題として取り組んだものだ。様々な技術開発が進んだが、まだすべてのものが集約しきれておらず、そこは反省点だと思う。異分野融合についてはご指摘の通りである。人材交流あるいは人材育成を通して、異分野融合領域でリーダーになるべき人材の育成に課題があると考える。リーダー候補は確かにいると思うが、その数を増やし、真にリーダーとして顕在化する人物を輩出する必要がある。
- 疾患生命科学の視点からは、アディポネクチンレセプターの意義は明確である。立体構造に基づく効率的な創薬ができれば、いろいろな疾患を網羅的に克服できるのではないかというのが我々の強い思いである。必ず構造を解明しなければならないというゴールを明確にし、そこに至るプロセスを異分野融合で総力を挙げて取り組むという体制をとる必要があると考える。そこを突破すれば、日本の創薬が大きく進む。
- ノックアウトマウスの技術を駆使した分子生物的なアプローチを得意とする研究者が、タンパク科学に真剣に取り組み、構造解析を行ったことは、ターゲットタンパクの意義の 1 つであろう。言い換えれば、医学に関わる研究者の構造解析に取り組む機運を盛り上げるという意味では、極めて有効なプロジェクトであったと考える。しかしながら、すべてに回答が出たわけではなく、難解なものがあったことも事実である。難解であった理由は何なのか、タンパク質の属性なのか、技術不足なのか、具体的に整理しておく必要がある。分子生物学から入る研究者は、タンパク質科学の視点が弱いことも多く、ターゲットになったタンパク質の属性をよく知っていないため、つまりは情報不足であったため“難解”になった可能性もある。また、糖鎖を含む動物細胞由来のタンパク質こそ解析すべきであり、その点の技術開発はまだまだ課題が残っている。
- 色々なタンパク質構造解析の事例が積み上がってきていることは確かであるものの、ここまでの指摘のようにタンパク質すべてに応用できる普遍的な方法はまだできあがっていない。しかしながら、全く手が出ないという状況ではなく、次の課題に対する布石は打たれている。
- ここまでの議論で、技術面での課題と、融合分野での研究であるという難しさに対する意識改革の必要性が浮かび上がったのではと考える。技術面では、単に結晶構造を解くのではなく、相関構造解析法の進展が必要と考える。技術、意識、両面でもっと大きなレベルの構造生物学へジャンプする必要があると思う。

【セッション1】議論の要点

ターゲットタンパク研究プログラムで達成できたこと、残った課題は？

- **国際的な地位を確立した**：継続的な挑戦を続け、アジアの攻勢に対抗
- **場の生物学の解明が進んだ**：翻訳後修飾（糖鎖、リン酸化、アセチル化）、タンパク質ダイナミクス、天然変性タンパク質
- **階層構造のダイナミクス理解が始まった**：様々な構造解析手法をシームレスにつなげる相関構造生物学

- **解く構造から使う構造へ**：まだ「内向き」といわれがちな構造生物学研究から、生命科学、医薬学、農学等とさらに強く結びついた構造生命科学へ転換する
  - iPS細胞の構造生物学（UCSF 山中研 / Fletterick研 / JCSG (PSI-Biology)）
  - 構造生命科学者はターゲット分野の深い理解とコミットメントが重要
- **日本のライフサイエンス発展へのさらなる貢献**：構造生命科学へと進化しつつキーテクノロジー開発とその活用を進め、社会還元（イノベーション）へ向かうギャップを埋める

図 2-1

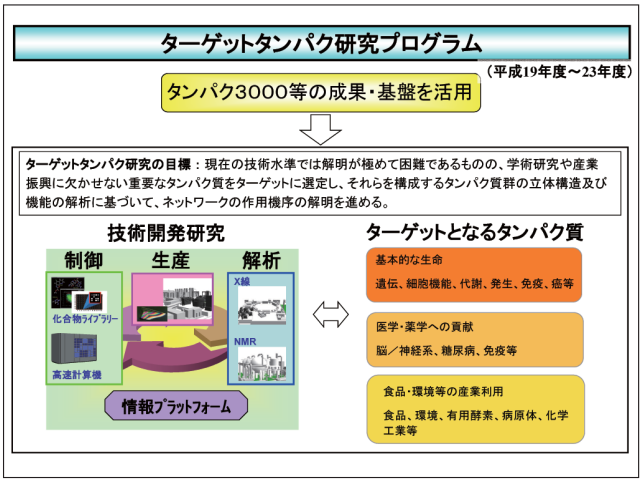


図 2-2

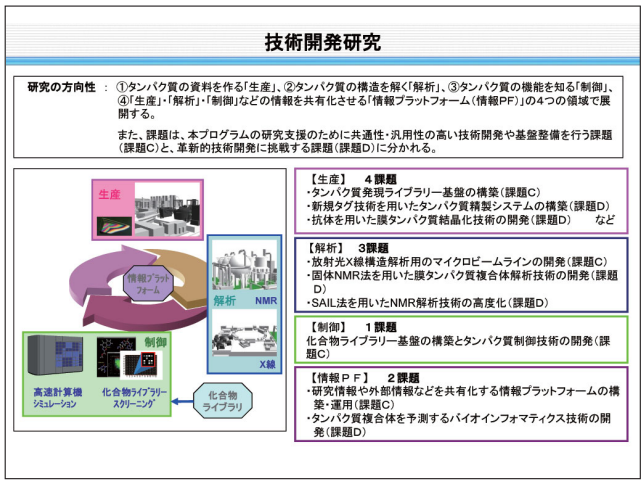


図 2-3

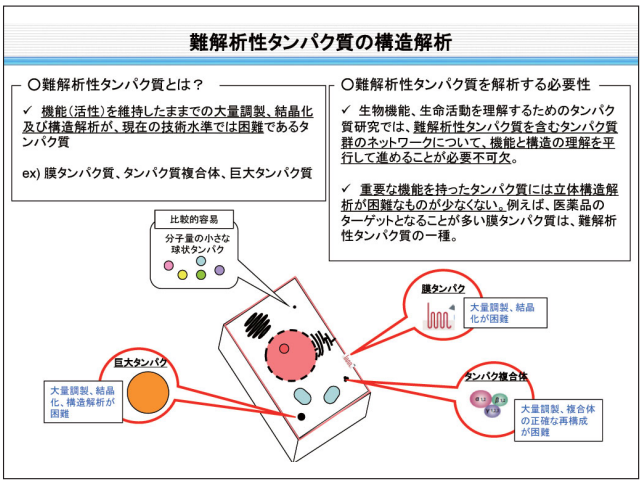


図 2-4

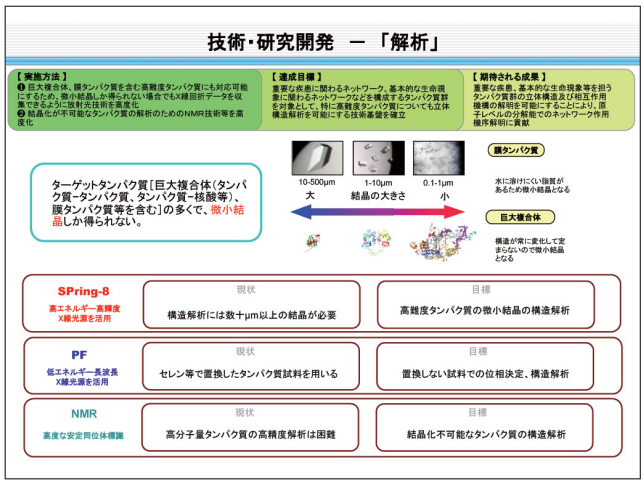


図 2-5

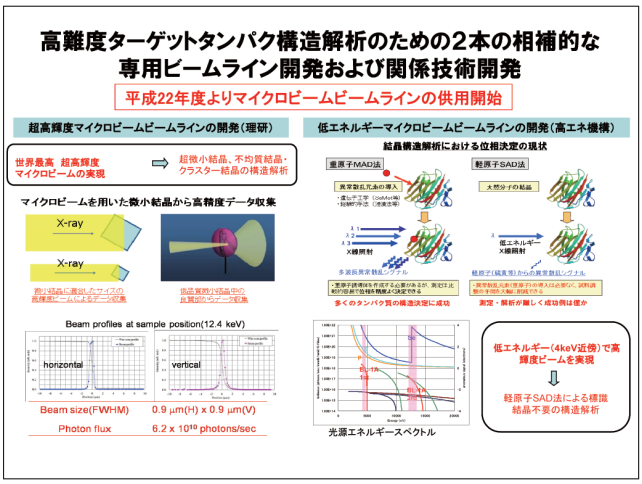


図 2-6

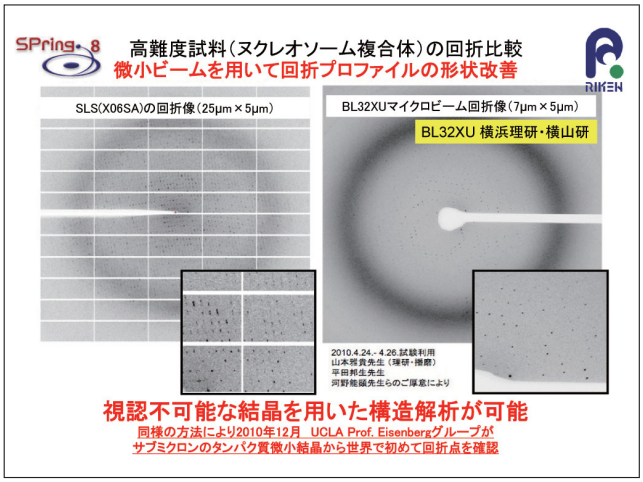


図 2-7

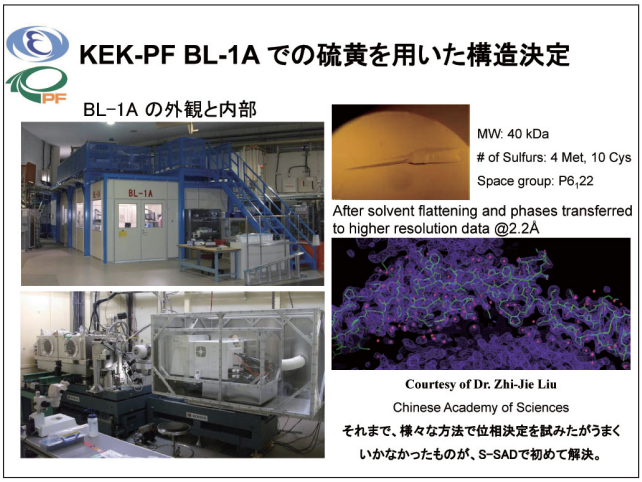


図 2-8

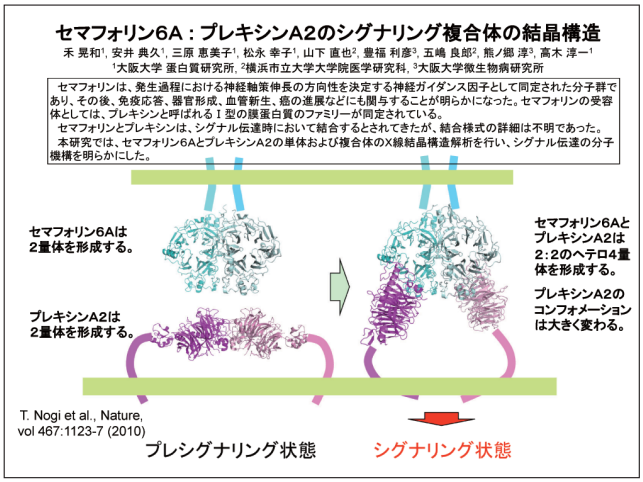


図 2-9

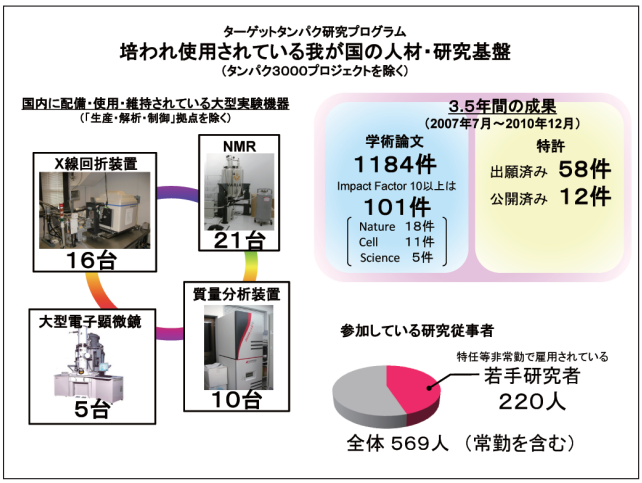


図 2-10

平成19年~平成23年：TPRP

- 研究基盤とターゲット研究プロジェクトの2階層に分けて公募、採択、研究を推進（5年型、3年型　⇒　中間評価により軌道修正）。
- ターゲット研究については、基本的生命、医学・薬学、食品・環境の3分野の研究プロジェクト（36チーム）を採択。T3Kに比べると構造数は少ないものの、インパクトの高い構造機能解析が数多く発表されている。
- 研究基盤については、生産、解析、制御、情報の4分野を設定し、新技術開発と利用システム整備。H23年から補助金化しTPRP外にも広く開放。「制御」分野では化合物ライブラリーを整備し、プログラム内外と数多くの共同研究を推進し、成果多。スクリーニング6拠点との連携。
- マイクロビームなど世界をリードする技術を複数確立したが、XFEL、電顕（FIB）など、新規技術では、プログラム内での対応ができず、新プロジェクトを早急に確立すべし。
- 引き続き若手人材育成は成果がみられるが、長期的には、異分野融合をめざしたより積極的な人材育成戦略が必要。

図 2-11

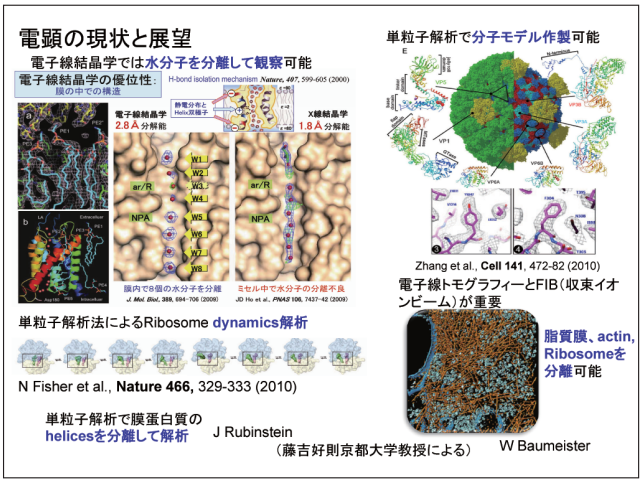


図 2-12

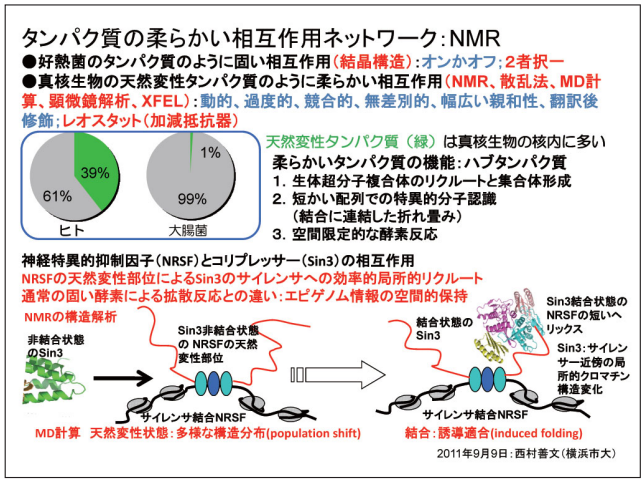


図 2-13

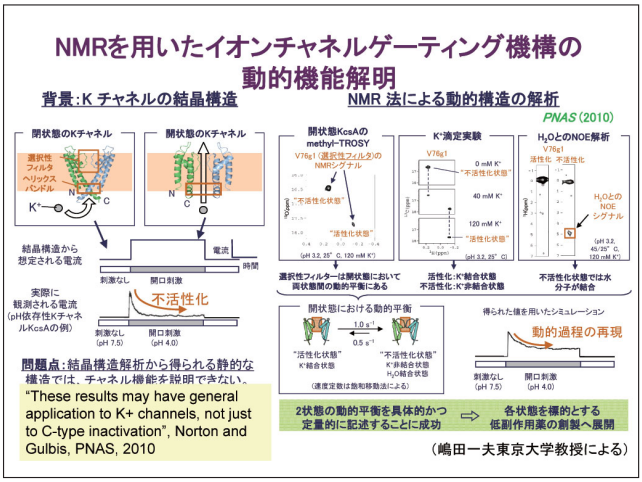


図 2-14

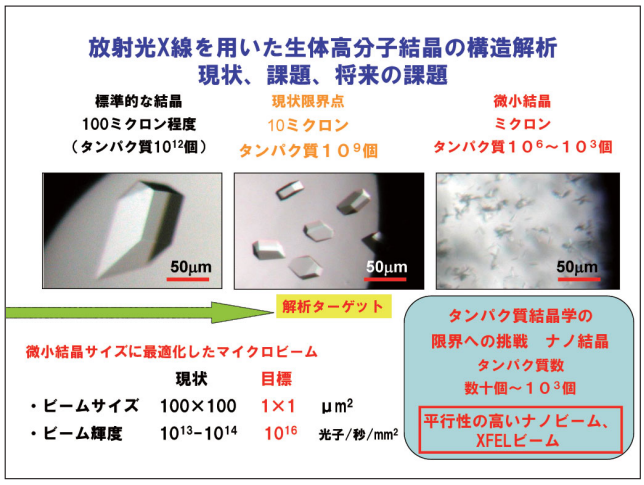


図 2-15

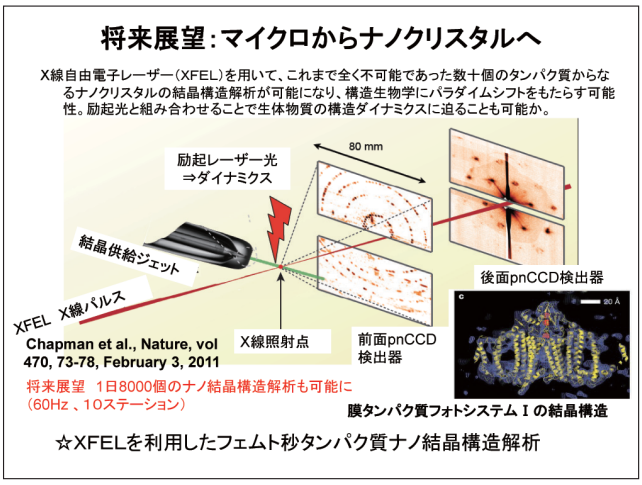


図 2-16

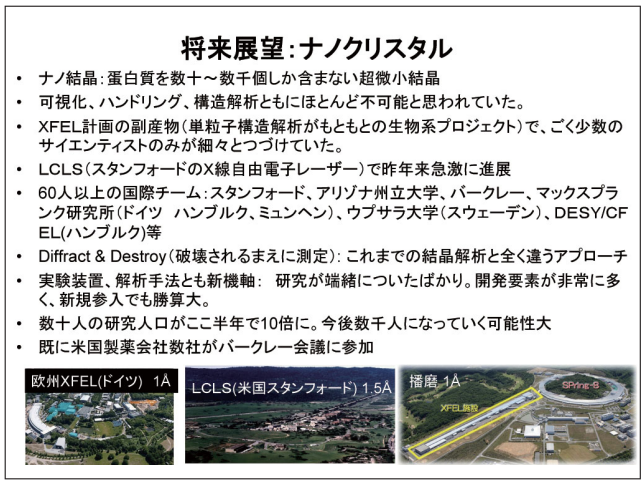


図 2-17

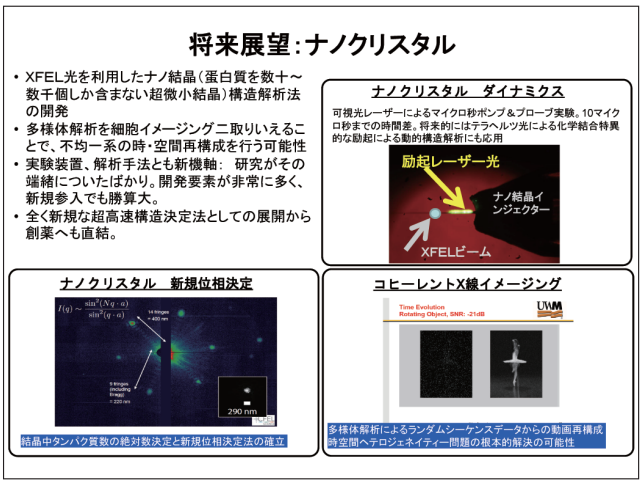


図 2-18

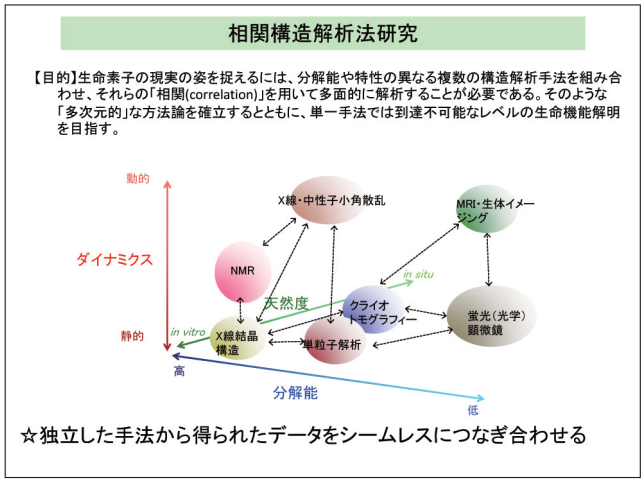


図 2-19

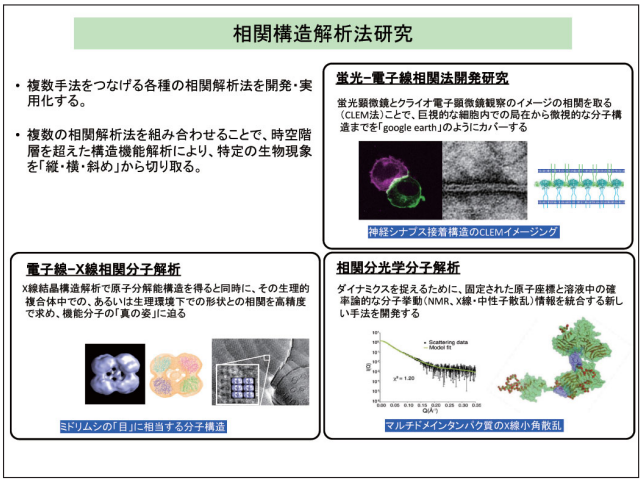


図 2-20

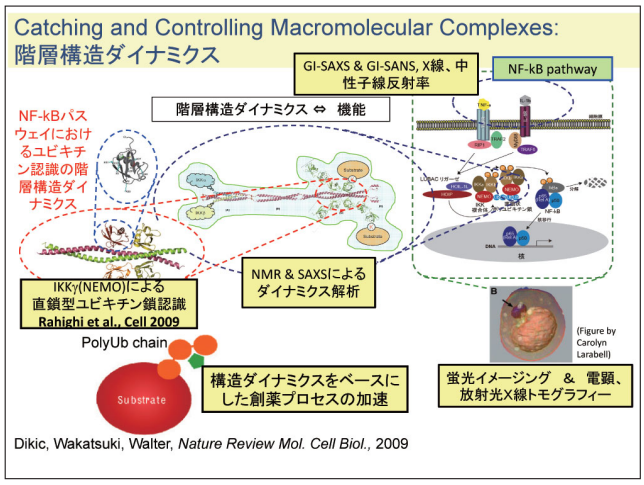


図 2-21

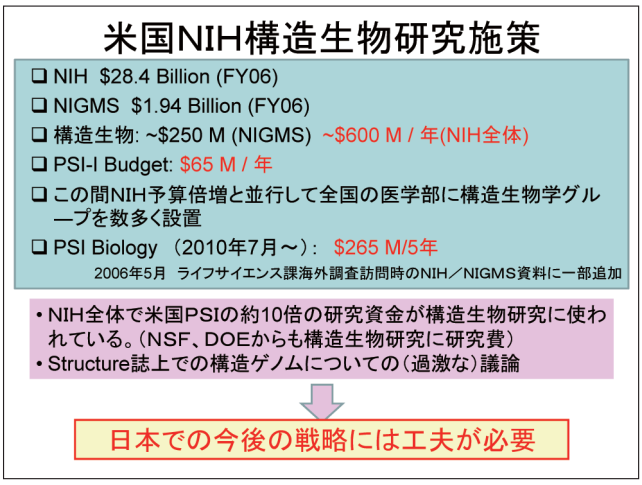


図 2-22

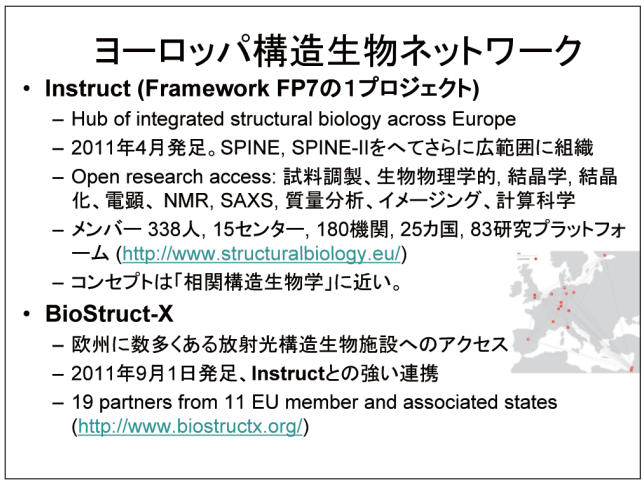


図 2-23

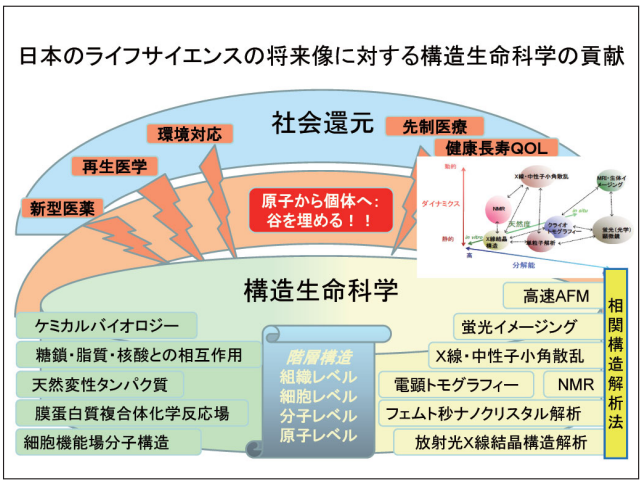


図 2-24

セッション２：「ライフサイエンス潮流の中で期待される次世代構造生物学とは ー技術革新と Biology からの期待ー」

○技術革新について

加藤　晃一　教授　（自然科学研究機構・分子科学研究所）
「糖鎖が広げるタンパク質の世界」

- 超高磁場 NMR を用いた構造解析を行っている。糖タンパクという切り口から、次世代構造生物学について述べる（図 3-1）。
- 自然界に存在するタンパク質のおよそ半分以上は何らかの形で糖鎖修飾を受けている。8 つ以上の糖を含む糖鎖を保有するタンパク質の立体構造として、プロテインデータバンク（PDB）に登録されているものは、登録構造全体のわずか 0.18％である。PDB の糖タンパク質構造の登録数が多くなっているとはいえ、その多くは糖が 1 残基か、せいぜい 2 残基ついた状態での情報というのが現状である（図 3-2）。
- 我が国は、糖鎖の機能解析において非常に進んでいる。一例として、糖転移酵素遺伝子のクローニング数は、世界の過半数を日本の研究者が占めている（図 3-3）。しかしながら、糖タンパクの構造解析は難しい課題である。
- 糖鎖は独特の分岐構造を持った多様なものである。また、1 つのタンパク質を見ても、付加される糖鎖の構造は不均一である。しかも糖鎖は高い運動性を持っているために結晶化が困難であり、糖タンパク質は、X 線解析を初めとする伝統的な構造生物学のアプローチを阻んできた（図 3-4）。
- 糖タンパク質の構造研究を進めるためには、幾つか越えなければいけない重要な問題がある。糖鎖の配列はゲノムにコードされているようなものではなく、それをどのように決定するか。クオリティーを確保した上で、量的に十分なサンプルをどのように調製するか。また、ダイナミックな動きをする糖鎖の計測をどのようにして、そこから動的な性質を含んだ立体構造情報をどのように理解するか、などである（図 3-5）。
- 上記問題に対する幾つかのブレークスルーは日本発である。島津製作所・田中耕一先生の MALDI-TOF-MS、名古屋市立大学・高橋禮子先生を中心に開発されてきた多次元 HPLC マップ法に基づく糖鎖プロファイリングデータベース GALAXY などである。また糖鎖ライブラリーも構築・整備されている。これらによって糖鎖の系統的な構造解析、機能解析が可能になりつつある（図 3-6）。
- 糖鎖の構造解析であるが、動的に揺らいだ状態（遊離状態）とタンパクに結合した状態、この両方の状態を、きちんと定量的に捉えることによって、初めて糖鎖認識のエナジェティクスを理解することができる（図 3-7）。このような動的構造変化を解析するには、様々な時間スケールでの分解能を持つ NMR が有効である（図 3-8）。しかしながら糖鎖の構造は似たものが多いため、できる限り高磁場の装置を使い、高解像度の情報を得ることが重要である（図 3-9）。
- 試料を安定同位体で標識するということも解像度を上げる重要な技術であるが、糖鎖あるいは糖タンパク質を安定同位体標識できる技術で実用的なものはなかったため、我々が独自に開発した（図 3-10）。

