

バキュロウイルス概説

特集「展開するバキュロウイルス・バイオサイエンス」にあたって

誌名	蚕糸・昆虫バイオテック = Sanshi-konchu biotec
ISSN	18810551
著者名	小林,迪弘 池田,素子 勝間,進 姜,媛瓊
発行元	日本蚕糸学会
巻/号	76巻2号
巻号補足	
掲載ページ	p. 107-114
発行年月	2007年8月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



特集「展開するバキュロウイルス・バイオサイエンス」

バキュロウイルス概説

—特集「展開するバキュロウイルス・ バイオサイエンス」にあたって—

小林 迪弘*・池田 素子 (名古屋大学大学院生命農学研究科)
勝間 進 (東京大学大学院農学生命科学研究科)
姜 媛瓊 (独立行政法人理化学研究所)

1. はじめに

バキュロウイルス (baculovirus) は、バキュロウイルス科 (Family Baculoviridae) に属するウイルスの総称である。バキュロウイルスには、核多角体病ウイルス (NPV, Genus nucleopolyhedrovirus) と顆粒病ウイルス (GV, Genus granulovirus) の2つの属のウイルスが含まれるが、バキュロウイルスについての研究は、NPV に関するものが圧倒的に多く、GV を対象としたものは多くはない。真核細胞における外来遺伝子の発現ベクターとして広く知られているバキュロウイルス発現ベクターは、NPV を素材として構築されたベクターである。

NPV は害虫の微生物的防除の格好の資材として、古くから昆虫病理研究者の間で注目を浴びてきたウイルスでもある (18, 28)。また、養蚕関係の研究者や技術者には、カイコの重要疾病である核多角体病 (nucleopolyhedrosis) の病原ウイルスとして恐れられてきた。NPV に感染したカイコ幼虫は、体色の変化や環節間膜の隆起、異常徘徊行動など、きわめて特異な外部病徴を示し、終局的には破損した皮膚から、多数の多角体で白濁した体液 (膿 (うみ) に似ているので膿汁 grassery juice とよばれている) を漏出して斃死する。これにより、カイコの核多角体病は養蚕現場では膿病 (jaundice) とよばれてきた。

バキュロウイルスに関する研究は、19 世紀半ばにその萌芽をみることができるが、実質的な研究は、1940 年代後半に Bergold が多角体から精製したウイルス粒子

の姿を電子顕微鏡で捉えたときに始まった。バキュロウイルスの研究は、養蚕が盛んであったわが国ではカイコの保護という観点から、欧米では害虫の防除を目的として、当初は昆虫個体を用いて精力的な研究が進められてきた。その後、1970 年代にはいり、昆虫培養細胞系の利用が可能になり、プラーク法 (plaque assay) による NPV のクローニングと定量に成功すると (15)、NPV の増殖特性や遺伝子発現などについての情報が急速に蓄積した。この昆虫細胞培養技術と、折しも急速な進歩をみせていた分子生物学や遺伝子操作の技術とが相まって、NPV に関する分子レベルの研究が加速度的に進展した。これらの研究は、1980 年代前半に、わが国の前田のグループと米国の Summers のグループによって開発された、いわゆるバキュロウイルス発現ベクターとして結実する (24, 25, 32)。

バキュロウイルスベクターは、真核細胞における外来遺伝子の発現ベクターとして、さまざまな分野の多くの研究者に有効利用され続けている。最近では、バキュロウイルス発現ベクターをより効果的に活用するため、形質転換昆虫培養細胞系や、ヒトや動物での機能発現に適した翻訳後修飾を保証する昆虫細胞系の作出などにも積極的な努力が払われている (7, 13)。また、バキュロウイルスは、害虫防除や発現ベクターの素材としての利用に加えて、遺伝子治療のための遺伝子導入ベクターや (16, 33)、分子生物学研究や遺伝子導入のツールとしての表面展示 (surface display) (26)、自然免疫誘導剤などとして利用することを目指した (1, 2, 33) 幅広い研究が活発に行われている。

バキュロウイルスに関する研究は、とすると応用面の研究に目を奪われがちではあるが、一般生物学の分野

*〒464-8601 名古屋市中種区不老町
連絡先: michihiro@agr.nagoya-u.ac.jp

においても、従来から多くの貢献をしており、今後も大きく寄与することが期待される。卑近な例を2, 3あげると、最近盛んなアポトーシス研究で必ず引き合いに出されるアポトーシス阻害因子 IAP (inhibitor of apoptosis) は, *Cydia pomonella* GV で発見されたものであり (6), さまざまな昆虫の形質転換に汎用されているトランスポゾン *piggyBac* は, *Galleria mellonella* NPV の FP (few polyhedra) 変異株の解析を通して、宿主細胞として用いていた TN-368 (*Trichoplusia ni*) 細胞から見つけられた (5, 9, 10)。また、ややひいき目で、古い話をすると、ワトソンとクリックが DNA の二重らせん構造モデルを考案する際に重要なヒントを与えた、アデニン (A) とチミン (T), およびグアニン (G) とシトシン (C) の間のモル比の一致は、われわれには著名な昆虫生理学者として馴染みの深い Wyatt 博士が、種々の昆虫のバキュロウイルスの DNA を用いてはじめて実証したものである (37, 38)。現在、NPV を軸としたバキュロウイルスの研究は、基礎と応用の両面にわたってますます広がりを見せており、単なる昆虫ウイルスの研究という域を超えて、「バキュロウイルス・バイオサイエンス」とでもいうべきジャンルを構築しつつある。

