

29-0064

サルモネラ由来タンパク質 SEp22 の会合状態と結晶構造の解析

○朝比奈 泰子¹, 野口 修治¹, 佐藤 能雅¹, 杉山 奈穂子², 山崎 学³, 天野 富美夫² (¹東大院薬, ²大阪薬大, ³国立医薬食品研)

[目的] *Salmonella Enteritidis* (SE) は急性胃腸炎の原因となるグラム陰性桿菌である。SEp22 は SE が産生する 166 アミノ酸残基のタンパク質で、宿主のマクロファージの産生する活性酸素の攻撃から SE を保護する。三次元構造に基づく SEp22 の機能の解明を目的として、発現、精製、結晶化と X 線回折実験を行った。

[方法] 硫酸で沈澱させた SEp22 試料を、陽イオン交換クロマトグラフィー、ゲルろ過クロマトグラフィーにより精製した。精製試料について動的光散乱を測定し、結晶化を行い、X 線回折像を得た。N 末端にポリペプチドのついた SEp22 の融合タンパク質を大腸菌にて産生させ、酵素処理により全長 SEp22 を得た。イオン交換クロマトグラフィー等により精製後、結晶化を行った。

[結果および考察] 硫酸で沈澱させた SEp22 試料には DNA が含まれており、これは陽イオン交換クロマトグラフィーで分離された。ゲルろ過クロマトグラフィーの保持時間による分子質量は 146 kDa、動的光散乱の測定からは 147 kDa であり、マスペクトル測定からの分子量は 18,684 (計算値 18,586) である。PEG を結晶化剤とする条件では 422 対称の I 型結晶、MPD を結晶化剤とする条件では 23 の対称を持つ II 型結晶が得られた。分子置換法により、II 型結晶の構造を解析した。融合タンパク質を大腸菌の periplasm 画分に発現させ、SEp22 精製標品を得た。ゲルろ過クロマトグラフィーによる分子質量は 158 kDa を示した。この精製標品からも I 型結晶と同型の結晶が得られた。SEp22 は、溶液中では 8 量体を形成し、I 型結晶中でも 422 対称を示す 8 量体である。一方、II 型結晶中ではほぼ 23 対称の 12 量体で、直径約 90 Å の球形に近い構造をとっている。以上のことから、SEp22 は、8 量体と 12 量体の 2 つの会合状態をとりうると考えられる。