OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	タバコネクロシスウイルスの2.25A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

【 13 】

氏名	小田（おだ） 裕（ゆたか）
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2.25Å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 冨武

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5Å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2Å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$P4_232$、格子定数$a=336.37$Åであり、2.25Å分解能までの298768の独立反射強度（$R_{merge}=7.9\%$）を収集した。上記の5Å分解能ポリグリシンモデルと、2.8Å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2.25Å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$R=25.3\%$、$R_{free}=27.3\%$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Ca^{2+}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をも明らかにし、博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。