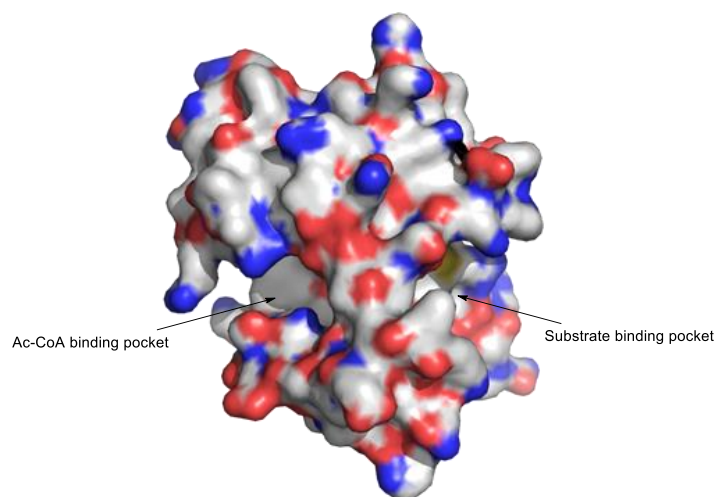
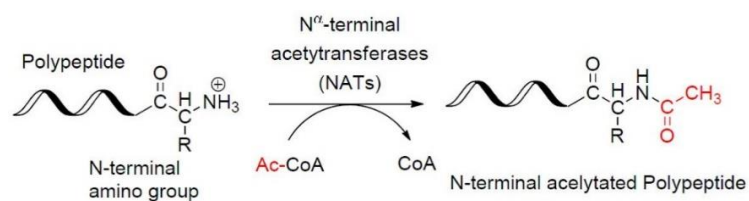


通过 DNA 编码化合物库筛选发现新颖高活性 NAA50 抑制剂

(与美国辉瑞合作项目，细节请参考 [ACS Med. Chem. Lett. 2020, 11, 1175-1184](https://doi.org/10.1021/acsmedchemlett.2c00184))

NAA50 蛋白与功能

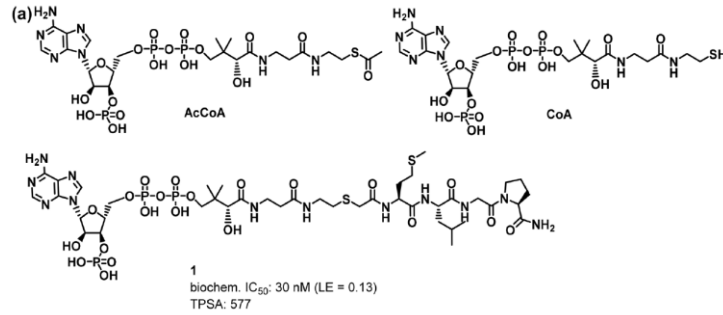
蛋白质的 N 末端乙酰化可以影响其是否进入细胞核，也可以作为降解信号来控制蛋白质的细胞稳定性。N α -末端乙酰转移酶 (NAA50) 是 N α -末端乙酰转移酶 NAT 蛋白家族的成员。它与 NAA10 和 NAA15 共存于 NatE 复合物中，并负责复合物的酶功能。NAA50 也被发现是正常姐妹染色单体凝聚和染色体凝聚所必需的。因此，NAA50 酶抑制剂可能在肿瘤适应症中有治疗应用。酶催化和蛋白质结构如下所示。



已知 NAA50 异质结和 DNA 编码化合物库筛选目标

化合物 1 是通过研究 NAA50 的生化机制设计的，它是 AcCoA 因子、一个蛋白的四肽底物 (MLGP) 的复合物。尽管化合物 1 是一种有效的 NAA50 抑制剂，但由于其分子量大 (配体效率 (LE) = 0.13)，该分子不是特别有效。此外，其高分子量 (MW=1223) 和高极性 (tPSA=577 和 cLogP=-4.1) 可能阻止细胞膜的易渗透性，因此仅能作为一种好的外工具化合物使用。

