

1. TGR5活性評価系の改善

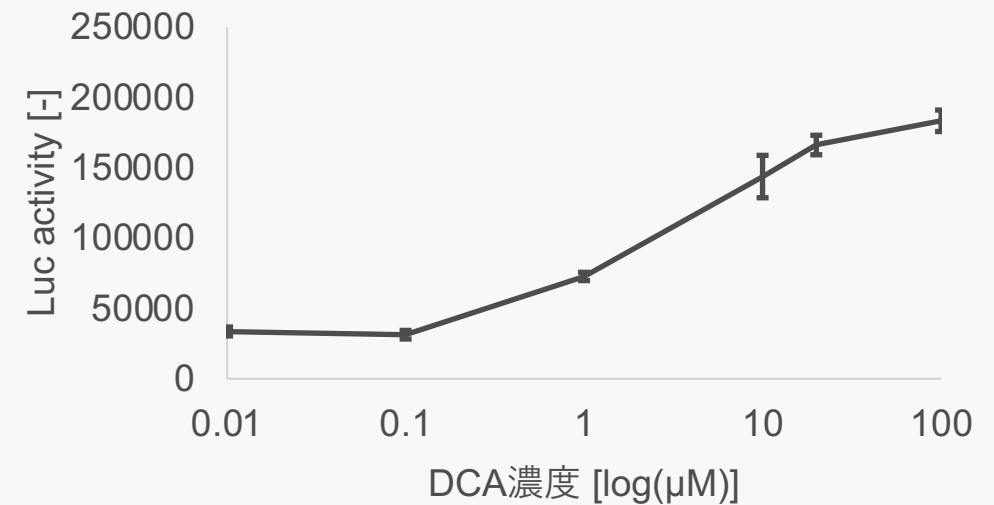
2. TGR5アゴニスト類似ペプチドの探索

目的と方法

- 添加するDCAの適切な濃度を検討する
 - 報告されているEC50は1.01 μ Mに対して20 μ Mと高い濃度で行っていた
- 0.01, 0.1, 1, 10, 20, 100 μ MでDCAを添加して結果を比較

結果

- 図からEC50は2 μ M程度と読み取れ、文献値と近い結果が得られた
- 20 μ Mは上限に近い濃度であった
- 1mMに分注したDCAを薄めて使用した
 - 2 μ Mに分注して、今後はそれを使うようにしたい



各DCA濃度でのLuc activity

DCAの濃度は2 μ Mに決定

1. TGR5活性評価系の改善

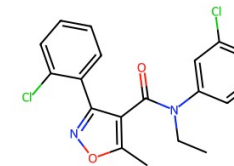
2. TGR5アゴニスト類似ペプチドの探索

別のフィンガープリント手法を検討

4/9

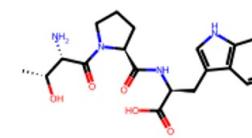
背景

- フィンガープリントの手法の一つであるMACCS Keysを用いた類似度評価で、類似していなそうな化合物が得られた
- MACCS Keysは166個の部分構造しか見ておらず、精度は低め
 - 部分構造の有無のみを表し、部分構造の数は考慮されない
 - 官能基を識別することができず、反応性の違いなどの観点を判別できない
 - 166個以外の構造は評価できない

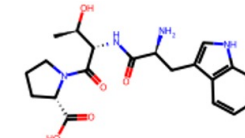


ターゲット：
3-アリール-4-イソオキサゾールカルボキサミド

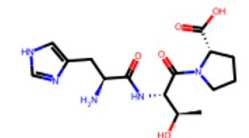
類似度が高かった上位3つのペプチド



1. TPW
類似度：0.443



2. WTP
類似度：0.443



3. HTP
類似度：0.435

方針

1. 化合物の特徴をより多く表現できる手法(KCF-S)を用いる
2. 化学的性質を表現することができる手法(ドナーアクセプターペアフィンガープリント)を用いる

7つの属性を用いて部分構造を定義し、化合物の特徴を抽出する手法

ATOM	分子グラフを形成するノードに対応。
BOND	分子内で化学結合を形成するATOMエントリーのペア
TRIPLET	3つのATOMが順次接続された中心ATOMを共有するBONDエントリーのペア
VICINITY	中心原子とそれに接続する原子 少なくとも3つのBONDエントリーと少なくとも4つのATOMエントリーから構成される
RING	3～12の環を含む環状部分構造
SKELETON	アルキル基やアリール基などの炭素骨格
INORGANIC	炭素原子以外の元素で構成される連結原子グループ