- 特に医薬品として糖鎖を見た場合に、熱い注目を受けているのが、フコースの存在である。糖鎖の中のフコース 1 残基、あるかないかという違いだけにより、抗体の医薬品としての機能が劇的に変わることがわかり、バイオ医薬品での糖鎖の重要性が認識されてきた（図 3-11）。この抗体の機能変化は、抗体が Fc レセプターと結合する際の結合能の上昇を通じて発揮されており、フコースがつくと立体障害によって結合の安定性が崩れると同時に、特定のチロシン残基がフコースにより固定され、結合に寄与しなくなることが我々の研究から解明された。糖鎖がわずか 1 残基であってもタンパク質間の相互作用に大きな役割を果たす（図 3-12）。
- 日本発の物が多い糖鎖解析の要素技術であるが、かなり充実してきており、糖タンパク構造解析の基盤は整ってきた。また、化学的な合成法と酵素法を組み合わせて、テーラーメードで糖タンパク質を作り出すということも、できるようになってきた（図 3-13、図 3-14）。
- 糖鎖がターゲットに応じて様々に形を変えて結合する仕組みや、親和性が非常に弱いという特徴を持つ糖鎖とタンパク質の相互作用（水分子を含めて）の実体を解明するためには、どうしても理論的なアプローチと、NMR や X 線以外の構造解析のアプローチとの組み合わせが大事になる。これまでの構造解析に加えて、有機化学合成、ケミカルバイオロジー、ナノサイエンス、合成生物学、バイオインフォマティクスや定量・数理システム生物学、機能解析研究との連携、あるいはそれらを統合した研究拠点の構築など、統合的なプロジェクトで、糖鎖構造解析という難題を解決する必要がある（図 3-15、図 3-16）。

図 3-1

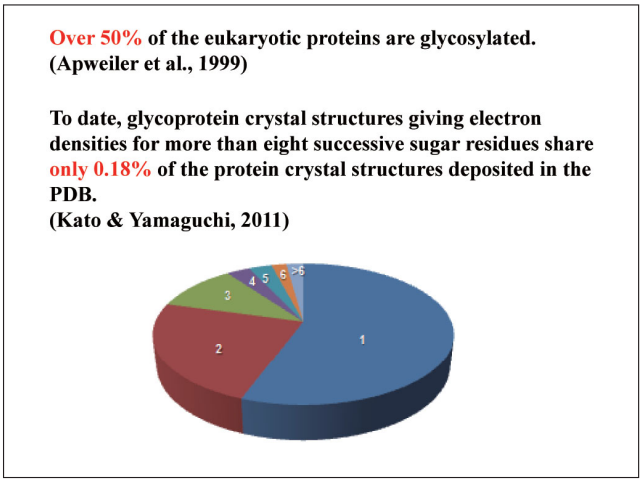


図 3-2

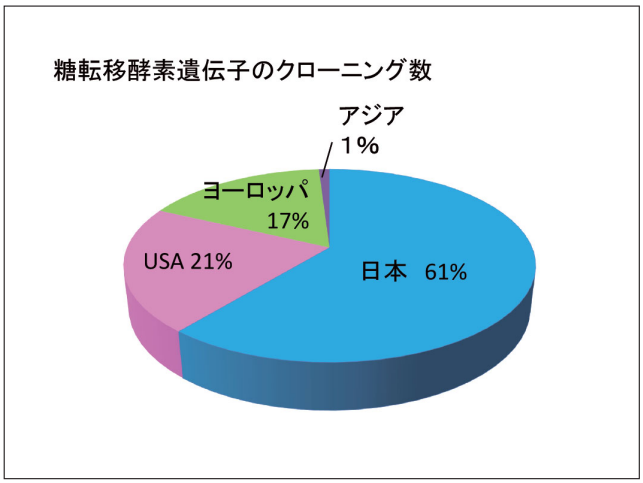


図 3-3

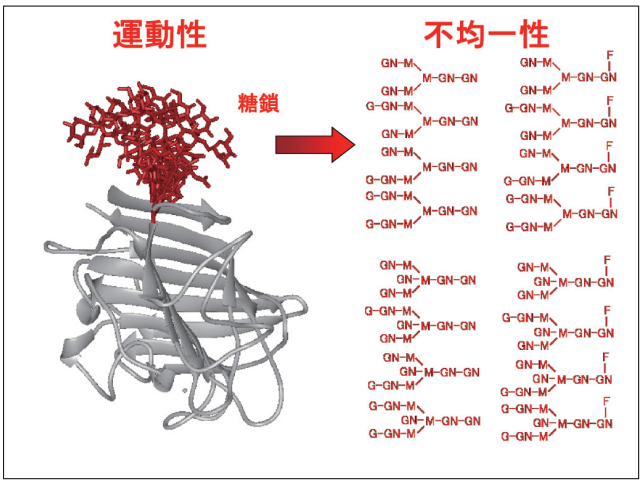


図 3-4

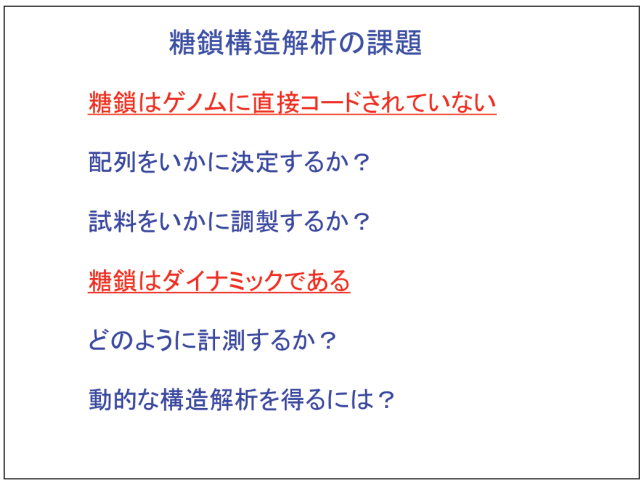


図 3-5

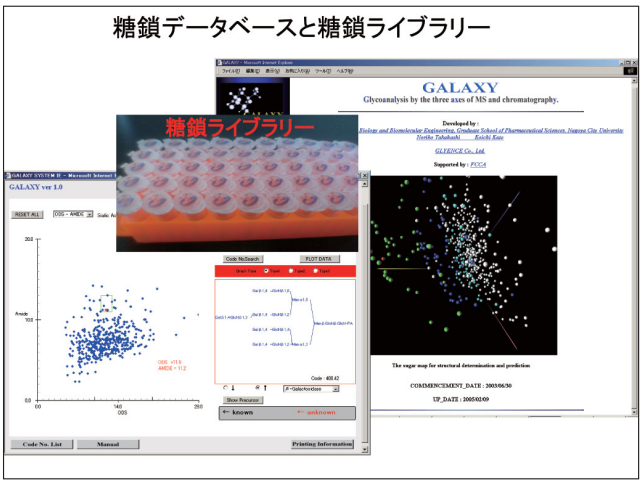


図 3-6

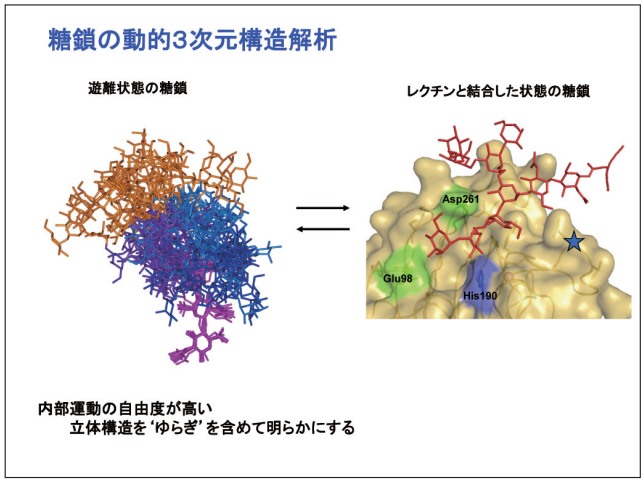


図 3-7

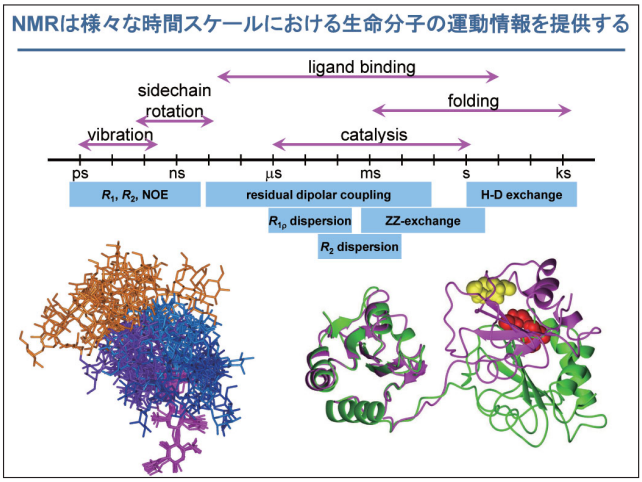


図 3-8

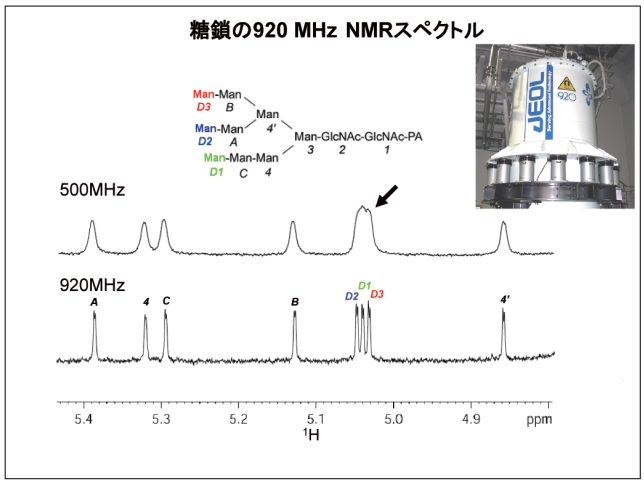


図 3-9

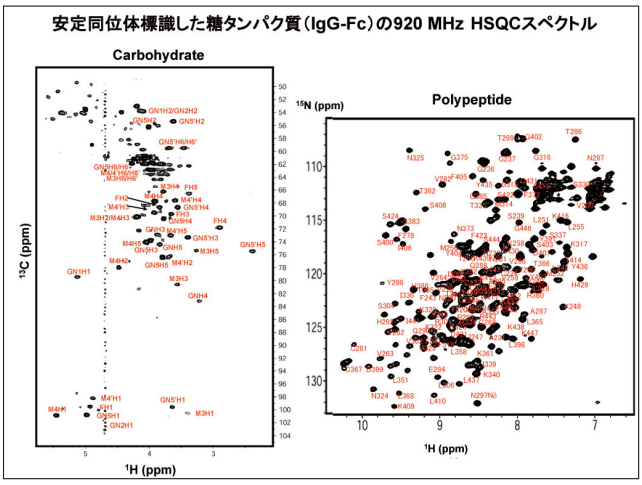


図 3-10

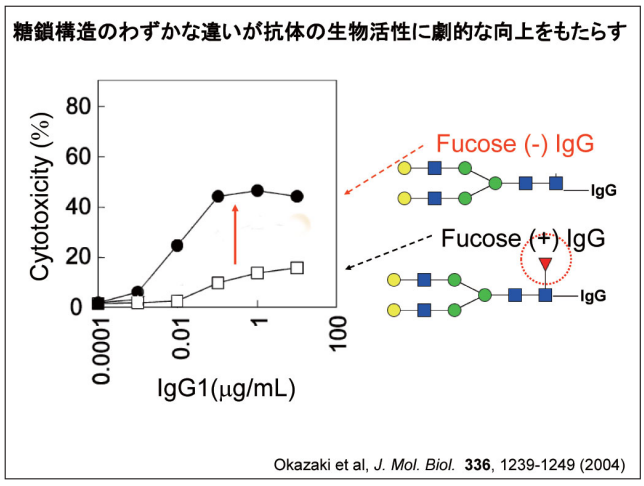


図 3-11

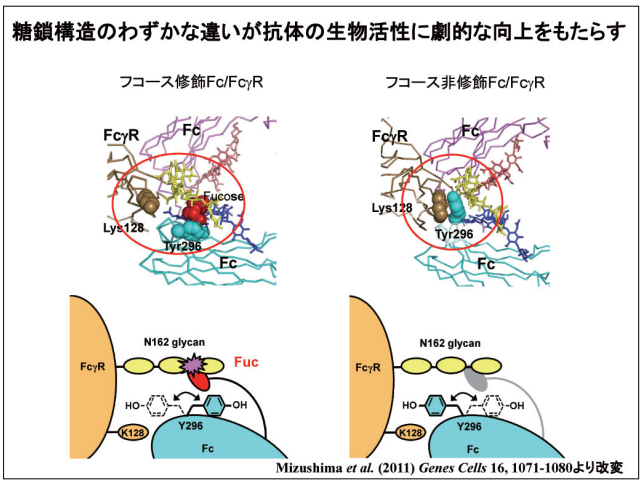


図 3-12

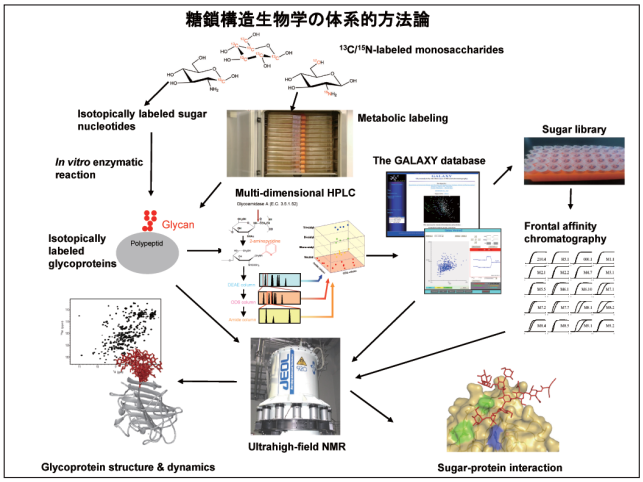


図 3-13

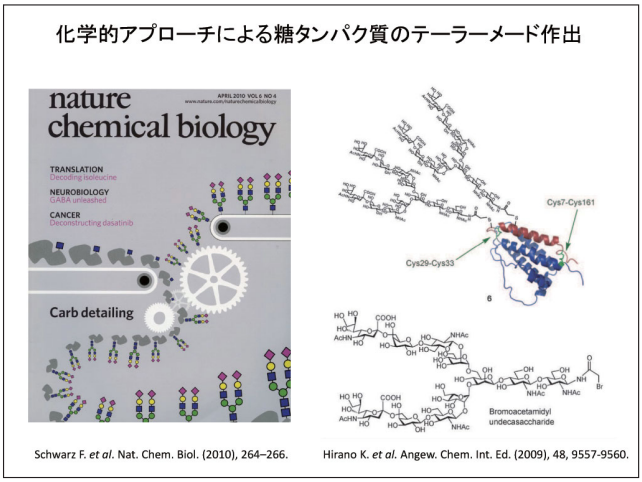


図 3-14

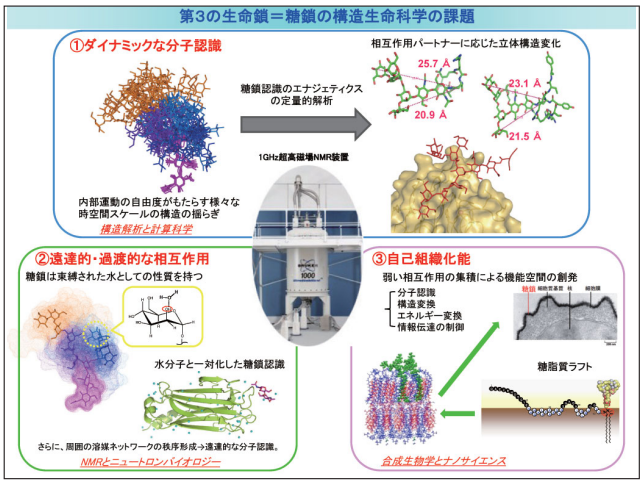


図 3-15

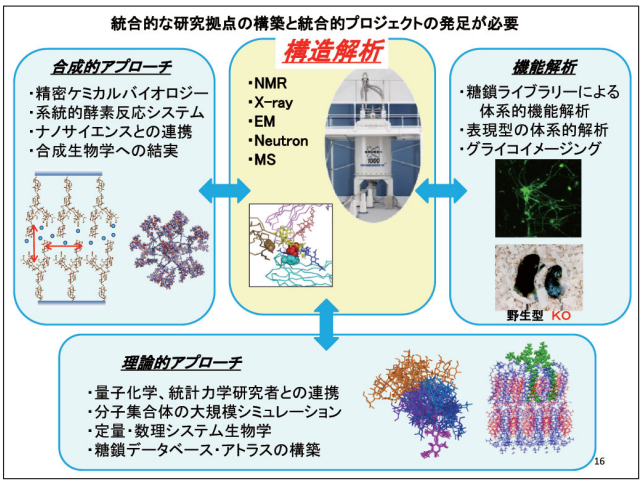


図 3-16

高木　淳一　教授　（大阪大学・蛋白質研究所）
「電子顕微鏡イメージングに今求められるもの～ Cryo-ET と CLEM 法～」

- 電子顕微鏡の技術進展を中心に、*in situ* で構造を見る技術の展望について述べる（図 3-17、図 3-18）。
- 個体から原子までのスケールを並べた場合に、見ることのできる解像度の谷間があるが、そこを埋めていく技術が電子顕微鏡（EM）で、特に極低温電子顕微鏡（クライオ電顕、cryo-EM）が主役になる（図 3-19）。
- クライオ電顕で試料を見るためには職人技が必要で、汎用的ではない（図 3-20）。チューブ構造の中を通過するウイルス像を見ると、普通の電子顕微鏡像では乱れる規則性なども、クライオ電顕では整然とした配置が観察できるし、トモグラフィー手法で 3 次元像も取得することができる（図 3-21 から図 3-23）。
- ただし、クライオ電顕でもタンパク質の動態を見ることはまだ不可能である。一方、光学顕微鏡の世界では、GFP（緑色蛍光タンパク）の貢献で、様々なタンパクの動態が生きた細胞で観察できるようになった。そこで 2 つを組み合わせて、*in situ* でのタンパク動態を分子レベルで解析する研究を行った。それが蛍光－電子線相関顕微鏡観察法（CLEM 法）である（図 3-24）。これはグーグルで衛星写真から航空写真へと切り替わるところをシームレスに見せているのと同じような原理である（図 3-25）。
- 我々のラボでは、横方向に集積する性質を持つタンパク質を結晶中で見つけて、そのタンパクの細胞接着部における存在を証明するために CLEM 法を用いた。最終的に、adhesion “sheet” の構造を、電子顕微鏡レベルから光学顕微鏡レベルまでつないで、解析することに成功した（図 3-26 から図 3-28）。
- これまでは単離した分子の構造解析を行ってきたわけだが、次世代の構造生物学は *in situ* の構造を見ることになる。今まで見えなかったものが見られるようになれば、予想もしていなかった波及効果を生むものと考える。さらに先の目標としては、今そこにある生命の天然構造を見る（リアルライフを見る）技術開発なり、それを用いたサイエンスの発展がある（図 3-29）。

