

## ストレプトリシンOファミリー細胞溶解毒素のundecapeptide領域保存配列とコレステロールの相互作用

○長宗秀明<sup>1</sup>、伊藤 亘<sup>1</sup>、龍田季代子<sup>1</sup>、大倉一人<sup>2</sup>、前田拓也<sup>1</sup>、高麗寛紀<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>徳島大・工・生物工、<sup>2</sup>名大院・生命農

【序論】ストレプトリシンOファミリー細胞溶解毒素(SFC)のundecapeptideシステインモチーフ領域(11mer領域: ECTGLAWEWWR)は、SFC毒素における点変異導入によるLoss of Function実験でコレステロール(CHL)の結合に重要な領域であると示唆されている。しかし積極的にGain of Function実験で、11mer領域が本当にCHL結合部位なのか、そのどの部分がCHL結合に必要なのかを示した報告は無い。そこで今回、SFCに属すがCHLに特異親和性を持たず、ヒト細胞特異的に活性を示すインターメディリシン(ILY)の11mer領域: GATGLAWEPWRを部分的あるいは全面的にSFCの保存配列に置換した変異体を用いて、この保存配列とCHLの結合性、またその相互作用に重要な部分構造につき検討を行った。【結果と考察】SFCの11mer領域保存配列に比べて3残基の置換があるILYの11mer領域をSFCのそれに变化させた4つのILY変異体を作成し、野生型ILY、ILYの11mer領域及びその直前の残基をSFC保存配列及びR(パーフリンゴリシンOのCHLドッキングモデルで相互作用に係わる可能性が指摘)に各々置換した変異体とともに、その溶血活性とCHL親和性を検討した。その結果、変異箇所が多いと比活性の低減が見られたが全ての毒素はヒト溶血活性を示し、またCW変異体はウサギ溶血活性をも獲得していた(親和性はヒトに比べて約1/30)。各毒素のヒト溶血活性に及ぼす共存CHL(~1microM)の影響を調べると、野生型とW変異体は全く阻害を受けず、C変異体ではCHLとの親和性が顕著に現れ(Ki値は約700nM)、CW、ECW及びRECW変異体ではストレプトリシンOとほぼ同等の高親和性(Ki値は20-30nM)を示しCHLで強く阻害を受けた。以上の結果から、SFCの11mer領域保存配列は確かにCHL結合部位であり、CHLとの結合にはCの寄与が大きいこと、またEを除く後半の10merだけで十分なCHL親和性が生じ、この領域外のRはCHLとの結合に寄与が低いことが確認できた。しかしCW変異体のウサギ赤血球への親和性はヒトの場合の1/30と低いことやECWとRECWがウサギ溶血活性を示さなかったことから、細胞膜に埋没したCHLとの相互作用にはこの領域構造とその近傍でこの領域構造により影響を受ける部位の立体構造が必要である可能性が示唆された。