

平成21年度実施方針

バイオテクノロジー・医療技術開発部

1. 件名：(プログラム名) 健康安心イノベーションプログラム
(大項目) ゲノム創薬加速化支援バイオ基盤技術開発
(中項目) 創薬加速に向けたタンパク質構造解析基盤技術開発

2. 根拠法

独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構法第15条第1項第2号

3. 背景及び目的・目標

近年、製薬企業の研究開発費は増大の一途であるものの、承認される薬剤の数は増えていない。また、研究開発費の増大分は、主として臨床開発費に充てられ、探索研究に回せるリソースは相対的に減少している。一方、欧米における創薬研究では、タンパク質の立体構造に基づいた薬剤の開発による創薬研究の効率化への取り組みが進みつつある。このため、今後の医薬品産業の国際競争力の強化に向けて、タンパク質の立体構造解析技術や計算科学による創薬候補化合物探索技術等の基盤技術の構築が重要となっている。

特に市販薬剤のターゲット(作用点)として、ほぼ50%を占めている膜タンパク質は、生命現象の解明や創薬開発において重要な標的タンパク質である。また、膜タンパク質は細胞膜上における複合体形成や構造変化等により機能を発現していることから、細胞表層における膜タンパク質及びその複合体の立体構造解析技術や膜タンパク質とリガンドの相互作用解析技術、その構造情報に基づいた計算科学的解析技術を構築し、創薬ヒット候補化合物を効率よく絞り込むための基盤技術を開発することで、「タンパク質立体構造に指南された創薬戦略(SGDD: Structure Guided Drug Development)」を実現し、創薬研究を効率化することが重要である。

本プロジェクトは、ポストゲノム研究の産業利用が期待される「ゲノム創薬」を加速するため、我が国の強みである世界最高レベルの膜タンパク質構造解析技術、タンパク質間相互作用解析技術、高度な計算科学技術等の研究ポテンシャルを最大限活用し、膜タンパク質及びその複合体の細胞表層上における立体構造解析、相互作用解析、計算科学を用いた創薬候補化合物の効率的な探索と更に実用性の高いリード化合物への展開等の創薬基盤技術を開発し、我が国バイオ産業の競争力強化・新産業の創出を図り、国際的優位性を確保することを目的とする。これによりバイオテクノロジーの産業化において有用な知見が蓄積し、バイオ産業の情報基盤を強化することができる。また、構造情報を基にした新しい観点からの画期的な新薬の創出や、それに基づく個別化医療への応用とともに、健康維持・増進などを含めた幅広い分野への展開、さらには膜タンパク質及びその複合体の機能、機構を説明する新しい概念の構築が期待できる。

そこで、本プロジェクトにおいては以下の研究開発を実施する。

[委託事業]

(1) 最終目標(平成23年度末)

i) 電子線等による膜タンパク質及びその複合体の構造解析技術:

細胞膜内での生体内に近い状態での膜タンパク質及びその複合体の立体構造を解析するため、以下の技術を確立する。また、これらの技術と既存の技術を活用し、ヒト由来(発現系)膜タンパク質及びその複合体の構造を複数個解析する。

a) 2次元結晶化された膜タンパク質及びその複合体を2Åより高い分解能で3次元構造解析する技術、細胞膜内において自然な構造の状態に固定化された膜タンパク質等の全体像を

- 電子線トモグラフィー等により 50 Å より高い分解能で 3 次元構造解析する技術を確立する。
- b) 結晶化できない膜タンパク質の立体構造を 8 Å より高い分解能で解析する技術(単粒子解析等)を確立する。
- c) a)、b)を組み合わせることにより自然な状態の膜タンパク質及びその複合体の構造を解析する技術を確立する。
- ii) 核磁気共鳴法等による膜タンパク質及びその複合体とリガンド分子の相互作用解析技術：
生体内に近い状態での膜タンパク質及びその複合体とリガンド分子の相互作用を解析するため、以下の技術を確立する。また、これらの技術を基に、5 個以上の膜タンパク質等創薬標的タンパク質を解析する。
- a) 解離定数が mM \sim μ M と結合力が弱いリガンド分子の結合構造の解析技術の確立を行う。
- b) 固体と液体が混合した不均一な系における膜タンパク質及びその複合体とリガンド分子の相互作用解析技術について従来法に比べ 3 倍に高感度化する。
- c) 細胞表層における生体内に近い状態での膜タンパク質及びその複合体とリガンド間相互作用を解析する技術を開発する。
- iii) 高精度 *in silico* (※)スクリーニング等のシミュレーション技術：
高精度の *in silico* スクリーニングを実現するため、以下の技術を確立する。さらに、i)、ii)の技術と連携により、産業上有用な化合物を 10 個以上取得する。
- a) タンパク質の動的性質を正しく評価し、タンパク質受容体への基質結合能を高い精度で計算できる新しい計算科学手法を確立し、*in silico* スクリーニングの効率を従来法に比べ 10 倍程度にあげる。
- b) タンパク質と化合物とのドッキング計算手法の精度を高め、ターゲット選択性能を従来法に比べ 10 倍程度に上げる。
- c) タンパク質間相互作用及び超分子複合体の構造情報に基づく構造生理学、構造薬理学のアプローチにより、タンパク質間相互作用を阻害・制御する低分子化合物を選択・設計するため、医薬品化が困難な生理活性ペプチドから医薬品となりやすい非ペプチド性の化合物(低分子化合物等)を得る一般的手法を開発し、その技術の有効性を確認するため、最低1つの実証を行う。
- (※) *in silico*:シミュレーション等の計算機科学的手法による

(2) 中間目標(平成21年度末)

- i) 電子線等による膜タンパク質及びその複合体の構造解析技術：
細胞膜内での生体内に近い状態での膜タンパク質及びその複合体の立体構造を解析するため、以下の技術を開発する。また、これらの技術と既存技術を活用し、ヒト由来(発現系)膜タンパク質及びその複合体の構造を最低1個解析する。
- a) 2次元結晶化された膜タンパク質及びその複合体を 2 Å より高い分解能で 3次元構造を解析する技術、細胞の自然な状態での膜タンパク質及びその複合体の 3次元構造を解析する技術(電子線トモグラフィー等)を開発する。
- b) 結晶化できない膜タンパク質の立体構造を 10 Å より高い分解能で解析する技術(単粒子解析等)を開発する。
- c) a)、b)を組み合わせることにより自然な状態の膜タンパク質及びその複合体の構造を解析する技術を開発する。
- ii) 核磁気共鳴法(NMR)による膜タンパク質及びその複合体とリガンド分子の相互作用解析技術：
生体内に近い状態での膜タンパク質及びその複合体とリガンド分子の相互作用を解析するため、以下の技術を開発する。また、これらの技術を基に、2 個以上の膜タンパク質等創薬標

