

平成 28 年度 委託実験調査成果報告書

I. 基本情報

事業名 : (日本語) 創薬支援推進事業・創薬総合支援事業
(英語) Project Promoting Support for Drug Discovery “The iD3 Booster”

実験調査課題名 : (日本語) 抗 GAB 低分子薬の探索研究
(英語) Drug Discovery Project targeting GAB

実験調査担当者 (日本語) 国立長寿医療研究センター 治療薬探索研究部長 河合 昭好
所属 役職 氏名 : (英語) National Center for Geriatrics and Gerontology, Department of Drug
Discovery, Akiyoshi Kawai

実施期間 : 平成 28 年 6 月 1 日 ~ 平成 29 年 3 月 31 日

分担実験 (日本語) 抗 GAB 低分子薬の探索研究一分担 1
調査課題名 : (英語) Drug Discovery Project targeting GAB

実験調査分担者 (日本語) 国立長寿医療研究センター 所長 柳澤 勝彦
所属 役職 氏名 : (英語) National Center for Geriatrics and Gerontology, Director-General Research
Institute, Katsuhiko Yanagisawa

II. 成果の概要

- 181 化合物を GA β に基づく A β 重合阻害活性測定法 (ThT 法) で評価し、リード化合物 (出発化合物) と同等の活性を示す化合物を複数個見いだした。
 - 抗 GA β マウスモノクローナル抗体 (4396C) を用いた免疫沈降 (IP)法により、ThT 法にて阻害活性を示した 87 化合物の評価を実施した。16 化合物が阻害を示し、さらに 3 化合物が、用量依存的かつ強力に 4396C と GA β との結合を阻害した。
 - Plate-based 評価系構築の試みとして、4396C 抗体とは異なる動物種の抗 GA β 抗体 (ウサギモノクローナル抗体 A、B) を用いて AlphaScreen system にて検討した。抗体 B において良好なシグナル強度を得るも、非特異的なシグナルをキャンセルできなかった。
 - β アミロイドの重合誘導による細胞毒性の細胞内シグナルを指標にした plate-based 評価系の構築を試みた。神経細胞様細胞に分化させた SH-SY5Y 細胞への A β 42 の添加により、生存に関わる分子 X のリン酸化が低下し、細胞死を誘導する分子 Y のリン酸化が上昇することが Western blot にて確認された。現在、同分子のアッセイ条件の最適化を進めており、条件確定後は化合物の評価を実施する予定である。
-
- 181 compounds were evaluated for their inhibitory activity against GA β -based A β aggregation (ThT assay). Several compounds exhibited potent activity similar to that of the parent compound.
 - 87 compounds with the inhibitory activity in ThT assay were evaluated using immunoprecipitation with anti-GA β mouse monoclonal antibody (4396C) and GA β . Among them, 16 compounds showed inhibitory activity and three compounds inhibited potently the binding of 4396C to GA β in a dose-dependent manner.
 - We examined to construct a novel plate-base system using two types of anti-GA β rabbit monoclonal antibodies (antibody A, antibody B) and AlphaScreen technology. Although reasonable signal intensity was obtained by using the antibody B, it was found that the nonspecific signal was hard to eliminate from the desired intensity.
 - Alternatively, we attempted to construct an evaluation system based on intracellular signal of cytotoxicity induced by β -amyloid aggregation. In SH-SY5Y cells differentiated into neuron-like cells, phosphorylation of molecule X involved in survival signal was decreased by the addition of A β 42, while phosphorylation of molecule Y inducing cell death signal was increased. Optimization of assay condition is currently on-going.

III. 成果の外部への発表

- (1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌0件、国際誌0件）
該当なし
- (2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表
該当なし
- (3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
該当なし
- (4) 特許出願
該当なし

平成28年度 委託実験調査成果報告書

I. 基本情報

事業名 : (日本語) 創薬支援推進事業・創薬総合支援事業
(英語) Project Promoting Support for Drug Discovery “The iD3 Booster”

実験調査課題名 : (日本語) 抗 GAB 低分子薬の探索研究
(英語) Drug Discovery Project targeting GAB

実験調査担当者 (日本語) 創薬機構 機構長 一條 秀憲
所属 役職 氏名 : (英語) Drug Discovery Initiative, The University of TOKYO, Director,
Hidenori Ichijo

実施期間 : 平成28年 4月 1日 ~ 平成29年 3月31日

分担実験 (日本語) キノリンカルボン酸シリーズのリード探索研究
調査課題名 : (英語) The lead exploration study of a series of quinolone-carboxylic acids.

実験調査分担者 (日本語) 創薬機構 構造展開ユニット 特任教授 宮地 弘幸
所属 役職 氏名 : (英語) Drug Discovery Initiative, Lead exploration unit, The University of
TOKYO, Professor, Hiroyuki Miyachi

II. 成果の概要

和文

- ・ GA β 依存性アミロイド線維形成に対する阻害活性を評価した結果見出された化合物 NCGG213790 の誘導体を構造展開した (216 化合物を評価)。
- ・ 主に 4 系統の構造の異なる化合物群を合成し一次スクリーニング評価した結果、NCGG213790 と同等以上の抑制活性を示す化合物を複数見出すことに成功した。

英文

- ・ New derivatives of NCGG213790, which was discovered through the evaluation of the inhibitory activity for the GA β -dependent amyloid fibril formation, were synthesized and evaluated for their anti-fibril activity (216 compounds were evaluated).
- ・ As a result of the first-screening of a 4 structurally different types of compounds, several screening hits were obtained, which exhibited comparable to or somewhat superior GA β -dependent amyloid fibril formation inhibitory activity.

III. 成果の外部への発表

- (1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 0 件、国際誌 0 件)
- (2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表 (国内 0 件、国際 0 件)
- (3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み (0 件)
- (4) 特許出願 (0 件)

平成28年度 委託実験調査成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 創薬支援推進事業・創薬総合支援事業
(英語) Project Promoting Support for Drug Discovery “The iD3 Booster”

実験調査課題名： (日本語) 抗 GAB 低分子薬の探索研究
(英語) Drug Discovery Project targeting GAB

実験調査担当者 (日本語) 自然科学研究機構 岡崎統合バイオサイエンスセンター 教授 加藤晃一
所属 役職 氏名： (英語) National Institutes of Natural Sciences, Okazaki Institute for Integrative
Bioscience, Professor, Koichi Kato

実施期間： 平成28年6月1日 ～ 平成29年3月31日

分担実験 (日本語) GAB 構造解析
調査課題名： (英語) Structural characterization of GAB

実験調査分担者 (日本語)
所属 役職 氏名： (英語)

II. 成果の概要

- ・ 抗 GM1-A β 抗体（4396C 抗体）の抗原認識に関わる構造情報の取得を目指し、安定同位体利用 NMR 分光法により 4396C 抗体と A β の相互作用解析を実施した。
- ・ 4396C 抗体を添加した際の A β のスペクトル変化を解析した結果、A β の 2 か所の疎水性領域に変化が認められた。このことから、4396C 抗体との結合に関与する A β のエピトープが明らかとなった。
- ・ We performed stable-isotope-assisted NMR analysis in order to obtain structural information regarding antigen recognition by 4396C antibody, which specifically binds to GM1-A β complex.
- ・ Spectral perturbations were observed for two hydrophobic segments of A β upon titration with 4396C indicating potential epitope of A β .

III. 成果の外部への発表

- (1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 0 件）
- (2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表
なし
- (3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
なし
- (4) 特許出願
なし