



結晶構造解析によるプロスタグランジンD₂合成酵素 阻害剤のスクリーニング

2021年度あいちシンクロトロン光センター成果公開無償利用事業
実験番号:2021P0108

株式会社 丸和栄養食品
代表取締役 伊中浩治

第10回あいちシンクロトロン光センター事業成果発表会
R04. 4. 26.



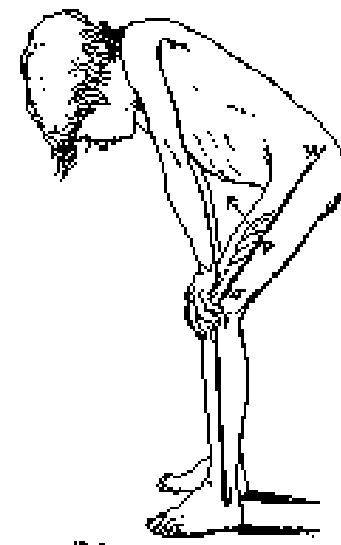
デュシャンヌ型筋ジストロフィー

進行性筋ジストロフィーの大部分を占め重症な型

10歳前後で車椅子生活となる人が多い。

20歳前後で心不全・呼吸不全のため死亡するケースが多い。

伴性劣性遺伝(X染色体短腕のジストロフィン遺伝子欠損)で基本的に男性のみに発病する。



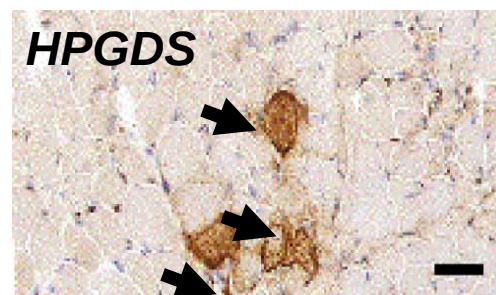
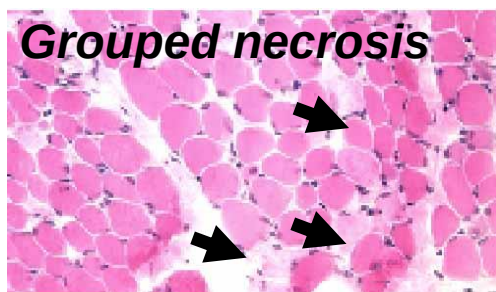
未だ根本的な治療法が確立していない難病。



HPGDSとデュシャンヌ型筋ジストロフィーとの関係

- プロスタグランジン合成酵素(HPGDS)の異常発現が筋繊維の壊死の原因であることが明らかになる

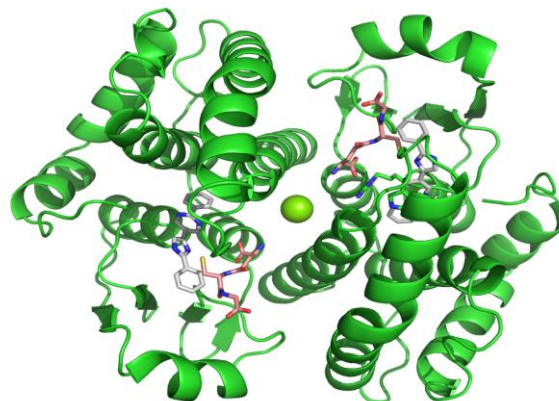
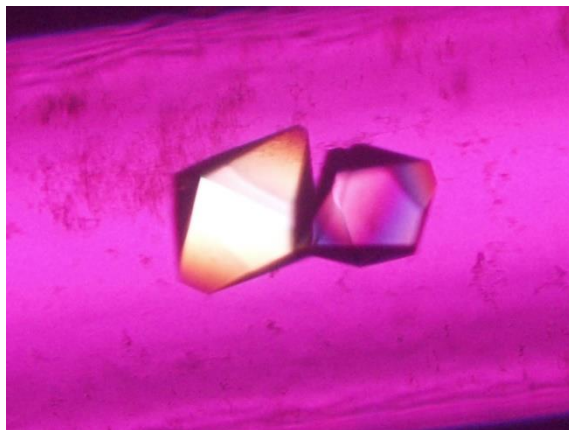
Okinaga et al., *Acta Neuropathol*, 104:377 (2002)



- プロスタグランジン合成酵素(蛋白質)の働きを止める化合物があれば病気の進行を阻害できる！！



Human HPGDS立体構造をベースにした薬剤設計



Human hematopoietic type Prostaglandin D₂ Synthase (PDB_ID:1IYH)

