

ボツリヌスB型神経毒素が認識する受容体結合部位の解析

○幸田知子、瀬戸幸路、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。毒性発現には毒素重鎖C末端(Hc)が神経細胞膜上の受容体に結合することが必須であり、B型NT受容体はシナプトタグミンIIとガングリオシドGT1bの複合体であることがわかっている。シアルラクトースとの共結晶構造の解析からB型NTのガングリオシド結合部位は調べられているが、真の受容体認識部位の解明には至っていない。今回、Hcの受容体への結合部位と予想される領域のアミノ酸残基を対象に点変異体を作製し、これらの結合活性を調べることでより詳細な認識部位の解析を試みた。Hc領域(aa.854-1290)のガングリオシド結合部位(W1261)近傍のアミノ酸残基、また受容体結合の親和性が異なるOkra株および111株神経毒素間で、Hc領域のアミノ酸配列を比較し、立体構造上分子表面に露出するアミノ酸残基の中で異なる部位、計14残基の点変異体を作製し、これらのガングリオシドGT1bへの直接結合、シナプトソームあるいは、シナプトタグミンII/ガングリオシドGT1bリポソームに対する結合活性の程度を¹²⁵I標識Hcに対する結合阻害活性を指標に調べた。その結果受容体への結合に関与するアミノ酸残基はシナプトタグミンII/ガングリオシドGT1b複合体の認識に関わるG1235、H1240、S1259、W1261、Y1262とガングリオシドGT1bの結合に関わるK1186、K1187、E1189、K1191、K1260に分類されることが予想された。またNTあるいはHcの受容体への結合阻害を指標としてモノクローナル抗体(mAb)の調整を試み、約3種類のmAbを得た。これらmAbが認識するエピトープ解析を行い、受容体への結合に関与するアミノ酸残基との関連を調べている。