

日本医療研究開発機構 創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業 事後評価報告書



I 基本情報

補助事業課題名: (日本語) 創薬等ライフサイエンス研究を促進する研究支援とデータサイエンス
(プログラム名) (英語) Platform Project for Supporting Drug Discovery and Life Science Research

実施期間: 平成29年4月1日～令和4年3月31日

補助事業担当者 氏名: (日本語) 白井 剛
(英語) Tsuyoshi Shirai

補助事業担当者 所属機関・部署・役職:
(日本語) 長浜バイオ大学・バイオサイエンス学部・教授
(英語) Nagahama Institute of Bioscience and Technology・Faculty of Bioscience・Professor

II 補助事業の概要

(1) 支援

本課題では主として超分子モデリング高度化と密接に関連した支援研究を6件実施し、最終年度までに全件を完了した。

課題番号673「DNA polymerase Dの構造モデリング」では、DNA polymerase D-PCNA-DNA複合体の電顕データの更新により、2つの有意に異なる構造の存在が示され、その結果に基づいて formA(DNA polymerization modeに相当すると推定される)と formB(合成したDNAを他の複製因子に受け渡す際の構造に相当すると推定される)のモデルを新たに構築し論文報告した(*BMC Biol.* 2020)。引き続き、DNA polymerase D-Primase(PriL-PriS)複合体のクライオ電顕モデリングも行い報告した(*NAR* 2021)。課題番号672「ミトコンドリア病関連タンパク質相互作用予測」では、高度化研究の課題の1つであるタンパク質立体構造(3D)のデータとゲノム(1D)のデータの関連付けを利用して、ミトコンドリア病に関連するタンパク質複合体を網羅的に探索し、情報を提供した(*Mol. Biol. Evol.* 2019)。

特記事項として、課題番号669「EndoMS変異体の理論設計」では、九州大学・タカラバイオ株式会社との共同研究契約を結び、新規ミスマッチDNA切断酵素EndoMSをPCRによる変異DNA検出(診断)に応用するため

に必要な変異体の理論設計を支援した。変異型EndoMSを用いたPCRにより目的の変異DNAのみを有意に増幅できることが確認された。この結果は企業導出例として特許出願(耐熱性ミスマッチエンドヌクレアーゼ変異体, 特願2020-048795, 2020.3.19, 米国特許出願 US10975415B2, Apr. 13, 2021)し, 研究試薬としてタカラバイオから商品化される。

課題番号 2507 「COVID-19 ワクチン開発に関する構造モデリング」では, BCG ワクチンをベースとした COVID-19 ワクチンの開発を支援した。これは BCG の抗原遺伝子に SARS-CoV-2 の遺伝子断片を挿入することで, 結核予防接種と同時に他の感染症への免疫も獲得することを目指すものである。実験結果に基づき決定木により高発現・高分泌の得られるターゲット遺伝子およびコンストラクトの解析を行なった。この結果は特許出願を進めている。

この様に, 本課題の支援により診断や治療に応用可能な複数の成果が提出されたことで当初の目的は達成されたと考えられる。

(2) 高度化

i) タンパク質と低分子・生体高分子リガンド超分子モデルDBの継承と運用

これまで開発・公開してきたタンパク質・低分子・生体高分子リガンド超分子モデルDBの継承と運用を行った。SOSUI(膜タンパク質予測サーバー), Het-PDB Navi.(PDB低分子リガンドデータベース), Mutation@A Glance(疾患関連変異のタンパク質立体構造マッピングデータベース), PreDom(ドメインドッキング予測ウェブサーバー), SIRD(タンパク質構造-相互作用分類データベース)のサービスを継続しつつ, データの更新を行った。これらの計算機資源は広く一般利用に供されるとともに, 支援および以下の高度化研究にも活用された。

