



平成 31 年 2 月 21 日

病原細菌の感染と薬剤耐性の獲得に関わる S-S 架橋形成メカニズム解明 ～病原菌を殺さずに無毒化する対感染症の新戦略～

◆発表のポイント

- ・抗生物質に対する耐性菌の存在は医療の大きな脅威となっており、耐性菌の発生を防ぐため、病原菌を殺さずに無毒化する新しい対感染症戦略が求められています。
- ・病原細菌は、感染や薬剤耐性の獲得の際などにべん毛や繊毛（注 1）といった巨大タンパク質構造物を使用しますが、それらを構築するのに必要な酵素 DsbA について、機能するメカニズムや、特徴的な深い溝構造を形成することを明らかにしました。
- ・多剤耐性の出現と拡散の根源的な解決に貢献することが期待できます。

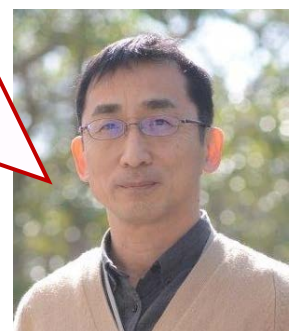
抗生物質に対する耐性菌の存在は医療の大きな脅威となっており、耐性菌の発生を防ぐため、病原菌に淘汰圧をかけずに無毒化する新しい対感染症戦略が求められています。

病原細菌はべん毛や繊毛、毒素注入器（注 2）などの巨大タンパク質構造物を細胞表面に構築して、宿主への感染、薬剤からの忌避、さらに薬剤耐性の異種間伝播に用いますが、その構築にはタンパク質分子内のシステイン残基間に正しくジスルフィド(S-S)架橋を作る仕組みが必要で、酵素 DsbA がその役割を担います。岡山大学大学院環境生命科学研究科（農）の田村隆教授は、DsbA の酸化力をチューニングするタンパク質工学の技術を開発して、酸化力の異なる DsbA を発現させた大腸菌による F ピリ（性繊毛）形成量を調査しました。その結果、DsbA が高い活性を発揮するための要件として、基質に結合する際に深い溝が形成されることを明らかにしました。この成果は 2018 年 12 月 18 日に欧州の国際学術誌「*Biochimica et Biophysica Acta - Proteins and Proteomics*」のオンライン版に掲載されました。

本研究で同定された DsbA の構造変化を製薬の標的とすれば、病原菌を殺さずに病原性因子を解体させることが可能になります。この発想は、社会的問題化している多剤耐性の出現と拡散を根源的に解決できると期待できます。

◆研究者からのひとこと

DsbA 研究は 2000 年に着手した課題で、18 年間の研究を経て 1 つの論文になりました。修論研究生 5 人と卒論研究生 2 人のリレーで続けてきました。データが蓄積するほど謎は深まり、立てた仮説がことごとく打ち砕かれる期間が長く続きました。ある時、自分も含めてこの分野の研究者が見落としている巨大な溝が存在することに気づいたのです。そして岡山大学情報統括センターのスパコンを駆使して、実験の結果を説明できる溝形成の仕組みやその容積を明らかにすることができました。溝が出現する仕組みは病原菌を殺さずに無毒化させる「酵素の鍵穴」として役立つのです。



田村教授



PRESS RELEASE

■発表内容

<現状>

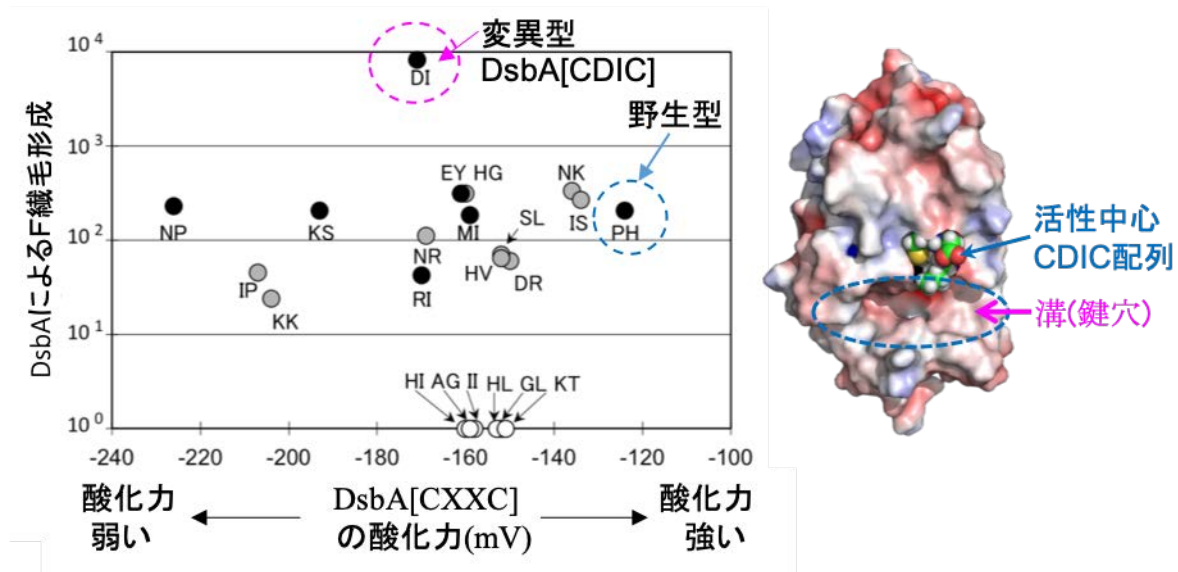
抗生物質の開発とそれに対する耐性菌の出現は終わりにきいたちごっこであり、医療に対する大きな脅威となっています。新しい薬剤を投入しても速やかに耐性菌が出現する要因は、抗生物質が病原菌を殺すために生じる強い淘汰圧であるといわれます。耐性菌を克服するために、病原菌を殺さずに無毒化する新しい対感染症戦略が求められています。

