インシリコ解析ユニット

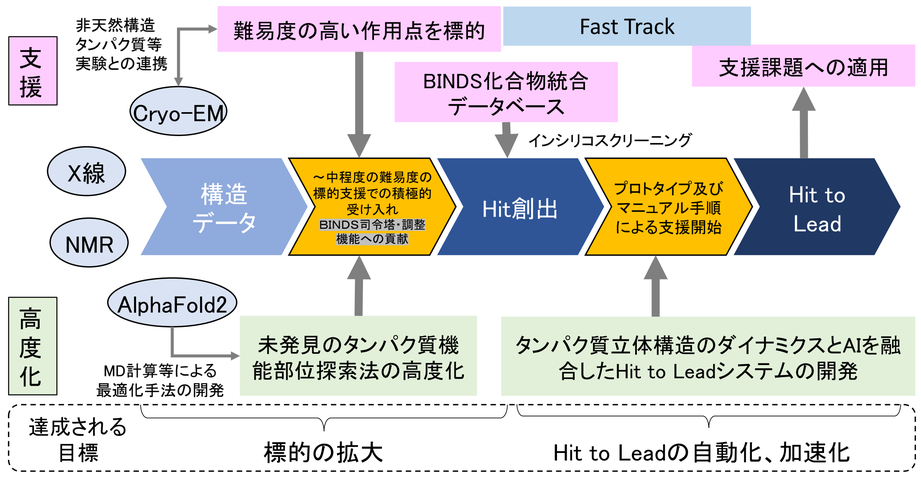
補助事業代表者（所属・職名）
広川　貴次（筑波大学医学医療系・教授）

標的タンパク質の構造情報を駆使した創薬分子設計技術の高度化と創薬支援

補助事業分担者（所属・職名）
吉野　龍ノ介（筑波大学医学医療系・助教）、本野　千恵（産業技術総合研究所細胞分子工学研究部門・キャリアリサーチャー）
今井　賢一郎（産業技術総合研究所細胞分子工学研究部門・グループ長）、小関　準　（産業技術総合研究所細胞分子工学研究部門・特定フェロー）

概要

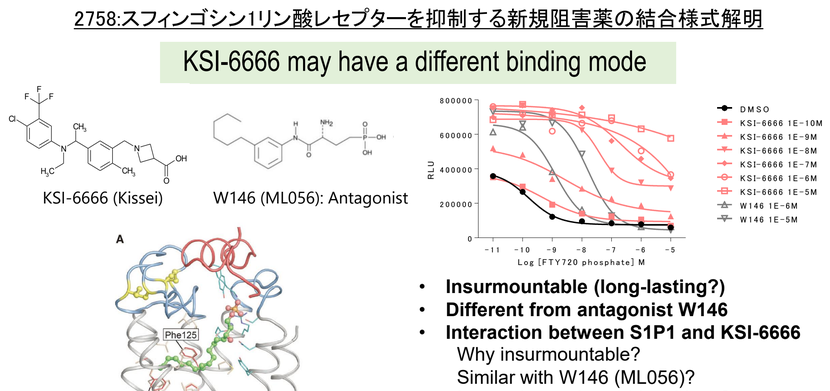
本課題提案では、従来のStructure-based drug design（SBDD）で急務となっている「未発見のタンパク質機能部位探索法による標的の拡大」と「Hit to Leadの自動化・加速化」を促進すべく支援と高度化研究を実施する。標的の拡大については、AlphaFoldや幅広いシミュレーション要素技術を融合し、未発見のタンパク質機能部位を同定する高度化研究や、これまでの支援実績（BINDS事業フェーズ1）を生かし、高度な支援（難易度の高い作用点を標的）で取り組む。Hit to Leadでは、「タンパク質立体構造のダイナミクスとAIを融合したHit to Leadシステムの開発」の高度化研究を通じて開発し、支援課題を通じてHit to Leadの自動化・加速化を実施する。その他、BINDS化合物統合データベースの運営、人材育成を通じて、BINDS司令塔・調整機能への積極的に貢献する。



