

# カイコ核多角体病ウイルスにおける宿主細胞周期制御因子の探索

生物資源科学専攻 応用分子生物学講座 応用分子昆虫学 武内潤一

## 1. 背景と目的

バキュロウイルスに感染した細胞は細胞周期が G2/M で停止することが知られており、その結果ウイルスが効率的に増殖できるものと考えられている。これまでに、ウイルス遺伝子 (*odv-ec27*) 産物が Cdk1 を活性化し、さらに Cdk6 を活性化することが報告されている (Belyavskiy *et al.*, 1998)。しかし、*odv-ec27* が実際に感染過程において、細胞周期の制御に機能しているかは明らかでない。感染細胞における細胞周期制御メカニズムを解明することはバキュロウイルスの増殖機構を理解する上で必須であり、より効率的なバキュロウイルスベクターシステムを構築するためにも重要である。本研究ではバキュロウイルス科に属するカイコ核多角体病ウイルス (BmNPV) の宿主細胞周期制御メカニズムの解明を目的として、まず *odv-ec27* の感染細胞における細胞周期制御への関与を調査するとともに、細胞周期制御に関わる他のウイルス因子の存在についても調査した。

## 2. 方法

細胞周期制御の鍵遺伝子の候補として *odv-ec27* および、そのノックアウトによりウイルスの増殖が低下する遺伝子 6 つを対象とした。λ red recombination システム (Datsenko and Wanner, 2000) を用いて作製された各遺伝子ノックアウト BmNPV (KOBmNPV) (Ono *et al.*, 2012) をカイコ卵巣由来 BmN 細胞にトランスフェクション、もしくはウイルス粒子として感染させ、フローサイトメーターを用いて感染細胞の細胞周期を解析した。また、BmNPV の遺伝子発現に必須である遺伝子 *ie-1* の dsRNA を発現する組換え BmN 細胞 (rBmN-B10) に BmNPV を感染させると、ウイルスの増殖はほぼ完全に抑制されるが、細胞増殖が停止することが知られている (大塚, 2012)。そこで本組換え細胞の感染時における細胞周期についても解析した。

## 3. 結果と考察

これら 7 つの遺伝子の各 KOBmNPV を感染させ、細胞周期を解析した結果、*odv-ec27* KOBmNPV は細胞周期を G2/M で停止させなかった。これは *odv-ec27* が細胞周期制御の鍵遺伝子の一つであることを示唆する結果である。一方、他の遺伝子 KOBmNPV に関しては、全て細胞周期が G2/M で停止した。これらの遺伝子以外にもノックアウトによりウイルス増殖が大きく阻害される遺伝子が 48 個存在することから、今後、これらについても調査が必要である。一方、rBmN-B10 細胞では、ウイルスの増殖は抑えられたが、細胞周期が G2/M で停止していた。この細胞ではウイルス遺伝子の発現が効果的に阻害されていると考えられることから、ここで発現しているウイルス遺伝子を調べることで、*odv-ec27* 以外の細胞周期制御に関わる遺伝子を特定できる可能性が考えられた。