

戦略的創造研究推進事業 CREST
研究領域「イノベーション創発に資する
人工知能基盤技術の創出と統合化」

研究課題「人工知能技術を用いた
革新的アプタマー創薬システムの開発」

研究終了報告書

研究期間 2018年10月～2021年3月

研究代表者: 浜田道昭
(早稲田大学理工学術院 教授)

§ 1 研究実施の概要

(1) 実施概要

本研究は、「AI アプタマー創薬」を世界で初めて確立することにより、次世代新薬の要である「RNA アプタマー」（以後「アプタマー」と呼ぶ）の創薬期間の劇的な短縮および創薬成功率の向上を実現し、医薬品開発にブレークスルーを起こすことを目指すものであった。スモールフェーズでは、データ駆動型 AI アプタマー創薬を実現するために、以下に示すとおり、①大規模実験データの取得、②新規情報技術の開発、③創薬に向けた応用実証研究、④システム構築をプロジェクト内で一貫して行った。

① 実験データ取得（リボミック G, 東大医科研 G）

リボミックグループでは、リボミック社における実際の創薬ターゲットに関する HT-SELEX データ（12 標的、20 種）を取得した。また、約 600 本の配列に関して結合活性評価（SPR）試験を行った。取得したデータの多くは知財保護のために現時点では非公開としているが、公開可能な一部データの一般公開を行った（アクセス番号：DRA009383, DRA009384）。また、東大医科研グループにおいては、膜タンパク質などの難しいターゲットに関するモデルケースとして、デングウイルス様粒子をターゲットにした HT-Cell-SELEX データ（20 セット）を取得した。

② 新規情報技術開発（早稲田 G）

局所配列と構造情報に基づくアプタマー配列選択・モチーフ発見手法 RaptRanker を開発し誌上発表を行った [Ishida+, Nucleic Acids Res, 2020]. Nucleic Acids Res. は核酸研究のトップジャーナルの一つであり、インパクトファクターは 11.501 となっている。RaptRanker はソースコードも含めて一般公開してある。さらに、変分オートエンコーダー（VAE）とプロファイル隠れマルコフモデルを用いた RNA アプタマー生成モデルとベイズ最適化を組み合わせた、新規のアプタマー配列の提案手法 RaptGen を開発した [Iwano+, <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.02.17.431338v3>]。RaptGen は、入力データに含まれない新しい配列が提案できるという点において、RaptRanker 以上に新規性/有用性が高い手法となっている。

③ 実際の創薬に向けた応用・実証研究（早稲田 G, リボミック G, 東大医科研 G）

スモールフェーズにおいても、単にデータの取得・技術開発にとどまらずに、実際の創薬に向けた実証・応用研究を行った。具体的には、②で開発を行った RaptRanker を用いて早稲田グループで選択した候補配列に対して、以下が確認・実証された。

- ・ リボミックグループにおける実際の疾患ターゲット（2 例）に対して 薬理効果を有するアプタマーの取得に成功した。
- ・ 東大医科研グループでは、デングウイルス様粒子に関して、中和活性を有しつつ、強い結合力を示すアプタマーの取得に成功した。

④ AI アプタマー創薬システムのプロトタイプをリボミック社で運用を開始（早稲田 G, リボミック G）

スモールフェーズで開発した情報技術をもとにしたプロトタイプシステムをリボミックで運用を開始した。リボミックの研究員が創薬研究に活用できることが確認されている。

(2) 顕著な成果

< 優れた基礎研究としての成果 >

1. データ駆動型 AI アプタマー創薬のための基盤情報技術

概要: データ駆動型 AI アプタマー創薬の実現に寄与をする情報技術として、局所配列・構造情報を考慮したアプタマー配列の選択・モチーフ抽出手法 (RaptRanker), および、変分オートエンコーダーとベイズ最適化を用いた新規アプタマー配列の提案手法 (RaptGen) の開発に成功した. RaptRanker に関する論文は、国際学術誌 *Nucleic Acids Research* (インパクトファクター: 11.5) に掲載された.

2. デングウイルス様粒子を用いたアプタマー創製法の確立

概要: 本プロジェクトで最適化と高度化に取り組んだウイルス様粒子を用いたアプタマー創製法は、創薬標的として必須かつ困難である GPCR や輸送体のような内在性膜タンパク質全般に適応可能であり、また外来膜タンパク質であるウイルス膜タンパク質に対しても有効なアプタマー選抜技術であることを示した. 計算機科学との相乗的な発展により、膜タンパク質に対する新たな核酸抗体創薬技術のスタンダードになることが期待される.

