

D1-1 化合物ライブラリー

大阪大学や製薬会社のオリジナル化合物ライブラリーを含めた特徴的化合物ライブラリーの提供支援

[1] 支援担当者

所属	①大阪大学 大学院薬学研究科	
氏名	①辻川 和丈、谷 昭義、布村 一人、林 邦忠	
AMED 事業	ユニット/領域名 課題名	ケミカルシーズ・リード 探索ユニット（ライブラリー・スクリーニング領域） 創薬基盤の融合による戦略的イノベーション創出 （化合物ライブラリー整備と支援・高度化による創薬研究の推進）
	代表機関 代表者	大阪大学 辻川 和丈
支援技術のキーワード	化合物ライブラリー、大阪大学オリジナル化合物、製薬会社オリジナル化合物、海洋天然物	

[2] 支援技術の概要

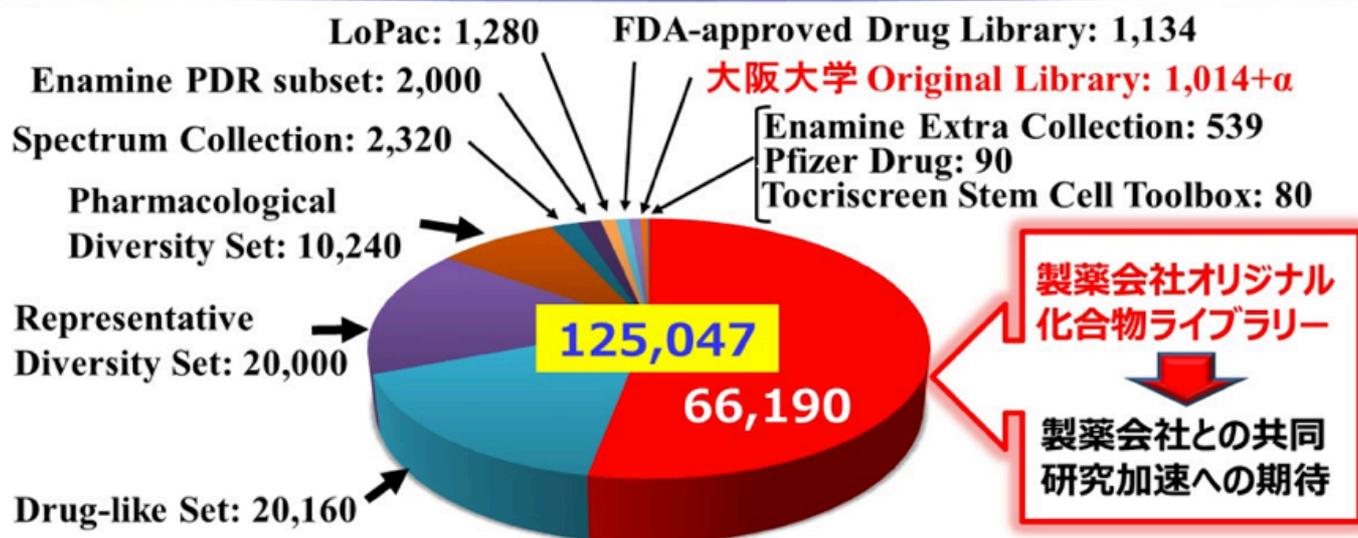
大阪大学薬学研究科附属化合物ライブラリー・スクリーニングセンター(Compound Library Screening Center: LiSC)では、製薬会社オリジナル化合物ライブラリー、大阪大学オリジナル化合物ライブラリーと市販化合物ライブラリーの提供支援を行っている。

製薬会社オリジナル化合物ライブラリーは、アカデミア創薬を推進させるためLiSCに提供されたものである。この化合物ライブラリーを用いて創薬標的分子に対するヒット化合物が見いだせれば、製薬会社との共同研究へと発展することも期待される。

一方、大阪大学オリジナル化合物ライブラリーは、大阪大学薬学研究科合成研究者が合成し、製薬会社出向の創薬化学研究者によりdrug-like compoundsとして認められたものや、天然物化学研究者が自ら東南アジアなどの海洋から採集した海綿などの底生海洋生物や海洋微生物を資源とする天然物エキスライブラリーから構成される。

市販化合物ライブラリーとしては、Drug-like Set（Lipinsky and Veber Ruleに順応したDrug-Likeな化合物からDiversity性を考慮して作成されたセット、20,160化合物）、Representative Diversity Set（構造多様性を考慮して選択された日本限定販売セット、20,000化合物）、Pharmacological Diversity Set（ケミカルスペースの中より薬理活性が見込まれる範囲から構成されたPharmacologyとChemistry両面の多様性を備えるセット、10,240化合物）、The Spectrum Collection（US-Drug Collection：米国で臨床試験に到達した化合物、1,200個、International Drug Collection：International Pharmacopodia収載既薬、320個、Natural Products Collection：純天然物と天然物誘導体、800個から構成されたライブラリー）、Enamine PDR subset（Drug-like、Representative Diversity、Pharmacological Diversity の各Setの代表的化合物を2:2:1の割合で構成するサブセット、2,000化合物）、LoPac（阻害薬、リガンド、承認薬等、1,280化合物）、FDA-approved Drug Library（FDA承認済み化合物や薬理活性が判明した化合物、USAで臨床試験まで到達した化合物、1,134化合物）、Enamine Extra Collection（Enamine社からの追加購入した化合物、539化合物）、Pfizer Drug（Pfizer社で開発された化合物、90化合物）、Tocriscreen Stem Cell Toolbox（幹細胞関連化合物、80化合物）が提供可能である。

大阪大学の特徴的化合物ライブラリー



[3] 支援技術の利用例

1. 化合物ライブラリーの提供支援を受けヒット化合物を創出

- 1) BINDSの支援申請後、コンサルティングによりハイスループットスクリーニング (HTS)実施のための化合物ライブラリーの選択相談を行う。
- 2) 支援承認後、化合物ライブラリーを取得する。
- 3) 化合物ライブラリーを用いてHTS実施 (LiSCにおいてスクリーニング機器の利用やHTS実施支援を受けることができる)
- 4) チェリーピッキングによる化合物の再評価を行う。
- 5) ヒット化合物に対して、大阪大学薬学研究科構造展開ユニットの創薬化学研究者に相談することもできる。

2. 化合物ライブラリーの分注機器

ECHO アコースティック 分注システム (音響技術を利用したナノリッターの非接触液体分注装置/96ウェル、384ウェル、1536ウェルマイクロプレートへの分注)、HT-アッセイシステム (FLUENT、Freedom EVO200、Freedom EVO100)。



ECHO非接触分注装置



HT-アッセイシステムFLUENT



HT-Plate作製システムFreedom EVO100

[4] 支援担当者の研究概要

大阪大学薬学研究科創薬サイエンス研究支援拠点は化合物ライブラリー・スクリーニングセンター（LiSC）と附属創薬センター（Drug Innovation Center：DiNC）から構成されている。LiSCには製薬会社やバイオベンチャー等でHTS系の構築やHTS実施を担当した創薬研究者が所属しており、HTS系の構築、化合物ライブラリーの分注と提供、HTSの実施などを支援する体制が整っている。またLiSCとDiNCの構造展開ユニット（LEU）や薬物動態・安全性試験ユニット（PKSA）とは相互連携体制が構築されており、創薬サイエンス研究支援拠点においてアカデミア創薬研究をシームレスに支援する体制を整えている。

大阪大学大学院薬学研究科附属化合物ライブラリー・スクリーニングセンターHP：http://www.phs.osaka-u.ac.jp/souyaku_kyoten/about/clsc.html

大阪大学における創薬研究のシームレスな支援体制

薬学研究科 創薬サイエンス研究支援拠点



D1-2 ハイスループットスクリーニングとヒット化合物の周辺探索

標的分子に対するハイスループットスクリーニング系の構築と実施、ヒット化合物の周辺化合物探索の支援

[1] 支援担当者

所属	①大阪大学 大学院薬学研究科	
氏名	①辻川 和丈、谷 昭義、布村 一人、林 邦忠	
AMED 事業	ユニット／領域名 課題名	ケミカルシーズ・リード 探索ユニット（ライブラリー・スクリーニング領域） 創薬基盤の融合による戦略的イノベーション創出 （化合物ライブラリー整備と支援・高度化による創薬研究の推進）
	代表機関 代表者	大阪大学 辻川 和丈
支援技術のキーワード	創薬研究相談、アッセイ系構築、ハイスループットスクリーニング、スクリーニング機器	

[2] 支援技術の概要

アカデミア研究者により創薬標的分子が同定され、その機能や発現等を制御できる化合物をスクリーニングする際、ハイスループットスクリーニング（HTS）化を視野に入れランニングコスト等を加味したスクリーニング系の構築が必須である。しかしアカデミア研究者は創薬経験やHTS系構築の知識や経験が少なく、またスクリーニング機器を保有していない場合もある。

大阪大学薬学研究科創薬サイエンス研究支援拠点の附属化合物ライブラリー・スクリーニングセンター(Compound Library Screening Center: LiSC)では、附属創薬センター構造展開ユニットと連携し、創薬研究相談を受け付ける。またLiSCでは創薬標的分子の化合物ライブラリーを用いたスクリーニングにおいて、スクリーニング機器の利用、HTS系の構築やHTSの実施、ヒット化合物の周辺化合物探索も支援する。

[3] 支援技術の利用例

1. 創薬研究相談

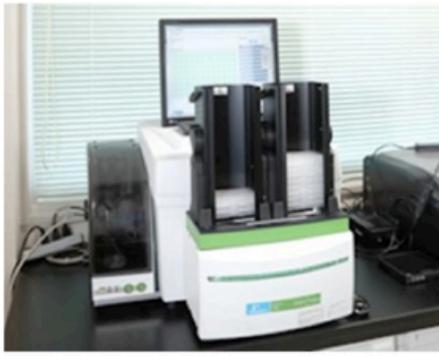
製薬企業出向、出身の創薬研究者が標的分子を基盤とした創薬研究実施のアドバイスをを行う。

2. HTSの実施支援

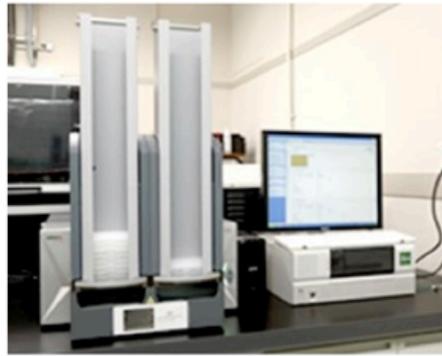
- 1) 創薬研究機器の利用（創薬シーズの探索と評価、HTSにも対応した測定機器や分注機等を多数設置。機器の使用方法は専任担当者が説明）
- 2) アッセイ系構築（創薬標的分子の機能に基づき、HTSに繋げるアッセイ系の構築提案や構築支援を実施）
- 3) HTS系構築・実施（製薬企業でHTS系構築の経験を有する創薬研究者が基準を満たすHTSの構築と実施を支援）
- 4) 周辺化合物の探索（HTSで見出されたヒット化合物に構造が類似した化合物を570万化合物データベースを活用して検索支援）

3. スクリーニング機器、設備

プレートリーダー (Infinite M1000)、Multimode Plate Reader Label-free system (EnSpire)、高感度マルチモードプレートリーダー (GloMax Discover system)、蛍光発光カイネティクス測定器 (FDSS700)、PlexArray HT System (PLEXERA)、フローサイトメーター (MACSQuant)、P2細胞培養室など



プレートリーダー



Multimode Plate Reader
Label-free system



蛍光発光カイネティクス測定器

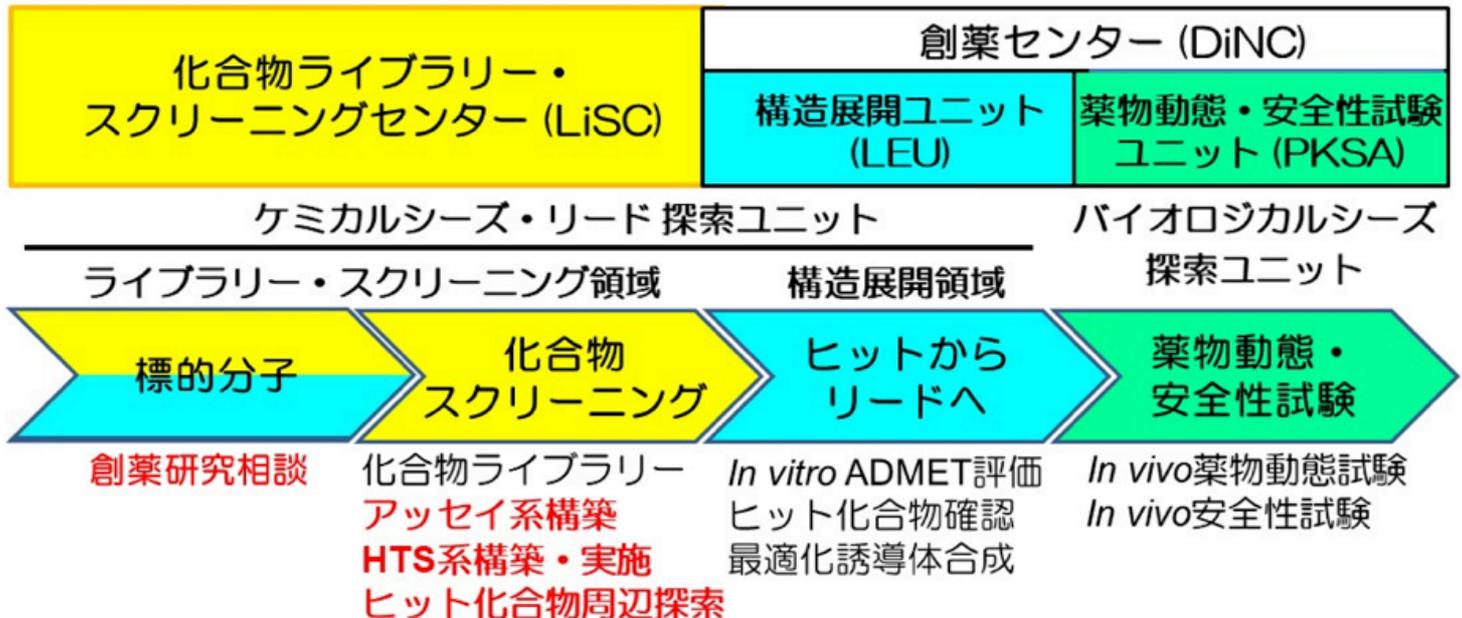
[4] 支援担当者の研究概要

大阪大学創薬サイエンス研究支援拠点は、大阪大学薬学研究科附属化合物ライブラリー・スクリーニングセンター（Compound Library Screening center: LiSC）と附属創薬センター（Drug innovation Center: DiNC）から構成されている。本支援である創薬研究機器の利用、アッセイ系構築、HTS系構築・実施、ヒット化合物の周辺探索は、LiSCに所属する製薬会社やバイオベンチャー等でアッセイ系の構築やHTS等の創薬研究を実施してきた創薬研究者が支援担当する。またLiSCとDiNCのLEUや薬物動態・安全性試験ユニット（PKSA）とは相互連携体制が構築されており、創薬標的分子相談や*in vivo*薬物動態・安全性試験等アカデミア創薬研究をシームレスに支援する体制を整えている。

大阪大学大学院薬学研究科附属化合物ライブラリー・スクリーニングセンターHP：http://www.phs.osaka-u.ac.jp/souyaku_kyoten/about/clsc.html

大阪大学における創薬研究のシームレスな支援体制

薬学研究科 創薬サイエンス研究支援拠点



D1-3 Patient-derived cells (PDC)を用いた創薬評価支援

がん臨床検体由来初代培養細胞の3次元培養系を用いた化合物の評価支援

[1] 支援担当者

所属	①大阪大学 大学院薬学研究科	
氏名	①辻川 和丈、谷 昭義、布村 一人、林 邦忠	
AMED 事業	ユニット／領域名 課題名	ケミカルシーズ・リード 探索ユニット（ライブラリー・スクリーニング領域） 創薬基盤の融合による戦略的イノベーション創出 （化合物ライブラリー整備と支援・高度化による創薬研究の推進）
	代表機関 代表者	大阪大学 辻川 和丈
支援技術のキーワード	PDC、3次元培養、増殖評価、画像解析、遺伝子発現	

[2] 支援技術の概要

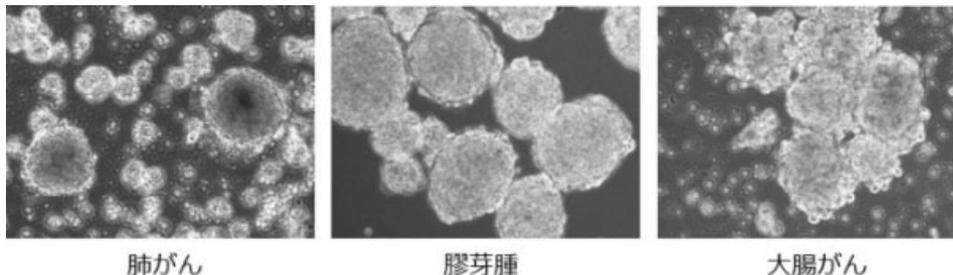
がん細胞を用いた創薬研究では、従来のがん細胞株を用いた評価だけではなく、がん臨床検体を用いて作製された初代培養細胞（patient-derived cells: PDC）を用いた評価の重要性が示されている。さらにより生理的な状態として2次元培養ではなく3次元培養系の構築とその創薬評価系への応用が期待されている。本支援では、脳腫瘍、肺がん、大腸がん等の術後組織から樹立されたPDC初代培養細胞の3次元培養系を用い、低分子化合物の細胞増殖に対する評価を行う。またこれらPDCの遺伝子発現情報も利用して、標的分子のmRNA発現に基づいた化合物の評価にも対応する。

また大阪大学薬学研究科創薬サイエンス研究支援拠点の附属化合物ライブラリー・スクリーニングセンター(Compound Library Screening Center: LiSC)では高度画像解析システムが設置されている。このシステムを利用することにより、PDC 3次元培養により形成されたスフェロイドに対する化合物の作用を画像解析により、より高度に評価可能とする支援も行う。

[3] 支援技術の利用例

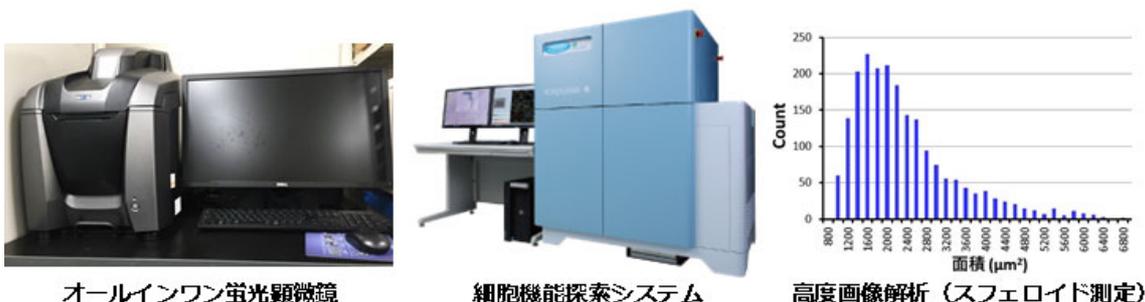
1. 3次元培養PDCの増殖に対する化合物評価

がん術後検体から樹立された脳腫瘍、肺がん、大腸がん等の3次元培養PDCを用いて、化合物添加による細胞増殖性を評価する。



2. 化合物作用の高度画像解析

化合物のPDCスフェロイドに対する作用を、オールインワン蛍光顕微鏡（BZ-X800）やハイスループット細胞機能探索システム（CellVoyager CV8000）を用いた画像解析により定量評価する。

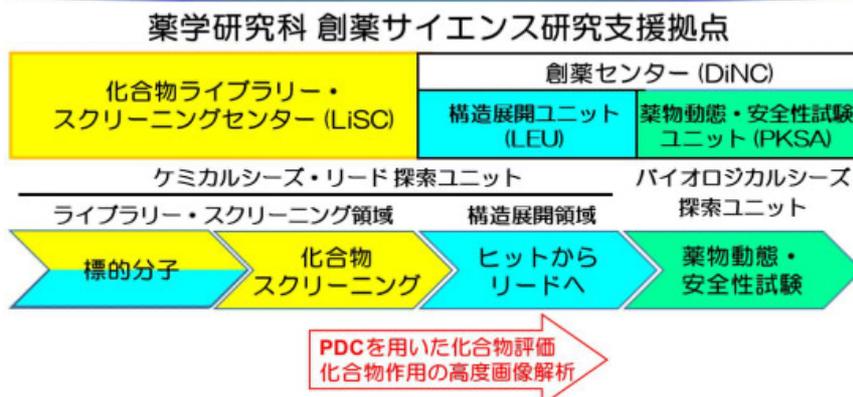


[4] 支援担当者の研究概要

大阪大学創薬サイエンス研究支援拠点は、大阪大学薬学研究科附属化合物ライブラリー・スクリーニングセンター（Compound Library Screening center: LiSC）と附属創薬センター（Drug innovation Center: DiNC）から構成されており、アカデミア等の創薬研究をシームレスに支援する体制を構築している。本支援で使用するPDCはLiSCに所属する研究者が3次元培養系として樹立したものである。またこのPDCを用いた化合物評価と高度画像解析もLiSCに所属する専任研究者が支援担当する。

大阪大学大学院薬学研究科附属化合物ライブラリー・スクリーニングセンターHP：http://www.phs.osaka-u.ac.jp/souyaku_kyoten/about/clsc.html

大阪大学における創薬研究のシームレスな支援体制



D2-1 大規模な東大化合物ライブラリーからのサンプル提供

本邦最大28万種の公的低分子化合物ライブラリーからのサンプル提供相談と無償提供（容器等は実費）、nL微量分注プレート作製

[1] 支援担当者

所属	①東京大学 創薬機構	
氏名	①小島 宏建	
AMED 事業	ユニット／領域名 課題名	ケミカルシーズ・リード 探索ユニット（ライブラリー・スクリーニング領域） 実践創薬ナレッジとイノベーションで拓くリード創出 （大型創薬研究基盤を活用したスクリーニング支援）
	代表機関 代表者	東京大学 小島 宏建
支援技術のキーワード	化合物サンプル、化合物ライブラリー、企業寄託サンプル、マイクロプレート、アッセイレディプレート	

