

Staphylococcus aureus の triosephosphate isomerase と病原真菌 *Cryptococcus neoformans* 表層 α -1,3 マンナンとの相互作用およびその真菌死滅への影響
○池田 玲子¹, 古屋 博美¹ (¹明治薬大・微生物)

【目的】われわれは、*C. neoformans* は *S. aureus* の接着により死滅すること、およびこの接着は *C. neoformans* 莢膜主成分 glucuronoxylomannan(GXM)の α -1,3 マンナンと *S. aureus* 表層 triosephosphate isomerase(TPI)との相互作用によることを報告した。そこで、さらに TPI の精製法を検討し、精製 TPI とマンノオリゴ糖の相互作用を速度論的に解析した。一方では TPI の *C. neoformans* の増殖と死滅に及ぼす影響を検討した。

【方法】*S. aureus* 細胞表層より塩化リチウムで粗タンパクを抽出し、疎水性、陰イオン交換カラムクロマトグラフィー等により精製した。精製 TPI と GXM および α -1,3 結合のマンノオリゴ糖シリーズとの反応性を表面プラズモン共鳴法(SPR)により解析した。一方、TPI を *C. neoformans* に添加し、経時的に生菌数を測定した。

【結果および考察】TPI は SDS-PAGE 後の銀染色で単一バンドにまで精製された。この TPI を固相化し、GXM および α -1,3 結合のマンノオリゴ糖との反応性を SPR により検討した結果、TPI は GXM と用量依存的に相互作用した。マンノオリゴ糖とは、マンノース残基数が奇数と偶数でそれぞれ特徴的なセンサーグラムを示した。ドッキングシミュレーション、およびマンノオリゴ糖の TPI 酵素活性阻止能もあわせて検討した結果、三糖類以上のオリゴ糖は TPI の基質結合部位近傍に結合し、偶数残基のオリゴ糖はさらに別の部位で結合するモデルが考えられた。一方、TPI の添加により *C. neoformans* の生菌数は 2 時間後に半減した。従って、TPI は接着のみならず、死滅にも関与していることが示唆された。