ENTRY	C00005	Compound
SUBSTR		
ATOM	C1y (8) 33 7 35 36 9 37 1 3 O1c (7) 26 27 30 18 31 20 19 C2x (3) 44 41 42 :	
BOND	O1c-P1b (7) 18-14 19-14 20-14 26-24 27-24 ... C1y-C1y (6) 1-3 3-7 33-35 35-37 7-9 36-37 C1y-O2x (4) 1-4 9-4 33-34 36-34 :	
TRIPLET	O1c-P1b-O2b (7) 26-24-21 27-24-21 18-14-8 19-14-8 ... C1y-C1y-O1a (6) 3-7-13 9-7-13 33-35-38 37-35-38 ... O1c-P1b-O1c (5) 26-24-27 18-14-19 18-14-20 ... :	
VICINITY	C1y(C1y+C1y+O1a) (3) 7 35 37 C1y(C1b+C1y+O2x) (2) 33 9 P1b(O1c+O1c+O2b+O2c) (2) 24 28 :	
RING	C1y(C1b)-C1y(O1a)-C1y(O1a)-C1y(N1y)-O2x (1) ... C1y(C1b)-C1y(O1a)-C1y(O2b)-C1y(N4y)-O2x (1) ... C8x-N4y(C1y)-C8y-N5x-C8x-N5x-C8y(N1a)-C8y-N5x (1) ... :	
SKELETON	C1b(O2b)-C1y(O2x)-C1y(O1a)-C1y(O1a)-C1y(N1y+O2x) (1) ... C1b(O2b)-C1y(O2x)-C1y(O1a)-C1y(O2b)-C1y(N4y+O2x) (1) ... :	
INORGANIC	O1c-P1b(O2b(C1b)) (O1c)-O2c-P1b(O2b(C1b)) (O1c)-O1c ... O1c-P1b(O2b(C1y)) (O1c)-O1c (1) 18-14(8) (20)-19	

///

ドナーアクセプターペアフィンガープリント

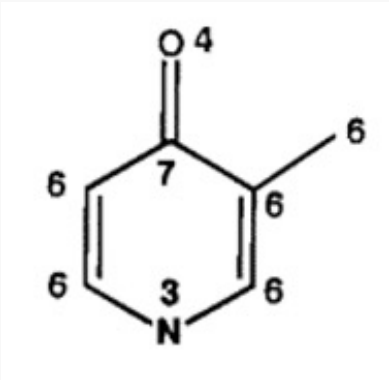
化学的性質を特徴として用いるフィンガープリント

原子を7つの分類のいずれかに割り当て、原子ペア(bp)と連続した4つの原子(bt)の2つの形式で表す

ドナーアクセプターペアフィンガープリントでの原子の分類

1	陽イオン
2	陰イオン
3	中性水素結合供与体
4	中性水素結合受容体
5	極性原子
6	疎水性原子
7	その他

例



	unique bp	frequency
1	4-(3)-6	3
2	6-(1)-6	3
3	6-(2)-6	3
4	6-(3)-6	3
5	6-(2)-7	3
6	3-(1)-6	2
7	3-(2)-6	2
8	4-(2)-6	2
9	6-(1)-7	2
10	3-(4)-4	1
11	3-(3)-6	1
12	3-(3)-7	1
13	4-(1)-7	1
14	6-(4)-6	1
		28 total

原子ペア(bp)

	unique bt	frequency
1	4-7-6-6	3
2	6-6-7-6	3
3	3-6-6-7	2
4	6-3-6-6	2
5	3-6-6-6	1
		11 total

連続した4つ(bt)

