

採用年度	平成 22 年度
種別	拠点形成型

先端研究拠点事業  
平成22年度 事業実績報告書

平成23年 4月11日

領域・分野	医歯薬学
分科細目名（分科細目コード）	基礎医学 医化学一般（6905）
採用番号	22004
研究交流課題名（和文）	ケミカルジェネティクスとプロテオノミクスの為の国際連携計画
研究交流課題名（英文）	Collaboration for Chemical Biology and Proteonomics
採用期間	平成22年4月1日～平成24年3月31日

《実施組織体制》

日本側

拠点機関名	京都大学大学院医学研究科
実施組織代表者（所属・職・氏名）	医学研究科・研究科長・湊 長博
コーディネーター（所属・職・氏名）	医学研究科・教授・武田 俊一
協力機関数	3
参加者数	47名

相手国1

国名	米国
拠点機関名	National Institute of Health
コーディネーター（所属・職・氏名）	National Cancer Institute・Chairman・Yves POMMIER
協力機関数	0
参加者数	5名

※交流相手国が複数の場合、適宜、枠を追加して記入すること。

相手国2

国名	スイス
拠点機関名	University of Zurich
コーディネーター（所属・職・氏名）	Functional Genomics Center・Professor・Josef JIRICNY
協力機関数	0
参加者数	4名

## 交流目標の達成（見込）状況

### ① 平成22年度事業計画における達成目標

#### A. 学術的な成果

スイス：国内のほとんどの研究機関では、京大も含めて、研究者が、SILACなどの最新のプロテオミクス解析を実施することは事実上不可能である。一方、チューリッヒ大学には、プロテオミクスや大規模ゲノム解析について充実したサービスを提供する附属共同実験施設（Functional Genomic Center）があり、すべての研究グループが消耗品の負担だけでSILACを実施できる。本施設には合計40人もの専任のエンジニア、インフォーマティシャン、実験補助員が所属する。チューリッヒ大学の研究者（Prof. J. Jiricny）と共同研究することを介して、日本側が、Functional Genomic Centerのサービスを利用しプロテオミクスを学ぶ機会を持てるようにする。

米国：米国国立衛生研究所（NIH: National Institute of Health）に付属するNIH Chemical Genomics Center（NCGC）は、世界中の研究者に開かれた、化学物質ライブラリー（400,000種類）のハイスループット解析を実施する研究施設である。各化学物質についてその濃度を5桁もの範囲でふってその生物作用を解析できる施設は、基礎研究の研究機関では、世界で唯一のものである。我々は、NIHの研究者にハイスループット解析を提案している。この共同研究に参加することで、若手研究者が化学物質のスクリーニングやケミカルバイオロジーを学べるようにする。

国内のほとんどの研究機関では、京大も含めて、研究者が、SILACなどの最新のプロテオミクス解析あるいは400,000種もの化学物質をハイスループットスクリーニングすることはできない。本先端拠点は、以上の先端的な研究手法を国内の研究者が学び実施する機会を与える。さらに若手医学生物学者を国際共同研究の場に参加させることによって、彼等に、情報学を学ぶ重要性を認識させることができる。

#### B. 持続的な協力関係の基盤構築

スイス：日本側コーディネーターの武田がスイス側コーディネーターのProf. J. Jiricnyと共同研究をすることによって、チューリッヒ大学のプロテオミクスのサービスを利用できるようになった。同様のサービスを、京都大学を含む国内の研究室も利用できるようにする。

米国：NIHの複数の研究者と複数のプロジェクトについて、ハイスループット解析を実施できるようにする。

#### C. 若手研究者育成における成果

スイス：若手研究者にプロテオミクスを学ぶ機会を与える。

米国：若手研究者に、新薬開発や化学物質の毒性解析を目標にした、化学物質のスクリーニングやケミカルバイオロジーを学ばせる。

#### D. 国際的学術情報の収集整備

スイス：SILACなどの最新のプロテオミクス手法について、その学術情報が継続的に得られる人的ネットワークを構築する。

米国：NCGCでは、約200種類ものプロジェクトが進行し、その成果はすべてインターネット（PubChem）上に公開される。NCGCで研究することは、自分のプロジェクトを進められるのみならず、他のプロジェクトの成功・失敗を知ることができる。さらに、NCGCで勤務することによって、米国政府が新薬開発を目的に企業や基礎研究者をどのように支援しているかを知ることができる。

