

# プロジェクト研究成果報告会

## プログラム・要旨集

2015年11月18日(水)

日本科学未来館 7階

<主 催>

一般社団法人バイオ産業情報化コンソーシアム(JBIC)

次世代天然物化学技術研究組合

【プログラム】

13:00-13:05

開会挨拶

- ◆ 一般社団法人バイオ産業情報化コンソーシアム  
会長 三輪 清志

13:05-13:15

来賓挨拶

- ◆ 経済産業省 商務情報政策局 生物化学産業課  
課長 西村 秀隆 様
- ◆ 国立研究開発法人 日本医療研究開発機構  
執行役 菱山 豊 様

13:15-13:55

**体液中マイクロRNA 測定技術基盤開発**

- ◆ 体液診断によって実現する未来型診断とは：マイクロRNA からエクソソームまで  
国立がん研究センター研究所 分子細胞治療研究分野 落谷 孝広

13:55-15:15

**IT を活用した革新的医薬品創出基盤技術開発  
(次世代天然物化学技術研究組合)**

- ◆ 「核磁気共鳴法によるタンパク質の生理的条件下における動的立体構造取得  
技術開発」の成果  
東京大学大学院薬学系研究科 嶋田 一夫
- ◆ 「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  
技術開発」の成果  
名古屋大学細胞生理学センター 藤吉 好則
- ◆ 「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」の成果  
大阪大学蛋白質研究所 中村 春木
- ◆ 「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」の成果  
山梨大学大学院総合研究部 久保田 健夫

- 15:15-15:55 **次世代型有用天然化合物の生産技術開発  
(次世代天然物化学技術研究組合)**  
◆ 「次世代型有用天然化合物の生産技術開発」の成果  
産業技術総合研究所 創薬基盤研究部門 新家 一男
- 15:55-16:20 休憩  
※ポスターセッション会場(会議室 3)にコーヒーをご用意しております。
- 16:20-17:00 **福島医薬品関連産業支援拠点化事業に係る研究開発業務**  
◆ 福島医薬品関連産業支援拠点化事業の進捗と今後  
福島県立医科大学  
医療-産業トランスレーショナルリサーチセンター 渡辺 慎哉
- 17:00-17:40 **再生医療のための細胞システム制御遺伝子発現リソースの構築**  
◆ 再生医療におけるヒトタンパク質発現リソースの役割  
～細胞システム制御から移植免疫のモニタリングまで～  
産業技術総合研究所 創薬分子プロファイリング研究センター 五島 直樹
- 17:40-18:20 **後天的ゲノム修飾のメカニズムを活用した創薬基盤技術開発  
(エピゲノム技術研究組合)**  
◆ 次世代ゲノム、エピゲノム解析によるがんの統合的理解  
～創薬、診断薬開発に向けた研究開発の成果～  
東京大学先端科学技術研究センター 油谷 浩幸

**ポスターセッション (会議室 3) 11:00～16:20 / 18:30～20:00**

※意見交換会中(18:30～20:00)も会議室 3 にてポスター掲示を行います。

**意見交換会 (会議室 3) 18:30～20:00**



## 目次

|  |    |
|--|----|
| 1. 体液中マイクロ RNA 測定技術基盤開発.....                               | 1  |
| 1-1. 体液診断によって実現する未来型診断とは：マイクロ RNA からエクソソームまで               |    |
| 2. IT を活用した革新的医薬品創出基盤技術開発(次世代天然物化学技術研究組合).....             | 2  |
| 2-1. 「核磁気共鳴法による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開発」の成果            |    |
| 2-2. 「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開発」の成果           |    |
| 2-3. 「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」の成果          |    |
| 2-4. 「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」の成果              |    |
| 3. 次世代型有用天然化合物の生産技術開発(次世代天然物化学技術研究組合).....                 | 6  |
| 3-1. 「次世代型有用天然化合物の生産技術開発」の成果                               |    |
| 4. 福島医薬品関連産業支援拠点化事業に係る研究開発業務.....                          | 7  |
| 4-1. 福島医薬品関連産業支援拠点化事業の進捗と今後                                |    |
| 5. 再生医療のための細胞システム制御遺伝子発現リソースの構築.....                       | 8  |
| 5-1. 再生医療におけるヒトタンパク質発現リソースの役割<br>～細胞システム制御から移植免疫のモニタリングまで～ |    |
| 6. 後天的ゲノム修飾のメカニズムを活用した創薬基盤技術開発(エピゲノム技術研究組合).....           | 9  |
| 6-1. 次世代ゲノム、エピゲノム解析によるがんの統合的理解<br>～創薬、診断薬開発に向けた研究開発の成果～    |    |
| 7. ポスター発表.....   | 10 |
| 7-1. IT を活用した革新的医薬品創出基盤技術開発                                |    |
| 7-2. 福島医薬品関連産業支援拠点化事業に係る研究開発業務                             |    |
| 7-3. 再生医療のための細胞システム制御遺伝子発現リソースの構築                          |    |



