

目 次

プロローグ ポストゲノム時代を迎えて.....	1
第1章 タンパク質科学の基礎.....	5
1.1 タンパク質の立体構造情報はアミノ酸配列中に隠されている.....	5
1.2 アミノ酸配列からタンパク質の骨格構造を予測するデータベースの構築.....	18
1.3 タンパク質の立体構造を知る.....	25
1.4 タンパク質の機能を知る.....	56
第2章 医学・医療・薬学分野に貢献するタンパク質の構造と機能.....	69
2.1 癌攻略を担うタンパク質：癌細胞のアポトーシスに抵抗する生存シグナル.....	69
2.2 癌に挑むタンパク質：メチオニン γ -リアーゼ	79
2.3 メラニン色素をつくるタンパク質：チロシナーゼ.....	85
2.4 溶血性貧血・アトピーの治療に活躍するタンパク質：スフィンゴミエリナーゼ.....	91
2.5 病原菌の戦略：プロリン含有タンパク質を破壊する分解酵素.....	99
2.6 抗生物質を無毒化するタンパク質.....	106
2.7 各種不随意運動の治療に用いられている最強の毒素：ボツリヌス毒素.....	113
2.8 脳の高次機能発現にかかわるD-セリンを合成する酵素：セリンラセマーゼ	125
第3章 臨床診断に貢献する酵素の構造と機能.....	133
3.1 腎機能を知るためのタンパク質.....	133
3.2 食物の消化酵素がカルシウム定量に使える：ホスホリパーゼA ₂	140
3.3 肝機能を知るためのグルタミン酸酸化酵素と中性脂肪を知るためのグリセロールキナーゼ	147
第4章 産業の発展に貢献できるタンパク質.....	159
4.1 花色改変技術への期待：アントシアニンアシリ基転移酵素の機能と構造.....	159
4.2 超好熱菌由来酵素を創薬に利用：2-デオキシ-D-リボース-5-リン酸アルドラーーゼ	169
4.3 医薬中間体の合成に酵素を利用： Δ^1 -ピペリデイン-2-カルボン酸/ Δ^1 -ピロリン-2-カルボン酸レダクター.....	175

4.4 バイオセンサー素子としてのアミノ酸脱水素酵素の構造と機能	184
4.5 血中尿酸センサー開発に向けた耐熱型ウリカーゼの創出	191
第5章 タンパク質の特許戦略	201
5.1 はじめに	201
5.2 特許制度の歴史	201
5.3 特許出願と特許化までのプロセス	202
5.4 特許の登録要件	203
5.5 タンパク質の特許事例	205
5.6 終わりに	211
第6章 注目されるシステムバイオロジーの世界	213
6.1 2-ハロアクリル酸レダクターゼ	213
6.2 自然界から有用酵素を収集する方法：イソニトリル代謝関連酵素群	220
6.3 プリンスクレオチド生合成系：丸ごと解析	227
6.4 ビタミンのバイオ合成：ビタミン B ₆ 分解系酵素	234
6.5 代謝系タンパク質群の機能発現の構造基盤	244
エピローグ	255
索引	257

