



タンパク質の立体構造変化を迅速に解析する手法を開発 ～新規薬剤開発への展開へ期待～

研究成果のポイント

- ・細菌の細胞壁合成に関わるタンパク質酵素である MurD（ムルディ）の立体構造をモニターし、その変化を詳細に観察することに成功した。
- ・MurD は抗菌薬の新たな作用点としても注目を集めている。
- ・本成果は、新規薬剤開発への展開も期待されている。

研究成果の概要

生体内で種々の重要な機能を果たすタンパク質は柔軟にそのカタチ（立体構造）を変えながら機能しています。細菌の細胞壁合成に関わるタンパク質酵素である MurD^{注1} も大きくその立体構造を変化させながら機能していることが知られていましたが、その詳細は明らかになっていませんでした。私たちは核磁気共鳴法（NMR 法）^{注2} によって MurD の立体構造をモニターし、低分子基質の結合や酵素反応の進行に伴ってどのように MurD の立体構造が変化しているのかを詳細に観察することに成功しました。MurD は抗菌薬の新たな作用点としても注目を集めていることから、本研究で得られた成果は新規薬剤開発への展開も期待されます。

本研究は文部科学省 先端融合領域イノベーション創出拠点形成プログラム補助金により実施された研究です。

論文発表の概要

研究論文名：Ligand-driven conformational changes of MurD visualized by paramagnetic NMR（NMR によって明らかにされたリガンドにより誘起される MurD 構造推移）

著者：齊尾智英¹，小椋賢治²，久米田博之¹，小橋川敬博³，清水和美⁴，横地政志⁵，児玉耕太¹，山口寛人⁶，辻下英樹⁶，稲垣冬彦¹

北海道大学¹，石川県立大学²，熊本大学³，早稲田大学⁴，大阪大学⁵，塩野義製薬株式会社⁶

公表雑誌：Scientific Reports

公表日：日本時間（現地時間）2015 年 11 月 19 日（木）午後 7 時（英国時間 2015 年 11 月 19 日（木）午前 10 時）（オンライン公開）

研究成果の概要

(背景)

院内感染や、多剤耐性菌という言葉が聞かれて久しくなりました。今、抗生物質が効かない菌が回り、体力がないお年寄りや入院患者さん等にとって脅威となり、新たな抗菌効果をもつ化合物の研究開発が求められています。

本研究チームでは、細菌の細胞壁合成に関わる MurD と呼ばれるタンパク質酵素に着目してきました。生体内で種々の重要な機能を果たすタンパク質は、柔軟にそのカタチ（立体構造）を変えながら機能しています。細菌の細胞壁合成に関わるタンパク質酵素である MurD は複数の立体構造単位（ドメイン）から構成されるマルチドメインタンパク質で、基質の結合や酵素反応の進行によって大きくその立体構造を変化させながら機能することが知られていました。しかし、そのような変化を詳細に解析するための手法の欠如から研究が進んでいませんでした。

(研究手法)

私たちは溶液状態のタンパク質を観測する核磁気共鳴法（NMR 法）を主体とし、MurD のダイナミックな立体構造変化を詳細に観察しました。本研究で鍵となったのは常磁性ランタニドイオン^{注3}の活用です。通常の NMR 解析では、5 Å（オングストローム）程度の範囲内に近接する原子核間からの距離情報に依存するのに対し、常磁性ランタニドイオンを組み合わせることによって、40 Å という長距離間での情報を迅速に取得することができます。MurD のサイズは直径約 60 Å 程度ですので、ランタニドイオンから得られる長距離情報は MurD の全体像を得る上で特に有効になります。

(研究成果)

常磁性ランタニドイオンを用いた NMR 法によって、基質結合に伴う MurD の立体構造変化を捉えることに成功しました。その結果、MurD の立体構造が開状態と閉状態の中間に位置する semi-closed 状態が存在することが初めて明らかになりました。さらに、この semi-closed 状態が基質結合の順序を決定する上で重要であることが示されました。

(今後への期待)

細菌に特異的なタンパク質である MurD は抗菌剤の新たな作用点としても注目を集めていましたが、MurD のダイナミックな構造変化とそれに対する知見の乏しさから薬剤設計が難しいとされてきました。本研究によって MurD の構造変化とそれによる基質結合の制御の詳細が明らかになったことにより、薬剤設計への貢献も期待されます。また、本研究で確立されたタンパク質の構造変化を迅速に解析する戦略は、MurD のみならず他のタンパク質に対しても幅広く応用可能であると考えられます。従来の薬剤探索・薬剤設計においては結合の有無の評価が主体であり、大きな構造変化が誘起されたことにより結合場所が形成されるような場合には非力です。本研究により確立された手法によって結合の有無のみではなくタンパク質の立体構造の変化をモニターすることが可能になり、今後の薬剤探索におけるブレイクスルーとなると期待されます。

