

感染症原因菌の悪性化を統御するクオラムシグナル受容体膜タンパク質複合体の結晶構造解析

Crystal structure analysis of the quorum-receptor complex that controls the expression of virulence factor in the pathogen *Enterococcus faecalis*

永田宏次*, 田之倉優

東京大学大学院農学生命科学研究科 〒113-8657 東京都文京区弥生 1-1-1

Koji Nagata* and Masaru Tanokura

Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8657, Japan

1 はじめに

同一種の菌体の密度に依存して遺伝子発現が制御される機構を、クオラムセンシング（菌体密度依存的遺伝子発現制御機構）と呼ぶ。病原性細菌の病原因子発現がクオラムセンシングにより制御されている例が多いことから、この現象に着目した種特異的に作用する新規拮抗剤の開発が期待されている。腸球菌 *Enterococcus faecalis* は、ヒトを含む哺乳類の腸管内に存在する常在菌であり、病原性は弱く通常であれば害はないが、抵抗力が低下した患者に対して日和見感染する例が知られ、敗血症などを引き起こす。多剤耐性菌（バンコマイシン耐性腸球菌、VRE）も存在し、特に欧米で院内感染の主要原因菌の1つとして知られており、近年我が国でもVRE院内感染による死亡例が何件も発生している。

本研究は、腸球菌の病原因子（分泌性ゼラチナーゼ）の発現を制御するペプチドクオラムシグナル GBAP とその受容体膜タンパク質 FsrC との複合体の結晶構造を決定することにより、GBAP と FsrC の分子認識機構を原子レベルで明らかにし、GBAP 拮抗阻害剤の分子設計[1]に役立てることを目的としている。クオラムシグナル拮抗阻害剤は、既存の微生物群の生育状態に影響を与えずに、種特異的に作用し、病原性の発現のみを遮断する効果が期待される。ヒトに有益な菌と有害な菌とを区別せずに攻撃する従来の抗生物質と異なり、このようなクオラムシグナル拮抗阻害剤は病原性の発現のみを遮断するという点で画期的である。

2 実験

FsrC-GBAP 複合体結晶の X 線回折実験を Photon Factory Advanced Ring NE3A にて行った。効率よく良質結晶を見つけるために自動結晶マウントロボットを使用した。また、FsrC の構造解析を分子置換法で行う際のモデルとして使用することを念頭に FsrC の細胞内領域と配列相同性があるタンパク質 AAHK のセレノメチオニン（SeMet）標識体 Se-AAHK の単結晶について多波長異常分散（MAD）データを取得した。

3 結果および考察

FsrC-GBAP 複合体について蒸気拡散法により得た結晶について、Photon Factory Advanced Ring NE3A で分解能 4.1 Å の回折データセットを取得し（図1）、空間群と格子定数を決定した（ $R3$ または $R32$, $a = b = 144.3$ Å, $c = 512.5$ Å）。その際、自動結晶マウントロボットを使用することにより、多数の結晶の回折能を評価することができて、結晶形と分解能との相関に関する情報を得ることができた。現在、より高分解能の回折データを取得すべく、結晶化条件の改善を進めている。

また、FsrC 細胞内ドメインと配列相同性がある Se-AAHK の結晶について分解能 3.2 Å の Se-MAD データを取得し、空間群と格子定数を決定し（ $P2_12_12_1$, $a = 81.7$ Å, $b = 105.6$ Å, $c = 131.0$ Å）、現在 MR-SAD 法による構造解析を進めており、あと少しで構造精密化を完了する予定である。一方で、より高分解能の回折データを取得することも計画している。

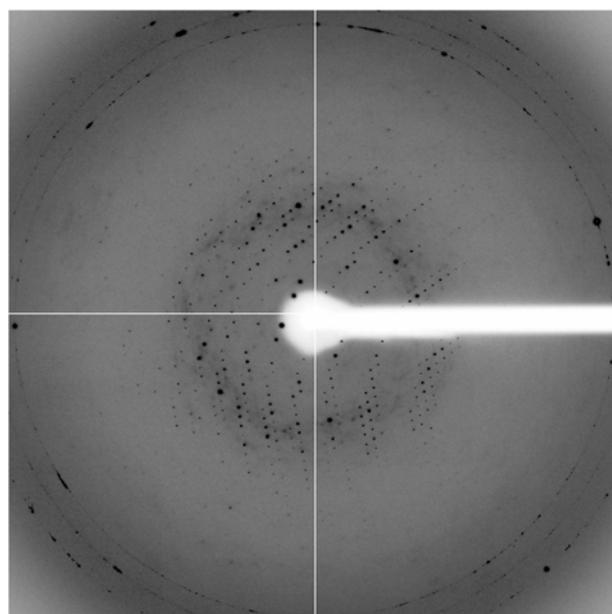


図1：FsrC-GBAP 複合体結晶の X 線回折データの例。

4 まとめ

自動結晶マウントロボットを使用することにより、多数の結晶の回折能を評価することができて、結晶形と分解能の相関に関する情報を得ることができた。

目標とする FsrC-GBAP 複合体結晶の構造解析にはまだ結びついていないが、実験は着実に進んでいる。今後、この複合体の良質結晶を得ることに集中し、立体構造解析を成功させたい。

謝辞

Photon Factory のビームラインスタッフの皆様へたいへんお世話になりました。心より感謝申し上げます。

参考文献

- [1] J. Nakayama, R. Yokohata, M. Sato, T. Suzuki, T. Matsufuji, K. Nishiguchi, T. Kawai, Y. Yamanaka, K. Nagata, M. Tanokura and K. Sonomoto. *ACS Chem. Biol.* **8**, 804-811 (2013).

* aknagata@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp