

## 毒素 FraC の活性化機構の構造基盤 Structural basis for activation of FraC, a toxin

田中耕路<sup>1</sup>, Koldo Morante<sup>1</sup>, Jose M.M. Caaveiro<sup>1</sup>, Juan M.González-Mañas<sup>2</sup>, 津本浩平<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup> 東京大学大学院工学系研究科, 〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1

<sup>2</sup> Faculty of Science and Technology, University of the Basque Country, 〒48940 Bilbao, Spain

<sup>3</sup> 東京大学医科学研究所, 〒108-8639 東京都港区白金台 4-6-1

Koji Tanaka<sup>1</sup>, Koldo Morante<sup>1</sup>, Jose M.M. Caaveiro<sup>1</sup>, Juan M.González-Mañas<sup>2</sup>, Kouhei Tsumoto<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup> School of Engineering, The University of Tokyo, 113-0033 Hongo 7-3-1, Bunkyo-ku, Tokyo

<sup>2</sup> Faculty of Science and Technology, University of the Basque Country, 48940 Bilbao, Spain

<sup>3</sup> Institute of Medical Science, The Univ. of Tokyo, 108-8639 Shirokanedai 4-6-1, Minato-ku, Tokyo

### 1 はじめに

蛋白質は生体内の様々な環境に存在する、生体機能の担い手である。蛋白質は周囲の環境によって、それ自体の性質も大きく異なる。主に細胞質などを活動場所とする蛋白質は可溶性蛋白質と呼ばれる。一方、脂質二重膜に結合・挿入された蛋白質は膜蛋白質と称される。この様に蛋白質を分類すると、Pore-Forming Toxin (PFT)に属する蛋白質の特殊性が際立ってくる。PFT は可溶性蛋白質として生産され、生体膜上で自発的な構造変化を経て膜貫通蛋白質に変化する蛋白質である。可溶性蛋白質に膜貫通蛋白質に変化するメカニズムの解明は、蛋白質のフォールディングや自己組織化の本質的な理解に貢献することが期待されている。本研究では PFT の一種 FraC を用いて、FraC の構造変化機構のステップの一つである、膜結合メカニズムの解明を目指した。

### 2 実験

FraC は大腸菌 BL21(DE3)株を用いて発現させた。大腸菌を破碎した後遠心し、陽イオン交換クロマトグラフィー及びサイズ排除クロマトグラフィーにより FraC を精製した。FraC を、短鎖脂肪酸を有するリン脂質ジカプロイルフォスファチジルコリン (DHPC)と共結晶化し、X線結晶構造解析を行った。測定にはビームライン AR NW12 及び NE3A を用いた。

### 3 結果および考察

FraC 脂質結合単量体の結晶構造を分解能 2.3 Å で決定した。FraC 脂質結合単量体は三分子の DHPC と結合しており、それらの DHPC は生体膜様の平面を形成していた。FraC と脂質頭部と水素結合を形成し、さらに芳香族残基をアンカーのように生体膜深部に突き刺すことで、脂質尾部と疎水性相互作用をしていた。今まで actinoporin は脂質一分子のみを認識すると考えられてきた[1]。しかしながら FraC 脂質結合単量体の構造解析から、FraC は単に生体膜中の脂

質一分子をリガンドとして 1:1 で結合しているのではなく、特異的結合と非特異的相互作用を併用することで生体膜を「膜」として認識していることが明らかとなった。

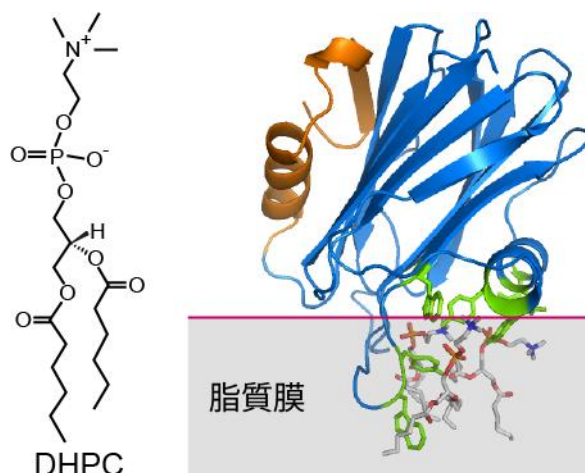


図1 : FraC 脂質結合単量体の結晶構造

### 4 まとめ

本研究では FraC の X 線結晶構造解析により、FraC が脂質膜に結合する際の詳細な分子機構を記述した。FraC はコアダメインの脂質結合部位を用いて、疎水効果、カチオン- $\pi$ 相互作用、水素結合によって生体膜に結合する。

### 謝辞

研究を滞りなく行えたのは、高エネルギー加速器研究機構・Photon Factory のスタッフの方々のご助力のおかげです。ここに感謝申し上げます。

### 参考文献

[1] B. Bakrac *et al.*, *J. Biol. Chem.* **283**, 18665 (2008).

\* tsumoto@bioeng.t.u-tokyo.ac.jp