

専門技術：生物工学部門

構造ゲノム科学の進展とその応用

Evolution and Application of Structural Genomics

柿谷 均

Kakidani Hitoshi

世界中を大いに沸かせたヒトゲノムの解読が終了し、現在「ポストゲノム」と呼ばれる研究開発が進展している。本稿ではゲノム解析とタンパク質の立体構造解析をベースとした構造ゲノム科学に関してその現状と将来展望を述べる。また構造ゲノム科学の応用として注目されているゲノム創薬を解説し、肥満に関連した受容体分子について筆者が得た知見を紹介する。

Having finished the world-booming human genome project, biotechnologists are developing new science and technologies, collectively called "post-genome". In this article structural genomics, which is based on genome analysis and structural analysis of proteins, is reviewed in terms of current status and future prospects. Additionally genome-based drug discovery, which is considered primary application field of structural genomics, is described with author's finding on an obesity-related receptor molecule.

キーワード：構造ゲノム科学，ポストゲノム，タンパク質，立体構造解析，ゲノム創薬

1 はじめに

2000年6月、国際コンソーシアムと米Celera Genomics社からそれぞれヒトゲノム^{*1}のドラフト（概要）配列を解読したとの発表があり、世界は大いに沸いた。3年後の2003年4月にはヒトゲノムの解読終了宣言が出され、生物学のアポロ計画と呼ばれたヒトゲノム計画はここに一応の終結をみた。ゲノムの塩基配列を「読む」という狭義のゲノム科学はすでに過去のものとなり、ゲノムをどう「解釈」し、「利用」するかという観点からの新たな科学と技術が進展している。これらは集合的に「ポストゲノム」と呼ばれることが多い。

2 ポストゲノムの中の構造ゲノム科学

ポストゲノムの科学と技術はヒトゲノム計画と並行して進められていたが、ヒトゲノム計画の終了と共ににわかにクローズアップされた感がある。ポストゲノム時代の技術動向は3つに大別される(図1)。ひとつは「各種のゲノム計画」であり、様々な生物種のゲノムを解読・解析する流れをいう。この目的はヒトのモデル動物(マウス、チン

パンジーなど)を調べてヒトゲノムや疾患の理解に役立てようとするもの、病原菌の理解を深めて感染症予防に役立てようとするもの、植物の生育や病虫害耐性を高めて食糧増産につなげようとするもの、有用な酵素源を探索して環境調和型の化学反応プロセスを構築しようとするものなど、多岐にわたっている。二つ目は「機能ゲノム」であり、遺伝子の同定、遺伝子機能の推定、発現プロファイルの解析、疾患の原因解明など多くの課題が含まれる。三つ目の「構造ゲノム」はタンパク質を中心とした生体高分子の構造解析をゲノム情報と関連づけながら進めようとするものであり、「機能ゲノム」に比べると課題はかなり限定されているが、ゲノム創薬の基盤技術として極めて重

