

# バクテリオファージ由来のリポ多糖結合タンパク質

稲垣 穰

(生物資源学研究科 生物圏生命科学専攻 教授)

キーワード: バクテリオファージ, 抗菌作用, リポ多糖  
用途: 菌種特異的検出法, 菌種特異的制菌法

## 企業への期待:

- 微生物の制御を目的とした薬品、菌種特異的検出方法、内毒素結合性タンパク質の応用開発を目指す共同研究。

## 研究シーズ

### 【研究タイトル】

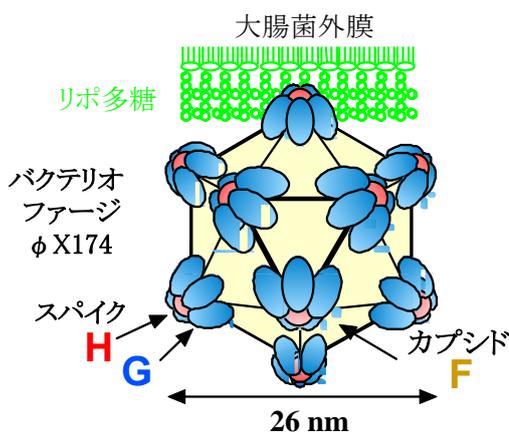
バクテリオファージ由来スパイクGタンパク質5量体のリポ多糖認識能力の活用

### 【従来技術の問題点】

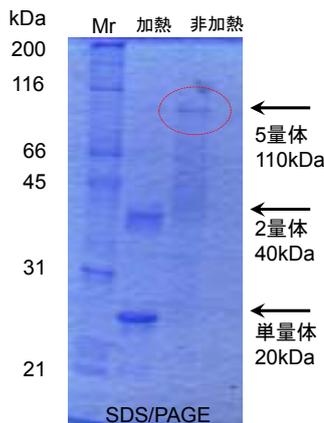
バクテリオファージφX174は、大腸菌C株などの特定のグラム陰性菌に感染して増殖するウイルスである。ファージは、正20面体の頂点に突き出したスパイクと呼ばれるタンパク質の突起でもって、非常に他種類の細菌の中から、自らの宿主となるホスト菌を認識する考えられている。これまでにφX174ファージの遺伝子からスパイクを構成するGタンパク質遺伝子をクローニングし、組み換え技術を使って大量に調製することができた。この組み換えGタンパク質は、大腸菌C株の表面を覆うリポ多糖と強く結合することが判ったが、ファージの突起の様な5量体にならなかった。

### 【解決手段(あるいは新規な点)】

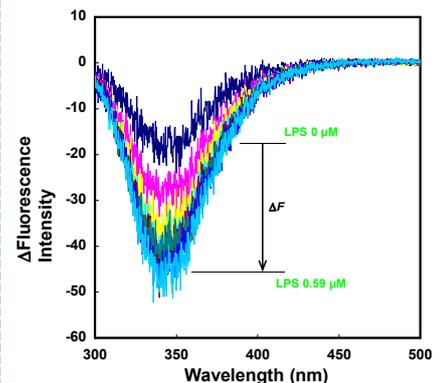
組み換え体タンパク質を高度に精製するために欠かせないヒスチジンタグをN末端からC末端に移動した改良型Gタンパク質は、立体障害が軽減されたことから、ファージの突起にあるような5量体を溶液中で形成するようになった。同時に、5量体を取ることでリポ多糖に対する親和性が約60倍上昇した。また、「バクテリオファージ由来スパイクGタンパク質5量体およびその製造方法」特開2008-63243で公表した様に、スパイクGタンパク質5量体には、宿主菌大腸菌C株の増殖を抑制する能力があることが判った。桜の花状に並んだスパイク5量体の中央部には、ファージのDNAが通過するための通路があると考えられ、5量体が大腸菌の膜に結合した際に、そのチャンネルから内部に水が侵入する、あるいは、内容物が流出するなどの理由で、菌が破壊されると予想している。φX174ファージの近縁種には、大腸菌C株以外に、リポ多糖の糖鎖構造の異なる菌を宿主として選択するものがあり、それらのGタンパク質のアミノ酸配列を使った場合には、また、異なる構造のリポ多糖を認識し、つまり、異なる株の菌と結合することが予想される。



【図1: 20面体の頂点にあるスパイクの模式図】



【図2: 非加熱のSDS/PAGEで5量体(○)が見える。



【図3: 相互作用による蛍光変化】リポ多糖との結合でGタンパク質の蛍光が変化する。

- スパイクGタンパク質は、溶液中で5量体構造を取り、大腸菌リポ多糖と強く結合し、大腸菌の増殖を阻害する。
- Gタンパク質5量体は、菌種特異的な検出方法や増殖抑制方法の開発に発展可能と考えられる。

連絡先: 社会連携研究センター  
TEL&FAX: 059(231)9047  
E-mail: liaison@crc.mie-u.ac.jp