

Press Release



コレラ菌の胆汁走性に関わるセンサーの発見およびその認識機構の解明

名古屋大学大学院理学研究科（研究科長：松本 邦弘）の本間 道夫（ほんま みちお）教授、法政大学生命科学部の川岸 郁朗教授・西山 宗一郎博士・山本 健太郎大学院生、大阪大学理学研究科の今田 勝巳教授・高橋 洋平大学院生らの共同研究グループは、コレラ菌の胆汁走性に関わる受容体（センサー）を発見し、その認識機構の詳細を明らかにしました。

本研究成果は、英国科学誌 Nature の姉妹誌「Scientific Reports」のオンライン版で、2016年2月16日 午前10時（英国時間）に公開されました。

【研究成果のポイント】

- 胆汁の成分であるタウリンにコレラ菌を誘引する作用があることを発見
- アミノ酸センサー蛋白質がタウリンを認識することを発見
- センサーがタウリンを認識するしくみを原子レベルで解明
- 細菌のセンサーが物質を認識する様子を生きのまま捉えることに世界で初めて成功

【研究の背景】

コレラは現在もなお発展途上国を中心に流行している感染症であり、原因となるコレラ菌の感染・病原メカニズムの解明は予防のためにも重要です。コレラ菌は河川や汽水域といった外界（低温・貧栄養）と人体内（高温・富栄養）という異なった環境を循環していると考えられています（図1）。

ひとたび人体に入り込むと腸内に定着し、コレラ毒素をはじめとした様々な病原因子を作りはじめ、激しい下痢を引き起こします。このコレラ菌は、運動性をもつ多くのバクテリアと同様、べん毛とよばれるらせん状の繊維をスクリューのように回転させて水中を泳ぎ、より良い環境へと移動していく「走化性」を示します。この走化性はコレラ菌をはじめとした様々な病原細菌で外界での生存、感染時の生存／病原性発揮に関わっていることが様々な研究から示されています。本研究により、コレラ菌が胆汁成分中のタウリンに引き寄せられることが明らかになりました。

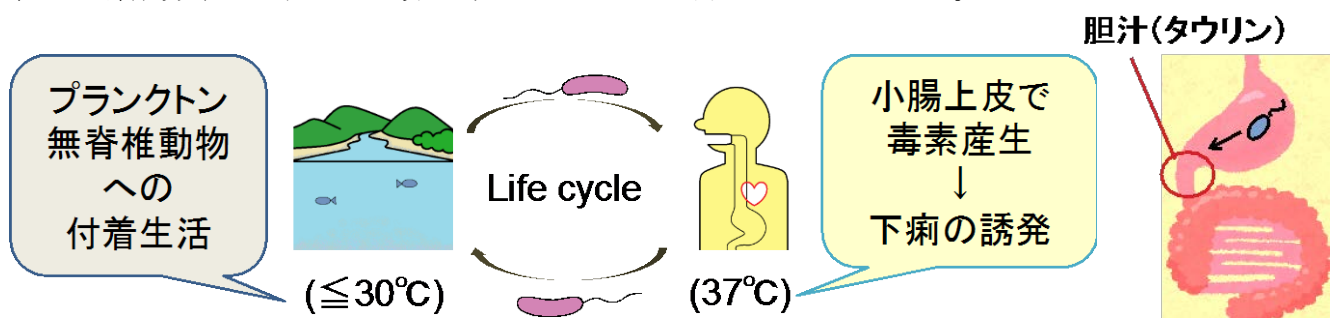


図1. コレラ菌の生活環および人体内で胆汁に誘引されるコレラ菌の概念図

コレラ菌が飲食物と共に摂取されると、最初に胃の酸、ついで胆汁にさらされます。胆汁は食物の脂質成分を乳化する界面活性剤としてはたらくため、細菌に対しても毒になりますが、コレラ菌は胆汁に耐性を示し、むしろ胆汁に引き寄せられる（誘引される）ことが知られています。本研究では、まず胆汁の様々な成分のうちコレラ菌を誘引するのは胆汁酸でなくタウリンであることをつきとめ、タウリン走性のためのセンサーとして多数ある走化性受容体のうちのひとつ(Mlp37)を同定しました。研究を進めた結果、この Mlp37 はタウリンに加え、セリンなど複数のアミノ酸も感じるができる 多機能センサー であることが明らかになりました。

この Mlp37 のセンシングに関わる領域を大量精製し、等温滴定型カロリメトリー (ITC) を使って解析した結果、セリンやアラニンなどの アミノ酸やタウリンがこの受容体に直接結合 することが分かりました。

