

# ADC-227 $\beta$ -ラクタマーゼの X 線結晶構造解析

## Structural study of ADC-227 $\beta$ -lactamase reveals a transient substrate-binding state

河合聡人\*, 土井洋平

藤田医科大学 医学部 微生物学講座

〒470-1192 愛知県豊明市沓掛町田楽ヶ窪 1-98

Akito KAWAI\* and Yohei DOI

Department of Microbiology, Fujita Health University School of Medicine  
1-98 Dengakugakubo Kutsukake-cho, Toyoake, Aichi, 470-1192, Japan

### 1 はじめに

ADC  $\beta$ -ラクタマーゼは *Acinetobacter baumannii* の染色体にコードされる酵素であり、同菌が  $\beta$ -ラクタム薬に対して耐性を示す主要な要因の一つと考えられている。大規模ゲノム解析により、ADC  $\beta$ -ラクタマーゼには、正式なアリル番号が付与されたものだけで約 200 種類、未付与のものを含めると 900 種類以上が存在することが明らかになっており、その多様性と  $\beta$ -ラクタム薬耐性との関連が注目されている。ADC-227 は、多剤耐性グラム陰性菌感染症に対する治療薬である *cefiderocol* への低感受性化に加え、*ceftazidime-avibactam* 合剤に対する耐性も付与する酵素として同定された [1]。そこで本研究では、ADC-227 の構造的特徴を明らかにすることを目的に、X 線結晶構造解析により立体構造の決定を試みた [1]。

### 2 実験

ADC-227 の結晶は、PEG3350 を用いた結晶化条件で析出させた。avibactam 複合体の結晶は、ADC-227 単体の結晶を avibactam 溶液に浸漬することで調製した。X 線回折データは、波長 0.98 Å の X 線を用いて収集し、XDS プログラムにより処理した。構造解析は Molrep プログラムを用いた分子置換法により行った。その後、Coot プログラムを用いてモデル構築を行い、phenix.refine プログラムにより構造を精密化した。

### 3 結果および考察

ADC-227 単体の結晶構造を 1.95 Å 分解能で決定した。この結晶は空間群  $P3_121$  に属し、格子定数は  $a = b = 76.0$  Å、 $c = 97.8$  Å であり、非対称単位中に 1 分子の ADC-227 が含まれていた。この結晶に avibactam 溶液を浸漬し、ADC-227-avibactam 複合体構造の解析を行ったところ、avibactam の濃度および浸漬時間に応じて結晶の空間群が変化した。50 mM avibactam 溶液に 4 時間浸漬した結晶は、ADC-227 単体と同じ空間群  $P3_121$  に属していた。一方、50 mM で 24 時間、または 100 mM で 4 時間浸漬した結晶は空間群  $P3_221$  に属し、格子定数は  $a = b = 75.7$  Å、 $c = 206.7$  Å (50 mM, 24 h) であった。これは ADC-227 単体の結晶と比較して  $c$  軸が約 2 倍に伸長した結晶形であり、非対称単位中には 2 分子の ADC-227 が含まれていた。これらの結晶構造を比較したところ、

薬剤浸漬前の ADC-227 では、活性部位周辺が閉じた構造を形成していたのに対し (図 1a)、50 mM avibactam 溶液に 4 時間浸漬した構造では、avibactam 結合に伴い H-9 ヘリックスと H-10 ヘリックスが連続した 1 本の長い  $\alpha$ -ヘリックスを形成するような大きな構造変化が認められた (図 1b)。この構造変化により、活性部位を覆う蓋のような位置に存在していた Trp292 残基は、蓋が開くように外側へ移動していた (図 1b)。さらに、50 mM で 24 時間および 100 mM で 4 時間浸漬した構造では、非対称単位中に含まれる 2 分子の ADC-227 が、それぞれ開構造および閉構造を形成していた (図 1 c,d)。

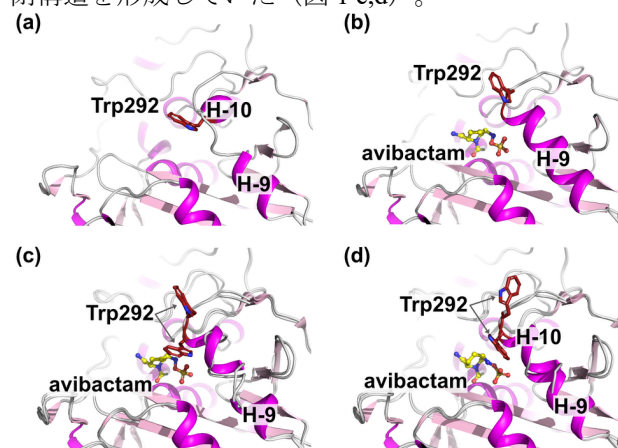


図 1 ADC-227 の薬剤認識に伴う構造変化

(a) 浸漬前 (b) 50 mM, 4 h (c) 50 mM, 24 h  
(d) 100 mM, 4 h

### 4 まとめ

ADC-227 は avibactam 結合に伴い、Trp292 残基の開閉動作を伴う H-9 および H-10 ヘリックスを含む領域に大きな構造変化が生じることが示唆された。

### 謝辞

放射光実験でお世話になりました PF スタッフの皆様へ深く感謝申し上げます。

### 参考文献

[1] Kawai A., *et al.*, *mBio*, 17, e03518-25 (2026)

\* kawai-a@fujita-hu.ac.jp