支援実施例

活性化メカニズム解析

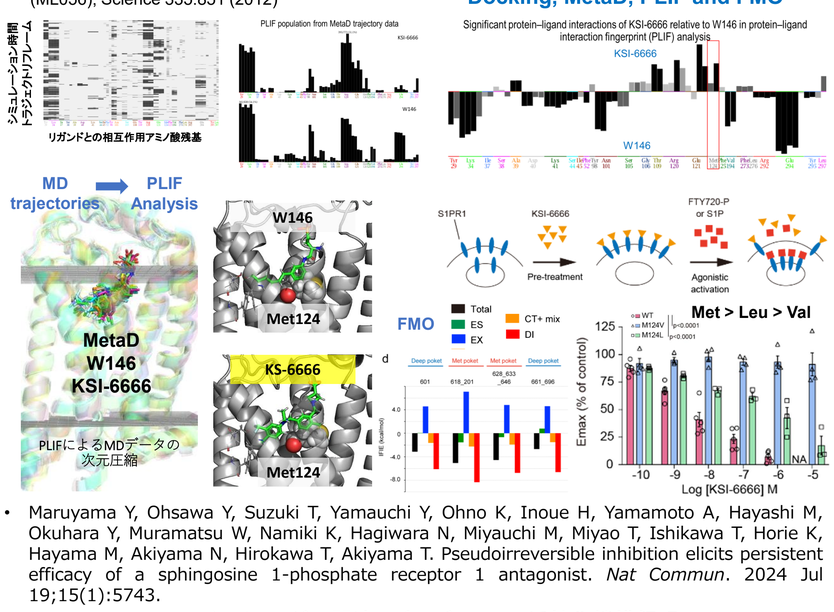
2758:スフィンゴシン1リン酸レセプターを抑制する新規阻害薬の結合様式解明



Crystal structure of $S1P_1$ in complex with W146 (ML056), Science 335:851 (2012)

- **Insurmountable (long-lasting?)**
- **Different from antagonist W146**
- **Interaction between S1P1 and KSI-6666**
  Why insurmountable?
  Similar with W146 (ML056)?
  Interacting amino acid residues?

Docking, MetaD, PLIF and FMO

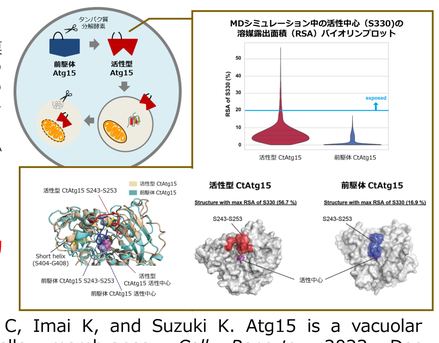


- Maruyama Y, Ohsawa Y, Suzuki T, Yamauchi Y, Ohno K, Inoue H, Yamamoto A, Hayashi M, Okuhara Y, Muramatsu W, Namiki K, Hagiwara N, Miyauchi M, Miyao T, Ishikawa T, Horie K, Hayama M, Akiyama N, Hirokawa T, Akiyama T. Pseudoirreversible inhibition elicits persistent efficacy of a sphingosine 1-phosphate receptor 1 antagonist. *Nat Commun*. 2024 Jul 19;15(1):5743.

