

教室紹介

北海道大学大学院農学研究院 応用分子昆虫学

佐藤 昌直

〒060-8589

北海道札幌市北区北9条西9丁目

TEL: 011-706-2402

E-mail: satox@abs.agr.hokudai.ac.jp

はじめに

本誌を読まれる方々には「応用分子昆虫学」とウイルス研究がどう結びつくのか直感的にはイメージしにくいかもしれませんが、加えて（残念な事実ですが）、ウイルス学全般から見ると昆虫ウイルス学研究は少数派であります。そこで知られざる少数派研究室の魅力に紙面を割いて当研究室を紹介させていただければと思います。また、本稿を執筆させていただいている私は実は現職着任後まだ半年しか当研究室で過ごしておりません。まだ外部の視点で、と言うと研究室のメンバーに怒られてしまいそうですが、外から見た当研究室、中からしか見えない当研究室の両面から紹介させていただきたいと思います。

応用分子昆虫学講座なる当研究室は微生物による昆虫制御や利用に関する基礎・応用研究を進めています。地球が「虫の惑星」とも言われるほど、昆虫は様々な環境に適応しており、知られている生物種の半分以上は昆虫が占めています。人類が生活する上で地球上にこれだけ存在する昆虫との接点は避けがたく、農学において必然的に必要となる学問分野です。研究室は伴戸久徳教授、浅野眞一郎准教授、助教の私の3名の教員と大学院生8名、学部学生9名で現在構成されており、伴戸教授・私のウイルス研究グループと浅野准教授のBt (*Bacillus thuringiensis*) 研究グループが共同で研究、運営を行っています。今回はウイルス学会誌の教室紹介ということでBt研究グループの研究内容には触れませんが、Bt研究グループもウイルスを遺伝子発現系として用いており、ウイルスは研究対象、ツールとして研究室全体で広く扱われています。

研究室の沿革を辿ってみると、北海道大学が古くは東北帝国大学農科大学であった頃から当研究室は「動物学・昆虫学・養蚕学第三講座」として開設されており、1953年に蚕学講座、1992年に応用分子昆虫学講座と改称され、現在に至っています。沿革から見ると、当研究室はウイルスを研究している講座には見えません。さらに、講座に入ってみても研究室の歴史が示す通り、蚕の飼育が蚕を宿主とした研究と並んで研究室の中核にあります。年間行事にも「掃立て」「上蔭」という蚕飼育の始まりと終わりの節目が



図1. 研究室集合写真。定期夏期セミナーにて。前列右端が伴戸教授、後列中央の坊主頭が私。

あり、一年の「豊作」祈願と蚕を1シーズン飼育終わったお祝いは研究室構成員の参加必須行事となっています。とは言っても、実際の蚕の飼育は北方生物圏フィールド科学センター生物生産研究農場付帯施設（養蚕室）との密な共同体制で行われており、研究室構成員が蚕のルーティンな飼育をすることはありません。施設の方に研究に必要な蚕個体を供給していただける体制が当研究室の強力な下支えになっており、動物個体を用いた研究そして教育を幅広く展開できる基盤となっています。また、ウイルス接種実験に用いる蚕の飼育コストは一頭あたり数十円と安価で、養



図2. 孵化した蚕幼虫の飼育を餌である桑の葉で始める「掃立て」の様子。夕方は1年の飼育の無事（養蚕室でウイルス感染が蔓延しないこと？）を祈り、飲み会へと突入する。

蚕室のサポートと相まって、実験者一人に対し年間数百頭単位で実験動物を使用可能な点も蚕を使ったウイルス学の魅力です。

ら見ると非常にコンパクトなゲノム、遺伝子構成を持つウイルスです。バキュロウイルスが、ある種類の培養細胞での感染とは言え、これほどの割合で非必須遺伝子を持っていることは驚きでした。この観察から立てられた仮説は「BmNPV は遺伝子の変異や宿主・環境からの遺伝子発現阻害など1 遺伝子が機能を失うだけでは感染サイクルに大きな支障を示さない『ロバスト』な遺伝子制御ネットワークを持っている」ことでした。この仮説は博士課程の高ひとみさんによる、隣接する非必須遺伝子を複数まとめてノックアウトする実験によって支持される結果となり、非必須遺伝子は複数遺伝子の組み合わせでウイルス増殖に必要な機能を担っていることが明らかになりました。現在、BmNPV の非必須遺伝子がどのようにして増殖に必要な役割を担っているかについて高さんが精力的に解析を進めています。

