

(健康安心イノベーションプログラム)
「ゲノム創薬加速化支援バイオ産業基盤技術開発」基本計画

バイオテクノロジー・医療技術部

1. 研究開発の目的・目標・内容

(1) 研究開発の目的

本研究開発は、遺伝子やタンパク質等の生体分子の機能・構造解析等を行うとともに、それらの研究を強力に推進するためのバイオツールやバイオインフォマティックスの開発、成果を高度に利用するためのデータベース整備や先端技術を応用した高度医療機器開発等により、個別化医療・予防医療・再生医療の実現や、画期的な新薬の開発、医療機器、福祉機器等の開発・実用化を促進することによって健康寿命を延伸し、今後、世界に類を見ない少子高齢化社会を迎える我が国において、国民が健康で安心して暮らせる社会の実現を目指すことを目的とする「健康安心イノベーションプログラム」の一環として実施する。

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。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状況にあることもその理由の一つであるが、創薬ヒット化合物の発見につながる新たなスクリーニング手法の技術革新と技術実証の不足により、新規医薬品候補化合物の探索効率が大幅に低下している可能性も指摘されている。このため、最先端の知識と分析技術を組み合わせ、創薬開発のより早い段階から適切な医薬品候補物質の取得を可能とする、標的蛋白質の立体構造をベースとした *in silico* スクリーニングや探索対象となる化合物空間の拡大など、創薬の効率化に繋がる新たな技術の開発が求められている。

こうした状況のもと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。

他方、創薬ヒット化合物の探索については、近年、製薬企業を中心に、コンビナトリアルケミストリーによる化合物合成とそのライブラリーを用いたハイスループットスクリーニングが盛んに行われたが、必ずしも期待された成果が出ておらず、豊富な生物活性と大きなケミカルスペースを持った天然化合物が再注目されている。微生物は、天然化合物のリソースとして最も有望なものの一つであるが、培養抽出物として安定的かつ大量に取得できないなど、そのままではスクリーニングの効率化に様々な問題点がある。そこで、これまでに無い新しい骨格を持った化合物

も含め、微生物の持つ天然化合物の生合成遺伝子を取り出して別の宿主菌株で発現させるなど、目的とする天然化合物を安定的かつ効率よく発現させる手法を開発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、以下の2つの技術開発を実施する。

〈1〉 創薬加速に向けたタンパク質構造解析基盤技術開発

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の開発を行う。

〈2〉 有用天然化合物の安定的な生産技術開発

我が国の強みとする微生物ライブラリーや、天然物化学に対する知識基盤等を最大限に活用し、創薬リード化合物候補となりうる広いケミカルスペースを持った天然化合物を生産する生合成遺伝子とそれを応用した化合物生産を効率的に行う技術開発により、安定生産技術としての汎用性を見極める。

これにより、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、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、天然物化学情報基盤の強化等により、ゲノム情報を活用した創薬技術の高度化による我が国バイオ産業の競争力強化、新産業の創出・育成を通じて、国際的優位性を確保することが期待できる他、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が期待できる。

(2) 研究開発の目標

〈1〉 創薬加速に向けたタンパク質構造解析基盤技術開発

標的とするタンパク質の「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基盤技術を確立する。

〈2〉 有用天然化合物の安定的な生産技術の開発

放線菌を対象に、新規の医薬品開発につながる有望な天然化合物の合成に必要な生合成遺伝子クラスターを体系的に取得し、安定生産に適した宿主放線菌、導入ユニットの構築及び導入技術を確立する。

(3) 研究開発内容

上記目標を達成するために、以下の研究開発項目について、別紙の研究開発計画に基づき研究開発を実施する。

〈1〉 創薬加速に向けたタンパク質構造解析基盤技術開発 (平成20年度～平成24年度)

- 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
- ② 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
- 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

