

2. バキュロウイルスの宿主制御遺伝子

勝 間 進

東京大学大学院農学生命科学研究科 昆虫遺伝研究室

昆虫ウイルスの一種であるバキュロウイルスは大型の DNA ウィルスであり、80-180 kbp の環状 2 本鎖 DNA をゲノムとして持つ。古くから微生物農薬として利用されてきたが、1980 年代半ばからその強力なポリヘドリンプロモーターを利用した外来タンパク質発現系（バキュロウイルスベクター）としても広く用いられるようになった。一方、このような産業的な研究と平行して、全ゲノム解読、および個々の遺伝子の機能解析が、様々なバキュロウイルスにおいて急速に進められた。その結果、バキュロウイルスは自身の増殖、複製に必須な遺伝子のほかに多くの補助遺伝子を持ち、それらが宿主の行動、細胞死、脱皮・変態といった高次の宿主制御において重要な役割を果たしていることが明らかになった。本稿では、私たちのグループの研究結果を中心に、宿主制御に関与するバキュロウイルス遺伝子の機能を概説する。

1. はじめに

昆虫ウイルスの一種であるバキュロウイルスは、80-180 kbp の環状 2 本鎖 DNA をゲノムとして持つ大型の DNA ウィルスであり、感染後期にウイルス粒子を含む封入体（アルファバキュロウイルスの場合は多角体と呼ばれる）を感染細胞核内に大量に形成する（**図 1**）。全ゲノム解読の結果、バキュロウイルスのゲノム上には 100 個以上のタンパク質遺伝子がコードされていることが明らかになっている¹⁾。培養細胞における組換えウイルスの作成、および大腸菌を用いた組換えバックミドの作成により、バキュロウイルスが自身の増殖、複製に必須な遺伝子のほかに多くの補助遺伝子（Auxiliary genes）を持つことが明らかになった。例えば、エクダイソン UDP グルコース転移酵素遺伝子（*ecdysteroid UDP-glucosyl transferase. egt*）は、昆虫の脱皮ホルモンであるエクダイソンの 22 位にグルコースを付加する酵素をコードし、エクダイソンを不活化することに

よって昆虫の脱皮・変態を阻害することが知られている²⁾。また、*p35*³⁾ や *inhibitor of apoptosis (iap)*⁴⁾ は、バキュロウイルス感染時に細胞が防御反応として引き起こすアポトーシスを阻害して、ウイルスを効率よく増殖させるために重要な分子である（**図 2**）。バキュロウイルス感染によって引き起こされる宿主昆虫の死後溶解も、ウイルスが持つカテプシン（*v-cath*, タンパク質分解酵素）⁵⁾ やキチナーゼ（*v-chiA*, キチン分解酵素）⁶⁾ によって積極的に引き起こされていることが明らかとなっている（**図 3**）。

ウイルスの感染ストラテジーを考える上で、宿主生物のゲノム情報は非常に重要である。アルファバキュロウイルスに属する *Bombyx mori nucleopolyhedrovirus* (BmNPV) の宿主であるカイコ (*Bombyx mori*) に関しては、2005 年にドラフト配列が報告され、2008 年にはゲノム解読がほぼ完了した⁷⁻⁹⁾。そのゲノム情報を用いて、全ゲノム配列が決定されたバキュロウイルスの遺伝子との比較解析を行った結果、バキュロウイルスには多くの宿主遺伝子相同分子（宿主ホモログ）が存在することが判明した。実際、BmNPV の推定遺伝子のうち 11%（15 遺伝子）が宿主ホモログであり、そのうちの 9 遺伝子はウイルスの複製に関与しない補助遺伝子であることがわかった¹⁰⁾。その中には、上述の *egt*, *iap*, *v-cath*, *v-chiA* に加え、後述するプロテインフォスファターゼや繊維芽細胞成長因子などが含まれていた。以上の結果から、宿主ホモログの多くは複雑な宿主制御に関わっていると考えられた。つまり、バキュロウ

連絡先

〒113-8657
東京都文京区弥生 1-1-1
東京大学大学院農学生命科学研究科
昆虫遺伝研究室
TEL: 03-5841-8994
E-mail: katsuma@ss.ab.a.u-tokyo.ac.jp

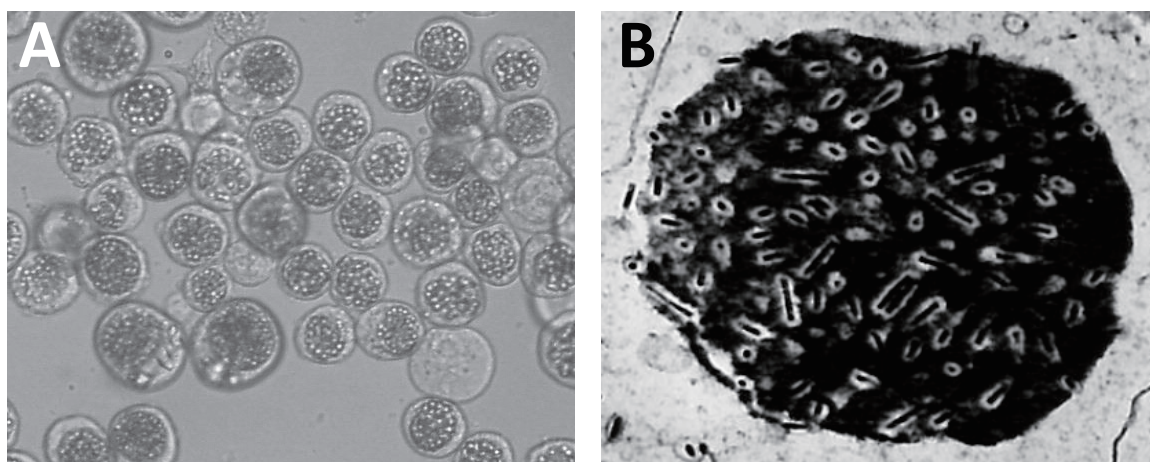


図1 バキュロウイルスによる多角体形成

バキュロウイルスは、感染後期に細胞核内に大量の多角体を形成する。(A)バキュロウイルスに感染した昆虫培養細胞。細胞核内に大量の多角体が観察される。(B)多角体の電子顕微鏡写真(小林正彦博士提供)。多角体の中に大量のウイルス粒子が見られる。

