

# Syndecan の昆虫細胞におけるバキュロウイルスレセプター機能の解析

生物資源科学専攻 応用分子生物学講座 応用分子昆虫学 宇多 桃香

## 1. はじめに

バキュロウイルス科に属する核多角体病ウイルス (NPV) は、昆虫を宿主とする病原ウイルスであり、感染後期に宿主細胞内に多角体を形成するという特徴を持つ。この多角体タンパク質産生能を利用して NPV は昆虫細胞または昆虫個体を用いた外来タンパク質発現ベクターとして利用されている。しかしながら、NPV の宿主昆虫細胞への感染機構には不明な点が多く、NPV をより効率的かつ安全に利用するには、感染機構の解明は必須である。近年、哺乳動物細胞 (EA.hy926, HepG2) に *Autographa californica* multicapsid nucleopolyhedrovirus (AcMNPV) が侵入する際、ヘパラン硫酸プロテオグリカン的一种である Syndecan (SDC) -1 をレセプターとして利用しており、SDC が持つ Glycosaminoglycan (GAG) 鎖の硫酸部位が NPV との相互作用に重要である可能性が報告された (Makkonen *et al.*, 2013)。そこで、本研究では特定のレセプター分子が同定されていない昆虫細胞においても SDC がウイルス感染において重要な機能を有する可能性を調査した。

## 2. 方法

まず、AcMNPV の昆虫宿主細胞である Sf9 細胞と *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus (BmNPV) の昆虫宿主細胞である BmN 細胞の SDC 遺伝子をそれぞれ RNA 干渉法によって一過的にノックダウンした細胞を作出した。これら培養細胞にウイルスを感染させ、培養上清中のウイルス DNA 量を定量 PCR 法で解析した。次に、NaClO<sub>3</sub> を用いた新生 SDC の GAG 鎖硫酸化阻害および Heparinase II によるヘパラン硫酸鎖の切断を行い、これら薬剤・酵素処理を行った細胞にウイルスを感染させ、培養上清中のウイルス DNA 量を定量 PCR 法で解析した。

## 3. 結果と考察

SDC 遺伝子を一過的にノックダウンした Sf9 細胞に AcMNPV を接種した場合、ウイルスの増殖量はコントロールと比較して顕著に低下した。また、NaClO<sub>3</sub> を用いた新生 SDC の GAG 鎖硫酸化阻害および Heparinase II によるヘパラン硫酸鎖の切断処理を行った Sf9 細胞においても AcMNPV の増殖は抑制された。これらの結果から、Sf9 細胞において SDC と GAG 鎖は AcMNPV の増殖過程で重要な機能を担っていることが推定された。一方、BmNPV は、SDC 遺伝子を一過的にノックダウンした BmN 細胞においても、Heparinase II によるヘパラン硫酸鎖の切断処理を行った BmN 細胞においてもコントロール細胞と同程度の増殖量を示した。また、NaClO<sub>3</sub> で新生 SDC 糖鎖の硫酸化阻害を行った BmN 細胞ではむしろ BmNPV の増殖は促進された。これらの結果から、BmNPV の BmN 細胞における感染・増殖においては、SDC は特に必要ではなく、GAG 鎖の硫酸化は BmNPV の増殖に負の影響を及ぼしている可能性が示唆された。

## 4. まとめ

AcMNPV の Sf9 細胞への感染においては、SDC が重要な機能を担っており、SDC 上の GAG 鎖が重要な役割を果たしている可能性が示唆された。一方、BmN 細胞においては、BmNPV の感染において SDC が重要な役割を果たしていることを示唆する結果は得られなかった。今後 Sf9 細胞における SDC と AcMNPV の相互作用について詳細を解析し、感染過程における役割を明らかにするとともに、BmNPV のレセプター候補分子の特定を進める必要がある。