

第6章 昆虫機能の利用による新技術開発

矢野 栄二・小林 淳

1 はじめに

旧版では、昆虫のフェロモン、カイロモンなどの行動制御物質による害虫防除が扱われた。今回は、それとの重複を避ける意味もあって、前回触れられず、現在これからの害虫防除の新技術として注目され、ここ数年、特に研究が急速に発展しつつある昆虫の発育制御物質およびバイオテクノロジーの利用による害虫防除技術の現状と展望について述べる。

また最近、昆虫に関連する応用研究は従来型の害虫防除の研究にとどまらず、昆虫機能そのものの利用による新技術開発が期待されている。ここではその中で特に産業利用の面から期待の大きい昆虫の利用による有用物質の生産について触れてみたい。

2 害虫防除における新技術開発

(1) 昆虫の発育制御

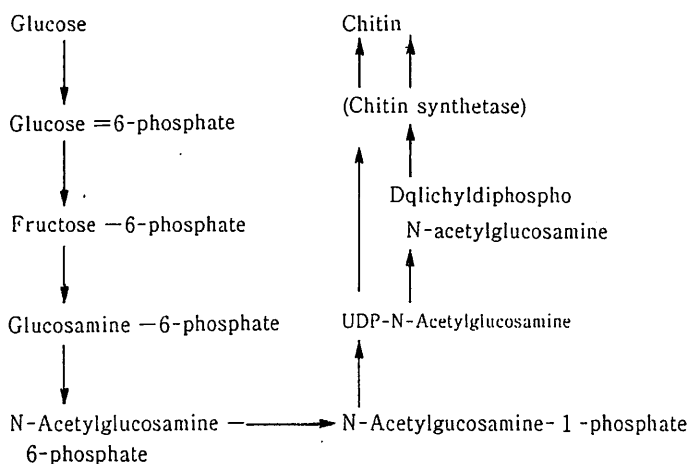
近年、新農薬の開発においては、毒で害虫を殺す「殺虫」から、害虫の生理機能を攪乱することにより、害虫の数を減らす「制虫」の概念に発想が転換されつつある。特に、害虫の発育を制御する物質は Insect Growth Regulators (IGR) と呼ばれ、制虫剤の主要なターゲットとして、現在活発に研究開発が行われている。IGR としては、表皮形成阻害剤、ホルモン剤、抗ホルモン剤などが知られている。

1) 表皮形成阻害剤

昆虫の表皮は、キチン、タンパク質などから構成されるが、脱皮や変態の際には古い表皮は分解され、新しい表皮が合成される。表皮の主成分のキチンはグルコースから UDP-N-acetylglucosamine (UDP-AGA) を経て、キチン合成酵素により合成されるが、脱皮の際は古い表皮のキチンがキチナーゼによって分解され、生じた UDP-AGA から新しい表皮のキチンが合成される (図6-1)。表皮形成阻害剤は何らかの形でキチンの合成を阻害する、特に昆虫の正常な脱皮を阻害して、昆虫を死亡させるため脱皮阻害剤とも呼ばれる。

代表的な表皮形成阻害剤は、benzoylphenylurea 系の化合物で、1970年代の前半にその有効性が明らかにされてから、diflubenzuron, chlorfluazuron, teflubenzuron などが開発、実用化されている。この系統の薬剤は遅効性で、幼虫の脱皮を阻害し、成虫には全く効果がない。チョウ、ガ、甲虫、ハエ、カの幼虫類には有効であるが、吸収性の口器を持つウンカ、アブラムシ、ダニなどには効果がない。また、哺乳動物に対する毒性が極めて低く、害虫の天敵にも影響が少ないので総合防除においても期待の大きい薬剤である。作用機構としては、UDP-AGA の膜透過を阻害することにより、キチンの合成を阻害しているためではないかと推察されている。

近年、わが国で開発された thiadiazine 化合物の buprofezin は、チョウ、ガ



【図6-1】 昆虫のキチン合成経路

資料：満井 (1989)

の幼虫には全く効果がなく、ウンカ、コナジラミ、ヨコバイ、カイガラムシなどの吸収性の害虫に効果を示す。幼虫の脱皮阻害だけでなく、成虫の産卵抑制や卵の孵化率の低下を引き起こす。UDP-AGA からキチンへの合成過程を阻害することが明らかにされている。

天然の脱皮阻害物質もかなり知られている。*Plumbago capensis* (イソマツ科) から単離された Plumbagin はワタアカミムシのキチン合成酵素の活性を阻害し死亡させる。放線菌から単離された allosamidin はカイコのキチナーゼを阻害し殺虫活性を示す。インドセンダンから得られるアサディラクチンは、昆虫の摂食阻害物質であるが、低濃度では昆虫の脱皮、変態を阻害する。キチンの合成を阻害するのではなく、直接脱皮を引き起こす脱皮ホルモンや前胸腺刺激ホルモンの活性や中枢神経に作用していると考えられている。

2) ホルモン剤

昆虫では約40種類のホルモン剤が知られているが、その大部分は高分子のペプチドであり、幼若ホルモン (JH) と脱皮ホルモンは低分子化合物である。JH と脱皮ホルモンは昆虫の発育・変態を制御している物質であり、応用面における重要性についても早くから注目されている。

昆虫の脱皮や変態は JH と脱皮ホルモンのバランスで制御されている。JH の主要な機能は幼虫の形質の維持であり、脱皮ホルモンの主な機能は脱皮の誘起である。若齢幼虫期間では幼虫の体内の JH の濃度は高く保たれており、脱皮ホルモンの作用により幼虫脱皮が起こる。終齢になると体液中に出現した JH 分解酵素の働きにより、JH 濃度が低下し、変態を引き起こして、蛹化、成虫化が起こる。

したがって、幼虫から蛹へ変態する時期に JH を外部から投与してやると、正常な蛹化や成虫化を妨げられ死亡する。また JH を卵へ投与するとその発育を阻害し、致死作用を示す。JH は成虫期に加害するハエやカの防除には適しているが、若齢幼虫期の加害が主体となる農作物害虫の防除には不向きであると考えられている。しかし、代表的な殺虫剤である有機リン剤に比べ微量で効力を発揮する。現在では、天然の JH よりはるかに強力な JH 活性をもつ化合

