

## タンパク質回収フロー型自動NMR解析装置 ～ 薬物スクリーニング効率の向上 ～

(株) 資生堂 マテリアルサイエンス研究センター 平山 綾、城田 修

【目的】タンパク質のNMR測定は、生体内中の機能を解明し薬物との相互作用を確認できるため、創薬の場において強力なツールであるが、シグナル帰属を行なうための多核多次元NMR測定が行なえるよう、タンパク質の安定同位体標識（ラベル化）をしなければならない。ラベル化タンパク質は非常に高価であるため、使い捨てせざるを得ない現状ではツールとして有効であっても、スクリーニングなど実用的な使用には適さない。そこでNMR測定後に相互作用のなかった場合にはタンパク質を分離回収し、自動再生できれば実用的なシステムとなる。NMR結果より相互作用の有無を判定し、判定に応じた処理を自動で行い、タンパク質と薬物をそれぞれ回収する装置の開発を目指した。

【方法】タンパク質と薬物の分離には弊社製タンパク質分離用カラムを用い、弊社液体クロマトグラフィ技術を応用した。タンパク質はバッファー溶液として、また薬物は重DMSO溶液として用意し、それぞれを測定前に自動混合して順次NMR測定した。モデルラベル化タンパク質として<sup>15</sup>N-ラベル化ジヒドロ葉酸還元酵素（=<sup>15</sup>N-DHFR）を用いて、

- ①NMRと液処理システムのそれぞれの制御ソフトの相互通信
- ②タンパク質と薬物の相互作用の有無を判定し、判定に応じたサンプル処理の自動化
- ③これら検証として100種類の薬物の中から、相互作用があることが既知のメトトレキサートを自動検出できるかどうかの確認を行なった。（<sup>15</sup>N-DHFRは横浜市大長土居先生らにより合成された。）

【結果】液処理システムとNMR測定のそれぞれの制御ソフトが相互通信できるようになり、NMR結果から相互作用の有無を判定し、それに応じたタンパク質の回収や再生を全自動で行うことができるようになった。回収された場合のタンパク質の回収率は75%と高回収率であり、変性していないことも確認した。また薬物の個別回収も可能となり、薬物の回収率も71%と良好であった。さらに実際のスクリーニングを模した測定では100種類の薬物ライブラリーの中から、相互作用がある薬物の自動検出を正しく行えることを確認した。

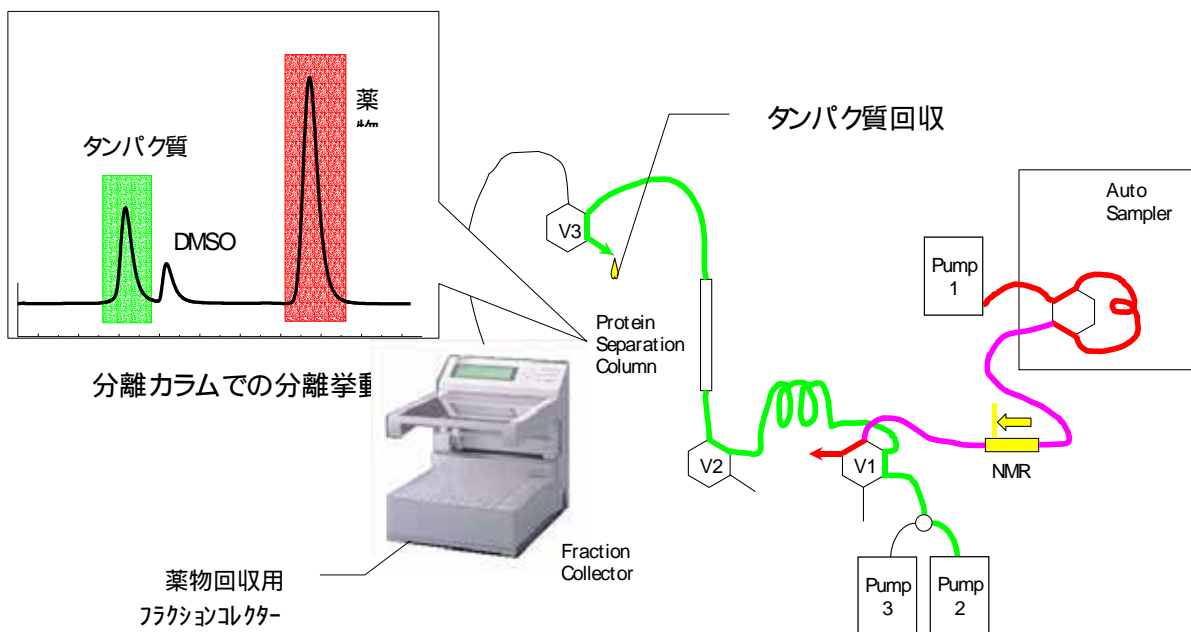


図 タンパク質および薬物の自動再生回収装置概念図