

ウイルススーパーファミリー 1 ヘリカーゼの結晶構造解析 Crystal Structure of the Superfamily 1 Helicase from *Tomato Mosaic Virus*

加藤悦子¹, 松村浩由²

¹(独)農業生物資源研究所、〒305-8602 つくば市観音台 2-1-2

²阪大・工・応用化学、〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 2-1

1 はじめに

プラス鎖 RNA ウイルスに属するやトマトモザイクウイルス (ToMV) などは、一般に真核生物を宿主とするプラス鎖 RNA ウイルスが宿主細胞に進入し、脱外被を経てゲノム RNA が翻訳され、複製を司る複製タンパク質が合成される。複製タンパク質は複製鋳型となる自身のゲノム RNA を生体膜上にリクルートし、宿主因子と共に複製複合体を形成し、マイナス鎖 RNA を経てプラス鎖 RNA を複製する。ToMV のヘリカーゼドメインが複製に必要な宿主因子 (低分子量 GTPase タンパク質 ARL8 や膜タンパク質 TOM1 など) との相互作用に重要であることが明らかになった。ToMV のヘリカーゼドメインは、アミノ酸配列から見出されたヘリカーゼモチーフの特徴からスーパーファミリー (SF)1 ヘリカーゼに属することが予想されたが、立体構造は解明されていなかった。本研究では ToMV のヘリカーゼドメインの立体構造を決定した。

2 実験

ヘリカーゼドメインと予測される領域を含む安定なタンパク質ドメイン (S666-Q1116 : ToMV-Hel) を実験的に決定し、そのタンパク質の精製条件を決定した [1]。得られた ToMV-Hel について、沈殿化剤 : 0.1 M Sodium phosphate, pH6.5, 1.7 M ammonium sulfate を用いたハンギングドロップ法により 12°C で結晶化を行った [2]。位相決定は、SeMet 化 ToMV-Hel タンパク質を用いて SAD 法により行った。データ処理および構造の精密化は定法により行った。

3 結果および考察

ToMV-Hel は典型的な Rec-A 様 α/β ドメイン (ドメイン 1A および 2A からなるヘリカーゼコアドメイン (V802-Q1116) の他に、ToMV-Hel 特異的な N 末ドメイン (S666-V801) を持っていることが明らかになった (図)。3 個の硫酸イオンが 1A と 2A のドメインの間に存在する溝に位置していた。

ヘリカーゼドメインは、その立体構造や特徴的なモチーフの存在から SF1 から 6 に分類される。得られた構造について、類似の立体構造を DALLI server を用いて検索した結果、SF1 に属するタンパク質と相関性があることが分かった。SF1 ヘリカーゼは、立体構造に基づき、UvrD/Rep, Pif1-like, Upf1-like の 3 種類のグループに分類されている。これらは、ヘ

リカーゼドメインの各ドメイン中にアクセサリドメインと呼ばれる付加的なドメインを持つことを特徴として分類されている。

今回立体構造を決定した ToMV-Hel は、これら SF1 のタンパク質とは異なり、ヘリカーゼドメインの中にはアクセサリドメインをもたず、他のヘリカーゼタンパク質には見られない付加的な N 末ドメインをもっていた。これらのことから、ToMV-Hel はヘリカーゼ SF1 に属する新規なタンパク質ドメインを形成していることが分かった [3]。

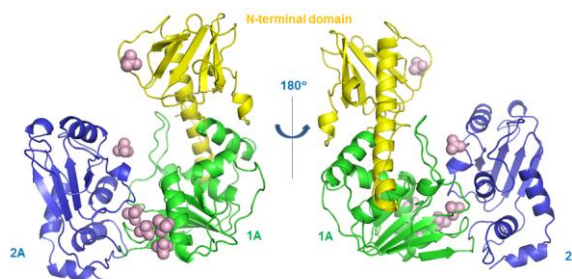


図 : ToMV-Hel の立体構造

ヘリカーゼコアドメインを緑(1A)と青(2A)で、N 末ドメインを黄色で示した。

4 まとめ

ウイルスがコードする SF1 ヘリカーゼの構造を世界で初めて決定した。その構造はヘリカーゼコア構造と特徴的な N 末ドメインから構成されていた。今後、このドメインと相互作用する宿主因子およびそれらとの複合体について構造解析を目指したい。

謝辞

本研究は生研センター「新技術・新聞や創出のための基礎研究推進事業」により行われました。また、本研究は PF および Spring8 のスタッフの方々にサポートしていただきました。ここに感謝致します。

参考文献

- [1] H. Xiang H. et al., *Protein Expr Purif* **81** (2012) 89-95.
- [2] H. Xiang H. et al., *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun* **67**(Pt 12) (2011) 1649-52.
- [3] M. Nishikiori et al., *J. Virol.* **86** (2012) 7565-76.

* ekatoh@nias.affrc.go.jp