## 1. 体液中マイクロ RNA 測定技術基盤開発

### 1-1. 体液診断によって実現する未来型診断とは：マイクロ RNA からエクソソームまで

国立がん研究センター研究所 分子細胞治療研究分野 落谷 孝広

体液中を循環する核酸物質の存在は、DNA の 2 重螺旋構造の発見より以前、1948 年に Mandel and Métais によって報告されていた。それから 67 年を経た現在、我々人類はこの体液中の核酸の一種であるマイクロ RNA をがん等の疾患を発見する新しいバイオマーカーとして開発しようとしている。そもそもこうした体液中のマイクロ RNA 等の情報伝達物質は、エクソソームと呼ばれる直径 100 ナノメートルの細胞外分泌顆粒に運ばれて細胞間のコミュニケーションツールとして利用されている事が近年、次々と明らかになり、がん等の疾患はもちろん、高次脳機能をはじめ様々な生理的機能に重要な機能を果たしている。そればかりか、こうした情報伝達の媒体であるエクソソームは血液中等を循環しており、まさに疾患の多様性の理解と診断の分野において、体液中の分泌型マイクロ RNA は、個別化医療の実現には欠かせないプラットフォームを提供する。がん検診による最大のメリットは、早期発見によりがん死亡率の減少が達成されることであり、その他の恩恵としては、対象となるがんの罹患率の減少、QOL の改善、相対的な医療費の抑制等が挙げられる。その受診率を上げるためには、集団検診等で一回の採血で複数のがんや疾患を検出できる簡便な検査法の開発が求められており、こうしたエクソソームや、それが内包するマイクロ RNA による体液診断は、個別化医療の実現に向けて大きな可能性を拓くものである。

(参考文献)

1. Takahashi RU, Miyazaki H, Takeshita F, Yamamoto Y, Minoura K, Ono M, Kodaira M, Tamura K, Mori M, Ochiya T. (2015) Loss of microRNA-27b contributes to breast cancer stem cell generation by activating ENPP1. *Nat Commun*, 6:7318.
2. Tominaga N, Kosaka N, Ono M, Katsuda T, Yoshioka Y, Tamura K, Lötvall J, Nakagama H, Ochiya T. (2015) Brain metastatic cancer cells release microRNA-181c-containing extracellular vesicles capable of destructing blood-brain barrier. *Nat Commun*, 6:6716
3. Ono M, Kosaka N, Tominaga N, Yoshioka Y, Takeshita F, Takahashi RU, Yoshida M, Tsuda H, Tamura K, Ochiya T. (2014) Exosomes from bone marrow mesenchymal stem cells contain a microRNA that promotes dormancy in metastatic breast cancer cells. *Sci Signal*, 7:ra63 (Ed. Choice)
4. Yoshioka Y, Kosaka N, Konishi Y, Ohta H, Okamoto H, Sonoda H, Nonaka R, Yamamoto H, Ishii H, Mori M, Furuta K, Nakajima T, Hayashi H, Sugisaki H, Higashimoto H, Kato T, Takeshita F, Ochiya T. (2014) Ultra-sensitive liquid biopsy of circulating extracellular vesicles using ExoScreen. *Nat Commun*, 5:3591
5. Kosaka N, Iguchi H, Ochiya T. (2010) Circulating microRNA in body fluid: a new potential biomarker for cancer diagnosis and prognosis. *Cancer Sci*, 101:2087-2092.

## 2. IT を活用した革新的医薬品創出基盤技術開発(次世代天然物化学技術研究組合)

### 2-1. 「核磁気共鳴法による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開発」の成果

東京大学大学院薬学系研究科 嶋田 一夫

細胞外からの刺激は、細胞膜に存在する G タンパク質共役受容体(GPCR)などの膜タンパク質で受けとめられ、その結果、細胞内のシグナル伝達経路が活性化するなど、さまざまな細胞応答が誘起される。このような膜タンパク質の機能と構造を理解することは、生命現象を理解する上で不可欠だけでなく、膜タンパク質が市販薬剤のターゲット(作用点)のほぼ 50%を占めていることを考えると、創薬開発においても重要な課題である。

近年の我々の核磁気共鳴(NMR)法を用いた研究により、膜タンパク質は動的に複数の立体構造間を遷移している構造平衡にあること、また、その構造平衡が膜タンパク質の生理活性を支配していることが明らかになった。例えば、GPCR の一種である  $\beta_2$ AR は、不活性化状態と活性化状態の間の構造平衡にあり、活性化状態の割合に応じてシグナル伝達の強さが決定される。一方で、これまでの解析は、界面活性剤で可溶化した試料を用いておこなわれたものであり、生理的条件下である脂質二重膜中での解析は、NMR 法の測定感度の問題から困難であった。

