

提出日：平成 29 年 月 日

平成 28 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

(2) 研究成果の概要

課題名	バクテリオファージの立体構造解析		
研究代表者	氏名	武田茂樹	
	所属機関名・部局名	群馬大学・大学院理工学府分子科学部門・教授	
	職名	教授	
事業名 (該当の事業名の右欄に○)	<input type="radio"/>	共同研究員	
	<input type="radio"/>	超高磁場NMR 共同利用研究課題	
	<input type="radio"/>	クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題	
	<input type="radio"/>	客員フェロー	
蛋白研受入担当教員名	中川敦史教授 (超分子構造解析学研究室)		
<p>バクテリオファージMuは収縮性尾部を持つMyoviridaeに属していて幅広い腸内細菌を宿主として感染する溶原性のファージである。正二十面体の頭部に格納されたゲノム DNA は約 36,7kbp からなり、約 55 種類のサブユニットをコードしている。Mu ファージは幅広い宿主細菌に感染するために、効率的な吸着を可能にする基盤と異なる宿主菌を認識できる 2 種類の尾繊維をもっている。我々はこの基盤と尾繊維の分子集合や感染における役割を構造的に理解するために、これまでに基盤のハブを構成する gp44、宿主細胞壁をつきやぶる gp45 の立体構造を蛋白質研究所・超分子構造解析学研究室の協力で明らかにした。また、2本の尾繊維のうちの1つである gp49 とそのシャペロンである gp50 の複合体の結晶解析を行った。</p> <p>これまでの検討では Mu ファージの基盤サブユニット gp46 と gp48 と同様には組換え体発現で不溶性になってしまい、精製することができていなかったため、可溶性で発現精製することができていた gp47 との複合体として共発現することを試みた。サブユニット gp46-gp47-gp48 をコードする遺伝子を PCR 法によって増幅し、制限酵素を用いてプラスミドベクターへ挿入した。精製した gp46-gp47-gp48 はゲル濾過においても同一の画分に観察され、gp46-gp47-gp48 は複合体を形成していると考えられた。3L 培養液から約 40mg の gp46-gp47-gp48 複合体を精製することができた。また、Mu ファージの尾繊維 gp52 とそのシャペロン gp51 を共発現することを試みた。サブユニット gp51-gp52 をコードする遺伝子を PCR 法によって増幅し、制限酵素を用いてプラスミドベクターへ挿入した。精製した gp51-gp52 はゲル濾過においても同一の画分に観察されたことから、gp51-gp51 は複合体を形成していると考えられた。3L 培養液から約 10mg の gp51-gp52 複合体を精製することができた。精製した gp46-gp47-gp48 複合体、gp51-gp52 複合体について 48 穴結晶化プレートとハンプトン社の Crystal Screen I、Crystal Screen II の結晶化溶液を用いて結晶化条件を検討したところ、3種類の条件で結晶を得ることができた。今後、X線結晶解析により、これらの構造解析を行う予定である。</p>			