

In situ クリックケミストリーから得られた 阻害剤とキチナーゼ B との複合体構造解析 Structure of Chitinase B-Inhibitor from *in situ* Click Chemistry

真板宣夫¹、川真田純¹、山本剛²、廣瀬友靖²、砂塚敏明²、谷口寿章¹

1 徳島大学疾患酵素学研究センター、2 北里大学北里生命科学研究所

In situ クリックケミストリーは、標的タンパク質の基質結合ポケットの別々の場所に化合物が結合した状態で、近接した官能基間の特異的連結反応を利用して、より標的タンパク質と親和性の高い化合物を探索する方法である。これまでの研究で、グリオクラディウム菌株の培養液から単離された、セラチア菌キチナーゼ (SmChiB) の阻害剤である Argifin の構造を基に、in situ クリックケミストリーでより親和性の高い syn-triazole-01 (st-01) を見出すことが出来た (Hirose, et al., J. Antibiot, 2009)。

キチンは無脊椎動物の細胞壁、外骨格に広く存在する主要な構成多糖であり、キチナーゼは生命維持及び増殖に必須な因子であるので、この阻害剤は殺虫剤、抗真菌剤などに応用できる。我々は、st-01 がどのようにキチナーゼと結合しているかを原子レベルで明らかにし、さらに有効な阻害剤の設計を目標に SmChiB と st-01、さらにその関連化合物との複合体結晶構造解析を行った。

大腸菌で発現させた His6-SmChiB を HisTrap で精製し、エンテロキナーゼ処理後、ゲル濾過カラムで精製した。0.8M 硫酸を含むリン酸バッファー (pH7) で単結晶が得られた。結晶が出たドロップに 0.3 μ L の阻害剤溶液を加えて二晩静置することにより阻害剤を入れることに成功し、X 線結晶構造解析を行った。

Argifin 由来の部分はどれも同じように SmChiB の活性中心に強固に結合していた。しかしながら、上半分は揺らぎが大きく明瞭な電子密度は見られなかった。興味深いことに、In situ クリックケミストリーで用いた化合物と st-01 は上半分の向きが正反対であった。一方 st-01 は、Wリング部分が Trp97 と Trp220 に平行に挟まれ、これらと強固な π - π 結合を形成していた。このことが、st-01 が非常に強い阻害能を有する大きな理由であると推察される。