



β -ラクタマーゼと阻害剤との相互作用解析

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：メタロ- β -ラクタマーゼ、亜鉛、阻害剤

1. 背景と研究目的

メタロ- β -ラクタマーゼは大腸菌や肺炎桿菌といった腸内細菌目細菌における主要なカルバペネム耐性機構である。カルバペネム耐性腸内細菌目細菌(carbapenem-resistant Enterobacterales、以下 CRE)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。

CRE が産生するメタロ- β -ラクタマーゼは活性中心に亜鉛イオンを有する金属酵素である。これまで、亜鉛イオンへの結合を軸とした各種メタロ- β -ラクタマーゼ阻害剤が報告されているが、未だ実用化には至っていない。我々は、過去の研究において、sulfamoyl heteroarylcarboxylic acid (以下 SHC)がメタロ- β -ラクタマーゼに特異的な阻害剤であることを見出し、報告した (参考文献)。SHC の有効性はマウスを用いた動物実験でも確認されており、SHC は将来的に臨床応用可能なシード阻害剤であると考えられた。

そこで本研究では、SHC を構造展開し、さらに強力な阻害剤を創出することを念頭に、今回、新しく合成した阻害剤とメタロ- 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とした。

2. 実験内容

IMP-1、NDM-1、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。精製したメタロ- β -ラクタマーゼを用い、既報に従い、結晶化した。各種結晶を阻害剤溶液を含んだリザーバー溶液に浸潤し、メタロ- β -ラクタマーゼと阻害剤との共結晶を得た。作製した共結晶をビームラインに持ち込み、凍結処理を行なった後、回折データ測定を行なった。

3. 結果および考察

IMP-1、NDM-1、VIM-2 メタロ- β -ラクタマーゼのいずれについても、2 種類の新規阻害剤との共結晶を得ることができ、合計で 6 つの複合体の回折データを回収した。分解能は 1.4-2.0 Å であった。分子置換法により位相を決定し、モデル構築および精密化を行った。その結果、阻害剤に相当する電子密度が明確に観察された。メタロ- β -ラクタマーゼと新規阻害剤との相互作用は、既報と同様に、カルボキシル基およびスルファモイル基と亜鉛イオンとの結合が軸であった。さらに、今回新たに阻害剤に導入した側鎖部分とメタロ- β -ラクタマーゼとの相互作用も確認された。メタロ- β -ラクタマーゼに対する新規阻害剤の K_i 値は、既報で作製した SHC のそれよりも低かった。この K_i 値の改善は、新規阻害剤に導入した側鎖部分を介した相互作用によって齎されたものと考えられた。

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