物が発見されており, methoprene, pyriproxyfen, fenoxycarb などが実用化されている。methoprene はハエやカの発生源における防除に用いられている。

3) 抗ホルモン剤

ホルモンの作用を阻害する物質も害虫防除に利用できる可能性がある。JH はアラタ体から分泌されるが, 若齢幼虫期にアラタ体を除去すると早熟変態が引き起こされる。これと同様の効果を持つ化合物を抗幼若ホルモン剤 (Anti-JH) と称する。1976年にオオカッコウアザミから発見された Precocene 1 および2は, カメムシの一種に幼虫の早期変態, 成虫の卵成熟の抑制, 不妊化, 性フェロモン生産の抑制, 休眠の誘導, 殺卵などの活性を示した。これは Precocene が体内でアラタ体を破壊するためであることが明らかとなった。Anti-JH としては体内における生合成を阻害する物質も有望であると考えられ, 現在その方面の研究も進んでいる。JH は昆虫の体内で HMCCoA からメバロン酸, farnesoic acid を経て, 最後に末端の二重結合を酸化 (エポキシ化) することにより合成される (図6-2)。

微生物の生産物である compactin と monacolin K や Fluoromevalonate (FMev) は JH の生合成を阻害するが, いずれも活性が弱い。一方, Imidazole の誘導体の KK-42がカイコの幼虫に対し強い活性を示し, 早熟変態をもたらした。

昆虫の脱皮ホルモン Ecdysone は, 体内で植物由来のsitosterol などから cholest-

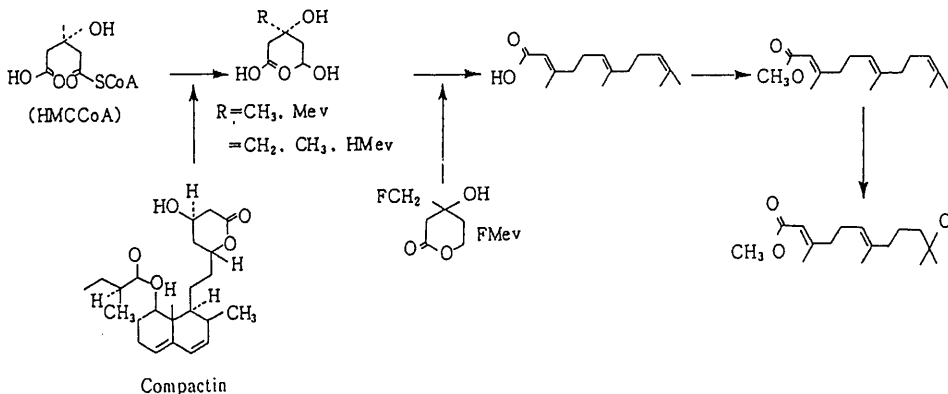


図6-2 幼若ホルモンの生合成経路

資料: 満井 (1989)

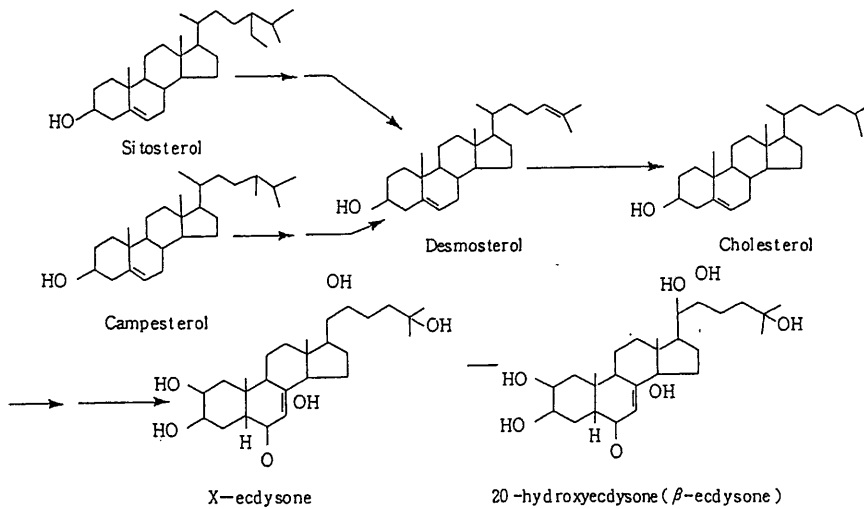


図 6-3 脱皮ホルモンの生合成経路

資料：満井（1989）

terol を経て合成される(図 6-3)。22,25-diazacholesterol や前述した KK-42 が Ecdysone の生合成阻害をすることが報告されており、IGR としての期待が持たれている。また Ecdysone と全く異なる化学構造でありながら、Ecdysone と同様の活性を昆虫に示す物質 (Agonists) が最近見出され、やはり IGR としての利用が注目されている。

(2) 害虫防除におけるバイオテクノロジー

害虫防除の分野におけるバイオテクノロジーの応用は、ほとんど昆虫の病原微生物を対象としている。つい10年前は夢物語にすぎなかった遺伝子操作が可能となり、現在猛烈な勢いで研究が進展している。しかし大部分の研究が民間企業で進められているため、公表されている知見はそれほど多くはない。

遺伝子操作のためには、当然のことながら、微生物の遺伝子の塩基配列の解明や遺伝子導入技術の開発が必要である。ここではこのような基盤研究の上に立って研究が進展している *Bacillus thuringiensis* とバキュロウイルスを対象とする研究を中心に紹介する。

1) *Bacillus thuringiensis* の利用

Bacillus thuringiensis (以下BT) は、わが国ではカイコの卒倒病の病原菌として知られている。BTは殺虫性タンパク質(結晶毒素=CP)を産生する。CPは昆虫が食下後その消化液で分解されてまずプロトキシン(δ -エンドトキシン)になり、さらに分解されて毒性を発現する。CPに感受性の強いカイコの場合、食下後15分で摂食の停止が起こり、その後吐液、下痢を伴いつつ3, 4時間で完全に麻痺し、死に至る。BTには30種類以上の亜種があり、それらの産生するCPにもチョウ、ガの幼虫に効くもの、カに効くもの、甲虫に効くものなど種々のタイプが発見されている。BTのkurstaki HD-1株は1965年にアメリカで農薬登録がなされ、市販が始められた。わが国においても殺芽胞BT剤の市販が認められている。

