



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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名	秋田総理
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 <i>Pyrococcus furiosus</i> (超好熱古細菌 <i>Pyrococcus furiosus</i> 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 准教授 鈴木 守 教授 後藤 祐児 教授 月原 富武

論文内容の要旨

90°C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700mm、露光時間120秒、振動角0.1°、測定温度100K、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 $a=b=630$ 、 $c=350$ 、 $\beta=90^\circ$ 、分解能3.6Å、完全性96.8%、 $R_{\text{merge}}=0.132$ 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、 $R=0.268$ 、 $R_{\text{free}}=0.267$ 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7MDa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つたが、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 $\alpha+\beta$ 構造をとつており、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量体間では少なかつた。従つて、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つた。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°C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 $a=b=630$ 、 $c=350\text{ \AA}$ 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°C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する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。