各項目は相互に連携し、GPCR (Gタンパク質共役受容体) など創薬ターゲットとして重要な共通膜タンパク質に対して、①で構造データを、②で相互作用・機能データを取得し、③の動的特性、ドッキング解析に反映させるとともに、③で得られた結果を①、②にフィードバックしながら効率的なリード化合物スクリーニング手法に展開し、具体的な創薬実証研究に応用していく。

〈2〉 有用天然化合物の安定的な生産技術開発 (平成23年度～平成24年度)

2. 研究開発の実施方式

(1) 研究開発の実施体制

- ① 創薬加速に向けたタンパク質構造解析基盤技術開発は、経済産業省により、企業、民間研究機関、独立行政法人、大学等（委託先から再委託された研究開発実施者を含む）から公募によって研究開発実施者が決定され、共同研究契約等を締結する研究体が構築され、平成19年度より委託して実施されている。平成20年度より、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」という。）が本事業を運営・管理するに当たっては、外部有識者から構成される技術評価委員会等を設置し、平成19年度の進捗状況を踏まえた事業内容・計画及び実施体制の妥当性についての審議に基づいた評価を行った上で委託して実施する。
- ② 本研究開発では、「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」、「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」、「高精度in silico スクリーニング等のシミュレーション技術」を連携させながら一体的に進めることが必要であり、適切な実施体制を構築する。
- ③ 共同研究に参加する各研究開発グループの有する研究ポテンシャルの最大限の活用により効率的な研究開発の推進を図る観点から、NEDOが指名する研究開発責任者（プロジェクトリーダー）を研究開発項目毎に設置し、その下で効果的な研究開発を実施する。研究開発項目①「創薬加速に向けたタンパク質構造解析基盤技術開発」については、国立大学法人名古屋大学細胞生理学研究所教授 兼 京都大学大学院理学研究科 兼 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 タンパク質構造解析チーム招聘研究員 藤吉好則氏を研究開発責任者とする。研究開発項目②「有用天然化合物の安定的な生産技術開発」については、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 新家一男氏を研究開発責任者とする。

(2) 研究開発の運営管理

研究開発全体の管理・執行に責任を有する NEDO は、経済産業省及びプロジェクトリーダーと密接な関係を維持しつつ、プログラムの目的及び目標、並びに本研究開発の目的及び目標に照らして適切な運営管理を実施する。具体的には、必要に応じて、NEDO に設置する委員会及び技術検討会等、外部有識者の意見を運営管理に反映させる他、四半期に一回程度プロジェクトリーダー等を通じて研究開発の進捗について報告を受けること等を行う。

3. 研究開発の実施期間

本研究開発の実施期間は、平成20年度から平成24年度までの5年間とする。

本研究開発は平成19年度に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 の事業として実施するものである。

4. 評価に関する事項

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、事後評価を平成25年度に実施する。また、中間評価結果を踏まえ必要に応じプロジェクトの加速・縮小・中止等見直しを迅速に行う。なお、評価の時期については、当該研究開発に係る技術動向、政策動向や当該研究開発の進捗状況等に応じて、前倒しする等、適宜見直すものとする。

5. その他重要事項

(1) 研究開発成果の取り扱い

① 共通基盤技術の形成に資する成果の普及

得られた研究開発成果のうち、下記共通基盤技術に係る研究開発成果については、NEDO、実施者とも普及に努めるものとする。

- a) 膜タンパク質の発現・精製、結晶化技術と極低温高分解能電子顕微鏡の高速化と精密化、及びそれらを駆使したタンパク質構造解析とそのデータベースなど、本技術開発を通じて得られる有用な情報。
- b) 膜タンパク質複合体における分子間相互作用解析法のノウハウ、本技術開発を通じて得られる有用な情報。
- c) 化合物データベース、in silicoスクリーニング用計算プログラム等、本技術開発を通じて得られる有用な情報。
- d) 有望な天然化合物の合成に必要な生合成遺伝子クラスターのライブラリーとそのデータベース、ホスト放線菌とユニット遺伝子導入技術、発現させた天然化合物。

