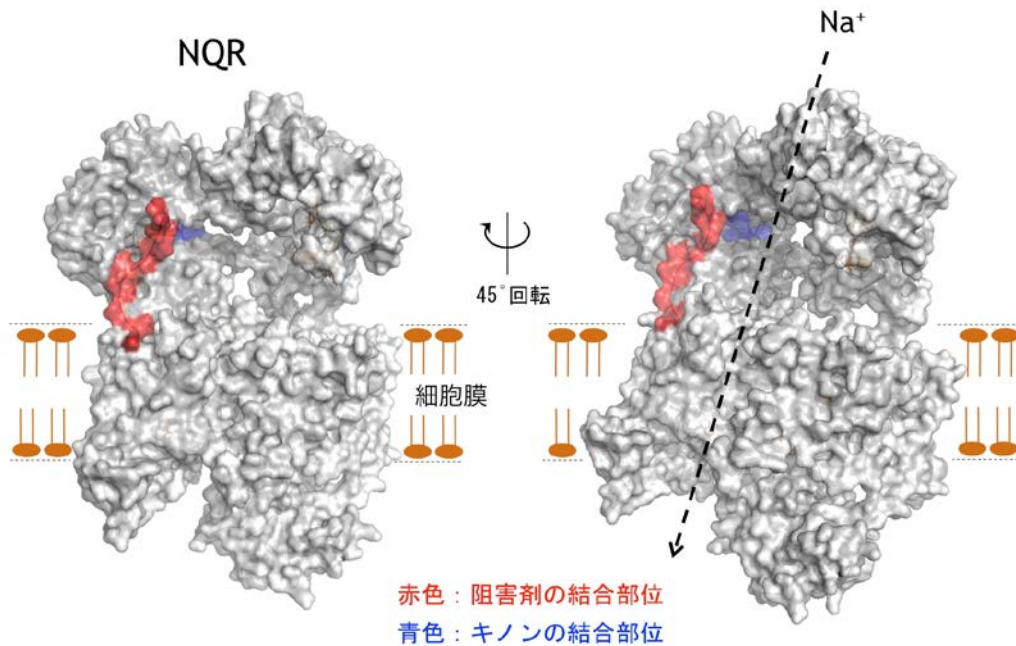


コレラ菌の生存に必須の酵素、阻害剤との結合部位を特定 —病原性細菌にのみ働く薬剤の開発へ貢献—

概要

三芳 秀人 京都大学大学院農学研究科教授らの研究グループはレンセラー工科大学（米・ニューヨーク州）との共同研究によって、コレラ菌など一部の病原性細菌のエネルギー代謝に必須の酵素（ナトリウム輸送性 NADH-キノン酸化還元酵素、以下、NQR）へ阻害剤（図中の赤部分）が結合している部位を初めて明らかにしました。加えて、酵素が働きかける物質であるキノン（図中の青部分）と酵素との結合部位も明らかにしました。対象とした酵素とよく似た酵素がヒトのミトコンドリアにも存在するため、病原性細菌の酵素にのみ効果を発揮する殺菌剤は開発が進んでいませんでした。今回の成果で阻害剤と酵素の結合部位が判明したため、今後 NQR を標的とする創薬研究の進展が期待されます。

論文は3月15日、アメリカ生化学・分子生物学会の学会誌 *Journal of Biological Chemistry* に掲載されました。また、全掲載論文のうち上位2%程の論文が紹介される Editor's Picks にも選ばれました。



