

創薬における ITC の利用

吉田 卓也, 丸野 孝浩, 小林 祐次

(受取日: 2010 年 11 月 25 日, 受理日: 2010 年 12 月 21 日)

ITC as a Tool for Rational Drug Design

Takuya Yoshida, Takahiro Maruno, and Yuji Kobayashi

(Received Nov. 25, 2010; Accepted Dec. 21, 2010)

Isothermal titration calorimetry (ITC) is a powerful method for determining the thermodynamic contributions of enthalpy (ΔH) and entropy changes (ΔS) on protein-ligand binding. This unique feature of ITC, coupled to advancements in instrumentation, has led to its emerging use in drug discovery. The thermodynamic profiles of the interaction between target protein and potential drug compounds provide effective guidelines for lead selection and optimization. In this review, we describe an example of ITC analysis of a drug target protein, PPAR γ and summarize recent trends in the use of ITC as a tool for rational drug design.

Keywords: ITC, drug discovery, enthalpy, entropy, PPAR γ

1. はじめに

これまでに使われてきた薬剤の多くは、生薬等の伝統的薬物から同定した有効成分や、天然物あるいは合成化合物を対象としたランダムスクリーニングからその効能が発見された化合物に由来している。一方、近年の生命科学の発展に伴い様々な病気の発症・進展あるいは病原菌・ウイルスの感染といった事象が分子レベルで解明されてきた結果、そのような異常において鍵となる蛋白質が次々に同定されている。そこで、特定の標的蛋白質に結合することによって、異常となった機能を選択的に抑制したり、分子間相互作用を阻害したりする分子を見出すことで、有効性が高く副作用の少ない薬剤を開発する創薬が可能になりつつある。

標的蛋白質を狙った創薬では、培養細胞や実験動物を用いて薬剤投与に対する応答を見るといった生物学的なアッセイに加えて、in vitro における標的蛋白質と薬剤候補分子との直接的な分子間相互作用を解析することが、効率的な薬剤候補分子のスクリーニング及び改良につながる。そのような目的のため各種の物理化学的原理に基づいた手法が用いられているが、本稿では中でも注目されている等温滴定型熱測定 (ITC) の利用について概説する。

2. 創薬と熱力学

一般的に副作用のリスクや医療経済を考えると、少ない投与量で有効な薬剤が望ましく、従って薬剤分子は標的蛋白質に強く結合する方が良い。すなわち薬剤分子 L と標的蛋白質 P との解離定数

$$K_d = \frac{[P][L]}{[PL]}$$

が小さい薬剤が求められる。通常解離定数は μM ~ nM 程度が必要である。これは結合に伴うギブスエネルギー変化

$$\Delta G = RT \ln K_d$$

として $-30 \sim -50 \text{ kJ mol}^{-1}$ 程度に相当する。

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

であるから、より大きいエンタルピーの減少あるいはエントロピーの増加が望ましい。

標的蛋白質と薬剤分子間の相互作用においてエンタルピー変化に主に寄与するのは、水素結合の形成および van der Waals 相互作用である。特に水素結合は、水素結合の供与

基と受容基間での近接相互作用であり、両者の距離および方向に対する依存性が高いことから、結合の特異性に大きく寄与する。原理的には水素結合は標的蛋白質-薬剤分子の複合体の立体構造をX線結晶構造解析等によって決定する事により評価できる。ただし、水素結合の供与基および受容基はそれぞれ結合前には溶媒の水と、あるいは分子内で水素結合を形成しており、結合に伴う脱溶媒和や水素結合の破壊はエンタルピー変化に対して不利にはたらく。従ってこれらの寄与を勘案して有利な水素結合を導入するような薬剤分子を合理的に設計することは必ずしも容易でない。¹⁾ 一方van der Waals相互作用は、標的蛋白質の立体構造情報を利用し、その結合部位と薬剤分子の形状を一致させ、接触面積を大きくすることで最適化することができる。また、それ以外の相互作用として、イオン間での塩橋形成や、芳香環が関与する π - π スタッキング等が挙げられる。これらは特異性が高い相互作用であるが、やはり構造情報から合理的に導入することは難しい。