[2] 支援技術の概要

- 28万種所蔵の大規模低分子化合物ライブラリー（製薬企業寄託サンプル取扱は下記と一部異なる）
- 提供サンプル（DMSO溶液）の数や種類の相談
- μ L単位での提供サンプルのマイクロプレートへのチップ分注・提供
- nL単位での微量分注によるAssay readyプレート作製・提供（受取後の化合物分注作業が不要）
- 産学官いずれの研究者も利用可能
- 使用目的や方法とアッセイ結果の通知が必要（創薬以外の目的も歓迎）
- 共同研究的な支援を伴わない場合、一般提供用サンプル利用で得られた成果は利用者に帰属
- サンプル自体は無償。プレート代や送料等の実費請求の場合あり

詳細は弊機構ウェブサイトをご覧ください

<http://www.ddi.u-tokyo.ac.jp/application/>

[3] 支援技術の利用例

600以上の研究テーマに対し、のべ2400万を超えるサンプルを提供してきました。公表可能な成果は弊機構のウェブサイトに掲載しています。

<http://www.ddi.u-tokyo.ac.jp/results/>

<http://www.ddi.u-tokyo.ac.jp/publications/>

[4] 支援担当者の研究概要

生命科学の研究成果を疾病の治療薬や診断薬、農薬等の創製に繋げることは喫緊の課題です。私たちは創薬等のアイデアを持つ研究者に対し、標的分子を制御するツール化合物探索はもとより、創薬目的の場合においては、体内動態や毒性を考慮して、*in vitro*、*in vivo* 実験にて目的薬効を示すリード化合物の創出まで他の支援組織とも連携して支援します。最終的には製品化検討を希望する企業への橋渡しを行い、実用化を目指します。その探索研究を効率的に実施するため、化合物ライブラリー構成の見直しやサンプル提供方法の改善を行っています。

化合物サンプルの提供やアッセイ系構築に関するご相談はいつでも承っています！

代表的な化合物サンプルセットの種類（2019年）

種別	内訳や説明	サンプル数
Core	Pilot random screening用。数個ずつの各類縁化合物有。細胞アッセイ用Core2400を含む	9600
Advanced Core	Core評価後、全サンプルの評価は困難な方向け	22400
Validated	既存薬	1453
	既知薬理活性化合物	1924
General	大規模random screening用。大学化合物を含む	165161
Focused	Protein-protein interactions	10877
	GPCRs	9062
	Kinases	5918
	Ion channels	3916
	Nucleosides	480
	Proteases	479
製薬企業	企業橋渡しの近道、提供契約別途	63431

D2-2 創薬機構の化合物スクリーニング支援

アッセイ系構築相談、ヒット化合物の構造展開への橋渡し、スクリーニング機器利用相談、スクリーニング講習会開催

[1] 支援担当者

所属	①東京大学 創薬機構	
氏名	①小島 宏建	
AMED 事業	ユニット／領域名 課題名	ケミカルシーズ・リード 探索ユニット（ライブラリー・スクリーニング領域） 実践創薬ナレッジとイノベーションで拓くリード創出 （大型創薬研究基盤を活用したスクリーニング支援）
	代表機関 代表者	東京大学 小島 宏建
支援技術のキーワード	化合物スクリーニング、アッセイ系構築、スクリーニング機器、スクリーニング技術、化合物探索	

[2] 支援技術の概要

- 本邦最大規模の公的低分子化合物ライブラリーを活用した最適なアッセイ系構築の相談（初心者からプロレベルまで）
- ご希望により、弊機構内の構造展開ユニット（宮地弘幸 担当）での将来的な合成展開を見据えたコンサルティング
- 高額なキットでは実施しにくいリン酸化酵素のアッセイを本学が開発した蛍光法により低コストで実施可能（糖転移酵素にも応用可能）
- スクリーニング機器の利用相談
吸光/蛍光/発光プレートリーダー（PHERAstar）
蛍光/発光プレートイメージャー（FDSS7000）
細胞イメージャー（ArrayScanVTI）
高速フローサイトメーター（HTFC）
LabChipシステム（EZ ReaderII）
SPR測定装置（Biacore T200）
ITC測定装置（iTC200） など
- スクリーニング講習会を随時開催（開催日は弊機構ウェブサイトをご覧ください）
<https://www.ddi.u-tokyo.ac.jp/>

化合物サンプルの提供やアッセイ系構築に関するご相談はいつでも承っています！

[3] 支援技術の利用例

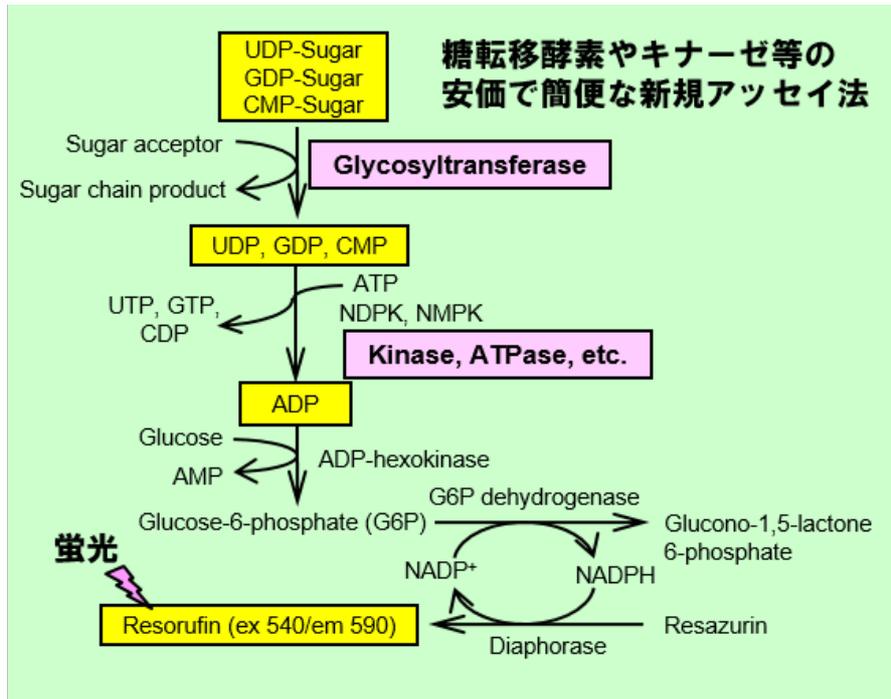
600以上の研究テーマに対し、のべ2400万を超えるサンプルを提供してきました。公表可能な成果は弊機構のウェブサイトに掲載しています。

<http://www.ddi.u-tokyo.ac.jp/results/>

<http://www.ddi.u-tokyo.ac.jp/publications/>

[4] 支援担当者の研究概要

生命科学の研究成果を疾病の治療薬や診断薬、農薬等の創製に繋げることは喫緊の課題です。私たちは創薬等のアイデアを持つ研究者に対し、標的分子を制御するツール化合物探索はもとより、創薬目的の場合においては、体内動態や毒性を考慮して、*in vitro*、*in vivo* 実験にて目的薬効を示すリード化合物の創出まで他の支援組織とも連携して支援します。最終的には製品化検討を希望する企業への橋渡しを行い、実用化を目指します。その探索研究を効率的に実施するため、申請時には打合せを行い、必要に応じて、個々の研究テーマに合わせたスクリーニング系の構築や方法論の開発を行います。私たちはアカデミアのスクリーニングのボトルネックであるアッセイ費用の問題を改善すべく、次図に示すような糖転移酵素 (Kumagai et al. *Anal. Biochem.* **447**, 146-155 (2014)) やキナーゼ (Imamura et al. *SLAS Discovery* **24**, 284-294 (2019)) 等の安価で簡便な蛍光アッセイ方法を開発した。本方法は企業における大規模スクリーニングにも利用いただけるよう、市販キット製品化も行っている。



D3-1 感染症創薬スクリーニング支援

感染症関連創薬シーズを中心とした化合物スクリーニング支援

[1] 支援担当者

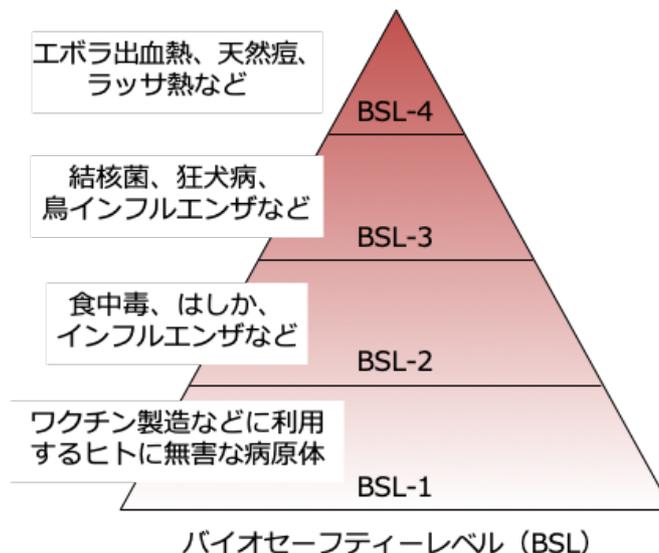
所属	①長崎大学 先端創薬イノベーションセンター	
氏名	①武田 弘資	
AMED 事業	ユニット／領域名 課題名	ケミカルシーズ・リード 探索ユニット（ライブラリー・スクリーニング領域） 実践創薬ナレッジとイノベーションで拓くリード創出 （新興・再興感染症および放射線障害創薬を中心とするHTS支援と高度化）
	代表機関 代表者	長崎大学 武田 弘資
支援技術のキーワード	感染症、化合物スクリーニング、バイオセーフティーレベル（BSL）	

[2] 支援技術の概要

バイオセーフティーレベル（BSL）の高い施設を必要とする感染症関連創薬シーズに対して、化合物スクリーニングの支援を行う。

化合物には東京大学創薬機構が保有・管理している28万種からなる低分子化合物ライブラリーを使用。

感染症関連シーズでは、大規模なハイスループットスクリーニングが難しい場合が多々ある。その際には、インシリコスクリーニングについての相談にも応じる。



[3] 支援技術の利用例

普段の研究で使用しているBSL施設に創薬スクリーニングに必要な機器が揃っていない、当初は感染症を視野に入れていなかった創薬シーズだが、感染症への応用も検討してみたい、など様々なご相談に対応。

感染症関連以外のシーズについてもスクリーニング支援を行うので、ぜひご相談を。

[4] 支援担当者の研究概要

長崎大学では、2010-2012年度に文部科学省最先端研究基盤事業として「化合物ライブラリーを活用した創薬等最先端研究・教育基盤の整備」が行われ、創薬におけるハイスループットスクリーニングを行うための機器が設置された。さらにその機器を活用したアカデミア創薬を推進することを目的に、2012-2016年度には創薬等支援技術基盤プラットフォーム事業として「大型創薬研究基盤を活用した創薬オープンイノベーションの推進」が進められ、多くの創薬課題の支援と創薬スクリーニング系、アッセイ系の高度化研究が行われてきた。

2017年度からは、これまで薬学部を中心に進めてきた創薬事業を、全学を挙げての事業へと展開していくため、全学組織である先端創薬イノベーションセンターが長崎大学における創薬事業を統括することになった。同センターには、基礎部門に加えて、橋渡し部門や臨床試験部門があり、長崎大学病院臨床研究センターとの連携のもとで、常に医師主導型治験や企業導出などの出口戦略を意識した創薬を進めている。

長崎大学では、熱帯医学研究所を中心に、古くから感染症研究において実績を積み上げてきた。それを活かして、様々な角度から感染症関連シーズの創薬を支援する。



D3-2 海洋微生物抽出物ライブラリーを用いた創薬スクリーニング支援

海洋微生物抽出物ライブラリーを用いたスクリーニング支援、ヒット抽出物からの活性成分の単離・同定

[1] 支援担当者

所属	①長崎大学 先端創薬イノベーションセンター	
氏名	①武田 弘資	
AMED 事業	ユニット/領域名 課題名	ケミカルシーズ・リード 探索ユニット（ライブラリー・スクリーニング領域） 実践創薬ナレッジとイノベーションで拓くリード創出 （新興・再興感染症および放射線障害創薬を中心とするHTS支援と高度化）
	代表機関 代表者	長崎大学 武田 弘資
支援技術のキーワード	天然化合物、海洋微生物、化合物スクリーニング	

[2] 支援技術の概要

長崎大学独自の海洋微生物抽出物ライブラリーの提供。

スクリーニング結果に応じて抽出物の再提供、再調製を行い、最終的にはヒット抽出物の大量調製から活性成分の単離・同定までを支援。

[3] 支援技術の利用例

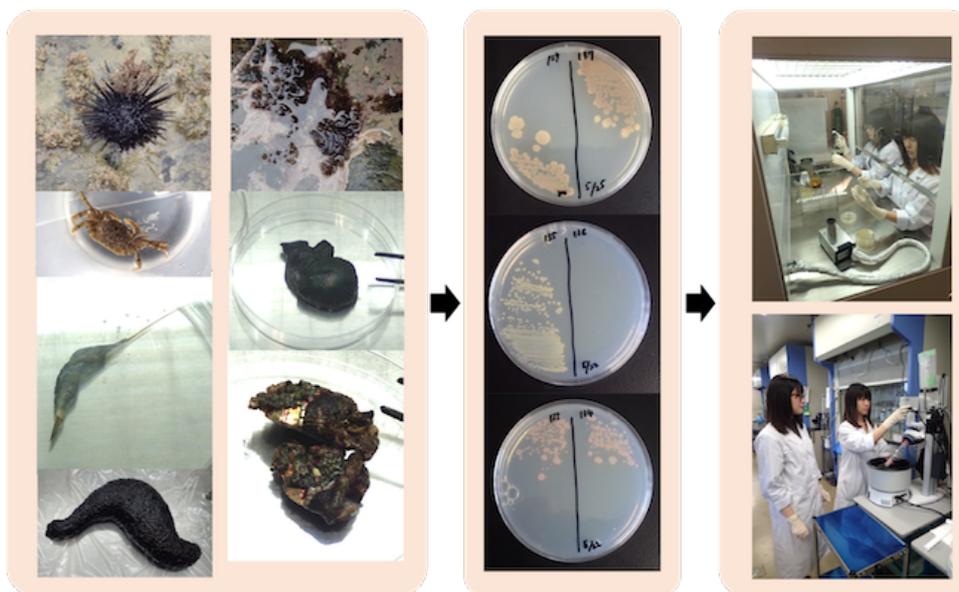
- 新規の構造を持つ化合物の取得を目指した創薬スクリーニング。
- 化合物の混合物である微生物由来抽出物をスクリーニングするため、スループットの低いアッセイ系でもスクリーニングが可能。

[4] 支援担当者の研究概要

長崎大学では、長崎県の豊富な海洋資源を創薬に活用することを目的に、大学オリジナルの海洋微生物抽出物ライブラリーの構築を進めている。我が国で最も島嶼の多い長崎県は、本土側にも複雑な海岸線を多く有し、その総延長は北海道について全国第2位である。それは海洋生物の多様性が高いことを物語っており、広いケミカルスペースを持つ天然化合物の源泉が豊富に存在することを意味している。

県内各地から収集してきた様々な海洋動物や海藻などのサンプルを細断し、海水寒天培地上に静置しておくことで、それらに付着したり、共生したりしている様々な微生物を比較的容易に単離することができる。それらをさらに液体培養し、様々な天然化合物を含み、かつ創薬スクリーニングに適した性状になるように抽出物を調製する。長崎大学では、過去2度にわたって県内で海洋微生物の大規模なサンプリングを行い、1万8千種類を越える微生物を単離し、保存している。その保存株を順次、再培養して抽出物を調製するとともに、本学海洋未来イノベーション機構や水産・環境科学総合研究科などの協力の下、新たな微生物の収集活動も行っている。

2021年3月現在、540種の抽出物を提供しているが、今後も拡充していく予定である。ヒット抽出物産生微生物の大量培養ならびに大量調製については北里大学岩月グループと連携しながら進め、活性成分の単離・同定については長崎大学薬学部天然物化学系、合成化学系研究室が中心となって支援を行う。



D3-3 非RI細胞障害性アッセイシステム

細胞障害性を指標としたアッセイ系・スクリーニング系の構築

[1] 支援担当者

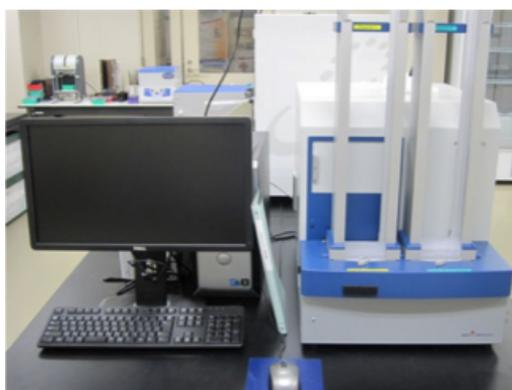
所属	①長崎大学 先端創薬イノベーションセンター	
氏名	①田中 義正、武田 弘資	
AMED 事業	ユニット／領域名 課題名	ケミカルシーズ・リード 探索ユニット（ライブラリー・スクリーニング領域） 実践創薬ナレッジとイノベーションで拓くリード創出 （新興・再興感染症および放射線障害創薬を中心とするHTS支援と高度化）
	代表機関 代表者	長崎大学 武田 弘資
支援技術のキーワード	細胞障害、非RI、時間分解蛍光、化合物スクリーニング	

[2] 支援技術の概要

新規PD-1免疫チェックポイント阻害剤併用療法の開発にあたって、新規キレート剤前駆体を用いた非RI細胞障害性アッセイシステムを確立した。

このアッセイシステムを用いた新規スクリーニング系の構築ならびにスクリーニングの実施を支援。

本システムでは、マルチプレートリーダー（PHERAstar）を用いて、時間分解蛍光を測定。



マルチプレートリーダー

[3] 支援技術の利用例

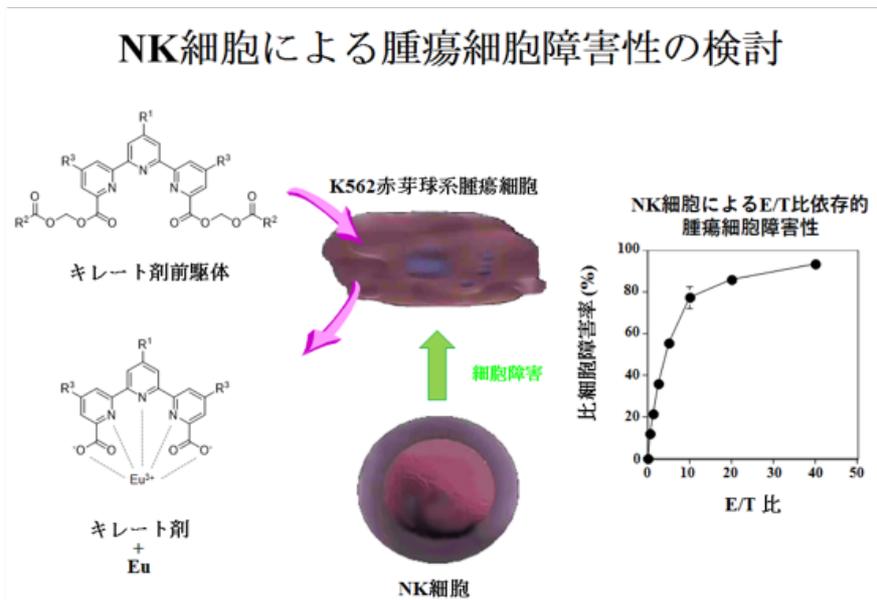
- CD8陽性キラー $\alpha\beta$ 型T細胞が、MHCクラスI/抗原性ペプチド複合体を認識する際の細胞障害性を測定。
- $\gamma\delta$ 型T細胞が非ペプチド性抗原を認識する際の細胞障害性を測定。
- NK細胞がK562などの腫瘍細胞を認識する際の細胞障害性を測定。
- CD16陽性免疫エフェクター細胞による抗原依存的細胞障害性を測定。

[4] 支援担当者の研究概要

支援者らは、これまでに、PD-1免疫チェックポイント阻害作用のある抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体などを樹立し、*in vitro*及び*in vivo*の系において、これらの抗体が抗腫瘍効果を示すことを明らかにしてきた。その際、*in vitro*における細胞障害アッセイは、放射線を用いたクロミウムリリス法を用いてきた。しかし、ハイスループット実験を行う際には、 γ 線などの放射線を用いることは困難である。そこで、新規キレート剤前駆体を有機合成し、非PI細胞障害性アッセイシステムを構築した。

実際の実験手順は以下のとおりである。

- 新規キレート剤前駆体により、標的細胞を標識する。
- 標的細胞内で、加水分解酵素によりキレート剤前駆体が、キレート剤になる。
- 標識化した標的細胞に免疫エフェクター細胞を作用させる。
- 標的細胞が障害を受けると、キレート剤が漏出する。
- 培養上清にEuを添加し、時間分解蛍光を測定する。



