

## 28KA-pm05

*Staphylococcus aureus* 細胞表層 triosephosphate isomerase の精製と *Cryptococcus neoformans* 莢膜由来オリゴ糖との相互作用

○古屋 博美<sup>1</sup>, 池田 玲子<sup>1</sup>(明治薬大)

【目的】*S.aureus* 表層には *C.neoformans* 莢膜多糖類グルクロノキシロマンナン (GXM) 主鎖である  $\alpha$  (1 $\rightarrow$ 3) 結合のマンノース残基と親和性のあるタンパクが存在し、両細胞が接着した結果 *C.neoformans* が死滅すること、およびこのタンパクは解糖系酵素の一つであるトリオースリン酸イソメラーゼ (TPI) である可能性を報告した。そこで、この分子間相互作用を解明する目的で、*S.aureus* 細胞表層 TPI の精製および GXM とマンノオリゴ糖との相互作用を検討した。

【方法】*S.aureus* 細胞表層タンパクを対数期の細胞から 3M LiCl を用いて抽出し、カラムクロマトグラフィーによる TPI の精製法を検討した。また、精製 TPI と  $\alpha$  (1 $\rightarrow$ 3) 結合のマンノオリゴ糖シリーズとの反応性を Biacore3000 を用いた表面プラズモン共鳴法 (SPR) により検討した。さらに AutoDock3 を用いたドッキングシミュレーションにより結合部位の予測を行った。

【結果および考察】*S.aureus* 細胞表層 TPI を塩析後、疎水性、陰イオン交換およびゲルろ過カラムクロマトグラフィーにより精製した。精製 TPI は SDS-PAGE 後の銀染色で単一バンドとして確認され、2300 倍以上にまで精製された。精製 TPI を固相化し SPR により糖との反応を検討した結果、GXM の主鎖から分画した  $\alpha$  (1 $\rightarrow$ 3) 結合のマンノオリゴ糖と、マンノース残基数および濃度依存的に反応した。また、ドッキングシミュレーションにより、TPI の基質結合部位近傍に  $\alpha$  (1 $\rightarrow$ 3) 結合のマンノオリゴ糖が結合する可能性が示唆された。以上の結果より、*S.aureus* 細胞表層 TPI が真核細胞との接着に寄与している可能性が考えられる。