BTのCPの生成は単一の遺伝子により支配されており、しかも遺伝子はプラスミド上に存在する。BTのCP遺伝子のクローニングはH.E. シュネップ・H.R. ホワイトレー(1981)により、初めて成功した。さらに1985年以降はCP遺伝子の塩基配列が次々と決定されるに至っている。

プラスミド：細菌のゲノムのDNAとは独立に細胞内に存在する自己複製能を持つ環状DNA。組換えDNA実験においてベクターとしてよく利用される。

クローニング：異種の生物のDNAをベクターを用いて微生物の体内に導入し、均一なDNAの集団(クローン)を大量に得ること。

このような基盤研究の上に乗って、BTのCP遺伝子の遺伝子組換えによる他の生物への導入が試みられるようになった。

アメリカのモンサント社では、土壌中の根圏に生息する細菌の一種 *Pseudomonas fluorescens* にBTのKurstaki株のCP遺伝子の導入が行われた。これは拮抗微生物の利用法と同様に、組換え微生物を種子にまぶしたり、土壌中に接種することにより、土壌害虫から保護しようというものである。CP遺伝子は、他の微生物への伝達を避けるため、*P. fluorescens* のプラスミドではなく、トランスポゾンを利用して染色体上に導入された。また、カの防除に利用するため、水中を浮遊しカの餌となっているラン藻の一種である *Anabaena* にBTのCP遺伝子の導入が試みられている。

トランスポゾン：ある染色体から他の染色体へ移動する遺伝子単位。動く遺伝子ともいわれる。トウモロコシの斑入り現象の因子として最初に発見された。

遺伝子組換えではないが、CP 遺伝子がプラスミド上にあることを利用して、接合によりプラスミドを移動させ、より多くの種類の害虫に効果があり、殺虫効力の高い系統が育成されている。アメリカのエコゲン社では最近このような手法でコロラドハムシ用の BT の系統を作成した。

遺伝子組換えの別の試みとして、CP 遺伝子を作物に導入し、CP を持つ耐虫性作物を作出するための研究が活発に行われている。1987年にベルギーの Plant Genetie Systems 社は BT の berliner 1715株の CP 遺伝子を Ti プラスミドを利用してタバコに導入し、発現させることに成功した。CP 遺伝子を組み込まれた 4 系統のタバコのうち、3 系統がスズメガの一種 *Manduca sexta* の幼虫に高い毒性と耐性を示した。最も強い耐性を持つタバコでは、幼虫は18時間以内に摂食を停止し、3日以内に死亡した。毒素産生能力は、F₁にも発現することも明らかとなった。

この画期的な成果に引き続いて、アメリカではトマトやワタに BT の CP 遺伝子を発現させることに成功している。現在欧米では BT を組み込んだ植物の野外試験が行われており、ここ数年のうちにこのような組換え植物が市場に出回るものと期待されている。

2) プロテアーゼ阻害因子の利用による耐虫性作物の作出

BT の毒素の遺伝子を植物に導入する場合は、毒素の効果が害虫に対し特異性が高いため、実用的には限界がある。そこで植物が多くの種類の昆虫に対して抵抗性を示す場合のメカニズムを利用することが考えられる。カウピーのマメゾウムシに対する抵抗性は、トリプシンの阻害因子 (CpTI) の種子中含量と比例することが知られている。

プロテアーゼ：タンパク質分解酵素の総称。タンパク質のペプチド結合を加水分解する。トリプシンは代表的なプロテアーゼである。

また、CpTI はヤガ類などを含む多くの重要害虫にも抗生作用をもつことが野外試験により示された。CpTI の遺伝子が Ti プラスミドのバイナリーベクタ

ーに挿入され、タバコに導入された。タバコガの一種の *Heliothis virescens* の幼虫に1週間、組換えタバコの葉を摂食させたところ、最も高濃度の CpTI タンパクが生成されたタバコでは、ほとんど生成されなかったタバコに比べ、食害されたタバコの面積率が30%も低く、幼虫の生存率も半分以下であった。CpTI と同様に他の植物のプロテアーゼの阻害因子を利用した耐虫性作物の作出が期待される。

3) バキュロウイルスの利用

次項の有用物質の生産では、バキュロウイルスベクター系が種々のタンパク等の生産には非常に優れた系であることが説明されている。ごく最近になって、バキュロウイルスベクター系が害虫防除の分野でも利用されるようになってきた。

昆虫の幼虫が最終齢になって蛹化する直前には摂食を停止する。この際、昆虫の体内で幼若ホルモン (JH) を分解する酵素 (JHE) の濃度が非常に高まっている。もし十分な量の JHE をより若い幼虫の体内に存在するようにすれば、摂食停止に導くことができるはずである。キンウワバの一種の核多角体病ウイルス (AcNPV) のベクター系を利用して、ヨトウの一種 *Spodoptera frugiperda* の培養細胞中に JHE 遺伝子を持つウイルスが導入された。接種後、10時間で培養細胞内で JHE の生産が始まり、48時間で最高に達した。培養細胞から抽出した JHE を *Manduca sexta* の幼虫に注射したところ、次の齢で体色が黒変した。これは JHE が JH の活性を阻害したことを示している。また、組換えたウイルスを感染させたウワバの一種 *Trichoplusia ni* の1齢幼虫は摂食活動が大幅に低下し、発育も遅れた。

ベクター：組換え DNA 技術において目的の遺伝子を宿主に導入するための運び役を指す。プラスミドやウイルスがよく利用される。

BT の毒素の遺伝子のバキュロウイルスへの組込みも試みられており、組換えウイルスの生産する毒素は害虫の死亡を早めた。

4) 組換え生物の安全性確保について

害虫防除における利用をねらいとして作られた組換え生物は当然、将来は開放系において利用されることになる。組換え生物の閉鎖系における利用ではヒトに対する安全性が中心になるのに対し、開放系では、むしろ組み込まれた DNA の他の生物への伝達、組換え生物の野外における異常繁殖などが懸念される。この場合、そのリスクの評価だけでなく、リスクの管理も問題となる。組換え生物のうちでも、家畜類や植物は、自然交配、他の生物による組み込まれた DNA の媒介・伝達を防止する必要がある。組換え微生物の場合は目に見えないため、より技術的に問題が多く、組換え体の野外における検出手法、管理手法について技術開発を早急に進める必要に迫られている。また、現段階では組み込まれた遺伝子は、ほとんどの場合、BT にしろバキュロウイルスにしろ、すでに多くの国で野外で利用されているか、存在している生物に由来している。そのような遺伝子が仮に他の生物に伝達されてもそんなに影響が出るとは考えにくい。そのような問題も含め、今後は開放系における組換え生物の生態学の研究がより重要となるであろう。