ウイルスは他の大型DNAウイルスと同じように、進化の過程で宿主ゲノムからの遺伝子獲得によって遺伝子数を増加させ、非常に高度な宿主制御機構を有するウイルスになったと推測される。

2. 宿主の行動を制御するバキュロウイルス遺伝子

昆虫ウイルス学の分野では、「*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、バキュロウイルスに感染したチョウ目昆虫の幼虫が、寄主植物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、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、*Wipfelkrankheit* はバキュロウイルスによる利己的な行動制御であると考えられている¹¹⁾。カリフォルニア大学のジョージ・カミタ博士らは、カイコとその病原ウイルスであるBmNPVを用いて、行動制御に関与するバキュロウイルス遺伝子の探索を行った。カイコは家畜昆虫であり、野外昆虫と比較して行動活性が非常に低下しているため、バキュロウイルスによって誘導される行動活性を定量化するための優れたアッセイ系を構築することができる。カミタ博士らは、個々の遺伝子を欠損したBmNPV変異体をカイコ幼虫に感染させ、その行動を定量的に解析することで、BmNPVの脱リン酸化酵素遺伝子(*protein tyrosine phosphatase: ptp*)が行動制御に関わることを明らかにした¹²⁾。それまでの生化学的な実験によって、PTPがタンパク質やRNAを基質として脱リン酸化反応を引き起こすことが知られていたが^{13,14)}、PTPがいかにして宿主昆虫の行動を制御しうる

のか、そのメカニズムは未解明のままであった。

私のグループは、PTPの作用機序を解明するために様々な*ptp*変異株を作成し、それらが感染カイコ幼虫の行動活性を上昇させることができるかどうかを検証した。その結果、驚くべきことに、脱リン酸化活性を消失させる1アミノ酸置換を導入したノックインウイルスが野生株と同様に異常行動を誘導できることが判明した。さらに、1塩基置換によって*ptp*に終始コドンを導入した変異ウイルスでは行動活性が消失したことから、行動制御にはPTPタンパク質が必要であるが、その脱リン酸化酵素活性は不必要であることが明らかになった¹⁵⁾。次に、私たちは酵母2ハイブリッド法と免疫沈降法を用いた相互作用分子の探索を行なった。その結果、ウイルス粒子内のキャプシドの構成タンパク質であるORF1629¹⁶⁾と相互作用することが明らかになった。この結果はPTPがウイルス粒子に含まれる構造タンパク質であることを強く示唆しており、実際、ウエスタンブロットによりPTPがウイルス粒子内に存在することが確認された。さらに、*ptp*欠損ウイルスを用いた解析から、PTP非存在下で形成されたウイルス粒子は感染力が低下し、特に感染幼虫の脳におけるウイルス増殖が低下していた¹⁵⁾。以上のことから、PTPは「酵素」としてではなく、「ウイルス粒子構成タンパク質」として機能し、異常行動の惹起に必要な脳への感染に関与することが明らかとなった(図4)。*ptp*は上述した宿主ホモログの一つであることから、バキュロウイルスが宿主から「酵素」遺伝子を獲得後、全く別の機能で利用するようになった例であると考えられる。