Inoue, T., *et.al.* Nat. Struct. Biol. (2003) 10: 291–296

Reservoir Solution

30%(w/v) PEG6000, 10mM GSH, 10mM DTT,
2mM MgCl₂, 100mM Tris-HCl pH8.5

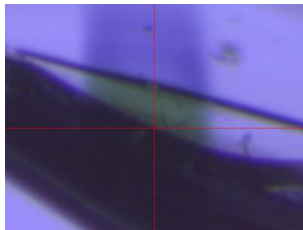
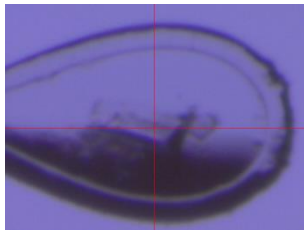
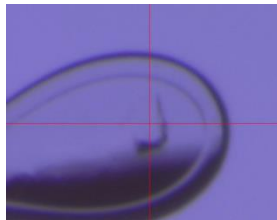
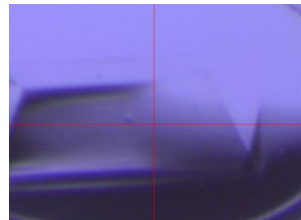
Space group: *P2*₁, *P1*

Maximum resolution: 1.8 Å - 1.4 Å



新規化合物との複合体構造解析による分子結合 有効性のスクリーニング 実験番号:2021P0108



化合物名	Jun.16,2021	Aug.26,2021	Dec.09,2021	Jan.27,2022
P00		P00:1.6A		
P01				
P02				
P03				
P04				
P05	P05:1.6A	P05:1.5A		
C01	C01:1.6A			
N01				N01:2.6A
N02				N02:2.2A
N03				N03:2.4A



HPGDS/化合物複合体結晶回折データの取得



ビームライン: あいちSR BL2S1

カメラシステム: ADSC Quantum 270

波長: 1.12Å

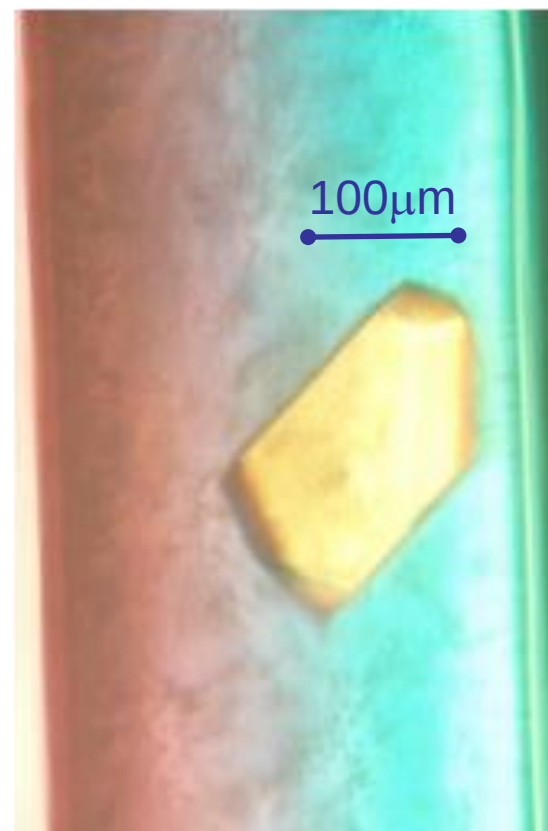
コリメータサイズ: 100μm

露光時間: 10 sec./frame

一枚当たりの回転角: 0.5度

結晶の総回転角: 180度

データセット当たり約60min.





HPGDS複合体結晶回折データの統計値 一部抜粋



RESOLUTION	NUMBER OF REFLECTIONS		COMPLETENESS	R-FACTOR	I/SIGMA	R-meas	CC(1/2)
4.49	18407	4848	99.5%	4.2%	26.77	4.9%	99.7*
3.18	33205	8824	99.3%	5.0%	24.23	5.8%	99.6*
2.59	42932	11331	98.8%	6.7%	17.83	7.8%	99.4*
2.25	50760	13321	98.0%	9.0%	13.71	10.5%	99.2*
2.01	57840	15055	97.5%	13.2%	9.98	15.3%	98.3*
1.84	63737	16480	96.8%	21.9%	5.77	25.4%	96.0*
1.70	69003	17804	96.1%	37.9%	3.36	43.9%	87.2*
1.59	69650	18407	92.4%	58.1%	2.20	67.6%	70.5*
total	447215	118714	96.7%	8.6%	9.20	10.5%	99.7*

NUMBER OF ACCEPTED OBSERVATIONS : 447,215

NUMBER OF UNIQUE ACCEPTED REFLECTIONS: 118,714



HPGDS構造解析結果 一部抜粋



Space Group	$P2_12_12_1$
Cell constants (Å)	$a = 54.8, b = 81.4, c = 97.2$ $\alpha = 90.0, \beta = 90.0, \gamma = 90.0$
Resolution Range (Å)	47.7 - 1.65
Rmerge (%)	0.086
Completeness (%)	100
Average mosaicity (deg.)	0.17
No. of refined atoms	3,847
No. of assigned water molecules	491
Assigned other molecules	GSH: 2 Mg^{2+} : 1 GOL: 2
Rwork value, Rfree value	0.239, 0.277
RMSD bond length (Å)	0.007
RMSD bond angles (deg.)	1.492
Chiral center	0.116
Planar groups	0.008
VDW repulsions	0.230



- HPGDSと薬剤候補化合物6種類との複合体結晶を作成
- 6種複合体結晶の回折データ16個の回折データを収集
- 6種複合体データをもとに構造解析を実施
- 現在構造精密化と化合物改良を実施中