インシリコ解析ユニット

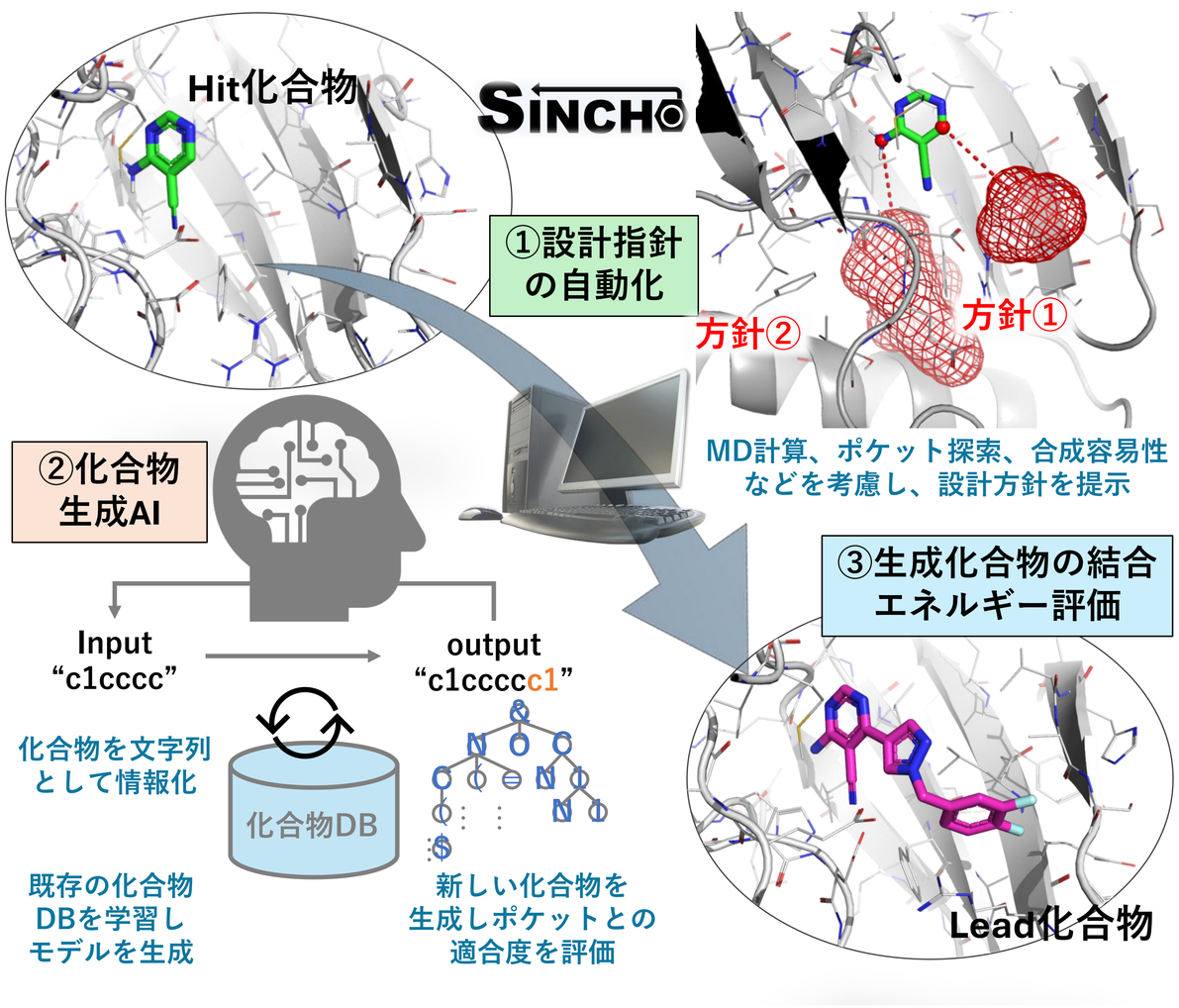
補助事業代表者（所属・職名）
広川　貴次（筑波大学医学医療系・教授）

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）

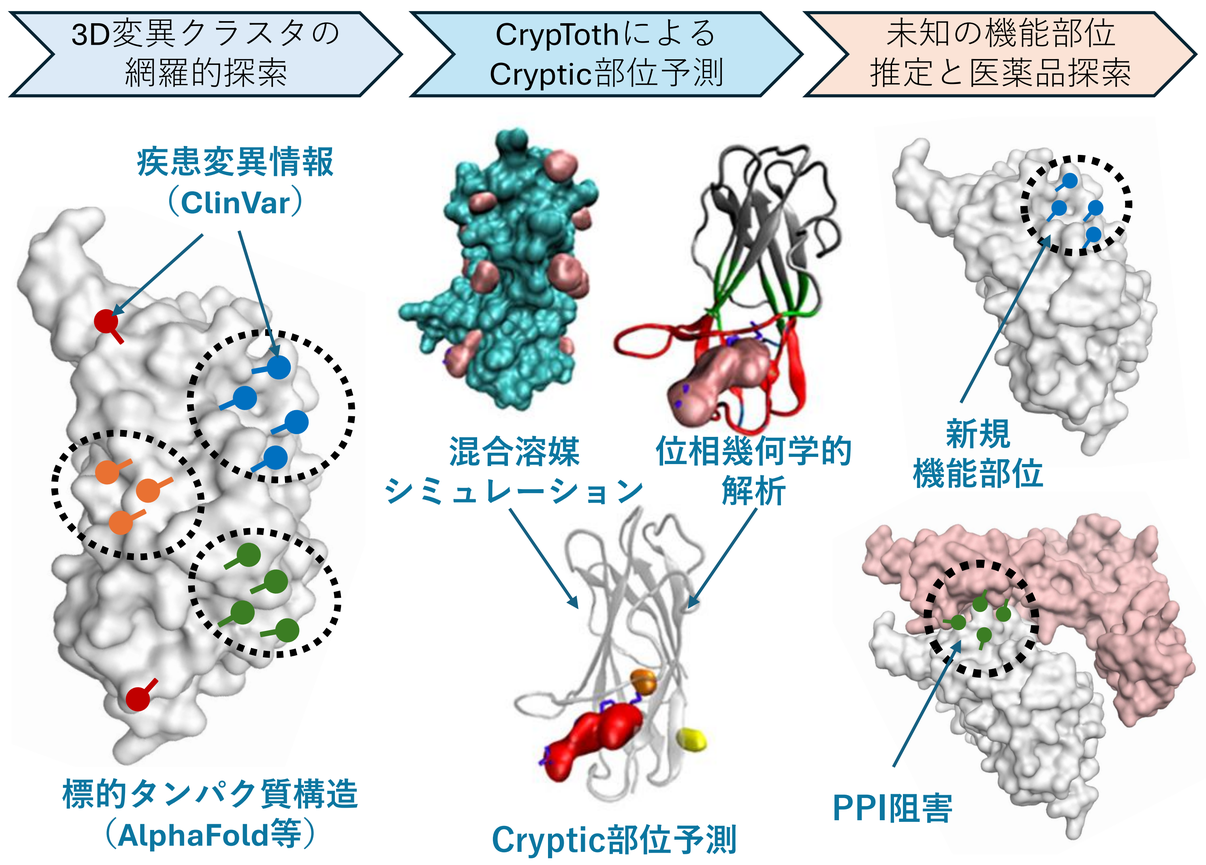
タンパク質立体構造のダイナミクスとAIを融合したHit to Leadシステムの開発

従来、薬理化学者がマニュアルで行っているHit化合物からのLead展開をタンパク質の揺らぎの構造を考慮しながらAIにより自動的にLead化合物を生成するシステムを構築した。本システムでは、標的タンパク質とHitを含む複合体構造のMD計算、Leadポケットの探索と構造展開反応点部位予測法として開発したSINCHO(Site Identification and Next Choice) [1,2]、ChemTSの生成パラメータおよび報酬関数にSINCHOで推定されたポケット情報を取り入れた化合物生成、を機能モジュールとし、現在、SINCHO-Genとしてプロトタイプを完成させている。現在、公知のHit to Lead過程を再現するベンチマークによSINCHO-Genの精度評価ならびにBINDS支援研究におけるシステムの実施と改善を行っている。



