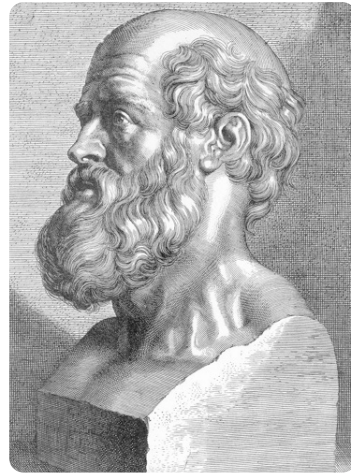


バイオマテリアル基礎論

第一回

名古屋大学
シンクロトロン光研究センター
渡邊信久



ヒポクラテス：(紀元前460年 - 紀元前377年)

シンクロトロン光研究センターの渡邊です。生物機能の方では鈴木先生同様にX線結晶構造解析を、シンクロトロンセンターの方では施設や装置の設計をしています。

今回は、これから3回「バイオマテリアル基礎論」の授業を担当します。鈴木先生の講義で教わった蛋白質等のX線結晶構造解析を応用する例として「薬」をテーマに話をしようと思います。

(ホームページのことを訊いてみる?)

医薬品開発 と 結晶構造解析

という訳で始めましょう。

医薬品の開発、つまり創薬とX線結晶構造解析の関係を色々見ていくことにします。

背景：うちの研究室と創薬

(独) 国立病院機構 名古屋医療センター



感染・免疫研究部 部長 杉浦 互

(名古屋大学大学院 医学系研究科

分子総合医学専攻 免疫不全統御学講座)

新規抗HIV薬を目指した研究

最初に、とりあえずそんな話をする背景をちょっとだけ話しておく、うちの研究室では、名古屋医療センターの杉浦先生の所と共同研究として、新規の抗HIV薬の開発を目指して、関連蛋白質の構造研究をしています。

たぶん、内容については3回目に少し紹介します。M1の皆さんに宣伝してもあまり意味は無いのかも知れません。 . . .

中日新聞
2009年7月3日朝刊



新型インフル
国内初タミフル耐性
40代女性の2週間公表せず

厚生労働省は、大分県で感染が確認された40代女性の新型インフルエンザウイルスが、大分県から輸出されたという報告を受け、このウイルスは別の遺伝子型を有しているとして、大分県に限り、既に回復した患者にのみ、タミフル耐性を示している。大分県は、六月八日、この患者の家族への感染が確認されたことを発表し、大分県に限り、既に回復した患者にのみ、タミフル耐性を示している。大分県は、六月八日、この患者の家族への感染が確認されたことを発表し、大分県に限り、既に回復した患者にのみ、タミフル耐性を示している。

大分県は、六月八日、この患者の家族への感染が確認されたことを発表し、大分県に限り、既に回復した患者にのみ、タミフル耐性を示している。

大分県は、六月八日、この患者の家族への感染が確認されたことを発表し、大分県に限り、既に回復した患者にのみ、タミフル耐性を示している。

大分県は、六月八日、この患者の家族への感染が確認されたことを発表し、大分県に限り、既に回復した患者にのみ、タミフル耐性を示している。

さて、始めましょう。

これは2009年の7月3日の中日新聞の朝刊の一面に載った記事です。工学部でも患者が出て騒がれていた新型インフルエンザにも、既にタミフル耐性を獲得した変異型ウイルスが発見されたというものです。みなさんも良くご存知のように「タミフル」はインフルエンザの特効薬として開発された薬です。さて、ではそのタミフル耐性ってどういうことでしょうか？

(何人かに訊いてみる)

そういうことがちゃんと分るように、というのがこの授業の一つの目標でもあります。まあ、既にそんなことは皆さん常識だ、ということかも知れません。そうだとすると復習のつもりで参加して下さい。



さて、X線構造解析と薬の開発のことを話す前に、もうちょっと復習してみましょう。

そもそも「薬」とはなんですか？

(何人かに質問する)



広辞苑によると：薬とは「病気や傷を治療・予防するために服用または塗布・注射するもの」ということです。では、いったいなぜ「薬」は「薬」なんですか。そんなことは既に分り切っている？

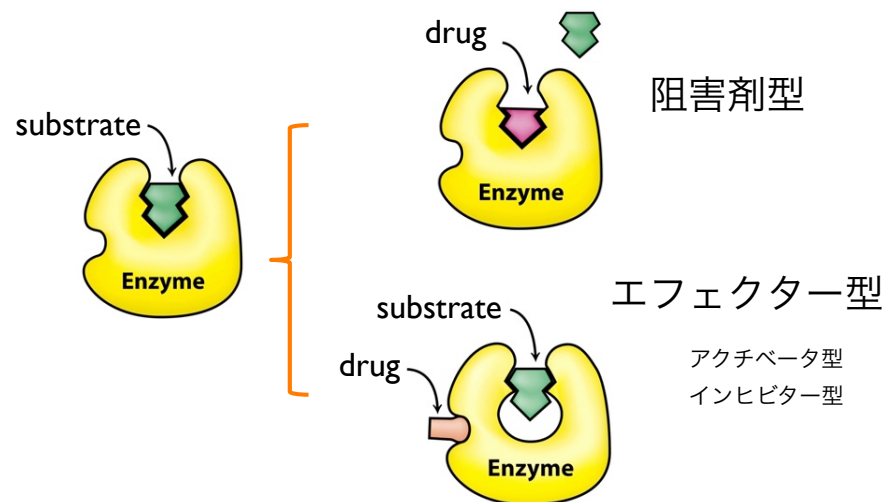
じゃあ、薬の副作用とはどういうことでしょうか？

(何人かに訊いてみる)

この授業では、そんなことをX線結晶構造解析と結び付けて議論したいと思います。

話を進める前に、やはり復習ですが、まず最初に薬が働くメカニズムの簡単な整理をしておきましょう。

薬のメカニズム



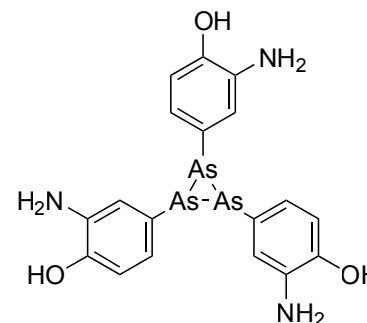
薬は、酵素等の生体高分子に作用します。おおざっぱに言って**酵素阻害剤**として働くものと、何等かの方法で**酵素の活性調節をするもの**があるかと思えます。この絵はストライヤーの生化学の教科書の絵をちょっと改造したのですが、上の例のように阻害剤として標的蛋白質の活性部位に直接結合して、肝心の基質を結合出来なくしたり、あるいはこのように例えば酵素のどこかに結合してアロステリックに活性部位の構造を変えて酵素の活性を上げたり下げたりするようなものがあります。

従って、薬が標的とする蛋白質などの生体分子が、体内でいったいどういうふうにいるかを知っていると、**論理的に薬を開発することも出来そう**だと想像出来ると思います。その辺の話は今回の授業の後半で紹介しようと思っています。

実際はともかくとして、書類上は我々は大講座制を取っていて、石原研と堀研とうちで生物機能の「バイオマテリアル講座」というのですが、石原研は有機合成ですしメディシナルケミストに進む人が居るのかもしれない。うちは蛋白質の構造研究ですので、創薬ターゲットとなる蛋白質の構造解析をする人が居るのかも知れない、という訳です。

抗菌物質の探索の歴史

1910年：Salvarsan = Salvator + arsenic



Paul Ehrlich & 秦佐八郎

1945年に penicillin に代るまで使用された

X線構造解析などまだない時代から薬は発見されて利用されて来ました。最初にその歴史を見てみます。「**薬**」の歴史的なイメージをつかんで下さい。(しばらく蛋白質の構造は出て来ません)

エーリッヒは、コッホの研究室で細菌の染色の研究を行っていました。メチレンブルーが動物の神経組織を染色することが知られていました。もしも細菌を選択的に染色する色素に毒素を導入すれば細菌を選択的に殺せる抗菌薬ができるのではないかと考えたそうです。当時盛んになったドイツの**合成化学の力**を利用し、フランクフルトで砒素毒を参考に**多数の薬剤の合成をして試し**、**606番目**にサルバルサンという抗菌作用を持つ化合物を発見しました。横に写っているのはサルバルサンと一緒に開発した日本人**秦佐八郎**です。

この化合物はスピロヘータが原因の梅毒等に有効で、名称は「救世主」+砒素化合物という意味の造語です。砒素化合物なので、今では薬として使用することは考えられませんが、1945年ころ、ペニシリンが使えるようになるまで使用されました。ペニシリンの話はあとで出て来ます。

chemotherapy (化学療法)

magic bullet (特效薬)

病原性微生物の標的分子に選択的に結合
宿主の組織には結合しない化合物

エーリッヒの始めたことは、薬剤で病原菌と戦う**化学療法**です。

特に、病原菌の標的分子のみに選択的に結合して機能を阻害し、宿主(ヒトですね)の組織には結合しない化合物があれば、それは「**特效薬**」「**magic bullet**」「魔法の弾丸」になるという提案は、その後の抗生剤の探索の基本概念でした。

後で話すような耐性菌・耐性ウィルスの出現という問題から、もしかしたら、これはそろそろ考えなおす必要があるのかも知れませんが、今のところこれは創薬の基本概念だと思います。

抗菌物質の作用メカニズム

病原菌の

- 細胞壁合成阻害
- 固有の物質生産経路阻害
- 独自の蛋白質の合成阻害
- 核酸合成阻害
- 細胞壁破壊

以来、エーリッヒのいう「特效薬」として、色々な抗菌物質が発見され利用されます。これらは病原菌に対してのみ毒として機能して、我々人間には影響が無いこと、つまり**選択毒性**を持つことが望まれますが、そのためには**病原菌の細胞膜合成系やその他にも固有・独自の反応経路の阻害剤が良い**だろうということになります。

例えば我々動物には分厚い細胞壁がありませんから、その合成を阻害したり、あるいはそれを選択的に破壊するような薬は病原菌に対してのみの「**選択毒性**」を持つと考えられ、都合が良いわけです。他にも、病原菌にだけあって、我々動物には無いような重要な酵素があれば、それを阻害してしまうことが出来れば、やはり「**選択毒性**」を持つ薬になります。

抗菌物質の発見の歴史

- 細胞壁破壊 Lysozyme 1922
- 細胞壁合成阻害 Penicillin 1928
- 核酸合成阻害 Proflavine 1934
- 物質生産経路阻害 Prontosil 1935
- 蛋白質の合成阻害 Streptomycin 1944

そのようにして、次々と「抗菌物質」が発見され、治療に利用されて来ました。

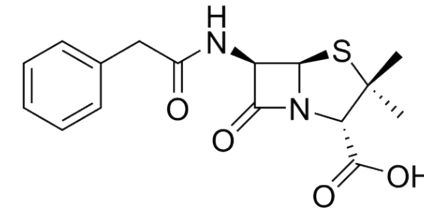
リゾチームは蛋白質なので今日の話では例外ですが、その他の化合物は、それぞれ左に書いた経路の阻害剤、つまり「特効薬」として発見されました。

(いくつか聞いたことがありますか?)