的タンパク質を解析する。

- a) 解離定数が mM \sim μ M と結合力が弱いリガンド分子の標的分子結合部位を同定する解析技術の開発を行う。
- b) 固体と液体が混合した不均一な系における膜タンパク質及びその複合体とリガンド分子の相互作用解析技術を従来法に比べ3倍の高感度の解析技術を開発する。

iii) 高精度 *in silico* スクリーニング等のシミュレーション技術:

高精度の *in silico* スクリーニングを実現するため、以下の技術を開発する。さらに、i)、ii) の技術と連携により、産業上有用な化合物を5個以上取得する。

- a) タンパク質の動的性質を正しく評価し、タンパク質受容体への基質結合能を高い精度で計算できる新しい計算科学手法の開発し、*in silico* スクリーニングの効率を従来法に比べ5倍程度にあげる。
- b) タンパク質と化合物とのドッキング計算手法の精度を高め、ターゲット選択性能を従来法に比べ5倍程度に上げる
- c) タンパク質間相互作用を阻害・制御する低分子化合物の選択・設計の技術開発を行う。

4. 実施内容及び進捗(達成)状況

4.1 平成20年度事業内容

本研究開発は、平成19年度は経済産業省の事業とし、東京大学大学院薬学系研究科 嶋田一夫教授をプロジェクトリーダーとした体制の下、平成20年度からは独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構(以下、NEDO 技術開発機構という)の事業とし、京都大学大学院理学研究科 藤吉好則教授をプロジェクトリーダーとした体制の下で実施している。

平成20年度の進捗状況を以下に記す。

研究開発項目①: 電子線等による膜タンパク質及びその複合体の構造解析技術

生体内に近い状態の膜タンパク質の構造研究に必要な技術開発を進めており、以下の成果を得た。

- (a) 膜タンパク質及びその複合体の構造解析に供する発現・精製・結晶化技術の開発
 - ・ 生理的に重要な膜タンパク質に関して、立体構造解析を行うために必要な発現技術の開発を目指して、下記の具体例について発現・精製技術の開発を実施した。
- ① 脳に存在する水チャネル AQP4 の水の透過性が神経伝達物質ドーパミンによって減少するとされている。すなわち、ドーパミンによって、活性化されたキナーゼによって180番のセリンがリン酸化を受けて、水透過性が阻害されるとされている。この機構を構造学的に研究することを目指して、180番のセリンがリン酸化された状態を模倣するために、180番をアスパラギン酸に変異した AQP4 の構造を解析することを目指して研究を進めた。その結果、上記変異体の発現系を確立し、結晶化条件の検討のために十分な量の AQP4M23S180D の精製を可能にした。
- ② ギャップジャンクションチャネルの 10 Å 分解能の構造解析から明らかになったこのチャネルの開閉機構に決定的に重要なプラグと名づけた構造がこのチャネルを形成する Cx26 というコネキシン分子のどの部分で形成されているのかを解明するために、Cx26 のアミノ末端を除いた変異体の発現を試みた。その結果、Cx26 のアミノ末端の長い部分を除くと、チャネル構造を形成できることが明らかになった。それゆえ、様々な検討を行った結果、2番目から7番目までの残基を除いた変異体 Δ Cx26 を発現し精製できる条件を確立した。
- ・ 膜タンパク質などの結晶化
- ① 上記、AQP4 の変異体、すなわち、AQP4M23S180D の結晶化条件の検討を行った。その結果、1アミノ酸残基が異なるだけで最適な結晶化条件が、野生型の AQP4 とは異なること

が明らかになった。例えば、結晶化に最適の脂質とタンパク質の比率(L/PR)が変異体で大きい、すなわち脂質分子の量がより多く必要であることが明らかになった。また、これらの条件検討と、電子顕微鏡用試料作製法の最適化によって、試料傾斜がない条件で、1.9 Å分解能という高い分解能の回折点が観察される2次元結晶が作製できることがわかった。

②電子線結晶学による構造解析から、プラグと名づけた密度が解明されたギャップ結合チャンネル Cx26 について、そのプラグがアミノ末端部分から形成されていることを確認するために発現遺伝子を作製して、上記のように発現・精製に成功したΔCx26 について2次元結晶化を試みた。その結果、高分解能の構造解析は困難と思われるが、立体構造解析が可能な2次元結晶が得られた。

③その他、イオンチャンネルやエンドセリン受容体を始めとする膜タンパク質の結晶化を目指して努力しているが、構造解析のデータ収集を行うレベルの結晶化には成功していない。そのために、構造を安定化させる変異体の作製などの様々な工夫を試みている。

(実施体制: 社団法人バイオ産業情報化コンソーシアム、独立行政法人産業技術総合研究所バイオメディカル情報研究センター、独立行政法人産業技術総合研究所脳神経情報研究部門、国立大学法人京都大学大学院理学研究科、学校法人慶應義塾大学大学院医学研究科)

(b) 極低温高分解能電子顕微鏡等の電子顕微鏡の改良、コンピューター解析の高速化と精密化

・装置開発を以下のように進めた。

①電子線トモグラフィー用極低温電子顕微鏡の開発を目指して、ユーセントリックな SET システム(試料傾斜機構)を備えた極低温電子顕微鏡を用いてシナプトソームやパキユロウィルスなどの観察を行った。その結果装置の不安定性などの問題が明らかになり、装置の安定性を高める改変を行った。

②固定や染色を行うことなく細胞や組織を極低温電子顕微鏡で観察するには、凍結切片を作製する必要がある。それが困難な場合にも薄い凍結試料を作製することが出来る装置開発、すなわち、イオンボンバードの方法で極低温電子顕微鏡用試料を作製する装置開発を進めている。

③膜タンパク質の局在様式を凍結切断法により観察する操作性の良いフリーズフラクチャー装置の開発などを行った。

・ヒト由来(発現系)試料などの構造解析を進めるために、コンピュータシステムの改良を進めた。

①AQP4 のように多層膜からなり、しかもその向かい合う分子のずれが異なる結晶の構造を解析するためには、高分解能の電子線回折像と電子顕微鏡像を同じ結晶から撮影する必要がある。また、ギャップ結合チャンネルの2次元結晶は3層の膜から形成されており、第1と第3の膜に存在する分子密度は疎で変形しやすい。そのような解析困難な2次元結晶から膜タンパク質の構造を解析するために、電子顕微鏡像解析用プログラムと電子線回折像解析用プログラムの改良を行った(この様な改良により(C)で示すような高分解能の解析が可能となった)。

②IP₃ 受容体などの解析が困難な膜タンパク質は低いコントラストの極低温電子顕微鏡像となる。このような低いコントラストで S/N 比の低い像からでも粒子像の拾い上げとクラス分けが出来る単粒子解析用プログラムの開発を行って、TRPC3 や P2X2 の立体構造解析を行った。

