

硝化抑制剤の構造ベース創農薬

国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構

高度解析センター・生体高分子解析チーム

西ヶ谷 有輝

【はじめに】 近年、公的な化合物ライブラリの整備などによって誰でも低分子創薬を行える環境が整ったことから、医薬・農薬ともにアカデミア発の創薬プロジェクトが盛んである。アカデミア発の創薬はイノベーションを生む原動力になりえるため、我々もその波に乗って創農薬を始めた。しかしながら、これまで創農薬においては、構造ベース創薬はおろかターゲットベース創薬の手法も限定的にしか利用されてこなかった。研究を進めるうえで農薬特有の難しさも明らかになってきたため、研究開発中の『硝化抑制剤』を例に構造ベース創農薬を行う上での利点や注意点に関して議論したい。

【硝化抑制剤の開発】 農地に生息するアンモニア酸化細菌は、アンモニア肥料を硝化することで、窒素の流亡を引き起こす（図1）。既存薬は、安全性や効果に不十分な面があるため、硝化のカギ酵素であるヒドロキシルアミン酸化還元酵素（HAO）を標的とした選択的で高活性の次世代型の硝化抑制剤の創農薬を行っている。

農薬は環境中に存在する多様なアンモニア酸化細菌の種に作用する必要がある。そこで、系統的に離れた2種由来のHAOをモデルとして研究を行った。まず、ガンマプロテオバクテリア綱に属する *Nitrosococcus oceani* およびベータプロテオバクテリア綱に属する *Nitrosomonas europaea* に由来するHAOそれぞれの結晶構造解析を行った。それら結晶に基質ミミックをソーキングすることにより2種類の阻害剤-HAO複合体構造を得た。それら阻害剤の結合位置は、活性中心付近の隣り合った位置であった。そこで、2種の阻害剤のファーマコフォアを重ね合わせることにより、フラングメントベース法を指向したファーマコフォアサーチを行った（MOEを利用）。ナミキ商事のライブラリ約500万化合物に対するスクリーニングは2時間ほどで完了し、約1000種のヒットを得た。そこからクラスター化と目視によって絞り込み、77化合物を実際に購入した。それら化合物の阻害アッセイには、新たに開発したHAOの蛍光活性測定法を用いた。

その結果、50%阻害濃度(IC₅₀)が酵素に対して40 nM、菌体に対して370 nMの候補化合物の取得に成功した。これは、世界的によく使われるジシアンジアミド(約400 μM)と比較しても1000倍近い活性を持っている。現在、この化合物の温室試験を進めるとともに、東大創薬機構ライブラリ21万化合物に対するハイスループットスクリーニングも行い、複数のケモタイプの候補化合物取得を目指している。



図1 土壌における硝化経路と硝化抑制剤の作用点