

TSUBAME 共同利用 令和3年度 学術利用 成果報告書

利用課題名 新規 BRCAness 誘導阻害剤開発に向けた理論研究
英文: Theoretical study for the development of novel BRCAness inhibitor

小関 準
Jun Koseki

国立大学法人東海国立大学機構名古屋大学大学院医学系研究科
Graduate School of Medicine, Nagoya University
URL

邦文抄録(300 字程度)

近年、合成致死の原理を利用した PARP 阻害剤による BRCA 変異陽性がんの治療法が再脚光を浴びている。PARP 阻害剤の有効性は様々な癌腫においても確認されているため、幅広くリバーズ・イノベーションを起こしうる可能性がある。そこで、未だ詳細が明らかではない「BRCAness」に関わる分子を標的とした、革新的新規誘導阻害剤の研究開発を行うことを目的とし、研究を推進した。共同研究先では現在、「BRCAness」に関わる有効分子標的探索を並行して実施しているため、TSUBAME を用いた創薬標的分子解析では、まずは Alphafold2 を用いてヒトの全タンパク質の立体構造予測を実施した。

英文抄録(100 words 程度)

Recently, PARP inhibitors, which utilize the principle of synthetic lethality, are gaining renewed attention for the treatment of BRCA mutation-positive cancers, and their efficacy has been confirmed in various types of carcinomas, which may lead to a wide range of reverse innovation. Therefore, we promoted research aimed at developing innovative novel inducible inhibitors targeting molecules involved in "BRCAness," the details of which are still unclear. Since our collaborators are currently searching for effective molecular targets related to "BRCAness" in parallel, we first used Alphafold2 to predict the 3D structures of all human proteins in the analysis of drug target molecules.

Keywords: 5つ程度 BRCA, Drug Target, Drug Design, Structure Prediction, Structure Analysis

背景と目的

近年、合成致死の原理を利用した PARP 阻害剤による BRCA 変異陽性がんの治療法が再脚光を浴びており、国内外の臨床試験から様々ながん腫における有効性が実証されてきた。2016 年に転移性前立腺がんの大規模解析から、標的候補として ATM を含む 15 個の遺伝子に変異が同定されている。しかしながら BRCA 以外の変異は 1%前後と非常にレアであることや、ATM 変異陽性患者では PARP 阻害剤に対する有意なレスポンスが認められないこと、事実上全ての患者が治療に対する抵抗性を示すことも報告されており、臨床的に有望な PARP 阻害剤の用途を新たな視点から開拓することが求められている。そこで、未だ詳細が明らかではない「BRCAness」に関わる分子を標的とした、革新的新規誘導阻害剤の研究開発を行うことを目的とした。

概要

本プロジェクトでは、Domainfocused CRISPR スクリーニングから得られた合成致死性を示す機能的ドメイン近傍のタンパク質に対する創薬に備えて、Alphafold2 を用いてヒトの全タンパク質の立体構造を予測し、さらに申請者が作成した独自のプログラムにより、生体内環境を模倣した分子動力学シミュレーション用のインプットファイルを自動生成した後、エネルギー最小化計算を実施した。

結果および考察

いかなるタンパク質が「BRCAness」創薬標的になっても対応できるように、ヒトで発現している全てのタンパク質の WT 配列から、Alphafold2 を用いてタンパク質構造を予測した。その後、申請者の小関が作成した自動解析プログラム (Fortran, Bash を使用) により、各タンパク質におけるそれぞれのアミノ酸の荷電状態 (プロ

トン化状態、脱プロトン化状態)及び、ジスルフィド結合形成判定、そしてタンパク質内における水素結合ネットワークの最適化を実施し、生体内における最適なタンパク初期構造を自動作成した。作成したプログラムでは、これらの初期構造を用いて分子動力学シミュレーション用ソフト Amber 及び Gromacs で使用できるエネルギー最小化用のインプット作成までを自動で取り扱える。この作成プログラムは、後日、本申請研究とは別研究で開発中の構造解析プログラムとともに、Github へのアップロードする予定である。上述した分子動力学シミュレーション用のインプットを利用し、全タンパク質に対するエネルギー最小化計算を実施した。申請者は、現在、ヒト全タンパク質の立体構造解析に取り掛かっている。申請者は来年度の追加利用申請をしているが、来年度では分子動力学シミュレーションを実施することで、各タンパク質の熱構造サンプリングを実施し、酵素活性部位の有無および同定と、薬物標的箇所の同定(酵素である場合は酵素部位、そうでない場合は機能性タンパク質 - タンパク質相互作用界面の同定)をすることで、目的である BRCAnessにかかわる有効分子標的における創薬分子(低分子、中分子)の設計に取り掛かる予定である。

まとめ、今後の課題

令和3年度では、ヒトタンパク質全ての構造について立体構造を予測し、Amber, Gromacs での計算インプットを作成してエネルギー最小化及び平衡化計算を実施した。令和4年度はこれらの結果を用いて、サンプリング構造分布から、創薬ターゲットとなりえる箇所を特定し、阻害分子設計につなげる。