



国立大学法人 京都大学
学校法人常翔学園 摂南大学

小さな原子団が巨大分子のかたちを変える

概要

老木 紗予子 京都大学大学院農学研究科博士課程学生、橋本 渉 教授、村田 幸作 摂南大学教授らの研究グループは、鼠咬症の起因菌であるグラム陰性連鎖桿菌¹の細胞表層に局在する基質結合タンパク質が、動物の細胞外マトリックス成分であるコンドロイチン硫酸に対して、その硫酸基の数により結合の仕組みを変化させることを見出しました。硫酸基のような小さな原子団が巨大分子であるタンパク質の構造を変化させるメカニズムを明らかにすることにより、標的タンパク質に結合する化合物（例：感染症治療薬）の部分的改変が、標的タンパク質の機能を制御することに繋がると期待されます。

論文は12月5日午後7時（日本時間）、*Scientific Reports*に掲載されました。

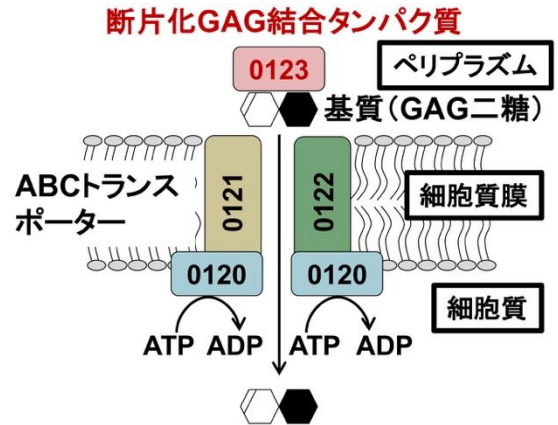
1. 背景

ある種の細菌は、動物に共生または感染する際、動物の細胞外マトリックスを標的とします。動物細胞の外側を覆う（細胞外）マトリックスの主要成分として、グリコサミノグリカン（GAG）が存在します。典型的なGAGとして、ウロン酸とアミノ糖の二糖の反復配列からなるヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸、ヘパリン、ヘパラン硫酸などがあげられます。GAGは、軟骨成分としても知られています。細菌は、これらのGAGを増殖のための栄養素、および/あるいは動物細胞に定着するための足場として利用します。これまでに、細菌によるGAGの分解メカニズムについてはよく研究が進んでいます。一方、細菌がGAGを栄養素として利用する場合、GAGを細菌細胞内に取り込む必要があります。最近、本研究グループは、病原細菌である連鎖桿菌が動物細胞のGAG（コンドロイチン硫酸）を取り込む分子メカニズムの一端を初めて明らかにしました（図1）。本菌は、断片化したコンドロイチン硫酸（二糖）を、細胞表層の基質結合タンパク質による結合と解離を介して、ATP結合カセット（ABC）トランスポーターにより細胞質内に取り込みます。しかし、コンドロイチン硫酸はその分子内に複数（0-3個/二糖単位）の硫酸基を含み、輸送タンパク質がどのように硫酸基の数を見分けるかはわかっていませんでした。

¹齧歯類の口腔内に常在し、齧歯類に咬まれると、発熱や頭痛を引き起こす細菌。重篤化することも知られ、死に至るケースも報告されています。

図1. 連鎖桿菌による GAG の取り込み

細胞表層（ペリプラズム）に局在する基質結合タンパク質が、断片化 GAG を捕捉し、細胞質膜に存在する ABC トランスポーターと相互作用します。その後、ABC トランスポーターが ATP 加水分解エネルギーを用いて、結合タンパク質から断片化 GAG を細胞質内に取り込みます。



2. 研究手法・成果

今回の研究では、硫酸基が二つ存在するコンドロイチン硫酸二糖 (C Δ 4S6S) に対して、連鎖桿菌の輸送タンパク質がどのように機能するかを調べました。連鎖桿菌の細胞表層に存在する断片化 GAG 結合タンパク質は弱いながらも C Δ 4S6S と結合し、ABC トランスポーターの活性も少し惹起することがわかりました。これまでに、結合タンパク質が、硫酸基がないコンドロイチン二糖 (C Δ 0S)、次いで硫酸基が一つしかないコンドロイチン硫酸二糖 (C Δ 4S と C Δ 6S) と良好に結合することを明らかにし、それらの結合体の立体構造を決定しています。つまり、C Δ 4S6S は、連鎖桿菌にとってあまり良い栄養素ではないと考えられます。そこで、断片化 GAG 結合タンパク質と C Δ 4S6S との結合体の立体構造を決定し、その結合様式を明らかにしました。本タンパク質は、基質である GAG 二糖と、結合または解離に伴ってドメイン構造を閉じたり、開いたりします。今回の結合タンパク質と C Δ 4S6S との結合体では、非結合体との構造比較により算出されるドメイン開閉度に大きな違いが見られました。C Δ 0S、C Δ 4S と C Δ 6S との結合体ではドメイン開閉度が 47°であったのに対し、硫酸基が二つあると、結合タンパク質は 39°のドメイン開閉度を示しました (図 2)。つまり、硫酸基という小さな原子団が巨大なタンパク質の構造を変化させることがわかりました。基質の部分的な構造の相違が、ABC トランスポーターと連携する基質結合タンパク質のドメイン開閉度を変化させることは初めての知見です。

