

ガス壊疽菌群コラゲナーゼの基質認識の分子機構について

○松下 治¹、小出隆規²、Jeffrey J. Wilson⁴、Joshua Sakon⁴、中村信一³、岡部昭延¹
¹香川医大・微生物、²京都大・再生研、³金沢大・医・細菌、⁴Arkansas大・化学生化学

Clostridium histolyticum のコラゲナーゼ(Class IおよびII)は固有のセグメント構造(S1+S2+S3a+S3b, S1+S2a+S2b+S3)を有する。Class II酵素(ColH)のC末端領域(S2b+S3)は単独でコラーゲンに結合した。この領域を融合した成長因子は組織局所に留まり持続的に細胞増殖促進効果を示した。この性状を薬物送達システム(DDS)として応用するために、結合反応の分子機構の解析に着手した。Class I酵素(ColG)のC末端領域のうち、S3はコラーゲンに結合したが、S2は結合しなかった。コラーゲン分子は、中央の三重らせん構造を有するコラーゲン様領域と、その両端のテロペプチドよりなる。S3はテロペプチドを欠くアテロコラーゲンに結合したが、テロペプチドには結合しなかった。種々のペプチドへのS3の結合性を調べたところ、三重らせんを形成するコラーゲン様ペプチドには結合したが、その鏡像異性体、らせん構造を形成しない類似ペプチド、ゼラチンには結合しなかった。S3はコラーゲン結合ドメイン(CBD)であり、コラーゲンの三重らせん構造を特異的に認識すると考えられた。class I酵素由来のCBDの構造をX線回折により決定したところ、本ドメインは β サンドイッチ構造をとることが明らかとなった。N末端側のペプチドはCa非存在下ではヘリックス構造、Ca存在下ではシート構造をとっており、ストークス半径、蛍光強度がCa依存的に変化したことから、この構造変化は結晶中のみならず水溶液中でも起こると考えられる。また基質結合能とドメインの安定性もCa依存的に増加した。CBDに対するCaの結合定数は 10^{-6} Mのレベルと推察され、細菌細胞内と細胞外マトリックスのCa濃度の間にあると考えられる。他の菌種の酵素に由来するCBDにおいても、Ca結合部位を形成する残基はよく保存されていた。CBDのN末端側ペプチドは、酵素が細胞外に分泌される際にCaを結合し、ドメインに安定で至適な構造を取らせるリンカーであると考えられる。さらに、部位特異的突然変異によりCBDの基質認識部位を検討したところ、基質への結合に重要な残基は β サンドイッチの一側面に集中していた。これらの結果に基づき、CBDの基質結合モデルを提示する。