

セリン代謝酵素と胆汁酸抱合体の分子認識に関する研究

2024/06/07

白川真純^{1*}、妹尾暁暢¹

¹ 東京大学大学院工学系研究科化学生命工学専攻

*E-mail: masumi-s0801@g.ecc.u-tokyo.ac.jp

1. Author contributions

白川真純: 山東研究室に所属。本研究における胆汁酸抱合体の有機合成と阻害活性の評価、X線結晶構造解析を担当。

妹尾暁暢: 津本研究室に所属。本研究におけるリガンドとの共結晶構造の取得とX線結晶構造解析を担当。

2. Introduction

セリン代謝酵素(SHMT)は葉酸補因子によって媒介される一炭素代謝系の上流に位置しており、セリン-グリシンの可逆的な変換を担う。¹⁾この酵素によって産生された一炭素単位は種々の生命現象に関与しており、アミノ酸の恒常性の維持や生体内核酸合成に深く関与している。従って、SHMTは細胞の生存に必須な酵素である。特にエネルギー消費が多いとされるがん細胞においてSHMTが過剰発現していることから、SHMTは新規創薬標的として注目されてきた。²⁾

ヒトに着目すると、SHMTは非常に相同性が高く、かつ類似した構造をもつhSHMT1とhSHMT2として細胞質とミトコンドリアにそれぞれ局在している。これらアイソザイムは一炭素単位の恒常性維持だけでなく、それぞれが異なる機能を発揮する、ムーンライトタンパク質としての一面も持ち、近年では新たな生命現象の解明の標的としても着目されている。^{3), 4)}しかし、SHMTに関する研究ではこれらアイソザイムの高い相同性が故に、

hSHMT1とhSHMT2を識別することが極めて困難であり、創薬並びに分子プローブ開発研究における大きな壁となっていた。

本研究では弊研究室で開発した、SHMTの活性を検出する蛍光分子プローブを用いたハイスループットスクリーニングから得られた化合物であるGly-DCAがhSHMT1よりもhSHMT2に対して強い阻害活性を示すことに着目した。⁵⁾この結果について、弊研究室の卒業生と妹尾らによって取得された共結晶構造からhSHMT1とhSHMT2のGly-DCAに対する分子認識の差異を推定した。また、先のスクリーニングから得られたGly-DCAが天然に存在する胆汁酸抱合体であることを踏まえて、その他胆汁酸抱合体を用いた構造活性相関研究を実施することで、胆汁酸抱合体のhSHMT2に対する分子認識への知見を深めた。⁶⁾本研究の成果はhSHMT1とhSHMT2のそれぞれに対する選択的なケミカルプローブの開発や創薬研究への一助となることが期待される。

3. Result and Discussion

hSHMT1並びにhSHMT2とGly-DCAとの共結晶構造をFigure 1aに示した。各酵素とリガンドとの非共有結合を赤、または黒の点線で示している。この結果からGly-DCAはhSHMT1並びにhSHMT2の活性部位において相互作用していることがわかる。特にGly-DCAのコレステロール骨格が各酵素の疎水性アミノ酸残基と親和性があるように見られ、