エントロピー変化については、まず標的蛋白質-薬剤分子の結合により分子全体の並進及び回転の自由度が減ることが不利になるのは避けられない。次に水素結合などの相互作用により、分子内の結合の回転・振動が束縛されることは不利となる。そこで、薬剤分子の分子内結合の回転の自由度を下げ、より“硬い”構造とする、あるいは予め標的分子において自由度の低い部位を結合部位として狙うことでエントロピー損失を最小化するという戦略が考えられる。ただし、蛋白質は複雑な分子であり、結合による構造変化が分子の別の部位での束縛を緩め、結果的に有利なエントロピー変化を獲得する場合もある。²⁾ さらに、結合前に標的蛋白質及び薬剤分子に束縛されていた水分子が解放されることは、エントロピー的に有利な変化となる。

理論的には、エンタルピー的な効果である水素結合等は分子の立体構造から評価できるのに対し、エントロピー的な効果である分子の運動性や水和といった項を計算することは困難であるように思われる。しかし実際的には、水素結合等の相互作用は分子構造に対する依存性が高いため、結合時の構造を非常に高い精度で決定あるいは予測できなければ、そのエンタルピー的な寄与を精度よく見積りかつ制御することは難しい。一方、環構造や二重結合等によって薬剤分子の“硬さ”を調整することは可能である。また水和水が脱離する効果は、分子の幾何的な構造に厳密に依存するというより、その体積あるいは表面積に緩く依存していると思われる。従って理論的な推計は困難でも、経験的な推測に基づいて薬剤分子をデザインする際には、むしろエントロピー的な効果のほうが制御し易いとも考えられる。

標的蛋白質に対する薬剤候補分子の親和性のみを指標に

化合物を最適化するだけでは、先に述べたエンタルピー的な効果及びエントロピー的な効果を別個に評価していないことによる問題が起こりうる。例えば、親和性が向上した化合物であっても、それが主にエントロピー的な効果によるものである場合は、標的の特異的な認識能が高いわけではなく、薬剤として十分な選択性が得られない可能性がある。また、このような結合時におけるエンタルピー及びエントロピー的な効果は、薬剤化合物の分子量や溶解性といった物性値と相関するため、その側面からの間接的な制限がある。非常に疎水的な化合物はエントロピー的な効果で結合親和性が高まるであろうが、物性面では溶解性が低くなるという問題が生じる。逆に、極性が高過ぎる化合物は、エンタルピー的な効果で有利となる場合もあるが、膜透過性が十分でないために生体内で薬剤としての効果が発揮できないこともありうる。

さらに、標的蛋白質-薬剤分子の結合においては、いわゆるエンタルピー/エントロピー補償効果³⁾が見られる。すなわち、エンタルピー的に有利な効果を狙って水素結合のような特定の相互作用を形成させると、その部位における分子構造の自由度が下がりエントロピー的には不利になるという現象である。従って、例えば分子構造の改変によってエンタルピー的に有利な効果が得られていても、エントロピー的に打ち消されてしまい、親和性が変化しなかったり逆に低くなったりということも起こる。このような補償効果が、別の部位での分子構造の改変等により乗り越えることが可能であれば、最初の改変は評価できるものであるが、親和性のみを指標に化合物を選択していると見過ごされてしまうかもしれない。