有機合成屋さんの卵も居るはずですし、ちょっと歴史を辿って、これらの薬の構造を見てみましょう。リゾチームは省略します。

Penicillin

細胞壁合成阻害



1928年：Sir Alexander Fleming が
Penicillium notatum から発見

1940年：Florey & Chainが大量精製に成功

最初はペニシリンです。

培地にコンタミネーションしているカビのコロニー周辺には黄色ブドウ球菌が生えない、ということから1928年に Fleming が発見しました。これは非常に有名ですね。ただ、安定に大量精製することが出来ず、実際には1940年になって、ようやくフローリーとチェインが単離に成功し、さらに1942年にここに構造が描かれているベンジルペニシリン (ペニシリンG)が実用化され、薬としての本格使用が始まります。ちょうど第二次世界大戦もあったので、この薬でたくさんの負傷兵が助かったようです。

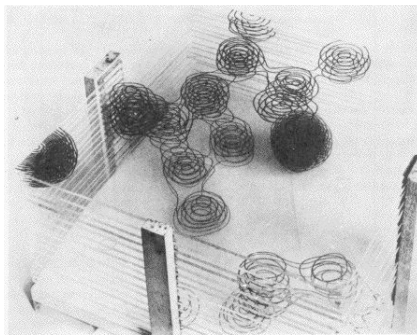
ペニシリンは細菌のペプチドグリカン合成酵素(ペニシリン結合タンパク：PBP) と結合し、その活性を阻害します。分子メカニズムとしては酵素の活性部位に結合しβラクタムが開環されて酵素の活性中心のセリン残基に結合してしまうのですが、そのへんの詳細はまた後で見ます。

その後、βラクタム系の化合物がたくさん開発されて使用されています。そのことも、耐性との関係の議論で、あとで見ることにします。

Dorothy Crowfoot Hodgkin



© Bettmann/CORBIS



A great advantage of X-ray analysis as a method of chemical structure analysis is its power to show some totally unexpected and surprising structure with, at the same time, complete certainty.

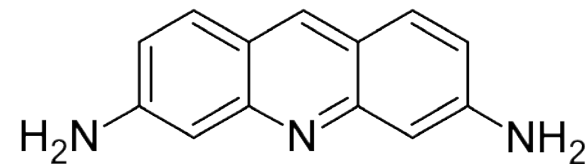
Nobel Lecture (11 Dec 1964)

ちょっと余談ですが、ペニシリン自体の構造解析にも「歴史」があります。

ペニシリンの構造は1949年にドロシー・ホジキンによってなされています。1966年にノーベル賞を受賞しています。彼女はその後1969年にインシュリンの構造解析にも成功し、現在のX線結晶学の基礎を作った一人です。(私の先生の先生です)。

Proflavine

核酸合成阻害



1934年：皮膚の深部の傷の感染に有効
(局所感染にのみ有効)

話を戻しましょう。次はプロフラビンです。

これは1934年から細菌の局所感染に使用されます。いわゆる「消毒薬」ですね。

(全身感染症には使えないのはなぜ?)

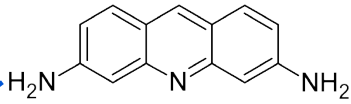
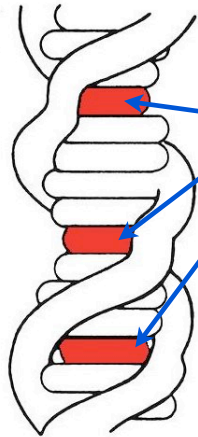
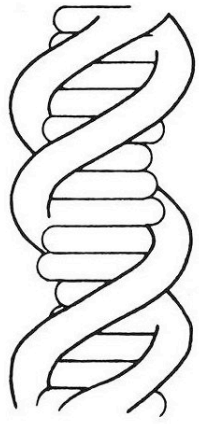
これらの薬は核酸の合成阻害をするだけなので、我々人間のDNAにも働くので、非常に危険なのです。これも、やはりメカニズムを見ると良く分ります。

(浅沼研の人は居るのかな? メカニズムはどういうことだ
と思う?)

Proflavineのメカニズム

正常なDNA

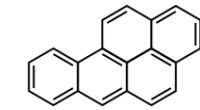
結合したDNA



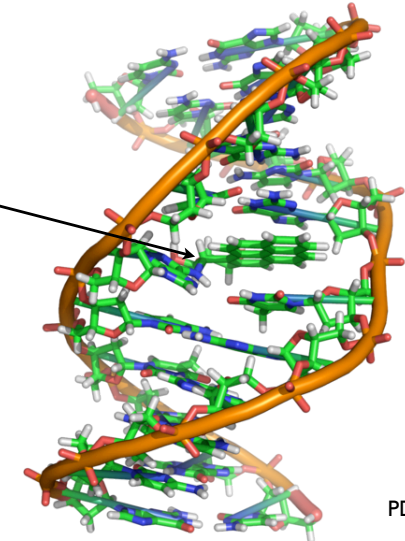
J. Cell Comp. Physiol, 64, suppl.1 (1964)

これらの薬は、この右の図のようにDNAの塩基対の間にインターカレートして、DNAを歪ませることで、病原菌のDNAの複製を阻害します。

Proflavineのメカニズム



benzopyrene



PDB ID: 1jdg

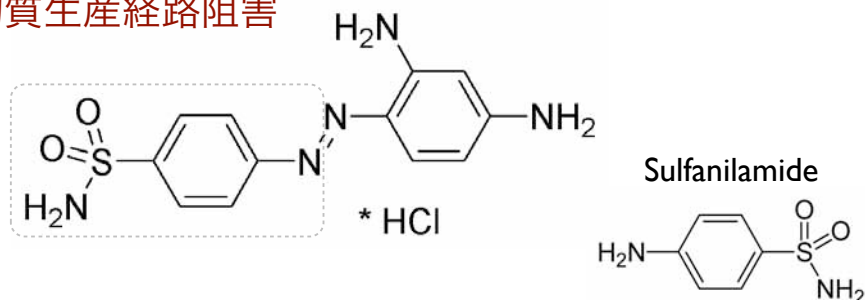
Biochemistry, 40, 5870 (2001)

ベンゾピレンがDNAにインターカレートしている構造が解析されています。

全身感染の病原菌の増殖を阻害するほどの濃度で、これらの薬品を摂取したら、ちょっと問題になりそうなことが分るかと思います。 . . .

Prontosil

物質生産経路阻害



葉酸合成経路のジヒドロプテロイン酸合成酵素を阻害

1935年：Domagkが発見。

prodrug 実際の抗菌作用はSulfanilamideによる。

次の例は、**病原菌の物質生産系の阻害剤**です。葉酸はビタミンM(あるいはビタミンB9)ですから病原菌は自前で合成しますが、人間は合成出来ません。

(これはいいのかな? だから何がいいの?)

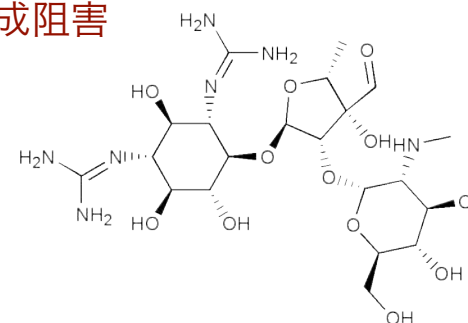
ですから、この合成経路は病原菌にのみあってヒトにはないので、ここを阻害する化合物は選択毒性を持つ「特効薬」になる可能性があります。

プロントジルは1935年にドーマクが発見しました。実際には体内で分解されて生じるスルファニルアミドが効力の本質であり、プロントジルは**世界初の「プロドラッグ」**ということになります。

葉酸合成経路の阻害剤の話も分子レベルのメカニズムを、また後で見ます。

Streptomycin

蛋白質合成阻害



結核の治療に用いられた最初の**抗生物質 antibiotic**

1944年：Waksmanらが *Streptomyces griseus* から単離

アミノグリコシド系抗生物質の幕開け

歴史探検の最後は、蛋白質合成、つまりリボソーム阻害剤です。

(リボソームって大丈夫?)

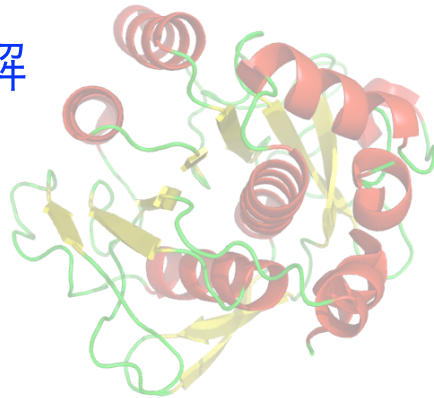
ストレプトマイシンは結核の治療に用いられた最初の抗生物質で、バクテリアのリボソーム上の23S rRNA に結合し、バクテリアの代謝を担うあらゆるタンパク質の合成を阻害します。バクテリアのリボソームとヒトのリボソームは構造が違うので、選択毒性を期待することが出来ます。

1943年、ラトガース大学のワクスマンの研究室の卒業研究生シャッツによって最初に単離されました。**抗生物質 Antibiotic**は**ワックスマンの造語**です。結核の治療に用いられた最初の抗生物質です。これで1952年にワクスマンはノーベル賞を受賞します。シャッツの寄与の評価は訴訟にまで発展しました。