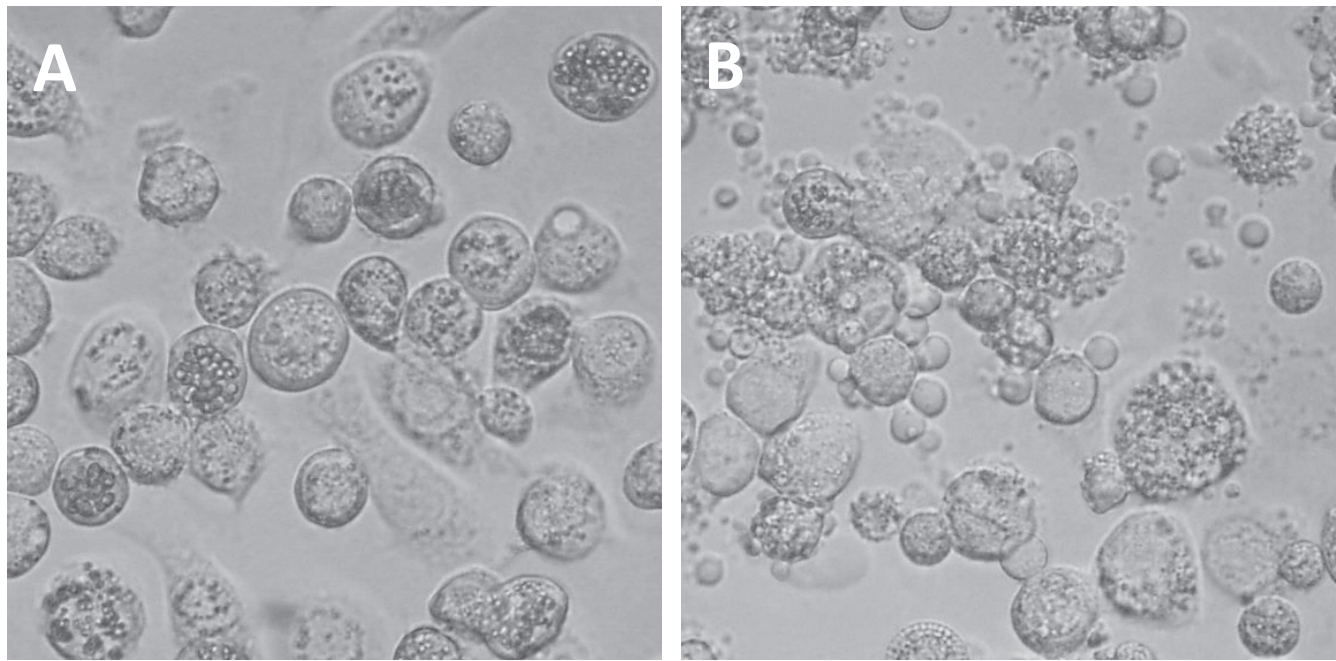


図2 アポトーシスを抑制するバキュロウイルス遺伝子

アポトーシスを抑制する *p35* を欠損したバキュロウイルスは感染細胞にアポトーシスを引き起こす (B)。アポトーシスは野生型ウイルスに感染した細胞では見られず、多角体が形成される (A)。

私たちが BmNPV の PTP に関する論文を発表して半年後に、BmNPV と近縁の *Autographa californica multiple nucleopolyhedrovirus* (AcMNPV) においても PTP が宿主昆虫の行動惹起に関与するという論文が報告された。しかし、その内容は私たちの研究結果と似て異なるものであった。AcMNPV の *ptp* 欠損株は BmNPV と同じように感染幼虫の行動活性化能が低下していたが、PTP の脱リン酸化活性を消失させたウイルスでも、それと同じように活性化能が低下していたのである¹⁷⁾。この結果は、PTP の脱リン酸化活性が行動惹起に必要なことを示しており、私たちの BmNPV における結果とは異なるものであった。そこで、この論文で作成された AcMNPV 変異体と同じアミノ酸置換、およびほぼ同じゲノム構成を持つ BmNPV を新たに作成し、結果の違いがウイルスに導入した変異やゲノム構造の差異によるものかどうかを検証した。その結果は、私たちの論文内容を支持するものであった。すなわち、BmNPV においては、カイコ幼虫の行動惹起に PTP の脱リン酸化活性は必要なかったのである¹⁸⁾。このように、非常に近縁なウイルスにおいて、宿主の行動制御に必要な分子が共通しているにもかかわらず、その作用機序が異なるという、非常に興味深い現象が明らかになった。

行動制御に関与するバキュロウイルス遺伝子として、エクダイン不活化酵素をコードする *egt* も報告されている。ペンシルバニア州立大学のケリー・フーパー博士らは、

森林害虫であるマイマイガの幼虫とそのウイルスである *Lymantriadispar multiple nucleopolyhedrovirus* (LdMNPV) を用いて壁を上り下りできる装置を構築し、ウイルス感染した幼虫がどの程度の高さで致死するかを調査した。その結果、*egt* 欠損 LdMNPV に感染したマイマイガ幼虫は野生株と比較して低い位置で死亡することが明らかになった。この論文はリチャード・ドーキンス博士の著書を引用した「A gene for an extended phenotype」というセンセーショナルなタイトルで Science 誌に発表された¹⁹⁾。しかし、私たちの BmNPV を用いた研究²⁰⁾、および他のグループの AcMNPV を用いた研究では、*egt* 欠損によって行動活性は変化しないことが明らかになっていることから²¹⁾、現時点では *egt* は LdMNPV とマイマイガの系においてのみ行動活性に関与していると考えられている。

3. バキュロウイルスによる宿主の翻訳制御

細胞は外界から様々なストレスを受けるが、その刺激によってタンパク質の翻訳を抑制することがある。この翻訳抑制は、翻訳開始因子のサブユニットである eIF2 α のリン酸化を介して行われる。eIF2 α のリン酸化を行う酵素 (eIF2 α キナーゼ) はストレスの種類によって異なることが知られており、ヒトにおいてはウイルス感染時の RNA dependent Protein Kinase (PKR)、アミノ酸飢餓による General Control Nonrepressible-2 kinase (GCN2)、小胞体ストレスによる PKR-like Endoplasmic Reticulum Kinase

