

理化学研究所主任研究員

前田 進

「昆虫ウイルスと宿主との分子応答機構とその応用」

## 1. 研究の基本構想

昆虫は成長が早く、生活環が短い。これを宿主とするバキュロウイルスは腸管より侵入し、数日中にほとんどすべての細胞に感染増殖し、末期には全合成蛋白質の3割をウイルス特異的な蛋白質が占めるほどに急激に増殖する。昆虫を宿主とするバキュロウイルスは、2本鎖 DNA をゲノムとして持ち核内で非常に良く増殖する数少ないウイルスである。一般に、細胞内の複雑な生命現象は遺伝子発現レベルで極めてきびしくコントロールされており、細胞内では細胞と同じような（2本鎖 DNA）ウイルスゲノムが自らの遺伝子発現を行おうとすると、宿主によりウイルスゲノムの増殖が阻止されてしまったり、細胞が自殺（アポトーシス）して個体を守ることもある。バキュロウイルスの感染を分子レベルで調査したところ、細胞と対峙する種々の独特な分子機構がいくつか発見され、多くの未知の分子機構も明らかになりつつある。一方、バキュロウイルスは遺伝子発現のベクターとして分子生物学には必須のシステムであり AIDS に関する最初のワクチンのトライアルに用いられ、また、蚕とバキュロウイルスを用いて産生したインターフェロンは獣医薬として販売されている。さらに、欧米では、バキュロウイルスは組換え DNA 技術によりウイルス農薬として開発が進んでおり、我々の開発した昆虫特異的な神経毒の蛋白質遺伝子を導入したウイルスの野外試験が行なわれている。以上のような状況から、昆虫ウイルスと昆虫宿主を用いて今までは明らかにできなかった生命現象を分子レベルで解明することが可能となり、明らかにされた分子生物学的現象は、医学、農学、工学分野での応用面が期待される。

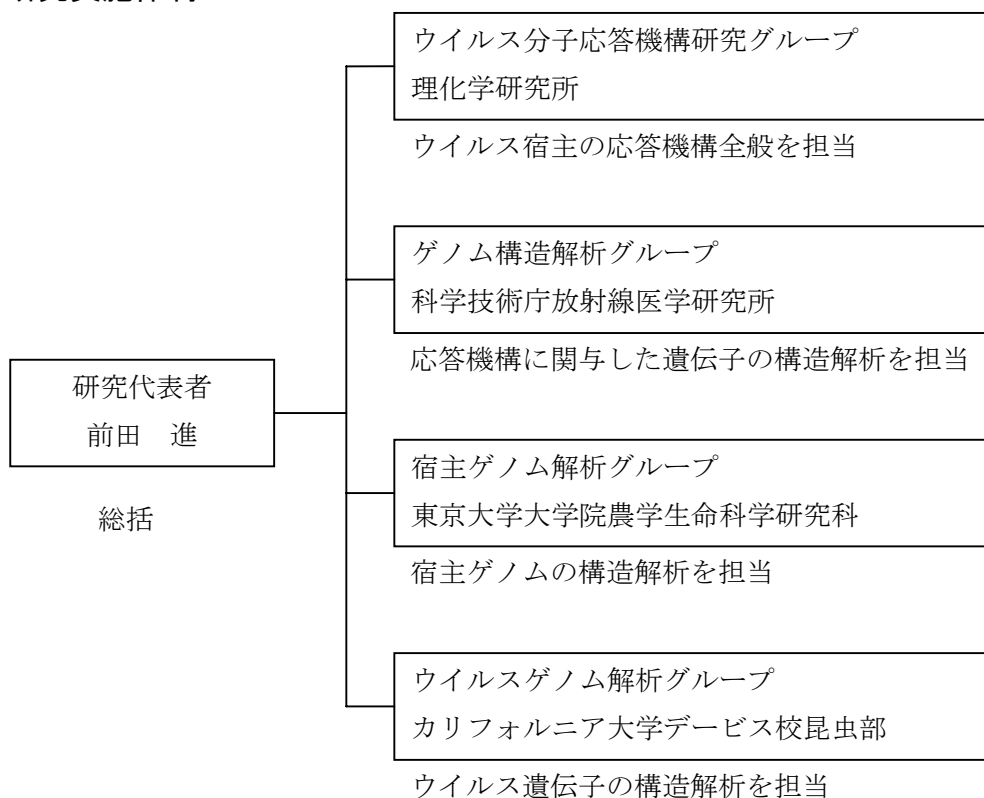
## 2. 課題の概要

研究は、主として以下のような項目のテーマを中心にして、共同研究を含めてプロジェクトを遂行した。遺伝子のシーケンスとゲノム解析（放射線医学研究所）、宿主のゲノム解析（東大大学院農学生命科学研究科）に関しては、それぞれの研究チームの特性を生かした共同研究によりプロジェクトを進め、また、理化学研究所内でも、いくつかの研究室との共同研究やサポートにより研究を遂行した。

