

X線を用いた膜タンパク質の結晶構造解析の展望

村田武士
千葉大学大学院理学研究院

膜タンパク質は、ゲノムにコードされる全タンパク質の30%を占め、物質輸送、シグナル伝達、生体エネルギー産生・変換などの細胞機能において重要な役割を果たしている。また同時に、市販の医薬品の60%程度が膜タンパク質に作用することから、創薬においても重要なターゲットとして知られている。したがって、トランスポーターやG蛋白質共役型受容体(GPCR)などの創薬標的膜タンパク質の立体構造を体系的かつ網羅的に解明していくことは、ライフサイエンスの進展に大きく寄与するだけでなく、立体構造に基づいた医薬分子設計(SBDD)を推進する上で産業界からの期待も大きい。膜タンパク質の構造研究には、主にX線結晶構造解析法が用いられているが、現在までに立体構造が解明された膜タンパク質は700種類程度に限られ、特にヒトに限れば60種類にも達していない。このことが新薬開発の進展を遅らせる原因の1つとなっていた。膜タンパク質の構造解析が難しい理由として、(1)大量生産が難しいこと、(2)結晶化が難しいことの2つのボトルネックが挙げられる。我々は上記課題の解決策として下図に示すような大量生産技術および結晶化技術を開発し、いくつかの膜タンパク質の結晶構造を得ることに成功している。本講演では、膜タンパク質の構造解析のボトルネックと解決策について世界の動向を含め紹介する。

大量生産技術開発

- バクテリア、酵母を用いた生産技術
- CN-PAGEを用いた性状評価システム
- 理論計算による耐熱化変異体予測法

膜タンパク質用の自由エネルギー関数
 $F/(k_B T_0) = -S/k_B + \Lambda/(k_B T_0), T_0 = 298 \text{ K}.$

ターゲット $-AAS \sim AS_n \sim (-AS_n)$ $\Delta\Delta\Lambda = \Delta\Delta\Lambda_M - \Delta\Delta\Lambda_W$

計算結果の上位20では5割的中率！

国際特許出願: PCT/JP2015/068277

結晶化技術開発

- 結晶化を促進する機能性抗体創出技術
- 抗体を用いた膜タンパク質の結晶化技術

a. Liposome immobilization

b. 1st screening: Liposome ELISA

c. 2nd screening: Denatured dot blot

d. 3rd screening: Binding affinity selection

Nature 2012, COSE 2013 特許第5526448号 - PCT/JP2010/57631 複合体の結晶

開発技術を用いて得られた結晶構造

 腸球菌由来 V-ATPase K-ring Science 2005	 線菌由来 NOR Science 2011	 ヒト由来 アドレニンA2a受容体 Nature 2012	 腸球菌由来 V1-ATPase Nature 2013
 ラット由来 糖輸送体 (Glut5) Nature 2015	 ヒト由来 アディポネクチン受容体 Nature 2015	 鮮魷由来 ロドプシン (TR) JBC 2015	 ヒト由来 プロスタノイドEP4受容体 論文投稿中
			 ヒト由来 イオン輸送体 (Band3) Science 2015
			 ヒト由来 アセチルコリンM2受容体 論文投稿中