そこで、我々は、GPCRなどの創薬標的タンパク質の発現に必要な、昆虫細胞発現系を用いた、新規安定同位体標識法を開発し、NMR 測定感度を向上させることで、生理的環境である脂質二重膜中における  $\beta_2$ AR の動的立体構造情報の取得を目指した。

これまでに、標的タンパク質の重水素標識は、NMR 測定感度の向上に有効であることがわかっていたが、昆虫細胞は重水では生育しないことから、適用は困難であった。そこで、我々は、昆虫細胞発現系において、重水素標識アミノ酸を適切な量とタイミングで添加することで、標的タンパク質を高度に重水素標識する方法を、新規に開発した。この方法を用いることで、 $\beta_2$ AR のメチオニンメチル基に由来する NMR シグナルの感度を、従来法と比較して 5 倍程度向上させることに成功した。これにより、再構成高密度リポタンパク質(rHDL)の脂質二重膜に再構成した  $\beta_2$ AR についても動的立体構造情報を取得できるようになった。

続いて、rHDL の脂質二重膜中の  $\beta_2$ AR と、界面活性剤ドデシルマルトシドで可溶化した  $\beta_2$ AR の動的構造の比較をおこなった。その結果、いずれも活性化状態と不活性化状態の構造平衡にあるものの、脂質二重膜中と界面活性剤中で両状態間の交換速度が異なること、脂質二重膜中の方が活性化状態の割合が多いことがわかった。得られた情報を用いて、様々な薬剤が結合した状態のシグナル伝達活性をシミュレーションしたところ、脂質二重膜中の情報を用いた方が、実際のシグナル伝達活性の大きさをより正確に予測できることがわかった。このことは、創薬開発研究において、生理的環境である脂質二重膜における動的構造情報を取得することの重要性を示している。



## 2. IT を活用した革新的医薬品創出基盤技術開発(次世代天然物化学技術研究組合)

### 2-2. 「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開発」の成果

名古屋大学細胞生理学研究センター 藤吉 好則

「ITを活用した革新的医薬品創出基盤技術開発」を目指して研究を進めているが、「X線及び電子線による蛋白質およびその化合物複合体の精緻立体構造取得技術開発」の成果について報告する。i) 構造不安定かつ高分子量タンパク質の構造解析に向け構造を安定化する技術の開発、ii) 生理的条件下における精緻な立体構造を取得する技術の開発、iii) 既知の立体構造情報に基づいて、立体構造を効率よく解析する技術の開発、iv) タンパク質/化合物複合体の立体構造を解析する技術の開発という4課題を総合的に進め、開発した基盤技術を企業などに活用してもらえるようにプロトコルを作成するプロジェクトを進めている。この中で、iii)の課題の成果といえるイネキシンについて報告し、次いで ii)の課題の重要性について報告すると共に、新しい創薬戦略として「Drug Rescuing」と命名して研究を進めている具体例に簡単に触れて、iv)の課題の成果といえるタイト結合の構造とその制御について報告する。

ギャップ結合は多細胞生物において極めて重要な役割を担っている。例えば、心臓の発達や生殖、免疫系、そして電気シナプスなどの重要な機能を担っており、様々な病気とも関わっている。また、興味深いことに、脊椎動物と無脊椎動物ではギャップ結合を構成する分子間では、アミノ酸配列の相同性がない。しかし、同じギャップ結合を形成するので、iii)の既知の構造情報に基づいて高効率に構造解析を行う方法を開発することで、ii)の生理的な条件での構造解析技術の開発の例としても研究を進めた。具体的には、connexin の構造解析法を参考にして、innexin の構造解析を進めている。その結果、gating 機構に重要と思われる plug 構造が両方で共通の構成要素として確認された。しかし、connexin は6量体でヘミチャネルを形成するが、innexin は8量体でヘミチャネルを形成することが明らかになった。さて、創薬の過程で、多くの候補化合物が副作用などのために捨て去られている。また、大きな市場もあり、社会的要請もある標的分子までも創薬標的としての開発をあきらめなければならぬ事例が多く存在している。これらを救済する強力な創薬戦略の出現が望まれている。それゆえ、IT創薬基盤技術として Drug Rescuing と名付ける新しい創薬戦略を創出する努力を開始している。ii)の課題も解決できる電子線結晶学の優位性にも触れながら、Drug Rescuing の可能性を議論する。この例では、脳浮腫や、視神経脊髄炎の治療薬開発の可能性を報告するが、脳の中へのドラッグデリバリーシステム(DDS)の開発も重要な研究課題である。そのためには、血液脳関門を形成しているタイト結合の制御が必要である。タイト結合を形成している中心分子はクローディンであり、月田氏らにより1998年に発見されてから15年以上を経てもその立体構造情報は皆無であった。そこで、クローディン15の構造を解析することにより、はじめて、タイト結合の構造情報を得ることができるようになった。さらに、ウェルシュ菌のC末端ドメインにより、クローディン19が形成するタイト結合が崩壊されることを確認したので、この毒素のC末端ドメインとクローディン19の複合体の構造を解析した。これらの解析から、タイト結合を制御する上で重要な構造情報を得ることができた。DDSをも目指したこれらの研究の進捗をできる限り具体的に報告する。

