

30T-pm07

カリシウイルスプロテアーゼの構造機能解析

○岡 智一郎¹, 山本 真民¹, 横山 勝¹, 小川 智子¹, Hansman S. Grant¹,
片山 和彦¹, 宮下 佳奈¹, 高木 弘隆¹, 遠矢 幸伸², 佐藤 裕徳¹, 武田 直和¹ (¹感
染研, ²東大大学院獣医)

【目的】カリシウイルス（ノロウイルス、サボウイルス、ベジウイルス、ラゴウイルス）はヒトや動物に感染し、様々な病気を引き起こす。カリシウイルスのゲノムは約7.3-8.3 kbのプラス一本鎖RNAで、2ないし3のORFをコードする。カリシウイルスが複製増殖するためにはゲノムから翻訳されたタンパクがORF1にコードされるウイルス自身のプロテアーゼによって切断されることが必須である。我々はノロウイルス、サボウイルス、ベジウイルスに属するネコカリシウイルスのプロテアーゼについて、活性発現に重要なアミノ酸がいずれもH, E, C, Hの4つであることを明らかにしてきた。本研究では、カリシウイルスプロテアーゼの活性中心であるCys周辺のアミノ酸残基に着目し、これらのアミノ酸残基がプロテアーゼ活性に与える影響を検討した。

【方法】ノロウイルスU201株、サボウイルスMc10株、ネコカリシウイルスF4株の全長cDNA cloneを鋳型として、カリシウイルスプロテアーゼのGDCGモチーフ周辺で保存されているThr, Pro, TyrをそれぞれAlaに置換したcloneを作製した。これらを鋳型にin vitro coupling transcription/ translation systemを用いてORF1がコードするタンパク質を発現させ、発現産物の泳動パターンからプロテアーゼ活性への影響を検討した。

【結果と考察】ノロウイルス、サボウイルス、ネコカリシウイルスのいずれにおいても、GDCGモチーフ周辺のThr, Tyrの変異体ではプロテアーゼ活性が低下し、これらのアミノ酸が活性発現に重要であることが明らかとなった。一方、Proはプロテアーゼ活性に影響しなかった。現在、プロテアーゼ活性の発現に重要であったアミノ酸の立体的な位置関係を明らかにするため、統合計算化学システムMOEを用いてカリシウイルスプロテアーゼの構造解析を行っている。本研究により得られた結果は、今後カリシウイルスプロテアーゼをターゲットとする阻害物質を創製する上で有用と考えられる。