



抗菌薬耐性関連酵素の 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

キーワード：カルバペネム耐性菌、カルバペネマーゼ、阻害剤

1. 背景と研究目的

カルバペネマーゼ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用いられる抗菌薬であるため、カルバペネム系薬を分解するカルバペネマーゼの存在は臨床上大きな問題となっている。カルバペネム耐性菌は WHO が発表した「新規抗菌薬が緊急に必要な薬剤耐性菌」リスト中、最も緊急性の高いグループに分類されており、それに対する新規抗菌薬の創出が喫緊の課題となっている。

カルバペネム耐性菌の問題を克服する 1 つの方法として、カルバペネマーゼ阻害剤の開発が挙げられる。カルバペネム耐性菌が産生するカルバペネマーゼを低分子化合物により阻害することができれば、主剤となるカルバペネム系薬が分解を逃れることができる。したがって、カルバペネム系薬とカルバペネマーゼ阻害剤との合剤は、カルバペネム耐性菌に対する新たな治療薬となりうると考えられる。

上述のようなカルバペネマーゼ阻害剤の分子設計を行うためには、カルバペネマーゼ自体の構造情報が不可欠である。そこで、本研究では、カルバペネマーゼの 1 つである KPC β -ラクタマーゼの構造情報を取得することを目的とした。

2. 実験内容

KPC β -ラクタマーゼを大腸菌で発現させ、精製を行なった。精製した KPC β -ラクタマーゼと市販キットを用い、結晶化条件のスクリーニングを行なった。結晶が出現した条件をさらに最適化するとともに、結晶化の再現性も検討した。作製した結晶をビームラインに持ち込み、凍結操作を行なった後、回折データ測定を行なった。

3. 結果および考察

複数の結晶について測定を行い、最高で 1.6 Å の回折が得られた (表 1)。分子置換法により初期位相を決定し、現在、モデル構築と精密化の作業を行なっている (図 1)。

表 1. 結晶学的データの統計値

空間群	$P2_1$
格子定数 [Å]	$a = 36.4, b = 71.1, c = 87.6$
格子定数 [°]	$\alpha = \gamma = 90.0, \beta = 95.4$
波長 [Å]	1.1200
分解能	55.1-1.61 (1.70-1.61)
独立反射数	57388 (8241)
完全性	99.6 (98.7)
R_{merge}	0.088 (0.228)
mean I/σ	15.2 (6.9)
冗長性	6.9 (6.6)

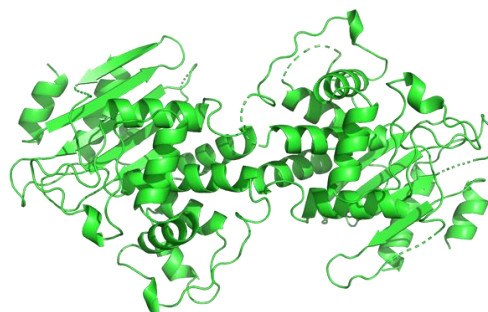


図 1. KPC β -ラクタマーゼの構造