わが国においては、NPV に関する研究は、養蚕関係者を中心に、従来からカイコを用いて先駆的な研究が展開されてきた。現在も、いくつかの研究室で、さまざまな視点から「バキュロウイルス・バイオサイエンス」が活発に繰り広げられている。今回の特集では、これらの研究のうち、比較的基礎研究の部類に属する3つの話題を提供することにした。そこから、わが国の「バキュロウイルス・バイオサイエンス」研究の一端を知っていただければ幸いである。

前置きが長くなったが、本稿では、これらの話題に先立って、NPV の基本的な特性と研究の概括について、よく出てくる言葉を交えながら整理した。本特集や、今後のバキュロウイルス研究に関する解説を容易く理解していただくために役立てば幸甚である。

2. NPV の分類と命名

分類と命名：日常的に使用する NPV という名称は、バキュロウイルス科の核多角体病ウイルス属に属するウイルス種 (species) の総称である。ウイルス種は当該 NPV が最初に分離された昆虫種の学名を付してよぶ (例えば、カイコ *Bombyx mori* から分離された NPV は *B. mori* NPV (BmNPV))。このため、宿主域の広い NPV が異なる昆虫種から分離された場合、相同の NPV に異名をつけてしまうこともあり得る。NPV ゲノムの異同

は、制限酵素による切断パターンを比較する (遺伝子多型解析) ことにより容易に知ることができる (21, 22)。野外の昆虫から採集した NPV をクローニングし、各クローンのゲノム DNA の制限酵素による切断パターンを比較すると、全体としての切断パターンには大きな違いは認められないが、微妙に異なる切断パターンをもつクローンがいくつも認められる場合が多い (20)。これらは変異体 (variant) として扱う。

NPV の英名は、かつては nuclear polyhedrosis virus を用いていたが、現在は nucleopolyhedrovirus に改められている。同様に、GV も granulosis virus を使用していたが、現在は granulovirus になっている。

グループ I NPV とグループ II NPV：各種チョウ目昆虫から分離した NPV は、多角体遺伝子 (*polh*) の系統樹から、グループ I NPV とグループ II NPV の2つのグループに分類されている (39)。その後の研究で、出芽ウイルス粒子 (BV, budded virus) のエンベロープの膜融合タンパク質として、グループ I NPV は GP64 を、グループ II NPV は F タンパク質をコードしていることが示された (30)。グループ I NPV は F タンパク質相同体もコードしているが、グループ II NPV の F タンパク質と比較すると変異に富んでおり、膜融合活性を欠いている (23, 29)。また、グループ I NPV は、グループ II NPV に存在しない 17 個の遺伝子をもっている (14)。

最近、ゲノムの塩基配列が決定されたバキュロウイルスのゲノム DNA の解析結果にもとづいて、バキュロウイルスを、アルファ (チョウ目昆虫特異的 NPV)、ベータ (チョウ目昆虫特異的 GV)、ガンマ (ハチ目昆虫特異的 NPV) およびデルタバキュロウイルス (ハエ目昆虫特異的 NPV) の4属に分類することが提案された (19)。同様に、以前包埋体非形成ウイルスとしてバキュロウイルス科に含まれており、現在ではバキュロウイルス科から外されている *Oryctes rhinoceros* ウイルスを、*Heliothis zea* ウイルス 1 とともに、Nudivirus 属としてバキュロウイルス科に含めるべきであるとの提案もなされている (35)。

3. NPV 粒子と包埋体

ウイルス粒子：NPV は 80-180 kbp の環状複鎖 DNA をゲノムとしてもつ大型のウイルスである (図 1)。このゲノム DNA が、数種のタンパク質で構成されるカプシド (capsid) に包まれて桿状 (直径 30-60 nm, 長さ 250-300 nm) のヌクレオカプシド (nucleocapsid) を形成し、このヌクレオカプシドがエンベロープ (envelope) に包囲されてウイルス粒子 (virion あるいは virus parti-

cle)を構成する(図2)。

すべてのバキュロウイルス粒子がもつ共通の構造タンパク質をコードする遺伝子として11個の遺伝子が同定されている(19)。エンベロープを構成するタンパク質は、BVと包埋体由来ウイルス(ODV, occlusion-derived virus)(後述)とで異なるが、ヌクレオカプシドの構造タンパク質は、BVとODVで同一であり、その主要なものはVP39である。また、ヌクレオカプシドは、ゲノムのパッケージングのためにDNAを凝縮するタンパク質として、高塩基性タンパク質P6.9をもっている。

ゲノムと遺伝子：NPVは100-180個の遺伝子をもっているが、すべてのバキュロウイルスが共有する遺伝子は29個である(14)。これらの遺伝子のうち、機能が明らかになっているほとんどすべての遺伝子は、ウイルスのDNA複製や、転写、ウイルス構造タンパク質など、ウイルスの増殖に必須の遺伝子であるが、7個の遺伝子については機能が明らかになっていない。これに加えて、すべてのチョウ目のバキュロウイルスがもっている遺伝