バキュロウイルスのゲノムは、AcNPV では Possee らのグループや多くの研究者により、また、BmNPV では当グループにより、全塩基配列が決定された。合計、130 程度の遺伝子が同定され約 40 個に関しては機能が推定されている。その結果、バキュロウイルスは非常にユニークな遺伝子を持つことが示された。すなわち、アポトーシスを阻止したり、誘導したりする遺伝子をはじめ、個体の死後、体を溶かすパパイン様システインプロテアーゼ、キチナーゼ、エクジステロンホルモンを不活化して変態をコントロールするグルコシルトランスフェラーゼや、蛋白質キナーゼ、フォスファターゼなどの遺伝子を含んでいる。一方、ホモロジー検索では機能が推定できない遺伝子も数十あり、我々は LacZ の挿入による目的の遺伝子の欠損により機能を推定し、その結果、調べたうちの約半数の遺伝子は培養細胞での増殖に必須でないことが判明した。そこで、宿主との interaction の中で発現さ

れるバキュロウイルスの持つユニークな遺伝子を同定し、それら遺伝子の機能を生化学的、分子生物学的に解明する。またカイコとクワコのかげ合わせを用いて、昆虫宿主で働く広い意味での生態防御（擬態など）に関与している遺伝子を分離、同定を行い、分子生物学的解析を行う。

### 3. 研究実施体制



### 4. シンポジウム・ワークショップ等

「前田メモリアルシンポジウム」

場 所： 理化学研究所 鈴木梅太郎ホール

日 時： 平成 11 年 3 月 3 日～ 4 日

参加者： 111 名

## 5. 主な研究成果

1. Gomi S, Zhou CE, Yih W, Majima K, Maeda S. Deletion analysis of four of eighteen late gene expression factor gene homologues of the baculovirus, BmNPV. *Virology* 1997, 31; 230(1): 35-47
2. Zhou CE, Ko R, Maeda S. Polyhedron-like inclusion body formation by a mutant nucleopolyhedrovirus expressing the granulin gene from a granulovirus. *Virology* 1998, 20; 240(2): 282-294
3. Mikhailov VS, Mikhailova AL, Iwanaga M, Gomi S, Maeda S. Bombyx mori nucleopolyhedrovirus encodes a DNA-binding protein capable of destabilizing duplex DNA. *J Virol* 1998, (4): 3107-3116
4. Goto C, Hayakawa T and Maeda S. Genome organization of Xestia c-nigrum granulosis virus. *Virus Genes* (in press)
5. Morishima N, Okano K, Sibata T and Maeda S. Selective activity of the baculovirus p35 proteins on ICE-family proteases expressed in mammalian cells., *FEBS Letters* (in press)
6. Kang WK, Tristem M, Maeda S, Crook NE and O'Reilly DR. Identification and characterization of the Cydia pomonella granulovirus cathepsin and chitinase genes. *Journal of General Virology* (accepted)
7. Iwanaga M, Domae N, Takio K, Kawasaki H, Maeda S and Matsumoto S. Isolation and Characterization of Calmodulin in the Pheromone Gland of the Silkworm, Bombyx mori. *Comparative Biochemistry and Physiology* (accepted)
8. Okano K, Mikhailov VS, and Maeda S. Localization and association of baculovirus IE-1 and two single-stranded DNA binding proteins, DBP and LEF-3, during viral DNA replication. *J. Virol.* (submitted)
9. Imai N, Aly SE, Maeda S. Insecticidal effect of scorpion toxin LqhIT2 expressed by a baculovirus vector. *Biosci. Biotech. Biochem.* (submitted)
10. Kamita SG, Maeda S. Sequencing of the putative DNA helicase-encoding gene of the Bombyx mori nuclear polyhedrosis virus and fine-mapping of a region involved in host range expansion. *Gene* 1997, 190(1): 173-179
11. 森島信裕、岡野和広、前田 進。NPVp35 のほ乳類細胞におけるアポトーシス阻害活性。(第 67 回蚕糸学会 1997 年 4 月、東京)
12. 今井典子、Somaia Aly、岩淵喜久男、前田進。サソリ毒 LqhIT2 遺伝子を導入した NPV の殺虫効果。第 67 回蚕糸学会 1997 年 4 月、東京)
13. Maeda, S. et al. Sequencing Analysis of a 20 kbp Fragment of Xestia c-nigrum Granulovirus. *American Society for virology 16TH Annual Meeting, Montana, USA* 1997 年 7 月
14. Kang, WK et al. Study of Baculovirus protein-protein interactions using the yeast two-hybrid system. *American Society for virology 16TH Annual Meeting, Montana, USA* 1997 年 7 月
15. Ko, R. et al. Polyhedron-like Inclusion body Formation by a Mutant Nuclear Polyhedrosis. Virus Expressing the Granulin Gene from a Granulosis virus. *American Society for virology 16TH Annual Meeting, Montana, USA* 1997 年 7 月
16. Imai, N. et al. Insecticidal Effects of Scorpion Toxin LqhiT2 Expressed by a Baculovirus Vector. *American Society for virology 16TH Annual Meeting, Montana, USA* 1997 年
17. 姜媛瓊、今井典子、前田 進。酵母の 2-ハイブリッド法を用いた宿主とバキュロウイルス遺伝子産物間の相互作用の解析。(第 20 回日本分子生物学会 1997 年 12 月、京都)

