

## 27PE-am085

サポウイルスプロテアーゼのトランス切断活性の検討

○岡 智一郎<sup>1</sup>, 片山 和彦<sup>1</sup>, 宮下 佳奈<sup>1</sup>, 山本 真民<sup>1</sup>, Hansman Grant<sup>1</sup>,  
脇田 隆字<sup>1</sup>, 武田 直和<sup>1</sup>(<sup>1</sup>感染研)

【目的】カリシウイルス科に属するサポウイルス(Sapovirus, SaV)は、ヒトに急性胃腸炎を引き起こす。SaVは遺伝的、抗原的に多様で、5つの genogroup に分類される。我々はこれまでに SaV genogroup II (GII) Mc10 株の open reading frame 1 (ORF1) がコードするポリプロテインが、自身のプロテアーゼによって NH<sub>2</sub>-p11-p28-p35 (NTPase)-p32-p14 (VPg)-p70 (ProPol) -p60 (VP1)-COOH に切断されること、Mc10 株で同定した各切断部位が異なる genogroup の SaV 株でも保存されていることを明らかにしてきた。本研究では、SaV プロテアーゼ阻害物質のスクリーニング系構築を指向し、SaV プロテアーゼによる ORF1 ポリプロテインのトランス切断活性を評価することを目的とした。【方法】アミノ酸変異導入により、プロテアーゼ活性を消失させた SaV GII Mc10 株の ORF1 ポリプロテイン全長もしくは ProPol-VP1 コード領域を <sup>35</sup>S 標識アミノ酸存在下、in vitro translation で発現させ、トランス切断活性検出用の基質とした。また、プロテアーゼ供給源として、<sup>35</sup>S 標識アミノ酸非存在下で SaV GII Mc10 株の ORF1 ポリプロテイン全長、ProPol を同様に発現させた。さらに、異なるサポウイルス株由来のプロテアーゼ供給源として、SaV GI Mc114 株、SaV GV NK24 株の ORF1 ポリプロテイン全長も同様に発現させた。その後、基質とプロテアーゼを含む in vitro translation 反応液を混合、反応後、SDS-PAGE によって切断産物の解析を行った。【結果と考察】SaV Mc10 株の ORF1 ポリプロテインは、自身の ORF1 ポリプロテイン全長由来のプロテアーゼにより効率良くトランス切断されたが、ProPol によるトランス切断は一部の切断部位でのみ観察された。また、ProPol と VP1 間の切断部位は異なる genogroup のサポウイルス株 (GI Mc114, GV NK24) 由来のプロテアーゼによっても効率良く切断された。本研究により、SaV プロテアーゼ阻害物質スクリーニングのための基質として、ProPol と VP1 間の切断部位周辺配列を用いることが適当であることが示された。