

生物物理学的特性評価サービス

水素-重水素交換質量分析 HDX-MS



水素-重水素交換質量分析 (hydrogen-deuterium exchange mass spectrometry: HDX-MS) は、タンパク質の相互作用や構造同等性評価など、タンパク質高次構造解析に非常に有用な解析手法です。

構造比較

アミノ酸変異やストレスに伴う**構造・ダイナミクス変化部位**を明らかにします。また、融合タンパク質のドメイン内での変化を見ることも可能です。

同等性比較

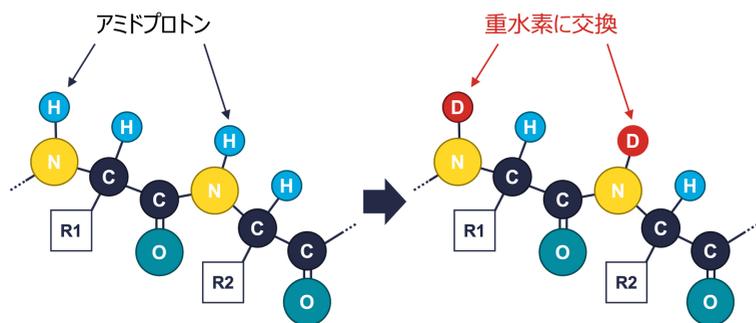
先発品と後発品、あるいは生産ロット間など、**高次構造レベルでの同等性評価**が可能です。

相互作用解析

エピトープなどの相互作用部位や、相互作用に伴って構造やダイナミクスが変化する部位を同定できます。共有結合性の相互作用も解析可能です。タンパク質-タンパク質複合体の他、タンパク質-ペプチド/核酸複合体、タンパク質-低分子複合体など、幅広く対応しています。

HDX-MSは、重水中のタンパク質について、アミドプロトンの水素から重水素への交換反応を経時的にモニタリングすることで、タンパク質の構造変化やタンパク質間の相互作用部位を明らかにする手法です。ターゲットタンパク質の分子量に制限はなく、またラベリング等の作業工程を必要としません。さらに、X線構造解析よりも迅速に、かつNMRよりも大きなタンパク質についても、高次構造情報を取得することができます。

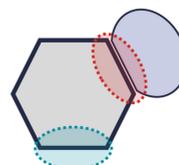
ユー・メディコは、2008年よりHDX-MS受託サービス導入に向けた研究を開始し、Watersの初期HDX-MSシステムの開発にも参画いたしました。これまでに**30件以上の受託実績**があり、通常は90%以上、分析が困難と言われる**膜タンパク質でも約80%という非常に高いsequence coverage**を誇っています。国内随一の**HDX-MS受託サービスプロバイダー**として、独自のノウハウを基に高品質な分析結果をご提供いたします。



重水中のアミドプロトンの交換反応

状態A (タンパク質単体)

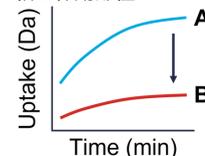
断片化して、状態Aと状態Bで重水素交換度を比較する。



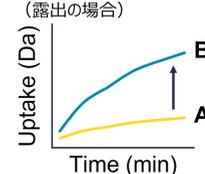
状態B (複合体)

HDX-MSで観測される重水素交換度 (質量変化) の解釈

相互作用部位



構造変化部位 (露出の場合)



裏面の分析例もご参照ください。▶

CONTACT US :

☎ 06-6155-7835

✉ info@u-medico.co.jp

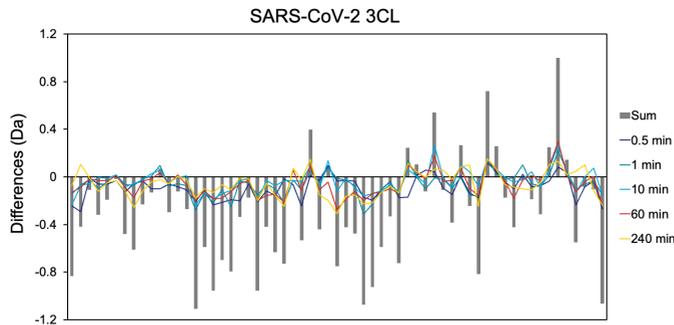
〒565-0871 大阪府吹田市山田丘2-1
大阪大学フォトリクスセンター502



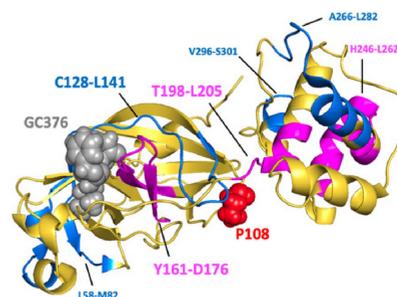
🌐 <https://u-medico.co.jp>

構造比較：SARS-CoV-2 3CL変異体の構造解析

近年、急速な拡大を示しているSARS-CoV-2は、その他のHIVなどのウイルスと同様に、感染細胞での増殖に不可欠な3CLプロテアーゼを有しています。この3CLプロテアーゼ阻害剤は、ウイルス感染症の特効薬となっており、SARS-CoV-2でも治療薬のターゲットとなると期待されています。2020年初夏に流行したSARS-CoV-2の3CLには、Pro108Ser変異が見られ、感染力は強いものの重症化率は低下していました。HDX-MSにより、Pro108Ser変異体の構造を野生型と比較したところ、基質結合部位に構造の緩みが確認されました。この緩みが、酵素活性の低下を招き、重症化率の低下に繋がったと考えられます。この知見はSARS-CoV-2の3CLをターゲットとした治療薬開発の一助になると考えられます。



