

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 30 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24658047

研究課題名(和文) ウイルスはいかにして宿主の行動を制御するのか：バキュロウイルスを用いたアプローチ

研究課題名(英文) How does a baculovirus manipulate behavior of the host insect?

研究代表者

勝間 進 (Katsuma, Susumu)

東京大学・農学生命科学研究科・准教授

研究者番号：20378863

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：変異ウイルスライブラリーを用いた行動スクリーニングから、新たな行動関連遺伝子arif-1を同定した。この遺伝子に変異をもつBmNPVは、ほとんど徘徊行動を起こさない。arif-1欠損ウイルスは培養細胞では顕著な表現型を示さないが、感染カイコにおいては全身感染が起こりにくく中枢への感染が遅れることで、徘徊行動が低下することが明らかになった。一方、ウイルス感染脳を用いたRNA-seqにより、徘徊行動時に発現が変動する宿主遺伝子を数10個同定することに成功している。現在、それらの機能解析をするために、遺伝子組換えウイルスの作成を行っているところである。

研究成果の概要(英文)：By screening *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus mutants, we identified a gene, arif-1, that is required for virus-induced abnormal behavior. The arif-1 mutants did not show any phenotypic abnormalities in cultured cells, but exhibited a strikingly low virus growth in *B. mori* larvae. We also performed RNA-seq experiments using brain mRNA from healthy and virus-infected silkworms and identified more than 10 host genes of which expression was altered by virus infection. Functional analyses of these host genes are now in progress.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：応用昆虫学

キーワード：バキュロウイルス 行動 カイコ ptp

## 1. 研究開始当初の背景

昆虫病理学の分野では、「*Wipfelkrankheit* (梢頭病)」と呼ばれる病気が100年以上前から知られている。これは、昆虫ウイルスの一種であるバキュロウイルスに罹患したチョウ目昆虫の幼虫が木の枝の先でぶら下がって致死する病気である。バキュロウイルスは、その感染末期に宿主の行動を活発にし、寄主植物の上方に移動させ、その場で致死させる。その結果、鳥などへの補食や風雨による死体からのウイルスの飛散が促進され、次代が広範囲に伝播する。つまり、ウイルスの利己的な行動制御であると考えられている。申請者のグループは、カイコとそのバキュロウイルスを用いて、ウイルスの脱リン酸化酵素遺伝子(*ptp*)が行動制御に関わることを報告している(Kamita et al., 2005, *PNAS*)。また、最近の研究結果からは、このPTPタンパク質は酵素としてではなくウイルスの病原性を高めるために必要なウイルス粒子の構造タンパク質であり、宿主脳への感染に必須であるという驚くべき結果を得ている(Katsuma et al., 2012, *PLoS Pathog.*)。一方、遺伝子欠損ウイルスのスクリーニングから新たな行動制御遺伝子ローカスとして *Bm8* (Katsuma et al., 2012, *J. Virol.*) を同定している。この遺伝子を欠損すると、野生型ウイルスと異なる組織トロピズムを示すことで早期致死となり、その結果として徘徊行動が起こらないものと考えられた。また、マイマイガ核多角体病ウイルスの研究から、エクダイソンUDPグルコース転移酵素遺伝子(*egt*)が第二のウイルス側の行動制御因子として報告された(Hoover et al., *Science*, 2011)。しかしながら現時点では、ウイルス側の知見のみであり、宿主側からのアプローチが必須であると考えられる。そこで本申請では、分子ウイルス学とトランスクリプトーム、および電気生理実験技術を組み合わせ、ウイルス・宿主両面からウイルスの行動制御に迫る研究を実施する。

## 2. 研究の目的

ウイルス感染によって、動物の行動が変化する例はよく知られている。昆虫においても、バキュロウイルスに感染したチョウ目昆虫の幼虫が木の枝の先でぶら下がって致死することが知られており、「*Wipfelkrankheit* (梢頭病)」と呼ばれている。この現象は、ウイルスが宿主を寄主植物の上方に移動させ、そこで致死させることにより、自身の伝播範囲を広げる利己的な行動制御であると考えられてきた。しかしながら、*Wipfelkrankheit* がどのような分子メカニズムで引き起こされるのか、また、この現象にどのようなウイルス因子、および宿主因子が関わっているのか、についてはほとんど知見がない状態である。本申請課題は、分子ウイルス学、トランスクリプトーム、および電気生理実験技術を結集して、ウイルス・宿主の両サイドからウイルス

の行動制御に迫る研究である。

## 3. 研究の方法

### (1) 行動変異ウイルスの網羅的解析

マーカー遺伝子挿入ウイルス、および点変異ウイルスライブラリーから行動変異ウイルスを網羅的に単離し、原因遺伝子の同定、および表現型解析を行う。特に脳におけるウイルスの増殖と行動との関係を明らかにする。

### (2) ウイルス感染時の脳でのロコモーションパターンの計測

バキュロウイルス感染時の脳や中枢神経系での神経活動を明らかにするために、電気生理学実験によって野生型と行動変異ウイルス感染時のロコモーションパターンの差異を調査する。また、非感染時のワンダリング期との比較を行うことにより、ウイルス感染時との相違点、類似点を検討する。

