

理研NMR施設利用報告書
(トライアルユース)

11-500-026

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	抗インフルエンザ薬の開発を目指した糖鎖-タンパク質との分子間相互作用解析	
利用目的・内容	鶏卵由来のシアログリコペプチド (SGP) を用いた抗インフルエンザ薬の開発を目指して、SGPのインフルエンザウイルスヘマグルチニン (HA) への結合特性をNMR解析で明らかにすることにした。	
利用実施時期及び期間	平成23年12月12日～平成24年 3月30日 総利用日数：利用施設参照 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① ・ (<input checked="" type="checkbox"/>) 600MHz、(<input type="checkbox"/>) 700MHz、(<input type="checkbox"/>) 800MHz、(<input type="checkbox"/>) 900MHz (<input type="checkbox"/>) 低温プローブ付 (<input type="checkbox"/>) 固体プローブ付 (<input type="checkbox"/>) サンプルチェンジャー付 利用期間1：平成24年 2月 6日～平成24年 2月19日

利用装置②

- ・ ()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23年12月20日～平成23年12月25日

利用期間2：平成23年12月26日～平成24年 1月 4日

利用期間3：平成23年12月26日～平成24年 1月 4日

利用期間4：平成23年12月26日～平成24年 1月 4日

利用期間5：平成24年 1月10日～平成24年 1月15日

利用期間6：平成24年 1月10日～平成24年 1月22日

利用装置③

- ・ ()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23年12月12日～平成23年12月18日

利用期間2：平成23年12月19日～平成23年12月25日

利用期間3：平成24年 1月10日～平成24年 1月15日

利用装置④

- ・ ()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23年12月12日～平成23年12月18日

利用期間2：平成24年 1月10日～平成24年 1月15日

利用期間3：平成24年 1月10日～平成24年 1月15日

利用期間4：平成24年 1月23日～平成24年 2月20日

利用期間5：平成24年 3月 1日～平成24年 3月 4日

利用期間6：平成24年 3月21日～平成24年 3月30日

利用装置⑤

- ・ ()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24年 1月10日～平成24年 1月22日

利用期間2：平成24年 1月23日～平成24年 2月 5日

利用期間3：平成24年 3月 9日～平成24年 3月 9日

	立体構造解析 パイプ ライン	・ 発現確認 : 利用回数 4回
		・ フォールド判定 : 利用回数 0回
		・ 大量調製 : 利用回数 0回
		・ 構造決定 : 利用回数 0回
利用満足度 (複数選択不可)		()大いに満足、(O)ほぼ満足、()やや不満、 ()大いに不満
成果の概要	実施内容	<p><u>1) 糖鎖の完全帰属</u></p> <p>測定基質は、SGPの他に、SGPの非還元末端の部分構造を有する数種類のヒト型 (Neuα2\rightarrow6Gal 含有) の一本鎖糖鎖を用いた。これらの糖鎖は、SGPの完全帰属とHAへの結合特性を解析・評価するために用いた。</p> <p>まず、SGPの完全帰属を目指して、これらの糖鎖及びSGPの各種NMRスペクトル ($^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, Dept, COSY, HSQC, HMBC, HSQC-TOCSY) の測定を実施した。</p> <p><u>2) 糖鎖-タンパク質の結合特性の解析</u></p> <p>HAは高価であることから、HAと類似性が高く安価なニホンニワトコレクチン (SSA) を用いた初期評価を実施した。すなわち、SGPのSSAに対する結合特性を明らかにすることにした。二本鎖を有するSGPの有用性を確認するために、SGP及び一本鎖糖鎖のSSAに対する結合性の違いも明らかにすることにした。</p> <p>この結合特性の解明には、分子間相互作用解析に優れているSTD-NMR法を用いた。</p>

<p>本課題により得られた成果、当初目標と結果との比較</p>	<p><u>1) 糖鎖の完全帰属</u></p> <p>数ミリグラムの糖鎖にも関わらず、クライオプローブ装置の効果によって高感度なスペクトルを得ることに成功して、SGPの完全帰属を達成した。</p> <p><u>2) 糖鎖-タンパク質の結合特性の解析</u></p> <p>STD-NMR スペクトル測定では、SGPの糖鎖中の Neuα2\rightarrow6Gal が SSA と分子間相互作用していることが観測された。すなわち、SGP中のこの二糖ユニットが SSA に結合した。この二糖ユニットは、HAがヒトへの接着への際に識別・関与する二糖である。さらに、STD-NMR スペクトル測定では、二本鎖を有するSGPは、他の一本鎖の糖鎖に比べて、強く結合しているスペクトルが得られた。これらの結果は、SGPがHA阻害剤として機能する能力が高いことを強く示唆している。</p>
<p>今後の展開、課題</p>	<p>鶏卵由来のシアログリコペプチドを用いたHA阻害剤としての抗インフルエンザ薬の開発を進める。SSAを用いた初期評価は、十分に達成されたので、HAに照準を合わせた評価を検討していく。</p> <p>今後は特にHA阻害効果の増強を重要な研究課題として、有機合成的なアプローチによるシアロ糖鎖の集積化に基づく”クラスター効果”の発現系構築を目指したい。</p> <p>次の段階では、使用する用途に見合った研究開発を展開する。例えば、フィルター利用を目指したインフルエンザ拡散防止剤や、ヒトでの医薬利用を目指した抗インフルエンザ薬としての開発を模索していきたいと考えている。</p>

社会・経済への波及効果の見通し	トリインフルエンザウイルスの変異によるヒトへの感染が危惧されている現在では、HA 阻害効果を持つ抗インフルエンザ薬の開発は急務である。鶏卵由来の糖鎖が HA 阻害効果を持つ可能性が高いことが明らかにされたことは、抗インフルエンザ薬の開発に一石を投じることができると確信している。
成果公開延期の希望の有無	() あり : (O) なし 「あり」の場合理由 :
理研 NMR 施設利用における感想	クライオプローブ付 NMR 装置の計り知れないポテンシャルを実感した。このような NMR 装置で、連続数日も掛けた測定ができたおかげで、開発を進展させることができた。また、NMR 測定を担当して頂いた研究員の方には、NMR 測定やサンプル調製のノウハウを懇切丁寧にご教授頂き、大変に勉強になった。また、HA 作成では、パイプラインの研究員の方々にも、多大なご尽力を頂いた。貴理化学研究所の NMR 施設の皆様に深く感謝致します。 今後も宜しくお願い申し上げます。
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	(O) 再度本事業への申請を考えている。 () 成果の非公開を前提とした「外部利用」(有料)を考えている。 () その他理研との共同研究等を考えている。 具体的に : () 未定
今後期待するその他のサービス	() 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) (O) 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	(http://kyoyonavi.mext.go.jp/) <input checked="" 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した。
その他	（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。