11:00〜11:10 主催者挨拶　文部科学省

【座長】五條堀 孝（国立遺伝学研究所）

11:10〜11:40 **ターゲットタンパク研究プログラムが目指すもの**
別府 輝彦（日本大学）

11:40〜12:25 **カルシウムシグナリングと生命現象：タンパク質構造からメカニズムの解明にむけて**
伊倉 光彦（トロント大学）

12:25〜13:40 休憩＆ポスターセッション1

【座長】月原 冨武（大阪大学）

13:40〜14:20 **タンパク質の合成と結晶化の技術：高難度タンパク質解析のボトルネックに挑む**
横山 茂之（理化学研究所）

14:20〜15:00 **放射光X線タンパク質構造解析の課題と展望**
若槻 壮市（高エネルギー加速器研究機構）

【座長】植田 弘師（長崎大学）

15:00〜15:40 **タンパク質の制御化合物の創製**
—ターゲットタンパク研究プログラムの社会還元を目指して—
長野 哲雄（東京大学）

15:40〜16:25 休憩＆ポスターセッション2

16:25〜16:55 **核酸による自然免疫制御とワクチン開発**
石井 健（大阪大学微生物病研究所）

【座長】米田 悦啓（大阪大学）

16:55〜17:25 **プロテアソームの分子集合機構の解明**
—どのように巨大で複雑な複合体は形成されるか？—
田中 啓二（東京都臨床医学総合研究所）

17:25〜17:55 **化学工業を変える**
—産業用酵素の探索・開発と高機能化—
清水 昌（京都大学）

17:55〜18:00 閉会の挨拶　文部科学省

18:15〜 交流会

※プログラムは一部変更される場合があります。

【お問い合わせ先】
株式会社クバプロ　〒102-0072 千代田区飯田橋3-11-15 UEDAビル 6階
TEL：03-3238-1689　FAX：03-3238-1837　E-mail：symposium@kuba.jp

【主催】
文部科学省/ターゲットタンパク研究プログラムシンポジウム実行委員会

平成十九年度ターゲットタンパク研究プログラムシンポジウム

ターゲットタンパク研究プログラムから見える未来

平成20年2月12日（火）
11時〜18時
東京国際フォーラムホールB7

予稿集

文部科学省ターゲットタンパク研究プログラムホームページ
http://www.tanpaku.org/

11:10
〜
11:40

ターゲットタンパク研究プログラムが目指すもの

日本大学大学院総合科学研究科　別府 輝彦

ライフサイエンスは、生物が営む生命現象の複雑かつ精緻なメカニズムを解明する基礎科学として重要であるとともに、医療の飛躍的な発展、食料・環境問題の解決につながるなど、生活の向上及び経済の発展に大きく寄与するものとして期待されている。その中でも、生物機能の直接の担い手であるタンパク質の立体構造と機能の相関を解明する構造生物学は、ライフサイエンス全体の基盤としての役割を果たすと同時に、その研究成果が医薬開発や産業利用につながることから、世界各国で国家的な取り組みが行われている。

わが国においても、平成14年度より5ヶ年にわたって推進された文部科学省のタンパク3000プロジェクトなどにおいて、大型放射光施設や大規模NMR等の最新の機器・施設を整備するとともに、多数の研究者を結集して多様なタンパク質の立体構造の解析を進めることによって、構造生物学の水準を飛躍的に引き上げてきた。

このような背景の下で、タンパク質科学の研究とその応用のさらなる発展を目指して、平成19年度より5ヶ年計画の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」が新たに始動した。本プログラムでは、これまでにタンパク3000プロジェクトなどで蓄積された成果や整備された基盤を最大限に活用し、現在の技術水準では構造の解明がなお容易ではないが学術研究や産業応用等に重要と考えられるタンパク質を主要ターゲットに選定してそれらの構造・機能相関の解析を達成することを目的に、それに必要な関連技術およびバイオインフォーマティクスの開発を併せて推進する。これによって得られる構造解析の成果は、基礎生物学の進展に大きく寄与することを通じて学術および応用上の幅広い分野に貢献し得ると考えられる。一方で、これらの中で特に疾患関連タンパク質の構造情報は、化合物ライブラリーやその利用技術との連携により、将来の創薬研究につながることが期待される。また、食品、環境、産業利用などの応用に直結する機能を有する多様なタンパク質をターゲットに取り入れて解析を進めることによって、さまざまな実用技術開発の基盤を構築し得ると期待される。

日進月歩の激しい国際競争が展開されているこの分野において、大規模研究開発事業として選定された本プログラムに参加する研究者には、時代を切り開く創造的な研究成果が求められていることを強く自覚して、プログラム内はもとより、幅広い関連分野の研究者との交流・協力を強化しながら、国民の皆様の期待に応えられる成果の創出のために取り組んで行きたい。

別府 輝彦（べっぷ てるひこ）
学士院会員／東京大学名誉教授／日本大学大学院総合科学研究科教授（農学博士）
1956年東京大学農学部農芸化学科卒業。東京大学大学院博士課程修了。東京大学農学部教授、日本大学生物資源科学部教授を経て2004年より現職。
専門は応用微生物学、生命工学。
96年紫綬褒章、98年学士院賞受賞。

11:40
〜
12:25

カルシウムシグナリングと生命現象:
タンパク質構造からメカニズムの解明にむけて

Towards the structural basis and mechanisms of calcium signalling in living systems

トロント大学医学部生物物理研究科／オンタリオ癌研究所細胞情報伝達研究部門 伊倉 光彦
Ontario Cancer Institute, Faculty of Medicine, University of Toronto Mitsuhiko Ikura

Spatiotemporal cytoplasmic Ca^{2+} oscillations differentially regulate myriad processes including apoptosis, contraction, exocytosis, fertilization, immunity, proliferation and transcription. The link between inositol 1,4,5-triphosphate-mediated depletion of endoplasmic reticulum (ER) luminal Ca^{2+} and activation of Ca^{2+}-permeable, store operated Ca^{2+} (SOC) channels on the plasma membrane (PM) is termed store operated Ca^{2+} entry (SOCE) and is a major Ca^{2+} entry pathway in electrochemically nonexcitable cells, providing a sustained cytoplasmic Ca^{2+} influx from the extracellular space. SOCE is evolutionarily conserved from *Caenorhabditis elegans* to humans implying a fundamental disposition of this process to eukaryotes. In T cells and other lymphocytes SOCE through Ca^{2+} release activated Ca^{2+} (CRAC) channels provides the principal source of cytoplasmic Ca^{2+} that signals cytokine secretion and proliferation crucial to the immune response. Genetically impaired CRAC channels in severe combined immunodeficiency disease (SCID) patients lead to dysfunctional T and B cell activation and proliferation. “Target proteins” involved in the CRAC function could offer opportunities for developing therapeutic regents to treat autoimmune diseases, such as psoriasis or ulcerative colitis, and to prevent allograft rejection in transplantation (Feske S., Nat. Rev. Immunol. 2007).

In order to decipher the molecular mechanism underlying the SOCE/CRAC function, we have undertaken structural biology investigation on several proteins crucial in this signalling process. We recently determined crystal structures of the IP_3 binding core and ligand binding suppressor domains of the mouse type I IP_3 receptor (Bosanac et al., Nature 420, 696, 2002; ibid, Mol. Cell 17,193-203, 2005). These structures helped us to understand how the Ca^{2+} channel activity of the IP_3R is regulated by IP_3 and Ca^{2+}, two agonists of the receptor. More recently we have been closely looking at the recently discovered ER Ca^{2+} sensor STIM1 (stromal interaction molecule-1) which plays a critical role in the CRAC activity in T-cells. In particular I will discuss the Ca^{2+}-sensing region of STIM1 consisting of the EF-hand and sterile α-motif (SAM) domains (EF-SAM) (Stathopulos et al. J. Biol. Chem. 2005). Our biophysical studies demonstrated clearly that the luminal region of STIM1 indeed can function as an ER Ca^{2+} sensor and that Ca^{2+} binding to this region induces a structural alternation within the EF and SAM domains. From these studies we began to understand how key components of the Ca^{2+} signaling machinery communicate each other and cooperate together to exert the highly regulated Ca^{2+} intake function. The Ca^{2+} depletion upon IP_3R-mediated Ca^{2+} release from the ER leads to a conformational change in ER membrane-associated STIM1. As a result, STIM1 molecules assemble on the EM membrane and interact with PM membrane-associated Orai1 channels. This functional protein-protein interaction leads to SOCE activation, thereby introducing a constant amount of Ca^{2+} into the cytoplasm in a prolonged period of time. This sustained Ca^{2+} level is important for NFAT-dependent transcriptional activation of target genes including various cytokines.

In this talk I will overview the field of calcium signalling, in particular the SOCE mechanism in T-cells. I will discuss how the structural biology studies from our and other laboratories have advanced the understanding of this cellular mechanism vital to the immune system which determines life or death under certain conditions.

