

バキュロウイルス (BmNPV) 新規転写制御因子 P15 に関する研究

応用分子生物学講座 応用分子昆虫学分野

赤塚 夕紀美

(背景と目的)

バキュロウイルス科に属する核多角体病ウイルス (NPV) は、節足動物特異的な病原ウイルスであり、感染後期に宿主細胞内に多角体を多量に形成するという特徴を持つ。この爆発的な多角体タンパク質 (polyhedrin) 産生能を利用して、NPV は昆虫培養細胞および昆虫個体を用いた外来遺伝子発現用ウイルスベクターとして利用されている。しかしながら、100 以上ある NPV の遺伝子について、約半数は機能が不明のままであり、NPV をより有効に利用するため、それらの遺伝子機能の解析は必須である。

最近、本研究室において植物ウイルスである cauliflower mosaic virus (CaMV) の 35S プロモーター (35Sp) が NPV の因子によって活性化されることが明らかとなった。研究が進められる中で 35Sp 活性化因子として、9 個の *Bombyx mori* NPV (BmNPV) 遺伝子が同定された (西島, 2005)。その中の 1 つである *p15* は、同定された遺伝子の中で最も機能解析が進んでいない遺伝子である。そこで、本研究では分子量 15kDa のウイルスタンパク質 P15 をコードする *p15* に焦点を当て、その構造と機能について解析した。

(方法)

35Sp または各種 BmNPV 遺伝子プロモーターを含むレポータープラスミドと P15 の発現プラスミドを用い、一過性発現系において P15 のプロモーター活性化能を測定した。また、部分欠損 35Sp を含むレポータープラスミドを用い、P15 による活性化に必要なプロモーター領域を検索するとともに、部分欠損 P15 発現プラスミドを用い P15 の機能領域を探索した。加えて、P15 のウイルス増殖における機能を解析するために、*p15* をノックアウトした BmNPV ($\Delta p15$) (小野, 2011) の性状についても調査した。

(結果)

P15 は 35Sp およびそのコアプロモーター領域に対しても活性化能を示すことが判明した。さらに、P15 は今回使用した各種 BmNPV 遺伝子プロモーターおよび、それらのコアプロモーターに対しても活性化能を有することが判明した。P15 の機能領域探索では、C 末端側の酸性領域に高い活性化能が見られたが、N 末端側の塩基性領域についても完全長 P15 の約 5 割の活性化能が存在した。一方、ノックアウトウイルス ($\Delta p15$) はコントロールウイルス (BmGFP) に比べ、*polyhedrin* プロモーター活性や感染性の出芽ウイルス (BV) 産生量が高くなる傾向が観察された。また、 $\Delta p15$ 感染細胞における包埋体由来ウイルス (ODV) 特異的タンパク質をコードする 4 つの遺伝子の発現量を測定したところ、2 つの遺伝子の発現量が BmGFP 感染細胞と比べて低下し、BV 産生促進にも関わると考えられている 1 つ遺伝子発現量が上昇していた。

(考察及び結論)

P15 は一過性発現において、プロモーター配列非特異的な転写活性化能を持つことが判明したが、プロモーター活性化の分子機構については現在明らかではない。さらに、ノックアウトウイルスを用いた解析から、*p15* はウイルス増殖過程において、ウイルス遺伝子の発現制御に関わり、多角体および BV 産生などに関わっている可能性が示唆された。