

(様式 1-1)

提出日：2024 年 4 月 25 日

2023 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

研究成果報告書

(1) 事業名 (下記より該当事業名を選択し、ほかは削除して下さい。)

共同研究員

(2) 研究代表者

氏名：飯島洋

所属機関名・部局名・職名：日本大学薬学部・薬学研究所・上席研究員

(3) 研究課題名 (申請時に記載したものと同一課題名を記入して下さい。)

カテコール-O-メチル転移酵素活性調節部位の解明

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名：鈴木 守

(研究室名：超分子構造解析学研究室)

(5) 研究成果の概要 (公開)

*背景および目的、方法と結果、について、公開して差し支えない範囲で 1 ページ以内で記載。

生体内のノルアドレナリンなどの重要な代謝酵素であるカテコール-O-メチル転移酵素(COMT)の活性は、腎機能障害の進行とともに低下することが知られている。我々は COMT の活性が生成物阻害により調節されていることを見出し、さらにその生成物による阻害を解除する化合物(賦活化物質)を見出すことに成功した。化合物による COMT の賦活化機構を探るため、本酵素を大量に取得、精製し、化合物や生成物との相互作用を蛋白質結晶構造解析により解明することを目的として共同研究を開始した。

2018 年に良好な結晶を得ることに成功した。2019 年度には、PEG400 に化合物を溶解することで複合体形成時の計算上の化合物濃度を上げた結晶化実験により、化合物存在下の結晶化にも成功したが、COMT の構造変化があるにも関わらず、結合状態としての賦活化物質の電子密度は見出せなかった。しかし、Cys33-Cys69 の側鎖間に SS 結合の形成が見られた。この二つの Cys 残基は活性中心において基質の結合に重要な二つの柔軟なループを結びつけている。このことから、賦活化化合物は COMT の反応において生成物複合体 COMT/SAH からの SAH の解離過程遷移状態の活性化エネルギーを下げている可能性を示唆する。賦活化化合物存在下における SAH の結合定数(K_a)には影響を与えないが、反応阻害定数(K_i)に影響を与えていることと矛盾しない結果である。2023 年度は、鈴木准教授のご指導のもと、中間体 SS 構造の発生の可能性について検討するため、C33, C69 点変異蛋白質を精製した。2020 年度に 阻害剤 ニテカポンとの複合体構造解析について成果報告したが、2022 年にはオピカンとの複合体構造解析に成功し、2023 年度に論文発表した。2022 年度には、従来の賦活化物質よりも低濃度で効果を発揮する第二世代リード化合物を取得し、これについても、結晶構造解析に成功したが、第一世代化合物の時と同じく、結合状態としての賦活化物質の電子密度は見出せなかった。このことは賦活化機構の妥当性を背理的に支持するものと考えている。