

**立教大学学術推進特別重点資金（立教SFR）**  
**プロジェクト研究（重点領域・推進プロジェクト研究）**  
**2016年度研究【経過（成果）報告書】**

研究代表者	所属部局・職		氏名				
	理学部・教授		常盤 広明 印				
研究課題	フォトクロミックバイオプローブの合理的設計と新機能創製						
研究組織	所属研究機関・部局・職			氏名			
	立教大学・未来分子研究センター・副センター長 立教大学・理学部・准教授 立教大学・理学部・教授 立教大学・理学部・教授 国立感染症研究所・ウイルス3部・部長 広島国際大学・薬学部・教授 広島国際大学・薬学部・准教授 星洲薬科大学・医薬品化学研究所・教授 立教大学大学院・理学研究科・博士前期課程 立教大学大学院・理学研究科・博士前期課程 立教大学大学院・理学研究科・博士前期課程 立教大学大学院・理学研究科・博士前期課程 立教大学大学院・理学研究科・博士前期課程 立教大学大学院・理学研究科・博士前期課程 立教大学大学院・理学研究科・博士前期課程			入江 正浩 森本 正和 木下 勉 岡 敏彦 後藤 聡誠 竹田 潔 池田 宗可 大坪 忠政 天津 祥吾 中野 里 清水 萌太郎 立川 裕 猪股 大祥子 加藤 大地 榎澤 早紀 松尾 直也 松花 房玲奈 佐藤 伶奈 加瀬 彩和 榎原 遼太			
研究期間	2014 年度		～	2016 年度			
研究経費	2014 年度		2015 年度		2016 年度		総計
	14,999,994	円	14,991,698	円	15,000,000,	円	44,991,692
(上段：支出金額)	15,000,000		15,000,000		15,000,000,		45,000,000
(下段：採択金額)							

**研究の概要** (200～300字で記入、図・グラフ等は使用しないこと。)

本プロジェクトは、「フォトクロミック分子材料」と「生命理学的バイオプローブ」とを有機的に融合することにより、「フォトクロミックプローブの合理的設計開発と新機能創成」という統合化新領域の確立を目的とする。従来までのフォトクロミック分子は、各種デバイス材料などさまざま領域で利用されてきたが、その水溶性の低さから生体系への適用には限りがあった。その一方で、近年のバイオプローブを用いたイメージング技術革新には目覚ましいものがあり、基礎生物学的な利用から臨床応用まで幅広く用いられている。そこで本プロジェクトでは、フォトクロミックバイオプローブを開発し、ウイルス、卵細胞などの生体系へ応用する。さらには、超高解像度顕微鏡への応用を目指す。

**キーワード** (研究内容をよく表しているものを3項目以内で記入。)

[ フォトクロミック分子 ]      [ バイオプローブ ]      [ 多次元化 ]

## 研究【経過・成果】の概要 (図・グラフ等は使用しないこと。)

この立教 SFR 重点プロジェクトでは、本学を拠点とした AMED-CREST、新学術領域プロジェクト研究、革新的研究開発推進プログラム ImPACT、ならびに科研費特別推進研究、基盤 (S)、(A) などの多年度に渡る外部大型プロジェクト申請に向けた基盤整備を目的として、近年広領域に渡り発展の目覚ましいバイオイメージングに対して、適用可能な**高性能フォトリソミックバイオプローブ**の創出を目指して、**高精度理論計算に基づく合理的な設計開発戦略**の下、

i) 「蛍光量子収率・光反応量子収率の精密制御」

ii) 「可視光応答性の付与」

iii) 「水溶性・生体認識能の付与」の各項目について、

合理的設計、戦略立案： 常盤、入江 (学内)、中野 (学外)

光物性計測測定： 入江、森本 (ともに学内)

化学合成： 池田、大坪、津吹 (すべて学外)

生体システムへの適用： 木下、岡、後藤 (学内) および 竹田、中野 (学外)

