

**平成 30 年度 TIA 連携プログラム探索推進事業「かけはし」
調査研究報告書（公開版）**

【研究題目】 ミクロとマクロをつなぐ新たな生物学の推進と創薬への展開を目指す調査研究

【整理番号】 TK18-049

【代表機関】 産業技術総合研究所

【調査研究代表者（氏名）】 竹内 恒

【TIA 内連携機関：連携機関代表者】

高エネルギー加速器機構	千田 俊哉	教授・センター長
筑波大学人工知能科学センター	櫻井 鉄也	教授・センター長
東京大学	木立 尚孝	准教授

【TIA 外連携機関】

シンシナティー大学、広島大学、東海大学、慶應義塾大学、がんセンター、愛媛大学、群馬大学、東京理科大学、富山大学、広島大学、岡山大学

【報告書作成者】 産業技術総合研究所・竹内恒 【報告書作成年月日】 2019 年 3 月 29 日

【連携推進（具体的な連携推進活動内容とその活動の効果等）】

本調査研究は、ミクロとマクロ状態の関係付けを実現する道を、幅広い分野による議論と調査研究により探り、異分野統合による新たな学問領域の創成と創薬を始めとする産業応用への展開を目指す目的で、H29 年から継続・発展させ、TIA 連携 4 機関（KEK、産総研、筑波大、東大）の発案とシンシナティー大学、広島大学、東海大学、慶應義塾大学、がんセンター、愛媛大学、群馬大学、東京理科大学、富山大学、長岡技術科学大学、広島大学、岡山大学などとの連携により遂行された。（富山大学、長岡技術科学大学、広島大学、岡山大学は新規）

具体的な連携推進活動内容とその効果

本年度は、TIA かけはし“ミクロとマクロをつなぐ新たな生物学の推進と創薬への展開を目指す調査研究”として、下記に示すようなシンポジウムを開催するとともに、第 41 回日本分子生物学会においてワークショップを企画・開催した。

期間を通じて、のべ 15 名の先生方に講演をいただき、連携研究期間彼も含め、合計 120 名以上の方々の参加をいただいた。講演いただいた先生方の多くは TIA 連携研究機関の所属であり（9 名）、また TIA 外からも、シンシナティー大学、広島大学、東海大学、富山大学など計 6 名の TIA 外の先生方にも講演をいただき、研究連携をさらに拡大すべく活動を行った。

その結果、TIA 機関、他機関の研究者との連携が推進し、領域内において、複数の共同研究が開始されるとともに、共同での研究資金の獲得につながった、さらに、連携機関の枠を超えた、連携研究の発展にも有意義な情報交換がなされ、KEK・産総研・東海大学・東京大学の間で、GTP センサーの進化に関わる共同研究が継続的に実施されるなど、研究領域の拡大につながった。

TIA シンポジウム

日時：2017/8/30

場所：産業技術総合研究所 臨海副都心センター別館

発表者：5 名（参加者：15 名）

AIST ○竹内恒、徳永裕二、今清水正彦

KEK ○千田俊哉、小祝孝太郎、千田美紀、長瀬里沙、干 宏洋

筑波大 丹羽隆介、○谷口俊介、二村保徳

東大 ○木立尚孝、新井宗仁、岡芳樹

東海大学 ○中川草

TIA 連携 4 機関（KEK, 産総研、筑波大、東大）の研究室主宰者および連携機関の東海大学 中川先生が講演を行い、研究の紹介をいただくとともに、TIA かけはしの研究の方向性について議論を行った。

第 41 回 日本分子生物学会年会「細胞の GTP 検知機構の進化と機能」

日時：2017/11/29

場所：パシフィコ横浜

発表者：10 名

産総研 竹内恒、河口理紗

KEK 原田彩佳、千田俊哉

TIA 外 佐々木敦朗（シンシナティール大）、池田幸樹（シンシナティール大）、中川草（東海大）、小藤智史（広島大学）、夜久 圭介（富山大学）、中川 崇（富山大学）

参加者：>100 名

細胞内エネルギー物質である GTP を中心として、TIA 連携機関に加え、構造生物学、細胞生物学、タンパク質工学、情報科学、創薬科学、臨床医学など多様な専門性を持った全 6 機関の研究者が、「GTP 代謝とその検知機構のいつ、なぜ、どうやって」、「神経膠芽腫における GTP 代謝亢進の意義」「新規 NAD アナログ NGD の機能解析」、「特異的阻害剤が拓く細胞内 GTP センサーの機能解明」、「PI5P4K の持つ GTP 依存的 kinase 活性の生理的役割とその進化的考察」「X 線結晶構造解析を利用した GTP センサーの分子進化の解明に向けて」、「ホスファチジルイノシトール 5-リン酸 4-キナーゼ(PI5P4K)遺伝子ファミリーの分子進化解析」とマイクロからマクロに至る幅広い演題にて発表を行い、活発に議論をすることで、新たな生物学の創生と創薬展開について向けた情報交換を行った。

