

はじめに

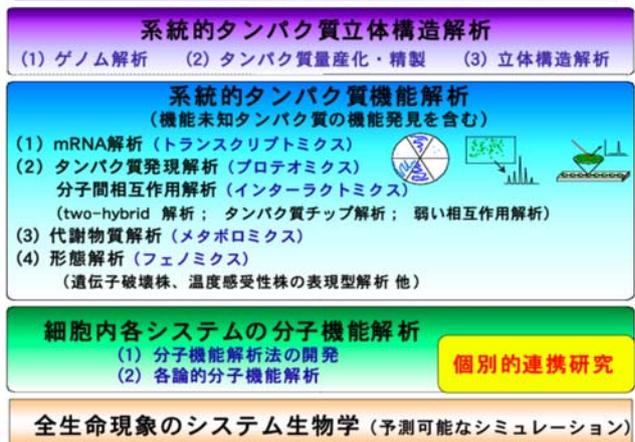
- ～ 残された約 500 種類のタンパク質（遺伝子）の機能発見 ～
- ～ 細胞丸ごと一匹の原子分解能でのイメージング ～
- そして、
- ～ 細胞内システム全体の理解 ～
- へ向けて

播磨の SPring-8 キャンパスでは、XFEL を利用したイメージングへの挑戦が始まっています。細胞を構成する全分子について、究極のイメージングが可能になれば、これまでの「間接的な生命現象の理解」から、「直接的に、動画で、生命現象を理解する」という夢が実現します。幸い、高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 は、細胞内のタンパク質分子の立体構造解析の成功率がもっとも高い生物種である上に、全タンパク質の種類も約 2,200 と少ないモデル生物です。このように、*T. thermophilus* HB8 は現時点で、原子分解能の細胞内イメージングへ向けて最も適した生物種ですので、イメージング技術の活用も積極的に進めたいと考えています。この「イメージングへ向けた大きな夢」が、今回からの連携研究会から付け加わりました。

タンパク質を始めとする生体分子の立体構造を基にして、一つの細胞システム全体の生命現象を、原子レベル（物理化学的レベル）で理解することを目指すのが「**高度好熱菌 丸ごと一匹 プロジェクト**」です。その目的に最も適したモデル生物として、**(1) 遺伝子操作系が存在する生物** の中で、**(2) 最も高温で生息する**、という 2 つの条件を満たす **高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8** を選んでいます (<http://www.thermus.org> ; Kuramitsu, S. *et al.* (1995) *Protein Eng.* **8**, 964-964 ; Yokoyama, S. *et al.* (2000) *Nature Struct. Biol.* **7**, 943-945)。その最終目標を達成するまでに、研究は以下の 4 段階が並行しつつ進行すると考えられます。

- 第 1 段階： タンパク質その他生体分子のゲノムワイドな立体構造解析。
- 第 2 段階： タンパク質その他生体分子のゲノムワイドな機能解析。
- 第 3 段階： 細胞内各システムの各論的個別解析。
- 第 4 段階： 予測可能なレベルのシミュレーション（システム生物学）。

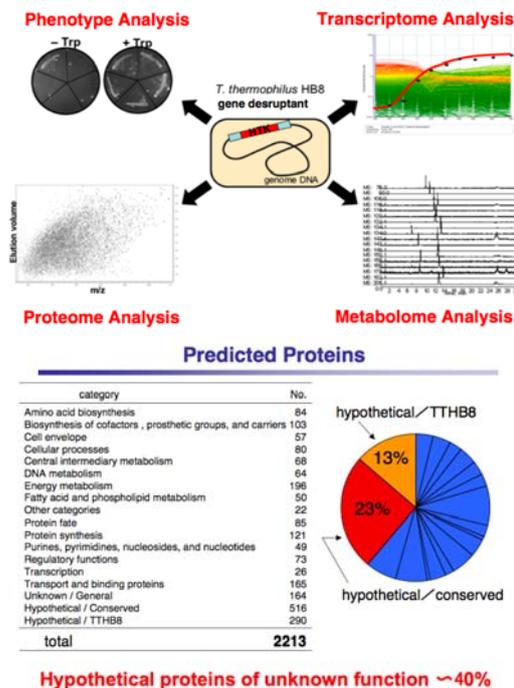
高度好熱菌 丸ごと一匹 プロジェクト ～ 基本的生命現象の系統的解明 ～



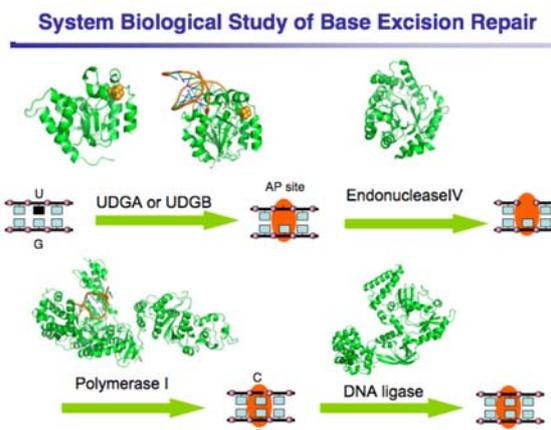
(1) **第1段階** の原子分解能の立体構造解析では、タンパク質については、**ゲノムワイドな立体構造解析**が多くの方々の協力により順調に進展しつつあり、これまでに約21%が完了しています。次に、膜タンパク質や複合体タンパク質の解析への挑戦が進んでいます。

