

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 岩 永 将 司

バキュロウイルスは節足動物に特異的に感染するウイルスで、核内で増殖し、多角体または顆粒体と呼ばれる包埋体を多量に形成する。バキュロウイルスは、保存性に優れた包埋体に包含される包埋ウイルス (ODV) と、細胞間及び組織間の感染に必須の出芽ウイルス (BV) という二つの異なる機能形態をとり、迅速な感染を果たすことができる。同時に、バキュロウイルスのもつ130~180の遺伝子の中には宿主の細胞周期を制御する遺伝子や、宿主昆虫を死後に溶解する遺伝子など、宿主の発生等を種々のレベルで制御している遺伝子の存在が少しずつ明らかにされてきている。

本論文は、バキュロウイルスの一種であるカイコ核多角体病ウイルス (BmNPV) の宿主制御機構について、ウイルス感染が蛹化期の脂肪体崩壊を阻止するという新たに発見した現象を中心に解明を試みたもので、4章からなる。

第1章では、BmNPV感染によるカイコ脂肪体の崩壊の阻止現象について、蛹化前後のカイコにBmNPVを経時的に接種し、脂肪体の形態的な変化と分子レベルの変化を解析した。すなわち、蛹化後24時間までにBmNPVを接種した場合には、通常では蛹化後48時間で始まる脂肪体の崩壊が起こらず、蛹化後48時間に接種した場合には、蛹化後72時間に崩壊阻止が観察されたことから、脂肪体の崩壊阻止にはウイルス感染後少なくとも24時間を要するものと考えた。また、脂肪体の崩壊はゲノムDNAのラダー化を伴うが、ウイルスの感染はこのラダー化を阻止することも明らかにした。崩壊過程では脂肪体のタンパク質合成能は極めて低い状態になるが、ウイルスの感染によりこれが復活することをパルスラベルアッセイにより明らかにした。BmNPVは、アポトーシスの阻止因子である*p35*を持つことが知られているが、*p35*の欠損株 (Bmp35D) の感染によっても脂肪体の崩壊は起きたことから、ウイルス感染による脂肪体の崩壊阻止は複数の遺伝子が関与する複雑な機構に基づくことが示唆された。

第2章では、蛹化期脂肪体のprogrammed cell death機構の解析結果を述べている。まず、ウイルスに感染したカイコの脂肪体のcDNAライブラリーを作製し、ランダムDNAシーケンス解析から得られたEST (Expressed Sequence Tag) を構築した。得られたクローンの相同性検索の結果、蛹期脂肪体は遺伝子発現の4.5%を種々のプロテアーゼが占める状態にあり、これらが脂肪体崩壊の直接的要因になっていると考えられた。バキュロウイルスはこの様な状況で感染し、増殖するため脂肪体の崩壊を阻止するが、それに関わる宿主側因子は、ガン細胞で特異的に発現するprotein OS-9や、protein D53の相同遺伝子の発現が抑制され、抗バクテリア活性を持つヘモリンの相同遺伝子の発現は促進され

ていることを、differential display法及びcDNAサブトラクション法を用いて明らかにし、ウイルスによる宿主遺伝子の発現制御を確認した。

第3章では、62種類のBmNPVの遺伝子欠損株について調べ、*orf68*の欠損株（BmD68）が脂肪体崩壊阻止に著しい遅延をもたらすことを明らかにした。すなわち、二次感染に働くBmD68のBVの増殖は野生株に比べて著しく遅延し、これが脂肪体崩壊阻止の遅延に結びついたものと考えられた。また、*orf68*は感染12時間後より後期遺伝子発現モチーフから転写される典型的な後期遺伝子で、その転写産物のORF68は、entryやbuddingの能力の低下をもたらすBVのエンベロープタンパク質であり、BVのtegumentとしてキャプシドのbuddingや細胞質移行に関与していることを示した。

第4章では、BmNPV感染による培養細胞での宿主遺伝子発現制御について、サブトラクションを行った結果について述べている。すなわち、多様なクローンがバキュロウイルスの感染によって発現の制御を受けていることが判明し、中には、細胞周期に関わるCDK7や、哺乳類でのCTL（cytotoxic T lymphocyte）による細胞毒性を阻害するserpinなど、興味深いクローンが多数得られた。また、既知の遺伝子に相同性の認められないクローンも多数得られ、ウイルスが制御する宿主側の遺伝子発現が多岐に渡ることが推測された。

以上要するに、本研究は、カイコ核多角体病ウイルスの感染により脂肪体の崩壊が阻止される現象を、分子生物学的に解明しバキュロウイルスの多様な宿主制御機構の一面を明らかにしたものであり、学術上、応用上、有意義な知見を得ている。よって、審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。