

研究種目： 基盤研究(A)

研究期間： 2007 ~ 2010

課題番号： 19208006

研究課題名 (和文) 昆虫における抗ウイルス応答の分子機構解析

研究課題名 (英文) Analysis of molecular mechanisms underlying anti-viral responses in insects

研究代表者

小林 迪弘 (Kobayashi Michihiro)

名古屋大学・大学院生命農学研究科・教授

研究者番号： 60111837

研究分野： 農学

科研費の分科・細目： 農学 ・ 応用昆虫学

キーワード： 昆虫、バキュロウイルス、核多角体病ウイルス、抗ウイルス応答、アポトーシス、
全たんぱく質合成停止

1. 研究計画の概要

本研究は、ウイルス感染に伴って昆虫が発動する抗ウイルス応答の分子機構を、昆虫に特異的な核多角体病ウイルス (NPV) と昆虫の培養細胞を用いて解明することを目的として行うものであり、下記の4本の小課題を掲げて研究を推進している。

- (1) NPV 感染細胞におけるアポトーシスの誘導と抑制に関する分子機構の解析
- (2) *hycu-ep32* 遺伝子による全たんぱく質合成停止の分子機構の解析
- (3) HRF-1 による全たんぱく質合成停止回避の分子機構解析
- (4) アポトーシスと全たんぱく質合成停止機構の包括的理解のための解析

2. 研究の進捗状況

(1) これまでの研究により、マイマイガの Ld652Y 細胞は様々な昆虫から分離した核多角体病ウイルス (NPV) の感染により、容易にアポトーシスを誘導するが、マイマイガから分離した NPV (LdNPV) はアポトーシスを誘導せず、正常に増殖することを明らかにした。本研究では、LdNPV がコードするアポトーシス阻害遺伝子 *ld109* を同定し、その発現解析や機能解析などを行っている。

(2) これまでの研究により、カイコの BM-N 細胞に、アメリカシロヒトリから分離した HycuNPV を感染させると、BM-N 細胞は全たんぱく質合成停止を誘起することを明らかにした。本研究では、HycuNPV 感染 BM-N

細胞で RNA が急激に分解することを見出し、HycuNPV 感染による全たんぱく質合成停止は感染細胞 RNA の分解に起因することを明らかにした。この RNA 分解は、他のいくつかの NPV 感染でも起こるが、BM-N 以外のいくつかの細胞では起こらないことを示し、BM-N 細胞に特異的であることを明らかにした。現在、RNA 分解に関与する RNase の探索を行っている。

(3) これまでの研究により、HycuNPV ゲノムがコードする3種の IAP (inhibitor of apoptosis) のうち、IAP3 はアポトーシス阻害活性を、IAP1 はアポトーシス誘導活性をもつことを明らかにした。本研究では、これらの IAP のドメイン解析を行い、アポトーシスの阻害と誘導に関与するいくつかのドメインを特定した。

(4) 従来から、NPV 感染によりチョウ目昆虫細胞が誘導するアポトーシスに関与するウイルスと細胞の因子の同定と機能解析を行っている。本研究では、initiator caspase DRONC と DREDD の相同体をカイコで同定し、機能解析を行っている。また、抗体作製など、機能解析を効果的に進めるためのいくつかの準備も行っている。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している
(理由)

上記の小課題(4)は課題の性格上やや遅れ気味であるが、小課題(1)-(3)はいずれもおお

むね順調に進展している。

4. 今後の研究の推進方策

小課題(4)に若干の力点をおきつつ、従来通り、研究提案書の計画に沿って、研究を推進していく。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 8 件) : いずれも査読有

① Katou, Y., Yamada, H., Ikeda, M., Kobayashi, M. (2010) A single amino acid substitution modulates low-pH-triggered membrane fusion of GP64 protein in *Autographa californica* and *Bombyx mori* nucleopolyhedroviruses. *Virology* in press.

② Shirata, N., Ikeda, M., Kobayashi, M. (2010) Identification of a *Hyphantria cunea* nucleopolyhedrovirus (NPV) gene that is involved in global protein synthesis shutdown and restricted *Bombyx mori* NPV multiplication in a *B. mori* cell line. *Virology* 398, 149-157.

③ Nakanishi, T., Goto, C., Kobayashi, M., Kang, W., Suzuki, T., Dohmae, N., Matsumoto, S., Shimada, T., Katsuma, S. (2010) Comparative studies of a lepidopteran baculovirus-specific protein FP25K: Development of a novel BmNPV-based vector with a modified *fp25K*. *J. Virol.* 84, 5191-5200.

④ Ogembo, J.G., Caoili, B.L., Shikata, M., Chaeychomsri, S., Kobayashi, M. Ikeda, M. (2009) Comparative genomic sequence analysis of novel *Helicoverpa armigera* nucleopolyhedrovirus (NPV) isolated from

Kenya and three other previously sequenced *Helicoverpa* spp. NPVs. *Virus Genes*, 39, 261-272.

⑤ Felipe Alves, C.A., Ishikawa, H., Ikeda, M., Kobayashi, M. (2009) *hycu-hr6*, a large homologous region of the *Hyphantria cunea* nucleopolyhedrovirus, as a powerful and versatile enhancer in insect expression systems. *Virus Genes*, 39, 403-406.

[学会発表] (計 27 件)

① 伊藤勇弥・光武宏・小林淳・池田素子・小林迪弘 (2010) 核多角体病ウイルス感染に伴う BM-N. 細胞の RNA 分解. 日本蚕糸学会第 80 回大会. 4 月 3・4 日. 上田.

② 伊藤弘行・小林迪弘・池田素子 (2010) アメリカシロヒトリ核多角体病ウイルス IAP のドメイン解析. 日本蚕糸学会第 80 回大会. 4 月 3・4 日. 上田.

③ 山田早人・池田素子・小林迪弘 (2010) LdMNPV がコードするアポトーシス阻害遺伝子 *Id109* の解析. 日本蚕糸学会第 80 回大会. 4 月 3・4 日. 上田.

④ 牛山敬義・菅沼育恵・池田素子・小林迪弘 (2009) カイコ由来 caspase Bm-DRONC の性状解析. 日本蚕糸学会第 79 回大会. 3 月 21・22 日. 府中.

⑤ 山田早人・池田素子・小林迪弘 (2009) マイマイガ核多角体病ウイルスが持つアポトーシス阻害遺伝子の同定. 日本蚕糸学会第 79 回大会. 3 月 21・22 日. 府中.