Osaka University Knowledge Archive

Title	Crystal Structure of a Virus-like Particle from Hyperthermophilic Archaeon Pyrococcus furiosus
Author(s)	秋田, 総理
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/48795
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、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

【4】

氏　　名	秋　田　総　理（あき　た　ふさ　みち）
博士の専攻分野の名称	博　士（理　学）
学　位　記　番　号	第　２１４９５　号
学位授与年月日	平成 19 年６月 25 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	Crystal Structure of a Virus-like Particle from Hyperthermophilic Archaeon *Pyrococcus furiosus* （超好熱古細菌 *Pyrococcus furiosus* 由来ウィルス様粒子の結晶構造解析）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　中川　敦史 （副査） 教　授　原田　　明　　教　授　後藤　祐児　　教　授　月原　冨武 准教授　鈴木　　守

論　文　内　容　の　要　旨

90℃以上の高温環境下で生育する超好熱古細菌 *Pyrococcus furiosus* から発見されたウィルス様粒子 PfV（*Pyrococcus furiosus* virus like particle）の X 線結晶構造解析を行なった。

精製した PfV は 16-18%の MPD を含む沈殿剤を用いた Hanging-drop 蒸気拡散法で結晶化した。得られた結晶を用いて、SPring-8 BL44XU にて回折実験をおこなった。測定は波長 0.9Å、カメラ距離 700 mm、露光時間 120 秒、振動角 0.1°、測定温度 100 K、検出器 DIP6040 で行なった。この条件で最大 3.25Å分解能の回折点が観測された。データ処理の結果、結晶の空間群は $P4_12_12$、格子定数は $a=b=630$、$c=350$、$\beta=90°$、分解能 3.6Å、完全性 96.8%、R_{merge}0.132 のデータを得た。位相の決定は MIRAS でおこなった。ウィルスの対称性を利用した位相改良で得られた電子密度を基に分子モデルを構築した。構造を精密化した結果、$R=0.268$、$R_{free}=0.267$ になった。

PfV は１種類のサブユニット 180 個が会合し、全分子質量は 7 MDa であった。PfV の構造は原核生物に感染するバクテリオファージや真核生物に感染するヘルペスウィルスなどに見られる、HK97 様フォールドであった。アミノ酸配列から PfV とウィルスとの関係を導きだす事は出来なかったが、構造を解析する事によってウィルスとの関係が見いだされた。PfV はα＋β構造をとっており、７つのα-ヘリックス、11 のβストランドから構成されている。PfV の構造は３つのドメインからなる。４本の逆並行βストランドと３本のαヘリックスとからなる A ドメイン、長大な２つのαヘリックスと長い３本のβストランドからなる P ドメイン、長い２つのβストランドからなる E ループである。

PfV の自己組織化及び、耐熱機構を解明するために、サブユニット同士の相互作用（主に水素結合、塩橋）の数を調べた。その結果、相互作用は５量体若しくは６量体内で多く強固であり、５量体－５量体間、６量体－６量体間では少なかった。従って、５量体若しくは６量体が形成され、次いでそれらが結合して粒子が形成されていくと考えた。次に、PfV と同じ構造を持つ HK97 粒子の相互作用と比較し、相互作用の多寡から耐熱性を解明しようと試みた。しかしながら、PfV のサブユニット同士の相互作用は少なく、サブユニット同士の相互作用からは説明ができなかった。そこで、PfV 内部に存在する疎水性残基、その中でも特に疎水性度の高い Ile、Leu、Val に注目し、分布を調べた。

その結果、それらはPfVの内部で安定な疎水性のコアを形成していた。耐熱性には水素結合や塩橋の増加など、様々な因子が関与しているが、PfVに関しては内部の疎水性相互作用が耐熱性を高めているものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

本研究では、超好熱古細菌 *Pyrococcus furiosus* に由来し、90℃以上の高温環境下で安定に存在する球状ウイルス様粒子（PfV）の原子構造を、X線結晶構造解析法により3.6Åの分解能で決定した。

本ウイルス様粒子の結晶はその格子定数が $a=b=630$、$c=350$Åと非常に大きいため、放射光ビームラインを十分に活用し、数多くの結晶からのデータを注意深く収集することにより、構造解析に適した高精度な回折強度データ収集に成功した。

得られた立体構造とこれまでに構造解析されている他のウイルスとの構造比較から、バクテリオファージHK97と類似のフォールドを示していた。同様のフォールドを持つウイルスとして真核生物に感染するヘルペスウイルスなどが知られていたが、古細菌に感染するウイルスとしては始めての構造であることを明らかにした。このことから、このウイルス様粒子は、進化の初期の過程で感染し、ゲノムの中に取り込まれた古いタイプのウイルスであることが示唆された。

さらに、示差走査熱量計により示された110℃以上の高い熱安定性の理由として、その原子構造から疎水性残基の影響であることを示した。

これらの成果は、新規のウイルス様粒子の構造を明らかにしたとともに、生物の３つのドメインすべてに共通する古いタイプのウイルスの存在を示しており、ウイルスの進化に関しての重要な知見を与えた。また、タンパク質複合体の熱安定性に関する重要な知見も得た。

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。