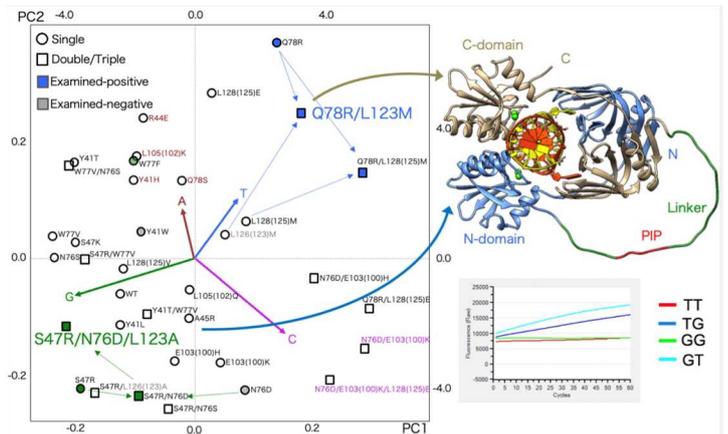


図1 EndoMS の特異性設計

(左)バイオインフォマティクス解析と実験を組み合わせることで順次特性の変換に成功した。(右)設計した変異体による PCR で G-T ミスマッチ DNA のみが増幅されることが確認された。

JADER	NDB	JECDB	KEGG	DrugBank	GWAS Catalog	IntAct	PDB	IDEAL	KNAPSAcK
副作用報告数	薬価・処方数	毒性	ドラッグ・パスウェイ	ドラッグ・ターゲット	疾患遺伝子	PPI	立体構造	天然活性タンパク質	生薬成分

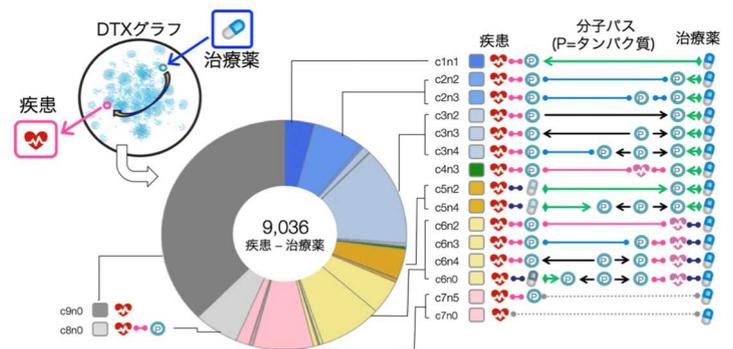
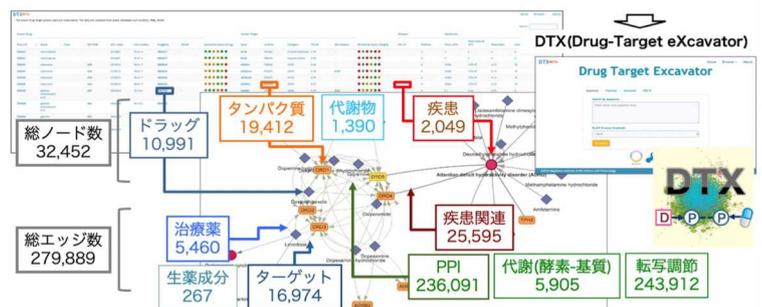


図2 Drug Target Excavator (DTX)

(上)DTX のデータソースと現在のデータ登録数の概要, (下)DTX により解明された, 13 の典型的疾患→ドラッグ分子パスのパターン

ii) 超分子DBの接続

医薬品副作用情報・既知立体構造情報・薬物応答性ゲノム変異などの情報を統合したデータベースシステムDrug Target Excavator (DTX)の開発を行った。このシステムはタンパク質配列やドラッグ構造をクエリとして、クエリ配列の立体構造の新規性やドラッグターゲットとしての新規性・類似性などの調査を行うことを目的としており、プラットフォーム機能最適化ユニットで開発したVaProS-BINDSとAPI連携している。

このDTXシステムを用いて、疾患→ドラッグの最短経路(パス)を探索すると、疾患-ドラッグペア全体(9462)の91%が13種のグラフパターンで表されることが示された(図2)。このうち2333(24%)は疾患-ドラッグがPPI/代謝パスウェイで接続され、最も高頻度(885, 9%)のパスは、疾患関連タンパク質とドラッグターゲットの間に、当該疾患にも当該ドラッグにも関連づけられないタンパク質が1つ挿入されているパターンであった。

