

日本薬学会第138年会特別企画

創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業 (BINDS) ワークショップ

日時：平成30年**3月26日**（月） **13：00～16：00**

会場：ホテル日航金沢 鶴の間C

〒920-0853 石川県金沢市本町2-15-1（JR金沢駅 兼六園口前）

13:00-13:05 オーガナイザー挨拶

●井上隆弘 AMED創薬戦略部医薬品研究課課長

第1部 BINDS事業紹介

13:05-13:30 BINDS概要説明「BINDS～知って、使って、進むあなたの研究」

●中村春木プログラムスーパーバイザー 大阪大学蛋白質研究所所長

●近藤裕郷プログラムオフィサー 医薬基盤・健康・栄養研究所 医薬基盤研究所所長

第2部 講演プログラム

座長●中川敦史 大阪大学蛋白質研究所教授

●田之倉優 東京大学大学院農学生命科学研究科特任教授

13:30-14:00 基調講演

「小胞体ストレス応答の解析から創薬へ」

●森和俊 京都大学大学院理学研究科教授

14:00-15:00 構造解析ユニット クライオ電顕セッション

「クライオ電子顕微鏡ネットワーク」

●千田俊哉 高エネルギー加速器研究機構教授

「クライオ電子顕微鏡での2.3Å分解能解析～水分子の可視化～」

●岩崎憲治 大阪大学蛋白質研究所准教授

「クライオ電子顕微鏡単粒子解析を利用した膜タンパク質複合体の構造研究」

●大嶋篤典 名古屋大学大学院創薬科学研究科教授

15:00-15:30 構造解析ユニット タンパク質生産領域

「タンパク質生産と構造認識抗体を活用した膜タンパク質構造研究」

●岩田想 京都大学大学院医学系研究科教授

15:30-16:00 特別講演

「大村創薬グループにおける微生物創薬」

●砂塚敏明 北里大学北里生命科学研究科教授

主催：



国立研究開発法人 日本医療研究開発機構
Japan Agency for Medical Research and Development

BINDS HP URL:<https://www.binds.jp/>

お問い合わせ先：創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム (BINDS) プラットフォーム機能最適化ユニット支援オフィス

〒113-8657 東京都文京区弥生1-1-1 東京大学大学院農学生命科学研究科内 Tel03-5841-5467 E-mail:assist@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

森

和俊 京都大学大学院理学研究科教授

新規に合成された分泌タンパク質や膜タンパク質の高次構造形成が行なわれる小胞体は、これらのタンパク質が正しい立体構造をとっているかどうか峻別する能力を有し、タンパク質の品質を管理するオルガネラとして知られている。正しく折り畳まれたタンパク質はゴルジ装置以降の分泌過程に進むことが許され、折り畳まれていないタンパク質は小胞体に留められる。しかしながら、いわゆる小胞体ストレスと総括されている状況下で、小胞体内に高次構造の異常なタンパク質が蓄積すると小胞体ストレス応答（英語ではUnfolded Protein Response; UPR）が活性化される。UPRは、小胞体ストレスを感知し小胞体膜を貫いたシグナル伝達を行うことができる小胞体膜貫通型タンパク質によって媒介され、哺乳動物では、IRE1、PERK、ATF6というユビキタスに発現している3つのタンパク質が重要な役割を果たしている。これら3つの経路の活性化により、新規合成タンパク質がそれ以上小胞体内に送り込まれないように翻訳を抑制する小胞体の負荷軽減、小胞体シャペロンの転写誘導による折り畳み容量の増強、ERAD因子の転写誘導による分解システムの活性化の3つの対応がなされ、小胞体の恒常性は維持される。それでもなお小胞体ストレスが持続する場合は、細胞がアポトーシスを起こし排除される。

本講演では、小胞体ストレス応答の解析結果を概説し、この解析を創薬へ活用しようとする試みを簡単に紹介したい。

千

田俊哉 高エネルギー加速器研究機構教授

タンパク質の3次構造情報は、分子レベルでの細胞内プロセス理解のための必須の情報であるため、これまでに多くのタンパク質の立体構造が決定されてきた。その結果、タンパク質構造情報のデータベースであるPDBには13万5千件を越える座標情報が登録されるに至っている。これらの構造情報を得るための手段としては、X線結晶構造解析が主要な役割を果たしてきたが、近年のクライオ電子顕微鏡の急速な進歩で、その状況が変わりつつある。単粒子解析法により近原子分解能の構造解析が可能になるとともに、クライオトモグラフィー法により細胞内タンパク質複合体の構造情報までもが可能になってきた。しかし、このような状況の中、日本におけるハイエンドクライオ電子顕微鏡の整備状況は必ずしも十分とは言えない。国内のクライオ電子顕微鏡を効果的に利用し成果を創出するためには、クライオ電子顕微鏡を組織化しネットワークを形成することが重要である。そこで我々は、BINDSプロジェクトにおいてクライオ電子顕微鏡のネットワーク化を開始した。E1とE2という2つのクライオ電子顕微鏡施設のカテゴリーを作り、E1にはユーザーと共同研究をすることで近原子分解能構造解析に最適なグリッドを作成するというスクリーニング機能を、E2は一定の基準を満たしたグリッドからハイエンドクライオ電子顕微鏡を用いてデータを収集する機能を付与する計画である。クライオ電子顕微鏡ネットワークとそれをサポートするWebシステムは2018年度の早いうちに稼働予定である。

