

熱帯熱マラリア原虫由来糖代謝酵素の結晶構造解析

○田中信忠¹、福見千晴¹、青木謙一¹、中西雅之²、羽賀新世³、永瀬久光³、北出幸夫²、
中村和郎¹

¹昭和大・薬、²岐阜大・工、³岐阜薬大

熱帯熱マラリア原虫 *Plasmodium falciparum* 由来ホスホグルコースイソメラーゼ (PfPGI) は、マラリア原虫の解糖系、糖新生に関与するタンパク質であり、グルコース 6 リン酸 (G6P) とフルクトース 6 リン酸 (F6P) との間の異性を触媒する。本酵素は、579 アミノ酸残基 (分子量 67367、等電点 6.8) のサブユニット 2 つから成るホモ 2 量体を形成している。

マラリアとはハマダラ蚊により媒介される寄生原虫感染症で、世界中で毎年 3 億人から 5 億人を発病させ、100~300 万人を死に至らしめている。地球温暖化の影響や既存の抗マラリア薬に耐性を示すマラリア原虫の出現により、新たな作用機序の抗マラリア薬の開発が必要となっている。従って新規抗マラリア薬開発の手がかりを得るため、PfPGI の立体構造を明らかにすることとした。

PfPGI 発現ベクターを含む大腸菌を大量培養した。大腸菌を集菌し、超音波で破碎した。破碎後の溶液を遠心し、上清を回収した。上清を陽イオン交換カラム、Ni キレートカラム、ゲルろ過カラムの 3 ステップで精製し、高純度 PfPGI 溶液を得た。hanging drop 蒸気拡散法により、阻害剤 6PGA 存在下で結晶化条件の探索を行ったところ、空間群 $P2_12_12_1$ 、格子定数 $a = 103.33$ 、 $b = 104.07$ 、 $c = 114.56$ Å のひし形板状結晶が得られた。得られた結晶を用い、PF-AR NW12A において 1.5 Å 分解能の X 線回折データを収集した。マウス PGI の座標 (PDB ID: 2CXR) を用いた分子置換法にて初期位相を決定し、構造精密化を行った ($R = 0.19$, $R_{free} = 0.21$)。

哺乳類由来 PGI/6PGA 複合体と PfPGI/6PGA 複合体の立体構造比較の結果、両者の全体構造のトポロジー並びに活性部位における 6PGA の結合様式は類似していることが分かった。しかし、哺乳類 PGI には存在しないループ構造が、PfPGI の 2 量体分子の外側に存在することが明らかとなった。このような知見は、今後の選択的阻害剤デザインに役立つことが期待される。

