

提出日：2019年 5月 7日

平成 30 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 (研究室名： 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<i>Myoviridae</i>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。ネガティブ染色による電子顕微鏡写真からは、正二十面体の頭部、収縮性の尾部、頭部と尾部をつなぐネック、尾部の先端の基盤および尾繊維といった構造が確認できる。我々はこの Mu ファージ形態形成機構、感染における宿主認識などを構造的に理解するために、Mu ファージのサブユニットやそれらの複合体の構造解析を行ってきた。平成 30 年度は決定できていない gp49 のN端側 1-138 部分の発現と精製、基盤複合体の精製、尾部複合体の精製、ネック構造体の精製を結晶の作製と構造解析を目標に調製した。構造未決定の gp49 のN端側 1-138 部分と基盤複合体は組換え体で調製ができるようになり、結晶化の条件検討を開始した。尾部複合体は頭部欠損 Mu ファージの溶原菌の溶菌液から回収することができた。頭部と尾部を繋ぐネックは他のファージとの比較から、これまでに構造決定された gp36 は頭部の gp29 と複合体を形成すると予想されたので、gp36 と gp29 の複合体の精製を試みた。サブユニット単体としては gp36 と gp29 は高い精製で調製できたが、複合体や結晶を得ることはできなかった。</p> <p>Mu ファージは幅広い宿主細菌に感染するために、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。昨年度までに本拠点事業によって、2 種類の尾繊維のうちの 1 つである gp49 とそのシャペロンである gp50 の複合体の構造解析を終えていた。しかし、gp50 の C 末端側ドメイン(94-117)の構造は明らかになっていなかった。そこで全長の gp50 の X 線結晶構造を決定するため、gp50 の精製および結晶化条件の最適化を行った。また、重原子置換法により位相を決定するため、Se-Met 標識 gp50 の精製および結晶化を行った。尾繊維のシャペロンとして働く gp50 については、結晶を得て X 線解析を行うことができた。その結果、結晶系は P6₁22、格子定数は a=101Å、b=101Å、c=775Å と得られた。しかしながら得られた回折データの分解能は 5Å 程度であり、詳細な構造を得ることはできなかった。今後は他のサブユニットやサブユニット複合体と同様に、結晶化条件の検討を行い、構造決定につなげていく予定である。</p>			