③単粒子解析法を用いて、基質を含む好熱菌由来のシャペロニン GroEL/ES 複合体の構造を解析して、基質分子と「かご」表面の反発的相互作用によって、その「かご」が非対称に変

形することと、基質分子のフォールディングを促進させるという、ヒトの細胞でも行われていると考えられるモデルを提案した。

- ・電子線トモグラフィー用極低温電子顕微鏡システムと解析用プログラムの開発を進めた。
- ①電子線トモグラフィー用極低温電子顕微鏡システムの開発を目指して、8kX8kピクセルという世界最大のピクセル数を誇るシーモスを基礎とした画像記録装置をドイツのメーカーと開発した。画像記録装置を用いて効率よくデータ取得が出来る使いやすいシステムを開発した。
- ②トモグラフィー像から立体構造を解析するには、金などの目印となる粒子を人為的に付加する必要がある。しかし、このような操作は試料に影響を与えるおそれもあるし、効率も悪くなる。そのような目印の付加なしで極低温電子顕微鏡で撮影したトモグラフィー用の像から立体的トモグラフィー像を再構成するシステムの開発を進めている。

(実施体制: 社団法人バイオ産業情報化コンソーシアム、独立行政法人産業技術総合研究所バイオメディシナル情報研究センター、独立行政法人産業技術総合研究所脳神経情報研究部門、国立大学法人京都大学大学院理学研究科、国立大学法人京都大学大学院農学研究科、独立行政法人理化学研究所播磨研究所)

(c) 電子顕微鏡と X 線によるタンパク質構造解析

- ・X 線や電子線結晶学、及び単粒子解析を用いた解析
- ①神経伝達物質ドーパミンにより AQP4 の 180 番のセリンがリン酸化されて AQP4 の水の透過が減少するという論文に基づいて、そのゲーティング機構を解明するために、変異体 AQP4M23S180D の結晶化を行い、電子線結晶学により構造を 2.8 Å 分解能で解析した。その結果、脂質分子とその水チャネルの中に1列に配列している8個の水分子を観察した。この構造から、180 番のセリンのリン酸化を模倣したアスパラギン酸への変異は水透過性を減少させないことが示唆された。
- ②ギャップ結合チャネルのプラグがコネキシン Cx26 分子のどの部分から形成されているかを解明するために、アミノ末端側から2番目～7番目までの残基を除いた変異体ΔCx26 の2次元結晶を作製して、構造解析を行った。その結果、プラグに相当する密度が大幅に減少した。その結果から、プラグはアミノ末端に形成されるヘリックスから成ることが解明された。また、野生型の Cx26 の構造が月原研との共同研究により解析され、ギャップ結合チャネルの開いた状態の構造が解析されると共に、初めて原子モデルが作製された。これは、Nature 誌に受理され、以前に提案したプラグゲーティングモデルと共に、ギャップ結合チャネルの分野の歴史的論文となることが期待される。
- ③胃の内部の pH を 1 近くの強い酸性環境にする H^+,K^+ -ATPase は強力なイオン輸送駆動力を持ち、この分子によって形成される細胞内外のプロトン濃度差は百万倍以上という驚異的な値となる。この H^+,K^+ -ATPase の 2次元結晶を作製し、構造を解析することにより、イオン輸送の逆反応を防いで順方向へと進めることで、百万倍という驚異の濃度差を実現する β サブユニットの「ラチェット」機構を解明した。
- ④プロスタグランジン合成酵素の2次元結晶を作製して、電子線結晶学により構造を解析することにより、この酵素の反応機構を構造に基づいて議論できるようにした。
- ⑤アセチル化されたヒストンと相互作用する CIA とそれと相互作用する TFIIID のプロモドメインの複合体などの構造をX線結晶学により解析し、転写制御機構の1端を解明した。
- ・膜タンパク質などが細胞内に存在する状態で観察できる電子線トモグラフィーの解析を進めた。
- ①シナプトソームの電子線トモグラフィー用の像を新しく開発した電子線トモグラフィー用の極

低温電子顕微鏡システムを用いて撮影し、ギャップ結合と思われる構造の電子線トモグラフィ画像を得た。

- ②TRP を発現しているバキュロウィルスに氷包埋して、新しく開発した電子線トモグラフィ用の極低温電子顕微鏡システムを用いて撮影し、解析した。脂質2重膜が分離して観察されると共に、膜タンパク質も観察されるようになって来た。

(実施体制: 社団法人バイオ産業情報化コンソーシアム、独立行政法人産業技術総合研究所生物情報解析研究センター、独立行政法人産業技術総合研究所バイオメディシナル情報研究センター、独立行政法人産業技術総合研究所脳神経情報研究部門、国立大学法人京都大学大学院理学研究科、国立大学法人京都大学大学院農学研究科、独立行政法人理化学研究所播磨研究所)

研究開発項目②: 核磁気共鳴法 (NMR) による膜タンパク質及びその複合体とリガンド分子の相互作用解析技術

(a) 安定同位体標識タンパク質調製系の確立

生体高分子の NMR 解析においては、試料の凝集はシグナルの線幅の増大を引き起こし、構造解析・相互作用解析の妨げとなる。そのため、様々な溶液組成の試料を調製し、実際に NMR 測定を行い、最適条件を検討することが行われるが、探索に必要な試料の量および費やす時間が膨大になるという難点があった。本研究において、我々は一分子蛍光分析法から得られる並進拡散時間を指標とすることで、少ない試料量でかつ短時間に NMR 測定のための溶液条件検討が可能になることを明らかにするとともに、多種類の溶液条件を迅速、網羅的に探索するための、体系的な溶液条件スクリーニング法を確立することができた。本溶液条件検討技術を、凝集性の高い ceramide trafficking protein の PH ドメインに適用した結果、良好なスペクトルを得られる溶液条件を一度のスクリーニングで見出すことに成功したことから、本探索法により効率的に NMR 測定溶液条件検討が行えることが明らかとなった。

NMR 測定に供される安定同位体標識タンパク質の発現には、大量発現が可能でかつ適切な標識コストで調製できる大腸菌発現系が広く用いられる。しかし真核生物由来の、多くのジスルフィド結合や翻訳後修飾を有するタンパク質を発現しようとする場合、大腸菌発現系では困難な場合も多い。その際、真核細胞である酵母 *Pichia pastoris* を発現系として用いられることも多いが、標識コストがかかることや、発現に至るまでの作業が煩雑であるといった問題があった。我々は、酵母 *Kluyveromyces lactis* を活用し、発現方法およびその条件の詳細な検討を行うことで、大腸菌発現系とほぼ同レベルの標識コストで容易に安定同位体標識タンパク質を調製することに成功した。本発現系は、膜タンパク質などの大腸菌では困難なタンパク質発現における主要な選択肢になると考えている。