1. 背景

ナトリウム輸送性 NADH-キノン酸化還元酵素 (NQR) は、細菌の細胞膜に存在する電子伝達酵素で、1977 年にコレラ菌で初めて発見されました。その後、一部の海洋性細菌や病原性細菌でも発見され、現在では約 100 種類の細菌でその存在が知られています。NQR は細胞膜を介してナトリウムを能動輸送し、形成されたナトリウムの濃度勾配は、エネルギー (ATP) 生産や鞭毛運動の駆動力として必須です。そのため、NQR を阻害する化合物は細菌のエネルギー代謝全般を遮断するため、有望な殺菌剤として期待されます。しかし、ヒトのミトコンドリアにも類似の電子伝達酵素が存在しますので、細菌の NQR のみを選択的に阻害する化合物の開発が期待されています。そのためには、阻害剤が NQR のどこに結合するのかを含め、本酵素の基礎研究の進展が期待されて来ました。

NQR の基礎研究を進展させるにあたって、阻害剤や基質であるキノンがどこに結合するのかを明らかにすることは必須です。2014 年にドイツのグループがコレラ菌 NQR の X 線結晶構造をネイチャー誌に発表しましたが、この構造中では阻害剤もキノンも結合していなかったため、これらの結合部位は謎のままでした。また、2017 年に米国のグループが阻害剤の結合部位を提案しましたが、結果的にこの情報は間違っていました。本研究では、結合部位を直接的に調べることができる有機化学的手法 (光親和性標識法) を用いて、阻害剤やキノンの結合部位を初めて明らかにしました。

2. 研究手法・成果

阻害剤の結合部位を同定するに当たって、NQR に強く結合する阻害剤を用いることが肝心ですが、我々はこれまで知られていた阻害剤よりも約 1000 倍も強力な阻害剤 (オーラシン) を発見しました。このオーラシンを用いて、光親和性標識法という古いながらも直接的な有機化学的手法によって結合部位を明らかにしました。さらに、共同研究者のレンセラー工科大学のグループからは、NQR の変異酵素の提供を受け研究を進めました。

NQR がはたらく時、酵素内を電子が複雑な経路で流れるのですが、その終着点であるキノンの結合部位が明らかになったことにより、電子が流れる全体の経路が完成しました。また、阻害剤の結合部位は、キノン結合部位に隣接する場所にあるものの、両者は重なっていないことがわかりました。他の電子伝達酵素では両者が同一であることが一般的であり、NQR の特徴であることがわかりました。これらの成果により、薬剤開発 (ドラッグデザイン) を進めるための基礎的知見が確立しました。

3. 波及効果、今後の予定

現在、レンセラー工科大学のグループは、オーラシンを結合させた状態の NQR の X 線結晶構造解析を進めています。これらの情報と今回の研究成果を組み合わせ、さらに詳細な結合部位の構造情報を明らかにすることができれば、NQR を標的とする創薬研究を具体的に進めることが期待できます。

食中毒などが時々報道されるものの、コレラ菌など病原性細菌による病気は日本ではさほど深刻ではありません。しかし、発展途上国では地域的流行が散発しており、依然として深刻な問題です。NQR を標的とする殺菌剤の開発に向けた基盤技術の構築は、極めて重要な課題です。また、薬剤耐性菌の出現が問題となっている現在、NQR のような新しい創薬標的を継続的に発見する意義は大きいものと考えます。

※病原性毒素 (コレラ毒素タンパク質) を生産するのはコレラ菌の中でも一部の毒素生産型コレラ菌のみです。

4. 研究プロジェクトについて

科学研究費補助金および京都大学運営費の支援を受けました。

<論文タイトルと著者>

タイトル : Identification of the Binding Sites for Ubiquinone and Inhibitors in the Na⁺-Pumping

NADH-Ubiquinone Oxidoreductase from *Vibrio cholerae* by Photoaffinity Labeling

著者 : 伊藤剛、村井正俊、二ノ倉聡、北隅優希、Katherine G. Mezc、Brady F. Cress、Mattheos A. G. Koffas、Joel E. Morgan、Blanca Barquera、三芳秀人

掲載誌 : *Journal of Biological Chemistry* (アメリカ生化学・分子生物学 学会誌)

<連絡先>

E-mail: miyoshi@kais.kyoto-u.ac.jp