### (3) ウイルス感染時の脳におけるトランスクリプトーム解析

バキュロウイルス感染時の脳におけるトランスクリプトーム解析を次世代シーケンサーを用いて行う。野生型、および行動変異ウイルス感染脳、および非感染時の脳を比較することで、行動異常に神経ペプチドや生体アミン合成系に関わる遺伝子などが関与しているかを検討する。

## 4. 研究成果

変異ウイルスライブラリーを用いた行動スクリーニングから、新たな行動関連遺伝子 *arif-1* を同定した。この遺伝子に変異をもつ *BmNPV* は、ほとんど徘徊行動を起こさない。*arif-1* 欠損ウイルスは培養細胞では顕著な表現型を示さないが、感染カイコにおいては全身感染が起こりにくく中枢への感染が遅れることで、徘徊行動が低下することが明らかになった。

一方、電気生理実験により、*BmNPV* 感染時の神経活動のモニターを試みたが、現時点では安定したアッセイ系の構築に結びついていない。今後、更なる系の改良に努め、ウイルス感染時の神経活動をモニターできるようにする予定である。

ウイルス感染脳を用いたRNA-seqにより、徘徊行動時に発現が変動する宿主遺伝子を数十個同定することに成功している。現在、それらの機能解析をするために、遺伝子組換えウイルスの作成を行っているところである。

## 5. 主な発表論文等

(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 3件)

1. Hori T, Kiuchi T, Shimada T, Nagata M, and Katsuma S., Silkworm plasmatocytes

are more resistant than other hemocyte morphotypes to Bombyx mori nucleopolyhedrovirus infection. Journal of Invertebrate Pathology, 査読あり, 2013, 112, 102-104.  
doi: 10.1016/j.jip.2012.09.004

2. Tsuchida A, Ishihara G, Shimada T, and Katsuma S., Dimerization and proper degradation of Bombyx mori nucleopolyhedrovirus IE2 are required for efficient virus growth in B. mori larvae. Applied Entomology and Zoology, 査読あり, 2013, 48, 125-130.  
doi: 10.1007/s13355-012-0159-x
3. Ishihara G, Shimada T, and Katsuma S., Functional characterization of Bombyx mori nucleopolyhedrovirus CG30 protein. Virus Research, 査読あり, 2013, 174, 52-59.  
doi: 10.1016/j.virusres.2013.02.014

[学会発表] (計 8 件)

1. 國生龍平, 嶋田透, 勝間進, *arif-1*: 新たな徘徊行動関連遺伝子, 第 74 回昆虫病理研究会, 2013 年 9 月 24 日、東京大学農学部
2. 勝間進, ウイルスはいかにして宿主の行動を制御するのか:バキュロウイルスを用いたアプローチ, 第 57 回日本応用動物昆虫学会大会 (小集会 W15 「昆虫を操る微生物の生存戦略」), 2013 年 3 月 29 日, 日本大学生物資源科学部
3. 國生龍平, 木内隆史, 河岡慎平, 川本宗孝, 鈴木 穰, 菅野純夫, 嶋田透, 勝間進, バキュロウイルスの宿主行動操作に關与する宿主遺伝子の探索, 日本蚕糸学会第 83 回大会, 2013 年 3 月 18 日-19 日, 農林水産技術会議事務局筑波事務所本館
4. 國生龍平, 嶋田透, 勝間進, バキュロウイルスの宿主行動制御戦略, 第 10 回昆虫病理研究会シンポジウム:シンポジウム(2) 昆虫ウイルス研究の最前線, 帯広畜産大学 大講義室, 2012 年 9 月 21 日~23 日
5. Ryuhei Kokusho, Toru Shimada, Susumu Katsuma, Role of the polyhedrin promoter in enhanced locomotory activity induced by baculovirus, XXIV International Congress of Entomology, The EXCO-Daegu Convention Center, Daegu, Korea, August 19-24, 2012

6. Susumu Katsuma, Yasue Koyano, WonKyung Kang, Ryuhei Kokusho, Shizuo George Kamita, Toru Shimada, The baculovirus uses a stolen host phosphatase to induce enhanced locomotory activity in host caterpillars, XXIV International Congress of Entomology, The EXCO-Daegu Convention Center, Daegu, Korea, August 19-24, 2012

7. 國生龍平, 嶋田透, 勝間進, バキュロウイルスが引き起こす宿主昆虫の徘徊行動におけるポリヘドリン遺伝子の役割, 第 12 回東京大学生命科学シンポジウム, 2012 年 6 月 30 日, 東京大学本郷キャンパス
8. Ryuhei Kokusho, Toru Shimada, Susumu Katsuma, Role of the polyhedrin locus in enhanced locomotory activity induced by baculovirus, 第 3 回アジア-太平洋 蚕糸・昆虫バイオテクノロジー会議, 2012 年 4 月 7 日~8 日, 西南大学家蚕基因組生物学国家重点実験室

[図書] (計 1 件)

勝間進, 講談社, 最新昆虫病理学, 2014, 第 6 章ウイルス病 (117-126)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

○取得状況 (計 0 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年月日:  
国内外の別:

[その他]

ホームページ等

<http://papilio.ab.a.u-tokyo.ac.jp/igb/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

勝間進 (KATSUMA, Susumu)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・准

教授

研究者番号：20378863

(2)研究分担者 ( )

研究者番号：

(3)連携研究者 ( )

研究者番号：