執筆者一覧

編 集

倉光成紀（大阪大学大学院理学研究科）

杉山政則（広島大学大学院医歯薬学総合研究科）

担当執筆者（執筆順）

倉光成紀（前掲）1.1, 1.4

増井良治（大阪大学大学院理学研究科）1.1.1, 1.1.2

田中容子（大阪大学大学院理学研究科）1.1.3

川端 猛（奈良先端科学技術大学院大学情報科学研究科）1.2

中川紀子（大阪大学大学院理学研究科）1.3.1, 1.3.2, 1.3.3

若松泰介（大阪大学大学院理学研究科）1.3.1

大賀拓史（大阪大学大学院理学研究科）1.3.2

井上真男（大阪大学大学院理学研究科）1.3.3

杉尾成俊（ゾイジーン株式会社）1.3.4

山本雅貴（理化学研究所）1.3.5

矢野貴人（大阪医科大学医学部）1.4

藤田直也（財団法人癌研究会・癌化学療法センター）2.1

稻垣賢二（岡山大学大学院自然科学研究科）2.2, 3.3

田村 隆（岡山大学大学院自然科学研究科）2.2, 3.3

的場康幸（広島大学大学院医歯薬学総合研究科）2.3, 2.6, 3.2

熊谷孝則（広島大学大学院医歯薬学総合研究科）2.3, 2.6, 3.2

杉山政則（前掲）プロローグ, 2.3, 2.6, 3.2, エピローグ

小田真隆（徳島文理大学薬学部）2.4

津下英明（徳島文理大学健康科学研究所）2.4, 4.2, 4.4

櫻井 純（徳島文理大学薬学部）2.4

中嶋義隆（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科）2.5, 3.1

伊藤 潔（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科）2.5, 3.1

芳本 忠（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科）2.5, 3.1

野田正文（広島大学大学院医歯薬学総合研究科）2.6
小熊恵二（岡山大学大学院医歯薬学総合研究科）2.7
西河 淳（東京農工大学大学院共生科学技術研究院）2.7
宮原郁子（大阪市立大学大学院理学研究科）2.8
三原久明（京都大学化学研究所）2.8, 4.3
広津 建（大阪市立大学大学院理学研究科）2.8, 4.3
江崎信芳（京都大学化学研究所）2.8, 4.3, 6.1
中山 亨（東北大学大学院工学研究科）4.1
田中良和（サントリー株式会社）4.1
海野英昭（長崎大学工学部）4.1
楠木正巳（大阪大学蛋白質研究所）4.1
大島敏久（九州大学大学院農学研究院）4.2, 4.4
櫻庭春彦（徳島大学大学院ソシオテクノサイエンス研究部）4.2, 4.4
後藤 勝（大阪市立大学大学院理学研究科）4.3
日弁隆雄（福井県立大学生物資源学部）4.5
西矢芳昭（東洋紡績株式会社敦賀バイオ研究所）4.5
前川宜彦（大阪大学大学院理学研究科）5章
栗原達夫（京都大学化学研究所）6.1
近江理恵（大阪市立大学大学院理学研究科）6.1
橋本義輝（筑波大学大学院生命環境科学研究科）6.2
小林達彦（筑波大学大学院生命環境科学研究科）6.2
三瓶嚴一（電気通信大学量子・物質工学科）6.3
河合剛太（千葉工業大学工学部）6.3
八木年晴（高知大学農学部）6.4
竹中章郎（東京工業大学大学院生命理工学研究科）6.5
角田 大（昭和大学薬学部）6.5
内田 朗（東邦大学理学部）6.5
佐藤浩之（東邦大学理学部）6.5
鈴木 薫（いわき明星大学科学技術学部）6.5
天野仁司（福島工業高等専門学校）6.5
伏信進矢（東京大学大学院農学生命科学研究科）6.5
若木高善（東京大学大学院農学生命科学研究科）6.5
関口武司（いわき明星大学科学技術学部）6.5

プロローグ

ポストゲノム時代を迎えて

動植物や微生物など、地球にいる生物はすべて細胞単位で構成されている。たった1個の細胞からできている生物の代表は細菌である。細菌の細胞内には、染色体DNAや酵素を始めとする生体高分子や、タンパク質合成工場としてのリボソームなどが認められる。これらは細胞膜で取り囲まれた細胞質内に存在しているが、細胞の内圧は十数気圧にも達するので、この構造のみでは、過剰に空気を入れられた風船のごとく、破裂してしまう。それを避けるために、細胞膜は細胞壁で取り囲まれている。私たちに最も身近な細菌といえば、腸内にいる大腸菌であろう。興味深いことに、この細菌の細胞壁の周りはさらに外膜で覆われている。もっとも、黄色ブドウ球菌や納豆菌のように外膜のない細菌も存在している。

