

カイコ核多角体病ウイルス (BmNPV) 膜タンパク質 GP64 の構造変化が

ウイルス増殖に及ぼす影響について

生物資源科学専攻 応用分子生物学講座 応用分子昆虫学 石川 小百合

1. はじめに

カイコ核多角体病ウイルス (BmNPV) は、真核細胞における最も効率的なタンパク質発現ベクターの1つである。近年、BmNPVの標準株 T3 とは異なる増殖特性を示す新規株 H4 が本研究室で分離され、両ウイルスゲノムは塩基配列で約 98% の類似性を有しているが、T3 は培養細胞で、一方、H4 は個体で高い増殖能を示すことが明らかになった (角谷, 2006)。両株の増殖特性の違いを生み出す因子の解明は、BmNPV の増殖機構をより深く理解し、ベクターとしての有用性を高めるために重要である。増殖特性の違いを生み出し得る要素の1つとして、二次感染効率がある (河野, 2008)。そこで本研究では、二次感染で主要な役割を果たすウイルスの膜タンパク質 GP64 に着目し、両株の増殖特性との関係について解析した。

2. 方法

まず、ルシフェラーゼを発現する BmNPV T3 (T3-Luc), H4 (H4-Luc) を作製し、さらにそれらの *gp64* を入れ換えた組換えウイルス (T3-H4gp64, H4-T3gp64) を作製した。これらを培養細胞およびカイコ個体に感染させ、培養上清および体液中に含まれるウイルス DNA 量を qPCR により定量し、増殖量を比較した。次に、H4gp64 にあるアミノ酸変異 6 箇所のうち、GP64 の主な機能の一つである宿主細胞膜への結合に関与すると疑われる部位 (Zhou and Blissard, 2008) に近接する変異アミノ酸を T3 型に変異させた組換えウイルス (H4-H4gp64-m3, H4-H4gp64-m4) を作製し、各組換えウイルスを培養細胞に感染させ、上述と同様にウイルスの増殖量を比較した。

3. 結果と考察

培養細胞での感染実験では、H4-T3gp64 が T3-Luc と同等の増殖能を示し、T3-H4gp64 は T3-Luc より増殖能が低下し、H4-Luc に近づいた。一方、カイコ個体での感染実験では、H4-T3gp64 は H4-Luc よりも増殖能が顕著に低下し、T3-H4gp64 は T3-Luc よりも増殖能が向上した。これらの結果から、*gp64* の構造の違いが T3 と H4 の増殖特性の違いに大きく関わっていることが考えられた。さらに、増殖特性に関わる変異箇所を特定するために、H4-H4gp64-m3, H4-H4gp64-m4 を培養細胞に感染させたが、どちらも H4-Luc よりも顕著に増殖能が低下した。これらの結果から、変異を導入した 2 箇所のアミノ酸は GP64 の機能発現に重要な役割を果たしていること、また、T3 の培養細胞での優れた増殖能は少なくともこれらのアミノ酸の違いのみに起因するものではないことが示唆された。

4. おわりに

BmNPV の T3 と H4 の増殖特性の違いには、膜タンパク質 GP64 が関与しており、*gp64* の構造の違いは、培養細胞やカイコ個体でのウイルスの増殖能を大きく左右することが明らかになった。今後は、残りの 4 箇所の変異箇所を含め、より詳細に解析をすることで、細胞あるいは個体における BmNPV の増殖能の決定に関わる分子基盤の一端が明らかになると期待される。