

CRYSTAL STRUCTURE ANALYSIS OF OCCLUSION-DERIVED VIRUS ENVELOPE PROTEIN 66, A NOVEL CHONDROITIN LYASE

川口, 喜郎

<https://doi.org/10.15017/1441064>

出版情報：九州大学, 2013, 博士 (システム生命科学), 課程博士
バージョン：
権利関係：全文ファイル公表済

氏 名：川口 喜郎

論文題名：CRYSTAL STRUCTURE ANALYSIS OF OCCLUSION-DERIVED VIRUS ENVELOPE PROTEIN 66, A NOVEL CHONDROITIN LYASE

(バキュロウイルス由来新奇コンドロイチンリアーゼの結晶構造解析)

区 分：甲

論 文 内 容 の 要 旨

多くの生物は細胞外マトリックスの構成成分として、コンドロイチン硫酸を有する。コンドロイチン硫酸は、グルクロン酸 (GlcUA) と *N*-アセチルガラクトサミン (GalNAc) の二糖繰返し構造を持つ直鎖状の糖鎖で、成長因子やサイトカインと相互作用することで細胞の分化や免疫に関与している。コンドロイチン硫酸を分解する酵素としてコンドロイチンリアーゼが知られており、これまで病原性細菌の有する酵素として同定されてきた。

2011年、バキュロウイルスのエンベロープタンパク質のひとつが、コンドロイチンリアーゼ活性を持つことが明らかにされ、活性の本体として ODV-E66 (Occlusion-derived virus envelope protein 66) が単離された。ODV-E66 はウイルスで初めて同定されたコンドロイチンリアーゼであるだけでなく、既存のコンドロイチンリアーゼと異なる狭い基質特異性と、非常に高い安定性を示す点で極めて新奇性が高い。*odv-e66* 遺伝子がバキュロウイルスの感染に必須の遺伝子であることから、ODV-E66 は宿主細胞の最外層に存在するコンドロイチン硫酸の分解を介して、バキュロウイルスの感染をサポートしていると考えられる。

ODV-E66 と他のコンドロイチンリアーゼの一次配列の相同性は 12%以下と極めて低いため、ODV-E66 のユニークな性質について、その原因を明らかにするために、X 線結晶構造解析による ODV-E66 の立体構造解明を行った。大腸菌を用いた発現系により ODV-E66 を大量に可溶性画分に獲得することに成功し、各種クロマトグラフィーを用いることで SDS-PAGE において単一のバンドとして確認できる程度に精製することができた。さらに、X 線結晶構造解析を行うために十分な大きさのタンパク質結晶を獲得し、ヨウ素の異常分散効果を利用した SIRAS 法により ODV-E66 の立体構造を明らかにした。

ODV-E66 の結晶構造は N 末端側に α/α toroid から成る α -ドメイン、C 末端側に anti-parallel β -sandwich から成る β -ドメインを、それぞれ有していた。この構造的特徴は、一次配列の相同性が認められなかった既存のコンドロイチンリアーゼが属する、polysaccharide lyase 8 (PL8) family に共通した特徴である。本結晶構造に基づいて、既存のコンドロイチンリアーゼとの構造比較、および変異実験を行うことで、ODV-E66 の Asn236、His291、Tyr299、Arg345 および Glu395 を触媒残基として同定することができた。さらに既存のコンドロイチンリアーゼで保存されている、コンドロイチン硫酸の硫酸基と相互作用する塩基性アミノ酸が ODV-E66 に存在しないことが明らかになり、このことが ODV-E66 の基質特異性の狭さの原因であると考察できた。ODV-E66 の安定性に関しては、他のコンドロイチンリアーゼと比較して芳香族アミノ酸による相互作用が約 2 倍存在していること、およびタンパク質表面に露出したループ構造が欠損していることの 2 点が原因として考えられた。さらに、既存のコンドロイチンリアーゼとの構造比較において差異の見られた N 末端に存在する α -helix は、バキュロウイルスの宿主である *Heliothis virescens* の腸の細胞に存在するタンパク質と相互作用するアミノ酸配列を含んでおり、この特徴的な構造がバキュロウイルスの

宿主特異性に関与していることが示唆された。

本研究により、ODV-E66 のユニークな性質に関する構造基盤が明らかになったことで、バキュロウイルスの感染機構の解明やコンドロイチンリアーゼの医療応用に対する知見を広げることが可能になったと考える。