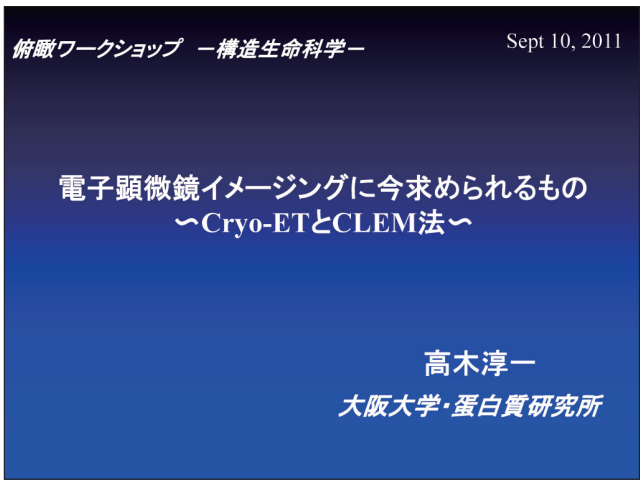


図 3-17

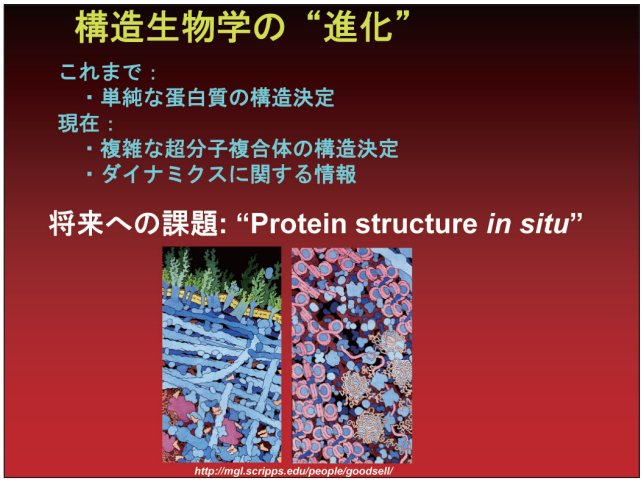


図 3-18

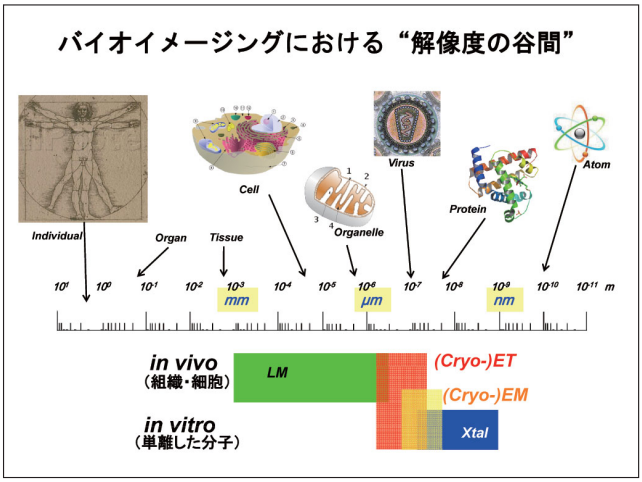


図 3-19

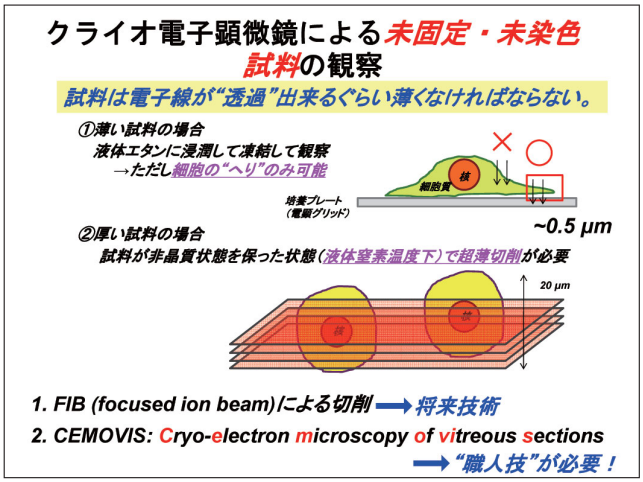


図 3-20

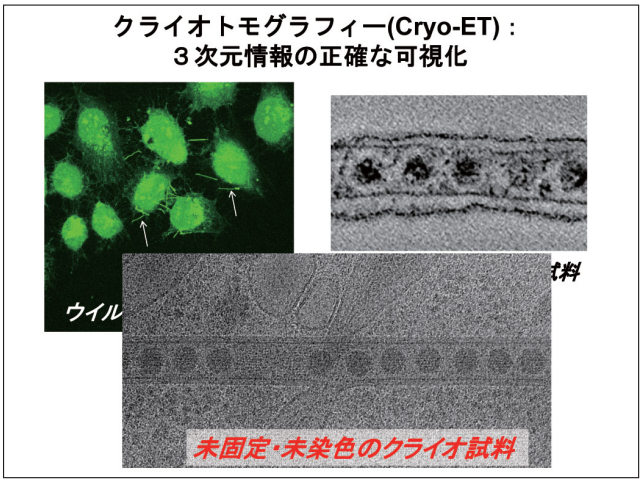


図 3-21

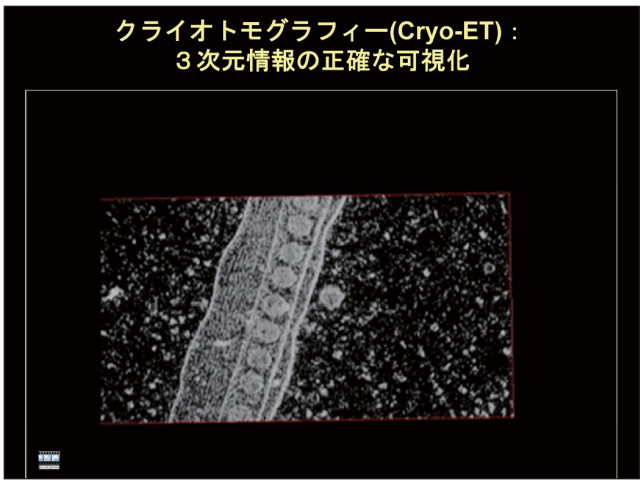


図 3-22

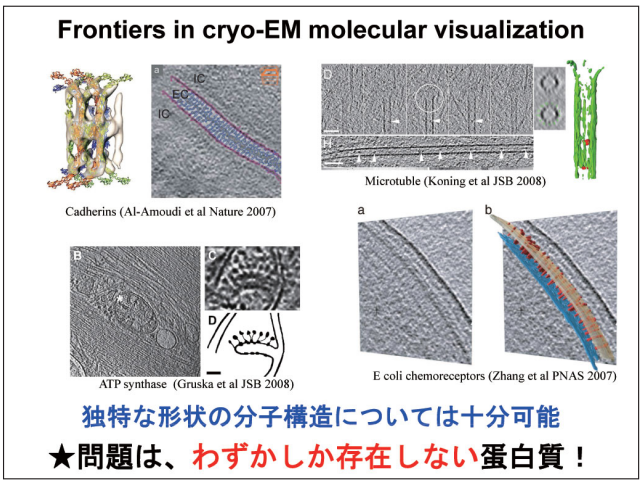


図 3-23

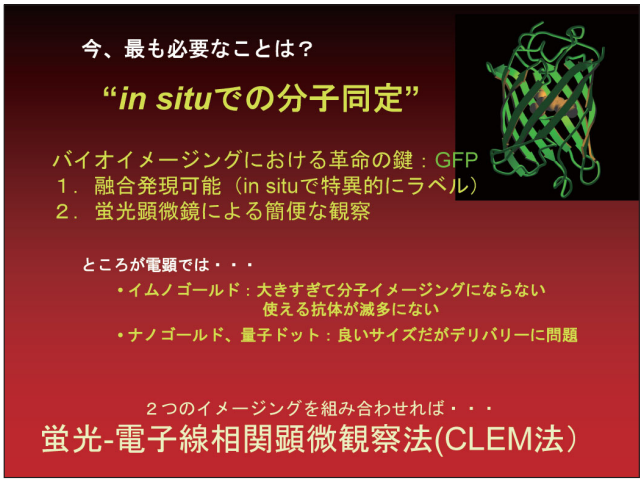


図 3-24

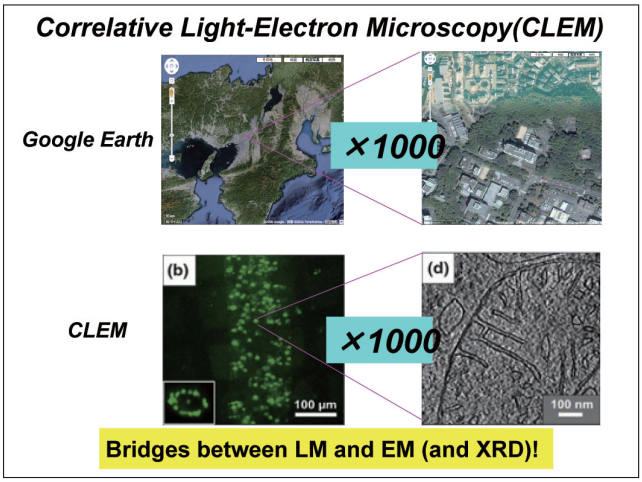


図 3-25

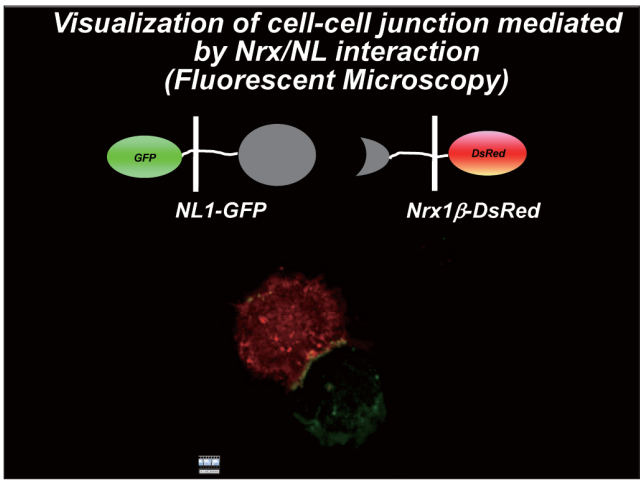


図 3-26

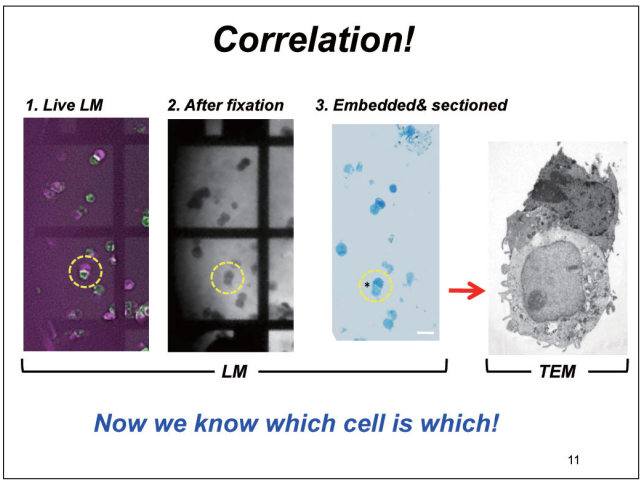


図 3-27

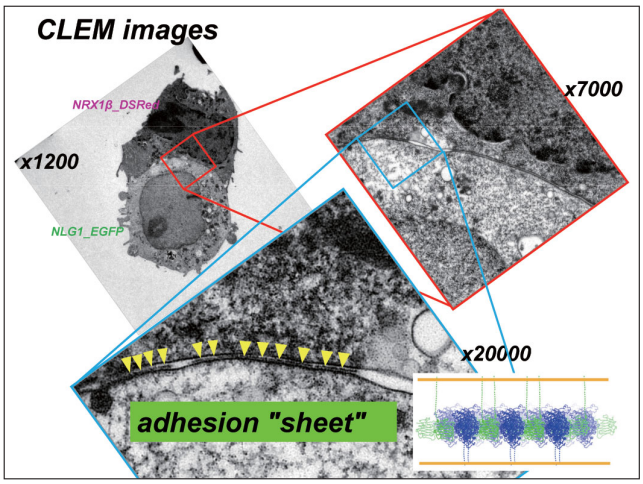


図 3-28

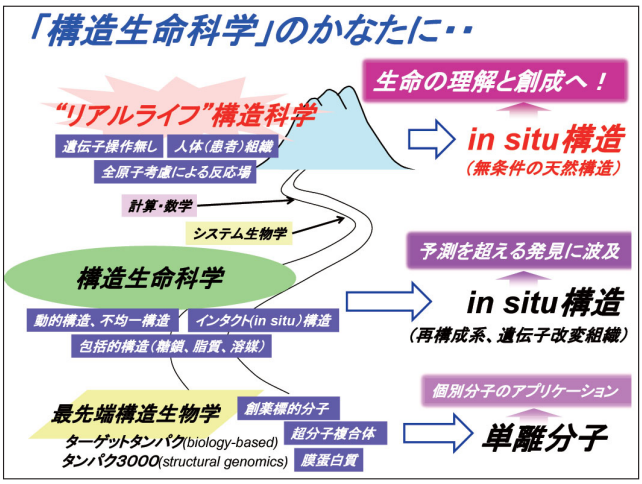


図 3-29

矢橋　牧名　グループディレクター　（理化学研究所・播磨研究所）
「X 線自由電子レーザー施設 SACLA の現状」

- X 線自由電子レーザー施設 SACLA の現状について述べる（図 3-30）。
- 本年 6 月 7 日に SACLA がレーザー発振をした。日本初で、世界でも 2 例目となる。現時点では、0.8 ～ 1.2 Å の波長で、4 GW 相当のピークパワーのレーザー発振が可能である（図 3-31）。
- X 線自由電子レーザーは、短波長でありながらコヒーレントな光を出す新しい光である（図 3-32）。ピーク輝度は世界最高輝度を誇る SPring-8 の 10 億倍、パルス幅は 1000 分の 1、コヒーレンスは 1000 倍と、いずれも画期的である（図 3-33）。
- SACLA は直線の加速器を持つ全長 700 メートルの施設である。海外と比べても低コストで高性能のコンパクトな加速器で、国家基幹技術として 2006 年度から建設が始められた。日本のオリジナル技術（高品質熱電子銃、C バンド加速管、真空封止型アンジュレータなど）を結集して造られた。現在は性能を上げるための調整を行っている。来年 3 月には、公募でユーザーへの供用運転を開始する予定になっている（図 3-34 から図 3-37）。
- XFEL により、高エネルギー物理の研究を展開できる可能性がある。また、動く分子の瞬間、瞬間をとらえるような観察ができるだろう。膨大なデータが生み出され、その解析には「次世代スパコン京」を使用する予定（図 3-38 から図 3-40）。
- 既に XFEL の共用を開始している米国の LCLS であるが、研究テーマの採択率が 10 から 20％と言われており、SACLA の供用開始に伴い、外国から研究者が押し寄せる可能性がある。うれしいことだが、国家基幹技術であり、国内へ目を向けた対応を、責任を持って進めていく必要がある（図 3-41）。
- ファシリティー側として、基幹コンポーネントの整備（SPring-8 との同期観察、検出器、慶應義塾大学中迫教授とのクライオ試料固定照射装置開発など）を順調に進めているが、他手法との連携や、試料ハンドリング技術の整備、新しい解析手法の開発、シミュレーションなどは我々だけではできないので、様々な連携を通して、日本のライフサイエンスに貢献したい（図 3-42）。

図 3-30

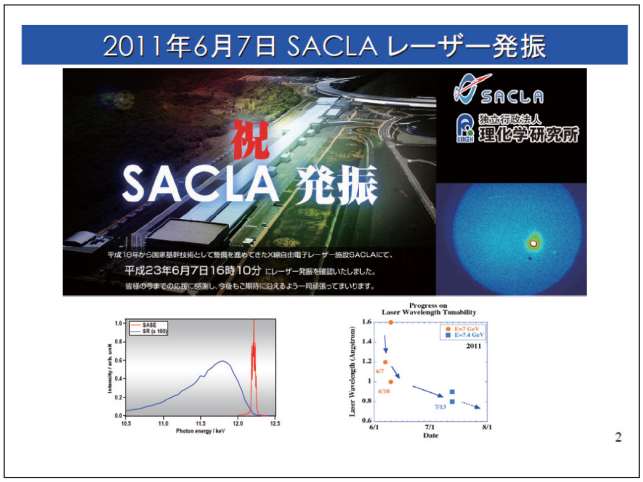


図 3-31

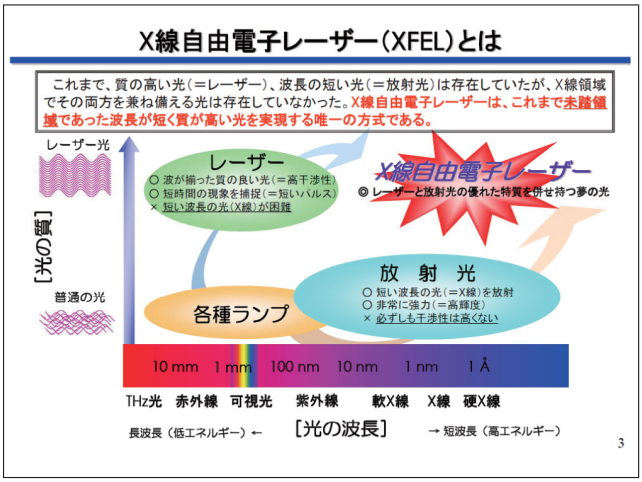


図 3-32

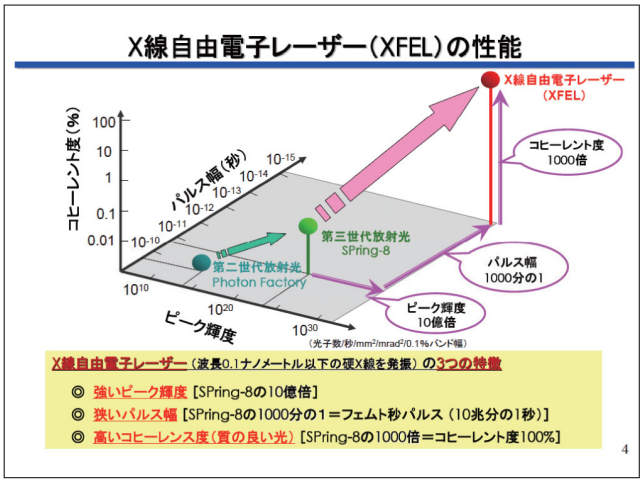


図 3-33

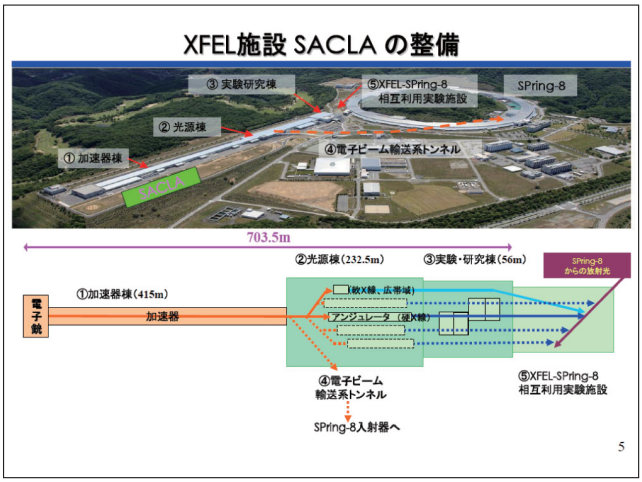


図 3-34

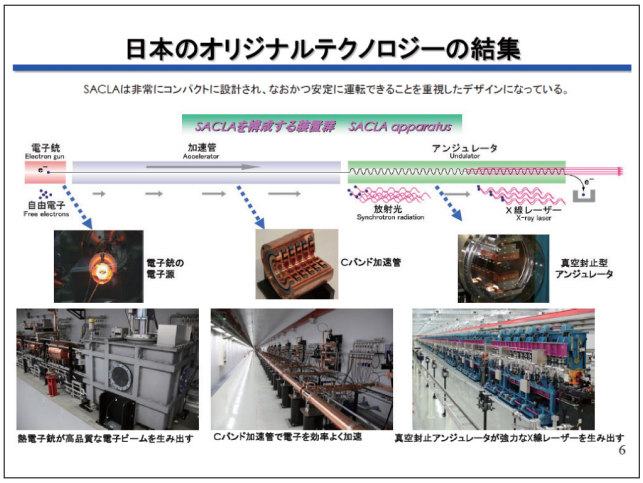


図 3-35

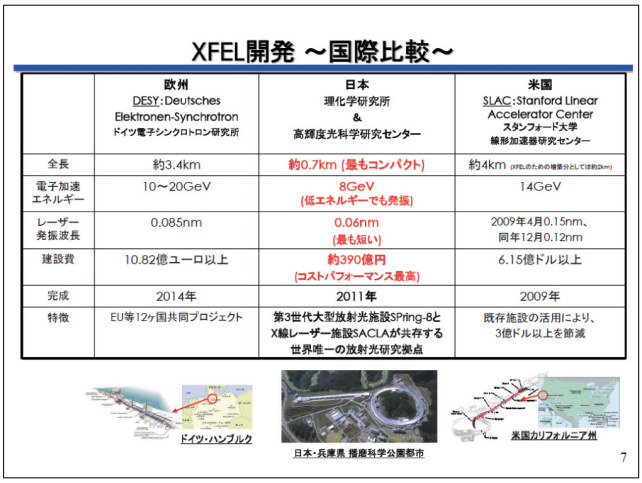


図 3-36

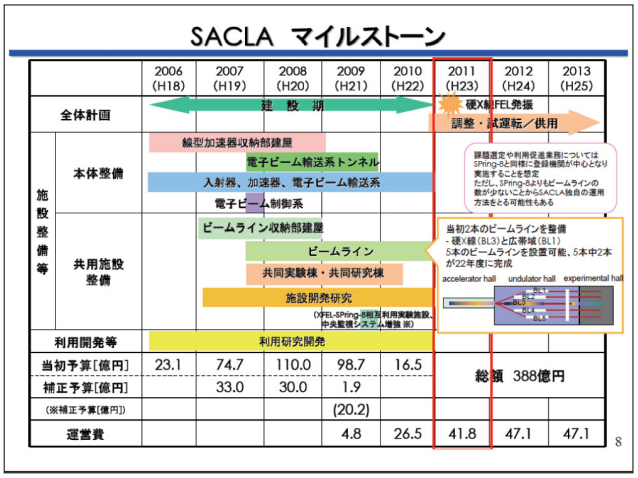


図 3-37

図 3-38

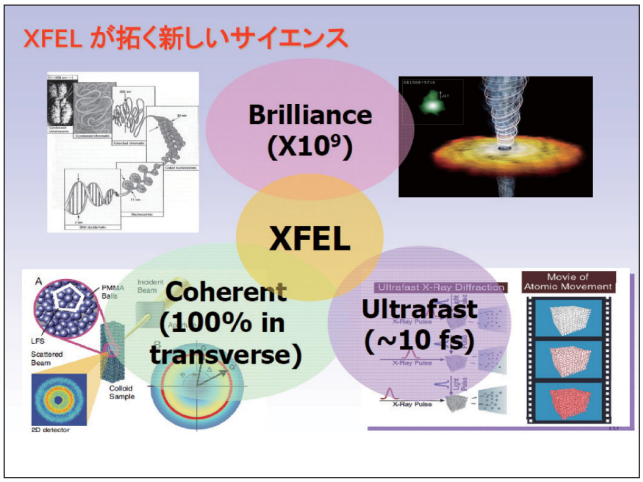


図 3-39

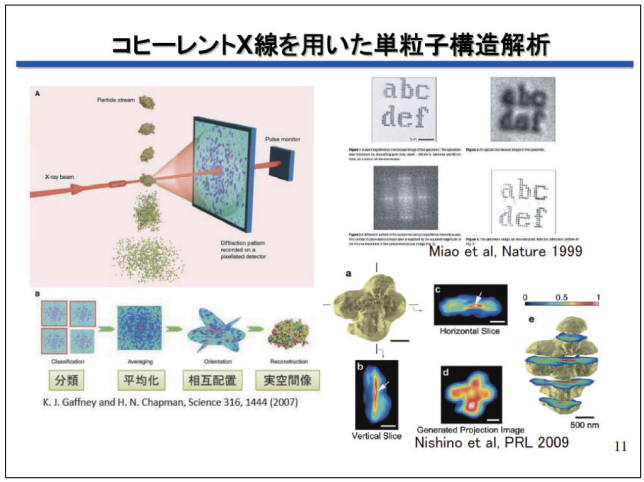


図 3-40

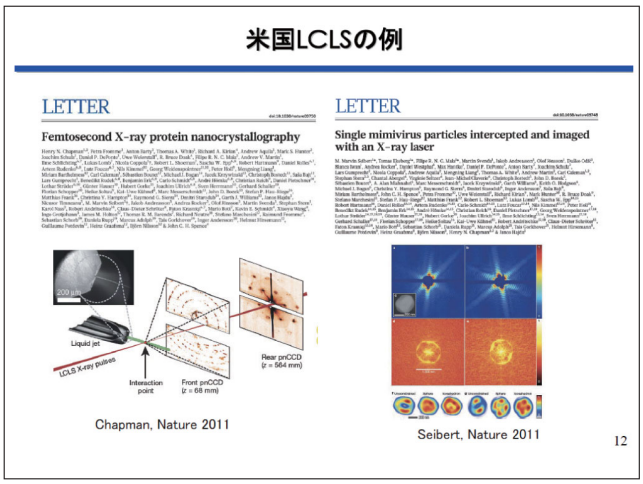


図 3-41

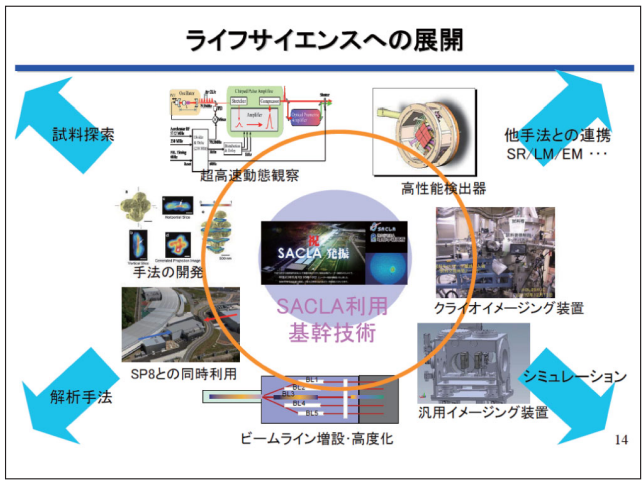


図 3-42

岩田　想　教授　（京都大学・大学院医学研究科）
「膜受容体微小結晶の構造解析－ SACLA を用いた高速解析へ向けて」

- ヒト G タンパク質共役型受容体（GPCR）の構造解析を中心に、構造解析について述べる（図 3-43）。
- ヒトのタンパクの約 30％は膜タンパクと言われており、その中でも膜受容体は、主要な膜タンパク質で重要な創薬ターゲットである GPCR を含む。現在売られている医薬の 30％以上が GPCR をターゲットにしていると言われている（図 3-44）。GPCR の構造解析に関しては、アメリカとイギリスのグループに随分遅れをとっていたが、最近キャッチアップしてきた。現在世界で 7 つの GPCR 構造が報告されているが、その内 1 つは我々のグループが報告した。さらに 2 種類の構造解析を済ませており現在投稿中である（図 3-45）。GPCR は、かなりルーティンに構造解析ができるようになってきた。ムスカリン性アセチルコリン受容体では、結晶化から構造解析まで、1 週間で実施した。
- ヒスタミン H_1 受容体は、ほかのアミンの受容体と全体の構造は非常に似ているが、抗ヒスタミン薬のドキセピンの結合部位付近にリン酸基結合部位が特異的に存在していた。ドキセピンは第一世代の抗ヒスタミン薬で他のアミン受容体にも結合するが、第二世代の抗ヒスタミン薬群はヒスタミン H_1 受容体に特異性が高く、前述のリン酸基結合部位と薬剤の負電荷が相互作用して特異性を出していることが分かった（図 3-46、図 3-47）。このようなことが分かると、薬剤のスクリーニングが容易になり、わずか 1 ヶ月の共同研究で、73％もの高ヒットレートで、抗ヒスタミン薬の新規候補スクリーニングに成功した（図 3-48）。これが構造解明の力だと実感した。
- 昨年、膜タンパクの構造解析のルーティン化に成功した。700 種類ほどあるヒトクラス A の GPCR であれば、5 年で網羅的に構造を決定することができるであろう（図 3-49、図 3-50）。新しい技術を用いればもっと解析スピードを上げられる。酵母を用いた相同組み換え法を利用すれば、安定化受容体の構造遺伝子を効率よく作製することができる。全体的には 3 ヶ月ぐらいで、結晶が取れるようになると想定している（図 3-51 から図 3-53）。
- X 線回折データの測定は、現在はマイクロフォーカス放射光ビームを使用しているが、非常に時間がかかる。SACLA を使えば、GPCR の微結晶の解析が 1 時間以内に終わると予想している（図 3-54、図 3-55）。十分な線量を当てれば、オーダーの悪い結晶からでも分解能を稼ぎ出すことができ、構造解析の適用範囲は広がるだろう。
- 次世代の構造生物学としての構造生命科学、さらにはその先を考えると、ナノ結晶を用いた迅速な構造解析法の確立があり、それが超分子複合体の 1 分子構造解析にまで発展するだろう。さらには、動的な構造解析、生きた細胞のイメージングが次の課題である。究極的には、SACLA だけではなく、すべての測定方法を組み合わせて、細胞全体に原子を当てはめ、四次元でシミュレーションすることが目標となる（図 3-56）。