(実施体制: 社団法人バイオ産業情報化コンソーシアム、独立行政法人産業技術総合研究所バイオメディシナル情報研究センター、国立大学法人東京大学大学院薬学系研究科)

(b) リガンドベース創薬デザインのための NMR 相互作用解析手法の開発・高度化

我々が開発してきた NMR 相互作用解析技術を疾患関連タンパク質複合体に適用し、創薬開発に活用可能な構造情報の取得を目的とした研究の実施を開始した。解析対象としては、血液凝固系における血小板膜受容体であり、抗血栓薬の標的の一つと考えられている GPVI-コラーゲン相互作用系を選択した。複数の低分子リガンドを用いた相互作用解析の結果から、血小板凝集を阻害するリガンドの構造要素を同定するとともに、これらの低分子リガンドはアロステリックな機構でタンパク質-タンパク質相互作用を阻害する可能性が示唆された。

(実施体制: 社団法人バイオ産業情報化コンソーシアム、独立行政法人産業技術総合研究所バイオメディシナル情報研究センター、国立大学法人東京大学大学院薬学系研究科)

(c) (d) 細胞膜複合体相互作用解析のための NMR 試料調製法の開発、及び細胞膜複合体相互作用解析のための NMR 解析法の開発

これまでに多孔性シリカビーズが高分解能マジック角回転(HR-MAS)条件下における転移交差飽和(TCS)法に有効であることを見出し、ユビキチン(Ub)と Zn-NTA シリカビーズに His-tag を介して固定化した酵母ユビキチン加水分解酵素(YUH)との間の高分解能の TCS データの取得に成功した。一方、Ub や YUH が担体上の Zn と非特異的に相互作用することで TCS 実験の感度と精度が低下することが判明した。

今年度は、まずこの非特異的な相互作用を抑制するために、NMR 試料に対する塩などの各種添加剤、ジメチルポリシロキサンや 2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリンなどのポリマーによる固定化担体の表面処理、および固定化担体・固定化方法の検討を行なった。その結果、カルボキシメチル基を有した多孔性シリカビーズに対して蛋白質を Lys 残基側鎖および N 末端のアミノ基を介して共有結合し、一級アミンでブロッキングすることで非特異的相互作用が抑制できることを見出した。さらに、Ub と上記方法にて固定化した YUH との間の相互作用に、HR-MAS 条件下、TCS 法を適用したところ、従来よりも高感度・高精度な TCS データの取得に成功した。

(実施体制: 社団法人バイオ産業情報化コンソーシアム、独立行政法人産業技術総合研究所バイオメディシナル情報研究センター、国立大学法人東京大学大学院薬学系研究科)

アミノ酸選択的交差飽和法の実験データを用いたタンパク質複合体構造の構築

アミノ酸選択的交差飽和法(ASCS 法)の実験データを、分子動力学計算と組み合わせることにより、実験データを活用して高精度でタンパク質複合体の立体構造を構築する方法を中村チームと共同で開発した。ASCS 法では、一方のタンパク質の特定のアミノ酸種を標識して交差飽和ドナーとし、もう一方のタンパク質中の各アミノ酸の交差飽和(η)を観測することによりアミノ酸の位置関係の情報を得る。タンパク質の配置が決まれば、その時の η は算出できるため、観測値と計算値の η の差の二乗のペナルティ関数(E_{sat})を擬似エネルギーとしてポテンシャル・エネルギーに加え、複合体構造の構築を試みた。今回は、Ubiquitin(Ub)と YUH の複合体を例に本方法の検証を行った。可能性の高い 42 構造を初期構造として各初期構造につき 2 例ずつ分子動力学計算を実行した。42x2 個の計算の結果、最終構造の RMSD (結晶構造と YUH 側で重ね合わせた際の Ub 側の RMSD。以下同じ)が 5 Å 以下の構造となったものは 9 個であった。RMSD が 2.3 Å の高精度の構造も得ることができた。42x2 個の分子動力学計算のうち、初期構造が良好であった 9 個のみが最終的に結晶構造に近い構造に至ったが、 E_{sat} が最小の構造を選択すれば結晶構造に近い構造を選択できることが分かった。この結果から、今回開発した ASCS の実験データを活用した分子動力学計算は、タンパク質複合体の構築に有用であることが示唆された。

(実施体制: 社団法人バイオ産業情報化コンソーシアム、独立行政法人産業技術総合研究所バイオメディシナル情報研究センター、国立大学法人東京大学大学院薬学系研究科、国立大学法人大阪大学蛋白質研究所)

研究開発項目③: 高精度 *in silico* スクリーニング等のシミュレーション技術

(a) *in silico* ドッキング計算の高精度化

創薬プロセスにおける *in-silico* ドッキング計算において、① タンパク質の動的性質を正しく評価するため、動的性質を抽出する手法の開発及び動的構造のデータベースの設計・試作、② ドッキングのスコアの精度を高めるため、タンパク質および低分子リガンドの動的構造、及び各種相互作用を考慮した複合体の構造予測法及び結合エネルギー算出法の開発に着手し

た。

① ヒト μ オピオイド受容体はGタンパク質共役受容体(GPCR)であり重要な創薬標的であるが、その立体構造は解明されていない。そのため、GPCRを標的としてin-silicoスクリーニングを行うにはホモロジーモデリングにより標的タンパク質の立体構造を拘置する必要がある。また、induced-fitやタンパク質の動的挙動を考慮するには分子動力学(MD)計算が有効かもしれない。ここでは、モデリング構造の信頼性やMDによる構造サンプリングの有用性を検証するために、ヒト μ オピオイド受容体(MOR)を用いた。MORのモデリングを、 β_2 アドレナリン受容体(PDB entry: 2rh1)をテンプレートとして、3種類のモデリングソフト(MOE, Modeller, Prime)で21構造作成し、これらを初期構造としてMD計算で約200構造を生成した。これら約200構造に対するドッキング・シミュレーションをSievene/myPrestoで行い、Multiple Target Screening法による統計的スクリーニングを適用した。 μ オピオイド受容体について、既知の低分子リガンド(モルヒネ類など)を11種類文献より収集した。そして、エンドモルフィンを既知活性化合物として、1万化合物を含む化合物データベースに既知の低分子リガンド11種類を混ぜ、これらの既知の低分子リガンドを発見できるかテストした。これら200構造の既知化合物のヒット率はさまざまで、極めて高いヒット率を示す構造も数多く見つかった反面、約半数の構造は、ランダムスクリーニングを下回るヒット率を示した。どのような構造を抽出することが必要か、今後検証を行う予定である。