このほか以下の TIA 主催のシンポジウムに参加し、議論を行った。

第 10 回 TIA シンポジウム –TIA が生み出すイノベーション–

2018 年 10 月 9 日（火）イイノホール

ポスターセッション

第 3 回 TIA-TLSK ライフイノベーションワークショップ

2018 年 11 月 28 日（火）つくば国際会議場

「マイクロとマクロをつなぐ新たな生物学の推進と創薬への展開を目指す調査研究」として口頭発表

【調査研究内容（実験等中心に背景・課題と実行された課題解決の内容と結果）】

本調査研究においては、マイクロとマクロつなぐ新たな生物学の創生という観点において、上記の様なシンポジウム、ワークショップで活発な議論がなされ、複数の共同研究が遂行された。そのうち 1 件については、H29 年度から継続的な外部資金の獲得に繋がっていることから、以下に具体的に述べる。

GTP センサー PI5P4Kβ の創薬および機能解明を目指した研究

マイクロとマクロつなぐ新たな生物学の創生という観点において、創薬は、マイクロな要素に摂動を与えることで、マクロな異常（疾患）を治そうという試みである。本研究課題の代表者である産総研である竹内、高エネルギー加速器研究機構代表者の千田、シンシナティール大学の佐々木らは、2010 年からの学際的な共同研究を進めており、2016 年に我々は、プロテオミクス、生化学、構造生物学および細胞生物学的手法を組み合わせた独自のアプローチにより、PI5P4Kβ が哺乳細胞において GTP 濃度を検知・応答するセンサーとして機能すること、そして PI5P4Kβ の GTP センサー機能が腫瘍形成を促進することを発見した。我々は、さらにこの独自の知見とこれ

までの研究で確立した技術に活用し、PI5P4K β に対する特異的阻害剤を取得することで、細胞内 GTP センサーを標的とした新規抗がん戦略の確立を目指して研究を進めている。その結果、これまでに PI5P4K β の阻害剤を複数取得し、阻害剤添加に伴い PI5P4K β の直接の基質である PI(5)P が細胞内に蓄積することを確認した。これらの阻害剤の一部は、その阻害活性もさることながら、非常に高い特異性を示している。よって、この特異性を活かすことで、PI5P4K β の GTP 検知機構を可逆的かつ短時間に失わせ、PI5P4K β が細胞内 GTP センサーとして機能するためのメカニズムをより直接的に解明するのにも活用できる。そこで、本年度は、「平成30年度 AMED 橋渡し研究戦略的推進プログラム」の援助も受けながら、細胞内 GTP センサーPI5P4K β を標的とした阻害剤の活性をより強化させるとともに、樹立した特異的阻害剤を用いることで、細胞内 GTP センサーの機能メカニズムについての解析を行った。その結果、PI5P4K β の細胞内の蛋白質の代謝への関与など、その機能メカニズムの詳細が明らかとなりつつある。このような情報は、阻害剤獲得の際の薬効マーカーを探索する上でも重要である。特異的化合物については、つくば大学つくば臨床医学開発機構 (T-CreDo) の「平成31年度 AMED 橋渡し研究戦略的推進プログラム」支援課題に応募し、平成30年度に引き続き採択されたことで、研究費の獲得と初期シーズとしての支援を受けることが決定している。また、PI5P4K β は GTP に直接結合し、濃度依存的に活性の強度を変化させることで細胞内 GTP センサーとして機能するが、その機能が進化的にいつどのようにして獲得されたかは明らかでなかった。そこで産総研、高エネルギー加速器研究機構、シンシナティー大学、東大、東海大が共同研究体制を構築し、PI5P4K β がいつ、どのようにして GTP センサー能を獲得したのかを、進化的配列解析、生化学、構造生物学、プロテオミクス、タンパク質工学、細胞生物学的手法により明らかにする研究を開始している。なお、産総研では本研究の成果などを基盤とする民間企業との技術コンサルティング5件、共同研究を1件受けており、技術の社会実装も進んでいる。

論文発表 (計 11 件, TIA 連携 4 機関の著者に下線)