#### E. 事業の波及効果

スイス：プロテオミクスは、タンパク生化学の技術を開発するのに貢献する。

米国：PubChemに公開された膨大な情報（化学物質の生物作用）から有用な情報をマイニングする技術を獲得する為には、NCGCでの、化学物質スクリーニングの実態を知ることが重要である。本先端拠点によって、我々はマイニング技術を獲得し、最終的には、化学物質の構造からその生物作用を情報学的手法によって予測できるようになる。

## 交流目標の達成（見込）状況 続き

### ② 平成22年度事業計画の達成状況

#### A. 学術的な成果

スイス: H22年度に、1人の研究者がチューリッヒでSILACと呼ばれるプロテオミクスの実験を実施した。そしてチューリッヒ大学の研究者と共同研究した結果、2つの論文をそれぞれPNAS USA. 発表できた。

米国: 2つの成果がH22年度にある。1つ目は、米国側コーディネーターのDr. Pommierは、NCGCで我々が作製したニワトリ細胞株を使った新規抗がん剤のスクリーニングを実施する為の予備実験を行った。この予備実験の結果、400,000種の化学物質ライブラリーをスクリーニングする準備ができた。2つ目は、我々と米国National Toxicology Programと共同でNCGCにおいて実施した化学物質の毒性評価について、論文とレビューとをそれぞれ発表した。

#### B. 持続的な協力関係の基盤構築

スイス: 日本側とスイス側のコーディネーターである武田とProf. J. Jiricnyとが共同研究をすることによって、チューリッヒ大学のプロテオミクス解析のサービスを利用できるようになった。武田の研究グループ以外に、もう1つの研究グループ（京大・放射線生物研究センターの小松教授）もサービスを利用できるようになった。

米国: Dr. Pommierは、ニワトリ細胞株を使った新規抗がん剤のスクリーニングが非常に有用であることを示した。この成功によって、NIHの他の研究グループ（Dr. KJ Myung）ともスクリーニングの共同研究が始められた。さらにNational Cancer Institute（NIHの姉妹研究機関）のDr. Bhadrasain VikramおよびDr. Norman C. Colemanと、放射線治療の増感剤開発を目的とした共同研究を進める交渉を始めることができた。

#### C. 若手研究者育成における成果

スイス: 若手研究者4名がプロテオミクスを学んだ。

米国: 若手研究者3名がハイスループットスクリーニングを学んだ。

#### D. 国際的学術情報の収集整備

スイスでプロテオミクス解析を、そして米国NIHでハイスループットスクリーニングをそれぞれ継続的に実施することにより、それらの解析手法に関する学術情報を継続的に得られるようになりつつある。

#### E. 事業の波及効果

スイス: 東北大学の大学院生にプロテオミクスを学ばせる機会を作れた。

米国: NIHの研究者（Dr. KJ Myung）の案内によって、国立医薬品食品衛生研究所の3名の研究者がNCGCを訪問できた。彼等に化学物質の毒性をハイスループット解析する現場を見学してもらうことができた。

## 実施状況

### 日本側拠点機関における研究交流課題への取り組み（事務支援体制等の観点より）

海外派遣に際し、事務が円滑に手続きを行ってくれる等、研究交流に対して十分な支援をしてくれた。そのおかげでほぼ予定通りの海外交流が進められ、より多くの成果を得ることができた。

## 共同研究

### (1) スイス FAN1 タンパク分子の機能解析

スイス側のコーディネーターである Prof. J. Jiricny は、FAN1 と呼ばれる分子に着目し、その機能解析の為の共同研究を武田に提案した。日本側の貢献により、Prof. J. Jiricny は 2010 年に Cell と PNAS. USA. とにそれぞれ論文を発表できた。PNAS. USA. の筆頭著者は、武田の研究室の大学院生である。

### (2) スイス DNA 損傷に伴って起こるユビキチン化の網羅的解析

放射線治療や多くの抗がん治療は、染色体 DNA を損傷して、結果的に癌細胞を自殺させる。DNA 損傷が発生すると、細胞のなかでは >1,000 種類のタンパクがユビキチン化される。どのユビキチン化が自殺誘導や損傷の修復反応に重要なかを解明することは困難である。日本側のコーディネーターである武田は、8 種類のユビキチン化酵素の遺伝子破壊株をそれぞれ単一の親株 (DT40) から単離した。そして、遺伝子破壊株の表現型解析から、どのユビキチン化酵素がどんな生物作用を有するかを系統的に解明できた。武田は、Prof. J. Jiricny と共同して、先端プロテオミクス解析手法 (SILAC) を使って、各遺伝子破壊株のユビキオーム (>1,000 種類のタンパクのユビキチン化) を解析する。この実験によって、各ユビキチン化酵素の基質を同定し、さらに各基質のユビキチン化の機能を解明する。2010 年に廣田准教授がチューリッヒで SILAC を実施し、データを得た。

