



# 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：コリスチン耐性菌、MCR-1、阻害剤

## 1. 背景と研究目的

コリスチンは 1950 年代に発見された古い抗菌薬であるが、副作用の頻度が高いため、その発見から長らくヒトへの使用は控えられてきた。しかし近年、細菌の薬剤耐性化が著しい背景から、コリスチンは難治性多剤耐性菌感染症治療における切り札として、ヒトへの投与が再承認された。

一方、畜水産領域において、コリスチンは飼料添加物として広く使用されており、耐性菌の出現が懸念されていた。2015 年、中国で MCR-1 と名付けられたコリスチン耐性因子が発見され、プラスミドの媒介により、MCR-1 遺伝子は容易に他の細菌へと伝播してゆくことが明らかとなった。MCR-1 遺伝子はヒトから分離される細菌にも既に広まってしまっている事実もあきらかとなっており、今後、MCR-1 の更なる拡散が懸念される。医療機関におけるコリスチン耐性菌の伝播拡散防止には、微生物検査室における迅速且つ正確なコリスチン耐性菌の検出が欠かせない。そのためには、コリスチン耐性菌を高い感度・特異度で識別する検査法が必要である。そこで筆者らは、MCR-1 特異的阻害剤を用いて、MCR-1 産生菌を検出する検査法の構築を目指し、研究を進めている。その一環として、本研究では MCR-1 の構造情報を取得することを目的とした。MCR-1 の構造情報を利用することで、特異的阻害剤の分子設計が可能となると考えられる。

## 2. 実験内容

MCR-1 タンパク質を大腸菌で発現させ、精製を行なった。精製した MCR-1 タンパク質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 2.0Å 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	$P2_12_12_1$
格子定数 [Å]	$a = 52.0, b = 75.8, c = 77.1$
格子定数 [°]	$\alpha = \beta = \gamma = 90.0$
波長 [Å]	1.1200
分解能	75.8-1.95 (2.06-1.95)
独立反射数	22821 (3265)
完全性	100.0 (100.0)
$R_{\text{merge}}$	0.086 (0.194)
mean $I/\sigma$	21.9 (12.1)
冗長性	6.2 (6.3)



図 1. MCR-1 の初期構造