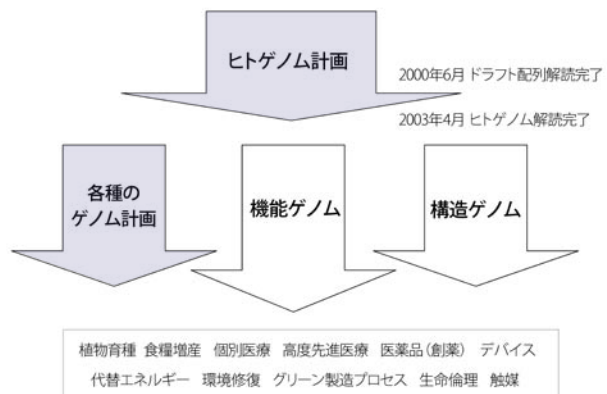


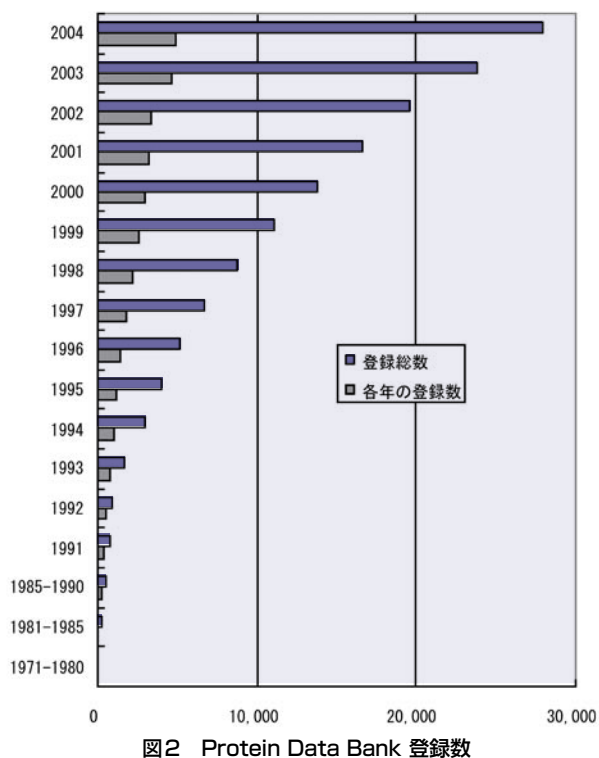
図1 ポストゲノム時代の技術動向

* 1 ヒトがもつ遺伝情報の全体。約 30 億塩基対よりなる。

要なものになっている。

3 構造ゲノム科学の背景

タンパク質の立体構造解析の歴史は長く、構造解析データの管理・配布機関であるProtein Data Bank (略称PDB, アメリカ) が設立されたのは1971年にさかのぼる。以後約20年間タンパク質や核酸の立体構造解析はごく一部の研究者に委ねられており、またその利用はほとんどの場合学術的なものであったために、社会的に注目されることは少なかった。しかしながらこの間タンパク質科学は大きく発展し、また製薬企業は薬の作用点という観点からタンパク質の立体構造に強い関心を持ち始めた。1990年代に入ると立体構造解析は世界中で盛んに行われるようになり、PDBに登録された立体構造の数は2004年12月時点において3万近くに上っている。(図2)



4 構造ゲノム科学の現状と応用領域

4.1 現状

タンパク質はドメインと呼ばれる構造的に独立した領域から成り立っていることが多く、機能やアミノ酸配列の点では離れた関係にあるタンパク質であってもしばしば類似のドメイン構造を持っ

ている。またドメインを形成するポリペプチド*²の折りたたまれ方をフォールドというが、フォールドの基本形は物理化学的な理由から有限な数に収束すると考えられている。構造ゲノム科学のひとつの目的はこうしたフォールドの基本形をゲノム規模にわたって網羅しようというところにある。2000年に英国で構造ゲノム科学に関する初の国際会議が開かれ、それまで各国で個別に進められていた構造解析を見直し、お互いに重複を避けて新たなフォールドの発見に振り向けようとの合意がなされた。日本は理化学研究所(理研)が中心になってこの取組みに参画し、X線結晶解析装置とNMR(核磁気共鳴)装置を駆使して5年間で3,000種のタンパク質の立体構造を解明するというプロジェクトが2002年にスタートしている(「タンパク3000プロジェクト」)。このプロジェクトにおいては強力な放射光を利用してX線構造解析を行う理研播磨研究所と大型のNMR装置を多数設置して大規模な解析を行う理研ゲノム科学総合研究センターが二大拠点となっている。2004年末時点ですでに1,000以上のタンパク質の構造データをPDBに登録しており、国際的にも高い評価を得ている。

蓄積された膨大な構造情報をもとにタンパク質の構築原理を導き出し、未知構造を予測するような生命情報科学(バイオインフォマティクス)領域の研究も盛んに行われている。日本における代表的な研究拠点は前述した理研ゲノム科学総合研究センターや産業技術総合研究所臨海副都心センターなどである。

4.2 応用領域

構造ゲノム科学の応用領域として現在最も注目を集めているのはゲノム創薬であろう。ゲノム創薬とはヒトゲノムの配列情報を利用して新しい医薬品を見出そうとする試みであり、現在ほとんどの大手製薬企業は研究開発にこの概念を取り入れている。ゲノム創薬に含まれる技術課題は広範囲に及ぶが、その中でも特にタンパク質の立体構造情報を活用するアプローチは構造ゲノム科学の進

* 2 アミノ酸がペプチド結合で重合した構造体。

歩によって可能になった刺激的な領域である。薬剤の標的タンパク質の立体構造が明らかになっている場合だけでなく、構造が未知であってもゲノム情報から立体構造を予測して、作用する低分子リガンド（受容体に作用する物質）を設計することが可能になっている。このプロセスを支援するパッケージソフトウェアの開発が盛んに行われており、またソリューションを提供するベンチャー企業も出現している。

