

提出日：平成 28 年 6 月 3 日

平成 27 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

## (2) 研究成果の概要

|   |                                |                    |  |
|---|--------------------------------|--------------------|--|
| 課題名   | 新規阻害剤創製へ向けたチロシンキナーゼの NMR による解析 |                    |  |
| 研究代表者   | 氏名                             | 小橋川 敬博             |  |
|   | 所属機関名・部局名                      | 熊本大学・大学院生命科学研究部（薬） |  |
|   | 職名                             | 准教授                |  |
| 事業名<br>(該当の事業名の右欄に○)  | <input type="radio"/>          | 共同研究員              |  |
|   | <input type="radio"/>          | 国際共同研究課題           |  |
|   | <input type="radio"/>          | 超高磁場 NMR 共同利用研究課題  |  |
|   | <input type="radio"/>          | 客員フェロー             |  |
| 蛋白研受入担当教員名  | 児島 長次郎 准教授                     |                    |  |
| <p>抗がん剤開発の主要な標的となっている受容体型チロシンキナーゼの 1 種について、そのキナーゼドメインを対象として共同研究を開始した。本年度は NMR による解析に耐え得るサンプルの調製へ向けて、溶液条件およびコンストラクトについて検討を行った。Juxtamembrane 領域を含むコンストラクトと含まないコンストラクトの 2 種類を調製し、Differential Scanning Fluorometry (DSF) を用いて安定な溶液条件の探索を行った。その結果、Juxtamembrane 領域を含まないコンストラクトの方が安定性が高いことが明らかとなった。次に、<math>^{15}\text{N}</math> 標識試料を調製し、<math>^1\text{H}</math>-<math>^{15}\text{N}</math> HSQC スペクトルを測定した。その結果、想定されるシグナル数よりも 2 割程度少なく、多くのシグナルが観測されていないことが明らかとなった。そこで、アミドよりも感度が高いメチル基を選択的に標識した試料を用いて解析することにした。メチオニンのメチル基を <math>^{13}\text{C}</math> で標識した試料を調製し、<math>^1\text{H}</math>-<math>^{13}\text{C}</math> HMQC スペクトルを測定したところ、比較的良好なスペクトルが得られた。また、非標識試料を調製し、阪大蛋白研 児島グループにおいて、フッ素化合物ライブラリーを用いて、T2-filter <math>^{19}\text{F}</math> 1D NMR スペクトルによるスクリーニングが実施された。その結果、複数の結合候補化合物を見出した。今後、ヒット化合物とキナーゼとの複合体立体構造情報を取得する必要があるが、そのためにはサンプルの安定性、溶解性の改善を要することが明らかとなった。現在、サンプルの性質を改善を目的として変異体の作製を進めている最中である。</p> |                                |                    |  |

※本様式は、“拠点事業成果報告”として、拠点ホームページにて公開させていただく予定です。

※必ず A4 用紙 1 枚におさめて下さい。 ※提出期限：平成 28 年 5 月 20 日（金） ※提出の際は PDF 変換して下さい。

※提出先：大阪大学蛋白質研究所拠点プロジェクト班 E-mail: tanpakuken-kyoten@office.osaka-u.ac.jp