D4-1 特殊ペプチド探索技術が加速する生命科学と創薬の支援

特殊ペプチドライブラリーを用いたケミカルリード化合物の探索、生理活性検討における小スケール化学合成および活性評価

[1] 支援担当者

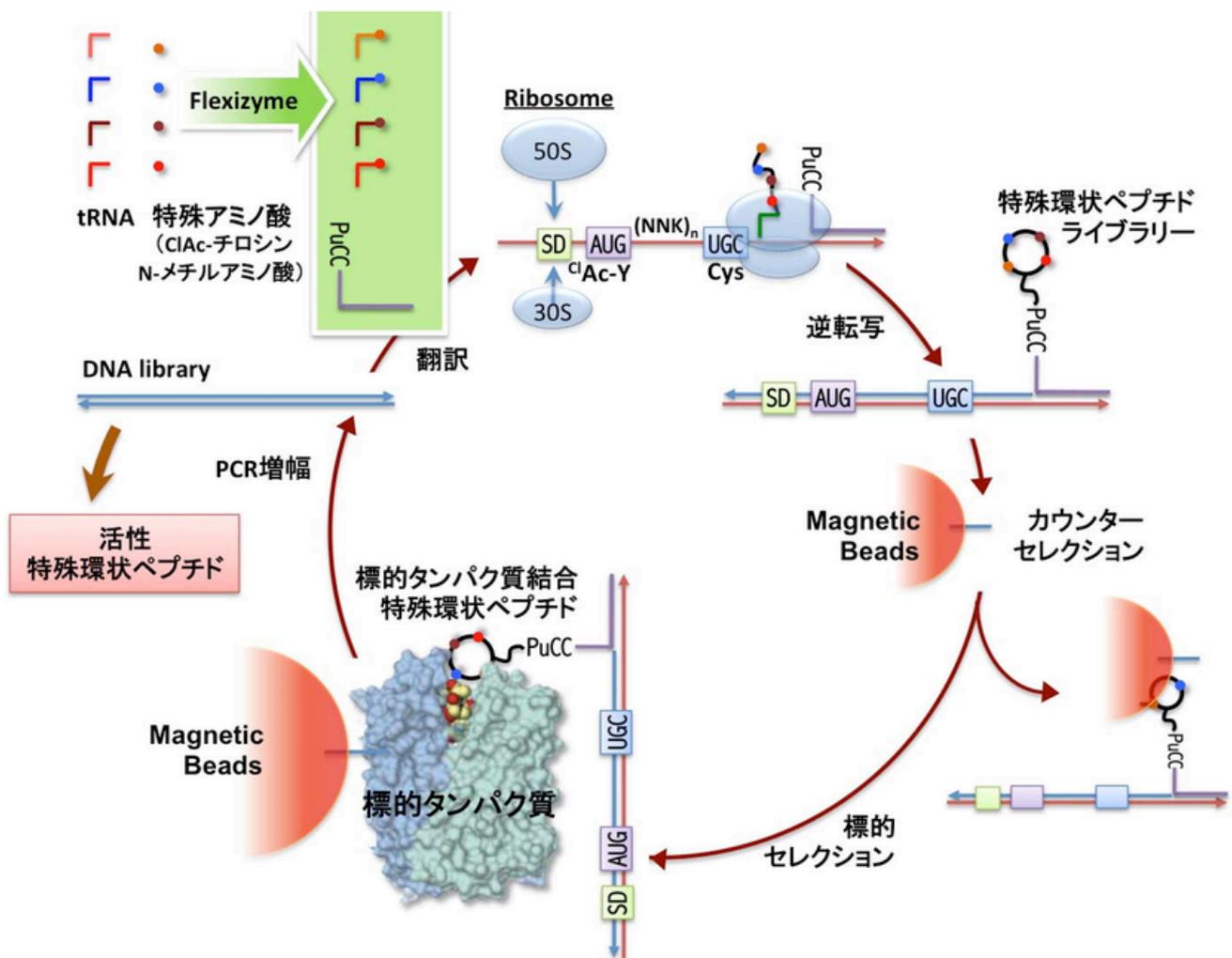
所属	①東京大学大学院 理学系研究科	
氏名	①菅 裕明	
AMED 事業	ユニット／領域名 課題名	ケミカルシーズ・リード 探索ユニット（ライブラリー・スクリーニング領域） 特殊ペプチド探索技術が加速する生命科学と創薬の支援
	代表機関 代表者	東京大学 菅 裕明
支援技術のキーワード	特殊ペプチド、大環状ペプチド、RaPIDシステム、遺伝暗号リプログラミング、フレキシザイム	

[2] 支援技術の概要

本事業計画の「支援」では、菅らが開発した特殊ペプチド探索技術RaPIDシステムを駆使し、被支援者が望む標的タンパク質に対して高親和性をもつ特殊ペプチドリガンドを1兆種類からなるライブラリーから探索、発見し、化学合成した特殊ペプチド化合物を被支援者に提供することを目的とする。特に、本計画では一般的な低分子化合物スクリーニングではヒット化合物が得られていない、あるいは得難い、いわゆるnon-druggableな標的に対して薬物候補を発見し提供する支援を優先して行う。その中には、蛋白質間相互作用の阻害剤（PPI阻害剤）や受容体膜蛋白質の活性化（アゴニスト）といった、これまで開発が難しかった薬剤開発にも果敢に挑む。また前述の支援で獲得した特殊環状ペプチドにおいては、生体内での安定性や滞留性を考慮した高度化支援も合わせて行う。

支援に供する技術

- **フレキシザイム技術**
特殊アミノ酸を望みのtRNAにアシル化を可能にする。
- **カスタム無細胞翻訳系（FITシステム）**
翻訳系内の任意の翻訳因子を系内から取り除き、フレキシザイムで調製されたアシルtRNAと組み合わせることで、任意のコドンに特殊アミノ酸を割り当て、翻訳による特殊ペプチドの合成を行う。
- **RaPIDシステム**
FITシステムとmRNAディスプレイを組み合わせた技術で、任意の標的に高親和性をもつ特殊ペプチドを、1兆種類の特殊ペプチドライブラリーから探索を可能にする。
- **特殊ペプチドの化学合成**
RaPIDシステムで得られた特殊ペプチド配列を化学合成し、十分量（数mgから数百mg）を提供する。



「高度化」においてはRaPIDシステムを運用できる2腕ロボット、SENTAKun（安川電機製造）をユーザーフレンドリーにするため、ロボットの生産元にプログラムの再開発を委託し、その改良プログラムに適したプロトコールを新たに確立する。それにより、様々な条件下で標的タンパク質に対するRaPID探索を可能にするセミ自動化システムへ進化させ、支援を加速する。



[3] 支援技術の利用例

本技術を活用し、これまでに多数の支援を行ってきた。そのうち、顕著な例として2例を挙げる。

大阪大学蛋白質研究所の高木淳一教授との支援・共同研究では、PlexinB1を標的とした特殊環状ペプチドの探索を進め、目的の活性種を単離した。そのうち、最も強力に結合し、リガンドであるSema4Dとの相互作用をモジュレートする特殊ペプチドについて詳細な検討を行った結果、

(1) X線結晶構造解析によりPlexinB1に結合する特殊環状ペプチドはアロステリックに作用することが明らかとなった、(2) 結合をモジュレートすることで生理活性を発揮することも判明した、(3) 高度化によって改良をした特殊ペプチドは動物実験でも有効な生理活性を示すことが判明した(未発表データ)。これらの成果の一部は、Cell Chemical Biology (2016, 23, 1341-50) およびBioconjugate Chemistry (2018, 29, 1847-1851) に発表した。

金沢大学がん進展制御研究所の松本邦夫教授との支援・共同研究では、HGF標的とした特殊環状ペプチドの探索を進め、目的の活性種を単離した。そのうち、最も強力に結合し、レセプターであるcMETとの相互作用をモジュレートする特殊ペプチドについて詳細な検討を行った結果、

(1) 特殊ペプチドはプロテアーゼでプロセシングを受けた活性型に選択的に作用することが明らかとなった、(2) 特殊ペプチドはHGFの複数のドメインに同時に結合することがわかった、(3) 特殊ペプチドがHGFに結合することによりHGFの構造ダイナミクスが変化し、活性フォームをとれないことが判明した。これらの成果の一部は、Nature Chemical Biology (印刷中) に発表した。

[4] 支援担当者の研究概要

支援を担当する東京大学菅裕明教授は、「特殊ペプチド」という独自の創薬モダリティーを創出した世界屈指の研究者である(特殊ペプチドという言葉自体が菅教授の造語)。菅の創出したRaPIDシステムは、標的へ強力に結合し、高生理活性を有する特殊ペプチドを短時間で獲得することを可能にした技術である。本支援では、それを駆使することで、被支援者の研究に資する特殊ペプチド化合物を発見し、被支援者に提供する。

D5-1 スクリーニング支援（HTS機器の技術支援およびアッセイ系構築を支援）

ハイスループットスクリーニング機器の技術支援、アッセイ系構築支援

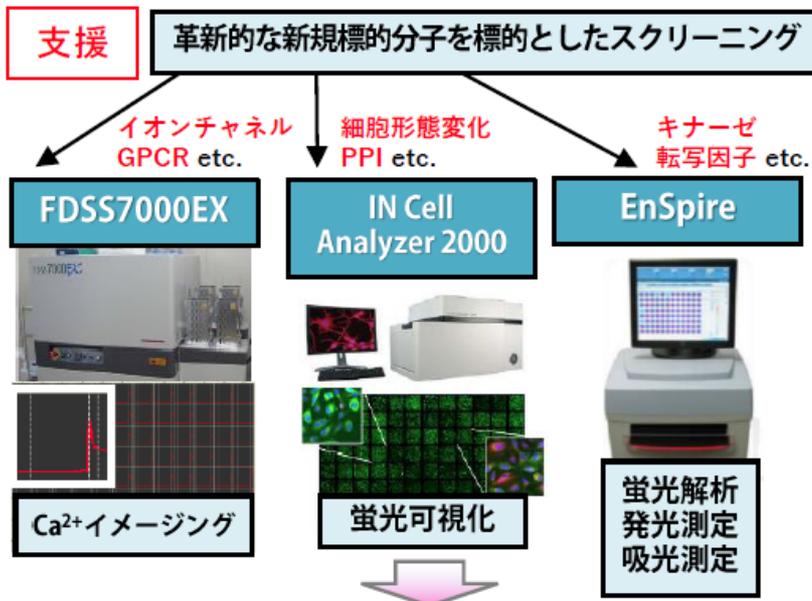
[1] 支援担当者

所属	①九州大学 大学院薬学研究院グローバルヘルスケア分野	
氏名	①山下 智大	
AMED 事業	ユニット／領域名 課題名	ケミカルシーズ・リード 探索ユニット（ライブラリー・スクリーニング領域） グリーンファルマを基盤にした創薬オープンイノベーションの推進
	代表機関 代表者	九州大学 大戸 茂弘
支援技術のキーワード	ハイスループットスクリーニング、既承認医薬品、カルシウムイメージング法、フェノタイプアッセイ	

[2] 支援技術の概要

難治性疾患に対する創薬育薬を目指したスクリーニング支援

九州大学薬学研究院「グリーンファルマ研究所」のスクリーニング特化フロアに設置された多様なハイスループットスクリーニング（HTS）機器を利用



システム創薬リサーチセンター
「グリーンファルマ研究所」

96穴及び384穴プレートを利用した多検体評価を支援可能

[3] 支援技術の利用例

既承認薬ライブラリー及び21万化合物ライブラリーを利用したスクリーニングの実施

自動分注機であるBiomek NXPと多様なHTS機器を用いることで、学内外合わせて60件以上のスクリーニング支援を実施した。

イオンチャンネル及びGPCRを標的としたカルシウムイメージング法

難治性疾患に関与するイオンチャンネルやGPCRの機能を阻害する化合物の探索を目的に、FDSS7000EXを利用したカルシウムイメージング法にて実施可能。

抗がん薬による神経ダメージを保護する既承認医薬品の探索

抗がん薬であるオキサリプラチンによる末梢神経障害に対する予防薬の探索を目的に、IN Cell Analyzer 2000および既存薬ライブラリーを利用して、神経細胞に対するオキサリプラチンの神経傷害への影響を評価した結果、神経障害を抑える有用な既承認薬を発見した。

[Reference]

PLoS One 11: e0165189 (2016)

Yakugaku Zasshi 138:1027-1031 (2018)

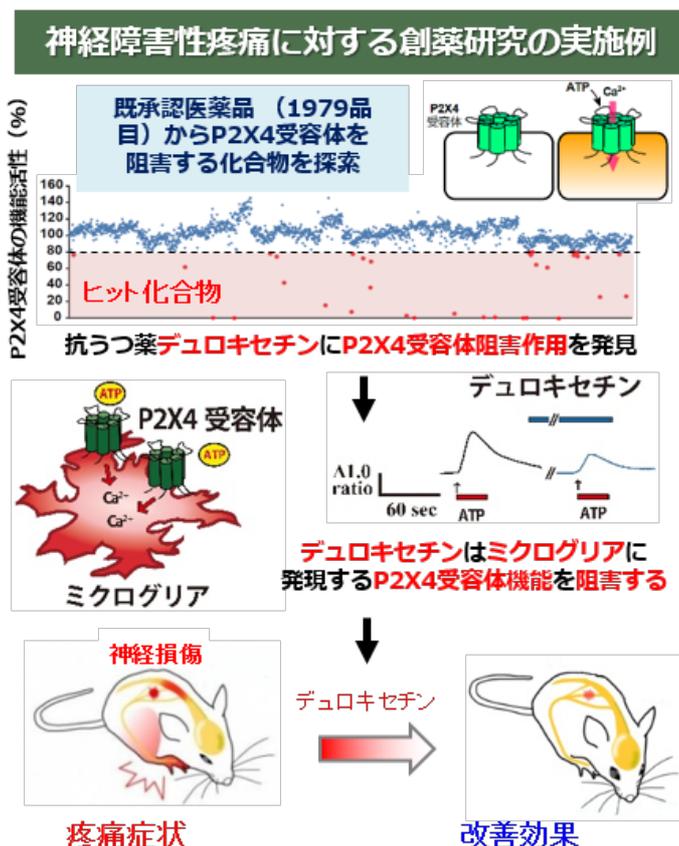
Int. J. cancer (2018) doi:10.1002/ijc.32043

[4] 支援担当者の研究概要

九州大学薬学研究院では既存の承認薬の適応拡大（育薬エコファーマ）と、地球環境にやさしい薬の合成（グリーンケミストリー）を融合させた「グリーンファルマ」を推進している。

具体的な実施例として、我々は難治性の慢性疼痛疾患である神経障害性疼痛の治療薬を探索する目的で、既承認薬ライブラリーによるスクリーニングから神経障害性疼痛に深く関与するイオンチャンネル型ATP受容体P2X4受容体の機能を強力に阻害する抗うつ薬デュロキセチンの発見に成功した（下図）。そしてデュロキセチンがミクログリアに発現するP2X4受容体やヒトP2X4受容体に対しても阻害作用を示すこと、また神経障害性疼痛モデル動物に対して効果を発揮することを明らかにした。さらに、デュロキセチンの構造式をベースに、高活性・高選択性をもつ新規化合物の創製研究を行っている（グリーンファルマ研究）。他にも学内外から多くのヒット化合物の同定に成功し、着実に創薬に結び付ける研究成果が進展している。

このような経験をもとに、アンメットニーズの高い難治性疾患を対象とした創薬及び育薬に関する最先端技術の研究開発を通じて、独創的なアカデミア創薬開発を目指す。



D5-2 ヒット化合物の最適化と合成技術の高度化

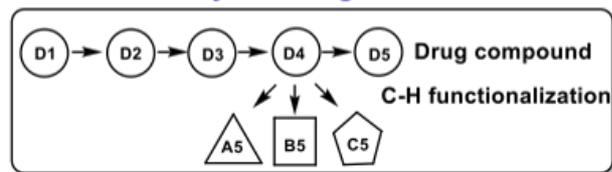
ヒット化合物の最適化、合成技術の高度化により得られた化合物の提供

[1] 支援担当者

所属	①九州大学 大学院薬学研究院環境調和創薬化学分野	
氏名	①大嶋 孝志	
AMED 事業	ユニット/領域名 課題名	ケミカルシーズ・リード 探索ユニット (ライブラリー・スクリーニング領域) グリーンファルマを基盤にした創薬オープンイノベーションの推進
	代表機関 代表者	九州大学 大戸 茂弘
支援技術のキーワード	ヒット化合物の最適化、LCHF、フロー合成システム	

[2] 支援技術の概要

- 効率的な誘導体合成を可能とする Late-Stage C-H Functionalization (LCHF) などの手法を用い、ヒット化合物の最適化を行う。



- 九大独自のフロー合成システムを活用し、医薬品候補化合物の大量合成や、誘導体の自動コンビナトリアル合成を行う。

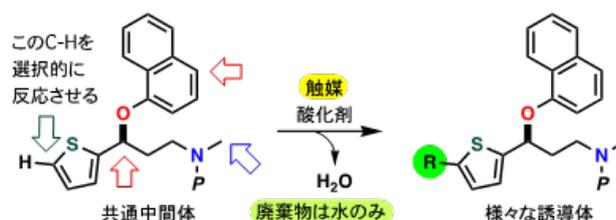


- ヒット化合物の最適化に関しては、九大院薬の王子田教授、平井教授、佐々木教授の研究グループと、フロー合成システムは濱瀬教授の研究グループと協力して支援を行う。

[3] 支援技術の利用例

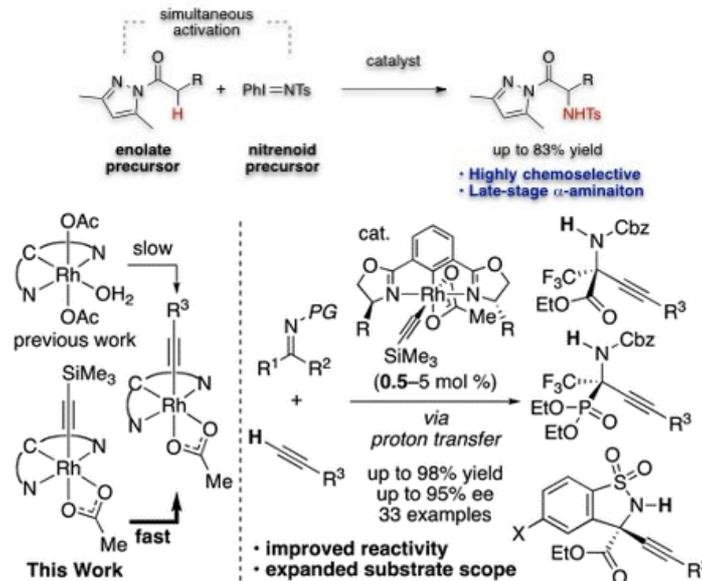
穏和な酸化的Heck反応をLCHFに適用したデュロキセチン誘導体の合成

九大院薬の津田教授、井上教授らがエコファーマによって、ラットの神経障害性疼痛を抑制することを明らかにしたデュロキセチンを、LCHFの技術を用いて高度化した (特願2015-014848、論文作成中)。

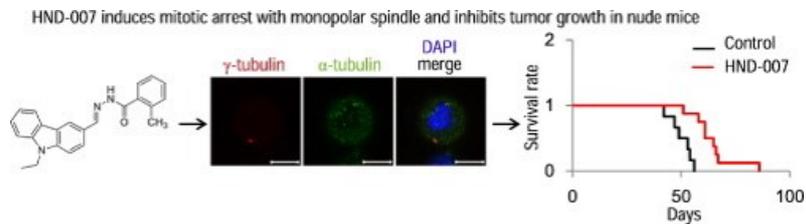


[4] 支援担当者の研究概要

医薬品などの機能性分子を、地球環境に優しい方法で供給する「環境調和型触媒反応」を開発し、様々な生物活性天然物や医薬品の効率的な合成を行うことで、化学・薬学に貢献することを目的に研究を行っている。生物活性化合物に含まれる多種多様な官能基の存在下でも、目的とする官能基のみと選択的に反応させることができる高度な化学選択性を有する反応の開発を行い、ライブラリー構築の迅速化、ヒット化合物最適化の効率化、医薬品同士のカップリングによるハイブリッド医薬品の合成、タンパク質などの生体化合物の直接的な高機能化・ラベル化などの検討を行っている。これまでに多くの協奏機能型触媒を開発し、天然物や医薬品などの生物活性化合物及びその誘導体の効率的な合成に応用し、非天然 α -アミノ酸誘導体の触媒的合成法 (*J. Am. Chem. Soc.* **2016**, 138, 2664-2669と6194-6203など)の開発に成功している。



直接的な創薬研究としては、高選択的な分子標的抗がん剤の開発（リードの高度化、大量合成、分子プローブの作成）などを行っている。



D5-3 疾患モデルでの解析（慢性疼痛・掻痒モデルでの解析）

慢性疼痛モデルマウスの作製と薬効評価、慢性掻痒モデルの作製と薬効評価

[1] 支援担当者

所属	①九州大学 大学院薬学研究院ライフィノベーション分野	
氏名	①津田 誠	
AMED 事業	ユニット/領域名 課題名	ケミカルシーズ・リード 探索ユニット（ライブラリー・スクリーニング領域） グリーンファルマを基盤にした創薬オープンイノベーションの推進
	代表機関 代表者	九州大学 大戸 茂弘
支援技術のキーワード	神経障害性疼痛、慢性掻痒、脊髄、ラット、マウス	

[2] 支援技術の概要

慢性疼痛・掻痒モデルマウスの作製と薬効評価

慢性疼痛モデルラット：神経障害性疼痛モデルラット（第5腰髄切断モデル）を作製し、同モデルが呈するアロディニアへの薬効を評価する。

慢性掻痒モデルマウス：アトピー性皮膚炎モデルマウスであるNC/Ngaマウスを使用し、同モデルが呈する引掻き行動への薬効を評価する。

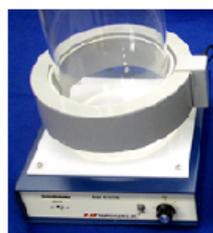
支援

Chungモデル

NC/Ngaマウス



光刺激による新しい
アロディニア評価



引掻き回数測定装置
を用いた慢性掻痒評価

[3] 支援技術の利用例

慢性疼痛・掻痒モデル動物の作製と薬効解析

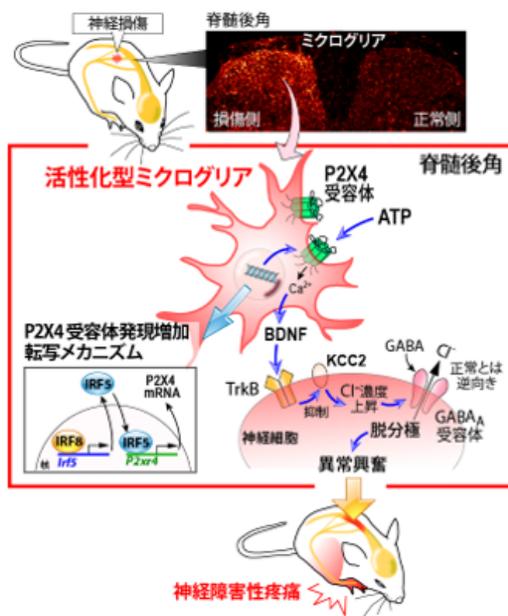
神経障害性疼痛やアトピー性皮膚炎などを対象とした既承認薬の適応拡大（エコファーマ）研究及び創薬研究。