3 有用物質の生産

(1) 昆虫ウイルスを利用した有用物質生産系

核多角体病ウイルス (Nuclear Polyhedrosis Virus : NPV) は、バキュロウイルス科 (Baculoviridae) に属する昆虫病原ウイルスである。このウイルスは、エンベロープを持つ 2 本鎖 DNA ウィルスで、その名が示すとおり、感染細胞の核内に多角体と呼ばれる多角形をしたウイルスタンパク質の結晶を作るというユニークな性質を持っている (写真 6-1a)。この多角体の内部には多数の棒状のウイルス粒子が包埋されている (写真 6-1b)。

エンベロープ：ウイルスのコートタンパク質の外部にある脂質とタンパク質から成る膜。

カイコなど鱗翅目昆虫では、NPV は以下のような経路で感染、増殖および

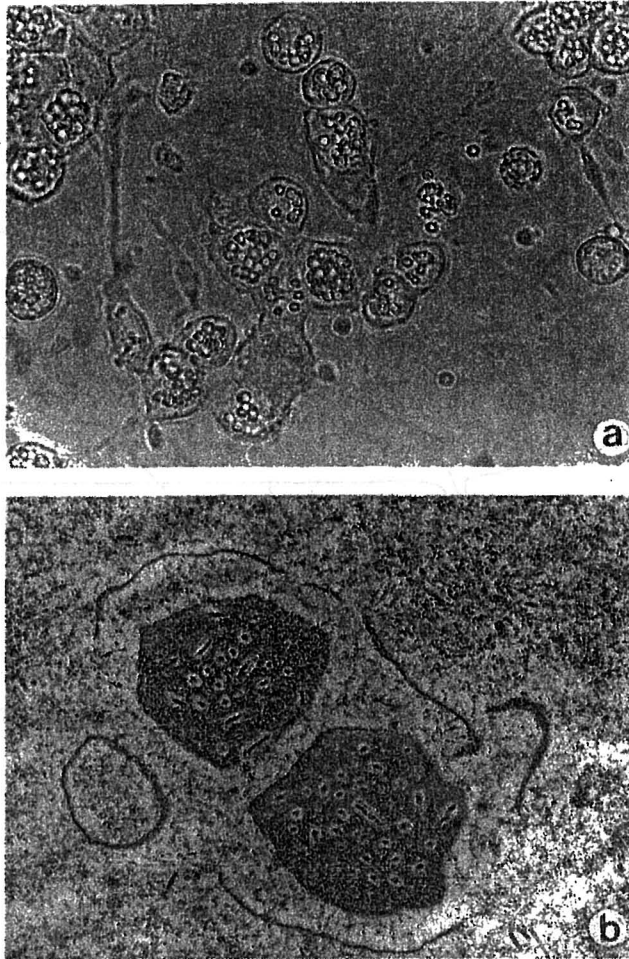


写真6-1 カイコ培養細胞核内に形成された多角体
(a): 光学顕微鏡像, (b): 電子顕微鏡像 (井上 元 写真提供)

伝播していく(図6-4)。まず、多角体の付着した食物を幼虫が食下すると、多角体はアルカリ性の消化液中で分解され、感染性のウイルス粒子が放出される。ウイルス粒子は、消化管壁から体内に侵入し(1次感染)、さらに脂肪体、真皮、気管皮膜、血球、神経、脳などほとんどあらゆる組織に感染(2次感染)する。感染後期には、成熟したウイルス粒子を包埋した多数の多角体が感染細胞核内に形成される。この時期に多角体を構成する多角体タンパク質が細胞の全タンパク質に占める割合は20~30%に達する。