< 科学技術イノベーションに大きく寄与する成果 >

1. RaptRanker を用いた応用・実証研究

概要: 本プロジェクトにおいて開発されたアプタマー選定技術 (RaptRanker) により選定されたアプタマーが、疾患病態モデルで十分な薬理効果を示すことを明らかにし、且つ、RaptRanker を活用することでアプタマーの機能発揮に必要なモチーフ配列を抽出することに成功した. これらの結果は、医薬品候補アプタマーの創出効率を格段に向上させるものであり、アプタマー創薬を手掛ける企業に実装することにより、アプタマー創薬が加速されると期待される.

< 代表的な論文 >

1. Ishida R, Adachi T, Yokota A, Yoshihara H, Aoki K, Nakamura Y, **Hamada M***, RaptRanker: in silico RNA aptamer selection from HT-SELEX experiment based on local sequence and structure information, *Nucleic Acids Res.* 2020 Jun 15; gkaa484. doi: 10.1093/nar/gkaa484.

概要: Aptamers are short single-stranded RNA/DNA molecules that bind to specific target molecules. Aptamers with high binding-affinity and target specificity are identified using an in vitro procedure called high throughput systematic evolution of ligands by exponential enrichment (HT-SELEX). However, the development of aptamer affinity reagents takes a considerable amount of time and is costly because HT-SELEX produces a large dataset of candidate sequences, some of which have insufficient binding-affinity. Here, we present RNA aptamer Ranker (RaptRanker), a novel in silico method for identifying high binding-affinity aptamers from HT-SELEX data by scoring and ranking. RaptRanker analyzes HT-SELEX data by evaluating the nucleotide sequence and secondary structure simultaneously, and by ranking according to scores reflecting local structure and sequence frequencies. To evaluate the performance of RaptRanker, we performed two new HT-SELEX experiments, and evaluated binding affinities of a part of sequences that include aptamers with low binding-affinity. In both datasets, the performance of RaptRanker was superior to Frequency, Enrichment and MPBind. We also confirmed that the consideration of secondary structures is effective in HT-SELEX data analysis, and that RaptRanker successfully predicted the essential subsequence motifs in each identified sequence.

§ 2 研究実施体制

(1) 研究チームの体制について

① 「早稲田」グループ

研究代表者: 浜田 道昭 (早稲田大学 理工学術院 教授)

研究項目

- ・ アプタマーランキング・モチーフ抽出手法 RaptRanker の開発
- ・ 新規アプタマー提案手法 RaptGen の開発
- ・ リボミック, 東大医科研グループで取得した実験データからの候補の抽出
- ・ データ駆動型 AI アプタマー創薬プロトタイプシステムの開発

② 「リボミック」グループ

主たる共同研究者: 青木 一晃 (リボミック 創薬探索部 部長)

研究項目

- ・ 精製タンパク質を用いた HT-SELEX の実施と HT-SELEX データの蓄積
- ・ アプタマーの活性評価系の確立, ならびに RaptRanker により提案される候補配列の活性確認 (in vitro 及び in vivo) と Rapt Ranker へのフィードバック
- ・ RaptRanker および RaptGen により推定されるアプタマーの活性確認と両ソフトウェアへのフィードバック

③ 「東大医科研」グループ

主たる共同研究者: 高橋 理貴 (東京大学 医科学研究所 特任准教授)

研究項目

- ・ 困難とされている膜タンパク質を標的としたアプタマー創製技術の高度化と最適化
- ・ 膜タンパク質を標的とした HT-SELEX の配列データと候補アプタマー結合試験のデータセットの蓄積と共有
- ・ 早稲田グループの解析から提案された候補配列の結合や機能の実証実験 (フィードバック)

(2) 国内外の研究者や産業界等との連携によるネットワーク形成の状況について

現在, 多数の製薬企業やIT企業が参画するコンソーシアムである, LiNK (<https://linc-ai.jp/>) より引き合いがきており, 今後連携をしていく予定となっている. LiNKは, AI創薬が中心となるため, アプタマー創薬を行っている本グループは, 他グループに対して差別化が行えるものと考えられる. 今後, 本プロジェクトで得られた成果の普及も兼ねて積極的に関わりをもっていきたいと考えている.