分子遺伝学ではK12株と名づけられた大腸菌が実験材料としてしばしば用いられるが、その菌株の全ゲノムが解析された結果、染色体サイズは4.64 Mbで、この中に4,289個の遺伝子が載っていることが明らかとなった。ところが、同じ大腸菌でも、腸管出血性大腸菌O-157株の染色体は、K12株のそれに比べて少し大きく5.5 Mbのサイズで、遺伝子数は5,349個であった。一般的なタンパク質の粒子のサイズは数十から数百Å程度であり、この数値は可視光線の波長よりはるかに小さい。その結果として、タンパク質像を光学顕微鏡で拡大して捉えることは原理的に不可能である。

高等な生物になると、複数個の細胞が集まって組織をつくる。その組織が複雑に組み合わさったものが個体である。たとえば、ヒトは60兆個もの細胞が集まって個体をつくっている。ところで、1990年代初期にヒトゲノム計画がスタートした。国際的にチームをつくりてヒトゲノムの全塩基配列を解読しようとする試みだ。2003年の春、ヒトゲノムが完全に解読された結果、総塩基配列数は約30億塩基対、遺伝子総数は約22,000個であることがわかった。ゲノム解読後にはどんな研究が待っているのか。ポストゲノム時代に突入した今、生命科学者たちは、それぞれ興味を抱いた遺伝子の機能を解明しようと日夜努力している。その生物に特有な遺伝子の発現調節メカニズムも興味深い研究対象となっている。医薬品関連企業に勤めている研究者は、われ先にと疾患関連遺伝子を見つけることに奮闘しており、見つかれば、すぐに特許化しようと意気込んでいる。今後、疾病にかかる遺伝子の構造と機能の解析、薬の標的となる遺伝子の探索、医薬品の有効性・安全性にかかる遺伝子の研究などが、間違いなく推進されていくであろう。

DNAの塩基配列に基づき、その情報がRNAとして写しとられる。できたRNAはメッセンジャー

RNA (mRNA) と呼ばれ、リボソームが結合することでタンパク質合成がスタートする。つくられたタンパク質は、最初、アミノ酸が連なったひも状である。それが最終的には機能を発揮するために特定の立体構造をとる。それぞれのタンパク質の立体構造情報はそのタンパク質を構成するアミノ酸の並び方に隠されているはずだが、その法則は今のところわかっていない。その法則性を見いだすためにも、できるかぎり多くのタンパク質の立体構造を解明し、アミノ酸配列と構造との相関性を調査していく必要がある。

今や、大腸菌を宿主とした発現系を用いれば、組換えタンパクの大量生産と精製が容易にできるシステムが開発されている。タンパク質の立体構造を決定するには、X線構造解析に必須なタンパク質の結晶化が必須であるが、現在では、いろいろな沈殿剤やその濃度を変えた結晶化検討キットが発売されたおかげで、昔に比べればかなり楽になっている。さらに、今では「放射光」という、強力で波長選択可能なX線光源が利用できるようになったことに加え、多波長異常分散法（MAD法）という位相法が開発されたこと、セレノメチオニン化したタンパク質の利用法が開発されたことなど、新しい解析技術が登場したことにより、1990年以降、構造解析の能力は指数関数的に増加している。さらに、回折強度データの処理、位相決定、構造精密化などのプロセスが飛躍的に進歩し、かつ、グラフィックス技術やコンピュータの性能も格段に向上了ってきた。そのようなことから、プロテインデータバンク（PDB：<http://www.rcsb.org/pdb/>）に登録されるタンパク質の立体構造数は増加の一途をたどっている。

