

平成28年度医療研究開発推進事業費補助金
(創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業) 補助事業成果報告書

I. 基本情報

事業名：創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業（創薬等支援技術基盤プラットフォーム事業）
Platform Project for Supporting Drug Discovery and Life Science Research
(Platform for Drug discovery, Informatics, and Structural life science)

補助事業課題名：（日本語）「構造生命科学データクラウドの構築運用と高度化」
（構造生物学的立場からのデータベース運用支援と高度化）
（英語） Construction, operation and development of structural life science
data cloud
(Support and development of databases from viewpoints of structural
biologists)

補助事業担当者 （日本語） 東京大学大学院農学生命科学研究科 准教授 永田宏次

所属 役職 氏名：（英語） Koji Nagata, Associate Professor, Graduate School of Agricultural
and Life Sciences, The University of Tokyo

実施期間： 平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

II. 成果の概要（総括研究報告）

①構造生物学研究に対するニーズの掘り出し

生命科学研究に携わる研究者 47 名を訪問し、のべ 110 回のコンサルテーションを行ったのに加え、**PDIS** ブースでの聞き取り調査も行った。農芸化学会や生化学会・分子生物学会のシンポジウムやワークショップでの成果発表と支援活動紹介、**VaProS** 講習会（公的機関の研究者対象回、企業の研究者対象回）など、種々の機会に構造生物学研究に対するニーズの掘り出しを行った。H26 年 3 月の農芸化学会シンポジウムは参加者 100 名であったが、H28 年 3 月の農芸化学会シンポジウムは参加者 200 名と倍増し、生命科学研究者の中で、構造生物学および生命情報科学への関心が高まっている機運を感じた。

②共同研究のコーディネート

コンサルティングを行って自分が共同研究を開始した件数は 20 件であったが、自分が支援できない課題は積極的に PDIS 内の他の研究者を紹介した。それだけでなく、PDIS 支援メニュー100+の冊子を使って、PDIS 事業内で、創薬等に役立つ高度な技術支援プログラムが広く展開されていることを生化学会・分子生物学会等の学会の PDIS ブースや PDIS 公開シンポジウム等で、約 500 人の研究者に告知した。

③創薬等支援技術基盤プラットフォーム外部への情報発信の活性化 (H27 年度より)

PDIS の全機関の支援技術メニュー冊子「PDIS 支援メニュー100+」の編集、PDIS ホームページの刷新とこまめな更新、および PDIS メールマガジンによる情報の提供、定期的な構造生物生命科学ニュースウオッチの配信、さらに PDIS の論文業績のホームページ公開を行い、外部への情報発信を活性化した。それにより外部からのアクセスがより容易となるような双方向の情報の流れを活性化した。他方で、解析・制御拠点の協力を得て、外部研究者向けセミナー（農芸化学会シンポジウム、分子生物学会・日本生化学会合同年会ワークショップ等）も行い、PDIS の情報発信に寄与するだけでなく、外部研究者のニーズを把握した。

④構造生命科学データクラウドの洗練

構造生命科学データクラウドは平成 26 年 3 月に β 版を公開したが、構造生物学者の立場から、この β 版の問題点の指摘と改善案の提案を行い、改良版 (VaProS) の開発に寄与した。その後も継続的に、改善の意見を出して改良に寄与した。同時に、ユーザーの便宜のために、VaProS マニュアル作成を開発者に要請して公開するとともに、自らはユーザーの立場から VaProS チュートリアル作成・公開を行った。また、世界的にニーズがあることが分かっている組換えタンパク質の巻き戻し技術データベース REFOLDdb を構築、公開し、論文発表も行った。

⑤創薬等支援技術基盤プラットフォーム内の情報共有の活性化 (H27 年度より)

PDIS 内部の情報共有を活性化するために、全機関の支援技術メニューを冊子「PDIS 支援メニュー100+」を編集するとともに PDIS ホームページに公開し、PDIS 内の情報共有を活性化した。また、PDIS メールマガジンには研究者のインタビュー記事を掲載し、構造生命科学ニュースウオッチには PDIS の研究成果の論文情報を掲載した。情報拠点の高度化の成果である構造生命科学データクラウド VaProS についての PDIS 内部研究者向け合宿では、解析拠点の研究者と意見交換を行い、VaProS を利用したリソソーム病原因タンパク質や疾患関連オーファン GPCR のデータ解析の成果を論文として発表した。

1. Digging out the needs for structural life sciences

We visited 47 life science researchers and performed consultations 110 times in total. We also performed interviews to life science researchers at PDIS booth. We dugged out the needs for structural life sciences at symposia and workshops at annual meetings of Japan Society for Bioscience, Biotechnology, and Agrochemistry (JSBBA), The Japanese Biochemical Society, and The Molecular Biology Society Japan and at VaProS seminars. The number of participants doubled from 100 persons at the JSBBA symposium in March 2014 to 200 persons at the JSBBA symposium in March 2016, indicating increasing interests in structural biology and bioinformatics among life science researchers.

