

創薬へのPDBデータベースの インパクト

ステファン ケビン バーレイ 教授
Stephen K. Burley, M.D., D.Phil.

スカッグス薬学研究科
カルフォルニア大学サンディゴ校

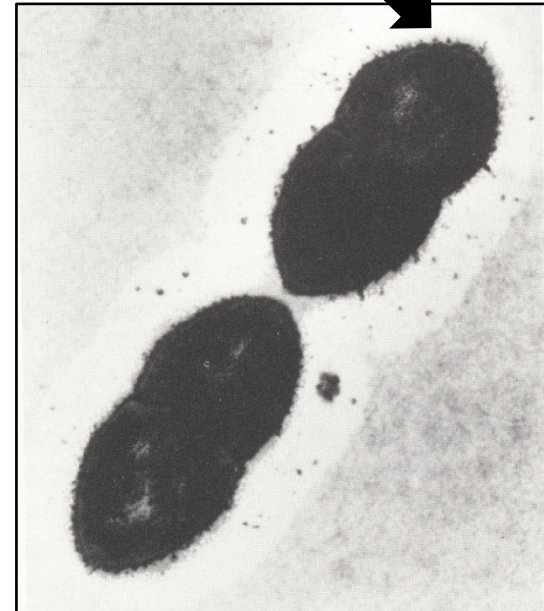
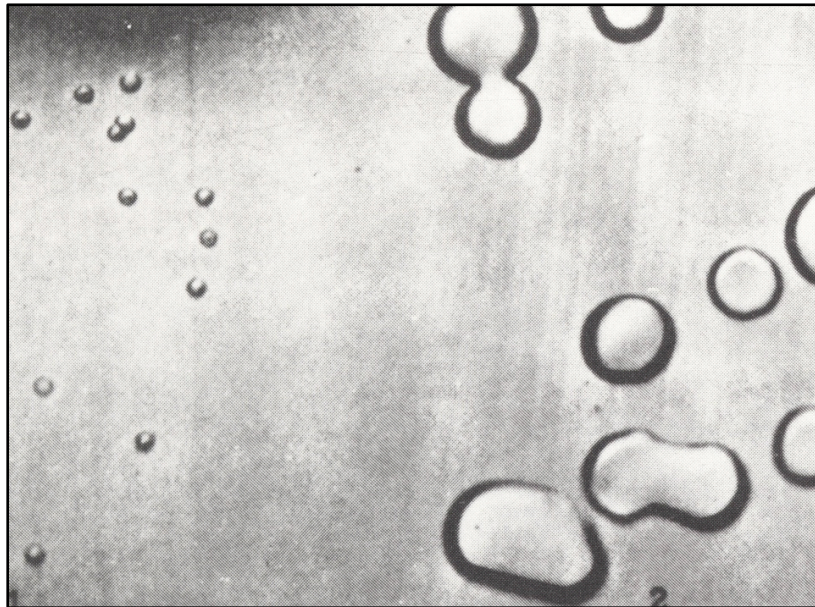
2012年10月13日

本日の講演の内容

- DNA/RNA/蛋白質とゲノム革命
- PDBを用いた創薬の実例
 - 細菌感染症の治療
 - 血液癌(骨髄癌、白血病)の治療
- PDBを利用したさらなる医薬品開発へ
 - さらに多くの医薬品化合物
 - 抗体医薬品

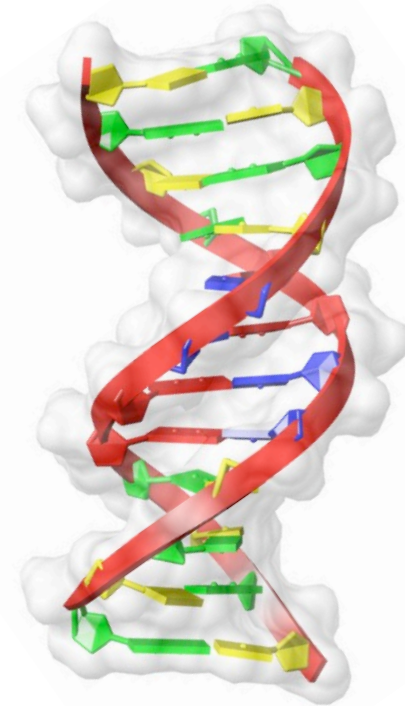
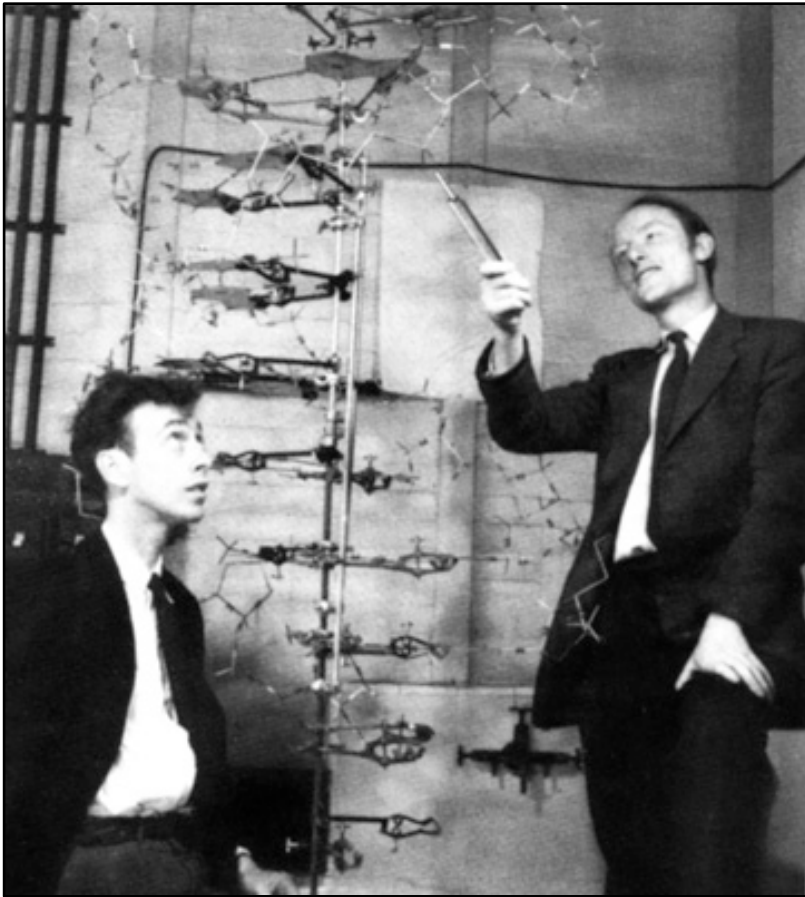
DNAこそが形質転換を引き起こす遺伝物質

- エーブリー, マクラウド, マッカーティ による実験 (1944)
- 肺炎双球菌においてDNAの入れ替えを行って形質転換を観察
 - 小さなコロニー = 糖鎖の覆いがない → 病原性が無い
 - 大きなコロニー = 糖鎖で覆われている → 致命的
 - 余分の遺伝子はその差を生んでいる



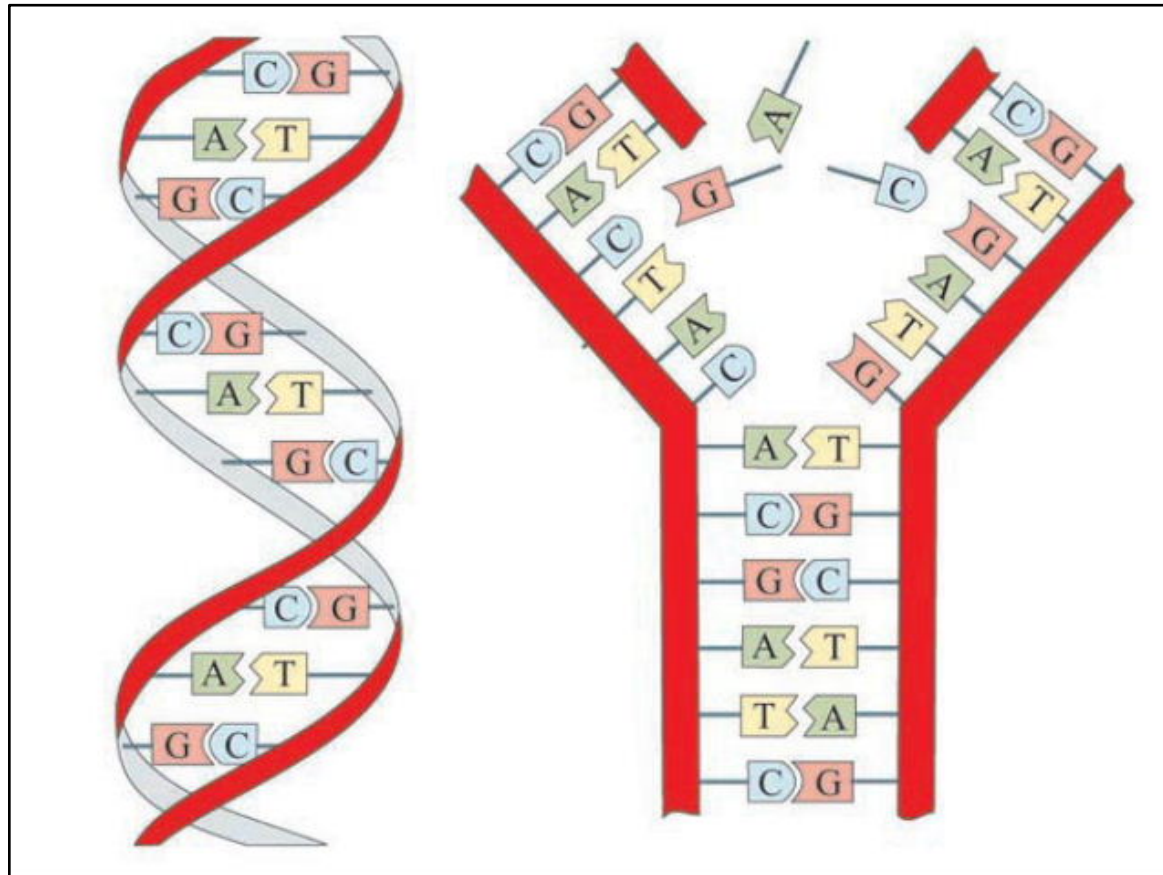
DNA二重らせん構造

- ワトソン-クリックのモデル
- PDBには、たくさんの原子分解能によるDNA構造がある(1bna)