②MDシミュレーションによって結合エネルギー算出法として、まず真空中でFilling Potential法を使ってタンパク質からリガンドを解離させ、得られたトラジェクトリーからルジャンドル多項式を用いて滑らかな解離の経路を計算する方法を開発した。その経路に沿って複数のリガンドを用意してタンパク質、水、イオンと合わせて系を作り、各系でMDを行い、リガンドの対象原子に働く平均力を計算し、Thermodynamics Integration法で、この平均力を経路に沿って積分することによって、経路に沿った自由エネルギーを計算する。この結果と合わせて結合状態と解離状態の存在確率を計算することで結合自由エネルギーを計算することができる。この方法は以前行われたFilling Potential法とWeighted Histogram Analysis Methodを組み合わせることで自由エネルギーを計算する方法と比べて平行に計算することで計算時間を大きく短縮できるという利点がある。簡単な系として18-Crown-6-etherと K^+ イオンの組み合わせでの結合自由エネルギーの計算を試みたところ、理想通りの結果(-2.3 kcal/mol)を得ることができた(実験値は-2.9~-3.0 kcal/mol)。ストレプトアビジンとビオチンの系を初め、タンパク質とリガンドの複合体の系についても計算を行っているところである。

(実施体制: 社団法人バイオ産業情報化コンソーシアム、独立行政法人産業技術総合研究所バイオメディシナル情報研究センター、国立大学法人大阪大学蛋白質研究)

(b) 構造生理学アプローチによるタンパク質間相互作用解析

①ペプチドと同様の結合性を有する非ペプチド性化合物を探索・設計する新しい手法の開発

昨年度から開発を開始したmolecular dynamics maximum volume overlap (MD-MVO)法を、分子動力学シミュレーションプログラムに実装し薬物スクリーニングのテストを開始した。MD-MVO法とは、既知活性化合物に対して、データベースから選んだ化合物を、原子電荷も考慮しながら2化合物の体積重なりが最大になるようにMD計算によって、分子の配座探索と同時に分子重ね合わせをする手法である。この分子重ね合わせでは、周辺環境である標的蛋白質を考慮した計算を行うこともできる。また、既知活性化合物を、標的蛋白質に結合していると期待されるもっともらしい構造に固定して、データベースから選んだ化合物のみを自由に運動させて2分子の重ね合わせを行うこともできる。 μ オピオイド受容体(MOR)のペプチド性リガンドであるエンドモルフィンを既知活性化合物として選択した。前節に述べたように、

MORについて、既知の低分子リガンドを11種類文献より収集した。そして、エンドモルフィンを既知活性化合物として、1万化合物を含む化合物データベースに既知の低分子リガンド11種類を混ぜ、これらの既知の低分子リガンドを発見できるかテストした。その結果、MD-MVO法により優れたスクリーニングを行うことが実証できた。また、世界で広く使われている類似化合物探索ソフトROCSやChemFinderとの比較テストを複数の標的で行ったが、いずれもMD-MVO法がヒット率において、より優れていた。また、化合物のドッキング構造をタンパク質・リガンド複合体中のリガンドの構造に重ね合わせてみると、ドッキング予測構造(蛋白質-リガンド複合体構造)までもが、正しく予測されることがわかった。このように、標的蛋白質構造を環境として考慮することは、スクリーニング結果の精度向上以外に、ドッキングソフトによる予測複合体構造の精度向上にも貢献しうることが示された。

②膜タンパク質hERGの立体構造モデルを用いた薬物のhERG阻害予測手法の開発

昨年度より継続してhERGの立体構造モデルを用いたCOMBINE法による阻害活性予測法の開発を行った。COMBINE法は以下の式で表されるStructure-based 3D QSARであり、リガンドとi番目のアミノ酸残基とのvdw相互作用エネルギー、electrostatic相互作用エネルギーをドッキング・シミュレーションから得て、それぞれの係数 w_i^{vdw} 、 w_i^{ele} と定数項CをPLS回帰によって求める。これらの係数を比較することで、どのアミノ酸残基との相互作用が活性発現に重要であるかが特定でき、またその情報は新たな分子設計の指標となる。

ホモロジーモデリングにより構築したhERG立体構造モデルのドッキングシミュレーションとCOMBINE法の適用により、実用的なhERG阻害活性予測モデルを構築した。実際、どのtraining setにおいても $q^2 > 0.57$ 、決定係数(r^2) > 0.8 という高い相関を示すモデルが構築され、またtest setによる検証において5組すべてについて $r^2 > 0.8$ という高い相関係数を示し、非常に良好な予測精度を有しているモデルであることが分かった。特に、hERGは4回対称4量体であるため、化合物とのドッキング構造は確率的に四種存在し得る。そこで、相互作用エネルギー値に基づいてanalyticalにアラインメントを行った。chainあたりの各アミノ酸残基ごとの相互作用エネルギーの偏差平方和をそのchainと化合物の関係を示す情報量として捉え、その値が最大のもをchain Aと定義し、残りはZ軸負側から見て右回りにchain B、C、Dとした。このanalytical alignmentにより、極めて有効な指標を得ることができた。

(実施体制: 社団法人バイオ産業情報化コンソーシアム、独立行政法人産業技術総合研究所バイオメディシナル情報研究センター、国立大学法人大阪大学蛋白質研究所)

(c) 創薬開発への応用促進に向けた技術開発

①専用ハードウェアによるプログラムの高速化(JBIC 情報数理研究所分室)

昨年度に引き続き、専用ハードウェアをmyPresto(Sievgene)に導入する事により、超高速の薬物ドッキング計算が可能なシステムを構築する事を検討した。専用ハードウェアとして、汎用アクセラレータであるGRAPE-DR(SINGチップ)に加えて、GRAPE-DRに比して速度性能は低下するがより自由度の高いGPU(NDIVIA社製GeForce, Teslaシリーズ)の導入を検討し、其々のプロトタイプを開発して動作検証を行った。具体的には、前年度と同じく専用ハードウェアの特性に基づき適用部位を選定後、選定した適用部位のモデル化を行ってプロトタイプを作成・動作解析を実施した。myPresto(Sievgene)の幾何学hashingによる分子の配置計算の一部に、 4×4 実対称行列の三重対角化処理がある。この処理にはHouseholder法が用いられており、その関数HOUSE()を適用部位とした。HOUSE()へのGRAPE-DR及びGPUの適用では、構成プロセッサが各々 4×4 実対称行列の三重対角化処理を行う「並列化」として実装した。その結果、GRAPE-DRの場合、処理速度はオリジナルと比較して約34倍遅くなっし

まった。GRAPE-DR化によってオリジナルよりも処理速度が遅くなるのは、狭いメモリバンド幅、共有メモリ量不足、実機での命令数制限(480insts以内)のため、用意された512PEを殆ど活用できない事が原因であった。GPUの場合には、オリジナルと比較して最大2.2倍速くなった。これは理論ピーク性能の0.15%しか性能が出ていない結果である。処理効率が最大2.2倍で止まっているのは、共有メモリ量から102並列が限界である事、HOUSE()のアルゴリズムにif文、for文の入れ子が含まれている事から命令数が増大している事(GPUは分岐処理のコストが非常に大きい)、および非効率なデバイスメモリアクセスが原因と考えられる。