伊倉 光彦（いくら　みつひこ）
トロント大学医学部生物物理研究科教授／オンタリオ癌研究所細胞情報伝達研究部門長
1986年北海道大学理学博士。88～91年米国国立衛生研究所（NIH）客員研究員、91年トロント大学・助教授及びオンタリオ癌研究所主任研究員、96年正教授。この間、米国ハワードヒューズ医学研究所（HHMI）国際研究員、カナダ医学研究機構（CIHR）上級研究員、カナダ政府研究教授号（現在）などを受賞。
専門分野：細胞情報伝達と構造生物学。
URL: http://nmr.uhnres.utoronto.ca/ikura

13:40
〜
14:20

タンパク質の合成と結晶化の技術:
高難度タンパク質解析のボトルネックに挑む

理化学研究所ゲノム科学総合研究センター　横山 茂之

ターゲットタンパク研究プログラムでは、基本的生命現象、医学・薬学、食品・環境などのライフサイエンス研究で鍵となる重要なタンパク質の構造と機能の研究を展開している。そこでは、従来の方法では構造解析が非常に困難な、膜タンパク質、巨大タンパク質、高分子量複合体などの「高難度タンパク質」あるいは「難解析性タンパク質」が含まれ、合成と結晶化のステップが深刻なボトルネックとなっている。タンパク質は多様で、それぞれ個性があり、タンパク質の試料を自由に調製できることは、そのタンパク質を深く理解することに直結している。多種多様な重要タンパク質の構造・機能解析のために、ターゲットタンパク研究プロジェクトでは、我々は、「生産」技術開発の基盤として、タンパク質調製技術の開発と実用化に取り組んでいる。

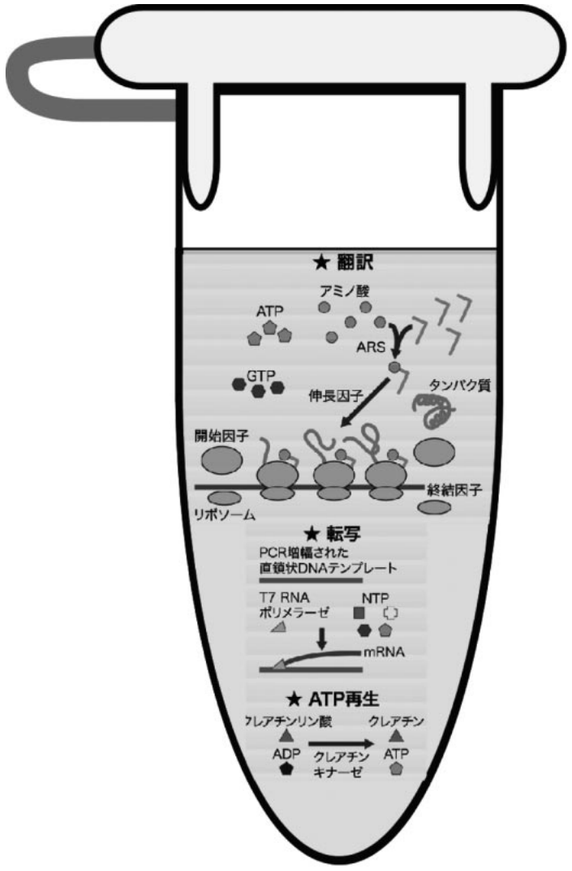


図1　無細胞タンパク質合成

タンパク質の発現には、大腸菌、酵母等を宿主とする方法が用いられることが多いが、昆虫、哺乳動物などの培養細胞も多く利用する。我々は、これらの生きた細胞のシステムに加えて、無細胞タンパク質合成法を、構造解析試料の調製に本格的に活用する（**図1**）。大腸菌由来（担当：横山）や小麦胚芽由来（担当：遠藤弥重太）の無細胞タンパク質合成システムを中心的に用いている。また、大腸菌のタンパク質合成システムを精製したコンポーネントから再構成したPURE システム（担当：上田卓也、東大）もユニークな技術である。多数回膜貫通型タンパク質の発現は、大腸菌では困難で、酵母、昆虫細胞等の発現系を用いることも多いが、無細胞システムに界面活性剤や脂質二重膜を存在させて、機能を持った膜タンパク質を大量に合成することも可能になってきた。現在、7回膜貫通型のGPCRや、いろいろなトランスポーター、レセプターなどの多様な膜タンパク質およびそれらの複合体の合成に、無細胞技術と細胞技術を組み合わせて、体系的に取り組んでいる（アドバイザー：鶴尾隆、癌研；岩田想、京大）。無細胞合成法は、遺伝子をベクターにクローニングすることなく、PCR断片のままで用いることができ、発現条件等のスクリーニングにも適している。さらに、ヒト培養細胞由来の無細胞タンパク質合成システムを構築し、分子量15万以上の巨大タンパク質を合成することにも成功した（担当：今高寛晃）。

タンパク質の位置特異的に有用な非天然型アミノ酸を導入する技術の開発にも取り組んでいる（担当：坂本健作、横山）。アミノアシルtRNA合成酵素のタンパク質工学的改変により、ヨードチロシン（X線結晶構造解析の位相決定に利用）、光架橋性アミノ酸（複合体の同定や安定化に利用）、蛍光性アミノ酸等を導入することを可能にしている。非天然型アミノ酸の同定は、大腸菌（生細胞、無細胞）、動物培養細胞等を用いることができる。膜タンパク質についても、蛍光標識や光架橋の技術を試料調製と結晶化に役立てている。

膜タンパク質の結晶化に、界面活性剤で可溶化した試料を結晶化することに加えて、脂質二重膜中での結晶化、特にロドプシン系の膜貫通タンパク質に有用であると期待されているキュービックフェーズの利用技術の高度化を進めている（担当：横山、他）（**図2**）。このほかにも、ゼオライトの利用など、結晶化のための様々な技術の開発を進めている（担当：国島直樹）。

他方、大腸菌で封入体を形成するタンパク質については、巻き戻し、特に、高圧での巻き戻しの技術の開発に取り組んでいる（担当：田之倉優、東大）。さらに、プロテインエクスプレス社およびセルフリーサイエンス社の参加により、ターゲットタンパク研究プログラムの参画者への速やかな技術移転を支援するための体制を整える計画である。

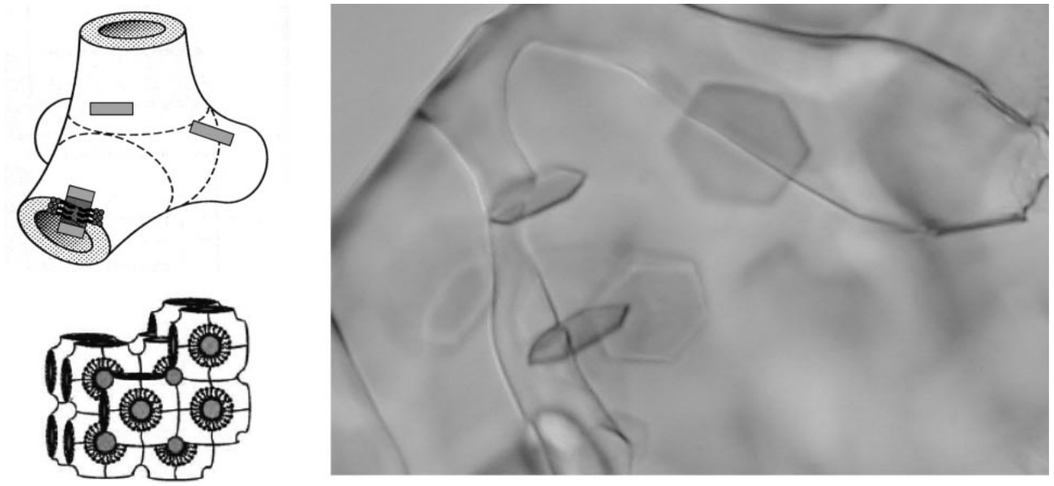


図2　キュービックフェーズによる膜タンパク質の結晶化

横山　茂之（よこやま　しげゆき）
理化学研究所ゲノム科学総合研究センタータンパク質基盤研究グループプロジェクトディレクター（理学博士）
1981年東京大学大学院理学系研究科博士課程修了。
東京大学理学部助手、助教授、91年に教授。93～2006年理化学研究所横山構造分子生物学研究室主任研究員を兼任。98～06年同所ゲノム科学総合研究センタータンパク質構造・機能研究グループプロジェクトディレクター、99～06年同所ストラクチュローム研究グループグループディレクター、04～07年同所先端タンパク質結晶学グループグループディレクターを経て、07年より現職。

14:20
〜
15:00

放射光X線タンパク質構造解析の課題と展望

高エネルギー加速器研究機構物質構造科学研究所／放射光研究施設　若槻 壮市

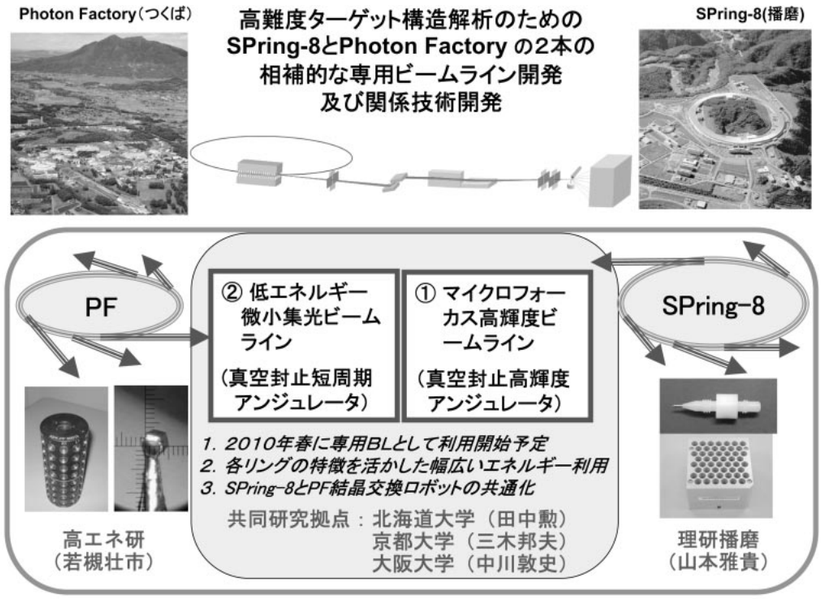
生体分子ネットワークの中でタンパク質、核酸、脂質、糖鎖などがどのように機能しているかを理解するには、それらがどのように産生され、正しい場所に運ばれ、機能するかを知らなければならない。そのためには、これら生体分子の相互作用を原子レベルで、可能ならばその動的な姿を、捉えることが重要である。これら生体分子の構造解析研究においては、電子顕微鏡、NMR、質量分析と並んで、放射光X線結晶構造解析を用いた高精度な構造解析が特に重要とされている。放射光X線はその強度と高い平行性、波長可変性などにより、低分子から超巨大生体分子まで構造解析に欠くことのできない存在となっている。わが国では2つの大型放射光施設SPring-8とフォトンファクトリーで数々のビームラインが利用されている。国外においてもESRF（欧州）、APS（米）、NSLS（米）、SSRL（米）などはもちろんのこと、ALS（米）、SLS（スイス）、ダイアモンド（英）、ソレイユ（仏）、AS（豪）、SSRF（中国）などの新第三世代放射光施設でも、例外なく放射光X線を用いた生体分子構造解析用ビームラインが広く構造生物学研究者によって利用あるいは利用が計画されている。これらの施設では、全体の半数近いユーザーが構造生物学の研究者であり、従来の構造生物学研究や構造プロテオミクス研究だけでなく、創薬や、食品、環境といった応用分野における産官学連携研究も広く行われている。