構造ゲノム科学は様々なバイオテクノロジーの課題を解決するための基盤技術となりつつあり、その意味で応用領域はゲノム創薬にとどまらず、むしろポストゲノムが目指す方向のすべてに関与している(図1)。その中で構造ゲノム科学が主役を演じているものとしてゲノム創薬をあげることができるが、今後はタンパク質の設計という面での技術開発が進み、現在のタンパク質工学の枠を超えたバイオ機能素子の創製に向かうものと期待される。この領域でブレークスルーが達成された場合には、エレクトロニクスなどの新しい領域で実用化に向けた技術開発が活発になると予想される。

5 ゲノム創薬のホットスポットGPCR

5.1 GPCR とは

現時点において最も注目されているゲノム創薬の標的としてGPCR (Gタンパク質^{*3}共役受容体) をあげることができる。GPCRは7回膜貫通型の膜タンパク質であり、細胞外で低分子化合物の存在を検知し、その信号を細胞内のGタンパク質に伝達する。これが注目されている理由は、現在ある医薬品の40%以上がGPCRを標的としていることにある。この中にはアレルギー性鼻炎治療薬である抗ヒスタミン剤（一般名ロラタジン）などが含まれる。

ヒトゲノムの解読により、GPCR類縁の遺伝子は1,000近くも存在することが明らかになった。このうち約半数は偽遺伝子^{*4}であり、残りの大部分はにおい受容体であると推測されているが、機能不明のものも多い(オーファン受容体)。既に医薬品の作用点として重要であることが知られている受容体に加え、オーファン受容体もゲノム創

薬の対象としてその機能解明が進められている。

5.2 ヒト β_3 アドレナリン受容体

神経伝達物質であるアドレナリンを信号として受け取る受容体には α と β という二つのタイプがある。これらはいずれもGPCRであるが、 β にはさらに β_1 、 β_2 、 β_3 という三つのサブタイプが存在し、このうち β_3 アドレナリン受容体は脂肪細胞表面にあって肥満や糖尿病に関わっていることが最近明らかにされた。以下にヒト β_3 アドレナリン受容体に関して、構造ゲノム科学の成果を利用して筆者が行った解析を簡単に紹介する。

β_3 アドレナリン受容体に関して現在ウェブ上で様々な情報を入手することができるが、リガンドを結合する領域の構造は未知である。そこで構造既知の受容体であるウシロドプシンを鋳型とした構造モデルの作製を行った。方法としては国立遺伝学研究所が提供しているDDBJウェブサーバを利用してウシロドプシンとヒト β_3 アドレナリン受容体の配列アラインメント^{*5}を作成し、これをスイスにあるSwiss Institute of Bioinformaticsが提供しているSWISS-MODELウェブサーバに問い合わせることによって行った。こうして得ら

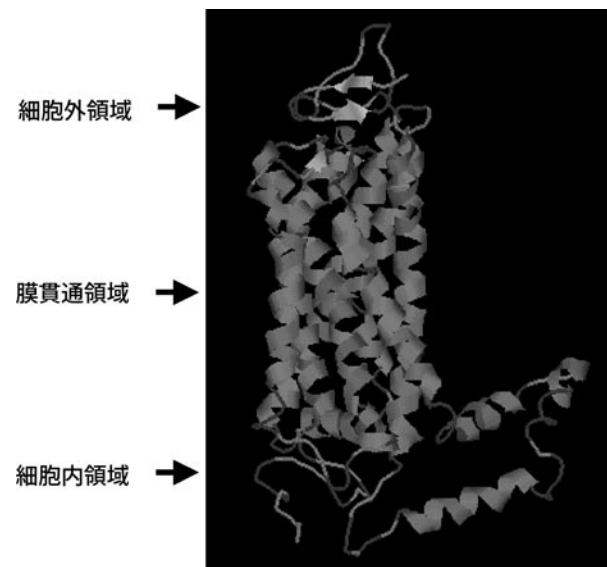


図3 ヒト β_3 アドレナリン受容体モデル

- * 3 生体内の信号伝達に関わるタンパク質のうち、GTPと結合する性質をもつものの総称。
- * 4 既知の遺伝子の塩基配列とよく似ているが、機能を持っていないDNA。
- * 5 構成単位（アミノ酸）が対応するように複数の配列を並べること。

れたモデル構造を図3に示す。

β_3 アドレナリン受容体に対する強力なアゴニスト*⁶として図4に示すN-5984がある。この化合物は β_1 および β_2 アドレナリン受容体に作用しないことから興味深い化合物であるが¹⁾、受容体との結合様式は知られていない。そこでドッキング用ソフトウェアAutoDock 3.0²⁾を用いて結合位置の推定を行った。その結果N-5984