② 創薬の為の水溶解度予測

溶解度(LogS)はBioavailabilityやADME-Tox propertyに係る重要な指標である。この溶解度の予測は難しく、一般的に経験的手法—分子記述子に基づくある種の回帰(重回帰、PLS、NN等)—によって行われている。現存する予測ソフトの精度は決定係数(r^2) 0.8–0.9程度に達しているが、医薬品となる分子の殆どが水に難溶性であり、溶け難い分子の間でのわずかな溶解度の違いが問題となる為、創薬現場では更に高い推算精度が要求されている。そこで精度の高い溶解度推算法として、ニューラルネットを使った新しい予測法(分子記述子および学習法)を開発した。分子記述子は、医薬品に多いP、S、ハロゲン等を新たに追加して拡張したJoback記述子と、水・オクタノール中での溶媒和自由エネルギー(GBSA)、分子表面積、分子体積等、新たに追加した物理的特徴量から構成され、エラーバックプロパゲーションによるニューラルネットワーク(NN)を使った推算を行った。また、新しい学習法として、学習入力信号の非線形スケールリング(Sigmoid scaling method)及び重み付き学習法(Weighted learning(WL) method)を行った。こうして、既存システムでは医薬様分子について r^2 が0.4–0.5程度であったものが、0.8–0.9程度まで精度向上した。さらに、推算対象との類似度を計算して類似度に応じて学習回数を増やすという高精度推算法である重み付き学習法を採用することにより、推算精度をほぼ予測限界の $r^2=0.93$ まで引き上げる事に成功した。

③ 高速な類似化合物探索手法の開発

MD-MVO法では、1CPUにて1日当たり300化合物しかスクリーニングできないため、応用範囲が極めて限られてしまうことから、1時間当たり1000万分子以上をスクリーニングできる高速スクリーニング手法を開発した。この手法では、分子をグラフとして捕らえ、その結合行列と距離行列を作成し、この行列固有値をグラフ不変量とする。この固有値を幅を持たせたヒストグラムに変換し、2分子の比較の場合、2つのヒストグラムの重なりによって、分子の類似性を評価する。このグラフ類似性探索手法を試験的に適用したところ、1時間で1300万分子を探索する高速性能と、良好なデータベースエンリッチメントを示し、実際、上位に選ばれた分子は、既知活性化合物と構造が似ていることが確かめられ、有望な手法であることがわかった。

(実施体制: 社団法人バイオ産業情報化コンソーシアム、独立行政法人産業技術総合研究所バイオメディシナル情報研究センター、国立大学法人大阪大学蛋白質研究所)

4.2 実績推移

| | (19年度) | 20年度 | 21年度 | 22年度 | 23年度 |
|--------------------|--------|------|------|------|------|
| 実績額推移 一般勘定(百万円) | (980) | 838 | | | |
| 特許出願件数(件) | (0) | 0 | | | |
| 論文発表数(報) | (16) | 16 | | | |
| フォーラム等(件) | (15) | 28 | | | |

※平成19年度の実績は経済産業省事業

5. 事業内容

(1)平成21年度(委託)事業内容

京都大学大学院理学研究科 藤吉好則教授をプロジェクトリーダーとし、以下の研究開発を実施する。実施体制については、別紙を参照のこと。

研究開発項目①:電子線等による膜タンパク質及びその複合体の構造解析技術

細胞膜内での生体内に近い状態で膜タンパク質及びその複合体の立体構造を解析するため、以下の基盤技術の開発を引き続き進める。また、これらの技術と既存技術を活用して、ヒト由来(発現系)などの膜タンパク質及びその複合体の構造を最低1個解析する。

(a)解析が必要な膜タンパク質及びその複合体の構造解析を目指して、発現・精製技術、2次元結晶化技術の開発を実施する。

①膜タンパク質及びその複合体の大量発現

水チャネル AQP4 の阻害剤を開発するための構造解析を目指して、昆虫細胞を用いてその野生型を発現する。また AQP4 の変異体によるオーソゴナルアレイの形成変化とそれが水透過に影響を与えるか否かを調べるためにその変異体も、同じ昆虫細胞を用いて発現を行う。ギャップ結合チャネルの複雑なゲーティング機構を解明するために、Cx26 の各種変異体の発現を昆虫細胞で試みる。イオンチャネルの構造解析を目指して、構造を安定化するためのシステイン変異を導入したナトリウムチャネルの発現を試みる。創薬分野において期待されている GPCR (ET_BR) の構造解析を目指して構造を安定化させるために多くの変異体を発現し、構造を安定化できる変異体を探すための発現を目指す。

②上記①で発現が成功した膜タンパク質の精製を行い、2次元結晶化を目指す。

水チャネル AQP4 の野生型と阻害剤の複合体の構造解析を目指して、その複合体の2次元結晶化を目指す。また AQP4 の変異体の高分解能の構造解析を目指して、分解能の高い2次元結晶の作製を目指す。ギャップ結合チャネルの複雑なゲーティング機構を解明するために、Cx26 の各種変異体の2次元結晶化を試みる。イオンチャネルの構造解析を目指して、システイン変異を導入して構造安定化したナトリウムチャネルの2次元結晶化を目指す。

(実施体制:社団法人バイオ産業情報化コンソーシアム、独立行政法人産業技術総合研究所バイオメディカル情報研究センター、独立行政法人産業技術総合研究所脳神経情報研究部門、国立大学法人京都大学大学院理学研究科、学校法人慶應義塾大学大学院医学研究科)

(b) 極低温高分解能電子顕微鏡等の開発、コンピューター解析の高速化と精密化

①電子線トモグラフィー用極低温電子顕微鏡の開発

細胞に存在する生体内に近い状態の構造を解析することを実現するために、画像記録システムを含む電子線トモグラフィー用極低温電子顕微鏡システムの開発を行い、これを用いて、脂質2重膜をも分離して観察できるようなトモグラフィー像の取得を目指す。

②2次元結晶化したヒト由来(発現系)の試料について、構造解析(分解能2Åを超える精度、すなわち、水分子や脂質分子を直接観察できる高分解能での解析)を可能にする電子線結晶学用プログラムの開発を目指す。

③結晶化できない分子や複合体の構造解析を 8Å の分解能で解析可能な単粒子解析用プログラム開発を行う。さらに、細胞に存在する自然な状態での膜タンパク質及びその複合体の解析のために、粒子ラベルなしでも高分解能の電子線トモグラフィ解析できるコンピュータプログラムの開発を行う。