塩基対→二重らせん構造 二重らせん構造→機能

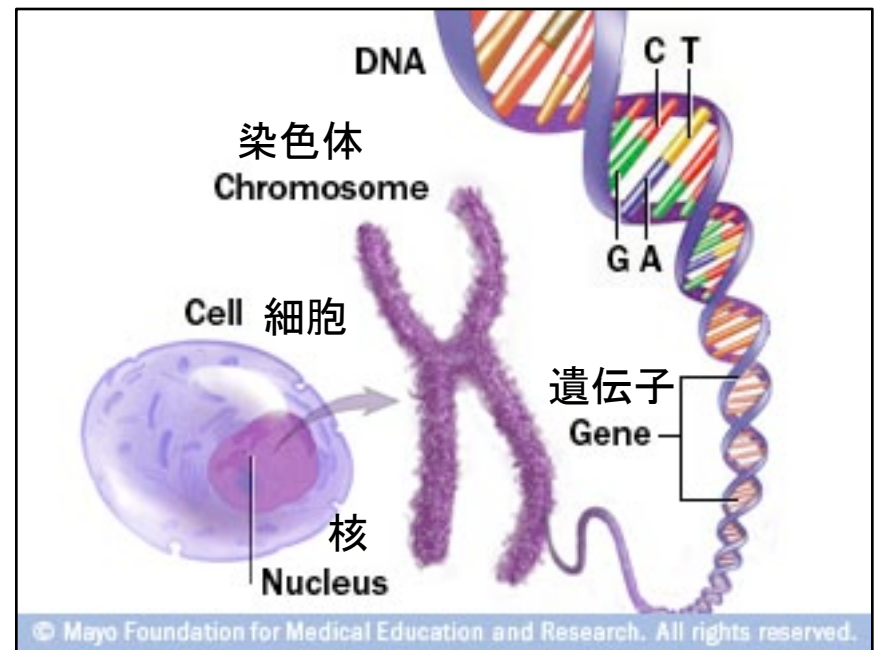
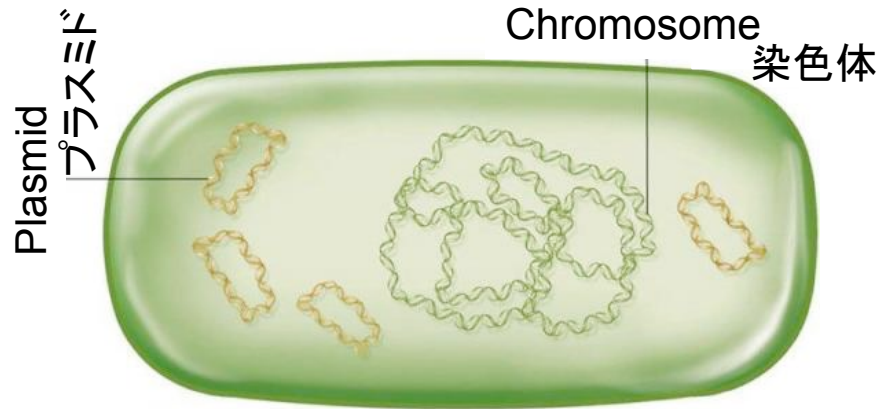
- アデニン-チミン (A-T)
- グアニン-シトシン (G-C)



DNAの組織化

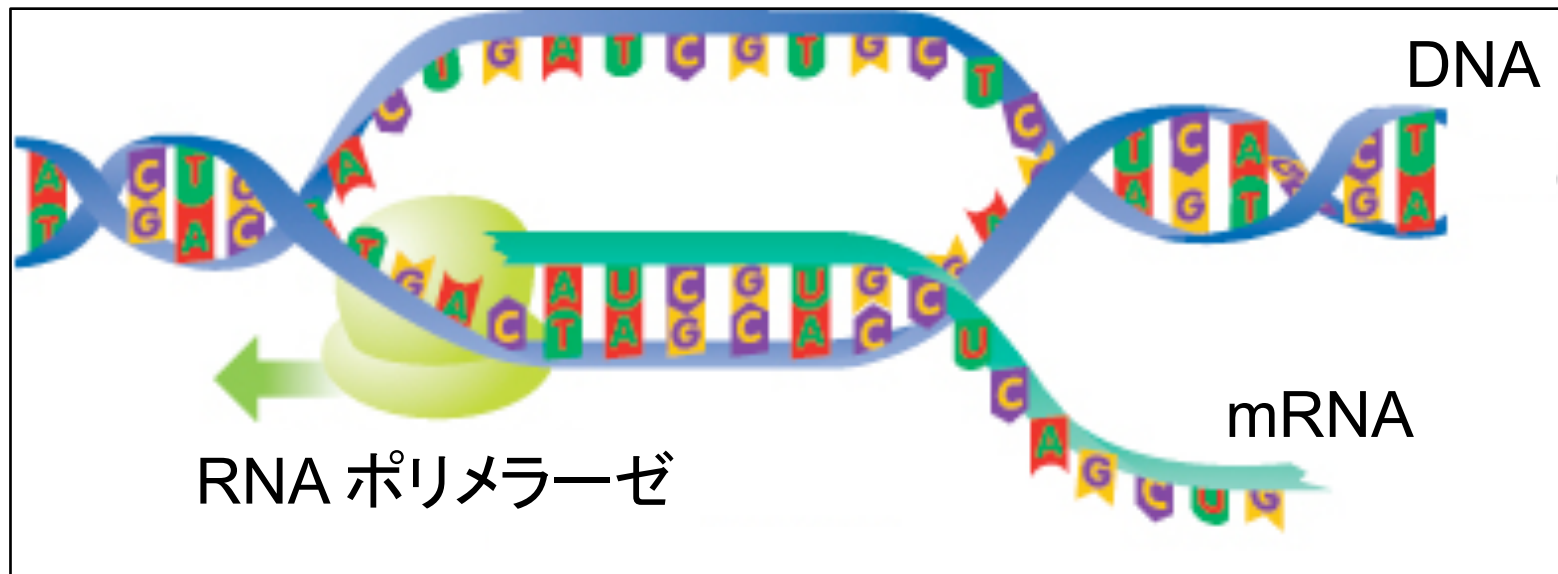
環状および直線状の染色体

- 細菌のDNAは環状
- 染色体(Chromosome)には千個もの遺伝子がある
- プラスミド(Plasmids)は、わずか数個の遺伝子を持ち、細胞間を動き回る
- ヒトのDNAは線状
- 46 の染色体に約2万の遺伝子がある



