構造解析ユニット

補助事業代表者（所属・職名）
澤崎　達也（愛媛大学プロテオサイエンスセンター・教授）

FTP

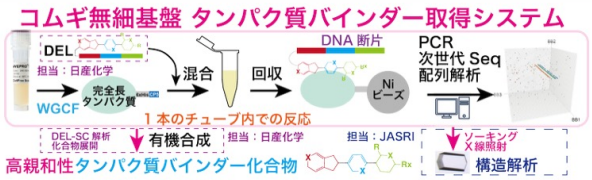
無細胞基盤DELスクリーニングと構造解析による産学連携高度化研究

補助事業分担者（所属・職名）
寺脇　慎一（愛媛大学プロテオサイエンスセンター・特定講師）、坂井　直樹（高輝度光科学研究センター回折・散乱推進室・主幹研究員）、川津　猛　（日産化学・主任研究員）、　林田　潤（日産化学・主任研究員）

Fast Track Project　背景・目的

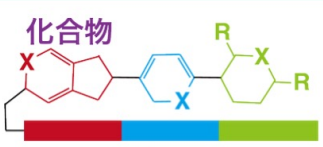
PROTACは、従来の低分子創薬では標的化が困難であった“undruggable”タンパク質を選択的に分解できる新たな創薬モダリティとして期待されている。一方、その開発には、標的タンパク質に結合する高品質なバインダーの効率的取得と、結合様式を踏まえた構造情報に基づく最適化が重要である。本FTPでは、**愛媛大学**が有するコムギ無細胞系による完全長タンパク質調製、**日産化学**が保有する**大規模DNA-encoded chemical library（DEL）ライブラリー**、**JASRI** (SPring-8)のX線結晶構造解析技術を融合し、標的バインダー探索から構造解析、PROTAC化、細胞内評価までを一体化した新たな創薬プラットフォームの構築を目指した。

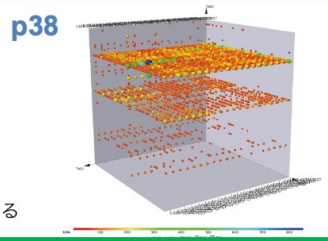
Fast Track Project　連携体制



Fast Track Projectの成果

コムギ無細胞タンパク質合成系を基盤に、日産化学株式会社が保有するDNA-encoded chemical library（DEL）と、高輝度光科学研究センター（JASRI）の高スループットX線結晶構造解析技術を融合し、標的バインダー探索から構造解析、PROTAC開発へつなげる創薬基盤の構築を進めた。まずp38αをモデルタンパク質としてDELスクリーニングおよび個別解析を行い、**3種類のp38αバインダーの取得に成功**した。取得した候補化合物については、日産化学において結晶構造解析に必要な量の有機合成を実施した。さらに、p38αの大量発現・精製系を構築し、精製試料の熱安定性を評価した結果、単一ピークを示し、結晶化試料として利用可能であることを確認した。結晶化条件については、複数のタンパク質濃度、結晶化試薬、混合比を組み合わせた大規模スクリーニングを実施し、複数の結晶化条件を見いだした。得られた結晶についてSPring-8で回折実験を行い、化合物複合体の高分解能構造解析に向けて条件最適化を進めた。これらの検討を通じて、**DELヒット取得後の再合成、標的タンパク質調製、結晶化、回折評価までを連続的に実施できる実務的な研究フローを確立**した。さらに、大学・企業・大型放射光施設がそれぞれの技術を連携することで、単独機関では実現困難な産学連携型の創薬研究体制を構築した。以上により、DELによる標的バインダー探索とX線構造解析を連結し、将来的なPROTAC化へ展開可能な創薬パイプラインの基盤を構築した。





今後の課題

日産化学のDEL事業撤退に伴い、同社DELを基盤とした継続展開が困難となった。今後は、**新たなDEL保有企業・研究グループとの連携体制を構築**し、本プロジェクトで確立した無細胞基盤DELスクリーニング技術の発展を目指す。