このような状況のなかで、放射光X線を用いた構造生物学研究は、比較的取り扱い易い原核生物由来あるいは真核生物由来でも単一ドメインなどの構造・機能解析から、真核生物のマルチドメインタンパク質やそれらの複合体など、調製・結晶化・構造解析が困難なものにターゲットが移ってきている。本ターゲットタンパク研究プロジェクトにおいても、膜タンパク質複合体や、ウィルスなどの非常に大きな超分子複合体、人の健康に直結したヒト由来タンパク質、病原菌由来タンパク質、さらにはそれらで構成される高次なタンパク質ネットワークなどを研究対象としている。これらの高難度タンパク質をターゲットとした立体構造解析では、目的タンパク質が良質な結晶に成長せず、大きさも数ミクロン以下の微小結晶しか得られないことも多い。立体構造解析に必要な回折強度は結晶の体積に比例するため、微小結晶を用いた場合、測定精度や分解能の不足により現在の放射光ビームラインでの構造解析は事実上不可能である。また、今後はこれまで以上に結晶単位格子の大きな超分子複合体、結晶化やセレン化のしにくいタンパク質複合体がターゲットとなる。これら高難度ターゲットの構造解析を実現するためには、マイクロフォーカスビームラインの開発が不可欠である。微小結晶にマイクロビームを安定に照射するためには、サンプル位置でサブミクロン精度のビーム位置安定性や強度変動の最小化などが求められる。加えて、微小結晶の操作技術やサブミクロン以下の高精度ゴニオメータなど、実験ステーション周辺にも多くの技術革新が必要である。

また、膜タンパク質複合体などでは、結晶はできるが結晶性が悪く分解能の低いデータしか得られず、放射線損傷も受け易いことが多く、一つの構造を解くまでに数百から千個近くの結晶を試さねばならない例もある。このような場合には、非常に多くの結晶を効率よくスクリーニングし、場合によっては複数の結晶からの部分データを多数組み合わせて一つのデータとすることになる。従って、それぞれの結晶からのデータ測定やデータ評価、マージ処理などの一連の操作は、極力簡便でユーザーフレンドリーになっていなくてはならない。それを可能とする技術開発は、高難度ターゲットの構造解析を可能とするだけでなく、生化学・細胞生物学研究者が構造解析をより身近に感じ、場合によっては自らも構造解析に携われるような環境を整える上でも重要である。

一方、構造決定に必要な位相情報は、現在、重原子によるラベル化タンパク質結晶の多波長異常分散を用いて得る方法が主流で、ラベル化できないタンパク質結晶の構造決定は非常に困難である。しかし、低エネルギーX線マイクロビームとタンパク質に元来含まれる軽原子の異常分散を利用した単波長異常分散（SAD）法を組み合わせることで、ラベル化しなくても位相を決定することが可能になると期待されている。その際には、X線ビームの安定照射に加えて、吸収によるビーム強度の低下、高いバックグラウンド、より深刻なサンプルの放射線損傷、などの問題を解決する必要がある。

本プロジェクトでは、SPring-8とフォトンファクトリーが北海道大学、大阪大学、京都大学のグループと協力し、高難度ターゲットの構造解析を可能とするマイクロフォーカスビームラインの開発を行うとともに、それを簡便に利用するための技術開発を進めている。講演では、高難度ターゲットの構造解析の現状、及びこれらの解析で重要となる、マイクロビーム、微小結晶のハンドリング、遠隔操作、低エネルギー単波長異常分散（SAD）法などの放射光X線結晶構造解析技術について議論するとともに、イメージング、ダイナミクスなどへの応用も含めた次世代の複合的な放射光X線生命科学についても言及したい。



若槻　壮市（わかつき　そういち）
高エネルギー加速器研究機構物質構造科学研究所／放射光研究施設、施設長・研究主幹

1982年東京大学工学部化学工学科卒業。84年東京大学大学院工学系研究科化学工学専攻修士課程終了。90年スタンフォード大学化学科博士課程終了（Ph.D in Chemistry）。94年European Synchrotron Radiation Facility ビームライン責任者。99年ESRF Macromolecular Crystallography Group グループリーダー。2000年高エネルギー加速器研究機構教授。06年より高エネルギー加速器研究機構放射光研究施設長。東京大学大学院新領域創成科学研究科メディカルゲノム専攻連携講座教授を兼任。
専門は放射光X線タンパク質結晶学と構造生物学に関する研究。
06年日本結晶学会・学術賞受賞。
著書に“Impact of insertion devices on macromolecular crystallography”, UNDULATORS, WIGGLERS AND APPLICATION（分担執筆、Taylor & Francis Inc.、2003年）、『国際マヴェリックへの道』（分担執筆、筑摩書房、1990年）などがある。

15:00
〜
15:40

タンパク質の制御化合物の創製
―ターゲットタンパク研究プログラムの社会還元を目指して―

東京大学大学院薬学系研究科／東京大学生物機能制御化合物ライブラリー機構　長野 哲雄

制御領域の概要

技術開発研究「制御」領域では、生体において重要なタンパク質の構造・機能研究を推進するために、これらを制御する機能性小分子化合物を探索する基盤の構築とそのための技術開発を行っている。

研究の組織・運営は図に示すように東京大学が代表機関として全体を統括し、京都大学、理化学研究所、（株）ファルマデザインが分担機関として参画している。各研究機関はそれぞれの分野で日本を代表する研究者を有しており、最大の成果を期待できる実施体制となっている。

具体的には東京大学は化合物の収集、スクリーニング用プローブの開発、及びこれらの有用性の検証を、京都大学は新規フラグメント化合物の合成とスクリーニング系の開発を、理化学研究所は天然化合物マイクロアレイの開発とその実証（和光）、蛍光測定法を利用したタンパク質間相互作用阻害剤のスクリーニング系の開発とその実証（横浜）を、ファルマデザインはインシリコスクリーニング技術を駆使した化合物ライブラリーのデザインを進めている。

タンパク質の制御化合物の創製

タンパク質の研究をする上で、制御化合物の発見・創製の必要性は世界的にも共通認識となっており、探索の基盤となる公的化合物ライブラリーは

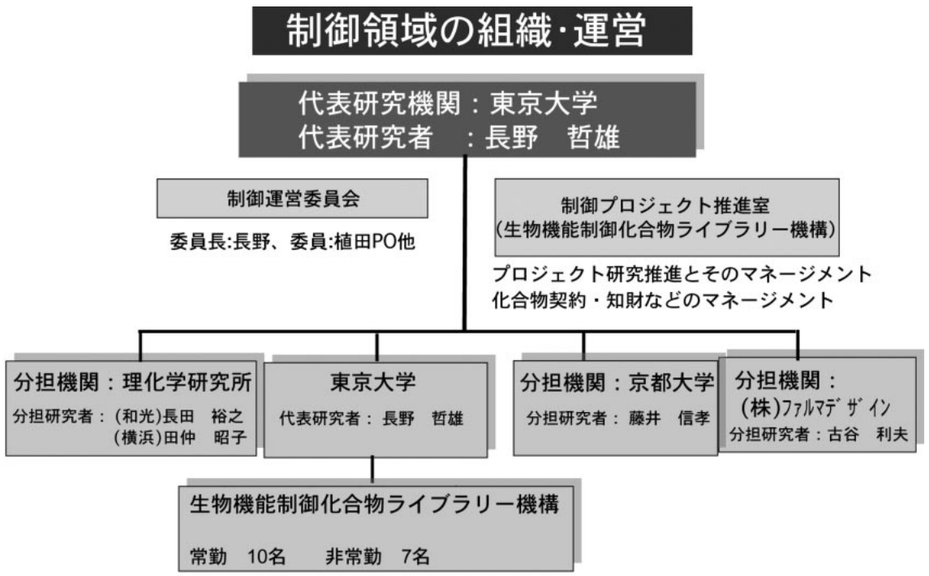


図1　研究組織と運営

韓国やアメリカでは数年前より国家主導で整備が進められてきている。しかしながら日本にはこれまで公的化合物ライブラリーが存在しなかった。本研究プログラムでは東京大学「生物機能制御化合物ライブラリー機構」内にアカデミアが利用できる化合物ライブラリーを構築している。化合物の選定に当たっては最新のインシリコアプローチを取り入れ、General Library、 Focused Library、 Fragment Libraryが整備されつつある。化合物自動倉庫の稼動とあわせて4月以降6万強の化合物サンプルが利用可能になる予定である。また上記とは別に理化学研究所（和光）では微生物由来の天然物サンプルを提供するべく、化合物アレイの構築に取り組んでいる。

