

SPring-8 NEWS

119

2025.3

研究成果トピックス

SPring-8が見つける不飽和脂肪酸の有用性

パセリ油成分が黄色ブドウ球菌の毒性を抑える



SPring-8 NEWS アドレス

http://www.spring8.or.jp/ja/news_publications/publications/news/

登録施設利用促進機関

公益財団法人高輝度光科学研究センター (JASRI)

SPring-8

SPring-8が見つける不飽和脂肪酸の有用性

パセリ油成分が黄色ブドウ球菌の毒性を抑える

薬剤耐性菌に対抗する新薬を探す

黄色ブドウ球菌は、人間の皮膚や鼻の中によく見られる細菌の一種です。ブドウの房のように集まった形をしているため、「ブドウ球菌」という名前がついています。この細菌は、普段は特に害を及ぼしませんが、抵抗力の弱い病人や子ども、高齢者などに感染すると重い病気を引き起こしたり、食品中で大量に増殖すると食中毒を引き起こしたりすることがあります。

多くの細菌は「抗生物質」と呼ばれる薬で殺すことができますが、治療を続けるうちに抗生物質が効かない「耐性菌」が出現することがあります。メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: MRSA) は、代表的な耐性菌のひとつです。MRSA感染症になると腸炎、敗血症、肺炎などを引き起こしますが、複数の抗生物質に耐性を示すため治療が難しく、医療の現場で大きな問題となっています。

MRSA感染症の健康被害を減らすには、効かない抗生物質とは異なるメカニズムでMRSAの毒性を防ぐ新たな薬の開発が必要です。京都工芸繊維大学の北所健悟さんは、分子の形や原子同士の結合の様子をX線で解明する「X線構造解析」の手法を用いて、MRSAに対抗できる薬を研究しています。特に黄色ブドウ球菌の脂肪分解酵素 (*Staphylococcus aureus* Lipase: SAL) が毒性に関わることから、SALの活性を阻害する薬剤を探しています。

「SALを阻害すると黄色ブドウ球菌の増殖も阻害されることが、これまでの研究からわかっています。なぜそうなるのかは解明されていませんが、体を守る免疫細胞の働きに脂肪成分が必要なため、黄色ブドウ球菌がSALを使うことで免疫細胞に抵抗しているのではないかと考えています」

黄色ブドウ球菌の毒性を防ぐ 不飽和脂肪酸

北所さんたちの研究グループは、ドラッグデザイン (既に知られている化合物と必要な薬理作用の関係からAIも用いて可能性の高い候補化合物を見つけ出す方法) を駆使して、SALを阻害しそうな候補化合物を100種類以上選び出し、その中で入手可能な化合物とSALの結晶を作成しました。

「そもそも結晶にならない化合物も多いのですが、結晶ができたからといってそこがゴールではありません。本当に原子同士が結合しているかどうかは、X線構造解析を行ってみるまでわからないからです。微妙な差異を見るためには、より高い解像度での解析が必要なため、何度もSPring-8へ通って測定を行いました」

2020年に北所さんたちは、抗肥満薬である「オルリスタット (2024年4月から日本でも発売。商品名アライ)」がSALに結合し、その働きを強く阻害することを発見しました。SPring-8を使用した解析で結合の様子も詳細に確かめ、オルリスタットがSALを阻害