の各グループ内およびグループ間の領域横断型プロジェクト研究をこれまでの研究を元に発展、展開した。さらに最終年度においては、これまでの中低分子だけでなく、新規抗体開発を指向した高分子、結晶系に関する研究も展開した。これまで進めてきた2年間の研究基盤整備を基に、さらなる合理的設計および応用範囲の拡大を行った。特に昨年度後半に全世界において、飛躍的な発展を遂げた第四次革新的技術である機械学習 (人工知能) をはじめとした新バイオインフォマティクス手法の導入に力点を置き、これまで難解析性とされた標的分子系への展開も図った。特に他の私学にはない特徴である本学理学部化学科および生命理学科で展開されている **Wet-Dry** 融合のアプローチに加えて、昨今、日本政府が科学技術研究のうち特に重要視しているビックデータの有効活用を生かせるインフォマティクス技術の導入を目指した。実際に標的分子の立体構造を用いた解析だけでなく、これまでの多数の実験的知見を集積したビックデータを効率的に統計的に処理して、実験的なアプローチのみでは解決が困難な現象を解析できる新規手法の開発、応用を行った。実際に、これまで展開してきた低分子に対する合理的設計、化学合成技術を、中高分子である抗体、デンドリマー系へ拡張した。さらに昨年度、筑波大、金沢大、群馬大の各医学部とともに採択となった AMED-CREST (グループ型) とも有機的に連携して、専門的な論文や学術的発表を最終的なアウトプットとするのではなく、実際の「創薬」を指向した研究に対して、ケミカルバイオロジーのツールとして、光応答性分子の適用を図った。さらに、今年度新規募集が開始されている国立感染症研究所を中心とした AMED プロジェクトに対して、新規抗体開発を含むプロジェクト研究へと拡張して、感染症薬治療開発として申請予定である。

また、本学にて別途推進されている3Dプリンタに関するGPプロジェクトの後方支援を受けて、合理的分子設計のツールとして、新規3Dプリンタモデルの開発にも取り組んだ。特に、標的たんぱく質の比較的大きなサイズの新型3Dモデルの構築に成功し、本プロジェクト独自のモデル (以下、立教 SFR モデルとする) として確立することができた。これに関連する成果については、日本薬学会第136年会において報道機関向け特別講演に選定され、その詳細が薬事日報にて紹介された。さらに、本モデルの具体的に利用として、以下の2点が特筆される。

合理的創薬の先駆者として、世界初の抗インフルエンザ薬の開発に成功した Prof. Mark von Itzstein を昨年度5月に本学に招聘し特別講演会を開催したが、その後の共同研究によって、立教 SFR モデルをインフルエンザ表面たんぱく質NAに適用した。その3Dモデルを、アメリカサンタバーバラでの Sialoglyco 国際会議での特別講演において、糖質科学者に紹介した際、大変好評を得ることができ、同モデルの新規抗ウイルス薬開発への有効性を示すことができた。また昨年度、東京大学医科学研究所教授河岡義裕先生の学士院賞受賞の際、研究の紹介において、インフルエンザHAタンパク質の立教 SFR モデルが利用された。さらに、このHAモデルは、NHK テレビのスペシャル番組 MEGA CRISIS 巨大危機3▽ウイルス“大感染時代”の中でも、実際のインタビューの中で、視聴者へのウイルス感染の説明に3Dモデルとして利用された。

理学における **Wet-Dry** 融合研究により、新たな分子ツールとしての機能性分子の開発によって、抗ウイルス薬のない標的に対する合理的阻害剤開発が本学を中心に強力に推進されて、オーストラリアをはじめとする海外の研究拠点との間の共同研究も活発化した。特に、今年度には、大学院学生や学部学生がEUの資金支援を受けた世界最先端の実験設備を有するヨーロッパへ短期滞在し、実際の研究者などとの交流も行った。次世代の生体系科学の解析技術のひとつとして注目されているクライオ電子顕微鏡装置や超並列クラスター計算機システムなどを学習できたことは、今後、本学院生、学生のグローバルにおける活躍に直結するものと考えられる。本研究にて開発した光応答性分子については、超高解像度顕微鏡の開発元であるドイツの共同研究先へ提供し、マックスプランク研究所内での独自開発分子との比較検討も行われた。大学院生をはじめとする若手研究者の国際学会での発表の支援については、昨年度に引き続き今年度も多数行い、スロバキア、インドからの研究者を招聘し、また、アメリカなどでの国際学会で発表などを行った。

**研究【経過・成果】の概要 つづき**

プロジェクトの最終年度においては、外部大型プロジェクト申請の「コア」となる科学的成果を上げるため、各組織基盤を確固たるものとし、Wet-Dry 研究間の連携をさらに深めた上で、ウイルス系を中心とした各種生体系への応用、ならびに究極まで高めた複合的光物性を有する光応答性分子の設計開発に対して、広く研究展開した。これまで分担研究者の池田を中心として開発が進められた蛍光性分子を導入したバイオプローブが、インフルエンザの表面たんぱく質をはじめとし、がん細胞、哺乳類内のシアリダーゼなど、さまざまな生体系標的分子に有効であり、迅速な分子検出マーカーとして利用可能のことが明らかとなった。これらの成果は日本薬学会での学術貢献賞に繋がることとなった。