[References]

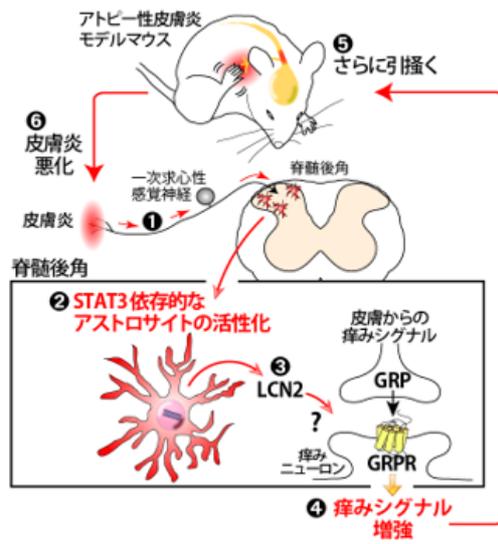
J Allergy Clin Immunol 143(3): 1252-1254 (2019)
eNeuro 5(1). pii: ENEURO.0450-17.2018 (2018)
Nat Rev Neurosci 19: 138-152 (2018)
Nature Commun 7: 12529 (2016)
Nature Med 21: 927-931 (2015)
Nature Commun 5: 3771 (2014)
Cell Rep 1: 334-340 (2012)
PNAS 106: 8032-8037 (2009)
Nature 438: 1017-1021 (2005)
Nature 424: 778-783 (2003)

[4] 支援担当者の研究概要

神経の障害や機能不全により、既存の鎮痛薬に抵抗性を示す神経障害性疼痛が発症する。その発症維持メカニズムは依然として不明であるため、有効な治療薬の開発も遅れているのが現状である。我々は、脊髄後角で活性化したミクログリアに高発現するATP受容体P2X4Rに注目して研究を進め、神経障害後のアロディニアにグリア-ニューロン相互連関が関与していることを明らかにした。



一方、アトピー性皮膚炎等に伴う慢性的な痒みは、抗ヒスタミン薬など既存薬が十分に効かないため、メカニズムの解明と新規治療薬の開発が重要な課題となっている。我々は痒み研究の視点を神経系に向け、慢性掻痒モデルマウスの脊髄後角でアストロサイトが活性化し痒みの慢性化に必要なことを見いだした。この成果は、アトピー性皮膚炎等による痒みの慢性化メカニズムに中枢神経系の機能変化が関与していることを示しており、新しい創薬標的となり得る可能性が考えられる。



D5-4 疾患モデルでの解析（循環器疾患モデルでの解析）

循環器疾患モデルマウスの作製、心循環機能評価

[1] 支援担当者

所属	①九州大学 大学院薬学研究院創薬育薬研究施設統括室 (自然科学研究機構生理学研究所心循環シグナル研究部門)	
氏名	①西田 基宏	
AMED 事業	ユニット/領域名 課題名	ケミカルシーズ・リード 探索ユニット (ライブラリー・スクリーニング領域) グリーンファルマを基盤にした創薬オープンイノベーションの推進
	代表機関 代表者	九州大学 大戸 茂弘
支援技術のキーワード	心血管、運動機能、筋萎縮性疾患、酸化ストレス	

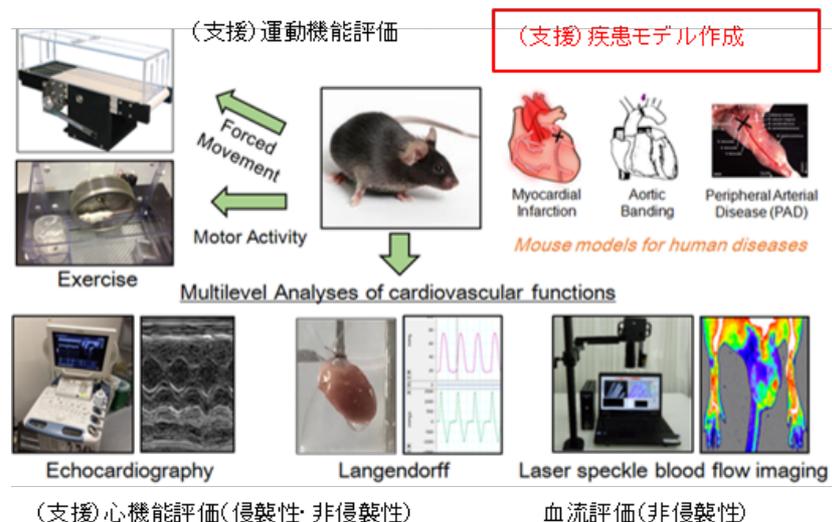
[2] 支援技術の概要

循環器疾患モデルマウスの作成と心循環機能評価

疾患モデルマウス：心不全（心筋梗塞、大動脈狭窄、薬剤誘発性）、閉塞性動脈硬化症、糖尿病、高血圧、悪液質、筋萎縮性側索硬化症

心循環機能評価：左心室収縮力測定、末梢表面血流量測定、運動機能測定、筋重量測定、組織形態観察

血液・尿パラメータ計測：酸化/還元ストレスなど



→ 既承認薬の適応拡大（臨床研究）の実績あり

[3] 支援技術の利用例

各種筋不全疾患モデルマウスの作製と薬効解析

マウス心不全や筋萎縮性疾患、閉塞性動脈硬化症、糖尿病、高血圧を対象とした既承認薬の適応拡大（エコファーマ）研究及び創薬研究。

遺伝子改変による難治性筋萎縮性疾患モデルマウスの作製と薬効解析

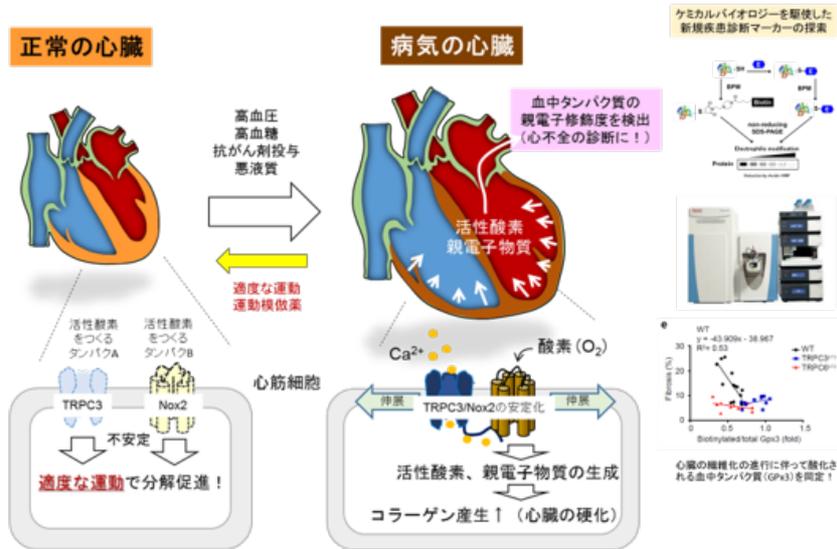
遺伝子改変技術を駆使して筋萎縮性疾患モデルマウスを作出し、既承認薬を中心に薬効評価を行う。

[References]

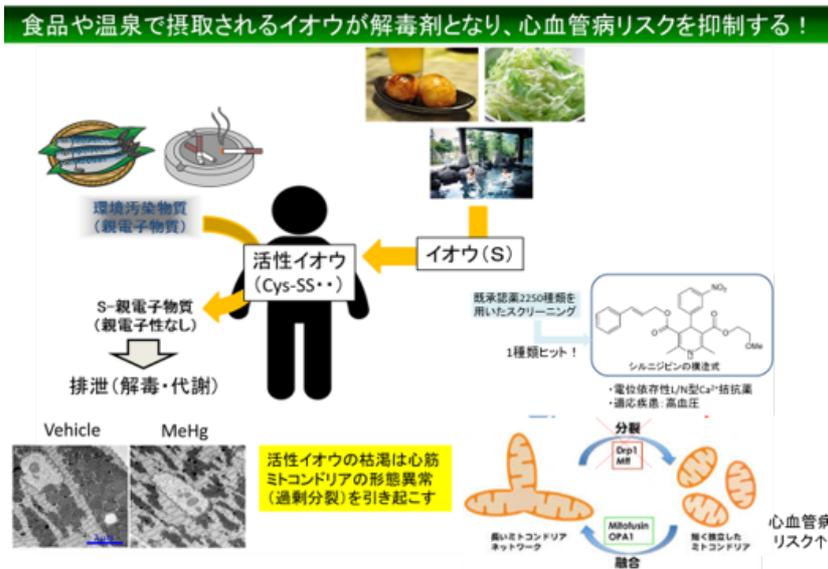
Nishimura A et al., Sci. Signal. 11, eaat5185 (2018)
 Shimauchi T et al., JCI Insight. Aug 3;2(15). pii: 93358 (2017)
 Nishimura A et al., Sci Signal 9(411): ra7 (2016)

[4] 支援担当者の研究概要

全身の血液循環は心筋・血管平滑筋・骨格筋によって制御されており、筋肉の恒常性維持こそが健康寿命を延ばす重要な因子となる。我々は筋肉細胞に共通する細胞恒常性維持機構に着目し、細胞膜上に存在するカチオンチャンネルTRPC3が筋肉の過度な伸展ストレスによって誘発される活性酸素の生成を仲介し、心臓の硬化（線維化）を引き起こすことを明らかにした。また、TRPC3チャンネルを抑制することで抗がん剤誘発性の心筋萎縮や心不全も抑制されることを最近明らかにしており、本メカニズムが筋肉の病的可塑性に共通する機構であることを明らかにしつつある。



一方、環境中から取り込まれる様々な化学物質やストレス仲介因子による心血管リスク増悪作用の原因がミトコンドリアの過剰分裂にあることを明らかにし、その根底には親電子物質とその代謝・消去を担う内因性求核物質（活性硫黄）とのバランス破綻があることを見いだした。活性硫黄はミトコンドリア分裂促進タンパク質Drp1のシステイン側鎖に含まれており、これが親電子物質により引き抜かれ枯渇することでミトコンドリアの過剰分裂が起こることも明らかにしている。さらに、これを選択的に抑制する既承認薬（シルニジピン）の同定にも成功している。



D5-5 疾患モデルでの解析（がんモデルでの解析）

各種がんモデルマウスの作製、抗がん効果解析、抗がん剤の適正使用

[1] 支援担当者

所属	①九州大学 大学院薬学研究院薬剤学分野	
氏名	①大戸 茂弘、松永 直哉	
AMED 事業	ユニット／領域名 課題名	ケミカルシーズ・リード 探索ユニット（ライブラリー・スクリーニング領域） グリーンファルマを基盤にした創薬オープンイノベーションの推進
	代表機関 代表者	九州大学 大戸 茂弘
支援技術のキーワード	体内時計、がん移植モデル動物、薬効評価、炎症モデル動物	

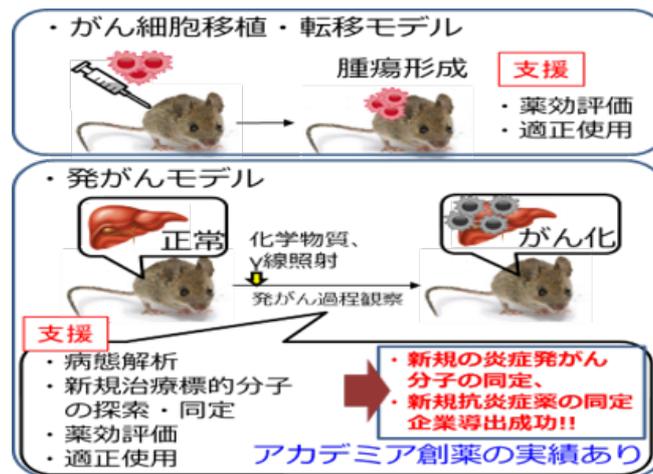
[2] 支援技術の概要

各種がんモデルマウスの作成と薬効評価

がん種：マウス結腸がん、マウス腎がん、マウス乳がん及びマウスメラノーマ細胞の移植モデル、薬剤誘発性がんモデルマウス など

抗がん効果解析：がん細胞の増殖測定、他臓器への転移数の測定、体重変化測定 など

抗がん剤の適正使用：抗がん効果に及ぼす投薬時刻の影響解析（医薬品の適正使用方法の評価） など



[3] 支援技術の利用例

各種がん細胞移植モデルマウスの作製と薬効解析

マウス腎がんまたは結腸がん移植モデルマウスを対象とした、抗がん剤の薬効評価及び薬物送達技術の開発。

遺伝子改変によるがん化細胞移植モデルマウスを対象とした薬効解析

遺伝子改変により作製したがん細胞の移植モデルマウスを作製し、各種抗がん剤の薬効評価。

[References]

Naoya M et al., Cancer Res. 2018 Jul 1;78(13):3698-3708.

Okazaki H et al., Cancer Res. 2014 Jan 15;74(2):543-51.

Horiguchi M et al., Cancer Res. 2012 Jan 15;72(2):395-401.

Okazaki F et al., Cancer Res. 2010 Aug 1;70(15):6238-46.

[4] 支援担当者の研究概要

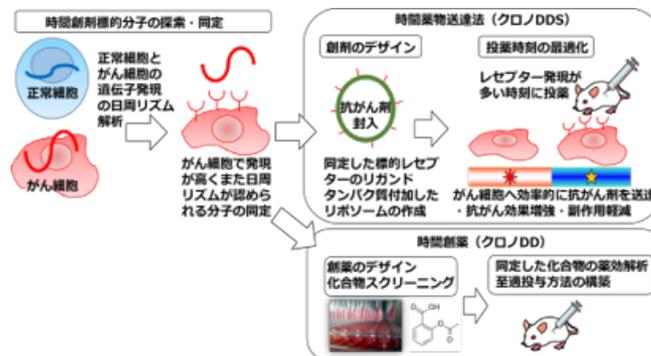
多くの生体機能には約24時間を1周期とする概日リズムが認められ、その本体は視神経が交差する視交叉上核に位置する。近年、これら概日リズムは時計遺伝子と呼ばれる一連の遺伝子群が約24時間周期で発現の増減を繰り返すことによって引き起こされることが明らかになってきた。支援者は、抗がん剤を中心に体内時計の分子機構を基盤にした時間薬物送達方法の構築及び、体内時計機構に作用する薬の探索と創薬を通して、時間生物学の実践的臨床応用への道を切り開くことを目的に、以下の研究を実施している。これらの研究は、大学の研究室のみならず製薬企業や医療施設との共同で展開し、時間生物学的所見を創薬及び医薬品適正使用に応用するシステムの構築を目指している。

研究1) 薬の作用や体内動態の日周リズムを制御している要因を体内時計の分子機構の側面から解明し、それをリズムマーカーとした時間薬物送達方法の開発

研究2) 体内時計に作用する薬の探索と生体リズム（生体内環境）を操作することによる時間薬物送達方法の開発

研究3) 生体リズムを考慮した時間薬物送達システムの開発

研究4) 体内時計機構を基盤とする時間創薬及び医薬品適正使用（クロノドラッグリポジショニング）に至るシステムの構築



支援者は正常細胞とがん細胞との遺伝子発現リズムを解析し、がん細胞で特徴的な発現リズムをもつ分子を同定し、同定した分子の発現リズムを標的に薬物をがん細胞により多く送達する技術（時間薬物送達法, 2010 Okazaki F et al., Cancer Res. 2010 Aug 1;70(15):6238-46.）の構築、また同定した分子を標的とした新たな医薬品の開発（時間創薬, Matsunaga et al., EBioMedicine. 2016 Nov;13:262-273.）に成功している。

D5-6 動物モデルでの薬物動態解析

動物を対象にしたヒット化合物の薬物動態解析

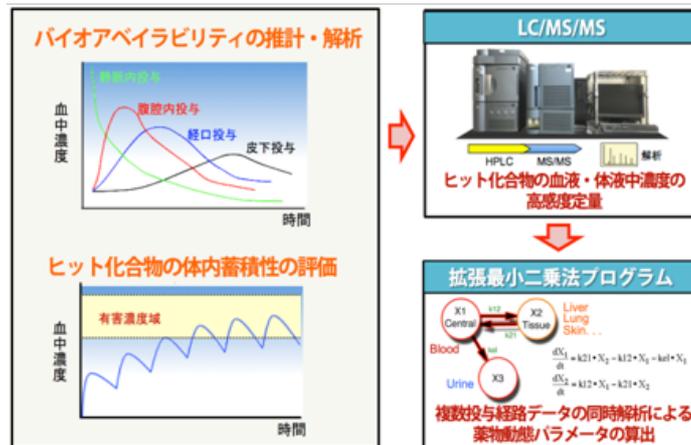
[1] 支援担当者

所属	①九州大学 大学院薬学研究院グローバルヘルスケア分野	
氏名	①小柳 悟	
AMED 事業	ユニット/領域名 課題名	ケミカルシーズ・リード 探索ユニット (ライブラリー・スクリーニング領域) グリーンファルマを基盤にした創薬オープンイノベーションの推進
	代表機関 代表者	九州大学 大戸 茂弘
支援技術のキーワード	薬物動態、ADME、概日リズム	

[2] 支援技術の概要

生体試料中におけるヒット化合物の高感度検出法を構築し、疾患モデルの対象となるマウス・ラットを用いてヒット化合物の体内動態解析を行う。得られたデータからバイオアベイラビリティと体内蓄積性を評価し、至適投与量と至適投与法の提案を行う。

支援



[3] 支援技術の利用例

動物を対象にしたヒット化合物の薬物動態解析

疾患モデル動物を用いたヒット化合物及び既承認薬の体内動態解析。

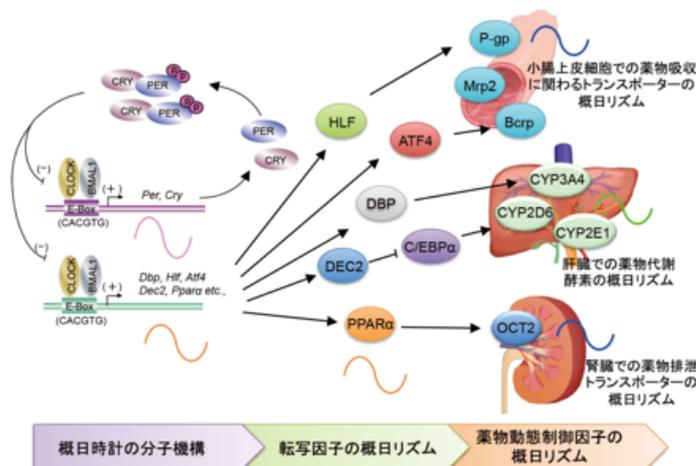
[References]

EBioMedicine 13:262-273, 2016.
Mol Pharmacol 88: 29-37, 2015.
Mol Pharmacol 85: 715-722, 2014.
J Biol Chem 289: 25296-25305, 2014.
J Biol Chem 287: 35669-35677, 2012.
J Biol Chem 287:17224-17231, 2012.
Hepatology 48: 240-251, 2008.
Gastroenterology 135: 1636-1644, 2008.

[4] 支援担当者の研究概要

一般に、薬の効果は作用部位における「薬物への感受性」と、その部位における「薬物の濃度」によって規定されるが、病巣部位へ薬の移行や速さは吸収・分布・代謝・排泄の各素過程によって制御される。ヒトにおける薬物の体内動態に服用時刻による違いがあることは知られていたが、その制御メカニズムは未解明であった。我々は培養ヒト肝細胞を用いた実験において、薬物代謝酵素であるシトクロムP450の発現や活性が時計遺伝子のはたらきによって概日リズムを示す機構を明らかにした。また、トランスポーターも薬物の体内動態制御に関わる重要な因子であるが、動物を用いた基礎実験において、消化管や腎臓でのトランスポーターの輸送能も時計遺伝子の制御によって概日リズムを示すことを明らかにするとともに、消化管での薬物吸収に関わるトランスポーターの概日リズムの制御メカニズムの解明にも成功した。

さらに、製薬企業と共同でサルを用いた研究を実施し、マウス・ラットなどの夜行性動物と昼行性動物における概日リズム制御機構の種差を明らかにした。サルはヒトと同じ昼行性動物であり、シトクロムP450や薬物輸送トランスポーターをコードする遺伝子は両種間で高い相同性を示すことから、得られたデータをもとにヒトにおける至適投薬タイミングの設定が可能になることが期待される。



D5-7 Structure-aided drug discovery

創薬ターゲットとして重要なタンパク質の調製、ヒット化合物探索、ヒット化合物とタンパク質との相互作用解析

[1] 支援担当者

所属	①九州大学 大学院薬学研究院グローバルヘルスケア分野 ②九州大学 大学院薬学研究院蛋白質創薬学分野	
氏名	①Jose Caaveiro ②植田 正	
AMED 事業	ユニット/領域名 課題名	ケミカルシーズ・リード 探索ユニット (ライブラリー・スクリーニング領域) グリーンファルマを基盤にした創薬オープンイノベーションの推進
	代表機関 代表者	九州大学 大戸 茂弘
支援技術のキーワード	Membrane protein, Nanodiscs, Protein structure, Thermodynamics, Protein-ligand interaction.	

[2] 支援技術の概要

- Stimulated by technological improvements, structural methodologies such as X-ray crystallography are increasingly contributing to accelerate the process of drug discovery.
- We employ structure-based methodologies to validate hit compounds and design ligands of higher affinity.

