

バキュロウイルス感染細胞におけるウイルス DNA および 宿主ヒストンの局在解析

応用分子生物学講座 応用分子昆虫学分野
佐藤 開

【背景と目的】真核生物の遺伝子発現において、クロマチンの構造変化による発現制御の存在が知られている。近年 HSV-1 などの DNA ウイルスでも、真核生物細胞同様にクロマチンを介したウイルス遺伝子発現制御機構の存在が示唆されている。バキュロウイルス科の *Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus (*AcMNPV*) は昆虫細胞を用いたタンパク質生産系として利用されているが、増殖機構には不明な点が多く、*AcMNPV* の安全性や利用における機能の向上を目的として増殖、遺伝子発現機構が研究されている。*AcMNPV* も宿主細胞感染時にウイルス DNA がクロマチン構造を形成するという報告があるが、クロマチンが状態変化するかどうか、またその構造がウイルス遺伝子発現にどのように影響しているかは不明である。そこで本研究では *AcMNPV* 感染により宿主ヒストンの修飾状態がどのように変化するのか、またウイルス感染時にウイルス DNA と修飾ヒストンがどのような局在性を示すのかを調査する目的で、ウイルス DNA と宿主ヒストン H3、H3K9, 14Ac (ユークロマチンマーカー)、H3K27me3 (ヘテロクロマチンマーカー) の Sf9 細胞内局在を経時的に観察した。

【方法】*AcMNPV* を Sf9 細胞に感染させ、感染後 6, 24 時間に細胞を回収し、核抽出物に対して修飾ヒストン抗体を用いてウェスタンブロットを行い、ウイルス感染に伴う宿主ヒストンの修飾状態の量的変化を調査した。また immuno-FISH 法を用いて感染後 8, 12, 24 時間のウイルス DNA と宿主ヒストンの局在を調査した。いずれの実験にもヒトヒストン H3 抗体、H3K9, 14Ac 抗体、H3K27me3 抗体の 3 つを使用した。

【結果】ウェスタンブロットの結果、ウイルス感染による修飾ヒストンの顕著な量的変化は認められなかった。また、局在解析の結果、感染後 8 時間にはウイルス DNA とヒストン H3 および H3K9, 14Ac は顕著に共局在するが、H3K27me3 は共局在しないことが明らかになった。感染後 12, 24 時間にはいずれの修飾を伴うヒストンもウイルスの形成する複製領域の外側に局在する事が明らかになった。

【考察及び結論】今回の実験結果から、感染前期に *AcMNPV* は宿主ヒストンと共局在し、またユークロマチンマーカーである H3K9, 14Ac と共局在することが明らかになった。これらのことから、この時期のウイルス遺伝子の発現制御はヒストンの修飾と関係のある可能性が示唆された。また感染後期になるとウイルス DNA とヒストンの共局在が観察できなくなることから、ウイルス DNA とヒストンの結合は解消されると考えられ、この結果は、ウイルス粒子中にヒストンを含まない事実とも一致する。