お問い合わせ先

北海道大学未来創薬・医療イノベーション推進室 [広報担当：和田]

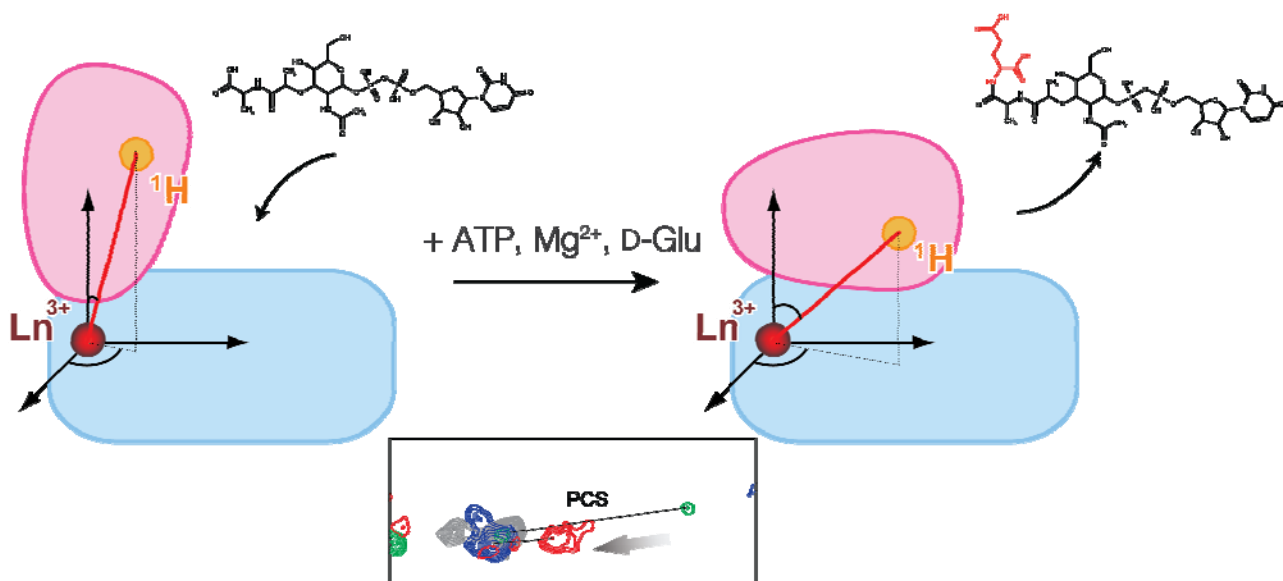
TEL : 011-706-7798 FAX : 011-706-7799 E-mail : innovation@cris.hokudai.ac.jp

ホームページ : <http://www.cris.hokudai.ac.jp/cris/innovahome/index.html>

【用語説明】

- 注1) MurD (ムルディ) : 細菌の細胞壁を構成するペプチドグリカン層を合成する酵素群の一つ。細菌に特有な酵素なので抗菌剤の作用点としても注目されている。
- 注2) 核磁気共鳴法 (NMR 法) : 強い磁場中でタンパク質中の核スピンを観測し、タンパク質の立体構造、動き、相互作用などを原子分解能で解析する手法。
- 注3) 常磁性ランタニドイオン : 希土類元素を構成するランタニド元素群のうち、イオン状態で常磁性を示すもの。常磁性効果をタンパク質の NMR 信号から観測することによって、ランタニドイオンを中心とした長距離間の立体構造情報を取得することができる。

【概念図】



MurDは基質であるUMAに対してATPのエネルギーを用いてD-Gluを付加することによって細菌の生育に必須であるペプチドグリカン層の合成を担う。その酵素反応の進行に伴ってその立体構造、特にドメイン3 (ピンク) のドメイン1-2 (水色) に対する配置が開状態から閉状態へと大きく変化する。私たちは常磁性ランタニドイオン (Ln³⁺, 赤球) をタンパク質に固定し、常磁性効果の一つであるPCSの変化を観察することによって立体構造変化を詳細に解析することに成功した。下部の枠に例示したNMRスペクトルにおいて、リガンド結合前のPCS (緑-灰の信号の位置のずれ) と結合後のPCS (赤-青の信号の位置のずれ) が大きく異なる。このPCSの変化によって立体構造の変化を鋭敏に観測することができる。