



アミノ配糖体耐性を付与する 16S rRNA methyltransferase の解析

和知野 純一

名古屋大学大学院医学系研究科分子病原細菌学

1. 背景と研究目的

多様な抗菌薬に耐性を獲得した多剤耐性細菌が増加しており国内外で大きな問題となっている。本研究では、細菌のアミノ配糖体耐性機構の1つである 16S rRNA methyltransferase NpmA の3次元構造をあきらかにし、取得した構造情報を元に 16S rRNA methyltransferase NpmA の阻害剤を開発することを目的としている。薬剤耐性機構阻害剤は、既存の抗菌薬の効果を復帰させることを可能とし、新たな細菌感染症治療手段の1つとなることが期待される。

2. 実験内容

先行研究にて決定した NpmA の結晶化初期条件を基準とし、リザーバーに含まれる塩、バッファ一、沈殿剤等の濃度条件を再検討し、結晶化条件の最適化を行った。同時に、結晶化の再現性についても検討を行った。作製した結晶をビームライン BL2S1 に持ち込み、回折測定を行った。位相決定には分子置換法を用いた。Refmac5 を用いて精密化し、Coot によるモデル構築を行った。

3. 結果および考察

NpmA 15 mg/mL とリザーバー溶液 (100 mM citric acid [pH5.0], 24%PEG6000) を等量混和し、20°Cにてインキュベーションすることで、1週間以内に、再現性よく結晶を得ることができた。分解能は結晶化初期条件にて出現した結晶と同じく、2.05 Åであった。結晶学的諸性質を表1に示す。現在、Refmac5 による精密化と coot によるモデル構築を行っており、近々に最終モデル構築を終える予定である。今後、native 結晶を、阻害剤を溶解したリザーバー溶液に一定時間浸潤し、NpmA-阻害剤複合体の作製を行う予定である。複合体構造をあきらかにすることで、NpmA-阻害剤の結合様式の詳細をあきらかにすることができる。

表 1. 結晶学的データの統計値

空間群	$P4_32_12$
格子定数 [Å]	a = b = 64.56, c = 108.45
波長 [Å]	1.1200
分解能	64.6-2.05 (2.16-2.05)
総反射数	253537 (37909)
独立反射数	15088 (2153)
完全性	100.0 (100.0)
R_{merge}	0.068 (0.351)
mean I/ σ	27.3 (8.3)
冗長性	16.8 (17.6)

4. 参考文献

1. **Wachino J**, Shibayama K, Kurokawa H, Kimura K, Yamane K, Suzuki S, Shibata N, Ike Y, Arakawa Y. Novel plasmid-mediated 16S rRNA m1A1408 methyltransferase, NpmA, found in a clinically isolated *Escherichia coli* strain resistant to structurally diverse aminoglycosides *Antimicrob Agents Chemother.* 51(12):4401-9. 2007.