このように細胞内の各部品に相当する分子の**原子分解能の構造解析**は着々と進んでいます。それらとDNAや細胞膜などがどのような構造体を形成して機能を発揮しているかを理解するためには、細胞全体の高分解能のイメージング技術が不可欠です。

(2) **第2段階** は、**ゲノムワイドにタンパク質などの機能解析**を行うステップです。この段階では、mRNAの発現（トランスクリプトミクス）、タンパク質の発現（プロテオミクス）、代謝物質の増減（メタボロミクス）、分子間相互作用（インターラクトミクス）、遺伝子破壊株や表現型（フェノミクス）などの解析方法を利用します（右上図）。これらの方法は、第1段階の立体構造解析とともに、**機能未知タンパク質**（右中図）の**機能発見**のための**機能推定**に威力を発揮しており、その後の各論的研究による**分子機能の確認**を可能にしています。



(3) **第3段階**の**細胞内各システムの各論的個別解析**は、ゲノムワイドな研究が始まる遙か以前から、各研究者によって行われてきた“各論的”分子機能解析を含んでいます。これまでに精製したタンパク質を利用して、システムとしての反応過程の理解も可能となります（例：右図）。



最近では、同じ活性をもつ酵素分子でも、分子によって、さらに時刻によって、活性が変化することが知られています。また、高密度の細胞内では、生体分子が希薄溶液中と異なる挙動を示します。細胞内では平衡状態の成り立っていないので、非平衡の熱力学取り扱いが必要と考えられています。このような現象を理解するためには、新たな学問基盤の確立や、分子・細胞機能解析法の開発が必要となります。

さらにこの第3段階では、タンパク質のみならず、すべての生体成分の物性を**研究者間で共通した一定の条件下で解析**し、それら「どのような構造をした、どのような機能をもった」生体分子が「細胞内のどの場所に」「どれだけの分子数」存在するかなどを調べるとともに、

それらの「時間依存性」をも調べる必要があります、イメージング情報が大きな貢献をすると期待されます。そして、第4段階のシミュレーションに必要な各論的データを系統的に収集することになります。

(4) **第4段階** は、第3段階までの膨大な情報を統合し、細胞全体を原子レベルで理解するために、シミュレーション結果と比較しつつ研究を進めることになります（システム生物学）。そして、単なる説明ではなく、予測可能なシステム生物学を目指す ことになります。

また、そのような研究過程を通して、ヒトを含めたあらゆる生物に共通で、基本的生命現象に参与する 機能未知タンパク質（遺伝子）数百種類の機能解明が期待されます。

このようにして、高度好熱菌でシステム生物学の学問基盤が整備でき、シミュレーションが生命現象の単なる説明ではなく、生命現象を予測できる段階に達すれば、「我々人類は、生命現象を理解できた」と言える時代に一步近くことになります。ヒトなどの場合には、さらに、組織レベル、個体レベルでの理解が必要となりますが、高度好熱菌研究を利用した学問基盤の整備によって、ヒトの病気の治療や予防なども大きく様変わりすると期待されます。

今回の第7回連携研究会では、モデル生物としての *T. thermophilus* HB8 をシステム全体として理解するために必要な (1) 残された約 500 種類のタンパク質（遺伝子）の機能発見； (2) 細胞丸ごと一匹の原子分解能でのイメージング； (3) 細胞内システム全体の理解へむけたシステム生物学 などをキーワードとして、新たな将来の夢を語り合う機会になることを祈っております。

高度好熱菌研究グループを代表して 倉光成紀

Homepage <http://www.thermus.org/>

clone id	product	locus	clone set	supplement 1	supplement 2	disruption
			vector	vector 1	vector 2	
TTHA001	DNA polymerase III, beta subunit	1:55_1182	PC10001-41 pET-11a			YES
TTHA002	enolase (2-phosphoglycerate dehydratase)	1:1235_2203	PC10002-42 pET-11a			X
TTHA003	pyruvate kinase	1:2480_3914	PC10003-42 pET-11a			X
TTHA004	hypothetical protein	1:complement (3912_4892)	PC10004-41 pET-11a			X
TTHA005	metallobeta-lactamase family protein	1:complement (4482_5506)	PC10005-41 pET-11a			YES
TTHA006	1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate synthase	1:complement (3482_7340)	PC10006-41 pET-11a			X
TTHA007	hypothetical protein	1:complement (7349_7992)	PC10007-41 pET-11a			YES
TTHA008	phage shock protein A	1:complement (8037_8699)	PC10008-43 pET-11a			YES

1865 Clones of *Thermus thermophilus* HB8 are available from RIKEN Bioresource Center (BRC).
http://www.brc.riken.jp/lab/dna/en/thermus_en.html
 All clones are constructed in pET expression system without tag residues.
 Clone set: Clones are shipped as frozen recombinant *E. coli* DH5a in 96-well plates with dry-ice.
 Single clone: Clone(s) is shipped as DNA solution in TE buffer in individual tube.

タンパク質量産化プラスミドや遺伝子破壊用のプラスミドは、理研バイオリソースセンター (http://www.brc.riken.jp/lab/dna/en/thermus_en.html) から入手可能。関連情報も、公開の順次公開されつつあります。