子が32個ある。さらに加えて、チョウ目のNPVに特異的な遺伝子が14個、グループI NPVに特異的な遺伝子が17個存在する。

また、これらの遺伝子には、真核生物や原核生物がもつ遺伝子の相同体も多く含まれており、バキュロウイルスとこれらの生物との間で、活発な遺伝子の水平移動が起こっていることを窺わせる。現在、宿主由来と考えられる遺伝子として、23個の遺伝子が同定されている(4, 31)。この中には、われわれがよく目にする、*iap* (inhibitor of apoptosis), *ubi* (ubiquitin), *egt* (ecdysteroid UDP-glucosyl transferase), *pcna* (proliferating cell nuclear antigen), *dnapol* (DNA polymerase), *fgf* (fibroblast growth factor)などが含まれる。

出芽ウイルス(BV)と包埋体由来ウイルス(ODV)：NPVは増殖過程においてBVとODVの2種類のウイルス粒子を生産する(図2)。既述のように、BVとODVは、遺伝子型は同一であるが、表現型が異なる。ヌクレオカプシドのタンパク質構成は、BVとODVで同じであるが、

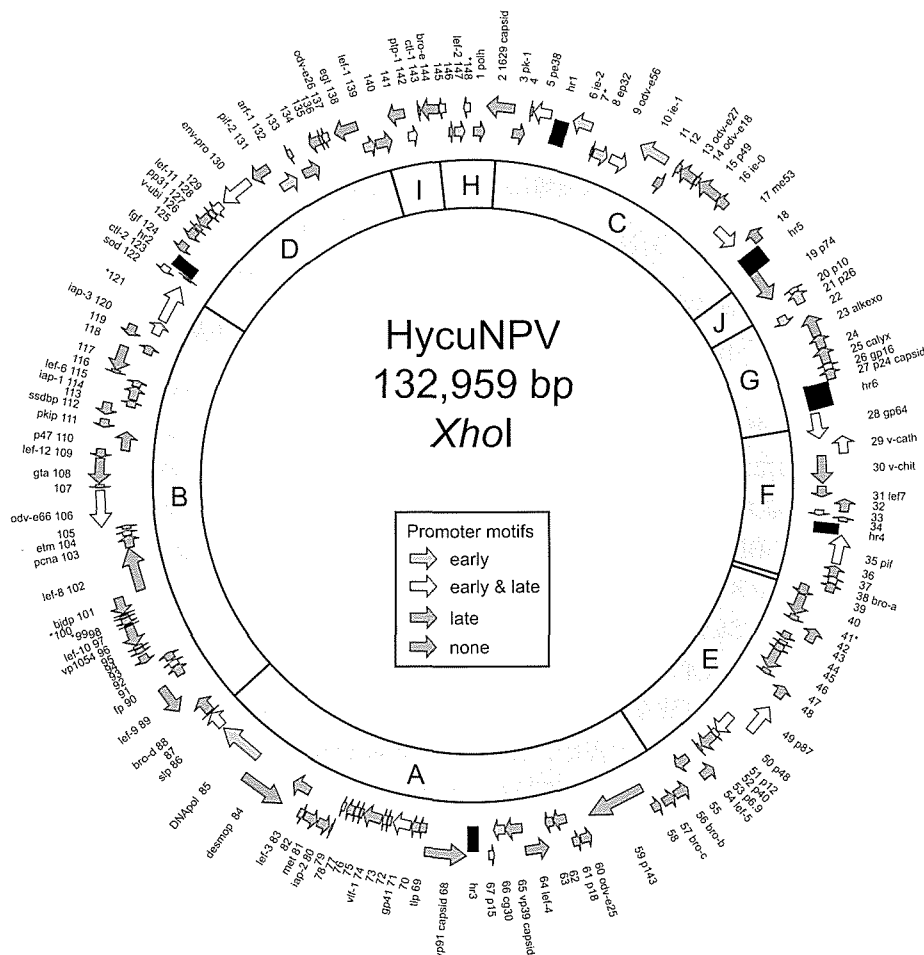


図1. アメリカシロヒトリ核多角体病ウイルス(HycuNPV)のゲノム構造
藤色で示した環は、HycuNPVゲノムDNAのXhoIによる切断断片を示す。環の外側の矢印は各遺伝子の転写方向を示している。各遺伝子は保有するプロモーターの違いにより色分けしてある(文献17)。

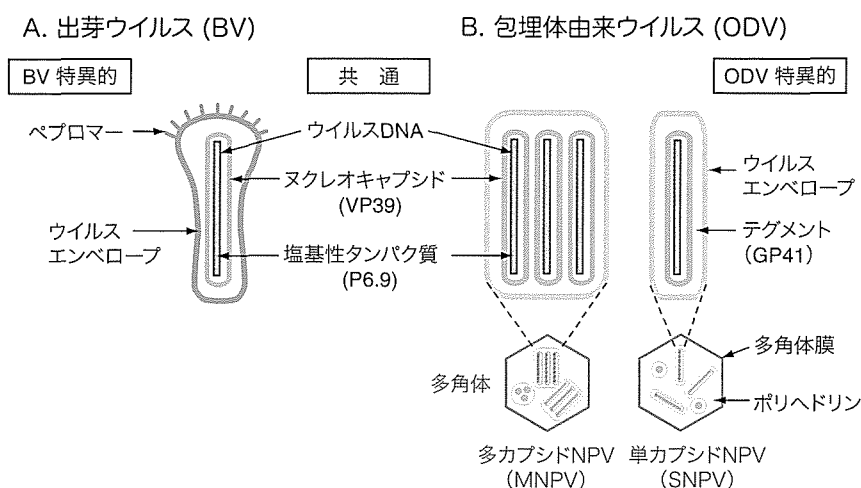


図2. 核多角体病ウイルスの出芽ウイルス (BV) と包埋体 (多角体) 由来ウイルス (ODV) の構造 (文献 34 を改変)