18. 森島信裕、岡野和広、前田 進。バキュロウイルス p35 ホモログ間におけるカスパーゼ阻害活性の比較。(第 20 回日本分子生物学会 1997 年 12 月、京都)
19. 三田和英 他 分裂酵母 *S.pombe* リボソームタンパク質遺伝子のリストアップ (第 20 回日本分子生物学会 1997 年 12 月、京都)
20. 姜媛瓊、前田 進、D.R. O'Reilly。コドリング顆粒病ウイルスのカテプシンとキチナーゼ遺伝子の解析。(第 68 回蚕糸学会 1998 年 4 月、名古屋)
21. 早川 徹、黄琳恵、前田 進。シロモンヤガ顆粒病ウイルス (XcGV) のゲノム構造の解析。(第 68 回蚕糸学会 1998 年 4 月、名古屋)
22. 岡野和広、前田 進、島田 透、三田和英。カイコ cDNA 解析による EST データベースの構築。(第 68 回蚕糸学会 1998 年 4 月、名古屋)
23. Kang, WK et al. Identification and Characterization of the *Cydia pomonella* Granulovirus Cathepsin and Chitinase Genes. American Society for Virology 17TH Annual Meeting, (University of British Columbia, Canada) 1998 年 7 月発表予定
24. Ko, R. et al. Identification and Characterization of an *Xestia C-nigrum* Granulovirus-Gene Potentially Encoding Matrix Metalloproteinase. American Society for Virology 17TH Annual Meeting, (University of British Columbia, Canada) 1998 年 7 月発表予定
25. Mikhailov, V.S. et al. *Bombyx Mori* Nucleopolyhedrovirus Encodes a DNA-Binding Protein Capable of Unwinding Duplex DNA. American Society for Virology 17TH Annual Meeting, (University of British Columbia, Canada) 1998 年 7 月発表予定
26. Ko, R. et al. Sequence analysis of *Xestia C-nigrum* Granulovirus., American Society for Virology 17TH Annual Meeting, (University of British Columbia, Canada) 1998 年 7 月発表予定
27. Mita K., Morimyo M., Okano K., Maeda S., Shimada T. cDNA CATALOG OF BOMBYX MORI. VI European Congress of Entomology (チェコ) 1998 年 8 月発表予定
28. Maeda S, Okano K, Shimada T and Mita K. Construction of a cDNA sequence database of the major organs of the silkworm, *Bombyx mori*. Third International Symposium on Molecular Insect Science (Snowbird, Utah, USA) 1998 年 7 月発表予定
29. Imai N, Lotan A, Maeda S. Evaluation of the insecticidal activity of recombinant BmNPVs expressing mutated AaIT. VIIth International Colloquium on Invertebrate Pathology and Microbial Control (Sapporo, Hokkaido, Japan) 1998 年 8 月発表予定
30. Shimada, T. et al. Absence of dosage compensation at the transcription level of a sex-linked gene in a female heterogametic insect, *Bombyx mori*. *Heredity* (in press). 1998 年投稿済