

(様式 1-2)
2019 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

提出日：2020 年 5 月 7 日

(2) 研究成果の概要

課題名		微生物由来ジペプチジルアミノペプチダーゼの構造機能相関	
研究代表者	氏名	阪本泰光	
	所属機関名・部局名	岩手医科大学・薬学部	
	職名	准教授	
事業名 (該当の事業名の右欄に○)		☐	共同研究員
		☐	超高磁場NMR 共同利用研究課題
		☐	クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題
		☐	客員フェロー
蛋白研受入担当教員名		中川敦史教授（研究室名：超分子構造解析学研究室）	
薬剤耐性菌による感染症の蔓延は、世界的な保健問題となっており、2016～2020 に薬剤耐性（AMR）アクションプランが実施されている。（WHO, 2015）このアクションプランで、抗菌薬に関する教育、疫学研究、衛生、適正使用、薬およびワクチン開発が挙げられている。本研究では、多剤耐性菌の起因菌の多くがペプチドを栄養源とするブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌(NFGNRs)であることに着目し、そのエネルギー取り込みおよび代謝機構を標的とする抗菌薬の開発を目指している。NFGNRs のジペプチジルアミノペプチダーゼ(DPP)は、菌体外のペプチドを細胞壁から取り込む際に、ジペプチドやトリペプチドとし、ペプチドや単体のアミノ酸よりも透過しやすい状態としている。ジペプチジルアミノペプチダーゼの遺伝子ノックアウト株ではその増殖が大幅に抑制されることが明らかにされた。これまで、DPP は抗菌薬の創薬標的とされたことはなく、本研究から薬剤耐性菌に対する新規作用機序の抗菌薬開発が期待される。研究代表者らは、共同研究が採択されて以来、微生物由来各種 DPP の構造解析に成功してきた。今年度は、超分子構造解析学研究室にて精製サンプルの評価、抗菌薬候補化合物との共結晶化条件の探索・最適化を行い、大阪大学生体超分子複合体構造解析ビームラインにて測定を実施した。また、これら、DPP 化合物複合体の構造生物学研究は、新規阻害化合物の設計・最適化を進めるための有用な情報となると考えられる。 本研究により得られた S46 ファミリーの DPP の立体構造に基づいて、昭和大学田中信忠博士らと化合物ライブラリから <i>in silico</i> 探索と神戸学院大学日高興士博士らと阻害化合物の設計および合成を実施し、一部の阻害化合物については、共結晶化と 30 セット以上の回折強度データの収集を実施し、複合体の構造解析に成功している（未発表）。これらの化合物は、S46 ペプチダーゼを持たない大腸菌には作用せず、NFGNR の一種の歯周病菌 <i>Porphyromonas gingivalis</i> や多剤耐性菌 <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> に対して数 μM 濃度で増殖阻害する選択的抗菌活性を示した。 現在、複合体構造から化合物の構造最適化を進めている。今後、最適化した化合物を用いてヒト由来細胞での毒性評価および有効濃度の検討を実施し、歯周病菌モデルマウス(新潟大学・野中博士により作製済み)による前臨床実験により抗菌薬としての有効性の評価を予定している。これらの研究の一部については、Fragment-based discovery of the first nonpeptidyl inhibitor of an S46 family peptidase.として <i>Scientific Reports</i> 誌に発表した。https://doi.org/10.1038/s41598-019-49984-3			