5333:オートファジー関連リパーゼAtg15の活性化機構解明

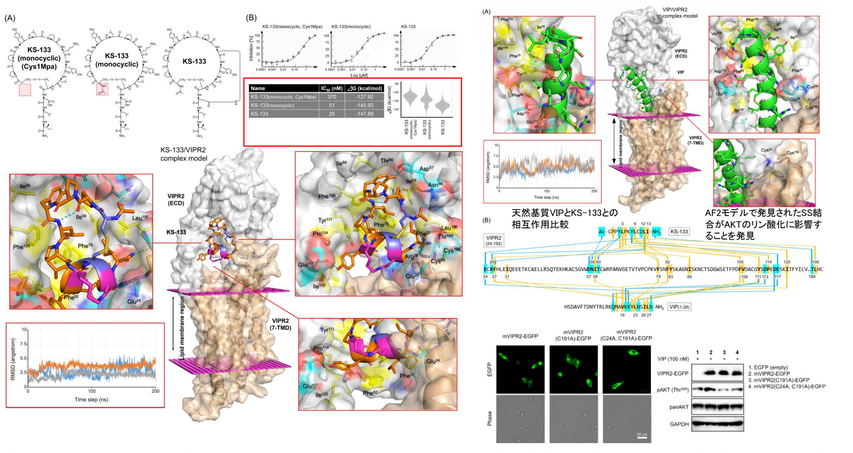
支援申請者は、好熱性糸状菌由来Atg15（CtAtg15）が酵素による切断を受けて活性化し、細胞小器官の膜を直接分解することを見出した。しかし、CtAtg15の予測構造では活性部位が分子内に埋もれていて、その活性化機構は不明であった。活性型CtAtg15の構造モデルを構築し、MDシミュレーションを行った結果、切断を受ける前の前駆体と比べ、活性型は、活性中心を覆うループが構造変化を起こしやすく、その結果、活性中心が露出することで、膜分解を可能にすることを見出した。

>>構造予測とMDシミュレーションにより、Atg15が切断を受けることで構造変化し活性中心を露出させる、基質認識機構を解明。



- Watanabe Y, Iwasaki Y, Sasaki K, Motono C, Imai K, and Suzuki K. Atg15 is a vacuolar phospholipase that disintegrates organelle membranes. *Cell Reports,* 2023 Dec 26;42(12):113567.

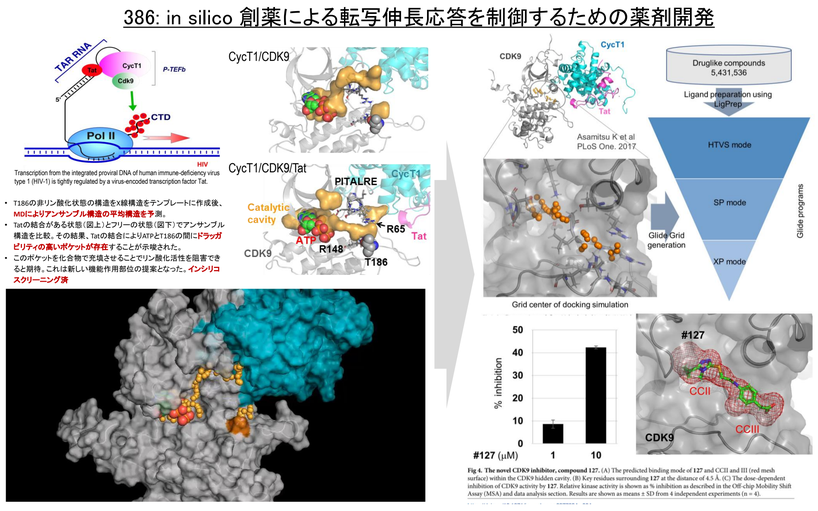
ペプチド性化合物と GPCR 細胞外ドメインの結合シミュレーション



- Sakamoto K, Asano S, Ago Y, Hirokawa T. AlphaFold version 2.0 elucidates the binding mechanism between VIPR2 and KS-133, and reveals an S-S bond Cys25-Cys192) formation of functional significance for VIPR2. *Biochem Biophys Res Commun*. 2022 Dec 25;636(Pt 1):10-16.