3. 創薬におけるITCの利用

上述した背景から、創薬において標的蛋白質-薬剤分子の結合におけるエンタルピー項およびエントロピー項を個別に評価する戦略が注目されている。ITCは、そのような熱力学的情報を直接得る方法としては唯一のものであるといつてよい。ITCでは分子間の結合親和性を示す自由エネルギー変化 ΔG のみならず、エンタルピー変化 ΔH およびエントロピー変化 ΔS の両者が得られる。それに対して、他の測定法で求められるのは基本的に結合反応における解離定数であり、そこから導かれる ΔG のみである。 ΔG の温度依存性を測定することによってvan't Hoffエンタルピーを求めることは出来るが、測定が煩雑であるし、 ΔH の温度依存性が無視できない場合は誤差が大きくなるという問題がある。⁴⁾ 一方ITCでは一度の測定で真の ΔG 、 ΔH および ΔS が得られる。同じような結合親和性、すなわち同程度の ΔG を示す薬剤候補分子であっても、 ΔH と $-T\Delta S$ の寄与は様々であり、そのバランスが相互作用の熱力学的な特徴を表す

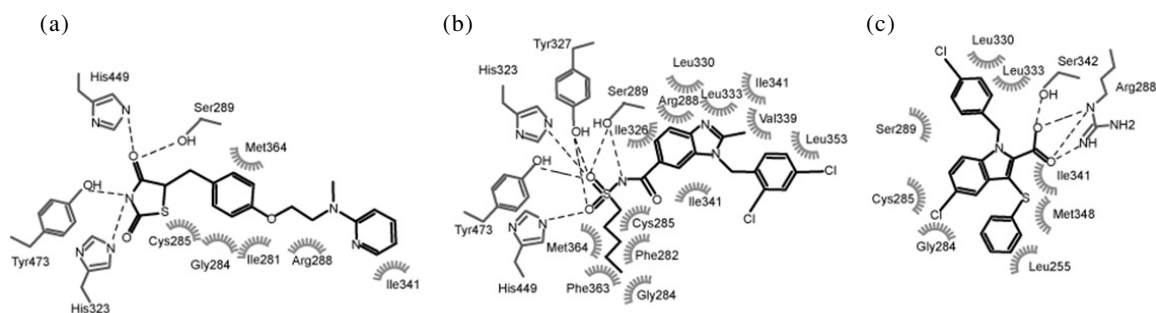


Fig.1 Ligand binding mode of PPAR γ -LBD complexed with (a) Rosiglitazone, (b) FK614, (c) nTZDpa. Hydrogen bonds are represented by dashed lines, while hydrophobic contacts are indicated by arcs with spokes.

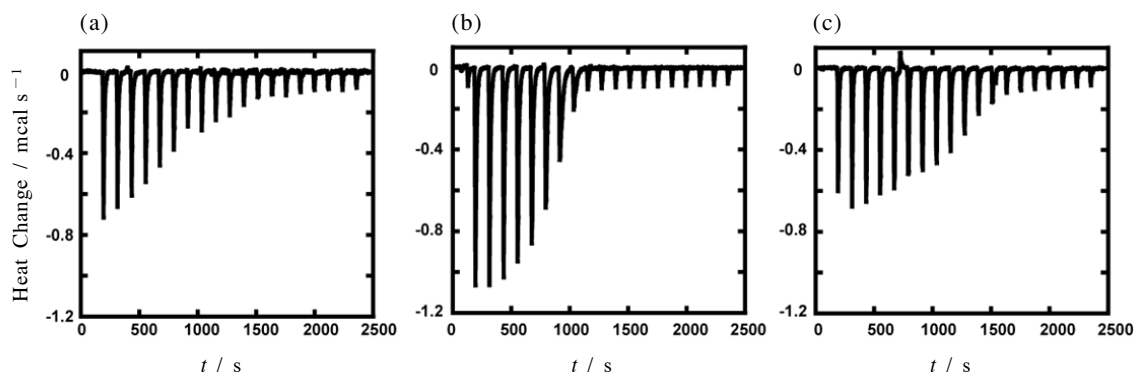


Fig.2 Raw ITC data for injections of drug compounds into the solution of PPAR γ ligand binding domain at 25 °C. (a) Rosiglitazone, (b) FK614, (c) nTZDpa.