図 3-43

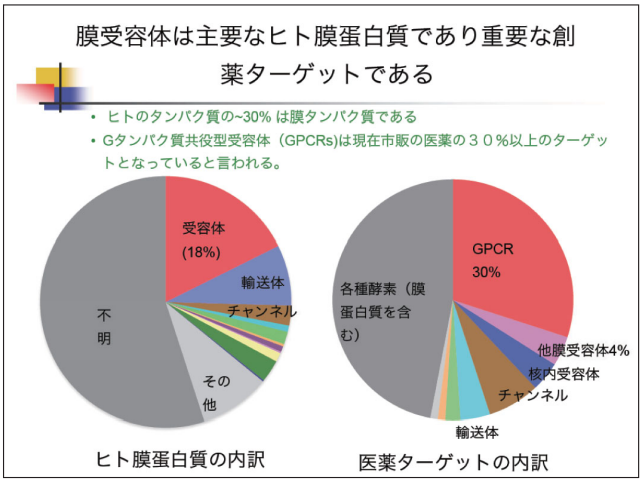


図 3-44

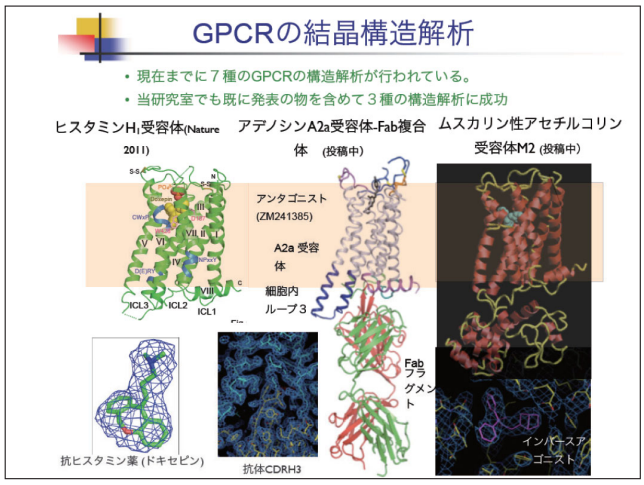


図 3-45

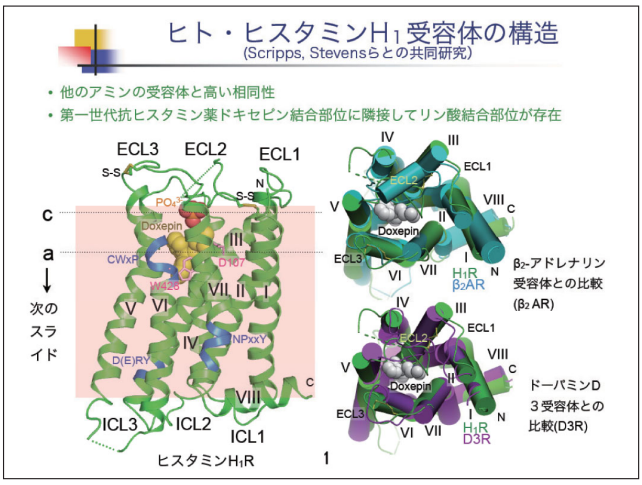


図 3-46

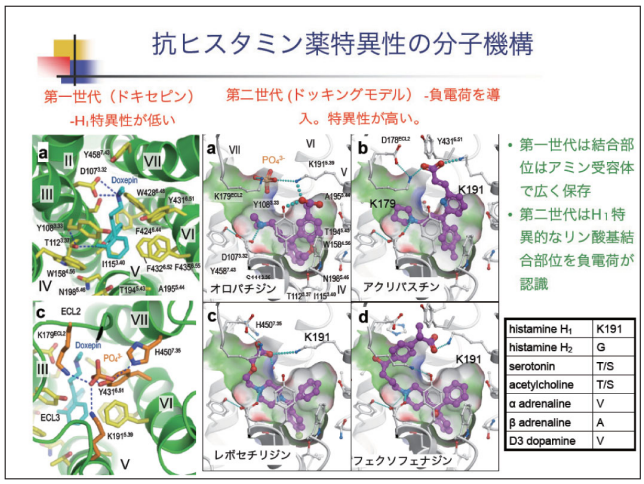


図 3-47

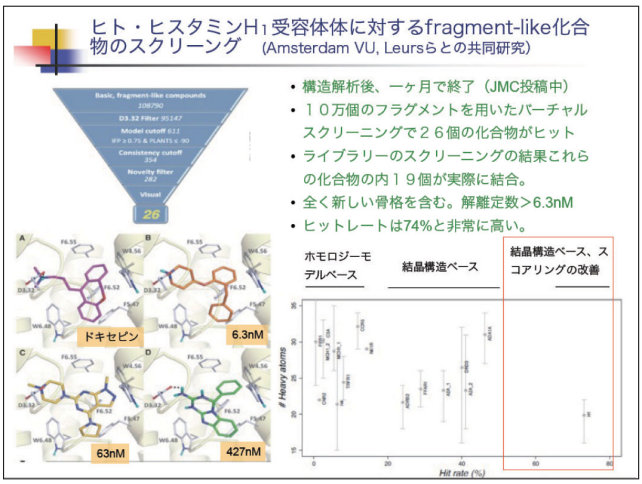


図 3-48

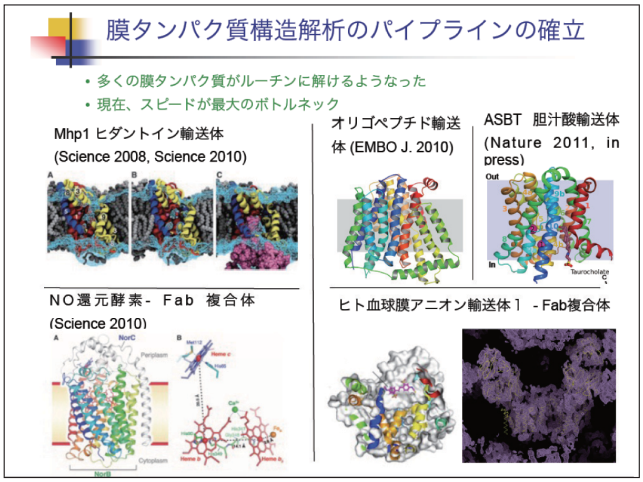


図 3-49

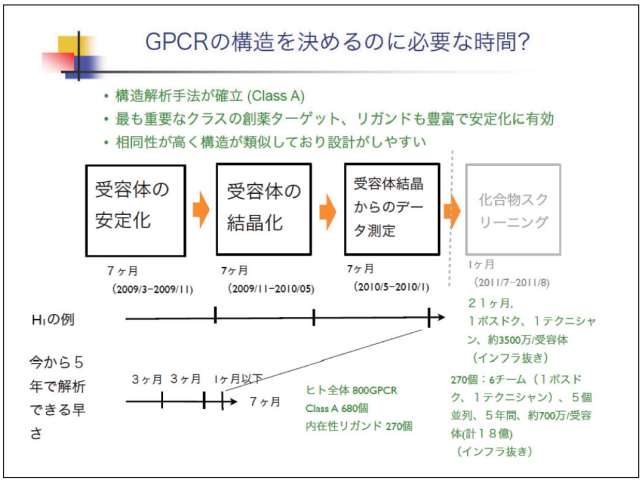


図 3-50

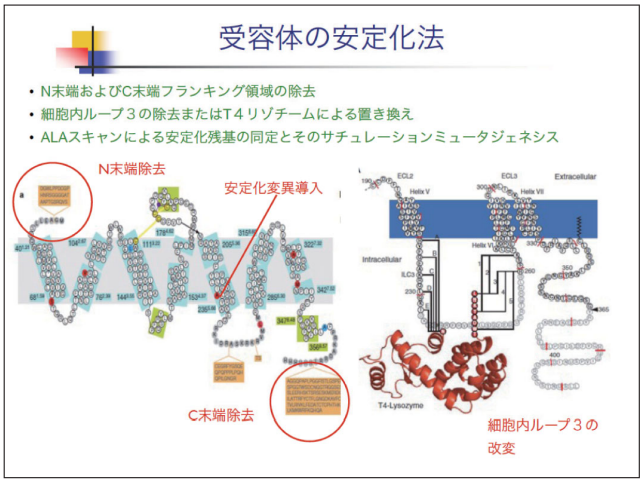


図 3-51

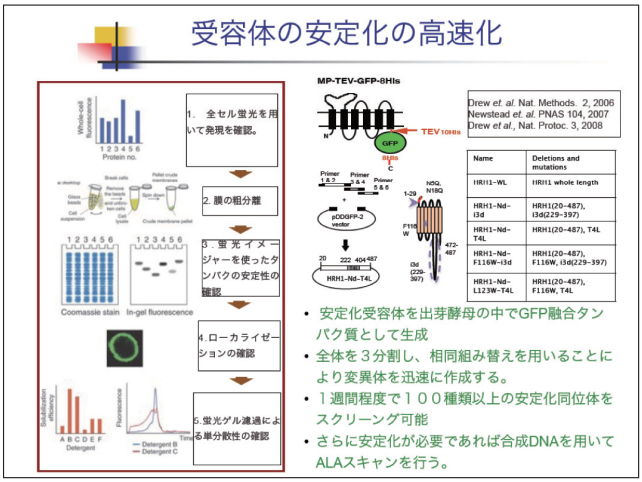


図 3-52

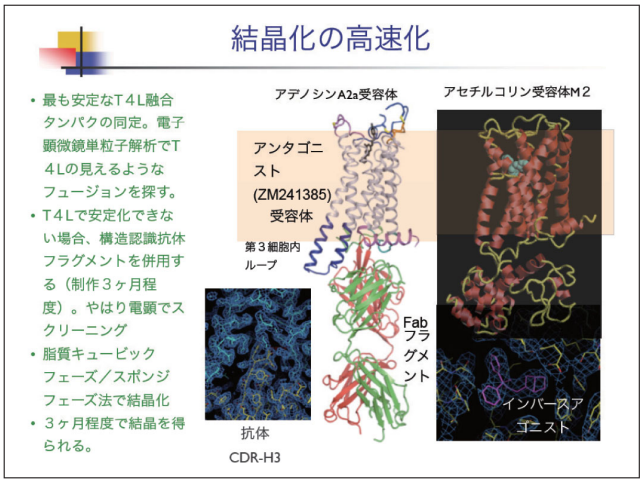


図 3-53

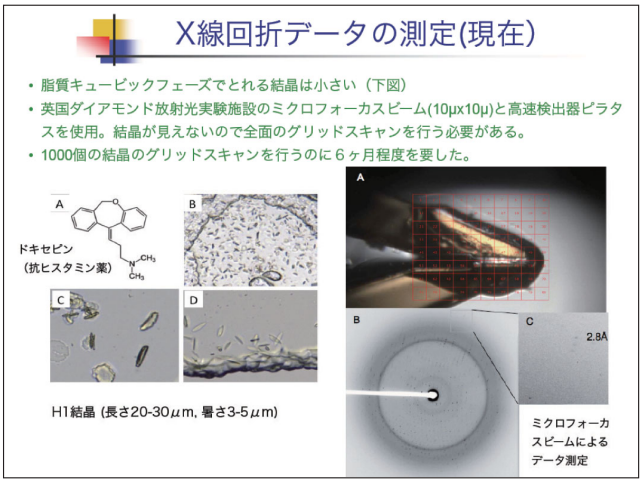


図 3-54

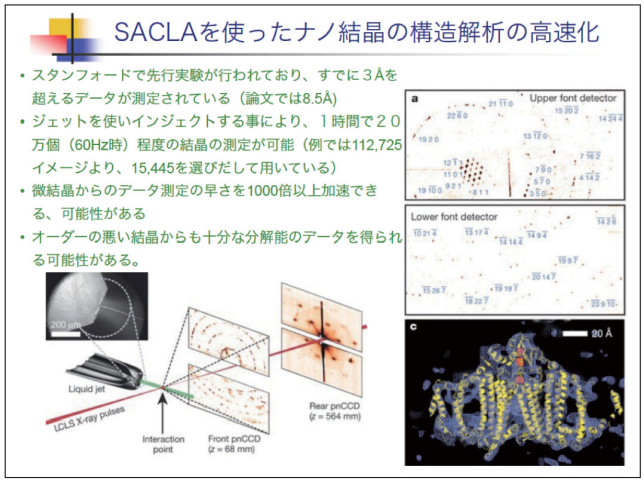

SACLAを使ったナノ結晶の構造解析の高速化
• スタンフォードで先行実験が行われており、すでに３Åを超えるデータが測定されている（論文では8.5Å）
• ジェットを使いインジェクトする事により、１時間で２０万個（60Hz時）程度の結晶の測定が可能（例では112,725イメージより、15,445を選びだして用いている）
• 微結晶からのデータ測定の早さを1000倍以上加速できる、可能性がある
• オーダーの悪い結晶からも十分な分解能のデータを得られる可能性がある。
Upper font detector
Lower font detector
20 Å
200 μm
Liquid jet
LCLS X-ray pulses
Interaction point
Front pnCCD (z = 68 mm)
Rear pnCCD (z = 564 mm)

図 3-55

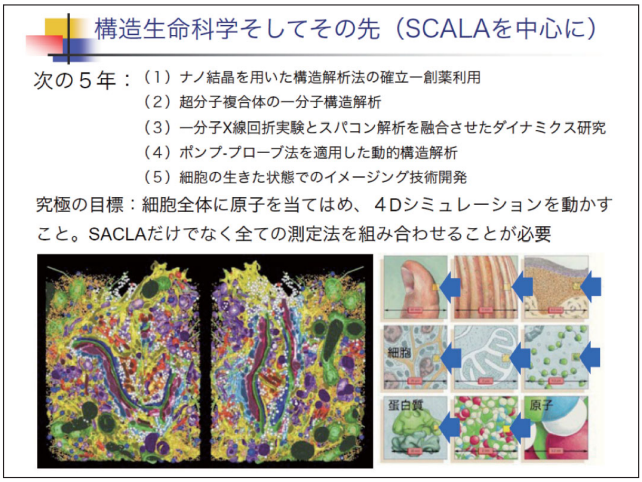

構造生命科学そしてその先（SCALAを中心に）
次の５年：（1）ナノ結晶を用いた構造解析法の確立ー創薬利用
（2）超分子複合体の一分子構造解析
（3）一分子X線回折実験とスパコン解析を融合させたダイナミクス研究
（4）ポンプ-プローブ法を適用した動的構造解析
（5）細胞の生きた状態でのイメージング技術開発
究極の目標：細胞全体に原子を当てはめ、４Dシミュレーションを動かすこと。SACLAだけでなく全ての測定法を組み合わせることが必要
細胞
蛋白質
原子

図 3-56

○ Biology からの期待について

深田　正紀　教授　（自然科学研究機構・生理学研究所）
「脂質修飾によるタンパク質の構造変化を認識するバイオセンサー」

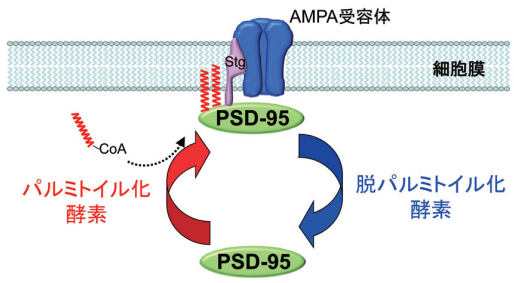
- 翻訳後修飾の 1 つであるパルミトイル化脂質修飾について述べる。構造に関しては非常に興味があるが、生物学のラボとしてどのように取り組むか悩んでいる（図 3-57）。
- PSD-95（イオンチャネル型受容体のアンカリング蛋白質）は、パルミチン酸の結合の有無により、疎水性が変化し、タンパク質の細胞膜局在を制御している。ミリストイル化やファルネシル化とは異なり、パルミトイル化は可逆的であり、外界刺激に反応するという特殊性を持つ翻訳後脂質修飾である（図 3-58）。
- PSD-95 は、神経細胞のシナプス、ポストシナプスにクラスターを作って特異的に濃縮する。パルミトイル化修飾を受けないようにした変異型 PSD-95 は細胞質と樹状突起の中に分散してしまう。PSD-95 へのパルミチン酸付加修飾は、ポストシナプス膜にターゲットするのに必要である。Ras、GPCR など様々なタンパク質がパルミトイル化修飾を受けて膜マイクロドメインに濃縮する（図 3-59 から図 3-61）。
- パルミトイル化を触媒する酵素は最近まで知られていなかった。数年前に DHHC というコンセンサス配列を持つようなタンパク質群にパルミトイル化酵素活性があることがわかった。自身の留学中にマンマルの 23 種類の DHHC を同定し、これらがサブファミリーに分類されるパルミトイル化酵素群であり、様々な基質に対して特異性を有していることを見出した（図 3-62 から図 3-64）。
- パルミトイル化修飾を受けたタンパク質を特異的に認識する抗体やバイオセンサーを作製する研究を行い、ヒト抗体ファージライブラリーから目的のリコンビナント抗体取得に成功している。それが構造を特異的に認識するものであることもわかった。この抗体を使った研究から、パルミトイル化修飾は、タンパク質の疎水性を上げるだけでなく、タンパク質の構造を変化させ、タンパク質とタンパク質の相互作用やタンパク質の活性も変えることがわかってきた。
- 我々の研究室では、神経系自己免疫疾患の血清が標的とする自己抗原の同定も行っている。その検討の中で、血清中の自己に対する抗体には、タンパク質の構造を特異的に認識する抗体が多く含まれていることを見出している。立体構造を認識する抗体を作製することは難しくないのではないか。タンパク質の立体構造解明が進み、重要構造を認識する抗体の作製が容易になり、それらをバイオセンサーとして使うことができれば、構造機能相関の研究が飛躍的に進むと考える。また構造認識中和抗体は医薬品としての利用が期待できる（図 3-65）。

脂質修飾による蛋白質の構造変化を認識する
バイオセンサー

深田　正紀

生理学研究所・生体膜研究部門

図 3-57



パルミトイル化(Palmitoylation) は、
1）多くの蛋白質に見られる翻訳後脂質修飾で、蛋白質の膜局在、機能を制御する。

2）可逆的反応であり、外界刺激により制御される。

図 3-58

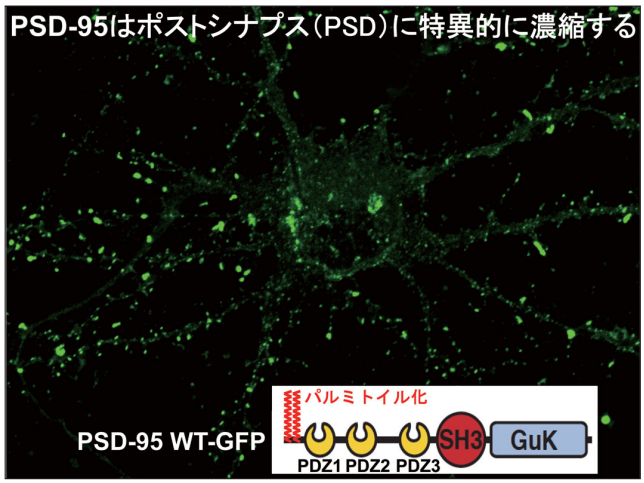


図 3-59

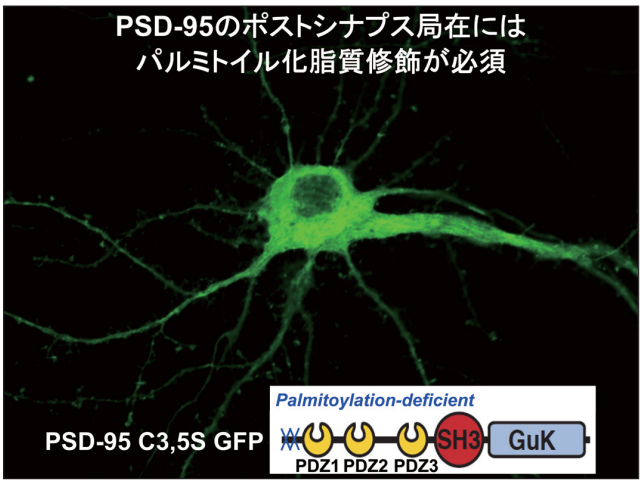


図 3-60

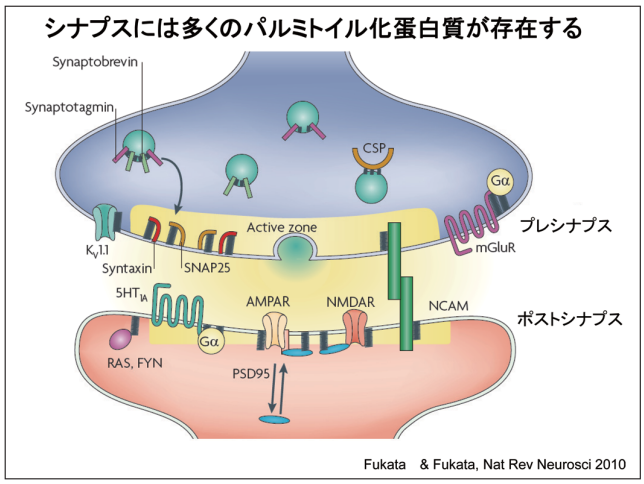


図 3-61

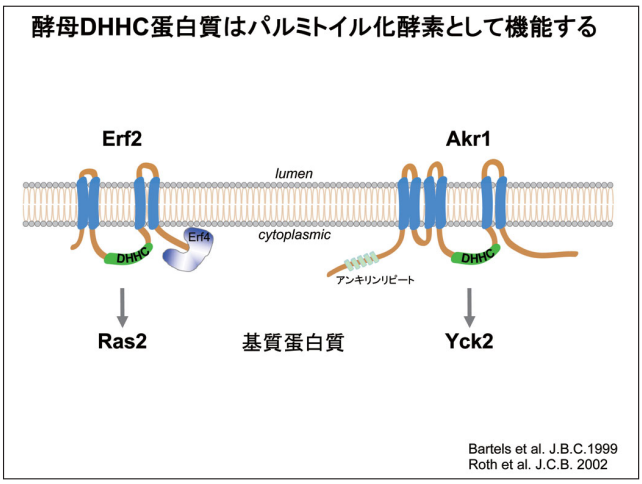


図 3-62

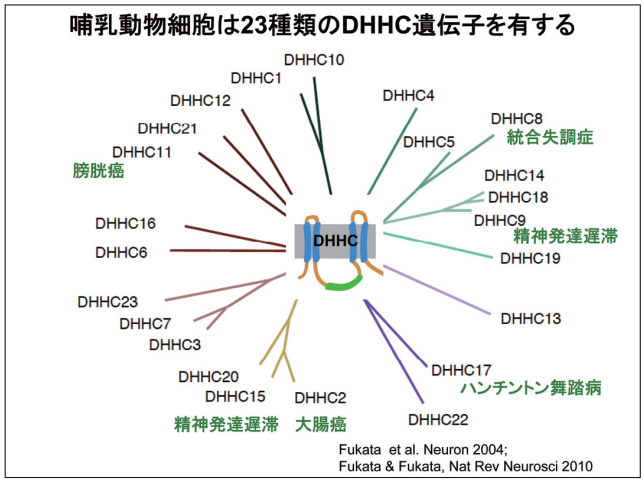


図 3-63

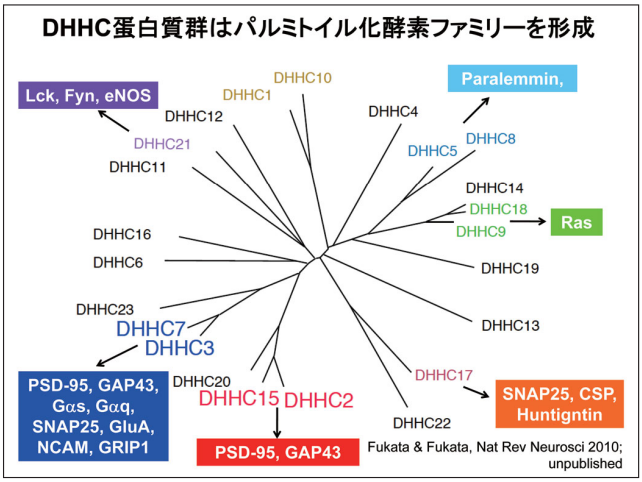


図 3-64

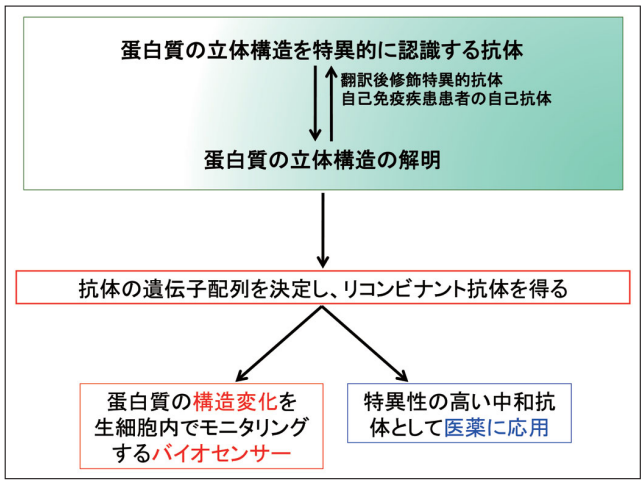


図 3-65

塩見　春彦　教授　（慶應義塾大学・医学部）
「機能のわからないタンパク質の機能を構造から予想する」

- RNA サイレンシング研究から得られた機能不明な重要タンパクについて述べた後、構造解析に言及したい（図 3-66）。
- 1998 年に RNAi という現象が発見された後、3 つの極めて重要な発見が続いた。ダイサー（Dicer）という長い二本鎖 RNA を短い二本鎖 RNA に切断する酵素の発見。そういう小さな RNA との協働で特異的切断活性を発揮する複合体（RISC）の発見。3 番目が、RISC の中核をなすタンパク質（アルゴノート 2、Argonaut2）の同定。これらが 2001 年までに発見された（図 3-67）。ところがアルゴノート 2 が RNA 切断活性を持つタンパク質（スライサー、Slicer）であることは、生化学では証明されず、立体構造が解けた後に、活性部位に変異を導入した場合にのみ機能が喪失することを確認して、初めて証明された。構造解析の重要性を示した一例である（図 3-68、図 3-69）。
- アルゴノートには 2 つのサブファミリー（Ago、Piwi）が存在する。我々の研究室ではショウジョウバエを用いて、アルゴノートタンパク質の研究を行っている。各アルゴノートタンパク質を特異的に認識するモノクローナル抗体を用いて分離した分画から結合している RNA を回収してくると、一般的なアルゴノートタンパク質に結合しているマイクロ RNA（miRNA）と比べ、Piwi タンパク質の RNA は少し大きく、piRNA と呼ばれる（図 3-70 から図 3-72）。
- 遺伝学的な解析から、piRNA はダイサーや RNA ポリメラーゼに依存しないで生成してくることが分かっているが、どのような経路で生成するかは未だに不明であり、その経路の解明がこの分野での最も重要なレースになっている（図 3-73）。
- 我々の研究室では、メールストローム（Maelstrom）という遺伝子が piRNA の形成に重要な役割を果たしていることを見出した。メールストロームが機能しないと、piRNA が作られず、卵巣での微小管形成がおかしくなり、極性が現れなくなる。またメールストロームタンパク質が、微小管の正常な形成に関わるマイクロチューブル・オーガナイゼーション・センター（MTOC）と複合体を形成していることも明らかにした（図 3-74 から図 3-76）。
- メールストロームというのは、ヒトからアメーバなどの下等な真核生物まで、進化的に保存されているタンパク質である。機能が不明な MAEL ドメインがあり、このドメインの構造（未解析）から、piRNA 形成に関わる機能がわかるのではと期待している（図 3-76、図 3-77）。
- メッセージだが、これからの生物学というのは、遺伝学とか生化学単独ではもうどうしようもないと考えている。生化学、遺伝学、もちろん構造生物学、といった様々な分野を組み合わせることによって、初めてタンパク質が関与する分子経路あるいは生命活動の理解が新しいレベルまで押し上げられると考えている。

