

VIM-2 メタロ β -ラクタマーゼ-HHIA 複合体構造解析 Crystal Structure of VIM-2 Metallo- β -Lactamase in Complex with HHIA

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

〒466-8550 愛知県名古屋市昭和区鶴舞町 65 番地

Jun-ichi WACHINO

Department of Bacteriology, Nagoya University Graduate School of Medicine

65 Tsurumai-cho Showa-ku, Nagoya, Aichi 466-8550, Japan

1 はじめに

カルバペネム系薬は、グラム陰性菌感染症に対する治療の最終手段として位置付けられる重要な抗菌薬である。しかし近年、これらの薬剤に耐性を示すグラム陰性菌の出現が増加しており、公衆衛生上、深刻な脅威となっている。

このようなカルバペネム耐性菌は、カルバペネム系薬を加水分解して無効化する酵素の1つ、すなわちメタロ β -ラクタマーゼ（以下 MBL）を産生することにより耐性を獲得している。こうした背景を踏まえ、カルバペネム耐性菌に対する新たな治療戦略として、MBL 阻害剤の開発が注目を集めている。MBL 阻害剤を併用することで、MBL の活性を抑制し、耐性を解除したうえでカルバペネム系薬を投与することが可能となり、耐性菌に対する治療効果が期待される。

我々は現在、MBL 阻害剤の臨床応用を目指し、その開発に取り組んでいる。本研究では、我々が先行研究において同定した天然物由来の MBL 阻害剤 Hydrohexylitaconic acids（以下 HHIA）に着目し、HHIA の VIM-2 型 MBL に対する結合様式を明らかにすることを目的として、X 線結晶構造解析を実施した。

2 実験

VIM-2 の単結晶は、magnesium formate と PEG3350 を用いた結晶化条件で析出させた。HHIA 複合体の共結晶は、VIM-2 の単結晶を 1 mM HHIA リザーバー溶液に浸すことで調整した。PF BL-5A のステーションを利用し、波長 0.98 Å の X 線を用いて回折データを収集した。得られたプログラムは XDS を用いて処理し、構造決定には Molrep を用いた。モデル構築には Coot を使用し、構造精密化には refmac5 を使用した。

3 結果および考察

VIM-2-HHIA 複合体の立体構造を 1.6 Å 分解能で決定した。HHIA が VIM-2 の活性中心にある 2 つの亜鉛を介して VIM-2 に結合している様子が観察された。HHIA は 2 つのカルボン酸を有するが、うち 1

つ（カルボン酸 1）が Zn1 ならびに Zn2 に結合し、もう 1 つのカルボン酸（カルボン酸 2）が Zn2 に結合していることがあきらかとなった。カルボン酸 1 は N233 の側鎖に、カルボン酸 2 は N233 の主鎖に結合していることもあきらかとなった。HHIA の MBL への結合は 2 つのカルボン酸が主体的な役割を果たしているものと考えられた。HHIA は bulky なメチレン鎖を有するが、このメチレンと VIM-2 との相互作用は確認されなかった。ジカルボン酸化合物の MBL に対する阻害活性はこれまでに確認されており、今後は、Zn1 および Zn2 との結合様式や周辺アミノ酸との相互作用を最適化することで、より高い阻害活性と選択性を有する化合物の設計が期待される。また、メチレン鎖の構造的多様化による親和性や膜透過性の向上も併せて検討することで、実用的な MBL 阻害剤の創出につながると考えられる。

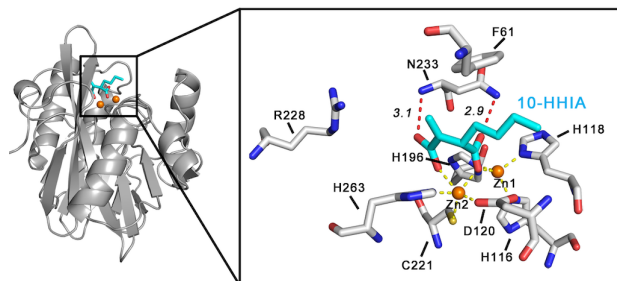


図 1. HHIA（水色）と VIM-2（シルバー）の結合様式

4 まとめ

HHIA の MBL への結合には、HHIA が有する 2 つのカルボン酸が中心的な役割を果たしていることをあきらかにした。

謝辞

PF 利用に際し、PF スタッフの皆様には大変お世話になりました。深く感謝申し上げます。

参考文献

[1] J. Wachino *et al.*, *Microbiol Spectr*, **12**, e02344-23 (2024).

* wachino@med.nagoya-u.ac.jp