ところで、生物がつくる生体高分子、特に、タンパク質や核酸の立体構造を研究する学問を構造生物学（Structural biology）と呼んでいる。現実には、タンパク質の立体構造から、その機能を議論することが多い。タンパク質が特定の立体構造をとることによって、そのタンパク質に特有の機能が生ずる。換言すれば、タンパク質が機能をもつためには折りたたまれて特異的な3次元構造をとることが必要であり、それをタンパク質のフォールディングと呼んでいる。ちなみに、折りたたまれたあとの構造はフォールドと呼ばれている。タンパク質には1,000種類ほどのフォールドがあると推定されており、それをすべて決定しようと立ち上がった結果、先進国に構造生物学的研究プロジェクトが誕生した。

わが国では2002年度から5年間の計画として、『タンパク3000プロジェクト』がスタートした。このプロジェクト名がついた背景には、機能の異なるタンパク質が10,000程度あると仮定し、その1/3の構造解析をわが国で担当しようとの考え方があったようだ。なお、このプロジェクトは文部科学省の新世紀重点研究創生プランの一環でもある。本プロジェクトは国内9カ所の研究機関を拠点として行われ、全体が大きく二つに分かれている。一つは理化学研究所で実施され、ここではハイスループット法を用いてタンパク質の網羅的構造解析がなされた。他方、8カ所の中核機関が個別的構造解析を実施した。このプロジェクトには、わが国を代表する、ほとんどのタンパク質構造解析研究者が参画している点が特徴である。個別解析プログラムとして、発生・分化とDNAの複製・修復（東京大学）、転写・翻訳（北海道大学）、もう一つの転写・翻訳（横浜市立大学）、翻訳後修飾と輸送（高エネルギー加速器研究機構）、タンパク質高次構造形成と機能発現（京都大学）、細胞内シグナル伝達（北海道大学）、脳・神経系（大阪大学）および代謝系（大阪大学）といった八つのグループがあった。

さて、プロジェクトが実施され、タンパク質の構造が立体レベルでわかると、どの部分が機能を発揮するのに重要な部分か、ある程度予想できる。さらに研究が進んで、タンパク質の機能と立体構造との相関関係が明らかになると、生体内でのタンパク質の役割を人為的に制御するための医薬品の開発が進めやすくなる。タンパク質の立体構造をなぜ決めるのかという問い合わせに対し、実は、そうした医薬品の開

発を進めるためであると返答しても、間違ってはいない。

『タンパク 3000 プロジェクト』におけるターゲットタンパク質は、原核生物由来のものと高等真核生物由来のものに大別できる。代謝系グループ（代表者：大阪大学の倉光教授）では、微生物が產生する生理活性物質の生合成にかかわる酵素、核酸や多糖類といった生体高分子の生合成を担う酵素、さらにはエネルギー代謝に關係するタンパク質などについて、それらの構造と機能について解析を進めてきた。このグループで研究材料となる微生物は、おもに、病原微生物、好熱細菌、低温菌、放線菌などである。

タンパク質を原子レベルで構造解析するにはX線回折法はきわめて有用で、かつ、重要な手法である。その詳細は後述するが、X線回折・散乱を用いた構造生物学は放射光X線施設の充実により、過去20年のあいだに、単にタンパク質の構造を決める科学から構造と機能とを結びつける科学へと進歩していった。本書を通して、この流れを読者に伝えたいとの思いで執筆した。

本書を出版した理由の一つは、『タンパク 3000 プロジェクト』の代謝系グループの研究成果を整理し、次のステージへ橋渡しするためでもある。代謝系グループでは、平成14年度にスタートした本プロジェクトにおいて、医薬・医療に貢献可能なタンパク質や産業上有用なタンパク質の構造解析を行っており、これらタンパク質に関連した特許も50件以上出願している。これらの成果をもとに、ポストゲノム時代のタンパク質の構造生物学とその未来像について語る。

最近、緒についたばかりだが、生命現象をシステムとして理解することを目的に、システム生物学（システムバイオロジー、Systems biology）という学問分野に関心が集まっている。この学問分野は黎明期にあるが、代謝系グループにあって、システムバイオロジー分野で成果を挙げつつある研究グループの研究内容も、本書を通じて紹介する。