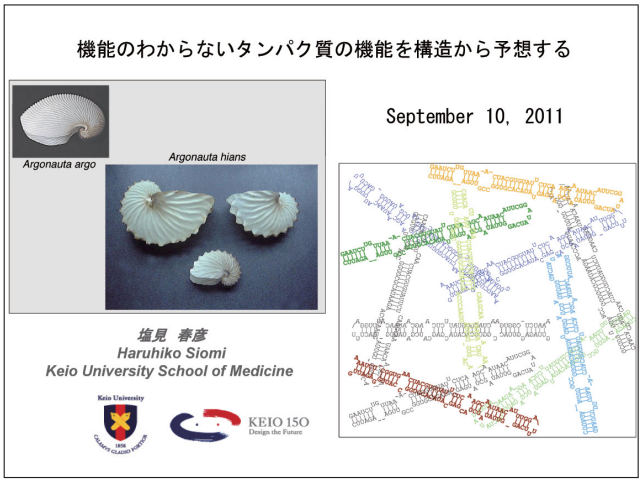


図 3-66

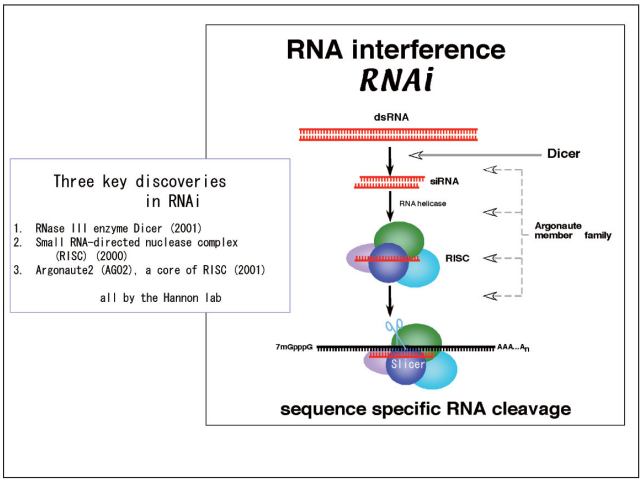


図 3-67

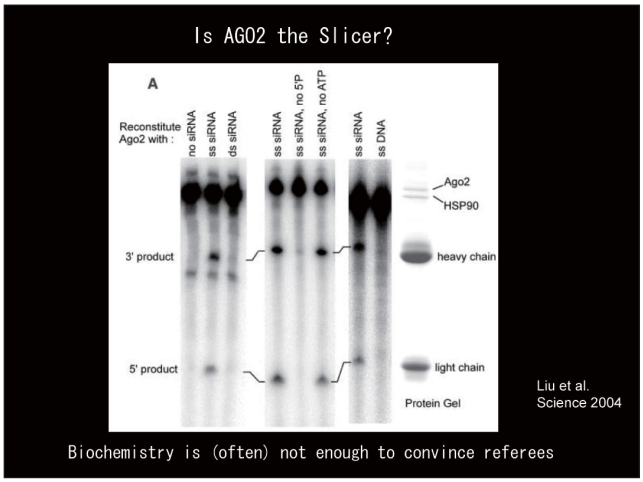


図 3-68

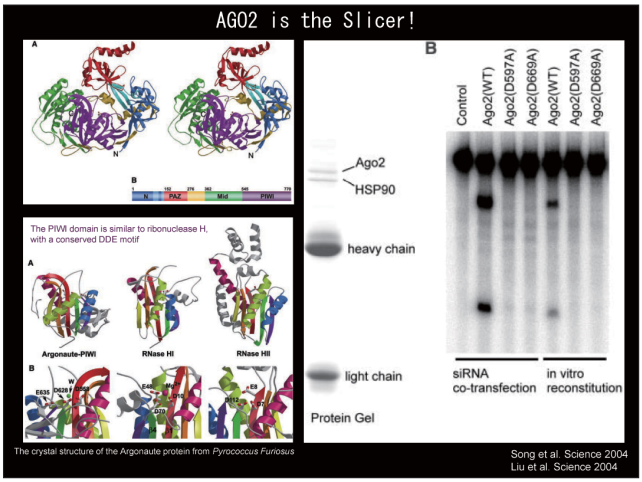


図 3-69

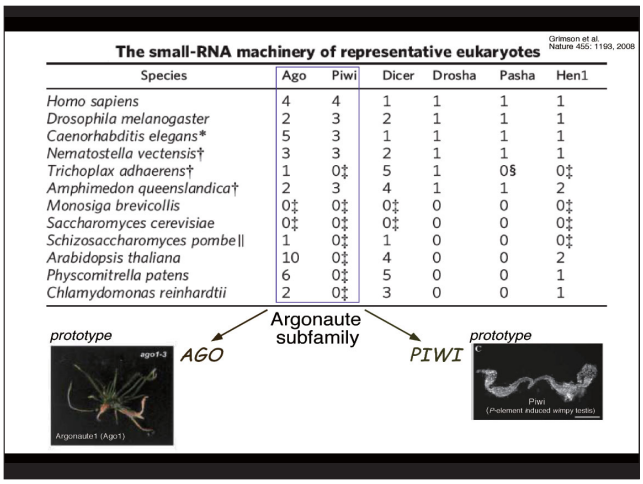


図 3-70

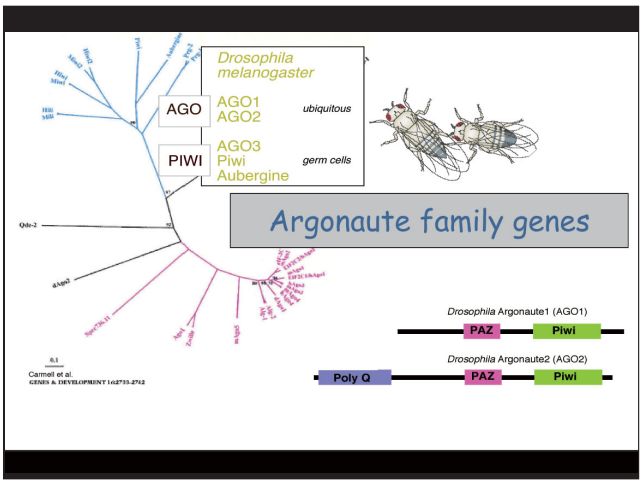


図 3-71

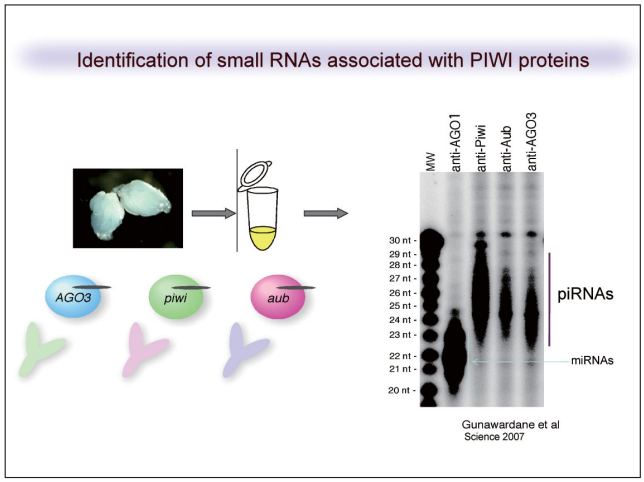


図 3-72

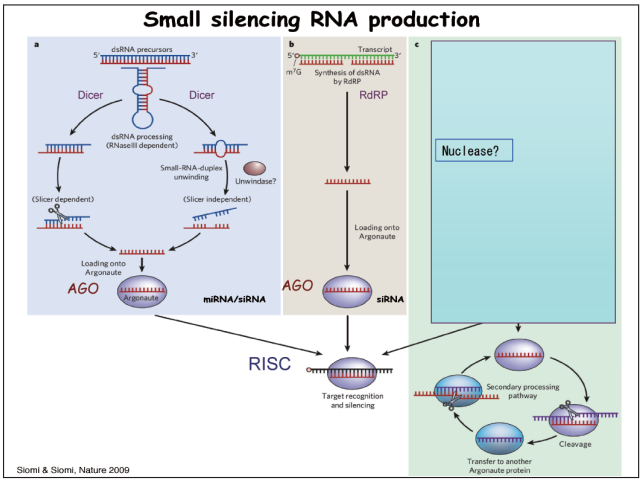


図 3-73

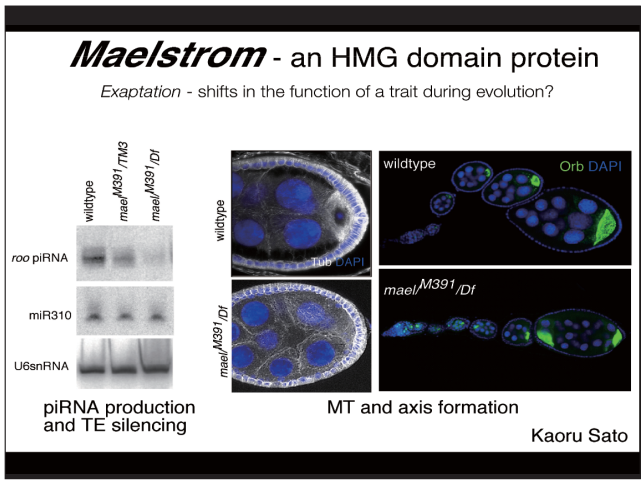


図 3-74

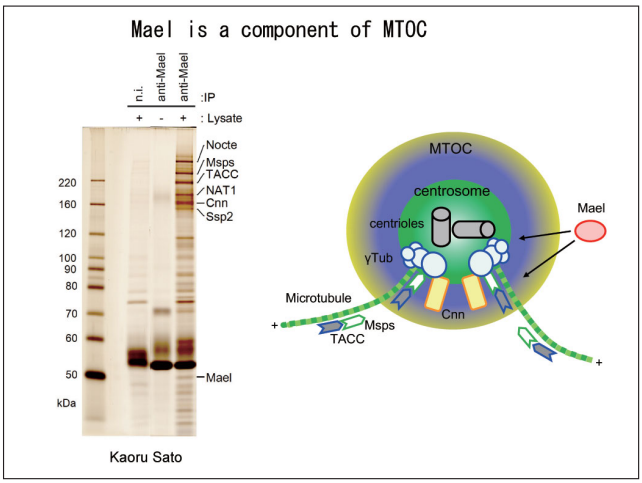


図 3-75

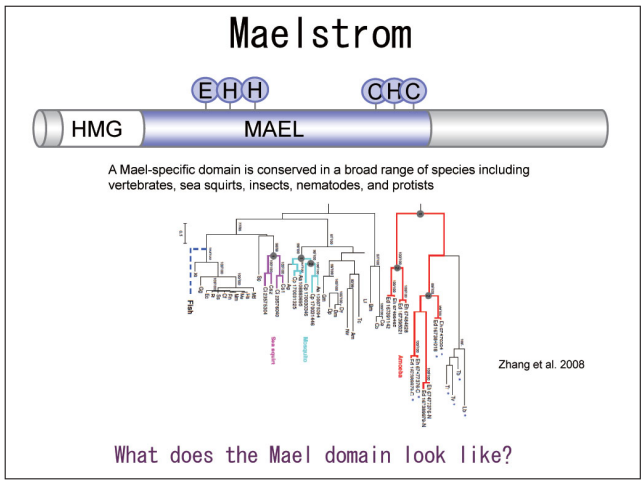


図 3-76

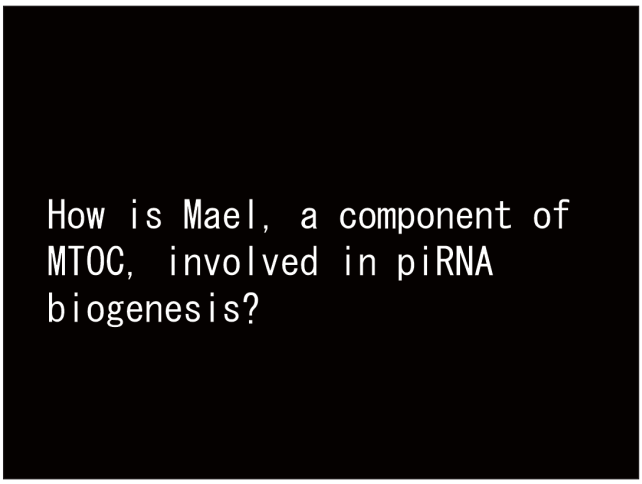


図 3-77

菅　裕明　教授　（東京大学・大学院理学系研究科）
「ケミカルバイオロジーと構造生物学の補完的接点とは」

- 薬の発見に近いところで、ケミカルバイオロジーと構造生物学との補完的接点とはどういうことかを述べる（図 3-78）。
- 製薬会社では、低分子とバイオロジクス（抗体に代表されるタンパク質医薬など、生体成分を利用した医薬品）の 2 つを薬にするために、精力を使っている。低分子は経口投与でき、細胞内に到達するという利点があるが、1 つの製薬会社が持っているライブラリーのダイバーシティーは 100 万程度に限られると推測する。一方で、抗体は細胞内には入らないが、ハイパーミューテーションを入れると 100 億まで到達する多様性を持つ（図 3-79）。
- 新しい流れとして、今までの低分子（分子量 600 程度まで）より大きく、ぎりぎり細胞の中に入る中程度の分子量（600 から 3000）の化合物を探索し、抗体と同様なタンパク質との相互作用が起きるものを見出そうとする製薬会社が増えてきた（図 3-80）。
- その様な化合物の例として、免疫抑制剤として使用されているサイクロスポリン A などがある。サイクロスポリン A はカビが生産する天然物であるが、環状ペプチド構造を持ち、天然のタンパク由来のペプチドとは性質が大きく異なり、分子量は 1200 を超える。このような非タンパク性のペプチドを自由に合成してライブラリーとして使用すべく、新しい技術開発を行った（図 3-81、図 3-82）。
- ペプチド合成技術のコア技術の 1 つがフレキシザイム（Flexizyme）である。これは人工的に作製したリボザイムで、tRNA をアミノアシル化する機能を持つ。tRNA にチャージされるアミノ酸の側鎖は問わない（図 3-83）。
- 非天然型のアミノ酸をチャージした tRNA を用いて、無細胞系で翻訳させると任意のペプチドを作製できる。最初に、*N* －クロロアセチル－ D －トリプトファンを取り込み、システインが最後に来るようにデザインすると、最後のシステインの側鎖が *N* －クロロアセチルと反応して、ペプチドが環化し、チオエーテルによる非常に安定な環状ペプチドができる。8 から 14 アミノ酸による環状ペプチドを作製すれば、そのダイバーシティーは 1000 億以上となり、抗体を超える（図 3-84 から図 3-87）。ペプチドと mRNA をカップリングすることで、スクリーニングを容易にする技術（RaPID display）も開発し、プロセスの自動化も進めている（図 3-88）。
- E6AP というユビキチンリガーゼは、ヒトパピローマウイルスによるがん化に関連する。E6AP 阻害剤のスクリーニングでは、結合定数が 0.5 nM の強い阻害活性を持つ環状ペプチドの取得に成功した（図 3-89 から図 3-91）。その他にも、多数のターゲットに結合する活性ペプチドの取得に成功しており、低分子では取得困難であったものでもヒットさせている（図 3-92）。スクリーニングは大体 2 週間で終わる。この研究は、これまで行ってきた様々なタンパク質機能阻害剤発見の一例で、これまで 20 種類を超えるタンパク質を標的として研究してきたが、その強力阻害剤発見の成功率は 90％を超えている。
- 構造決定が困難であった MATE というタンパク質に対して、結合ペプチドを作製し（検討開始から 1 ヶ月で作製完了）、それとの共結晶を解析すると、すぐに構造が決

定できた。我々のペプチドは、構造生物学にも役に立つ技術である。本ペプチド技術を用いた創薬を行うベンチャーも立ち上げた。そこでは、海外 5 社、国内 3 社ぐらいと共同研究している。アカデミックとしては、他の研究領域へのコントリビューションをしたい。GPCR など構造解析が困難なターゲットに対する結合ペプチドを取得し、それを用いて構造を安定化させ、結晶化や構造解析に役立てる。構造が決まっていないウイルスタンパク質の構造解析にも使えると考えている（図 3-92、図 3-93）。

図 3-78

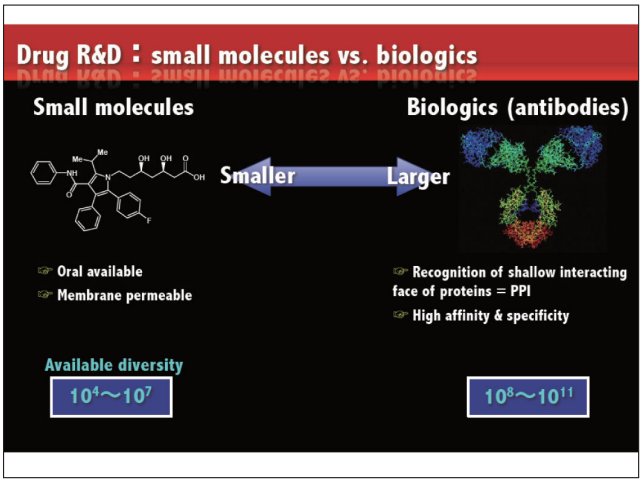


図 3-79

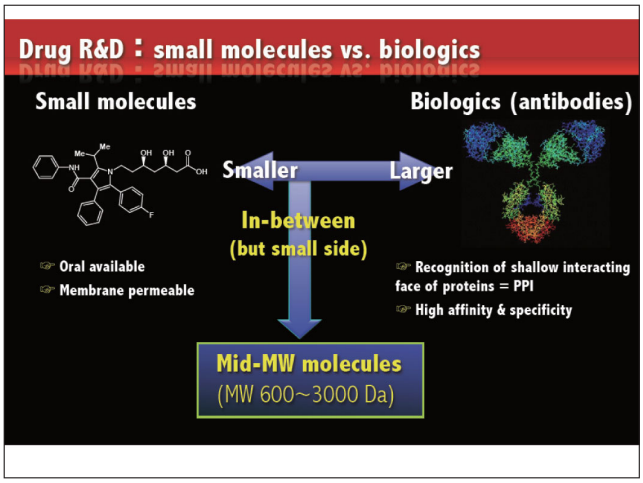


図 3-80

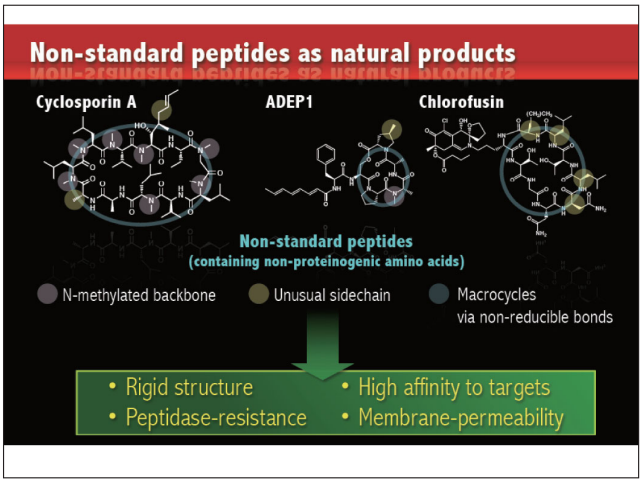


図 3-81

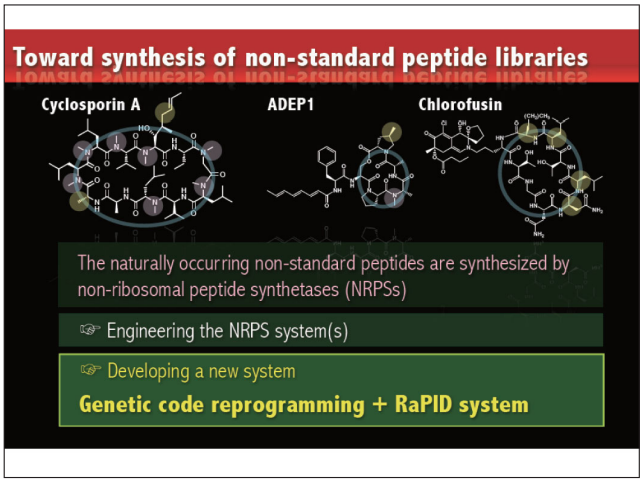


図 3-82

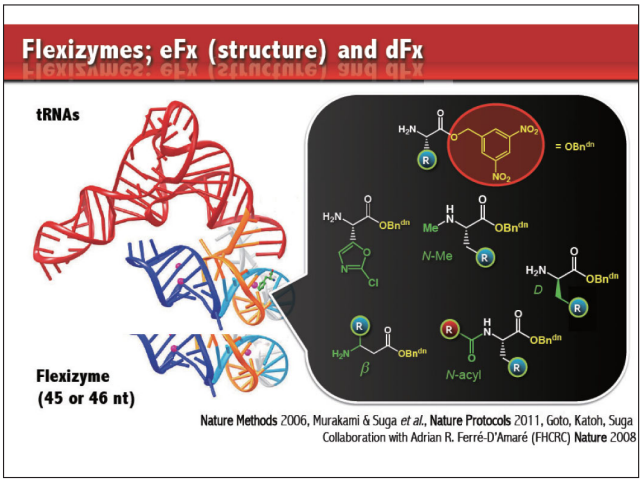


図 3-83

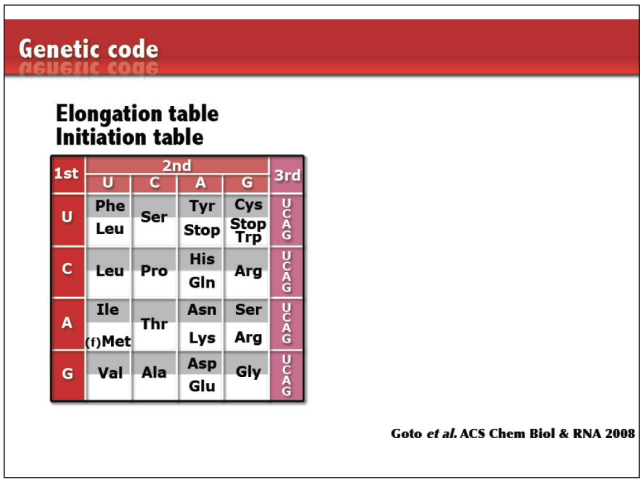


図 3-84

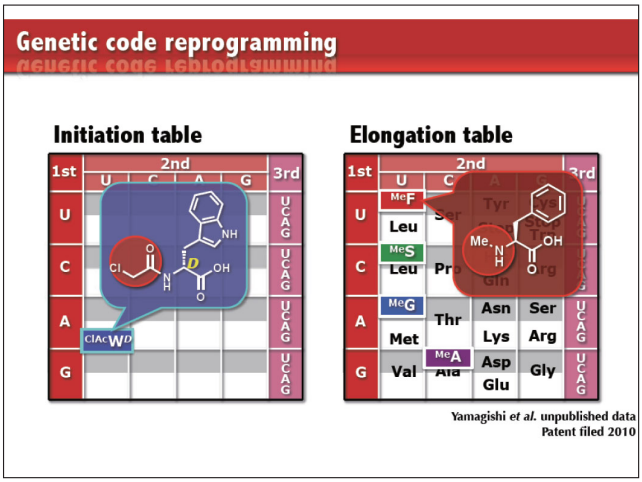


図 3-85

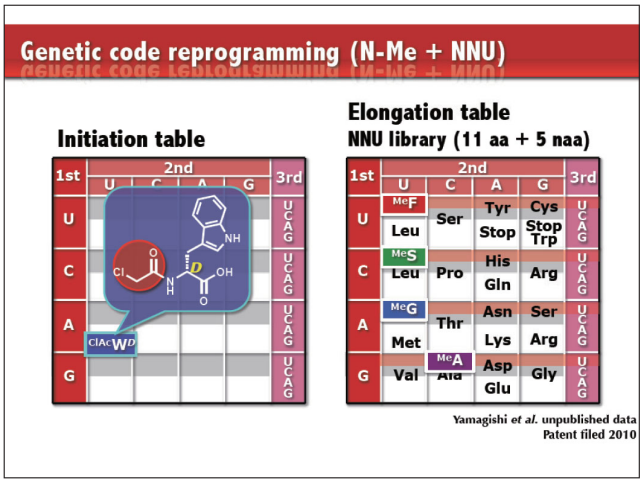


図 3-86

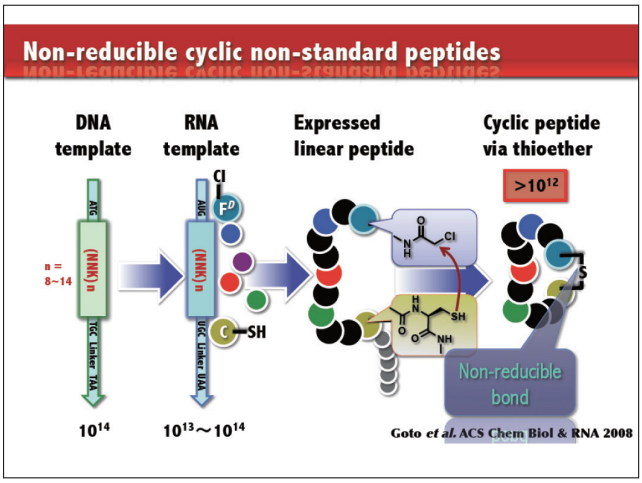


図 3-87

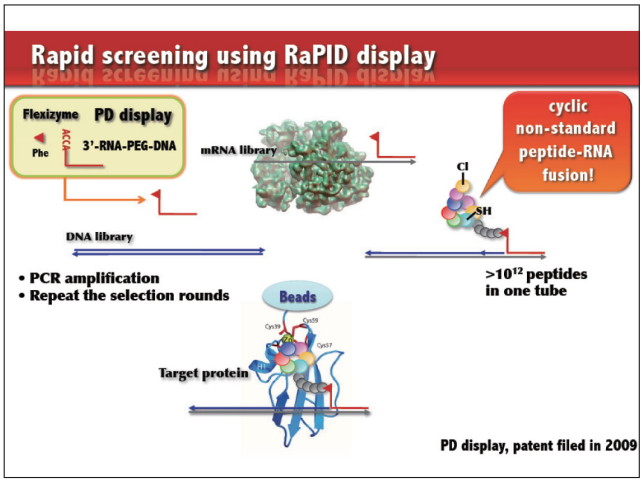


図 3-88

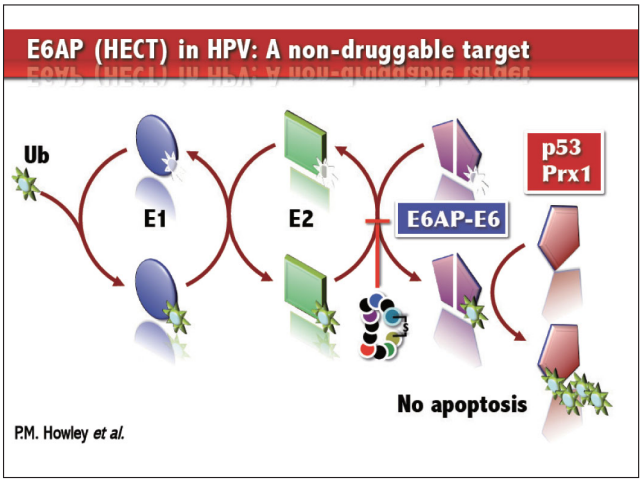


図 3-89

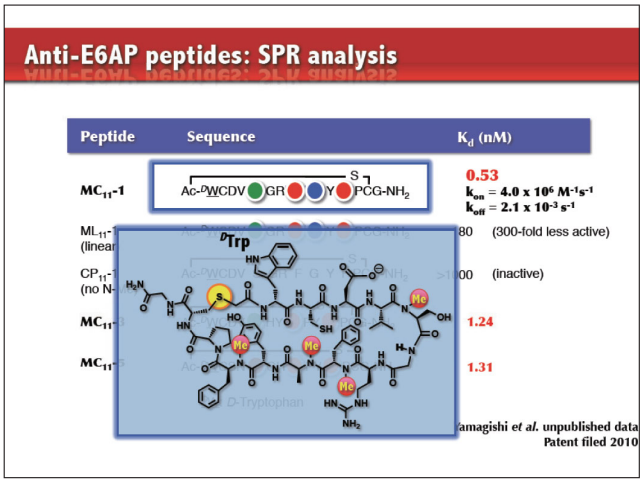


図 3-90

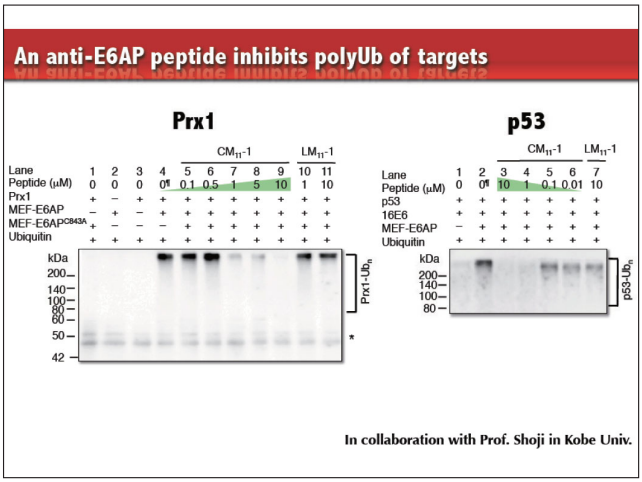


図 3-91

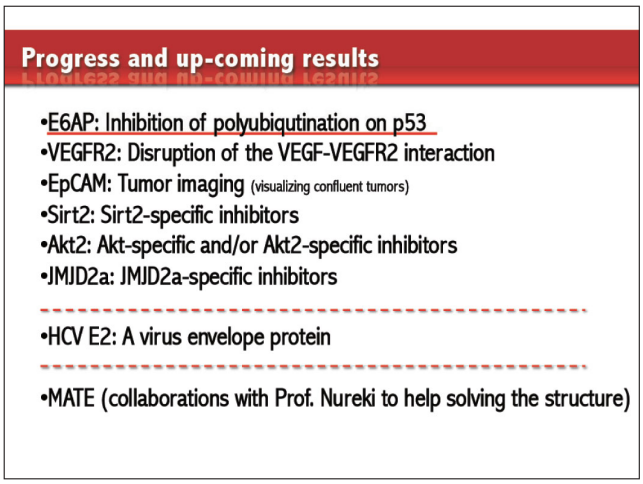


図 3-92

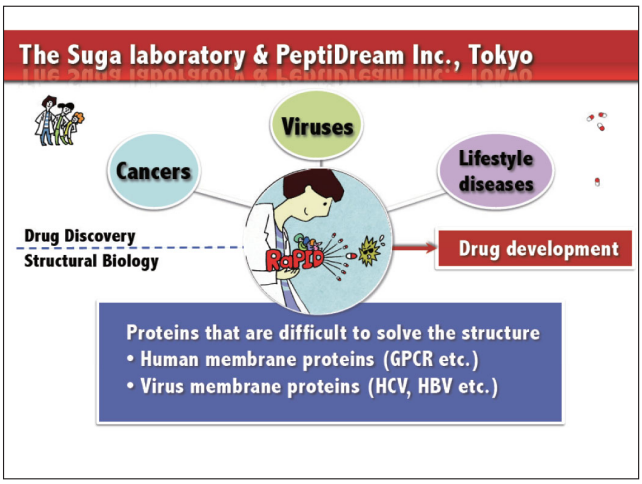


図 3-93

森　和俊　教授　（京都大学・大学院理学研究科）
「タンパク質の構造異常に対する細胞応答」

- タンパク質の構造異常に対する細胞応答の話をして、それから構造生物学に対して要望を述べたい（図 3-94）。
- タンパク質がその固有の機能を果たすためには、きちんとした立体構造をとることが重要だが、細胞内は高次構造形成が困難な状況にある。タンパク質のフォールディングは、ゲノム情報が発現するための最後の難関になる。分泌される成長ホルモンや細胞膜に存在する受容体は、翻訳後最初に出会う小胞体で高次構造を形成する。高次構造が正常なタンパクは最終目的地へ運ばれ、異常なタンパク質は細胞質に運び出して分解される。これによって小胞体におけるタンパク質の品質管理がなされている（図 3-95）。
- 構造異常のタンパク質が蓄積した場合も、細胞は対応する仕組みを備えており、これをアンフォールド・プロテイン・レスポンス（UPR）と呼んでいる。高次構造が異常なタンパク質が蓄積すると、まず翻訳が止まる。次に、シャペロンの発現が上昇し、フォールディングを正常に導くキャパシティーが上昇する。さらには構造異常のタンパク質の引き抜き分解系の発現が上昇する。遺伝子発現調節を中心とした、小胞体からリボソームならびに核への情報伝達経路については、ほぼ解明された（図 3-96、図 3-97）。
- UPR センサーの 1 つ PERK を欠損したマウスは、糖尿病になる。ヒトでも PERK の異常が若年性の糖尿病を発症させることが知られている。膵臓の β 細胞は、インスリンを作り過ぎると一旦ブレーキをかけて翻訳を止めて、高次構造形成がよくなるのを待って再開するというブレーキワークでインスリン生産を保っているのだが、ブレーキが壊れるとダンプカーが暴走するように、構造異常タンパク質が蓄積してアポトーシスを起こしてしまうと言われている（図 3-98）。
- IRE1 という酵母から保存されているセンサーのノックアウトマウスは、肝臓が発達せずに胎性致死になる。肝臓はアルブミンを始めとして様々な血中タンパク質を合成している場所である。UPR が働かないと、活発にタンパク合成する肝臓細胞が死滅し、結果的に胎生期の肝臓で作られるはずの赤血球ができず貧血になって死ぬ。肝臓だけ UPR システムを正常にした場合は、生まれてくるが、数日後に死ぬ。このときにお腹を開けると、未消化のミルクで腸が真っ黄色になっている。膵臓の消化酵素の品質管理ができなくて、消化酵素を分泌できず、ミルクが消化できなくて栄養失調で死んでいる（図 3-99）。
- 我々が発見した ATF6 α / β のダブルノックアウトマウスは、8.5 日の段階で既に胎性致死になっている。卵生のメダカで ATF6 α / β のダブルのノックアウトを作ると、脊索が発達しなくて、成長が止まる。脊索というのは最初にできる器官であり、様々なシグナルモレキュールを出しており、細胞外マトリックスも分泌しているので、UPR が不全になると小胞体に負荷がかかって細胞が死に、個体も死に至る。UPR 不全が様々な疾患の原因となることが分かっている。またがん細胞は UPR を悪用して増殖を続けている（図 3-100）。
- センサーがどのようにしてタンパク質の高次構造異常を認識しているかは、まだ未解

明である。酵母の IRE1 の構造を見ると、ダイマーになったときに MHC-1 で報告されているペプチドバインディングポケットのようなものが見えるということで、ここに異常タンパクが結合することで IRE1 のオリゴマー化を促進して、シグナルが流れるのではと提唱されている（図 3-101）。一方で、ヒトの IRE1 ではダイマー化で生じるポケットは非常に狭い。そのようなところにペプチドは結合できないので、酵母とヒトでは仕組みが違うと言われている（図 3-102）。奈良先端大の河野先生のグループの結果でも、種によって IRE1 のレスポンスが異なる（図 3-102）。UPR の構造生物学は、ほとんど手つかずの状態である（図 3-103）。

