

研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名: バイオ分子間相互作用形態の階層的モデリング

2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名(研究機関名・職名は研究参加期間終了時点):

研究代表者

北尾 彰朗 (東京大学分子細胞生物学研究所 准教授)

主たる共同研究者

高田 彰二 (京都大学大学院理学研究科 准教授)

松林 伸幸 (京都大学化学研究所 准教授)

桑田 一夫 (岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科 教授)

3. 研究実施概要

現在、バイオ分子間相互作用に関する情報は大量に蓄積されつつあるものの、複合体立体構造が決定されているものは、その極一部である。生体内で発揮されている様々な機能を解明し、更に病気の原因を解明し治療のための薬を開発するためには、タンパク質-タンパク質複合体やタンパク質-低分子複合体の立体構造をモデリングで予測し、作用形態を明らかにすることが必要である。これはシミュレーション分野にとっての大きな挑戦である。本研究は、これまでの複合体構造予測の限界を打破し、より高精度な効率的なバイオ分子間相互作用形態モデリングを目指すものである。

本研究では、複合体構造を予測しその作用形態を明らかにするためのモデリングフローを精査し、モデリング全体を、複合体立体構造を予測する前に行う相互作用モデリング準備、複合体立体構造をマルチスケールで予測する複合体立体構造モデリング、得られた立体構造モデルを精密化して実験などとの整合性を検証するモデル精密化と検証の3ステップとした。更にそれぞれの段階で必要なシミュレーションのための粗視化モデル・マルチスケールモデル・各種の予測法・シミュレーション等の開発を、グループあるいはグループ間の共同開発によって推進した。また、実際にモデリングフローを使用してこれを精査し、どのような改良が必要かをチェックし、その結果に基づいて更なる開発を行った。開発した手法を用いた多数の複合体の形成機構・作用機構研究で、多くの成果が得られた。

相互作用モデリング準備では、高田グループによるタンパク質構造予測法と大きな立体構造変化を取り扱える粗視化モデルの開発、北尾グループによる結合部位予測・新規アロステリックサイト予測と立体構造変化を予測するシミュレーション法開発、桑田グループによる相互作用パラメータ決定法の開発がなされ、複合体予測を実行する前に必要な準備計算のツールが出そろった。複合体立体構造モデリングでは、北尾グループの複合体立体構造を予測するドッキング計算によって生成された大量の候補構造を絞り込むクラスタリング法の開発によって、効率的かつ高精度で比較的少数の候補構造を選び出すことができるようになった。松林グループはエネルギー表示法による高速自由エネルギー計算を用いて、分子間相互作用を効率的かつ高精度に評価することを可能にした。松林グループと北尾グループが密接に協力することで、モデリングで生成された複合体の候補立体構造の中から、エネルギーの値によってもっともらしい立体構造を選び出すことができるようになった。モデル精密化と検証では、各グループが必要なシミュレーション法を開発したほか、他のグループとして連携しながら桑田グループが中心となって、チーム全体で取り組むテストシステムとして設定した lysozyme-triNAG 系で計算と実験の比較による検証を行った。

複合体の形成機構・作用機構研究では、開発してきた予測法やシミュレーション法を統合したモデリングフローを用いて、多数の標的タンパク質に対して効果のある低分子化合物を見出し実験で検証したほか、複合体が形成された際の作用機能についても明らかにすることができた。特にチーム全体で取り組むコアターゲットと設定したがん抑制因子 p53 に関しては、桑田グループが効果のある化合物をマウスによる実験で検証し、北尾グループが p53 とタンパク質相互作用をドッキングで予測したほか、高田グループが p53 と DNA との相互作用する形態を粗視化シミュレーションで初めて明らかにした。また、もう一つのコアターゲットであるインフルエンザ

RNA ポリメラーゼに関しては、桑田グループが効果のある化合物を発見し、現在全グループが共同して更に詳しい研究を進めている。

本研究課題の特徴は、マルチスケールモデル・実験検証まで含めたチームが構成されており、シミュレーションだけでなく結合自由エネルギーの精度検証実験や結合実験・生物実験で実証がなされたことにある。チーム内で多数の密接な共同研究がなされ、個々のグループ単独では不可能な研究が実行されたことが特筆できる。成果としては、まずドッキング構造絞り込みや自由エネルギー計算では、大幅に計算量が軽減された点があげられる。研究の出口としては、主に創薬を目指して多数の標的タンパク質で研究を進展させ、また化学シャペロンと動的アロステリック部位を用いる新しい創薬ストラテジーを発見したことは重要な点である。また、これまで難しかったフレキシブルなタンパク質複合体の作用機構の研究が、p53 で初めて具体的に可能になったことも注目すべき成果である。

4. 事後評価結果

4-1. 研究の達成状況及び得られた研究成果(論文・口頭発表等の外部発表、特許の取得状況等を含む)

本研究は、タンパク質-タンパク質、あるいはタンパク質-低分子化合物の立体構造予測、さらにそれら相互の作用形態モデリングを高精度にかつ効率よく行うための一連の手法開発と、その創薬への応用を目指すものである。一連の手法を一通り完成させ、がん抑制因子などをターゲットにして、相互作用の予測とモデルの精度検証及び実験検証までも行ったことは、当初目標を十分達成しており、大いに評価できる。

具体的な研究成果としては、以下のものが挙げられる。

- (1) 複合体構造予測プログラムによって生成したタンパク質-タンパク質複合体、およびタンパク質-低分子化合物複合体の候補立体構造を、全原子モデルを用いた大規模分子シミュレーションとエネルギー表示法による水和自由エネルギー計算を用いて絞り込む手法を開発した。
- (2) 主要ながん抑制遺伝子産物 p53 の 4 量体と DNA2 重鎖との相互作用形態、DNA 探査機構を明らかにした。
- (3) RNA polymerase のサブユニットタンパク質 PA を標的として、既存薬剤の中から、抗インフルエンザウイルス作用を有する物質を in silico スクリーニングにより発見した。

