

28P1-am202

ウエルシュ菌 ϵ 毒素のオリゴマー形成と膜流動性

○永浜 政博¹, 櫻井 純¹(¹徳島文理大薬)

[目的] D 型ウエルシュ菌 ϵ 毒素は、壊死、細胞毒性等の活性を有している。 ϵ 毒素は MDCK 細胞に作用させると、時間と用量に依存した K^+ 遊離と 6 量体オリゴマー形成を示す。今回、 ϵ 毒素の作用発現機構を解明するためリポソーム破壊作用を検討した。**[方法]** カルボキシフルオレセイン(CF)を取り込ませたホスファチジルコリン(PC)を含むリポソームを作製し、 ϵ 毒素による CF 遊離作用を測定した。リポソームへの結合は、本毒素と 37 でインキュベーション後、抗 ϵ 毒素抗体を用いたウエスタンブロットで解析した。 ϵ 毒素の膜への侵入は、3-(trifluoromethyl)-3-(m-[¹²⁵I]iodophenyl)diazirine([¹²⁵I]TID)を含むリポソームに ϵ 毒素を作用させ解析した。**[結果]** 毒素を種々の PC で作製したリポソームに作用させると、用量依存的な CF 遊離が認められた。毒素による CF 遊離、リポソームへの結合、機能的オリゴマー形成は、いずれも、PC の相転移温度が低いほど、増加した。BIACORE HPA センサーチップに種々の PC からなるリポソームを固定し、本毒素を流すと、相転移温度の低い PC に対して、強く結合した。 [¹²⁵I]TID を含むリポソームと 毒素をインキュベーションし、紫外線を照射すると、毒素オリゴマーが ¹²⁵I でラベルされた。**[考察]** 毒素のリポソームに対する作用と結合は、いずれも、使用した PC の相転移温度が低いほど強いことが判明した。さらに、 [¹²⁵I]TID を含むリポソームの検討から、本毒素のオリゴマーは、脂質二重層内に侵入することが判明した。すなわち、 毒素は、膜の流動性の増加でオリゴマーを形成し、膜内に侵入して機能的オリゴマーが形成され膜を破壊すると考えられる。