インシリコ解析ユニット

補助事業代表者（所属・職名）
富井　健太郎（産総研 人工知能研究センター・上級主任研究員）

ライフサイエンス研究加速のためのバイオインフォマティクス研究

補助事業分担者（所属・職名）
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）、深沢　嘉紀（宇都宮大学バイオサイエンス教育研究センター・准教授）

概要

創薬研究をはじめとするライフサイエンス研究の多様な37課題に対し、代表機関および分担機関の開発した解析技術や既存技術を活用し、主に、1)構造未決定のタンパク質に関する構造・機能解析、2)医薬品や農薬候補などの探索、3)実験観測データに基づくタンパク質構造の推定及び解析、の三方向の支援を実施。

構造・機能解析
構造予測技術による分子間相互作用推定とMDシミュレーションによる機能推定

候補分子の探索
立体構造・相互作用情報に基づく医薬品／農薬候補のインシリコスクリーニング

観測データに基づく構造推定
低温電子顕微鏡やNMRなど各種実験観測データに基づく立体構造推定

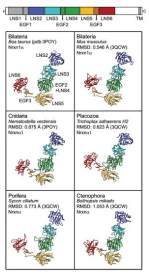
1)では、AlphaFoldのような強力な分子構造の予測技術や開発技術を利用し、分子間相互作用の予測などにより、対象タンパク質の機能を推定するとともに、 MDシミュレーション等による機能解析を実施。
2)では、対象タンパク質の立体構造情報や基質との相互作用情報、あるいは開発データベースなどに基づき、医薬品や農薬候補化合物のインシリコスクリーニングを行うとともに、未解明の相互作用候補を提示。また、Boltz-2を活用したデータ駆動型アプローチによる抗がん剤開発を実施
3)では、低温電子顕微鏡の中～低解像度の観測データに基づく立体構造の推定などにより、未知立体構造の解明に寄与。

分担機関では、INO1アンタゴニスト開発において、19F-NMR法の結果に基づくファーマコフォア解析およびAI co-folding法による支援を実施し、穀物中のフィチン酸含量低減に関する研究成果がNature Food誌に掲載された。また、基質との複合体形成に伴う構造変化が議論されている植物受容体について、複合体構造予測を支援。

代表的な支援内容と成果

シナプス接着分子 neurexins のモデリング

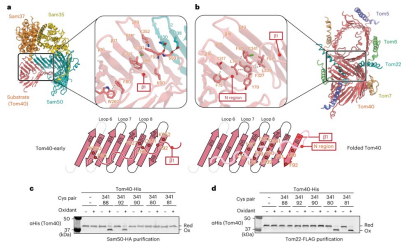
■動物の神経系が、拡散による細胞間コミュニケーションから、より高速で標的特異的なシナプス伝達へ進化した過程には、なお多くの未解明点が残されている。ゲノム解析から、初期に分岐した多細胞動物（後生動物）にもシナプス関連遺伝子が広く存在することは示されているが、シナプスを構成する分子機構がどのように成立したのかは十分に分かっていない。本研究では、刺胞動物のモデル生物*Nematostella vectensis*を用い、左右相称動物で重要な役割を担うシナプス前細胞接着分子neurexin（Nrxn）ファミリーの機能を解析した。Delta-Nrxn（δ-Nrxn）は、主にペプチド作動性および古典的な神経伝達物質によるシグナル伝達の両方を行う神経細胞群で発現している。δ-Nrxnのノックダウンにより、*N. vectensis*のポリプにおける自発的な蠕動運動が抑制される。遺伝子ノックダウンおよび薬理学的解析の結果、δ-Nrxnはペプチド作動性シグナル伝達ではなく、グルタミン酸やグリシンを介したシグナル伝達に関与していることが示唆された。一方、上皮型α-Nrxnのノックダウン解析からは、同分子が外胚葉性上皮と内胚葉性上皮の間の細胞接着において主要な役割を果たしていることが明らかになった。本研究では、後生動物およびその最も近縁な単細胞生物におけるneurexinホモログの存在と、それらにおけるLaminin/Neurexin/Sex hormone-binding globulin (LNS) ドメイン構成の保存性を明らかにした。