本研究プログラムのもう一つ大きな特徴は構造生物学、分子生物学・医学、有機合成化学の専門を異にする研究者がチームを作って研究を進める仕組みをもっている点である。タンパク質の遺伝子から出発して、その構造、機能制御、利用・応用まで考えて、初めて研究の成果を具体的に社会に還元することができる。異分野間の連携にはコミュニケーションが不可欠であるが、我々は「制御化合物」が共通言語になると考えている。化合物ライブラリー提供の他、「制御化合物」探索を支援するスクリーニングシステムの開発、そのための打ち合わせを通じてファシリテーターの役を積極的に担っている。我々の関係したいくつかの研究チームにおいては既に興味深い結果が得られているので、その一端を当日紹介したい。

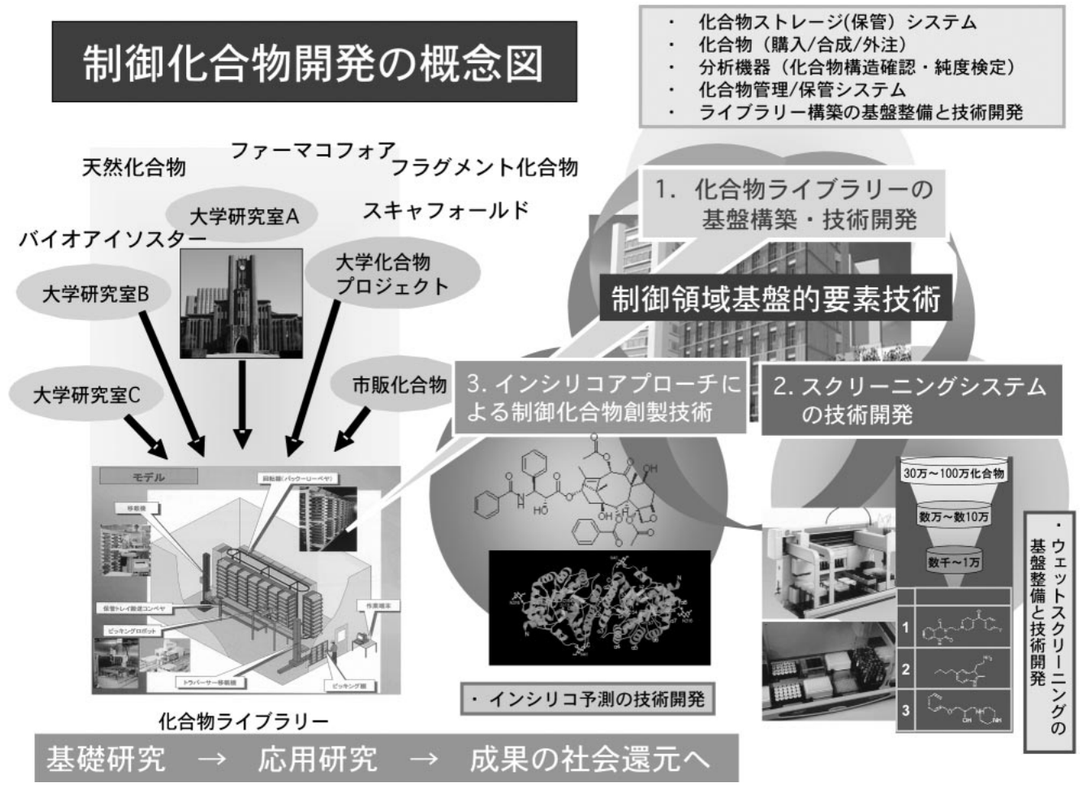


図2　制御化合物の創製

社会還元を目指して

化合物ライブラリーからスクリーニングにより見出された「ヒット化合物」がそのままで動物に投与できたり、ましてやすぐに「薬」になったりするものではない。しかしタンパク質の構造・機能を知る上で貴重なツールになる。有機合成化学者が加わって、誘導化を施せば医薬品開発の「リード化合物」になるかも知れない。また産業界とは異なった観点でターゲットとなるタンパク質を選んでいるので、思いがけない発見につながる期待もある。我々の基盤構築研究と研究支援が、これまでともすれば専門領域別に分断され、サイロ化しがちであったアカデミアにおける研究を再構築する嚆矢となればと願っている。

長野 哲雄（ながの てつお）

東京大学大学院薬学系研究科教授／東京大学生物機能制御化合物ライブラリー機構長

1972年東京大学薬学部卒業。77年同大学薬学系大学院博士課程修了。
77年東京大学薬学部助手、83年米国デューク大学医学部Research Associate、86年東京大学薬学部助教授、96年同大学薬学部教授を経て97年より同大学大学院薬学系研究科教授（大学重点化に伴う措置）。06年より東京大学生物機能制御化合物ライブラリー機構長（兼任）。
2007年3月より日本薬学会次期会頭。04～06年東京大学大学院薬学系研究科・副研究科長。98～99年東京大学総長補佐。
現在の研究領域は、Chemical Biology。生命現象を分子レベルで解明する事を目的として、生理活性分子の可視化ならびに受容体・酵素の新規活性制御法開発に関する研究を行っている。
受賞歴は、2006年紫綬褒章、日本薬学会賞（社団法人日本薬学会）、05年島津賞（財団法人島津科学技術振興財団）、04年上原賞（財団法人上原記念生命科学財団）、03年基礎錯体工学研究会技術賞（日本化学会基礎錯体工学研究会）、02年山崎貞一賞（財団法人材料科学技術振興財団）、00年持田記念学術賞（財団法人持田記念医学薬学振興財団）、99年市村学術賞（財団法人新技術開発財団）、90年日本薬学会奨励賞（社団法人日本薬学会）。
主な学術論文は、J Am Chem Soc、Angewandte Chemie Int Ed、J Biol Chemを中心に約200報。総説類は、Chemical Reviewなど約50報。主たる編著書として、『創薬化学』（長野、夏苅、原編著、東京化学同人、2004年）、『NO　―化学と生物―』（学会出版センター、1996年）、『マクマリー生化学反応機構―ケミカルバイオロジーの理解のために―』（長野哲雄監訳、東京化学同人、2007年）、『ケミカルバイオロジー』（蛋白質核酸酵素増刊号、2007年10月増刊号）、『新版　錯体化学』（講談社サイエンティフィック、2002年）など。

16:25
～
16:55

核酸による自然免疫制御とワクチン開発

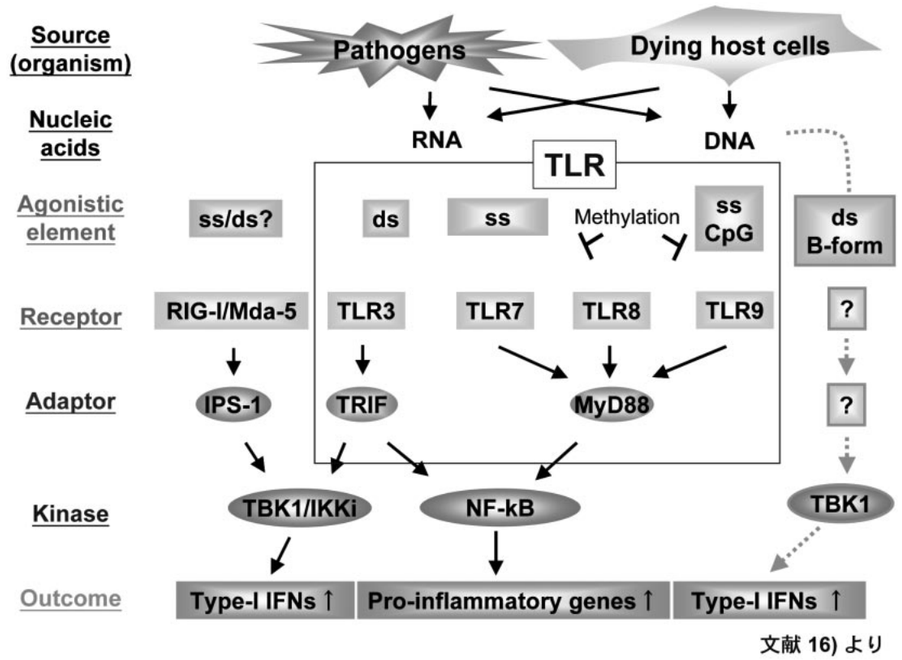
大阪大学微生物病研究所難治感染症研究センター／大阪大学免疫学フロンテイア研究センター

石井　健

はじめに

生命は、外来生物、食べ物、不要になった代謝産物などに日々暴露されるなかで、極めて巧妙な手段を用いて必要な自己及び不要な非自己を識別する機構を発達させてきた。その代表的な生命システムが免疫と呼ばれる機構である。近年まで、核酸（DNA、RNA）は生体を構築する最も基礎となる物質であり、生体内のあらゆる場所に存在しているため、免疫システムに認識されることはないと思われてきた。ところが核酸が異常な状態として存在する場合、例えば病原微生物のように外因性に侵入してきた際や、傷害された宿主細胞から内因性に生じた際は、それらを排除するために宿主の免疫応答が誘導されることが明らかになってきた。

その中でも特に、自然免疫活性を持つ核酸の配列・修飾・構造などが明らかになり、それらはToll様受容体（TLRs）やRIG様受容体（RLRs）といった自然免疫受容体によって認識され、それぞれ特異的なシグナル伝達経路を介して自然免疫応答が誘導され（**図1**）、さらにそれに引き続く獲得免疫をも厳密に制御していることが知られるようになった[1,2]。しかしながら、依然としてその分子、原子レベルでの認識、その後の生体内での役割ま