DTXの拡張機能として疾患やドラッグ間の最短パスを検索するDTX Network Path Explorerを開発し公開した(https://harrier.nagahama-i-bio.ac.jp/dtx/path_explorer/)。検索では、特定の疾患・ドラッグ・タンパク質を始点・終点ノードとして両者をつなぐ最短パスを検索できるほか、始点ノードのみを特定して終点のタイプ(疾患・ドラッグなど)を指定して検索することが可能である。

さらにDTXデータの機械学習(勾配ブースティング決定木, GBDT)によるドラッグ有効性の推定をおこなった。ある疾患とその疾患に有効なドラッグ間のパス(therapeutic trueケース)と、その疾患の有効性が知られていないドラッグのパス(therapeutic falseケース)で学習し交差検定した結果、精度0.88で有効ドラッグを識別することが可能であった。またドラッグリポジショニングの成功例(reposition trueケース)と失敗例(reposition falseケース)は精度0.88で、副作用報告の多いドラッグ(high-adverseケース)と少ないドラッグ(low-adverseケース)は精度0.79で識別可能であった。この結果から、DTXが効率的なターゲット探索に利用可能であると期待される。ただし興味深い点として、上記の学習機でクロス予測(例えばtherapeutic true - therapeutic falseで学習し、reposition true - reposition falseを予測)では精度が著しく低下した。これは、これらの薬効のメカニズムが大きく異なることを示唆する。

第8回生命医薬情報学連合大会 IIBMP2019(東京工業大学2019/9/10)で"Drug Target Excavator: An Integrative Web Tool for Identifying New Potential Drug Targets"でDTX開発について発表を行い、優秀口頭発表賞を受賞した。

この様に高度化研究では、タンパク質構造・相互作用から薬効やドラッグターゲットを解析・予測するための情報基盤が創出された。

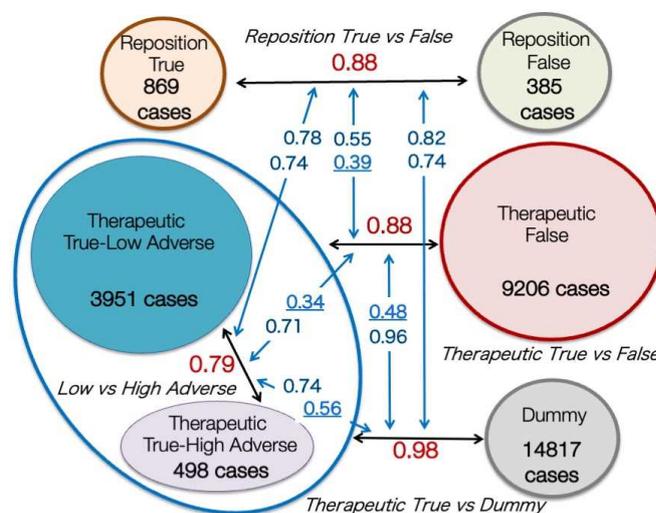


図3 DTXによる疾患-ドラッグパスのGBDT予測
赤字の数字は矢印で結んだ疾患-ドラッグの組みの正答率をしめす。クロス予測の結果は青矢印で示されている。

(3) 連携

a) 講習会・広報活動：ユニット間連携として、高度化の成果の普及のための講習会を開催し、あるいは講師として参加した。講習会として3件を主催し、7件で講師を勤めた。また、BINDSの広報活動として学会におけるBINDS広報ブースでの説明を8件担当した。主催したインシリコ・プラットフォーム機能最適化ユニットによる「BINDSユニット連携講習会：創薬のためのタンパク質構造インフォマティクス2」(2021/9/17 オンライン)では参加登録者数は463名、当日最大同時接続350名であった。

b) DTX のデータリンク

インシリコユニット(金谷グループ)との連携によりDTXのデータ拡充を行なった。生理活性のある生薬成分分子(267分子)および想定されるヒトターゲットタンパク質(4,139件)の情報をKNAPSAcKから導入、ターゲットタンパク質の天然変性の情報(680件)をIDEALから導入した。この拡充により(未承認)天然物と疾患の分子パスの検索がDTXおよびVaProS-BINDSで可能となった。

c) 新型コロナウイルス感染症

新型コロナウイルス感染症への対策としてインシリコユニットとの連携により、SARS-CoV-2 タンパク質の網羅的構造モデリングを行いPDBに登録されたプレートタンパク質-リガンド複合体と COMPLIG を用いた構造