上記のように、分子動力学の、ほぼ限界までつきつめた方法論をつくり上げた。また、医学関係の実験研究者をチームに加えて、創薬に関する新しい試みを行っている。これらは大いに評価できる点であるが、蛋白質の「構造揺らぎ」が本質的となる問題に対して、いわゆる「粗視化モデル」で近似している点は今後改善されるべきであろう。

当初計画では想定されていなかった新たな展開として、二つの新しい創薬ストラテジー(化学シャペロン及び動的アロステリック部位)を提案したことがある。重要な提案であるので、今後、実際の有効性について、さらなる検証・実証が必要と思われる。その他、中間評価での指摘を受けて精度検証とシミュレーション時間の短縮に取り組んだ結果、「京」上で高並列にて作動するようにした。加えて、還元過程を、電子を「溶質」として不均一混合溶媒系での溶媒和と見なし、タンパク質・ミセル・脂質膜への分子結合と統一的な計算手法を確立した。これらは新たな展開と言え、望ましい成果であった。

外部発表に関しては、本 CREST の他のチームと比べても、非常に多くの原著論文発表(国際(欧文)誌 87 件)及び口頭発表(国内会議 76 件、国際会議 38 件)を行い、多くの国際会議において招待講演(国内会議 95 件、国際会議 46 件)を行うとともに、国際シンポジウムを開催し、十分な外部発表である。しかし、口頭発表及びポスター発表(国内会議180 件、国際会議48 件)については、国際的な場での発表が少し少ないようであり、国際的な評価を得るためには、海外での発表を多くすべきである。マスコミ報道(17 件)が多く、大きな賞はないにしても賞の数(13 件)も多い。若手研究者のポスターなどの受賞(8 件)が多く活気が感じられた。

知的財産権の出願および活用に向けた取り組みについては、特許出願は研究戦略によるので一概に評価できないが、創薬に関係しているのだから知的財産権のことに少しは配慮すべきであろう。なお、開発した手法等が公開されるとともに、一部の手法については、民間に技術移転されている点は評価できる。

研究の進め方については、それぞれ異なる4グループの共同研究であったが、お互い連携し合って、所期の目標を達成したと言える。体制、代表者のリーダーシップともに優れていた。特に、モデルの検証グループが加わっていたことは、実験検証を進める上で、非常に良い体制であった。研究費の執行状況では、各グループの研究体制や研究費の配分等についてバランスよく実施されている。

4-2. 研究成果の科学技術や社会へのインパクト、戦略目標への貢献

研究成果の科学的・技術的インパクト、国内外の類似研究と比較したレベルや重要度に関しては、本研究はタンパク質の立体構造予測であり、同様の研究開発は国内外で種々行われており、それらと比較して、特に際立って研究レベルが高いというものではないと思われる。ここで研究され、開発された手法も、独自のものということでは無く改良・発展させたものと言えるので、科学的・技術的インパクトは標準的なものである。

戦略目標に向けての貢献、成果の社会的なインパクトの見通しとしては、本研究の最終目標は創薬への適用である。実際の創薬の現場で使われていくなれば、その社会的インパクトは極めて大きいものがある。ここで開発された自由エネルギー計算手法が、民間企業3社にも技術移転がなされたようであるが、未だ本格的なものとは言えないようである。なお、JST「A-STEP」事業にも採択されていることは評価できる。

今後、研究成果のさらなる展開が期待できるかについては、本手法を継続的に改良し、発展させるならば、実用的という面ではある程度期待できるように思われる。実際の創薬の場で使われるように、継続的に研究開発を進めていくことが望まれる。民間企業が研究レベルでなく、真に製品化を狙った計算まで行うかが鍵となるので、今後の動向が注目される。

その他特記すべき事項としては、民間への技術移転の継続的な実施がある。今後も是非それをお願いしたい。また、この共同研究の成果を論文として積極的に発表することに期待する。

4-3. 総合的評価

研究の成果という点では、所期の目標を達成し、成果は得られたと高く評価出来る。ただし、この分野は世界的にも各所で行われており、それらと比較して、特に独創性とか研究成果のレベルという点で、非常に優位とまでは言えないように思われる。さらに、実際の創薬への適用という点でも、未だ更なる改良と機能・性能の向上が望まれる。但し、このプロジェクトに対して最も大きく評価する点は、創薬の研究において創薬開発に直結する可能性がある具体的な成果(p53、インフルエンザ RNA ポリメラーゼ、化学シャペロン、動的アロステリック等)を出していることであり、これは特筆に値すると考え、高く評価するところである。このプロジェクトは、現実の社会が面しているガンやインフルエンザ等の基本的な病からの解放を目指しているという意味で頼もしい研究である。

研究代表者たちは、現状では応用に専念できるまで科学的な知見と技術が進展していないということから、一方で応用を目指しながら、その応用に専念できるまでの創薬研究の基盤の学術的な進展・開発をしておられる。実用化を念頭にして、無限に組み合わせの可能性がある候補の中から、有用なタンパク質-タンパク質の複合体のドッキングや、タンパク質-リガンド(低分子複合体)を予測するための候補を、計算科学的に絞り込むシナリオを開発するに当たり、各グループでモデリングの階層性の棲み分けをするだけでなく、時には実験グループと共同でそれを実証していくというチーム力の大きさには驚かされた。

この世代の研究者が CREST の枠組みで切磋琢磨し国際的研究成果を挙げたことは、我が国の将来の科学技術の発展に繋がるように思われ、大いに期待が持てる。