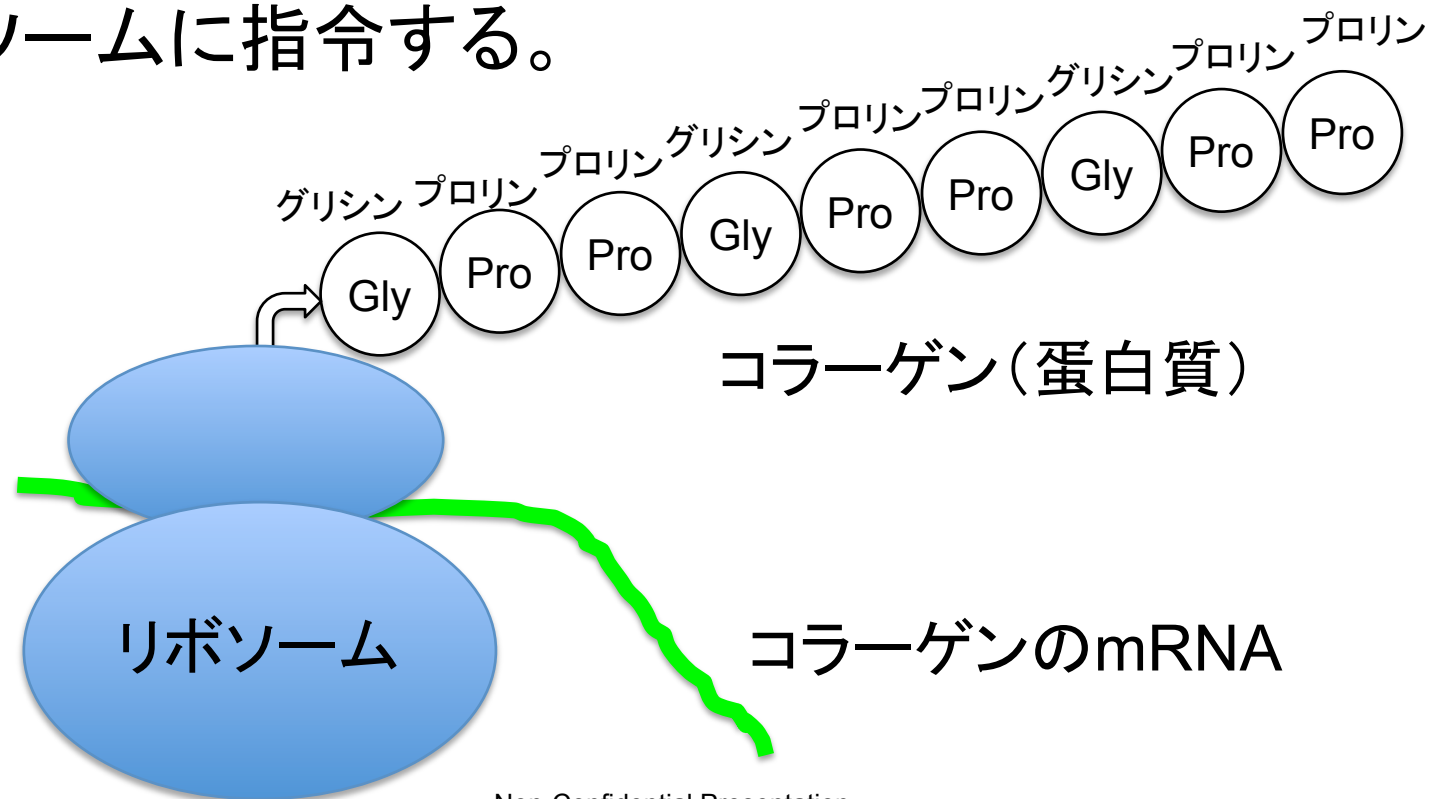
DNAはRNAを作りRNAが蛋白質を作る！

- DNAの転写 → メッセンジャーRNA (mRNA)
- DNAは世代間に遺伝情報を伝えていく“設計図面”
- DNA は遺伝暗号として遺伝子型を決定する



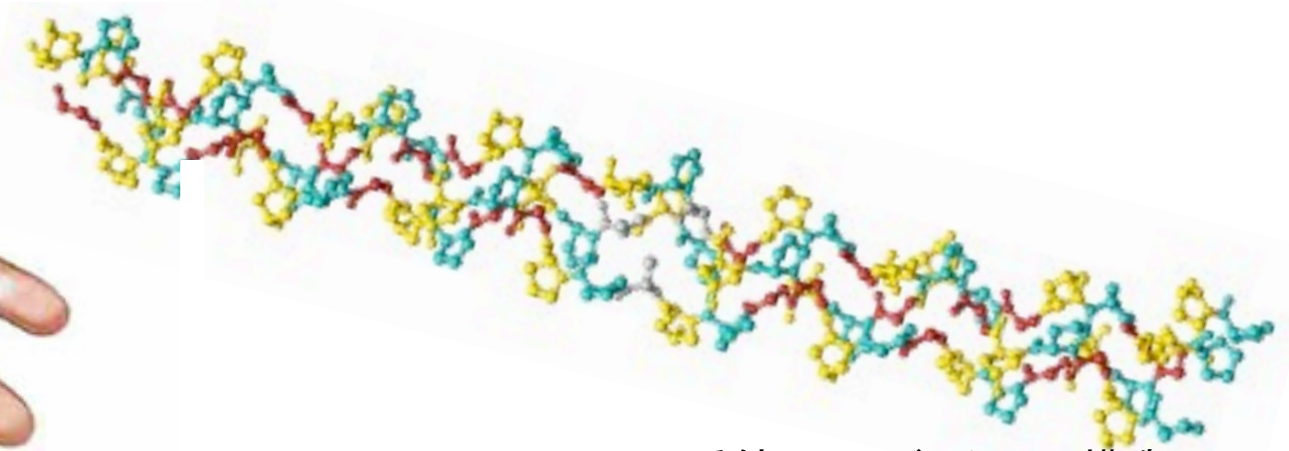
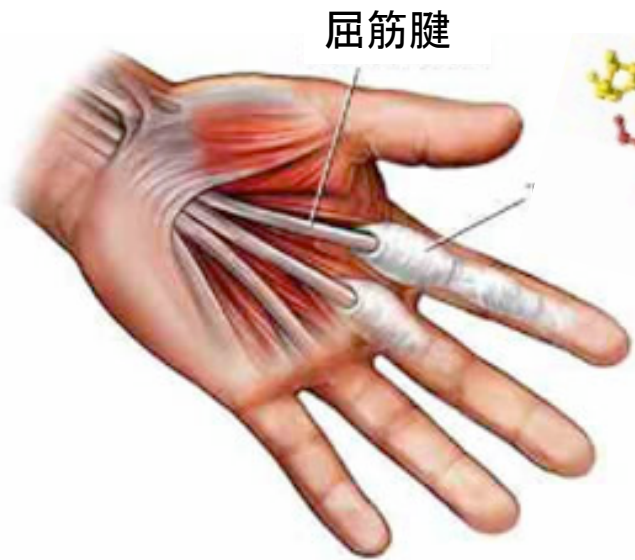
DNAはRNAを作りRNAが蛋白質を作る II

- メッセンジャーRNA (mRNA)の翻訳 → 蛋白質(表現型)
- mRNA は “設計図”から抽出された“施行図” で、個々の蛋白質(たとえばコラーゲン)をどのようにつくるかをリボソームに指令する。



DNAはRNAを作りRNAが蛋白質を作る III

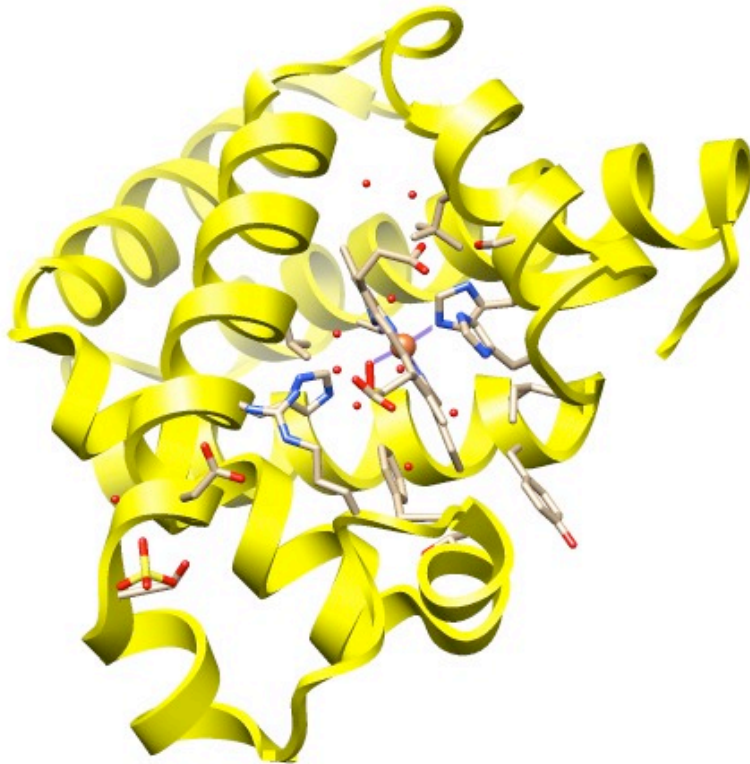
- 蛋白質は細胞の素材を組み立て、生命活動に欠かせない“機械”を構築する。
- 異なる蛋白質 → 異なるタイプの組織
- 三重鎖コラーゲンらせん構造による分子のロープが腱となる



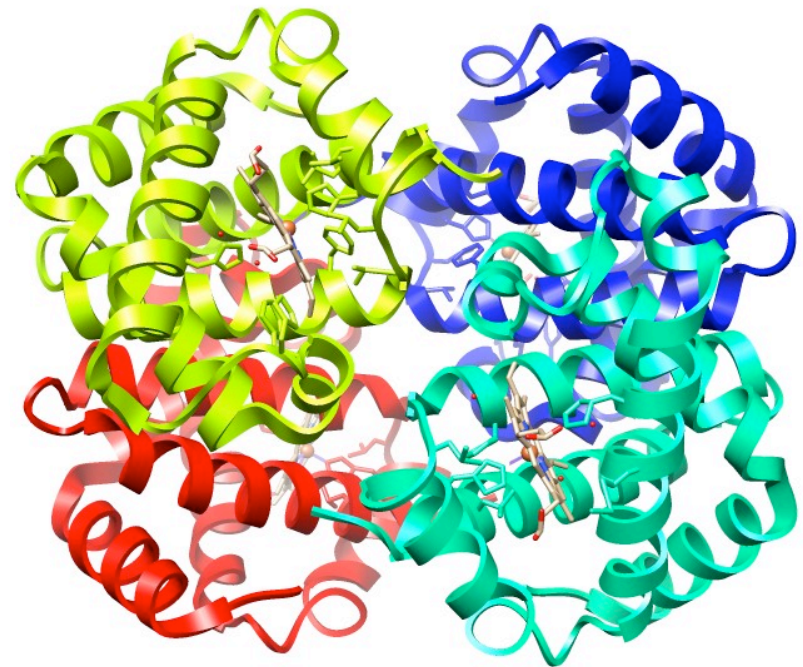
三重鎖コラーゲンらせん構造
PDB ID 1cag

蛋白質構造 → 生物の機能

- ミオグロビンは筋肉中で酸素を貯蔵する
- 赤血球にあるヘモグロビンは酸素を運ぶ (肺 → 組織)



PDB ID 1mbo



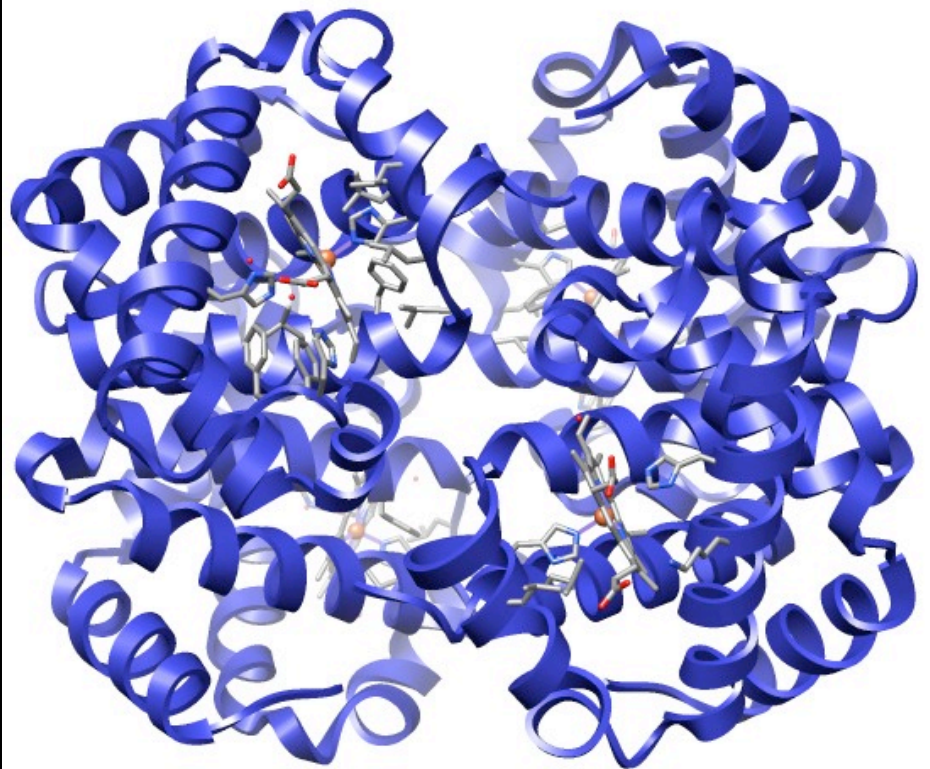
PDB ID 4hhb

活動中のヘモグロビン (Hb)

動脈中のオキシHb / 静脈中のデオキシHb

(酸素分子が結合したHb)

(脱酸素されたHb)



PDB IDs 1hho と 2hhb

ゲノム配列解析→ 分子医学

- ヒトゲノム
 - 染色体 1-22
 - XとY 染色体
 - ~20,000 の遺伝子
 - ミトコンドリアDNA
 - 13 遺伝子
 - 99.7% がネアンデルタール人と同一
 - 98.8% がチンパンジーと同一
 - 解析費用 < 10万円



2つの道筋 → 新たな薬

- 表現型による発見

- 低分子化合物(500ドルトン以下)に対する細胞や動物の反応を調べる
- 低分子化合物は天然化合物や化学試薬ライブラリー、あるいはコンビナトリアル・ケミストリによる合成試薬として得られる
- 例: ペニシリン

- 標的蛋白質による発見

- これらの低分子化合物に対して個々の標的蛋白質がどのような生化学的反応をするかを調べる
- 例: グリベック

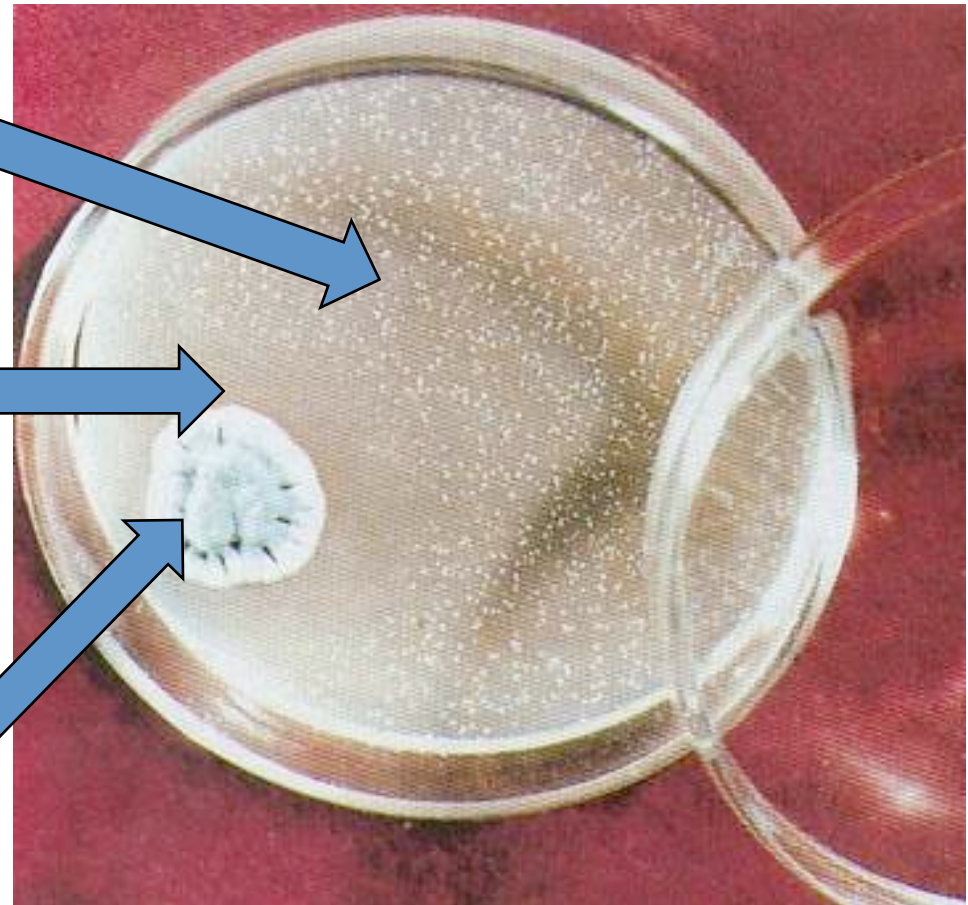
“偶然による” ペニシリンの発見

フレミング (1928)