このあと、カナマイシン、ゲンタマイシンなどのアミノグリコシド系抗生物質が開発されます。

結晶構造解析と創薬の関係

1. 構造情報の無い時代
2. 薬の機能の理解
3. 薬の設計

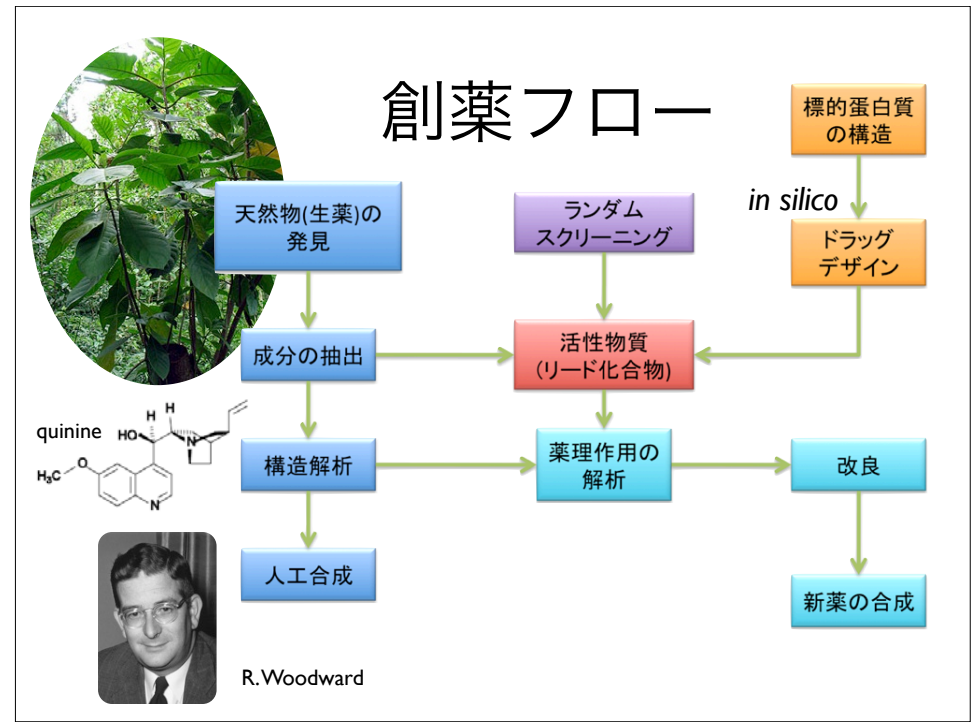


さて、X線結晶構造解析と薬の開発の関係ですが、今迄見て来たような時代、つまり1980年代以前はX線結晶構造解析による標的蛋白質の構造情報はありません。

構造情報が無いというよりも、どんな蛋白質が病気に関連しているか、標的蛋白質そのものが不明の時代です。薬の開発は、要は病原菌が死ねば良い、ということで**経験的なテスト**(つまり膨大な**トライ&エラー**)が必要だったわけです。さきほど見たエーリッヒのサルバルザンは**E606**でしたが、606もの化合物を次々に合成しては、その殺菌力をテストした、あるいはする必要があったということです。

1980年代(皆さんが生まれる少し前?)になって、X線結晶構造解析の技術が進み、標的蛋白質の構造解析が可能になる時代が始まります。最初のうちは、構造情報は薬の機能を分子レベルで理解、確認することと、それを元にして改良することに使われました。そして、さらに近年では、新しい標的蛋白質の構造情報から、**論理的に薬剤設計**をしようということになっています。

創薬フロー



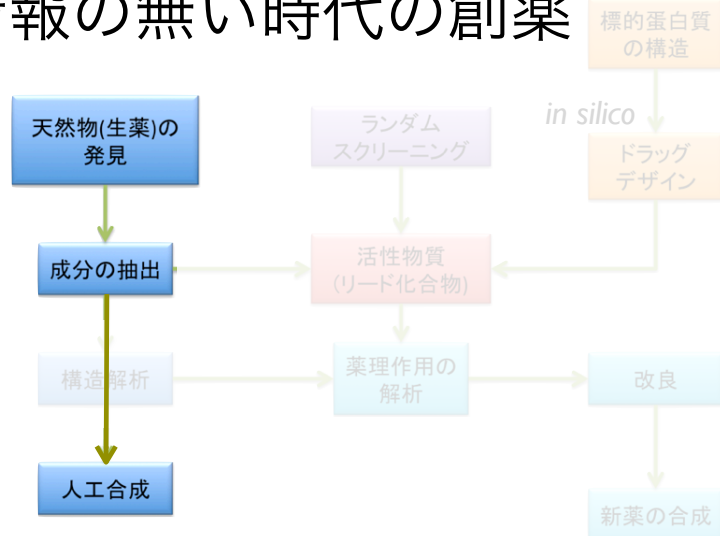
このスライドは、薬の開発つまり創薬のおおざっぱな流れを描いてみたものです。

一番左の縦列が**歴史的な創薬手法**です。例えば、マラリアの薬の**キニーネ**は、キナという植物の樹皮(皮)に含まれていて、アンデスの住民はこれがマラリアに効くことを知っていたわけです。それが1630年ごろ宣教師に伝わり使われていました。1820年に精製され、1908年に構造が解析されます。1944年に全合成に成功したのはウッドワード・ホフマン則で有名なウッドワードですね。

それに対して、標的蛋白質が明らかになると、化合物データベースを使って総当たりのランダムスクリーニングで活性物質を探る時代が来ます。さらには、そういうスクリーニングを計算機上(つまり*in silico*)でやっつけてしまおうということも出きます。

これから、この流れを見ていくことにします。ただし、個々の構造のことはすぐに忘れてしまいますから、この話の大きな目的は、やはり「薬」とはどういうものなのかという概念を深めていくということかなと思います。

構造情報の無い時代の創薬



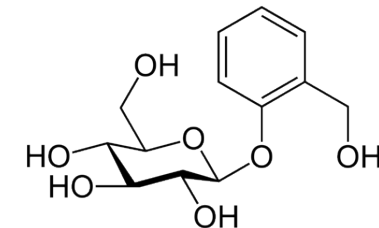
さて、最初は構造情報などまだ得られない時代の創薬です。さっきまでもいくつか例を見ていますが、こんど見るのは、さっきの流れ図に沿って言うところの部分のことというつもりです。

構造情報の無い時代の薬の改良

ヒポクラテスの時代：ヤナギの樹皮=鎮痛剤



1820年：成分 salicin の解明

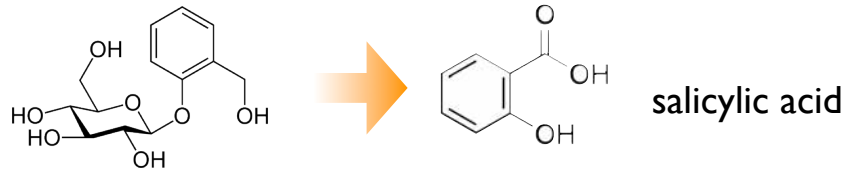


非常に苦い!

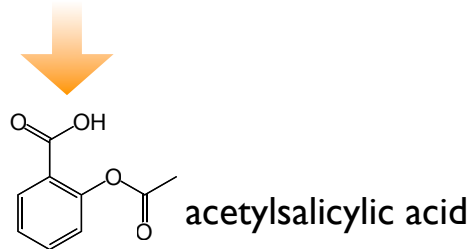
例として見てみようとしているのはアスピリンです。アスピリンについては、実はまた後で、もう一度見ますが、ここでは「構造情報」の無い時代の話です。一番最初のスライドに出て来たヒポクラテスの時代から、ヤナギの木の皮には鎮痛作用があることが知られていました。爪楊枝が柳の小枝で出来ていることにも意味があった訳です。

「柳が効く」けど、なんでかはずっと不明で、1820年になって、やっとサリシンという化合物である、ということが分ります。ところが、このサリシンは非常に苦く、そのまま薬として服用するのはちょっと無理らしいです。

構造情報の無い時代の薬の改良



1899年：Bayer社が
Aspirinとして発売



年間消費量4万トンの超ロングセラー医薬

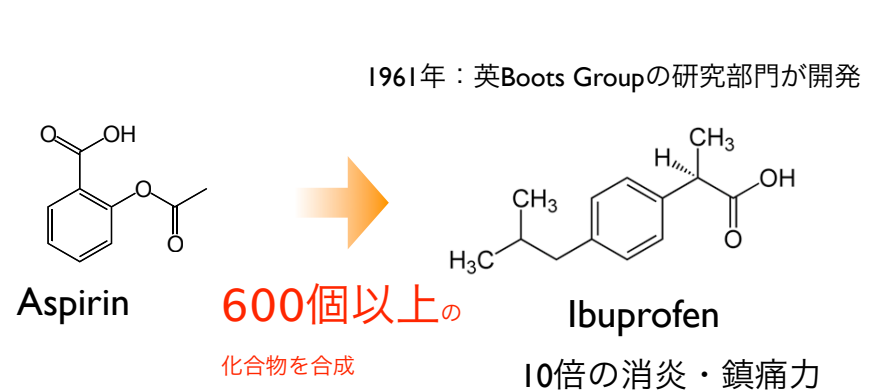
代替えとなる化合物としてサリチル酸が探され、合成法も確立されます。ただしpKaが2.97で結構強い酸で、胃が荒れて腹膜炎になってしまうのでそのまま飲むことが出来ないという問題が生じました。

(pKaって大丈夫だね?)

そこで、バイエル社で、酸性を弱め、服用することができるようにしたものがアセチルサリチル酸(商品名はアスピリン)です。pKaは3.49です。これは世界で初めての人工合成された医薬品ということになります。この改良は薬の酸性度を弱めようということを実施されたもので、後で見ていく標的蛋白質の構造を元にしての改良とはちょっと違います。まだ標的蛋白質の構造情報が使えない時代のことです。

アセチルサリチル酸はバファリンとかケロリンに含まれていて、現在でも非常に一般的な薬ですね。なんでも年間4万トン(ちょっと想像出来ませんが)も消費されているそうです。

構造情報の無い時代の薬の改良



胃に優しくなったとはいえ、アスピリン(アセチルサリチル酸)も胃潰瘍になります。

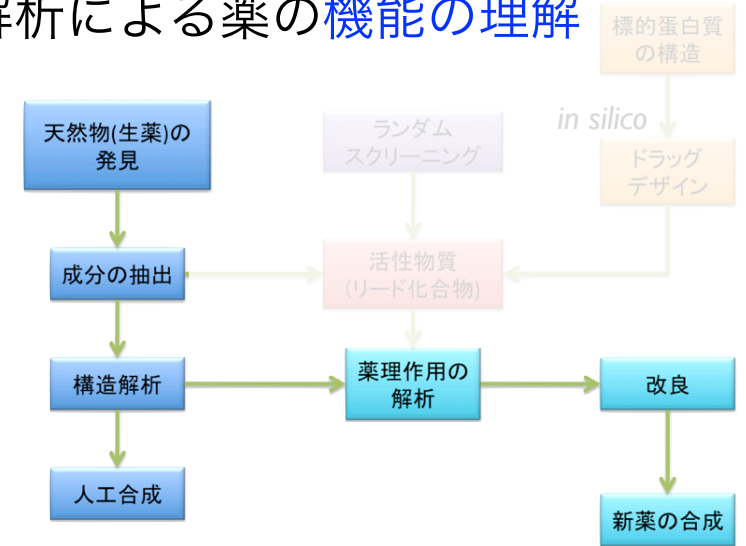
その後、イギリスの製薬会社の研究員たちは、600個以上の化合物を合成して、動物実験や臨床試験で何度も失敗を繰り返しながら、地道に新薬開発を続けました。その結果、イブプロフェンという化合物を見つけ出すことができました。イブプロフェンは、アスピリンよりも数十倍少ない投与量で効果を示し、副作用も少ない優れた薬だと考えられました。慢性関節リウマチや、炎症によって起こる痛みや発熱にも効果があり、さまざまな病気の患者さんに使われています。エスタックイブにも含まれています。アスピリンと標的蛋白質の構造との関係については後でもう一度見ることにします。

なぜ薬は薬なのか?