といえる。また、 ΔG を改善、すなわちより標的との親和性が高い化合物をデザインしていく際に、 ΔH および $-T\Delta S$ の寄与をそれぞれ評価することで、より効率的に化合物をデザインできる可能性がある。

筆者らは構造情報と熱力学データに基づく創薬手法開発のモデル系の一つとして、核内受容体の一種であるペロキシソーム増殖因子活性化受容体 γ (PPAR γ)を用いた研究を進めている。PPAR γ はDNA結合ドメイン(DBD)とリガンド結合ドメイン(LBD)を持つ分子量約55,000の蛋白質である。PPAR γ はDBDを介して特定のDNA配列に結合し遺伝子発現を調節する転写因子であり、その活性がLBDに結合する脂肪酸等の疎水性低分子リガンドによって変化するという特性がある。PPAR γ は糖・脂質代謝及び炎症に関わる様々な遺伝子の発現制御において重要な役割を担っている。そのため、生活習慣病などの創薬ターゲットとして以前から注目されてきた。⁵⁾ 代表的な合成PPAR γ リガンドであるRosiglitazoneをはじめとするチアゾリジン誘導体は、2型糖尿病に対するインスリン抵抗性改善薬として臨

床で用いられている。しかしチアゾリジン誘導体は浮腫・肥満などの副作用が課題となっており、それに替わる薬剤の開発が望まれている。

Fig.1はPPAR γ -LBDと各種リガンド(Rosiglitazone, FK614, nTZDpa)との複合体構造におけるリガンド結合領域である。PPAR γ -LBDリガンド結合ポケットにおいて、それぞれのリガンドの結合位置が異なっていることが示されている。**Fig.2**にはPPAR γ -LBDとリガンドとの結合をITCによって測定した結果を示している。ITCはMicrocal iTC₂₀₀ (GE Healthcare)を用い、サンプルセルにPPAR γ -LBDを、滴定シリンジに各リガンドを入れ、25 °Cにおいて各滴定実験を行った。溶媒は、PBS (リン酸緩衝食塩水 pH 7.2) に蛋白質中のCys残基の酸化を防ぐための1 mM TCEP、およびリガンドの溶解性を上げるための2 % DMSOを含んでいる。蛋白質の溶媒とリガンドの溶媒の組成がわずかに異なると、中和熱等の余分な熱が発生するため、極力両者の組成が一致するよう試料を調製している。また、ブランク実験として蛋白質試料に対するリガンド溶

Table 1 Thermodynamic parameters for the interaction of the PPAR γ ligand binding domain with drug compounds.

	Rosiglitazone	FK614	nTZDpa
ΔH / kJ mol $^{-1}$	-34.0	-55.3	-41.8
$-T\Delta S$ / kJ mol $^{-1}$	4.3	15.6	5.5
ΔG / kJ mol $^{-1}$	-29.7	-39.6	-36.3
K_d / μ M	6.17	0.113	0.433

媒の滴定実験も行っている。従来、ITC測定は一回にmLオーダーの蛋白質試料溶液を必要とするという欠点があった。熱力学測定に使用可能な高純度の蛋白質試料を大量に調製することはコストや労力の点から負担が多い。特に、創薬標的蛋白質として重要なヒト由来の蛋白質は、大腸菌等を用いて大量調製することが難しい場合も多く、ITC測定の障壁となっていた。また、装置のウォーミングアップや測定自体に多くの時間を要するという問題もあった。しかし、最近の装置は多くの点で改良され、iTC₂₀₀では蛋白質セル容量は200 μ Lと大幅に小型化している。また、一回の測定時間も30分程度であり、感度・安定性も格段に向上している。

