

課題番号 2007U002

E 型肝炎ウイルスのキャプシド蛋白質が形成するウイルス様粒子のX線結晶構造解析

実験組織 山下哲生 1、海野英昭^{*} 2、森 嘉生 1、森石恒司 1、李 天成 3、宮村達男 3、武田直和 3、吉村政人 4、月原富武 4、松浦善治 1

(1 阪大微研分子ウイルス、2 長崎大学工学 3 国立感染研ウイルス第二部、4 阪大蛋白研蛋白質結晶学、^{*}代表者)

研究期間 2007 年 4 月～

実験ステーション PF-BL17A, BL5A, NW12A,

研究目的 E 型肝炎ウイルス(HEV)は 7.5kb のプラス鎖の一本鎖 RNA をゲノムとする、Hepeviridae 科に属するウイルスで、人獣共通感染症である E 型肝炎の原因ウイルスである。HEV ゲノムには三つの ORF があり、ORF2 はキャプシド蛋白質をコードしている。李らは遺伝子型 I 型、III 型、IV 型の HEV の N 末端の一部を欠損させた ORF2 を昆虫細胞で発現させることにより、大量の HEV 様粒子(HEV-LP)を産生できることを明らかにしている。今回、本邦での感染が報告されている遺伝子型 III 型の HEV-LP の X 線結晶構造解析を試みた。

材料と方法 遺伝子型 III 型 HEV の ORF2 の 112-608 アミノ酸残基を組換えバキュロウイルスを用いて昆虫細胞(Tn5)で発現させた。ウイルス接種後 7 日目に培養上清を回収し、HEV-LP を CsCl 濃度密度勾配法で精製し、得られた結晶を大型放射光施設 Spring-8 で X 線回折した。

研究成果 HEV-LP の結晶化を検討した結果、PEG10K 6%, Tris-HCl (pH 8.0) 0.1M で大きさ 0.2mm-0.5mm の結晶が得られ、X 線回折により分解能 4.0Å のデータを収集することができた。回転関数のデータを基に、非結晶学的対称性を調べた結果、4 回軸、3 回軸、および 2 回軸を持った二十四面体粒子と、5 回軸、3 回軸、および 2 回軸を持った正二十面体粒子の二種類の粒子の存在が確認され、ウイルス様粒子の構造と思われる、正二十面体粒子の結晶構造を解析した。これまでに HEV 蛋白質の構造は解析されておらず、HEV-LP の構造を原子レベルで解析できたことは、ゲノムのパッケージングや細胞へのエンタリー等の基礎研究のみならず、生産性に優れた HEV-LP を利用した、組換え粘膜ワクチンの設計にも大きく寄与することが期待される。