

## 創薬応用を志向した定量アフィニティ NMR 法の開発

代表研究者 日比野 絵美  
東海国立大学機構 名古屋大学 大学院 創薬科学研究科 助教

共同研究者 廣明 秀一  
東海国立大学機構 名古屋大学 大学院 創薬科学研究科 教授

### 研究要旨

創薬のリード化合物探索・リード化合物評価の各段階において、また、酵素生化学の基礎研究において、タンパク質と低分子化合物の解離定数  $K_D$  の定量的評価の重要性は論を待たない。 $K_D$  決定法として古典的には平衡透析法・平衡ゲルろ過法、近年はタンパク質を金膜上に固定しての表面プラズモン共鳴法、安定同位体標識タンパク質を用いた NMR 滴定実験などが一般的であるが、試料量や実験の煩雑さ、コストなど一長一短である。

本研究では、溶液 NMR を用いた相互作用解析を行い、低分子化合物がタンパク質に作用するメカニズムを考察するとともに、新たな相互作用解析法の開発にも取り組んだ。多次元溶液 NMR を用いた一般的な方法としては、安定同位体標識タンパク質に低分子化合物を添加し、それに伴うタンパク質側のシグナルを解析する「NMR 滴定法」である。この手法の難点としては、タンパク質の安定同位体標識が必要な点である。そこで我々は、容易に平衡状態で水溶液中で低分子化合物とタンパク質の  $K_D$  を測定する、新しい定量アフィニティ NMR 測定法として、タグ内部標準校正 DOSY 法 : Tag-ligand internally calibrated diffusion order spectroscopy : TLIC-DOSY 法を考案した。

本研究ではまず NMR 滴定法により 3 組のタンパク質と低分子化合物の相互作用を NMR 滴定法により解析したのち、安定同位体標識試料を必要としない TLIC-DOSY 法の検証を行った。検証の結果、TLIC-DOSY 法は NMR 滴定法から算出された  $K_D$  値と同オーダーの  $K_D$  値が算出できる可能性が示唆された。さらなる系の改良が必要であるものの、タンパク質-低分子間相互作用を多角的かつ定量的に捉える測定系の有効性が実証された。