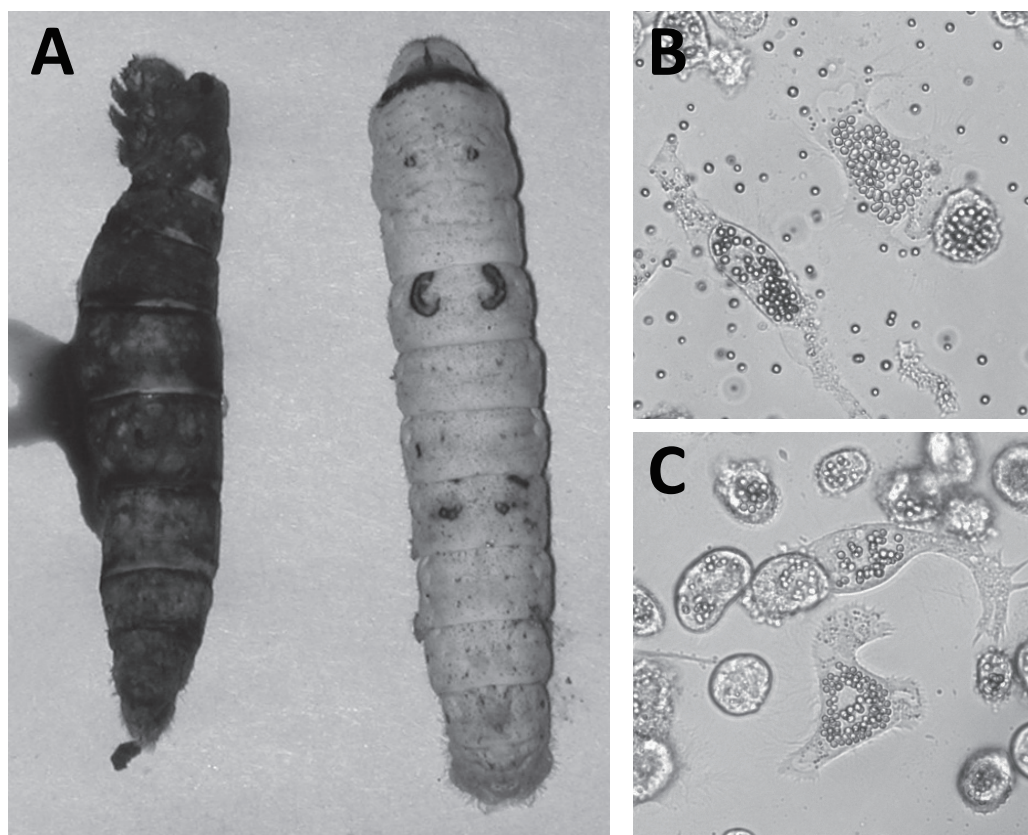


図3 感染個体の死後溶解に関与するバキュロウイルス遺伝子

- (A) バキュロウイルスに感染したカイコは死後、すみやかに溶解する(図左)が、カテプシン遺伝子を欠損したウイルスに感染したカイコは死後も溶解しない(図右)。
- (B) 野生型バキュロウイルスに感染したカイコ培養細胞。多角体が細胞外に放出される。
- (C) カテプシン遺伝子欠損バキュロウイルスに感染したカイコ培養細胞。野生型ウイルスと異なり、多角体が細胞内に留まったままである。

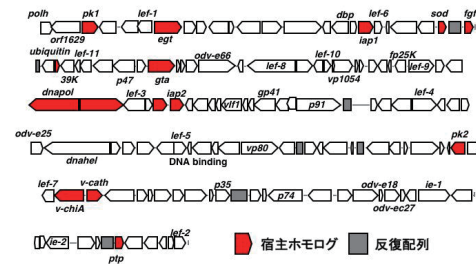
(PERK), およびヘム鉄欠乏時の Heme-Regulated Inhibitor kinase (HRI) の4種類が存在する。バキュロウイルスの宿主であるカイコには、このうち PKR を除く3種類が存在する。一方、バキュロウイルスのゲノム上には、eIF2 α キナーゼと相同性のあるタンパク質をコードする遺伝子 *pk2* が存在する²²⁾。National Institutes of Health のトーマス・デバー博士のグループは、PK2 タンパク質がバキュロウイルス感染時の昆虫細胞における eIF2 α のリン酸化を阻害すること、および昆虫細胞に導入したヒト PKR の活性を阻害することを発見した²³⁾。これらの結果から、PK2 が宿主細胞の eIF2 α キナーゼを阻害することで宿主の翻訳抑制を解除していることが推測されていた。しかし、PK2 のターゲット分子や阻害様式、およびウイルス増殖における役割は未解明のままであった。

私たちは、デバー博士らのグループとの共同研究によつて、PK2 のターゲットとその阻害様式、およびウイルス

感染における役割を調査した。まず、ヒト PKR を用いた生化学実験により、PK2 が eIF2 α キナーゼと相同性のあるドメインではなく、N末端の22アミノ酸からなる領域を利用して eIF2 α キナーゼと結合することが判明した。その中でも18番目のフェニルアラニン (Phe18) が結合に必須であることが明らかになった。つまり、PK2 は eIF2 α キナーゼと結合し2量体化を阻止することで、キナーゼ活性を阻害していることが判明した²⁴⁾ (図5)。つぎに、PK2 のウイルス感染における役割を調査するために、*pk2* を欠損した組換えバキュロウイルスを作成し、培養細胞、およびカイコ幼虫における性状を解析した。その結果、*pk2* を欠損するとウイルス産生量が低下し、カイコ幼虫における病原性も顕著に低下した。一方、*pk2* 欠損ウイルスに *pk2* を再導入したウイルスは野生株と同様な病原性を示したが、Phe18 をアラニンに置換した PK2 を発現するウイルスは欠損ウイルスと同様、病原性が低下していた。さらに、*pk2* 欠損ウイルスや Phe18 変異ウイルスに感染し



→
ptpの獲得
pk2の獲得



宿主昆虫
PTP: フォスファターゼ(酵素)
HRI: キナーゼ(酵素)

←
行動制御
翻訳制御

バキュロウイルス
PTP: 構造タンパク質
PK2: インヒビター

図4 バキュロウイルスが持つ宿主ホモログ

バキュロウイルスは進化の過程で宿主昆虫から遺伝子を獲得し、その機能を改変することによって、行動や翻訳抑制など高次宿主制御をおこなっている。

た細胞では、eIF2 α のリン酸化の抑制は観察されなかった。以上の結果から、PK2は宿主のeIF2 α キナーゼとN末端領域を介して結合し、eIF2 α のリン酸化を抑制することで、自身の増殖を正に制御していることが明らかになった²⁴⁾(図5)。最後に、昆虫細胞におけるPK2のターゲットを調査するために、RNAi法によってカイコの3種類のeIF2 α キナーゼ遺伝子をノックダウンし、その際のウイルス増殖を調査した。その結果、カイコのHRIをコードする*BmHRI*をノックダウンした場合のみ、*pk2*欠損ウイルスにおけるウイルス産生が回復することが明らかになった。このことから、バキュロウイルスのPK2のターゲットはHRIであることが示唆された²⁴⁾。以上の結果は、バキュロウイルスが持つPK2タンパク質が、宿主のキナーゼを新しい様式で阻害すること、およびその結果として宿主の翻訳を抑制し、ウイルスの増殖を正に制御していることを示している。すなわち、バキュロウイルスは宿主から「酵素」遺伝子である*HRI*を獲得後、独自に改変することによって、酵素の「インヒビター」として利用するようになったと考えられる(図4)。

