

27PE-am084

ノロウイルス3C様プロテアーゼの網羅的変異導入解析

○染谷 雄一¹, 武田 直和¹, 脇田 隆宇¹(¹国立感染症研)

【目的】ノロウイルス 3C 様プロテアーゼはウイルスゲノムに由来するポリプロテインの成熟化に関わる重要な酵素である。本酵素はキモトリプシン様プロテアーゼのひとつであり、X 線結晶構造解析により、Glu54, His30, Cys139 が活性中心残基であることが明らかになった。しかし、以前の変異導入解析によると Glu54 残基は必須ではない。本研究では、ノロウイルス 3C 様プロテアーゼの活性に対する Glu54 残基の変異の効果調べると共に、活性に重要なアミノ酸残基を同定し、その役割を解析した。

【方法】大腸菌内で 3C 様プロテアーゼを含むノロウイルスポリプロテインの一部を発現させ、切断の有無を調べた。Glu54 残基は他の 19 種類のアミノ酸残基に置換した。また、3C 様プロテアーゼを構成する Gly, Ala 以外のアミノ酸残基を個々に Ala に置換した。

【結果と考察】Glu54 残基はほとんどのアミノ酸置換で程度の差は認められるものの活性を保持した。従ってプロテアーゼ活性には必須ではない。求核基 Cys139 に Ser 変異を導入すると、Asp54 および Gln54 変異のみ活性を維持した。このことは Ser139 変異型の場合 54 位残基と His30 との水素結合が重要であることを示唆する。また、野生型 3C 様プロテアーゼの反応機構は典型的なキモトリプシン様プロテアーゼとは異なることが示唆される。網羅的な Ala-scanning 変異解析では、His30 と Cys139 のほか、Trp6, Arg8, Trp16, Leu86, Lys88, Arg89, Leu95, Leu97, Met101, Gln117, Leu121, Thr134, Asp138, Tyr143, Val144, His157, Val167 の Ala 変異で活性が消失した。Thr134, Tyr143, His157 は基質認識に関わり、そのほかの多くの残基は活性中心近傍に位置することが立体構造から示された。