

理研NMR施設利用報告書  
(トライアルユース)

09-500-004

利用機関名	財団法人野口研究所	
実施部署名	研究部	
実施責任者管理職名・氏名	主任研究員 / 山ノ井 孝	
実施部署所在地	〒173-0003 東京都板橋区加賀 1 - 8 - 1	
実施部署連絡先		
利用課題名	NMR スペクトルを用いた糖結合型シクロデキストリン分子のドラッグキャリアとしての機能評価および解析	
利用目的・内容	薬剤の標的化技法の開発に NMR を利用した。薬剤キャリア分子として設計した糖結合型シクロデキストリン分子の修飾糖分子の標的細胞センサー能、およびシクロデキストリンの薬剤キャリア能の <i>in vitro</i> 評価を NMR で実施した。	
利用実施時期及び期間	平成 21 年 11 月 24 日 ~ 平成 22 年 10 月 31 日  総利用日数：62 日  当初計画どおり・当初計画変更 (変更理由)	
利用施設	NMR 装置 (該当部分に)	利用装置 ・ ( )600MHz、( )700MHz、( )800MHz、( )900MHz ( )低温プローブ付 ( )固体プローブ付 ( )サンプルチェンジャー付 利用期間 1：平成 21 年 11 月 30 日 ~ 平成 21 年 12 月 6 日 利用期間 2：平成 21 年 12 月 7 日 ~ 平成 21 年 12 月 21 日 利用期間 3：平成 22 年 10 月 12 日 ~ 平成 22 年 10 月 31 日

	<p>利用装置</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・ ( )600MHz、 ( )700MHz、 ( )800MHz、 ( )900MHz</li> <li>( )低温プローブ付 ( )固体プローブ付</li> <li>( )サンプルチェンジャー付</li> </ul> <p>利用期間1：平成21年12月18日～平成21年12月27日</p> <p>利用期間2：平成 年 月 日～平成 年 月 日</p> <p>利用期間3：平成 年 月 日～平成 年 月 日</p> <hr/> <p>利用装置</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・ ( )600MHz、 ( )700MHz、 ( )800MHz、 ( )900MHz</li> <li>( )低温プローブ付 ( )固体プローブ付</li> <li>( )サンプルチェンジャー付</li> </ul> <p>利用期間1：平成22年10月18日～平成22年10月26日</p> <p>利用期間2：平成 年 月 日～平成 年 月 日</p> <p>利用期間3：平成 年 月 日～平成 年 月 日</p> <hr/> <p>利用装置</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・ ( )600MHz、 ( )700MHz、 ( )800MHz、 ( )900MHz</li> <li>( )低温プローブ付 ( )固体プローブ付</li> <li>( )サンプルチェンジャー付</li> </ul> <p>利用期間1：平成21年12月 7日～平成21年12月13日</p> <p>利用期間2：平成21年12月15日～平成21年12月20日</p> <p>利用期間3：平成22年10月27日～平成22年10月31日</p> <hr/> <p>利用装置</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・ ( )600MHz、 ( )700MHz、 ( )800MHz、 ( )900MHz</li> <li>( )低温プローブ付 ( )固体プローブ付</li> <li>( )サンプルチェンジャー付</li> </ul> <p>利用期間1：平成21年11月24日～平成21年11月30日</p> <p>利用期間2：平成22年 1月25日～平成22年 1月31日</p> <p>利用期間3：平成22年10月26日～平成22年10月31日</p>
立体構造解析パイプライン	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 発現確認 : 利用回数 回</li> <li>・ フォールド判定 : 利用回数 回</li> <li>・ 大量調製 : 利用回数 回</li> <li>・ 構造決定 : 利用回数 回</li> </ul>