エンベロープのタンパク質が異なる。BV のエンベロープはヌクレオカプシドが修飾した細胞膜を獲得したものであり、ODV のエンベロープは核で *de novo* 合成によって新規に生産されたものである。BV は粒子の一端に粒子表面から突出するペプロマー (pepromer) とよばれるスパイクをもっている。また、ODV では、ヌクレオカプシドとエンベロープの間を埋める構造物であるテグメント (tegument) があり、ここに ODV 特異的なタンパク質 GP41 が存在する。BV はすべて 1 本のヌクレオカプシドで構成されているが、ODV には、NPV の種類によって、1 本のヌクレオカプシドをもつものと、複数本のヌクレオカプシドをもつものがある。

BV は感染昆虫個体の組織や細胞の間のウイルス伝播に、ODV は昆虫個体間のウイルス伝播に重要な役割を果たしている (図3 参照)。

多カプシド NPV と単カプシド NPV : NPV には、単数のヌクレオカプシドが 1 つのエンベロープに包まれて ODV を構成するものと、1 つのエンベロープに複数のヌクレオカプシドを包みこんで ODV を形成するものがある。エンベロープに包囲されるヌクレオカプシドが単数か、複数かは遺伝的に決定されていると考えられており、それぞれ SNPV (single nucleocapsid NPV) ならびに MNPV (multiple nucleocapsid NPV) で示す。カイコ NPV は、基本的には SNPV であると考えられるが、組織によっては、2 本あるいはそれ以上のヌクレオカプシドをもつウイルス粒子がかなり高頻度で認められるので (36), S を付さずに、単に BmNPV と記している。

包埋体 : NPV は感染細胞の核に 0.15-15 μm の包埋体 (OB, occlusion body) とよばれるタンパク質の結晶体を形成する (図2)。OB には多数のウイルス粒子が含まれている。NPV の OB は、その形状から多角体 (polyhedron)

とよばれることが多い。かつては、封入体 (inclusion body) あるいは多角封入体 (polyhedral inclusion body) などともよばれたが、これらの用語は最近ではほとんど用いられていない。ちなみに、GV も核が崩壊した細胞内に 0.3 x 0.5 μm 程度の卵形の OB を形成する。GV の包埋体は、顆粒体 (granule あるいは capsule) とよばれ、通常 1 個のウイルス粒子を包埋しているが、まれに複数個のウイルス粒子をもっている場合もある。

NPV と GV の OB は、ともに分子量 3 万前後の単一のタンパク質で構成されており、そのタンパク質を、それぞれポリヘドリン (polyhedrin) およびグラニュリン (granulin) とよぶ。

4. NPV の感染増殖様式

昆虫個体における NPV 感染は、昆虫が OB を食下することによってはじまる (図3 ①)。食下された OB は、中腸のアルカリ性消化液によって溶解し (②)、包埋していた ODV を中腸内腔に放出する (③)。放出された ODV は、中腸細胞に吸着 (adsorption または接着 attachment) し、エンベロープと細胞膜との膜融合 (fusion) により、ヌクレオカプシドを細胞内に侵入 (penetration) させる (④)。ヌクレオカプシドは、細胞質内を移行し、核膜孔を通過して核内に到達する (⑤)。その後、脱殻 (uncoating) し (⑥)、裸になったゲノム DNA を鋳型として、ウイルスの DNA 複製と遺伝子発現により、ゲノム DNA と構造タンパク質を生産する (⑦)。ゲノム DNA と構造タンパク質がピロジェニック・ストローマ (virogenic stroma) で会合 (assembly) してヌクレオカプシドを形成する (⑧)。