(実施体制: 社団法人バイオ産業情報化コンソーシアム、独立行政法人産業技術総合研究所バイオメディシナル情報研究センター、独立行政法人産業技術総合研究所脳神経情報研究部門、国立大学法人京都大学大学院理学研究科、国立大学法人京都大学大学院農学研究科、独立行政法人理化学研究所播磨研究所)

(c) 電子顕微鏡とX線によるタンパク質構造解析

上記で開発した技術を用いた膜タンパク質、及びその複合体の構造解析を行う。X線結晶構造解析を用いて迅速に解析できるタンパク質複合体については、X線による構造解析を進める。3次元結晶化が困難な膜タンパク質の構造解析は電子線結晶学と単粒子解析を用いた構造解析を行い、細胞に存在する状態で電子線トモグラフィの解析も行うことで、膜タンパク質やその複合体の自然な状態の構造解析を目指す。またあらたな創薬関連膜タンパク質の発見の進展を目指して、膜をもつ構造体等を検索し、その機能の解明を試みる。

具体的には、①水チャネル AQP4 の野生型と水透過阻害剤の複合体の構造解析を目指す。②また AQP4 の変異体について、脂質分子がきちんと分離して観察できるような高分解能の構造解析を目指す。③ギャップ結合チャネルの複雑なゲーティング機構を解明するために、Cx26 の各種変異体の構造解析を試みる。④ヒストンと相互作用する転写制御因子複合体の構造を X線結晶構造解析法により構造解析することを目指す。⑤ギャップ結合チャネルと関係するベシクル等の内部構成成分を詳細に解析し、その機能の解析を試みる。

(実施体制: 社団法人バイオ産業情報化コンソーシアム、独立行政法人産業技術総合研究所生物情報解析研究センター、独立行政法人産業技術総合研究所バイオメディシナル情報研究センター、独立行政法人産業技術総合研究所脳神経情報研究部門、国立大学法人京都大学大学院理学研究科、国立大学法人京都大学大学院農学研究科、独立行政法人理化学研究所播磨研究所)

研究開発項目②: 核磁気共鳴法 (NMR) による膜タンパク質及びその複合体トリガンド分子の相互作用解析技術

(a) 安定同位体標識タンパク質調製系の確立

G タンパク質共役型受容体 (GPCR) は生体内において重要な役割を果たすとともに、創薬の主要な標的タンパク質である。しかし、現在、GPCR に関する構造生物学的解析例は多くない。原因として、GPCR の性状が不安定であり、活性を保持した状態にて十分量・高純度の試料を調製する方法が確立されていない、という点が挙げられる。このため、新規試料調製法および構造生物学的手法を考案する必要がある。

新規試料調製法として、再構成 HDL (rHDL) の導入を試みる。rHDL は直径約 10 nm の脂質二重膜の周囲を、両親媒性 α -helix に富む Apolipoprotein A-I により囲まれた構造を持つ粒子である。rHDL は水溶性であり、その脂質二重膜の内部には膜タンパク質を再構成することができる。rHDL を用いて、CCR5 を脂質二重膜中に再構成することにより、活性を保持した、安定かつ、高純度の試料を得ることを目指す。

また、構造生物学的解析手法として、転移交差飽和 (TCS) 法の適用を試みる。TCS 法は、結合時に受容体と約 7 Å 以内に近接する原子をリガンド上の受容体相互作用部位として同定

する手法である。TCS法では、受容体を直接観測対象としないため、通常のNMR解析と比較して少ない受容体量(～数mM)での解析が可能である。rHDL中に再構成したGPCRに対してTCS法を適用することにより、相互作用を解析する。

(実施体制: 社団法人バイオ産業情報化コンソーシアム、独立行政法人産業技術総合研究所バイオメディシナル情報研究センター、国立大学法人東京大学大学院薬学系研究科)

(b) リガンドベース創薬デザインのためのNMR相互作用解析手法の開発・高度化

平成20年度開発を始めたエピトープマッピング手法を、複数のタンパク質複合体に適用することでその有効性を確かめるとともに、発現系が構築された疾患関連タンパク質-リガンド複合体への適用を行う。血栓形成関連タンパク質-タンパク質相互作用を競合的に阻害するペプチドと低分子を題材に、INPHARAMA法を始めとするリガンドベース相互作用解析を実施し、活性リガンドに必要な構造要素に関する情報の取得を行う。現在開発中の迅速タンパク質-タンパク質相互作用部位決定法について、創薬標的タンパク質のスクリーニングにより得られた化合物のバリデーショ用途への、適用活用可能性についての検討を始める。

(実施体制: 社団法人バイオ産業情報化コンソーシアム、独立行政法人産業技術総合研究所バイオメディシナル情報研究センター、国立大学法人東京大学大学院薬学系研究科)

(c) (d) 細胞膜複合体相互作用解析のためのNMR試料調製法の開発、及び細胞膜複合体相互作用解析のためのNMR解析法の開発

膜タンパク質やタンパク質複合体が担うタンパク質間相互作用は、多くの生命現象に関わっており、これらをin situに近い状態で構造生物学的な観点から解析することは重要課題である。X線結晶構造解析とはじめとした一般的な構造生物学的手法では、細胞膜からの抽出や高度な精製過程を経て調製した試料を解析対象とする。しかし、タンパク質複合体は、その構成成分を維持したまま高い純度まで精製することが難しく、また、膜タンパク質についても、界面活性剤を用いて可溶化すると天然状態とは異なる立体構造を保持したり、安定性が低下して経時的に変性・凝集したりするため、構造解析のための試料調製の際の大きな障害となっていた。この問題を解決するため、本研究では、哺乳動物細胞内に安定同位体標識を施した目的タンパク質を導入して、細胞自体を解析対象に用いることにより、タンパク質複合体の解離や失活を伴う抽出・精製過程を経ることなく、生体分子が本来機能する場を保持した状態において、NMR解析が可能となる手法の確立を目指す。

(実施体制: 社団法人バイオ産業情報化コンソーシアム、独立行政法人産業技術総合研究所バイオメディシナル情報研究センター、国立大学法人東京大学大学院薬学系研究科)

(e) 創薬標的タンパク質複合体の相互作用解析

ディスコイジンドメイン受容体 (discoidin domain receptor; DDR) は、ディスコイジン (discoidin; DS) ドメインがコラーゲン繊維と結合することにより活性化される受容体型チロシンキナーゼ (receptor tyrosine kinase; RTK) であり、がんの転移との関係がある。昨年度までの研究において、我々はDDR2のDSドメインの溶液構造を決定し、我々が開発したNMR手法である転移交差飽和 (transferred cross-saturation; TCS) 法によりコラーゲン線維の結合部位を明らかにした。コラーゲン結合部位の特徴から、DDR2がコラーゲン線維上の特異的な配列を認識することが示唆された (Ichikawa O. et al, EMBO J. (2007))。

