

# 毒素原性大腸菌の腸管付着因子 CofJ の結晶構造解析

## Crystal structure of CofJ, an essential molecule for adhesive function of ETEC colonization factor antigen

深草 俊輔<sup>1,2</sup>、西村 光広<sup>2</sup>、元岡 大祐<sup>1</sup>、河原 一樹<sup>4</sup>、中村 昇太<sup>3</sup>、  
谷口 暢<sup>3</sup>、本田 武司<sup>3</sup>、大久保 忠恭<sup>1</sup>、小林 祐次<sup>2</sup>  
(1阪大・薬、2大阪薬大、3阪大・微研、4奈良女大)

毒素原性大腸菌(ETEC)は、発展途上国における旅行者や乳幼児下痢症の主な原因菌の一つであり、コレラ様の水様性下痢を引き起こす。ETEC の病原性発現には、その第一段階である腸管上皮細胞への付着が必要であり、菌体表面上に産生される線毛性定着因子 CFA/III がその役割を担っている。CFA/IIIを構成する遺伝子群には腸管付着に必須なCofJが存在し、その欠損により腸管上皮細胞に対する付着能を失うことが明らかとなっている。そこで我々はCFA/IIIの腸管付着機構の解明のためにCofJの立体構造解析を行った。

CofJの結晶化はハンギングドロップ蒸気拡散法により行い、PEG3350を含む条件で大きさ約 $0.8 \times 0.2 \times 0.1$ mmの平板状のCofJ結晶を得た。得られた結晶は空間群 $P2_12_12_1$ に属し、格子状数は $a = 142.4 \text{ \AA}$ ,  $b = 147.7 \text{ \AA}$ ,  $c = 149.5 \text{ \AA}$ であった。PF-BL17Aにおける回折測定の結果、分解能 $2.0 \text{ \AA}$ ,  $R_{merge} = 7.4\%$ の回折データを得た。次に、位相決定のため塩化ディスプロシウム( $\text{DyCl}_3$ )をソーキングした重原子誘導体結晶を作成し、SPring-8 BL38B1で分解能 $2.0 \text{ \AA}$ ,  $R_{merge} = 11.4\%$ の回折データを得た。初期位相の決定には単波長異常散乱法を用い、構造精密化を行った結果、CofJが非対称単位中に8分子存在する結晶構造が得られた( $R_{work} = 16\%$ ,  $R_{free} = 22\%$ )。溶液中ではCofJが2量体を形成することを超遠心分析法により明らかにしている。単量体のCofJは12本の $\beta$ ストランドからなる2枚の $\beta$ シートによって $\beta$ サンドウィッチ構造を形成していた。CofJは分子表面に正電荷、負電荷の局在する領域およびチロシンクラスターを有していることが明らかとなり、これらの領域を構成する残基がCofJの腸管付着能に関与していることが示唆された。