文献 16) より

図1

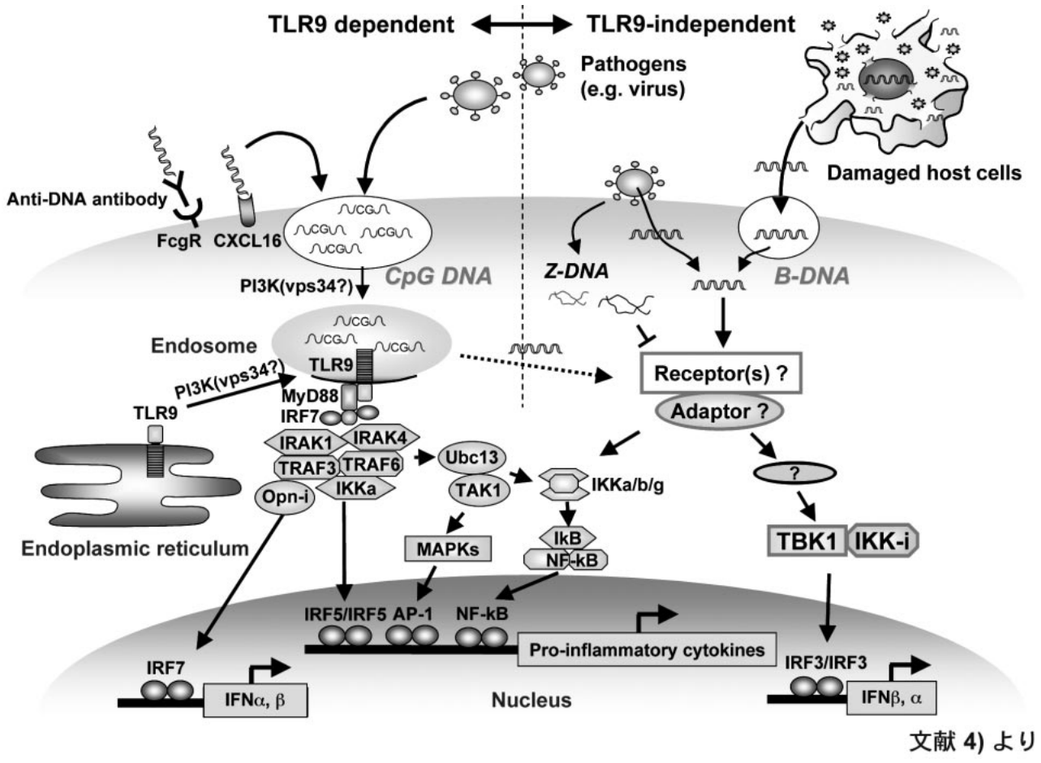
で、その詳細なメカニズムに関しては不明な点が多い。核酸による自然免疫制御のメカニズムを解明することは、核酸を用いた有効な免疫療法の開発に必須であるだけでなく、アレルギーや自己免疫疾患の発症機序の解明にも有用である。本稿では、最新の知見を取り入れつつ、我々が取り組んできた研究成果を例に挙げながら、DNA・RNAの自然免疫認識機構及び核酸のワクチンアジュバントとしての作用機序を示すとともに、今後のワクチン開発の戦略について考えていく。

DNAの自然免疫認識機構

通常、真核生物のDNAは核やミトコンドリア内のスペースに厳重に保管されている（自己）が、微生物が感染したりや宿主細胞が傷害されると、そこから放出されたDNA（非自己）に対して自然免疫応答が誘導されることが知られている[3, 4]。DNAを認識する自然免疫受容体としてTLR9は現在特定されている唯一の受容体であるが、実際にはTLR9を介さない経路（その受容体は依然同定されていない）によってもDNAが認識されることが明らかになった（**図2**）。

細菌やウィルスのDNAには、哺乳類のDNAと比べると約20倍ほど多く非メチル化CpG配列（CpGモチーフとも言い、このモチーフを持ち免疫活性を有するDNAを総じてCpG-DNAともいう）が存在する。そのCpG-DNAに対する自然免疫応答はTLR9を介して誘導されることが知られている[5]。免疫活性を持ったCpG DNAにはその配列、構造、免疫活性の違いから、少なくとも3種類（D/A型CpG、K/B型CpG、C型）のタイプに分けられる。D/A型CpGは、主に形質細胞様樹状細胞（pDC）からのIFN α の産生を誘導するのに対し、K/B型CpGは主にB細胞の活性化を誘導する。C型CpGは両方ともの性質を持っている[6]（**図2**）。

生体内では、CpGDNAの作用として、さらにB細胞の増殖、DCの成熟化、natural killer細胞の活性化なども加わり、強力なTh1型の獲得免疫反応（IgG2aの産生、Th1細胞によるIFN γ 産生、CTLの細胞傷害活性）が惹起される（**図2**）。実際に、ワクチンアジュバント、抗アレルギー薬、抗腫瘍薬として様々な臨床治験が行われ、その有効性



文献 4) より

図2

が証明されている[7, 8]。

TLR9/Myd88を介さない経路で細菌、ウィルス、哺乳類由来の二本鎖DNA（dsDNA）が認識されることが、これまでTLRシグナルのノックアウトマウスを用いた研究などによって証明されてきた[4]。dsDNAの構造には、らせんが右巻きのA型とB型、左巻きのZ型が存在するが、なかでもB型（ds B-form DNA）が生体内に最も多く存在する。dsDNA、特にB型DNAで刺激した場合にTLR非依存的経路を介してⅠ型IFN反応が強く誘導されることが分かった[9]（**図2**）。このdsDNAが主に樹状細胞（DC）、マクロファージなどの免疫細胞の自然免疫機構によって認識されると、Ⅰ型IFNや様々な炎症性サイトカイン、ケモカインが分泌され、B細胞、T細胞による獲得免疫が誘導される（**図3**）。

これらの反応を生体内で検討するため、我々はDNAワクチンという新型のワクチンの実験系を用いてDNAのアジュバント効果を検証した。これまでDNAワクチンによる獲得免疫の誘導は、DNAワクチンに含まれるCpGモチーフがTLR9を刺激することによって生じるものと考えられていた。しかし、最近我々はDNAワクチン投与による獲得免疫の誘導にはⅠ型IFN反応が必須であり、その反応はTLR9/Myd88を介する経路ではなく、TBK1を介する経路で誘導されることを示すと共に、B細胞、CD4陽性T細胞の活性には骨髄由来細胞のTBK1依存性シグナルが関与する一方、CD8陽性T細胞では骨髄由来でない細胞のTBK1依存性シグナルが重要であることを示した[10]。

RNAの自然免疫認識機構

RNAもDNAと同様、生体内のあらゆるところに存在し、様々な生命機能に役割を果たしている。

通常宿主由来のRNA（自己）に対して免疫応答は生じないが、病原微生物由来のRNAや2本鎖のような異常な構造をもったRNA（非自己）に対して免疫応答が誘導される。様々な種類のウィルスが生体内で複製をする際に二本鎖RNA（dsRNA）が生じることは以前より知られており、ヒトでは通常dsRNAが存在しないことから、これが自己と非自己の識別方法の一つと考えられている。dsRNAの認識に関わる自然免疫の受容体として最初に見つかったのはPKR[11]であったが、その後の研究により現在ではTLR3[12]、RIG-I[13]、MDA5[14]といった受容体も認識に関わることが分かった。

dsRNAと比較し一本鎖RNA（ssRNA）は、通常の状態でも宿主内に大量に存在していることから、自己と非自己の識別が非常に複雑となる。実際、インフルエンザウィルスなどのssRNAウィルスが生体に感染すると、pDCのような宿主の免疫細胞に取り込まれ、エンドソームに発現したTLR7やTLR8に認識され自然免疫応答が誘導されるのに対し、宿主のssRNAは認識されないことが分かった[15]。ssRNAの自己・非自己の認識の詳細なメカニズムについては依然不明な点が多いが、これまでにメチル化の状態、特異的な配列、細胞内での局在などが関与することが報告されている[16, 17]。また最近の報告によれば、エンドソーム内のTLR7.TLR8に加え、細胞質内ではRNAの5'末端のtriphosphateがRIG-Iによって認識されることが示された[18]。このようなssRNAに対する自然免疫応答の詳細を解明し制御することが可能になれば、SLEなどの自己免疫疾患の治療やRNA干渉（RNAi）などを用いた遺伝治療につながると考えられる。

その例を示す。Poly（I:C）は合成のdsRNAで強力な自然免疫誘導作用があり、特にⅠ型IFN反応を惹起することからこの数十年間様々な医学の分野でIFN inducerとして使用されてきた。しかしながら、近年その自然免疫の受容体が明らかとなり、TLR3及びMDA5によって認識されることが分かった。とくに最近、RIG-I及びMDA5と呼ばれる二つのよく類似した分子が見つかったが、これらは合わせて（RIG-like receptors、RLR）と呼ばれる。両者が認識するものはそれぞれ異なりそれぞれ違うウイルス由来のRNAを認識することが分かった[19]。RIG-I及びMDA5の下流シグナルは共通しており、ミトコンドリアの外膜に存在するアダプター因子IPS-1を介してⅠ型IFN及び炎症性サイトカインの産生が誘導される[20]（**図1**）。

また、実際のウィルス感染時の自然免疫応答は、pDCではTLR7によって、cDCや線維芽細胞などではRIG-Iによって認識されることがこれまでにvitroの実験で示されてきた[19, 21]。最近我々はin vivo（マウスの気道感染モデル）においてもTLR7/Myd88とRIG-I/IPS-1の2つの経路が同様に存在し、インフルエンザ感染時にはこれらが相補的に作用することを示すとともに、Myd88・IPS-1のダブルノックアウトマウスではⅠ型IFN反応が消失しウィルス排除が障害されることを示した[22]。また、インフルエンザウィルスH1N1のマウス気道感染後のHAに対する抗体価の誘導には、前述の