さて、今、アスピリンやイブプロフェンの例で見たように、標的蛋白質の構造情報が得られない時代にも、**手探りの試行錯誤で医薬品の開発・改良**がされて来ました。次は、やっと、標的蛋白質の構造情報が得られる時代の話です。**なぜ「薬」は「薬」なのかが分子レベルで理解出来るようになる時代**の話です。これは純粋に学問的な興味もあるし、それを利用した薬の改良も進むようになります。

構造解析による薬の**機能**の理解



さっきの流れ図でいうと、医薬品が開発された後、標的蛋白質との複合体構造を解析することで、**薬品の作用の分子メカニズム**が解明されます。つまり、複合体の構造が解析されるようになって、なぜ「薬」は「薬」なのかが実際に分子レベルで理解出来るようになった訳です。ここでは、いくつか抗菌剤の例を見てみましょう。**(抗菌剤の開発のポイントは何でした?)**

抗菌物質探索のポイント

病原菌等にあって、
ヒトにはない経路の選択

(例) ビタミン

細菌は
自前で合成

⇔

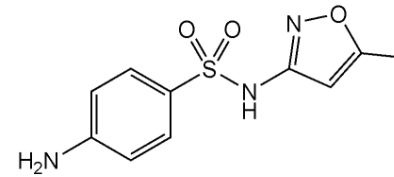
動物は食物から
摂取する

エーリッヒのサルバルサンのところでも話しましたが、病原菌に対する薬、抗菌剤、抗菌物質の基本は「病原菌に特有で、ヒトには存在しないような経路」を選んで阻害するような化合物をみつけると、それは「特效薬」になるということです。

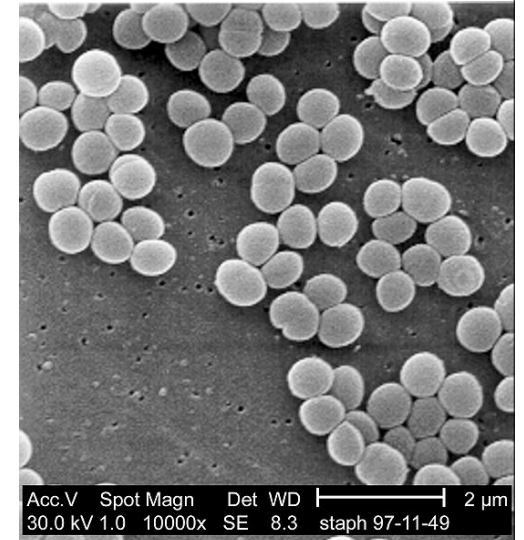
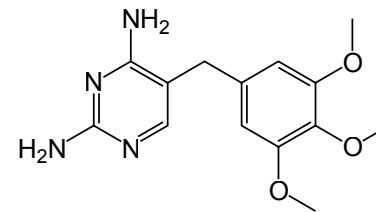
例えば、ビタミン合成系は動物にはありませんからうってつけです。

ここでもプロントジルの時にみた葉酸合成・代謝系の例でみていきます。

Sulfamethoxazole と Trimethoprim

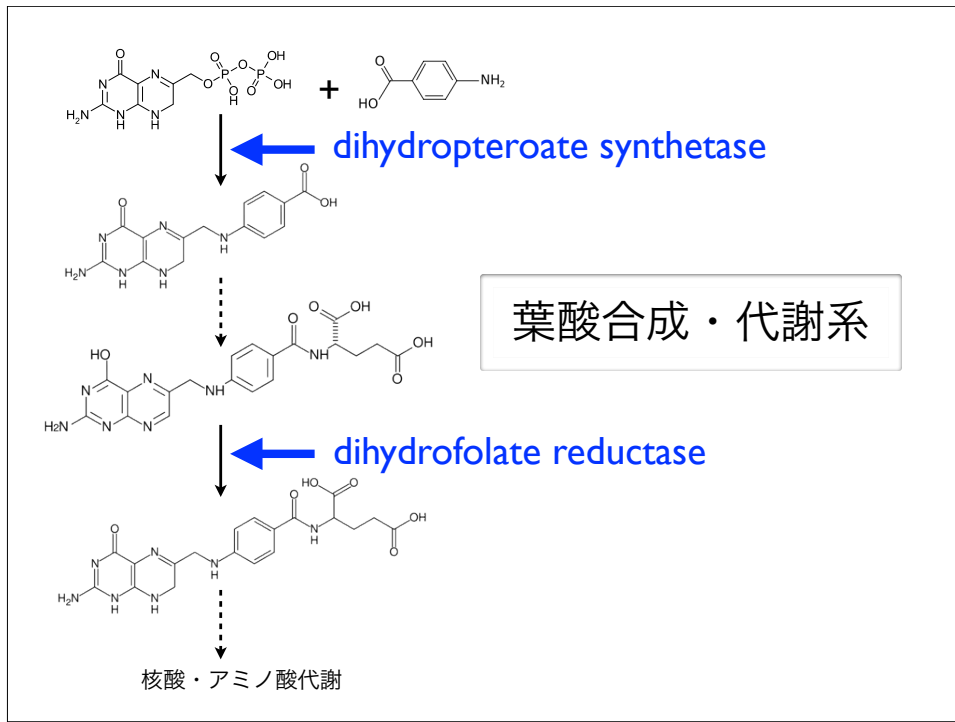


ST合剤



最初に見る薬はスルファメトキサゾールとトリメトプリムです。尿路感染症の予防や治療に、静菌性の抗菌剤として使用されています。これは黄色ブドウ球菌の写真ですが、こういう病原菌がターゲットです。

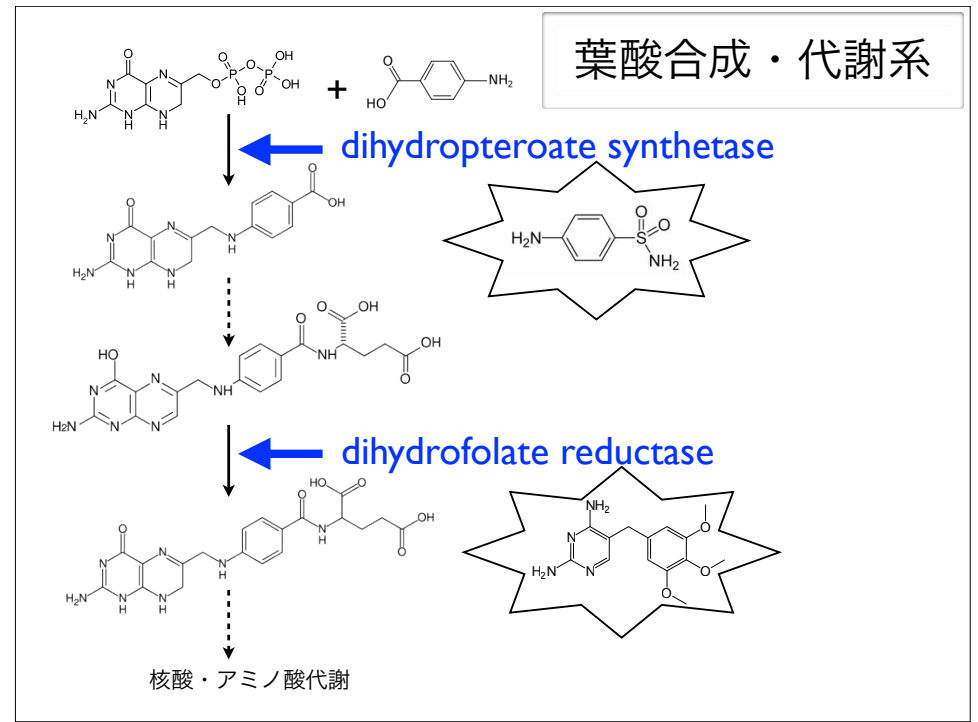
スルファメトキサゾールはさっき出て来たプロントジルと同様に、体内では分解されてスルファミンとして働きます。これらは総括してサルファ剤と呼ばれています。なお、一般的には、この2つを組み合わせ「合剤」として使用されています。そうすることで抗菌スペクトルが広がります。頭文字を取ってST合剤ですね。



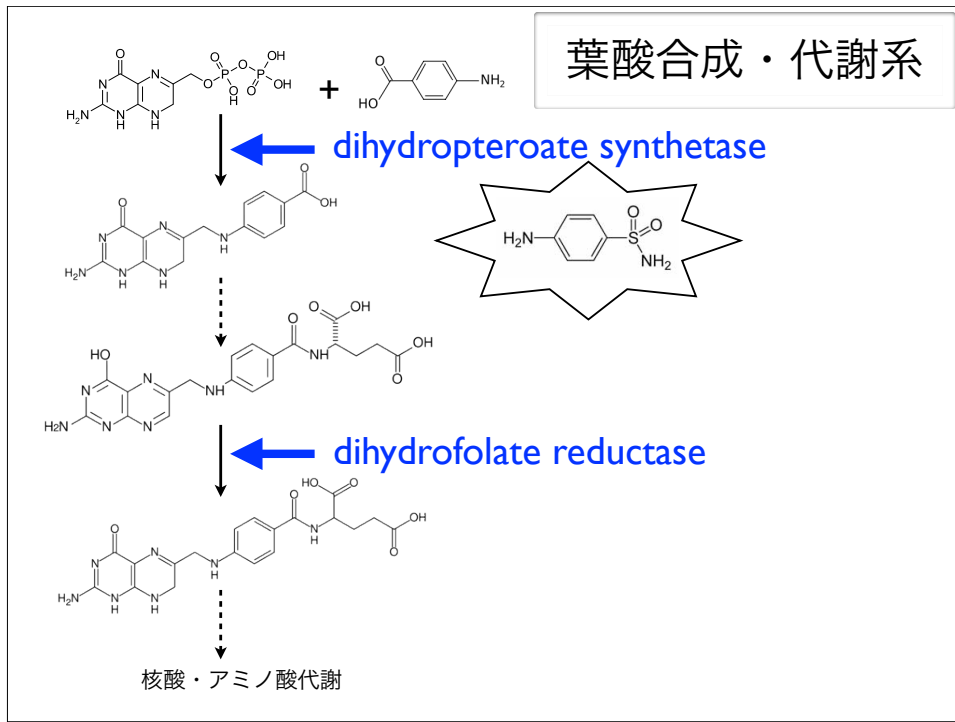
これは、葉酸の合成および代謝系の一部の経路を描いた図です。

この後は、核酸合成系やアミノ酸代謝系につながります。従って、バクテリアの生育にとって重要な物質の生産経路ということです。

しかも、ヒトには上半分の葉酸合成系は無いので、この阻害剤は「特効薬」だということになります。



ST合剤のうち、スルファメトキサゾール(サルファ剤)がジヒドロプテロイン酸合成酵素を阻害し、トリメトプリムはジヒドロ葉酸還元酵素を阻害する薬です。

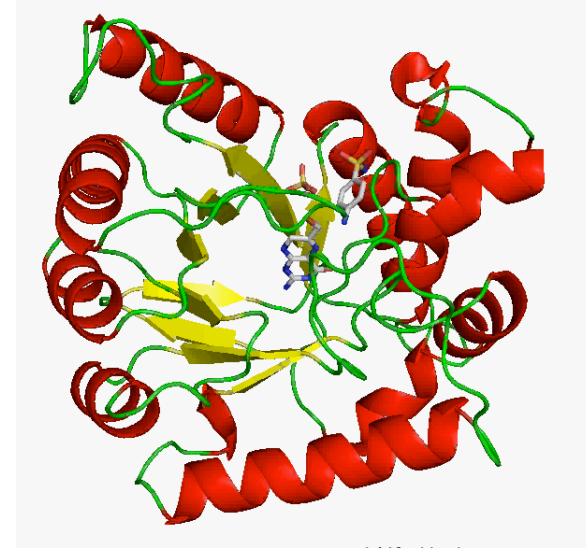


まず、こっちをみてみます。
 サルファ剤スルファミンは、**本来の基質であるパラアミノ安息香酸によく似ています。**
 これからずっといろんな例が出て来ますが、この「**基質に似ている**」ということが阻害剤型の薬の一つのポイントです。

(なぜですか?)