滴定曲線について1:1結合モデルによるフィッティングを行い、得られた熱力学パラメータをTable 1に示す。どのリガンドもエンタルピー的にはPPAR γ -LBDとの結合に有利であるが、エントロピー的には不利であることがわかる。解離定数は最も小さい、すなわち結合が強いFK614が0.1 μ Mであるのに対し、最も大きいRosiglitazoneが6.2 μ Mであり、これは ΔG として9.9 kJ mol $^{-1}$ の差に相当する。FK614の ΔH は-55.3 kJ mol $^{-1}$ であり、エンタルピー的にRosiglitazoneより21.3 kJ mol $^{-1}$ 有利である。しかし、エントロピー損失- $T\Delta S$ が11.3 kJ mol $^{-1}$ 不利なため ΔG の差は縮まっている。立体構造からはFK614がRosiglitazone及びnTZDpaと比較し、より広い領域でリガンド結合ポケット表面と相互作用していることが示されている。このことがvan der Waals相互作用の増加に繋がり- ΔH の増加に反映されていることが示唆される。一方、広い相互作用表面は、結合時に水分子がより多く解放されることを示唆するにも関わらず、実際にはエントロピー損失で不利となっている。この理由は今後の検討課題であり、エントロピー変化に寄与する水と量変化の実験的な検証や、分子の構造揺らぎを解析することによって、その背景を解き明かすことが必要であろう。ただ、ここで重要な点は、 ΔG に対する ΔH 及び- $T\Delta S$ の寄与を実験的に明らかにすることによって、今後、分子構造を改良する際の指針が得られることである。例えばFK614を基にして、さらに親和性の高いリガンドをデザインするには、比較的不利になっているエン

トロピー損失を改善することが有効であることが示唆される。すなわち分子の内部自由度を減らしより硬い構造にしたり、分子に疎水性を上げる置換基を導入したりすることが考えられる。

4. 熱力学データベースにみられる構造-熱力学相関

近年、構造-熱力学相関についての関心が高まり、また技術的な進歩によりITC測定がより簡便になってきたことから、蛋白質-リガンド相互作用の熱力学データが多く報告されるようになってきた。それらを集めたデータベースも構築されている。

LiらはPDBcal データベース⁶⁾中の蛋白質-リガンド相互作用の熱力学データにおいて、 ΔH と ΔS との間に線形の相関を見だし、エンタルピー/エントロピー補償効果の現れであるとしている。一方、OlssonらはSCORPIO データベース⁷⁾中の蛋白質-リガンド相互作用の熱力学データについて、やはり相関が見られるが、その理由としてITCで測定できる ΔG に限界があるために生じるサンプリングバイアスであるとしている。

Olssonらは構造-熱力学相関についても解析している。⁷⁾ 一般に蛋白質-リガンド複合体の表面積は個別の表面積の和に比べ減少する。このうち疎水的な領域の寄与である非極性表面積の減少(- $\Delta CSA_{\text{apolar}}$)と ΔG との間に高い相関が見られる。非極性表面積の寄与は-49 J mol $^{-1}$ Å $^{-2}$ であり、20 Å 2 の $\Delta CSA_{\text{apolar}}$ は ΔG として-1 kJ mol $^{-1}$ に相当する。一方、極性表面積の減少(- $\Delta CSA_{\text{apolar}}$)の効果ははっきりしない。これは- ΔCSA が増えるに従って- $\Delta CSA_{\text{apolar}}$ に対する- $\Delta CSA_{\text{apolar}}$ の割合が減少する傾向があり、極性表面積の影響が相対的に小さくなるためである。 $\Delta CSA_{\text{apolar}} = 0$ となる仮想的なリガンドでは、極性表面積の寄与として-213 J mol $^{-1}$ Å $^{-2}$ と見積もられており、非極性表面積による値よりも大きい。一般に蛋白質-リガンド間における水素結合の形成に際しては- $\Delta CSA_{\text{apolar}}$ として20~50 Å $^{-2}$ 程度の極性表面積の減少が見られ、この値は数 kJ mol $^{-1}$ の ΔG に相当する。Olssonらは ΔG と $\Delta CSA_{\text{apolar}}$ の相関から、蛋白質上のある標的部位に対して、そこに相補的な形状を持つリガンドに期待できる- ΔG の最大値を以下のように見積もっている。

$$\Delta G_{\text{max}} \approx -30 - \frac{CSA_{\text{apolar, binding-site}}}{10} \text{ kJ mol}^{-1}$$