利用満足度 (複数選択不可)	( )大いに満足、( )ほぼ満足、( )やや不満、 ( )大いに不満
成果の概要	<p data-bbox="403 338 528 371"><b>実施内容</b></p> <p data-bbox="552 338 863 371"><b>標的細胞センサー能評価</b></p> <p data-bbox="552 387 1402 611">細胞表層上に存在する糖分子結合性タンパク質(レクチン)と、糖結合型シクロデキストリン(CyD)との相互作用を STD NMR 法によって評価した。レクチンは、コンカナバリン A (Con A)レクチンおよびピーナッツレクチン(PNA)を用いて、酢酸緩衝溶液(40%重水)中、これらレクチンと糖結合型 CyD との結合性を明らかにした。</p> <p data-bbox="552 624 807 658"><b>薬剤キャリア能評価</b></p> <p data-bbox="552 674 1402 898">薬剤に対する糖結合型 CyD の結合性を NOESY、DOSY および HOESY 法によって評価した。薬剤には、ドキシソルピシン(DXR ; アントラサイクリン系抗癌剤)、および疑似薬剤を用いて、これら薬剤と糖結合型 CyD との錯体構造を NMR 解析して、糖結合型 CyD と薬剤との錯体形成能に基づく薬剤キャリア能を明らかにした。</p> <p data-bbox="403 911 528 1234"><b>本課題により得られた成果、当初目標と結果との比較</b></p> <p data-bbox="552 911 863 945"><b>標的細胞センサー能評価</b></p> <p data-bbox="552 960 1402 1476">表面プラズモン共鳴(SPR)装置を用いた糖結合型 CyD のレクチンへの結合性評価では、元来の修飾糖分子が持つレクチンへの結合力よりも糖結合型 CyD は、50~100 倍高いレクチン結合特性のデータが得られていた。今回の STD NMR 測定によって、糖結合型 CyD の修飾糖分子は、レクチンとの良好な結合性を示すことが判った。さらに興味深いことに、この STD NMR スペクトルは、レクチンが、糖結合型 CyD の分子設計上必須の疎水性官能基の一部とも強い相互作用をしていることを示した。今回の STD NMR 測定によっても、糖結合型 CyD がレクチンへの特異な結合性を持つことを明らかに出来た。すなわち、SPR 測定の結果を裏付ける証拠を NMR スペクトルから得ることが出来た。</p> <p data-bbox="552 1489 807 1523"><b>薬剤キャリア能評価</b></p> <p data-bbox="552 1538 1402 2000">SPR 装置による糖結合型 CyD の DXR 薬剤との結合性評価では、糖結合型 CyD は元来の CyD が示す DXR 結合力よりも <math>10^2\sim 10^6</math> 倍高いという結果が得られていた。今回の NOESY、DOSY および HOESY 測定によって、糖結合型 CyD と DXR からなる錯体において、糖結合型 CyD の疎水性官能基の一部が DXR の芳香族基近傍に位置する錯体構造をとることが判った。すなわち、元来の CyD の疎水性空洞の効果とともに、新たな疎水性相互作用が糖結合型 CyD と DXR 間で発現されている可能性が強く示唆された。今回の NMR 測定によって、SPR 測定での糖結合型 CyD の強い DXR 結合力を支持する NMR スペクトルが得られた。</p>

	<p>今後の展開、課題</p>	<p>糖分子による標的細胞センサー能、すなわちレクチン結合能を高めるには、糖分子の集合化による糖クラスター効果を用いることが一般的であった。しかし、今回の NMR 測定によって、糖分子の近傍に適切に疎水性官能基を配置することで、飛躍的にレクチン結合能を増強できることがわかった。すなわち、糖結合型 CyD 分子における新たな標的細胞センサーの原理開発に繋がった。</p> <p>また今回の NMR 測定で、薬剤に対する元来 CyD が持つ結合力が、CyD に結合させた疎水性官能基の効果によって増強されることが証明された。すなわち、CyD の薬剤キャリア能を大きく改変できる新たな手法開発に繋がった。</p> <p>これらの成果によって、簡便で、実用性に富んだ糖分子結合型 CyD を設計ができるものと期待される。</p>
<p>社会・経済への波及効果の見通し</p>	<p>ターゲティングドラッグデリバリーシステムの開発に繋がり、癌細胞等を標的とした新たな治療薬を提供できる可能性がある。</p>	
<p>成果公開延期の希望の有無</p>	<p>( )あり : ( )なし  「あり」の場合理由:</p>	
<p>理研 NMR 施設利用における感想</p>	<p>世界的にも有数の NMR 施設であり、NMR 装置のスペックおよびオペレーターの技術水準の高さには大変に感銘を受けました。担当して頂いた研究員あるいは技術員の方々からは、サンプル調整や測定技術、さらには解析に至るまでを、初歩からご指導を頂き、大変に勉強になりました。</p> <p>今回、NMR 施設利用させて頂くことで、研究に大きな進展が見られました。研究をサポートして頂きました NMR 施設の皆様に心から感謝致します。併せて、今後も宜しくお願い申し上げます。</p>	

利用周辺環境に関する希望	特にありません。
今後の利用形態の予定	<input type="checkbox"/> 再度本事業への申請を考えている。 <input type="checkbox"/> 成果の非公開を前提とした「外部利用」(有料)を考えている。 <input type="checkbox"/> その他理研との共同研究等を考えている。 具体的に：今後とも、一緒に研究を進めさせていただきたいと考えております。  <input type="checkbox"/> 未定
今後期待するその他のサービス	<input type="checkbox"/> NMR 装置利用の教育(これまで NMR を使用した経験の無い方に対する教育も含む) <input type="checkbox"/> NMR 装置利用の技術的なサポート <input type="checkbox"/> その他 具体的に
文部科学省の共用ナビ(研究施設共用総合ナビゲーションサイト)に対する感想・改善について	<input type="checkbox"/> ( <a href="http://kyoyonavi.mext.go.jp/">http://kyoyonavi.mext.go.jp/</a> ) <input type="checkbox"/> 見た : <input type="checkbox"/> 見ていない 感想等： 研究者に対して、判りやすく便利だと思います。
その他	<input type="checkbox"/> (上記の項目以外でご意見等お願いします。) 今後とも宜しくお願い申し上げます。

本報告書については、印刷または必要な編集・加工を行った上で公開します。また、別途開催予定の成果報告会・シンポジウムや委託事業報告書作成時において、本報告書の内容についての資料作成または発表をお願いする場合があります。