

(様式 1-2)

提出日：2020 年 4 月 16 日

2019 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○)	○	共同研究員	
		超高磁場NMR 共同利用研究課題	
		クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題	
		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。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。令和元年度は明らかにできなかった gp50 の C 末端側ドメイン(94-117)の構造決定のための全長 gp50 の単体でのX線解析、および決定した gp49+gp50 の尾繊維複合体以外の尾繊維、すなわち gp49+gp51、gp52+gp50、gp52+gp51 の結晶化を行った。</p> <p>全長 gp50 の単体でのX線解析では、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。そこで、さらに結晶化条件を検討するために有効な添加物の探索を行った。その結果、Ca²⁺イオンやZn²⁺イオンの添加が結晶化の向上に効果があるように見られた。また、結晶を凍らせる過程でクライオプロテクタントとしてグリセロールを添加したが、その際に結晶が溶けてしまうことがあった。そこで、クライオプロテクタントとして PEG を検討した。これらの検討を行った結晶についてはまだ十分なX線回折実験ができていないので、今後すみやかに検討したい。</p> <p>gp49+gp51、gp52+gp50、gp52+gp51 といった別の組み合わせの尾繊維とシャペロンの複合体の結晶化については、結晶化条件を検討し、微小な結晶を得た。結晶が微小なため、X線解析のためにループに回収することが困難であり、まだ十分なX線回折実験ができていない。今後、より大きな結晶を得るための条件の最適化と X 線回折実験を行う予定である。</p>			