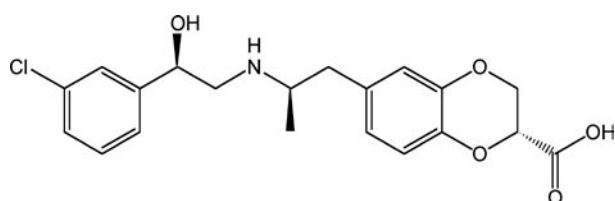


図4 N-5984の化学構造

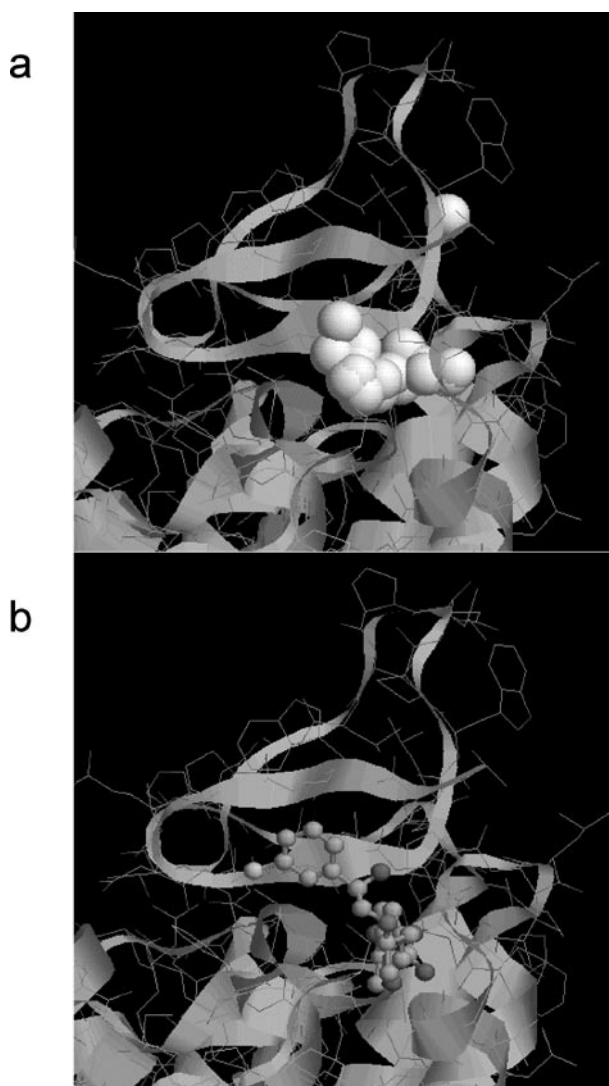


図5 N-5984の推定結合位置

- a 20カ所の候補位置 (分子の重心を球で表示)
b ドッキング最安定構造

が結合する可能性のある部位が複数示されたが、それらの多くはドッキング最安定構造の周辺に集中していた (図5)。ドッキング最安定構造から推定された解離定数は390nMであり、実験的に得られた有効濃度よりは10倍以上高かったものの、シミュレーション結果としては良好であった。この解析結果をもとにして、さらに結合力の強い化合物や特定の受容体に対する特異性の高い化合物を設計することができる。

6 おわりに

構造ゲノム科学は日進月歩の状態にあり、その成果は一般にも公開されている。タンパク質は構造の揺らぎが機能発現に重要であることから、厳密なシミュレーションを行おうとすると大きな計算能力を必要とするが、今日ではウェブ上で提供されている様々な解析ツールを利用することにより、手元のパソコンでも多くの有用な情報が得られるようになっている。

構造ゲノム科学を身近なものにとらえ、日々の研究開発活動に役立てていただくと幸いです。

<引用文献>

- 1) T. Yanagisawa et al.: Selectivity and potency of agonists for the three subtypes of cloned human beta-adrenoceptors expressed in Chinese hamster ovary cells, *Tohoku J. Exp. Med.* 192 (3), pp.181-193, 2000
- 2) G. M. Morris et al.: Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function, *J. Comput. Chem.* 19 (14), pp.139-1662, 1998

柿谷 均 (かきだに ひとし)
技術士 (生物工学部門), 理学博士

(財)相模中央化学研究所 酵素工学 GL
東ソー(株) 東京研究所 主席研究員



* 6 作動薬。受容体に結合してその動きを促す。