

二成分系膜孔形成毒素の結晶構造解析

Crystal structure analysis of bicomponent pore forming toxin

○ 山下恵太郎¹, 河合優香¹, 田中良和², 姚閔^{1,3}, 田中勲^{1,3}

(¹ 北大院生命, ² 北大創成, ³ 北大院先端生命)

Staphylococcus aureus 由来 γ -hemolysin (γ HL) は, LukF および Hlg2 から成る二成分系毒素である. これらのタンパク質は, はじめ水溶性の monomer として分泌され, 宿主細胞表面で会合し, 脂質二重膜を貫通する孔を形成する. 私達は X 線結晶構造解析によって, 膜孔形成状態の γ HL の構造を分解能 2.5Å で決定した.

LukF および Hlg2 は, 大腸菌発現系を用いて可溶性分子として調製され, sitting-drop 蒸気拡散法により複合体結晶が得られた. これを用いて X 線回折実験を行い, 分解能 2.5Å のデータを収集した. 回折写真から, 非常に mosaicity の高い結晶であることが確認された ($\sim 1.5^\circ$).

XDS (Kabsch, 2010) による積分およびスケーリングの結果, はじめは Laue クラス $4/mmm$ に属する結晶と判断された. Phaser (McCoy *et al.*, 2007) による分子置換法の結果, 空間群 $P4_21_2$ にて解が得られ, 結晶学的 4 回軸により 8 量体を形成する pore 状態の γ HL 構造が得られた. しかしながら, ここで得られた構造では Patterson 空間上で確認された疑似並進対称が説明できず, また精密化によって R_{free} 値を 30% 以下に減少させることができなかった.

最終的に, この結晶は空間群 $C222_1$ に属し, c 軸と平行に存在すると思われた 4 回回転対称は, 非結晶学的なものであることが判明した. さらにこの結晶は pseudomerohedral な双晶であり, twin operator は疑似回転対称と一致していた. 予め双晶の兆候を統計値 ($\langle I^2 \rangle / \langle I \rangle^2$, $\langle |E^2 - 1| \rangle$ など) から判断することができなかったのはこのためである. REFMAC5 (Murshudov *et al.*, 1997) を用いて精密化を行い, $R_{\text{work}}, R_{\text{free}} = 20.7\%, 23.6\%$ にて収斂した.

構造解析の結果, γ HL は LukF と Hlg2 が交互に並んだ 8 量体であることが判明した. 本発表では, 主に構造解析の詳細について報告する.