### (3) 米国 化学物質の変異原性をハイスループット解析する手法の開発

毎年 1,000 種の新規化学物質が市場に出る。先進国の政府は、これらの化学物質が有する変異原性を 40 年前に開発された手法 (Ames test) を使って評価している。そして変異原性以外の毒性は、事実上調査されていない。米国政府は、化学物質が持つ様々な毒性をハイスループットに解析する手法を開発する Tox21 project を開始した。我々は、変異原性をハイスループットに解析する手法を Tox21 project の実施機関の 1 つである National Toxicology Program に提案した。我々の提案は採用され、大学院生 (山本) が NCGC でハイスループット解析を実際実施した。山本は筆頭著者としてこの成果を論文発表した。また武田も、この実験結果をレビューに発表した。

### (4) 米国 抗がん治療薬の開発

酵素の阻害剤を探索する実験は、多くの場合、精製された酵素を使って実施されてきた。しかし、阻害剤が見つかったとしても、それは、試験管内反応ではよく働くが、生きた細胞において機能しない場合が多かった。実際、Y. Pommier (米国 NIH) は、抗がん治療薬の開発を目的に、Tdp1 と呼ばれる DNA 修復酵素を阻害する薬剤を、精製された Tdp1 酵素を使って探索したが、見つかった阻害剤は細胞には期待したほど機能しなかった。そこで我々は、Y. Pommier に細胞 (Tdp1 遺伝子破壊細胞) を使った阻害剤探索方法を提案した。我々の教室から Y. Pommier (米国 NIH) にポスドク (村井博士) を派遣し、彼女がハイスループット解析の予備実験を NCGC で実施した。そして我々が提案した手法が、充分機能することを証明した。すなわち、予備実験で既に生きた細胞のなかの Tdp1 に働きかける薬剤を見つけることができた。村井博士は、この予備実験の結果を論文にまとめている。

### (5) 米国 神経変性疾患の治療薬を開発

上記の (4) の共同研究の成功によって、遺伝子破壊細胞を使ったハイスループット解析を、神経変性疾患の治療薬開発にも応用する共同研究を NIH の研究者 (Dr. R.J. Neule) と始めることができた。

## セミナー

(1) 当初計画していた国際毒物学会（2011年3月）内でのシンポジウムの開催が、採択されなかったため開催することができなかった。

(2) 同時期に、日本側コーディネーターである武田は、NIHで2回セミナーを実施した。セミナーのホストは、それぞれ KJ, Myung 博士 と Y. Pommier である。

(3) 武田は、National Cancer Institute (NCI) の中の Radiation Research Program の研究者6名を対象にセミナーをした。6名の中には、武部博士 (<https://mail.nih.gov/owa/UrlBlockedError.aspx>) が含まれている。武部博士は、国内の医学部を卒業後、渡米し、現在、国家公務員として抗がん治療の新薬開発を基礎研究から治験まで支援している。一方、日本側は、私と Y, Pommier (NIH) でニワトリ細胞を使った新薬スクリーニングの実験手法を NCGC で樹立した村井博士とがデータを発表した。このセミナーによって、上記の国内外の拠点機関及び協力機関の間の、協力連携の状況に記載した『京大・放射線生物研究者と National Cancer Institute との共同研究』を開始することに合意できた。

## 研究者交流

### (1) スイス

共同研究は相互互恵の関係を構築することが重要である。武田は、J. Jiricny のニーズを正確に理解し、彼が必要とする実験手法（ニワトリ DT40 細胞株を使った遺伝学的実験手法）やデータを提供してきた。一方、J. Jiricny は、チューリッヒ大学の研究支援機関 (Functional Genomic Center) を我々が利用することに便宜をはかった。我々が、Functional Genomic Center を利用して、ニワトリ DT40 細胞株用にプロテオノミックス (SILAC) を最適化できれば、J. Jiricny の研究にも貢献できる。

### (2) 米国

先端拠点事業を開始する前には、National Toxicology Program の Ray Tice および NIH の Y. Pommier と共同研究をしていた。彼等との共同研究（遺伝子破壊細胞を使った、化学物質の生物作用をハイスループット解析）が成功したことにより、2010年には新たに、KJ. Myung (NIH) および Dr. R.J. Neule (NIH) と共同研究を始められた。さらに京大の放射線生物学者（放射線生物研究センター、原子炉実験所生物学部門、医学部、京大病院）と National Cancer Institute のなかの Radiation Research Program (Dr. Bhadrasain Vikram) とが、米国のグラント (R01) を共同申請することに同意できた。