そこで本研究の第一の目的として、DDR2とコラーゲンの複合体構造を決定することにより、DDR2のコラーゲン配列特異的に認識する機構をコラーゲン側の構造情報を含めて詳細に解明することを目指す。具体的には、大腸菌を用いてリコンビナントコラーゲンペプチドを大量調製し、等温滴定カロリメトリーや表面プラスモン共鳴法により結合定数とストイキオメトリを明らか

にする。さらに核磁気共鳴法によりコラーゲンペプチドのDSドメインに対する配向と相互作用残基対を決定することで構造情報を抽出し、複合体構造を明らかにする。

また、第二の目的として、DDRのコラーゲン結合により引き起こされる活性化機構の解明を目指す。DDRは、一般的なRTKとは異なり、コラーゲンリガンド非存在下においても膜貫通領域を介した二量体を形成することが知られている (Noordeen N. et al, J. Biol. Chem. (2006))。そこであらかじめ二量体化している受容体が、リガンド結合に伴い構造変化し活性化する機構を解明する。方法としては、哺乳動物細胞に膜貫通領域にシステイン変異を導入したDDRを発現させ、電気泳動により分子間ジスルフィド結合の形成を解析し、構造情報を抽出する。

(実施体制: 社団法人バイオ産業情報化コンソーシアム、独立行政法人産業技術総合研究所バイオメディシナル情報研究センター、国立大学法人東京大学大学院薬学系研究科)

研究開発項目③: 高精度 *in silico* スクリーニング等のシミュレーション技術

(a) *in silico* ドッキング計算の高精度化

- ・タンパク質の動的性質を正しく評価するため、動的性質を抽出する手法の開発及び動的構造のデータベース構築を行い、それに基づくタンパク質の動的構造を反映した薬物ドッキング・スクリーニングの手法を開発する。また、Fragment Based Drug Development (FBDD) のために Fragment Screening by Replica Generation (FSRG) の手法を開発し、FBDD におけるフラグメント選択を計算機スクリーニングで可能とし、より合理的な創薬手法とする。
- ・ドッキングのスコアの精度を高めるため、タンパク質及び低分子リガンドの動的構造、及び各種相互作用を考慮した複合体の構造予測法及び結合エネルギー算出法の開発を継続的に実施する。マルチカノニカルMDを用いた *ab-initio* な複合体の構造予測法と、Filling potential法を改良した、結合エネルギー算出が迅速に行われる手法を中心とする。

(実施体制: 社団法人バイオ産業情報化コンソーシアム、独立行政法人産業技術総合研究所バイオメディシナル情報研究センター、国立大学法人大阪大学蛋白質研究所)

(b) 構造生理学アプローチによるタンパク質間相互作用解析

「構造インタラクトーム」に踏み込んだ、ペプチドと同様あるいはそれ以上の強い結合性を有する非ペプチド性化合物(低分子化合物等)を探索・設計する新しい手法を開発する。特に、平成20年度までに開発した、構造探索エンジンと Maximum volume overlap 法などを組み合わせた手法(MD-MVO 法)を応用し、非ペプチド性化合物探索を試みる。一方、COMBINE法による膜蛋白質 hERG への低分子化合物の阻害予測手法を H20 年度までに開発したが、さらにその予測精度を高める。

(実施体制: 社団法人バイオ産業情報化コンソーシアム、独立行政法人産業技術総合研究所バイオメディシナル情報研究センター、国立大学法人大阪大学蛋白質研究所)

(c) 創薬開発への応用促進に向けた技術開発

- ・計算の高効率化と高速性が発揮できるアルゴリズムとプログラムの実装法の開発を行う。特に、ドッキング・プログラムのさらなる高速化の実現を目指す。また複数の *in silico* スクリーニング手法を組み合わせることで並列に適応させる技術を進展させる。
- ・計算機ハードウェアの開発動向を見据え、アクセラレーター等に対する並列計算技術を開発する。
- ・リガンド・データベースや計算結果を整理したデータベースの開発を行う。特に、上記、FBDD のためのFSRG法用に、多数の有望なbuilding blockの分子構造データベースを構築する。また、化合物の真空中・有機溶媒中での安定なイオン形、水中での安定なイオン形、メタプロテアーゼに結合する場合での安定なイオン形を作成し、様々なタイプの標的蛋白質に対して

*in silico*スクリーニングが適用できるようにデータベースをさらに拡張する。

- ・具体的な創薬実証研究を、本研究の他のチーム、大学や公的研究所、創薬企業等と協力して実施する。具体的には、アクアポリン4(AQP4)ブロッカー、インフルエンザ増殖関連酵素インヒビター、 μ 受容体(GPCR)のアゴニスト、農薬、GP-VI、その他のGPCRなどを対象として、実証研究のためにヒット化合物探索を行う。ターゲットとする蛋白質のモデリング、既知薬物のドッキングテスト、および本技術開発で開発してきた種々の*in silico*スクリーニングを実施し、実用的なスクリーニングにおいて、どのようなノウハウで手法を組み合わせれば良いかを検討しながら手法の確立を目指す。

(実施体制:社団法人バイオ産業情報化コンソーシアム、独立行政法人産業技術総合研究所バイオメディシナル情報研究センター、国立大学法人大阪大学蛋白質研究所)

(2) 平成21年度事業規模

委託事業

一般勘定 1003百万円 (継続)

事業規模については、変動があり得る。

6. その他重要事項

(1) 評価の方法

新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO)は、技術的及び政策的観点から、研究開発の意義、目標達成度、成果の技術的意義並びに将来の産業への波及効果等について、外部有識者による研究開発の中間評価を平成21年度に実施する。

(2) 運営・管理

①当該プロジェクトの実施にあたっては、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」(平成13年度文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第1号)等、研究開発関連の指針を厳守しなければならない。また、本研究開発成果の事業化においては、「経済産業分野のうち個人情報を用いた事業分野における個人情報保護ガイドライン」(平成16・12・24 製局第1号)を厳守しなければならない。

②委託先において、プロジェクトリーダーや各研究開発項目に係わるチームリーダー等を委員とした研究進捗報告会を年1回程度開催する。

(3) 複数年契約の実施

平成20～21年度の複数年契約を行う。

(4) その他

本研究開発は、平成19年度は経済産業省が実施した「創薬加速に向けたタンパク質構造解析基盤技術開発」事業について、平成20年度よりNEDO技術開発機構の事業として実施するものである。

7. スケジュール

| | |
|----------|------------|
| 平成21年 7月 | 中間評価の実施 |
| 平成22年 2月 | 研究進捗報告会の開催 |

8. 実施方針の改定履歴

(1)平成21年3月5日、制定。

(2)平成21年12月21日、加速予算の追加に伴う変更。

平成21年度 創薬加速に向けたタンパク質構造解析基盤技術開発体制

(別紙) 実施体制図