TLR7/Myd88とRIG-I/IPS-1の2つの経路のうちTLR7/Myd88を介する経路が重要であることを報告するとともに、全粒子不活化ワクチンを経鼻投与後の感染防御誘導においてもTLR7/Myd88を介する経路が重要であることを示した[22]。

おわりに

18世紀末にジェンナーが種痘法を開発し、その原理を解明することから免疫学がはじまった。皮肉にも免疫学では理論が一人歩きし、新規の免疫治療・ワクチン開発という方向には十分に力が注がれてこなかったのが現状である。20世紀末のToll様受容体の発見により、現在では非常にたくさんの種類の自然免疫のリガンド、受容体、そのシグナル伝達物質が明らかとなり、特に核酸についてはワクチンやアジュバンドとしての作用機序の相当な部分が解明された。核酸は、ワクチン及びアジュバントとして非常に有用である一方、宿主側の自己・非自己の識別が障害されれば様々なアレルギーや自己免疫疾患の誘因にもなる。つまり核酸による自然免疫応答を上手に制御することができれば、強力で安全な免疫治療・ワクチン開発につながるだけでなく、アレルギーや自己免疫疾患の治療にもつながる可能性がある。核酸は免疫学を直接医療につなげる有望なcandidateといえる。

謝　辞

本研究は、大阪大学免疫学フロンテイア研究センターの審良静男教授及びDr.Cevayir Coban、小山正平先生、研究室の皆様、同研究所分子原虫学分野の堀井俊宏教授及び研究室の皆様、大阪大学微研財団の谷本武史先生、横浜市立大学の武下文彦先生らの協力によりなされたものです。諸先生方にこの場をお借りして深謝致します。

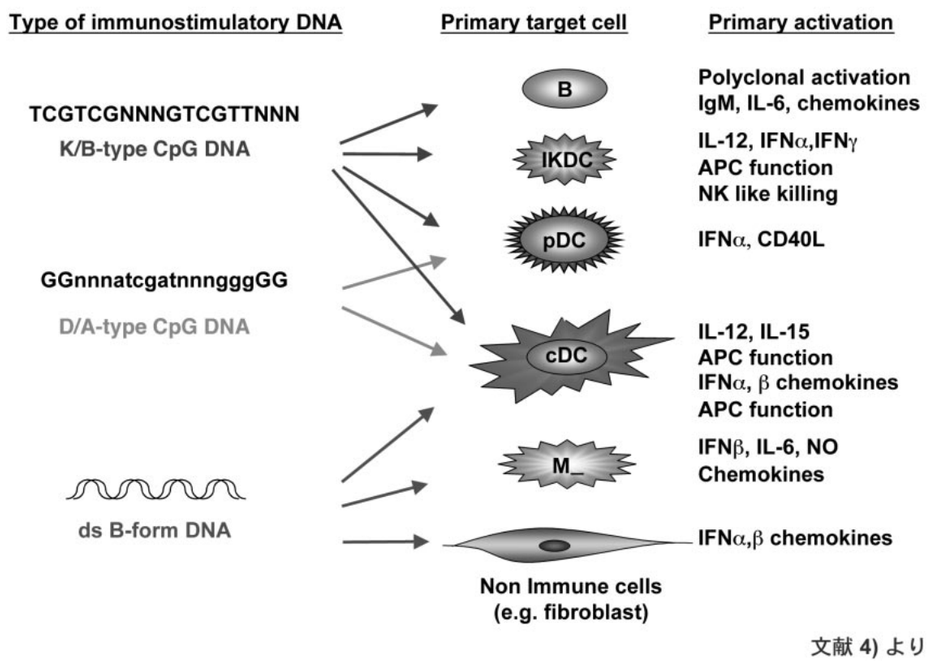


図3

参考文献

1) Akira, S. et al.（2006）. *Cell* 124, 783-801.
2) Medzhitov, R.（2007）. *Nature* 449, 819-826.
3) Nagata, S.（2005）. *Annu. Rev. Immunol*. 23, 853-875.
4) Ishii, K. J. and Akira, S.（2006）. *Trends Immunol*. 27, 525-532.
5) Hemmi, H. et al.（2000）. *Nature* 408, 740-745.
6) Hemmi, H. et al.（2003）. *T J. Immunol*. 170, 3059-3064.
7) Klinman, D. M.（2004）. *Nat. Rev. Immunol*. 4, 249-258.
8) Krieg, A. M.（2002）. *Annu. Rev. Immunol*. 20, 709-760.
9) Ishii, K. J. et al.（2006）. *Nat. Immunol*. 7, 40-48.
10) Ishii, K. J., Kawagoe,T. et al.（2008）. *Nature* in press
11) Williams, B. R.（1999）. *Oncogene* 18, 6112-6120.
12) Alexopoulou, L. et al.（2001）. *Nature* 413, 732-738.
13) Yoneyama, M. et al.（2004）. *Nat. Immunol*. 5, 730-737.
14) Yoneyama, M. et al.（2005）. *J. Immunol*. 175, 2851-2858.
15) Diebold, S. S. et al.（2004）. *Science* 303, 1529-1531.
16) Ishii, K. J. and Akira,S.（2005）. *Immunity* 23, 111-113.
17) Kariko, K. et al.（2005）. *Immunity* 23, 165-75.
18) Pichlmair, A. et al.（2006）. *Science* 314, 997-1001.
19) Kato, H., Takeuchi, O. et al.（2006）. *Nature* 441, 101-105.
20) Kawai, T., Takahashi,K. et al.（2005）. *Nat Immunol*. 6, 981-8.
21) Diebold, S. S. et al.（2004）. *Science* 303, 1529-1531.
22) Koyama, S., Ishii, K. J. et al.（2007）. *J. Immunol*. 179, 4711-4720.

石井　健（いしい　けん）

大阪大学微生物病研究所難治感染症対策研究センター分子原虫学研究分野准教授

1993年横浜市立大学医学部卒業。93～96年横浜市立大学医学部付属病院、同市民病院にて臨床医、96年横浜市立大学大学院医学研究科博士課程入学（2000年中退、03年博士（医学）取得）、96～03年米国連邦政府保健省食品薬品局（通称FDA）生物製剤ワクチン部門客員研究員、臨床試験審査官を経て、06年より現職。03年より科学技術振興機構ERATO審良自然免疫プロジェクトグループ・リーダー、07年より大阪大学免疫学フロンティア研究センター自然免疫学准教授を兼任。
専門は免疫学、特に核酸の自然免疫認識機構、現在は核酸を中心にした創薬、ワクチン開発研究に関心を持つ。著書に『Nucleic acids in innate immunity』（CRCプレス、2008年5月出版予定）などがある。

16:55
〜
17:25

プロテアソームの分子集合機構の解明

―どのように巨大で複雑な複合体は形成されるか？―

東京都医学研究機構東京都臨床医学総合研究所　田中 啓二

細胞内の全ての蛋白質は、数分から数ヶ月と千差万別の寿命をもって輪廻転生を繰り返しており、この代謝回転、言い換えれば蛋白質の動的制御の中心は分解である。蛋白質分解は、多様な生体反応を迅速に、順序よく、一過的にかつ一方向に決定する合理的な手段として生命科学の様々な領域で中心的な役割を果たしている。とくにユビキチン（分解シグナル分子）をパートナーとするプロテアソームは、病態生理学的に重要な機能を担っている。活性型の26Sプロテアソームは主としてユビキチン化された蛋白質を選択的に分解する真核生物のATP依存性プロテアーゼであり、触媒ユニットである20Sプロテアソーム（CP: catalytic particle）の両端に調節ユニットである19S complex（RP: regulatory particle）が会合した分子量2.5 MDaの巨大な分子集合体である。本講演では、この巨大で複雑な多成分複合体の分子集合機構について最近の知見を報告する。

(1) 哺乳動物20Sプロテアソームの分子集合機構の解析

20Sプロテアソームは7種類のαサブユニットから形成されるαリングと7種類のβサブユニットから形成されるβリングがαββαの順に重なった総サブユニット数28、分子量750 kDaの複合体であり、26Sプロテアソームの触媒活性を担っている。我々はプロテアソームに会合する分子のプロテオミクス探索（産総研／夏目徹・家村俊一郎博士らとの共同研究）からヒト20Sプロテアソームの分子集合を促進する新規なシャペロン分子PAC（Proteasome Assembling Chaperone）1-4を発見すると共にそれらの機能解析を進めてきた。即ちPAC1とPAC2はヘテロダイマーとして働き、20Sプロテアソーム形成の最初のステップであるαリングの形成を促進する[1)]。またPAC3（最近PAC4とヘテロダイマーを形成していることが判明）はPAC1/PAC2と協調してαリングの形成に働くとともに、さらに特定のβサブユニットとも会合し、正確なハーフプロテアソーム（oneコピーのαβ複合体）の形成にも関わっている[2)]。

さらにこれまで明らかでなかったβサブユニットの分子集合過程に焦点を当てて検討した結果、βサブユニット群はαリング上に段階的に会合することが判明した。即ちβリングの形成はαリングにβ2サブユニットが会合することに始まり、β3・β4・β5・β6・β1・β7と逐次的に会合することが各々βサブユニットのsiRNA処理によって蓄積する中間複合体の解析から判明した。また、β2サブユニットの会合にはもう一つのシャペロン分子であるhUmp1が必要であった。そしてPAC 3/PAC 4はβサブユニットの会合の初期段階（β3サブユニットが組み込まれるまで）に介在することを突き止めた。さらにβサブユニットのうち5種は前駆体として合成されるが、そのうちβ2とβ5のプロペプチドがβサブユニットの分子集合を助けること、さらにβ2のC末端領域も同様の機能を果たすことを見出した。即ちこれらは“分子内シャペロン”としてβリングの正確な形成に働いていると考えられる。**図1**に哺乳動物20Sプロテアソームの分子集合機構について（我々が提案している）多段階逐次機構モデルを示した（平野ら投稿中）。