岩

崎憲治 大阪大学蛋白質研究所准教授

2017年度のノーベル化学賞はクライオ電子顕微鏡に授けられた。この背景には、近年のクライオ電子顕微鏡による近原子分解能技術の急速な発達があったことは間違いない。大阪大学・蛋白質研究所では、AMED事業PDISにより、2015年度末にハイエンドなクライオ電子顕微鏡が導入され、2017年度からは、同じAMEDによる事業BINDSに本機の運営は受け継がれた。試料の交換が10分以内に素早く、簡易な操作で行え、なんといっても凍結試料の回収ができる点が大い。電子直接検出カメラが一世代前のものだったが、本年度8月に電子カウント機能付きのものにアップグレードしたところ、直後にβ-Galactosidaseで2.3Å分解能に到達した。これは、国内における単粒子再構成法の最高分解能であり、世界でもトップレベルに入る。こうして、世界的なレベルを現在維持運営し、多くのクライオ電子顕微鏡解析の被支援者の要望に答えている。さらに、次世代の取り組みとして、ボルタ位相板を早くから導入し、クライオ電子顕微鏡の苦手とする小さな分子でもわずか一年で功績を挙げてきた。2017年度はボルタ位相板開発者により、分子量64kDaの近原子分解能解析が行われ、限界分子量と考えられてきた100kDaを超えた記念すべき年となった。この応用をさらに進めて多様なコンフォメーション変化の可視化に挑んでいる。

大

嶋篤典 名古屋大学大学院創薬科学研究科教授

近年クライオ電子顕微鏡を用いた研究が盛んに行われており、結晶を得なくとも膜タンパク質の高分解能構造を明らかにした報告が増加している。ギャップ結合チャネルは多細胞生物において隣接細胞を貫通する形で連絡する、細胞間コミュニケーションチャネルである。この遺伝子ファミリーとして脊索動物に存在するconnexinと無脊椎動物の持つinnexinが知られているが、クライオ電子顕微鏡による高分解能構造解析の報告は過去になかった。

我々はクライオ電子顕微鏡の単粒子解析法を用いて、線虫のinnexin-6(INX-6)のギャップ結合チャネルの原子構造の解析を行った。INX-6ギャップ結合チャネルは16量体構造で、その全体構造と単量体構造はともにconnexin-26(Cx26)と類似しており、N末端ファネル、膜貫通ヘリックスの配置、細胞外ループに存在するbヘアピンとS-S結合の位置が共通していた。また単量体の細胞質ドメインは細胞内ループとC末端がヘリックス-ターン-ヘリックスを作りながら相互作用してコアを形成し、16量体構造ではこれが集まって屋根型ドームを形成し、N末端ファネルから伸びるループを細胞質側から押さえ込む配置にあった。

本講演では高分解能に重要な役割を果たすクライオ電子顕微鏡の試料調製法も含め、最新のクライオ電子顕微鏡によるギャップ結合チャネルを中心とした構造研究を紹介する。

岩

田想 京都大学大学院医学系研究科教授

薬剤の作用点の多くは膜タンパク質であり、その構造解析の難度は依然として高いという問題が存在する。我々はヒト・哺乳類の膜タンパク質に抗体フラグメントを結合させて結晶化を促進するという独自技術を確立し、構造研究を推進してきた。これまでに抗体技術を用いて、GPCRやトランスポーターなど多くのヒト・哺乳類膜タンパク質の結晶構造解析に成功している。またその一方で、GPCRの安定化変異体を高効率で作製する分子工学技術を駆使し、結晶構造解析にも成功している。最近では、細胞膜の外側から結合しかつ受容体の状態を固定化する機能的抗体技術を確立するとともに、GPCRの安定化変異体予測を行い、アゴニスト抗体そしてインパースアゴニスト抗体を用いて3種類のGPCRの新規構造を決定している

我々は現有技術を活用して外部研究者との共同研究を広範囲かつ効果的に展開し、膜タンパク質・抗体医薬等の生産および結晶構造解析を推進している。特に、①膜タンパク質の過渡的複合体を安定化・大量生産する技術を開発し、X線やクライオ電子顕微鏡単粒子解析による構造研究の方法論を確立および、②膜タンパク質の作動・遮断を制御する機能的抗体あるいは抗体ミメティクス分子の高効率作製技術を確立することに重点を置いている。これらについて現在の我々の取り組みや国内および世界の潮流についてできる限りご紹介したいと考えている。

砂

塚敏明 北里大学北里生命科学研究所教授

大村創薬グループでは、微生物由来の有用な生物活性天然有機化合物の発見を目指して微生物の新しい分離・培養法の開発や独創的で多様な生物活性探索法を考案し、前例をみない500種におよぶ新規天然物を発見している。その中で26化合物が医薬、動物薬、農薬及び研究用の試薬として市販され広く使われている。特にイベルメクチンは動物薬として食糧の増産に貢献し、更に熱帯病のオンコセルカ症及びリンパ系フィラリア症の治療と予防に年間約3億人に投与され、人々を病から救っている。更にスタウロsporinは最強のプロテインキナーゼ阻害剤として注目され、抗癌剤グリーベックおよびイレッサの開発の前駆的役割を果たした。一方、ラクタシスチンは巨大複合酵素プロテアソームの特異的阻害剤として広く注目を集め、多発性骨髄腫の治療薬ベルケイドのオリジナル化合物である。このように大村創薬グループが微生物の持つ無限の可能性を引き出すことに成功している秘訣は「微生物学グループ」「生化学グループ」「化学グループ」の強固な連携にある。まず「微生物学グループ」が様々な分離源・分離法による未利用な微生物の分離・分類・発酵を担い、続いて「生化学グループ」が特異的な標的とする生物活性探索系を構築し、「化学グループ」が有用物質の分離・構造決定、半合成法、全合成法による最適化を行うことで創薬リードを創製する。本シンポジウムでは大村創薬グループに於ける微生物創薬についてトピックスを通して紹介する。