

26PA-pm093

ピロリ菌のチアミン輸送タンパク質 PnuT の生化学的性質と基質認識部位

○只野 響¹, 内山 良介¹, 小林 数也², 林 麻利亜¹, 遠藤 祐里奈¹, 赤路 健一², 野坂 和人¹
(¹武庫川女子大薬, ²京都薬大)

【背景・目的】ピロリ菌 *Helicobacter pylori* は、*de novo* のビタミン B₁ (チアミン) 合成酵素の遺伝子が欠失しているため、チアミンの供給を外界からの取り込みに依存し、チアミンの輸送系を阻害する化合物は抗ピロリ菌剤として有用であると考えられる。昨年の本大会で、我々は、ピロリ菌の HP1290 遺伝子によってコードされる PnuT が輸送タンパク質であることを報告した。PnuT は 8 回膜貫通タンパク質であることが予測されるが、そのチアミン取り込み機構は明らかにされていない。そこで今回、HP1290 遺伝子を実験室で発現させ、PnuT のチアミン取り込み活性の生化学的性質と基質認識部位を検討した。

【方法】*H. pylori* SS1 株のゲノム DNA より HP1290 遺伝子を単離し、大腸菌のチアミン輸送欠損株 NEB10 β (*thiBPQ*) に発現させた。チアミンの菌体内への取り込みは、ガラスフィルター濾過法を用いて、細胞内に取り込まれた [³H]チアミンを液体シンチレーションカウンタで計測した。PnuT とチアミンのドッキングシミュレーションは分子構造解析ソフト MOE を使用した。

【結果・考察】取り込み活性の最適 pH は 7.0、最適温度は 40°C であり、4°C ではほとんど取り込みは認められなかった。グルコース、Na⁺、K⁺ の添加によって有意な取り込み活性の上昇は観察されなかった。また、取り込み初速度 (1 min) に及ぼす [³H]チアミン濃度の影響を調べた結果から、チアミンに対する K_m 値は 41 nM であった。チアミンの構造類似体では、ピリチアミンとヒドロキシメチルピリミジンにチアミンの取り込み阻害作用が認められた。さらに、基質認識が予測されるアミノ酸の変異導入実験から、Asn-176 がチアミンのピリミジン部を認識し、チアミン輸送に関与していることが示唆された。