ヌクレオカプシドは、核外へ移動して (⑨)、GP64 タンパク質で修飾された細胞膜を獲得しながら、出芽

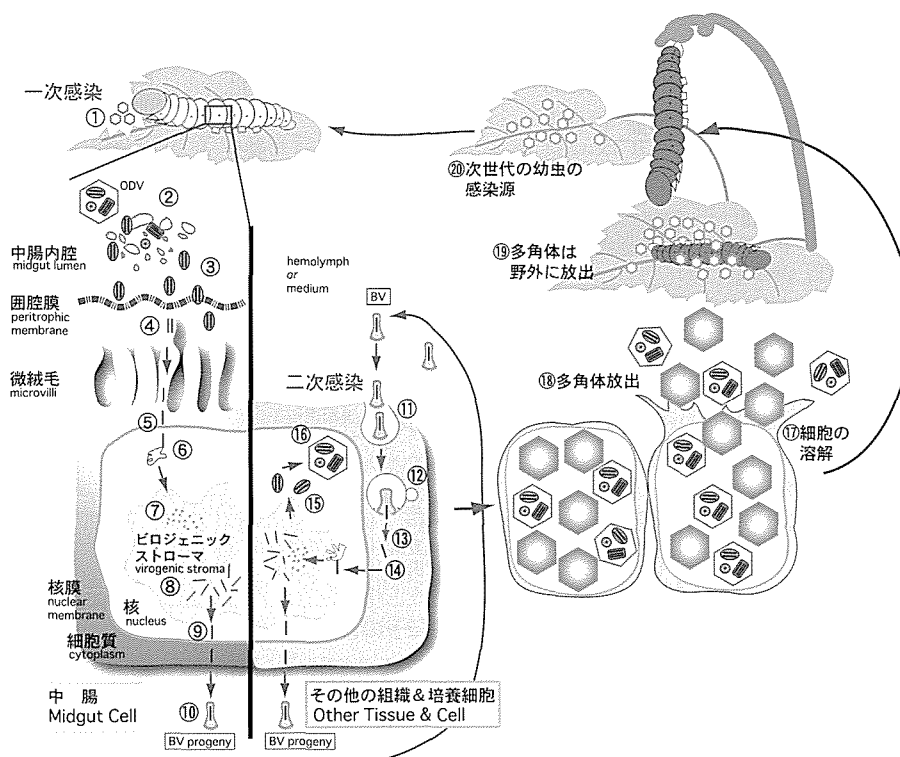


図 3. 核多角体病ウイルスの増殖環

(budding) により細胞外へ脱出して BV となる (10)。感染の後期になると、ヌクレオカプシドは、核内で *de novo* に合成されたエンベロープを獲得して ODV となり (15)、OB に包埋されて核内にとどまる (16) (図 3 の中腸細胞では包埋体の形成は示していない。中腸細胞での包埋体形成はきわめて少ない)。この OB は、感染昆虫が斃死して組織や細胞が崩壊すると野外に放出され (17)(18)(19)、次世代の昆虫の感染源となる (20)。微生物殺虫剤として利用されるのは、この OB である。

出芽により細胞外へ脱出した BV は、ODV とは異なっていて、エンドサイトーシス (endocytosis) により細胞内に侵入し、エンドソーム (endosome) によって核近傍まで移送される (11)。その後、低 pH (pH 5 ~ 5.5 程度) 環境により、細胞のエンドソーム膜とウイルスのエンベロープが融合し (12)、ヌクレオカプシドが細胞質内に放出される (13)。細胞質内に放出されたヌクレオカプシドは、核に到達し (14)、ODV と同様の感染増殖過程を経て BV や ODV、OB を産生する。

なお、MNPV の場合、OB の溶解により中腸内腔に放出されて細胞内に侵入した ODV のヌクレオカプシドの一部は、核に向かうことなく、細胞質を通過して、同時に侵入して増殖をはじめた別のヌクレオカプシドの遺伝子から合成された GP64 で修飾された細胞膜を獲得して BV になり、中腸以外の感受性組織の感染に与る。この

ODV から BV への直接変換は、OB として昆虫体内に侵入した NPV が、昆虫体内の感受性組織全体に、速やかに感染を拡大することに役立っている。

5. NPV 遺伝子の発現様式

NPV が細胞に侵入し、核で脱殻してゲノムが放出されると、NPV 遺伝子の発現は、転写段階で制御されたカスケードにより進行する (図 4)。NPV の遺伝子は発現の時期によって大きく 2 種類に分けられる。ゲノム DNA の複製開始以前に発現する遺伝子を初期遺伝子 (early gene)、ゲノム DNA の複製開始と同時に、またはそれ以後に発現を開始する遺伝子を後期遺伝子 (late gene) とよぶ。初期遺伝子のうち、その発現に他のウイルス遺伝子産物を必要としない遺伝子を前初期遺伝子 (immediate early gene)、他のウイルス遺伝子産物の助けを必要とする遺伝子を後初期遺伝子 (delayed early gene) とよぶが、最近ではあまり厳密に区別しない。初期遺伝子には、ウイルス DNA の複製に与るタンパク質の遺伝子と、他の初期遺伝子ならびに後期遺伝子、後後期遺伝子の発現に関与するタンパク質の遺伝子が含まれる。初期遺伝子のプロモーターは、宿主因子に認識され、宿主遺伝子と同様に、宿主の RNA ポリメラーゼ II によって転写される。

