

## ボツリヌスB型神経毒素の受容体認識に関するアミノ酸残基の同定

○幸田知子、向本雅郁、小崎俊司  
大阪府大院・農学生命

ボツリヌス神経毒素(NT)はシナプス前膜に作用し神経伝達物質の遊離を特異的に阻害する。毒性発現には神経細胞上の受容体に毒素分子重鎖C末端(Hc)が特異的に結合することが必須である。今回B型神経毒素Hc領域の点変異体を用いてガングリオシド単独、あるいは毒素受容体であるシナプトタグミンII/ガングリオシドの複合体との結合能を検討することにより、Hc領域における受容体認識に関わるアミノ酸残基の特定を試みた。

B型神経毒素Hc領域点変異体は、立体構造解析からガングリオシドとの関与が報告されているトリプトファン(W1261)を中心とし、その近傍のアミノ酸E1188、H1240、S1259、K1260、Y1262、L1263について、アラニン(A)に置換し作製した。ガングリオシドGT1bをELISAプレートに吸着させ、点変異体による<sup>125</sup>I標識Wild Type Hcの直接的なガングリオシド結合阻害の程度を調べた。H1240A、S1259A、K1260A、W1261A、Y1262Aはガングリオシド結合活性を消失していたが、E1188A、L1263AはWild Type Hcと同程度のガングリオシド結合活性を保持していた。同様にシナプトタグミンII/ガングリオシド含有リポソーム及び脳シナプトソームを用いて、点変異体による<sup>125</sup>I標識Wild Type Hc及び<sup>125</sup>I標識NTへの受容体結合阻害を調べた。S1259A、W1261A、Y1262Aは受容体結合活性を消失していたが、H1240Aは高濃度で受容体結合活性を示した。E1188A、K1260A、L1263AはWild Type Hc及びNTと同程度の受容体結合活性を保持していた。

上記の結果よりHc領域におけるガングリオシド結合と受容体結合に関与しているアミノ酸残基が一致したことから、ガングリオシド結合部位以外に受容体認識に直接関与するアミノ酸残基の存在が示唆された。今後さらに受容体結合に関わるアミノ酸残基を検索することにより、Hc領域における受容体認識部位について検討を加える予定である。