## 2. IT を活用した革新的医薬品創出基盤技術開発(次世代天然物化学技術研究組合)

### 2-3. 「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」の成果

大阪大学蛋白質研究所 中村 春木

天然化合物を含む入手可能な化合物のデータベースを構築するとともに、コンピュータによってタンパク質受容体の動的な活性部位構造に対して上記データベースに基づいて、活性化化合物候補を選び出す「*in-silico* シミュレーション/スクリーニングソフトウェア」技術開発を実施した。さらに、探索的実証研究グループと協力し、具体的な標的タンパク質に対する全く新規なヒット化合物が得られた。さらに、開発されたソフトウェアを利用したビジネスモデルを立案し、複数の企業による活用が始まっている。これらの研究開発状況を紹介する。

まず、スクリーニング用に入手可能な化合物データベース(DB)の新規構築を目的として、市販化合物等約 4200 万件の化合物情報を収集し、水素の付加や3次元座標の生成を行い、LigandBOX-DB<sup>1)</sup>として720万件を公開した。また、ChEMBLの公開情報から127種類のキナーゼに対するアッセイデータを収集し結合自由エネルギー値に換算して、キナーゼ活性DBを作成した。一方、低分子化合物の設計手法の開発のため、分子フラグメントをDB化するプログラムを開発し、32時間に間に880万フラグメントを生成した。このDBを利用し、3種の入力母核分子から約3000種類の新規分子を10分~1時間で計算機中に生成した。さらに合成容易性予測ソフトウェアを開発<sup>2)</sup>して評価を行うとともに、探索的実証研究のグループによる神経変性疾患及びエピゲノム関連酵素に対する分子設計に利用して全く新規な化合物の合成に成功し、複数の異なるヒット化合物が見出された。

タンパク質の動的構造変化を考慮した、高速・高精度のタンパク質/リガンド複合体、及びタンパク質/タンパク質複合体モデリング手法の新規開発のため、分子動力学(MD)計算においてコストがかかる静電相互作用を高速に行うZD法<sup>3)</sup>と空間分割による並列化手法をともに組み込んだmyPresto/psygeneをV-McMD法と融合させ、タンパク質がホモ二量体を形成する様子を、自由エネルギー地形から観測できた<sup>4)</sup>。一方、参画製薬企業とNMRグループとの協力によって自由度の高いタンパク質複合体に対する種々のモデリングを実施した<sup>5)</sup>。また、このMD計算プログラムをGPU専用ソフト(myPresto/psygene-G)<sup>6)</sup>として適用を広げる一方、タンパク質-薬物ドッキングソフトmyPresto/sievgeneに対してメニューコアPCを用いて20-70倍の高速化が得られた。さらに、天然化合物を含む中分子のように柔軟で構造多型のあるリガンド分子に対して、タンパク質受容体との結合・解離が高速に観測できる計算アルゴリズムV-AUS法を開発し、ペプチドの複合体形成に応用した<sup>7)</sup>。一方、古典力場では構造が正しく計算できない含金属タンパク質に対し孤立電子対を扱える力場を導入して対応した。以上開発されたmyPrestoプログラムでMDやドッキング計算などがグラフィック画面上での入出力(GUI)で実施できるソフトウェア(MolDesk)を開発し、今後のビジネス展開を企業とともに立案し活用を始めている。

【参考文献】 1) Kawabata *et al.* (2013) *Biophysics* **9**, 113-121. 2) Fukunishi *et al.* (2014) *J. Chem. Inf. Model.* **54**, 3259-3267. 3) Fukuda *et al.* (2014) *J. Chem. Phys.* **140**, 194307. 4) Higo *et al.* (2013) *J. Chem. Phys.* **138**, 184106. 5) Shirai *et al.* (2014) *Proteins* **82**, 1624-1635. 6) Mashimo *et al.* (2013) *J. Chem. Theory Comput.* **9**, 5599-5069. 7) Higo *et al.* (2015) *J. Comput. Chem.* **36**, 1489-1501.

