

熱帯熱マラリア原虫由来 非メバロン酸経路関連酵素の結晶構造解析

梅田知伸¹、田中信忠¹、日下部吉男¹、中西雅之²、北出幸夫³、中村和郎¹
(¹昭和大・薬、²松山大・薬、³岐阜大・工)

【目的】近年、新規抗マラリア薬の開発が囑望されており、その標的として熱帯熱マラリア原虫 (*Plasmodium falciparum*) 由来 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate reductoisomerase (PfDXR) が注目されている。本酵素はビタミンやホルモン等の生合成に必須な前駆体であるテルペノイド化合物の合成経路 (非メバロン酸経路) に関与する酵素である。非メバロン酸経路の阻害は、マラリア原虫に対して致死的效果を与えることが報告されている (Jomaa *et al.*, *Science* **285**, 1573 (1999))。また、同経路はヒトには存在しない代謝経路であるため、抗マラリア薬の格好の標的である。このことから、同経路 2 番目の酵素である PfDXR 選択的阻害剤のデザインへ向けた有用な手がかりを得るため、PfDXR の立体構造解析を行った。

【方法】N 末端に His-tag を付加した PfDXR を大腸菌を用いて大量発現させ、アフィニティークロマトグラフィー・ゲルろ過クロマトグラフィーの 2 段階のクロマトグラフィーにより精製した。結晶化条件の探索の結果、補酵素 NADPH および Mn^{2+} 存在下において、PEG3350 を沈殿剤として結晶を得ることに成功した。得られた結晶を用い、PF BL-17A においてデータ収集を行い、大腸菌由来 DXR をサーチモデルとした分子置換法により位相決定、構造精密化を行った。

【結果および考察】上記の方法により位相決定に成功し、PfDXR の立体構造を解明することが出来た。また、XAFS 測定により Mn^{2+} の結合を確認することが出来た。今後は、阻害剤として知られる fosmidomycin、及びその類似化合物である FR-900098 との複合体の結晶構造解析に取り組み結合様式を解明することで、新規阻害剤デザインに有用な知見を得たいと考えている。