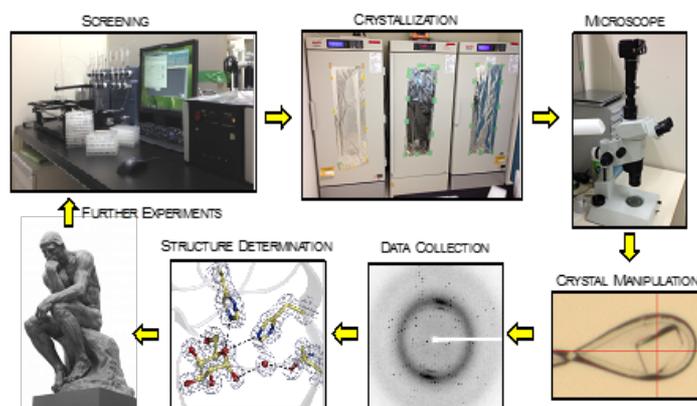


Fig. 1. Flowchart in protein crystallography.

[3] 支援技術の利用例

- Highly purified recombinant protein is subjected to crystallization trials using liquid handling systems.
- Diffraction-quality crystals are generated in well-defined environmental conditions.
- High-resolution structures of target proteins bound to ligands and hit compounds are determined by the soaking and/or the co-crystallization method.

[4] 支援担当者の研究概要

We employ X-ray crystallography, and high-resolution biophysical techniques, to study proteins involved in human diseases such as cancer, infection, chronic pain, Parkinson's disease, and AIDS (Figures 2-6).

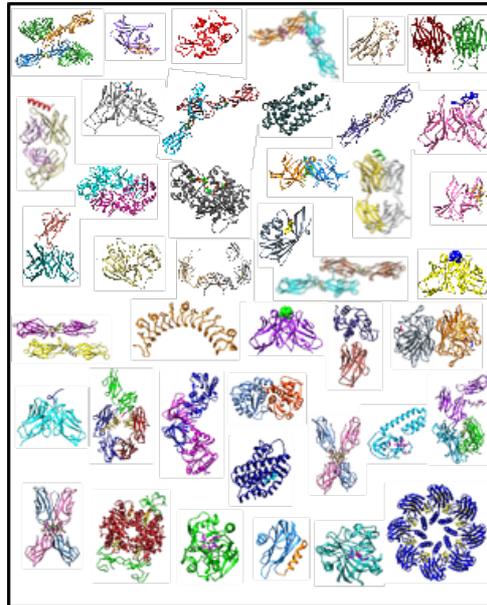


Fig. 2. Catalog of protein structures.

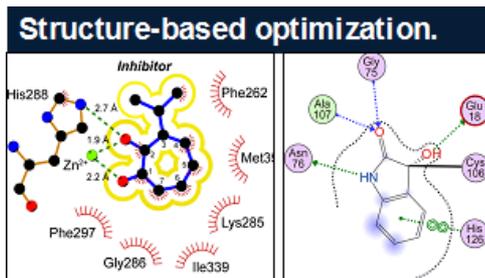


Fig. 3. Optimization of hit compounds.

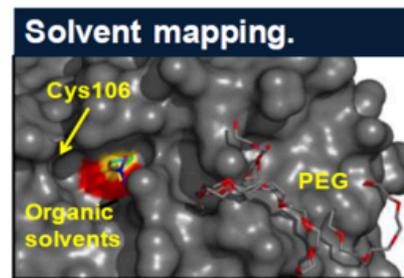


Fig. 4. Special structural techniques.

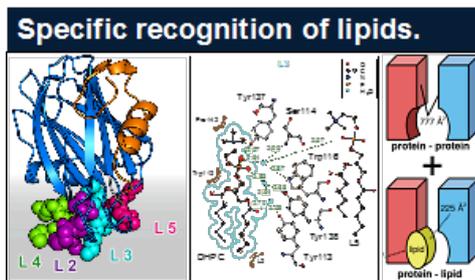


Fig. 5. Membrane protein (MP) with lipids.

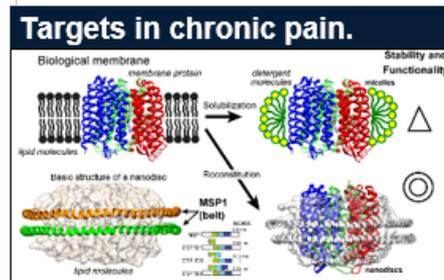


Fig. 6. Manipulation of MP with nanodiscs.

D6-1 化合物スクリーニングと創薬研究機器・受託解析活用支援

化合物ライブラリー提供とハイコンテンツアッセイを中心とするスクリーニング系構築支援、研究機器利用及び高度受託解析支援

[1] 支援担当者

所属	①京都大学 大学院医学研究科	
氏名	①萩原 正敏、奥野 友紀子	
AMED事業	ユニット／領域名 課題名	ケミカルシーズ・リード 探索ユニット（ライブラリー・スクリーニング領域） 臨床研究につながるワンストップ創薬支援
	代表機関 代表者	京都大学 萩原 正敏
支援技術のキーワード		化合物ライブラリー、表現型スクリーニング、機器共用、高次評価支援

[2] 支援技術の概要

京都大学拠点では、先行の創薬等支援技術基盤プラットフォーム事業その他の支援事業によるサポートと、大学既存の共有設備を集約し、現在では医学研究科・医学研究支援センターを中心に、化合物スクリーニング・薬効の高次評価に資する60以上の機器を備える共同利用施設を整備している。また、遺伝子情報解析、質量分析、マウス行動解析、小動物MRI解析、合成展開についての受託解析も行っている。

これら機器及び受託解析について、アカデミア研究者はもとより学外企業研究者も利用可能である。これら機器を利用した説明会の随時開催、所属スタッフ等によるきめ細やかな利用サポートにより、表現型スクリーニングをはじめとした化合物スクリーニング系構築支援、高次評価支援を行う。特に同時に薬学研究科の管理する3万化合物を数える京大独自化合物ライブラリーと、医学研究科で抱える2500を数える機能既知化合物ライブラリーが利用でき、化合物スクリーニングのコンセプト証明及びドラッグリポジショニングには機能既知化合物ライブラリーを、新規構造の候補化合物探索には京大独自化合物ライブラリーと、支援希望者の創薬ターゲット及び研究状況に応じて適した、化合物ライブラリーを使い分けることができる。さらに医学研究支援センター設置の合成展開支援室により、合成展開や製剤化、動物投与に向けた可溶性検討など、候補化合物取得後臨床試験に向け総合的創薬アドバイス及び実務支援を受けることが可能となっている。

京都大学拠点活動：化合物スクリーニングから高次評価まで



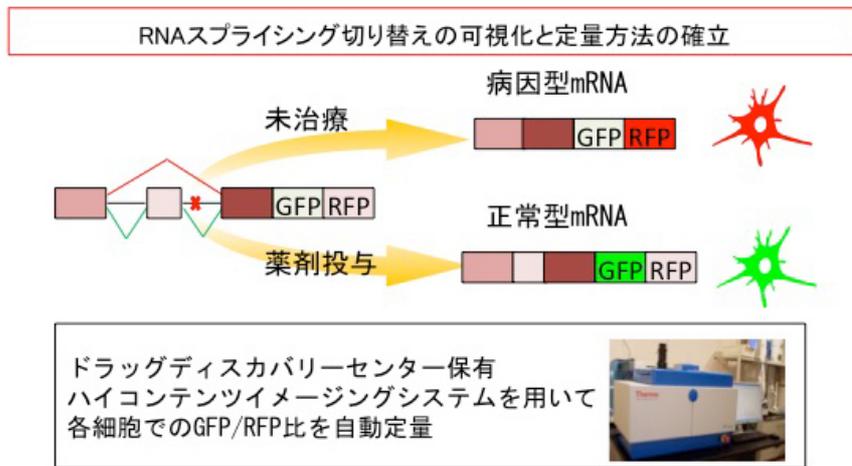
医学研究支援センター各分室及び薬学研究科がそれぞれの専門を活用した支援を行なっている

利用可能機器の例



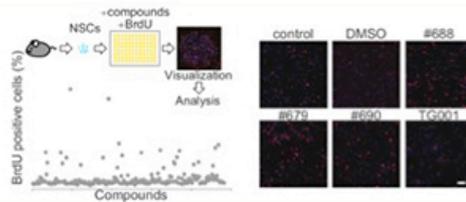
[3] 支援技術の利用例

- 蛍光レポーターとハイコンテツイメージングシステムを組み合わせた、RNAプライシング調節剤スクリーニング系構築支援 (Yoshida et al., 2015、Ohe et al., 2017)



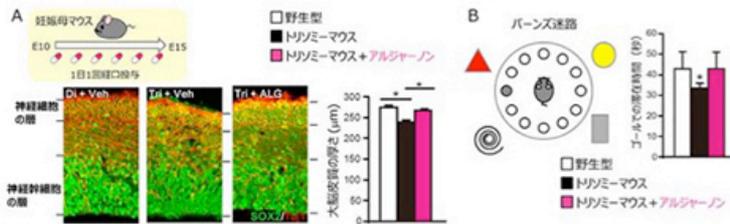
- 蛍光画像スクリーニングから同定したダウン症治療候補化合物のマウス行動解析による動物POC取得(Nakano-Kobayashi et al., 2017)

ダウン症で低下している神経幹細胞の増殖を促進する化合物を探索



スクリーニングは
ドラッグディスカバリー
センター設置機器で実施

ダウン症マウス仔の大脳皮質の形成異常および低下した学習行動が改善



動物POCは
マウス行動解析室で
実施・取得

[4] 支援担当者の研究概要

京都大学は、アカデミア発の研究情報を効率的に臨床研究・治験、企業との共同研究に結び付けられる場の構築を目指している。本事業では、医学研究科・薬学研究科の連携を軸とした初期創薬研究支援から高次評価、動物によるPOC取得を可能とする、研究環境支援を行う。それと同時に、京都大学医学部附属病院・臨床研究総合センター（iACT）、医学研究科「医学領域」産学連携推進機構（KUMBL）との連携のもと、知財確保、非臨床・臨床試験推進及び企業導出に関する支援を進めている。

研究環境支援に関連し、京都大学においては医学研究支援センター内に設置されていた創薬研究支援室「創薬拠点コアラボ」の機能を拡大した「ドラッグディスカバリーセンター」を薬学部構内「医薬系総合研究棟」内に設置した。同研究棟にはベンチャー育成支援スペース「イノベーションハブ京都」が設置運営され、「ドラッグディスカバリーセンター」を中心とする大学の研究環境を企業にも開放することで、創薬・医療機器ベンチャーの開発研究支援とアカデミア発シーズの実用化支援を進めている。「イノベーションハブ京都」ではまた、大手企業発創薬関連支援事業や京滋地域行政によるベンチャー・医療産業育成事業の紹介や、創薬・医療器具開発に向けた産学マッチングイベントなどを精力的に進めている。さらに2019年度からは医学研究科、薬学研究科、生命科学研究科、ウイルス・再生医学研究所が連携した施設共用体制「医学・生物学研究支援機構（iSAL）」をスタートさせ、より広い施設共用を介した研究者交流と共同研究推進を目指している。

さらに2017年より医学研究支援センター内に「合成展開支援室」を新規設置し、有機合成に不案内な生物系研究者の皆様へ、ヒット化合物の合成最適化や臨床試験に向けた製剤化支援など、開発に向けた創薬研究への入口支援を拡充している。これらの活動により、難治疾患等、企業開発ベースに乗りにくい疾患の治療薬創製に意欲のある先生方の、創薬研究への参入と開発に結びつく化合物創製の加速が期待される。

保有機器・受託解析内容など詳しくは下記HPを参照、もしくは支援窓口までお問い合わせください。

(<http://support-center.med.kyoto-u.ac.jp/SupportCenter/>)



D7-1 創薬シーズ発掘から前臨床研究支援まで 北のアカデミア創薬研究支援

北海道大学独自の化合物ライブラリー、物理化学測定機器、構造解析技術、最適化、前臨床研究への橋渡し等の創薬研究リソースをシームレスに提供

[1] 支援担当者

所属	①北海道大学 大学院薬学研究院	
氏名	①前仲 勝実、市川 聡、乙黒 聡子	
AMED 事業	ユニット／領域名 課題名	ケミカルシーズ・リード 探索ユニット（ライブラリー・スクリーニング領域） 化合物ライブラリーを基盤とした北のアカデミア発創薬の加速
	代表機関 代表者	北海道大学 前仲 勝実
支援技術のキーワード	化合物ライブラリー、創薬スクリーニング、物理化学測定、タンパク質複合体構造解析、核酸医薬	

[2] 支援技術の概要

支援

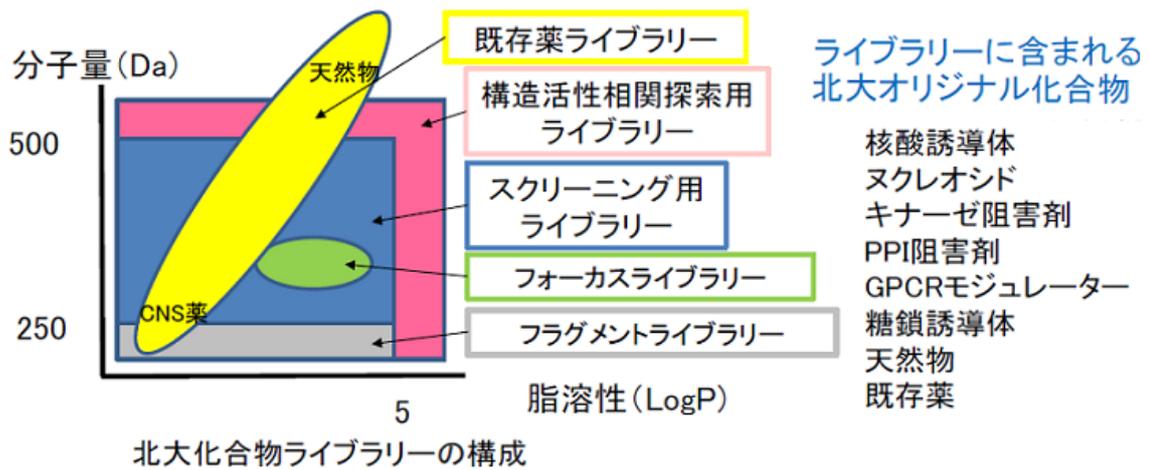
- (1) スクリーニング・解析機器の開放促進
- (2) 新規標的の発掘から導出に向けた相談会
- (3) 北大化合物ライブラリー拡充・運用
- (4) 物理化学測定を利用した化合物評価
- (5) 創薬セミナー・講義開催



創薬相談会



熱量測定、表面プラズモン共鳴装置



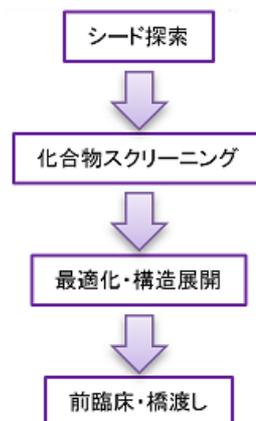
高度化

- (1) MTS 法によるヒット化合物同定法の改良
- (2) 各種タンパク質発現技術の改良
- (3) FBDDとSBDDの本格運用
- (4) 創薬のためのクライオ電子顕微鏡解析
- (5) 効率の良い誘導体展開の新規手法の開発

[3] 支援技術の利用例

創薬研究支援のスキーム

- 創薬相談会によるシーズ探索 —— 北海道内外の創薬研究を支援
- 化合物スクリーニング系の構築 —— 細胞系と物理的測定系の両立
- ヒット化合物の評価 —— 構造展開を見据えたヒット選択
- 構造最適化研究の支援 —— 誘導体合成展開の支援・橋渡し／標的との三次元構造解析支援
- 前臨床研究への支援・橋渡し —— 北海道内病院との連携



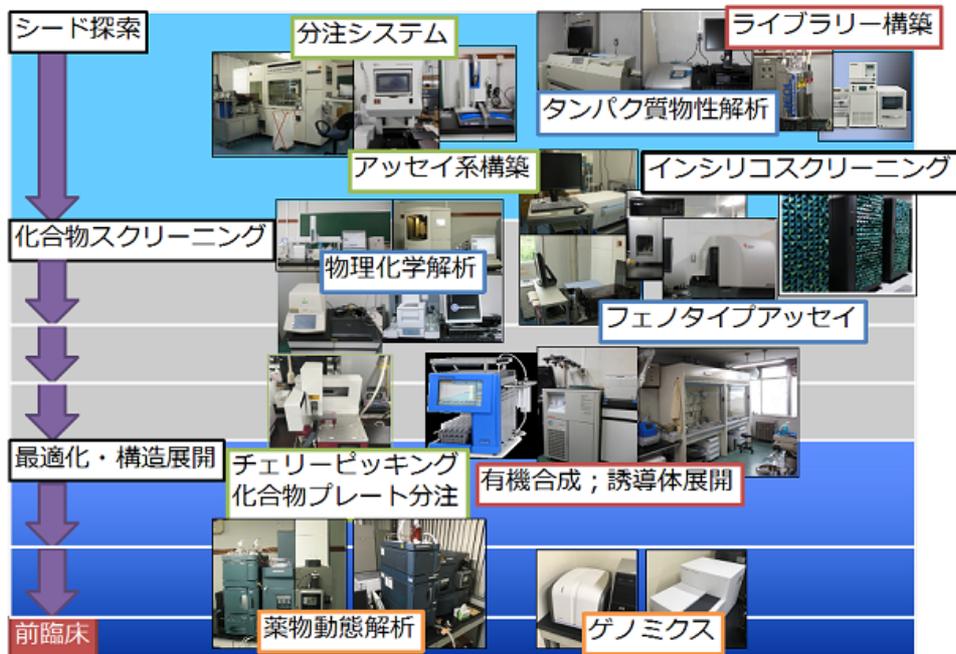
[4] 支援担当者の研究概要

創薬機器整備（2011年度）「化合物ライブラリーを活用した創薬等最先端研究・教育基盤の整備」

スクリーニング支援・運用、高度技術深化（2012年度?2016年度）「創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業」、（2017年度～）「創薬等支援技術基盤プラットフォーム事業」

↓ さらなる技術支援の増強

1. 核酸関連化合物や天然物関連化合物を充実 —— 北大ライブラリー：核酸関連化合物や糖鎖関連化合物等が多数含み、企業からの関心も高い
2. インシリコスクリーニングの精度向上
3. 組換えタンパク質を用いた蛍光示差測定(DSF)の汎用化 —— 難発現タンパク質の調製技術支援可能：ウイルス表面、タンパク質、糖鎖修飾等
4. FBDD (Fragment-based drug discovery)研究
5. 高分子量の機能複合体分子のクライオ電子顕微鏡利用 —— 結晶構造解析、NMR解析なども含む高度な構造解析技術
6. 誘導体合成に向けた新規母核合成法の開発
7. 充実した創薬物理化学測定の実自動化 —— 相互作用を多角的に測定することが可能に



オープンファシリティ化創薬機器によるスクリーニング支援体制

▽保有している支援技術の有用性

- 物理化学測定機器シリーズ(表面プラズモン共鳴解析、滴定型カロリメトリー、示差走査型カロリメトリー)の全自動型物理化学的測定装置を効率的に運用
- 23万化合物ライブラリーのフェノタイプスクリーニング可能な機器環境（過去5年間利用実績108,000時間/10,500件以上）
- 北大化合物ライブラリー(核酸・糖鎖等関連のオリジナル化合物を特徴とした、約5,900化合物)

D8-1 物理化学測定によるヒット・リード化合物結合の“質”評価

物理化学的アッセイ系構築、物理化学的解析による相互作用の“質”評価、物理化学的解析技術の相談・セミナーの支援

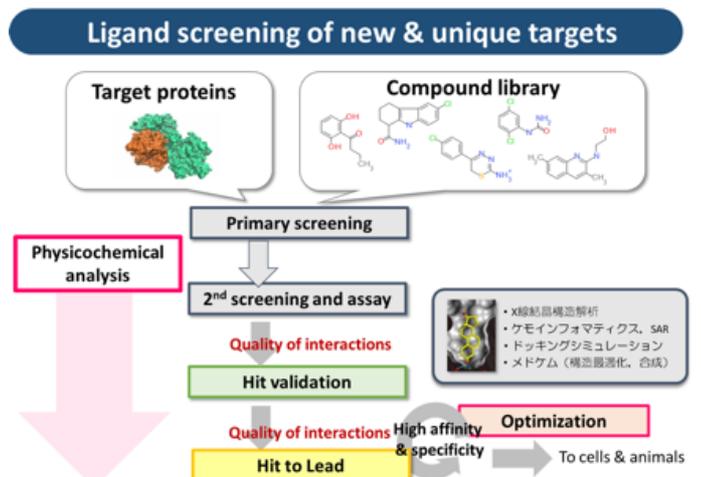
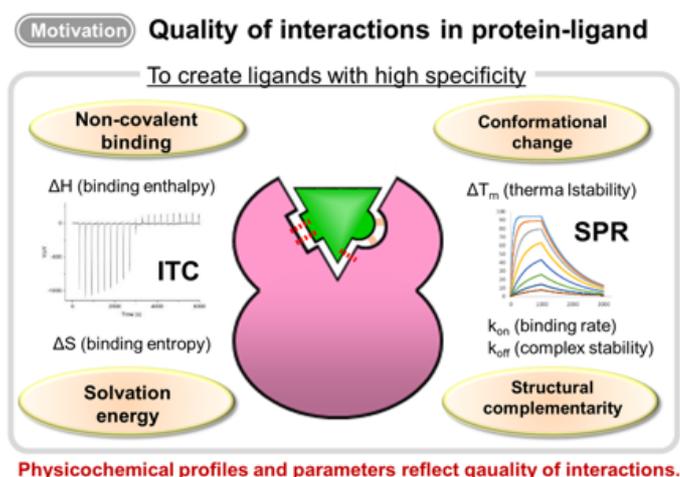
[1] 支援担当者

所属	①東京大学 大学院工学系研究科 ②東京大学 医科学研究所	
氏名	①津本 浩平 ②長門石 暁	
AMED 事業	ユニット/領域名 課題名	ケミカルシーズ・リード 探索ユニット (ライブラリー・スクリーニング領域) リード創製を指向した物理化学的品質評価技術の開発と支援
	代表機関 代表者	東京大学 津本 浩平
支援技術のキーワード	SPR、ITC、DSF、MST、DSC	