4. 宿主細胞のシグナル伝達系をハイジャックする バキュロウイルス遺伝子

繊維芽細胞成長因子(fibroblast growth factor, FGF)は、線虫からヒトまで保存された成長因子の一つであり、細胞増殖や分化において重要な働きをする有名な成長因子である。ヒトにおいては、現在までに20種類以上のFGFが同定されており、そのうちの多くのものが細胞外に分泌され、細胞膜上の受容体型チロシンキナーゼに結合することによって、細胞内シグナル伝達を引き起こし生理活性を示す

ことが知られている。様々なバキュロウイルスのゲノム配列が決定された結果、バキュロウイルス中にはキロシウジョウバエのFGF(Branchless)と似たFGF様遺伝子(viral *fgf*, *vfgf*)が存在することが明らかになった^{25, 26)}。私たちは、*vfgf*をゲノム上にコードするウイルスが、チョウ目昆虫に感染するバキュロウイルスのみであることから、特殊な機能を持つ宿主制御分子であると推測し、その機能解析を行ってきた。mRNAの発現解析、および生化学実験の結果、*vfgf*は初期遺伝子であり、脊椎動物のFGFと同様、分泌性タンパク質をコードすることが判明した^{27, 28)}。一方、バキュロウイルスゲノム上にはFGF受容体をコードする遺伝子は存在しないため、vFGFのシグナルは細胞膜上の宿主FGF受容体を介して伝えられるものと考えられた。そこでキロシウジョウバエのFGF受容体遺伝子として知られていた*breathless* (*btl*)と相同なカイコ遺伝子(*Bombyx mori btl*, *Bmbtl*)をカイコから単離し、その遺伝子産物がvFGFの受容体として機能するかどうかを調査した。その結果、vFGF添加によりBmBtlのチロシン残基のリン酸化が充進することが判明した。また、ボイデンチャンバーを用いた走化性実験により、vFGFがBmBtlを介して細胞にケモタキシスを誘導することが判明した。以上の結果から、バキュロウイルスがコードするvFGFの受容体は宿主細胞膜上のBtlであることが明らかになった²⁹⁾。

次にウイルス増殖における*vfgf*の機能を調査するために、*vfgf*欠損BmNPVを作成し、カイコにおける性状を調査した。その結果、欠損ウイルスではカイコ幼虫の致死時間の延長が観察された³⁰⁾。その際、体液中のウイルス量

