

野蚕の休眠蛹を用いたタンパク質生産に関する技術移転と起業

小林 淳 (山口大学農学部)

1. はじめに

チョウ目昆虫に感染する核多角体病ウイルス (NPV) (バキュロウイルス科アルファバキュロウイルス属) の DNA ゲノムを遺伝子工学により改変し、得られた組換えウイルスを宿主昆虫の培養細胞や昆虫生体に感染させて有用タンパク質を大量生産するバキュロウイルス遺伝子発現ベクター系 (baculovirus expression vector system, BEVS) は、1983年にテキサス A&M 大学の M.D. Summers らの研究グループにより、ヤガ科昆虫を宿主とする *Autographa californica* NPV (AcNPV) とヨトウムシ *Spodoptera frugiperda* 由来の培養細胞を用いて世界に先駆けて開発されました。また、同時期に同様の開発研究を行っていた鳥取大学の前田進 (故人) らは、1985年にカイコ NPV (*Bombyx mori* NPV: BmNPV) とカイコ幼虫を用いて、培養細胞を大きく上回る効率でヒト α -インターフェロンを生産することに成功し、カイコが有用タンパク質生産工場 (昆虫工場) として利用できることを全世界に知らしめました。その後、BEVS の優れたタンパク質生産能力は世界中で利用され、今では大腸菌に次ぐ頻度で、基礎及び応用生物学のさまざまな分野において使用されており、昆虫機能を利用したバイオテクノロジーの中で、最も大きな成功を取めた技術となっています。

私は、この技術を野蚕に応用し、既存の BEVS よりも優れたタンパク質生産系の構築とその特性検証を行ってきました。なぜ、野蚕を選んだのかといえば、もちろん野蚕の体サイズがカイコよりも大きいので、1 個体あたりの生産量も多くなると見込んだことありますが、それ以上に、蛹で越冬休眠するというカイコにはない性質が、タンパク質生産において極めて有利だと考えたからです。野蚕 BEVS の基本コンセプトは、すでに 10 年前 (1997 年) に確立されており、「野蚕」No. 32 にその詳細が掲載されていますので、今回はその後の改良と特性検証の結果について、まず紹介します。

2. 野蚕 BEVS の優れたタンパク質生産特性

サクサン核多角体病ウイルス *Antheraea pernyi* NPV (AnpeNPV) を用いて構築した野蚕 BEVS の培養細胞 (AnPe) におけるタンパク質生産効率 (培養液 1ml あたりの生産量) は、既存の BEVS の平均レベルであり、High5 細胞 (AcNPV) には及びませんでした。昆虫生体 (サクサンとシンジュサンの休眠蛹) におけるタンパク質生産効率 (体重 1g あたりの生産量) は、カイコ幼虫同様、培養細胞を 1 ケタ上回り、特にシンジュサン休眠蛹はカイコ幼虫やサクサン休眠蛹を 5 倍強上回っていました。また、翻訳後修飾特性の一つであるタンパク質への糖鎖付加に関しては、AnPe 細胞で付加される N 型糖鎖が他の昆虫細胞よりもほ乳類の構造に近いことが明らかとなりました。野蚕の蛹においても同様な糖タンパク質が生産されると予想されるので、医薬あるいは獣医薬用の糖タンパク質を生産する上で既存の BEVS よりも有利です。このような量的・質的に優れた生産特性に加え、蛹として 1 年以上生きてそのまま冷蔵保存できるという貯蔵性も含

めると、野蚕休眠蛹の BEVS はまさに自然が作り出した理想的なバイオリクターと言わざるを得ません。

また、野蚕 BEVS の改良のために、AnpeNPV (クローン A) のゲノム地図を作製し、カテプシン遺伝子やキチナーゼ遺伝子を見つけ出し、それらを欠損させて生産した有用タンパク質の分解を抑制することにも成功しました。これは、私の三重大学工学部在職時 (2002 年) に、中国人留学生の黄さんが学位論文の研究成果であり、多くの新聞が取り上げてくれました (図)。最近、AnpeNPV の全ゲノム配列決定を完了しましたが、残念な事に、先に中国の二つの研究グループに、AnpeNPV (遼寧株) の全ゲノム配列を発表されてしまいました。一方の配列 (GenBank 登録番号 NC_008035) は公開されており、クローン A とかなり類似していますが、若干の違いがありました。もう一方の配列 (GenBank 登録番号 EF207986) は本稿執筆時点で未公開ですが、クローン A も遼寧省鳳城産なので、ほぼ同一であろうと予想しています。宿主の改良にも取り組んでおり、人工飼料で飼育すると小型化してしまうシンジュサンに、近縁のエリサンを交配し、人工飼料で良好に発育し、安定した蛹休眠性を示す雑種系統の育種に成功しています。

3. 野蚕 BEVS の実用化と起業

野蚕 BEVS に関する基礎的知見や基盤技術は、この 10 年間に着実に増加・進展し、さらに高度な基礎および応用研究を展開できる状況になってきました。同時に、これほど優れた生産特性を有する野蚕 BEVS を実用化して、社会に役立てたいという欲求も強くなってきました。

そこで、昨年 4 月に設立された株式会社バキュロテクノロジーズの役員を兼業し、野蚕 BEVS の技術移転を行うとともに、受託生産に向けたセットアップを手伝うことにしました。現在大学において開発中の新技術を次々と移転して、新しい昆虫工場のスタンダードとして野蚕休眠蛹の BEVS を普及させるための構想を練っているところです。野蚕関係の皆様には、この新しい野蚕バイオベンチャーの発展を暖かく見守り、またご支援いただければ幸いです。

図の説明文

野蚕の休眠蛹を用いたタンパク質生産に関する新聞記事（上段左より読売新聞、朝日新聞、伊勢新聞。下段左より毎日新聞、中日新聞）（2002年2月2日発刊、ただし朝日新聞のみ2002年2月6日発刊）、