

# 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

研究代表者：南野 直人（厚生労働省国立循環器病センター  
研究所）

## I 試験研究の全体計画

### 1. 研究の趣旨

科学技術基本計画において、科学技術に関するデータベースの整備、研究資源データベース化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、「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確保の重要性が明示されている。

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」に示されているように、配列構造が発表されたヒトゲノム研究成果を活用するためには、その実像であるペプチドや蛋白質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。蛋白質については欧米を中心に「プロテオーム計画」としてデータベース化が開始されている。これに対し、ペプチドはホルモン、循環調節因子、神経伝達因子等として情報伝達や制御に重要であるが、存在量が少ない上に処理過程で容易に分解されるなどの問題から、データベース化は困難と考えられてきた。過去20年余りにわたるペプチド研究から、抽出や精製段階における分解を抑制すれば、生体内ペプチドの実態を正確に把握できることが分かってきた。また、ペプチド機能の理解には一次構造の比較だけでは不十分で、むしろ機能分子として疎水性、電荷、分子量などの物性を基準に整理し、構造、活性、存在量などの情報を付加することにより、多様な比較や検索が可能なデータベースを構築できる可能性を見出した。一方、バソプレシンの発見以来50年が過ぎようとしているが、各動物で構造決定されたペプチドは数百に過ぎず、数万を超えるペプチドの同定は、ペプチド研究に新局面を開くものと考えられる。

これらの情報に基づき、ペプチドを生体内に内在する形で取り出し、規格化された方法により分離、同定し、分離過程で得られる物性を基準に登録し、化学構造、生物活性、存在量、立体構造、受容体などの情報を包括的に収納し、多様なニーズに答える利用価値の高いファクト・データベースの構築を計画、開始した。「ペプチドーム」と名付けた本データベースの構築は、生体をペプチドという視点から検証するものとなり、ペプチドの情報伝達、制御機構の解

明はそのまま創薬、診断・治療法などの開発を目指す医学、薬学、生物学研究の強力な知的基盤となるもので、ゲノム情報を活用するためにも実施せねばならない課題である。

本目的を達成するため、第Ⅰ期に実施した抽出、分離、構造決定方法の開発、高感度ペプチド活性測定法の開発、データ収納方法、検索方法を更に高度化し、Ⅱ期終了時まで、

- 1) 20,000のペプチドを諸物性により系統的に分離、データベース化し、
- 2) 1,000のペプチドの構造を決定する。

この目標を達成し、「ペプチドーム」データベースがペプチドに関する標準データベースとして世界の研究者に幅広く使用されることを目標に、第Ⅱ期においては以下の研究開発を行う。

- ① 生体内ペプチドの抽出、分離、構造決定方法を高度化し、物性、構造情報の測定、解析を標準化、自動化する方法やペプチド混合物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、受容体との結合活性などを高感度、高効率に測定する方法や、受容体との相互作用や立体構造の予測法を研究開発する、
- ③ 研究者が自由にデータを登録、利用でき、生体内ペプチドの情報を研究者の多様なニーズに合わせて効率的に閲覧、検索できる機能的データベースの構築法を研究開発する。

### 2. 研究の概要

#### 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の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）

生体内ペプチドを抽出分離、精製する方法を確立したので、これを自動化すると共に、ペプチドの物性（疎水性、電荷、分子量等）情報や構造情報の測定や解析の標準化、自動化法、高感度な構造決定法の研究開発を行い、データベース構築に必要な高度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）

混合物状態の生体ペプチドの微量構造解析法を確立した

ので、さらに質量分析法による超微量構造解析法の開発を進めるとともに、網羅的かつ多量の構造情報の収集、蓄積と解析が自動的に行えるシステムを開発する。

## 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や機能、受容体などの情報を高感度に測定、収集する方法を研究開発するとともに、立体構造や受容体との結合構造を予測する方法を研究開発し、データベース構築、活用に必要な生物活性関連情報の包括的な収集を可能とする。

### (1) 培養細胞とオーファン受容体を活用し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）

培養細胞を用いた活性測定法の高感度化と多試料処理化を可能としたので、さらに効率的かつ系統的に検索できる方法論を開発する。また、オーファン受容体発現系と活性測定法を組み合わせたリガンド検索系を開発し、組織抽出物に適用した結果をデータベースに登録すると共に、機能解析にまで発展させる。

### (2) 機能蛋白質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（産業界技術総合研究所）

作製した受容体等の機能蛋白質の特異的発現細胞系、細胞に対する分化発生誘導系などの活性測定系を用いて、生体内ペプチドの高感度活性検出システムを開発する。これらに対して活性を有するペプチドを検索し、その情報をデータベースに登録可能とする。

### (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（学習院大学理学部）

生体内に存在するペプチド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した。これを活用して、生体内のペプチド画分を網羅的に検索し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（奨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、一次構造より分子動力学法による溶液構造、受容体構造モデルからの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