その一方で、現在、世界中で多数の患者がいるⅡ型糖尿病の化学療法剤としては、種々の薬剤が開発されているが、同一標的でありながら、各薬物分子の作用機序については不明の部分が多く、実際の患者への適切な処方には臨床医の判断に任されているのが現状であった。それに対して、本研究において新規光応答性分子の合理的設計に用いられた理論的手法は、抗糖尿病薬と標的タンパク質との相互作用解析にも容易に適用可能なため、異なる抗糖尿病薬の分子的作用機序の違いについて解析を行い、非共有結合性薬物の結合性の違いを理論的に明らかにすることができた。この成果については、国際会議にて発表後、*PLoS One* に公表した。また、抗インフルエンザ薬の標的たんぱく質 NA の 9 種すべての亜型に対して有効であり、タミフル® 耐性型ウイルスにも有であるにも関わらず、ヒト体内のシアリダーゼには不活性な新規薬物候補化合物の合理的設計への応用については、創薬領域のトップレベルの専門誌である *J. Med. Chem.* に公表した。本プロジェクトにて開発された合理的分子設計手法は、対象分子に複数の異なる機能を付与することができるため、このように複雑な要請を満たす薬物の設計にも有効であることが示された。

また、これからの社会を大きく変革してしまう可能性を秘めている第四次革新技術は、従来までの構造のみを基盤とした化学・生物学研究とは一線を画して、資源の乏しい日本において、今後の生き残り戦略の柱の技術として、政府が大変期待している技術であり多くの科学技術予算が計上されつつある。しかしながら、それらの多くは自動車の自動運転やロボット開発、天気予報など工学的な応用のものがほとんどであった。それに対して、本プロジェクトではこの点に注目し、2 年目の途中から、これまで長年の実験により得られた解析データ群であるビックデータから、効率的に「コア」事象を抽出できることから、構造未知の標的にも応用が可能である新規手法を開発して、合理的分子設計に適用してきた。具体的には、未だ臨床応用可能な治療薬やワクチンがないウイルスに対する新規人工抗体の設計や、構造が不安定のため、構造生物学的解析が困難とされている膜タンパク質を安定化させて、構造特異的に結合できる人工抗体を設計などに適用した。現在、これらの成果をとりまとめて、トップジャーナルへの公表準備を進めている。

また今年度においても、Wet サイドにおける生体系の生化学的解析研究も大いに進捗し、木下を含む大型の国際プロジェクトによって、アフリカツメカエルの全ゲノム解析がなされ、今後の生体反応の新しいスイッチングの仕組みの分子論的解明に期待がもたれる。この成果は *Nature*(2016) のトップページをかざり、プレス発表もなされた。関連の発表については、本プロジェクトメンバーである複数の大学院生によって、本年度沖縄にて行われた国際動物学会にて発表された。また、Dry サイドからの研究としても、上述したように 3D プリンタ造形を用いた新しい創薬手法の開発についても鋭意推進し、立教独自のモデルを創製することができた。

そのような中、特に本プロジェクトメンバーである大学院生の発表が、日本薬学会関東支部会において 2 年連続、審査の結果、優秀発表賞を受賞したことは、本プロジェクトの若手研究者育成が功を奏した好例といえる。

以上、3 ヶ年に渡る本プロジェクトにおいて、各グループごとの学術的な成果は順調に挙げられたものとする。しかしながら、本プロジェクト最大の課題である本学を中心とする ImPACT、新学術領域、ならびに科研費における特別推進研究、基盤 (S) もしくは (A) といった大型申請は、何度か組織を変えてトライをしたものの、残念ながら採択に至ることはできなかった。しかしながら、本プロジェクトを推進することによって、超解像度顕微鏡に適用可能な新規光応答性分子の開発が達成され、またその一方で第四次革新技術の基礎として従来にはないバイオフィーマティクス手法が確立されたことによって、今後の申請の柱となるトップジャーナル級の「コア」な成果を早い段階で創生できるものと期待している。例えば、難解析性標的に対する新規薬物を含む複合体の立体構造解析、すなわち、新規疾病標的タンパク質の共結晶解析の成功、さらには標的ウイルスに対して特異的に結合する抗体の合理的設計等を達成することによって、本プロジェクトの遂行による外部大型プロジェクト申請への道を開きたい。

※ この(様式 2)に記入の、経過・成果の公表を見合わせる必要がある場合は、その理由及び差し控え期間等を記入した調書(A4 縦型横書き 1 枚・自由様式)を添付すること。

**研究発表** (研究によって得られた研究経過・成果を発表した①～④について、該当するものを記入してください。該当するものが多い場合は主要なものを抜粋してください。)

- ① 雑誌論文 (著者名、論文標題、雑誌名、巻号、発行年、ページ)
- ② 図書 (著者名、出版社、書名、発行年、総ページ数)
- ③ シンポジウム・公開講演会等の開催 (会名、開催日、開催場所)
- ④ その他 (学会発表、研究報告書の印刷等)