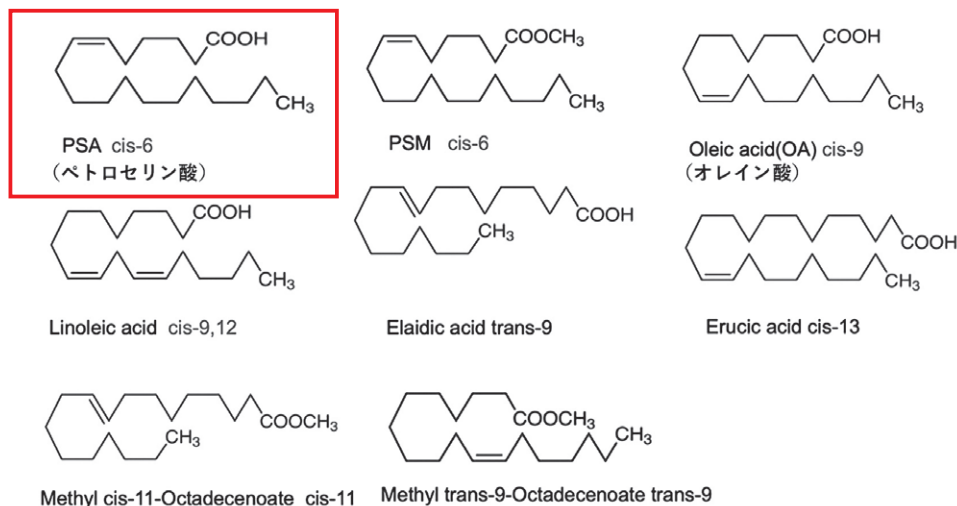


図1
北所さんたちが研究で
使用した不飽和脂肪酸

し、黄色ブドウ球菌の毒性も防ぐことを示し、論文で報告しました。

さらに候補物質の探索を続けていたところ、「ペトロセリン酸」がSALと結合し、オルリスタットよりもさらに強くSALの活性を阻害することを発見しました。ペトロセリン酸という名前を聞いたことがある人はほとんどいないと思いますが、実はパセリから抽出されるパセリ油に多く含まれています。私たちもどこかで口にしている成分です。

ペトロセリン酸は不飽和脂肪酸と呼ばれるグループの化合物です。不飽和脂肪酸は分子内に二重結合をもつカルボン酸の総称で、この二重結合がヒトの健康に対して良い働きをしていると考えられています。しかし、どのようなメカニズムで健康に良い効果があるのかはわかっていません。北所さんも二重結合に注目して、ペトロセリン酸とSALの結合の様子を詳細に調べました。また、図1に示したペトロセリン酸によく似た構造の不飽和脂肪酸についても共結晶を作って測定を行い、どの構造がSALとの結合に関係しているのかも詳しく検討しました。

SPring-8で結合のプロセスを知る

北所さんたちが使ったSPring-8のビームラインは、世界最高レベルの高強度ビームを用いた回折実験ができるタンパク質結晶解析ビームラインBL41XUとBL44XUです。これらによって得られたデータをもとに、SALとペトロセリン酸の結晶の構造を解析した結果をわかりやすく表したものが図2です。

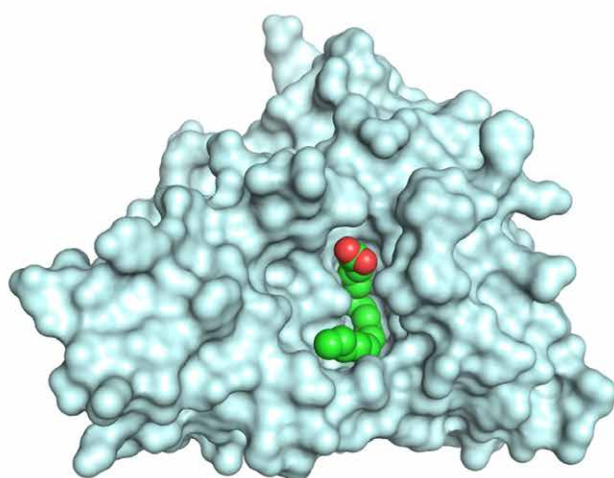
SALは中心にポケットのような穴が開いていて、ここで脂肪を分解することは知られていました。解析結果を見ると、そのポケットにペトロセリン酸がすっぽりとはまっていました。

「模式図としてわかりやすいよう、ペトロセリン酸を色付けしています。たまたま緑と赤を選んだのですが、オープンキャンパスのときにこの図を見た高校生が『はらぺこあおむし』^(※)みたいだと言ってくれました。それ以来、あおむしにしか見えなくなっていました」