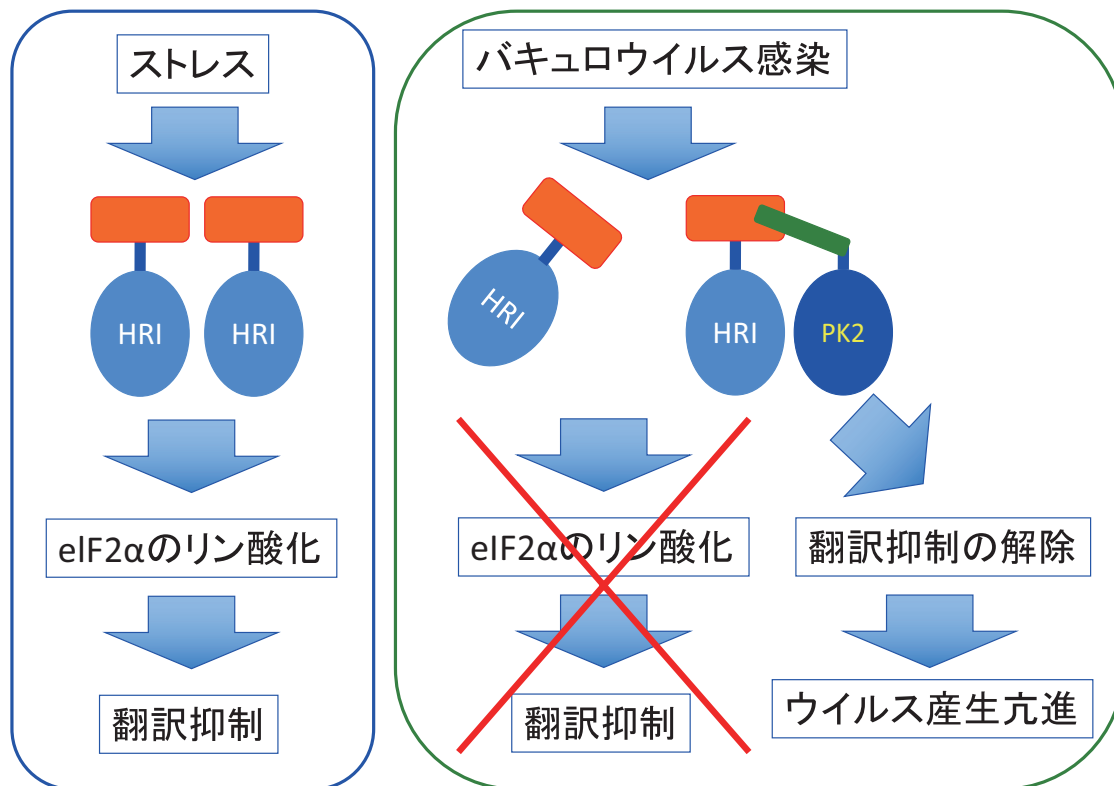


図5 バキュロウイルスが持つPK2タンパク質の感染細胞における作用機序

PK2はN末端領域を介してHRIと結合し、HRIの二量体化を抑制することで、宿主細胞における翻訳抑制を解除する。

が野生株と比較して低いことが明らかになったが、ウイルス増殖サイクルのどのステップに原因があるのかはわからなかった。そこで、GFPを発現するBmNPVを作成し、そのウイルスをベースに*vfgf*欠損ウイルスを作成することで、vFGFが感染のどのステップで働いているのかを調査した。GFP蛍光は脂肪体、気管（トラキア）を始めとするほぼすべての感染組織で観察されたが、*vfgf*欠損株では野生株と比較して血球細胞における感染率の低下が認められた。以上のことから、vFGFは細胞膜上のBtlを介して宿主FGFシグナル系をハイジャックし、血球細胞のケモタキシスを誘導することによって感染効率を向上させ、結果として致死時間を制御していることが示唆された³¹⁾。

近縁のAcMNPVにおいても*vfgf*の研究が行われてきたが、BmNPVと異なる性状が明らかになっている。私たちは、BmNPVのvFGF(BmFGF)が発現後に細胞外に速やかに分泌されること、そしてその分泌には2箇所N結合型糖鎖の付加が必要であることを明らかにした²⁸⁾。しかし、AcMNPVのvFGF(AcFGF)の配列を眺めていて面白いことに気がついた。それは、この2箇所の付加部位がBmFGFと異なっており、実際、N結合型糖鎖の付加が起こっていなかったことである。さらに、AcFGFが細胞

外にほとんど分泌されていないことも明らかになった²⁸⁾。私たちはAcFGFの機能はすでになくなっているのとは考えたが、その仮説を覆す論文が発表された。カンザス州立大学のロレナ・パサレリ博士のグループは、*vfgf*欠損AcMNPVを作成し、BmNPVと同様、感染幼虫の致死時間が延長することを見出した^{32, 33)}。さらに、AcFGFがウイルス粒子状に存在し³⁴⁾、それがトラキアを介した全身感染に重要であることを報告した³⁵⁾。上述した*ptp*の場合と同様、塩基配列レベルで90%以上相同な2種のウイルスで使い方が異なるが機能が同じ遺伝子が存在する点が面白いところである。

5. 組織トロピズムを支配するバキュロウイルス遺伝子

経口感染により伝播する昆虫ウイルスの大部分は、最初のターゲット組織である中腸でのみ増殖する。一方、チョウ目昆虫に感染するバキュロウイルスは、その多くが中腸ではあまり増殖せず、トラキアや血液を介して全身に広がり、最終的には感染幼虫の行動操作や死後溶解まで制御できるように進化している。私のグループは、BmNPVとカイコを利用して、バキュロウイルス感染に組織トロピズムが存在するかどうかを検証した。実際には、BmNPV感染カイコ幼虫の16組織を継時的にサンプリングし、それぞ

れにおけるウイルス遺伝子の発現量を qPCR で定量することで、各組織におけるウイルス増殖量を調査した。その結果、脂肪体や血液細胞のように顕著なウイルス増殖が見られる組織もあれば、絹糸腺や中腸のようにほとんど増殖しない組織も存在した。すなわち、BmNPV 感染には明瞭な組織トロピズムが存在することが明らかになった³⁶⁾。次に、この組織トロピズムに関与するウイルス遺伝子を同定するために、遺伝子欠損 BmNPV ライブラリーをカイコに感染し、ウイルスがよく増える組織（脂肪体とトラキア）とあまり増えない組織（絹糸腺と中腸）におけるウイルス遺伝子の発現を野生株のものと比較した。このスクリーニングの結果、私たちは BmNPV の組織トロピズムに関与する遺伝子として *Bm8* (*bv/odv-e26*) を発見した。*Bm8* 欠損ウイルスに感染したカイコでは、通常ほとんど多角体を形成しない絹糸腺や前胸腺で大量の多角体を形成するようになる^{36, 37)}。GFP レポーターを持つ組換え BmNPV を用いた解析から、*Bm8* タンパク質はウイルス遺伝子の発現において抑制的に機能する因子であることが判明した³⁷⁾。また、*Bm8* 欠損ウイルスが感染したカイコ幼虫は早期致死になるが、それと同時に徘徊行動も消失することから、*Bm8* タンパク質による致死時間の延長が行動操作において重要であることも示された³⁶⁾。

6. おわりに

ウイルスの宿主制御機構の解明は、ウイルス研究において最も魅力的なテーマの一つである。そのような点で、バキュロウイルスはウイルス-宿主間相互作用を研究する上で非常に良い材料であると言える。本稿ではウイルス遺伝子の研究について述べてきたが、ウイルス感染に関与する宿主因子の解析も進められている。私たちや他のグループによる低分子化合物を用いた研究により、バキュロウイルス感染に重要なシグナル分子やカスケードとして、MAP キナーゼ³⁸⁾ や Akt³⁹⁾、ユビキチン-プロテアソーム経路⁴⁰⁾、分子シャペロン^{41, 42)} などが報告されている。このような研究の深化により、ウイルスと宿主のせめぎ合いの進化的側面を分子レベルで垣間みることが可能になると期待している。

