

2023 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

研究成果報告書

(1) 事業名（下記より該当事業名を選択し、ほかは削除して下さい。）

共同研究員

(2) 研究代表者

氏名：東浦 彰史

所属機関名・部局名・職名：広島大学・大学院医系科学研究科・助教

(3) 研究課題名（申請時に記載したものと同一課題名を記入して下さい。）

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

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名：中川敦史（研究室名：超分子構造解析学研究室）

(5) 研究成果の概要（公開）

背景および目的

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隊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）とも呼称されている。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。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 サイレンシングにより抑制された植物は RDV に感染しない（Shimizu *et al.*, 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 *et al.*, 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。

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。

方法と結果

既に決定した Pns12 蛋白質の立体構造から RDV の内殻粒子との相互作用が示唆されたことから、その *in vitro* での相互作用解析を実施し、ウイルス粒子構築機構の解明を目指した。Pns12 の立体構造情報を元に各種変異体を調製し、さらに、RDV の内殻粒子構成蛋白質の発現系を構築し、内殻粒子の大量調製を実施した。調製した Pns12 蛋白質と内殻粒子との相互作用を動的光散乱法、電子顕微鏡観察もしくはゲルろ過などを用いて多角的に評価した。その結果、Pns12 の変異体が Pns12 特有の多量体構造を形成しないことが明らかとなった。また、更なる Pns12 の構造解析により新たな多量体構造を見出しており、内殻粒子との相互作用の可能性を検討している。内殻粒子の大量調製が遅れており相互作用解析には至らなかった。