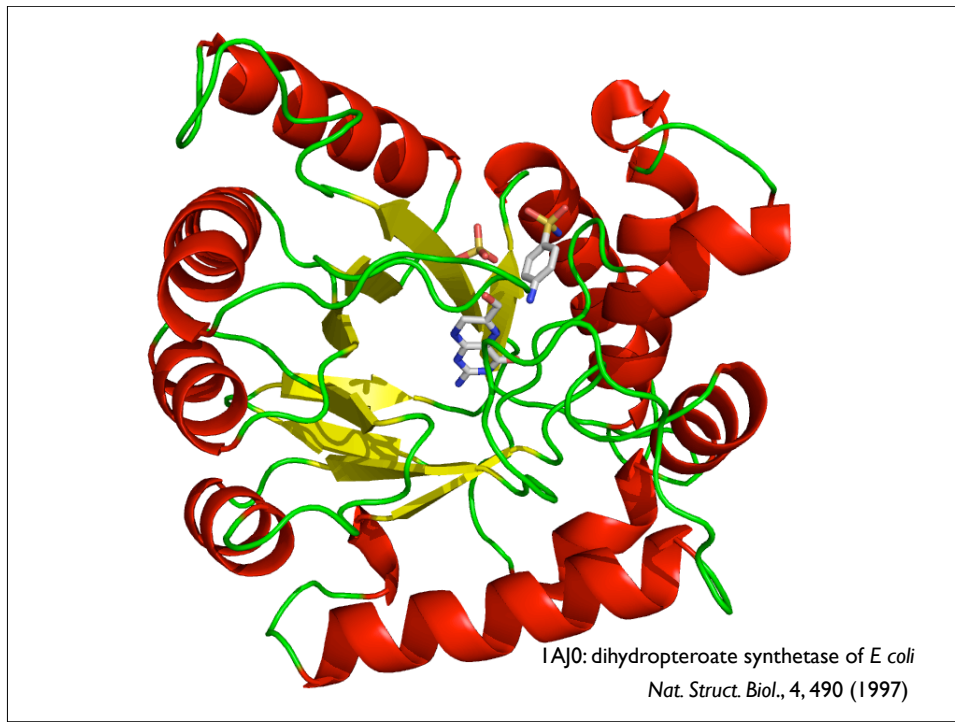
では、いったいどうゆうメカニズムで、サルファ剤がジヒドロプテロイン酸合成酵素を阻害しているのか、ということになります。

dihydropteroate synthetase 阻害メカニズム



1AJ0: dihydropteroate synthetase of *E. coli*
Nat. Struct. Biol., 4, 490 (1997)

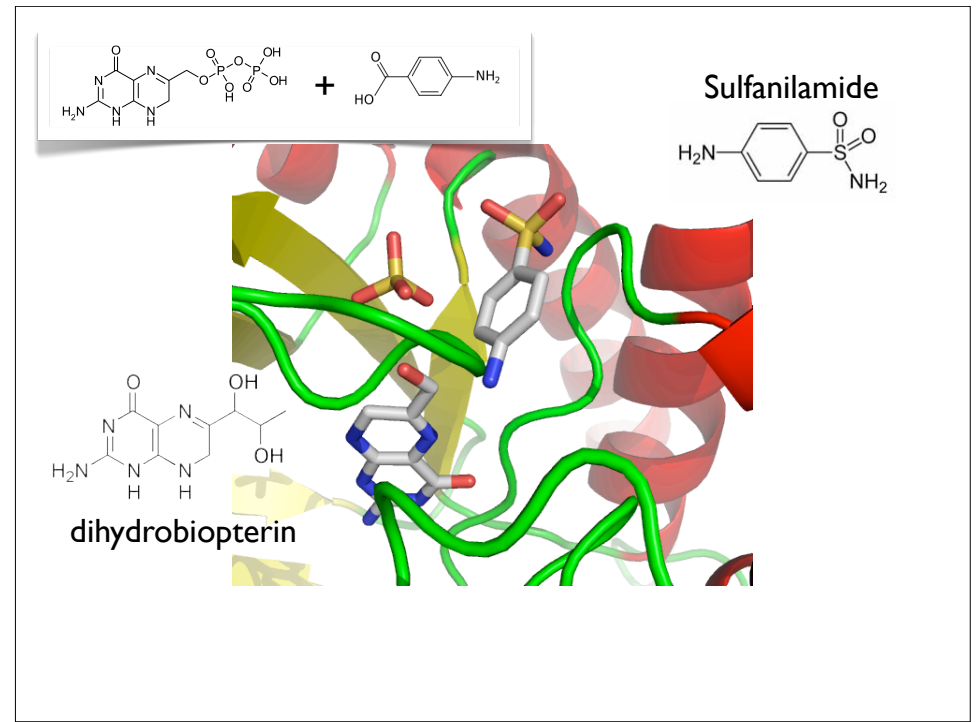
これがX線結晶構造解析で明かにされているジヒドロプテロイン酸合成酵素です。大腸菌の例です。
 (やっと蛋白質の構造が出て来ました)。



この構造解析は、ジヒドロプテロイン酸合成酵素の結晶を、ジヒドロプテリンとスルファニルアミドとピロリン酸を含む溶液にソーキングして、結晶中にそれらの化合物を染み込ませて行われています。

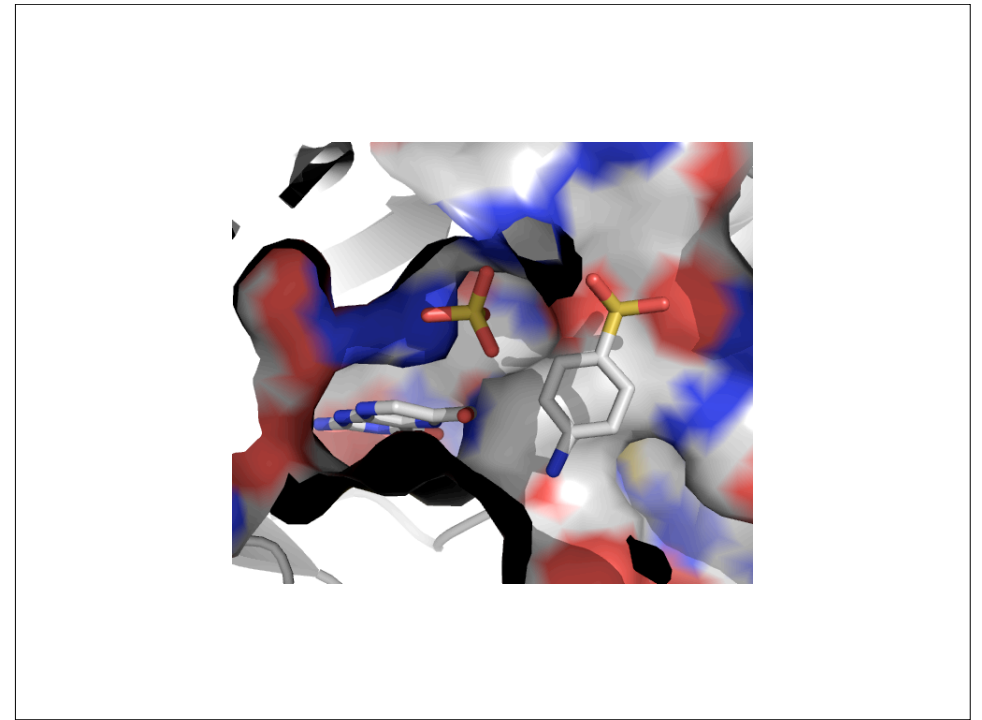
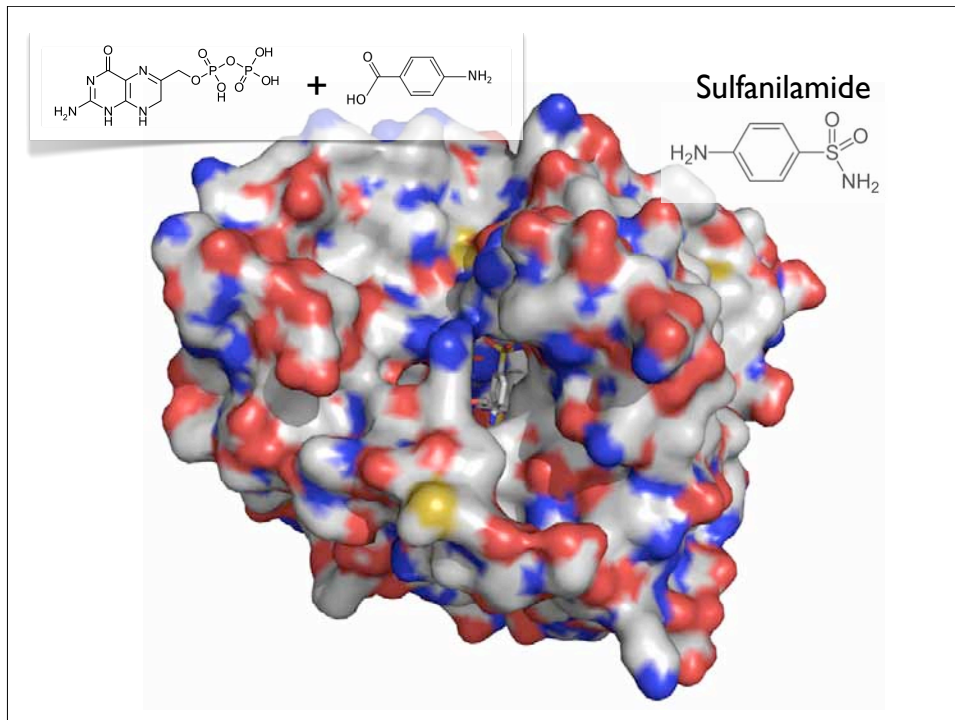
蛋白質の結晶は、結晶の半分くらいの量の水を含んでいます。なので結晶といっても溶液中の状態と同じように小さい分子は平気で結晶のなかを拡散していきます。多くの場合蛋白質に結合することが出来ます。結晶中で反応を進めることも出来ます。