その後感染個体は病死し、病死体から飛散した多角体は、周辺の食物に付着する。多角体は野外において非常に安定性が高く、内部のウイルス粒子を紫外

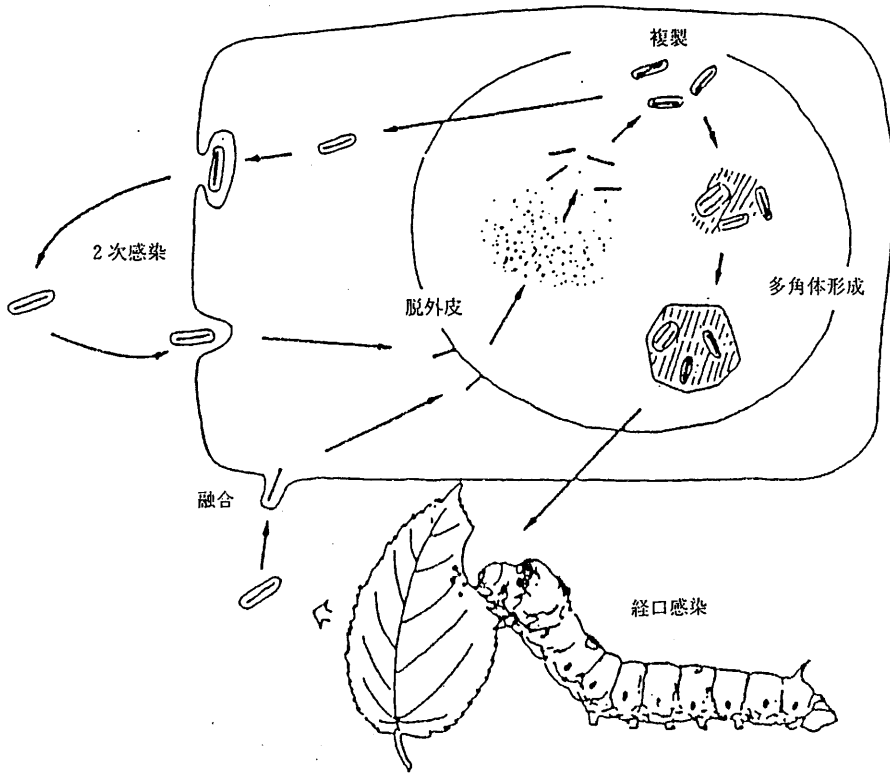


図6-4 核多角体病ウイルスの感染経路
資料：前田（1989）を一部改変

線などの不活化要因から守ることができる。そのため、多角体が幼虫に摂食されて消化液で分解されるまで、ウイルス粒子は活性を保ち続けることができるのである。

G.E. スミスら（1983）は、NPVが、優れたタンパク質生産能力を有することに着目して、有用タンパク質の生産に利用しようと試みた。その結果、ヤガ科の昆虫 *Autographa californica*（キンウワバの一種）に感染する核多角体病ウイルス (AcNPV) から、多角体タンパク質の代わりにヒトの β -インターフェロンを生産する組換えウイルスを作出することに成功した。

インターフェロン：動物の体内でリンパ球などが生産する生理活性タンパク質。抗ウイルス性、抗ガン性を持つ物質として注目されている。

一方、前田ら（1985）は、スミスらと同じ方法を用い、カイコの核多角体病ウイルス (BmNPV) にヒトの α -インターフェロンを生産させることに成功し

た。ただし、AcNPV の場合には、組換えウイルスによるタンパク質の生産がヨトウガ *Spodoptera frugiperda* 由来の培養細胞 (Sf 細胞) で行われたのに対し、BmNPV では、カイコの培養細胞 (BmN 細胞) のみならず、カイコ幼虫体でも α -インターフェロンが生産された。生産量を比較したところ、幼虫体液中の生産物濃度は、培養液中の濃度よりも約20倍高かった。

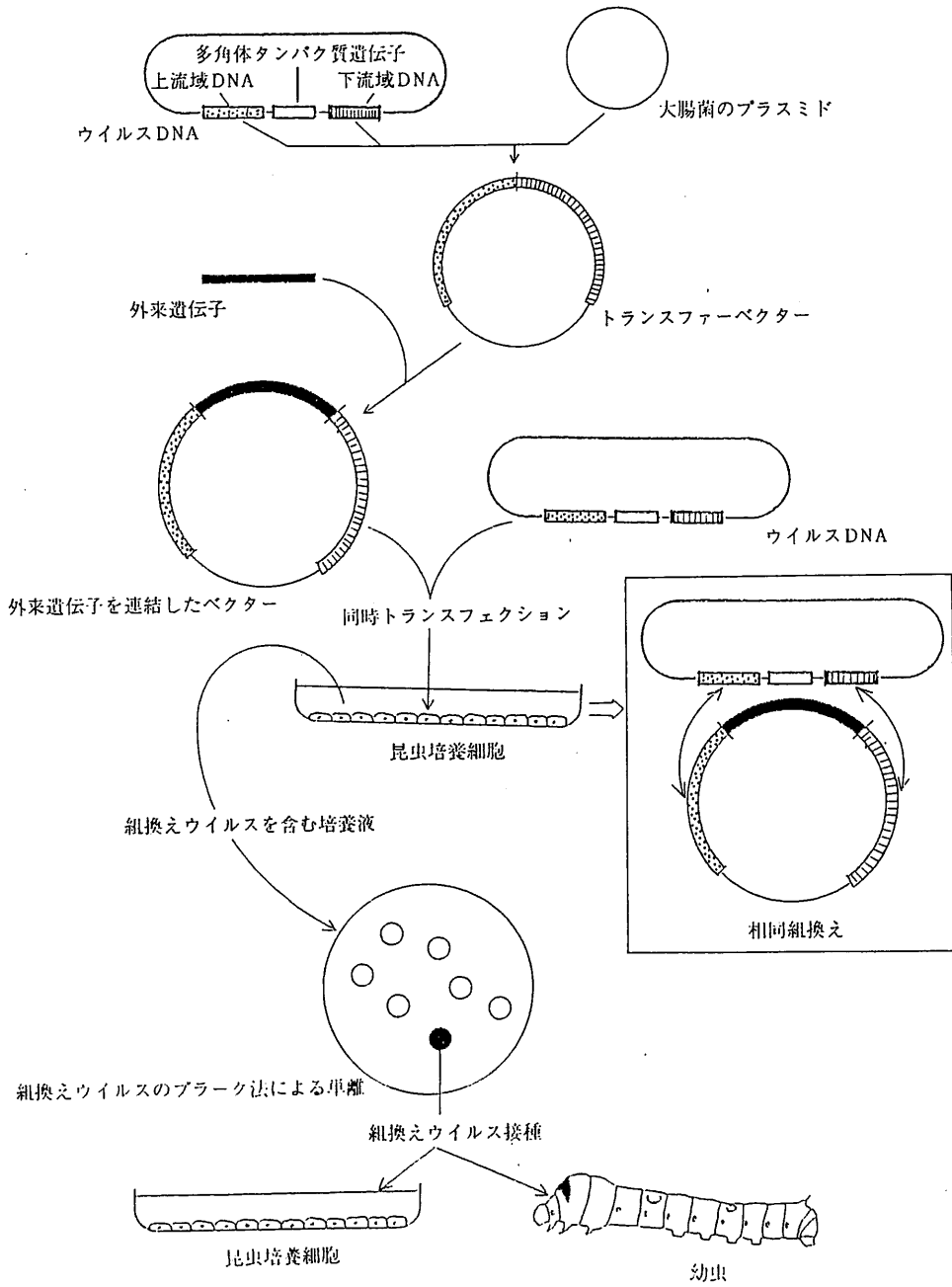
スミスらおよび前田らが組換えウイルス作出に用いた手法は、その後いくつかの改良はあったものの基本的には現在も同じである (図6-5)。その原理は、NPV の多角体タンパク質遺伝子のプロモーターの下流に外来遺伝子を挿入した組換えウイルスを作り、多角体タンパク質の代わりに外来遺伝子産物を生産するというものである。ただし、現実にはNPV の全 DNA は、130キロベースと非常に長く、直接外来遺伝子を目的とする場所に挿入することは不可能である。したがって、まず、多角体タンパク質遺伝子上流のプロモーターを含む DNA フラグメントと下流のフラグメントを大腸菌のプラスミドにクローニングし、さらにそれら二つのフラグメントの間に外来遺伝子を挿入するためのクローニングサイトを付加したトランスファーベクターを構築しなければならない。