インシリコスクリーニング（難易度高）

386: in silico 創薬による転写伸長応答を制御するための薬剤開発



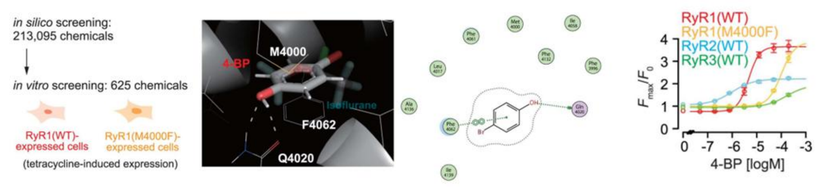
- Asamitsu K, Hirokawa T, Okamoto T. MD simulation of the Tat/Cyclin T1/CDK9 complex revealing the hidden catalytic cavity within the CDK9 molecule upon Tat binding. *PLoS One.* 2017 Feb 8;12(2):e0171727.
- Asamitsu K, Hirokawa T, Okamoto T. Identification of a novel CDK9 inhibitor targeting the intramolecular hidden cavity of CDK9 induced by Tat binding. *PLoS One.* 2022 Nov 15;17(11):e0277024.
- Asamitsu K, Hirokawa T, Okamoto T. Drug design for cyclin-dependent kinase 9 (CDK9) inhibitors in silico. *Biochem Biophys Rep.* 2025 Mar 28;42:101988.

485：睡眠覚醒制御機構の解明に向けたリアノジン受容体を標的とするin silico化合物スクリーニング

Wetで明らかになったこと

- 吸入麻酔薬イソフルランの新規分子標的として **RyR1** を同定
- イソフルラン／セボフルランは **RyR1を選択的に活性化**
- キメラ・変異解析により **M4000残基が応答に必須**と判明
- 非感受性変異マウス（M4003F）は **麻酔導入に抵抗性** を示す
- **RyR1は中枢神経系における麻酔作用に重要** と結論

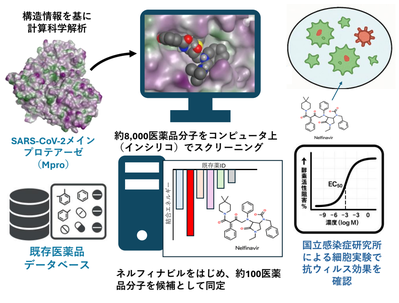
- RyR1結合部位の **druggability検証のため大規模インシリコドッキング**を実施
- **213,095化合物**をRyR1推定結合サイトへスクリーニング
- **4-BP・3-BP**など、ポケット依存的にRyR1を活性化する新規アゴニスト候補を同定
- RyR1(WT)では強力活性化、**M4000F変異体で作用減弱**し予測の妥当性を実証
- マウスで**鎮静様状態誘導・イソフルラン感受性増強**を示し、RyR1標的化合物の有効性を確認



- Kanaya HJ, Kuwajima K, Ito Y, Shinohara Y, Okubo Y, Shiono S, Tatsuki F, Ohno RI, Ukai H, Ukai-Tadenuma M, Sumiyama K, Fujishima H, Yamada RG, Tone D, Kiyonari H, Kikuchi M, Umehara T, Murayama T, Kanemaru K, Iino M, Ode KL, Hirokawa T, Ueda HR. Isoflurane activates the type 1 ryanodine receptor to induce anesthesia in mice. *PLoS Biol.* 2025 Jun 3;23(6):e3003172.

