



多剤耐性菌が産生する 抗菌薬不活化酵素群の構造解析

和知野 純一

名古屋大学大学院医学系研究科分子病原細菌学

1. 背景と研究目的

Extended-spectrum β -lactamase (ESBL)産生菌は、人、家畜、食肉、伴侶動物など、様々な source から分離されており、その拡散が著しく懸念されている薬剤耐性菌の1つである。また、ESBL 産生菌は、広域セファロスポリンに耐性を示すため、治療上問題になることも多い。近年、この ESBL 産生菌による問題を克服するために、ESBL の阻害剤開発が精力的に行われている。本研究では、既知阻害剤と ESBL の結合様式を3次元レベルで調べるために、阻害剤(OP0595)と ESBL (TLA-3) 複合体構造の詳細をあきらかにした。

2. 実験内容

Native-TLA-3 の結晶を作製し、その結晶を OP0595 が溶解したリザーバー溶液 (OP0595 10 mg/mL, 0.1 M sodium citrate, 2.4–3.0 M ammonium sulfate)に 24 時間浸潤した。作製した共結晶を BL2S1 ビームラインに持ち込み、回折測定を行った。Native TLA-3 の立体構造をモデルとし初期位相を決定、さらに、精密化およびモデル構築を行った。

3. 結果および考察

最終的に、2.0Å分解能で OP0595 分解物-TLA3 複合体の構造を取得することができた。精密化後の R 値は 16.1%となった。結晶学的統計値を表 1 に示す。また、OP0595 分解物の結合像を図 1 に示す。OP0595 の C7-N6 間の結合は切断され (図 2)、OP0595 分解物が Ser70 を介して共有結合している様子が観察された。その他、いくつかの水素結合が予測され、特に OP0595 構造中のスルホン酸周囲には、局所的に静電相互作用も含め結合が多くあるものと考えられた。したがって、TLA-3 の OP0595 認識には、Ser70 を介した共有結合とスルホン酸周囲の結合が重要であるものと考えられた。

表 1. 結晶学的データの統計値

空間群	C_2
格子定数 [Å]	a = 95.2, b = 67.9, c = 45.3
格子定数 [°]	$\alpha = \gamma = 90.0, \beta = 94.6$
波長 [Å]	1.1200
分解能	55.2-2.00 (2.11-2.00)
独立反射数	18894 (2688)
完全性	97.0 (95.6)
R_{merge}	0.074 (0.295)
mean I/σ	20.0 (6.6)
冗長性	7.5 (7.6)

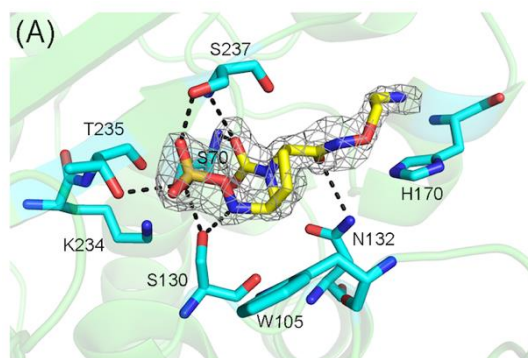


図 1. OP0595 分解物-TLA-3 複合体

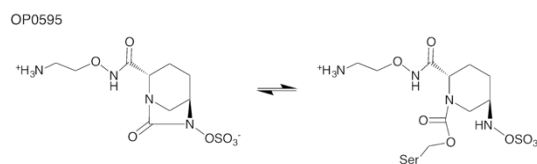


図 2. TLA-3 による OP0595 分解