[2] 支援技術の概要

スクリーニングより得られてきたヒット候補化合物、メドケムで最適化中のリード候補化合物などに関して、標的とする分子（タンパク質、核酸など）との物理化学的（ITCによる熱力学的、SPR、BLIによる速度論的、DSF、DSCによる熱安定性、さらにはMSTによる結合親和性）な結合解析を実施できる技術支援を致します。

これより、構造活性相関（SAR）を熱力学的・速度論的な観点から評価することができ、構造情報と組み合わせることにより精密な分子設計の評価と、さらなる親和性向上へつなげる提案をサポート致します。



[3] 支援技術の利用例

- ヒット候補化合物の特異性評価（エンタルピー駆動型、エントロピー駆動型）
- 化合物の構造展開における相互作用様式の同定（熱力学的寄与、速度論的寄与）
- 低分子化合物の標的分子に対する安定性評価

[4] 支援担当者の研究概要

① 津本 浩平

- 蛋白質エンジニアリング
- 物理化学スクリーニング

② 長門石 暁

- 物理化学測定

D9-1 東北大学化合物ライブラリー

約7000化合物の提供、ヒット化合物の構造・純度確認、ヒット化合物の類縁体の助言

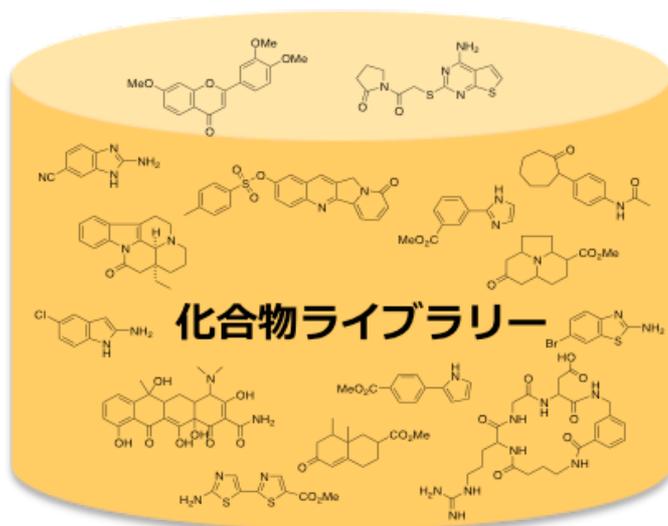
[1] 支援担当者

所属	①東北大学 大学院薬学研究科	
氏名	①土井 隆行、斎藤 芳郎、大澤 宏祐、堤 良平	
AMED 事業	ユニット/領域名 課題名	ケミカルシーズ・リード 探索ユニット (ライブラリー・スクリーニング領域) オープンイノベーションを基軸としたアカデミア創業の推進
	代表機関 代表者	東北大学 山本 雅之
支援技術のキーワード	化合物ライブラリー、ヘテロ環化合物、天然物	

[2] 支援技術の概要

次の支援体制を整えています。

- 東北大学薬学研究科化合物ライブラリー約7,000個を中心に多様な化合物を収集、登録、整備
- スクリーニングのための化合物を提供
- インシリコスクリーニングのための構造情報を提供
- スクリーニングによりヒットした化合物の純度チェック、および構造の確認
- ヒット化合物の構造からの候補選択についての助言
- ヒット化合物類縁体の助言
- 構造展開のディスカッション



含ヘテロ環化合物 (48%)
立体中心あり (34%)
天然物・類縁体 (6%)
橋かけ構造 (12%)
スピロ環 (3%)

[3] 支援技術の利用例

Nrf2抑制剤の探索から抗腫瘍性化合物を創製

東北大学化合物ライブラリーを用いてスクリーニングを行ない、天然物2つを含むヒット化合物21個のうちfebrifugine に着目した。構造類似でFDAに認可されているhalofuginoneを用いてモデル動物試験において抗腫瘍活性を確認した。

[Free Radical Biology and Medicine 103,236 (2017).DOI:10.1016/j.freeradbiomed.2016.12.041]

トランスポーター阻害化合物の探索

多剤耐性のガン細胞に高発現しているトランスポーターABCB1の阻害剤を東北大学化合物ライブラリーのスクリーニングにより発見した。見出したイソキノリン誘導体は、*in vivo* で抗がん剤の薬効を回復させる効果があることを確認した。

[Mol Pharmaceutics 15, 4021 (2018). DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.8b00457]。

[4] 支援担当者の研究概要

ユニークな構造をもつ化合物ライブラリーを提供し、スクリーニングを支援します。

D9-2 天然化合物に由来するケミカルスペースの開拓

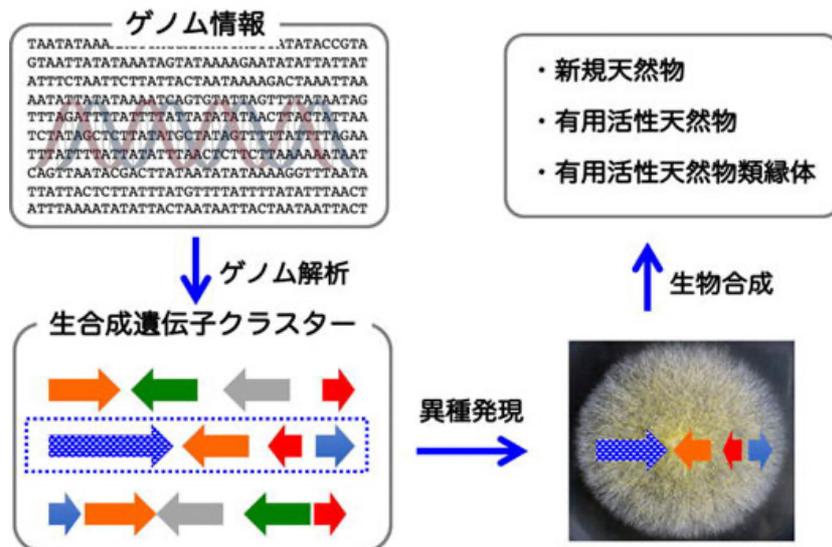
ゲノムマイニングと異種発現を基盤とする新規天然物の探索、有用天然物の高生産系の構築、有用天然物類縁体ライブラリーの作製

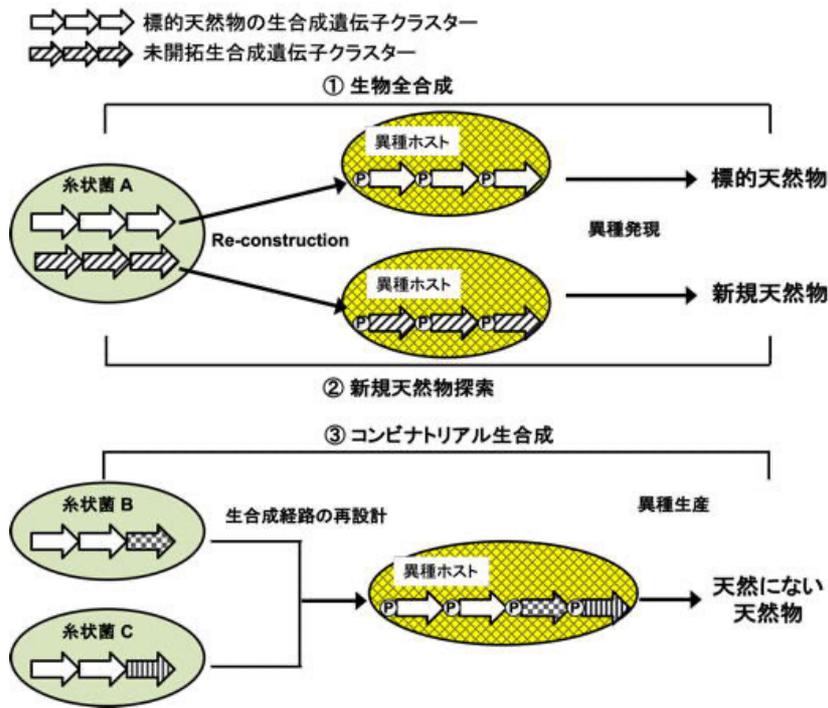
[1] 支援担当者

所属	①東北大学 大学院薬学研究科 ②東北大学 オープンイノベーション戦略機構	
氏名	①浅井 禎吾、菅原 章公 ②大島 吉輝	
AMED 事業	ユニット/領域名 課題名	ケミカルシーズ・リード 探索ユニット (ライブラリー・スクリーニング領域) オープンイノベーションを基軸としたアカデミア創薬の推進
	代表機関 代表者	東北大学 山本 雅之
支援技術のキーワード	天然化合物、ケミカルスペース、化合物ライブラリー、ゲノムマイニング、異種発現	

[2] 支援技術の概要

- 糸状菌ゲノム上の新規有用天然物の発掘
- 有用天然物の生物全合成
- 有用天然物類縁体の生物合成



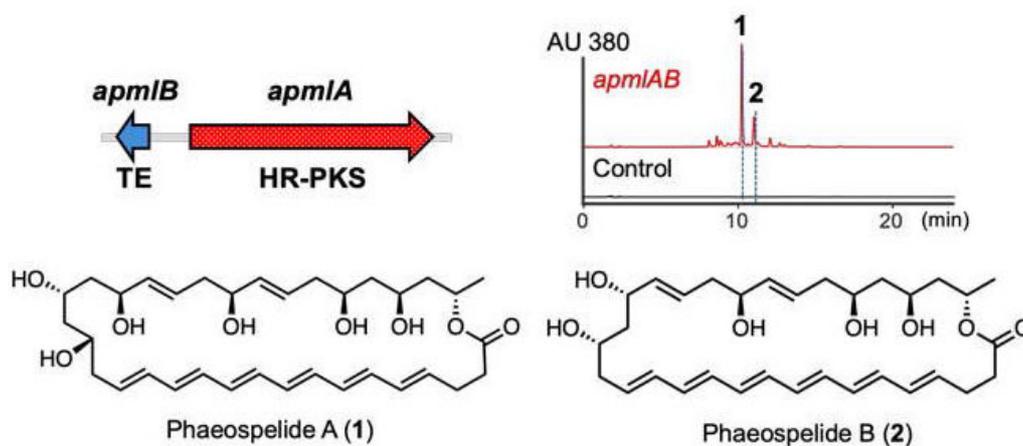
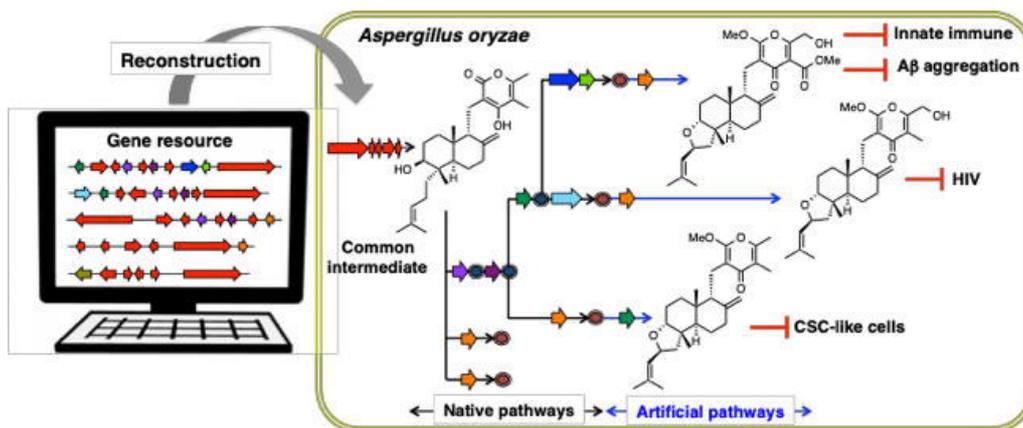


[3] 支援技術の利用例

- 植物・微生物などの生物資源に含まれる有用物質の特定
- 構造多様な天然化合物類縁体の合成とライブラリーの拡大
- 構造多様な天然化合物類縁体の合成とライブラリーの拡大

[4] 支援担当者の研究概要

- ポストゲノム型天然物探索
- メロテルペノイド類のコンビナトリアル生合成
- ジテルペンの生物合成



D9-3 需要に応じたスクリーニングシステム

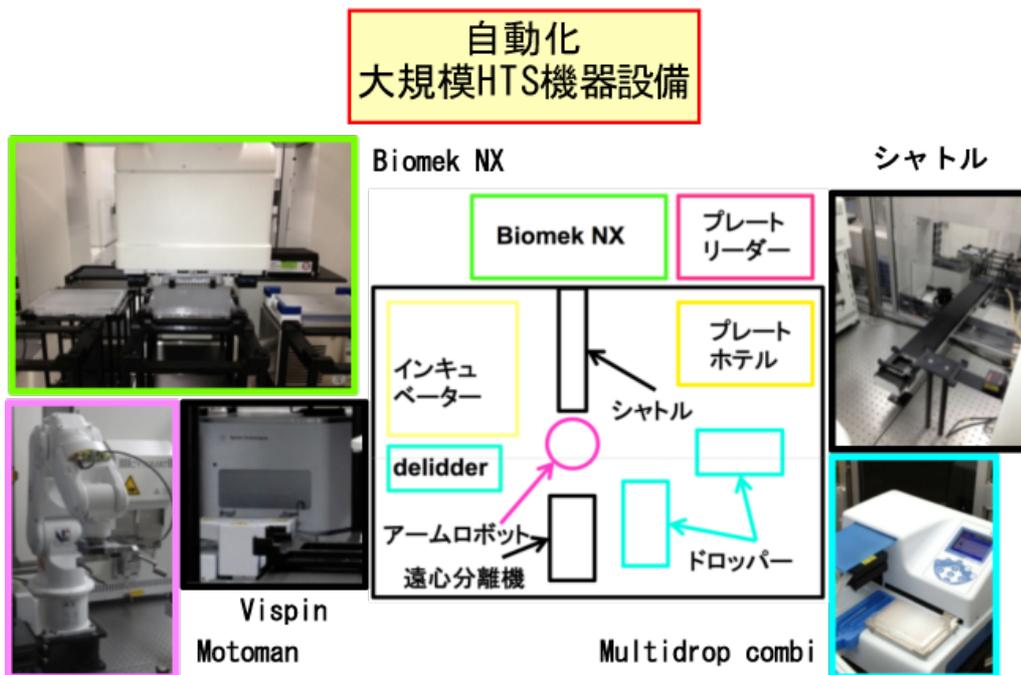
自動過大規模HTS・高汎用性小規模HTS・イメージングシステム等の需要に応じたスクリーニング支援

[1] 支援担当者

所属	①東北大学 大学院医学系研究科	
氏名	①清水 律子、長谷川 敦史	
AMED 事業	ユニット／領域名 課題名	ケミカルシーズ・リード 探索ユニット（ライブラリー・スクリーニング領域） オープンイノベーションを基軸としたアカデミア創薬の推進
	代表機関 代表者	東北大学 山本 雅之
支援技術のキーワード	自動化大規模スクリーニング、高汎用性スクリーニング、低酸素培養装置、イメージングシステム	

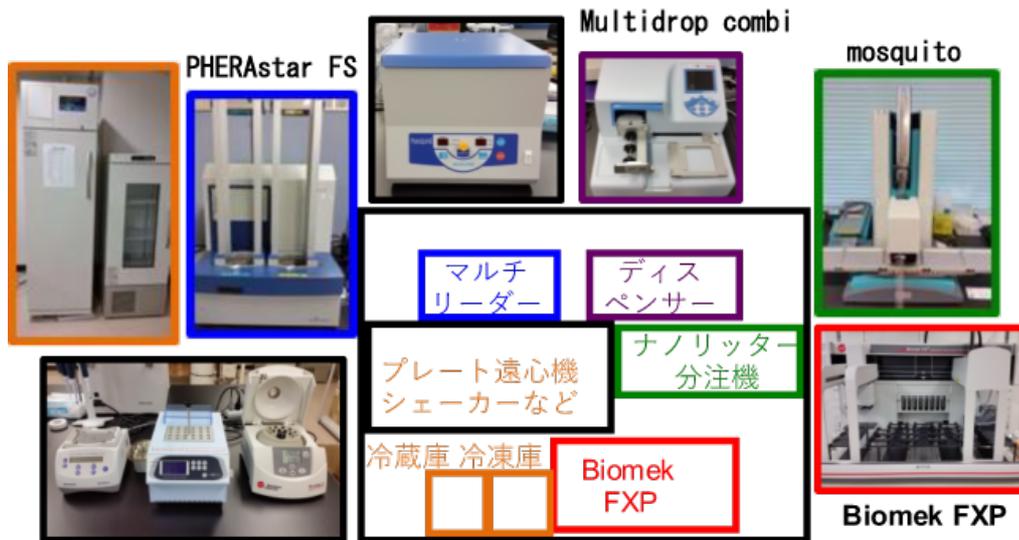
[2] 支援技術の概要

- 多検体解析に適する吸光・蛍光・発光測定用多機能プレートリーダー、蛋白質の分離調整からマイクロチップを用いた自動化大規模ハイスループットスクリーニングシステム



- 低酸素環境下でのアッセイが可能な低酸素培養装置およびその周辺実験機器を付随した高汎用性小規模ハイスループットスクリーニングシステム

高汎用性 小規模HTS機器設備



- 生細胞の蛍光値定量ができるイメージングシステム
- 細胞形態や蛋白質の細胞内分布を指標にしたハイコンテンツスクリーニング機器

[3] 支援技術の利用例

- 酵素阻害剤の探索
- GPCR拮抗薬
- GPCR作動薬
- 転写因子阻害剤の探索
- 転写因子活性化剤

[4] 支援担当者の研究概要

転写因子機能阻害による腎性貧血治療薬の開発

D9-4 簡便で安価なGPCR活性化測定法 -TGF α 切断アッセイ-

GPCR活性化測定法TGF α 切断アッセイに必要な試薬の配布およびアッセイ手法の指導

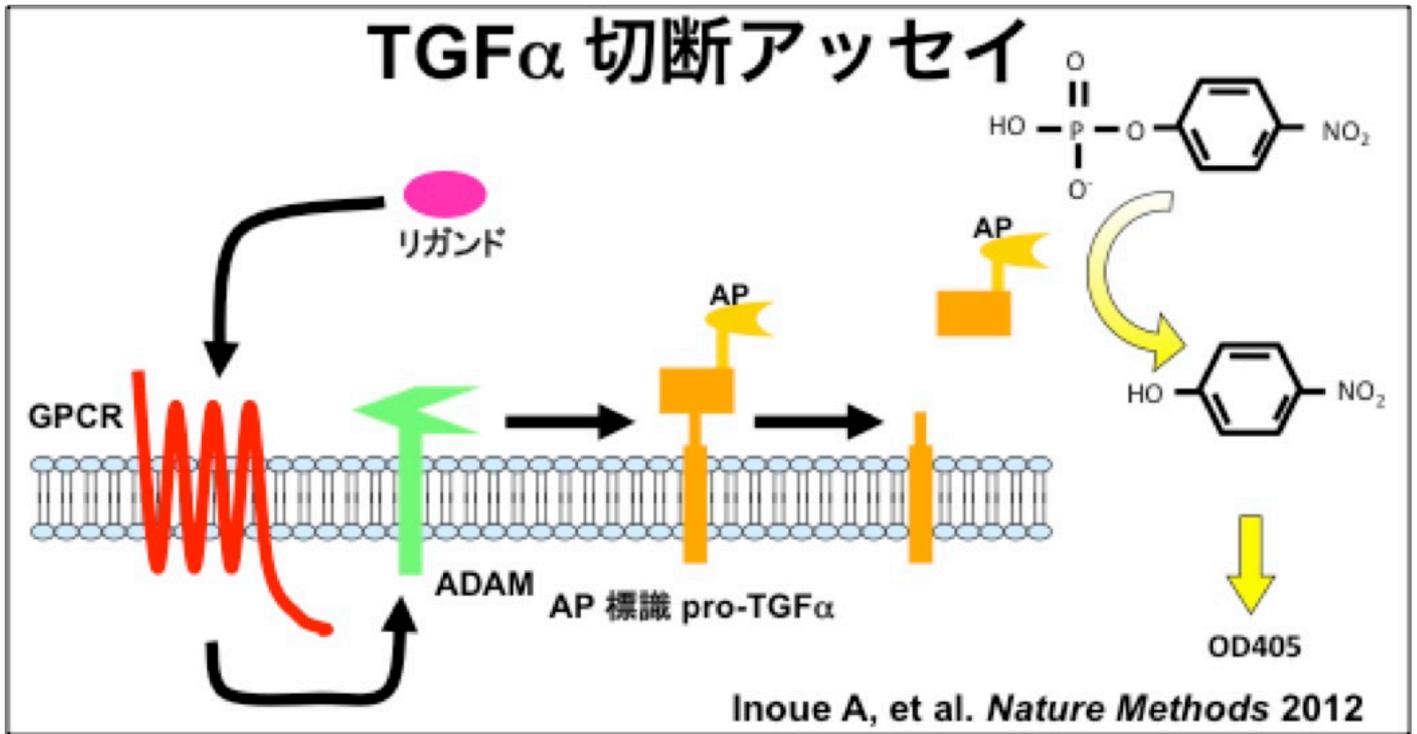
[1] 支援担当者

所属	①東北大学 大学院薬学研究科	
氏名	①井上 飛鳥	
AMED 事業	ユニット/領域名 課題名	ケミカルシーズ・リード 探索ユニット (ライブラリー・スクリーニング領域) オープンイノベーションを基軸としたアカデミア創業の推進
	代表機関 代表者	東北大学 山本 雅之
支援技術のキーワード	GPCR、作動薬、拮抗薬、GPCR活性化測定法、バイアスリガンド	

[2] 支援技術の概要

GPCRの機能解明にはそのリガンドの活性化を簡便に評価する手法が有用である。これまで、GPCRの活性化評価には（1）細胞内カルシウムイオンの測定、（2）細胞内cAMPの濃度測定などの手法が汎用されてきた。しかし、これらの評価法では一部のGPCRの活性化しか検出できず、幅広いGPCRの活性化を測定するためには、様々な手法を用いる必要があり、経済的にも問題があった。本支援では、GPCR研究の初心者でも簡便に導入できるGPCR活性化測定法, TGF α 切断アッセイ, を支援する。本法は、GPCRリガンドの簡便な活性測定、オーファンGPCRのスクリーニング、バイアスドリガンドの評価、GPCRリガンドのスクリーニングなど、様々なGPCR研究に応用可能である。

