

平成27年度 全体研究開発報告書

1. 事業名：次世代治療・診断実現のための創薬基盤技術開発
2. 研究開発課題名：天然化合物及びITを活用した革新的医薬品創出技術
研究開発項目①「ITを活用した革新的医薬品創出基盤技術開発」
3. 研究開発代表者：次世代天然物化学技術研究組合
プロジェクトリーダー 嶋田 一夫

4. 研究開発の成果

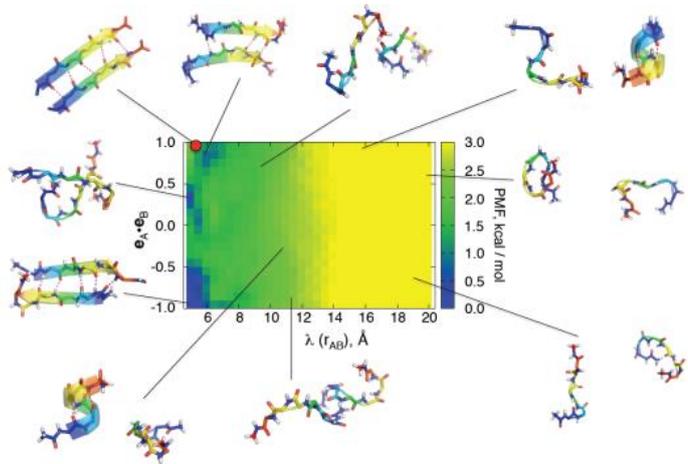
(1) 革新的 in silico シミュレーション/スクリーニングソフトウェアの開発

医薬品候補化合物の探索のためには、低分子だけでなく天然化合物のような中分子の受容体との特異的複合体構造を予測・解析する必要があります。しかしながら、中分子は一般に構造の柔軟性が大きく、従来のドッキング・ソフトでは受容体との複合体予測は原理的に困難であった。

そこで、全く新規な計算手法

(V-AUS 法) のアルゴリズムとソフトウェアを開発し、アミロイド A β ペプチド断片の二量体形成シ

ミュレーションを実施し、様々な2分子間距離 λ をサンプリングして安定な複合体構造と結合自由エネルギーを得た。(J. Comput. Chem. (2015))

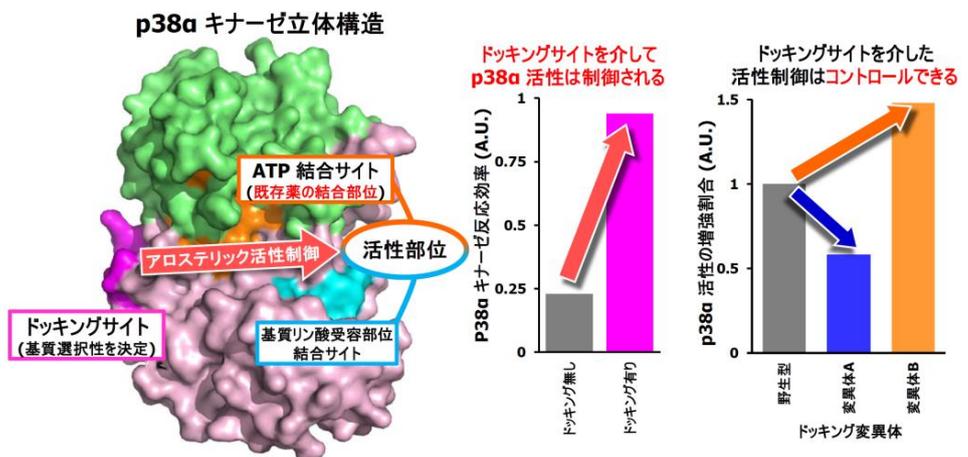


V-AUS 法によって得られた自由エネルギー地形と2本のアルツハイマーペプチド A β_{16-21} の構造(300K)

(2) 核磁気共鳴法 (NMR) にタンパク質の生理的条件下における動的立体構造取得技術の開発

キナーゼ阻害薬は最も成功した分子標的薬であり、低分子医薬としては慢性骨髄性白血

病治療薬グリベック等が知られている。p38 α キナーゼの動的構造解析により、基質に対する選択性を決定するドッキングサイトが、アロステリックにキナーゼ



の活性も制御していることを初めて発見した。(Nature Struct. Mol. Biol. (2014))

