

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：新型多剤耐性菌克服のための新規阻害物質等の探索
2. 研究開発代表者：氏名 荒川宜親（当該年度3月31日時点の所属：名古屋大学大学院医学系研究科）
3. 研究開発の成果

名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所(ITbM)の佐藤綾人講師および金城学院大学薬学部の黒崎博雅教授と連携し、日本医療研究開発機構(AMED)感染症研究国際展開戦略プログラム(J-GRID)の支援を受けて、国際的に新型多剤耐性菌として問題となっているアシネトバクター属菌などのグラム陰性桿菌のゲノム情報の解析を通じて、細菌の生育に不可欠な機能を有する分子(酵素)を少なくとも4種類選定した。それらは、臨床現場で使用されている抗菌薬の標的分子とは異なる新しい標的分子の候補になりうることが示唆された。選定した4種類の分子については、新規の標的分子となりうる可能性があるため、その1種類について、大腸菌を用いた発現系により精製に成功し、残りの3種類については、精製法の構築を継続しつつある。

阻害剤のスクリーニングについては、カルバペネム耐性菌が産生するカルバペネマーゼの一つであるIMP-1型メタロ-β-ラクタマーゼとOXA-48型カルバペネマーゼについて、大腸菌を用いて大量精製した。続いて、IMP-1型メタロ-β-ラクタマーゼに対し阻害活性を有する物質をITbMの保有する22,560種の化学物質ライブラリーよりスクリーニングし、少なくとも30種類の候補物質を選択した。これらについて、酵素化学的性質や生物学的性質を解析するために個別に10mg程度を入手する手続きを完了した。

さらに、サブクラスB3に属するメタロ-β-ラクタマーゼ(カルバペネマーゼの1種)であるSMB-1とメロペネムの水解物との結晶化に成功した。X線結晶構造解析の結果、SMB-1の活性中心におけるメロペネムの結合様式を高分解能(1.4Å)で確認することができた。

一方、阻害物質と機能分子のドッキングシミュレーション解析のための計算機環境を整備した。種々のメタロβ-ラクタマーゼ(IMP-1、SMB-1、OXA-48)と化合物とのドッキングシミュレーションを専用解析ソフト「Schrödinger」等を用いて実施しつつあり、酵素と阻害化合物との結合様式を順次推定している。

また、IMP-1メタロ-β-ラクタマーゼとそのD120E変異体のX線結晶構造をそれぞれ分解能2.0と1.9Åで決定した。

さらに、セファロsporinの誘導体のメタロ-β-ラクタマーゼ阻害剤を設計し合成を行っている。反応は5工程からなり、現在、4段階前まで終了した。

#### 4. その他

特記すべきものなし