

創薬及び生物研究情報基盤としての生体内ペプチドの 多角的データベース化に関する研究

I 試験研究の全体計画

1. 研究の趣旨

科学技術基本計画の「望ましい研究開発基盤の実現」において、科学技術に関するデータベースの整備、研究開発活動や研究の企画立案に活用できる研究資源データベースの重要性が指摘されるとともに、ライフサイエンス研究開発基本計画においても、研究開発基盤の一環として「知的情報交流の拡大とデータベースの整備」が強調されている。さらに「広義のライフサイエンス分野における基盤的知識・技術を生み出す領域」の重点化が提唱され、わが国の科学技術立国のために知的財産を確保することの重要性が明確にされている。

特にライフサイエンス分野では、「ゲノム科学に関する研究開発についての長期的考え方」に記されているように、21世紀初頭に決定されるヒトゲノム研究を活用し世界最先端のものとするためには、その実像であるペプチドや蛋白の情報を包括的に収録する知的基盤の整備が必要不可欠である。生体内に存在する蛋白については欧米を中心にデータベース化が開始されているが、生体内のペプチドは取り扱いが困難であるため、これまでデータベース化が試みられず放置されてきた。これらの状況を鑑み、生体内のペプチドを存在するままの形で取り出し、一次構造ではなくペプチドの諸性質により系統的に分類、構造決定し、生物活性、存在量、受容体、立体構造等の情報を総合的に収録したファクトデータベースを構築し、多様なニーズに答える利用価値の高いデータベースとすることは、ペプチドの知的情報基盤を確立するだけでなく、ゲノム情報を最大限に活用するという点においても緊急に実施しなければならない課題である。本研究で実施する生体内ペプチドのファクトデータベース化は、生体そのものをペプチドという視点から検討し直すものであり、生体内ペプチドによる情報伝達、制御機構の解明はそのまま大きな知的財産の形成に繋がるとともに、医学、薬学、生物学研究の強力な知的情報基盤を構築するものである。

本目的を達成するため、3年後までに、

- 1) 抽出、分離、構造決定方法の開発
- 2) 高感度ペプチド活性測定法の開発
- 3) データ収納方法、検索方法の開発
- 4) 3,000のペプチド情報を諸物性により系統的に分類し、300のペプチドの構造を決定すること

5年後までに、

- 1) 20,000のペプチド情報を諸物性により系統的に分類、データベース化

類、データベース化

- 2) 1,000のペプチドの構造を決定することを目標として、以下の研究開発を行う。

- ① 生体内に存在するままの形でペプチドを取り出し、分離する方法を確立、普遍化し、その諸性質を測定するとともに、ペプチドの超高感度構造解析法を研究開発する、
- ② 生体内ペプチドの生物活性、受容体とその相互作用、立体構造などを高感度に検出、測定、予測する方法を研究開発する、
- ③ 生体内ペプチドの情報を効率的に収納、閲覧でき、かつ多様な研究者のニーズに対応できる機能的データベースの構築法を研究開発する。

2. 研究概要

1. 生体内ペプチドの分離、精製、構造決定に関する研究

生体内ペプチドをそのままの形で取り出し、分離する方法を確立、普遍化するとともに、物性（分子量、疎水性、電荷等）、構造、存在量、プロセッシング等を系統的に調べ、それらを入力したファクトデータベースを構築する。また、これを実施するためペプチド構造解析法の超高感度化を図る。

- (1) 抽出、分離、精製、構造決定法に関する研究（厚生労働省国立循環器病センター研究所）

生体内ペプチドを生体内に存在する形で取り出す抽出方法、生体内ペプチドの物性（分子量、疎水性、電荷等）に基づき効率的に分離する方法を確立、普遍化し、さらにエドマン法による構造決定法の高感度化を進め、データベース構築に必要な情報を収集可能とする。

- (2) 質量分析法による生体内ペプチドの超微量構造解析に関する研究（大阪大学蛋白質研究所）

生体ペプチドを網羅的に比較、構造解析できる方法の確立を目指し、質量分析法による超微量構造解析法の開発を行うとともに、構造解析が短時間かつ確実に実行できるソフトウェアを開発する。さらに、ペプチドの質量分析データを蓄積、比較する方法の開発も行う。

2. 生体内ペプチドの生物活性、受容体と立体構造に関する研究

生体内ペプチドの生物活性、受容体などを系統的かつ高感度に調べる方法を研究開発するとともに、立体構造、受容体の同定とその相互作用を研究し、医学、生物学系研究を中心に多角的に利用できるデータベースの構築に必要な情報の収集方法を開発する。

- (1) 培養細胞を用いた生物活性と機能検索に関する研究

(厚生労働省国立循環器病センター研究所)