興味があったら、詳細はこの論文を見て下さい。

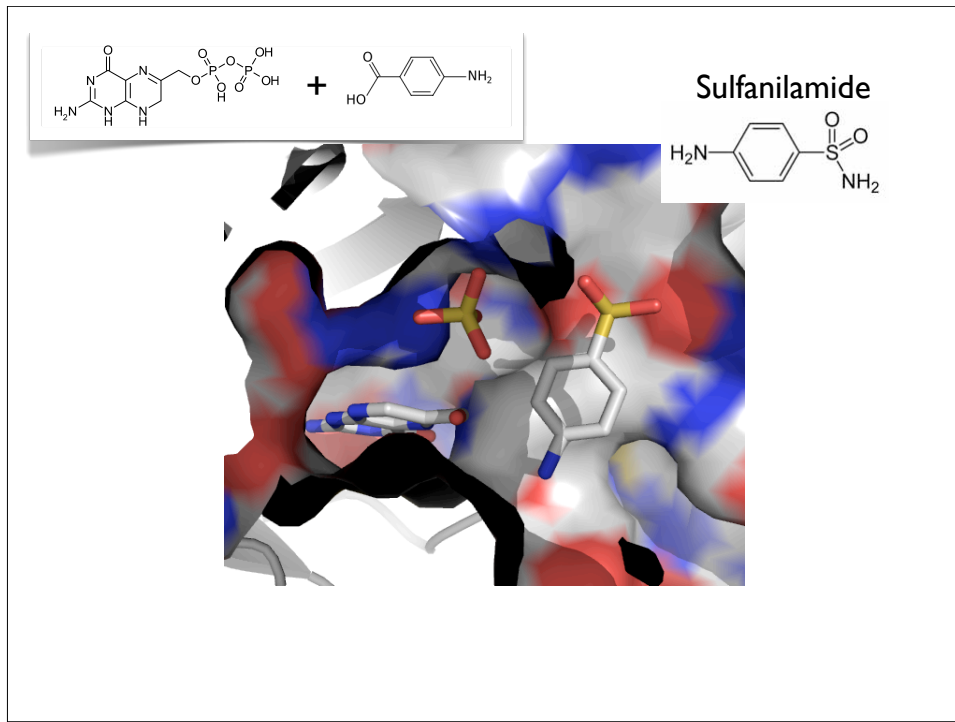


これらの化合物が、結晶中でちゃんと活性部位に結合していて、その結合の様子を実際に見ることが出来ます。左上に書いたのは実際の基質ですが、構造中で結合しているのは、結晶を浸した溶液に含まれていたジヒドロプテリンとスルファニルアミドとピロリン酸です。薬であるスルファニルアミドを含めて、これらは実際の基質ではないので、活性部位に結合するけど、それで反応は進まず、そのまま結合していて構造解析で見ることが出来たというわけです。

この種のことはX線結晶構造解析では良くやられます。



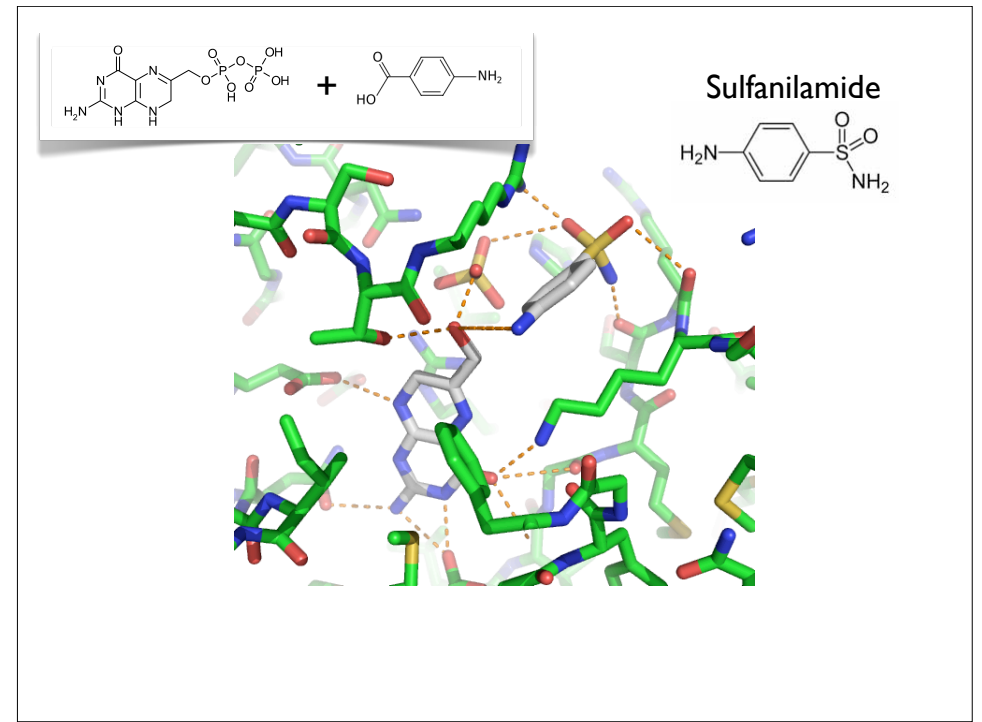
分子表面をみてみると、この酵素の活性部位は、このようなくぼみになっていて、スルファニルアミドはそこにはまっている様子も良く分ります。
方向を変えて拡大してみます。



こんな感じです。

酵素であるジヒドロプテロイン酸合成酵素の活性部位のポケットに、3者が結合している訳ですね。この場合は、抗菌物質であるスルファニルアミドがこういうふうにジヒドロプテロイン酸合成酵素に結合してしまうので、実際の基質のかたわれであるパラアミノ安息香酸がやって来ても結合出来ず、反応することが出来ないというのが、この抗菌物質の抗菌性の分子メカニズムだった、ということが、これで明らかとなった訳です。

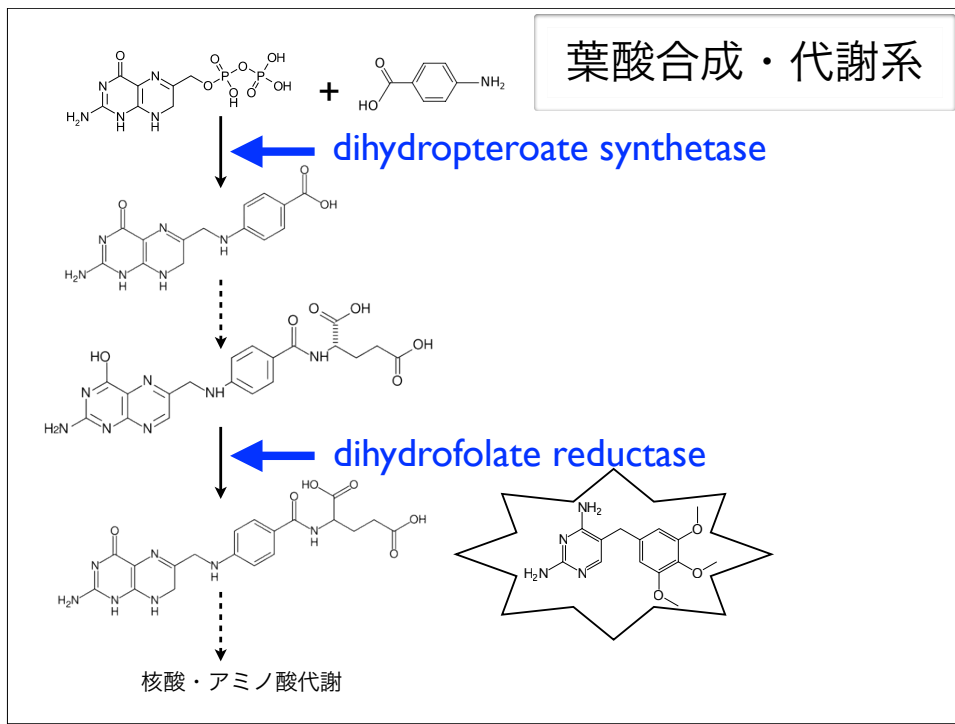
もう一度分子モデルに戻ってみます。



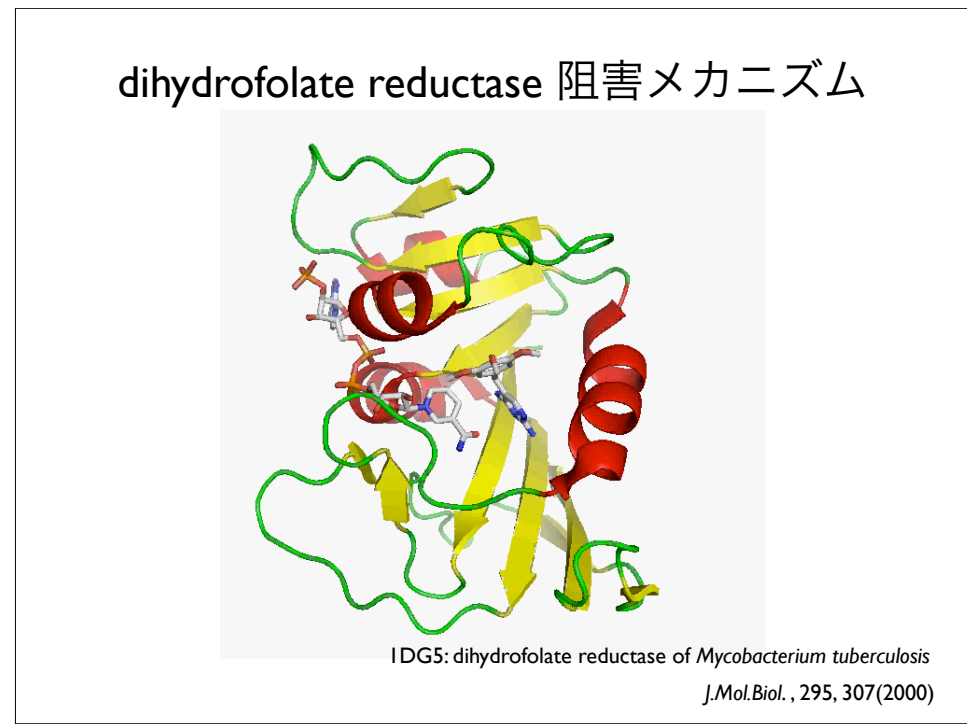
ここで点線で描いてあるのは、水素結合やイオン結合などの相互作用です。ちょっと具体的な解離定数の数値をみつけられなかったのですが、実際の基質であるパラアミノ安息香酸はカルボキシルで、抗菌剤のスルファニルアミドはスルフォンアミドになっています。

(で何が違う?)