二本目の柱としては我々の研究室が独自に単離したBmNPV の解析があります。蚕を飼育する現場でのBmNPV 感染の蔓延は養蚕業では忌み嫌われる現象ですが、北大の養蚕室で蚕個体と培養細胞で興味深い表現型を示す新たな株が得られています。BmNPV の標準株であるT3 株と北大株とのキメラウイルスを構築して解析を進めたところ、(詳細を記述できず申し訳ありませんが) T3 株と北大株の表現型の違いについての原因遺伝子が同定されており、手応えとしてはこの分離株から面白い現象、遺伝子をまだまだ掘り起こせそうです。このT3 株、北大株間のキメラウイルス構築を大規模に展開するために、DNA 断片連結技術を使ってBmNPV ゲノムを合成する研究もこの数年、研究室の中心となっている研究です。

ウイルスゲノムをDNA 断片から合成したいという考えは元々、ウイルス遺伝子制御ネットワークを明らかにするための研究として発案されました。当研究室ではAcMNPV が感染の初めに発現する5つの極初期遺伝子が構成する遺伝子制御ネットワークについて報告していますが(Ono *et al.*, 2015, *PLOS ONE*)、BmNPV についてはウイルス増殖過程を網羅するような大きな遺伝子制御ネットワークを明らかにしたいと考えています。ただし、非必須遺伝子について前述した通り、1 遺伝子ノックアウトの影響が他のウイルス遺伝子によって補償される制御機構をこのウイルス遺伝子制御ネットワークは持つ。そのため、ある1 遺伝子をノックアウトして解析するという従来の遺伝学的アプローチからの転換を進めています。その一つのアプローチが、野生型ウイルスゲノムから遺伝子をノックアウト(引き算)するのではなく、ベースとなる、あるウイルスゲノムに相互作用のあるウイルス遺伝子セットを逐次挿入して、解析する「足し算」のアプローチです。例えば、我々のこれまでの研究ではorf12 と orf13 という遺伝子ベ

アの間にはウイルス増殖について補償作用があることを示しています(Taka *et al.* 2013 *JIBS*)。orf12, orf13 の両方をノックアウトしたウイルスは増殖能が極端に低下しますが、それら遺伝子の片方のノックアウトウイルスは野生型ウイルスとほぼ同程度の増殖能を持っています。このケースでは解析のベースとなるウイルスゲノムはorf12/orf13 二重ノックアウトウイルスゲノムで、このゲノムにorf12 のみを戻した場合(orf13 ノックアウトウイルス)にはorf12 単独の機能が復帰し、orf13 のみを戻したorf12 ノックアウトウイルスではorf13 単独の機能が復帰します。両方の遺伝子を戻した場合にはorf12, orf13 単独の機能だけではなく、両者の相互作用も復帰します。このような実験デザインと統計モデルを組み合わせることにより、各遺伝子単独の機能と相互作用がそれぞれどのような性質・役割を持っているかを定量的に解析し、補償効果を持つ相互作用を明らかにしています。説明が長くなってしまいましたが、このような遺伝子間の相互作用の集合体としてウイルス遺伝子制御ネットワーク、そしてその情報をコードするウイルスゲノムを眺めた場合、引き算の解析で攻めるのはどう考えても、うまく行きそうにありません。そこで我々はウイルス遺伝子をコードするDNA 断片を足し算していくことにより、つまりDNA 断片連結技術を使ってウイルスゲノムを再構築していくアプローチで研究を計画しています。このアプローチで重要なもう一つのピースはウイルス遺伝子を足し算していくベースとなるBmNPV の“ミニマムゲノム”ですが、それは残念ながらまだわかっていません。現在、遺伝学的解析、オミックス解析、進化的解析など様々な角度からミニマムゲノムについて鋭意解析中です(我々のこのようなバキュロウイルス研究に取り組みたい学生・ポスドク、共同研究者を絶賛募集中です)。

おわりに

以上、紙面が許す範囲で当研究室の紹介をさせていただきました。余談ではありますが、伴戸教授がバキュロウイルスを当研究室での研究対象に選んだのは「ゲノム上にヌクレオソームが構成されるし、このウイルスでの発見が分子生物学に広く適応できると思った」からと伺っております。生命システムという高次の研究対象を扱うようになった現代分子生物学へウイルス研究から新たな“ドグマ”を発信するべく、当研究室ではバキュロウイルス遺伝子制御ネットワークをモデルに研究に邁進しております。雑多な教室紹介となってしまいましたが、当研究室の特色や研究の魅力を皆さんにお伝えできていれば幸いです。最後に、この教室紹介執筆の機会を下さりました渡邊雄一郎先生(東京大学)、原稿を担当してくださりました佐々木博樹様(日本ウイルス学会事務局)に厚く御礼申し上げます。