後期遺伝子も、狭義の後期遺伝子 (late gene) と後後

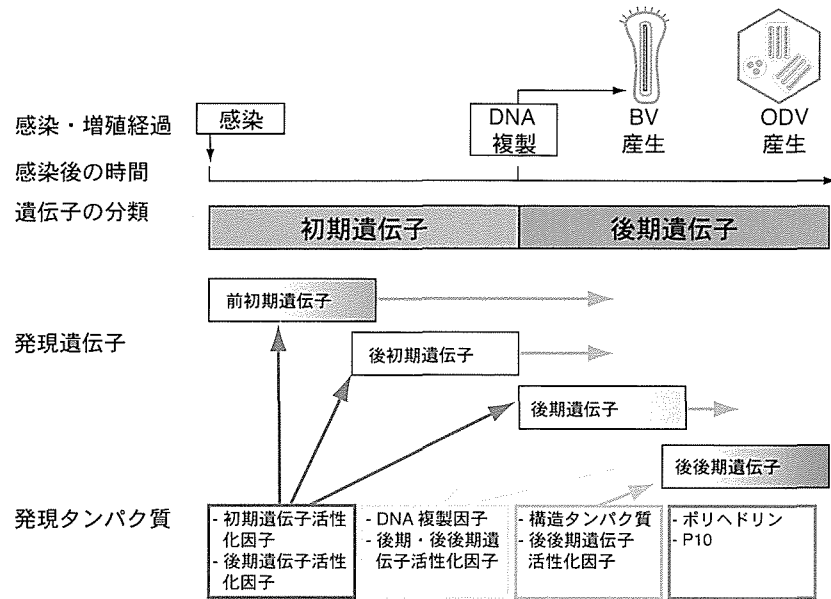


図 4. 核多角体病ウイルス遺伝子のカスケード発現

期遺伝子 (very late gene) の 2 種類に分けられる。後期遺伝子は、ウイルスの構造タンパク質と後後期遺伝子の発現に關与するタンパク質をコードし、後後期遺伝子は核膜の分解や細胞の崩壊に關与する P10 と包埋体の主成分であるポリヘドリンをコードしている。後期遺伝子も後後期遺伝子も、NPV 特異的なプロモーターをもち、ウイルス由来の α -アマニチン抵抗性の RNA ポリメラーゼにより転写される (11, 12)。ウイルスの RNA ポリメラーゼは、ウイルス遺伝子がコードする 4 つのサブユニットで構成されている。これらのウイルス遺伝子は、これまでの塩基配列が決定されたすべてのバキュロウイルスで保存されている。後後期遺伝子は、後期遺伝子の発現が微弱になった後にもきわめて活発に発現する。

後期ならびに後後期遺伝子の発現に必要とされる 20 個のウイルス遺伝子が、*lef* (late expression factor) 遺伝子として同定されている (4)。

6. NPV の宿主域と組織親和性

宿主域 (host range) : NPV はチョウ目, コウチュウ目, ハエ目, ハチ目, アミメカゲロウ目, ノミ目, シミ目ならびにトビケラ目の 8 目の昆虫が宿主として記載されている (3)。NPV の宿主域は一般に狭く, 通常は当該 NPV が分離された昆虫種とそのごく近縁種に感染性をもつのみであり, 科をこえた昆虫に宿主域をもつ NPV はまれである。研究が最もよく進んでいる *Autographa californica* MNPV は, 例外的にきわめて広い宿主域をもつ。また, GV はチョウ目昆虫のみで認められて

いる。

宿主域決定に關与するウイルス遺伝子としては、*hcf-1*, *hrf-1*, *p143*, *lef-7*, *p94*, *ie0*, *p35* および *iap* などが知られている (4, 27)。このうち、*p35* と *iap* はアポトーシス阻害遺伝子である。また、これらの遺伝子産物の多くは、宿主特異的であり、特定の細胞株や昆虫種でのみ宿主域決定因子として機能する。

組織親和性 (tissue tropism) : チョウ目昆虫 NPV は、脂肪組織をはじめ、表皮、血球細胞、気管皮膜、中腸組織などさまざまな組織に感染して包埋体を形成する（ただし、中腸皮膜細胞での包埋体の形成はきわめて少ない）(8)。一方、ハチ目やハエ目、トビケラ目、シミ目では、例外もあるが（ハエ目の *Tipula paldosa* では血球細胞でも増殖する）、原則として、中腸組織が NPV の唯一の増殖組織である。

7. おわりに

バキュロウイルスは昆虫（正確には節足動物）に特異的なウイルスであり、昆虫以外の動物や、植物、細菌などでは、相同のウイルスは認められていない。そのため、バキュロウイルスに関する研究は、従来は、害虫の駆除とカイコ（益虫）の保護を主要な目的として進められてきたが、バキュロウイルス発現ベクターの開発を契機として、最近では、農学分野の枠にとどまらず、医学や、分子生物学、遺伝子工学、細胞工学など、さまざまな分野で大きなインパクトを与える研究として発展してきている。

また、バキュロウイルスに関する研究は、生物一般を

理解するためにも重要な貢献をするものとして期待が寄せられる。バキュロウイルスのゲノムは、100 から 180 個の遺伝子で構成されており、さまざまな生命現象の遺伝子レベルでの解析には、格好のサイズの複雑系である。昆虫特異的なウイルスであるバキュロウイルスと全動物種の 80% 以上を占めるといわれている昆虫が、その相互作用を通して垣間見せる分子レベルでのクロストークや生存戦略などを解析することにより、生命と生物の本質の理解につながる貴重な情報が得られることが期待される。

わが国では、重要産業であった蚕糸業を支える基礎学問として、カイコの生理学や遺伝学、発生学などが高度に発達し、昆虫に関わるさまざまな学問分野において世界を先導してきた。昆虫病理学もその1つであり、バキュロウイルスに関しても、カイコを用いた多くの先駆的な研究が蓄積している。最近では、カイコのゲノム情報も急速に整備され、さまざまな研究に手軽に活用できるようになってきた。今後、わが国の研究者が進めているバキュロウイルスとカイコを駆使した研究が、世界の「バキュロウイルス・バイオサイエンス」の発展に独特の貢献をすることが望まれる。

