

## 大腸菌耐熱性エンテロトキシンの菌体外分泌と外膜タンパクTolCの機能

○森貞尚<sup>1</sup>、山中浩泰<sup>1</sup>、藤木博太<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、成熟STの外膜通過にはTolCのエカトリアル領域と呼ばれる部位に局在する3位および412位のLeu残基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の構成アミノ酸が毒素分泌にいかにか機能しているのかは不明である。そこで、種々のTolC変異株を作製してST分泌との関係を調べるとともに、TolCと協調的に機能するタンパクとの相互作用についても検討を加え、以下の知見を得た。1. 昨年までの検討により、TolCのエカトリアル領域に局在する412位のLeu残基が極性残基に変異すると、TolCは機能単位である三量体を形成するがSTの輸送機能は著しく低下することを明らかにした。3位のLeu残基(Leu-3)についても同様な検討を行った結果、Ser残基に置換するとTolCはほとんど機能せず、ついでTyr残基に置換、Thr残基に置換の順にTolCの機能低下が認められた。特に著しい低下の見られたSer残基に置換されたTolC産生株を用いてその原因を追及した結果、この株ではTolCタンパクの分解が速く、タンパクそのものの安定性が著しく失われていることを示唆する成績を得た。2. TolCとSTとの直接的な相互作用をcross-linking methodおよび抗TolC血清を用いた免疫沈降法を利用してin vitro転写翻訳系で解析した結果、既に薬剤排出系においてTolCと協調的に機能すると考えられているAcrAタンパクはTolCと相互作用していることが示唆されたが、STとTolCは直接的に相互作用していないことが示唆された。従って、STの分泌においては、ペリプラスム内で生成した成熟STをTolCへと運び込む何らかの輸送担体が存在することが推定され、現在この点に関する解析を進めている。