▶ 構造生物学は、分野外の研究者にはとても難しい。自身ももちろん構造生物学には興味があり、タンパク 3000 プロジェクトにも参加したが、ほとんど何も進まなかった。小胞体の膜タンパクは今でもほとんど構造が解かれていない。要望としては、構造を解くためのノウハウのデータベースが欲しい。アドレナリンレセプターの構造を安定化するためにループ 3 のところを別な安定な配列に置きかえるというようなことを、データベース化して欲しい。やはり専門家は専門家のノウハウを持っており、そのノウハウを整理して伝えるべき。さらには、共同研究を組み易い体制を整えて欲しい。生命科学系の研究者は、構造生物学の研究者との接点が少ない。それぞれの課題に対して、最も適切な共同研究を迅速に組める体制が必要だ。

図 3-94

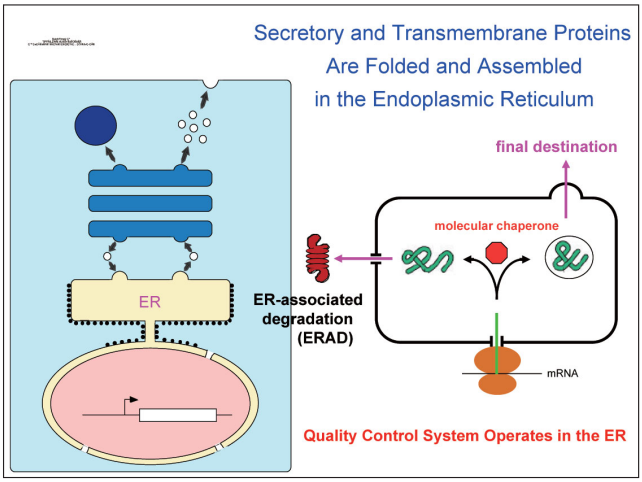


図 3-95

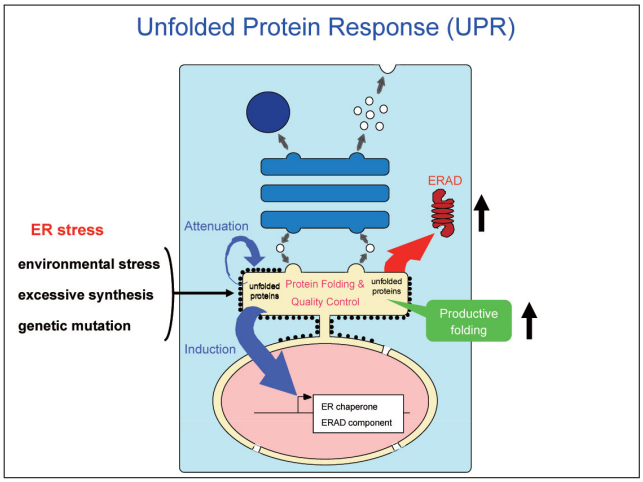


図 3-96

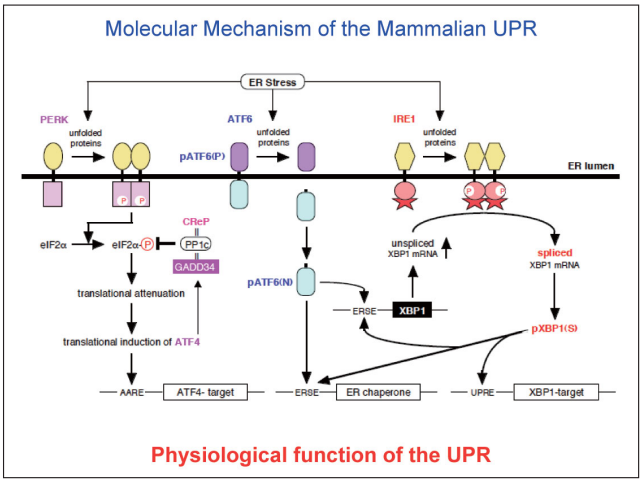


図 3-97

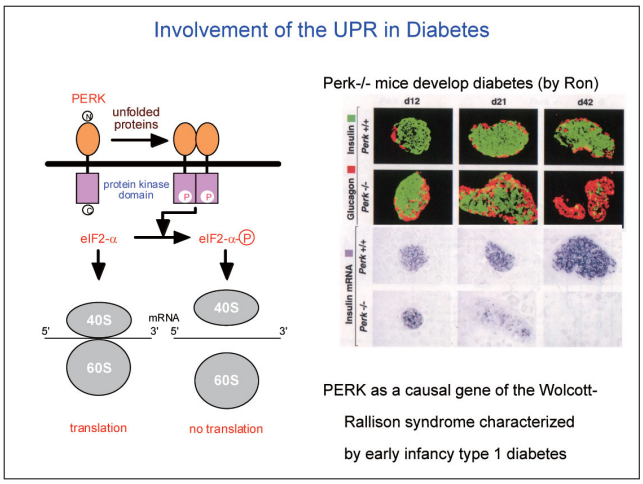


図 3-98

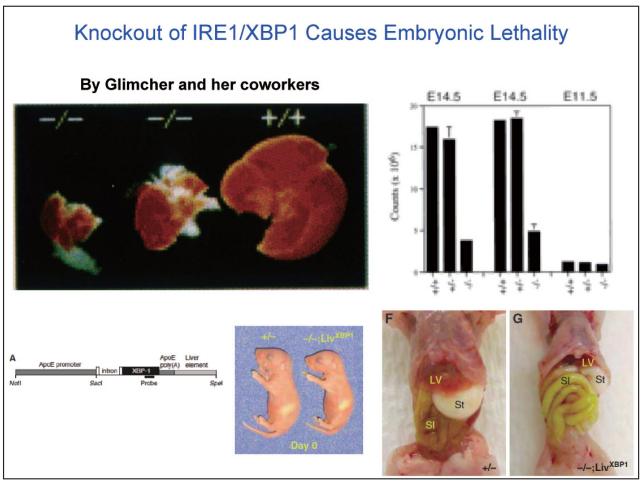


図 3-99

小胞体ストレスと病気

小胞体ストレス（構造異常タンパク質の小胞体内蓄積）に
適切に対処できないと

- B細胞　抗体を分泌する形質細胞に分化できない！
- 膵臓β細胞　糖尿病！
- 脳神経系　神経変性疾患　パーキンソン病
  筋萎縮性側索硬化症
- 消化管　炎症性腸炎
- 心臓　心不全、心筋症
- マクロファージ　動脈硬化

逆に、癌細胞は小胞体ストレス応答を悪用して増殖を続ける

図 3-100

Mechanism of Sensing ER Stress by Yeast Ire1p

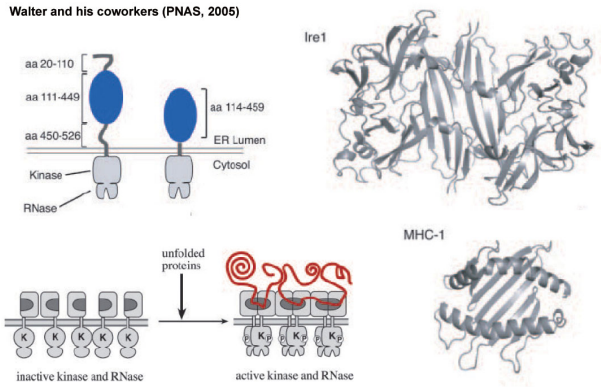
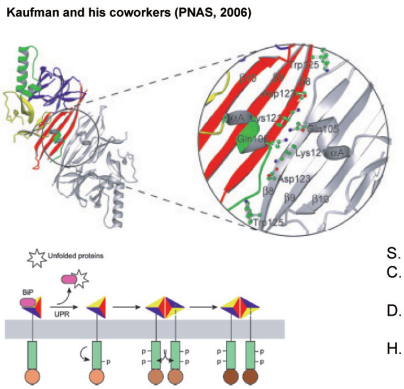


図 3-101

Mechanism of Sensing ER Stress by Mammalian IRE1α



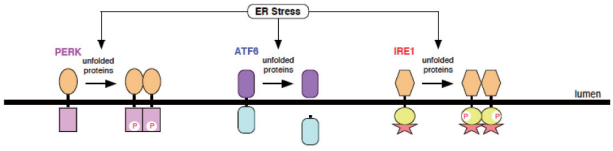
Kohno and his coworkers

anti-aggregation activity

S. cerevisiae	Ire1p	○
C. elegans	Ire1	X
	Pek	○
D. melanogaster	Ire1	△
	Pek	X
H. sapiens	IRE1α	X
	IRE1β	△
	PERK	X

図 3-102

Three UPR Sensor/Transducers in Mammals



Next Goal

Comprehensive Understanding of the Unfolded Protein Response
to Physiological ER stress (pathway-specific) (tissue-specific)

図 3-103

（討論）

シミュレーション・インフォマティクス・計算科学について

- 糖鎖研究に関しては、数理・定量シミュレーションを含むすべての意味での理論的なアプローチが重要である。糖鎖分子を記述する力場自体が不整備な状態にあり、糖鎖に特化した力場の構築には量子力学の専門家との連携が必要である。また構造ダイナミクスを理解する上では、大規模シミュレーションが重要である。分子から細胞を見るためのギャップを埋めるという意味では、分子構造や内部構造を加味したシステムバイオロジーや定量生物学と構造生物学との連携、統合を進めることが重要。
- 電顕イメージングにおいては、低分解能のイメージを原子構造に結びつけるために計算科学の必要性が極めて高い。国内では量子計算、原子分解能のシミュレーション分野の研究者は多いが、生体分子への展開が弱い。
- XFEL においては、サンプルがシングルショットで破壊されるので、ショット毎の配光を決めることが難しい。結晶がどのように向いているかを決めるアルゴリズム開発が重要である。そこからさらに、高分解能、原子分解能を追求することになるので、シミュレーションの援用が必要不可欠になる。ハードの整備と、ソフトの整備を両輪で進める必要がある。
- 実験科学ですべて決めることは無理であろう。GPCR のクラス A の構造解析ができるようになったが、700 あるクラス A の中には構造が解けないものもあるだろう。構造が取れないものは、多数の構造データからシュミレーションすればよい。ダイナミクスにしても、原子分解能ですべてを追うことのできる実験方法は永遠に生まれないだろう。ダイナミクス解析も、シミュレーションで発生させて、実験データでその動きを制限・補正するという方法が現実的であろう。実験と計算機は組み合わせることが必要である。ただし、エラーバーを付けるだけの計算科学ではなく、実際に原子を置いて、それがどういう風に動いているかを見るためのシミュレーションが必要である。
- 製薬企業の多くは、シミュレーションを使い薬剤の分子設計を行っている。薬剤の薬効最適化を行う段階で、薬剤のターゲットとなるタンパク質の構造があれば、最適化の成功率が非常に高くなる。ストラクチャー・ベースド・ドラッグ・デザインは創薬に必須の技術である。酵素関係の薬剤であれば、シミュレーションによる分子設計が機能するようになってきた。一方でレセプター関係となると、構造がないので分子設計が難しく、成功例もほとんどないだろう。ポイントミューテーションの実験も、構造という意味では不完全である。正確で高分解能な構造解析の結果がでて、それがシミュレーションの方に回ってくればよい。高分解能構造解析とシミュレーションは両輪で動く必要がある。

柔らかな構造は構造決定できるのか？

- 生命科学の研究者の疑問の１つは、１つのハブタンパク質が極めて多数のタンパク質とインタラクションできるということである。この事象がどうしても理解できない。

酵素のような鍵と鍵穴の関係で、タンパク質とタンパク質が相互作用するわけではない。柔らかい構造で結合していると考えるが、この柔らかい構造は、構造生物学で解ける構造なのか？ハブタンパク質に対する多数のタンパク質相互作用は、それぞれきっちりとしたシグナルになっているわけで、それをどのように理解できるのかは、構造生物学と生命生物学の大きな問題である。

- 糖鎖の場合は柔軟な構造を持っているために、同じ糖鎖であっても異なる標的に対して違う形でついているということが頻繁にある。標的に応じた可塑的な結合は、これは糖鎖に限らず、天然変性タンパクや柔軟性を帯びたタンパクでは一般的に見られる現象と考える。このような結合の解析には、個々のターゲットに対して結合した状態をきちんとキャラクタライズするとともに、その分子が持つ構造のエネルギー全体の俯瞰図のようなものを記述する必要があり、これはシミュレーションを含めた話になる。

生命科学と構造生物学との共同研究体制

- 生命科学分野の研究室から、構造生物学の研究室へ共同研究を相談しやすい体制を整えて欲しい。構造生物学の先生方と面識のない生命科学分野の研究者も多い。
- これはマッチングの問題である。生物学の研究者からすると、最もよくやっていただける、かつレベルの高い構造生物学の研究者と組みたいと考えられるはず。しかしながら、問題点が変化するなど状況が変わると、別の人と組んだ方がよい場合も出てくると思う。後から組まれた共同研究者が先に構造を解いて、論文を出してしまうケースもよくある。このような形で、1 対 1 の関係をゲリラ的に進めるのも 1 つの方法だが、何かいいシステムを考える時期に来ている。全体として情報交換をしながら、M 対 N をうまく組んでいく方法を考える必要がある。
- 疾患関連タンパクのオリジナリティは、通常、疾患研究者の側が有しているが、その研究者が実際に構造生物学者の誰かと組もうかというときに、疾患研究者側には実際に情報がない。かつ、一度疾患研究者と構造生物学者とのコラボレーションが結ばれるとそれは非常にかたい結びつきで、他の人と組むようなしなやかさがない。また、構造生物学者の間に、流派やコンフリクトもあるように見える。現状のマッチングは、サイエンスベースでの最速・最適解を目指す状況ではない。ここは、当事者同士ではなかなかうまく調節できない。疾患あるいは生物系の 1 テーマに対して、構造側は 2 から 4 のラボが良い部分を結集して、オールジャパン体制で高難度のものに取り組むような、新しいマッチングの仕組みを是非作って頂きたい。
- 生物系の同じテーマを研究している複数のラボから、構造解析ラボに同時に共同研究依頼が来ることもある。よいマッチメイクには、M 対 N をうまく組む方法が必要である。ただし、プロジェクトとして考えた場合には、少なくともその中で内包したシステムとして作り込む必要がある。
- 創薬研究の過程で、必要上、キナーゼと結合化合物との共結晶を必ず解析する。その場合は、既に構造が決まっているタンパクと化合物との共結晶の構造解析なので、構造生物学の人にとっては全然おもしろくないことをやってもらわざるを得ない。その場合は、こちら側から人を出したり、お金を出したりしなければならない。逆に、構

造研究者にとっておもしろそうなもの関してはむしろ先方から共同研究のオファーがある。共同研究に関しては、本当にケース・バイ・ケースであり、ユニフォームな体制作りは難しい。ただ、情報として、どういう方がどういうことをやっているとか、こういう形だったら共同研究を受けられるとか、こういうキャパシティーがある等の情報を公開・流通させることはできるのではないか。

- 創薬研究における化合物との共結晶解析に関しては、ルーティンで解析できる基盤システムを構築すべく、計画を進めている。
- 構造生物学者と生物学者の間にギャップがあるだろう。例えば、「このタンパク質、すごくおもしろい」との話に、構造生物学者の人たちは「では発現できるの」と聞き返す。「発現できません」と言ったら、それで話は終るだろう。システム化するのであれば、その間がちゃんとできるような仕組みを作るべき。「このタンパク質、すごくおもしろいけれども、発現がうまくいきません」と言ったときに、発現の専門家が「このシステムを使って、大量に発現します」と言って、実際に提供するという足場があってこそ、接点が生まれる。

人材育成・それに向けた長期的ファンディング

- いわゆる構造を解いただけで研究が成立する時代ではもうなくなっていると考える。思い切って構造生物学分野の若い研究者が、バイオロジーのラボで研究することも必要。困難な構造解析課題に、どっぷり入り込む若い研究者を軸に、構造、バイオロジー両面からその人を育てることが必要。
- 自身のラボでも構造生物学をやりたいと思って、ホップのところに行ったが、ステップでくじけ、ジャンプには届かなかった。京大の生物物理・藤吉先生は「うちは何でもありだから、うちの学生を説得したら引き受けてよい」と言われるが、困難な構造解析を学生にやらせたら、その学生が学位を取れなくなるかもしれない。ポスドクでも同様。構造生物学の専門家を、助教とか准教授でパーマネントなポジションとして迎えてからでないと腰を落ち着けて取り組めないと考えている。現時点で残されている構造生物学研究の難題は、ある程度長期的に対応しなければならないものだろう。岩田先生の GPCR 解析ルーティンと同じレベルで、小胞体タンパクの構造解析ができる方法が確立されないかと期待する。小胞体タンパクでは、ブラウン、ゴールドスタインというノーベル賞受賞者（1985 年に受賞）が、コレステロール合成系のシステムのメカニズム解析をほぼすべて完了したが、SRBP という ATF6 と同じように小胞体膜に埋め込まれた転写因子を含め制御に関わっているタンパク質の構造は全く解けていない。彼らはノーベル賞を持っていて、絶対に解析に着手していると思うが、それでも解けないような課題である。それを考えると、ATF6 の構造解析にはかなり長期的な視点が必要と考え、若い研究者を飛び込ますのに躊躇するところがある。
- 自身が GPCR 研究に飛びこめたのは、ERATO のプロジェクトがあったから。普通の体制では構造解析の難題に取り組むことは難しい。個々の研究室に依存して、構造解析の難題に取り組むことは難しい。構造解析の拠点に、様々な専門家を集め、困難な課題を中心に取り組むことができるような体制が必要だ。
- マッチングやその中での人材育成のためには、ターゲットタンパクのようなコンソー

シアムが必要。その中には、解析、生産、それから化合物ライブラリーといった拠点があり、明確な課題と予算とを持って、技術も人も磨く必要がある。

▶ 日本では、マッチング、あるいはファンディング・エージェンシー・ベースのコンソーシアムを効率よく運営できるのでは。それはアメリカではかなり難しい。「NIH からグラントとるから、コンソーシアムはどうでもいい」と言った感じになるだろう。

セッション３：「総合討論」

JST － CRDS
「セッション１、２のまとめとセッション３のオリエンテーション」

本セッションの冒頭で、ここまでの議論をまとめ、期待する議論のオリエンテーションを行った。図 4-1 は、ゲノム・融合研究領域に関して CRDS が俯瞰した結果である。この研究領域のトレンドとして、細胞レベルのシミュレーションを目指す“生命動態”システム科学（文部科学省ライフサイエンス委員会で検討中）、分子間ネットワークから器官を経由して個体まで統合してゆくという概念の“ホメオダイナミクス”研究（CRDS から 2010 年に報告書[3]を発刊）そして、予防や治療を指向する“ゲノムコホート”、“再生医療”などが挙げられる（図 4-2）。これらに対し、化合物やタンパク質など機能分子の構造解明に関する領域の調査が不十分であった。化合物やタンパク質の構造機能相関解析に関連する研究領域は、様々な分野へ波及効果をもたらす。ただし、解析効率がまだ十分ではなかったことがここまでの議論から明らかになった（図 4-3）。しかしながら、ここ数年に生まれてきた新技術（抗体による膜タンパク質結晶化、XFEL、FIB 切削試料の電顕イメージング等）は、構造解析の効率を格段に向上させるものであることが、セッション 2 までに明らかにされた（図 4-4）。またこれらの技術革新成果の活用に向けては、研究戦略、研究システムならびに、研究基盤の問題点を解決していく必要性も指摘された（図 4-5 から図 4-6）。セッション 3 では、様々な課題解決の経験を持つ、京都大学・萩原先生と東京大学・濡木先生から、それぞれ創薬、構造生物学の視点からの提言を頂いた後に総合討論を行い、構造生命科学の可能性、課題を整理する。

3 http://crds.jst.go.jp/output/pdf/10sp12.pdf

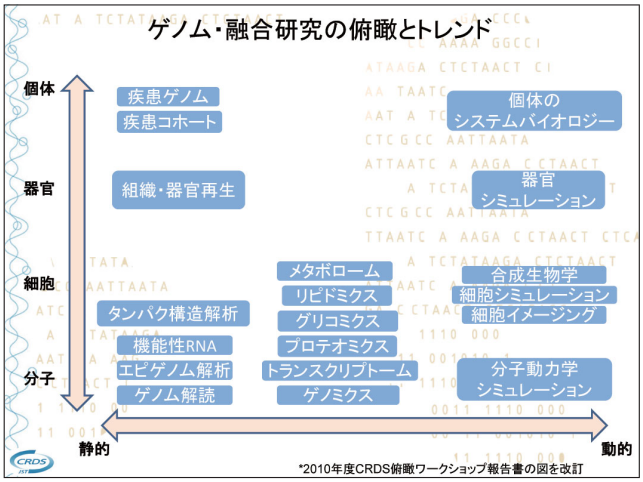


図 4-1

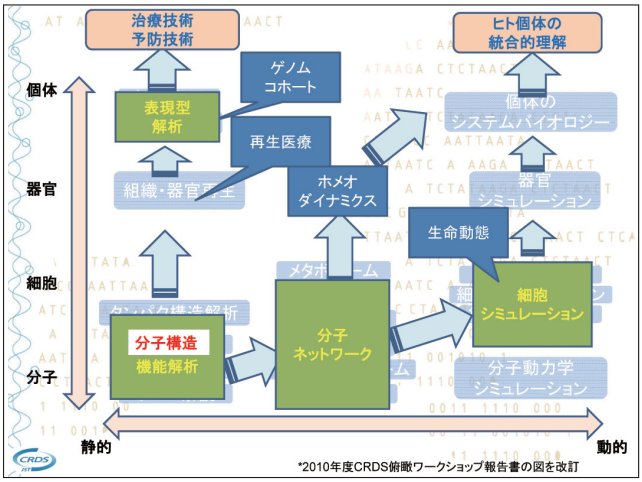


図 4-2

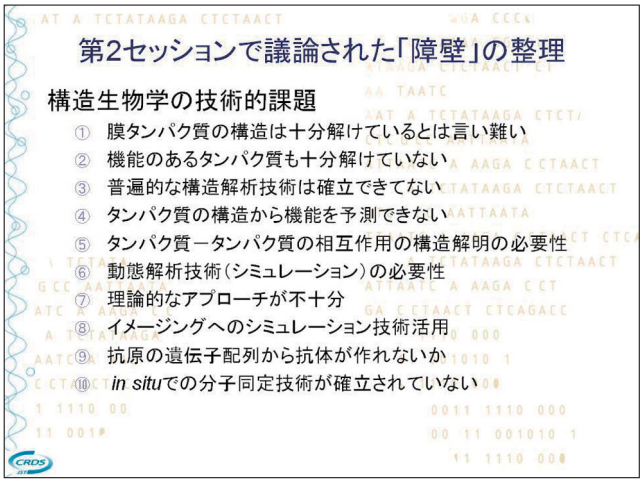


図 4-3

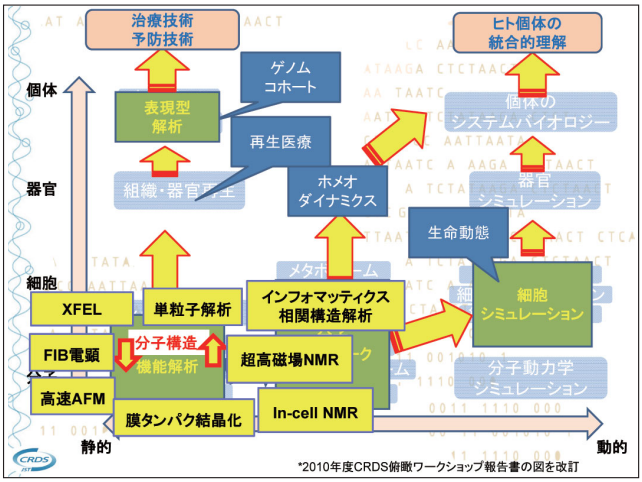


図 4-4

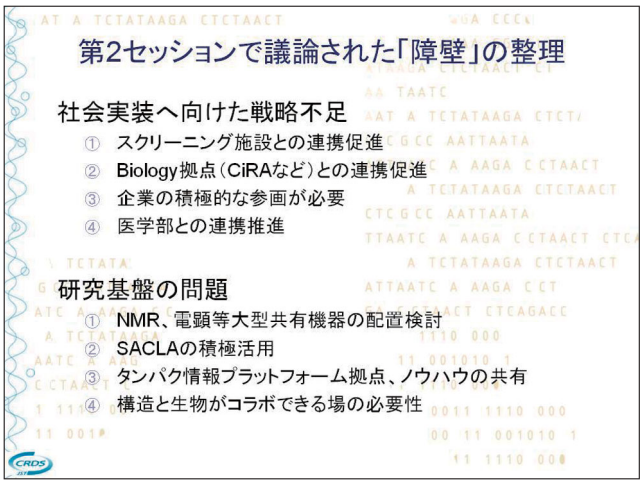


図 4-5

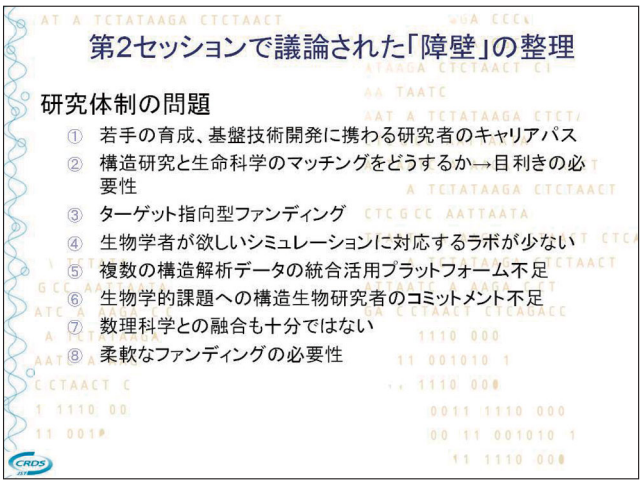


図 4-6

萩原　正敏　教授　（京都大学・大学院医学研究科）
「動的構造情報から創薬へ」

- 取り組むべき課題はどのような手法を動員しても解決すべきであるということを、構造の重要性に触れつつ、述べる。
- グリベックやイレッサといったリン酸化酵素阻害剤（キナーゼ阻害剤）が米国発の分子標的抗がん剤として上市されているが、キナーゼ阻害剤を元来精力的に開発したのは日本である。初めて上市されたキナーゼ阻害剤は、Rho キナーゼ阻害剤である HA-1077（ファスジル）で、もちろん日本発の臨床薬である（図 4-7）。HA-1077 を代表とするイソキノリンスルホンアミドが、リン酸化酵素の ATP 結合部位に競合的に結合することを 1980 年代に生化学的に大変苦労して証明したが、1990 年代になり構造が解けるようになると、その競合的結合を視覚的かつ直接的に再確認できるようになった（図 4-8）。
- 今でもキナーゼ阻害剤の研究を続けているが、最近はスプライシングに対する影響を評価系として用いている。シード化合物が見つかった場合、必ずターゲットタンパク質との共結晶構造を解き、合成展開して、化合物構造の最適化を行う（図 4-9）。線虫の系あるいは GFP の系などを用いて、スプライシングの可視化、評価を行っている（図 4-10）。
- Cdc2 様キナーゼ（Clk）の阻害剤 TG003 が、デュシェンヌ型筋ジストロフィーの治療に使えることを最近見出した。TG003 は変異の入ったエクソンを飛ばしたスプライシングを促進し、ジストロフィンタンパクを増大させるので、治療効果が期待されている（図 4-11）。
- SR タンパク質キナーゼ（SRPK）特異的な阻害剤 SRPIN340 を世界に先駆けて開発し、この化合物が生命現象を解明する上で有用なツールになる事さらには、血管新生を阻害する薬として開発できる可能性も示した。SRPK と SRPIN340 との共結晶構造も既に取得している。その構造を用いて、***in silico*** スクリーニングで、化合物の最適化を合理的に進めようとしている（図 4-12、図 4-13）。
- 二重特異性チロシンリン酸化調節キナーゼ（DYRK）は、活性化ループ内のきわめて重要なチロシン残基を自己リン酸化し続いて、基質のセリン残基およびトレオニン残基をリン酸化する。DYRK のアイソフォームの 1 つ DYRK1A は、ダウン症やアルツハイマーに関係する可能性が高い。DYRK1A に対する阻害剤 INDY も開発し、DYRK1A と INDY の共結晶構造の解析にも成功した。INDY とは別の部位に結合する阻害剤も見出しており、DYRK1A の構造ダイナミクス解明の必要性がある（図 4-14、図 4-15）。
- 動的構造情報の解析が困難であることは周知の通りである。最近、米国のメリッサ・ムーアたちが CoSMoS（Co-localization Single Molecular Spectroscopy）という手法を用いて、複数の構成分子から 1 分子のスプライソソーム複合体構造が、順序立てて構築されてゆくダイナミックな工程を解明した。ゴードンカンファレンスでのメリッサ・ムーアの話によると、CoSMoS は語呂合わせで作った造語であるが、実際に様々な研究者が集まった研究者のコスモスにより完成した技術であるとのこと。モレキュラーバイオロジスト、プロテインケミスト、エバネッセンス顕微鏡の専門家な

