

(様式 1-2)

提出日：2020 年 5 月 15 日

2019 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- <i>O</i> -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○)	○	共同研究員
		超高磁場NMR 共同利用研究課題
		クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題
		客員フェロー
蛋白研受入担当教員名	鈴木守	
<p>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-<i>O</i>-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。透析患者において、透析導入時の血中ノルアドレナリンの濃度はその後の死亡率と強い相関があり、ノルアドレナリン代謝能力は腎機能障害と深い関係がある。生体において末梢循環のノルアドレナリン濃度は COMT が調節している。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だし、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。</p> <p>組換え COMT については、従来はヒトの酵素で結晶化を試みてきたが、2016 年度に rat COMT も検討に加えるようになり、2018 年に良好な結晶を得ることに成功した。</p> <p>2019 年度も継続して、結晶化実験、回析実験を実施した。</p> <p>解析可能な回析像を与えた結晶は得られたが、化合物の電子密度が観察できたものは一つもなかった。しかし、賦活化化合物と阻害性生成物である SAH を共存させた結晶化条件下に得られた構造には、SAH の結合が観察されなかった。また、基質や低分子性阻害剤の結合に関与するだけでなく触媒作用にも重要な役割を果たすところの$\alpha 2\alpha 3$-loop の部分は disorder し、$\alpha 2\alpha 3$-loop とともに COMT の立体構造において多様な conformation をとる$\beta 6\beta 7$-loop の構造も変化していた。この結晶においても賦活化化合物の明確な電子密度は検出できなかった。</p> <p>賦活化化合物の存在下で得た別の結晶では、$\alpha 2$-helix ($\alpha 2\alpha 3$-loop の直前) の Cys33 と$\alpha 4$-helix ($\alpha 3$の隣) の Cys69 とジスルフィド結合を形成していた。</p> <p>これらの観察からは、賦活化物質は COMT とは安定な複合体は形成しないが、結晶成長を既知の構造と異なる状態を経由してもたらず可能性を示唆すると解釈している。</p>		