## 2. IT を活用した革新的医薬品創出基盤技術開発(次世代天然物化学技術研究組合)

### 2-4. 「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」の成果

山梨大学大学院総合研究部 久保田 健夫

疾患の発症には環境要因と遺伝要因の両者が関わっていることが知られている。例えば、糖尿病遺伝子多型の親からの遺伝要因と欧米型の食習慣という環境要因が相まって糖尿病が発症するといった考え方である。これとは別に、最近、環境要因が遺伝要因を変化させて疾患の発症させるメカニズムが提唱されるようになった。暴飲暴食による高血糖状態が持続すると全身のあちこちの細胞で遺伝子環境(DNA やヒストンタンパク質の化学修飾)を変化して、その発現機能変化を惹起して糖尿病が発症する、という考え方である。このような環境で変化する遺伝子修飾をエピゲノムとよび、遺伝子の長期的機能変化のメカニズムと考えられている。したがって、このエピゲノムは、近年の生活環境変化で世界的に患者が急増している疾患群(糖尿病や精神疾患)の発症メカニズムとしても注目されるようになってきた。

一方、今日の薬剤開発は、膨大な種類の化合物の中から生物学実験で効果を検証し、医薬品候補化合物をスクリーニングする方法が土台となっており、莫大なコストを要している。そこで本事業では低コストでのスクリーニングを実現させるため、コンピューターシミュレーションで疾患関連タンパク質を標的とし、これに作用し、かつ合成可能な化合物の設計を行うためのソフトウェア(myPresto)の開発を進めてきた。

以上をふまえ、本研究開発課題ではソフトウェアの設計化合物の医学的有用性を検証するための生物学的アッセイ系を構築し、設計された化合物の検証を行った。

その結果、(1)細胞内のエピゲノムタンパク質と阻害化合物の結合検証系(具体的には、脂質蓄積遺伝子の活性化タンパク質 BRD4 の脂肪細胞内の阻害化合物の結合効果の検証系)、(2)医薬品候補化合物のエピゲノムタンパク質への結合を介した病態関連遺伝子の転写調節の検証系(具体的には、脱アセチル化酵素(HDAC)への結合を介した精神疾患で低下している脳機能遺伝子の転写回復効果の検証系)、(3)医薬品候補化合物の治療効果の持続性の検証系(具体的には、上記BRD4 タンパク質を介した血球細胞内の糖尿病重症化遺伝子の過剰発現の長期抑制効果の検証系)を開発した。また iPS 細胞技術を用いて、エピゲノムタンパク質異常を有する小児精神疾患患者から、医薬品候補化合物の効果判定のための比較検証のための「疾患モデル神経細胞」と「正常対照神経細胞」を作製した(*Mol Brain* 2015)。

さらに、既存の HDAC 阻害化合物を基に myPresto で設計した 48 種の化合物について検討した結果、その中に、既存の精神疾患治療薬であるバルプロ酸ナトリウム異常の阻害効果や、広範な HDAC タンパク質に作用する化合物など、医学的有用性が期待できる化合物が複数見出された。

今後は、開発した生物学的アッセイ系を用いて、myPresto で設計した化合物の疾患治療に関するさらなる知見を獲得していくとともに、次世代シーケンサーにより myPresto 設計化合物によって発現回復する遺伝子群を同定し、これらがコードするタンパク質を標的とする阻害化合物の探索を行う「myPresto を軸にした化合物と疾患標的タンパク質の同定サイクル」を回していきたいと考えている。

### 3. 次世代型有用天然化合物の生産技術開発(次世代天然物化学技術研究組合)

#### 3-1. 「次世代型有用天然化合物の生産技術開発」の成果

産業技術総合研究所 創薬基盤研究部門 新家 一男

天然化合物は人智の及ばない構造を有し、また強力な生物活性を示すことから、1928年のAlexander Flemingのペニシリン発見以来80年以上にわたり医薬品開発の優れたソースとして用いられてきた。しかしながら、これまで精力的に天然物創薬が行われてきた結果、既にやり尽くされた感は否めず、これまでの微生物を分離し、発酵培養し微生物二次代謝産物を生産させるという、従来の手法では新たな骨格を持った化合物の発見は年々困難になってきている。また、構造の複雑さ等から誘導体展開などが困難であること、また多くのコスト及びマンパワーが要求されるため、わが国での天然物創薬は衰退の一途を辿っている。一方で、ゲノム解析技術の進歩により、これまで人類が利用出来なかった有用化合物生合成遺伝子が微生物中には多く存在することが明らかになってきており、これらの未利用生合成遺伝子を応用した化合物生産が期待されるようになってきている。