黄色ブドウ球菌の
コロニー

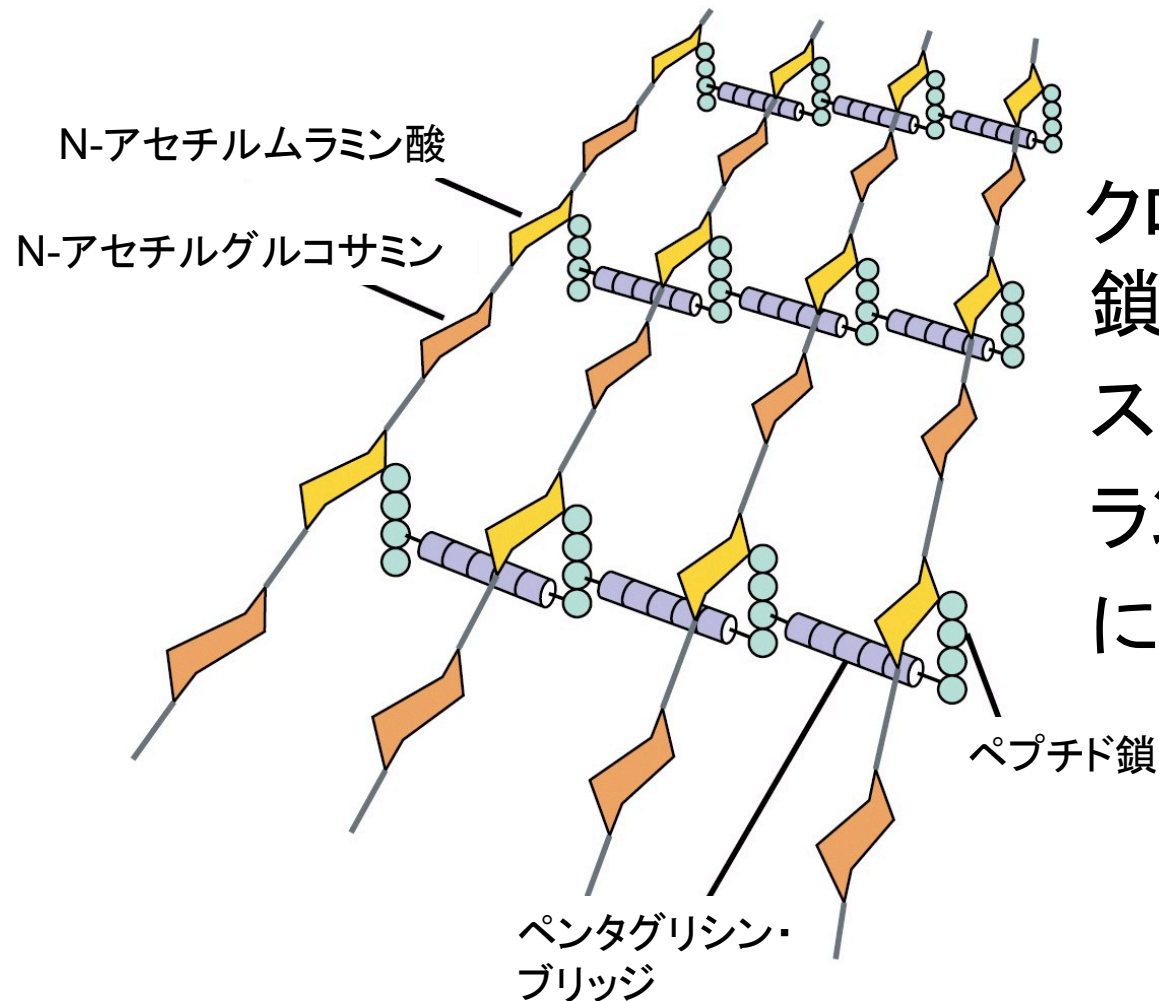
カビが分泌する“抗生
物質”による“生育無
し”を示すハロー

アオカビ(ペニシリン
産生菌)のコロニー



“自然(チャンス)は準備された心に降り立つ” ルイ パスツール

バクテリアの細胞壁を構成するペプチドグリカン (糖ペプチド高分子)の層: 分子による鎖鎧(よろい)

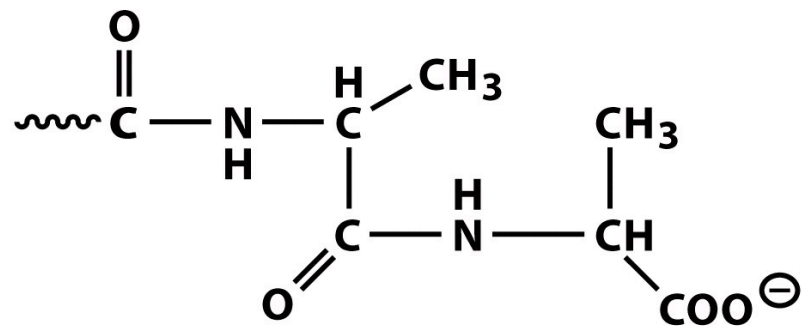
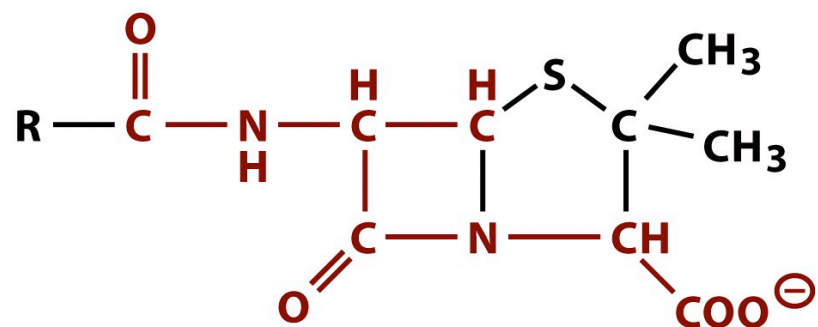


クロスリンクしたペプチド鎖がD-Ala-D-Ala-トランスペプチダーゼ (DD-トランスペプチダーゼ) によって集められる

ペニシリンは、クロスリンクした鎖錠を作るために必要なD-Ala-D-Ala 分子を模倣したもの

- フレミングは、ペニシリンを“偶然に” 表現型によるスクリーニングによって発見した
- フレミングは、天然の物質（ペニシリン）をカビから精製した
- ペニシリンはD-Ala-D-Ala分子を模倣したものであった

