

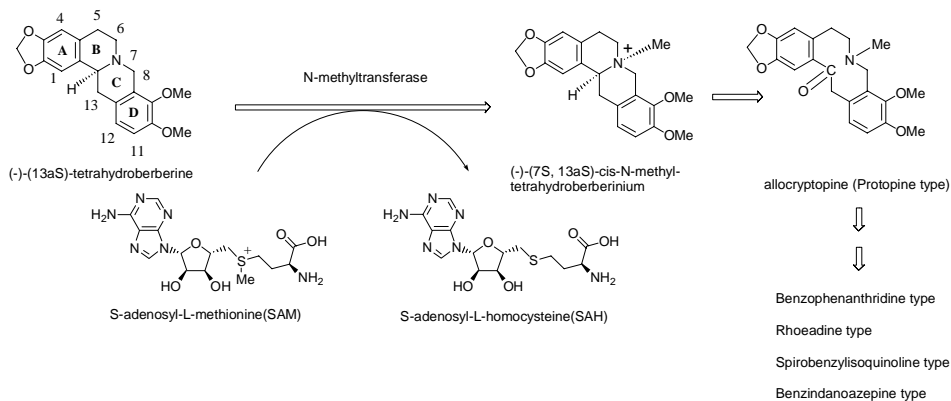
10-03

N-methyltransferase のベルベリン N-methylation に関する X-線結晶構造、分子力学、 分子動力的研究

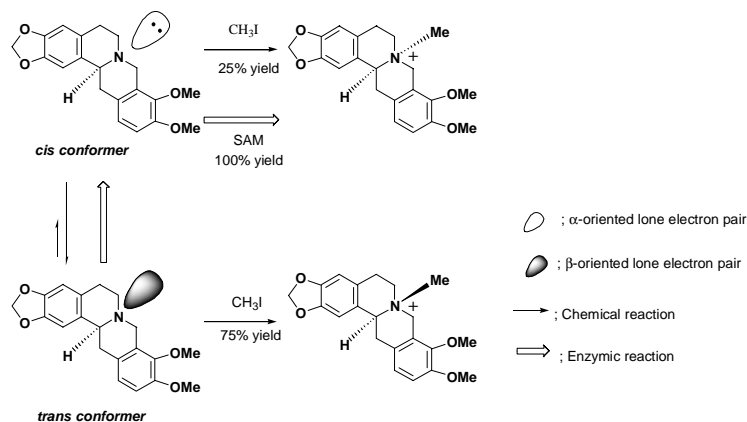
大石宏文、上垣内みよ子* (大阪薬大、神戸薬大*)

[目的]

N-Methyltransferase は動物及び植物中に存在し、タンパク質、核酸等の代謝に重要な役割を有する転移酵素である。本酵素はパーキンソン病の病因であるパーキンソンリンパ球の増殖促進、また癌の病因となる DNA の転写促進作用を有する spermine 等のポリアミン類の合成に関与している。本研究の目的は N-methyltransferase の活性部位におけるメチル化の機構を構造化学的に調べることにある。即ち、本酵素は S-Adenosylmethionine(SAM) と複合体を形成して SAM のメチル基を基質の窒素原子に転移触媒させる機能を有し、由来種間で相同性が高いことが明らかになっている。植物のアミノ酸代謝であるアルカロイド生合成にも本酵素が関与しており、この酵素は生合成基質に種々の立体特異性を示すことを我々は見出した。これら基質化合物及びその酵素複合体について X-線構造解析やコンピュータ解析から活性部位の立体構造化学的な特徴を明らかにし、作用機序を解明する目的で研究を行っている。



4H-berberine の N-methyl 体を経由するアルカロイド生合成経路



4H-berberine の N-methyl 化における立体特異性

[実験]

1) Docking 法

分子力場 MMFF94

Docking Box Size 50x50x50 Å

Grid Size 1.0 Å

2) 分子軌道法

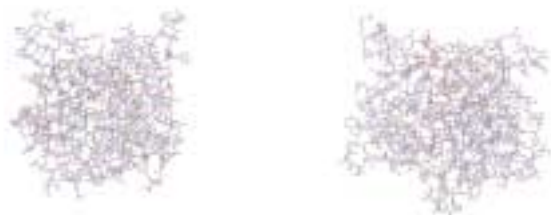
PM3 法

3) MD 法

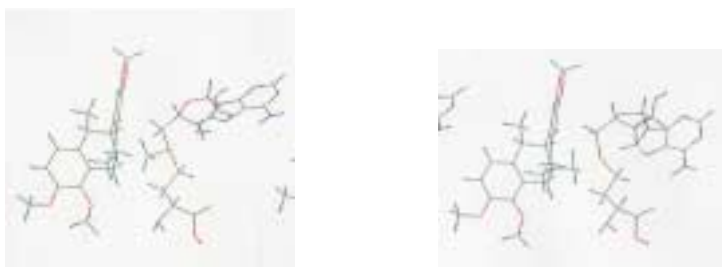
Charmm

[結果と結論]

4H-berberine の N-methyltransferase と S-adenosyl-L-methionine (SAM) による N-methyl 化においては、基質分子の立体的要因、窒素のローンペアーの方向および反応性の高さが反応の進行に関与している事が明らかになった。B/C 環結合が cis の (7S, 13aS)-4H-berberine が基質として相応しい立体構造であることが明らかになった。4H-berberine の D 環上に存在する 2 個の Methoxyl 基が N-methyltransferase の Trp30 と Ala13 にそれぞれ水素結合により固定されていることが明らかになった。



N-methyltransferase-SAM-cis-berberin 複合体の初期構造と 988ps MD 後の安定構造



SAM と cis-berberin の初期状態と 988ps MD 後の状態

[References]

- 1) Eriksson, M.A.L et.al, *J. Med. Chem.* **42**, 868-881 (1999)
- 2) Ding, J., et.al. *Nature. Struct. Biol.* **2**, 407, (1995)
- 3) Potter, M.J. et al. *J. Comput. Chem.* **20**, 956-970 (1999)
- 4) Kamiguchi, M. et al. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **76**, 587-593 (2003)

