

MPD 存在下でのロイコシジンの多量体化の解明 Elucidation of the oligomerization of leukocidin in the presence of the MPD

郷田秀一郎*, 田中伸弥

長崎大学大学院工学研究科、〒852-8521 長崎市文教町 1-14

1 はじめに

孔形成毒素とは、タンパク質が細胞表面を認識して結合し、多量体化を経て細胞を破壊するタンパク質の一群であり、多くのタンパク質がその一群として報告されている。なかでも α -ヘモリジンはその多量体を形成した際の立体構造が報告されており、孔形成時の膜孔形成部位が明確となっている¹⁾。孔形成毒素の一つにロイコシジンがあり、白血球を標的細胞とし、F鎖とS鎖からなるヘテロ多量体を形成することによって白血球を破壊することが報告されている。田中らは、 α -ヘモリジンの膜孔形成複合体の結晶構造解析を報告し、沈殿剤として用いた2-Methyl-2,4-pentandiol (MPD) が多量体化に重要な役割を果たしていることを報告している²⁾。そこで、本研究では、ロイコシジンの膜孔形成多量体構造解明及び、多量体化における構造変化を明らかにするため、MPD 存在下でのロイコシジンの四次構造変化をX線小角散乱法によって測定した。

2 実験

X線小角散乱測定はBL-10Cにて行った。カメラ長は~80 cm、検出器にはPSPCを用いた。すでにMPD存在下での多量体化が報告されていることから、10%から60%まで10%おきにMPD濃度を変化させて測定を行った。試料には、Panton-Valentin型ロイコシジンのF鎖及びS鎖を用いた。

3 結果および考察

図1に各MPD濃度でのGuinierプロット(a)及びKratkyプロット(b)を示した。GuinierプロットではMPD濃度60%溶液中で大きな変化が見られ R_g 値の急激な上昇が見られた。 R_g 値はMPD濃度が10から50%では約30 Åであったのに対して60%では、約70 Åと急激に上昇しており、多量体化を確認することができた。

Kratkyプロットでは、MPD濃度10から40%では明確ではないものの単量体に由来すると考えられるピークを含む曲線が観察されたが、濃度50%ではランダムコイル様の散乱曲線となり、60%で多量体のピークが観察された。このことは多量体化の過程で、立体構造が大きく崩壊していることを意味していた。

4 まとめ

α -ヘモリジンのMPD存在下での結晶構造解析の結果は、MPDがタンパク質中の膜との相互作用

によって構造変化する部位に入り込むことによって多量体化を推進することを示唆している。本測定より、10%から40%MPD溶液中で大きな構造変化は見られなかったが、50%において大きな立体構造変化を伴って構造が崩壊し、60%では多量体を形成していることを示していた。

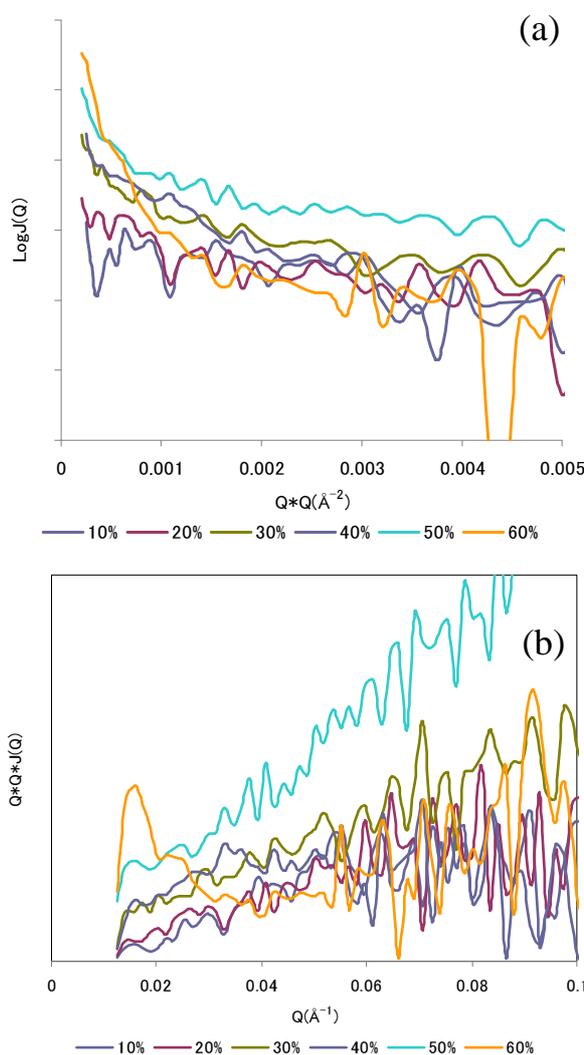


図1：種々のMPD濃度溶液中でのロイコシジンのGuinier(a)及びKratky(b)プロット

参考文献

- [1] L. Song *et al.*, *Science* **274** (1996) 1859-1866.
[2] Y. Tanaka *et al.*, *Protein Sci.* **20** (2011) 448-456.

* sgoda@nagasaki-u.ac.jp