

HIV 由来蛋白質の発現・可溶化を目的とした、高度好熱菌由来タグ蛋白質の探索

Development of *Thermus thermophilus* protein tags with defined structures for expression and solubilization of HIV proteins

近藤直幸^{1,2}, 海老原章郎³, Heng Ru², 倉光成紀³, 岩本愛吉¹, 松田善衛^{1,2}
Naoyuki Kondo^{1,2}, Akio Ebihara³, Heng Ru², Seiki Kuramitsu³, Aikichi Iwamoto¹, and Zene
Matsuda^{1,2}

(¹ 東京大学・医科学研究所, ² 中国科学院・生物物理研究所, ³ 理研・播磨研)
(¹Inst.of Med. Sci., Univ. of Tokyo, ²Inst. of Biophys. CAS, ³RIKEN Spring-8 Cent.)

e-mail: kondon@ims.u-tokyo.ac.jp

HIV 由来蛋白質の構造・機能解析は抗 HIV 薬剤の合理的設計を可能にする。例えば、ウイルスの複製に必須な酵素に対する阻害剤は幅広く認知されており、実際の臨床現場でも用いられている。しかし一方で、いくつかの HIV 由来蛋白質は詳細な構造・機能解析が未だ行われていない。この主な理由は試験管内での HIV 由来蛋白質の不安定性である。本研究では、高発現・高可溶性を誘導するタグ蛋白質をウイルス蛋白質に付加することにより、その試験管内での性質の改善を試みた。まず始めに、汎用性タグを試したところ、Vpr, Gp41, Pr55Gag 等のウイルス蛋白質の性質の改善はほとんど見られなかった。そこで、我々は高度好熱菌 *Thermus thermophilus* (Tth) 由来の蛋白質をタグ蛋白質の候補として用いる試みを行った。Tth 由来蛋白質は熱安定性が高く、結晶化しやすいことが知られている。また、近年の構造ゲノム解析により蓄積された発現量・可溶性等のデータが利用可能であり、これらのデータをタグの探索に用いることが出来る。始めに、立体構造が決定されている Tth 由来蛋白質の中から高発現量・高可溶性を持つ 15 種類の蛋白質を選び出し、HIV 蛋白質との融合蛋白質として発現解析を行ったところ、いくつかの Tth 蛋白質が融合蛋白質の発現量、可溶性を向上させた。次に、性質の改善が認められたタグ融合蛋白質の大量発現・精製を行い、結晶化条件の検討を行ったところ、いくつかの条件で微結晶が得られた。また、選ばれたタグは融合された蛋白質の機能にほとんど影響を与えないことが、GFP を標的蛋白質として用いた実験により示された。これらの Tth 由来蛋白質は立体構造既知であるため、このタグ自体を位相決定の際の分子置換法のモデル構造として用いれば、構造解析過程の簡便化が期待される。