

## 画期的な“創薬スクリーニング”を目指した革新的技術開発

### 創薬加速に向けた難溶性低分子複合体結晶作製の革新的技術開発

(阪大院理・JST ERATO) 杉山成、垣之内啓介、石田英子、村田道雄 (株創晶) ○安達宏昭

(阪大院工) 松村浩由、丸山美帆子、高橋義典、吉村政志、井上豪、森勇介

(京府大院生命環境) 高野和文 (埼玉大院理工) 吉川洋史 (東工大院生命理工) 村上聡

[3W08]

(Tel: 06-6879-7701, Cell-phone: 090-3976-7379, E-mail: sugiyama@chem.eng.osaka-u.ac.jp)

大阪大学大学院理学研究科の杉山成 特任准教授と村田道雄 教授、株式会社創晶（安達宏昭 社長）らの研究グループは、従来法では実現できなかった、水に溶解し難い低分子化合物（難水溶性化合物）とタンパク質との複合体結晶の作製に、凝固させたハイドロゲル中で育成させるタンパク質結晶化法（凝固ゲル中結晶化法）を用いることで成功しました。

創薬においては“新薬候補化合物と疾患関連タンパク質との複合体結晶”のX線構造解析が不可欠です。実際に、創薬の現場では、複合体結晶を得るために、新薬候補化合物が溶けた水溶液中にタンパク質結晶を浸漬させる方法が用いられています（浸漬法）。しかし、新薬候補化合物の多くは難水溶性化合物であるために、高濃度の有機溶媒にしか溶解しません。そのため、従来法の水溶液中で育成したタンパク質結晶を、有機溶媒中に浸漬した場合、直ぐに浸透圧による衝撃によって、結晶自体に致命的な損傷を与えてしまい、複合体結晶を作製できないという大きな問題をかかえていました。

我々は、この問題点を解決するために、“凝固ゲル中結晶化法”を適用することにしました。凝固ゲル中結晶化法とは、“凝固させたハイドロゲル中でタンパク質結晶を育成する”手法であり、ゲル繊維が“鉄筋コンクリートの鉄筋のように結晶を支える”ことで、結晶の安定性が飛躍的に向上する結晶化法です（凝固ゲル中結晶化法；特許取得済）。今回、凝固ゲル中結晶化法を使うことで、“難水溶性化合物とタンパク質の安定な複合体結晶”を得ることに成功しました（図1）。この結果は、難水溶性化合物を含んだ膨大な化合物ライブラリーから新薬候補化合物を探し出す、全く新しい“創薬スクリーニング”への応用が期待されます。