どなど、色々な研究者のネットワークがコスモスであり、CoSMoS を作り上げることが出来たと。この事例が示すことは冒頭の話と同じで、個々の枠組みに囚われず、必要な情報は何かを純粋に求めて、そのためにあらゆるネットワークを駆使して物事にあたることが必要ということだ（図 4-16）。

▶ 創薬に関しては、ありとあらゆる人が関わる必要がある。化学研究者から臨床医、製薬企業まで連携する必要がある。従来は細切れになっていて創薬までたどり着けなかったのを、すべて 1 つにまとめて、創薬にたどり着く体制を作りたいと考えている。どのような研究領域でも、必要なものはすべて動員して課題に取り組む姿勢が必要である（図 4-17）。

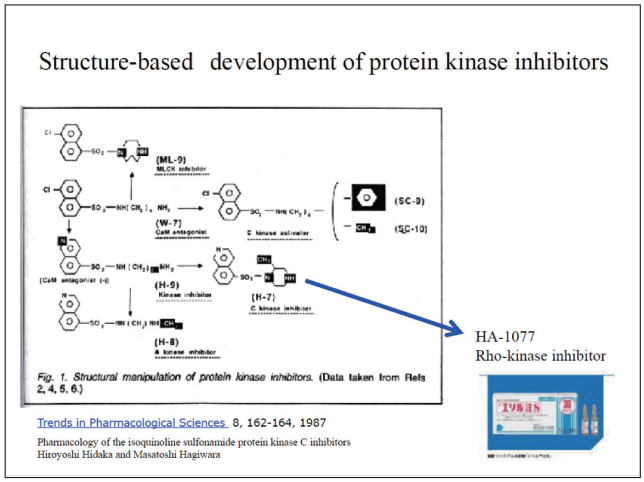


図 4-7

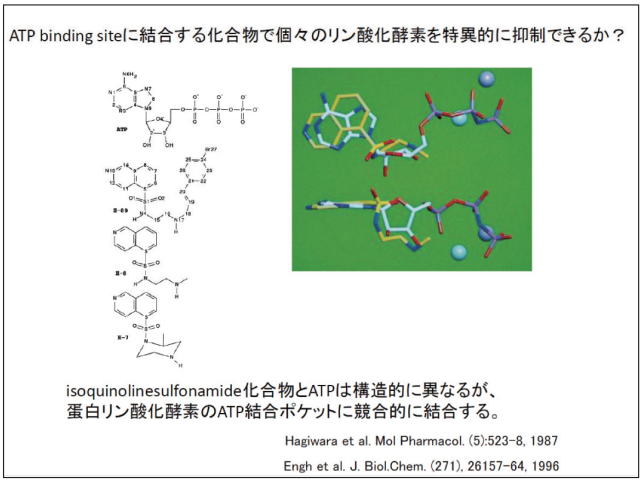


図 4-8

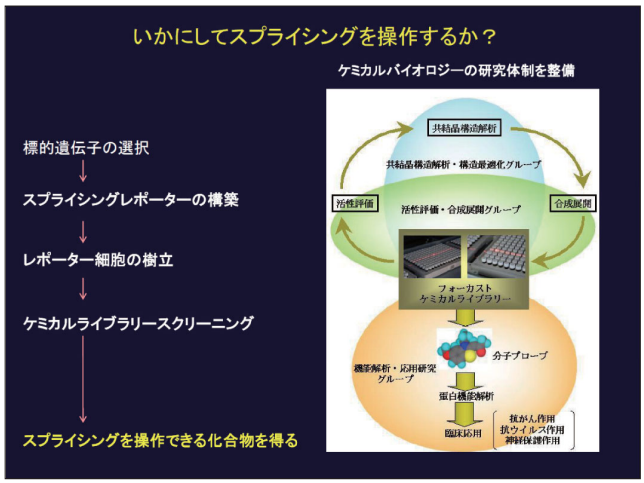


図 4-9

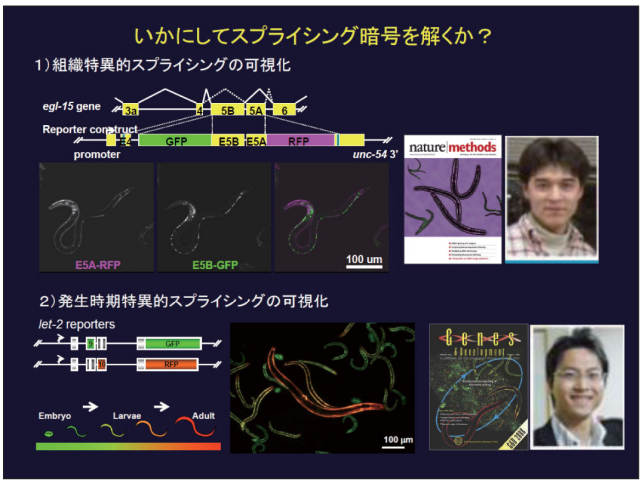


図 4-10

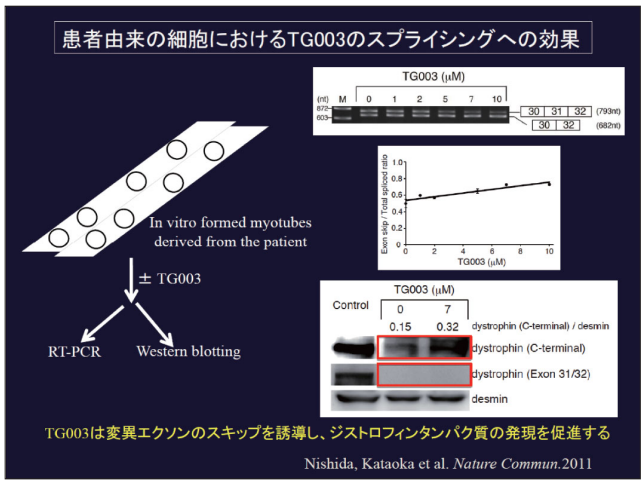


図 4-11

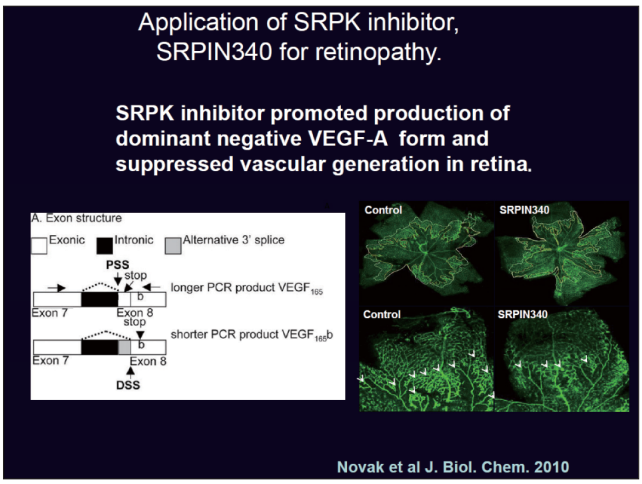


図 4-12

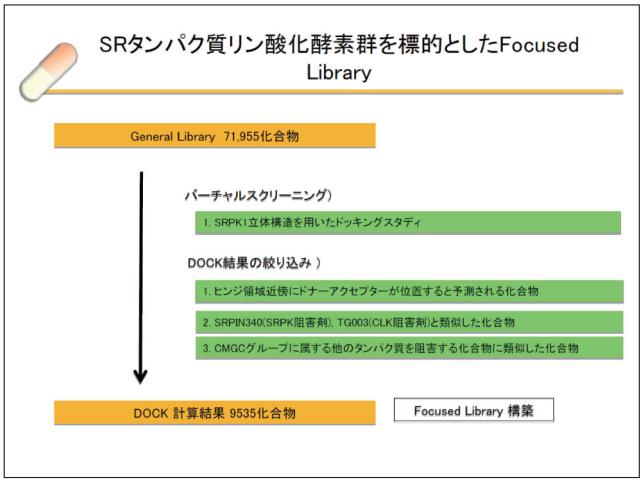


図 4-13

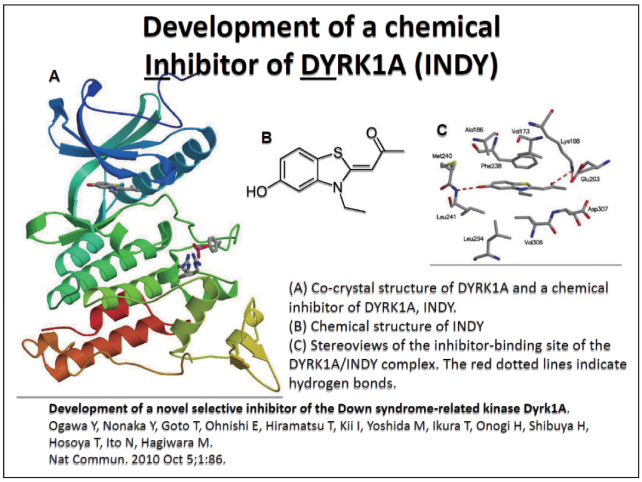


図 4-14

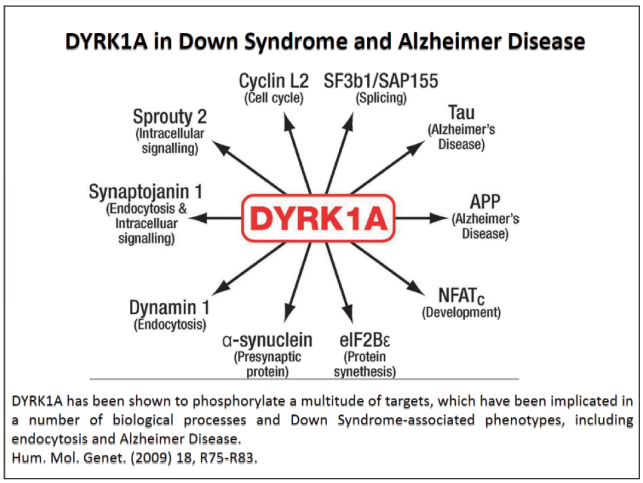


図 4-15

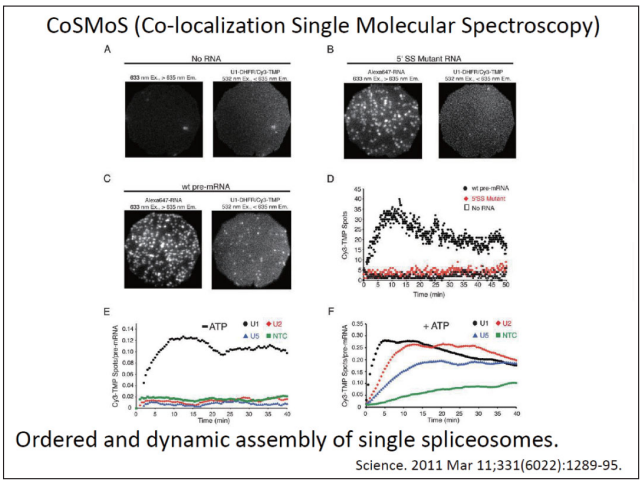


図 4-16

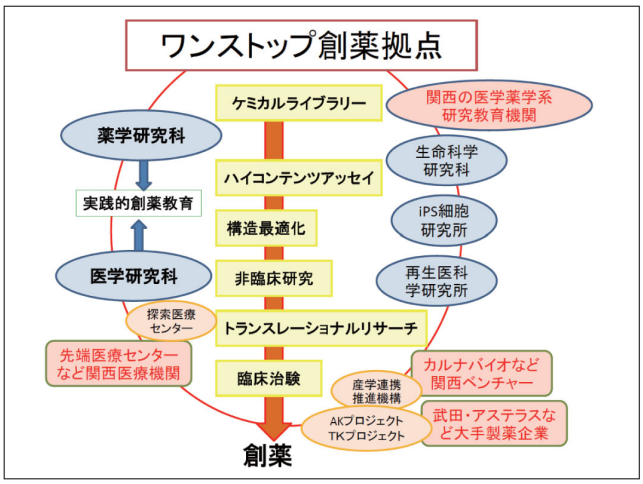


図 4-17

濡木　理　教授　（東京大学・大学院理学系研究科）
「先端融合生命科学へ向けて」

- 構造生物学の次世代像として、構造生命科学あるいは、さらにその先の“先端融合生命科学”を定義したい。
- 図 4-18 に、Nature 誌、Science 誌に掲載された構造生物学論文数の推移を示した。右肩上がりに増加している。国別に見ると、日本はイギリス、ドイツと並ぶ論文数で、この分野に非常に強い。生物学で壁に当たったとき、構造が見えると、ブレークスルーになることが多い。このような論文数の推移は、生物学における構造の重要性を物語っていると考える。
- 物理、生物、数学、化学、工学、光学等が融合して成立した構造生物学は、分子を原子座標のレベルで明らかにしてきた。また、医学、薬学、農学の領域では、個体を分子レベルで理解する研究が進展した。今後は、様々なレベルでの分野融合から新しいサイエンスが生み出され、原子から個体までを記述できる技術に発展し、それが様々な研究分野で活用・応用されていくと考える（図 4-19）。
- 技術面の融合例としては、X 線構造解析と電顕による単粒子解析が結びつくことで、繊維が原子分解能レベルで構造解析できる（図 4-20）。
- フレキシザイムを使って作られた環状ペプチドとの共結晶体を用いることで、MATE という膜タンパク質の構造解析に成功した。ケミカルバイオロジーと X 線構造解析との融合による成功例だ。MATE はダイナミックに構造を変化させるタンパクであり、ペプチドがダイナミックなタンパク質の結晶化のツールになることが証明された。また MATE は細菌の多剤耐性化の原因となるトランスポーターの 1 つであり、その制御にペプチドが利用でき、さらには創薬につながることが示された例である（図 4-21）。
- 生細胞の中の 1 分子を可視化する技術（図 4-22）や、細胞中での分子同士の相互作用を可視化する技術（図 4-23）も開発されている。
- さらに進んで、生細胞中で原子座標ダイナミクスを可視化する技術も開発が進んでいる。NMR を利用し、生きた大腸菌の中でタンパク質構造を決定した例（図 4-24）や、タンパク質を真核細胞の中に導入して真核細胞の中でのスペクトルをとることに成功した例などがある（図 4-25）。
- EGF レセプターに対する抗体が、抗がん剤として使用されてきた。卵巣がんに対するペルツズマブ、乳がんに対するハーセプチンがそうである。最近の構造解析の結果から、これらは EGF レセプターのダイナミックな構造変化を抑える抗体であることが判明した。タンパク質の動的構造変化が解明できれば、創薬に結びつくことを示す好例である（図 4-26、図 4-27）。
- がんや線維症を惹起する脂質メディエーター産生酵素のオートタキシンは、リゾホスファチジルコリンを分解して、リゾホスファチジン酸（LPA）を産生する。LPA は、GPCR を活性化して、細胞の増殖や運動を促進する。我々は動物細胞で生産したオートタキシンの構造を解いた。その結果、オートタキシンは膜と相互作用し、リゾホスファチジン酸を直接 GPCR に受け渡すという基礎的なメカニズムがわかった。これに基づいて、リゾホスファチジルコリンの分解抑制薬を、有機合成と構造生物学を往

復、フィードバックしながら改良し、ついにはマウス個体に注射するとLPAの産生が下がる、さらに、がん細胞の運動が抑制されるというところまで進化させた。現在、大手製薬会社との共同研究開発契約を締結し、さらに検討を進めている（図4-28）。

▶ 構造生命科学は今後、原子から個体までをシームレスに記述する方向へ向かうべきである。それには異分野や先端的研究・技術をすべて融合する必要がある。それらをつなぎ合わせる拠点として、構造情報プラットフォームが重要である。解析された構造情報をもとに、機能シミュレーションを行うことで、構造生命科学は構造機能相関を加味して、さらに成熟する。シミュレーション技術は、機能の制御方策を見出すための強力なツールとなり、創薬、再生医学、環境対応、先制医療といったイノベーションに確実につながると考える。構造生命科学が社会実装に結びつくためには、必要なものをすべて取り込んだ研究体制が必要であり、このような融合化領域を先端融合生命科学と呼びたい（図4-29）。

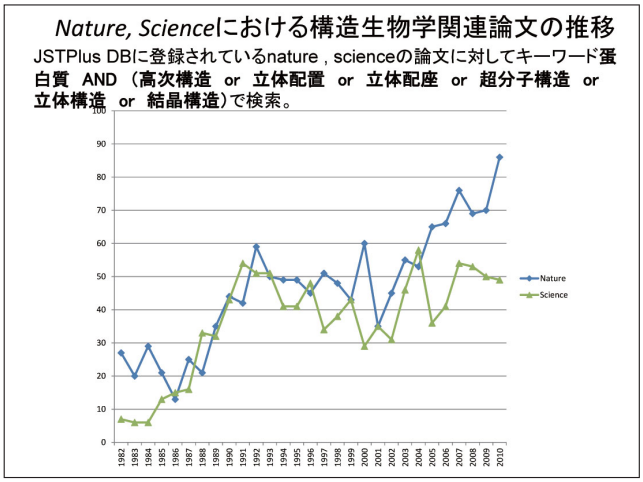


図 4-18

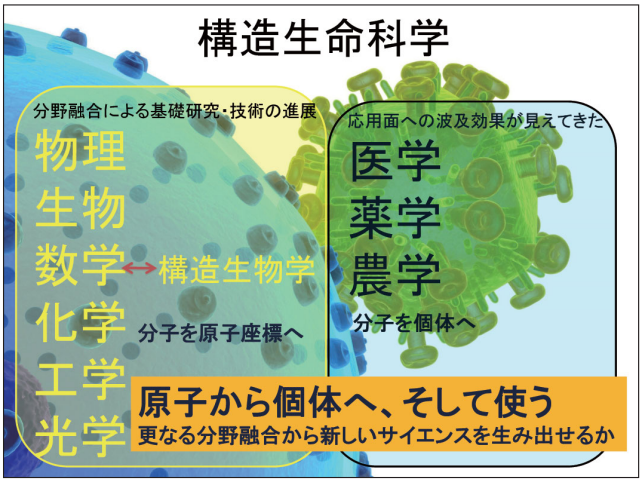


図 4-19

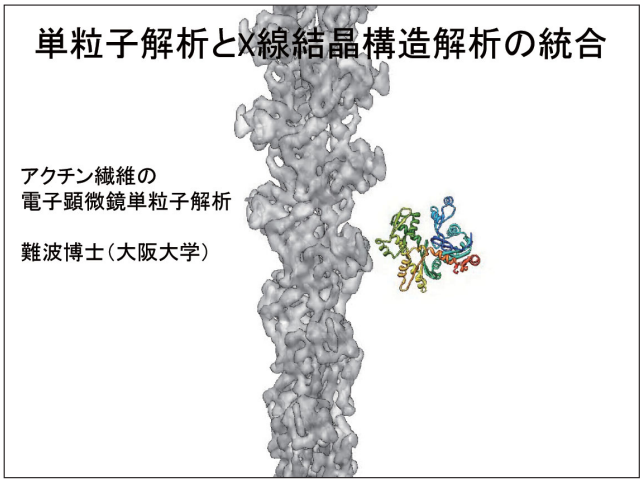


図 4-20

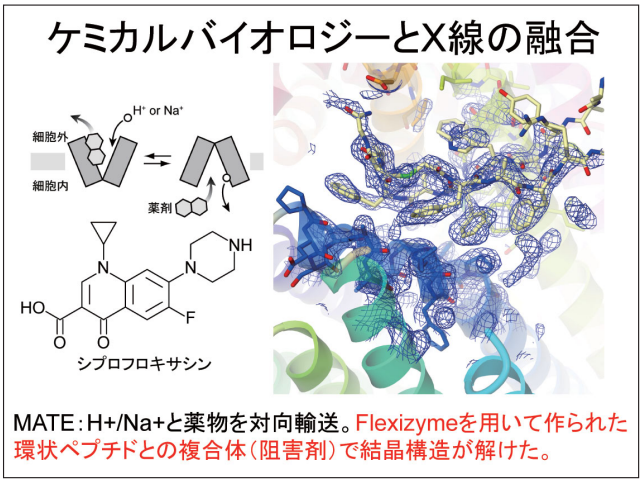


図 4-21

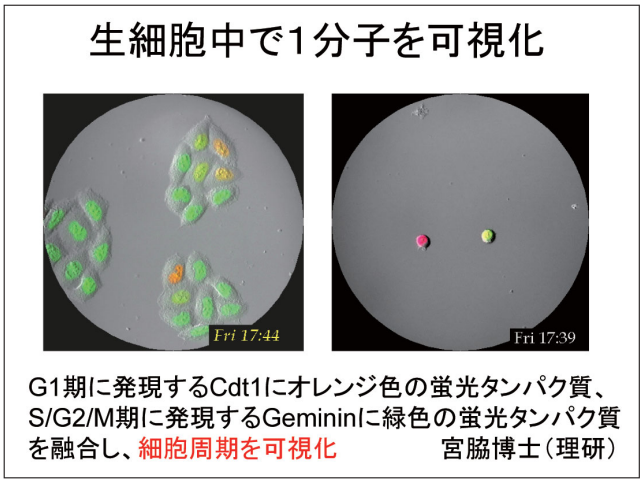


図 4-22

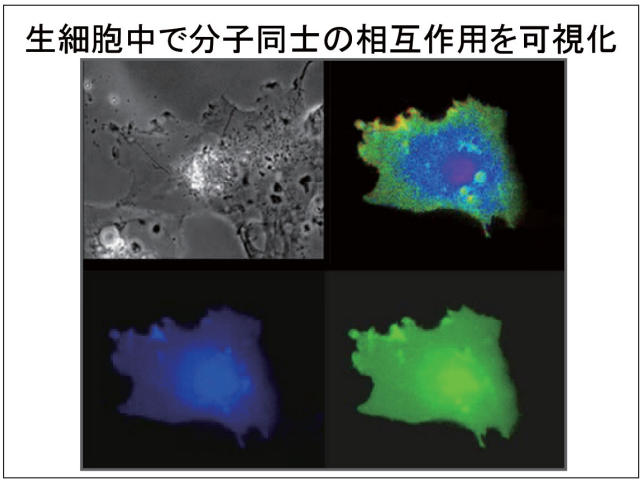


図 4-23

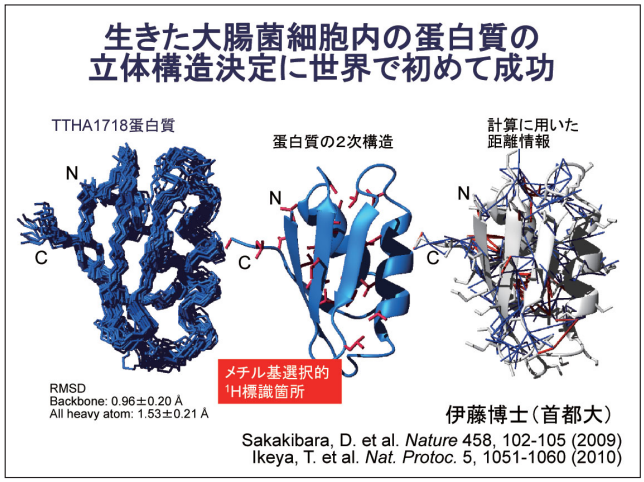


図 4-24

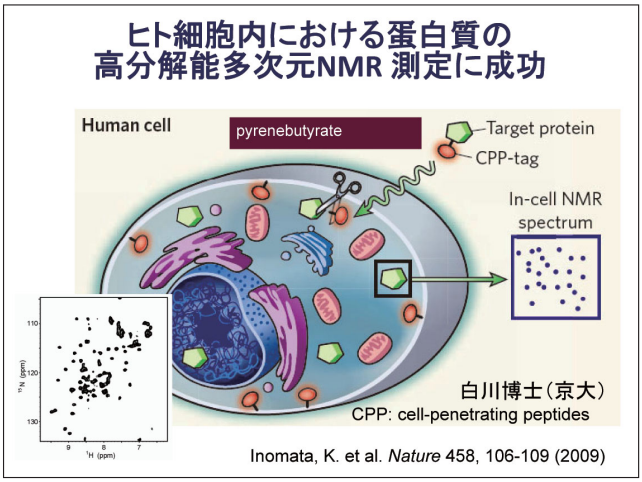


図 4-25

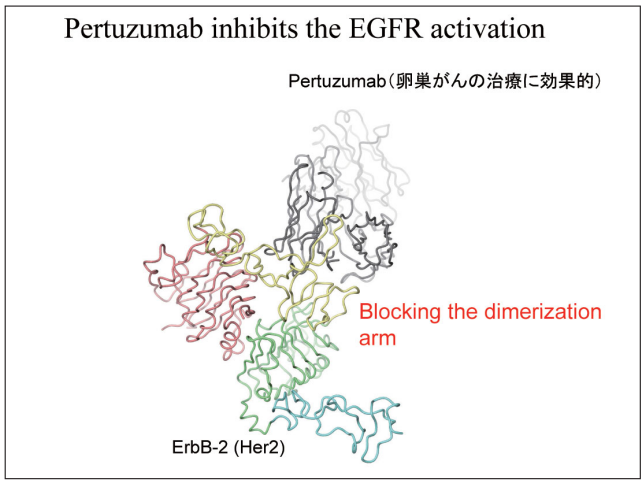


図 4-26

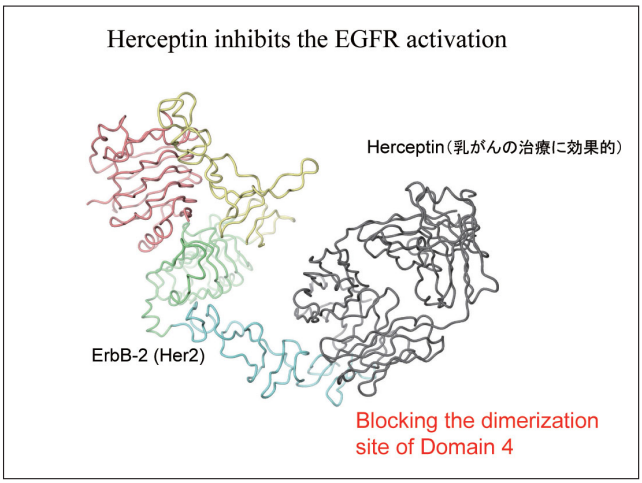


図 4-27

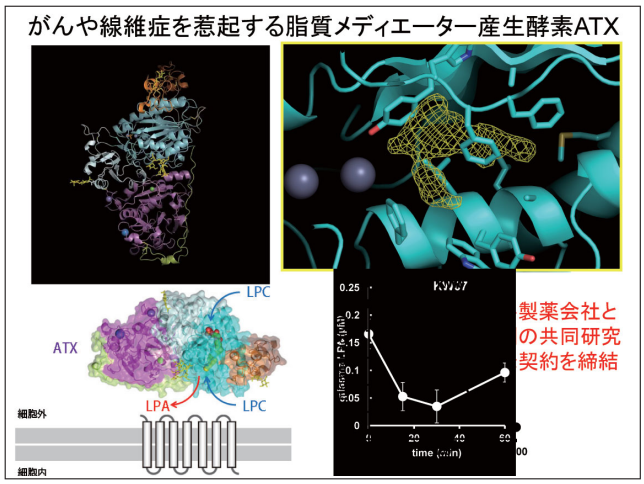


図 4-28

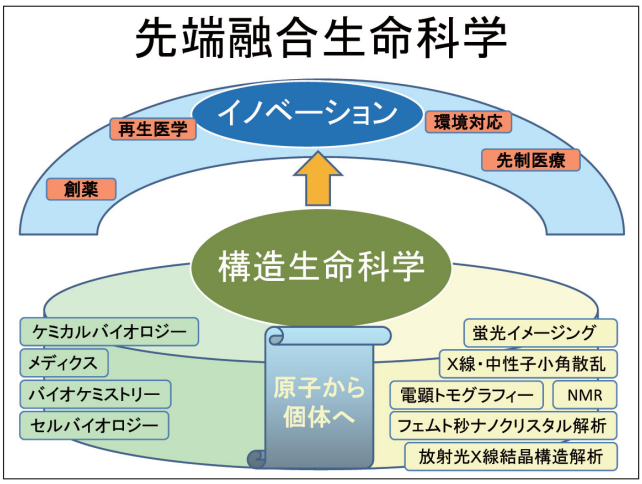


図 4-29

（討論）

構造生物学と生命科学という 2 つのものをどうマッチングして構造生命科学という新しい切り口ができるのかということを、中心に議論し、以下にまとめた。

先端的な異分野融合による研究体制強化

- 融合するための体制というものを議論する必要がある。XFEL は国家基幹技術として作られたものだが、実際に研究プラットフォームとして使う際には、様々な問題が生じる。XFEL を使うためのファンディングがなければ、施設が埋もれてしまう。人材育成も難しい問題。NMR を含め、大型機器・施設のオペレーターには研究者が必要。ただ単に技術開発だけせずに、常に全体が融合した形の中で、装置技術開発をする人たちが“使う”研究にも没頭するシステムを作るべき。そのような環境を作ることで、装置とアプリケーションあるいは、構造解析と生命科学が有機的に結合すると考える。基盤を支え、作る研究者が、“使う”研究へコミットできてこそ、大型機器が有効に活用される。
- 構造生物学内でも体制が部分的に脆弱化しているところがある。今後進展が見込まれる電子顕微鏡領域の研究者層が薄い。NMR の主流は世界的にはギガヘルツに移っているが、国内の開発、整備は立ち遅れている。電顕、NMR ともに相関構造生物学に不可欠である。
- ケミカルバイオロジーは日本が得意な分野である。ノーベル賞受賞者が多いことから明らかな様に、日本は化学に強い。またケミストリーとバイオロジーの垣根が低く、米国と異なり、ケミカルバイオロジーは国内では単一の学会になっている。強いケミカルバイオロジーとの連携を深めることで、構造生物学の足腰も強くなるはず。そこから海外に比べ劣勢な日本の創薬の活性化につながることも期待する。
- アカデミアのアイデアを形にするという流れが、日本では弱いと考える。せっかくターゲットタンパクで技術基盤ができたので、それを活用し、実用化に結びつける体制を作り、国を挙げて実用化に向けた研究開発を推進する必要性を強く感じる。
- 自身の関係するベンチャーでは、世界中の製薬会社の人たちと共同研究をしている。欧米の製薬会社の研究グループの中には、構造生物学の人たちがメンバーに入っている。様々な人たちが一緒になってアプローチしようという態度がすごくクリアである。日本でも、モデルとなるコンソーシアムを作って、成功例を出すことが重要。ケミカルバイオロジーで化合物を集めるだけではなく、バイオロジーもあり、構造生物学もありという、多分野の研究者が 1 つのチームとしてのつながりを持つ、これこそ先端融合生命科学という体制案を考える必要がある。
- ポートアイランドのクラスター形成の中心にいるが、生物系の様々な拠点が充実している。播磨の SPring-8 とも地理的に近い。それらを全部まとめる拠点を作るには、神戸が一番よい状況だと思われる。医療クラスターの成熟、神戸大学、大阪大学あるいは、京都大学との合同ということも視野に入れ、大きな構想の中で、考えてもよいのでは。
- 大きなテクノロジー同士をどうやってつなげていくかという点は非常に難しい。研究

