

21N-pm08S

カポジ肉腫関連ヘルペスウイルスがコードする ORF17 のプロテアーゼ活性は、ウイルス成熟カプシド形成に必須である

○鶴見 さやか¹, 渡部 匡史¹, 鈴木 陽一², 中野 隆史², 藤室 雅弘¹ (¹京都薬大, ²大阪医大 微生物学)

【目的】カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス (KSHV) は、AIDS 関連カポジ肉腫、原発性体腔性リンパ腫などを引き起こすがんウイルスである。KSHV にコードされている ORF17 はプロテアーゼドメインとカプシドタンパク質ドメインから構成されており、ORF17 が自己切断することで成熟カプシド生成に寄与していることが、類縁ウイルス相同遺伝子の解析から推測されている。しかしながら、ORF17 が実際に KSHV 複製の際に、そのような機能があるか否かについては不明である。本研究では、ORF17 のプロテアーゼとしての機能が、成熟カプシドの生成を介したウイルス粒子産生やその他ウイルス複製に関与するか明らかにすることを目的とした。

【方法】BAC 改変系システムを用いて、ORF17 欠損 KSHV (KSHV ΔORF17)、および ORF17 プロテアーゼ機能欠失 KSHV (KSHV ORF17 S133A) BAC クローンをそれぞれ作成した。これら ORF17 変異 BAC クローンと野生型 KSHV (KSHV WT) BAC クローンを iSLK 細胞に導入し、各種 KSHV 産生細胞を作成し性状解析を実施した。さらにこれらの KSHV 産生細胞におけるウイルスカプシド形成を電子顕微鏡により観察した。

【結果と考察】各種 KSHV 産生細胞を溶解感染に移行させ、ウイルス産生量をリアルタイム PCR で定量したところ、いずれの ORF17 変異株でも野生型と比較して顕著な減少が観察された。また、ウイルス産生下における各種 KSHV 産生細胞を電子顕微鏡にて観察したところ、野生型ではウイルスゲノムがパッケージングされた成熟カプシドが認められたのに対し、いずれの ORF17 変異株でも未成熟カプシドが核内に蓄積しているのが観察された。これらの結果より ORF17 のプロテアーゼ活性が成熟カプシドの形成に必須であることが示唆された。さらに、ORF17 の自己切断がウイルス産生量に影響するのかについて現在検討している。