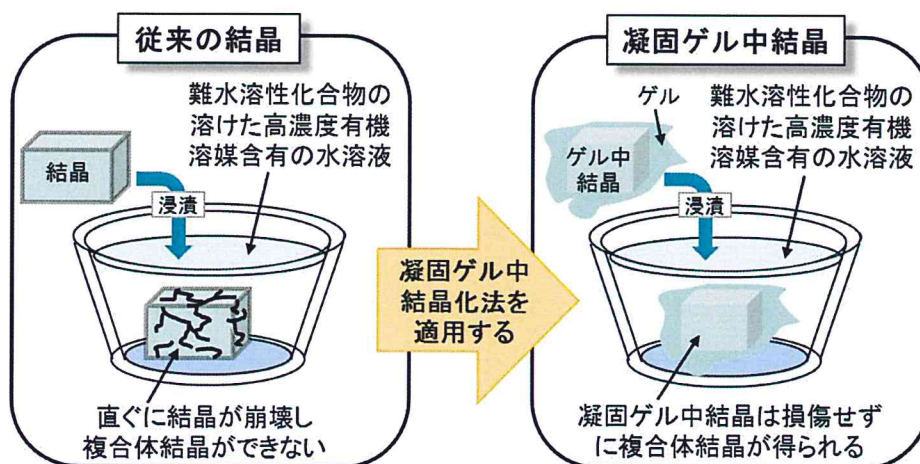


図1. 難水溶性化合物の溶けた高濃度有機溶媒含有水溶液中で複合体結晶の作製を実現

我々は以前に、溶液中で育成させることが常識とされてきたタンパク質結晶を、凝固ゲル中で育成させる世界で初めてのタンパク質結晶化法の開発に成功しました。本方法によって育成した結晶は、結晶の発生確率の上昇、高品質結晶の大型化を確認するなど、従来の結晶化法では実現困難な課題を解決しました。本方法の最大の特徴は、タンパク質結晶の機械的強度の向上を実現したことです。結果として、凝固ゲル中結晶は、有機溶媒に対して耐性を持つことが分かりました。一方、医薬品開発における新薬創出の成功率は減少傾向にあります。その解決策の一つとして、新薬候補化合物と疾患関連タンパク質との複合体結晶の構造解析から新薬をつくり出す創薬手法が注目を集めています。これらの複合体結晶を作製するためには、タンパク質結晶を新薬候補化合物の溶けた水溶液中に浸漬する必要があります。しかし、開発初期の新薬候補化合物の多くは難水溶性化合物であり、高濃度の有機溶媒中にしか溶けません。そのため、お豆腐のように脆いタンパク質結晶は、高濃度の有機溶媒中では浸透圧による衝撃により直ぐに損傷を生じてしまい、複合体結晶を作製することが困難でした。我々は、この問題を解決するために凝固ゲル中結晶化法を適用することにしました。

本実験では、モデルタンパク質として、脂質結合タンパク質 (FABP3) を使用し、また、難水溶性化合物として、FABP3 と弱い親和性をもつ抗酸化剤 (BHT; 水への溶解度は  $60 \mu\text{g}/100\text{ml}$ ) を用いました。はじめに従来法により、様々な条件で FABP3-BHT 複合体結晶の作製を試みましたが、何れの方法も成功しませんでした。それにも関わらず、20mM BHT を溶かした 50% DMSO 含有水溶液中に、凝固ゲル中で育成した FABP3 結晶を 3 時間浸漬したところ、X線構造解析によって、FABP3 の活性部位に結合した BHT 化合物を明確に観察することができました (図 2)。

実用化までには解決すべき多くの問題がまだ残っていますが、凝固ゲル中結晶化法を適用することで、BHT と FABP3 との複合体結晶を作製できたことは、難水溶性化合物の結合構造解明に大きな道を開いた革新的成果です。そのため、従来法では実現できなかった難水溶性化合物を含んだ膨大な化合物ライブラリーから、新薬候補化合物を探索する全く新しい“創薬スクリーニング”への応用へ向けた第一歩になると確信しています。

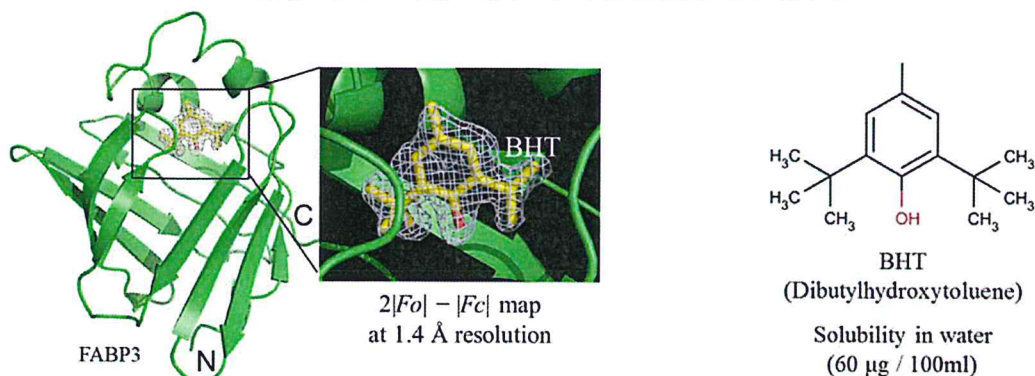


図 2. FABP3-BHT 複合体の結晶構造と BHT 化合物の構造

[謝辞] 本研究の X 線回折データ収集実験は、JASRI・SPring-8 (Proposal Nos. 2013A/B6827, 2014A/B6928, 2014B1195, 2015A6523, 2015A1056)にて実施された。

<適用分野> 医薬品開発、バイオエネルギー、廃棄物処理、バイオセンサー、プロテインチップ、電子デバイス、食品開発