インシリコスクリーニングの活用による新型コロナウイルス治療薬の探索

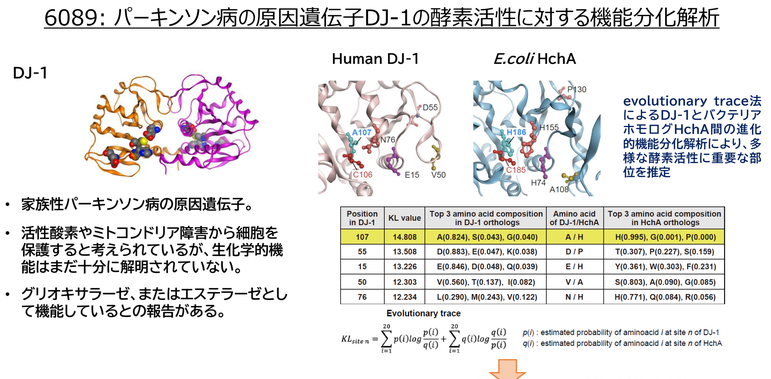
2020年、BINDSインシリコユニットでは、新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）に対する治療薬を、すでに承認されている医薬品の中から探す研究を行いました。これは「ドラッグリポジショニング」と呼ばれる方法で、既存薬の新しい使い道を見つけることを目的としていました。研究では、ウイルスの主プロテアーゼ（Mpro）の立体構造をもとに、約8000種類の薬を分子ドッキング解析により調べ、どの薬が酵素に強く結合するかを計算しました。その結果、抗HIV薬のネルフィナビルがMpro阻害薬の候補として、また天然成分セファランチンがスパイクタンパク質への吸着を防ぐ候補として見つかりました。どちらの化合物も細胞実験で抗ウイルス効果を示し、ネルフィナビルは臨床試験にも進みました。この研究は、構造情報と計算科学を組み合わせたインシリコ創薬の有効性をはっきりと示したものであり、その成果はiScience誌（2021年、第24巻、第4号、論文番号102367）に掲載されました。



- Ohashi H, Watashi K, Saso W, Shionoya K, Iwanami S, Hirokawa T, Shirai T, Kanaya S, Ito Y, Kim KS, Nomura T, Suzuki T, Nishioka K, Ando S, Ejima K, Koizumi Y, Tanaka T, Aoki S, Kuramochi K, Suzuki T, Hashiguchi T, Maenaka K, Matano T, Muramatsu M, Saijo M, Aihara K, Iwami S, Takeda M, McKeating JA, Wakita T. Potential anti-COVID-19 agents, cepharanthine and nelfinavir, and their usage for combination treatment. *iScience*. 2021 Apr 23;24(4):102367.

バイオインフォマティクス解析

6089：パーキンソン病の原因遺伝子DJ-1の酵素活性に対する機能分化解析



Position in DJ-1	KL value	Top 3 amino acid composition in DJ-1 orthologs	Amino acid of DJ-1/HchA	Top 3 amino acid composition in HchA orthologs
107	14.808	A(0.824), S(0.043), G(0.040)	A / H	H(0.995), G(0.001), P(0.000)
55	13.508	D(0.883), E(0.047), K(0.038)	D / P	T(0.307), P(0.227), S(0.159)
15	13.226	E(0.846), D(0.048), Q(0.039)	E / H	Y(0.361), W(0.303), F(0.231)
50	12.303	V(0.560), T(0.137), I(0.082)	V / A	S(0.803), A(0.090), G(0.085)
76	12.234	L(0.290), M(0.243), V(0.122)	N / H	H(0.771), Q(0.084), R(0.056)

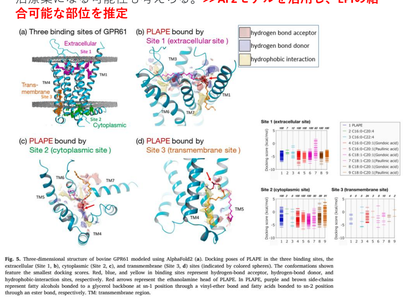
- 家族性パーキンソン病の原因遺伝子。
- 活性酸素やミトコンドリア障害から細胞を保護すると考えられているが、生化学的機能はまだ十分に解明されていない。
- グリオキサラーゼ、またはエステラーゼとして機能しているとの報告がある。

推定部位の変異により酵素活性を制御できることを示し、機能分化に重要な部位を明らかにした。

- Watanabe A, Koyano F, Imai K, Hizukuri Y, Ogiwara S, Ito T, Miyamoto J, Shibuya C, Kimura M, Toriumi K, Motono C, Arai M, Tanaka K, Akiyama Y, Yamano K, Matsuda N. The origin of esterase activity of Parkinson's disease causative factor DJ-1 implied by evolutionary trace analysis of its prokaryotic homolog HchA. *J Biol Chem.* 2024 Jul;300(7):107476.