② 知的基盤整備事業又は標準化等との連携

得られた研究開発の成果については、知的基盤整備事業又は標準化等との連携を図るため、データベースへのデータ提供、標準情報（TR）制度への提案等を積極的に行う。

③ 知的財産権の帰属

委託研究開発の成果に関わる知的財産権については「独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構新エネルギー・産業技術業務方法書」第26条の規定等に基づき、原則として、すべて受託先に帰属させることとする。

④ 成果の産業化

- a) 受託者は、本研究開発から得られる研究開発成果の産業面での着実な活用を図るため、本研究開発の終了後に実施すべき取り組みのあり方や研究開発成果の産業面での活用のビジネスモデルを立案するとともに、立案した取り組みのあり方とビジネスモデルについて、研究開発の進捗等を考慮して、研究開発期間中に必要な見直しを行う。
- b) 受託者は、上記a)で立案した取り組みとビジネスモデルを本研究開発終了後、実行に移し、成果の産業面での活用に努めるものとする。

(2) 基本計画の変更

NEDOは、研究開発内容の妥当性を確保するため、社会・経済状況、国内外の研究開発動向、政策動向、プログラム基本計画の変更、第三者の視点からの評価結果、研究開発費の確保状況、当該研究開発の進捗状況等を総合的に勘案し、達成目標、実施期間、研究開発体制等、基本計画の見直しを弾力的に行うものとする。

(3) 根拠法

本研究開発は、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号に基づき実施する。

(4) 関連指針の厳守

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ぬ。

6. 基本計画の改訂履歴

- (1) 平成20年3月、制定。
- (2) 平成22年3月、中間評価で高い評価を受け、最終目標達成のため期間延長を行う事により、改訂。
- (3) 平成23年2月、新規技術開発の追加による研究開発項目の整理に伴い改訂。
- (4) 平成23年8月、研究開発項目<2>の研究開発責任者の決定により改訂。
- (5) 平成24年4月、研究開発責任者の異動に伴う所属先の変更により改訂。

(別紙) 研究開発計画

研究開発項目<1> 創薬加速に向けたタンパク質構造解析基盤技術開発

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」

1. 研究開発の必要性

日本における創薬研究を加速するには、多方向からの基礎的な研究が必要であるが、膜タンパク質及びその複合体の構造と機能解析は最も基礎に存在する必須の研究・開発課題であると考えられる。細胞の表層にあって、各種シグナルの伝達において中心的な機能を担う膜タンパク質の構造研究の重要性は、世界的にもますます強く認識されてきており、欧米では、タンパク質の立体構造に基づいた薬剤の開発が進もうとしている。この点に関して、我が国の不十分な現状を変えて「タンパク質立体構造に指南された創薬戦略」を進めるには、創薬分野においてその構造情報が必要とされている膜タンパク質などの構造を解析できる有力な技術の開発が不可欠である。

これまで NEDO で実施されてきた「生体高分子構造情報プロジェクト」での極低温電子顕微鏡などを用いた膜タンパク質構造解析法の先見性は、国内のみならず世界的にも認められつつある。このような高いポテンシャルを活かし、生理的に機能を発揮している膜タンパク質及びその複合体の生体内に近い状態での構造を効率よく解析出来る基盤技術を構築する必要がある。特に、解析が困難なヒトや哺乳類由来の膜タンパク質及びその複合体の構造解析技術を更に発展させて、創薬において非常にニーズの高い膜タンパク質及びその複合体の構造を解析することができる技術を開発し、実際にそれらの構造解析を行う必要がある。本研究開発項目では、研究開発項目①-2「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」と研究開発項目①-3「高精度 *in silico* スクリーニング等のシミュレーション技術」という重要な2つの研究分野に情報を供与するとともに、これらと密接に協力して創薬を加速する基盤技術を開発する。さらに、電子線とX線を用いた膜タンパク質などの構造解析技術の発展により、革新的かつ生物学的に重要な発見や膜タンパク質及びその複合体の機能、機構を説明できる新しい概念構築等によるイノベーションを実現することで、我が国のバイオ産業の競争力強化や新産業の創出に貢献することを目標とする。

