

「タンパク質結晶構造解析ユーザーグループ」

放射光と中性子を相補的に用いた ブタ膵臓エラスターゼ-阻害剤複合体の立体構造解析

玉田 太郎¹・木下 誉富²・安達 基泰¹・大原 高志¹・栗原 和男¹・黒木 良太¹・多田 俊治²
(¹原子力機構・量子ビーム、²阪府大・院理・生物科学)

エラスターゼは、立体構造情報を基盤とした創薬手法 (Structure-Based Drug Design: SBDD) 研究の代表的な題材として用いられてきたセリンプロテアーゼである。また、好中球エラスターゼに対する阻害剤は全身性炎症反応症候群に対する急性肺障害の治療薬として実際に上市されている。また、種々の原因による膵臓自体の防御機構が破壊された時に、膵臓エラスターゼが膵臓の自己消化を起こし、その結果、急性膵炎、引いては腎不全、呼吸不全をも発症させることも知られている。これまでに、X線結晶構造に基づいた多くの SBDD 研究が実施されてきたが、特異性の高い阻害剤の作製が困難であるのが現状である。よって、エラスターゼの全原子構造情報の取得を目指して、ブタ膵臓由来のエラスターゼ (Porcine Pancreatic Elastase : 以降 PPE) とその阻害剤 (FR130180) の超高分解能 X 線結晶構造解析および中性子結晶構造解析を実施した。

超高分解能の X 線回折データ (0.94 Å, 100K) は、SPring-8 の BL41XU で収集した。また中性子解析用には、体積約 3 mm³ の結晶を作製し中性子回折実験に供した[1]。中性子回折実験は原子力機構の研究用原子炉 JRR3 に設置した生体高分子用中性子回折計 BIX3 で行い、1.65 Å 分解能の回折データを収集した。さらに中性子回折実験終了後の同一結晶を用いて室温での X 線回折実験を Photon Factory の BL6A で実施し、1.2 Å 分解能の回折データを併せて収集した。精密化はプログラム PHENIX を用いた、中性子と X 線回折データを組み合わせた"joint refinement"法により実施し、約 2000 個の水素および重水素原子を含む PPE と FR130180 の複合体構造を決定した (図 1)。

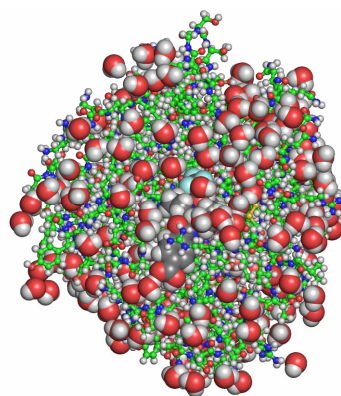


図1. エラスターゼと阻害剤 FR130180 複合体の水素原子を含む全原子構造。水素、炭素、窒素、酸素、硫黄原子を各々白、緑、青、赤、黄色で示す。水和水および阻害剤分子は空間充填モデルで表示している。

PPE に共有結合した阻害剤 FR130180 は、エラスターゼの基質を模倣したペプチド様の構造を持っており、反応中間体状態に近い特徴を有する。セリンプロテアーゼの活性中心に形成される水素結合様式には諸説あったが、超高分解能 X 線解析で得た電子密度分布と中性子解析で得た原子核密度分布を詳しく比較することによって、低障壁水素結合が形成されていないという結果を得た。今回の結果では、阻害剤と PPE 間の相互作用に関与する水素原子の特徴を知ることができ、従来よりも特異性の高い阻害剤設計に有用な構造情報を取得することができた。

[1] Kinoshita, T., Tamada, T., Imai, K., Kurihara, K., Ohhara, T., Tada, T., Kuroki, R. *Acta Crystallogr. B* **63**, 315–317 (2007).