

カイコ核多角体病ウイルス (BmNPV) の非必須遺伝子クラスター *bm36-38* の

遺伝学的相互作用について

生物資源科学専攻 応用分子生物学講座 応用分子生物学 齋藤 諒

1. はじめに

カイコ核多角体病ウイルス (BmNPV) は感染後後期において多角体タンパク質を高発現することから、タンパク質発現ベクターとして利用されている。しかし、BmNPV のウイルス増殖機構には不明な点が多く、今後ベクターの改良を行うためにはウイルス増殖機構の解明が必要である。BmNPV の遺伝子の約 60% (86 個) は単一遺伝子のノックアウト (KO) では増殖に壊滅的な影響を与えない BmNPV 遺伝子 (非必須遺伝子) であるが、その中には複数 KO した場合にウイルス増殖を予想外に大きく阻害するものが存在する (武田, 2016)。本研究ではそのような非必須遺伝子群として同定された *bm32~bm38* の 7 遺伝子のなかでウイルス増殖へ大きく影響する *bm36~bm38* に注目し、これら遺伝子の遺伝学的相互作用を解析した。

2. 方法

感染後後期に EGFP を発現する BmNPV (BmGFP バクミド) (Ono *et al.*, 2007) を用いて、 λ red recombination システムにより 8 つの組合せで上記の 3 遺伝子を欠損させた複数遺伝子 KO BmGFP バクミドを作製した。作製した KO バクミドをカイコ卵巣由来培養細胞である BmN 細胞にトランスフェクションし、細胞内 EGFP 蛍光を蛍光顕微鏡で観察することで後後期遺伝子発現とウイルス増殖の有無を評価した。また、プラークアッセイにより、各ウイルスのプラークの大きさと EGFP 蛍光強度を蛍光顕微鏡を用いた画像解析により評価した。

3. 結果と考察

bm36, 37, 38 の 3 遺伝子を KO したバクミド (Δ *bm36-38*) をトランスフェクションした BmN 細胞では、EGFP 蛍光が 7 遺伝子を KO したもの (Δ *bm32-38*) と同程度に低くなった。そこで、この 3 遺伝子について全ての組合せで KO ウイルスを作製し、表現型を解析したところ、*bm36* 欠失を含むバクミドをトランスフェクションした細胞では全て蛍光強度が著しく低下した。この結果から、蛍光の著しい低下の主要原因遺伝子は *bm36* であると考えられた。また、*bm36* と *bm37* を同時に KO したウイルス (Δ *bm36-37*) は *bm36* の単独 KO ウイルス (Δ *bm36*) よりも強い蛍光が観察された。そこでさらに調査した結果、 Δ *bm36-37* は Δ *bm36* と比較しプラークの拡大速度と EGFP 蛍光強度が共に増加していることが確認された。これらの結果から、最も表現型に影響する単遺伝子 KO ウイルスである Δ *bm36* に *bm37* 欠失を加えることで表現型が回復した。このことから、*bm36-bm37* 間には genetic suppression interaction (Jolanda *et al.*, 2016) が存在することが判明した。

4. まとめ

本研究では BmNPV の非必須遺伝子 *bm36* と *bm37* を同時に KO することで、 Δ *bm36* よりプラークの拡大速度と EGFP 蛍光強度が共に増加すること、つまり *bm36-bm37* 間の genetic suppression interaction の存在を明らかにした。このような遺伝学的相互作用の同定はウイルス増殖機構の理解や、BmNPV ベクターの改良につながることで期待できる非必須遺伝子の機能の理解にも必要である。