この値は蛋白質表面において標的部位を選択する際の評価値となる。また、特定標的部位に対して ΔG を最適化する際の目標値と考えられる。

一方、 ΔH および- $T\Delta S$ 単独では、 ΔG と- $\Delta CSA_{\text{apolar}}$ との間で見られるような表面積変化との強い相関は認められ

ていない。非極性表面積の減少に伴って疎水性領域から水分子が解放されることはエントロピー的な寄与として考えられがちであるが、実際のデータはその見方が単純すぎることを示している。また、データベース全体で見られる ΔG と $-\Delta CSA_{\text{apolar}}$ との統計的な相関は、特定の蛋白質に対する異なるリガンド間では認められない。これらの結果は、少なくとも表面積といった粗視的なパラメータと、個々の蛋白質-リガンド相互作用における ΔH および $-T\Delta S$ といった熱力学量とを直接結びつけることは容易でないことを示している。

5. ΔH および ΔS に基づく薬剤分子の最適化

前節で記したように、現在のところ蛋白質の構造情報から熱力学量を予測することは難しい。では ITC から得られる ΔH および ΔS をどのように用いれば創薬を効率化することができるのだろうか。一つの考え方として我々の PPAR γ -LBD の解析に見られるように、複数のリガンドについてその ΔH および ΔS を求め、それぞれの化学構造が持つエンタルピー的及びエントロピー的なメリット/デメリットについて情報を集め利用することが挙げられる。

Ladbury らは薬剤リード化合物の選択やその改良において、エンタルピー変化 ΔH が特に重要であるとしている。⁸⁾ 例として抗コレステロール薬であるスタチン系薬剤及び抗 AIDS 薬である HIV プロテアーゼ阻害剤は、分子構造の異なる数種の薬剤が上市されているが、後発の薬剤ほど標的蛋白質との親和性が上昇しており、それに伴って $-T\Delta S$ ではなく ΔH の面で改善する傾向があると示されている。^{1,8)} このことは、有利な ΔH は蛋白質と化合物との間での水素結合など特異的な非共有結合の形成を意味し、選択性や薬剤耐性という面で、より薬剤として望ましい性質につながっていることを示唆している。逆に言えば、 ΔH において有利な化合物を選択することは、薬剤として望ましい化合物を選んでいく可能性が高いといえる。エンタルピー変化の評価法としては、 ΔH を極性原子の数で割ったエンタルピー効率 $EE = \Delta H/N_{\text{pol}}$ も提案されている。化合物の選択過程においては、置換基の追加により分子量が増大したものが親和性の上で有利となる傾向がある。しかし、分子量が大きい化合物は物性や薬物動態の面で問題が多い。 EE による評価は、いたずらに分子量を増大させることなくエンタルピー変化を稼ぐことのできる構造を選択するために有効である。

さらに Freire は標的蛋白質に対する薬剤候補化合物の最適化において、化合物の化学構造と熱力学量との相関に基づくシステムティックな戦略を開発している。**Fig.3** は Freire が提案する熱力学的最適化プロットである。⁹⁾ 横軸を $-T\Delta S$ 、縦軸を ΔH としたグラフに、出発化合物の $(-T\Delta S, \Delta H)$ をプロットし、その点と $(0, \Delta G)$ を通る直

