

## 第4回蛋白質工学研究会ワークショップ『蛋白質工学と理論・インシリコアプローチ』

日時：6月25日（月）15：00～18：30

会場：朱鷺メッセ2階 中会議室 201

主催：日本蛋白質科学会・蛋白質工学研究会

後援：シスメックス株式会社、ダツソー・システムズ・バイオピア株式会社、株式会社モルシス

世話役：白井 宏樹（アステラス製薬）、津本 浩平（東京大学）

参加費：無料、事前登録：不要

日本蛋白質科学会では産官学の研究交流・情報交換を積極的に推進する活動を行うため、2013年に蛋白質工学研究会を設置しました。その活動の一環として、特に産業界から要請の強い話題について最先端の話題を数名の演者に御講演頂くワークショップを開催しています。今回のワークショップは、蛋白質工学と理論・インシリコアプローチへの期待をトピックとしてご講演頂きます。産業界の方はもとより、アカデミア研究者のご参加も歓迎します。ふるってご参加ください。

### アジェンダ)

- 15:00 『蛋白質工学による DNA ポリメラーゼの機能改変』  
石野 良純（九州大学農学研究院）
- 15:35 『理論計算を用いた膜蛋白質の耐熱化法の開発』  
村田 武士（千葉大学 大学院理学研究科）
- 16:10 休憩
- 16:20 『FR3 への荷電アミノ酸導入による抗体分子の親和性改変技術』  
福永 淳（シスメックス株式会社）
- 16:35 『MOE によるバイオ医薬品設計支援』  
東田 欣也（株式会社モルシス）
- 16:50 『BIOVIA Discovery Studio を用いた抗体設計』  
高岡 雄司（ダツソー・システムズ・バイオピア株式会社）
- 17:05 休憩
- 17:15 『コンピュータを用いた抗体工学研究』  
黒田 大祐（東京大学工学系研究科）
- 17:50 『大規模分子計算によるタンパク質の改変設計』  
星野 忠次（千葉大学 大学院薬学研究院）
- 18:25 総括：津本 浩平（東京大学大学院工学研究科）

### 要旨)

#### 『蛋白質工学による DNA ポリメラーゼの機能改変』

石野 良純（九州大学農学研究院）

試験管内 DNA 操作技術の進歩とともに生命科学が急速に発展し、それがまた新しい需要を生んで新たな技術が開発されてきた。試験管内で DNA 鎖を合成できる DNA ポリメラーゼは、PCR や塩基配列解読にとって欠くことができない酵素であり、遺伝子操作の花形酵素としてその市場性は極めて高い。また、この酵素の機能を向上させることは、新たな遺伝子工学技術開発にも繋がる。本ワークショップでは、PCR 酵素として最も普及している Taq ポリメラーゼに、より高い伸張性、またより強い鎖置換活性を付与することに成功したタンパク質工学の成功例を紹介する。創製された酵素は、既存の PCR の利用範囲を広げると共に、鎖置換活性を利用した遺伝子増幅技術の拡大にも貢献する。さらに、これらの成功は、実用的な酵素を提供するだけでなく、DNA ポリメラーの性質をより深く理解するための構造・機能情報として役立てることができる。

#### 『理論計算を用いた膜蛋白質の耐熱化法の開発』

村田 武士（千葉大学 大学院理学研究科）

膜蛋白質は重要な創薬標的であり、市販医薬品の 50%以上が膜蛋白質に作用することが知られている。副作用が少なく、効果の高い薬剤の設計・改良のために、創薬標的となる蛋白質の立体構造に基づいた医薬分子設計が有効であることが示されている。しかし、一般に膜蛋白質は熱安定性が低いため、精製中に変性し大量生産が難しい場合が多い。このため、水溶性蛋白質に比べ膜蛋白質の立体構造解析研究が遅れていた。最近我々は、統計力学理論計算を用いた膜蛋白質の熱安定化変異体予

測法を開発した。本技術を用いることにより多くのヒト膜受容体の大量生産に成功している。本講演では、ヒト膜受容体の大量生産方法の世界的現状を紹介し、本開発技術の有用性と課題について議論したい。

### 『FR3 への荷電アミノ酸導入による抗体分子の親和性改変技術』

福永 淳 (シスメックス株式会社)

