



Title	タバコネクロシスウイルスの2.25Å分解能における結晶構造
Author(s)	小田, 裕
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3161851
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	小田 裕
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 14943 号
学位授与年月日	平成 11 年 9 月 30 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科 生物科学専攻
学位論文名	タバコネクロシスウイルスの 2.25 Å 分解能における結晶構造
論文審査委員	(主査) 教授 福山 恵一 (副査) 教授 徳永 史生 教授 月原 富武

論文内容の要旨

Tobacco necrosis virus (TNV) は (+)ssRNA (1.3×10^6 Da) をゲノムとして持つ球状ウイルスであり、アカザ・ナス・マメ・ユリ科などの植物に感染し、壊疽症状を起こす。TNV の 180 個のコート蛋白（各 3.0×10^4 Da）は同一の遺伝子産物であり、その一次構造は当グループで決定した。このサブユニットは $T=3$ の擬似対称を持つキャプシドを構築し、RNA も含め総分子量は 7×10^6 である。TNV 粒子の解離・会合の機構を探るため、TNV の X 線結晶解析を行なった。既に 5 Å 分解能解析で組み立てられていたキャプシドのポリグリシンモデルをスタートとし、新たに測定した高分解能回折データに基づいて TNV キャプシドの詳細な構造を決定することに成功した。

TNV 結晶の回折データは、物質構造科学研究所 BL6A の巨大分子用ワイセンベルクカメラで収集した。本結晶は最大 2 Å 分解能を越える回折点を与えた。データの強度積分は DENZO で、スケーリングは CCP4 パッケージの SCALA で行なった。結晶学的パラメータは空間群 $P4_32$ 、格子定数 $a = 336.37$ Å であり、2.25 Å 分解能までの 298768 の独立反射強度 ($R_{\text{merge}} = 7.9\%$) を収集した。上記の 5 Å 分解能ポリグリシンモデルと、2.8 Å 分解能の強度データを用いて、solvent flattening 及び 5 重の平均化によって電子密度を改良した。この電子密度から主鎖の流れを修正したポリアラニンモデルを構築した。さらに上述の 2.25 Å データを用いてポリアラニンモデルから同様の計算手順で得た電子密度は非常に上質であり、大部分の側鎖の種類の判別が可能であった。一次構造を基に、A・B・C サブユニットの C 末端側それぞれ 189・189・219 残基を構築することができた。X-PLOR により $R = 25.3\%$ 、 $R_{\text{free}} = 27.3\%$ のまで精密化した。

TNV のサブユニットは他のウイルスのサブユニットと同様ゼリーロール β バレル構造をしている。A・B・C サブユニットの N 末端側それぞれ 86・86・56 残基は揺らぎが大きく電子密度に現われていない。これらのサブユニットのコアの 3 次構造は互いによく似ているが、C サブユニットは他のサブユニットより N 末端側に約 30 残基多くオーダーしている。この部分がサブユニット蛋白間の相互作用に多様性をもたらしている。相互作用の最も顕著な違いは、キャプシドの 5 回軸および 3 回（擬似 6 回）軸周りに見られる。このように同一の一次構造を持ちながら、立体的に多様な構造・相互作用をとることによって、適切なサイズのウイルス粒子を構成していることが明らかになった。また A・

B・Cの3つのサブユニットあたり5個のCa²⁺イオンを見つけた。これらは全てサブユニット間にあり、粒子の安定化だけでなく粒子の解離・会合に関与していることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

球状をした小型ウィルスは核酸と蛋白質からなる超分子複合体であり、そこでは蛋白質が対称的に配置することによって最少限の遺伝情報で適切なサイズのキャップシドを形成している。また、ウィルスにとって粒子の解離と会合は必須の過程で、これらはコート蛋白の4次構造および核酸との相互作用の変化に他ならない。小田裕君は植物ウィルスの一種、タバコネクロシスウィルスの立体構造を2.25Åという極めて高分解能で解析した。本解析からこのキャップシドの詳細な3次および4次構造が明らかになり、ウィルス粒子の構築様式を具体的に示した。さらに粒子形成に重要なカルシウムイオンがサブユニット間インターフェイスに存在することも明らかにし、博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。