利益相反開示について

本稿に関連し、開示すべき利益相反状態にある企業等はありません。

参考文献

- 1) Rohrmann GF: Baculovirus molecular biology, 3rd ed. National Library of Medicine, National Center for Biotechnology Information, Bethesda, MD, 2013.
- 2) O'Reilly DR, Miller LK.: A baculovirus blocks insect molting by producing ecdysteroid UDP-glucosyl transferase. *Science* 245:1110-1112, 1989.
- 3) Clem RJ, Fechheimer M, Miller LK.: Prevention of apoptosis by a baculovirus gene during infection of insect cells. *Science* 254:1388-1390, 1991.
- 4) Crook NE, Clem RJ, Miller LK.: An apoptosis-inhibiting baculovirus gene with a zinc finger-like motif. *J Virol* 67:2168-2174, 1993.
- 5) Ohkawa T, Majima K, Maeda S.: A cysteine protease encoded by the baculovirus *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus. *J Virol* 68: 6619-6625, 1994.
- 6) Hawtin RE, Zarkowska T, Arnold K, Thomas CJ, Goody GW, King LA, Kuzio JA, Possee RD.: Liquefaction of Autographacalifornicanucleopolyhedrovirus-infected insects is dependent on the integrity of virus-encoded chitinase and cathepsin genes. *Virology* 238: 243-253, 1997.
- 7) Mita K, Kasahara M, Sasaki S, Nagayasu Y, Yamada T, Kanamori H, Namiki N, Kitagawa M, Yamashita H, Yasukochi Y, Kadono-Okuda K, Yamamoto K, Ajimura M, Ravikumar G, Shimomura M, Nagamura Y, Shin-I T, Abe H, Shimada T, Morishita S, Sasaki T.: The genome sequence of silkworm, *Bombyx mori*. *DNA Res* 11: 27-35, 2004.
- 8) Xia Q, Zhou Z, Lu C, Cheng D, Dai F, Li B, Zhao P, Zha X, Cheng T, Chai C, Pan G, Xu J, Liu C, Lin Y, Qian J, Hou Y, Wu Z, Li G, Pan M, Li C, Shen Y, Lan X, Yuan L, Li T, Xu H, Yang G, Wan Y, Zhu Y, Yu M, Shen W, Wu D, Xiang Z, Yu J, Wang J, Li R, Shi J, Li H, Li G, Su J, Wang X, Li G, Zhang Z, Wu Q, Li J, Zhang Q, Wei N, Xu J, Sun H, Dong L, Liu D, Zhao S, Zhao X, Meng Q, Lan F, Huang X, Li Y, Fang L, Li C, Li D, Sun Y, Zhang Z, Yang Z, Huang Y, Xi Y, Qi Q, He D, Huang H, Zhang X, Wang Z, Li W, Cao Y, Yu Y, Yu H, Li J, Ye J, Chen H, Zhou Y, Liu B, Wang J, Ye J, Ji H, Li S, Ni P, Zhang J, Zhang Y, Zheng H, Mao B, Wang W, Ye C, Li S, Wang J, Wong GK, Yang H.: A draft sequence for the genome of the domesticated silkworm (*Bombyx mori*). *Science* 306:1937-1940, 2004.
- 9) International Silkworm Genome Consortium.: The genome of a lepidopteran model insect, the silkworm *Bombyx mori*. *Insect BiochemMolBiol* 38: 1036-1045, 2008.
- 10) Katsuma S, Kawaoka S, Mita K, Shimada T.: Genome-wide survey for baculoviral host homologs using the *Bombyx* genome sequence. *Insect BiochemMolBiol* 38: 1080-1086, 2008.
- 11) Goulson D.: Wipfelkrankheit: manipulation of host behavior by a baculovirus. *Oecologia* 109: 219-228, 1997.
- 12) Kamita SG, Nagasaka K, Chua JW, Shimada T, Mita K, Kobayashi M, Maeda S, Hammock BD.: A baculovirus-encoded protein tyrosine phosphatase gene induces enhanced locomotory activity in a lepidopteran host. *Proc Natl AcadSci U S A* 102: 2584-2589, 2005.
- 13) Takagi T, Taylor GS, Kusakabe T, Charbonneau H, Buratowski S.: A protein tyrosine phosphatase-like protein from baculovirus has RNA 5'-triphosphatase and diphosphatase activities. *Proc Natl AcadSci U S A* 95: 9808-9812, 1998.
- 14) Sheng Z, Charbonneau H.: The baculovirus Autogra-