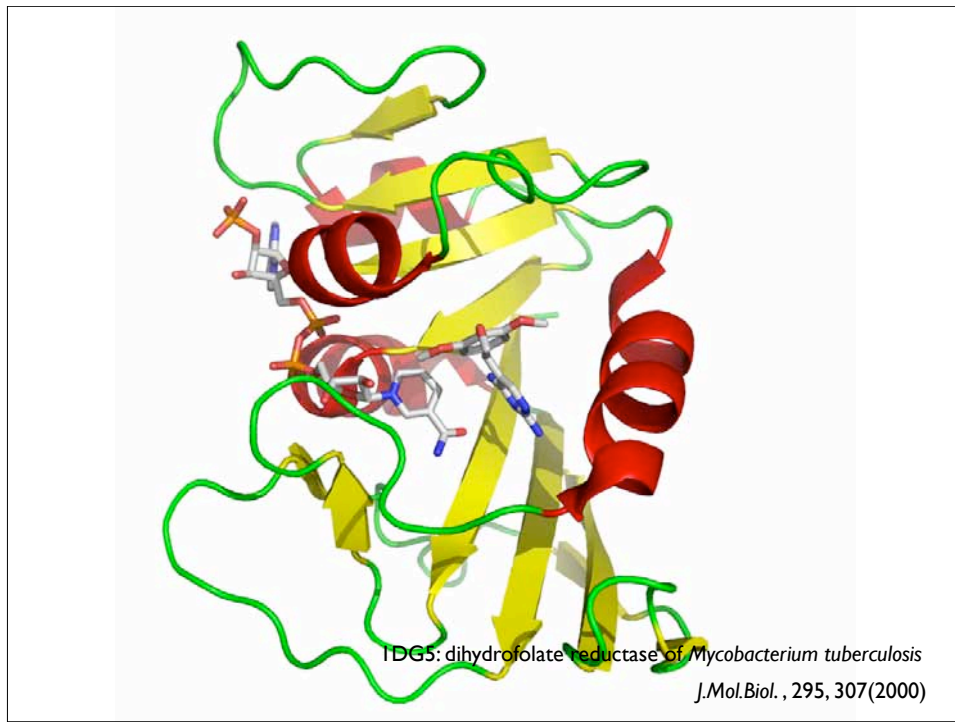
このことで、スルファニルアミドが拮抗阻害剤として酵素により強く結合していることが理解出来ます。構造解析が精度良く行われれば、このように分子レベルで、薬と、その標的蛋白質との相互作用の詳細を明らかにすることが出来ます。



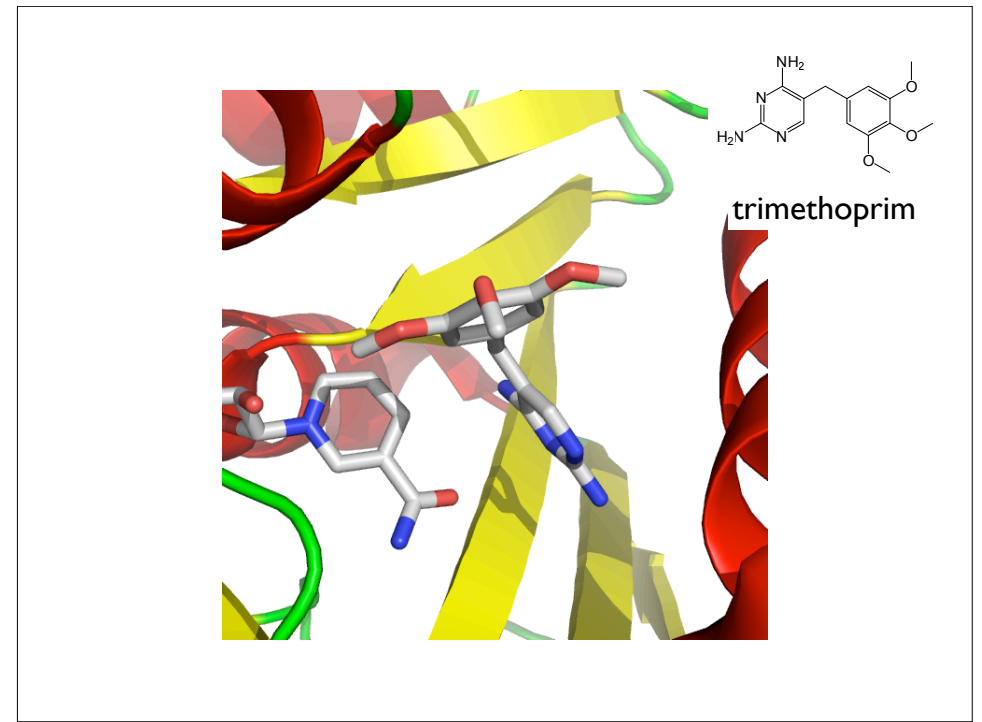
次にこっち、ジヒドロ葉酸還元酵素(DHFR)を阻害するトリメトプリムの方を見てみましょう。



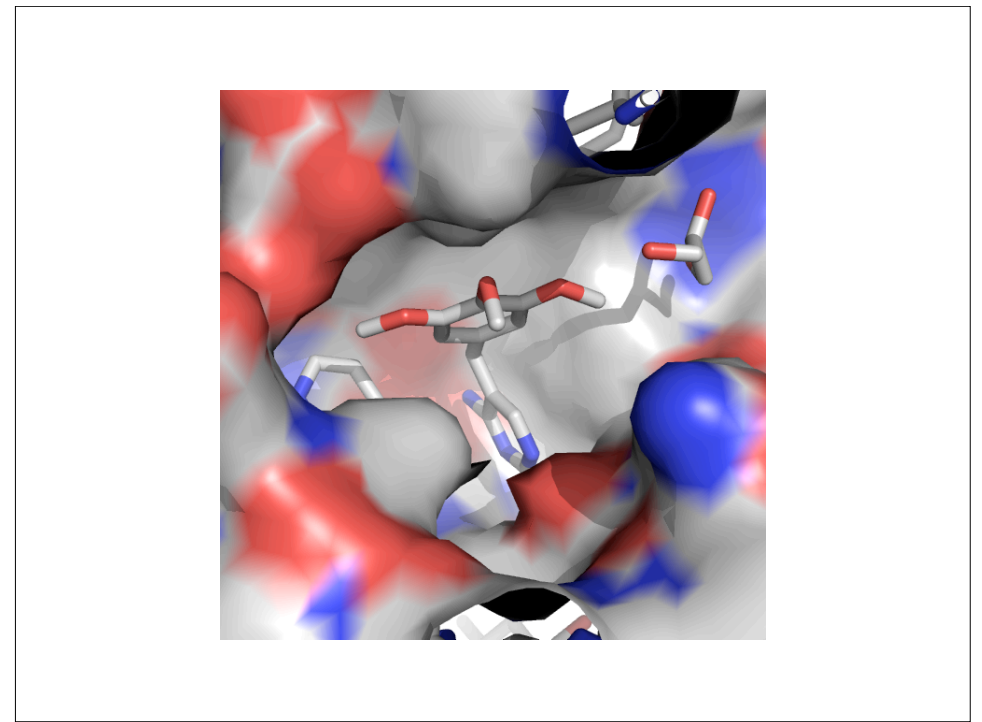
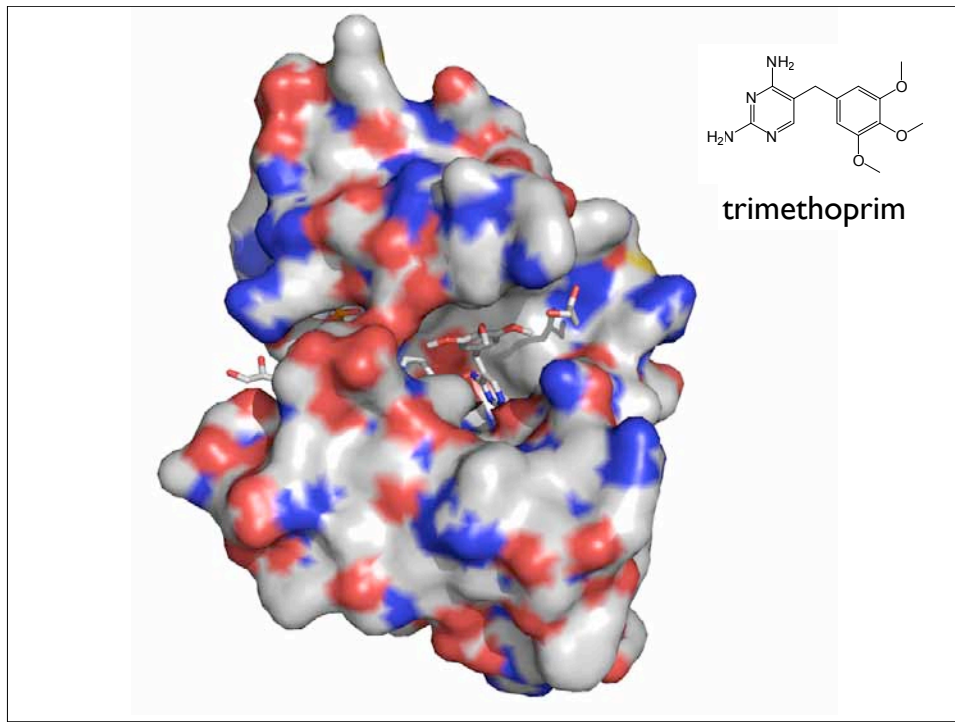
やはりこの場合も、補酵素であるNADPH(ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸)とトリメトプリムとの三者複合体として構造が解析されています。ここでの例は結核菌のものです。



