

質量分析を利用した human COMT の高次構造解析および 阻害剤シード探索手法の開発

キッセイ薬品工業株式会社 岡崎浩輔 百瀬傳一 草間 寛
横浜市立大学大学院 生体超分子科学専攻 明石知子 西村善文

【目的および概要】

パーキンソン病治療薬開発を目的として、H/D交換—MSによりヒトカテコール—O—メチルトランスフェラーゼ(HCOMT)の高次構造解析を行った。さらに、低分子シードを探索することを目的とし、アフィニティタグを用いたタンパク質固定化レジンを作成した。

【方法と結果】

これまで structure based drug design を行うためにはターゲットタンパク質の X 線または NMR 解析による原子座標の取得が大前提であった。HCOMT はアロステリックリガンドである S-adenosyl-L-methionine(SAM)と catechol 類似化合物の2種類のリガンドが結合する分子量 25kDa のタンパク質であるが、これまで HCOMT の X 線解析は報告されておらず、ラットカテコール—O—メチルトランスフェラーゼ(RCOMT)の X 線座標¹⁾を基に HCOMT の高次構造を類推せざるを得なかった。

そこで、今回、HCOMT に対し、Smith らによって開発された H/D 交換—MS 法²⁾による高次構造解析を行った。その結果、リガンド添加によって D 含有率が低くなるフラグメントが同定でき、さらに、2種類のリガンドの存在／非存在下の H/D 交換速度の挙動を詳細に検討することにより、アロステリックサイトと catechol 類似化合物結合サイトが立体的に近接していること、および SAM と catechol 類似化合物が HCOMT に結合する際の順番を X 線高次構造情報を利用することなく明らかにすることができた。次いで、HCOMT に affinity を有する化合物を高速にスクリーニングするため、Strep tag-HCOMT を発現させ、Strep-Tactin レジン固定化カラムを作成した。このカラムに化合物ライブラリーを流した後、カラムに吸着された低分子を質量分析器により同定し、シード化合物を見出す予定である。

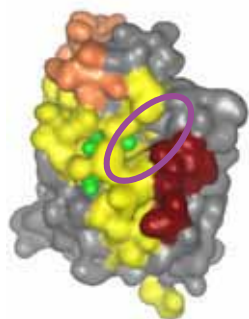


Fig. 1: 低重水素化フラグメントと RCOMT の重ね合わせ図および、予想されるカテコール結合部位

引用文献

- 1) Vidgren J., Svensson L. A., & Liljas A. *Nature* (1994) 368, 354.
- 2) Zhang Z., & Smith DL. *Protein Sci.* (1993) 2, 522.