DNA 编码化合物库筛选是为了获得活性更高、选择性更好的 NAA50 抑制剂，并且具有更好的理化性质 (降低分子量、tPSA，增加 logD)。



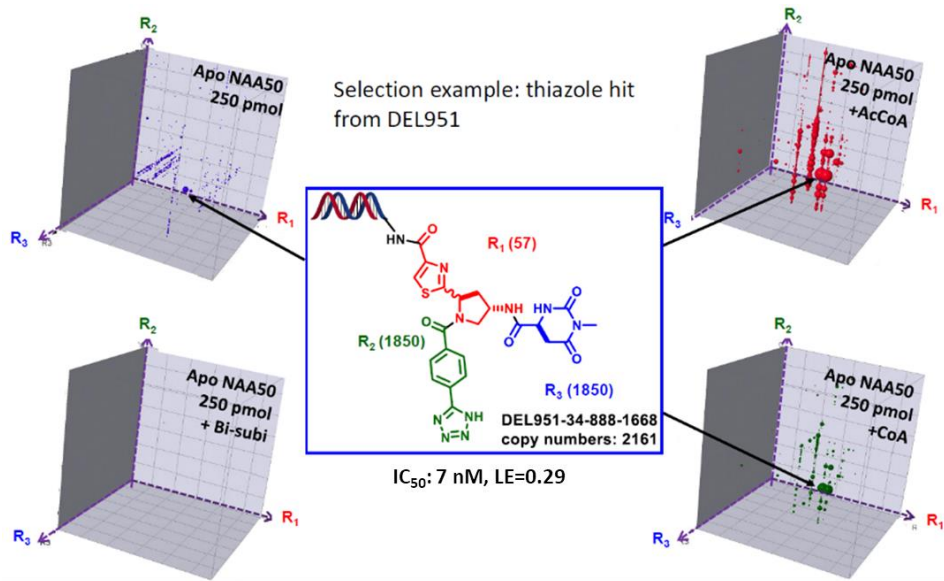
DNA 编码化合物库筛选实验设计

在典型的 DEL 选择方案中，我们设置了 3 个样本（靶标本身，本案例为 His 标签的 NAA50 蛋白；His 标签的 NAA50 蛋白加上饱和浓度下的抑制剂化合物 1；空白对照）。然而，在 NAA50 的研究中，我们发现 NAA50 蛋白在催化过程中涉及构象的变化。通过上述样品 1 和样品 2 的选择结果比较，我们不能有效地识别抑制剂。因此，我们通过添加 AcCoA 和 CoA 来加入另外两个样品，寻找与过渡态结合的化合物。最后的筛选实验设计如下。

编号	靶标	化合物库	添加的试剂	样本说明
1	His-NAA50 (250 pmol)	HitGen DEL	-	识别所有结合的化合物
2	His-NAA50 (250 pmol)	HitGen DEL	AcCoA	识别所有在 AcCoA 存在情况下结合的化合物
3	His-NAA50 (250 pmol)	HitGen DEL	CoA	识别所有在 CoA 存在情况下结合的化合物
4	His-NAA50 (250 pmol)	HitGen DEL	化合物 1	结合样本 1/2/3 共同确定 NAA50 抑制剂
5	No Protein	HitGen DEL	-	识别所有与 Beads 结合的化合物，进行扣减

代表性的筛选结果

DNA 编码化合物库筛选的结果通常以 3 维形式展示，其中每个轴表示相应的反应砌块，气泡大小表示每个化合物的 DNA 序列的数量。如果化合物与蛋白质有更多的结合（高亲和力或慢解离速率），序列数量将呈现为更大的气泡。从前四个样品（空白样品 5 最为扣减样本，未显示）可以看出，Apo-NAA50、Apo-NAA50+AcCoA、Apo-NAA50+CoA 和 Apo-NAA50+化合物 1（也称为 Bi-subi）的富集模式不同，证明 NAA50 在催化过程中有构象变化。选择与所有蛋白质阶段结合并与化合物 1 竞争的化合物显然将产生 NAA50 抑制剂。在本案例中，其中一个选定的化合物结构如下图所示（DNA 编码化合物库中为外消旋体混合物）。所选化合物 DEL951-34-888-1668 进行了重合成与验证。



化合物验证与化合物-蛋白共晶

我们对所选化合物 DEL951-34-888-1668 的两个异构体进行合成 (4a 和 4b), 并在 CoA 和 AcCoA 存在下进行了 SPR 亲和力测定和生化分析。手性异构体 4a 被发现是一种非常有效的抑制剂, 具有更低的分子量、配体效率 (LE) 和 tPSA。辉瑞对该化合物进行蛋白-化合物共结晶, 下图为化合物 4a 和 NAA50 的共晶结构 (pdb 代码: 6WFN)。