- GPCRシグナルの下流で膜結合型TGF α が遊離型として切り出される現象を基に構築された新規GPCR活性化測定法であり、感度良く、幅広いGPCRのリガンド刺激による活性化を評価できる。
- Gai、Gas、Gaq、Ga12/13と幅広いGPCRの下流シグナルを検出可能。
- 96穴plateあたり数百円と安価で実施できる。
- 特別な機器類が不要。
- アルカリホスファターゼ融合TGF α cDNA、キメラ型Gタンパク質cDNA（複数種）、各種GPCR cDNAを供与可能。
- 研究室に来ていただければ、実地指導可能。



[3] 支援技術の利用例

- GPCRリガンドの簡便な活性測定
- オーフアンGPCRのスクリーニング
- バイアスドリガンドの評価
- GPCRリガンドのスクリーニング

[4] 支援担当者の研究概要

生理活性リゾリン脂質の産生・受容機構の生化学的な解析より、3種類のリゾリン脂質産生酵素、6種類のリゾリン脂質受容体を同定し、それら分子の解析から、リゾホスファチジン酸 (LPA)、リゾホスファチジルセリン (LysoPS) などのリゾリン脂質の生理・病態時における機能解明を進めている。

D9-5 ホルモン核内受容体を基盤とした内分泌代謝疾患の新規創薬

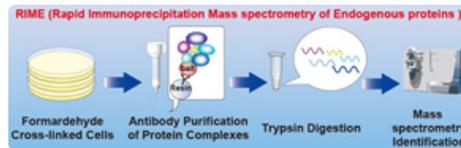
RIME法による核内受容体の転写共役因子複合体の同定とその転写活性評価、転写活性を制御する化合物のスクリーニング

[1] 支援担当者

所属	①東北大学 大学院医学系研究科	
氏名	①菅原 明、横山 敦	
AMED 事業	ユニット/領域名 課題名	ケミカルシーズ・リード 探索ユニット (ライブラリー・スクリーニング領域) オープンイノベーションを基軸としたアカデミア創薬の推進
	代表機関 代表者	東北大学 山本 雅之
支援技術のキーワード	核内受容体、転写活性評価、ハイスループットスクリーニング、RIME法	

[2] 支援技術の概要

- RIME (Rapid Immunoprecipitation Mass spectrometry of Endogenous proteins) 法を用いた目的タンパク質の形成する複合体構成因子の精製・同定
- レポータープラスミドの安定発現細胞株の樹立による目的転写因子の転写活性評価系の構築
- レーザーマイクロダイセクションによる病理切片からのRNA抽出
- 化合物ライブラリーを用いたハイスループットスクリーニング



[3] 支援技術の利用例

- 目的タンパク質の複合体構成因子の同定による制御因子の同定
- 目的タンパク質の複合体構成因子の同定による創薬標的因子の探索
- レポータープラスミドの安定発現細胞株の樹立によるハイスループットスクリーニング系の構築
- レーザーマイクロダイセクションによる微小組織の単離とRNAの抽出

[4] 支援担当者の研究概要

分子生物学的手法や遺伝子改変マウスを用いて、難治性内分泌・代謝疾患やメタボリック症候群・生活習慣病の病態解明、新規診断法・バイオマーカーの開発や新規創薬・治療法の実現を進めている。これまでに、ホルモン核内受容体であるPPAR γ やレチノイン酸受容体 (RAR) ・レチノイドX受容体 (RXR) のリガンドの、pleiotropicな降圧作用や抗動脈硬化作用を明らかにしてきた。現在進めている主な研究内容としては、

- 1) 副腎アルドステロン合成酵素 (CYP11B2) を標的としたハイスループットスクリーニング (HTS) を用いた難治性高血圧症の新規創薬、
- 2) 肥満高血圧症の原因と考えられる脂肪細胞由来の未知の液性因子の同定ならびにそれを基盤とした新規診断バイオマーカーの開発、
- 3) 糸球体基底膜ヘパラン硫酸を標的とした糖尿病性腎症の病態解明、
- 4) 特異的転写因子を標的とした糖尿病性腎症の病態解明ならびにHTSを用いた新規創薬、
- 5) ACTH産生下垂体細胞を標的としたCushing病の新規治療法の開発、
- 6) 質量分析計を用いたホルモン核内受容体の転写共役因子の同定・新規翻訳後修飾の探索、等が挙げられる。

D9-6 モデル動物及びイメージング質量分析を用いた創薬研究を加速する高度化技術

病態モデル及びモニター動物の提供、イメージング質量分析を用いた薬物動態及び毒性予測評価

[1] 支援担当者

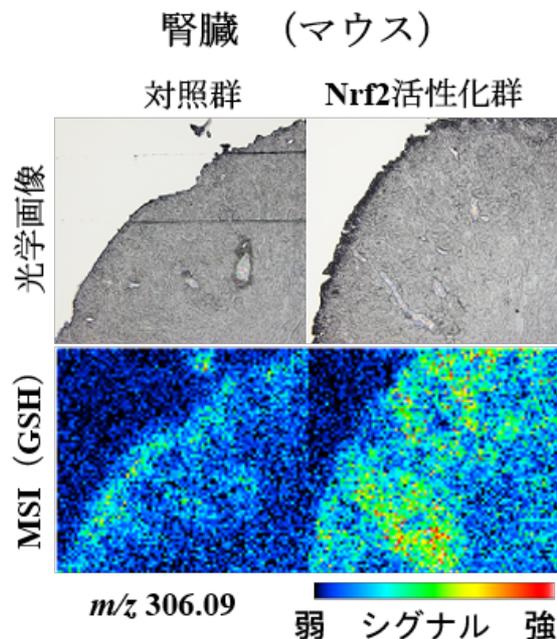
所属	①東北大学 大学院医学系研究科 ②東北大学 東北メディカル・メガバンク機構
氏名	①山本 雅之 ②宇留野 晃
AMED 事業	ユニット／領域名 課題名 ケミカルシーズ・リード 探索ユニット（ライブラリー・スクリーニング領域） オープンイノベーションを基軸としたアカデミア創業の推進
	代表機関 代表者 東北大学 山本 雅之
支援技術のキーワード	疾患モデル動物、炎症モニターマウス、質量分析イメージング、Keap1-Nrf2系、酸化ストレス

[2] 支援技術の概要

遺伝子改変によるオリジナリティーの高い病態モデルマウスを活用し、高度化された実験系を提供する。リード化合物に至った研究テーマに対して、速やかなPOC取得を支援する。

2019年4月現在、重症慢性貧血モデルマウス、中枢性肥満モデルマウス、代謝疾患モデルマウス、悪性疾患モデルマウス、神経変性疾患モデルマウス、腎臓疾患モデルマウスが利用可能であり、多くの疾患に対して薬効評価を行うことができる環境を提供している。さらに、ライブイメージングが可能な病態モニターマウスを利用し、同一個体における炎症状態の経時的な変化を反復評価し、正確な薬効評価を行う。加えて、Nrf2ノックアウトラットを用いた、より感度の高い毒性試験を実施する。

質量分析イメージング（MSI）を活用して、詳細な薬物動態評価を行う。さらにグルタチオンなどの代謝物を指標とした毒性予測評価系を構築し、リード化合物の有効性・安全性に関する説得力のあるデータ取得を支援する。



[3] 支援技術の利用例

- 病態モデルマウスを利用した、リード化合物の対象疾患に対する有効性の評価
- モニターマウスを利用した、リード化合物の病態に対する有効性の評価
- 遺伝子改変ラットを用いた感度の高い毒性試験
- イメージング質量分析を用いて、薬物の組織分布や組織内分布の評価やグルタチオンなどの代謝物の組織内分布の評価による毒性予測を行い、きめ細やかな薬物動態・毒性予測評価

[4] 支援担当者の研究概要

病態モデル及びモニター動物

- 病態モデルマウス
 - 重症慢性貧血モデルマウス
 - 中枢性肥満モデルマウス
 - 代謝疾患モデルマウス
 - 悪性疾患モデルマウス
 - 神経変性疾患モデルマウス
 - 腎臓疾患モデルマウス
- 病態モニターマウス
 - 炎症モニターマウス
- 遺伝子改変ラット
 - Nrf2ノックアウトラット

質量分析イメージングを用いた薬物動態及び毒性予測評価

- 薬物の組織分布や組織内分布の評価
- グルタチオンなどの代謝物の組織内分布の評価による毒性予測

D9-7 低酸素細胞培養解析系による薬剤評価とタンパク質機能解析

低酸素環境での細胞培養と解析技術の提供およびリコンビナントタンパク質発現系やゲノム編集の技術支援

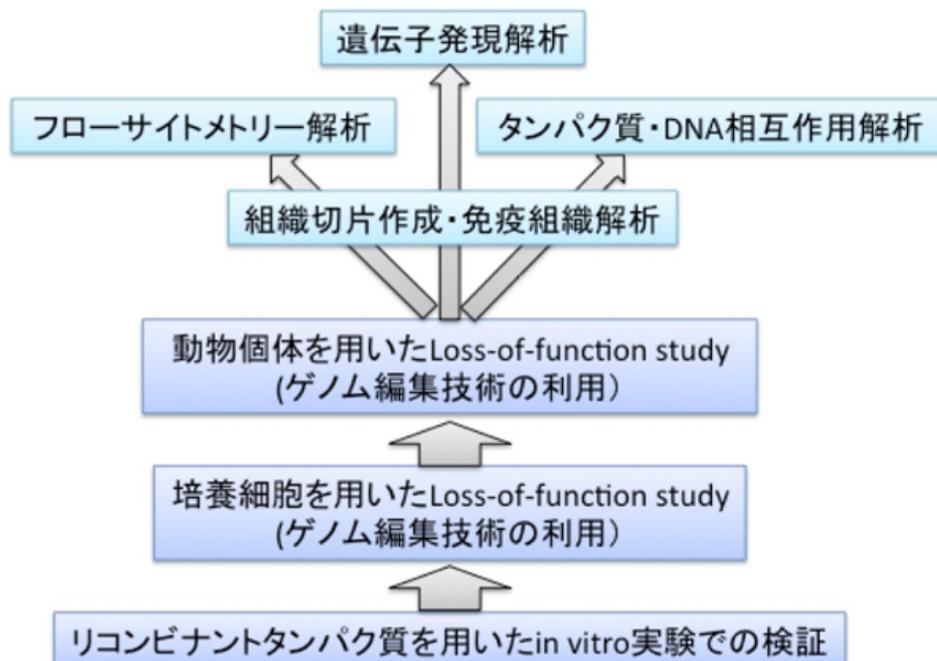
[1] 支援担当者

所属	①東北大学 大学院医学系研究科	
氏名	①鈴木 教郎	
AMED 事業	ユニット/領域名 課題名	ケミカルシーズ・リード 探索ユニット (ライブラリー・スクリーニング領域) オープンイノベーションを基軸としたアカデミア創業の推進
	代表機関 代表者	東北大学 山本 雅之
支援技術のキーワード	低酸素応答、酸化ストレス応答、遺伝子発現制御	

[2] 支援技術の概要

薬剤効果の疑似生体内酸素環境におけるマルチディメンショナルな解析系の提供

- 大腸菌リコンビナントタンパク質精製
- ゲノム編集技術を用いた培養細胞遺伝子改変
ゲノム編集技術を用いた遺伝子改変マウス作製
遺伝子発現解析
フローサイトメトリー解析と細胞分取
組織切片作製・免疫組織解析
細胞培養からサンプリングまでを低酸素環境 (0~20%酸素濃度) で実施



[3] 支援技術の利用例

- スクリーニングで得られた化合物の効果を生体内に近い酸素濃度における細胞培養環境で検証
- スクリーニングで得られた化合物の直接の標的タンパク質の探索
- 低酸素環境に対する細胞応答機構に介入する化合物の機能評価



低酸素細胞培養解析プラットフォーム
(東北大学 医学系研究科 共通機器管理室内)

[4] 支援担当者の研究概要

生体の低酸素応答機構および酸化ストレス応答機構について、遺伝子改変マウスの作出と解析を通じた研究を進めている。また、これらのストレス応答系の破綻と腎臓病や血液疾患などの疾患との関係について解析している。ストレス応答系においては、遺伝子発現制御機構が中心的役割を担っており、ストレス誘導性の転写制御機構について、クロマチンやエピゲノムのレベルで理解することを目標としている。これまでに、ストレス誘導性の転写因子であるHIFおよびNRF2について、マウス個体レベルでの機能解析から培養細胞を用いた分子機能解析で実績をあげている。また、腎臓における低酸素誘導性の赤血球造血因子産生機構を明らかにし、その破綻に起因する腎性貧血の発症機序を見出した。さらに、腎臓病における酸化ストレスの関与を解明し、HIFおよびNRF2の活性を制御する薬剤が細胞レベルおよび個体レベルにおいて腎臓病への介入に有効であることを示してきた。

D9-8 細胞外タンパク質を標的とした創薬研究の高度化技術

細胞外標的タンパク質の測定系開発及び標的分子を制御する技術支援

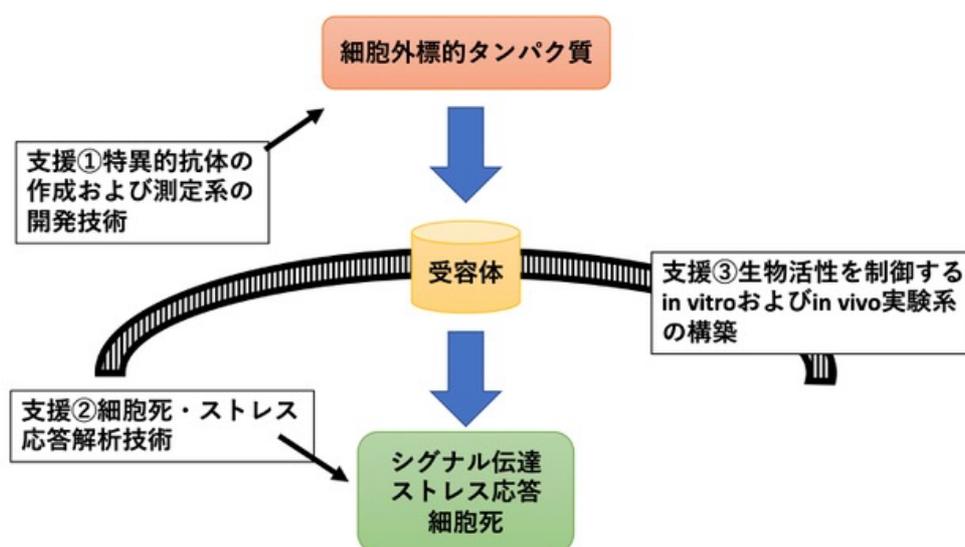
[1] 支援担当者

所属	①東北大学 大学院薬学研究科	
氏名	①齋藤 芳郎、堤 良平	
AMED 事業	ユニット/領域名 課題名	ケミカルシーズ・リード 探索ユニット (ライブラリー・スクリーニング領域) オープンイノベーションを基軸としたアカデミア創薬の推進
	代表機関 代表者	東北大学 山本 雅之
支援技術のキーワード	特異的測定法開発、抗体、酸化ストレス応答、細胞死	

[2] 支援技術の概要

細胞外標的タンパク質に対する定量系開発や、標的タンパク質の *in vitro* および *in vivo* 評価系の開発技術を支援し、高度化された実験系を提供する。

- 標的タンパク質に対する特異的抗体および測定系の開発技術
- 標的タンパク質による細胞死・ストレス応答解析技術
- 標的タンパク質の生物活性を制御する *in vitro* および *in vivo* 実験系の構築



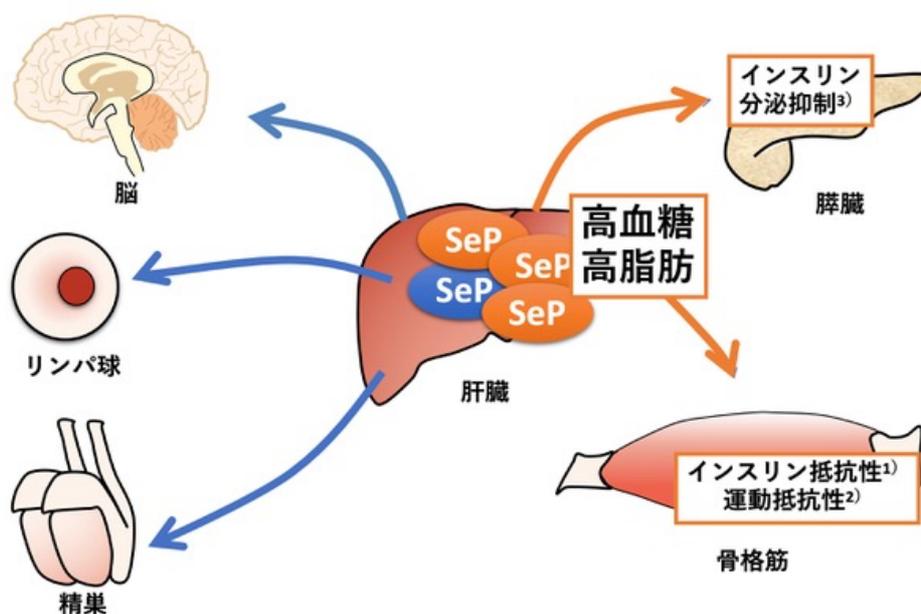
[3] 支援技術の利用例

- 標的タンパク質に対する抗体作成および特異的測定系の開発
- スクリーニングで同定された化合物の安全性・毒性評価

[4] 支援担当者の研究概要

生化学・分子生物学的手法および遺伝子改変マウスを用いて、必須微量元素“セレン”の代謝や体内同定、および代謝疾患・生活習慣病との関連性について研究を進めている。特に、セレンの運搬に関わる血漿タンパク質“セレノプロテインP”に着目し、当該タンパク質の発現制御機構および生理機能を解明し、特異的抗体の作成と定量系の開発、糖尿病などの疾患との関連性を明らかにしてきた。支援者の研究からセレノプロテインPのセレン運搬作用を抑制する中和抗体が同定され、糖代謝の改善効果が認められている。これらの研究を通じて、疾患リスクを予測するバイオマーカーの探索や新しい定量法の開発、および標的分子を制御する新規創薬・治療法の開発を行っている。

セレノプロテインPのセレン運搬作用と糖尿病



¹⁾ Cell Metabolism.12.483-495.2010 ²⁾Nature Med.23.508-516.2017 ³⁾Nature Commun.8.1658.2017

D9-9 300kVハイエンド透過型電子顕微鏡を用いたクライオ電子顕微鏡構造解析支援

クライオ電子顕微鏡構造解析の支援、ならびにグリッド作成から構造解析にいたる電顕構造解析全般に関するコンサルティング。

[1] 支援担当者

所属	①東北大学 多元物質科学研究所 ②東北大学 生命科学研究所 ③東北大学 生命科学研究所 ④東北大学 未来型医療創成センター	
氏名	①稲葉 謙次 ②田中 良和 ③横山 武司 ④小柴 生造	
AMED 事業	ユニット/領域名 課題名	ケミカルシーズ・リード探索ユニット（ライブラリー・スクリーニング領域） オープンイノベーションを基軸としたアカデミア創業の推進
	代表機関 代表者	東北大学 山本 雅之
支援技術のキーワード	クライオ電子顕微鏡、単粒子解析、クライオ電顕データ取得、構造解析	

[2] 支援技術の概要

AMED・BINDSの構造解析支援の一環として、東北大学 東北メディカル・メガバンク機構に電子顕微鏡構造解析のための施設が設置された。本支援では、クライオ専用の300kVハイエンド透過型電子顕微鏡 日本電子社製CRYO ARM 300 IIを運用し、グリッド作成から構造解析にいたるクライオ電顕構造解析全般の技術支援を行う。（図1）

東北メディカル・メガバンク機構（仙台）



CRYO ARM 300 II



その他の周辺装置

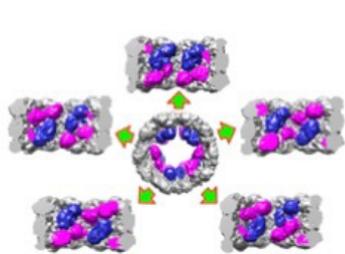
- ・グリッド凍結装置
Vitrobot Mark IV (Thermo Fisher Scientific)
EM GP2 (ライカマイクロシステムズ)
- ・真空蒸着装置
IB-29510VET (日本電子)

電子銃：冷陰極電界放出型電子銃
加速電圧：300 kV
エネルギーフィルター：インカラム型オメガフィルター
試料交換装置：自動試料交換装置搭載
検出器：K3カメラ (Gatan)

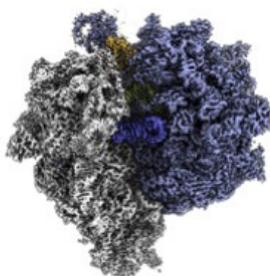
[3] 支援技術の利用例

AMED・BINDSにより東北大学 東北メディカル・メガバンク機構にクライオ電顕専用のハイエンド透過型電子顕微鏡が導入されることとなりました。令和3年度中のAMED・BINDS構造解析支援開始に向けて、現在、稼働準備を行っています。グリッド作成、データ収集、構造解析まで細やかなコンサルティングを行い、支援を進める予定です。単粒子解析を中心とした構造解析支援を行うとともに、東北大メディカル・メガバンク機構が掲げる個別化医療と連携して高度化を進めます。

