

（様式 1-1）

提出日：2025 年 5 月 9 日

2024 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

研究成果報告書

（１）事業名（下記より該当事業名を選択し、ほかは削除してください。）

超高磁場 NMR

（２）研究代表者

氏名：寺沢 宏明

所属機関名・部局名・職名：熊本大学・大学院生命科学研究部・教授

（３）研究課題名（申請時に記載したものと同一課題名を記入してください。）

炎症および認知症関連の会合体形成タンパク質の立体構造と相互作用の NMR 解析

（４）蛋白質研究所受入担当教員

教員名：宮ノ入 洋平（研究室名：蛋白質次世代構造解析センター高磁場 NMR 分光学研究室）

（５）研究成果の概要

*背景および目的、方法と結果について、公開して差し支えない範囲で記載。

本研究グループは、創薬ターゲットとなる炎症および認知症関連タンパク質の立体構造および結合分子の認識メカニズムを明らかにし、立体構造に基づいて制御化合物をデザイン・改変することにより、創薬開発を進めている。

今回、ケモカイン受容体 CCR2 の細胞内領域に結合し、マクロファージの細胞遊走先端において会合体を形成することで、炎症シグナルを惹起するタンパク質 FROUNT を解析対象とした。FROUNT は、がん微小環境において、腫瘍随伴マクロファージに高発現しているため、その機能を阻害することで腫瘍の増大および転移を抑制することが可能となる（本研究グループの研究成果：Terashima *et al.*, *Nature Commun.*, 2020）。本研究グループは、NMR を用いて、FROUNT 上のケモカイン受容体結合ドメイン（CRBD）を同定し、CRBD 単体の立体構造決定に成功した。また、FROUNT に結合して CCR2 との相互作用を抑制する化合物を、蛍光共鳴エネルギー移動法に基づくスクリーニング系により見出した。CRBD と化合物の複合体の立体構造解析を進めているが、複合体を形成すると溶解度が低下し、熊本大学における 600 MHz NMR では、立体構造決定のための水素間距離情報を取得することが出来なかった。

本研究において、超高磁場 NMR を利用することにより、感度・分解能の向上に加えて、強い双極子—双極子相互作用の効果により、水素間距離情報のもととなる NOE を CRBD と化合物の間で観測することを試みた。分子間 NOE を区別するため、CRBD を $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ 安定同位体標識したものをを用い、非標識の化合物との分子間 NOE を、800 MHz NMR の同位体フィルター実験により観測した。その結果、極めて弱いピークのみが観測された。CRBD 上において化合物が特定のコンフォメーションで結合しておらず、動的に結合して FROUNT—CCR2 の相互作用を阻害することが推察された。化合物の化学構造を改変し、阻害能が高まった改変体の調製に成功しているため、その改変体との複合体の立体構造解析に着手する。