2. 具体的な研究開発内容

(1) 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

解析が必要な膜タンパク質等の発現・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

ヒト等真核生物由来の膜タンパク質及びその複合体に関して、組み換え遺伝子技術と昆虫細胞等を用いた発現系の開発を進めて、解析が必要な膜タンパク質の発現・精製法の確立を行う。特に水チャンネル、イオンチャンネル、GPCR など、創薬分野から期待されている膜タンパク質の構造解析を目指して大量発現・精製の研究を進める。

②膜タンパク質及びその複合体を細胞内に局在させて発現する方法の開発

任意の膜タンパク質及びその複合体を細胞内に局在させて発現する方法など、立体構造解析を行うために必要な発現技術の開発を進める。

③解析が必要な膜タンパク質及びその複合体の精製・結晶化

解析が求められている膜タンパク質などの結晶化を行う。

(2) 極低温高分解能電子顕微鏡や自動電子顕微鏡等の電子顕微鏡の開発、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、電子線トモグラフィー用極低温電子顕微鏡の開発を行い、これを用いた分解能 50 Å 程度の解析を行う。

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 2 Å を超える精度）を可能にする電子線結晶学用プログラムを開発し、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行う。

③結晶化できない分子や複合体の構造解析を 8 Å 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、高分解能の電子線トモグラフィー用コンピュータプログラムの開発を行う。

④2次元結晶化用自動電子顕微鏡の開発

2次元結晶化条件の検査を従来に比べ2倍以上の効率で行うための、2次元結晶化条件検査用自動電子顕微鏡の開発を行う。これにより、2次元結晶を作製する速度を飛躍的に向上させ、構造解析の加速を図る。

(3) 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ーの解析も行うことで、膜タンパク質及びその複合体の自然な状態の構造解析を目指す。

3. 達成目標

① 最終目標（平成24年度末）

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2 Å 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での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。

② 中間目標（平成21年度末）

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。

研究開発項目<1> 創薬加速に向けたタンパク質構造解析基盤技術開発

②「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」

1. 研究開発の必要性

創薬標的タンパク質とリガンド分子との相互作用解析は、新規薬物の創製において重要な知見を与える。核磁気共鳴法（NMR）は生理的条件下でタンパク質など生体高分子の構造解析、相互作用解析が可能であるため、他の構造生物学的手法と比較し優位性があるものの、安定同位体を試料に取りこませ、かつ凝集のない状態で測定しなければならないなどの制約がある。そのため、必ずしも全ての標的タンパク質を NMR 測定に供することはできず、効率的な発現系の確立や変性状態からの巻き戻し法などが求められている。

さらに、いくつかの膜タンパク質は、細胞表層でリガンド分子のみならず、複数分子と複合体を形成し、機能発現していることが知られている。したがって、従来の可溶化膜タンパク質を対象として解析するのみではなく、細胞膜中における膜タンパク質複合体を保持した状態で、リガンド相互作用解析を行うことが可能であるならば、膜タンパク質の機能発現機構を解明でき、さらに新規作用機序に基づく創薬開発が期待される。

しかしながら、このような細胞表層、細胞自身など不均一超分子系における相互作用様式を NMR により研究する場合、適切な NMR 試料調製法、NMR 測定法が確立されていないことにより、十分な成果を挙げることができていない。