比較を行うことで、main protease, S-glycoprotein, 2'-O-ribose methyltransferase と既存薬との複合体モデルを提唱した。この結果は、BINDS ホームページ <https://harrier.nagahama-i-bio.ac.jp/dtx/SARS-CoV-2/>, および BSM-Arc <https://bsma.pdbj.org/entry/15> から一般に公開するとともに、論文発表(*FEBS Lett.* 2020)した。

また、インシリコユニットなどとの連携により、セファランチンとネルフィナビルが COVID-19 に有効であること報告し(*iScience* 2021),さらに DTX を用いて COVID-19 に対する天然物医薬品の探索を行なった。セファランチン類縁体の探索および SARS-CoV-2 増殖抑制アッセイを行い、テトランドリンの有効性を示すとともに、ファーマコフォアの推定を行い結果を報告した(図 4. *FEBS OpenBio* 2021). この研究は筑波大学・広川班および国立感染研・渡士研との連携で実施した。

この様に、連携により人材育成や新型コロナウイルス感染症対策に有効な貢献が成された。

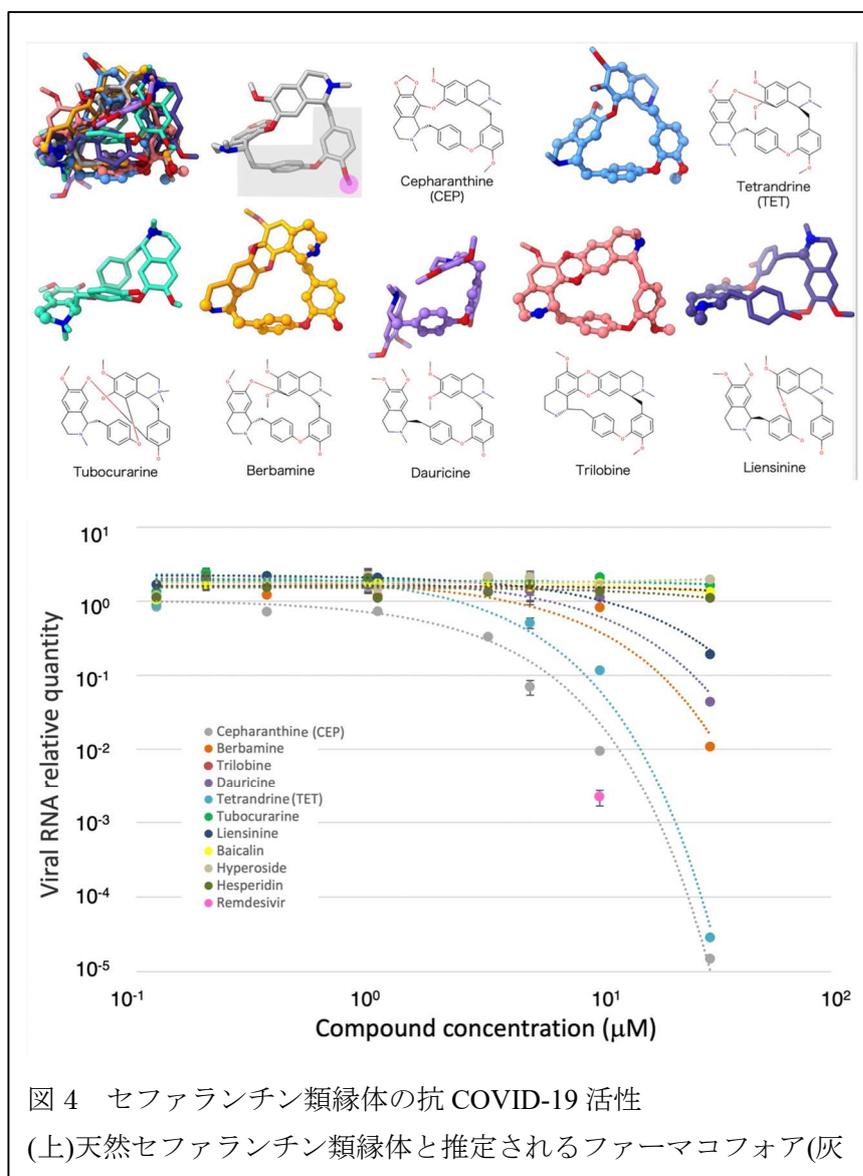


図 4 セファランチン類縁体の抗 COVID-19 活性
(上)天然セファランチン類縁体と推定されるファーマコフォア(灰

(1) Supportive researches

A total of six supportive researches have been done in this subject, by mainly focusing on the supra molecular structure modeling. In #0673 “Structure modeling of DNA polymerase D”, the complex models of PolD-PCNA-DNA and PolD-PCNA-primase(PriL-PriS)-DNA were constructed, and the mechanisms for switching from priming and progressive DNA synthesis were elucidated (*BMC Biol.* 2020, *NAR* 2021). The comprehensive network of proteins/genes relevant to the mitochondrial diseases was studied in #0672 “PPI prediction for mitochondrial diseases” (*Mol. Biol. Evol.* 2019). The specificity-modifying mutants of EndoMS were predicted by combining molecular modeling and MD simulations in #0669 “Rational design of EndoMS mutants” to develop a PCR-based genetic diagnosis system. Several practically applicable mutants were obtained, and specific amplifications of SNP genes were confirmed. The results were patented as JP 2020-048795, 2020.3.19, and US 10975415B2, Apr. 13, 2021). In #2507 “Structural modeling for COVID-19 vaccines”, constructed genes were analyzed with decision tree, and an effective construct scheme was proposed. The patenting of the results is currently under process. Thus, the supportive researches were successfully executed, and several applicable results have been produced.

(2) Advanced researches

