

理研NMR施設利用報告書
(トライアルユース)

13-500-037

平成 26 年 3 月 20 日

利用機関名	第一三共株式会社	
実施部署名	創薬化学研究所	
実施責任者管理職名・氏名	第八グループ長 半沢 宏之	
実施部署所在地	東京都品川区広町 1-2-58	
実施部署連絡先		
利用課題名	創薬標的蛋白質のリガンドの相互作用解析	
利用目的・内容	<p>疾病関連蛋白質に対する阻害剤探索として NMR は以前より活用されてきたが、今回、¹⁹F-NMR の有効性を検証する。¹⁹F 核は感度が良く、バックグラウンドがないことから、その有効性は指摘されてきたが、¹⁹F 核測定可能なプローブは一般的でないことから、理化学研究所の高感度 ¹⁹F プローブを用いて、フィージビリテイの実験を行った。</p>	
利用実施時期及び期間	<p>平成 25 年 8 月 22 日～平成 26 年 1 月 16 日</p> <p style="text-align: center;">当初計画どおり</p> <p>(変更理由)</p>	
利用施設	NMR 装置	<p>利用装置①</p> <p>・ (<input type="radio"/>) 600MHz、(<input type="radio"/>) 700MHz、(<input type="radio"/>) 800MHz、(<input type="radio"/>) 900MHz</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>※本課題実施の結果得られた成果および当初目標に対する達成度などについて記載してください。</p> <p>1) 結合の弱い化合物①は上記の条件でシグナル強度が約 1/10 に減弱した。この程度の Kd では CPMG を使用せず 1 次元 NMR 測定のみで相互作用が検出できることがわかった。また、化合物③ではシグナル強度が 1/2 に減弱した。一定の相互作用が確認できるが、強い化合物ではシグナルの減衰が少ないことも確かめられた。</p> <p>2) 20uM の化合物②に対し Kd のほぼ同等である化合物②を用いた競合実験では①のシグナルがほぼ消失した条件のためか等モルの 20uM 程度では競合は検出できなかつたが 200uM にすると良好な競合が観測できた。実用的には十分な測定条件を見出すことができたと考えている。</p> <p>最後に化合物①を用いて p38 濃度を下げる検討を行ったところ P38 1uM, 化合物①20uM でも 1/5 程度のシグナルの減少が観測できた。良いレファレンス化合物を調製できれば蛋白量も減らせることが示された。</p> <p>3) 1次元測定のみではシグナルの減衰が少なかった③化合物を用いて CPMG 測定の検討を行った。Tm 64-1024ms の検討を行い、256msec 程度で 1次元測定との 5 倍以上の強度比が得られたことから、化合物の Kd によって上手に 1次元と CPMG を使い分けが可能であることが示された。</p> <p>全般として今回の p38 キナーゼを用いた検討では 20uM の化合物濃度であれば数分での測定で良好な相互作用実験ができることが示された。</p>
---------------------------------	--

	<p>今後の展開、課題</p>	<p>※本課題の結果を踏まえた今後の展開方針および目的達成に向けた今後の課題などについて記載してください。</p> <p>今回 19F-NMR を用いた創薬標的蛋白質と医薬品候補化合物の相互作用実験を行った。論文等に示されているように、19F-NMR は感度良く標的蛋白質との相互作用が観測できること、比較的簡単な条件検討により競合実験も可能なことが示された。今後の活用に繋げていきたいと考えている。ただ、オートサンプルチェンジャーの検討は十分にできなかったため、今後の検討課題であると考えている。</p> <p>また、中期的には 19F-NMR を用いて相互作用の有無を検出するだけでなく、構造情報を取得する方法論についても検討していきたいと考えている。</p>
<p>社会・経済への波及効果の見通し</p>	<p>NMR のスクリーニング手法が更に進化することでより効率的な創薬研究が可能になり、国民に良い医薬品が提供できるものと考えている。</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>※本施設を利用して良かった点、改善してほしい点、提案事項など、施設利用の感想を記載してください。</p> <p>19F-NMR の測定は始めてであったが、十分なサポートを受けられたので、スムーズに測定を行うことができた。</p>	
<p>利用周辺環境に関する希望</p>	<p>今後リモートでの測定を希望する。</p>	

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="radio"/> 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： <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	(http://kyoyonavi.mext.go.jp/) <input type="checkbox"/> 見た : <input type="radio"/> 見ていない 感想等：
その他	(上記の項目以外でご意見等お願いします。)

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。