所なり学部なりの密度の中で、研究者同士がぶつかる場をもっと作らなければならない。企業の人が来て、企業が何を求めているかということを、膝を詰めて議論することによって、世間が必要としているものを学べるだろう。双方向でやっていく場所をきちんと作るということは、単純なマッチングではない。組織だって行うべきであろう。情報解析拠点の必要性やそこでの人材確保という面は、構造生命科学もゲノム分野も同じ課題を共有している。

構造生物学コミュニティーの課題、他分野と構造生物学とをつなぐ方策

- 構造生物学コミュニティーは一枚岩か？
- 濡木先生の提供された話は、構造生物学コミュニティーの主要メンバーと半年以上時間をかけて議論してきたもの。ターゲットタンパクに入っていない方も議論に参加し、日本の構造生物学、構造生命科学を発展させるにはどうしたらいいかという議論をずっと続けている。
- そこまで議論しているのであれば、生命科学の人をもっと招き入れるべきである。お互いの共通言語を作り、今の議論を生命系の人たち等に広めていけば、恐らくかなりの成果は出るだろう。
- 構造生物学以外の研究者との議論が少ないというご指摘は、素直に受け止めたい。
- 構造生物学研究者と生命科学研究者が共通の言語を持つためには、とにかく相互に飛び込んでいく必要がある。そういう姿勢で研究されている方は、個人の感覚としては、日本でも 10 年前に比べると増えている。
- 個人的つながりから始めてうまくいった例も多くあるとは思うが、個人的つながりだけに頼る方法論はいかがなものか。構造生物学研究者側でも、構造生物学のノウハウを理解してもらうデータベースを作るというのはまだ難しいようだが、成功例やコンタクト先だけでも整理されたホームページが JST の中にでもあればと考える。別の視点からは、困難なターゲットを総力戦で挑むことでもつながりは生まれると考える。GPCR のブレークスルーは海外から来たので、生命科学の立場から見た次の重要ターゲットであるアディポネクチンレセプター等のブレークスルーは日本から出てきて欲しい。総力戦からの波及効果を期待する。
- 開かれた構造生命科学とか融合生命科学というようなものに向けては、2 つぐらい手があると考える。1 つは、JST の中に総合外来のような窓口を作る。患者を適切な診療科につなげるために、最近では大きい病院に総合外来があるように、自分の研究をどこの誰に持ち込めばいいか、JST がそういう相談や紹介の窓口を受け持つというのが 1 つ。もう 1 つは、こういうワークショップをクローズドでやるのではなく、融合したいような分野と連携してそれぞれでオープンワークショップを立ち上げる。比較的低価格で実現できるもう 1 つの手かと考える。
- これからこの分野をますます発展させて行くためには、起爆剤になる材料を議論する必要がある。特定のタンパクに関して社会的要請と医学的要請から考えて、ある程度リードする形でチームを作るということを、議論するべき。例えば、GWAS（全ゲノム関連研究、genome-wide association study）でわかってきた重要タンパクについての具体的提案が欲しい。そのタンパクは一体何をやっているのか、その機能がおか

しいのか、発現が低いのか多いのか、あるいは壊されるのが速いのか、そのような具体的テーマの議論が必要。

- その方策を化合物のスクリーニング拠点をやられている方にも期待している。ターゲットタンパクの中の様々な拠点の機能を中心に、新たに創薬医療技術基盤という形で拠点を生かすことを考えている。継続ではなく、発展させるべく、拠点の機能、アクセス、サポート体制等を検討中である。本日の議論を参考に、拠点の起動を考えたい。JST の機能は戦略に対応する部分が大きく、継続的な拠点機能という視点からは、提案の任務を引き受けることは難しい。基盤拠点の活用に関しては、やはり研究者の方が中心となり考えるべきである。

拠点形成

- トランスレーショナルリサーチの拠点に関しては、各拠点のコントロールとサポートの仕組みを組み入れた。7 拠点が真摯に全体のシーズを開発して、集め、トランスレーショナルリサーチをサポートしているか、それを監視、指導するグループを 1 つ作った。監視グループが非常に厳しく指導したので、7 拠点全部が目標を達成した。構造生命科学についても、同様の形を当てはめることが出来る。幾つか構造解析を中心とする拠点が、全国にあるすぐれた研究、生物学系のシーズを受け入れて共同研究をやるというようなことを、システムとして実施することを目指す。そういう拠点を幾つか作る。評価は、そういうシーズをどれだけたくさん開発してきたかによる。拠点に任せきりにすると、拠点はサイエンスの方に行ってしまう。そこで、共同研究をきちっとやるよう叱咤激励するグループを 1 つ作る必要がある。それぞれの拠点に入ってきた生物系の研究者はどこから研究のサポートを受けるかという問題はでるだろうが、工夫すれば、ウイン・ウインの関係ができると考える。そのために 2 つ重要なことがある。まず自分の研究をせずにサポートに徹する拠点など成り立たないことだけは間違いないので、そこだけは絶対に譲らない。そんなことを要求されたらノーと言うことも大事。次に、構造を解析する研究者に何かおもしろみがないとコラボレーションは成り立たないということを、生物系の研究者も十分承知して拠点に持ち込む必要がある。お互いがお互いのことを考えるということだ。

ファンディングについて

- ファンディング・エージェンシーの役割が重要。例えば膜タンパクは結晶化が難しいとずっと言われているが、1 つ結晶化ができると、いろんなおもしろいタンパクの構造が決まり始める。だから、極めて難しい課題に挑戦する人を長期的にサポートすることが重要。
- 残念ながら日本の財政も破綻寸前である。その中で、様々な形態の研究費を用意しており、長期的に自由度高く実施する研究は科研費での実施を想定している。タンパク 3000 に非常に大きなお金を投入した結果、非常にいい成果が出て、世界の中での一定の地位を得ることができたという意味では成功だったが、批判として費用対効果がよく問われる。内局の予算で行うものは、成果を社会に還元する出口に近い部分にシ

フトしてきていて、純粋な基礎研究のところを集中的に内局予算で対応することは、ゲノムも含めて非常に厳しい。一方で基盤は、本来であれば運営費交付金で大きい研究機関が担う部分だが、残念ながらライフサイエンスは10年ぐらい前の段階で全然できていなかったこともあって、内局の予算でかなり措置をしてきている。それが、これまでのゲノムであったり、タンパクであったりする。今後も基盤はやはり維持して行くが、どういう形でそれを活用するかが非常に大きな課題だ。コンソーシアムを作ることも非常に大事なことである。外とうまくつながることが非常に重要だ。多くの研究者がアクセスできる、構造生物学、構造生命科学に発展していくためにどうすればいいのかは、今後とも議論を詰めて欲しい。

3．まとめ

セッション 1 において、ターゲットタンパクが一定の成果を上げ、日本の構造生物学が、高い国際的地位を確立していることを確認できた。マイクロビームなどの新技術も創出し、難解な構造を解き明かしている。しかしながら、疾患関連タンパク質など、最も解析難度が高いとされているターゲットに関しては、アディポネクチン受容体をはじめとして構造解析が完了していないものが多い。技術面での課題と、融合分野での研究であるという難しさに対してブレークスルーを得るために、医学・薬学・農学等の生物系の研究者と構造生物学研究者が、さらに濃密なフィードバックを行いながら研究を進展させるべきとの認識が共有された。

セッション 2 での技術革新に関する発表では、糖鎖構造解析、蛍光－電子線相関顕微鏡観察法、X 線自由電子レーザー施設 SACLA、GPCR 構造解析ルーティン化を中心に、国際的にみて優れた研究成果や優位性を持つ技術が紹介された。先端的ライフサイエンス研究者側からの発表では、翻訳後修飾であるパルミトイル化がタンパク構造変化を通して機能制御に関わる例、アルゴノート 2 タンパクがスライサーであることが構造解析データを踏まえて初めて証明された例などから、構造解析がライフサイエンスの進展に重要な役割を果たすことが改めて明確になった。また融合研究がブレークスルーを生み出す好例として、合成ペプチドライブラリーを用いることで、構造決定が困難であった MATE タンパク質の構造が非常に迅速に決定できた事例の紹介があった。しかしながら、既述のアディポネクチン受容体と同様に、UPR 関連タンパク質などの構造解析は完了しておらず、ライフサイエンスにおける重要タンパク質には構造が解けていないものが多いことが示された。全体を通して、翻訳後修飾を含むタンパク質構造解析の技術進化が継続している一方で、国内で発見・研究されている重要タンパクにも構造が解けていないものが数多く存在すること、が確認できた。討論の中で整理された研究面での課題としては、糖鎖や天然変性タンパク質などの柔らかい構造のダイナミクスを追求する必要性、量子計算や原子分解能のシミュレーション分野から生体分子への展開を強化する必要性などが挙げられた。先端的ライフサイエンス研究者からは、共同研究を推進する体制整備に関して提案が出され、先端的ライフサイエンス研究者と構造生物学研究者とをつなぐための技術整備やマッチングの仕組みづくりが課題として議論された。

セッション 3 の総合討論では、まず、ここ数年に生まれた新技術が構造解析の効率を格段に向上させるものであること、また技術革新の成果を活用するためには、研究戦略、研究システムならびに、研究基盤の問題点を解決していくという課題があることを共有して、セッションを開始した。まず課題解決の例として、キナーゼ阻害剤に関する創薬研究の実例から、ありとあらゆる人（有機化学研究者から臨床医、製薬企業）が連携することで初めて創薬までたどり着けることが例示され、どのような研究領域でも必要なものはすべて動員して課題に取り組む姿勢の重要性が示された。それに対し、構造生物学の研究者も、必要な先端的研究・技術をすべて取り込んだ研究体制が必要であるとの認識では一致していた。構造生物学は、構造生命科学あるいは、さらに分野融合が進んだ先端融合生命科学へと進化し、創薬、再生医学、環境対応、先制医療といったイノベーションに確実に

つながるとの方向性も提示された。総合討論の要点は以下の通り。

ライフサイエンスの基盤になるべき構造生物学の研究体制強化

- XFEL などの大型研究プラットフォームを使うため、施設側の人材育成が必要。装置技術開発をする人たちがそれを“使う”研究にもコミットし、構造解析側が生命科学側を有機的に受け入れる体制が重要。
- 今後進展が見込まれる電子顕微鏡領域の研究者層が薄い。NMR の主流は世界的にギガヘルツに移っているが、国内の開発、整備は立ち遅れている。
- トランスレーショナルリサーチの拠点に模した形で、幾つか構造解析を中心とする拠点が、全国にあるすぐれた研究、生物学系のシーズを受け入れて共同研究を実施するシステムを形成してはどうか。もちろん拠点独自の研究も実施すべき。また共同研究をきちっと実施するように監督するグループを 1 つ作る必要がある。
- 開かれた構造生命科学とか融合生命科学に向けては、2 つの方策がある。1 つは、病院でいうところの総合外来的な窓口を作る。自分の研究をどこの誰に持ち込めばいいか、そういう相談や紹介の窓口を受け持つ組織を作るというのが 1 つ。もう 1 つは、分野融合を目指したオープンワークショップを活用すること。

構造生物学をハブとして、先端的な異分野融合を進める方策

- 日本が得意とするケミカルバイオロジーとの連携を深めることで、構造生物学の足腰を強くし、海外に比べ劣勢な日本の創薬の活性化につながることも期待する。
- 欧米の製薬会社では、ケミカルバイオロジー、バイオロジー、構造生物学の研究者が 1 つのチームとなり、まとまりがある。国内でも、総合的な体制が必要。
- 医療クラスターの中に構造生物学研究者が入ることも考えるべき。
- 構造生物学コミュニティーとしては、日本の構造生物学、構造生命科学を発展させるための議論を継続しているが、構造生物学以外の研究者との議論が足りず、それを充実させるべき。
- 困難なターゲットに挑むことでもつながりは生まれる。生命科学の立場から見た次の重要ターゲットであるアディポネクチンレセプター等のブレークスルーは日本から出てきて欲しい。総力戦を期待する。
- これからこの分野をますます発展させて行くためには、起爆剤になる材料を議論する必要がある。社会的要請と医学的要請がリードする形で、テーマ、チームを作ってはどうか。

上記の取り組みを支えるファンディング

- 残された極めて難しい研究課題への挑戦が続くので、長期的なサポートが重要。
- コンソーシアムも考慮に入れ、多くの研究者がアクセスできる設備維持方策を考えるべきである。また、構造生物学や構造生命科学研究がさらに発展するための費用対効果も考慮したファンディング議論が必要。

4．考察

JST-CRDS ライフサイエンス・臨床医学ユニットでは、俯瞰的にライフサイエンス研究の重要領域を調査してきた。タンパク質などの機能分子に関する研究領域は、「ゲノム・融合分野」の基軸の 1 つとして整理してきた研究領域であり、今回のワークショップ開催を含め、調査活動を進めてきた。

「ゲノム・融合分野」においては、ゲノム配列解析技術の進化が関連領域に様々な波及効果を及ぼしている。次世代シーケンサーの出現は、大規模な DNA サンプルを対象とし、全ゲノム配列や、エクソン（exon）配列でジェノタイピングすることを可能とした。欧米と中国の国際コンソーシアムによる約 2500 人分のゲノムシーケンシング解析プロジェクト（The 1000 Genomes Project、1000 ゲノムプロジェクト）では、次世代シーケンサーが活用され、低頻度のものを含む SNP が多数報告された。これにより、ゲノム比較により疾患や形質遺伝の原因となる遺伝子を同定する GWAS 研究も、これまでは探索が困難であった希少 SNP へと、疾患関連遺伝子探索の範囲を拡張することが可能となった。また、総合科学技術会議が提案している大規模コホート研究（ゲノムコホート研究と医療情報の統合による予防法の開発）では、10 万人のゲノムコホート研究が検討されている。これらの大規模ゲノム研究は、ヒト遺伝学研究を加速させ、医療へ大きなインパクトを与えるものと期待されている。次の 10 年の間には、多数の疾患関連遺伝子が同定されるものと予想される。その成果を受けて、疾患予防、先制医療、個別化医療などへ展開するためには、疾患関連遺伝子産物の機能解析が必要である。次々に同定される疾患関連ターゲット遺伝子に対して、モデル動物を用いたノックアウトやノックインという分子生物学的手法を用いた機能解析に加え、遺伝子産物であるタンパク質そのものを研究材料として用いる機能解析がますます重要となる。

構造生物学はタンパク質を“見る”ための学術領域であり、タンパク質科学の中でも最も基礎的かつ直観的な情報を提供し、生物学あるいは医学の分野での発見・発明を推進する原動力になる。本ワークショップで紹介された諸外国の事例を見ても、米国をはじめとする先進各国が構造生物学へ注力し、その成果を特に医学・健康分野へ還元しようとする潮流が明らかである。このような潮流を加速しているのは、X 線結晶構造解析と NMR の高速化である。これまでの構造解析は時間がかかるものであったが、大型放射光施設の整備や NMR の超高磁場化が進み、構造解析もまたハイスループット化の時代に突入してきている。ライフサイエンスの進展速度に合わせたスピード感を伴って、構造解析も適時的に解析データを提供できる時代になってきていることが本ワークショップでも確認できた。国内でも X 線自由電子レーザー施設 SACLA の供用が 2012 年 3 月に開始される予定であり、世界的に見て先駆的な基盤整備が進んでいる。また大型放射光施設も、SPring-8 と高エネルギー研・Photon Factory がお互いに強みを生かしつつ競争して設備更新を行い、世界的に見て最先端の技術開発がなされてきたことが、本ワークショップで明確に理解できた。一方 NMR に関しては、超高磁場 NMR 装置の活用が必要であることが本ワークショップで確認できたが、現状は 1 拠点への集中的な NMR 配備の名残があり、NMR の更新が国内全体として遅れていると思われる。CRDS 刊行の「ライフサイエンス

分野　科学技術・研究開発の国際比較 2011 年版[4]」で指摘しているように、NMR については、超高磁場化などの設備増強を伴った複数拠点の整備を推進し、拠点間で良い意味での競争を促す必要がある。X 線結晶構造解析と NMR の他にも、クライオ電顕、X 線や電子を用いたトモグラフィー技術、マススペクトロメトリー、X 線小角散乱法などの技術開発も進んでおり、これまで見ることのできなかった構造が見えるようになってきている。これらの生物物理学的手法についても欧米を中心として、技術開発の進展が著しい。本ワークショップでは、クライオ電顕と光学顕微鏡の画像を相関させる CLEM 法に関して、日本における研究開発の報告があり、*in situ* でタンパク動態を分子レベルで解析する可能性が示された。このような国内の研究開発、技術開発の発展を促進しなければならない。

世界的に構造生物学の技術革新が進んでいる中で、日本の構造生物学は一定の地位を確保していることが本ワークショップで確認できた。しかしながら、社会還元やイノベーションを考えたとき、生物物理学的な技術開発のみを追い求めるだけでは、それらを達成できない。生物学的にあるいは臨床医学的に、重要な機能分子、タンパク質が同定され、その機能解明の一環として、構造解析がなされるという状況こそ、イノベーションに繋がる状況であると考える。我が国は、世界的な競争で先頭を争う生物学研究者、医学研究者、ケミカルバイオロジー研究者、構造生物学研究者を多数抱えている。我が国の構造生物学分野に、更なる成果、イノベーションに直結する成果を求めてもおかしくないと考える。この点に関して、本ワークショップで明確に示された方策の 1 つは、構造生物学コミュニティーと他のライフサイエンス分野のコミュニティーとの連携のさらなる深化である。これまでは、構造生物学研究者と他のライフサイエンス分野の研究者との、異分野間での連携であったと思われる。先端的な部分に関しては、スペシャリスト間の連携という形にならざるを得ないと考える。先端的な測定機器・技術の開発がなされることと、それを用いた生物学的に重要な発見、発明が生まれることが同時に成されるまでに、先端的研究部分での異分野連携が深化するべきである。このような先端的な異分野連携・融合の強化は、本ワークショップでキーワードとした「構造生命科学」の目指すビジョンの 1 つである。しかしながら、構造生物学分野でも確立した基盤部分は、一般的な技術として様々な分野からの活用を推進すべきである。構造生物学の施設や技術体系を特殊なものとせず、ライフサイエンス全般の発展に必要な基盤技術として、一般化を促進することも必要である。分子生物学がそうであったように、構造生物学がライフサイエンス全体の推進力の 1 つとして一般化、融合化することも、「構造生命科学」の目指すビジョンの 1 つであろう。

このような学際的研究である「構造生命科学」を促進するためには、どのようなファンディングの形態がベストなのか、ここで考察したい。まず国内には、SACLA、マイクロビームライン、糖鎖データベース、ERATO 岩田ヒト膜受容体構造プロジェクトの成果など、国際競争の突破口となる技術や研究成果が揃ってきている。また構造解析の対象としては、糖尿病、小胞体品質管理、miRNA 形成、キナーゼ、翻訳後修飾など、我が国発の創薬や治療法開発のターゲットが多数ある。ターゲットと構造解析技術をマッチングさせると同時に、新たなターゲットを創出できるように「構造生命学」分野のすそ野を広げる

4　http://crds.jst.go.jp/output/pdf/11ic05.pdf

必要性がある。すそ野を広げることこそ、既述した基盤技術の一般化である。マッチングにせよ、基盤技術の一般化にせよ、「構造生命科学」のビジョンを実現化するための、現実的な運営が必要である。一般化の部分では、拠点形成、コンソーシアム化なども視野に入れ、幅広いニーズに対応できる構造解析サービスを提供できるようにする必要がある。基盤整備・維持のためのファンディングは必須であろう。先端的な融合研究を促進する場合には、複数のマッチングが想定され、それぞれが高いハードルを越え、社会ニーズを充足する必要があるため、チーム型研究あるいはそれに類する規模・仕組みの研究プロジェクトでの戦略的ファンディングが相応であると考える。1つの領域に強力な研究チーム群を並び立たせ、国の政策実現に向け研究を推進する形が望ましいであろう。

今回のワークショップでは、「構造生命科学」の出口を医療・医薬分野を中心に議論した。グリーン・環境分野において、「構造生命科学」をどう捉えるかについては、他の機会の議論が必要である。また構造解析に関する生物物理学的な技術に関しては、原子力間顕微鏡、光学顕微鏡、イメージング、マススペクトロメトリーに関する議論が足りなかった。またモデリング、シミュレーションという数理解析に関しては、その重要性が議論され、国内での人材不足について指摘があった。数学、物理学分野から「構造生命科学」分野への人材リクルートが必要である。その方策についても具体的に議論する必要がある。2012年1月9日には、日本学術会議基礎生物学委員会生物物理学分科会が主催する日本学術会議公開シンポジウム「先端的異分野融合を核とした構造生命科学の飛躍に向けて」が開催される。そこでは、本ワークショップで議論された「構造生命科学」のあるべき姿を、より具体的にするため、「新しい構造生命科学の未来を拓くために何をなすべきか」というパネルディスカッションが開催される。本ワークショップでの議論を踏まえ、より具体的、発展的な議論を期待する。本ワークショップで導き出されたものが、今後の研究者コミュニティーの意識改革や本分野の推進に向けた政府施策のガイドとなることを期待したい。

付録　ワークショップ参加者一覧　（各項目 50 音順　敬称略）

【有識者】

氏　名	所属・役職
油谷　浩幸	東京大学　先端科学技術研究センター　教授　（JST-CRDS 特任フェロー）
岩田　　想	京都大学　大学院医学研究科　教授
加藤　晃一	自然科学研究機構　分子科学研究所　教授
門脇　　孝	東京大学　大学院医学系研究科　教授
川上　善之	エーザイ株式会社　課長
坂口　志文	大阪大学　免疫学フロンティア研究センター　教授　（JST-CRDS 特任フェロー）
塩見　春彦	慶應義塾大学　医学部　教授
菅　　裕明	東京大学　大学院理学系研究科　教授
高木　淳一	大阪大学　蛋白質研究所　教授
月原　冨武	兵庫県立大学　大学院生命理学研究科　特任教授
鍋島　陽一	先端医療振興財団　先端医療センター長
濡木　理	東京大学　大学院理学系研究科　教授
萩原　正敏	京都大学　大学院医学研究科　教授
深田　正紀	自然科学研究機構　生理学研究所　教授
森　和俊	京都大学　大学院理学研究科　教授
矢橋　牧名	理化学研究所　播磨研究所　グループディレクター
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　教授

【関連省庁】

省　庁	部　　署
文部科学省	研究振興局　ライフサイエンス課

【関連団体】

団体名	部　　署
JST	イノベーション推進本部

【JST-CRDS ライフサイエンス・臨床医学ユニット】

氏　名	所属・役職
浅島　誠	JST-CRDS　上席フェロー
及川　智博	JST-CRDS　フェロー
川口　哲	JST-CRDS　フェロー
鈴木　響子	JST-CRDS　フェロー
辻　真博	JST-CRDS　フェロー
福士　珠美	JST-CRDS　フェロー
森　英郎	JST-CRDS　フェロー

■ワークショップ報告書作成メンバー■

浅島　誠	上席フェロー	ライフサイエンス・臨床医学ユニット
及川　智博	フェロー	ライフサイエンス・臨床医学ユニット
川口　哲	フェロー	ライフサイエンス・臨床医学ユニット
鈴木　響子	フェロー	ライフサイエンス・臨床医学ユニット
辻　真博	フェロー	ライフサイエンス・臨床医学ユニット
福士　珠美	フェロー	ライフサイエンス・臨床医学ユニット
森　英郎	フェロー	ライフサイエンス・臨床医学ユニット
山本　雄士	フェロー	ライフサイエンス・臨床医学ユニット

※お問い合せ等はライフサイエンス・臨床医学ユニットまでお願いいたします。

CRDS-FY2011-WR-06

俯瞰ワークショップ

ライフサイエンス分野の俯瞰と重要研究領域「ゲノム・融合分野」

構造生命科学（タンパク質・構造生物学）　検討報告書

平成 23 年 12 月　December 2011

独立行政法人科学技術振興機構　研究開発戦略センター
ライフサイエンス・臨床医学ユニット
Life Science / Clinical Medicine Unit,
Center for Research and Development Strategy
Japan Science and Technology Agency

〒102-0076　東京都千代田区五番町７番地
電　　話 03-5124-7481
ファックス 03-5124-7385
http://crds.jst.go.jp/

© 2011　JST/CRDS

許可無く複写／複製することを禁じます。
引用を行う際は、必ず出典を記述願います。
No part of this publication may be reproduced, copied, transmitted or translated without written permission.
Application should be sent to crds@jst.go.jp. Any quotations must be appropriately acknowledged.

俯瞰ワークショップ

ライフサイエンス分野の俯瞰と重要研究領域「ゲノム・融合分野」構造生命科学（タンパク質・構造生物学）検討報告書

平成23年12月

JST／CRDS