

STUDY ON THE IMPROVEMENT OF BACULOVIRUS EXPRESSION VECTOR SYSTEMS USING LEPIDOPTERAN INSECTS AND CELLS

徐, 剣

<https://hdl.handle.net/2324/1441295>

出版情報：九州大学, 2013, 博士（農学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（2）



氏 名： 徐 劍

論文題名： STUDY ON THE IMPROVEMENT OF BACULOVIRUS EXPRESSION VECTOR SYSTEMS USING
LEPIDOPTERAN INSECTS AND CELLS

(鱗翅目昆虫及び培養細胞におけるバキュロウイルスタンパク質発現系の向上に関する研究)

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文は、高等真核生物由来のタンパク質の生産において最も優れた手法の1つとして知られているバキュロウイルス発現系の生産効率の改良と組換えタンパク質発現に関わる宿主因子の機能解析を目的に、九州大学保存カイコ系統のタンパク質高産生性を指標とした選抜とその原因遺伝子および関連遺伝子の解析を行ったものである。

九州大学保存の448系統の中には、従来、カイコには感染できないと言われていたAcMNPVの感染・増殖を許容する9系統が存在していた。これらの系統を用いた遺伝解析の結果、カイコのAcMNPV感受性は第3連関群に座上する1つの主要原因遺伝子に支配されていることを明らかにした。また、SNPマーカーを指標としたポジショナルクローニングにより、第3連関群上の250 kbpの領域に存在する8遺伝子を候補遺伝子として同定した。

これらの候補遺伝子を含めて、組換えタンパク質発現に関わる宿主因子の機能を解析するためには、AcMNPVとBmNPVそれぞれに高感受性を示し、かつ容易に遺伝子機能阻害を誘導できる細胞が必要となったことから、*Caenorhabditis elegans* のdsRNA受容体遺伝子 systemic RNAi defective-1 (SID-1)を導入したAcMNPV高感受性細胞 S9-SID1 と BmNPV 高感受性細胞 Bme21-SID1 細胞を樹立した。これらの細胞では、細胞培養培地に dsRNA を添加するだけで高効率に遺伝子ノックダウン (soaking RNAi) を誘導可能であることから、昆虫型と哺乳類型の N 結合糖鎖経路の分岐点に位置する GalNAc 分解酵素 β -N-acetylglucosaminidase (FDL) を機能阻害した。その結果、この操作により昆虫型糖鎖経路の改変が生じ、哺乳類型に近い N 結合糖鎖が付加されていることを明らかにした。このことは、これらの新規樹立細胞を用いれば、容易にバキュロウイルス発現系で生産する糖タンパク質の糖鎖構造の改変が可能であることを示している。次いで、ウイルス感染により発現量が変動する宿主遺伝子、*S. frugiperda* arginine kinase (*SfAK*) や *B. mori* cellular inhibitor of apoptosis 1 (*BmIAP1*) の機能阻害を行い、これらの遺伝子がウイルス DNA の複製に大きな影響を与えていることを明らかにした。同時に SID1 導入細胞は、dsRNA のみならず、dsDNA を取込む能力も有していることを初めて報告した。

以上要するに、本論文は、カイコ系統の中には AcMNPV と BmNPV の両ウイルスを用いてタンパク質生産が可能な系統が存在すること、その原因遺伝子がカイコ第3連関群上にあること、また、線虫 SID-1 導入細胞はバキュロウイルスタンパク質発現系の質的な改変やウイルス関連宿主遺伝子の同定、機能解析に非常に有用であることを示したものであって、蚕学、特に昆虫を用いた有用物質生産システムの改変とその基盤となる分子機構の理解に寄与する優れた業績である。よって、本論文は博士（農学）の学位に値すると認める。