未発見のタンパク質機能部位探索法の高度化

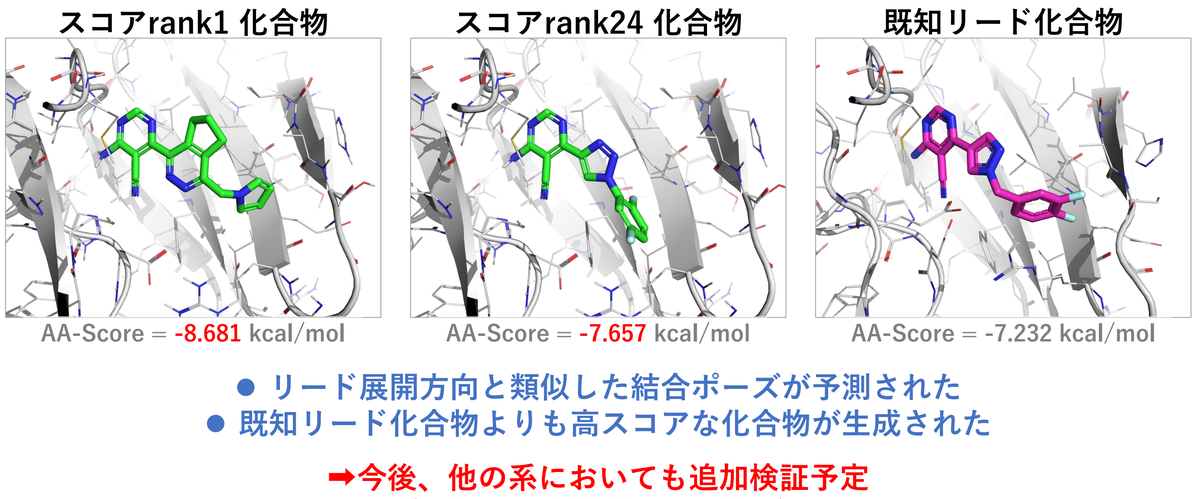
疾患関連変異が機能部位周辺に集まる傾向に着目し、これを「3D変異クラスタ」として解析することで、未発見の機能部位(クリプテイックサイトやアロステリックサイト)を探索する手法を確立した。AlphaFold2構造を基に新規3D変異クラスタを同定し、その後構造が解かれたものを対象に評価を行ったところ、新規3D変異クラスタの約70%が機能部位近辺に位置していた。さらに、独自のクリプティックサイト予測法CrypTothならびにCrypTothMLを開発し、混合溶媒MDシミュレーションと位相幾何学的解析を組み合わせて、ホットスポット領域を高精度に評価することが可能になった。 [3,4] 難易度の高い9種類で評価した結果、7種類のタンパク質で正確にクリプテイックサイトを検出し、従来法を上回る性能を示した。この成果から、新たな創薬標的同定への応用が期待される。



疾患関連変異は、機能部位周辺に集まる傾向があり、未発見の機能部位においても3D変異クラスタが生じている可能性がある。3D変異クラスタを基点とすることで、未発見の機能部位、ひいては、新規創薬標的と期待できる部位を推定する手法を確立

