

大阪大学蛋白質研究所先端核磁気共鳴装置群利用報告書  
 (トライアルユース・成果非占有利用)

利用企業名	旭化成ファーマ株式会社	
利用者部署、氏名	医薬研究センター創薬研究部	小川 潔
連絡先 住所	〒410-2321 静岡県伊豆の国市三福 632-1	
連絡先 電話番号 Fax、E-Mail	Tel. 0558-76-7085 Fax 0558-76-7137 E-mail ogawa.kg@om.asahi-kasei.co.jp	
利用課題名	高感度 NMR による蛋白質構造解析	
概要	<p>弊社では NMR による蛋白質構造解析を行うための設備および技術導入を検討している。しかしながら現在弊社保有の NMR 装置ではタンパク質の構造解析を行うにはスペックが不十分であり、技術導入を検討することができない。それ故、貴大学が保有する高感度溶液 NMR 装置による測定および解析を行い、創薬研究に有用な設備かつ技術であることを実証し、創薬研究・ドラッグデザインに有効活用できる技術習得を目指す。</p>	
利用実施時期及び期間	3月9日～3月15日 3月30日～4月5日 6月15日～18日	
利用 NMR 装置	bruker 600 MHz NMR cryoprobe bruker 800 MHz NMR cryoprobe	
成果の概要	目的	高感度 NMR 装置による蛋白質構造解析に必要なデータの取得および、構造解析技術の習得。

	実験内容	フルラベルのモデルタンパク質を用い、帰属及び構造解析に必要なスペクトル HSQC ( <sup>15</sup> N, <sup>13</sup> C), HNCQ, CBCACONH, HNCACB, HBHACONH, HCCH-TOCSY, <sup>15</sup> N-edited NOESY 及び <sup>13</sup> C-edited NOESY の測定を行った。そして得られたスペクトルを用い、MagRO/FLYA/CYANA により立体構造の解析を行った。また異種核 <sup>1</sup> H- <sup>15</sup> N NOE、T1 および T2 の測定を行い Dynamic Center を用いることで、オーダーパラメーターの解析を行った。
	結果及び考察	<p>CIL 社製の <sup>13</sup>C, <sup>15</sup>N 標識ユビキチンを用いたデータ、および MagRO を用いた帰属結果を元に立体構造計算を行った。結果、既知の PDB と同等の結果を得ることができた。PDB 情報と異なっている部分は <math>\alpha</math>ヘリックスや <math>\beta</math>シート構造を持たない部分であった(図 1)。今回は側鎖について完全には帰属しておらず、帰属を行えばより既知の情報に近いものに近づけられると考えている。また Bruker の Dynamic Center を用いたユビキチンのオーダーパラメーター解析から、既知の文献データ (S. F. Lienin <i>et al.</i>, <i>J. Am. Chem. Soc.</i> <b>1998</b>, <i>120</i>, 9870-9879) より若干大きな値を示したものの同様の傾向を示す結果を得ることができた(図 2)。</p> <p>立体構造の無いタンパク質をモデリングした際に、そのモデルの妥当性を議論する必要がある。そのような場合に NMR による立体および運動性についての <i>wet</i> なデータがあれば、モデルと照らし合わせることで妥当性を担保することができると考えている。今回得られたデータはそのような作業を行うのに十分なデータが取得できた判断している。今後今回のトライアルユースで身に着けた測定および解析技術を用い <i>in silico</i> と連携し、タンパク質の立体構造と運動性を含めた、より自然に近い状態でのドラッグデザインを行っていきたいと思う。動的な挙動も含めることで静止画像では想定出来ない相互作用を発見でき、効率的なデザインが行えることを期待している。</p>
社会・経済への波及効果の見通し	動的な情報を得ることで自然に近い状態での化合物の相互作用、そしてタンパク質の動的な変化を見ることができ、静止画では見つけられない相互作用の発見を期待できる。	
成果公開時期の希望	<input checked="" type="checkbox"/> 即時公開 <input type="checkbox"/> 論文・特許公開後 (最大 2 年後まで)	
利用周辺環境に関する希望	なし。	
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。

スペクトルまたは図 の添付欄

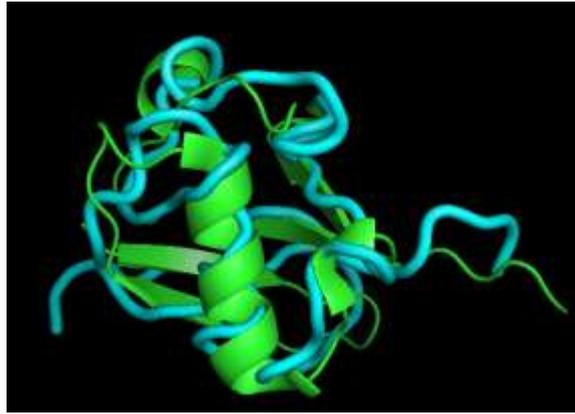


図1 NMRによる解析結果(水色)と既知PDB(緑 1D3Z)の重ね合わせ

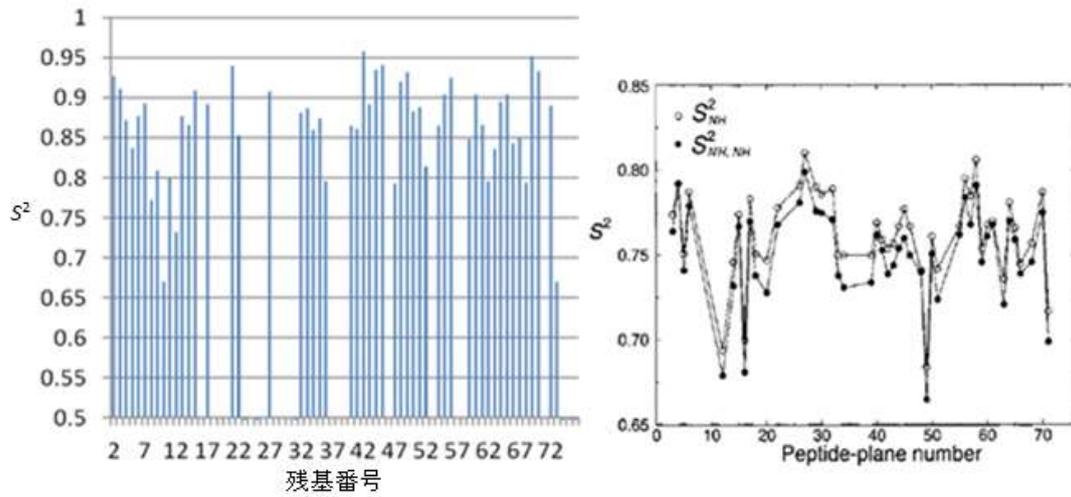


図2 オーダーパラメーターの実測結果(左)と既知文献データ(右、文献から抜粋)