

Parasporin-1の細胞毒性におけるCa²⁺イオンの関与

○片山秀樹¹, 横田春生², 赤尾哲之¹, 山下聡子¹, 中村修¹, 目加田英輔², 大庭道夫³, 水城英一¹

(1;福岡県工業技術センター・生物食品研究所, 2;大阪大・微生物病研究所, 3;九州大院・農)

【目的】我々は、*Bacillus thuringiensis*の非殺虫性結晶タンパク質がプロテアーゼ処理により培養株化細胞に特異的な細胞毒性を示すことを見出し(1)、parasporinという新しいタンパク質ファミリーを提唱した(2)。Parasporin-1(PS-1)は*B. thuringiensis*A1190株が生産するparasporin型毒素であり、81-kDa前駆体タンパク質(pro-PS-1)として合成され、プロテアーゼによる部分分解により活性型(PS-1)となる。活性型毒素は56-kDaと15-kDaのタンパク質の複合体であり、特定の培養細胞株に毒性を示す(3)。本研究ではPS-1の作用機構を調べるために、PS-1処理した細胞の生理的変化を調べた。この結果、PS-1の作用にCa²⁺が関与していることを示唆するデータが得られたので報告する。

【結果と考察】PS-1処理後、30 min以内に細胞のタンパク質合成が低下し、それに続いて細胞骨格の脱重合が認められた。PS-1処理によるLDH漏出やpropidium iodide流入の誘導は認められなかった。次に、細胞内Ca²⁺の変化を検討したところ、PS-1処理後、1-2 min以内に濃度依存的な細胞内Ca²⁺の上昇が認められた。この細胞内Ca²⁺の上昇は細胞のPS-1感受性と相関性を示した。したがって、毒素による細胞内Ca²⁺の上昇は毒性の重要な段階であると考えられた。細胞外Ca²⁺非存在下、PS-1による細胞内Ca²⁺上昇は低下し、細胞外へCa²⁺を添加することにより上昇した。低Ca²⁺培地中でPS-1の毒性活性は低下し、Ca²⁺を添加することにより回復したが、Mg²⁺の添加では全く変化が認められなかった。さらに、Ca²⁺ ionophore処理によりPS-1と類似の細胞毒性を誘導することができ、細胞内Ca²⁺の上昇を阻害するsuraminによりPS-1毒性が抑制された。これらの結果は細胞外Ca²⁺の流入がPS-1活性にとって重要であることを強く示唆する。長期的に細胞内遊離Ca²⁺濃度を高く維持することは細胞にとって毒性となることが知られている。したがって、PS-1は細胞にCa²⁺毒性を誘発し、細胞死を誘導していると考えられた。

(1) Mizuki, E. et al *J. Appl. Microbiol.* 86, 477-486 (1999)

(2) Mizuki, E. et al. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 7, 625-634 (2000)

(3) Katayama, H. et al *J. Biochem.* 137, 17-25 (2005)