このトランスファーベクターに外来遺伝子を組み込み、ウイルス DNA と一緒に培養細胞へトランスフェクションすると、培養細胞の核内でトランスファーベクターとウイルス DNA の相同な塩基配列の部分、すなわち多角体タンパク質遺伝子上流域と下流域で組換え (相同組換え) が起こり、多角体タンパク質遺伝子と外来遺伝子が入れ替わる。

トランスフェクション：動物の組織培養細胞の中に直接 DNA を導入する方法。

このようにしてできた組換えウイルスは多角体を作ることができないので、プラークが透明になるが、野生型ウイルスの場合には、細胞核内に多量の多角体が形成されるため、プラークが白くなり、両者は容易に識別できる。プラーク法で選別された組換えウイルスは、培養細胞あるいは幼虫へ接種され、そこで外来遺伝子産物が大量に生産されることになる。

NPV が、極めて生産効率のよい遺伝子発現ベクター系になり得た背景には、いくつかの有利な条件が揃っていたことがあげられる。まず、ウイルスのゲノ



昆虫培養細胞および幼虫体における外来遺伝子の発現

図6-5 バキュロウイルスベクターによる外来遺伝子の発現 (著者原図)

ムが環状の2本鎖DNAであること。2本鎖DNAは、制限酵素などを用いる遺伝子工学的手法により、容易に切断・連結などの加工を施せる。次に、ウイルスの感染・増殖が可能な昆虫培養細胞株が樹立されていること。このような細胞がなければ、組換えウイルスの作出や選別が不可能である。そして、多角体タンパク質遺伝子というウイルスの増殖には無関係で、しかも大量にタンパク質を生産する遺伝子が存在すること。前述したように、多角体タンパク質の役割は、ウイルス粒子を守ることであり、このタンパク質がなくても、ウイルスの感染・増殖は正常に行われる。このことは、多角体タンパク質遺伝子が外来遺伝子の挿入に極めて適した遺伝子であることを意味する。その上、多角体タンパク質を作らない組換えウイルスは、野外で迅速に不活化されるため安全性の点でも優れている。

このような利点に加え、BmNPVの場合、既存の養蚕システムの援用により、カイコの幼虫を用いた大規模な有用タンパク質生産システムへ発展させることが可能である。一方、AcNPVにおいては、培養細胞を無血清培地で大量培養することにより、生産性の向上を図っている。

これまでに、数多くの外来遺伝子産物が、AcNPVあるいはBmNPVを用いた“バキュロウイルスベクター系”により生産されている(表6-1)。このベクター系の最大の長所は、発現した遺伝子産物が、本来有していた生物学的特性を保持した形で大量に得られる点にある。すなわち、タンパク質量当たりのDNA結合性、酵素活性、抗原性および免疫原性などの生物学的特性が、本来のものとはほとんど変わらないのである。したがって、本ベクター系は医薬物の生産に極めて適しており、実際、インターフェロンやインターロイキンなどのサイトカイン、種々のウイルス病の診断あるいは治療に必要なワクチン開発のためのウイルスタンパク質、癌遺伝子産物などが作られてきた。

インターロイキン：白血球相互間のシグナル物質。多様な活性を示すタンパク質で免疫に重要な働きをしている。

サイトカイン：高等動物のリンパ球、マクロファージなどから分泌され、免疫系や造血系に作用しその増殖、分化などを制御するタンパク質因子の総称。

これとは対照的に、大腸菌を用いた遺伝子発現ベクター系では、大量に遺伝

表 6-1 バキュロウイルスベクターによる

遺 伝 子	種 類	大 き さ (bp)	タンパク質 (分子量)
Bluetongue ウイルスの中和抗原 VP2, VP3	cDNA	2,800	93 K
	cDNA	2,800	92.5 K
ショウジョウバエの Krüppel 遺伝子産物	cDNA	—	72 K
大腸菌の chloramphenicol acetyl transferase	ゲノムDNA	785	27 K
大腸菌の β -galactosidase 融合タンパク質	ゲノムDNA	9,200	120 K
大腸菌の β -galactosidase	ゲノムDNA	3,000	110 K
B型肝炎ウイルスのコア抗原	cDNA	572	25/22 K
B型肝炎ウイルスの表面抗原	cDNA	1,236	29/25 K
ヒトの c-myc プロトオンコジーン	cDNA	—	64/61 K
ヒトの colony stimulating 因子 I	cDNA	—	34 K
ヒトの α -インターフェロン	—	—	19.5 K
ヒトの β -インターフェロン	ゲノムDNA	780	17/20.5 K
HIV の env	cDNA	2,700	150/120- 130/41 K
〃	cDNA	—	160/120 K
HIV の gag	cDNA	1,818	55/40 K
HIV の gag-pol	cDNA	3,114	24/55/40 K
HTLV-1 の p40 ^x	cDNA	1,750	40 K
ヒトのインターロイキン-2	cDNA	1,000	16/15.5 K
ヒトバラインフルエンザウイルス 3 型の hemagglutinin-neuraminidase	cDNA	1,716	70 K
インフルエンザウイルスの polymerase PA	cDNA	2,200	87 K
インフルエンザウイルスの polymerase PB1	cDNA	2,300	93 K
インフルエンザウイルスの polymerase PB2	cDNA	2,300	85 K
インフルエンザウイルス (ニワトリペスト ウイルス) の hemagglutinin	cDNA	1,750	—
インフルエンザウイルス (A/P R/8/34) の hemagglutinin	cDNA	—	65 K
リンパ球性脈路髄膜炎ウイルスの糖タンパク質 前駆体, G P C	cDNA	3,300	72 K
リンパ球性脈路髄膜炎ウイルスの核タンパク質, N	cDNA	3,300	62 K
アカバシカビの activator タンパク質	ゲノムDNA	2,900	100 K
インゲンマメの phaseolin	cDNA	1,400	51/45 K
ポリオーマウイルスの T 抗原	cDNA	—	100 K
仮性狂犬病ウイルスの gp50	—	—	46 K
Punta Toro phlebovirus の N	cDNA	1,900	27 K
Punta Toro phlebovirus の Ns	cDNA	1,900	26 K
Simian rotavirus SA11 のキャプシッド抗原 VP6	cDNA	1,397	41 K
SV40 の T および t 抗原	ゲノムDNA	2,702	19 K
ジャガイモの patatin	cDNA	1,400	40 K