The databases for protein structure studies, namely, SOSUI(membrane protein prediction server), Het-PDB Navi. (PDB small molecule ligand database), Mutation@A Glance(mapping database of disease-related protein mutants), PreDom(protein domain docking server), and SIRD(protein structure-interaction relational database) were maintained, reinforced, and released online.

By using these data resources, Drug Target Excavator (DTX) has been developed, in which the human-diseases, human and pathogen proteins, metabolites, drug targets, and drugs are connected via disease-relationship, protein-protein interactions, transcription regulations, metabolic pathways, and protein-drug/metabolite interactions. The DTX was used to classify the molecular path from disease to drug, and it was demonstrated that more than 90% of the paths were classified into 13 patterns (https://harrier.nagahama-i-bio.ac.jp/dtx/path_explorer/). This database was also used to predict drug efficacies by applying the disease-drug paths to GBDT machine learning. The trained GBDT could discriminate effective (therapeutic true) paths from non-effective (therapeutic false) ones with 0.88 accuracy. Also, the cases of successful and unsuccessful drug-reposition cases, and drugs of high-adverse and low-adverse reported were discriminated with 0.88 and 0.79 accuracies, respectively. Thus, the useful data frame for predicting and evaluating drug targets has been generated in this study.

(3) Inter-subject cooperation

Three training courses and seven lectures for computer methods in structure modeling were planned and implemented (e.g., a total of 463 trainees have applied to “Unit-joint course: the protein structural informatics for drug discovery 2” Sep 17th, 2021 online). The molecular models of SARS-CoV-2 proteins were constructed and published online (<https://harrier.nagahama-i-bio.ac.jp/dtx/SARS-CoV-2/>), and drug screenings for COVID-19 were executed under inter-subject cooperation, and the efficacies of Cepharanthine and Tetrandrine were demonstrated (*FEBS Lett.* 2020, *iScience* 2021, *FEBS OpenBio* 2021). Thus, significant achievements were produced in human resource training and social contribution under cooperation.