

## 研究報告書

(1) 山下哲生 大阪大学微生物病研究所分子ウイルス分野 D4

(2) 課題番号 課題番号: 2007B1696

課題名 E 型肝炎ウイルスのキャプシド蛋白質のが形成するウイルス様

粒子の x 線結晶構造解析(論文登録 12659)

使用ビームライン BL41XU

(3) 課題概要

【目的と意義】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 の分解能 3.5Å での線結晶構造解析によりウイルス粒子形成メカニズム、ワクチン開発への新たな知見を提案することが出来た。

【材料と方法】遺伝子型 III 型 HEV の ORF2 の 44112-608 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。得られたデータ解析により分解能 3.5Å での三次元結晶構造を決定した。

【結果と考察】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 3.5Å のデータを収集し、結晶構造解析に成功した。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。