

## <S-10> スレプトロリジン O による溶血機構の超微形態的解析

○ 関谷加智子<sup>1</sup>、龍田季代子<sup>2</sup>、長宗秀明<sup>2</sup>

(1;北里大・薬・電顕室、 2;徳島大・工・生物学)

細菌が産生するスレプトロリジンO(SLO)によって代表される細胞溶解毒素の溶血機構を解析することを目的に、今回は、毒素を構成する4つのドメインのドメイン4のシステインをアラニンに置換し、さらに、ドメイン2とドメイン3のアミノ酸をシステイン置換し、両ドメインを-SSで架橋することによって、膜結合能と分子会合能は有するが、コンフォメーションが固定化され、膜への貫入能が制限されたSLO変異体(SLO(C/A)-SS)により解析した。

ヒト赤血球を予め蒸留水で溶血したゴースト膜に、SLO(C/A)-SSを室温で20分作用後、2.5%グルタルアルデヒドで固定し、2%リンタンゲステン酸で、ネガティブ染色した。SLOを0℃作用時に観察された孔を伴わない時の半巾の状態、正円状にまで会合が進み、数個ずつ固まったリングとして観察された。同じ条件でSLO(C/A)-SSを作用後、10mMのジチオスレイトール(DTT)で還元処理し、膜貫入能の回復による像の変化を観察した。DTTの作用時間に伴って、孔を伴いリング巾も太くなったリングが増加する様子が観察された。

今回の実験で、SLO(C/A)-SSは、膜結合ドメイン4で膜へ結合し、会合はするものの孔形成には至らないこと、DTT処理により-SSの架橋が外れ、ドメイン3が膜内に入り込み孔形成と共に、コンフォメーションの変化により、巾の広いリング形態として観察されることが証明された。

以上から、以前報告したSLOの分子会合モデルの内外分子の基部と頭部は、それぞれ、4つのドメインに相当すること、本毒素による溶血は、温度非依存的な膜への結合ならびに会合と、温度依存的な孔形成の二段階で進行するが、ドメイン3の膜貫入に伴う二重リング形成のコンフォメーション変化に温度の上昇が必要であることが、形態学的に証明された。さらに、各段階の詳細なリング形状の計測を行い、各ドメインの動きと電顕像との関係を解析し考察を深める予定である。