

(様式 1-2)

提出日：2020 年 月 日

2019 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

(2) 研究成果の概要

| | | | |
|--|-------------------------|--------------------|--|
| 課題名 | フラビウイルスのコア蛋白質における核移行の意義 | | |
| 研究代表者 | 氏名 | 岡本 徹 | |
| | 所属機関名・部局名 | 大阪大学微生物病研究所高等共創研究院 | |
| | 職名 | 教授 | |
| 事業名 (該当の事業名の右欄に○) | <input type="radio"/> | 共同研究員 | |
| | <input type="radio"/> | 超高磁場NMR 共同利用研究課題 | |
| | <input type="radio"/> | クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題 | |
| | <input type="radio"/> | 客員フェロー | |
| 蛋白研受入担当教員名 | 中川 敦史 | | |
| <p>フラビウイルス 感染症（日本脳炎ウイルス、西ナイルウイルス、デングウイルス、ジカウイルスなど）は蚊によって媒介され、地球温暖化や外国人観光客の増加に伴い、日本国内への侵入が危惧されている感染症である。しかし、現在これらのウイルス感染症に対する有効な治療薬はない。フラビウイルスのウイルス蛋白質の中でコア蛋白質は、一部が核に移行していることが知られている。私たちの研究室ではこれまでにコア蛋白質の核移行シグナルを同定し、核移行できない変異型コア蛋白質を持つ組換え日本脳炎ウイルスを作製したところ、培養細胞でのウイルス増殖は低下しており、マウスに対する病原性も著しく低下していた。したがって、コア蛋白質の核移行は、ウイルスの増殖や病原性の発現に関与していることを明らかにした。さらに、これまでコア蛋白質の核移行の分子機序は解明されていなかったが、組換え蛋白質やゲノム編集技術を用いた解析により、コア蛋白質が特定の宿主因子 X によって核に運ばれていることを明らかにした。そこで、本研究ではコア蛋白質と宿主因子 X の相互作用部位を詳細に理解することを目的に、両者の共結晶を作製しコア蛋白質と宿主因子 X との相互作用を解析することを検討した。バキュロウイルスおよび大腸菌発現系を用いて、コア蛋白質および宿主因子 X の組換え蛋白質を作製し、クマシー染色およびウエスタンブロッティングにより目的の蛋白質が作製できていることを確認した。続いて作製したそれぞれの組換え蛋白質のゲル濾過クロマトグラフィー精製を行ったところ、宿主因子 X の組換え蛋白質は十分に精製できたが、コア蛋白質の組換え蛋白質はほとんどがボイド画分に溶出されており、凝集していることがわかった。したがって、コア蛋白質の組換え蛋白質作製方法の条件検討、あるいはコア蛋白質と宿主因子 X との結合領域を絞り込み、コア蛋白質のペプチドを用いて宿主因子 X の組換え蛋白質を用いた共結晶の可能性を検討する。</p> | | | |