

# バキュロウイルスベクターを利用した実用魚種細胞への遺伝子導入

応用分子生物学講座 応用分子昆虫学分野  
横尾 成子

## (背景と目的)

バキュロウイルスは約 120 kbp の環状二本鎖 DNA を有し、節足動物特異的に増殖する桿状ウイルスである。バキュロウイルスの一種である AcMNPV (*Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus) は宿主昆虫のみならず魚類、鳥類、哺乳類の細胞にも侵入可能であり、細胞毒性が低いことから脊椎動物細胞におけるウイルスベクターとしても注目されている。本研究では AcMNPV を用いて、実用魚種細胞への有効な遺伝子導入技術を確認することを目的とした。

## (方法)

まず、AcMNPV の多様な魚細胞への侵入能および外来遺伝子発現能を確認する目的で GFP 遺伝子を組込んだ AcMNPV を作製し、5 種類の魚細胞に接種して GFP の蛍光を観察した。

さらに AcMNPV をベクターとし、トランスポゾンの転移活性を利用して外来遺伝子を魚細胞ゲノムへと挿入し、持続的な発現を可能とするシステムの構築を試みた。即ち、トランスポゼースを発現するヘルパーウイルスとトランスポゾンの末端反復配列を両末端に持つマーカー遺伝子(GFP遺伝子, ハイグロマイシン耐性遺伝子) 発現ユニットを組み込んだドナーウイルスを構築し、これらを魚細胞に共感染させ、ハイグロマイシンを含む培養液中で選抜した。選抜された細胞のゲノムに導入遺伝子が挿入されたかどうかをサザンハイブリダイゼーション等により解析した。

## (結果)

2 種類の魚細胞 (CHSE-214, HINAE) において顕著に GFP を発現する細胞が確認された。

また、トランスポゾンを利用した外来遺伝子の魚細胞ゲノムへの挿入実験において、ウイルス感染から 13 週間後の魚細胞においても GFP の蛍光が観察され、サザンハイブリダイゼーションによっても細胞内に GFP 遺伝子が存在することは明らかになったが、その所在までは同定できなかった。

## (考察及び結論)

これらの結果は実用魚種細胞における外来遺伝子発現にバキュロウイルスベクターが利用可能である事を示していると考えられる。

また、バキュロウイルスを用いて組換え魚細胞を作出することが可能となった。しかし、現時点ではトランスポゾン活性により導入遺伝子がゲノムに挿入されたかどうかは不明である。今後、マーカー遺伝子が発現している細胞をクローン化し、挿入された配列の末端を解析するなどトランスポゾンの有用性についてはさらなる検討が必要である。