(Guzman *et al. Nat Commun*, 2024, **15**, 6495)

SAM複合体によるβバレル膜タンパク質の折り畳み中間体の構造

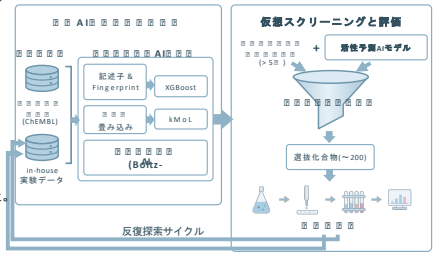
■ミトコンドリアのβバレルタンパク質は、代謝産物、イオン、タンパク質の輸送に必須である。ソーティング・アセンブリー装置（SAM複合体）は、これらのタンパク質の折り畳みと膜挿入を担う。本研究では、βバレル折り畳み中間体を捕捉した酵母SAM複合体のクライオ電子顕微鏡構造が報告され、ミトコンドリアβバレルの折り畳みが複数の接点を介して誘導される仕組みが明らかにされた。
■本研究では、クライオ電子顕微鏡の中程度の解像度の電子密度マップの領域から、インシリコ解析技術を用いて、βバレル形成の過程で、Tom40の最初のβセグメント（β1）が形成中のバレル内部に入り込み、内壁と相互作用する可能性が示唆され、その様子が実験的に明らかとなった。



(Takeda *et al. Nat Struct Mol Biol*, 2023, **30**, 176–187)

HDAC1阻害剤のAI駆動型反復スクリーニング

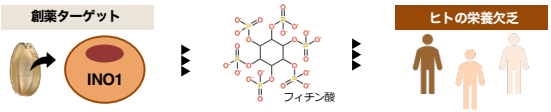
■ヒストン脱アセチル化酵素HDAC1は、クロマチン構造を介して遺伝子発現や細胞増殖・分化を制御し、がんをはじめとするさまざまな疾患に関与する重要な創薬標的である。本研究では、HDAC1を標的とした新規阻害剤を効率的に探索するため、AI予測と実験評価を繰り返す反復スクリーニング法の構築を行なった。ChEMBLの公開活性データとin-house実験データを用いて、XGBoostおよびグラフニューラルネットワーク（kMoL）によるHDAC1阻害活性予測モデルを構築した結果、5-fold交差検証においてCohen's κ = 約0.65–0.70の予測性能が得られた。構築したモデルを5万化合物以上からなる大阪大学化合物ライブラリーへ適用し、予測結果から約200化合物を選抜して実験的に評価した。さらに、得られた活性データと最新の公共データを学習データへ追加してモデルを更新し、次の候補化合物を再選抜する反復探索サイクルを進めた。加えて、タンパク質–リガンド複合体の構造予測AIであるBoltz-2を導入し、立体構造情報を活用した仮想スクリーニングによる探索精度のさらなる向上を検討した。



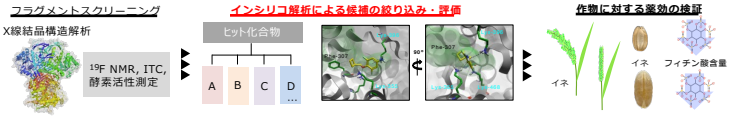
イネのフィチン酸含量を低下させるINO1アンタゴニストの開発を目指した薬剤探索

(Akabane *et al. Nat Food*, 2026, **7**, 163-173)

■抗栄養素フィチン酸の生合成酵素INO1に対するアンタゴニスト探索において、実験科学によって得られたヒット化合物対して、インシリコ解析によって候補の絞り込みおよび評価を支援し、in plantaで活性を示す有望化合物の選抜に貢献した。