クリミア・コンゴ出血熱ウイルスをモデルとした一種病原体ウイルス感染症に対するPROTAC開発プラットフォームの構築

補助事業分担者（所属・職名）
岩渕 好治（東北大学大学院薬学研究科 ・教授）、高橋　宏隆（愛媛大学プロテオサイエンスセンター・准教授）、富井　健太郎（産業技術総合研究所人工知能研究センター・上級主任研究員）、池田 和由（理化学研究所計算科学研究センター ・ユニットリーダー ）、坂井 直樹（高輝度光科学研究センター回折・散乱推進室・主幹研究員）

Fast Track Project　背景・目的

【背景】致死率最大40%に達する一種病原体クリミア・コンゴ出血熱ウイルス（CCHFV）は、特異的治療薬がなく国内BSL-4創薬開発スキームも未整備である。
【目的】本研究は、感染性ウイルスを一切使用しない、完全に危険のない安全な非感染性基礎研究として実施する。コムギ無細胞系で安全に調製した標的タンパク質（NP/OTU）を対象とし、インシリコ解析、生化学評価、X線構造解析を融合した抗ウイルスPROTAC（タンパク質分解誘導薬）開発プラットフォームの構築を目指す。

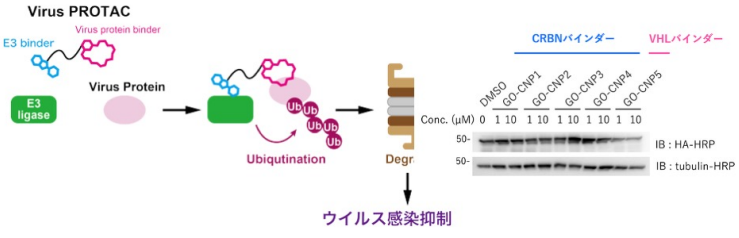
Fast Track Project　連携体制



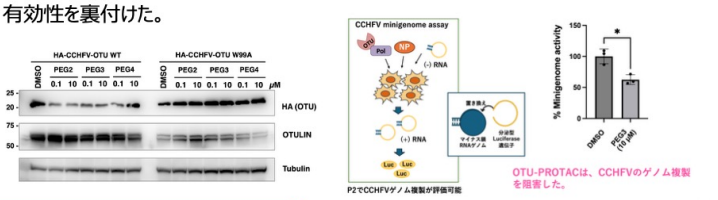
Fast Track Projectの成果

本プロジェクトでは、感染性ウイルスを一切使用しない安全な「無細胞・細胞評価系」の強みを活かし、CCHFVの主要ウイルスタンパク質（NPおよびOTUドメイン）を標的とした特異的分解薬（PROTAC）の創出に成功した。

① VHL型NP-PROTACの創出 【VHL型NP-PROTACの創出と迅速展開】
in silicoドッキングシミュレーションにより、NPバインダー候補を同定した。これを基盤としたPROTAC化合物のうち、VHL型PROTAC（GO-CNP5）が細胞内においてCCHFV-NPを特異的に分解誘導することを見出した。さらに固相合成技術を活用し、構造活性相関（SAR）解析に向けた9種類の新規VHL型誘導体の迅速合成を完了した。



② CRBN型OTU-PROTACの創出【CRBN型OTU-PROTACの設計・機能評価とウイルス複製阻害】
スクリーニング由来のOTU阻害剤から、高活性バインダー（COI-10）を同定した。本化合物を連結したCRBN型OTU-PROTACは、ヒト内在性デユビキチナーゼであるOTULINに影響を与えることなく、標的（CCHFV-OTU）を特異的に分解した 。HiBitシステム等を用いた解析から、本分解機構はOTUのDUB活性に依存しないことを実証した。さらに、機能評価（mini-genome assay）において、同OTU-PROTACがウイルスのゲノム複製を顕著に阻害することを確認し、治療薬リードとしての有効性を裏付けた。



今後の課題

今後は、創出したPROTAC化合物の細胞内オフターゲット評価や、マウスを用いた臓器移行性（薬物動態）解析を推進する。さらに、テキサス大学医学部ガルベストン校（UTMB Health）等の海外BSL-4施設と連携し、実際のウイルスを用いた感染・増殖抑制能を検証することで、革新的な抗ウイルス治療リード薬の創出を目指す。