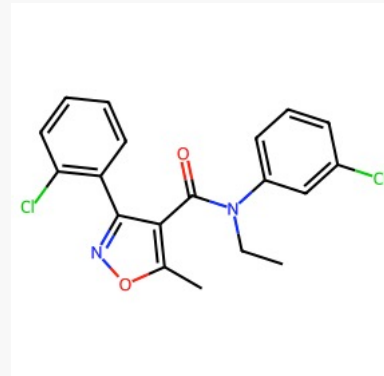
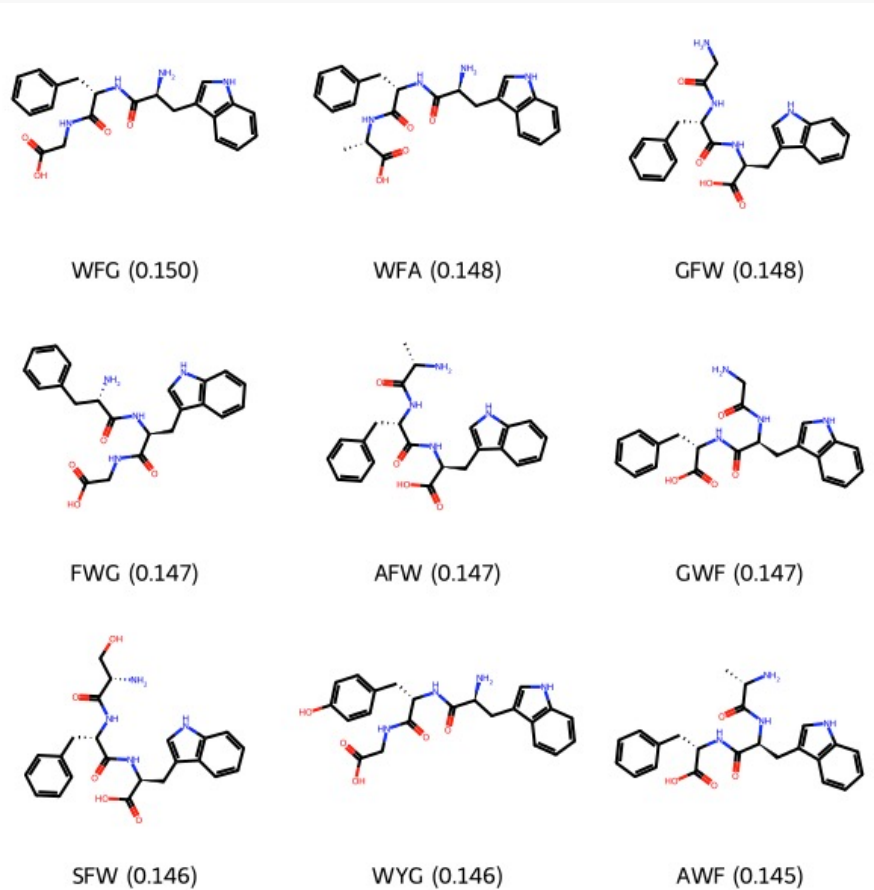
4-(3)-6は、4から3つ離れたところに6が位置しているような構造を指す

