



メタロ型カルバペネマーゼに対する天然物由来阻害剤の開発研究

和知野 純一

修文大学医療科学部臨床検査学科

キーワード：メタロ-β-ラクタマーゼ、天然物由来阻害剤

1. 背景と研究目的

メタロ-β-ラクタマーゼは病原細菌における主要なカルバペネム耐性機構である。メタロ-β-ラクタマーゼを産生し、カルバペネム耐性を獲得した腸内細菌目細菌は、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等が喫緊の課題となっている。

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り、亜鉛イオンへの結合を基盤とした各種メタロ-β-ラクタマーゼ阻害剤が報告されているが、未だ臨床に導入された阻害剤は存在しない。我々は、臨床導入を視野に入れた新しいメタロ-β-ラクタマーゼ阻害剤を開発すべく、研究を推進している。今回我々は、各種放線菌や糸状菌から抽出した天然物ライブラリーを使用し、メタロ-β-ラクタマーゼに対する阻害剤探索を行ない、その結果、海洋性糸状菌が産生する化合物 A に、メタロ-β-ラクタマーゼ阻害活性があることを見出した。本研究では、化合物 A のメタロ-β-ラクタマーゼに対する阻害機構解明の一端として、化合物 A-メタロ-β-ラクタマーゼ IMP-1 複合体の X 線結晶構造解析を行い、化合物 A とメタロ-β-ラクタマーゼ IMP-1 との結合様式を原子レベルで明らかにすることを目的とした。

2. 実験内容

メタロ-β-ラクタマーゼ IMP-1 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 IMP-1 を用い、既報[#]に従い、結晶化した。IMP-1 結晶を化合物 A を含んだリザーバー溶液に一定時間浸潤し、複合体結晶が得られるよう試みた。作製した複合体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

化合物 A を含んだリザーバー溶液に IMP-1 結晶を 5 分程度浸潤させると、顕微鏡下で IMP-1 結晶が崩壊する様子が観察された。リザーバー液中の化合物 A の濃度を調整することで、5 分程度の浸潤が可能となったが、解析の結果、化合物 A に相当する電子密度を確認することはできなかった。さらに条件検討を重ねてみたが、解析可能な複合体結晶を得るには至らなかった。IMP-1 溶液と化合物 A 溶液を予め混和し、結晶作製を試みたが、残念ながらこの方法では結晶が出現しなかった。これらの結果から、化合物 A とメタロ-β-ラクタマーゼ IMP-1 との結合様式を明らかにするために、*in silico docking simulation* など、別法での解析が必要なものと考えられた。

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