種々の組織や動物種由来の培養細胞を用いて、生体内ペプチドの生物活性を効率的かつ系統的に検索、同定できる方法を開発する。特に幅広く生物活性を検出できる方法論の開発を目指し、培養細胞の多様化、活性測定法の高感度化と多試料処理化を目指す。

(2) 機能蛋白質発現系と分化発現系を用いた生体内ペプチドの生物活性と機能検索に関する研究(独立行政法人産業技術総合研究所)

脳神経系で機能する受容体、イオンチャネル、トランスポーター等の機能蛋白質の特異的発現系を培養細胞にて作製し、生体内ペプチドの活性を広範かつ高感度に検出可能なシステムを開発し、これらに対して調節機能を示す生体内ペプチドを検索、同定する。

(3) G蛋白質共役型受容体を用いた生物活性と機能検索に関する研究(学習院大学)

生体内に存在するペプチドの受容体を同定しその機能を解明するために、G蛋白質共役受容体に対する普遍的で高速なりガンド検索システムを開発する。これを用いて、生体内のペプチド画分を網羅的に検索してオーファン受容体のリガンドを同定する。

(4) 分子設計を用いた受容体との相互作用、立体構造に関する研究(助サントリー生物有機科学研究所)

活性ペプチドの受容体構造、受容体結合構造などの情報を収集し、一次構造より溶液構造、受容体結合構造などの推定方法の確立とデータベース化を行う。これらを活用し、機能未知のペプチドの受容体結合構造や活性の推定方法、新しい創薬方法などを開発する。

3. 機能的データベース構築に関する研究

本研究を中心に収集される生体内ペプチドの多様な情報をデータベースに効率的に収納し、ニーズに応じて検索できる方法を開発する。さらに、既存のデータベースと一体

化して利用可能で、ライフサイエンス全体の研究情報基盤となるデータベースの構築法を研究する。

(1) 生体内ペプチドのデータベース構築に関する研究
生体内ペプチドのファクトデータベースの構築と維持のためのシステムを開発する。本研究で確立した方法により生体内ペプチドを分子量、疎水性、電荷などによりインデックス化し、多様な情報とともに効率的に収納し、幅広く検索、活用可能なデータベース構築を研究する。

① 多様な生体内ペプチド情報の効率的収納法とデータベース構築に関する研究(助蛋白質研究奨励会)

本研究で得られる基本情報に加え、質量スペクトルデータ、存在量、プロセッシング、生物活性、受容体などの多様な情報を的確に収納、検索可能で、研究者が自らの成果を登録できるデータベースを開発する。また、文献データベースなどより効率的に情報を収録する方法も研究する。

② 発見的検索が可能な生体内ペプチド・ファクトデータベースの構築に関する研究(厚生労働省国立循環器病センター研究所)

多岐にわたる生体内ペプチドの属性データを整理、体系化してリレーショナル・ファクトデータベース化し、収載データの分析、比較による未知機能の予測や欠落データの類推などの発見的活用が可能な手法を開発する。これらを統合し、将来得られる新たな属性データをも包含でき、生体内ペプチド研究に適合した機能的データベースを構築する。

(2) 他のデータベースとの連携に関する研究(厚生労働省国立がんセンター研究所)

本研究で構築する生体内ペプチドに関するファクトデータベースの特徴を生かしつつ、入力データの表現方法、情報の提供方法、既存データベースとの連携方法などを検討し、他の国際的データベースと連携して活用可能なデータベースの構築法を研究する。

3. 年次計画

研究項目	11年度	12年度	13年度	14年度	15年度
1. 生体内ペプチドの分離、精製、構造決定法に関する研究 (1) 抽出、分離、精製、構造決定法に関する研究	ペプチド抽出法の確立		高度のデータベース構築情報の収集		
	分離方法と物性情報測定法の確立・普遍化			研究取りまとめ	
	構造決定法の高感度化と粗いデータベースの構築				
	活性測定や質量分析などへの生体内ペプチド試料の提供				
	ピコモルレベルの生体内ペプチドの質量分析				