本事業開発では、我々が確立して来た、世界最高水準の生合成遺伝子クラスター取得技術、および異種発現ホストによる生合成遺伝子を応用した化合物生産技術の、より高度化・高品質化、および多様化の展開を行うことによって、微生物の持つ莫大な潜在能力を引き出し、これまで人類が手がすることが困難あるいは不可能であった化合物を生産する技術、および化学修飾が困難な微生物二次代謝産物の微生物修飾酵素等を応用した微生物内誘導体展開を可能にする技術の開発を行っている。

本技術の開発により、サンプルの確保が困難であるという理由から、これまで臨床開発等が遂行できなかった天然化合物を安定かつ大量に生産出来ることが期待されると共に、従来の有機合成とは異なる、合成生物学手法による化合物修飾を行うツールが産業的にも応用可能になる。

以上の目的を達成するため、本事業では、以下に示す技術の開発を進めている。

1. 有用生合成遺伝子取得のための巨大ゲノムライブラリー調製技術の開発
2. 巨大ゲノムライブラリーの導入を行うための、形質転換法およびホスト微生物の開発
3. 複雑な微生物二次代謝産物の誘導体展開を可能にする技術開発
4. 未利用生合成遺伝子および難培養微生物由来の生合成遺伝子を用いた異種発現生産技術の開発
5. 微生物二次代謝産物生産メカニズム解明とゲノム改変による異種発現生産誘導技術の開発

今回の発表では、研究プロジェクトの概要および最近の成果について紹介する。200 kbpを超える巨大なゲノムの調製法の開発とBACを用いたゲノムライブラリーのクローニング、大村先生のノーベル賞につながったエバーメクチン生産菌由来の異種発現ホスト(SUKA株)をはじめとする、種々の異種発現用ホスト利用による効率的な異種発現、未利用生合成遺伝子を異種発現させる事による新規薬理活性物質の生産、難培養微生物由来の生合成遺伝子の取得とその異種発現などについて紹介する。

## 4. 福島医薬品関連産業支援拠点化事業に係る研究開発業務

### 4-1. 福島医薬品関連産業支援拠点化事業の進捗と今後

福島県立医科大学 医療-産業トランスレーショナルリサーチセンター 渡辺 慎哉

本事業は福島復興事業の一環として、経済産業省の平成23年度補正予算を原資とする福島県の復興基金を基に、県からの補助金による福島県立医科大学の事業として平成24年度から実施されているプロジェクトであり、平成19～23年度 NEDO プロジェクト「遺伝子発現解析技術を活用した個別がん医療の実現と抗がん剤開発の加速」の実質的後継プロジェクトであると共に、これまで実施された多数のバイオ関連 NEDO プロジェクトの集大成とも言えるプロジェクトである。

本事業では、福島県立医科大学等で取得される各種臨床サンプルから担がん動物や不死化細胞等を作製するだけでなく、遺伝子発現プロファイル等を用いてサンプル間の相違を横並びで解析・評価していることが特徴であり、これに診療情報等を付加したプロジェクト成果や、世界中から市販サンプルを購入して評価したデータをも活用して、検査・診断薬及び医薬品等の開発を多面的に支援することで、医薬品開発等の新規産業の創出、企業の誘致及び雇用の創出を促進し、福島の復興に貢献することを目的としている。

JBIC は平成24年10月に福島県立医科大学より公募された本事業の「研究開発業務公募型プロポーザル」にコンソーシアムとして提案・応募し、平成28年3月までの期間における本事業の研究開発業務の一部と、成果活用・創薬等支援及び総合調査に関する業務を受託している。

本発表では、本事業の最新のトピックスである「タンパク質マイクロアレイによるサンプル横断的大規模解析」および今後の展望について概説する。

## 5. 再生医療のための細胞システム制御遺伝子発現リソースの構築

### 5-1. 再生医療におけるヒトタンパク質発現リソースの役割

#### ～細胞システム制御から移植免疫のモニタリングまで～

産業技術総合研究所 創薬分子プロファイリング研究センター 五島 直樹

産総研とJBICは、経産省のヒト完全長 cDNA プロジェクト(PJ)を基盤として、2000年からNEDO タンパク質機能解析 PJ において、ヒトタンパク質の機能解析、タンパク質相互作用解析等を大規模に行うための技術基盤の整備を行い、ヒト全遺伝子の約 80%をカバーする世界最大のヒト遺伝子発現リソース(HUPEX)及びデータベース(HGPD)を構築した。HUPEX は国家 PJ、企業や大学との様々な共同研究において活用され、数多くの成果を生んでいる。その代表例が京大 CiRA の山中伸弥所長との共同研究における、新しい iPS 細胞誘導促進遺伝子 Glis1 の発見であり、同じ再生医療研究分野では、岐阜大・國貞隆弘教授や慶應大・家田真樹特任講師との共同研究において、歯髄細胞からの iPS 細胞の誘導や心筋ダイレクトプログラミングの効率を上昇させる新規因子の発見等の成果も得られている。

