



メタロβ-ラクタマーゼの非可逆的阻害剤の開発

金地玲生、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・耐性菌制御学講座

1. 背景と研究目的

近年、メタロ-β-ラクタマーゼ（以下 MBL）を産生し、カルバペネム耐性となった腸内細菌科細菌（以下 CRE）の拡散が、医療現場で問題となっている。WHO は 2017 年に「対策の緊急性が高い耐性菌リスト」を公表しており、その中でも、広範囲多剤耐性を示す CRE は有効性が期待できる抗菌薬が極めて限られている為、最も緊急性が高い耐性菌のグループに指定されている（ref.1）。このような状況から、CRE 感染症治療のための新規抗菌薬や MBL 阻害剤の開発が急務となっている。本研究の最終目的は、MBL 酵素群に属する SMB-1 を対象とした不可逆的な結合様式をとる阻害剤の開発である。本実験では、阻害剤の最適化を行う為に、酵素-阻害剤複合体結晶の X 線結晶構造解析を行った。

2. 実験内容

あらかじめ用意しておいた酵素-阻害剤複合体結晶を、あいちシンクロトロン光センターに持ち込み、回折測定を行った。酵素は大腸菌による大量発現後に各種カラムでの精製を行い結晶化させた。阻害物質と酵素 SMB-1 との結合様式を解明する為、DMSO を 20%含有させた条件下での共結晶作製を試み、得られた共結晶の回折測定を行った。最大分解能 2.0 Å以下で、回折像を明瞭に確認できた複合体結晶に関してのみ、270 度分のデータを収集し、後に結晶構造解析を行った。照射時間は 5 秒間とし、1 度毎に回折像データを収集した。

3. 結果および考察

20%DMSO 存在下でも SMB-1 結晶は崩壊せず、最大分解能約 1.4 Å で、明瞭な X 線回折像を確認することができた（Fig. 1）。本実験で収集されたデータをもとに、CCP4 及び COOT を用いて解析を行ったところ、酵素活性部位に結合している阻害剤の電子密度を明瞭に確認することができた。本実験の結果より、溶媒として DMSO を使用できるのであれば、化合物をリガンドとした共結晶構造を解析できる可能性が示された。また、X 線結晶構造解析により、酵素との結合様式が解明できた化合物に関しては、より阻害効果を高める為に、化合物構造の改変を行う予定である。

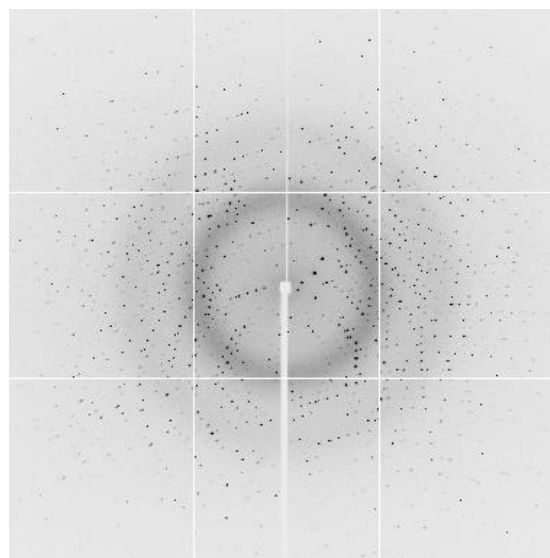


Fig.1 SMB-1 と阻害剤の共結晶回折像

4. 参考文献

1. World Health Organization. "Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics." *Geneva: World Health Organization* (2017)