

BmNPV における膜タンパク質 (GP64) のアミノ酸バリエーションが

増殖に与える影響

生物資源科学専攻 応用分子生物学講座 応用分子昆虫学 関口 真理

1. はじめに

ウイルスの膜タンパク質は BmNPV が宿主細胞に感染する際、細胞の吸着・侵入に重要な役割を担っている。出芽ウイルスの主要な膜タンパク質である GP64 は、宿主のレセプターとの結合や pH 依存性膜融合などのウイルス増殖に関わる過程に必須である (Blizzard and Wenz, 1992, Hefferon *et al.*, 1999)。本研究室で分離された BmNPV H4 株は、BmN 細胞では BmNPV の標準株 T3 株 (T3) よりウイルス増殖能が低い、一方、カイコ個体では H4 は T3 と比較して増殖がはやい。H4 と T3 の GP64 のアミノ酸配列を比較すると、6 アミノ酸が異なっている (酒井, 2012)。また、膜タンパク質の膜融合活性はウイルスの増殖に影響を及ぼすことが知られており (Li and Blissard, 2011)、本研究ではこれら 6 つのアミノ酸バリエーションと T3 と H4 の増殖の差異の関係、ウイルス増殖と膜融合活性の強さとの関係を解析した。

2. 方法

6 つのアミノ酸バリエーションを 1 つずつ H4 型に置換した変異体 T3GP64 をもつ T3 (T3-LucT3gp64_m1~m6) を作製し、BmN 細胞、カイコ個体での増殖の変化を測定した。また、これら変異体 T3GP64 (T3GP64_m1~m6) を発現するプラスミドを用いて BmN 細胞で膜融合活性試験を行った。

3. 結果と考察

膜融合活性試験では T3GP64 の fusion loop2 に接している Y172 をヒスチジンに置換した T3GP64_m4 が一番高い膜融合能を示し、次いで H4GP64 と T3GP64_m1 の膜融合活性が高く、次いで T3GP64, T3GP64_m3, m5, m6、膜融合能が一番低かったのは fusion loop1 上にある L99 をメチオニン置換した T3GP64_m2 であった。BmN 細胞では T3-LucT3gp64_m1~m6 はすべて H4 より低い増殖を示し、なかでも T3-LucT3gp64_m2 は T3 と比較して 11 分の 1 の増殖を示した。一方、カイコ個体では、注射後 120 時間において T3-LucT3gp64_m2 が H4 に次いで高い増殖を示し、カイコの死亡時間も H4 や T3 より早かった。膜融合能が上昇した T3-LucT3gp64_m4 は感染後 144 時間で感染がプラトーに達した他の変異体とは異なり、増殖が約 11 倍低く、カイコの生存時間も T3 や H4 と比較して 24 時間長かった。これらの結果から、fusion loop に位置するアミノ酸残基 (L99, Y172) がウイルス増殖に重要であると考えている。また、T3 ゲノムをバックグラウンドにもつ変異ウイルスの膜融合活性と増殖の関係を解析したところ、BmN 細胞では膜融合活性の強さはウイルスの増殖に影響を与えないが、カイコ個体では膜融合活性が低いものほどウイルス増殖が高くなる傾向が観察された。

4. まとめ

本研究では GP64 の膜融合活性はカイコ個体での増殖に負に働き、なかでも fusion loop に存在する L99, Y172 が T3 と H4 の増殖特性の違いに影響を与えているアミノ酸残基であることが明らかになった。さらに今後、GP64 のアミノ酸とウイルス増殖の関係を紐づけられる情報を収集することで、ウイルス増殖やトロピズムを人為的に設計できるツールの開発の可能性を探っていく。