以上のことから、硫酸基の数によりドメイン開閉度を変化させる細菌由来基質結合タンパク質の存在を明らかにしました。

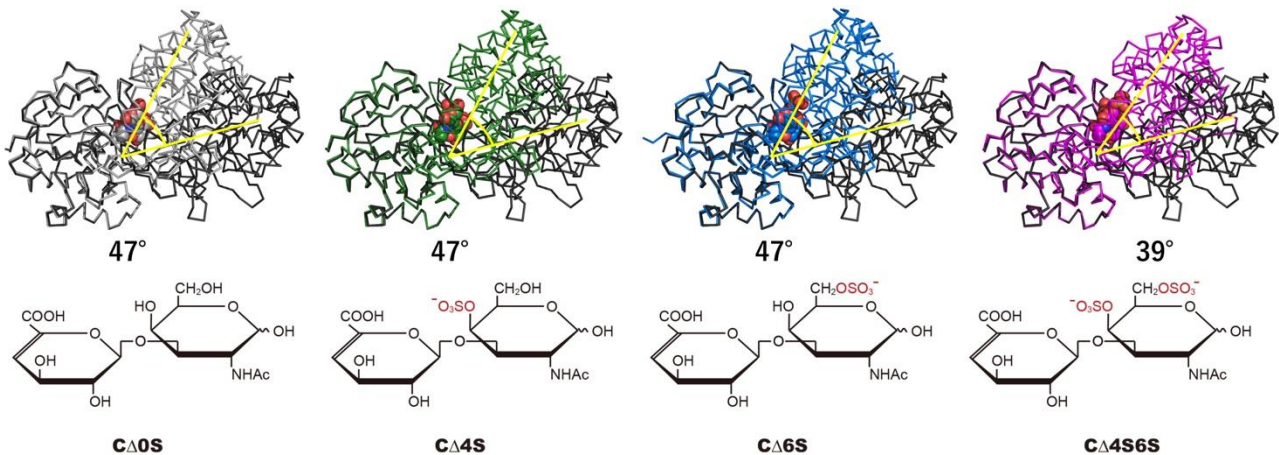


図2. 断片化 GAG 結合タンパク質のドメイン開閉度 (上) とコンドロイチン二糖 (下)

基質非結合体 (黒)、C Δ 0S 結合体 (灰)、C Δ 4S 結合体 (緑)、C Δ 6S 結合体 (青)、C Δ 4S6S 結合体 (桃)、分子中央の球モデル：結合しているコンドロイチン二糖

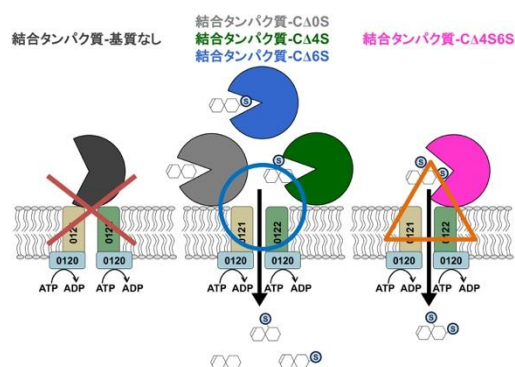
3. 学術的意義と波及効果

最新の結果から、三つの硫酸基を有するコンドロイチン硫酸二糖とは、断片化 GAG 結合タンパク質は結合できないことがわかりました。したがって、コンドロイチン硫酸二糖について、硫酸基数が多くなると連鎖桿菌の栄養素にならないことが示されました。断片化 GAG 結合タンパク質に見られるドメイン開閉度の相違は、栄養素の好き嫌いを反映しているかも知れません (図 3)。実際、シミュレーションを行った結果、CA4S6S と結合したタンパク質は、他のコンドロイチン硫酸二糖との結合体と比較して、ABC トランスポーターとうまく相互作用できないことが示唆されました。つまり、好適でない栄養素を細胞内に取り込むことを抑制していることが考えられます。ABC トランスポーターは栄養素を取り込む際、生体エネルギーである ATP を必要とすることから、結合タンパク質の ABC トランスポーターとの相互作用の不調は輸送エネルギーの節約に貢献している可能性を示しています。

本研究成果の応用的、社会的波及効果として、例えば創薬があげられます。基質に小さな原子団を加除することにより、標的タンパク質の作用を制御することが期待されます。

図 3. 連鎖桿菌による基質の選別

基質結合タンパク質が、ドメイン開閉度を変化させて、輸送基質を選別している可能性が考えられます。



4. 今後の予定

病原細菌のみならず、善玉菌も含めた常在細菌が、GAG を定着や分解の標的とすることがわかってきました。今後は、GAG を標的とする微生物 (細菌) 叢のヒト組織における動態、およびそれらの GAG 標的微生物叢の宿主への定着機構を明らかにし、病原細菌の感染防御と善玉菌の優勢増殖を図ることにより、疾患抑制と健康増進に資する研究を進めます。

<論文タイトルと著者>

タイトル: Alternative substrate-bound conformation of bacterial solute-binding protein involved in the import of mammalian host glycosaminoglycans.

著者: Sayoko Oiki, Reiko Kamochi, Bunzo Mikami, Kousaku Murata, and Wataru Hashimoto.

掲載誌: *Scientific Reports*