

*Streptococcus pyogenes*が産生する新しい型のマイトジェン

因子について

(分担研究：川崎病のサーベイランスに関する研究)

竹田美文

要約：*Streptococcus pyogenes*の培養上清から新しい型のマイトジェン因子をSP-Sephadex C-25カラムクロマトグラフィー、調整用イソエレクトロフォーカシング、逆相高速液体クロマトグラフィーによって精製した。精製したマイトジェン因子は家兔の末梢リンパ球に対して強いマイトジェン活性を示す蛋白で、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動で1本の蛋白バンドとして泳動した。分子量は25,370で従来報告されている発赤毒(SPEA, SPEB, SPEC)のいずれの分子量とも異なる新しい型であることがわかった。N末端部分のアミノ酸配列は、Glu-Thr-Glu-Val-Ser-Asn-Val-Lcu-Asn-Asp-Glu-Ala-Ser-Lys-Thr-Leu-Asn-Glu-Ala-と決定された。この配列は従来の発赤毒の配列と異なっていた。

見出し語：*Streptococcus pyogenes*、マイトジェン因子、スーパー抗原、発赤毒、SPE

A群溶血性連鎖球菌(*Streptococcus pyogenes*)の産生する発赤毒(streptococcal pyogenic exotoxin, SPE)がスーパー抗原活性を持っていることが明らかになってきた。川崎病の病態がスーパー抗原活性と関わっている可能性を考え、*S. pyogenes*が従来報告されている3種類のSPEA, SPEB, SPEC以外のスーパー抗原活性を持つ毒素を産生していないかどうか、マイトジェン活性を指標として調べた。

S. pyogenes NY-5株を4%NZアミン、0.15%酵素エキス、0.2%グルコースを含む培地で37°C24時間振盪培養した培養上清からSP-Sephadex C-25カラムクロマトグラフィー、調整用イソエレクトロフォーカシング及びCosmosil 5C₁₈-P300カラムを用いた逆相高速液体クロマトグラフィーによって新しい型のマイトジェン因子を精製した。図1に逆相高速液体クロマトグラフィーのパターンを示した

が、retention time 38分の位置に一本の蛋白バンドが流出しており、このバンドのSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動図は、図1の挿入図の通り、クマシプリリアントブルーで染色される蛋白バンドが1本で、マイトジェン因子が高度に精製されていることを示している。

精製したマイトジェン因子の分子量をイオンスプレイマススペクトロメトリーで測定した結果、25,370(±3)であった。この値は従来報告されている4種類のSPEの分子量、すなわち SPEA=25,787 (Weeks and Ferretti), SPEA=25,805 (Johnson et al.), SPEB=27,588 (Hanser and Schlievert), SPEC=24,354 (Goshorn and Schlievert)とは異なっているので、新しい型のマイトジェン因子と考えられる。表1のアミノ酸組成の結果も精製したマイトジェン因子(MF)が新しい型であることを示している。さらにN末端部分のアミノ酸配列

