



Title	A Novel Method of Virus Crystallography and Application to a Double Shelled Virus
Author(s)	高, 潤一郎
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/48804
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	高 潤 一 郎
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	第 2 2 3 1 6 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 20 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	A Novel Method of Virus Crystallography and Application to a Double Shelled Virus (ウイルス結晶学に対する新規の手法及び二重殻ウイルスへの適用)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 月 原 富 武 (副査) 教 授 中 川 敦 史 教 授 奥 山 健 二 教 授 福 山 恵 一 准教授 鈴木 守

論 文 内 容 の 要 旨

球状ウイルスの X 線構造解析では、ウイルス粒子自身が持つ対称性の高さから Non-Crystallographic Symmetry Averaging (NCSA) による精密化手法がきわめて有効であることが知られており、これを利用して現在までにその分子量の大きさにも関わらず多くの分子構造が報告されている。Rossmann らは計算で発生させた球殻モデルを低分解能での初期位相として用い、NCSA 法による位相改良・位相拡張で一組の X 線回折データのみから構造解析計算を完成させる *ab initio* 法を提案した。しかし、ウイルス結晶の空間群と結晶内のウイルス粒子の配置によっては球殻モデルが持つ点対称性を破ることができないケースがあり、全てのウイルス結晶に対してこの方法を適用することは不可能であるとされていた。しかし、このケースに該当するイネ萎縮病ウイルスの結晶で予想に反して球殻の点対称性を破ることに成功し、球状ウイルスに対し汎用性を持つ *ab initio* 法の可能性が開けた。本論文は既知のウイルスのデータを用いたテスト計算を経て新規に開発した球状ウイルスに対して汎用性を持つ *ab initio* 法の計算プログラムについて報告するものである。

計算結果の検証にはそれぞれのウイルスについてキャプシドの原子座標データから計算した“正解の”電子密度分布とテスト計算の結果得られた電子密度分布との相関係数を指標 *CI* として用いた。

計算条件を検討した結果、以下のパラメータが計算上重要となることが明らかになった。

1. 分解能範囲：ウイルス粒子半径のおよそ $2/3$ という非常に低い分解能の F_0 データが必要とされる。また初期の計算ではウイルス粒子半径の約 $1/7$ の値が高分解能側の上限として用いられる。
 2. 初期モデルの外径と内径：特に重要なこれらのパラメータは *R-factor search* から見積もられる。計算結果がこの値の誤差に対してきわめて敏感であるため、見積もられた値とその前後 $2\text{\AA}$ の値が採用される。その結果、外径と内径の異なる 9 つの球殻モデルが初期位相として用意される。
 3. NCSA マスクの内径：電子密度の精密化に伴うウイルス粒子内部の電子密度分布の大きな変化に対応するため、異なる内径を持つ NCSA マスクが 2 種類必要となる。
2. と 3. から、位相改良の最初のステップでは 1 つのウイルス結晶につき 18 通りの条件で計算が行われ、それぞれの計算結果から最良の *R* 値を持つものが以降の位相拡張・改良に用いられる。

以上の条件で 7 種類のウイルスについて計算を実行した結果、全てのサンプルで高い *CI* 値が示され、 $C\alpha$ トレー

スが十分に可能な電子密度分布が得られることが確認された。表面に大きな凹凸を持つウイルスでも問題なく電子密度が再現されており、本プログラムが高い汎用性を持つことが示された。こうして、いくつかの敏感なパラメータについて適切な値を導く方法を明らかにし、また煩雑で一般の利用に耐えなかった計算手順を明文化して簡略化できたことで、これまで不可能とされていた手法について可能となる手段が実現された。このことはウイルス結晶学の進歩について大きく貢献できる成果であると考えられる。

論文審査の結果の要旨

蛋白質をはじめとする生体高分子の X 線結晶構造解析は重原子同型置換法によって行われる。この方法は 1950 年代に考案されて以来、多くの蛋白質の構造決定に使われ、今なお最も有力な構造決定法である。この方法では、蛋白質の結晶とその結晶に重原子を導入した結晶を用意してそれぞれの X 線回折強度を測定し、その強度分布の差に基づいて各回折斑点の位相を決定する。一方、構造解析例が増えるにしたがって、類似の蛋白質の構造が決められている場合が増えており、類似の蛋白質と同じ構造であると仮定して構造を決定する分子置換法が適用できる。

一度位相が決定された後では、位相を精密化する。その位相の精密化法の一つに結晶構造中にある非結晶学的対称性を利用した電子密度の平均法がある。この方法では、初期に得られる電子密度を非結晶学的対称によって関係づけられる位置で平均して、より真の値に近い電子密度を求める。非結晶学的対称要素が多くある球状ウイルスでは、この方法が有効で収束範囲が極めて広い。

そこで、この非結晶学的対称を利用した位相決定法の開発を行った。これまでも、球状ウイルスの構造解析を類似の構造ではなく、球殻構造を仮定して初期の電子密度を低分解能で求めて、電子密度の平均と少し高い分解能での位相決定を目標の分解能まで繰り返す *ab initio* 法が考案されていた。ところがこの方法では、球殻で近似した初期構造が対称中心を持つ場合には、平均操作を行っても真の構造に近づくことが出来ないと言う欠点があり、普遍性のある構造解析法になっていなかった。高らはイネ萎縮ウイルスの構造解析において、上記制限があるにも拘わらず *ab initio* 法を改善して構造解析を行うことが出来た。本論文では何れの球状ウイルスの構造決定にも適用可能な *ab initio* 法によるプログラムシステムを構築した。そのシステムの有効性を検証するため、イネ萎縮ウイルスのみならず、これまで *ab initio* 法での構造解析は不可能であるとされており別の方法で構造決定されているウイルスをデータベースより集めて、それらについて新しいプログラムによる構造解析を行った。その結果、何れのウイルスも構造決定できる、結晶構造解析の新しい方法を開発することに成功した。

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。