3-Aryl-4-isoxazole-carboxamideの構造相関

7/9

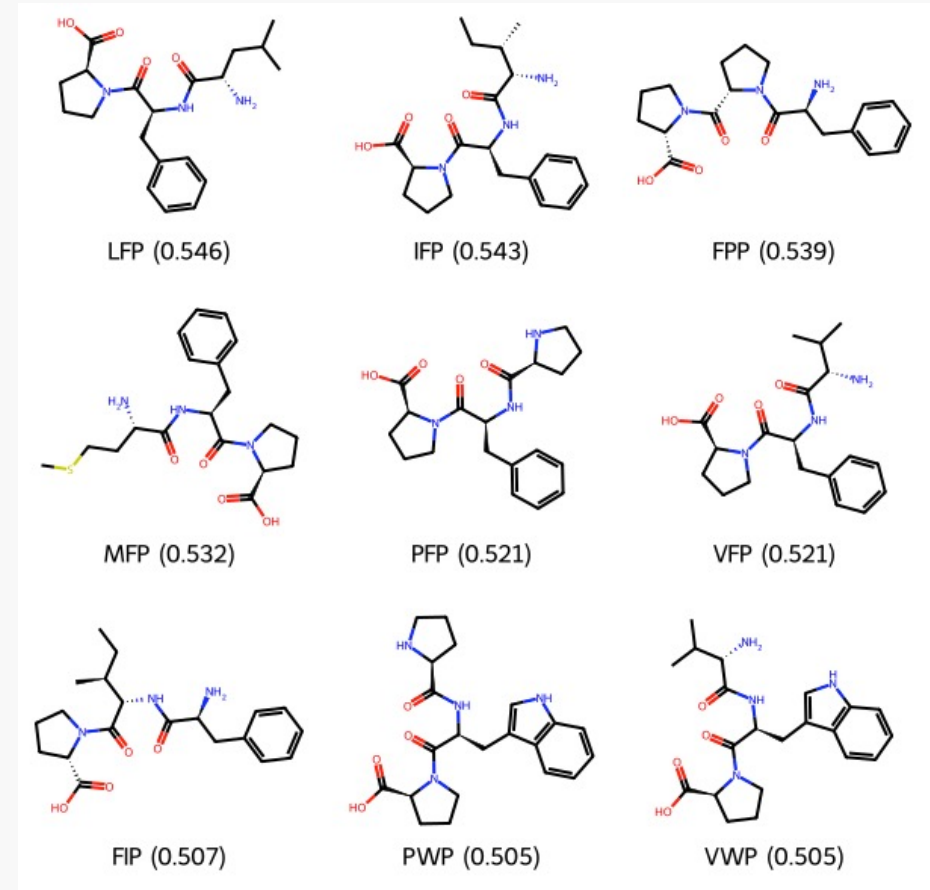
各フィンガープリント手法で類似度の高かった上位 9 配列

KCF-S






hTGR5 pEC50 = 5.3

ドナーアクセプターペア



短期予定

	~7/5	7/8~7/12	7/16~7/19
自動合成した5配列について評価			
トリペプチドの合成			
その他のアゴニストの類似度評価			

長期予定

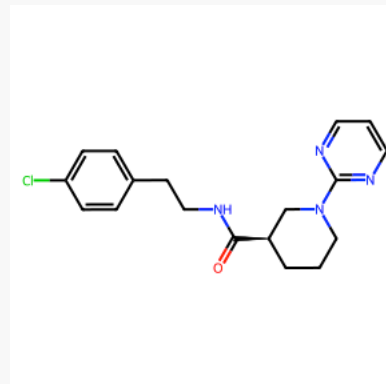
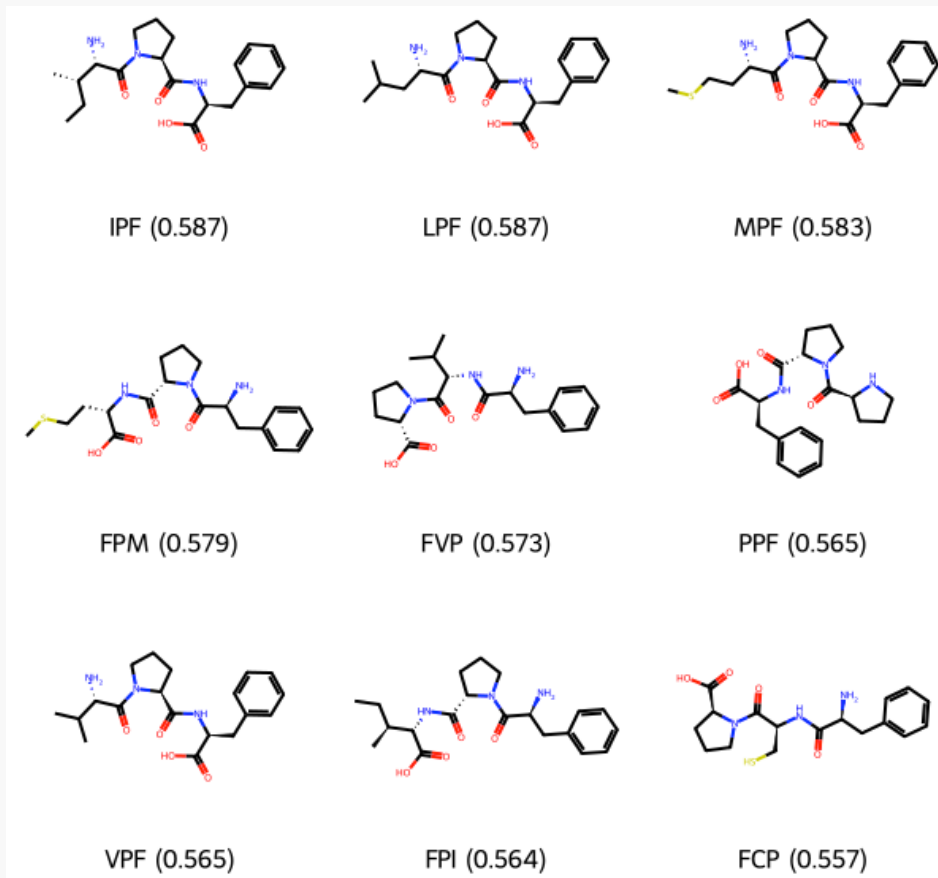
- 合成したトリペプチドのTGR5活性評価

Nipecotamideの構造相関

9/9

各フィンガープリント手法で類似度の高かった上位 9 配列

KCF-S



hTGR5 EC50 = 0.88μM

ドナーアクセプターペア