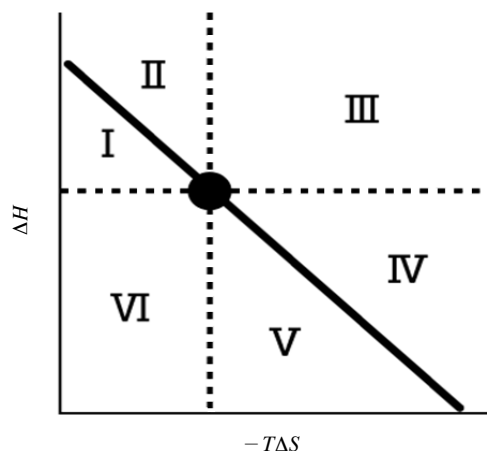


Fig.3 The thermodynamic optimization plot.⁹⁾ Contributions of enthalpy (ΔH) and entropy ($-T\Delta S$) for the starting compound are plotted. The solid line represents the same affinity (ΔG) as the starting compound. Six regions (I-VI) define optimization strategies.

線を描く。この線上に位置する点は $-T\Delta S$ および ΔH の値は異なっても等しい ΔG を示す。この等 ΔG 線および出発点を基準にすると平面は6つの領域 (I-IV) に分けられる。等 ΔG 線の内側の領域 (I, V, VI) は親和性が向上し ΔG が小さくなったことを示す。逆に外側の領域 (II, III, IV) は親和性が減少し ΔG が大きくなったことを示す。I, II の領域ではエントロピー利得がエンタルピー損失を上回っている。逆に IV, V ではエンタルピー利得がエントロピー損失を上回っている。領域 III ではエンタルピーおよびエントロピー共に不利となっているのに対し、VI では双方とも有利になっている。

このプロットによって、化合物間の熱力学の特徴の変化が解り易く示され化合物を改変していく際の指針となることが期待される。特に領域 I, V, VI の化合物だけではなく、領域 II 及び IV に位置するエンタルピーあるいはエントロピーどちらかでは改善している化合物の情報をを用い、総合的に有利な化合物の改変につなげることでそのメリットが発揮されると考えられる。

6. ITC と FBDD

ITC の応用として注目されている創薬手法の一つとして、FBDD (Fragment-based drug discovery) がある。FBDD では、単純な構造を持ち分子量の小さい化合物 (フラグメント) をスクリーニングし、それらを組み合わせて薬剤リード化合物を得る方法論である。¹⁰⁾ 各フラグメントと標的蛋白質との結合は弱い、互いに異なる相互作用部位をも

複数のフラグメントを結合すると理想的には親和性はそれらの積となり飛躍的に上昇する。フラグメントスクリーニングでは解離定数にして mM オーダーの結合を測定する必要があるが、通常の生物学的なスクリーニングでこのような相互作用を検出することは難しい。FBDD によく用いられる NMR (核磁気共鳴) 法は、弱い結合を検出することができ、また標的蛋白質における結合部位の情報が得られるため、フラグメントを効率的に組み合わせることが可能になる優れた手法である。しかし比較的多量の蛋白質試料が必要であり、解析のスループットが低いという欠点もあった。ITC は NMR 同様溶液中での弱い相互作用を検出できるという利点がある。また、結合部位の情報は得られないが ΔH , ΔS が得られるという他に無い利点を有する。従来は ITC も NMR 同様にスループットの低さが問題であったが、最近の技術的進歩により ITC は NMR 法等を補う FBDD の手法として期待されている。ITC のハイスループット化としては、既にオートサンプラーを装備した装置が市販されており、96 穴プレートに用意した多数の検体を自動的に分析することが可能である。また、既存の ITC のような滴定型ではないが、検出部がアレイ状になった熱量計や、フローセルを用いた熱量計など、創薬を志向したハイスループットな熱測定技術の研究も進んでおり今後が期待される。¹¹⁾