SARS-CoV-2 3CL Pro108Ser mutant
野生型 (上) とPro108Ser変異体 (下) の重水素交換度の差分解析
横軸はそれぞれのペプチドを、縦軸は重水素交換度の差分を示す。正の値のペプチドは、野生型に比べて溶媒から遮蔽されており、負の値のペプチドは野生型に比べて溶媒に露出している。

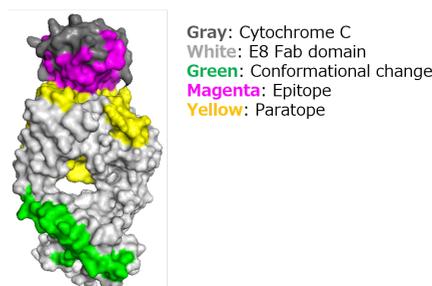
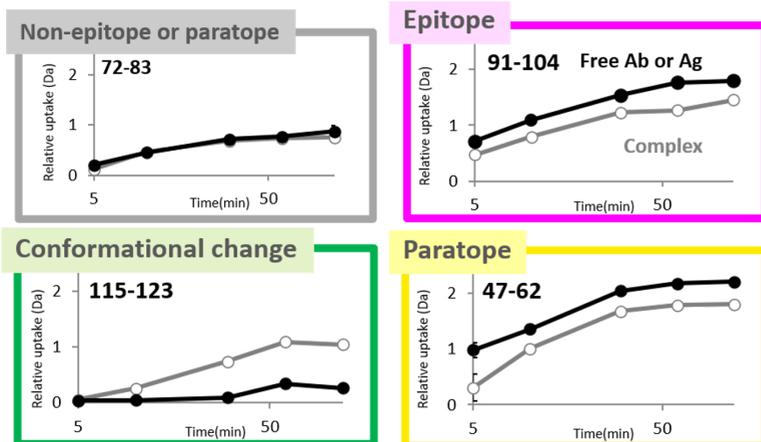


Pro108Ser変異体の立体構造
ピンクで色付けされた領域は、野生型に比べて溶媒に露出していることがHDX-MSより明らかになった。

Abe K. et al., Scientific Reports. (2022)

相互作用解析：抗シトクロームC抗体のエピトープマッピング

シトクロームCを抗原とするE8抗体 (Fab) のエピトープ解析を、HDX-MSにより実施しました。シトクロームCと抗体の相互作用が強いいため、エピトープだけでなくパラトープも同時に解析できました。すでに報告されているX線立体構造解析の結果と一致し、さらにX線立体構造解析では不明だった構造変化部位についても同定することができました。



シトクロームC-E8抗体複合体の立体構造

重水中での経時的質量変化
各ペプチド断片について、シトクロームC-E8抗体複合体 (グレー) とそれぞれの単体 (黒) で、重水中での質量変化を比較したもの。色分けは上の立体構造上のプロットに対応する。

その他の分析例

ストレスを与えた抗体の構造変化解析

Noda M, Ishii K, Yamauchi M, Oyama H, Tadokoro T, Maenaka K, Torisu T, Uchiyama S. Identification of IgG1 Aggregation Initiation Region by Hydrogen Deuterium Mass Spectrometry. J Pharm Sci. 2019 Jul;108(7):2323-2333.

抗体とFcγRIIIaの相互作用解析

Yamaguchi Y, Wakaizumi N, Irisa M, Maruno T, Shimada M, Shintani K, Nishiumi H, Yogo R, Yanaka S, Higo D, Torisu T, Kato K, Uchiyama S. The Fab portion of immunoglobulin G has sites in the CL domain that interact with Fc gamma receptor IIIa. MAbs. 2022 Jan-Dec;14(1):2038531.

タンパク質とssDNAの相互作用解析

Uchiyama S, Kawahara K, Hosokawa Y, Fukakusa S, Oki H, Nakamura S, Kojima Y, Noda M, Takino R, Miyahara Y, Maruno T, Kobayashi Y, Ohkubo T, Fukui K. Structural Basis for Dimer Formation of Human Condensin Structural Maintenance of Chromosome Proteins and Its Implications for Single-stranded DNA Recognition. J Biol Chem. 2015 Dec 4;290(49):29461-29477.

タンパク質と低分子の相互作用解析

Kabe Y, Koike I, Yamamoto T, Hirai M, Kanai A, Furuhashi R, Tsugawa H, Harada E, Sugase K, Hanadate K, Yoshikawa N, Hayashi H, Noda M, Uchiyama S, Yamazaki H, Tanaka H, Kobayashi T, Handa H, Suematsu M. Glycyrrhizin Derivatives Suppress Cancer Chemoresistance by Inhibiting Progesterone Receptor Membrane Component 1. Cancers (Basel). 2021 Jun 29;13(13):3265.

ご希望に応じたテーラーメイドな分析をご提案いたします。
お気軽にご相談ください。

☎ 06-6155-7835

✉ info@u-medico.co.jp

〒565-0871 大阪府吹田市山田丘2-1
大阪大学フォトリクスセンター502



🌐 <https://u-medico.co.jp>