

Title	Molecular Characterization and Expression of the Virus-Like Particles from the Genome of the Hyperthermophilic Archaeon "Pyrococcus furious"
Author(s)	難波, 一徳
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46443
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	なん ば かず のり 難 波 一 徳
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学位記番号	第 20051 号
学位授与年月日	平成 18 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科高分子科学専攻
学位論文名	Molecular Characterization and Expression of the Virus-Like Particles from the Genome of the Hyperthermophilic Archaeon " <i>Pyrococcus furiosus</i> " (超好熱古細菌 <i>Pyrococcus furiosus</i> のゲノムにコードされたウイルス状粒子の発現と分子特性の解析)
論文審査委員	(主査) 教 授 中川 敦史 (副査) 教 授 月原 富武 教 授 奥山 健二 助教授 高橋 聡

論 文 内 容 の 要 旨

超好熱古細菌 *Pyrococcus furiosus* (*P. furiosus*) に由来し、90°C以上の高温環境下で安定に存在する新規の球状ファージ様粒子 (PfVLP) は、*P. furiosus* のゲノムにコードされ、その成育条件下 (98°C) で増殖させることができる。当研究室のこれまでの研究により、この球状ファージ様粒子は、X線結晶構造解析による 3.6 Å分解能の構造が得られており、その形状は $T=3$ の正二十面体対称を持つ球状ウイルス構造をとっていることが明らかになっている。PfVLP 蛋白質は、C末端 245 残基が殻構造を形成しているが、殻構造の形成に関係のない N末端 100 残基は一部の古細菌間で 70%以上の相同性がある。しかし、PfVLP の生物学的な意味は不明であったため、分子生物学的、生化学的研究を通して、それを明らかにすることを目的として研究を進めた。

分子生物学的手法を用いた解析により、PfVLP のウイルス様球状殻構造の内部には核酸が存在しないことを明らかにした。すなわち、PfVLP はそれ自身に遺伝子を持たず、ウイルスではないことと結論づけた。しかし、ウイルス様の構造を持つバクテリオシンの可能性を考慮し、同属の超好熱古細菌 (*Pyrococcus* 属) の成長への影響を調べた。対数成長期にある同じ *Pyrococcus* 属 (*P. abyssi*, *P. horikoshii*, *P. woesei*) に適量の精製 PfVLP を加えたところ変化はみられず、バクテリオシンとしての機能を有していないことを明らかにした。

しかし、進化途中における産物として、PfVLP がウイルス様粒子としての自己構築機能を持っている可能性を残しているかを明らかにするため、PfVLP の全長の遺伝子を大腸菌に組み込み、PfVLP 組換え蛋白質の発現、精製を行い、透過型電子顕微鏡 (TEM) により、野生型 PfVLP と大きさ、形状ともに同様の粒子の構築を確認した。同様に、球状粒子の構造を形成している C末端 245 残基からなるドメインが、独立した球状粒子構築機能を持つかどうかを明らかにするために、大腸菌発現系を用いた同様の実験を行った。他の種との間で保存性の高い N末端 100 残基部分を削除した部分欠損遺伝子を大腸菌に組み込み、組み換え PfV 蛋白質の発現を行った。その発現は、ウエスタンブロットティングにより確認した。また、N末端欠損 PfVLP 蛋白質の精製を行い、精製サンプルが、形状、大きさともに野生型 PfVLP と同様の球状粒子が構築されたのを、TEM により確認した。

これらの実験結果から、PfVLP には、超好熱古細菌間で保存されている N末端領域と球状の殻構造を形成する C

末端領域の異なる機能を持った独立した2つの遺伝子が存在することが示唆された。本来の古細菌の遺伝子としてウイルス構造を作ることは考えにくいことから、PfVLPは外来の遺伝子である可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

超好熱古細菌 *Pyrococcus furiosus* に由来し、90°C以上の高温環境下で安定に存在する新規の球状ウイルス様粒子 (PfVLP) は、*P. furiosus* のゲノムにコードされ、その生育条件下で安定に増殖させることができる。申請者は、この球状ウイルス様粒子の生物学的な意味を、分子生物学的、生化学的研究を通して明らかにした。

始めに、PfVLPの形状は球状ウイルスと同様であるが、内部には遺伝子を持たずウイルスとしての機能を有していないこと、また、他の類縁の菌に対しての増殖抑制作用を持たないことを明らかにした。さらに、345残基からなるPfVLPタンパク質のうち、C末端側の245残基が球殻構造形成に必須であり、C末端245残基のみで球殻構造を形成することを、大腸菌大量発現系を用いた実験により明らかにした。これらの結果および、PfVLPの遺伝子解析などから、PfVLPはもともとウイルス等外来遺伝子であったものが *P. furiosus* のゲノムに取り込まれたまま遺伝子として残っている非常に興味深いタンパク質であると推察された。

これらの成果により、古細菌に由来する新規のウイルス様粒子の同定だけにとどまらず、ウイルスの進化を知る上で重要な知見を得ることができた。よって、本論文は博士(理学)の学位論文として十分価値あるものと認める。