

# バキュロウイルス遺伝子の発現が哺乳動物細胞に与える影響について

応用分子生物学分野 応用分子昆虫学講座  
志摩恭子

## (背景と目的)

*Autographa californica* 核多角体病ウイルス (AcMNPV) は、昆虫を宿主とするバキュロウイルス科核多角体病ウイルス属に属する環状二本鎖 DNA ウイルスである。AcMNPV は、哺乳動物細胞において、増殖はしないが核まで侵入出来るということが報告され、遺伝子導入ベクターとしての開発が進められている。一方、近年、AcMNPV が哺乳動物細胞内に侵入後、RNA レベル、タンパク質レベルで複数のウイルス遺伝子を発現することが明らかになった (Fujita *et al.*, 2006; Laakkonen JP *et al.*, 2007)。しかし、哺乳動物細胞における AcMNPV 遺伝子産物の挙動や機能についての研究は進んでいないのが現状であり、バキュロウイルスの安全性に関わる分子基盤の理解をさらに深めることは極めて重要な課題である。

## (方法)

本研究では、AcMNPV の遺伝子が哺乳動物細胞へ与える影響を調査する目的で、各 AcMNPV 遺伝子一過性発現プラスミドを構築後、BHK (ベビーハムスター腎臓由来) 細胞と Huh 7 (ヒト肝臓ガン由来) 細胞にトランスフェクションし、ウイルス遺伝子の発現が細胞増殖に与える影響を調査した。また、哺乳動物ウイルスプロモーター (Cytomegalovirus (CMV) immediate-early promoter, Simian virus40 (SV40) early promoter, Herpes simplex virus thymidine kinase promoter) と、哺乳動物遺伝子プロモーター (Human elongation factor 1 $\alpha$  promoter) を有するレポータープラスミドを構築し、各 AcMNPV 遺伝子がこれらのプロモーターの活性に与える影響についても調査した。

## (結果及び考察)

AcMNPV 前初期遺伝子 (*ie2*, *pe38*) を発現させると、BHK、Huh 7 細胞の細胞増殖は抑制されることが明らかになった。また、この 2 つのウイルス遺伝子の発現は哺乳動物ウイルスや哺乳動物遺伝子のプロモーター活性にも様々な影響を与えることがわかった。これらの遺伝子産物 (IE2、PE38) は、共に宿主昆虫細胞においては、AcMNPV 複製に関わる転写活性化因子であり、また、AcMNPV 接種哺乳動物細胞においては、宿主細胞の転写や細胞周期制御などに関与する PML NBs (核内構造体) に局在するという共通点がある。これらのことから、細胞増殖に影響を与えたのは、哺乳動物細胞内における PML NBs において宿主因子に作用したためではないかと考えられた。また、これらの遺伝子産物は、哺乳動物ウイルスや哺乳動物遺伝子プロモーター活性に大きな影響を与えることが示唆されたが、その機構は現在明らかではない。本研究により、AcMNPV 遺伝子は、哺乳動物の細胞生理やプロモーター活性に影響を与え得ることが示唆され、今後、本ウイルス遺伝子機能に関する詳細な解析がバキュロウイルスの高度利用を図る上で非常に重要な課題であると考えられた。