



メタロβ-ラクタマーゼ TMB-2 の X 線結晶構造解析

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講座

1. 背景と研究目的

Metallo-β-lactamase (以下 MBL)は病原性グラム陰性菌における主要なカルバペネム耐性機構である。カルバペネム系薬は細菌感染症治療の切り札として重用されている抗菌薬であるため、カルバペネム系薬を分解する MBL の存在は臨床上大きな問題となる。MBL はサブクラス B1、B2、B3 に分類され、その中でも特に問題視されているのはサブクラス B1MBL である。本研究では、サブクラス B1MBL の 1 つである TMB-2 の構造を決定した。TMB-2 の構造データは、MBL 阻害剤の開発等に利用が期待される。

2. 実験内容

各種スクリーニング条件下で作製した TMB-2 結晶を BL2S1 ビームラインに持ち込み、回折測定を行った。Native TMB-1 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

異なる 3 つのスクリーニング条件下で出現した結晶について測定を行った。そのうち 1 つの結晶を用い、2.0Å 分解能で TMB-2 の構造を取得することができた。結晶学的統計値を表 1 に示す。現在、精密化およびモデル構築の作業を行っている。TMB-2 と TMB-1 とでは、228 番目のアミノ酸が 1 つ異なる (TMB-2:Pro228, TMB-1:228Ser)。この差異により、基質に対する酵素学的触媒効率が変化すると報告されている¹。本研究で取得した構造データから、その差異を裏付ける根拠が得られることが期待されたが、該当するアミノ酸は可動性ループ上に位置し、明瞭な電子密度を確認することができなかったため、解明には至らなかった。今後、高分解能を供する結晶を作製し、検討を続ける予定である。

表 1. 結晶学的データの統計値

空間群	<i>P2</i>
格子定数 [Å]	a = 67.8, b = 36.1, c = 74.3
格子定数 [°]	α = γ = 90.0, β = 101.3
波長 [Å]	1.1200
分解能	72.9-1.98 (2.09-1.98)
独立反射数	23785 (3325)
完全性	95.9 (93.2)
<i>R</i> _{merge}	0.089 (0.291)
mean I/σ	14.2 (5.7)
冗長性	7.0 (6.9)

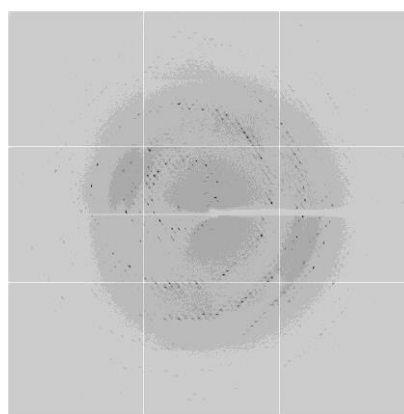


図 1. 取得した回折像

¹ Skagseth *et al.*, Structural insights into TMB-1 and the role of residues 119 and 228 in substrate and inhibitor binding

Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 61(8):e02602-16. 2017.