7. おわりに

本稿では、創薬において近年注目を集めている ITC の利用について解説した。ITC によって可能になるエンタルピー項およびエントロピー項の評価は、薬剤開発における効率的な分子構造の探索・設計に有効であり、将来性のある手法といえる。今後、ITC 等の熱測定技術の進歩とその積極的な利用に加え、X 線結晶構造解析や NMR 法による構造情報や、その他の物理化学的データの集積およびコンピューターシミュレーションによって、未だ経験的な要素が多い構造-熱力学相関がより理論的に解明され、合理的創薬の発展に結実していくだろう。

謝 辞

大阪大学大学院工学研究科 内山 進 博士、湧永製薬株式会社 高橋 亮 博士、大阪大学微生物病研究所 中村 昇太 博士を始めとする共同研究者の皆様に深く感謝申し上げます。

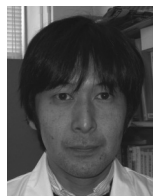
文 献

- 1) E. Freire, *Drug. Discov. Today* **13**, 869 (2008).
- 2) V. A. Jarmowycz and M. J. Stone, *Chem. Rev.* **106**, 1624 (2006).
- 3) P. Gilli, V. Ferretti, G. Gilli, and P. A. Borea, *J. Phys. Chem.* **98**, 1515 (1994).
- 4) J. B. Chaires, *Annu. Rev. Biophys.* **37**, 135 (2008).

- 5) J. P. Berger, T. E. Akiyama, and P. T. Meinke, *Trends. Pharm. Sci.* **26**, 244 (2005).
- 6) L. Li, J. J. Dantzer, J. Nowacki, B. J. O'Callaghan, and S. O. Meroueh, *Chem. Biol. Drug. Des.* **71**, 529 (2008); <http://www.pdbcal.org/>
- 7) T. S. G. Olsson, M. A. Williams, W. R. Pitt, and J. E. Ladbury, *J. Mol. Biol.* **384**, 1002 (2008); <http://scorpio.biophysics.ismb.lon.ac.uk/>
- 8) J. E. Ladbury, G. Klebe, and E. Freire, *Nat. Rev. Drug. Discov.* **9**, 23 (2010).
- 9) E. Freire, *Chem. Biol. Drug. Des.* **74**, 468 (2009).
- 10) M. Orita, M. Warizaya, Y. Amano, K. Ohno, and T. Niimi, *Expert Opin. Drug Discov.* **4**, 1125 (2009).
- 11) F. E. Torres, M. I. Recht, J. E. Coyle, R. H. Bruce, and G. Williams, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **20**, 598 (2010).

要 旨

等温滴定型熱測定 (ITC) は、蛋白質とリガンドとの結合におけるエンタルピー変化及びエントロピー変化をそれぞれ測定できる唯一の手法である。この特徴を活かして、ITC が創薬研究に活用されつつある。標的蛋白質と薬剤候補化合物との分子間相互作用において、ITC で得られる熱力学的特性はリード化合物の選択や改善に役立つ指針となる。本総説では、筆者らが研究している薬剤標的蛋白質 PPAR γ の ITC 分析を紹介するとともに、創薬における ITC の利用について概説する。



吉田 卓也 Takuya Yoshida
大阪大学大学院薬学研究科, Graduate School and School of Pharmaceutical Sciences, Osaka University
E-mail: yo@phs.osaka-u.ac.jp
研究テーマ: 蛋白質のダイナミクス・分子間相互作用
趣味: 将棋



丸野 孝浩 Takahiro Maruno
大阪大学大学院薬学研究科, Graduate School and School of Pharmaceutical Sciences, Osaka University
研究テーマ: 生体高分子の熱測定, 溶液物性解析
趣味: 硬式テニス, サイクリング



小林 祐次 Yuji Kobayashi
大阪薬科大学, Osaka University of Pharmaceutical Sciences
研究テーマ: 蛋白質の構造・活性相関, 蛋白質の構造構築原理
趣味: 仏像鑑賞, 園芸