(2) 酵母プロテアソームの分子集合機構の解析

ユビキチン／プロテアソームシステム（UPS）に関わる未知遺伝子はまだ数多く残されている。このような遺伝子を同定するために出芽酵母の非必須遺伝子破壊ライブラリーからアミノ酸アナログ感受性を示す変異株を探索した。この感受性はアミノ酸アナログによって生成された変性蛋白質が適切に分解できないためと考えられる。数多く単離されてきた感受性株からさらに人工基質の分解速度、既知のUPS変異株との掛け合わせ、ユビキチン遺伝子との遺伝的関連を指標として新規UPS関連遺伝子を2つ選択し、Dmp1、2（degradation of misfolded protein）と名付けた。Dmp1/Dmp2はin vivoとin vitroでの結合実験により20Sプロテアソームのα5サブユニットと直接結合してαリングにβ2サブユニットが付くまでプロテアソーム前駆体に結合していることがわかった。そこでDmp1/Dmp2とプロテアソーム形成の関係を詳しく調べてみたところ*dmp1*破壊株では20Sプロテアソームの量が減り、α4サブユニットの含まれていない異常なαリング様構造体が出来ていた。これらのことからDmp1/Dmp2はαリング形成に関与する新規のプロテアソーム形成支援蛋白質と考えている。また、Dmp1/Dmp2のX線による立体構造解析にも成功した（名大、水島グループとの共同研究）。その結果、アミノ酸の1次配列上の相同性はほとんどないにも関わらずDmp1/Dmp2の立体構造は動物細胞のプロテアソーム形成シャペロンであるPAC3ホモダイマー（実際にはPAC3はPAC4と二量体を形成）の立体構造（名市大、加藤グループとの共同研究）と酷似していた。さらにDmp1/Dmp2とα5サブユニットとの共結晶構造解析も行い、Dmp1/Dmp2がβサブユニットよりもαリングの内側に結合しα4、α5、α6の3つのαサブユニットと同時に相互作用できること、β4サブ

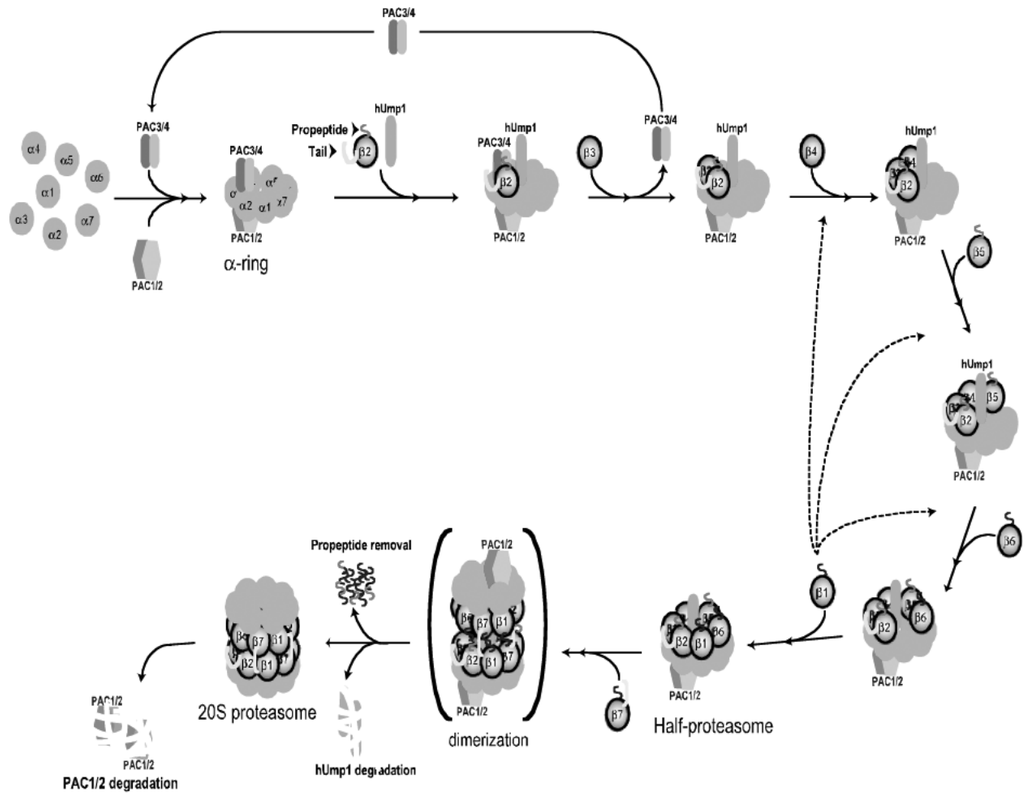


図1　哺乳動物20Sプロテアソームの分子集合モデル

プロテアソームに特異的な分子シャペロンであるPAC1-4は、生合成された7種のαサブユニットと階層性を持って結合し、αリングの形成を促進する。さらにPAC1/PAC2ヘテロ二量体はαリング同士のnon-productiveな凝集体の形成を阻止する働きを示す。PAC3/PAC4ヘテロ二量体はαリング上へのβサブユニットの段階的な会合を促進し、正確なハーフプロテアソームを形成させる。このときまずβ2が配置されるが、この会合は別の分子シャペロンhUmp1により補助される。PAC3/PAC4ヘテロ二量体はβ3の会合と同時に解離しその働きを終えると共にリサイクルされる。また、この逐次的な会合はβ2とβ5のプロペプチドとβ2のC末端伸長領域などの分子内シャペロンが重要な役割を果たしている。ハーフプロテアソームはβ7のC末端伸長領域に介在されて重合（二量体化）し、プロペプチドの切断とhUmp1の分解の後、20Sプロテアソームが完成する。PAC1/PAC2は完成した20Sにより自己触媒的に分解される。

ユニットとはαリング上で共存し得ないことをモデルから明らかにした。これらの知見はDmp1/Dmp2（βサブユニットと立体構造が類似）が形成途中のプロテアソーム前駆体にのみ結合し、βリングの形成過程で解離するシャペロンであることを支持するデータとなっている[3]。

一方19S RP complexや26Sプロテアソームの分子集合機構の詳細は、不明であるが、我々はこれらの複合体の形成を支援する複数のシャペロン分子群を突き止めており、現在、それらの作用機構を解明中である。現在、細胞内には、ribosome、signalosome、cyclosome、apoptosome、spliceosome、repairosome、inflammasome等の巨大で複雑な分子複合体が多数存在するが、それらの分子集合機構は全く不明である。本研究で明らかになりつつある（プロテアソーム）複合体に特異的な分子集合支援シャペロンの解明は、上記の様々な複合体の動態解明に大きく貢献することが期待される。

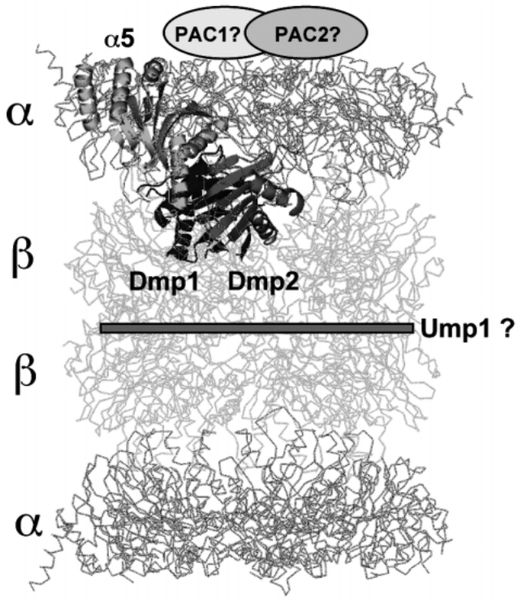


図2　プロテアソーム集合シャペロンの構造学的な作用機構モデル
PAC1/2ヘテロダイマー複合体の立体構造は、現在、解明中。PAC1/2は、non-productiveなαリングのダイマー形成を阻止することから、上記のように配置した。Ump1はNMRの解析からnatively unfolded proteinであることが判明しているが、ハーフプロテアソームの二量体化に関係していることから仮想的に配置した。

参考文献

1）Hirano, Y., et al.,: A heterodimeric complex that promotes the assembly of mammalian 20S proteasomes, *Nature* 437, 1381-1385（2005）.
2）Hirano, Y., et al.,: Cooperation of multiple chaperones required for the assembly of mammalian 20S proteasomes. *Mollecular Cell* 24, 977-984（2006）.
3）Yashiroda, H., et al.,: Crystal structure of a chaperone complex that contributes to the assembly of the yeast 20S proteasomes. *Nature Structure Molecular Biology* in press（2008）.