診断薬や抗体医薬において、抗体分子の親和性は重要な特性である。これまで様々な手法により高親和性抗体を創製する研究がなされてきた。しかしながら、それらの多くはエピトープに対する CDR の相補性を改善する戦略であり、 $k_{off}$  を低下させることがあっても、 $k_{on}$  を向上させることは困難であった。我々は、抗体のフレーム領域 (FR) に荷電アミノ酸を導入することで、 $k_{on}$  を向上・低下させ、親和性を改変する新たな技術を確認した。実験では、抗インスリン抗体の FR3 に Lys、Arg、Glu、Asp をそれぞれ 5 つ導入した変異体を作製し、速度論的解析を行った。Lys 変異体においては、野生型に対し  $k_{on}$  が 22 倍向上し、親和性は 27 倍向上した。また、Glu 変異体においては、野生型に対し  $k_{on}$  が 0.11 倍低下し、親和性は 0.15 倍低下した。本研究成果は、抗体の親和性を簡便かつ汎用的に改善し得る可能性を示唆するものであり、抗体分子設計に対する新たなストラテジーを提唱するものである。

### 『MOE によるバイオ医薬品設計支援』

東田 欣也 (株式会社モルシス)

統合計算化学システム MOE は、計算化学者から実験研究者まで幅広いユーザーの研究をサポートする創薬・生命科学研究のための分子シミュレーションソフトウェアです。MOE はペプチドデザインをはじめ、突然変異体モデリング、バーチャルファージディスプレイ、表面パッチ解析、タンパク質-タンパク質ドッキングシミュレーションなどのバイオ医薬品設計を支援するさまざまな機能を搭載しています。本セミナーでは、応用事例も交えながら、MOE のバイオ医薬品設計を支援機能について紹介します。

### 『BIOVIA Discovery Studio を用いた抗体設計』

高岡 雄司 (ダッソー・システムズ・バイオピア株式会社)

抗体をはじめとするバイオ医薬品の研究開発が盛んになる中、ライフサイエンス研究分野のための包括的な予測科学向けアプリケーションである Discovery Studio には、2010 年頃から抗体等タンパク質の設計を支援する様々な機能が搭載されてきています。基盤となっているのは、アカデミアで開発が進められておりかつ定評のある MODELLER や CHARMM 等で、これらを基に BIOVIA では抗体構造の精度の高い自動モデリング、変異導入による安定性や抗原等のリガンドとの結合親和性変化の予測、安定性を損なうことのない抗体のヒト型化の提案、タンパク質凝集性の予測やランク付け、タンパク質間相互作用様式の予測、等電点や水とエネルギーの計算等、多彩な解析ツールを開発、搭載してきており、今後もさらなる機能追加が予定されています。本ワークショップではこれらの機能それぞれについて簡単にご紹介させて頂く予定です。

### 『コンピュータを用いた抗体工学研究』

黒田 大祐 (東京大学工学系研究科)

物質を分子レベルで自在に設計・制御する技術は、多くの研究者にとって「夢の技術」である。蛋白質の物性を自在に制御できるようになれば、基礎研究のみならず、蛋白質医薬品や新規素材開発への応用など、その社会へのインパクトも大きい。そうした中で、近年我々は、合理的な抗体の物性制御を目指し、コンピュータを用いた抗体工学研究を進めている。本発表では、抗体工学研究における、コンピュータの 3 つの役割を紹介する。1 つ目は実験現象の説明・解釈、2 つ目はよりよい物性を目指した合理的な分子設計、そして 3 つ目は、さらなる実験へ向けての仮説立案である。本発表では、そのそれぞれについて、事例を交えながら議論したい。

### 『大規模分子計算によるタンパク質の改変設計』

星野 忠次 (千葉大学 大学院薬学研究院)

抗体分子の物理化学的測定あるいは論理的改変において、Fab や scFv のような低分子量の組換え抗体分子を用いて実験することが良く行われる。ところが Fab 化あるいは scFv 化することで、分子が不安定となり、十分な発現量が得られない、あるいは抗原に対する親和性や特異性が低下することなどが起こりうる。安定な組換え抗体分子を得る一つの方法は、分子にアミノ酸変異を導入することである。この目的で大規模な並列計算を実行して、分子に施すべきアミノ酸変異を決定することは、有効なアプローチである。また抗原と組換え抗体との結合構造情報は、抗体の親和性を向上させる改変設計を行う上での鍵となるが、もし開発期間等が限られている場合には必ずしも X 線結晶構造解析で解明できる保証はない。この場合にも、並列計算を駆使して、結合構造予測をすることは可能である。本発表では、CD4 陽性 T 細胞の CD4D1 部位を抗原とした抗体を例にとり、計算機解析を援用したタンパク質の改変設計の可能性について議論したい。