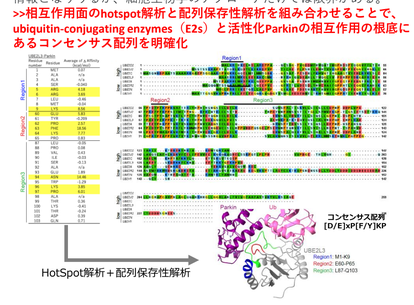
3129: GPR61のリガンドのインシリコスクリーニング

支援申請者が発見した新規受容体GPR61と、そのリガンドとされるエタノールアミン・プラズマローゲン（EPl）の情報を基にして、既存薬物等の中から、医療に用いられる可能性のある化合物をみつけだしたいのが共同研究等の目的。加齢で性機能が低下するメカニズムで重要である他に、アルツハイマーなどの加齢で増加する脳の治療薬になる可能性も考えらる。**>> AF2モデルを活用し、EPIの結合可能な部位を推定**



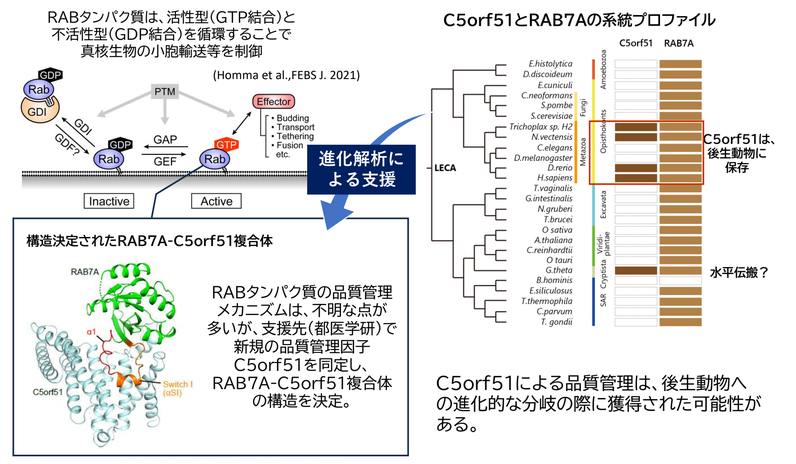
4354: 細胞内恒常性維持を担うタンパク質のバイオインフォマティクス解析

支援申請者は、細胞生物学と生化学のアプローチで、Parkinのユビキチン化反応に必要な複数のE2酵素（ヒトには20種類以上異なるE2酵素がコードされている）を同定したが、そのE2群に共通する一次アミノ酸配列上あるいは立体構造上のコンセンサスを見出すことに苦労している。異なる生物種での進化的な保存性も、その因子の機能を知る上で重要な情報となりうるが、細胞生物学のアプローチだけでは限界がある。**>>相互作用面のhotspot解析と配列保存性解析を組み合わせることで、ubiquitin-conjugating enzymes（E2s）と活性化Parkinの相互作用の根底にあるコンセンサス配列を明確化**



- Kadokawa H, Niyonzima YB, Hirokawa T, Yoshino R. Effects of chemosynthetic choline plasmalogens on gonadotropin secretion from bovine gonadotrophs. *J Reprod* Dev. 2025 Aug 1;71(4):201-209.
- Kadokawa H, Yoshino R, Saito R, Hirokawa T. Chemosynthetic ethanolamine plasmalogen stimulates gonadotropin secretion from bovine gonadotrophs by acting as a potential GPR61 agonist. *Anim Reprod Sci.* 2022 Jun;241:106992

4534: 新規RAB7A結合パートナーC5orf51の進化解析



Okatsu K., et al. RAB7HD/C5orf51 stabilizes newly synthesized RAB7A and facilitates its GTP loading. (in revision)

現在まで60件以上の論文発表）

COIの開示（演題発表に関連し、開示すべきCOI関係にある企業などはありません。）