

28K-pm01S

NMRによる高分子量タンパク質を標的としたリガンドエピトープ解析

○五百磐 徹¹, 坂倉 正義², 高橋 栄夫² (¹横浜市大生命ナノシステム科学研究科, ²横浜市大生命医科学研究科)

【背景】薬剤候補化合物の機能向上を効率的に行うためには、化合物と標的タンパク質との相互作用様式の解明が必要不可欠である。これに対して我々の研究グループは、迅速かつ正確に化合物上の相互作用部位 (エピトープ) を同定することが可能な NMR 解析手法である DIRECTION 法を開発した。本手法を分子量が 100k を超える巨大分子とリガンドとの相互作用系に対して適用する場合には、タンパク質とリガンドのモル比や飽和方法等の最適化が必要な条件が存在する。本研究においては、好熱古細菌由来プロテアソームの α サブユニット 7 量体 (α_7 : 分子量 175k) と、近年プロテアソーム阻害活性を持つと報告されたクロロキンの相互作用系を解析対象として、DIRECTION 法を用いたクロロキンのエピトープの同定を試みた。

【方法・結果】クロロキンと α_7 をモル比 10 : 1 にて混合した試料を調製し、タンパク質由来プロトンに対してラジオ波照射・非照射の各条件におけるリガンドプロトンの縦緩和速度を測定した。測定温度や照射位置、照射時間等の実験条件を検討した結果、クロロキンのキノリン環プロトン及びペンタン鎖の 5 位のメチルプロトンについて照射・非照射の緩和速度差が観測されたが、2 個のエチル基については緩和速度差が小さかった。

【考察】高分子量のタンパク質複合体である α_7 とクロロキンとの相互作用系について DIRECTION 相互作用解析を行った結果、クロロキンの芳香環及びペンタン鎖の 5 位のメチル基がエピトープであること、2 個のエチル基が結合に関与していないことが示唆された。本情報は、抗マラリア薬として開発されたクロロキンの薬物リポジショニングを進める上で有用であると考えられる。