

ボツリヌス菌の産生するprogenitor toxinの構造と機能

○小熊恵二、藤永由佳子、李在哲、有満秀幸、西河淳、村松拓大、金英姫、阪口義彦、株本祐子、崔錦花
岡山大院・細菌

これまでに、ボツリヌス神経毒素 (NTX) 4無毒成分の複合体毒素 (progenitor toxin, PTX) の一次構造と機能を解析してきた。無毒成分を構成する赤血球凝集素 (HA) は4種類のサブコンポーネント (HA-1, 2, 3a, 3b) より成ること、HAは赤血球のみならず小腸の上皮細胞にも結合し、毒素が効率良く吸収されるために必要であることを明らかにした。今回は、腸管上皮細胞からの吸収機構をさらに解明するため、細胞への結合、侵入過程、および、その際に重要な役割を担っているタンパク質の3次構造を解析した。まず、AおよびB型NTX, PTXをラクトースゲルカラムを用いて簡単に精製する方法を開発した。次いで、HAの4個の成分をGST融合タンパク質として作製し、毒素およびHA各成分の腸管の培養細胞 (T84, HT29) への結合性 (Kd値の決定など) や、コンフォーカル顕微鏡を用いて細胞内への侵入性を解析した。NTXやHA2, HA3aは結合しない〜低いKd値であったが、HA陽性のPTXおよびHA1, HA3bは高いKd値で結合した。さらに、A, B型PTXはHA1を介してガラクトースに、C, D型PTXはHA3bを介してシアル酸に結合することや、結合にはHA1, HA3bのC端側が重要であることが判明した。C型毒素のHT29細胞への侵入性では、NTXは侵入しないが、HA陽性のPTXは4分後には侵入すること、レセプターとしては糖脂質よりも糖タンパク質上に存在するシアル酸が重要であることが判明した。A, C型HA1の結晶化を試みたところ、C型では成功し、かつ、その3次構造も解明できた; リシンのB鎖と同様に、2個の β -trefoil構造を示し、糖鎖 (特にラクトース) に特異的に結合するドメインを持つ。また、HA3bにはシアロアドヘジンfamilyに類似の配列が認められた。