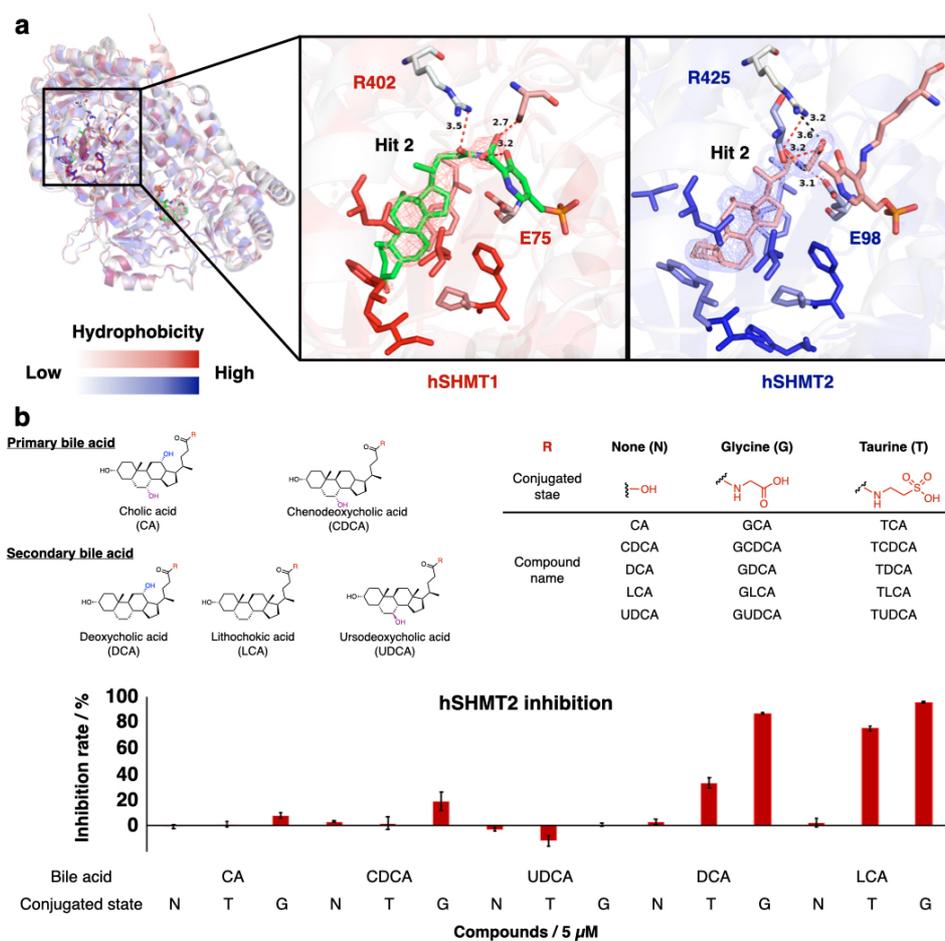


Figure 1. a. Crystal structures of hSHMT1-Gly-DCA complex and hSHMT2-Gly-DCA complex. b. Structure-activity relationship analysis of bile acid conjugates.

グリシン部位が各酵素との静電的相互作用をすることが類推される。加えて、hSHMT2の場合においてのみアルギニン残基(R425)とGly-DCAが塩橋を組むことでより強く相互作用することが示唆された。

次にGly-DCAを含む15種類の胆汁酸抱合体を用いたhSHMT2に対する構造活性相関研究を行った(Figure 1b)。結果として一次胆汁酸よりも二次胆汁酸においてより強い阻害活性を示した。加えてタウリン抱合体よりもグリシン抱合体がより強い阻害活性を示した。この結果は先の共結晶構造解析の結果に見られるように、グリシン部位が標的酵素と有意に静電的相互作用をしていることを支持する。

以上より、hSHMT1とhSHMT2のGly-DCAに対する分子認識を構造解析並びに酵素反応化学的視点から解析を行なった。胆汁酸抱合体は内在性の化合物であることから、今後はin celluloやin vivoレベルでの解析を行うことで生理学的環境下における胆汁酸抱合体とSHMTとの関係性の解明や、胆汁酸抱合体を模した分子プローブや阻害剤の開発が期待される。

4. Acknowledgements

本研究の実施にあたり、山東信介先生、津本浩平先生、長門石先生、Spring-8の先生方に多大なご支援、ご協力をいただきましたことを深く感謝申し上げます。

5. References

- 1) Jain, M. *et al. Science*, **2012**, *336*, 1040–1044.
- 2) Ducker, G. S. and Rabinowitz, J. D. *Cell Metab.*, 2017, *25*, 27–42.
- 3) Guiducci, G. *et al. Nucleic Acid Res.*, **2019**, *47*, 4240–4254.
- 4) Walden, M *et al.*, *Nature*, **2019**, *570*, 194–199.
- 5) Nonaka, H. *et al, Nat. Commun.*, **2019**, *10*, 876.
- 6) Tomoki Ota, Akinobu Senoo, Masumi Shirakawa *et al.*, *iScience*, **2021**, *24*, 102036.