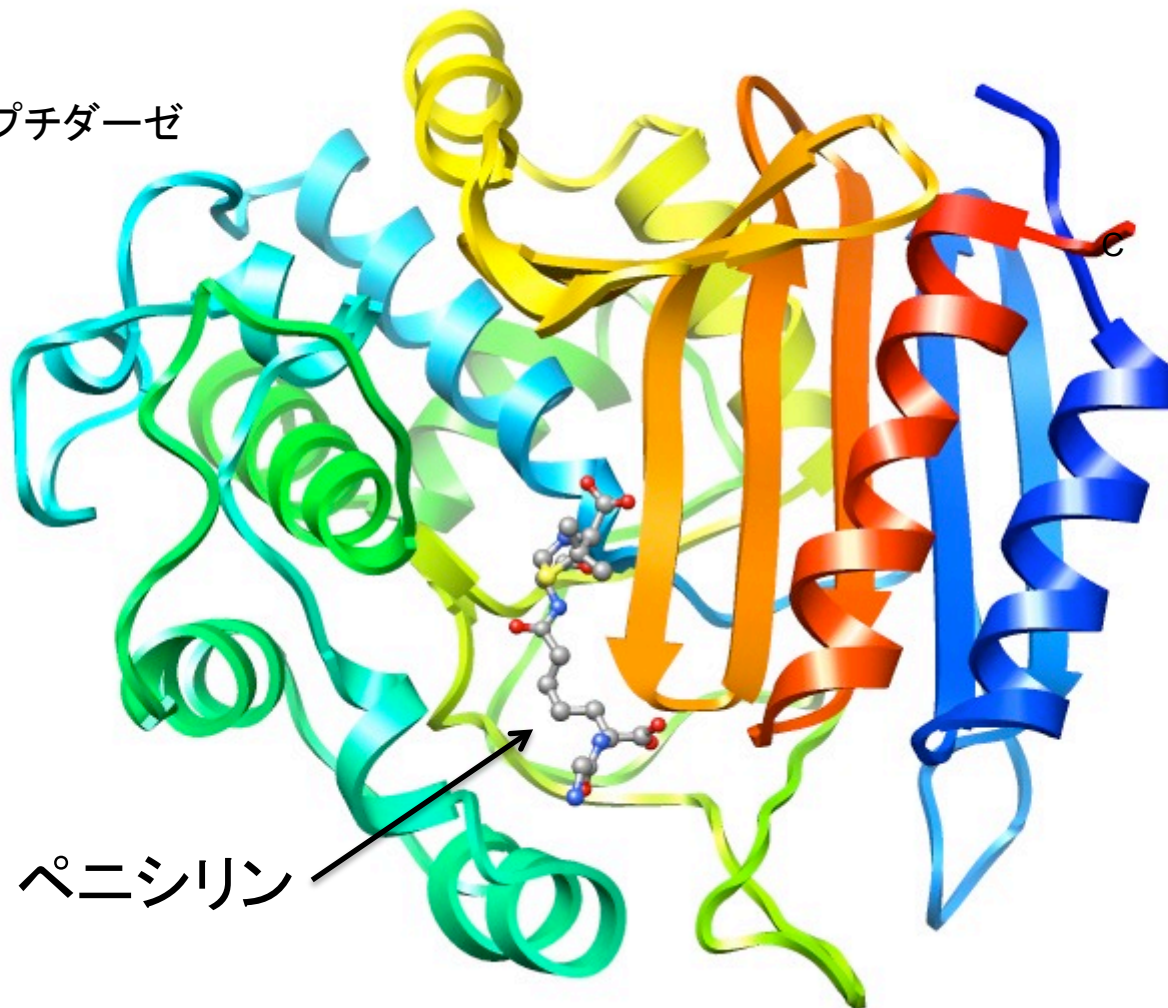
- ペニシリンとD-Ala-D-Alaとの比較



~~~~~D-Ala – D-Ala

# ペニシリンは非可逆的にその標的である DD-トランスペプチダーゼに結合する

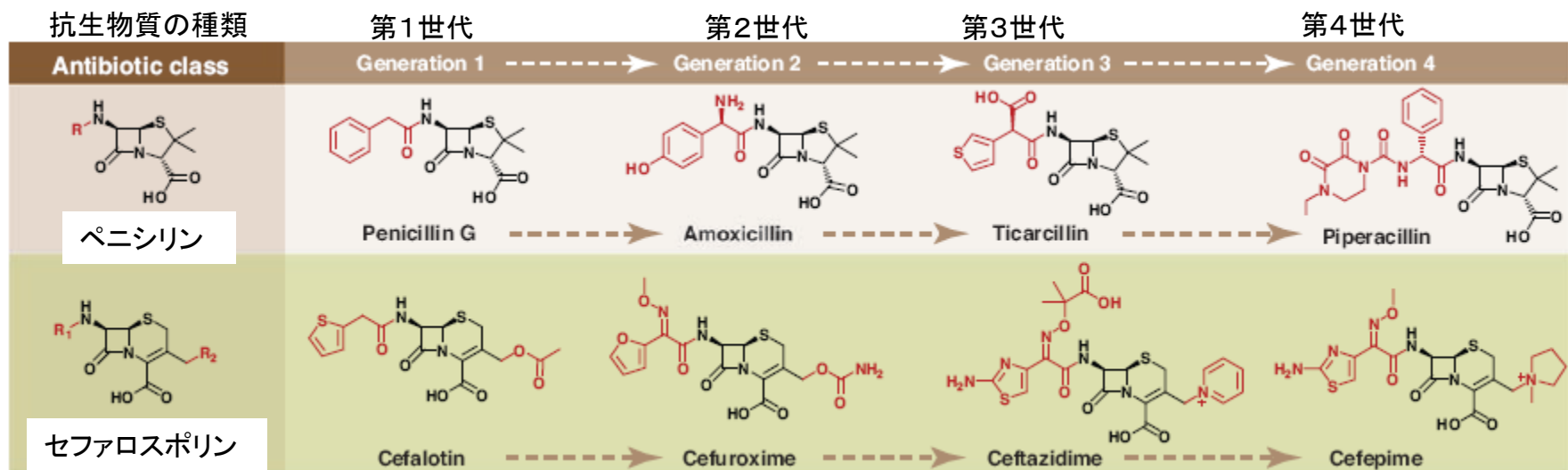
放線菌の  
DD-トランスペプチダーゼ  
PDB ID 1pwg



ペニシリン

# 抗生物質の開発競争 I: 新薬 より多くのペニシリン・アナログからセファロスポリンへ

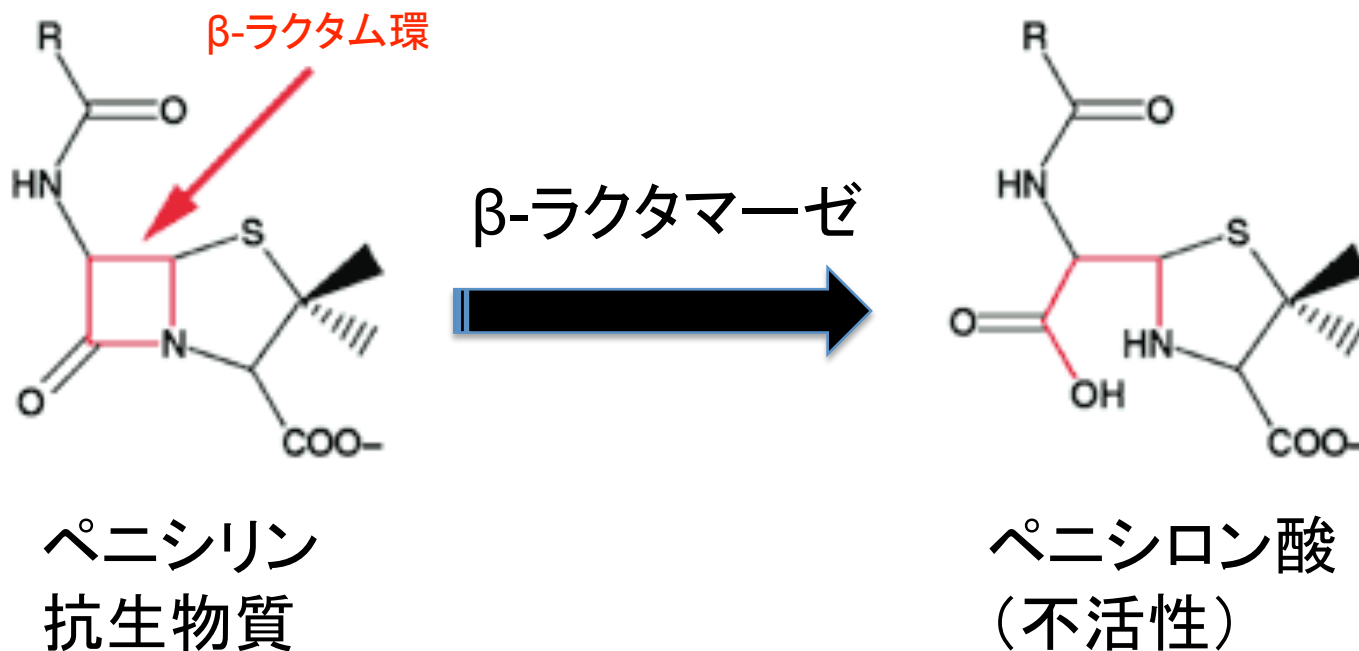
- 製薬企業は、DD-トランスペプチダーゼを標的としてペニシリンに共通する4-5二環式ベータラクタム骨格に加えて4-6 二環式セファロスポリン変異体を調べた
- セファロスポリンもD-Ala-D-Ala 分子を模倣したもの





# ペニシリン耐性の $\beta$ -ラクタマーゼ酵素の発見

- アブラハムとチェインはペニシリンを不活性化する酵素を発見した
- 酵素は、化学反応を触媒して引き起こす蛋白質のことである



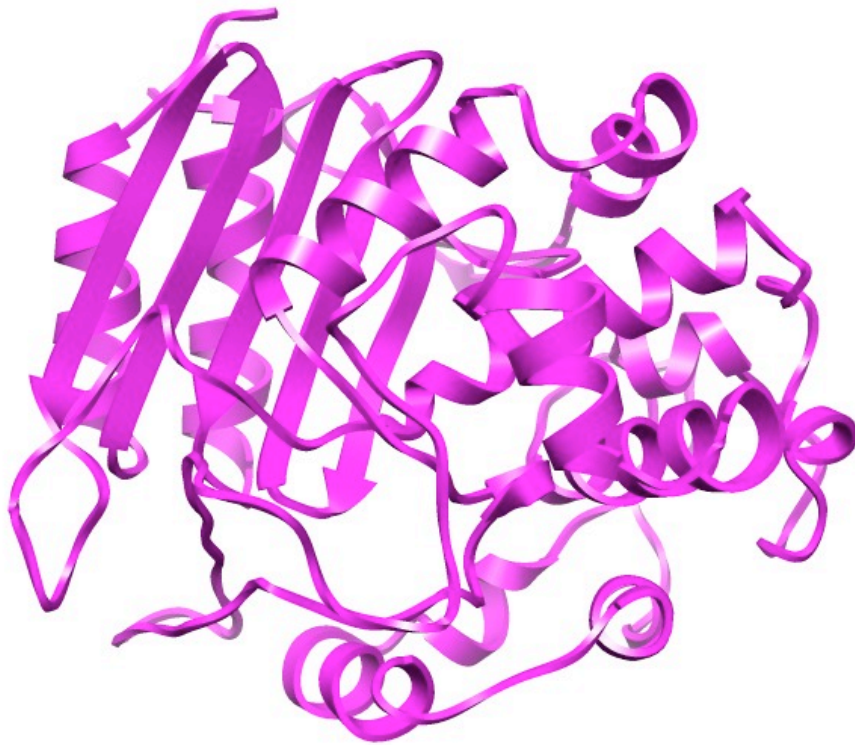
Q:  $\beta$ -ラクタマーゼはどこから来たのか?

A: 多くがDD-トランスペプチダーゼから進化してきた

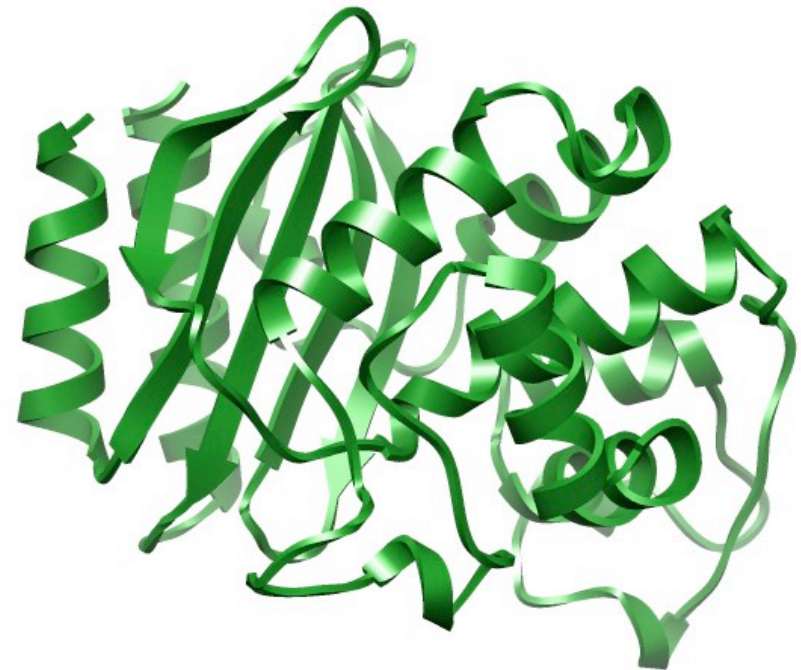
抗生物質の標的

→→→

耐性酵素



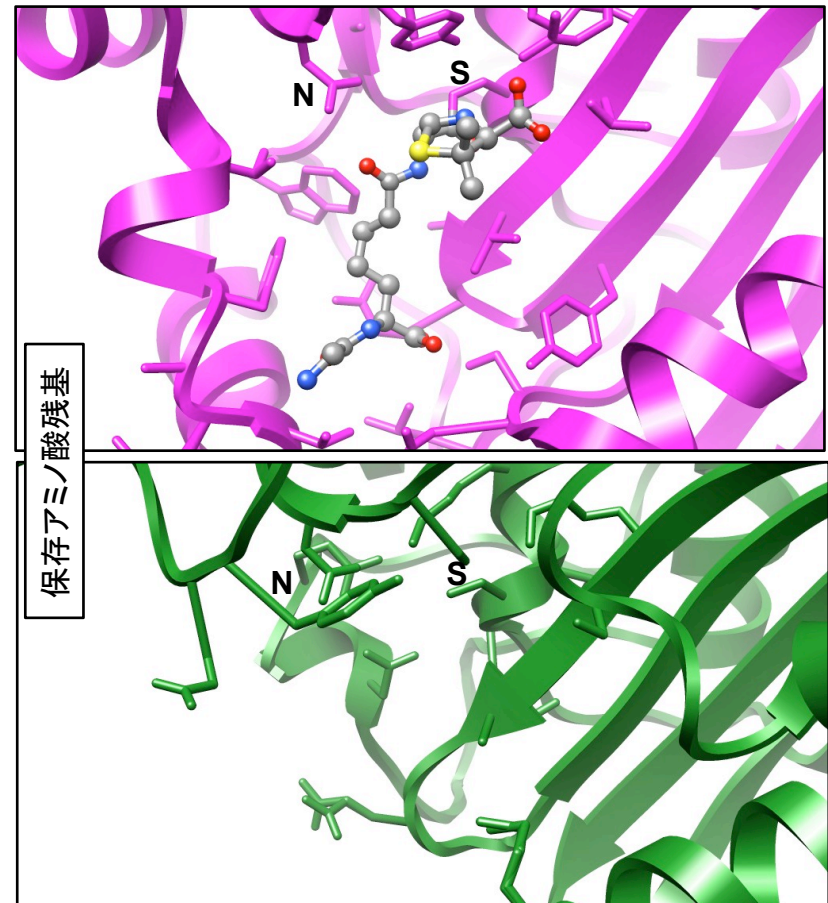
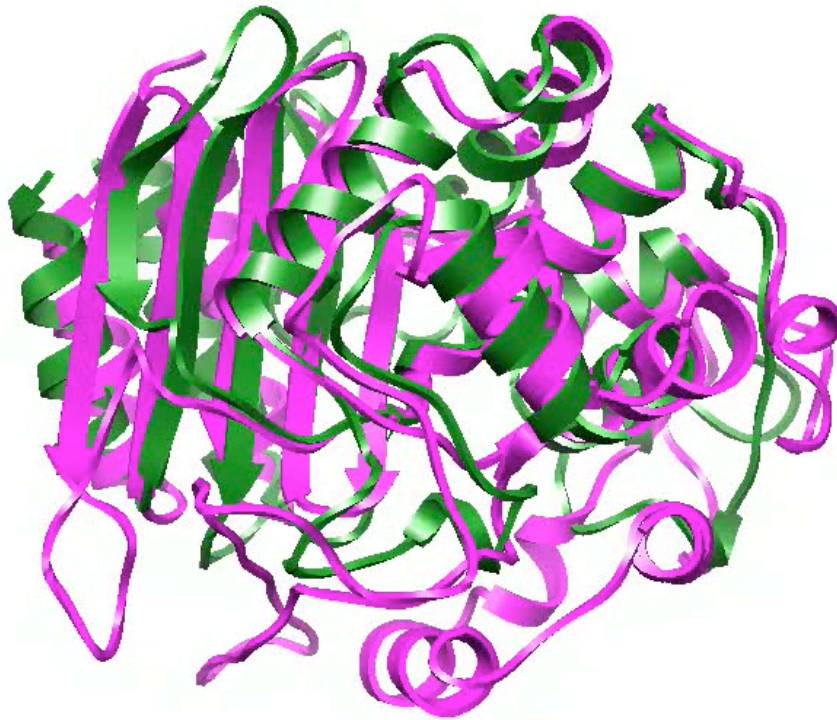
放線菌 DD-トランスペプチダーゼ  
PDB ID 1pwg



大腸菌TEM-1  $\beta$ -ラクタマーゼ  
PDB ID 1m40

