

## ウェルシュ菌 Sortase B の X 線結晶解析 X-ray structure of *Clostridium perfringens* Sortase B

神鳥 成弘<sup>1,\*</sup>, 吉田 裕美<sup>1</sup>, 玉井 栄治<sup>2</sup>

<sup>1</sup>香川大学総合生命科学研究センター, 〒761-0793 香川県木田郡三木町池戸 1750-1

<sup>2</sup>松山大学薬学部, 〒790-8578 愛媛県松山市文京町 4-2

Shigehiro Kamitori<sup>1,\*</sup>, Hiromi Yoshida<sup>1</sup>, and Eiji Tamai<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Life Science Research Center and Faculty of Medicine, Kagawa University  
1750-1 Ikenobe, Miki-cho, Kita-gun, Kagawa 761-0793, Japan

<sup>2</sup>Department of Infectious Disease, College of Pharmaceutical Science Matsuyama University  
4-2 Bunkyo-cho, Matsuyama, Ehime 790-8578, Japan

### 1 はじめに

細菌は、外膜を持たないグラム陽性菌と外膜を持つグラム陰性菌に分けられる。グラム陽性菌は、外膜を持たない代わりに、約 250 Å の厚さの強固な細胞壁を持ち、細胞の形態を保持している。細菌細胞壁は、*N*-アセチルグルコサミンと *N*-アセチルムラミン酸が交互にβ(1→4)結合でつながった糖鎖（グリカン鎖）を 8~12 アミノ酸残基のペプチド鎖が架橋した網目構造の高分子ペプチドグリカンからなる。Sortase は、グラム陽性菌において、様々な表面タンパク質を細胞壁のペプチド架橋部分に連結させる酵素であり、基質（表面タンパク質）の種類等により 6 つのクラス（A~F）に分けられる[1]。Sortase は、基質の C 末側領域にある 5 アミノ酸残基からなる Cell Wall Sorting Signal (CWSS) を認識して、自身の活性部位にある Cys 残基とアシル中間体を形成した後、細胞壁に連結させる。Sortase が連結する基質の中には、細菌の病原性や細胞接着能に深く関わっているものがあり、Sortase は創薬ターゲットとしての可能性を持っている。今回、Sortase の基質認識・作用機構を明らかにするために、ウェルシュ菌 (*Clostridium perfringens*) Sortase B (細胞膜結合部位を除いた 226 アミノ酸) の 3 次元構造を X 線結晶解析により 2.2 Å 分解能で決定した。Sortase B は、鉄（ヘム鉄）の摂取調節に関与する表面タンパク質を基質とすることが予想されている。

### 2 実験

データ収集は、BL-5A にて波長 1.0 Å で行い、初期位相は分子置換法により決定した。おもな結晶学的データを以下に示す。空間群  $P2_12_12$ ,  $a = 58.64$ ,  $b = 83.20$ ,  $c = 96.40$  Å,  $R_{factor} = 0.227$ ,  $R_{free} = 0.275$ , Completeness = 99.8%。

### 3 結果および考察

ウェルシュ菌 Sortase B の 3 次元構造は、中央に 8 本の β ストランドからなる歪んだ β バレルを持ち、周囲に 6 つのヘリックス (h1-h6) が配置されている (図 1)。N 末の 43 アミノ酸は電子密度マップ上

で見えていない。全体の構造は、黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) Sortase B (4FLD) とよく類似していたが、基質を認識すると考えられる部位は両者で異なっていた。ウェルシュ菌 Sortase B では、β シートと 2 つの短い α ヘリックス (h2, h5) で深い溝を形成しており、その溝の奥に活性残基である Cys232 が位置していた。

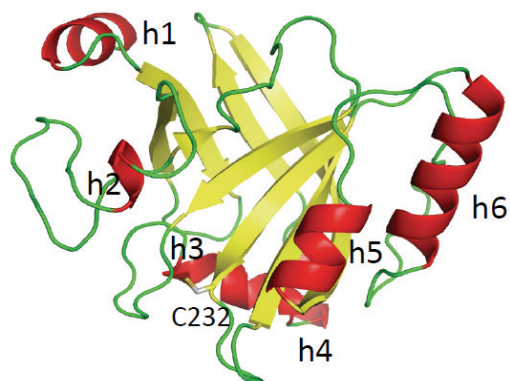


図 1 : ウェルシュ菌 Sortase B の全体構造。

### 4 まとめ

ウェルシュ菌 Sortase B が認識する CWSS は、黄色ブドウ球菌 Sortase B のものとは異なる可能性がある。今後、ウェルシュ菌 Sortase B の基質を同定し、CWSS との複合体構造を決定したい。

### 謝辞

本研究は、日本学術振興会科学研究費補助金 (JP15K06973, JP15K08482) により行われた。

### 参考文献

[1] W.J. Bradshaw *et al.* (2015) FEBS Journal **282**, 2097-2114 (2015)

### 成果

1. 神鳥, 吉田, 玉井, 関谷, 牧, 成谷「ウェルシュ菌 Sortase B の X 線結晶解析」第 89 回日本生化学会大会, 2016 年 9 月, 仙台

\* kamitori@med.kagawa-u.ac.jp