1. Aromatic 19F-13C TROSY: a background-free approach to probe biomolecular structure, function, and dynamics. Boeszoermenyi A, Chhabra S, Dubey A, Radeva DL, Burdzhiev NT, Chaney CD, Petrov OI, Gelev VM, Zhang M, Anklin C, Kovacs H, Wagner G, Kuprov I, Takeuchi K, Arthanari H. Nat Methods. (2019) in press (corresponding author)
2. Screening for inhibitor of episomal DNA identified dicumarol as a hepatitis B virus inhibitor. Takeuchi F, Ikeda S, Tsukamoto Y, Iwasawa Y, Qihao C, Otakaki Y, Ryota O, Yao WL, Narita R, Makoto H, Watashi K, Wakita T, Takeuchi K, Chayama K, Kogure A, Kato H, Fujita T. PLoS One. (2019) 14(2):e0212233.
3. Competing protein-protein interactions regulate binding of Hsp27 to its client protein tau. Freilich R, Betegon M, Tse E, Mok SA, Julien O, Agard DA, Southworth DR, Takeuchi K, Gestwicki JE. Nat Commun. (2018) 9, 4563.
4. Application of C-Terminal 7-Azabicyclo[2.2.1]heptane to Stabilize β -Strand-like Extended Conformation of a Neighboring α -Amino Acid. Zhai L, Wang S, Nara M, Takeuchi K, Shimada I, Otani Y, Ohwada T. J Org Chem. (2018), 83,13063-13079.
5. Functional activity of the H3.3 histone chaperone complex HIRA requires trimerization of the HIRA subunit. Ray-Gallet D, Ricketts MD, Sato Y, Gupta K, Boyarchuk E, Senda T, Marmorstein R, Almouzni G. Nat Commun. (2018) 9(1):3103.
6. Structural and Computational Bases for Dramatic Skeletal Rearrangement in Anditomin Biosynthesis. Nakashima Y, Mitsuhashi T, Matsuda Y, Senda M, Sato H, Yamazaki M, Uchiyama M, Senda T, Abe I. J Am Chem Soc. (2018), 140, 9743-9750.
7. Phosphoinositide binding by the PH domain in ceramide transfer protein (CERT) is inhibited by hyperphosphorylation of an adjacent serine-repeat motif. Sugiki T, Egawa D, Kumagai K, Kojima C, Fujiwara T, Takeuchi K, Shimada I, Hanada K, Takahashi H. J Biol Chem. (2018) 293, 11206-11217.

8. Crystal structure of the nitrosuccinate lyase CreD in complex with fumarate provides insights into the catalytic mechanism for nitrous acid elimination. Katsuyama Y, Sato Y, Sugai Y, Higashiyama Y, Senda M, Senda T, Ohnishi Y. FEBS J. (2018) 285, 1540-1555.

9. Yaguchi J, *Yaguchi S. Evolution of nitric oxide regulation of gut function. Proc Natl Acad Sci USA. (2019), 116, 5607-5612. (*corresponding author)

10. Yaguchi J, Yamazaki A, *Yaguchi S, Meis transcription factor maintains the neurogenic ectoderm and regulates the anterior-posterior patterning in embryos of a sea urchin, *Hemicentrotus pulcherrimus*. Dev Biol. (2018), 444, 1-8. (*corresponding author)

11. Suzuki H, *Yaguchi S, Transforming growth factor- β signal regulates gut bending in the sea urchin embryo. (2018) Dev Growth Differ. 60, 216-225. (*corresponding author)

口頭発表・講演：42件

共同研究契約：18件（TIA内2件）

共同施設利用：3件

外部資金の獲得：T-CreDoの「平成31年度AMED橋渡し研究戦略的推進プログラム」200万円（TIA研究内容に直接かかわるもののみ）

受賞：1件（量子ビームサイエンスフェスタ 学生奨励賞）

【今後の活動予定】

さらなる連携研究の推進と拡大

GTP 検知機構について KEK・産総研・筑波大との連携により AI を活用したマルチオミクス解析が進行中であり PI5P4K β の細胞内の蛋白質の代謝への関与などが明らかになってきていることから、細胞のエネルギー検知機構を、マクロな視点からミクロな標的に落とし込むことが可能になりつつある。また、逆に、PI5P4K β と GTP アナログとの相互作用解析や GTP 感知機構を失わせた変異体の立体構造解析など、ミクロ側からの研究も進んでおり、本研究を細胞レベルでのマクロな研究を組み合わせることで、ミクロとマクロが双方向的に結ばれ、研究課題全体が大きく進展することが期待される。このような研究は、阻害剤の構築や、がんマーカーの探索や患者の層別化という観点でも重要である。さらに、昆虫ステロイドホルモン生合成制御に関して、立体構造(ミクロ)から生体内基質や細胞内制御機構(マクロ)を探る研究や、古生物タンパク質の立体構造解析および生化学的解析(ミクロ)に基づきその細胞機能(マクロ)を明らかにする研究など、様々な共同研究成果が継続して進行中である。

外部資金の獲得

本調査研究から発展し、T-Credoの平成31年度AMED橋渡し研究戦略的推進プログラム」支援課題にも継続的に採択された課題については、来年度POC取得を目指すシーズBへのステップアップを目指すことで、もう一回り大きな研究費(最大年間7000万円)を獲得すべく研究を行っていきたい。また本研究を技術的な基盤として、AMEDGAPFREEなど創薬分野への申請を考えている。

また、新たな資金獲得に向けた方針・施策として、平成30年度中に日本学術振興会（JSPS）の科学研究費助成事業（基盤研究および新学術領域研究）に応募を行っている。また、企業との共同研究開発契約についても、本年度に引き続き、複数締結を行う予定である。

以上