ベンチマーク：プリン合成酵素(SAICAR synthetase)阻害剤のリード展開

✓ 本システムにおける出力化合物と既知リード化合物の比較

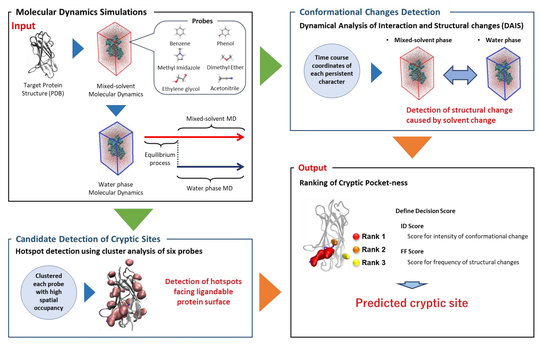


- リード展開方向と類似した結合ポーズが予測された
- 既知リード化合物よりも高スコアな化合物が生成された

➡今後、他の系においても追加検証予定
（実験との共同研究で実用中）

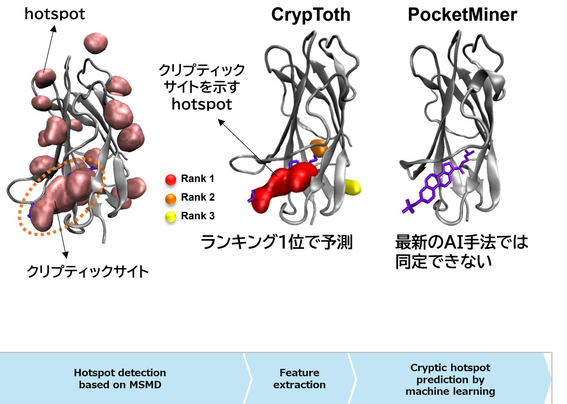
CrypToth（現在、世界最高精度。国産技術）

ポイント①共溶媒MDによりタンパク質表面を柔らかくすると共に、化合物がアクセスしやすい場所を探索



ポイント②独自の構造変化解析法により水中MDとの構造変化比較を行い、構造変化情報を抽出

1NEP(NPC intracellular cholesterol transporter 2)の例



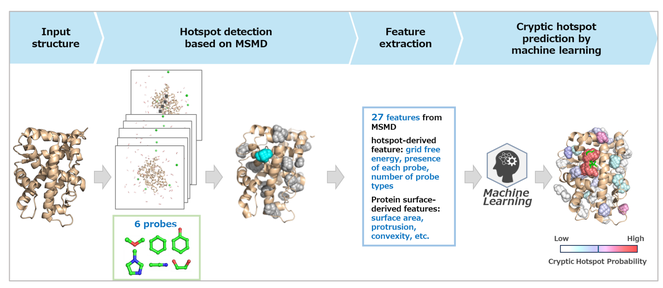
CrypTothML

共溶媒MDと機械学習（Adaboost）を組み合わせたクリプティックサイトを予測法。CrypTothよりも計算コストが軽く、網羅的探索にも利用

他手法との性能比較

Method	CrypTothML	PocketMiner	CryptoSite
Precision	0.818	0.743	0.583
Recall	0.600	0.433	0.467
Specificity	0.936	0.928	0.840
ROC AUC	0.879	0.821	0.780

60 cryptic site, 125 non-cryptic siteでの評価



1. Kudo G, Hirao T, Yoshino R, Shigeta Y, Hirokawa T. Pocket to concavity: a tool for the refinement of protein-ligand binding site shape from alpha spheres. *Bioinformatics.* 2023 Apr 3;39(4):btad212.
2. Kudo G, Hirao T, Yoshino R, Shigeta Y, Hirokawa T. Site Identification and Next Choice Protocol for Hit-to-Lead Optimization. *J Chem Inf Model.* 2024 Jun 10;64(11):4475-4484.
3. Koseki J, Motono C, Yanagisawa K, Kudo G, Yoshino R, Hirokawa T, Imai K. CrypToth: Cryptic Pocket Detection through Mixed-Solvent Molecular Dynamics Simulations-Based Topological Data Analysis. *J Chem Inf Model.* 2025 Jun 9;65(11):5567-5575
4. Motono C, Yanagisawa K, Koseki J, Imai K. CrypTothML: An Integrated Mixed-Solvent Molecular Dynamics Simulation and Machine Learning Approach for Cryptic Site Prediction. *Int J Mol Sci.* 2025 May 14;26(10):4710