

Crystal structures of the bacterial A1408G-mutant A site with and without geneticin

近藤次郎^{1*}¹上智大学理工学部、〒102-8554 東京都千代田区紀尾井町 7-1

1 はじめに

アミノグリコシド系抗生物質は細菌リボソームの活性部位 A サイトに存在する RNA 分子スイッチに作用して、デコーディングの正確性を低下させることで殺菌効果を示す。これに対して細菌は、RNA 分子スイッチをわずか 1 塩基のみ変異させる (16S rRNA の 1408 番目の A を G に変異させる) ことで抗生物質に対する耐性を獲得する (図 1)。しかし、正確なタンパク質合成を可能にする分子スイッチを変異させることは、一方では細菌にとって自身の生命維持を脅かすリスクの高い行為でもある。

本研究では、細菌の薬剤耐性獲得メカニズムを分子レベルで明らかにするために、耐性型分子スイッチの X 線結晶解析を行った[1]。

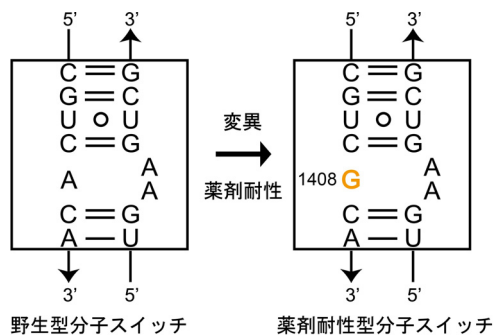


図 1 : 薬剤耐性型 RNA 分子スイッチ

2 実験

A1408G 変異をもつ薬剤耐性型分子スイッチの配列を導入した RNA を化学合成し、結晶化に用いた。耐性型分子スイッチに対して親和性の高い抗生物質 geneticin を含む条件と含まない条件で結晶化を行った。それぞれ空間群 $P2_12_12$ と $P2_12_12_1$ の結晶が得られ、最大分解能 2.1 Å と 1.6 Å の X 線回折データを測定した。プログラム Phenix を用いて分子置換法と多波長異常分散法で初期位相を決定し、プログラム CNS を用いて原子パラメーターを精密化した。

3 結果および考察

16S rRNA に A1408G 変異を持つ薬剤耐性菌は、ring I の 6'位にアミノ基 (NH_3^+) をもつ抗生物質に対して高い耐性を示すが、ヒドロキシ基 (OH) をもつ抗生物質 (geneticin など) に対してはわずかな耐性しか示さない。X 線結晶解析と分子モデリングの結果、6'-OH をもつ ring I は耐性型分子スイッチの G1408 と擬塩基対を形成できるが、6'- NH_3^+ をもつ ring I はこの擬塩基対を形成できないことがわかった (図 2)。

また、耐性型分子スイッチの ON 状態と OFF 状態の構造を野生型分子スイッチのそれらの構造と比較したところ、ほとんど違いがないことがわかった (図 3)。つまり、16S rRNA の 1408 番目が A から G に変異しても分子スイッチは正常に作動するので、細菌は薬剤耐性を獲得しつつ生命を維持できると考えられる。

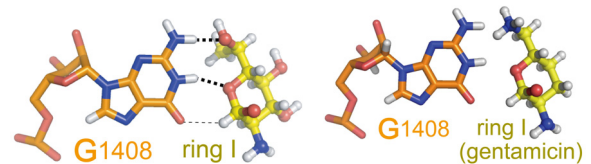


図 2. Ring I と G1408 の間の擬塩基対
(左) 6'-OH を持つ ring I は擬塩基対を形成できる
(右) 6'- NH_3^+ を持つ ring I は擬塩基対を形成できない

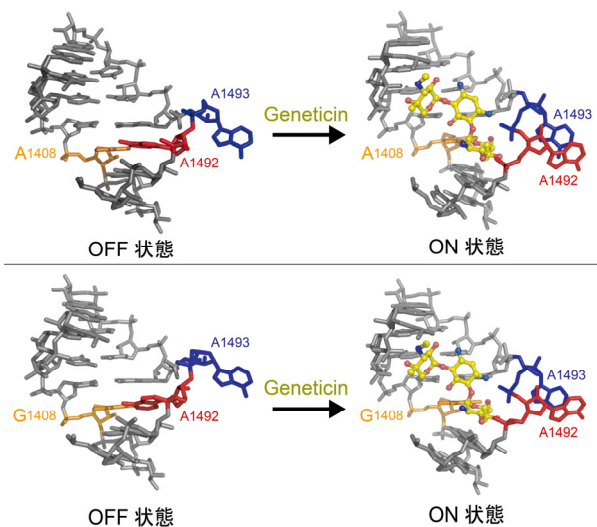


図 3. 野生型 (上) および薬剤耐性型 (下) 分子スイッチの ON/OFF 状態の構造

4 まとめ

細菌は最適な原子種を選択して分子スイッチを自ら変異させることで、自身の生命を維持しながら巧妙に薬剤耐性を獲得することがわかった。

参考文献

[1] J. Kondo, Angew. Chem. Int. Ed. **51** (2012) 465-468.

* j.kondo@sophia.ac.jp