本研究開発項目では、上記課題を解決するため、以下の項目を実施する。

2. 具体的な研究開発内容

(1) 安定同位体標識タンパク質調製系の確立

タンパク質の安定同位体標識において、試料調製法を系統化し、効率的に目的のタンパク質に適した試料調製法を探索するシステムの構築を目指す。具体的には、1) 安定同位体標識が可能なタンパク質発現系を系統的に選別する方法の確立、2) 不溶性画分でのみ発現されるタンパク質についての系統的なタンパク質巻き戻し法の探索システムの確立、3) 得られたタンパク質（複合体）試料の溶液条件を検討し、NMR 測定に最適な溶液条件を高精度でかつ従来法に比べ 5 倍以上迅速に選別する手法を開発することにより、効率的な安定同位体標識タンパク質調製法の確立を行う。

(2) 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

構造解析へ適応可能なリガンドライブラリスクリーニングシステムなどの開発・高度化を進めるとともに、本システムに適応するため、及び結合力の弱いリガンド分子の標的タンパク質結合部位を同定するための原子レベルでの相互作用解析法を開発を行うことにより、リガンドベースの創薬デザインを加速する情報を得るための技術開発を行う。また、本システムを疾患関連タンパク質複合体系に適用し、低分子リガンド及びリガンドタンパク質と標的タンパク質の相互作用解析を行い、合理的創薬開発に供する構造情報を取得する。

(3) 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

従来の膜タンパク質の構造生物学的研究では、膜タンパク質を可溶化剤により可溶化するなど、実際に膜タンパク質が機能する場とは異なる状態での解析が主流で、細胞表層に着目した研究は立ち遅れている。そこで、実際に細胞膜中で膜タンパク質が機能している状態を保持した、あるいはその状態を再構成した NMR 測定用試料作成法を開発する。

(4) 細胞膜複合体相互作用解析のための NMR 解析法の開発

細胞表層、細胞自身などを NMR 研究対象として取り上げるために、1) 高分子量超分子から高感度に精密な構造情報を取り出すこと、2) 高分子量化及び液相・固相混合試料の不均一な磁化率に伴う NMR 線幅の増大を抑えることの 2 点を克服する技術を開発する。具体的には、NMR 測定装置及び NMR 測定法の改良を行い、細胞表層に存在する膜タンパク質の相互作用様式が解明できる NMR 解析法を開発を行うと同時に、この手法の有効性を実証する。

3. 達成目標

① 最終目標 (平成 24 年度末)

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、以下の技術を構築する。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を従来法に比べ 3 倍の高感度の解析技術を確立する。
- 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。

② 中間目標 (平成 21 年度末)

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。

研究開発項目<1> 創薬加速に向けたタンパク質構造解析基盤技術開発

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」

1. 研究開発の必要性

近年、「ゲノム創薬」として医薬品のターゲットタンパク質をゲノム情報から同定し、疾病に対する全く新たなアプローチ法が提案されているものの、ターゲットタンパク質を制御する医薬品のスクリーニング・分子設計技術が進んでいないため、「ゲノム創薬」が必ずしも有効な手法とは一般に認知されていない。この問題を解決するためには、ターゲットタンパク質の精緻な立体構造を解明し、その分子機構を理解し、それを制御する医薬品開発を行う新たな技術が切望されている。

このため、我が国で開発された世界最高レベルの電子顕微鏡技術・相互作用界面構造解析技術から得られる有用な情報を活用し、in silico スクリーニングの精度及び高速性の向上を図る新たな計算アルゴリズムとプログラムを開発し、さらに、その技術の具体的な創薬開発への応用することで、開発した計算科学手法による創薬加速の効果を検証することが必要である。

また、データに基づくタンパク質の動的シミュレーション解析結果を、構造解析、相互作用解析にフィードバックし、タンパク質-タンパク質、リガンド、化合物相互作用、信号伝達におけるダイナミカルな現象に切り込み、新規知見を得て、スクリーニング、及び創薬ターゲット選択にも新しい展開をもたらすことも期待される。

2. 具体的な研究開発内容

(1) 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・試作を行い、②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行う。

(2) 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

タンパク質は、タンパク質間の相互作用とそれに基づく超分子複合体として高度な生命現象を維持しているため、タンパク質間相互作用及び超分子複合体の構造情報まで含めた詳細な解析「構造インタラクトーム」に踏み込み、タンパク質間相互作用の阻害等の創薬において有用な機能を有するものの活性の維持等の観点から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低分子化合物等へ展開するため、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の開発を行う。

