

提出日：平成 30 年 6 月 20 日

平成 29 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

(2) 研究成果の概要

課題名	カテコール-Oメチル転移酵素活性調節部位の解明		
研究代表者	氏名	飯島 洋	
	所属機関名・部局名	日本大学・薬学部	
	職名	教授	
事業名 (該当の事業名の右欄に○)	<input type="radio"/>	共同研究員	
	<input type="radio"/>	超高磁場NMR 共同利用研究課題	
	<input type="radio"/>	クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題	
	<input type="radio"/>	客員フェロー	
蛋白研受入担当教員名	鈴木 守		
<p>カテコール-Oメチル転移酵素 (COMT) の生体内における機能低下は、腎機能低下、血管障害、高血圧などに深く関与している。我々は、賦活化物質を探索し、複数の異なる基本骨格をもつ化合物群を見出していた。賦活化物質に関する構造活性相関並びに賦活化メカニズムの解明は COMT が関与するといわれている様々な病態の研究ひいては治療薬の開発に役立つと期待される。本研究は賦活化物質結合部位の存在と性格を明らかにすること、及び、賦活化物質の構造的な基礎知見の集積を目的とした。</p> <p>ラットならびヒトの COMT の発現大腸菌を 20L スケールで数回ずつの培養を実施し、十分量の菌体を取得した。所属機関には大規模での菌体の培養、遠心処理を行うことが困難であり、鈴木准教授のもとで集中的に菌体を調製した。年度途中（2018 年 1 月以降）日本大学でも培養が可能になった。本年度は、賦活化物質との共結晶化を試みた。</p> <p>2017 年 5 月：ラット COMT を大腸菌で発現・精製した。化合物は水には溶けづらいので、沈殿剤である PEG3500 に混和し、これに水を加え、50 w/v % PEG3500 とする試みを行った。化合物は 10 mM 程度まで溶けた。このタンパク質溶液と PEG を使用したが、結晶は得られなかった。</p> <p>2017 年 8 月：ヒト COMT を大腸菌で発現・精製した。化合物 (DMSO 溶液) 終濃度 100 μM とし、酵素 (約 0.5 mg/mL) と化合物を混ぜた溶液を濃縮し、これらを結晶化条件探索に供した。結晶化には成功しなかったが手順を確立できた。</p> <p>2018 年 1 月：ヒト COMT を大腸菌で発現・精製した。低濃度の酵素と化合物 (100μM 3% DMSO) を混ぜたのち濃縮する手順で結晶化条件探索キットに供した。この回では COMT と阻害剤 (ニテカポン) の結晶化も試みた。ニテカポンとの複合体と思われる結晶を取得。回析実験はまだである。</p> <p>2018 年 3 月：ヒト COMT を大腸菌で発現・精製した。従来化合物よりも水溶性、活性にも優れた新規賦活化物質が見出されたのでそれを用いて結晶化を実施。現在微結晶が出ており、結晶条件の最適化にさしかかっている。</p>			

※本様式は、“拠点事業成果報告”として、拠点ホームページにて公開させていただく予定です。

※必ず A4 用紙 1 枚におさめて下さい。 ※提出期限：平成 30 年 5 月 18 日 (金) ※提出の際は PDF 変換して下さい。

※提出先：大阪大学蛋白質研究所拠点プロジェクト班 E-mail: tanpakuken-kyoten@office.osaka-u.ac.jp