

研究報告書

フィロウイルスタンパク質の細胞内構造・機能解析

Max Planck Institute of Biochemistry

藤春(藤田) 陽子

【研究背景および目的】

エボラウイルスおよびマールブルグウイルスは、ともにフィロウイルス科に属するウイルスであり、非常に高い致死率の熱性疾患を引き起こす。これらのウイルス感染症は西・中央アフリカを中心に散発的なアウトブレイクを繰り返している。また、欧米諸国への輸入例も報告され、本邦でも輸入感染症として懸念されており、より効果的な予防薬・治療が求められている。しかし、感染性フィロウイルスの使用はBSL-4施設に限られることもあり、ウイルス増殖の分子機構の詳細は未解明である。そこで本研究では、フィロウイルス増殖に必須のウイルスタンパク質超複合体であるヌクレオカプシドおよびマトリックスタンパク質の細胞内立体構造をクライオ電子顕微鏡により解析することで、ウイルス粒子形成機構の構造基盤を明らかにすることを目的とした。

【研究経過・成果および今後の展望】

1. ヌクレオカプシド構造の解析

助成金申請から留学開始時点までに、他の研究グループより細胞内ヌクレオカプシドの構造解析の報告が学会等にあがっていたため^{1,2}、解析対象を細胞内ではなくウイルス粒子内のヌクレオカプシド構造に変更して研究を開始した。また、既報のヌクレオカプシド構造よりも高い分解能の構造を得るため、単粒子解析法と呼ばれる画像解析手法を用いた。これまでに、ウイルス様粒子中のヌクレオカプシド構造を4.6 Åの分解能で決定し、構造情報をもとに行った各種アッセイから、ウイルスゲノムの転写複製・細胞内でのヌクレオカプシドの形成・形質膜へのヌクレオカプシドの輸送といったウイルス増殖環の異なるステージにおける必須の相互作用を同定した。これらの成果はプレプリントサーバーに発表済みである³。現在は、BSL-4施設を有する共同研究者とともに、感染性ウイルス内のヌクレオカプシド構造の解析に取り組んでいる。

2. マトリックスタンパク質の解析

エボラウイルスのマトリックスタンパク質は多くの機能を有している。細胞内では八量体を形成し、この八量体はウイルスゲノムの転写複製のco-factorとして知られる一方で、形質膜直下～ウイルス粒子内においては二量体が重合したパッチを形成することで、フィラメント状ウイルス粒子のエンベロープを裏打ちする。このマトリックスタンパク質が形質膜直下でどのように膜曲率を生み、どのように特徴的なフィラメント状ウイルス粒子を形成するのかを構造生物学的観点から明らかにするために、cryo-FIBを用いたin cellクライオ電子線トモグラフィー法と呼ばれる手法による構造解析を進めている。留学初年度である今年度は、cryo-FIBの技術習得に時間を要した。所属するDepartmentが開発したサンプル作製法であるSerial Lift-out法⁴を培養細胞に適応するための検討を行い、出芽中のウイルス様粒子のイメージングに成功した。今後は、詳細な構造を得るための画像解析をメインに進める予定である。

【文献】

1. Vallbracht, M. *et al.* Nucleocapsid condensation drives Ebola viral factory maturation and dispersion. 2023.11.06.565679 Preprint at <https://doi.org/10.1101/2023.11.06.565679> (2023).
2. Watanabe, R. *et al.* Intracellular Ebola Virus nucleocapsid assembly revealed by in situ cryo-electron tomography. 2023.12.01.569666 Preprint at <https://doi.org/10.1101/2023.12.01.569666> (2023).
3. Fujita-Fujiharu, Y. *et al.* Structural basis of Ebola virus nucleocapsid assembly and functions. 2024.02.19.580633 Preprint at <https://doi.org/10.1101/2024.02.19.580633> (2024).
4. Schiøtz, O. H. *et al.* Serial Lift-Out: sampling the molecular anatomy of whole organisms. *Nat. Methods* 1–9 (2023) doi:10.1038/s41592-023-02113-5.