# DD-トランスペプチダーゼから進化した $\beta$ -ラクタマーゼ (遺伝子重複とその後のアミノ酸変異による)

DD-トランスペプチダーゼ vs  $\beta$ -ラクタマーゼ

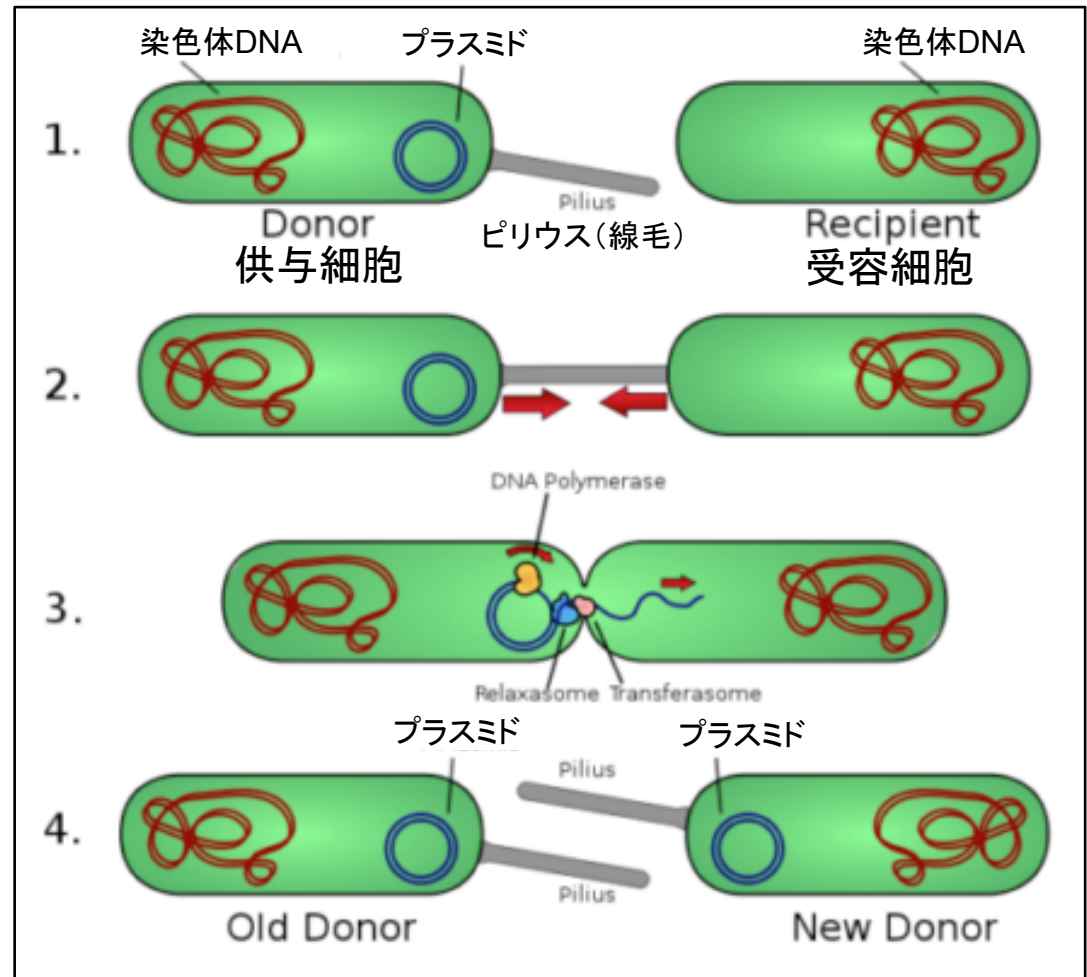


DD-トランスペプチダーゼ

$\beta$ -ラクタマーゼ

# 抗生物質耐性の伝達

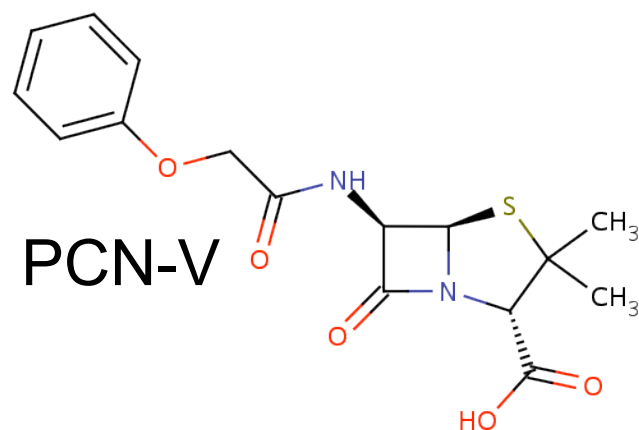
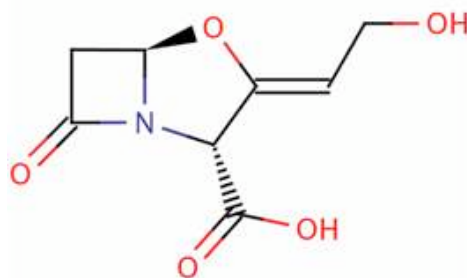
- バクテリアはプラスミドを使ってDNAを入れ替える
- 耐性遺伝子 (例えば $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子) は数年の間に世界中に蔓延する



## 抗生物質の開発競争 II: 組み合わせ ペニシリン + $\beta$ -ラクタマーゼ阻害剤

- ペニシリンの不活性化は、 $\beta$ -ラクタマーゼの働きを阻害することで防げる
- クラブラン酸 (D-Ala-D-Alaの別の模倣分子) は、不可逆的に $\beta$ -ラクタマーゼの働きを阻害する

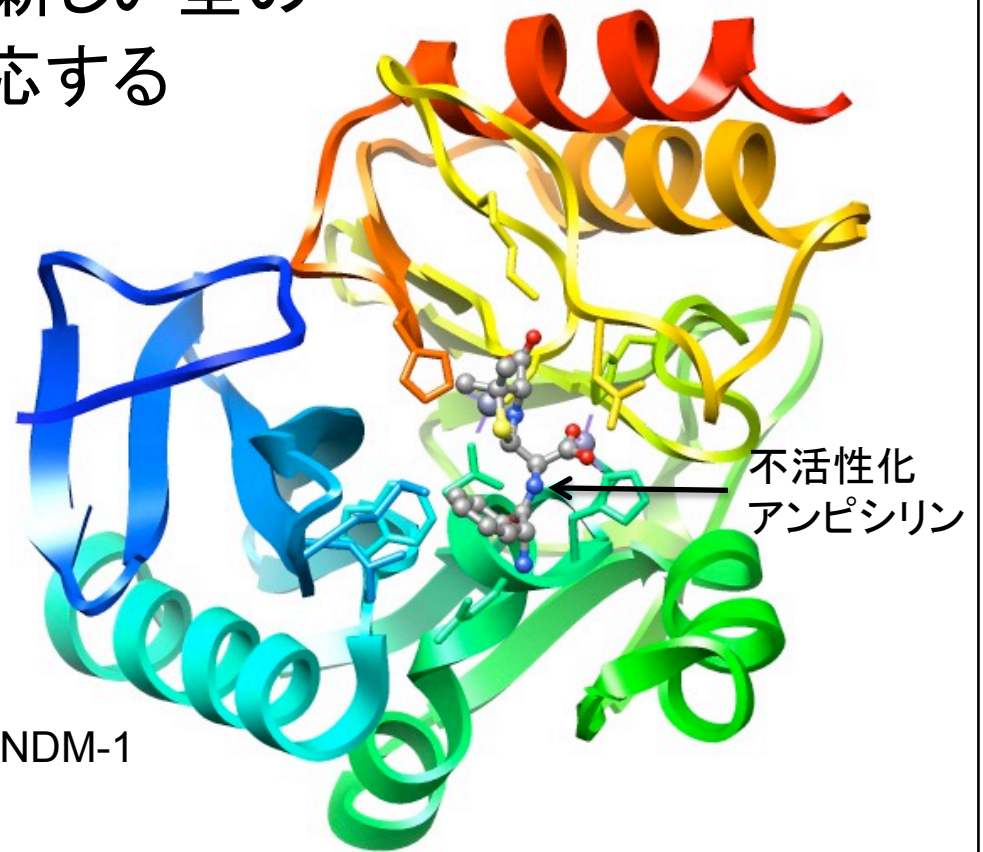
クラブラン  
酸





# 抗生物質の開発競争 III: 自然が勝利している!!!!

- ニューデリーで発見された “Superbugs (スーパー耐性菌)” には、新しい型の様々なβ-ラクタマーゼに対応する遺伝子が見つかった
- 金属イオン依存性酵素 (DD-トランスペプチダーゼとは異なる)
- 新たな薬物標的!

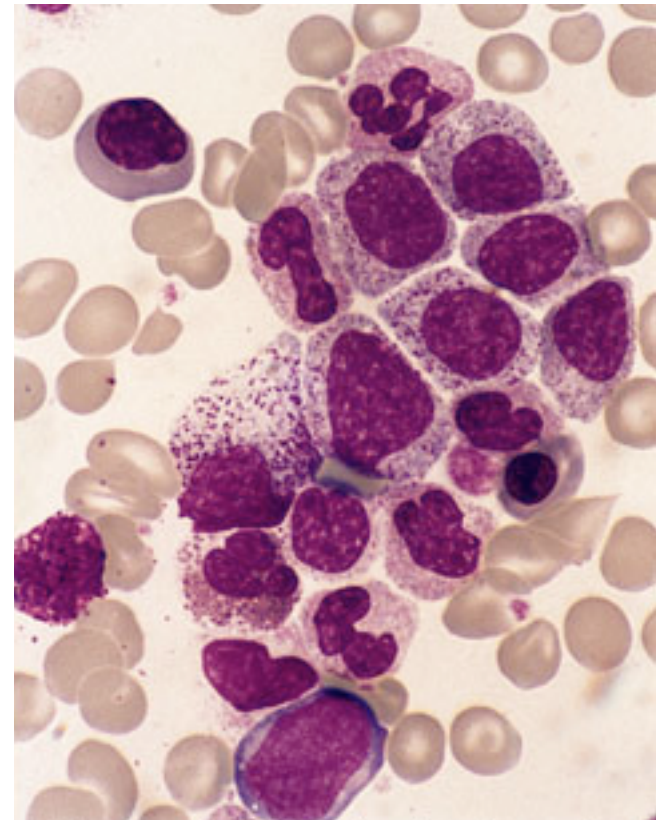


β-ラクタマーゼ NDM-1  
PDB ID 3q6x

# 標的蛋白質によるグリベックの発見

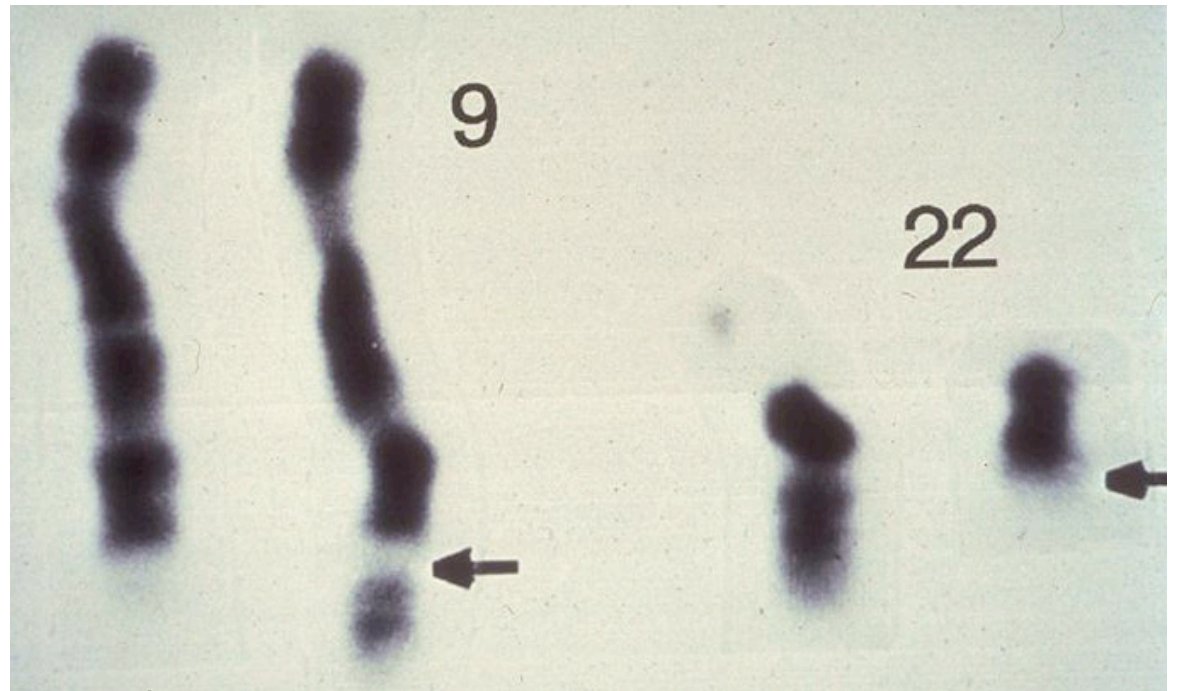
- 白血球癌
- 慢性骨髄性白血病  
(CML: Chronic Myeloid Leukemia)