2. Coordinating collaborations

As a result of consultations, we started collaborations with 20 life science researchers. We also introduced PDIS

researchers and their activities to ca. 500 researchers at PDIS booths at annual meetings of The Japanese Biochemical Society, and The Molecular Biology Society Japan and at PDIS symposiums.

3. Activating public relations to the outside of PDIS (FY 2015 and 2016)

We activated public relations to the outside of PDIS; we edited "The PDIS support menu 100+", renewed and frequently updated the PDIS homepage, issued PDIS e-mail magazine, delivered periodic structural life science news watch, and disclosed the publication list from PDIS researchers, which activated the flow with two-way information. With the cooperation of Analysis and Regulation Cores, we held seminars for external researchers at annual meetings of Japan Society for Bioscience, Biotechnology, and Agrochemistry (JSBBA), The Japanese Biochemical Society, and The Molecular Biology Society Japan to digging out the needs of researchers for structural life sciences.

4. Refining structural life science data cloud

We released beta version of Structural Life Science Data Cloud in March 2014. From the standpoint of a structural biologist, I pointed out the problems of this beta version and proposed an improvement proposal, and contributed to the development of the improved version (VaProS). After that, I continued to contribute to improvement by giving opinions of improvement. At the same time, for the convenience of the users, I requested developers to create VaProS manuals, and we prepared the VaProS tutorial from the users' points of view. In addition, we have constructed and released the recombinant protein refolding technology database REFOLDdb, which is known to have worldwide needs, and also published a paper.

5. Activating information sharing in PDIS (FY 2015 and 2016)

In order to activate information sharing inside the PDIS, we edited "PDIS support menu 100+" and published it on the PDIS homepage to activate information sharing within PDIS. In addition, the PDIS e-mail magazine posted interview articles of researchers, and the information on papers on research results of PDIS was posted on the structural life science news watch. In the camp for PDIS internal researchers on the structural life science data cloud VaProS, we exchanged opinions with the researchers at Analysis Core to analyze the lysosomal pathogenic proteins using VaProS and diseases related to orphan GPCRs. We published the results of the data analyses as two papers.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 0件、国際誌 16件)

1 Nakayama, J., Yokohata, R., Sato, M., Suzuki, T., Matsufuji, T., Nishiguchi, K., Kawai, T., Yamanaka, Y., Nagata, K., Tanokura, M. and Sonomoto, K. Development of a peptide antagonist against fsr quorum sensing of *Enterococcus faecalis*. ACS Chem. Biol. 2013, 8, 804-811.

2 Chiba, Y., Horita, S., Ohtsuka, J., Arai, H., Nagata, K., Igarashi, Y., Tanokura, M. and Ishii, M. Structural units important for activity of a novel-type phosphoserine phosphatase from *Hydrogenobacter thermophilus* TK-6 revealed by crystal structure analysis. J. Biol. Chem. 2013, 288, 11448-11458.