本研究で収集される生体内ペプチドの多様な情報を効率的に収納可能とするとともに、ユーザに優しく、既存のデータベースと一体化して利用可能で、ニーズに応じた知的検索や発見などが可能となるデータベース構築方法を研究開発する。

### (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。生体内ペプチドを分子量、疎水性、電荷などの物性により登録し、構造情報はじめとする多様な情報とともに効率的に収納するシステムを開発し、幅広く検索、活用可能なデータベース構築法を研究する。

#### 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（奨蛋白質研究奨励会）

本研究で得られる基本情報に加え、質量スペクトル、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可能で、一般研究者が研究成果を容易に登録できるデータベースを開発する。修飾構造などペプチド固有の構造や性質の普遍的表記法、文献データベースなどからの効率的な情報収録方法も研究開発すると共に、修飾情報や構造データベースの構築を行う。

#### 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する枠組みを作製したので、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やマイニングが可能な手法を開発する。将来の拡張性も確保しつつこれらを統合し、生体内ペプチド研究に適合した機能的データベースの構築方法を研究する。

### (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）

各種データベースの調査結果に基づき、生体内ペプチドのファクトデータベースの特徴を生かしつつ、既存データベースと連携する方法、入出力データの表現方法、情報の提供方法などを研究し、他の国際的データベースと連携した活用が可能で、ペプチドの世界標準となるようなデータベースの構築法を研究開発する。

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					
	分離方法と物性情報測定法の確立・普遍化			物性情報収集システムの開発		
	構造決定法の高感度化と粗いデータベースの構築					
	ブタ, マウスペプチドの高度データベース構築情報の収集					
	ピコモルレベルの生体内ペプチドの質量分析					
	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					
	研究のとりまとめ					
	微量試前処理及び分離法の開発			多検体の高度質量分析データ収集法の開発		
	質量分析の高感度化					
	(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	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						
質量データベース検索用ツールの開発						
フェムトモルレベルの生体内ペプチドの分析						
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) 培養細胞とオーファン受容体を活用した生物活性と機能解析に関する研究		多種類の培養細胞の入手, 確立				
		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				
		オーファン受容体発現系の構築とスクリーニング				
		(2) 機能蛋白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	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					
	発現cDNAライブラリーの構築とペプチドの産生					
	生体内ペプチドに対する生物活性の系統的検索					
	ペプチドの物性・生物情報の収集とデータベース登録					
(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					
	シグナルシーケンストラップ法による新規ペプチドの検索					
	オーファン受容体のクローニングと発現系の確立					
	生体内ペプチドのスクリーニングと機能解析					
	研究のとりまとめ					
	(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				
		NMR, 分子動力学法による立体構造の解析			水溶液中での分子動力学による立体構造解析	
		受容体結合構造のモデリング			活性型受容体とペプチド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 (1) 生体内ペプチドのデータベース構築に関する研究	ペプチドの立体構造データベースの作成			
未知ペプチドの立体構造解析						
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			実験データの効率的収集と情報管理法の検討			
データベース利用方法の検討						
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			データベースの一般化方法の研究			

研究項目	11年度	12年度	13年度	14年度	15年度
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録項目の整理体系化				データベースシステムの構築
		ファクトデータベース及び検索エンジンの設計・試作			
(2) 他のデータベースとの連携に関する研究			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		
			データマイニングを目指したシステム開発		
4. 研究運営	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その連携作業と考察		
		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
所要経費(合計)	200百万円	226百万円	242百万円	242百万円	237百万円

## II 平成15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) 培養細胞系とオーファン受容体を活用し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	鯛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	鯛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	鯛蛋白質研究奨励会	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	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	

(注：◎は研究代表者)

### Ⅲ 運営委員会

委 員	所 属
〔外部評価者〕 ○松尾 壽之 大石 武 広瀬 茂久 岡村 高幸	宮崎医科大学 学長（厚生労働省 国立循環器病センター研究所 名誉所長） 前明治薬科大学 学長 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 ㈱科学技術振興機構 大阪科学技術センター 特許主任調査員
〔研究参加者〕 南野 直人 寒川 賢治 花井 荘太郎 水島 洋 久保 泰 芳賀 達也 高尾 敏文 磯山 正治 石黒 正路	厚生労働省 国立循環器病センター研究所 薬理部長 厚生労働省 国立循環器病センター研究所 生化学部長 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, 運営部調査課 高度情報専門官(併任) 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 ㈱産業技術総合研究所 脳神経情報研究部門 グループ長 学習院大学 理学部生命分子科学研究所 教授 大阪大学 蛋白質研究所附属プロテオミクス総合研究センター 教授 ㈱蛋白質研究奨励会 情報管理室長 ㈱サントリー生物有機科学研究所 部長

(注：○は運営委員長)