- グリベックの出現前是不治の病
- 5年生存率 > 90%
- 1錠/日

- 白血病芽細胞

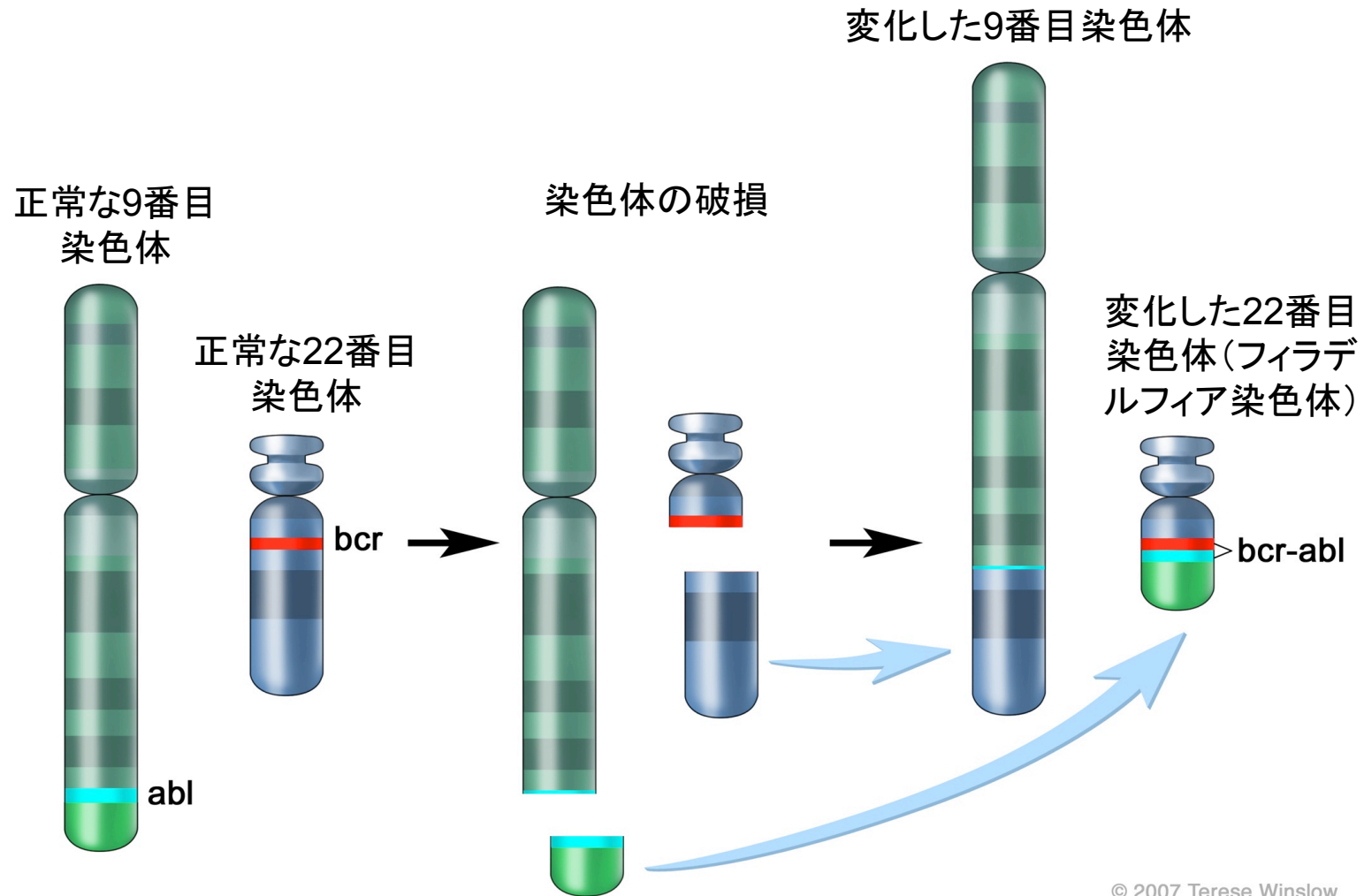


# 慢性骨髄性白血病: 単独の原因による癌の発病

- 1つの DNA 異常
  - 細胞増殖の暴走
  - “癌遺伝子”
  - 標的治療は異常を“修正”できる
- 全ての CML 細胞はフィラデルフィア染色体t(9:22)を有するー ラウリー (FCCC)



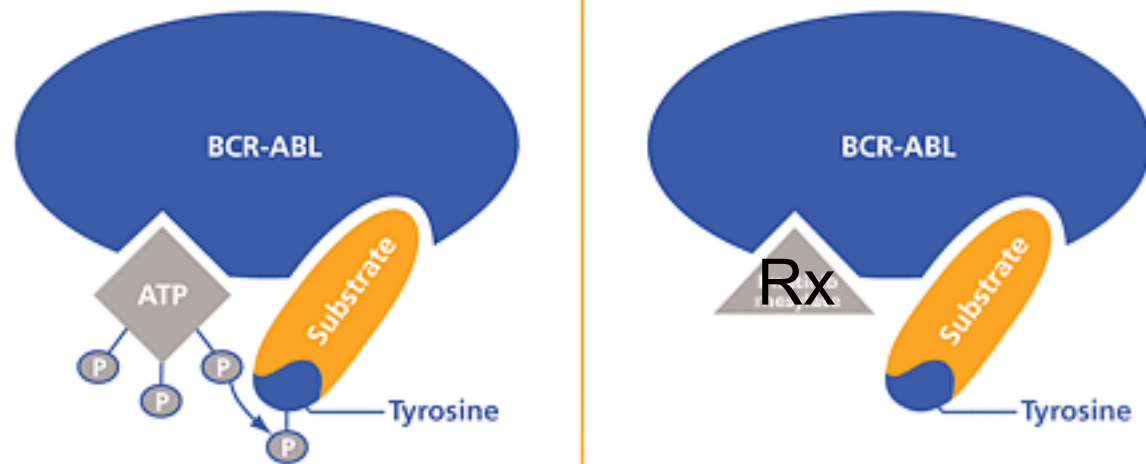
# 慢性骨髄性白血病: 何が異常になったのか！



© 2007 Terese Winslow  
U.S. Govt. has certain rights

# 慢性骨髄性白血病: 何が異常になったのか II

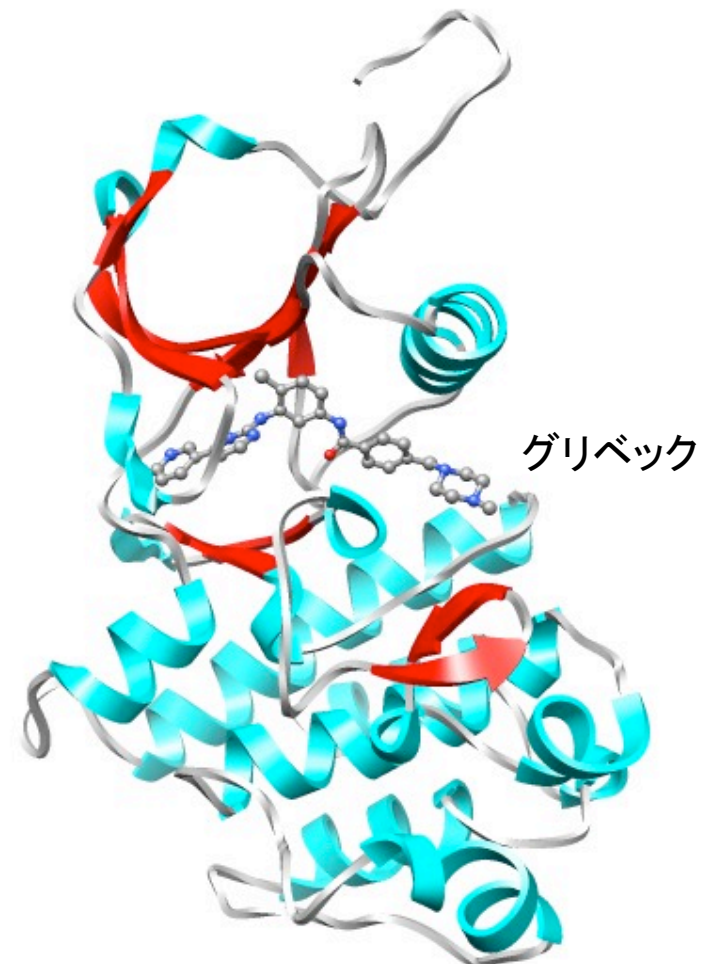
- t(9:22) 相互転座が BCR遺伝子を ABL遺伝子に融合する
- BCR-ABL 遺伝子→mRNA→BCR-ABL 融合蛋白質
- BCR-ABL 融合蛋白質→↑↑↑細胞増殖→癌





## BCR-ABL 酵素: CML 創薬のターゲット

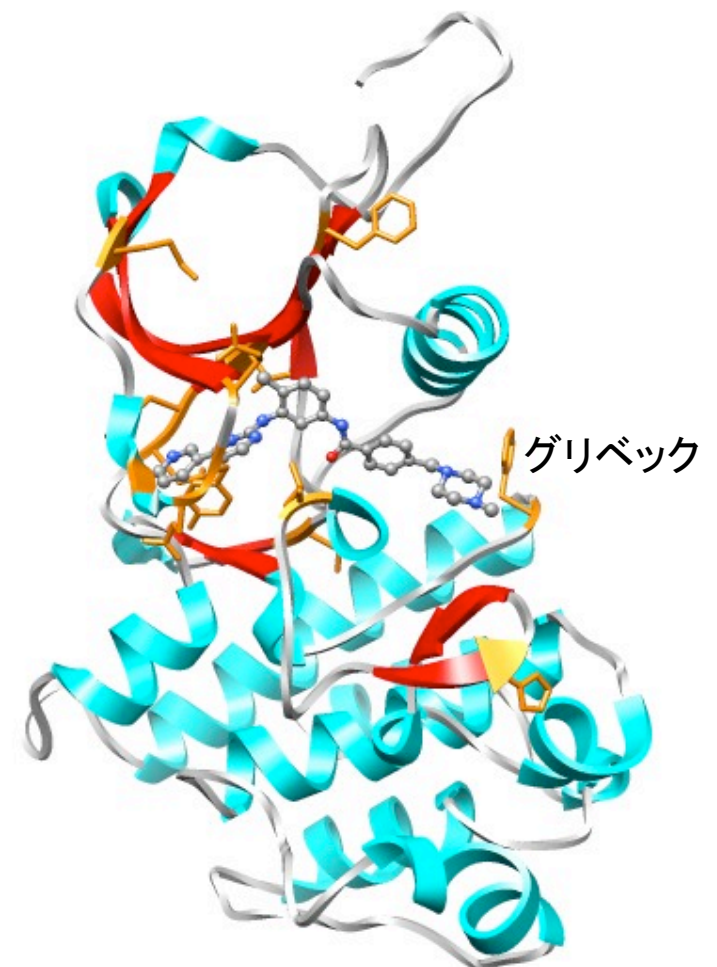
- グリベック (ノバルティス社が合成) は、BCR-ABL 酵素の活性部位に可逆的に結合してその機能を阻害
- ライドン (ノバルティス) とドラッカー (オレゴン) が協力して、CML がグリベックによって治療され救命されることを証明した。



BCR-ABLを阻害するグリベック  
PDB ID 1iep

# グリベック耐性に対する挑戦

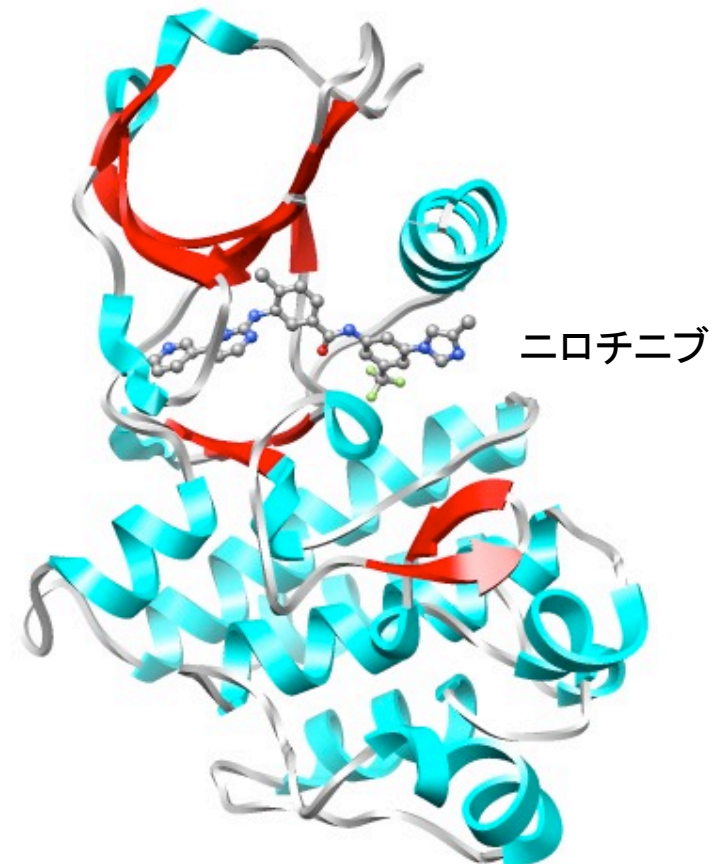
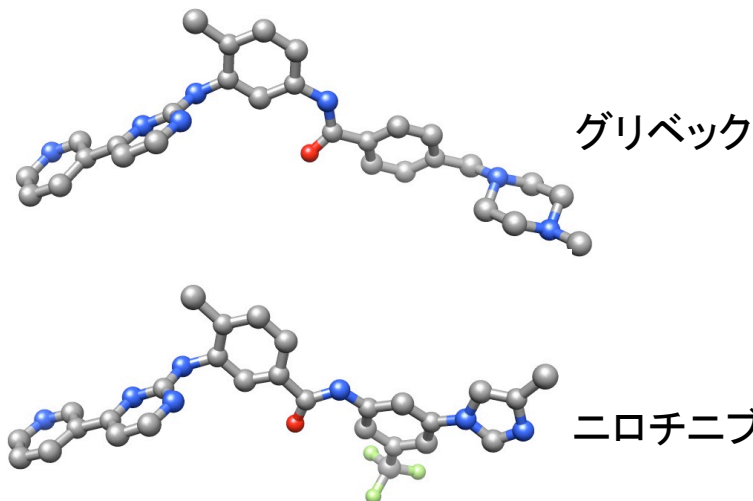
- ある患者はグリベックに耐性がある
