

(様式 1-1)

提出日：2023 年 月 日

2022 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

## 研究成果報告書

(1) 事業名 (下記より該当事業名を選択し、ほかは削除して下さい。)

共同研究員

(2) 研究代表者

氏名： 武田茂樹

所属機関名・部局名・職名：群馬大学 大学院理工学府分子科学部門 教授

(3) 研究課題名 (申請時に記載したものと同一課題名を記入して下さい。)

バクテリオファージの立体構造解析

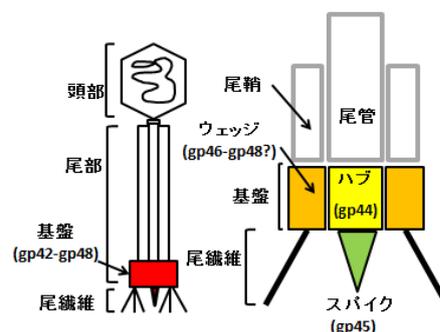
(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名： 中川敦史 教授 (研究室名： 超分子構造解析学研究 )

山下栄樹 准教授

(5) 研究成果の概要 (公開)

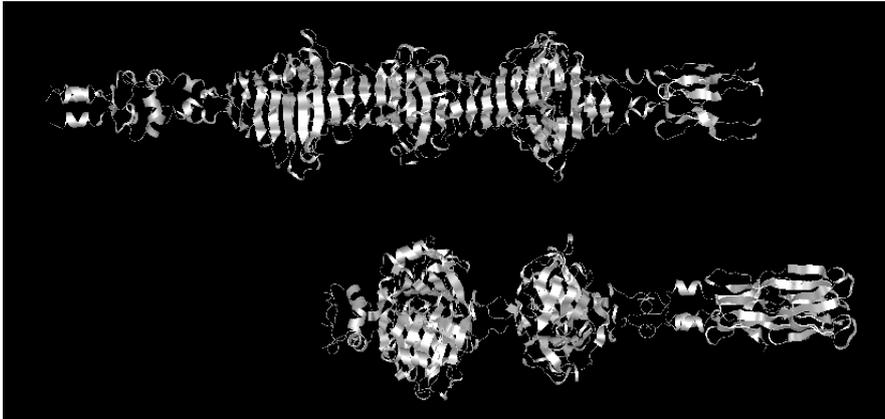
バクテリオファージ Mu は収縮性尾部を持つ *Myoviridae* に属して幅広い腸内細菌を宿主として感染する溶原性のファージである。ネガティブ染色による電子顕微鏡写真からは、正二十面体の頭部、収縮性の尾部、頭部と尾部をつなぐネック、尾部の先端の基盤および尾繊維といった構造が確認できる (右図)。我々はこの Mu ファージ形態形成機構、感染における宿主認識などを構造的に理解するために、Mu ファージのサブユニットやそれらの複合体の構造解析を行ってきた。



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 種類の尾繊維である gp49 と gp52 の結晶化と構造決定に成功している。また、頭部と尾部を連結する「ネック」の構造を形成する gp36 の結晶化と構造決定に成功した。令和 4 年度は得られた尾繊維の構造から考えられる宿主認識の仕組みを検討した。また、gp36 と結合してネックを形成すると考えられる別のサブユニット gp29 と gp35 の精製と結晶化を行った。

尾繊維 gp49 と gp52 は、それらのシャペロンである gp50 および gp51 と複合体を作って宿主菌体表面の LPS と結合すると考えられている。ただし、gp49+gp50 および gp52+gp51 の複合体については X 線結晶解析では全体の構造は得られなかった、そこで X 線結晶解析では得られなかった構造を予想するために、AlphaFold2 を用いて構造を予測し、その予想構造と X 線結晶解析で決定できている部分の構造とを照らし合わせることで予想構造の妥当性を評価した上で、X 線結晶解析では得られなかった欠損部分を補い、Mu ファージの尾繊維の全体構造を予想した。予想構造と我々が以前に決定した部分の構造は比較的良好一致を示し、Ca 炭素の RMSD で 2.19 Å 程度であった。他の尾繊維との一次構造や三次構造の比較から、gp52 で結晶解析により決定した構造部分の β 構造からなるノブ状の膨らんだ部分と尾繊維の先端部分

の二か所が LPS との結合部位であると予想した。尾繊維溶液に LPS を添加していく蛍光滴定の結果からも、尾繊維が二か所の LPS との結合部位をもつという予想を指示した。



（本事業で決定された gp49  
（上）および gp52（下）の  
三量体からなる X 線構造）

新たに精製したネックのサブユニット gp29 と gp35 のうち、gp35 はゲルろ過による分析と電子顕微鏡観察から、リング状の複合体を形成している可能性が考えられた。結晶化を行ったが、gp35 について得られた結晶は、Spring-8 での X 線回折実験の結果、低分子の結晶であり gp35 ではないとわかった。