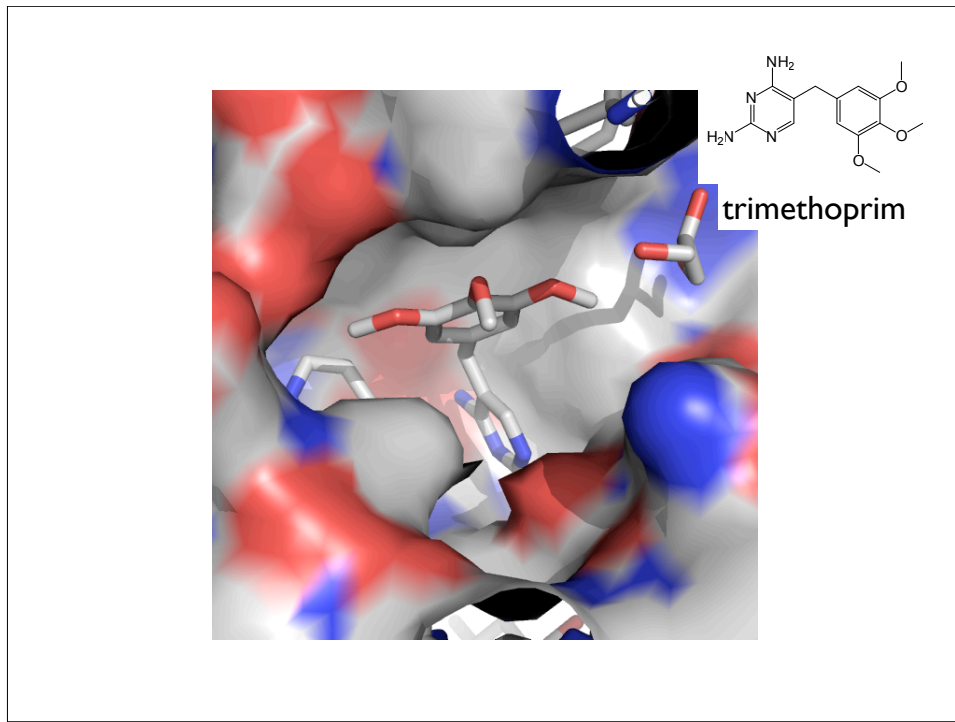
このように、結合状態で解析されていますが、さっきの例と違うのは、この場合は蛋白質とNADPHとトリメトプリムを、あらかじめ溶液中で混合しておいて、それから結晶化しています。



トリメトプリムの周辺の拡大図です。トリメトプリムが、本来は基質である葉酸が結合する部位に結合してしまってジヒドロ葉酸還元酵素(DHFR)を阻害する様子の詳細がこうして分った、ということになります。



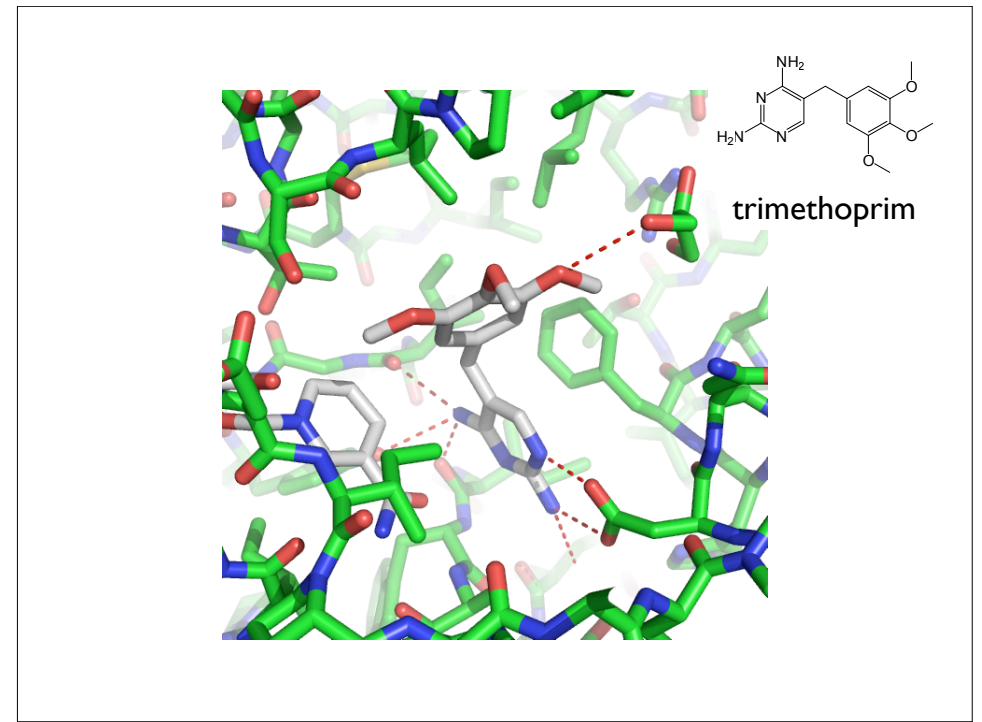
分子表面も見ておきましょう。
さっきと同じように、ジヒドロ葉酸還元酵素(DHFR)には
このように活性部位のくぼみがあって、そこにトリメトプ
リムがはまり込んでいる様子が分ります。
やはり、拡大してみましょう。



こんな感じですね。うまくはまっています。ここに見える余計なものはグリセロールです。

最近の蛋白質結晶構造解析では、蛋白質結晶を100Kくらいの低温に凍らせて測定をするのですが、結晶を凍らせる際に結晶がダメージを受けないようにするために抗凍結剤として30%くらいのグリセロール濃度にする事が多いのですが、そうして使うグリセロールが蛋白質に結合していて構造解析で見える場合がよくあります。

やはり、もう一度分子モデルに戻ってみます。



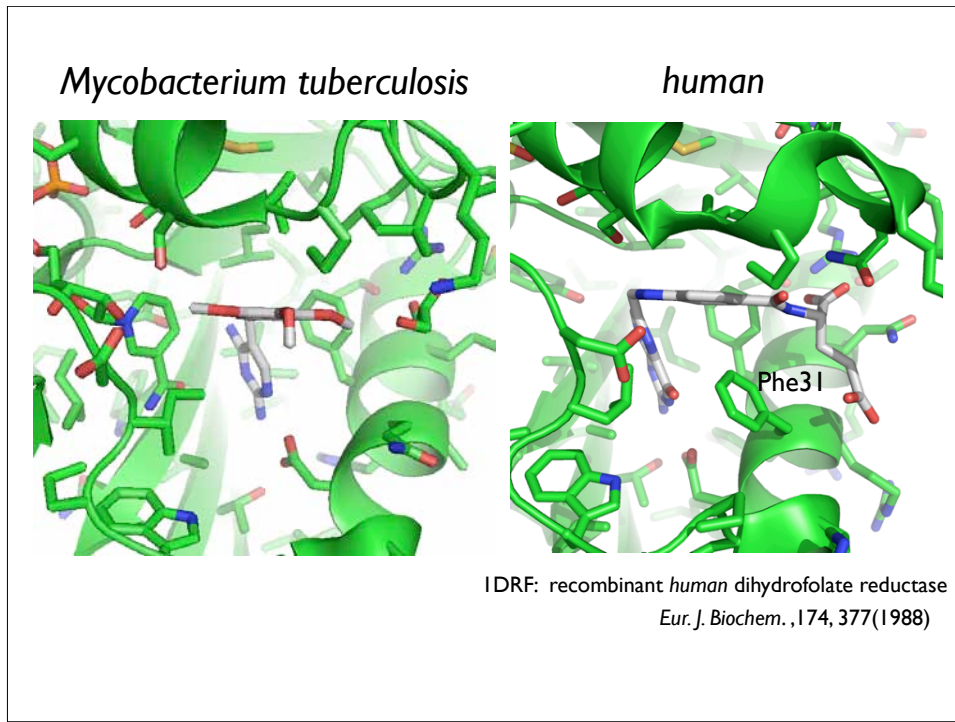
このように、高精度で構造解析をすれば、実際に抗菌剤であるトリメトプリムが、ジヒドロ葉酸還元酵素(DHFR)にどのように認識されて結合しているかが良く分ります。

点線では水素結合やイオン結合しか示していないのですが、トリメトプリムの特徴的な3つのメトキシ基はイソロイシンやロイシンと疎水性相互作用をしています。

さて、これで目出度いかというと、ちょっと気になることがあります。

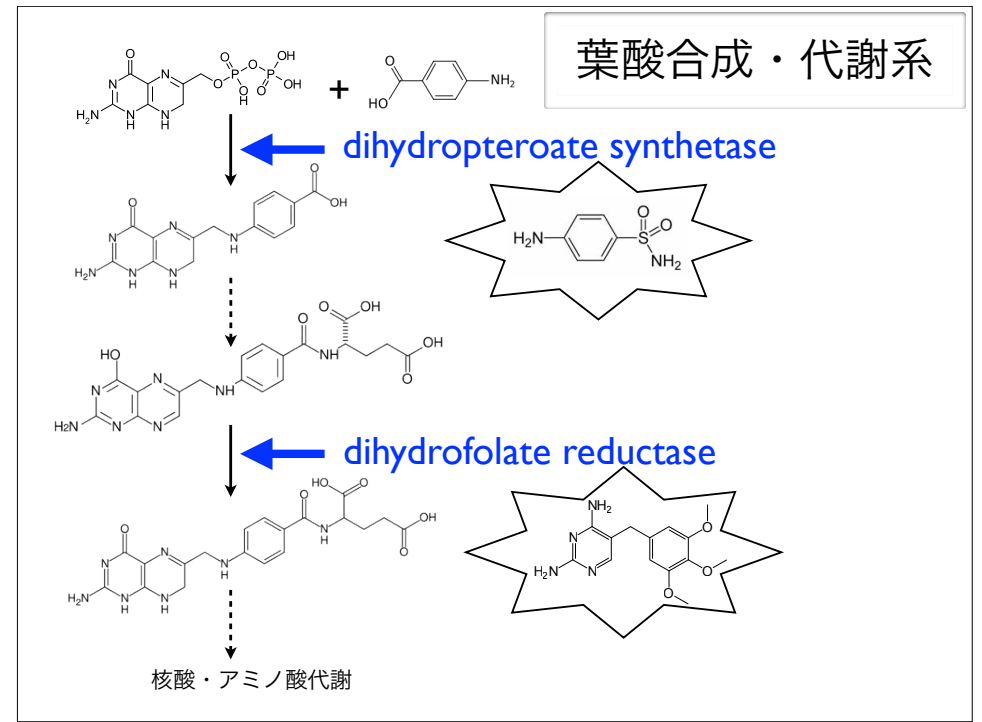
(いったい何でしょうか?)

ジヒドロ葉酸還元酵素(DHFR)は、ジヒドロプロテイン酸合成酵素と違ってヒトにもあります。ということは、抗菌薬であるトリメトプリムはヒトのジヒドロ葉酸還元酵素(DHFR)も阻害してしまうのではないかとこの可能性が。つまり、エーリッヒの「特効薬」「magic bullet」「魔法の弾丸」にはならないのではないかと。実際にはトリメトプリムはヒトのDHFRを阻害してしまうことなく、病原菌のDHFRを優先的に阻害してくれます。それも結晶構造解析で「納得」することが出来ます。



ヒトのジヒドロ葉酸還元酵素(DHFR)も実際の基質である葉酸との複合体として構造解析されています。

ヒトの場合、結核菌のDHFRにトリメトプリムがうまくはまっていた部分に違いがあることが分ります。おそらく一番の違いはかさ高いフェニルアラニンがここにあり、そのためにトリメトプリムのメトキシ基に邪魔になっているのではないかと考えられています。



こうして、バクテリアの核酸合成やアミノ酸に重要な葉酸合成・代謝系の酵素を阻害することで、ST合剤は尿路感染症の予防や治療に「薬」として効いているのだ、ということが分子レベルで理解することが出来ました。

今日はこの辺にしましょう。次回は薬の副作用について構造との関係から見ていくことにします。