再生医療の実現において iPS 細胞の誘導、iPS 細胞からの分化誘導、体細胞のダイレクトプログラミングなどの遺伝子導入による細胞システム制御技術は極めて重要である。移植に用いられる分化誘導細胞は、安全性や作製効率だけでなく移植先での生着率なども考慮したピンポイントの細胞システム制御が必要となり、導入する遺伝子の種類と組み合わせが鍵となる。目的の細胞システム制御を可能とする遺伝子(細胞システム制御遺伝子)をスクリーニングによって取得する場合やそのメカニズム解析には、遺伝子を優れたリソースからピックアップし、自在に発現できることが研究のボトルネック解消のために求められる。

我々は、平成 27 年 7 月より開始した AMED 再生医療実現拠点ネットワークプログラムでの事業において、安全な再生医療の実現に貢献するリソースの構築を目的に、HUPEX 内の細胞システム制御遺伝子の拡充を開始した。細胞の初期化や分化などに関与する遺伝子の情報から、統計学的解析を用いて研究利用への優先順位の高い細胞システム制御遺伝子を選出し、新規クローンの取得を進めている。また、得られたクローンや、候補遺伝子の選択情報の再生医療研究機関への提供も実施している。

本発表では、この 2 年間に取得した 1800 クローンを追加して進化を続けている細胞システム制御遺伝子リソースの内訳を紹介すると共に、再生医療研究分野でのクローン活用を促進するために再構築した HGPD の掲載情報・利用方法を紹介する。

また、我々は構築したリソースの活用として、再生医療の安全性を評価するプロテオミクス解析にも取り組んでいる。リソースクローンから約 2 万種類のヒトタンパク質をハイスループットに合成し、これらのタンパク質を高密度に基板上に搭載するアレイ化技術を開発し、我々独自のプロテインアレイシステムを構築している。本アレイの細胞移植における免疫プロファイリングや細胞の品質評価等への応用についても紹介する。

## 6. 後天的ゲノム修飾のメカニズムを活用した創薬基盤技術開発 (エピゲノム技術研究組合)

### 6-1. 次世代ゲノム・エピゲノム解析によるがんの統合的理解

#### ～創薬、診断薬開発に向けた研究開発の成果～

東京大学先端科学技術研究センター 油谷 浩幸

「後天的ゲノム修飾のメカニズムを活用した創薬基盤技術開発」プロジェクトは、エピゲノムという「ゲノムに加えられた後天的な化学修飾」の解析や制御を通して、がんの統合的理解と新たな創薬・診断薬分野を開拓することを目指している。

体細胞において新たなゲノム変異が蓄積することが細胞がん化の引き金になるが、近年の大規模ながんゲノム解析により多種類のがんそれぞれにおいて引き金となる変異の概容が明らかにされつつある。これらの解析において同定された新たな変異遺伝子には EZH2、TET や IDH 等のエピゲノム修飾に関わる酵素群やクロマチン変換に関わる SWI/SNF 複合体の構成分子が多く認められ、がん化メカニズムへのエピジェネティクスの関与に関して新たな視点を与えたと言っても過言ではない。既に DNA メチル化、ヒストンアセチル化については DNA メチル化阻害剤、ヒストン脱アセチル化阻害剤が抗腫瘍薬として開発されてきた一方、近年のエピゲノム解析技術の進歩により、多様なエピゲノム修飾が存在することが解明されつつある。例えば、DNA 脱メチル化におけるヒドロキシメチルシトシンの生成機構をはじめとして、ヒストンや DNA の脱メチル化機構について明らかにされたのはまさにこの数年間のことである。そこで疾患を特徴付けるようなエピゲノム修飾を同定し、制御する治療法は新たな創薬分野となり、エピジェネティクス研究はまさに疾患研究の中核になりつつある。