### ① 専門論文

- 1) B. Roubinet, M. L. Bossi, P. Alt, M. Leutenegger, H. Shojaei, S. Schnorrenberg, S. Nizamov, M. Irie, V. N. Belov, S. W. Hell, "Carboxylated Photoswitchable Diarylethenes for Biolabeling and Super-Resolution RESOLFT Microscopy", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **55**, 15429-15433 (2016) (Very Important Paper & Back Cover Issue).
- 2) M. Morimoto, R. Kashihara, K. Mutoh, Y. Kobayashi, J. Abe, H. Sotome, S. Ito, H. Miyasaka, M. Irie "Turn-on mode fluorescence photoswitching of diarylethene single crystals", *CrystEngComm*, **18**, 7241-7248 (2016).
- 3) S. Arulmozhiraja, N. Matsuo, E. Ishitsubo, S. Okazaki, H. Shimano, and H. Tokiwa, "Comparative Binding Analysis of Dipeptidyl Peptidase IV (DPP-4) with Antidiabetic Drugs - An Ab Initio Fragment Molecular Orbital Study -", *PLoS One* (DOI: 10.1371/journal.pone.0166275) (2016).
- 4) S. Nakano, K. Yasukawa, T. Tokiwa, T. Ishikawa, E. Ishitsubo, N. Matsuo, S. Ito, H. Tokiwa, and Y. Asano, "Origin of Stereoselectivity and Substrate/ligand Recognition in an FAD-Dependent R-Selective Amine Oxidase", *J. Phys. Chem. B*, **120(41)**, 10736-10743(2016).
- 5) H. Katoh, T. Kubota, Y. Nakatsu, M. Tahara, M. Kidokoro, M. Takeda. "Heat shock protein 90 ensures efficient mumps virus replication by assisting with viral polymerase complex formation", *J. Virol*, doi: 10.1128/JVI.02220-16JVI.02220-16 (2017).
- 6) T.Michiue, T.Yamamoto, Y.Yasuoka, T.Goto, T.Ikeda, K.Nagura, T.Nakayama, M.Taira, T.Kinoshita, "High variability of expression profiles of homeologous genes for Wnt, Hh, Notch, and Hippo signaling pathways in *Xenopus laevis*", *Dev. Biol.*, S0012-1606(16)30056-2. doi: 10.1016/j.ydbio.2016.12.006 (2016). など合計 34 報

### ② 図書

- 1) 常盤広明『高精度理論計算に基づく新規抗インフルエンザ薬候補化合物の合理的設計開発』BIO Clinica2017年春号
- 2) 森本正弘、入江正浩「光に応答する分子結晶」化学と工業 2017年4月光応答分子の化学。

### ③ シンポジウム、招待講演など

- 1) 常盤広明「産業応用酵素を最新の計算科学で設計・制御する」JST-ERATO 浅野酵素活性分子プロジェクト成果発表会 2016.12.22.
- 2) 竹田誠「麻疹(はしか)の排除はどこまで進んだか」第6回日本微生物学連盟フォーラム「人類は感染症を克服できるか」2016.4.23.
- 3) 中野 祥吾「Wet-Dry 融合による新たな蛋白質工学的手法の開発 ～INTMSAlign の開発と応用～」2016年度日本生物工学会中部支部例会 2016.8.5. など計5件

### ④ その他

日本薬学会第136回年会での報道機関向けハイライト講演が「3Dプリンタの利用で創薬設計」として、薬事日報1月27日版に紹介され、日本薬学会第137回年会での発表も2年連続で報道機関向けハイライト講演として発表され、プレス予定。

### 学会発表：

- 1) "Rational drug design of anti-human parainfluenza virus compounds using a novel *in silico* approach combining computational chemistry and bioinformatics", N. Matsuo, S. Arulmozhiraja, S. Nakano, S. Ito, T. Takahashi, T. Suzuki, K. Ikeda, M. von Itzstein, H. Tokiwa, Sialoglyco International Symposium 2016, November 11-14, 2016, Santa Barbara, CA, USA.
- 2) "Quantum mechanical studies of glycans using fragment molecular orbital method", N. Matsuo, S. undaram Arulmozhira, S. Nakano, S. Ito, and H. Tokiwa, Society for Glycobiology(SFG) ANNUAL MEETING, November 11-18, 2016, New Orleans, LA, USA.
- 3) "Construction of a novel cell membrane model based on all electron calculations and its application to the chemical biology", R. Matsuda, N. Matuo, Y. Yamamoto, Y. Ishikawa, S. Arulmozhiraja, V. Sladek, S. Nakano, H. Shimano, H. Tokiwa The 3rd International Conference on Pharma-Food (ICPF 2016). など国際会議9件、国内学会83件