京都大学医学部微生物学教室

Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Kyoto University

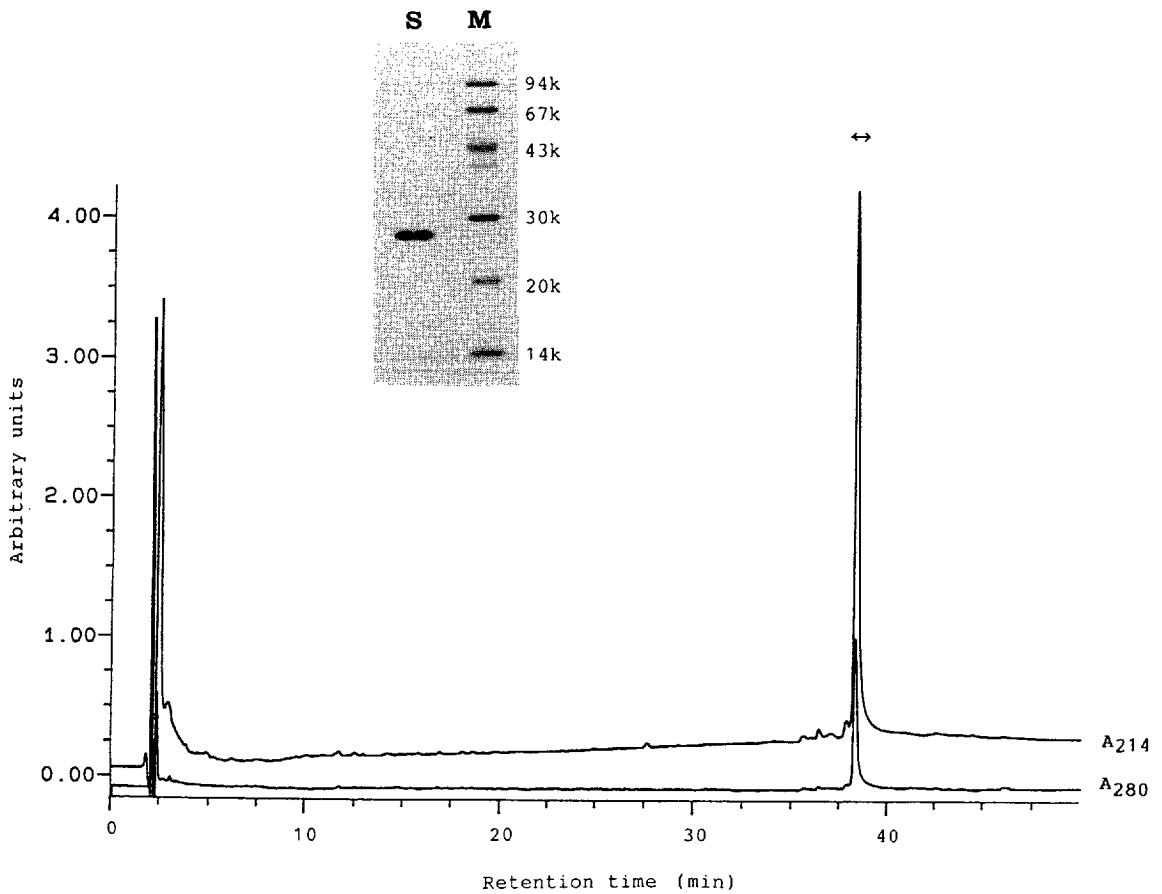


図1：マイトジェン因子の逆相HPLCのパターン。挿入図：SDS-ポリアクリルアミド電気泳動図
(S：精製マイトジェン因子、M：分子量マーカー)

	分子比 (%)				
	MF	SPEA-W	SPEA-J	SPEB	SPEC
Asp/Asn	16.1	14.0	12.3	13.0	17.3
Thr	8.0	6.3	7.3	3.6	5.7
Ser	4.8	6.8	7.7	8.7	7.7
Glu/Gln	9.8	12.7	10.9	9.1	8.2
Gly	10.4	4.1	4.1	11.9	5.3
Ala	8.4	1.8	1.4	7.1	2.4
Val	6.9	6.3	6.4	7.5	3.4
Met	0.0	1.3	1.4	1.6	1.4
Ile	3.7	5.9	6.8	4.3	10.1
Leu	8.4	9.0	8.6	5.5	6.2
Tyr	5.8	7.7	7.3	5.9	8.2
Phe	2.1	4.1	5.0	4.0	5.3
Lys	4.8	10.0	10.0	5.5	10.1
His	1.6	2.7	2.3	2.8	2.9
Arg	5.4	1.3	2.7	2.8	3.4
Pro	3.7	4.1	3.6	4.7	1.9
Trp	ND	0.5	0.5	1.6	0.0
Cys	ND	1.4	1.8	0.4	0.5

表1：精製マイトジェン因子(MF)の
アミノ酸組成。従来報告されて
いる4種類のSPEとの比較。

MF: Gln-Thr-Gln-Val-Ser-Asn-Asp-Val-Val-Leu-Asn-Asp-Gly-Ala-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asn-Glu-Ala
SPEA-W: Gln-Gln-Asp-Pro-Asp-Pro-Ser-Gln-Leu-His-Arg-Ser-Ser-Leu-Val-Lys-Asn-Leu-Gln-Asn-Ile
SPEA-J: Ser-Thr-Arg-Pro-Lys-Pro-Ser-Gln-Leu-Gln-Arg-Ser-Asn-Leu-Val-Lys-Thr-Phe-Lys-Ile-Tyr
SPEB: Gln-Pro-Val-Val-Lys-Ser-Leu-Leu-Asp-Ser-Lys-Gly-Ile-His-Tyr-Asn-Gln-Gly-Asn-Pro-Tyr
SPEC: Asp-Ser-Lys-Lys-Asp-Ile-Ser-Asn-Val-Lys-Ser-Asp-Leu-Leu-Tyr-Ala-Tyr-Thr-Ile-Thr-Pro

表2：精製マイトジェン因子のN末端部分のアミノ酸配列。従来報告されている4種類のSPEとの比較。

を調べた。その結果を従来報告されている4種類のSPEと比較し成績を表2に示した。この成績からも今回精製したマイトジェン因子が新しい型であることは明らかである。

今後の課題は、この新しいマイトジェン因子の分布、特に川崎病患者から分離した菌での分布と、スーパー抗原として川崎病の病態といかに関わっているかを調べることである。



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



要約: *Streptococcus pyogenes* の培養上清から新しい型のマイトジェン因子を SP-Sephadex C-25 カラムクロマトグラフィー、調整用イソエレクトロフォーカシング、逆相高速液体クロマトグラフィーによって精製した。精製したマイトジェン因子は家兎の末梢リンパ球に対して強いマイトジェン活性を示す蛋白で、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動で 1 本の蛋白バンドとして泳動した。分子量は 25,370 で従来報告されている発赤毒 (SPEA, SPEB, SPEC) のいずれの分子量とも異なる新しい型であることがわかった。N 末端部分のアミノ酸配列は、Glu-Thr-Glu-Val-Asn-Val-Leu-Asn-Asp-Glu-Ala-Ser-Lys-Thr-Leu-Asn-Glu-Ala-と決定された。この配列は従来発赤毒の配列と異なっていた。