研究項目	11年度	12年度	13年度	14年度	15年度
(2) 質量分析法による生体内ペプチドの超微量構造解析に関する研究	微量試料前処理及び分離法の開発		質量分析の高感度化		
	実質量スペクトルのデータベース化				
	質量分析解析用ソフトウェアの開発			フェムトモルレベルの生体内ペプチドの分析	
	質量データベース検索用ツールの開発				
2. 生体内ペプチドの生物活性受容体と立体構造に関する研究	多種類の培養細胞の入手, 確立				
(1) 培養細胞を用いた生物活性と機能解析に関する研究	活性の高感度検出システムの開発			多試料, 粗精製ペプチドの活性検出システムの開発	
	スクリーニングとデータの収集, 機能の解析				
(2) 機能蛋白発現系と分化発生系を用いた生体内ペプチドの生物活性と機能検索に関する研究	受容体, イオンチャネル等の機能蛋白発現系の確立				
	分化, 発生誘導活性スクリーニングシステムの確立			生体内ペプチドに対する生物活性の系統的検索	
	同定された生体内ペプチドの構造, 局在, 機能などの基礎データの収集と解析				
(3) G蛋白質共役型受容体を用いた生物活性と機能解析に関する研究	G蛋白共役型受容体の発現と活性測定法の開発				
	オーファン受容体のクローニングと発現系の確立			研究のとりまとめ	
	生体内ペプチドのスクリーニングと機能解析				
(4) 分子設計を用いた受容体との相互作用, 立体構造に関する研究	構造解析データの収集				
	溶液構造の解析			分子動力学法による立体構造の解析	
	受容体結合構造のモデリング				
3. 機能的データベースの構築に関する研究	ペプチドの立体構造データベースの作成				
(1) 生体内ペプチドのデータベース構築に関する研究	未知ペプチドの立体構造解析				
① 多様な生体内ペプチド情報の効率的収納法とデータベース構築に関する研究	統合型データ入力システムの研究				
	データベース入力方法の研究			データベース利用方法の検討	
	データベースの一般化方法の研究				
② 発見的検索が可能な生体内ペプチド・ファクトデータベースの構築に関する研究	構築技法の検討と収載項目の整理体系化				
	ファクトデータベース及び検索エンジンの設計・試作			登録・参照ツールの開発	
	オンライン, オフラインによるデータ登録の試行				
(2) 他のデータベースとの連携に関する研究	既存データベースの調査・情報収集とペプチドデータベースとの連携に関する研究				
	ペプチドデータベースと既存データベースとの連携作業と考察			バーチャルリアリティを用いたペプチドの表現法の研究	
	研究のとりまとめ				
4. 研究運営					
所要経費(合計)	200百万円	226百万円	242百万円		

II 平成13年度における実施体制

研究項目	担当機関	研究担当者
1. 生体内ペプチドの分離, 精製, 構造決定法に関する研究		
(1) 抽出, 分離, 精製, 構造決定法に関する研究	厚生労働省国立循環器病センター研究所	南野直人
(2) 質量分析法による生体内ペプチドの超微量構造解析に関する研究	大阪大学蛋白質研究所	高尾敏文
2. 生体内ペプチドの生物活性, 受容体と立体構造に関する研究		
(1) 培養細胞系を用いた生物活性と機能検索に関する研究	厚生労働省国立循環器病センター研究所	寒川賢治
(2) 機能蛋白発現系と分化発生系を用いた生体内ペプチドの生物活性と機能検索に関する研究	独立行政法人産業技術総合研究所	久保泰
(3) G蛋白質共役型受容体を用いた生物活性と機能検索に関する研究	学習院大学理学部生命分子科学研究所	芳賀達也
(4) 分子設計を用いた受容体との相互作用, 立体構造に関する研究	(財)サントリー生物有機科学研究所	石黒正路
3. 機能的データベースの構築に関する研究		
(1) 生体内ペプチドのデータベース構築に関する研究		
① 多様な生体内ペプチド情報の効率的収納法とデータベース構築に関する研究	(財)蛋白質研究奨励会	磯山正治
② 発見的検索が可能な生体内ペプチド・フラグメントデータベースの構築に関する研究	厚生労働省国立循環器病センター研究所	花井荘太郎
(2) 他のデータベースとの連携に関する研究	厚生労働省国立がんセンター研究所	水島洋
4. 研究運営	厚生労働省国立循環器病センター研究所	南野直人

Ⅲ 運営委員会

委 員	所 属
外部評価者	
○松 尾 壽 之	厚生労働省 国立循環器病センター研究所名誉所長
大 石 武	前明治薬科大学 学長
岡 村 高 幸	科学技術振興事業団 大阪科学技術センター特許主任調査員
広 瀬 茂 久	東京工業大学 大学院生命理工学研究科生体システム専攻教授
研究参加者	
石 黒 正 路	(協)サントリー生物有機科学研究所 部長
磯 山 正 治	(協)蛋白質研究奨励会 情報管理室長
寒 川 賢 治	厚生労働省 国立循環器病センター研究所生化学部長
久 保 泰	独立行政法人産業技術総合研究所 脳神経情報研究部門グループ長
高 尾 敏 文	大阪大学 蛋白質研究所有機化学部門助教授
芳 賀 達 也	学習院大学 理学部生命分子科学研究所教授
花 井 荘太郎	厚生労働省 国立循環器病センター研究所脈管生理部室長
水 島 洋	厚生労働省 国立がんセンター研究所がん情報研究部室長
南 野 直 人	厚生労働省 国立循環器病センター研究所研究機器管理室長

(注：○は運営委員長)