

(様式 1-2)

提出日：2021 年 5 月 6 日

2020 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

## (2) 研究成果の概要

課題名	ウイルス形成場バイロプラズマにおけるウイルス粒子形成 機構解明を目指した構造生物学的研究		
研究代表者	氏名	東浦彰史	
	所属機関名・部局名	広島大学大学院・医系科学研究科	
	職名	助教	
事業名 (該当の事業名の右欄に○)	<input type="radio"/>	共同研究員	
	<input type="radio"/>	超高磁場NMR 共同利用研究課題	
	<input type="radio"/>	クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題	
	<input type="radio"/>	客員フェロー	
蛋白研受入担当教員名	中川敦史		
<p>レオウイルス科のウイルスの多くは感染細胞の細胞質中に形成されるバイロプラズマと呼ばれる凝集体の中でウイルスゲノムとウイルス粒子の複製を行う。そのためバイロプラズマはウイルス工場 (viral factory) とも呼称される。本研究の対象であるイネ萎縮ウイルス (Rice Dwarf Virus; RDV) も感染細胞中に直径約 1 マイクロメートル、不定形のバイロプラズマを形成する。この凝集体は RDV がコードする 3 種類の非構造蛋白質から成り、共焦点顕微鏡観察によりウイルスの内殻蛋白質がバイロプラズマ内部に局在し、さらに外殻蛋白質はバイロプラズマを取り囲む様にその周縁部に局在していることが観察された。ゲノムパッケージングを含む内殻粒子形成がバイロプラズマの内部で起こり、内殻粒子がバイロプラズマ外部へと放出される際に外殻蛋白質を獲得し、完全な粒子が形成されるという機構が提唱された(Wei <i>et al.</i>, 2006)。また、RDV のバイロプラズマを構成する非構造蛋白質 Pns12 の発現を RNAi サイレncingにより抑制された植物は RDV に感染しない (Shimizu <i>et al.</i>, 2009) という報告や、Pns12 のみを昆虫細胞で発現させるとバイロプラズマ様の凝集体を細胞質中に形成する (Wei <i>et al.</i>, 2006) といった報告がなされており、Pns12 は RDV 感染とバイロプラズマ形成に必須であると考えられている。さらに、Pns12 は内殻蛋白質と直接的に相互作用するという報告もあり、Pns12 が未成熟なウイルスをバイロプラズマ内に留めるという機構も提唱されている (Zhang <i>et al.</i>, 2015)。形成されたバイロプラズマやバイロプラズマ中のウイルス粒子や各種ウイルス蛋白質の局在は共焦点顕微鏡により観察されているが、分子レベルでの研究はほとんどなされておらず、詳細な機構は不明な点が多い。</p> <p>本研究では「ウイルス形成場であるバイロプラズマは如何に形成され、ウイルスはバイロプラズマを中心に如何に成熟するのか」という課題を設定し、様々な構造生物学的手法を用いてこのウイルス複製の過程を可視化し、ウイルス粒子構築機構を原子分解能レベルで可視化することを目的とする。これまでの構造解析より Pns12 とウイルス構造蛋白質が相互作用する可能性が示唆されていることからその複合体の構造解析を実施することを目指し、各種蛋白質の発現系構築とその構造の評価を実施し、コンストラクションの最適化を進めた。</p>			