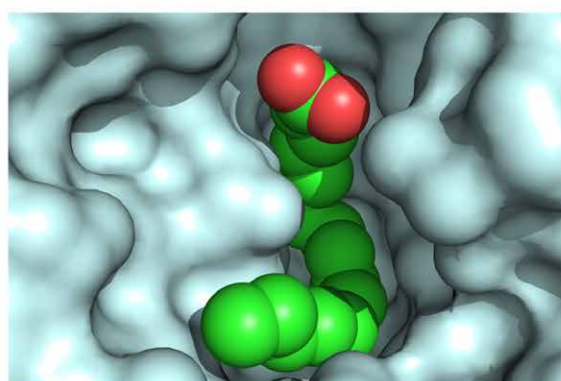
さらに詳しく解析すると、ペトロセリン酸のCOOHがついている側から数えて6番目の炭素原子(C6)とSALの116番目のセリンの酸素原子(O)の距離が1.43 Åということがわかり、その距離から両者が結合を形成していることが示されました。その隣のC7とOの距離は2.04 ÅでC6よりも離れており、C7とOは結合していません。

ペトロセリン酸のCOOHをCOOCH₃に変えたPSM(図1)では、SALのセリンの酸素原子とC6の結合は起こりませんでした。

「COOHは電子が足りない状態なので、同じ分子内のほかの場所から電子を引き寄せようとします。その影響がC6に及び、結果的に、SALのセリンのOを引き寄せたと考えられます。しかし、COOHをCOOCH₃に変えると電子を引き寄せる力は小さくなります。Oを引き寄せる力が弱くなるため、C6とOの結合が起こりにくくなったのでしょう。またTyr29との相互作用がメチル基の導入によって高くなり妨げられた事も要因であると思います」



SALの全体構造



ペトロセリン酸（赤は酸素原子を表している）

図2 解析結果からシミュレートしたSALとペトロセリン酸の結晶の立体構造

※『はらぺこあおむし』……アメリカの作家エリック・カートの絵本のタイトル。日本でも広く読まれている。

ペトロセリン酸の二重結合の位置も重要でした。ほとんど同じ構造で二重結合の位置だけが違うオレイン酸（図1）では、SALとの結合は見られませんでした。これは、セリン酵素がプラス電荷をもった原子によって構成された「オキシアニオンホール」と呼ばれるポケットをもつことが関係していると北所さんは説明します。

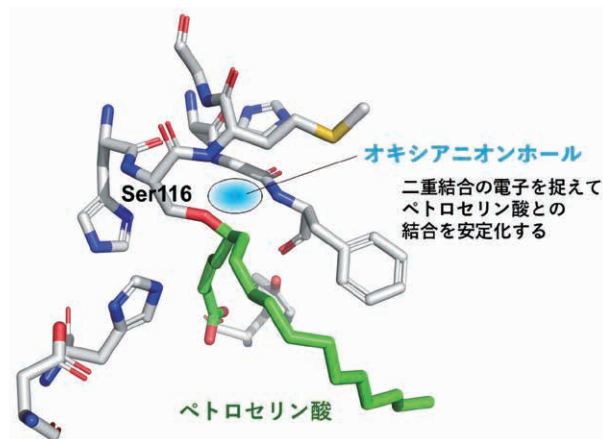


図3 SLAのオキシアニオンホールとペトロセリン酸の関係

「オキシアニオンホールは、マイナスの電荷をもつ原子や構造を引きつけます。たとえば、二重結合はマイナスの電荷をもつ構造です。ペトロセリン酸の二重結合はセリン酵素のオキシアニオンホールに近い場所に

あったため、マイナス電荷が引きつけられてペトロセリン酸とSALの結合は安定化します。オレイン酸の場合は二重結合の位置が異なるせいで、このホールにはまらないと考えられます。このような詳細な結合状態までわかったのは、SPring-8で得られた高解像の構造解析のおかげですね」