(3) 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、専用ボードの利用、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等の開発を推進する。また、本開発研究のチーム間だけでなく、創薬メーカーと研究協力を行って具体的な創薬実証研究を実施する。また、上記開発するプログラムやデータベースを公開し、研究開発成果を広く社会に還元し、Web site から最新のプログラム、データ、情報を与えられる仕組とする。

3. 達成目標

① 最終目標（平成 24 年度末）

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、①、②の技術との連携により、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。

② 中間目標（平成 21 年度末）

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、①、②の技術との連携により、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。

研究開発項目<2> 「有用天然化合物の安定的な生産技術開発」

1. 研究開発の必要性

近年、製薬企業を中心に、コンビナトリアルケミストリーによる化合物合成とそれらのライブラリーを用いたハイスループットスクリーニングが盛んに行われたが、必ずしも期待された成果が出ていない。目的とする高い活性を持った化合物群へのニーズは現在でも極めて大きく、豊富な生物活性と大きなケミカルスペースを持った天然化合物が再注目されている。微生物は、天然化合物のリソースとして最も有望なものの一つであるが、培養抽出物として安定的かつ大量に取得できないなど、そのままではスクリーニングの効率化に様々な問題点がある。

放線菌には、実際の化合物として単離されていない多くの生合成遺伝子が存在する。これまで、放線菌の物質生産能を向上させる技術として、培養法の改良や菌株の変異などが行われてきたが、全ゲノムシーケンスが完了し代謝産物が精査された放線菌株でも、生合成遺伝子数から推定される化合物数は約2割程度しか単離されておらず、多くの未利用生合成遺伝子が存在する。

そこで、このような未利用遺伝子を同種・異種宿主菌株により強制的に発現させる手法を開発すれば、これまでに無い新しい骨格を持った化合物の生産も可能となる。また、天然化合物の中には生産が安定しないものも多くあるため、生産が不安定な生産菌より生合成遺伝子を取り出し宿主菌株で発現させることにより、安定的な化合物の供給も可能となる。

2. 具体的な研究開発内容

(1) 生合成遺伝子クラスターライブラリーの構築

放線菌が生産する広範な天然化合物リソースから、大きく複数に分類される化合物群の代表的な化合物を選抜するとともに、製薬企業が興味を持つ構造及び活性がユニークな天然物由来の化合物候補を選抜し、これらの天然化合物の生合成遺伝子クラスターの情報を取得する。

この情報を基に、生合成遺伝子クラスターのライブラリーを作製する。また、これらの生合成遺伝子クラスターの正確なシーケンス情報を解読すると共に、化合物と生合成遺伝子を対応づけるデータベースを構築し、類縁化合物の生合成遺伝子を探索するツールの開発につなげる。

(2) 安定生産技術の開発

天然物を生産する別の宿主放線菌株を用いて、これら多種多様な天然化合物の生合成遺伝子クラスターを導入し、実際のスクリーニングに適用可能な生産性を目標に生産させる技術を開発する。安定的な生産が可能な天然物と困難なものを体系的に整理し、生産が困難なものについてはその原因を解明し、生産の改善に取り組むことにより、安定生産技術としての汎用性を見極める。

3. 達成目標

① 最終目標（平成24年度末）

有用天然物の合成に必要な40個程度の生合成遺伝子クラスターを取得し、その生産物を対応づけたデータベースを構築する。これら40個程度の生合成遺伝子クラスター全てについて、化合物生産株となる別の宿主放線菌へ導入し、目的の天然物を5 mg/L レベルで安定的に生産する技術を開発する。さらにこれら40個程度について、安定的な生産が可能な天然物と困難なものを体系的に整理し、生産が困難なものについてはその原因を解明し、生産の改善を図る。