資料: Luckow, V.A. and M.D. Summers (1988) BioTechnology, 6, pp. 47-55 を一部改変。

注: — は、データの記載がなかったか、あるいは不明であることを示す。

外来遺伝子の発現

生 物 学 的 特 性
抗原性, 免疫原性 (VP2), 中和反応 (VP3)
DNA 結合性, 抗原性, リン酸化, 核局在性
CAT 活性, 抗原性
β -galactosidase 活性
β -galactosidase 活性, 抗原性
抗原性
抗原性, 糖鎖の付加, リボタンパク質粒への集合性
抗原性, リン酸化, 核局在性
CSF-I 活性, 抗原性, 糖鎖の付加, 分泌性, 2 体形成
インターフェロン活性, 抗原性, シグナルペプチドの切断, 分泌性
インターフェロン活性, 抗原性, 糖鎖の付加, シグナルペプチドの切断, 分泌性
抗原性, 糖鎖の付加, タンパク質分解過程
抗原性, 免疫原性, 糖鎖の付加
抗原性, タンパク質分解過程
抗原性, タンパク質分解過程
HTLV-1 の LTR プロモーターのトランス活性化, 抗原性, リン酸化, 核局在性
インターロイキン-2 活性, 抗原性, シグナルペプチド切断, 分泌性
血球凝集性, 血球吸着性, 抗原性, 免疫原性, 中和反応, 感染予防, 糖鎖の付加, 細胞膜局在性
抗原性
抗原性, PB1-PB2 複合体形成
抗原性, PB1-PB2 複合体形成
血球凝集性, 血球吸着性, 血球分解活性, 抗原性, 免疫原性, 中和反応, 感染予防, 糖鎖の付加, タンパク質分解による切断, 細胞膜局在性
血球凝集性, 血球吸着性, 糖鎖の付加, タンパク質分解による切断, 細胞膜局在性
抗原性, 糖鎖の付加, 細胞膜局在性
抗原性
部位特異的 DNA 結合性
抗原性, 糖鎖の付加, 分泌性
複製開始点特異的 DNA 結合性, 抗原性
抗原性, 免疫原性, 感染予防, 糖鎖の付加
抗原性, 免疫原性, 中和反応
抗原性, 免疫原性
抗原性, 免疫原性, オリゴマー形成
抗原性, t のスプライシング
lipid acyl hydrolase 活性, acyl transferase 活性, 抗原性

子産物を生産させることは可能であるが、多くの場合遺伝子産物が不溶性で、しかも生物学的に不活性である。バキュロウイルスベクター系と大腸菌の系における産物のこのような質的違いは、前者が真核生物である昆虫の細胞で発現するのに対し、後者は原核生物で発現することに起因している。多くの真核生物のタンパク質は、転写後、さらに糖鎖や脂肪酸の付加、リン酸化およびペプチドの切断などの修飾や加工を受けて、生物学的活性を示すようになる。ところが、原核生物である大腸菌には、このような転写後の修飾機構がないため、活性を持つ遺伝子産物が得られないのである。

転写：DNAの塩基配列をmRNAやtRNAに写し替える過程。

以上述べてきたように、バキュロウイルスベクター系が、非常に優れた遺伝子発現ベクター系であることは間違いない。ただし、まだ改善の余地も残されている。例えば、生産効率の問題があげられる。この発現系により大量の遺伝子産物が得られ

るとはいても、外来遺伝子産物の生産量は、一般的に本来の遺伝子産物である多角体タンパク質の生産量の数パーセントにすぎない。この点を改善する方法の一つの方法としては、多角体タンパク質遺伝子の一部を外来遺伝子と融合させることにより、融合タンパク質を生産させる方法がある。この方法により生産量はある程度まで高まるが、場合によっては、融合タンパク質が不溶化し、本来の遺伝子産物の有する生物学的活性を失うこともある。また、遺伝子産物の種類によって、生産量は大きく異なる。すなわち、核タンパク質の生産量が量も多く、分泌性タンパク質が中程度、そして膜タンパク質はかなり少ないという傾向が一般的に認められる。

また、多角体タンパク質遺伝子の上流域の DNA 塩基配列による遺伝子発現量の調節機構も徐々に解明されつつある。すなわち、翻訳開始点から約50塩基ほど上流にある転写開始点の TAAGTATT という配列がないとほとんど遺伝子が発現しなくなることや、転写開始点と翻訳開始点の間の塩基配列にも発現を高める作用があることが明らかにされている。したがって、これらの上流域の配列に関して、既存のトランスファーベクターは、できる限り本来の配列を残す形で作られている。ところが、最近、翻訳開始点からさらに12~22塩基上流の配列を変化させると、本来の配列のときよりも発現量が増すことが判明した。将来、この領域の塩基配列を改良することにより、ベクター系によるタンパク質の生産量を飛躍的に高めることができるかも知れない。

翻訳：mRNA の塩基配列を 3 塩基ずつ読み取り、アミノ酸の配列としてタンパク質を合成する過程。

プロモーター：DNA の転写過程において、DNA の配列のうち、RNA 合成酵素が結合し転写の開始を決定する部分。

以上のような生産効率に関する諸問題を改善するとともに、ウイルスの弱毒化、あるいは、細胞の染色体 DNA へのウイルス DNA の組込みによって、細胞を殺さずに、永続的に有用タンパク質を生産できる系を構築したり、大腸菌と昆虫細胞の両方で増殖できるシャトルベクター、いかなる遺伝子産物でも細胞の外に分泌してくれる分泌型ベクター、ならびにタンパク質生産にとって必要最小限の遺伝子だけを持ち、直接外来遺伝子を挿入できるようなウイルスと