本プロジェクトでは、産官学のリソースを集中研に結集しエピゲノム修飾解析技術開発と並行しながら、がんを標的としてエピゲノム修飾と疾患とを関連づける基盤技術開発および、エピゲノム修飾阻害剤スクリーニング等の実証的探索研究を実施してきた。エピゲノム修飾解析技術開発に関しては、高感度質量分析装置等の最新技術を駆使し、エピゲノム制御に関わるヒストン修飾等についての高感度かつ網羅的な解析技術の開発し、数十種類のヒストン修飾組み合わせパターン検出を可能とした。DNA 脱メチル化に関わるヒドロキシメチルシトシンの局在解析系の確立、クロマチン免疫沈降シーケンシング (ChIP-seq) 解析の高感度化を達成し、修飾ヒストンに対する特異性の高いモノクローナル抗体パネルの作成を推進した。エピゲノム修飾と疾患とを関連づける基盤技術開発に関しては、ヒト研究試料としてアーカイブを用いたヒト組織アレイによる迅速解析手法の構築、創薬研究に繰り返し利用可能な腫瘍組織からの direct xenograft の系統的樹立を進めた。最新の次世代シーケンサーやマイクロアレイによる分析から得られたエピゲノム情報に基づき、癌メチル化診断マーカー、腫瘍組織で発現増加し、細胞増殖を亢進させる ncRNA を同定した。エピゲノム修飾阻害剤スクリーニングに関しては、従来型のハイスループットスクリーニングに加えて in silico 手法による阻害化合物スクリーンやデザイン、結合ペプチドスクリーニングを実施し、複数のヒット化合物を得ている。

今回の発表では、本研究プロジェクトの成果について紹介するとともに、最先端のゲノムやエピゲノム解析によるがんの統合的理解に言及し、個々のがんの発症機序を理解した最適な治療 (プレジジョン・メディシン) について展望する。

## 7. ポスター発表

### 7-1. IT を活用した革新的医薬品創出基盤技術開発 8 件

1) 新規分子生成プログラムの開発

○金井千里／吉川達也 株式会社京都コンステラ・テクノロジーズ

2) myPresto を活用した GPCR の複合状態解析

○上田寛 1／和田光人 2

1. 東レ株式会社
2. 富士通株式会社

3) p38 $\alpha$  とドッキングペプチドの相互作用を例とした交換系における禁制コヒーレンス遷移(FCT)解析

○水越弓子 1／竹内恒 2／阿留多伎美沙 1／徳永裕二 1／滝沢剛 3／半沢宏之 3／嶋田一夫 4

1. 一般社団法人バイオ産業情報化コンソーシアム
2. 産業技術総合研究所 創薬分子プロファイリング研究センター
3. 第一三共 RD ノバーレ株式会社
4. 東京大学大学院薬学系研究科

4) タンパク質結合状態における低分子化合物の動的構造解析手法の開発

○徳永裕二 1／竹内恒 2／滝沢剛 3／半沢宏之 3／嶋田一夫 4

1. 一般社団法人バイオ産業情報化コンソーシアム
2. 産業技術総合研究所 創薬分子プロファイリング研究センター
3. 第一三共 RD ノバーレ株式会社
4. 東京大学大学院薬学系研究科

5) インシリコ創薬パッケージソフトウェア MolDesk

○真下忠彰 株式会社情報数理バイオ

6) 創薬研究用ワークステーション MolSpace

○池田和由 株式会社レベルファイブ

7) myPresto 用インターフェースソフトウェア MF myPresto

○棚橋航 株式会社フィアラックス

8) クラウドを用いた創薬支援システム MolGate

○宮木俊明 1／若林良徳 2

1. ディスカヴァリソース株式会社
2. BY-HEX



## 7-2. 福島医薬品関連産業支援拠点化事業に係る研究開発業務 5件

- 1) 福島医薬品関連産業支援拠点化事業  
福島県立医科大学 医療-産業トランスレーショナルリサーチセンター紹介  
センター長:和栗聡
- 2) 福島医薬品関連産業支援拠点化事業  
プロテオーム解析分野紹介  
研究責任者:家村俊一郎
- 3) 福島医薬品関連産業支援拠点化事業  
ケミカルバイオロジー分野紹介  
研究責任者:高木基樹
- 4) 福島医薬品関連産業支援拠点化事業  
トランスクリプトーム分野紹介  
研究責任者:五島直樹
- 5) 福島医薬品関連産業支援拠点化事業  
遺伝子機能解析分野紹介  
研究責任者:仙波憲太郎

## 7-3. 再生医療のための細胞システム制御遺伝子発現リソースの構築 1件

- 1) 再生医療のための細胞システム制御遺伝子発現リソースの構築  
○高坂美恵子 1/東久美子 1/久保葉子 1/福田枝里子 2/鍵和田晴美 2/ 杉田奈巳 1/  
五島直樹 2  
1. 一般社団法人バイオ産業情報化コンソーシアム  
2. 産業技術総合研究所 創薬分子プロファイリング研究センター

◆◇◆お問い合わせ◆◇◆

成果報告会事務局 (JBIC 内)

〒135-8073 東京都江東区青海 2-4-32 TIME24 ビル 10 階

TEL: 03-5531-8553

FAX: 03-5531-1560

E-mail: [jbic2015@jbic.or.jp](mailto:jbic2015@jbic.or.jp)