



# 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、メタロ-β-ラクタマーゼ、SFC

## 1. 背景と研究目的

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。私たちの研究室では、カルバペネム耐性菌に対する新たな治療手段を確立することを目的に、カルバペネマーゼ阻害剤の開発を行なっている。カルバペネム系薬とカルバペネマーゼ阻害剤との合剤ができれば、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。

これまでの研究から、2,5-dimethyl-4-sulfamoyl-3-carboxylic acid (以下, SFC) が、カルバペネマーゼの 1 種であるメタロ-β-ラクタマーゼを阻害することがあきらかとなった。そこで本研究では、SFC と VIM-2 メタロ-β-ラクタマーゼとの相互作用を、X 線結晶構造解析によりあきらかにすることを目的とした。

## 2. 実験内容

VIM-2 メタロ-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 VIM-2 メタロ-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。出現した結晶を、SFC を溶解したリザーバー溶液に一定時間浸し、共結晶を作製した。各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 1.5 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後、モデル構築と精密化を行なった。最終モデルを図 1 に示す。SFC に相当する電子密度が確認され、SFC 中の 2 つの官能基（スルファモイル基とカルボキシル基）が VIM-2 メタロ-β-ラクタマーゼの活性中心にある 2 つの亜鉛に配位していることがあきらかとなった。今後、SFC-VIM-2 メタロ-β-ラクタマーゼ複合体の構造情報を利用し、さらに阻害活性の高い SFC 誘導体を作製する予定である。

表 1. 結晶学的データの統計値

|                        |                               |
|------------------------|-------------------------------|
| 空間群                    | C2                            |
| 格子定数 [Å]               | a = 101.5, b = 79.2, c = 67.7 |
| 格子定数 [°]               | α = γ = 90.0, β = 130.1       |
| 波長 [Å]                 | 1.12                          |
| 分解能                    | 55.4-1.49 (1.57-1.49)         |
| 独立反射数                  | 66587 (9647)                  |
| 完全性                    | 99.8 (99.5)                   |
| R <sub>merge</sub> (%) | 7.9 (31.9)                    |
| mean I/σ               | 15.3 (5.2)                    |
| 冗長性                    | 7.1 (6.9)                     |

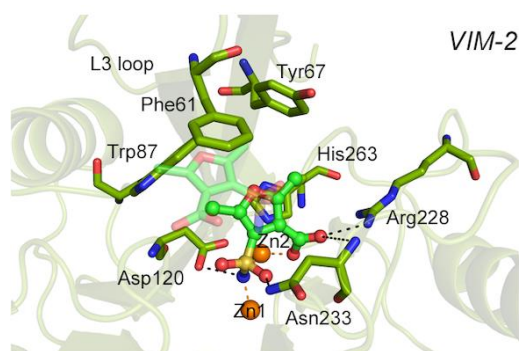


図 1. SFC-VIM-2 相互作用

## 4. 参考文献 Wachino et al., mBio. 2020. 11(2):e03144-19.