<研究成果の内容>

病原細菌はべん毛や繊毛、毒素注入器（注2）などの巨大タンパク質構造物を細胞表面に構築して、宿主への感染、薬剤からの忌避、さらに薬剤耐性の異種間伝播に用いますが、その構築にはタンパク質分子内のシステイン残基間に正しくジスルフィド(S-S)架橋を作る仕組みが必要で、酵素 DsbA がその役割を担います。田村教授は、この DsbA に着目して研究を行いました。

生体内の酸化・還元を司る酵素の一種 DsbA は Cys-Xaa-Xaa-Cys（Cys：システイン残基、Xaa：何らかのアミノ酸残基）という構造を持つチオレドキシシン(Trx)ファミリー（注3）に属し、Xaa-Xaaに入る2つのアミノ酸残基によって酸化力が決定されます。田村教授は大腸菌 DsbA が持つ Cys-Pro-His-Cys（Pro：プロリン、His：ヒスチジン）配列の Pro-His をランダムに変異させて DsbA の細胞内機能を最適化する技術（レドックス・チューニング技術）を開発しました。そして、酸化力の異なる DsbA を発現させた大腸菌による F ピリ（性繊毛）形成量を調査した結果、Cys-Asp-Ile-Cys（Asp：アスパラギン酸、Ile：イソロイシン）という配列を持つ DsbA[CDIC]が、通常存在する野生型よりも40倍高い活性を持つことを発見しました。意外なことにその酸化力は野生型 DsbA よりも低く、ジスルフィド異性化酵素の酸化力に該当しました。従来、DsbA は Trx ファミリーの中で最も強い酸化力を持ち、DsbA が機能するにはその高い酸化力が必須だと理解されてきました。しかし DsbA の働きに強い酸化力は必須ではなく、より重要な要因が別にあることが示唆されました。

その隠された要因を探求した結果、DsbA が基質（酵素が作用する対象）と結合する際に形成される巨大な溝の形状と容積が重要であることを発見しました。酵素が基質に結合する現象は鍵（基質）と鍵穴（酵素の溝や凹み）によく例えられますが（注4）、X線結晶構造解析データとスーパーコンピュータを活用した分子動力学計算（注5）により、酸化力が同じであっても DsbA の鍵穴構造は大きく異なっており、大きな容積を持つ鍵穴構造が高い活性をもたらすことが示されました。



<社会的な意義>

DsbA は細菌の生存に必須ではなく、*dsbA* 遺伝子の欠失や薬剤でその働きを止めても細菌は死滅しません。今回の研究成果は、病原性細菌が持つ DsbA の鍵穴に強く結合して、細菌のタンパク質複合体の構築を停止する新しい薬剤の開発を可能にします。本研究で開発された構造計算手法を活用すればアミノ酸配列から病原菌 DsbA の立体構造と溝の形状計算が可能です。この戦略では淘汰圧が発生するリスクは極めて低く、病原菌と人類のいたちごっこに終止符を打つことができます。

■論文情報

論文名： Redox-tuning of oxidizing disulfide oxidoreductase generates a potent disulfide isomerase

掲載紙： *Biochimica et Biophysica Acta - Proteins and Proteomics*

著者： Shinya Sutoh, Yuko Uemura, Yuko Yamaguchi, Asako Kiyotou, Rena Sugihara, Makiko Nagayasu, Mihoko Kurokawa, Koreaki Ito, Naoki Tsunekawa, Michiko Nemoto, Kenji Inagaki, Takashi Tamura

DOI： doi.org/10.1016/j.bbapap.2018.12.005

URL： <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1570963918302140?via%3Dihub>

■研究資金

本研究は、独立行政法人日本学術振興会（JSPS）「科学研究費助成事業」（基盤 C・21580112、挑戦的萌芽 15K14695、研究代表：田村 隆）、国立研究開発法人科学技術振興機構（JST）戦略的創造研究推進事業さきがけの支援を受けて実施しました。

■補足・用語説明

注1： 繊毛・べん毛

細菌が形成する短いヒゲ状の繊維が繊毛で、F ピリ(性繊毛)は種を超えて遺伝子を伝播する。べん毛は長いムチを回転させてプロペラ駆動力をもたらす。



PRESS RELEASE

注2：毒素注入装置:

病原菌が、感染する宿主細胞にエフェクターと呼ばれる毒素タンパク質を打ち込む仕組み。

注3：チオレドキシンファミリー

活性中心に共通配列 C-X-X-C を持ち、よく似た立体構造を持つ一群のタンパク質。還元力の強いチオレドシキン(CGPC 配列)、酸化力の強い DsbA(CPHC 配列)、さらにこの2つの中間の電位を持つ、誤った S-S 架橋を修正する DsbC(CPYC 配列)などがある。

注4：鍵と鍵穴

酵素は自らが作用する分子を選別して結合して、その触媒能を発揮すると考えられている。これを酵素の作用を受ける分子(=基質)を鍵、鍵を選別する酵素を鍵穴と例えられる。

注5：分子動力学計算

分子を構築するすべての原子間力をパラメータとして入力して常温、水溶液中でタンパク質がどのような立体構造に収束するかをスーパーコンピュータにより計算する手法。

<お問い合わせ>

岡山大学大学院環境生命科学研究科

教授 田村 隆

(電話番号・FAX) 086-251-8293・086-251-8388



岡山大学は、国連の「持続可能な開発目標 (SDGs)」を支援しています。