

バキュロウイルスベクターの外来遺伝子発現特性に関する研究 - ウイルス膜タンパク質 (F protein) の影響について -

生物資源科学専攻 分子生物学講座 応用分子昆虫学 岡島高穂

1. はじめに

カイコ核多角体病ウイルス (BmNPV) は効率の良い外来遺伝子発現ベクター (BmNPV 発現ベクター) の1つとして知られている。標準株 T3 と本研究室で新規に分離された H4 とでは増殖特性に違いがあり (角谷, 2006), H4 に T3 の膜タンパク質遺伝子 (*f*) を導入する (H4/T3F) と, H4 のウイルス増殖やウイルス包埋体タンパク質 (Polh) の発現に大きく影響することが示唆された (酒井, 2012)。そこで本研究では, これらウイルス (T3, H4, H4/T3F) に加え, 新たに作製した *f* の欠損ウイルスを用いて, *f* の有無や構造の違いが Polh プロモーター制御下で発現させる外来遺伝子の発現効率に与える影響を調査した。

2. 方法

T3 と H4 の *f* 欠損ウイルス (T3 Δ F, H4 Δ F) を作製し, それらのウイルスにおいて, Polh あるいは外来タンパク質 (EGFP) を発現するウイルスを作製した。各ウイルスを培養細胞に感染させ, 培養上清中のウイルス DNA 量および膜タンパク質 (GP64, F), Polh, EGFP の遺伝子発現量を q-PCR で調査した。更に, EGFP については蛍光強度を指標に発現タンパク質量を定量, 比較した。

3. 結果と考察

T3, H4, H4/T3F の比較では, 発現タンパク質が Polh か EGFP かで, 最も効率良く発現するウイルスが異なっていた。また, 発現量の多かったウイルスは, 同時にウイルス増殖量も高く, 発現させるタンパク質の違いによって3種類のウイルスの増殖特性に与える影響が異なることが示唆された。一方, *f* の欠損はウイルスの増殖に顕著な影響を与えなかったにも関わらず, Polh の発現量が減少した。しかし, EGFP を発現させた場合には, T3 ではウイルス増殖量と EGFP 発現量が減少し, H4 ではウイルス増殖には影響しないにも関わらず, EGFP 発現量が顕著に増加した。これらのことから, *f* の有無や構造の違いは BmNPV の増殖に様々な影響を与え得ると共に, 外来遺伝子の発現効率にも顕著に影響することが判明した。今後, 本研究で初めて見出だした, H4 において *f* の欠損が EGFP の発現を増加させる現象のメカニズムを解明することで BmNPV ベクターの改良に有益な知見が得られると考えられた。