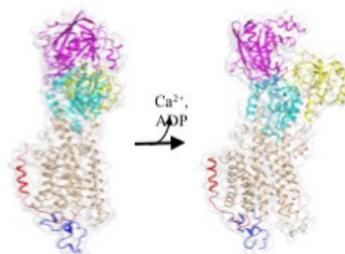
[4] 支援担当者の研究概要



イカ由来ヘモシアニン
 D_3 対称な外壁領域と非対称な内部領域から構成される解析難度の高い分子の構造を決定した。



リボソームを標的とした抗菌薬
クライオ電子顕微鏡を用いてリボソームを標的とした抗菌薬の結合様式を解明した。立体構造を基に作用機序の解明を目指す。



ヒト由来小胞体カルシウムポンプ
クライオ電子顕微鏡を用いて、ヒト由来小胞体カルシウムポンプの二つの反応中間状態の高分解能構造を決定した。

D10-1 大村天然化合物ライブラリー

大村天然化合物ライブラリーの供給&発酵力・有機合成力によるリード最適化の支援

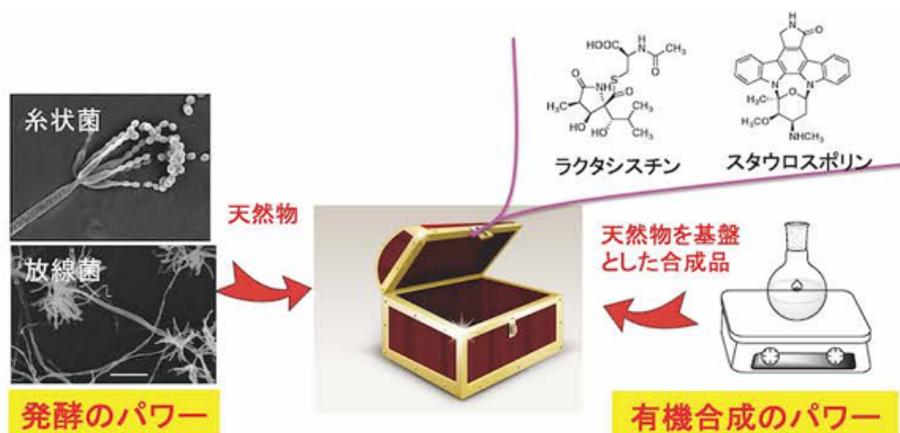
[1] 支援担当者

所属	①北里大学 北里生命科学研究所	
氏名	①岩月 正人、野中 健一、稲橋 佑起、廣瀬 友靖	
AMED 事業	ユニット/領域名 課題名	ケミカルシーズ・リード 探索ユニット (ライブラリー・スクリーニング領域) 大村天然化合物ライブラリーの基盤構築と創薬研究ネットワークの確立による創薬リード創製
	代表機関 代表者	北里大学 岩月 正人
支援技術のキーワード	大村天然化合物ライブラリー、微生物発酵、天然物化学、有機合成による最適化	

[2] 支援技術の概要

北里大学 大村智 特別栄誉教授の研究グループが保有する「大村天然化合物ライブラリー」をスクリーニング用に御提供します！

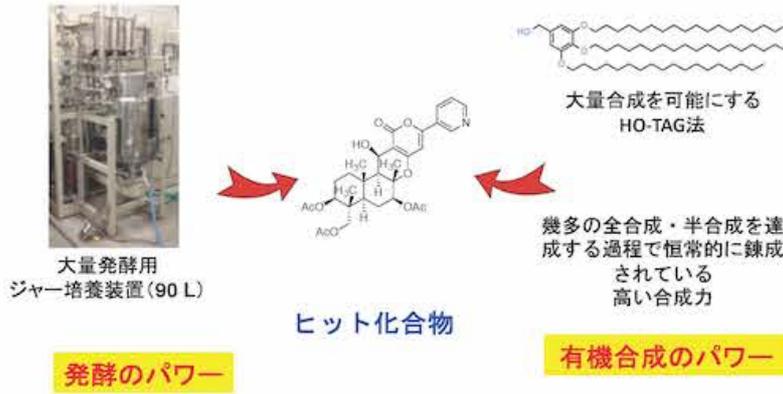
- 天然物 (主に微生物由来) 約 500化合物
- 天然物を基盤とした合成化合物群 約 3000化合物



天然物 約500化合物および
天然物を基盤とした合成化合物群 約 3,000化合物から構成

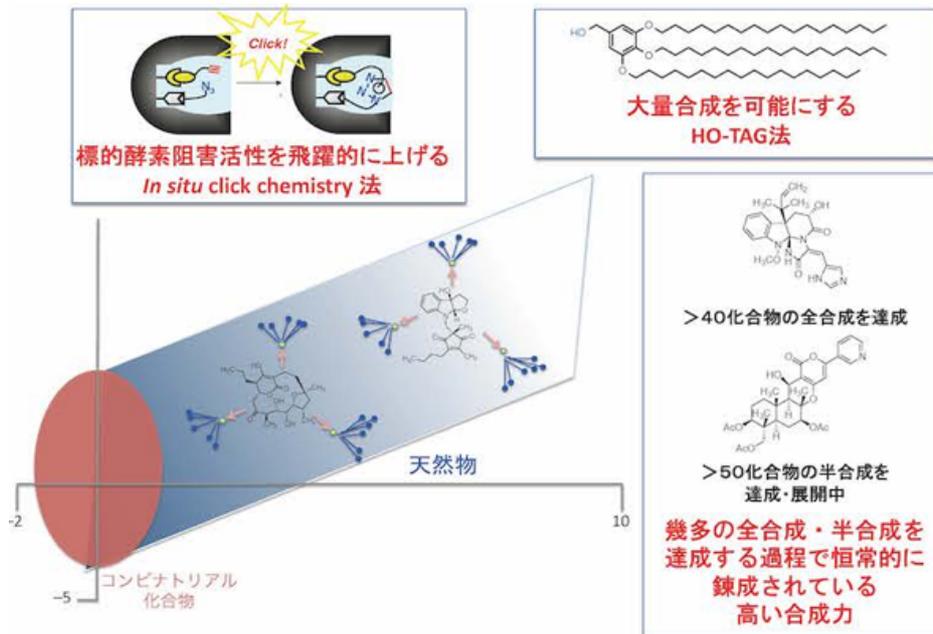
「大村天然化合物ライブラリー」

スクリーニングでヒットした「大村天然化合物」を高次評価のために微生物発酵もしくは有機合成の力で大量供給します！



「高次評価のためにヒット化合物を大量供給」

シード化合物の有機合成法による最適化します！



「シード化合物の有機合成法による最適化」

[3] 支援技術の利用例

依頼者の皆様が保有される各種活性評価系での「大村天然化合物ライブラリー」のスクリーニング



「ヒット化合物」の大量供給



高次評価（動物モデルでの評価など）



「シード化合物」



有機合成法によるシード化合物の最適化



「リード化合物」の創製

[4] 支援担当者の研究概要

<天然物化学>

研究代表者「岩月正人」はMRSA、マラリアなどを標的とした抗感染症薬スクリーニングによる微生物培養液からの新規創薬シード化合物の探索を行ってきた。これまでに新規天然化合物20種以上を発見。

本支援では天然物化学のノウハウを活かしてライブラリーの供給を担当！

<微生物発酵（糸状菌）>

研究分担者「野中健一」は微生物（糸状菌）の分類・同定及び大村創薬グループ内でのスクリーニング用に微生物培養液の調製を行ってきた。独自に新たな分離法を確立することで糸状菌13新種を提唱。

本支援では微生物発酵のノウハウを活かして糸状菌由来ヒット化合物の大量供給を担当！

<異種発現による二次代謝産物生産（放線菌）>

研究分担者「稲橋佑起」は微生物（放線菌）の分類・同定及び大村創薬グループ内でのスクリーニング用に微生物培養液の調製を行ってきた。更に放線菌の未利用な二次代謝産物の生合成遺伝子を異種発現させることで多くの新規天然化合物を発見。

本支援では異種発現による二次代謝産物生産ノウハウを活かして放線菌由来ヒット化合物の大量供給を担当！

<有機合成化学>

研究分担者「廣瀬友靖」は大村創薬グループで見いだされた天然物の全合成・誘導体合成研究、天然物構造を基盤とした高機能性分子の創製を展開してきた。これまでに天然化合物40種以上を合成展開。

本支援では有機合成化学のノウハウを活かしてシード化合物の最適化を担当！

D11-1 抗体様分子標的HLHペプチドの開発

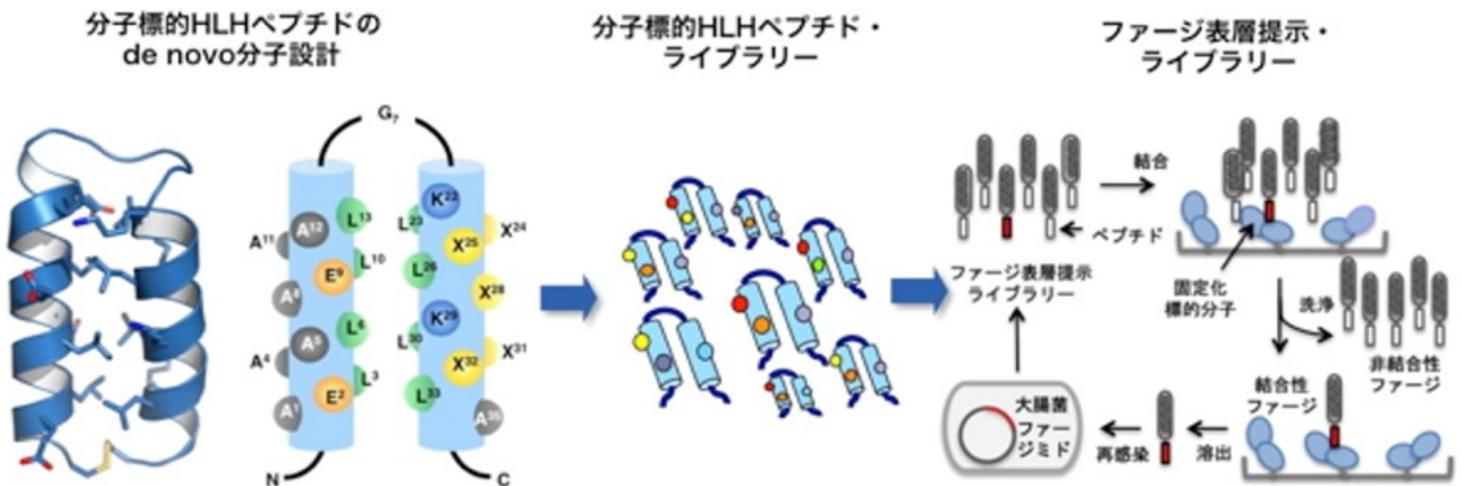
疾患関連タンパク質に対する分子標的ペプチドのスクリーニング、分子標的ペプチドの合成・機能解析・試料提供

[1] 支援担当者

所属	①大阪府立大学 大学院理学系研究科	
氏名	①藤井 郁雄	
AMED 事業	ユニット/領域名 課題名	ケミカルシーズ・リード 探索ユニット (ライブラリー・スクリーニング領域) ポスト抗体医薬：進化分子工学による分子標的ペプチドの開発
	代表機関 代表者	大阪府立大学 藤井 郁雄
支援技術のキーワード	ポスト抗体医薬、分子標的ペプチド、立体構造規制ペプチド、ファージ表面提示ライブラリー	

[2] 支援技術の概要

支援先より提供される標的タンパク質（疾患関連タンパク質など）に対して、独自の分子標的HLHペプチド・ライブラリーをスクリーニングして、目的とする分子標的HLHペプチドを供給する。この分子標的HLHペプチドは、標的タンパク質に対し強い結合活性をもち、タンパク質-タンパク質相互作用を阻害する。また、強固なヘリックス構造を保持していることから、血中での酵素分解に対する高い安定性を示す。さらに、動物実験（マウス）により、免疫原性をもたないことを確認している。すなわち、分子標的HLHペプチドは、抗体と同等の結合活性と安定性をもっており、生物学的ツール及び医薬品としての有用性を確認している。



- 35 アミノ酸から構成される。
- N-末端 α -ヘリックス、グリシン・ループ、C-末端 α -ヘリックス の3部分から構成される。
- ロイシン側鎖 (緑:L) の疎水相互作用により2つのヘリックスが会合し安定化する。
- グルタミン酸側鎖 (橙:E)とリジン側鎖 (青:K)の静電相互作用により2つのヘリックスが会合し安定化する。
- 外側のアミノ酸 (黄:X)は立体構造形成に関与しないため、さまざまなアミノ酸への置換が可能になる

図1. 分子標的HLHペプチド・ライブラリーの分子設計とスクリーニング

当研究室では、ポスト抗体医薬の候補分子として、ヘリックス?ループ?ヘリックス構造モチーフをもつ立体構造規制ペプチド（分子標的HLHペプチド）を設計した（図1）。このペプチドは3つの領域で構成される[①N末端ヘリックス（14アミノ酸残基からなる構造支持領域）、②ループ（Gly 7残基からなるリンカー）、③C末端ヘリックス（14アミノ酸残基からなる相互作用領域）]。2つのヘリックスは、内側に存在するLeu基の疎水相互作用及び側面のGlu基とLys基の静電相互作用により寄り添い、安定な構造を形成する。一方、ヘリックス外側のアミノ酸は立体構造構築に関わっていない。したがって、外側のアミノ酸（X部分）を様々なアミノ酸に置換することにより、同一構造のペプチド・ライブラリーを構築することができる。このライブラリーを提示させ（ファージ表層提示ライブラリー）させ、各種標的タンパク質（疾患関連タンパク質）に対してスクリーニングし、強い結合活性をもつ分子標的HLHペプチドの獲得に成功している。

これまでに、図2のような相互作用トポロジー（ランダム変異部位）の異なる4種の分子標的HLHペプチド・ライブラリーを構築し、またアミノ酸の種類の違いにより、17種のライブラリーを保有している（各ライブラリーサイズ>1x10⁹）。

アミノ酸の種類により17種ライブラリーを保有 ライブラリーサイズ:>1 x 10⁹

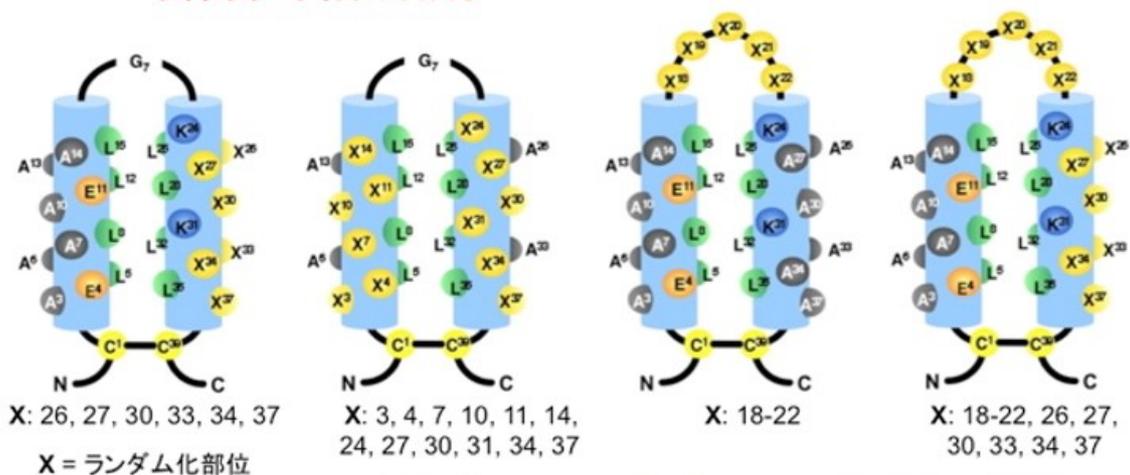


図2. 多様性のある分子標的HLHペプチド・ライブラリーの構築

[3] 支援技術の利用例

抗体様物質として、安定なヘリックスループヘリックス構造をもつペプチド「分子標的HLHペプチド」の開発を行っている。進化分子工学的的手法により、すでに、各種のサイトカインや受容体に対する分子標的ペプチドの獲得に成功している。顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）受容体の場合、獲得された分子標的HLHペプチドは、強い結合活性（Kd = 3nM）をもち、G-CSFによる細胞増殖を完全に阻害した（IC50 = 75nM）。このペプチドは、強固なヘリックス構造を保持しており（helix 59%）、マウス血清を用いて酵素分解に対する安定性を経時的に追跡したところ、15日の半減期をもつことが判明した。さらに、マウスに免疫し、分子標的HLHペプチドが抗原性をもたないことを確認している（非免疫原性）。すなわち、分子標的HLHペプチドは、低分子量であるにもかかわらず抗体と同等の強力な結合活性（Kd：数nM以下）を示し、かつ酵素分解に対して高い安定性（血清中半減期：14日以上）をもち、非免疫原性であることから、従来の抗体医薬の問題点を一挙に解決し、これに代わりうる革新的医薬品開発につながる。

[4] 支援担当者の研究概要

“分子標的HLHペプチドを基盤とした新しい創薬モダリティの開発”

21世紀に入るとともにヒトの遺伝子構造の全容が明らかにされた。現在、ゲノムから翻訳されるタンパク質の網羅的な解析が進められており、生命科学研究や医薬品開発の標的タンパク質が劇的に増えてきている。この急速なプロテオーム解析に迅速に対応するために、タンパク質?タンパク質相互作用を制御する分子標的化合物の新しい設計法が求められている。現在、タンパク質相互作用に対する分子標的ツールとして抗体が注目されており、また分子標的医薬品としても汎用されるようになってきている。しかし、抗体（抗体医薬）には、致命的な欠点があり、以下のような問題点が指摘されている（図3）。①抗体は、多数のジスルフィド結合を含む巨大タンパク質であるため、細胞内に導入したり、細胞内で機能させたりすることができず、細胞内の疾患関連タンパク質をターゲットとすることができない。②ヒトに対する抗原性を下げるため、ヒト化等が必要である。③モノクローナル抗体であるために生産に膨大なコストを必要とする。その結果として薬剤治療費が高騰し社会問題になっている。さらに、④抗体医薬の開発や生産には、特許の制限が複雑に絡み合っている。これらの問題点は全て、抗体の基本構造に起因するものである。そこで、本研究課題では、イムノグロブリン構造を利用せず、目的の標的タンパク質に対して特異的に結合する抗体様分子「分子標的HLHペプチド」の設計法を確立し、従来の抗体が抱える複数の課題をすべて克服する。

国内外において、非イムノグロブリン骨格の抗体様物質の研究が行われている。これらの全ては抗体様タンパク質で、天然タンパク質を土台にしているため、小さいものでも分子量が10,000を超え、その結果、免疫原性があり、また細胞膜透過性ないなどの問題を残している。一方、分子標的HLHペプチドは、完全de novo（天然タンパク質にはないアミノ酸配列）で設計されており、そのため分子量を5000以下に抑えることに成功している。その結果、非免疫原性、細胞透過性を獲得し、また低コストでの化学合成が可能になるなど、多くの点で優れており、非常に独自性の高いものである。

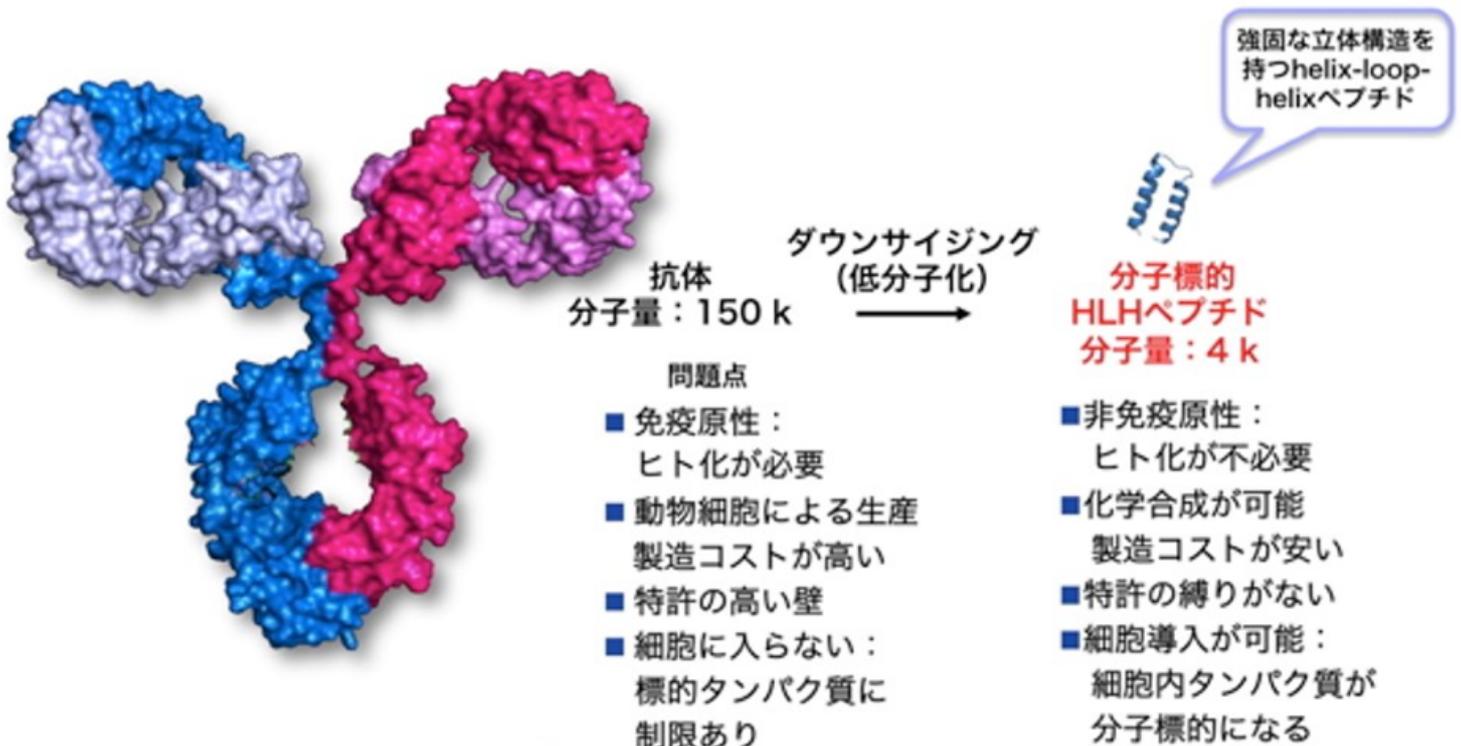


図3. 分子標的HLHペプチドを基盤とした新しい創薬モダリティの開発