

機関番号：82603
 研究種目：若手研究(B)
 研究期間：2008-2009
 課題番号：20790125
 研究課題名(和文) ノロウイルス、サポウイルス受容体の同定及びウイルス感染検出系の構築
 研究課題名(英文) Screening of Norovirus and Sapovirus receptor and establishment of viral infection system
 研究代表者 岡 智一郎 (Oka Tomoichiro)
 国立感染症研究所 ウイルス第2部 主任研究官
 研究者番号 50356242

研究成果の概要(和文)：ノロウイルス、サポウイルスと同一の科に属し、培養細胞での増殖が可能なネコカリシウイルスをモデルとして用い、Bioluminescence resonance energy transfer (BRET) を利用したウイルス感染検出系を構築した。カリシウイルス増殖阻害物質スクリーニング系として有用である。
 研究成果の概要(英文)：A cell-based assay system that allow monitoring of feline calicivirus protease activity has been established using the principle of bioluminescence resonance energy transfer (BRET).

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
21年度	1,800,000	0	1,800,000
22年度	1,500,000	0	1,500,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	0	3,300,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・環境系薬学

キーワード：微生物・感染症学

1. 研究開始当初の背景

ヒト急性胃腸炎の原因ウイルスであるノロウイルス、サポウイルスは培養細胞での増殖が出来ず、受容体の同定をはじめとするウイルスの感染、増殖メカニズムは未解明である。一方で、ノロウイルス、サポウイルスが属するカリシウイルス科のウイルスの中にはネコカリシウイルスのように培養細胞で増殖可能なウイルスが存在し、このウイルスはノロウイルスやサポウイルスのモデルウイルスとして研究に利用されている。

2. 研究の目的

ネコカリシウイルス受容体の同定に用いられた手法を用いて、ノロウイルス、サポウイルスの受容体候補因子を同定する。また、ノロウイルス、サポウイルスと同じ科に属し、培養細胞での増殖が可能なモデルウイルス(ネコカリシウイルス)について、ハイスループットな増殖阻害物質スクリーニング系

の確立を目的として、ウイルス感染を検出可能なバイオセンサー発現細胞を構築する。

3. 研究の方法

ノロウイルス、サポウイルスはヒト小腸上皮において感染、増殖すると考えられている。本研究では、昆虫細胞もしくは哺乳動物培養細胞で発現させたノロウイルスもしくはサポウイルスのウイルス様中空粒子(virus-like particle: VLP)をプローブとして、組換えレトロウイルスの感染によってヒト小腸 cDNA ライブラリー由来遺伝子を発現させたマウス由来細胞をスクリーニングし、VLPs に結合する細胞を検索した。

また、ネコカリシウイルスの感染、増殖の際、感染細胞内に生成されるウイルスプロテアーゼの活性を検出可能なバイオセンサーを構築するため、ネコカリシウイルスプロテアーゼの認識切断配列を GFP と renilla Luciferase の間に組み込んだ融合タンパク

質 (BRET センサー) を作成し、この BRET センサーを安定発現するネコカリシウイルス感受性細胞株を樹立した。

4. 研究成果

スクリーニングの結果、サポウイルス VLP に結合する細胞を複数得た。また、ネコカリシウイルスについて、BRET を利用したウイルス感染検出系の構築に初めて成功した。本検出系はネコカリシウイルスの感染、増殖に伴って細胞内に供給されるウイルスプロテアーゼの活性を特異的に検出するため、ネコカリシウイルス増殖阻害物質のスクリーニングに有用である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

Oka T, Miyashita K, Katayama K, Wakita T, Takeda N.

Distinct genotype and antigenicity among genogroup II sapoviruses

Microbiology and Immunology
53 (7) 417-420. 2009.

Oka T, Yokoyama M, Katayama K, Tsunemitsu H, Yamamoto M, Miyashita K, Ogawa S, Motomura K, Mori H, Nakamura H, Wakita T, Takeda N, Sato H. Structural and biological constraints on diversity of regions immediately upstream of cleavage sites in calicivirus precursor proteins.

Virology. 2009 ;394(1):119-129.

[学会発表] (計 4 件)

Oka T, Yokoyama M, Katayama K, Yamamoto M, Miyashita K, Ogawa S, Motomura K, Tsunemitsu H, Wakita T, Sato H, Takeda N

Substrate specificities of calicivirus-encoded 3C-like proteases
The Forum of the Network of research Centerson Infectious Diseases
2008. 10. 6. ベトナム ハノイ

岡智一郎、高木弘隆、遠矢幸伸、片山和彦、脇田隆字、武田直和

BRET を用いたネコカリシウイルスプロテアーゼ活性検出系の構築
日本薬学会第 129 年会

2009. 3. 27. 京都

岡智一郎、高木弘隆、遠矢幸伸、武田直和、脇田隆字、片山和彦

カリシウイルス増殖阻害物質スクリーニング系の構築
第 57 回日本ウイルス学会学術集会
2009. 10. 27. 東京

岡智一郎、高木弘隆、遠矢幸伸、武田直和、脇田隆字、片山和彦

バイオセンサー発現細胞を用いたネコカリシウイルス感染検出系の構築
第 32 回日本分子生物学会年会
2009. 12. 12. 神奈川

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]

ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者 岡 智一郎

(Oka Tomoichiro)

国立感染症研究所 ウイルス第 2 部

主任研究官

研究者番号：50356242

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：