

# 腸炎ビブリオ由来耐熱性溶血毒 TDH の構造

## Structure of thermostable direct hemolysin from *Vibrio parahaemolyticus*

橋本博<sup>1</sup>、中平久美子<sup>2</sup>、山根努<sup>1</sup>、福井貴史<sup>2</sup>、大西紀陽久<sup>2</sup>、清水敏之<sup>3</sup>、本  
田武司<sup>4</sup>、佐藤衛<sup>1</sup>、池口満徳<sup>1</sup>、柳原格<sup>2</sup>

1 横浜市立大学、2 大阪母子センター、3 東京大学、4 阪大微研

腸炎ビブリオ (*Vibrio parahaemolyticus*) は、1950年10月、大阪南部で発生した "シラス干し" による患者272名、死者20名の大規模食中毒の原因菌として、発見された。腸炎ビブリオによる食中毒の原因食品はほとんどが魚介類であり、現在でも夏場に多発する細菌性食中毒の主要原因菌の一つである。腸炎ビブリオの主要病原因子の耐熱性溶血毒 (Thermostable Direct Hemolysin: TDH) には腸管毒性、心臓毒性、溶血活性、細胞致死活性等が報告されている。TDH は、アミノ酸残基数 165、分子量約 19 kDa のタンパク質である。TDH は pore-forming toxin (孔形成毒素) として機能し、細胞膜に直径約 20Å の孔を形成することが報告されている。TDH は 60°C の加熱により毒素は失活するものの、さらなる高温で加熱処理を行った後に毒素活性が残存する (アレニウス効果)。食中毒菌は一般に加熱すれば死滅するが、TDH の毒素活性は、逆に加熱によりその毒素活性が戻ってしまうという厄介な性質を持っている。しかしながら、TDH の詳細な 3次元構造はこれまで明らかにされていなかった。

我々は、腸炎ビブリオの産生する耐熱性溶血毒 TDH の結晶構造を 1.5Å 分解能で決定することに成功した。構造解析は、金原子を利用した重原子同型置換法を用いた。ネイティブ結晶の X線回折データは SPring-8 BL41XU で収集し、重原子誘導体の X線回折データは PF-AR NW-12A で収集した。プログラム SOLVE/RESOLVE を用いて位相計算と電子密度の改良を行った。プログラム COOT を用いてモデルを構築し、プログラム REFMAC を用いて、最終的に  $R/R_{\text{free}} = 0.134/0.170$  まで構造精密化を行った。TDH は結晶学的な 4 回軸に関係づけられた 4 量体を形成しており、4 量体の中心には、直径約 20Å、深さ約 50Å の孔が存在した。TDH 変異体の機能解析と分子動力学シミュレーションの結果から、4 量体形成が TDH の溶血活性に必要であり、4 量体の中心の孔がチャンネルとして機能していることが示唆された。

(参考文献)

Yanagihara *et al.* & Hashimoto, *JBC* (2010)