- phacalifornica encodes a protein tyrosine phosphatase. *J Biol Chem* 268: 4728–4733, 1993.
- 15) Katsuma S, Koyano Y, Kang W, Kokusho R, Kamita SG, Shimada T.: The baculovirus uses a captured host phosphatase to induce enhanced locomotory activity in host caterpillars. *PLoS Pathog* 8: e1002644, 2012.
 - 16) Russell RL, Funk CJ, Rohrmann GF.: Association of a baculovirus-encoded protein with the capsid basal region. *Virology* 227: 142–152, 1997.
 - 17) van Houte S, Ros VI, Mastenbroek TG, Vendrig NJ, Hoover K, Spitzen J, van Oers MM.: Protein tyrosine phosphatase-induced hyperactivity is a conserved strategy of a subset of baculoviruses to manipulate lepidopteran host behavior. *PLoS One* 7: e46933, 2012.
 - 18) Katsuma S.: Phosphatase activity of *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus PTP is dispensable for enhanced locomotory activity in *B. mori* larvae. *J Invertebr Pathol* 132: 228–232, 2015.
 - 19) Hoover K, Grove M, Gardner M, Hughes DP, McNeil J, Slavicek J.: A gene for an extended phenotype. *Science* 333: 1401, 2011.
 - 20) Katsuma S, Shimada T.: The killing speed of egt-inactivated *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus depends on the developmental stage of *B. mori* larvae. *J Invertebr Pathol* 126: 64–70, 2015.
 - 21) Ros VI, van Houte S, Hemerik L, van Oers MM.: Baculovirus-induced tree-top disease: how extended is the role of egt as a gene for the extended phenotype? *Mol Ecol* 24: 249–258, 2015.
 - 22) Li Y, Miller LK.: Expression and functional analysis of a baculovirus gene encoding a truncated protein kinase homolog. *Virology* 206: 314–323, 1995.
 - 23) Dever TE, Sriprya R, McLachlin JR, Lu J, Fabian JR, Kimball SR, Miller LK.: Disruption of cellular translational control by a viral truncated eukaryotic translation initiation factor 2alpha kinase homolog. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95: 4164–4169, 1998.
 - 24) Li JJ, Cao C, Fixsen SM, Young JM, Ono C, Bando H, Elde NC, Katsuma S, Dever TE, Sicheri F.: Baculovirus protein PK2 subverts eIF2 α kinase function by mimicry of its kinase domain C-lobe. *Proc Natl Acad Sci U S A* 112: E4364–4373, 2015.
 - 25) Ayres MD, Howard SC, Kuzio J, Lopez-Ferber M, Possee RD.: The complete DNA sequence of *Autographacalifornica* nuclear polyhedrosis virus. *Virology* 202: 586–605, 1994.
 - 26) Sutherland D, Samakovlis C, Krasnow MA.: branchless encodes a *Drosophila* FGF homolog that controls tracheal cell migration and the pattern of branching. *Cell* 87: 1091–1101, 1996.
 - 27) Katsuma S, Shimada T, Kobayashi M.: Characterization of the baculovirus *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus gene homologous to the mammalian FGF gene family. *Virus Genes* 29: 211–217, 2004.
 - 28) Katsuma S, Daimon T, Horie S, Kobayashi M, Shimada T.: N-linked glycans of *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus fibroblast growth factor are crucial for its secretion. *Biochem Biophys Res Commun* 350: 1069–1075, 2006.
 - 29) Katsuma S, Daimon T, Mita K, Shimada T.: Lepidopteran ortholog of *Drosophila* breathless is a receptor for the baculovirus fibroblast growth factor. *J Virol* 80: 5474–5481, 2006.
 - 30) Katsuma S, Horie S, Daimon T, Iwanaga M, Shimada T.: In vivo and in vitro analyses of a *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus mutant lacking functional vfgf. *Virology* 355: 62–70, 2006.
 - 31) Katsuma S, Horie S, Shimada T.: The fibroblast growth factor homolog of *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus enhances systemic virus propagation in *B. mori* larvae. *Virus Res* 137: 80–85, 2008.
 - 32) Detvisitsakun C, Hutfless EL, Berretta MF, Passarelli AL.: Analysis of a baculovirus lacking a functional viral fibroblast growth factor homolog. *Virology* 346: 258–265, 2006.
 - 33) Detvisitsakun C, Cain EL, Passarelli AL.: The *Autographacalifornica* M nucleopolyhedrovirus fibroblast growth factor accelerates host mortality. *Virology* 365: 70–78, 2007.
 - 34) Lehiy CJ, Martinez O, Passarelli AL.: Virion-associated viral fibroblast growth factor stimulates cell motility. *Virology* 395: 152–160, 2009.
 - 35) Means JC, Passarelli AL.: Viral fibroblast growth factor, matrix metalloproteases, and caspases are associated with enhancing systemic infection by baculoviruses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107: 9825–9830, 2010.
 - 36) Katsuma S, Kobayashi J, Koyano Y, Matsuda-Imai N, Kang W, Shimada T.: Baculovirus-encoded protein BV/ODV-E26 determines tissue tropism and virulence in lepidopteran insects. *J Virol* 86: 2545–2555, 2012.
 - 37) Hikida H, Kokusho R, Kobayashi J, Shimada T, Katsuma S.: Inhibitory role of the Bm8 protein in the propagation of *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus. *Virus Res* 249: 124–131, 2018.
 - 38) Katsuma S, Mita K, Shimada T.: ERK- and JNK-dependent signaling pathways contribute to *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus infection. *J Virol* 81: 13700–13709, 2007.
 - 39) Xiao W, Yang Y, Weng Q, Lin T, Yuan M, Yang K, Pang Y.: The role of the PI3K-Akt signal transduction pathway in *Autographacalifornica* multiple nucleopolyhedrovirus infection of *Spodoptera frugiperda* cells. *Virology* 391: 83–89, 2009.
 - 40) Katsuma S, Tsuchida A, Matsuda-Imai N, Kang W, Shimada T.: Role of the ubiquitin-proteasome system in *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus infection. *J Gen Virol* 92: 699–705, 2011.
 - 41) Lyupina YV, Zatsepina OG, Timokhova AV, Orlova OV, Kostyuchenko MV, Beljelarskaya SN, Evgen'ev MB, Mikhailov VS.: New insights into the induction of the heat shock proteins in baculovirus infected insect cells. *Virology* 421: 34–41, 2011.
 - 42) Iwanaga M, Shibano Y, Ohsawa T, Fujita T, Katsuma S, Kawasaki H.: Involvement of HSC70-4 and other inducible HSPs in *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus infection. *Virus Res* 179: 113–118, 2014.

Baculoviral genes that manipulate host insects

Susumu KATSUMA

Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo

1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo, Japan

E-mail address: katsuma@ss.ab.a.u-tokyo.ac.jp

The *Baculoviridae* is a large family of pathogens that mainly infects lepidopteran insects. Baculoviruses have a large circular, supercoiled, and double-stranded DNA genome ranging from 80 to 180 kbp. Baculoviruses have been used as bioinsecticides as well as expression vectors for foreign genes, called Baculovirus Expression Vector System (BEVS). In addition to such industrial use, basic researches on baculoviruses such as genome sequencing and gene knockout have progressed rapidly. Functional characterization of baculoviral genes revealed that some of the non-essential auxiliary genes encode proteins controlling behavior, cell death, and molting in host insects. In this review, I describe our research progress on functional analyses of baculoviral genes that are involved in host manipulation.