本研究の成果は、今後どのような未来につながっていくのでしょうか。

「SALを阻害するペトロセリン酸のメカニズムが詳細にわかったことで、MRSA感染症の治療薬の開発の有力な手掛かりが得られました。どの原子の結合が重要なかわかれば、さらに改良して効果を強めたり副作用を減らしたりすることができます。また、黄色ブドウ球菌が排出する毒素がアトピー性皮膚炎の原因になることが知られていますので、ペトロセリン酸の研究成果を元にアトピー性皮膚炎の治療薬の開発が進む可能性が期待できます。さらに、これはまた黄色ブドウ球菌とは別の話ですが、ペトロセリン酸はヒトの脂肪分解酵素の働きも阻害する可能性が見えています。将来的にはペトロセリン酸も抗肥満薬として使えるようになるかもしれません」

パセリの油が感染症を防いだり脂肪の吸収を抑えたりするのであれば、肉料理やお刺身に添えられるパセリは、先人の経験から来る知恵だったのでしょうか。北所さんの研究がさらに進めば、近い将来、パセリの意外な活躍を見ることができそうです。

Column コラム

北所さんが今の研究分野を選んだのは、大学4年生のときに結晶の美しさに魅せられたからだそうです。

「顕微鏡で観察する結晶はどれもすぐに壊れてしまう小さなものでしたが、化合物の組み合わせによってさまざまな色や形があり、非常に美しくて魅了されました」

大学院を出てから企業の研究職に就職した北所さんは、6年間働いた後、アカデミアの世界に戻ってきました。北所さんが大学に戻って研究を始めた1年後の1997年に、SPring-8の供用が開始されました。北所さんとSPring-8の付き合いはその頃から始まり、もう27年になります。

「SPring-8ができる前から、これまでにない強い放射光を使える施設ができるということで大変期待して楽しみにしていました。利用を開始した初期の頃は、放射光が強すぎて今までの測定方法では通用しないことが多く試行錯誤の連続でした。初めてデータが取れたときの感動は、今でもはっきり覚えています」

その2年後、イタリアのジェノバに留学した北所さん。ジェノバの研究所の食堂で出る食事は大変おいしくて、2年で10キロ太ったそうです。写真はワインのブドウ畑で手伝いをしたときのもの。現在の北所さんは「黄色ブドウ球菌の増殖を根こそぎ断つ」と大きな目標を掲げて2024年の科研費を獲得しています。この写真は、未来の決意を予言する貴重な1枚だったのかもしれません。