- BCR-ABL 遺伝子の変異がグリベックの結合を阻害する
- 我々は新薬が必要!



BCR-ABLにおけるアミノ酸変異が  
グリベック耐性を引き起こす PDB ID 1iep

# グリベック耐性の克服: 医科学が勝利している (これまでの所は)

- ニロチニブ (グリベックのアナログ) は、BCR-ABL酵素の活性部位に可逆的に結合しその機能を阻害
- ニロチニブはほとんどの耐性変異体に有効に働く



ニロチニブによるBCR-ABLの阻害  
PDB ID 3cs9



# 2012 日本国際賞 グリベックの開発 (ラウリー, ドラッカー, ライドン)



## さらにPDBから医薬品について学ぶために

- PDB-101 ([http://www.pdb.org/pdb/101/structural\\_view\\_of\\_biology.do](http://www.pdb.org/pdb/101/structural_view_of_biology.do))
- How do Drugs Work  
(ダウンロードできるポスター:  
[http://www.pdb.org/pdb/education\\_discussion/educational\\_resources/drug-poster-big.pdf](http://www.pdb.org/pdb/education_discussion/educational_resources/drug-poster-big.pdf))
- Molecule of the Month (今月の分子: 日本語版もあります)
  - 薬の働き
  - 疾病の分子基盤
  - 抗体



## おわりに

- “DNA は RNA を作りRNAが蛋白質を作る”
- 生物学では “機能は形に従う”
- 若い人へのキャリアについてのアドバイス:  
現代の生物医学研究は、生物学と医学を、  
化学、物理、数学、コンピュータサイエンスと  
組み合わせている。