- 3 Qin, H.-M., Yamamura, A., Miyakawa, T., Kataoka, M., Maruoka, S., Ohtsuka, J., Nagata, K., Shimizu, S. and Tanokura, M. Crystal structure of conjugated polyketone reductase (CPRC1) from *Candida parapsilosis* IFO 0708 complexed with NADPH. *Proteins* 2013, 81, 2059-2063.
- 4 Yao, M. D., Ohtsuka, J., Nagata, K., Miyazono, K., Zhi, Y., Ohnishi, Y. and Tanokura, M. Complex structure of the DNA-binding domain of AdpA, the global transcription factor in *Streptomyces griseus*, and a target duplex DNA reveals the structural basis of its tolerant DNA sequence specificity. *J. Biol. Chem.* 2013, 288, 31019-31029.
- 5 Qin, H.-M., Yamamura, A., Miyakawa, T., Kataoka, M., Nagai, T., Kitamura, N., Urano, N., Maruoka, S., Ohtsuka, J., Nagata, K., Shimizu, S. and Tanokura, M. Structure of conjugated polyketone reductase from *Candida parapsilosis* IFO 0708 reveals conformational changes for substrate recognition upon NADPH binding. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2013, 98, 243-249.
- 6 Wang, S., Ogata, M., Horita, S., Ohtsuka, J., Nagata, K. and Tanokura, M. A novel mode of ferric ion-coordination of the periplasmic ferric ion-binding subunit, FbpA, of an ABC-type iron transporter from *Thermus thermophilus* HB8. *Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.* 2013, 70, 196-202.
- 7 Tian, S., Ohtsuka, J., Wang, S., Nagata, K., Tanokura, M., Ohta, A., Horiuchi, H. and Fukuda, R. Human CTP:phosphoethanolamine cytidylyltransferase: Enzymatic properties and unequal catalytic roles of CTP-binding motifs in two cytidylyltransferase domains. *Biochem Biophys Res Commun.* 2014, 499, 26-31.
- 8 Qin, H.-M., Imai, F. L., Miyakawa, T., Kataoka, M., Kitamura, N., Urano, N., Mori, K., Kawabata, H., Okai, M., Ohtsuka, J., Hou, F., Nagata, K., Shimizu, S. and Tanokura, M. L-allo-Threonine aldolase with an H128Y/S292R mutation from *Aeromonas jandaei* DK-39 reveals the structural basis of changes in substrate stereoselectivity. *Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.* 2014, 70, 1695-1703.
- 9 Kawai, T., Katayama, Y., Guo, L., Liu, D., Suzuki, T., Hayakawa, K., Lee, J. M., Nagamine, T., Hull, J. J., Matsumoto, S., Nagasawa, H., Tanokura, M. and Nagata, K. Identification of functionally important residues of the silkworm pheromone biosynthesis-activating neuropeptide receptor, an insect ortholog of the vertebrate neuromedin U receptor. *J. Biol. Chem.* 2014, 289, 19150-19163.
- 10 Horita, S., Kataoka, M., Kitamura, N., Nakagawa, T., Miyakawa, T., Ohtsuka, J., Nagata, K., Shimizu, S. and Tanokura, M. An engineered old yellow enzyme that enables efficient synthesis of (4R,6R)-Actinol in a one-pot reduction system. *ChemBioChem* 2015, 16, 440-445.
- 11 Katayama, Y., Suzuki, T., Ebisawa, T., Ohtsuka, J., Wang, S., Natsume, R., Lo, Y.-H., Senda, S., Nagamine, T., Hull, J. J., Matsumoto, S., Nagasawa, H., Nagata, K. and Tanokura, M. A class-A GPCR solubilized under high hydrostatic pressure retains its ligand binding ability. *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* 2016, 1858, 2145-2151.
- 12 Tsutsui, N., Sakamoto, T., Arisaka, F., Tanokura, M., Nagasawa, H. and Nagata, K. Crystal structure of a crustacean hyperglycemic hormone (CHH) precursor suggests structural variety in the C-terminal regions of CHH superfamily members. *FEBS J.* 2016, 283, 4325-4339.