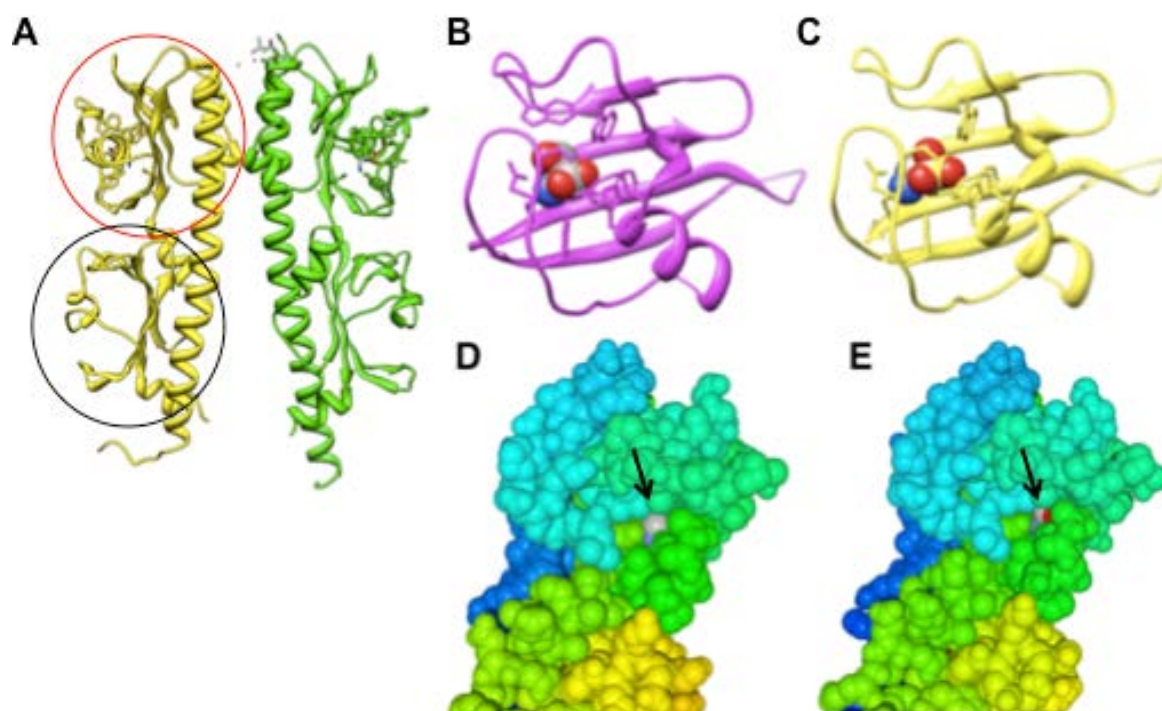


図 2. Mlp37 の分子構造

- (A) 解析した Mlp37 の構造。2つの Mlp37 分子(黄色と緑色)が2量体を形成する。赤で囲った領域と黒で囲った領域は似ているが、赤で囲った領域にのみ誘引物質が結合。
- (B) セリンを結合した Mlp37 の赤で囲った領域の拡大図。Mlp37 をピンク色で表示。セリンはボールで表示。
- (C) タウリンを結合した Mlp37 の赤で囲った領域の拡大図。Mlp37 を黄色で表示。タウリンはボールモデルで表示。タウリンはセリンと同じ場所に結合。
- (D) セリンを結合した Mlp37 を分子モデルで表示。灰色のボールがセリン。Mlp37 に隙間があるため(黒矢印)、外からセリンが見える。
- (E) タウリンを結合した Mlp37 を分子モデルで表示。灰色と赤のボールがタウリン。Mlp37 に隙間があるため(黒矢印)、外からタウリンが見える。

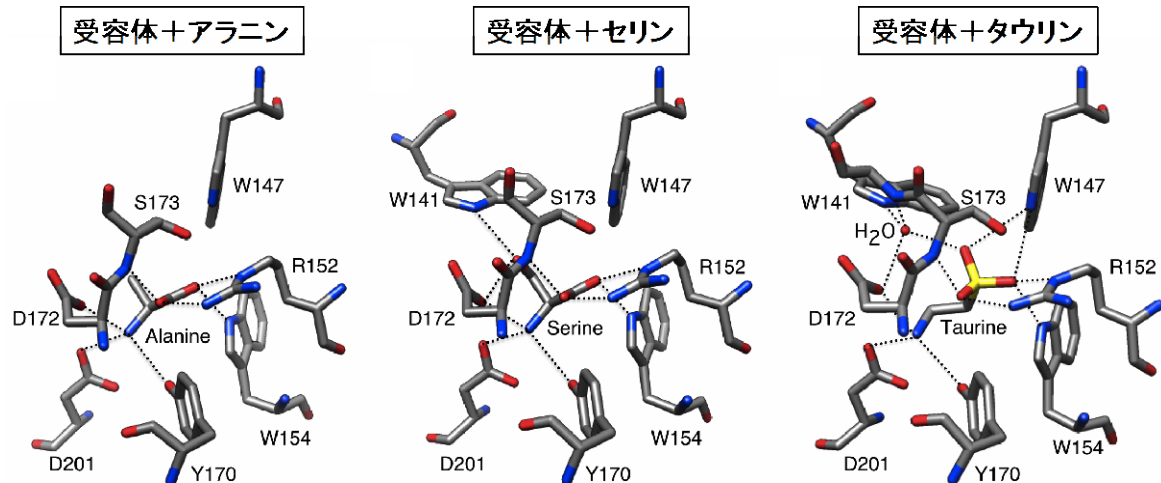


図 3. アミノ酸・タウリン走性受容体 Mlp37 にアラニン、セリン、タウリンが結合した構造
 センサー側の構造をほとんど変えることなく、アラニン、セリン、タウリンという異なる物質を結合できることがわかる。