トランスファーベクターのハイブリッド型ベクターなどを作出することにより、バキュロウイルスベクター系は、生産性と使いやすさのいずれにおいても、ますます優れたものになることが期待される。

(2) 昆虫生産物の利用

絹とハチミツは、太古より人間に利用されてきた二大昆虫生産物であり、現在でも、その地位は不動である。特に、絹においては、衣料素材のみならず、釣り糸、医療用縫合糸、邦楽器用絃などさまざまな用途が考案されてきている。また、その一方では、新しい昆虫生産物の利用もいろいろ考えられている。

例えば、シロアリなど食材性昆虫の消化液中に含まれるセルロース分解酵素は、未利用資源であるセルロースの有効利用に役立つ可能性を秘めている。また、昆虫の体壁などを構成するキチンも、今のところ未利用資源であるが、将来有効な利用法が開発されれば、昆虫の生物資源として価値は大いに高まるであろう。その他、ホタルの化学発光を起こす酵素のルシフェラーゼは、微量でも発光反応により極めて高感度に検出できることから、最近ルシフェラーゼ遺伝子をリポーター遺伝子とした遺伝子発現のアッセイ系に利用されている。

今後、昆虫の生体機能に関する研究の進展に伴って、さまざまな昆虫生産物に対する理解が深まり、新たな利用法が開発されるであろう。

4 おわりに

今後の昆虫機能に関する新技術開発においても、ここに述べた以上の新たな展開が期待される。害虫防除の分野では、植物への他生物の遺伝子導入技術がますます容易となり、多くの組換え体の耐虫性植物が育成されるであろう。またもう一つの方向として、昆虫にJHEの遺伝子をウイルスベクターを利用して導入したように、昆虫の生理機能を支配している重要な要素である、ホルモン、フェロモンなどの機能を遺伝子レベルから制御する試みが考えられる。昆虫の生体機能そのものの活用については、ここで述べた有用物質の生産は一つ

の重要な展開方向であるが、それ以外にも昆虫の神経系、内分泌系、代謝系の機能の研究は、哺乳動物とは全く異なる有用な知見を提供し、将来はバイオリアクタ、バイオセンサの開発、生体工学の分野において新たな発展をみるものと期待される。そのためには、昆虫をモデル生物として利用するための基盤的研究の進展が急がれる。

参考文献

- [1] Broussard, D. R. and M. D. Summers : *J. Invert. Pathol* 54, 1989, pp. 144-150.
- [2] Cohen, E. : *Ann. Rev. Entomol* 32, 1987, pp. 71-93.
- [3] de wet, J. R., K. V. Wood, M. DeLuca, D. R. Helinski and S. Subramani : *Mol. Cell, Biol* 7, 1987, pp. 725-737.
- [4] Hammock, B. D., B. C. Bonning, R. D. Possee, T. N. Hanzlik and S. Maeda : *Nature* 344, 1990, pp. 458-461.
- [5] Hilder, V. A., A. M. R. Gatehouse, S. E. Sheerman, R. F. Barker and D. Boulter : *Nature* 330, 1987, pp. 160-163.
- [6] 飯塚敏彦 : 化学と生物 27, 1989, pp. 287-296.
- [7] 伊藤洋・鈴木隆之・貝沼圭二 : 化学と生物 28, 1990, pp. 182-196.
- [8] 桑野栄一・八木繁実 : バイオ農薬・生育調節開発利用マニュアル, エル・アイ・シー (東京), 1987, pp. 278-292.
- [9] Luckow, V. A. and M. D. Summers : *BioTechnology* 6, 1988, pp. 47-55.
- [10] Maeda, S. : *Ann. Rev. Entomol* 34, 1989, pp. 351-372.
- [11] Maeda, S., T. Kawai, M. Obinata, H. Fujiwara, T. Horiuchi, Y. Saeki, Y. Sato and M. Furusawa : *Nature* 315, 1985, pp. 592-594.
- [12] Marumoto, Y., Y. Sato, H. Fujiwara, K. Sakano, Y. Saeki, M. Agata, M. Furusawa and S. Maeda : *J. Gen. Virol* 68, 1987, pp. 2599-2606.
- [14] Matsuura, Y., R. D. Possee, H. A. Overton and D. H. L. Bishop : *J. Gen. Virol* 68, 1987, pp. 1233-1250.
- [14] Meeusen, R. L. and G. Warren : *Ann. Rev. Entomol* 34, 1989, pp. 373-381.
- [15] 満井喬 : 関東東山病害虫研究会年報 36, 1989, pp. 1-8.
- [16] Nyunoya, H., T. Akagi, T. Ogura, S. Maeda and K. Shimotohno : *Virology* 167, 1988, pp. 538-544.
- [17] Ooi, B. G., C. Rankin and L. K. Miller : *J. Mol. Biol* 210, 1989, pp. 721-736.
- [18] Payne, C. C. : *Phil. Trans. R. Soc. Lond B* 318, 1988, pp. 225-248.
- [19] Possee, R. D. : Abstract of "International Symposium on Molecular Insect Science", 1989, p. 84.

- [20] Rankin, C., B. G. Ooi and L. K. Miller : *Gene*, 1988, pp. 39-49.
- [21] Schnepf, H. E. and H. R. Whiteley : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78, 1981, pp. 2893-2897.
- [22] Staal, G. B. : *Ann. Rev. Entomol.* 20, 1975, pp. 417-460.
- [23] Staal, G. B. : *Ann. Rev. Entomol.* 31, 1986, pp. 391-429.
- [24] Smith, G. E., M. D. Summers and M. J. Fraser : *Mol. Cell. Biol.* 3, 1983, pp. 2156-2165.
- [25] Vaeck, M., A. Reynaerts, H. Höfte, S. Jansens, M. De Beuckeleer, C. Dean, M. Zabeau, M. Van Montagu and J. Leemans : *Nature* 328, 1987, pp. 33-37.
- [26] Maeda, S. : Gene transfer vectors of a baculovirus, *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus, and their use for expression of foreign genes in insect cells. in "Invertebrate Cell System Applications vol. 1 (ed. by Mitsuhashi, J.)". CRC Press, 1989, pp. 167-182.