- 13 Gojobori, T., Ikeo, K., Katayama, Y., Kawabata, T., Kinjo, A. R., Kinoshita, K., Kwon, Y., Migita, O., Mizutani, H., Muraoka, M., Nagata, K., Omori, S., Sugawara, H., Yamada, D. and Yura, K. VaProS: a database-integration approach for protein/genome information retrieval. *J. Struct. Funct. Genomics* 2016, 17, 69-81.
- 14 Nagata, K., Katayama, Y., Sato, T., Kwon, Y. and Kawabata, T. Toward the next step in G protein-coupled receptor research: a knowledge-driven analysis for the next potential targets in drug discovery. *J. Struct. Funct. Genomics* 2017, 17, 111-133.
- 15 Okai, M., Yamamura, A., Hayakawa, K., Tsutsui, S., Miyazono, K., Lee, W. C., Nagata, K., Inoue, Y., Tanokura, M. Insight into the transition between the open and closed conformations of *Thermus thermophilus* carboxypeptidase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2017, 484, 787-793.
- 16 Mizutani, H., Sugawara, H., Buckle, A. M., Sangawa, T., Miyazono, K., Ohtsuka, J., Nagata, K., Shojima, T., Nosaki, S., Xu, Y., Wang, D., Hu, X., Tanokura, M., Yura, K. REFOLDdb: a new and sustainable gateway to experimental protocols for protein refolding. *BMC Struct. Biol.* 2017, 217, 4.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 昆虫細胞膜に発現させたカイコガ性フェロモン生合成活性化神経ペプチド受容体 (PBANR) の界面活性剤による可溶化に対する高圧処理の効果, ポスター, 片山 幸江, 鈴木 達也, 海老沢 樹, 大塚 淳, 夏目 亮, Yu-Hua LO, 千田 俊哉, 永峰 俊弘, J. Joe HULL, 松本 正吾, 長澤 寛道, 永田 宏次, 田之倉 優, 第 15 回日本蛋白質科学会年会, 2015/6/25, 国内.
2. Ligand screening of silkworm pheromone biosynthesis-activating neuropeptide receptor for crystallization of the ligand-receptor complex, ポスター, 片山 幸江, 片山 秀和, 河合 岳志, 鈴木 達也, 海老沢 樹, 夏目 亮, LO Yu-Hua, 千田 俊哉, 永峰 俊弘, 栗原 政明, 李 載みん, HULL J. Joe, 松本 正吾, 長澤 寛道, 永田 宏次, 田之倉 優, 第 53 回日本生物物理学会年会, 2015/9/14, 国内.
3. 独特のアミノ酸配列を有するタイワンカブトムシ由来タンパク質オリクチンのセリンプロテアーゼ阻害機構の解析, ポスター, 永田 宏次, 劉 徳生, 鈴木 達也, 堀田 彰一朗, 片山 幸江, 河合 岳志, 侯 峰, 王 世鵬, 石橋 純, 田之倉 優, 第 38 回日本分子生物学会年会・第 88 回日本生化学会大会合同大会 (BMB2015), 2015/12/2, 国内.
4. 文献情報に基づいた老化関連遺伝子研究の潮流: 過去・現在・未来, ポスター, 権 娟大, 永田 宏次, 宮川 拓也, 由良 敬, 田之倉 優, 第 38 回日本分子生物学会年会・第 88 回日本生化学会大会合同大会 (BMB2015), 2015/12/2, 国内.
5. 蛾の性フェロモン生合成活性化神経ペプチド PBAN の C 末端アミド化の構造と機能への影響, ポスター, 山口 和茂, 片山 幸江, 河合 岳志, Joe Hull, 松本 正吾, 長澤 寛道, 永田 宏次, 田之倉 優, 第 38 回日本分子生物学会年会・第 88 回日本生化学会大会合同大会 (BMB2015), 2015/12/3, 国内.
6. 創薬等支援基盤技術プラットフォームにおけるバイオインフォマティクスの支援と高度化, 口頭, 清水 謙多郎, 永田 宏次, 日本農芸化学会 2016 年度大会, 2016/3/28, 国内.

7. G タンパク質共役受容体とペプチドリガンドの *in vitro/in silico* 相互作用解析, 口頭, 永田 宏次, 日本農芸化学会 2016 年度大会, 2016/3/28, 札幌
8. 文献データマイニングによる老化関連遺伝子の動向の予測, ポスター, 權 娟大, 永田 宏次, 宮川 拓也, 由良 敬, 田之倉 優, 日本薬学会第 136 年会, 2016/3/29, 国内.
9. カイコガのフェロモン生合成活性化神経ペプチド (PBAN) とその受容体 (PBANR) の結合解析および PBANR の結晶化用リガンド探索, ポスター, 片山 幸江, 片山 秀和, 山口 和也, 河合 岳志, 夏目 亮, 千田 俊哉, 永峰 俊弘, HULLJ.Joe, 松本 正吾, 長澤 寛道, 永田 宏次, 田之倉 優, 日本農芸化学会 2016 年度大会, 2016/3/30, 国内.
10. ソテツ由来抗菌ペプチド Cy-AMP1 の X 線結晶構造解析, ポスター, 永田 宏次, 神谷 知貴, 横山 勢也, 南 雄二, 田之倉 優, 日本農芸化学会 2016 年度大会, 2016/3/30, 国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. ユーザー事例紹介－配列類似タンパク質の PDB 登録状況を調べ目的タンパク質の結晶化に役立
てる, 永田 宏次, 第 1 回 VaProS 講習会, 2014/7/11, 国内.
2. ユーザー事例紹介－配列類似タンパク質の PDB 登録状況を調べ目的タンパク質の結晶化に役立
てる, 永田 宏次, 第 2 回 VaProS 講習会, 2015/2/3, 国内.
3. ユーザー事例紹介－配列類似タンパク質の PDB 登録状況を調べ目的タンパク質の結晶化に役立
てる, 永田 宏次, 第 3 回 VaProS 講習会, 2015/10/14, 国内.
4. ユーザー事例紹介－配列類似タンパク質の PDB 登録状況を調べ目的タンパク質の結晶化に役立
てる, 永田 宏次, 第 5 回 VaProS 講習会, 2016/3/29, 国内.
5. ユーザー事例紹介－BRCA1 の既知情報を包括的に調査する, 片山 幸江, 第 6 回 VaProS 講習会,
2016/6/10, 国内.

(4) 特許出願

該当なし