

## チオール活性化毒素の溶血機構の超微形態学的解析

○関矢加智子<sup>1</sup>、杉本央<sup>2</sup>、松田守弘<sup>3</sup>、二重作豊<sup>4</sup><sup>1</sup>北里大・薬・電顕、<sup>2</sup>大阪大・医、<sup>3</sup>甲子園大・栄養、<sup>4</sup>北里大・医療衛生・組織/形態分析

溶血レンサ球菌の産生するストレプトリジンO (SLO)を初めとするチオール活性化毒素(現時点では、名称をSLOファミリー細胞溶解毒素とすべきかもしれない)による溶血機構の超微形態学的解析を目的に研究を続けてきた。これらの毒素による生体膜傷害におけるコレステロールの役割を解析する目的で、旧知のコレステロール添加による溶血阻害実験を行った。溶解したコレステロールを2-メルカプトエタノールで活性化したStreptococcus pyogenesから得た SLO 粗毒素1)に添加し、一定温度で反応した後、コレステロール無添加のSLOを対象として、それぞれ赤血球ゴースト膜に室温作用し、免疫電顕観察した。今回の実験条件下で、SLOはコレステロール前処理により膜への結合の段階が阻害されるとの周知の結果が電顕的に証明されたが、コレステロールは通常行われている溶解法では、特有の微小で不定形な板状結晶が観察され問題があった。次に、SLOならびにClostridium botulinumから得られたボツリノリジン3)を卵黄フォスファチジルコリン・リポソーム2)に作用し、電子分光顕微鏡による解析を行った。SLOの0°C作用で、孔を伴わない一重巾のリング2)とリポソームの表面に伸びる一定のピッチで並ぶほぼ一定の長さの細長い線状の構造が、再現性よく観察された。孔を伴った二重リングがほとんどを占める室温作用時には、このような構造は観察されなかった。BLYの室温作用で、SLOの0°C作用時と同様のリポソーム表面から突き出たような線状構造が観察されたが、ゴースト赤血球で見られた孔形成3)は観察されなかった。以上から、これら毒素を構成する4つのドメイン4)と電顕像を関連づけて考察した。一定の長さの細長い線状の構造は、コレステロール結合ドメイン4)での膜へ結合とその後の分子会合の段階で、温度を上げることによりドメイン3)が脂質二重層中に入り込み、二重リングならびに孔形成、既報の冠状構造1)が形成される。ドメイン3)の膜への侵入の性状に両毒素間で差があることなどが考えられる。今後、新たに観察されたリポソーム表面の細長い構造についての詳細な解析を行い、この点を実証してゆく予定である。

[文献] 1. Sekiya, K., et al. J. Bacteriol. 175: 5953-5961 (1993)

2. Sekiya, K., et al. J. Bacteriol. 178: 6998-7002 (1996)

3. Sekiya, K., et al. Infect. Immun. 66: 2987-2990 (1998)

4. Rossjohn, J., et al., Cell 89: 685-692 (1997)