

30W-pm05

新規ペプチド性 Shiga toxin 阻害薬と Stx との結合分子機構の解析

○高橋 美帆¹, 津々木 一恵¹, 西川 喜代孝¹(¹同志社大生命医)

大腸菌 0157:H7 が産生するペロ毒素(Shiga toxin; Stx)は AB5 型毒素であり、A サブユニット 1 分子が毒性活性を、B サブユニット 5 量体が標的細胞との結合を担う。B サブユニット 5 量体は細胞膜上に存在する糖脂質 Gb3 (globotriaosylceramide)を受容体とし、そのグロボ 3 糖部分を特異的に認識する。B サブユニット 1 分子には 3 種類のグロボ 3 糖結合部位が存在し(サイト 1~3)、一度に複数の Gb3 に結合することで、結合親和性が著しく亢進する(クラスター効果)。これまで我々は、それ自体がクラスター効果を発揮する多価型ペプチドライブラリーを開発し、Stx1B サブユニット(Stx1B)のサイト 1 を標的として本ライブラリーをスクリーニングすることにより、新規ペプチド性 Stx1 阻害薬 MMA-tet を同定した。本研究では、Stx1B と MMA-tet との結合様式を詳細に検討し、その阻害機構を明らかにすることを目的とする。Stx1B の各グロボ 3 糖結合部位に様々なアミノ酸置換を導入した一連の変異体 (His タグで標識)、ならびに MMA-tet の一連のアラニン置換体 (ビオチンで標識) を調製し、2 種の異なる標識タグが接近したことを高感度に検出する系(alpha-screen 法)を用いることにより、共に可溶性状態を保ったまま、両者の結合を迅速に検出する系を確立した。本系を用い、MMA-tet の各アミノ酸について Stx1B との結合に果たす役割を定量的に解析することができた。さらに両者の結合には、Stx1B のサイト 1 だけでなくサイト 3 が関与すること、一方でサイト 2 は全く結合に関与していないことが明らかとなった。本検討により得られた結果は、標的細胞における MMA-tet の Stx 1 阻害機構を分子レベルで解明する上で重要な情報を提供している。