(3) X線及び電子線によるタンパク質及びその化合物複合体の精緻立体構造取得技術の開発

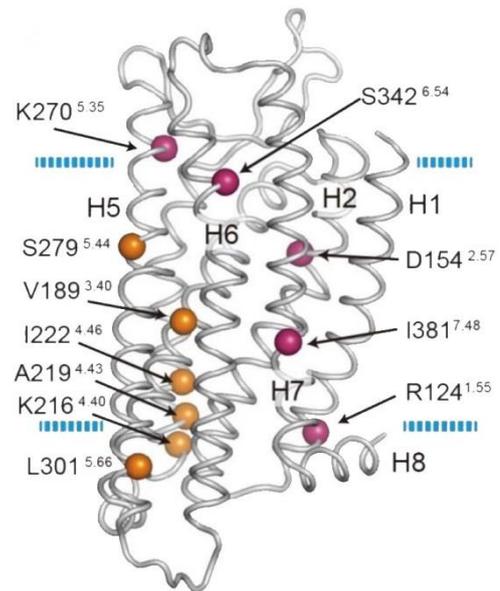
Gタンパク質共役型受容体であり、血圧の制御から癌までにも関わる $ET_B R$ の構造解析を目指して、297の系統的な点変異を導入して、この受容体を熱安定化する11の残基の変異を同定した(右図)。さらに、これらの残基の様々な組み合わせを調べた結果、Y5 $ET_B R$ と名付けた赤球で示す5カ所に変異を導入した受容体では、17°Cの熱安定化が達成されること、しかも、アゴニストである $ET-1$ の結合能と G_q の活性化がほとんどワイルドタイプと同じであることなどを確認して、論文として発表した(JMB, in press (2016))。

水チャネル $AQP4$ とその阻害剤 AZA との複合体の構造を、電子線結晶学を用いて 5\AA 分解能で解析して、論文として発表した(Microscopy, 65, 177-84 (2016))。

無脊椎動物のギャップ結合チャネル、イネキシンの2次元結晶を作製して、電子線結晶学で 10\AA

分解能の構造解析を行って、コネキシンは6量体でヘミチャネルを形成するのに、イネキシンは8量体でヘミチャネルを形成する。しかもプラグ様の密度も観察された。これらの結果を論文として発表した(JMB, 428, 1227-36 (2016))。

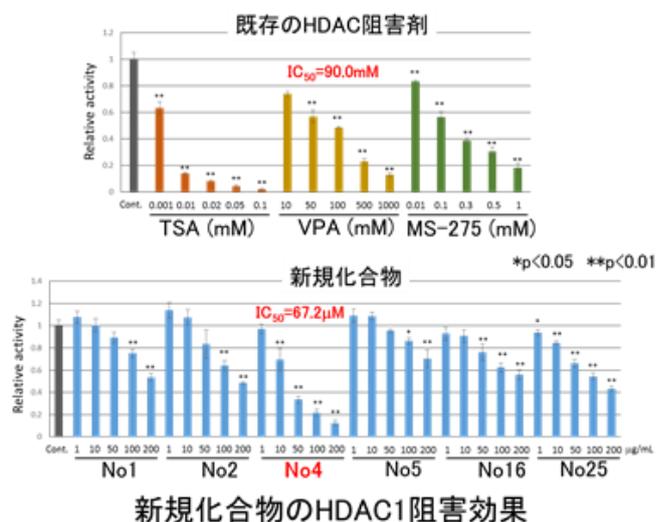
最近、強力な構造解析手法となってきた単粒子解析法に有用な試料作製法である、 $GraDeR$ と名付ける方法を開発した(Structure 23, 1769-75 (2015))。



同定された熱安定化変異部分の $ET_B R$ のホモロジーモデル上での配置。Y5 $ET_B R$ と呼ぶ5つの変異を導入して17°Cの安定化を達成した残基を赤球で示す。

(4) 探索的実証研究/医薬品候補化合物の疾患関連タンパク質を標的とする治療効果の検証系の開発

HDAC1の酵素活性阻害効果を有するバルプロ酸(VPA)は広く精神疾患やてんかん発作の治療に用いられてきた。優れた神経学的効果を有するものの、催奇形性があるため妊娠中は服用をできるだけ避ける必要があるなど、強い副作用が問題となっていた。そこ



で、強力な HDAC1 阻害作用を有するスベロイル アニリドヒドロキサム酸 (SAHA) の分子構造を元にフラグメントの連結などによりその毒性を軽減させた新たな化合物を設計し、「化合物設計・合成評価用ソフトウェア (myPresto)」で評価・合成した結果、48 種の候補化合物のうち 6 化合物に HDAC1 の阻害効果が確認され、うち 1 化合物は既存の精神疾患治療薬の VPA 以上の阻害作用を呈し、VPA より有効性の高い医薬品候補化合物の可能性が示唆された。