引用文献*

1. Abe, T., Takahashi, H., Hamazaki, H., Miyano-Kurosaki, N., Matsuura, Y. and Takaku, H. (2003) Baculovirus induces an innate immune response and confers protection from lethal influenza virus infection in mice. *J. Immunol.* **171**, 1133-1139.
2. Abe, T., Hemmi, H., Miyamoto, H., Moriishi, K., Tamura, S., Takahashi, H., Takaku, H., Akira, S. and Matsuura, Y. (2005) Involvement of the Toll-like receptor 9 signaling pathway in the induction of innate immunity by baculovirus. *J. Virol.* **79**, 2847-2858.
3. Adams, J. R. and McClintock, J. T. (1991) Baculoviridae. Nuclear polyhedrosis viruses. Part 1. Nuclear polyhedrosis viruses of insects. In "Atlas of Invertebrate Viruses" (J. R. Adams and J. R. Bonami, eds.), pp. 87-204. CRC Press, Boca Raton.
4. Bonning, B. C. (2005) Baculoviruses: Biology, biochemistry, and molecular biology. In "Comprehensive Molecular Insect Science" (L. I. Gilbert, K. Iatrou and S. S. Gill, eds.), Vol. 6, pp. 233-270. Elsevier, Oxford, UK.
5. Cary, L. C., Goebel, M., Corsara, B. G., Wang, H.-G., Resen, E. and Fraser, M. J. (1989) Transposon mutagenesis of baculoviruses: Analysis of *Trichoplusia ni* transposon IFP2 insertions within the FP-locus of nuclear polyhedrosis viruses. *Virology* **172**, 156-169.
6. Crook, N. E., Clem, R. J. and Miller, L. K. (1993) An apoptosis-inhibiting baculovirus gene with a zinc finger-like motif. *J. Virol.* **67**, 2168-2174.
7. Douris, V., Swevers, L., Labropoulou, V., Andronopoulou, E., Georgoussi, Z. and Iatrou, K. (2006) Stably transformed insect cell lines: Tools for expression of secreted and membrane-anchored proteins and high-throughput screening platforms for drug and insecticide discovery. *Adv. Virus Res.* **68**, 113-156.
8. Federici, B. A. (1997) Baculovirus pathogenesis. In "The Baculoviruses" (L. K. Miller, ed.), pp. 33-60. Plenum, New York.
9. Fraser, M. J., Ciszczon, T., Elick, T. and Bauser, C. (1996) Precise excision of TAA-specific lepidopteran transposons *piggyBac* (IFP2) and *tagalong* (TFP3) from the baculovirus genome in cell lines from two species of Lepidoptera. *Insect Mol. Biol.* **5**, 141-151.
10. Fraser, M. J., Smith, G. E. and Summers, M. D. (1983) Acquisition of host cell DNA sequences by baculoviruses: Relationship between host DNA insertions and FP mutants of *Autographa californica* and *Galleria mellonella* nuclear polyhedrosis viruses. *J. Virol.* **47**, 287-300.
11. Fuchs, L. Y., Woods, M. S. and Weaver, R. F. (1983) Viral transcription during *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus infection: A novel RNA polymerase induced in infected *Spodoptera frugiperda* cell. *J. Virol.* **43**, 641-646.
12. Guarino, L. A., Xu, B., Jin, J. and Dong, W. (1998) A virus-encoded RNA polymerase purified from baculovirus-infected cells. *J. Virol.* **72**, 7985-7991.
13. Harrison, R. L. and Jarvis, D. L. (2006) Protein N-glycosylation in the baculovirus-insect cell expression system and engineering of insect cells to produce "mammalianized" recombinant glycoproteins. *Adv. Virus Res.* **68**, 159-191.
14. Herniou, E. A., Olszewski, J. A., Cory, J. S. and O'Reilly, D. R. (2003) The genome sequence and evolution of baculoviruses. *Annu. Rev. Entomol.* **48**, 211-234.
15. Hink, W. F. and Vail, P. V. (1973) A plaque assay for titration of alfalfa looper nuclear polyhedrosis virus in a cabbage looper (TN-368) cell line. *J. Invertebr. Pathol.* **22**, 168-174.
16. Hu, Y.-C. (2006) Baculovirus vectors for gene therapy. *Adv. Virus Res.* **68**, 287-320.
17. Ikeda, M., Shikata, M., Shirata, N., Chaeychomsri, S. and Kobayashi, M. (2006) Gene organization and complete sequence of the *Hyphantria cunea* nucleopolyhedrovirus genome. *J. Gen. Virol.* **87**, 2549-2562.
18. Inceoglu, A. B., Kamita, S. G. and Hammock, B. D. (2006) Genetically modified baculoviruses: A historical overview and future outlook. *Adv. Virus Res.* **68**, 323-360.
19. Jehle, J. A., Blissard, G. W., Bonning, B. C., Cory, J. S., Herniou, E. A., Rohrmann, G. F., Theilmann, D. A., Thiem, S. M. and Vlak, J. M. (2006) On the classification and nomenclature of baculoviruses: A proposal for revision. *Arch. Virol.* **151**, 1257-1266.
20. Kamiya, K., Okimoto, N., Ikeda, M., Kunimi, Y., Kobayashi, M. and Kawamura, S. (2003) Genotypic variation of a wild isolate of *Hyphantria cunea* nucleopolyhedrovirus. *J. Insect Biotechnol. Seicol.* **72**, 57-64.
21. Kamiya, K., Zhu, J., Murata, M., Laviña-Caoili, B. A., Ikeda, M., Kobayashi, M. and Kawamura, S. (2004) Cloning and comparative characterization of three distinct nucleopolyhedroviruses isolated from the common cutworm, *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) in Japan. *Biol. Contr.* **31**, 38-48.
22. Laviña, B. A., Padua, L. E., Wu, F. Q., Shirata, N., Ikeda, M.

