



A 群連鎖球菌細胞壁の代謝的蛍光標識による 細胞壁合成阻害剤の新規評価系構築¹⁾

Deciphering the mode of action of cell wall-inhibiting antibiotics using metabolic labeling of growing peptidoglycan in *S. pyogenes*

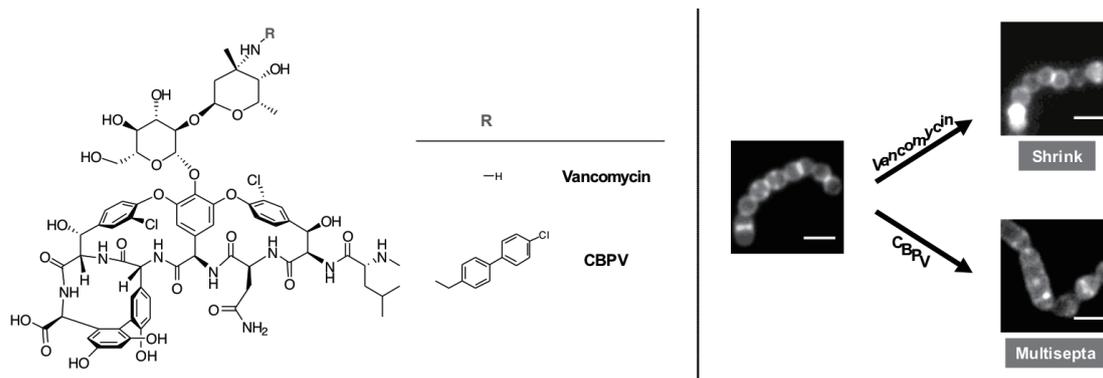
前田明日香、杉本淳、一刀かおり、有本博一（東北大院生命）

既存の抗生物質の効かない多剤耐性菌の出現により、新たな作用機序を持つ抗生物質の開発が急務となっている。従来、抗菌化合物は最小生育阻止濃度（MIC）で評価されてきた。MIC 測定は極めて簡便な評価法であるが、作用機序に関する情報を全く与えない。作用機序に焦点を当てた抗菌薬開発のために、新たな評価法を構築する必要がある。

細菌の細胞壁合成は抗生物質の主要な標的である。その作用機序の評価には、*in vitro* 再構成系が利用されてきた。精製した酵素群と放射標識した基質を用い、生成されるペプチドグリカンを検出する手法である。しかし、この評価法では生菌上での細胞壁合成を十分に再現できていない。細胞壁合成は、増殖段階に応じて酵素群や基質のダイナミックな集散を繰り返しながら行われており、再構成系ではその点が全く無視されているからである。今回我々は、A 群連鎖球菌 *Streptococcus pyogenes* を用いて生菌上の細胞壁合成部位を経時的に観察できるイメージング手法を確立し、抗生物質の作用機序の違いを視覚的に検出できたので報告する。本手法は遺伝子操作や放射標識基質等を必要としないため実施が容易であり、抗生物質開発の際の作用機序の予備評価に適している。

生合成されつつある細胞壁を可視化するため、グラム陽性菌の酵素ソルターゼを利用する代謝標識技術²⁾を用いた。ソルターゼが細胞壁のタンパク質修飾を行う仕組みを利用したこの技術は、蛍光分子を培地に添加するだけで細胞壁の標識が可能である。今回はこの技術を *S. pyogenes* に応用し、染色効率を大幅に向上させることで抗菌化合物評価への使用を可能とした。

S. pyogenes を各種抗生物質存在下で培養し、細胞壁の蛍光標識を行うと、抗生物質の作用機序ごとに特徴的な菌体の大きさや染色パターンが確認できた。バンコマイシンと CBPV 等のバンコマイシン誘導体を評価すると、わずか一部分の化学修飾がその作用様式に及ぼす影響が検出され、新規合成された抗菌化合物の効率的な選抜における本手法の有効性が示された。



<参考文献>

- 1) A. Sugimoto, A. Maeda et al., *Sci. Rep.* 7, 1129 (2017)
- 2) J. W. Nelson et al., *ACS Chem. Bio.* 5, 1147 (2015)

発表者紹介

氏名 前田 明日香 (まえだ あすか)
 所属 東北大学 大学院生命科学研究所
 分子生命科学専攻
 学年 博士前期課程 2 年
 研究室 分子情報化学分野