さらにこの Mlp37 とセリン・タウリンとの共結晶 を作ることに成功し、構造解析により Mlp37 にセリンやタウリンが結合した状態の構造を解明することができました (図 2)。アラニンが結合した構造 (既知) と比較したところ、驚くべきことに、共通のポケット・共通のアミノ酸残基がほぼ同じ配置で異なる物質を結合 (認識) することが明らかになりました (図 3)。認識に関わる残基を置換した変異体では実際にタウリン走化性応答が低下することも確認できました。

さらに、この構造情報をもとに、センサーへのアミノ酸結合を菌が生きたままの状態でも可視化することに成功しました (図 4)。具体的には、Mlp37-蛍光タンパク質融合体と蛍光標識セリンを同時に使うことで、両者が共局在する、つまり結合している状態を観察しました。これによって、走化性センサーへの刺激入力を検出できる画期的なアッセイ法が確立されました。

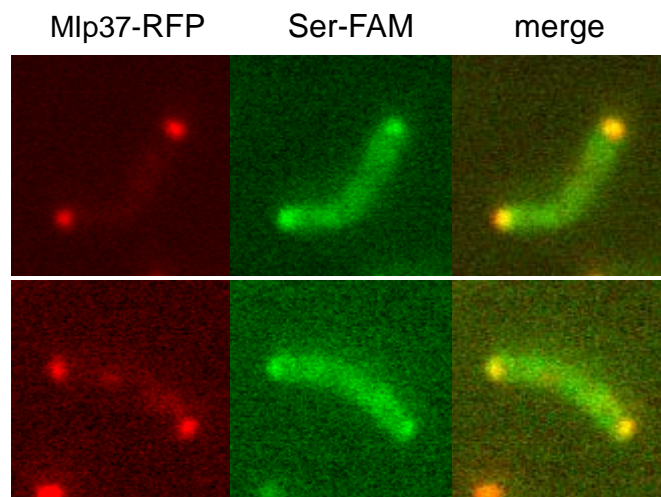


図 4 Mlp37 に蛍光修飾セリンが結合したコレラ菌

赤い蛍光を発する Mlp37 を作るコレラ菌に緑色の蛍光物質で修飾したセリンが結合する様子の顕微鏡写真。左は赤色に光る Mlp37。中央は緑色に光る蛍光修飾セリン。右は左と中央を重ねたもので、Mlp37 の位置で蛍光修飾セリンが光っており、Mlp37 に蛍光修飾セリンが結合していることを示す。

タウリンは体内（高温）にも外環境（低温）にも（特に海産物）にも豊富に存在することから、温度がコレラ菌の培養条件がタウリン走性に与える影響を検討したところ、（低温培養時と比較して）37℃培養でタウリン応答が著しく増強されたことから、タウリン走性が宿主体内で（感染時に）要求される可能性が高まりました。体内に取り込まれたコレラ菌は腸内のアミノ酸やタウリン（胆汁酸）の多い場所へ寄り集まり（その為に走化性を必要とし）、その後定着して病原因子（コレラ毒素等）を作り始めると考えられます。

本研究は多面的なアプローチを用いて、コレラ菌走化性センサーとタウリンやセリンなどの誘引物質の結合様式を明らかにした画期的なものです。この基礎的研究の成果は、コレラ菌の集合・定着を防ぐような、その病原メカニズムに着目した新しいタイプの薬剤開発に繋がることが期待されます。たとえば、菌のタウリン走性を攪乱する物質（薬剤）ができれば、菌を殺すことなく（つまり耐性菌の出現を誘発することなく）コレラの発症を抑えられる可能性があります。

【掲載誌情報】

Scientific Reports（英国 Nature 姉妹誌）

論文タイトル：Identification of a *Vibrio cholerae* chemoreceptor that senses taurine and amino acids as attractants

著者：So-ichiro Nishiyama[†], Yohei Takahashi[†], Kentaro Yamamoto[†], Daisuke Suzuki, Yasuaki Itoh, Kazumasa Sumita, Yumiko Uchida, Michio Homma, Katsumi Imada*, and Ikuro Kawagishi*[†]同等の貢献度，*代表著者