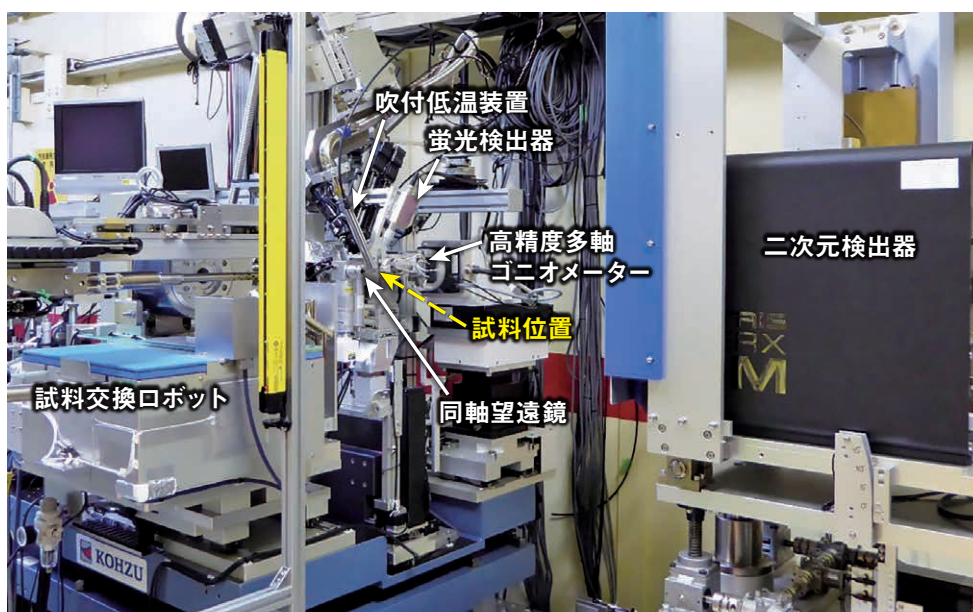


文：チーム・パスカル 寒竹 泉美

BL44XUにおけるX線結晶構造解析について

大阪大学蛋白質研究所は、生体内の反応に関わる生体超分子複合体の立体構造をX線結晶構造解析法で決定し、生体内の組織化された機能を解明することを目的として、SPring-8において生体超分子複合体構造解析ビームライン (BL44XU) として運用しています。BL44XUは、様々な予算の援助を受けて1996年度より建設を始め、1999年秋から利用を開始しました。その後も、大学内・研究所内の資金や外部資金により、検出器や回折計、光学系などの高度化を進めています。蛋白質研究所は、蛋白質研究共同利用・共同研究拠点としてBL44XUの利用に関して全国の研究者からの共同利用実験を受け入れる体制をとっています。また最近では、最先端の生命科学・創薬研究を推進するための高度な研究支援組織としての創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム (BINDS) に参画し、国内にあるタンパク質結晶放射光ビームラインとともにBINDSの研究課題へビームタイムを供出しています。

BL44XUでは、高輝度・低発散角のアンジュレータ光を利用し、液体窒素で冷却されたSi (111) 結晶により単色化されたX線を利用しています。単色化されたX線を2枚の集光ミラーを用い、水平及び垂直のそれぞれの方向で集光できます。回折強度測定で標準的に用いる波長0.9 Åにおけるビームサイズとビーム強度は、集光していない状態で、それぞれ0.6 mm (横) × 0.5 mm (縦) と 1.0×10^{13} photons/sec です。ビームサイズを0.05 mm (横) × 0.025 mm (縦) まで集光でき、試料直前に設置された12種類のピンホールにより結晶サイズに適したビームサイズの選択が可能です。微小結晶の回折強度測定を行うために、X線の入射方向から結晶が観察できる同軸望遠鏡を設置しています。また、高精度多軸ゴニオメーターを使い、結晶の方位を任意に変えるなどの多様な回折強度測定を行うことができます。検出器には331×328 mm²の有効面積を持つ光子検出型二次元検出器 (Dectris社製 Eiger X 16M) が使用できます。タンパク質結晶の回折強度測定では、結晶を極低温で凍結した状態で扱うのが一般的なので、測定中の結晶を冷却する吹付低温装置と低温試料を扱える試料交換口ボット (SPACE-II) が装備されています。SPACE-IIには、16個の結晶が装填できるUni-puckカセットを8個同時にセットでき、1度のセットで12時間以上の連続利用が可能です。このSPACE-IIを利用した遠隔操作実験も可能です。



生体超分子複合体構造解析ビームライン (BL44XU) の構成機器

前回までの内容 — 新しい化学反応 (Pd (パラジウム金属錯体) を用いた反応) を研究している関西大学の田原さんと、その試料を田原さんとともにSPring-8で測定したJASRIの渡辺さん。前回の対談では、渡辺さんがどのような心構えでSPring-8のユーザーさんとともに実験しているのか伺いました。

[編集] 渡辺さんは、今回の分析に当たり、「どのような」役割を果たされたのでしょうか。

渡辺: 田原さんの研究室は、XAS (X線吸収分光)¹の利用がメインの研究室だったのですが、ナノ粒子の形態評価に「SAXS (X線小角散乱法)²を使いませんか」と提案させて頂きました。

実際にSAXS測定を適用してみたところ散乱データは得られましたが、散乱データの解釈に関しては難しい部分があつて、いろいろ議論させて頂きました。

[編集] SAXSを使いませんか?というのは、渡辺さんの方からご提案されたのでしょうか?

渡辺: その通りです。私は、XASのピームライン担当ですが、XRD (X線回折法) とかSAXSのスタッフとして仕事をしていたこともあります。これまでの経験をもとに田原さんへSAXS測定を提案させて頂きましたが、提案した内容が田原さんの論文に反映されてよかったです。

でも、ユーザーさんの前で言うのは失礼だけど、提案した内容がうまく論文に掲載される内容になって良かった! というのはあります (笑)。

[編集] 田原さんが、化学合成に使う化学反応の開発研究 (以下、反応開発) で面白いと思う部分はどこにあるのでしょうか?

