

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：「次世代がん研究推進のためのシーズ育成支援基盤」（天然物ライブラリーを用いた探索試験の実施）

2. 研究開発代表者： 新家 一男（国立研究開発法人産業技術総合研究所）

3. 研究開発の成果

産業技術総合研究所では、25万ライブラリーを超えるスクリーニングサンプルを用いて、ハイスループット及びハイコンテンツスクリーニングを実施する。産業技術総合研究所が有する製薬企業に匹敵するスクリーニング体制等のインフラを用いて、多種多様なスクリーニング系を実施し、医薬品リードとなるような化合物を見いだすことを目的に実験を行った。

①大規模ライブラリーが適用可能なアッセイ系を確立する支援

スクリーニングにおいて、数十万サンプル規模のライブラリーについてアッセイを行う場合、シーズ班から提案される生物活性評価系をそのまま用いる事は不可能である場合が多い。そこで、シーズ班から提案された生物活性評価系を改良し、高いスループットでスクリーニングが可能な 384 well ベースでのアッセイ系を確立する支援を行った。平成 27 年度は、HTRF アッセイ系 1 つ、DSE-FRET アッセイ系 1 つ、蛍光イメージングアッセイ系 1 つ、AlphaScreen アッセイ系 3 つ、ルシフェラーゼによるレポーターアッセイ系 1 つ、蛍光法による酵素アッセイ系 1 つの合計 8 つのアッセイ系のハイスループットスクリーニング最適化を行った。これらのアッセイ系のうち、幾つかのアッセイ系に関しては、高次評価系として二次アッセイ系のハイスループットスクリーニングへの最適化も行った。

②スクリーニングの実施

平成 27 年度は、細胞増殖を指標にしたアッセイ系 2 つ、蛍光イメージングアッセイ系 2 つ、染色イメージングアッセイ系 1 つ、HTRF アッセイ系 1 つ、DSE-FRET アッセイ系 1 つ、AlphaScreen アッセイ系 3 つ、ルシフェラーゼによるレポーターアッセイ系 1 つ、蛍光法による酵素アッセイ系 1 つの合計 12 個のアッセイ系のハイスループットスクリーニングを行なった。各スクリーニングの結果、187 個のヒットサンプルを得た。

③ヒット化合物の単離・精製、構造同定及び活性試験用サンプル供給

上述したスクリーニング系のうち、天然粗抽出物ライブラリーから得られたヒットに対して、まずは UPLC-TOF-MS を用いて既知活性物質であるか照合を行い、既知活性物質が含まれていないサンプルについてのみ生産菌の再現培養を行った。その後、生物活性を指標に活性物質の抽出分離および精製を行った。こうして得られた単離化合物に関して、化合物同定および構造決定を行った。

以上のスクリーニングを通じて、10 個以上のヒット化合物をスクリーニング提案者に供給した。