田中 啓二（たなか　けいじ）
東京都医学研究機構東京都臨床医学総合研究所・所長代行（医学博士）

1976年徳島大学大学院医学研究科博士課程中退。
1976年徳島大学酵素研究施設・助手、95年同大学酵素科学研究センター・助教授、96年東京都臨床医学総合研究所・分子腫瘍学研究部門・部長、2002年同・副所長、04年より現職。
専門は生化学。特に蛋白質分解の研究。現在はプロテアソームの構造と機能解析に関心をもっており、本課題をライフワークとして包括的に研究を進めている。
2003年「内藤記念科学振興賞」、04年「上原記念生命科学財団上原賞」、04年「朝日賞」を受賞。
共著に（1）ユビキチン・プロテアソーム系とオートファジー：作動機構と病態生理『蛋白質核酸酵素』2006年8月号増刊（Vol51、No.10）（編集：田中啓二・大隅良典）共立出版、（2）細胞内の輪廻転生・蛋白質の分解機構『実験医学』2008年1月増刊号（編集：田中啓二）羊土社などがある。

17:25
〜
17:55

化学工業を変える
―産業用酵素の探索・開発と高機能化―

京都大学大学院農学研究科　清水　昌

20世紀に大きく発展した化学工業は、人々の生活スタイルを変えその生活を豊かにしてきた。しかし、その反面で環境汚染、石油エネルギーの多大な消費、それに伴う炭酸ガスの排出といった諸問題を生み出した。21世紀の現在、これらの諸問題を解決し、環境調和型の化学工業への変革が求められている。そのひとつの方策として、酵素を産業用触媒として利用することが試みられている。すでに酵素を用いた化学品生産プロセスがいくつか開発され、従来の有機合成化学プロセスに置き換わっている（**図1**）。これらのプロセスでは、炭酸ガスや環境汚染物質排出量の削減等が達成されており、化学工業の変革の道筋のひとつとして大いに期待されている（**図2**、**図3**）。

しかし、酵素を触媒とする有用化合物生産プロセスは、化学工業プロセスを大きく変えるものとして期待される一方で、実際に産業用触媒として利用できるものは現在までのところ限られている。その理由としては、基質特異性が高く汎用的な触媒として利用できない、安定性が低く繰り返し利用や長時間利用が困難である、等が挙げられる。一方、従来の化学工業で利用されてきた化学触媒と比べると、酵素触媒は反応特異性・立体特異性・位置選択性等に優れているという利点を有しており、環境調和型の触媒であることとあわせて、その利用価値は高い。

化学触媒と比較して、酵素が最も得意とする反応のひとつに立体選択的な反応がある。この酵素の持つ優れた特徴を利用すれば、キラル化合物の効率的生産が可能となる。キラル化合物とは、不斉炭素原子（光学活性）を有する化合物の総称であり、近年、化学工業、農業分野、そして特に医薬品産業を中心にますますその需要が高まっている。1983年から2003年までの21年間に世界で新しく市場に出た医薬品830品目のうち約70％を合成医薬品が占めているが、そのうちの半分以上がキラルな構造を持つ合成医薬品となっている。このようなキラル化合物を製造・利用する産業や市場を「キラルインダストリー」と呼び、キラル化合物を効率的に生産する技術等は「キラルテクノロジー」と呼ばれ、キラルインダストリーの中でも最も重要な技術のひとつとなっている。キラル化合物の合成法には有機合成化学、微生物、酵素を利用する方法があり、それらの研究開発も盛んに行われている。

図1　京都大学発の微生物生産プロセスの実用化例

2001年に不斉化学触媒（野依触媒）の開発に対してノーベル化学賞が贈られたことからも、キラルテクノロジー研究の重要性が窺われる。

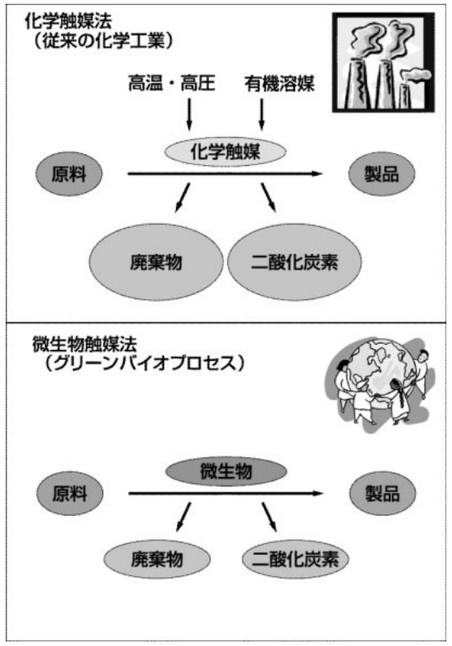


図２　化学触媒法と微生物触媒法の環境負荷の違い（イメージ図）

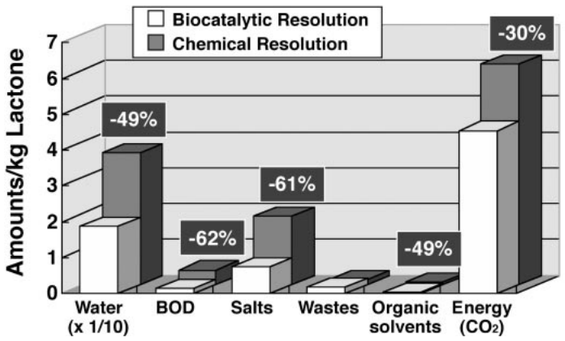


図３　パントラクトン光学分割における酵素法と化学法の環境負荷の違い（実例）

一方、キラル化合物合成触媒としての酵素利用開発も盛んに行われており、その一部には工業化に至っているものもある。産業用触媒として利用できる酵素を開発していく上で最も重要なことは、まず初めにポテンシャルの高い酵素（スーパー生体触媒）を見出すことである（図4）。そして、見出された酵素を、進化工学的手法あるいはタンパク質工学的手法によりさらに高機能な酵素へと作り変えていくことが次のステップとなる。これまでに実用に供された酵素の中にも、耐熱性や反応特異性の改良を行った後、工業生産に用いられた例もある。我々のプロジェクト「キラル化合物の産業生産に有用な酵素の触媒反応機構の解明と高機能化」では、これまでに見出してきた種々のキラル化合物合成酵素を対象に構造機能相関を明らかにすることで、そこから得られる情報をもとにキラル化合物合成酵素の高機能化を図ることを目指している。具体的には、1）炭素二重結合不斉水素添加酵素（旧黄色酵素）、2）β-ヒドロキシ-α-アミノ酸合成酵素（スレオニンアルドラーゼ）、3）カルボニル不斉還元酵素等をターゲットとしている。

前述のごとく、酵素を利用した合成プロセスはキラル化合物を生産する際の有効な手段と言えるが、その触媒反応については酵素化学的に未解明なものが多い。それらの触媒反応は、「基質の認識とキラル化合物を産生するための立体環境」と「不斉炭素を産生する触媒反応」が各々の酵素タンパク質のもつ特殊な立体構造に依存して行われることで可能になると考えられる。触媒反応機構を解明することで、合理的に酵素の高機能化を行い、キラル化合物の生産プロセスに広く利用できるキラル化合物合成酵素ライブラリーの構築が期待できる。これらの高機能化された酵素を用いることで、より簡便にキラル化合物生産に適用することが可能となり、これまでの化学工業を変える基盤を築くことができると信じている。

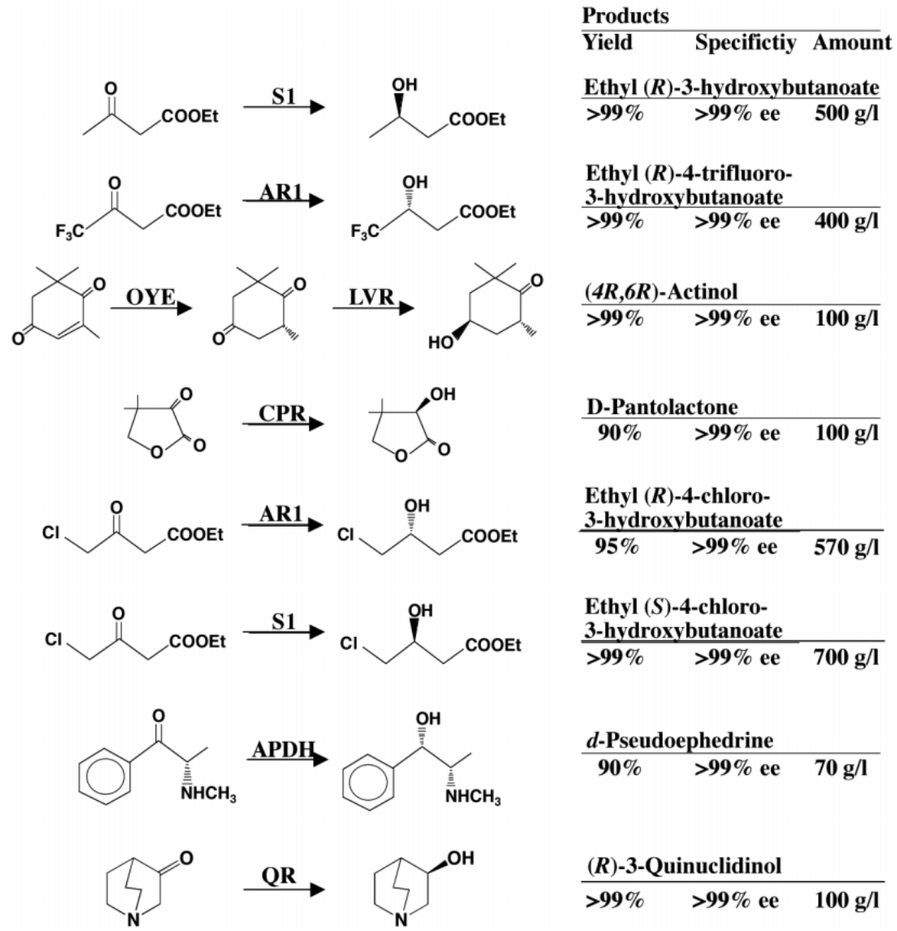


図４　自然界から見出された酵素を用いるキラル化合物の合成（バイオ還元システムによる）

清水　昌（しみず　さかゆ）
京都大学大学院農学研究科応用生命科学専攻教授（農学博士）
1968年京都大学農学部農芸化学科卒業。73年同大学大学院農学研究科博士後期課程修了。
75年京都大学農学部助手、89年同大学農学部助教授を経て、92年5月より現職。
専門は応用微生物学。特に有用微生物機能の探索と物質生産への利用。
2002年日本ビタミン学会賞、03年日本農芸化学会賞、など数々の賞を受賞。
共著書に『応用微生物学第2版』（文永堂、2006年）などがある。