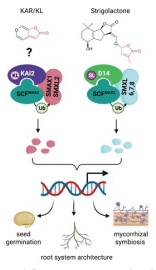


■フラグメントスクリーニングによって得られたヒット化合物について、ファーマコフォア解析およびそれに基づくクラスタリングによって、ヒットを絞り込んだ。
■創薬標的の結晶構造に対するヒットのドッキングシミュレーションを行い、ヒットの評価を実施した。



バイオインフォマティクスを活用したKAI2リガンドの構造解析と分子間相互作用の解明

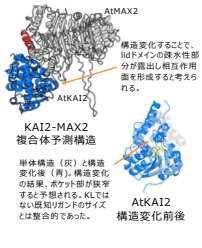
■KAI2は植物の発芽や成長、環境応答などに関与する受容体であり、KAI2リガンド（通称KL; Kai2 Ligand）と呼ばれる未知の内在性リガンドを認識すると考えられている。しかし、その分子実体はいまだ明らかになっていない(右図)。KAI2シグナルは植物の生育制御に広く関与することから、KLの同定とその作用機序の解明は、植物科学における基礎的課題であるとともに、将来的な作物の生育制御や新たな農業開発にもつながり得る応用的にも重要な研究課題である。
KAI2はα/β-hydrolaseファミリーに属する受容体であり、リガンドの結合・加水分解と、それに伴う受容体の構造変化、さらにF-boxタンパク質MAX2や下流因子との複合体形成を介してシグナルを伝達すると考えられている（右図）。一方で、リガンドの加水分解がシグナル伝達に果たす役割や、リガンド認識からシグナル伝達複合体形成へ至る過程については複数のモデルが提唱されており、その詳細な分子機構には未解明な点が多い。KAI2はα/β−セリンプロテアーゼ型の受容体であり、リガンドの結合と加水分解、また複合体形成に伴うシグナル伝達が議論されてるが、これらの機序について複数の異なった仮説が提唱されている。
そこで本支援では、KL探索に資するKAI2の構造的特徴を抽出し、その作用機序を議論することを目的として、KAI2の立体構造予測・解析を中心とした支援を行った。これらの解析を通じて、KAI2が認識し得るリガンドの構造的制約や、リガンドの加水分解とシグナル伝達複合体形成との関係について、KL候補分子の探索につながる構造的知見の抽出を試みた。



引用: Kamran, Melville & Waters, *J. Exp. Bot.* (2024)

KAI2–MAX2予測複合体構造が示すリガンド加水分解の必要性

■KAI2について、リガンド認識からシグナル伝達複合体形成に至る構造的機序を明らかにするため、KAI2–MAX2タンパク質複合体の立体構造予測を実施した。
予測構造では、複合体形成に伴ってKAI2のリガンド結合ポケットが狭窄し、比較的大きなリガンドを未反応のまま保持することが立体的に困難となることが示唆された。加水分解可能な合成ストリゴラクトン類縁体GR24は未反応状態では十分に収容されない一方、分子サイズの小さいKAI2作動物質KARは収容可能であった。
このことから、リガンドの加水分解は単なる分解反応ではなく、KAI2がMAX2とのシグナル伝達複合体を形成可能な構造へ遷移する過程に関与する可能性が示唆された。
これに関連して、その後報告された相同受容体HTL7のMAX2–SMAX1複合体のcryo-EM構造（Vancea et al., *Nat. Comm.*, 2025）では、複合体形成に伴うリガンド結合ポケットの大幅な縮小と、加水分解後のGR24由来部分構造のポケット内での保持が実験的に示されており、本研究の構造予測から導かれたモデルと整合的であった。
これらの成果は国内学会等[1]で発表されており、現在、実験的検証を進めながら論文化が進められている。



[1]水上 朋哉、[redacted]、池田 和由、深沢 嘉紀、講演名: 受容体の分子ドッキング法を用いた、植物内の受容体KAI2の相互作用様式の解析, 第48回日本分子生物学会年会, 2025.12 他

本発表について開示すべきＣＯＩはありません