田原: どちらかという、「どうしてこの化学反応の経路が進むのだろう」という基礎的な部分への興味が強いかもしれません。

渡辺: 反応経路とか、最終生成物を、頭の中で最初に描くの? 「こう反応を進めたい」とか。

田原: もちろん、こう反応が進んでほしいと考えて実験を仕込みます。でもうまくいかないことがほとんどで、いろいろ検討しているなかで想定よりも面白い化合物ができることもあります。

渡辺: 今回はどうだったの?

田原: 自分の中では化合物がつかれることはわかっていましたが、なぜ合成できるかはわかりませんでした。それを調査する中で、今回の研究に至ったという感じです。

渡辺: 今後は「どんな研究をしていきたい」とか、方向性とかはある?

田原: 理学的なことを詰めるのも面白かったのですが、つぎは、反応開発の研究に没頭したいと思います。様々な触媒反応に触れて、それを元に触媒反応のダイナミクスを調べていくのも面白いかと。

[編集] 渡辺さんと一緒にお仕事をされて面白い部分はありましたか?

田原: 「全く異なるバックグラウンドを感じた」ときが面白かったですね。細かいところですけど、グラフで用いる単位が違ってたりとか。

渡辺: 僕らの感覚からすると、違和感を感じる記載もあった (笑)

田原: 僕らは見やすい単位でグラフを作っただけなのですが、分野による違いを感じました。細かい話ですけど (笑)

でも、「バックグラウンドの異なる方と議論してみると面白いな」というのはすごく感じますし、「今後研究をしていく上でも大事な」と感じています。



1 XASは、X線のエネルギーを連続的に変えながら吸収スペクトルを取得することで、局所構造や価数などを元素選択的に評価できる計測手法。

2 SAXSは、試料から散乱された散乱X線のプロファイルを取得することで、物質の形態・構造などが評価できる計測手法。

田原さん、渡辺さん。お話しありがとうございます。

研究のごごく一部を切り取ったお話ですが、SPring-8で実験されているお二人の雰囲気伝わったでしょうか。研究のお話以外にも、田原さんはお酒好きとの話もありました。先生がたのお酒の話は話題が合うのだとか。渡辺さんについては、学生時代のやんちゃなお話もお聞きできました。お二人とも、これからもがんばってください!!

行事報告

SPring-8夏の学校について

2025年度もSPring-8夏の学校を開催します。

「第25回SPring-8夏の学校」は博士前期課程 (あるいは学部4年生) の学生を対象に、2025年7月6日 (日) ~ 7月9日 (水) まで (2025年4月7日 (月) 募集開始) となっています。詳細はSPring-8 HPに掲載いたしますので、興味のある方は是非SPring-8 HP (<http://www.spring8.or.jp/ja/>) をチェックしてみてください。たくさんの学生の参加をお待ちしています!!



第24回夏の学校の集合写真

表紙について:

黄色ブドウ球菌をストンピング (伝統的なワイン作りの工程にある葡萄踏み) する北所健悟さんを描いた。今回、背景のバセリから抽出されるペトロセリン酸は、黄色ブドウ球菌をやっつける鍵となることが分かった。イタリアに思い入れのある北所さんを想像し、レオナルド・ダ・ヴィンチの羊皮紙スケッチをオマージュした。
イラスト: 大内田美沙紀



SPring-8 NEWS

No.119 March 2025

SPring-8 Document D 2025-004

編集 SPring-8 NEWS 編集委員会

発行 公益財団法人高輝度光科学研究センター

Japan Synchrotron Radiation Research Institute

〒679-5198 兵庫県佐用郡佐用町光都1丁目1番1号

TEL (0791) 58-2785 FAX (0791) 58-2786

E-mail: jasri-event@spring8.or.jp <http://www.spring8.or.jp/>