

## 大腸菌耐熱性エンテロトキシンの外膜通過におけるTolCの機能部位

○山中 浩泰<sup>1</sup>、岡本 敬の介<sup>2</sup><sup>1</sup>徳島文理大・薬・生化学、<sup>2</sup>岡山大・薬・分子細胞薬品科学

毒素原性大腸菌の下痢症は、菌体外に放出されたエンテロトキシンの作用で生じる。それ故、菌体外へのエンテロトキシンの放出過程は本菌の病原性を成立させる上で必須であり、この放出過程に障害を来すと菌の病原性は消失する。このような観点から、我々は大腸菌がいかにして活性を有する耐熱性エンテロトキシン(ST)を菌体外に放出しているのかを研究してきた。

昨年までの検討により、前駆体として生合成されたSTは内膜を通過した後、ペリプラスム内で成熟体となり、生成した成熟STは外膜タンパクTolCの機能を介して菌体外へ放出されること、TolCを介した成熟STの外膜通過にはTolCのC末側の50番目～60番目の構成アミノ酸が重要であることを明らかにした。しかしながら、成熟STの外膜通過に重要とされるTolCのC末側の領域のいかなる性質がその機能に必要であるのかは不明である。そこで種々のTolC変異株を作製し、TolCの機能部位とST分泌との関係を調べ、以下の知見を得た。

1. TolCのC末側の構成アミノ酸を欠失させた変異TolCを作製し、解析した。産生された変異TolCは外膜中で三量体を形成していたが、STや薬剤を通過させる能力はTolCのC末側58個の構成アミノ酸が欠損しても影響が見られなかったが、59個の構成アミノ酸が欠損すると低下し、60個の構成アミノ酸の欠損でほぼ消失した。

2. 部位特異的変異法にて解析した結果、TolCのC末端から60番目の構成アミノ酸であるLeu (Leu-412)がSTや薬剤を通過させる能力を発揮する上で重要な構成アミノ酸であり、この部位の側鎖が疎水性アミノ酸で構成されていることが、その機能発現に必要であることが明らかとなった。また既に明らかにされているTolCの結晶構造より推定して、Leu-412の近傍に局在するTolCのN末端から3番目の構成アミノ酸のLeu(Leu-3)をSerに変異すると、STや薬剤を通過させる機能が低下することが判った。

以上の結果は、STや薬剤を通過させる能力においてTolCのC末端から60番目の構成アミノ酸であるLeu-412が重要であり、この残基がLeu-3残基と相互作用することによって、その能力を発揮している可能性を示唆している。