

結核菌由来加水分解酵素と反応生成物との複合体の立体構造

○日下部吉男¹、田中信忠¹、中西雅之²、丸山光一²、江崎孝行³、北出幸夫²、中村和郎¹
¹昭和大・薬、²岐阜大・工、³岐阜大・医

「エイズ」、「マラリア」と共に世界三大感染症の一角を担う「結核」とは、真正細菌の一種である結核菌 *Mycobacterium tuberculosis* により引き起こされる感染症である。かつて結核は不治の病として恐れられていたが、第2次大戦後ストレプトマイシンなどの抗生物質を用いた化学療法の普及から結核による死者は激減した。しかし、現在でも結核は日本や欧米を含む世界中に分布しており、毎年150~200万人もの人々が結核により命を落としている。さらに、多剤耐性結核菌の出現により、新規化学療法剤の開発が求められている。

S-アデノシル-L-ホモシステインヒドロラーゼ (SAHH) は、生体内に必須のメチル化反応の副産物として生じる S-アデノシル-L-ホモシステイン (SAH) をホモシステイン (Hcy) とアデノシン (Ado) に加水分解する酵素である。SAHH の阻害は、生体内で必須の種々のメチル化を阻害する。従って、SAHH 阻害剤は、病原微生物に対する感染症治療剤として期待されている。本研究の目的は、結核菌由来 SAHH (MtSAHH) に対し強力かつ選択的な新規阻害剤を開発することである。そのための手段として、MtSAHH の立体構造を X線結晶構造解析の手法により高分解能で決定し、新規化合物をデザインすることを目指している。

N末端にヒスチジンのタグを付加した MtSAHH を大腸菌を用いて大量に発現させ、キレーティングカラム、ゲルろ過クロマトグラフィーの2段階で精製した。結晶化条件探索の結果、反応生成物アデノシンの存在下で結晶が得られた。Photon Factory BL-17Aにおいて、1.75 Å分解能までの回折強度データの収集を行った。得られた結晶の空間群は $P2_1$ 、格子定数は $a=95.13 \text{ \AA}$, $b=112.1 \text{ \AA}$, $c=100.6 \text{ \AA}$, $\beta=96.82^\circ$ であり、非対称単位中にテトラマー1分子 ($4 \times 495 \text{ a.a.}$) 含まれると見積もられた。熱帯熱マラリア原虫由来 SAHH の座標 (PDB ID: 1V8B) をサーチモデルとした分子置換法により位相決定を行った。

構造精密化の結果、1.75 Å分解能において $R=0.203$, $R_{\text{free}}=0.245$ となった。4量体での総分子量20万を超えるSAHHに関し2Å分解能以上の分解能での解析例は無く、今回の立体構造が唯一の高分解能での構造解析例である。我々は、選択性の高い阻害剤を「structure based」にデザインすることを目指して本研究を開始したが、高分解能構造解析により反応機構を詳細に解明できれば、より強力なSAHH阻害剤を「mechanism based」にデザインすることも可能となるであろう。

