

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	構造生物学的アプローチによるディフィシル感染症の新規治療戦略				
研究組織	代 表 者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	橋本 博
	研究分担者	所属・職名	薬学部・准教授	氏名	原 幸大
		所属・職名	薬学部・講師	氏名	菱木 麻美
		所属・職名	薬学部・助教	氏名	淵上 壮太郎
	発 表 者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	橋本 博

講演題目
ディフィシル由来スライディングクランプと誤りがちな DNA 合成酵素との複合体の構造解析
研究の目的、成果及び今後の展望
【背景】<i>Clostridioides difficile</i> (ディフィシル) 感染症 (CDI) はグラム陽性桿菌ディフィシルを原因菌とする消化管感染症である。主症状は腸炎や下痢症であるが、重篤になれば死に至る。治療薬として用いられてきたバンコマイシンやメトロニダゾールは、耐性による薬剤感受性の低下や再発が問題となっている。最近では、ディフィシルの RNA 合成を阻害するフィダキソマイシンが標準治療薬として推奨されているが、アナフィラキシー反応が副作用として指摘されている。したがって、既存薬とは異なる作用点で薬効を示す CDI 治療薬の開発が急務である。欧米では CDI への関心が高く、政府主導の対策がなされている。しかし、日本では欧米と比べ CDI への社会的な関心が低く、医療機関や高齢者施設での感染拡大が危惧されている。 【目的】本研究ではディフィシルの DNA 複製系に着目し、構造生物学的アプローチによりタンパク質の立体構造と分子間相互作用のメカニズムを原子分解能で解明し、新たな CDI 治療薬開発に資する構造生物学的な知見を得る。具体的には、DNA 合成酵素の足場として働く「スライディングクランプ (DnaN)」および突然変異 (薬剤耐性) の原因である「誤りがちな DNA 合成酵素 (DinB)」を研究対象とする。それらの複合体の X 線結晶構造解析、生化学的相互作用解析、分子動力学シミュレーションによる動的構造解析に基づき、DnaN の足場機能及び DinB の誤りがちな DNA 合成を阻害するペプチドや化合物の構造基盤を得る。ディフィシル DnaN とヒトのスライディングクランプである PCNA (増殖細胞核抗原) および 9-1-1 (RAD9-RAD1-HUS1 複合体) とのアミノ酸配列の相同性は極めて低い。したがって、ヒトの DNA 合成や DNA 修復への影響がないディフィシル DnaN に特異的な阻害ペプチドの開発が可能であると考えている。 【成果及び今後の展望】ディフィシル DnaN と DinB ペプチドとの複合体の X 線結晶構造解析では、2.40 Å 分解能での構造精密化を進め、結晶学的信頼度因子 R および R_{free} 値がそれぞれ、0.207 および 0.249 である十分に精密化された結晶構造を得た。その構造に基づき、ディフィシル DnaN-DinB ペプチド複合体の水中での分子動力学シミュレーションを行った。5000 ns までのシミュレーションにおいて、DinB ペプチドは DnaN への結合を維持しており、X 線結晶構造解析で明らかとなった複合体構造が安定であることが示唆された。今後は DnaN と DinB との相互作用の時間変化を解析することで、動的な相互作用に関する知見を得るとともに、部位特異的変異を導入した DinB ペプチドと DnaN との複合体の分子動力学シミュレーションを行うことで、複合体形成におけるアミノ酸残基の寄与を検証する。