- and Kobayashi, M. (2001) Biological characterization of a nucleopolyhedrovirus of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) isolated from the Philippines. *Biol. Contr.* **20**, 39-47.
23. Lung, O. Y., Cruz-Alvarez, M. and Blissard, G. W. (2003) Ac23, an envelope fusion protein homolog in the baculovirus *Autographa californica* multicapsid nucleopolyhedrovirus, is a viral pathogenicity factor. *J. Virol.* **77**, 328-339.
 24. Maeda, S., Kawai, T., Obinata, M., Chika, T., Horiuchi, T., Maekawa, K., Nakasugi, K., Saeki, Y., Sato, Y., Yamada, K. and Furusawa, M. (1984) Characteristics of human interferon- α produced by a gene transferred by a baculovirus vector in the silkworm, *Bombyx mori*. *Proc. Japan Acad.* **60B**, 423-426.
 25. Maeda, S., Kawai, T., Obinata, M., Fujiwara, H., Horiuchi, T., Saeki, Y., Sato, Y. and Furusawa, M. (1985) Production of human α -interferon in silkworm using a baculovirus vector. *Nature* **315**, 592-594.
 26. Makela, A. R. and Oker-Blom, C. (2006) Baculovirus display: A multifunctional technology for gene delivery and eukaryotic library development. *Adv. Virus Res.* **68**, 91-112.
 27. Miller, L. K. and Lu, A. (1997) The molecular basis of baculovirus host range. In "The Baculoviruses" (L. K. Miller, ed.), pp. 217-235. Plenum, New York.
 28. Moscardi, F. (1999) Assessment of the application of baculoviruses for control of Lepidoptera. *Annu. Rev. Entomol.* **44**, 257-289.
 29. Pearson, M. N., Groten, C. and Rohrmann, G. F. (2002) Identification of the *Lymantria dispar* nucleopolyhedrovirus envelope fusion protein provides evidence for a phylogenetic division of the Baculoviridae. *J. Virol.* **74**, 6126-6131.
 30. Pearson, M. N. and Rohrmann, G. F. (2002) Transfer, incorporation, and substitution of envelope fusion proteins among members of the Baculoviridae, Orthomyxoviridae, and Metaviridae (insect retrovirus) families. *J. Virol.* **76**, 5301-5304.
 31. Possee, R. D. and Rohrmann, G. F. (1997) Baculovirus genome: organization and evolution. In "The Baculoviruses" (L. K. Miller, ed.), pp. 109-140. Plenum, New York.
 32. Smith, G. E., Summers, M. D. and Fraser, M. J. (1983) Production of human beta interferon in insect cells infected with a baculovirus expression vector. *Mol. Cell. Biol.* **3**, 2156-2165.
 33. 谷英樹・阿部隆之・林昌宏・望月理加・山岸潤也・北川喜紀・渡辺理恵・宮本大伸・森石恆石・松浦善治 (2003) バキュロウイルスベクター—哺乳動物細胞への遺伝子導入—. ウイルス **53**, 185-193.
 34. Theilmann, D. A., Blissard, G. W., Bonning, B., Jehle, J., O'Reilly, D. R., Rohrmann, G. F., Thiem, S. and Vlak, J. M. (2005) Family Baculoviridae. In "Virus Taxonomy. Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses", (C. M. Fauquet, M. A. Mayo, J. Maniloff, U. Desselberger and L. A. Ball, eds.), pp. 177-185. Elsevier Academic Press, San Diego.
 35. Wang, Y., van Oers, M. M., Crawford, A. M., Vlak, J. M. and Jehle, J. A. (2007) Genomic analysis of *Oryctes rhinoceros* virus reveals genetic relatedness to *Heliothis zea* virus 1. *Arch. Virol.* **152**, 519-531.
 36. 渡部仁 (1975) 家蚕核多角体病ウイルスの桿状粒子数における増殖組織別変異について. 日蚕雑 **44**, 497-498.
 37. Watson, J. D. and Crick, F. H. C. (1952) Molecular structure of nucleic acids. *Nature* **171**, 737-738.
 38. Wyatt, G. R. (1952) The nucleic acids of some insect viruses. *J. Gen. Physiol.* **36**, 201-205.
 39. Zanutto, P. M., Kessing, B. D. and Maruniak, J. E. (1993) Phylogenetic interrelationships among baculoviruses: evolutionary rates and host associations. *J. Invertebr. Pathol.* **62**, 147-164.
- * 引用文献は必要最小限にとどめた。また、読者ができるだけ手軽にバキュロウイルスに親しんでいただけるよう、原著よりも総説を多く引用するように心がけた。