

医療用有用タンパク質の生産を目指した 組換えカイコの作製と展開

瀬筒 秀樹, 立松 謙一郎

近年、国産の医薬品創出およびバイオ医薬品生産関連技術の開発が望まれており、わが国発のバイオ医薬品の生産基材としてのカイコに期待が寄せられている。世界に先駆けて我々が2000年に開発した遺伝子組換えカイコの作製技術は、昆虫の生物機能解明や、高機能シルク開発や医療分野への応用が進んでいる。カイコは家畜化されており、扱いやすい大型昆虫であり、大量の絹タンパク質を生産する能力を持つ。その優れた特性に着目し、有用タンパク質を生産させる技術開発が進み、体外診断薬や化粧品はすでにいくつか販売され、バイオ医薬品の生産基材としての評価や品質管理上の要件の検討も行われている。世界文化遺産となった富岡製糸場に象徴される従来の伝統的な養蚕技術と、新しいバイオ技術を組み合わせ、わが国発の昆虫新産業を創出することが望まれる。

1. はじめに

近年、バイオ医薬品等の医療用有用タンパク質の新しい生産基材（宿主）として、カイコが注目されている。バイオ医薬品は、遺伝子組換え技術等のバイオテクノロジーを利用した医薬品であり、1980年代にヒトインスリンや成長ホルモンが開発され、インターフェロン、抗体等が実用化されており、また、バイオ後続品（バイオシミラー）や、従来品を改良したバイオバターの開発も進み、今後も急増すると予想される。しかし、日本では医薬品は1.6兆円の輸入超過の状態にあり（貿易統計2012より）、国産医薬品の創出および国産のバイオ医薬品生産関連技術の開発が望まれている。これまでバイオ医薬品の生産基材としては、大腸菌、酵母、チャイニーズハムスター卵巣由来細胞（CHO細胞）等が利用されてきたが、近年では、植物・昆虫由来の培養細胞やイチゴ・イネ等の遺伝子組換え植物、

（独）農業生物資源研究所遺伝子組換え研究センター遺伝子組換えカイコ研究開発ユニット（〒305-8634 茨城県つくば市大わし1-2）

Development of transgenic silkworms producing recombinant protein and its clinical application

Hideki Sezutsu and Ken-ichiro Tatematsu (Transgenic Silkworm Research Unit, Genetically Modified Organism Research Center, National Institute of Agrobiological Sciences, 1-2 Owashi, Tsukuba, Ibaraki 305-8634, Japan)

さらにカイコの生体（遺伝子組換えカイコおよびバキュロウイルス発現系）の利用と実用化も進んでいる。

カイコは、古来より絹糸生産に利用され、完全に家畜化された昆虫である。大量の絹というタンパク質を効率的に生産する能力に着目し、2000年に当研究所の田村らがカイコでの遺伝子組換え技術を開発¹⁾して以来、有用タンパク質生産系の開発等が行われ、近年急速に進展している。また、養蚕業は日本の経済発展を支えた産業であり、わが国には養蚕や育種等に関する高度な技術や知識が多く残されている。2014年には富岡製糸場と絹産業遺産群が世界文化遺産に登録されたが、従来の養蚕技術を残すとともに、遺伝子組換え等の新しい技術を組み合わせて医療分野等に進出し、新産業（新蚕業）を創出し発展させることが大いに期待されている。

本稿では、わが国が研究をリードし、すでに検査薬等では実用化に成功している遺伝子組換えカイコを用いた医療用有用タンパク質等の生産技術の開発について、現状と今後の展望を紹介する。

2. カイコの優れた特性

1) カイコの特徴・利点

カイコ（*Bombyx mori*）は約5千年の養蚕の歴史において品種改良が続けられ、最も家畜化（馴化）された生物の一つである²⁾。餌は桑の葉だが、自力では木にも登れず餌

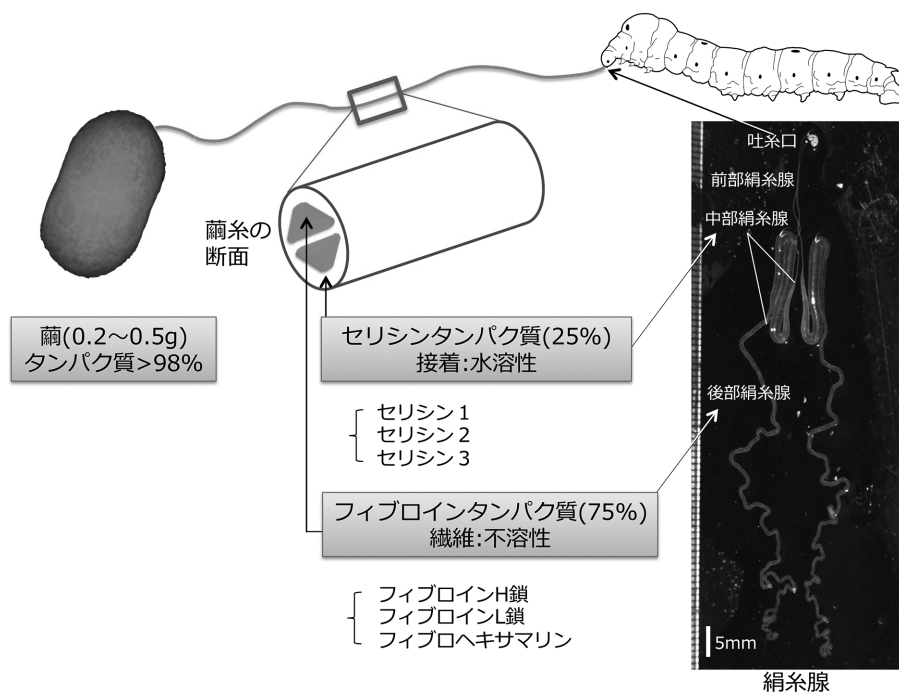


図1 繭, 繅糸タンパク質, 繅糸腺

を採することもできない。大量の絹タンパク質からなる繭を生産する能力を持ち、幼虫はおとなしく、体長が6~8 cmになる大型昆虫であり、成虫も飛べないため、飼育管理が容易である。1,000頭/m²程度の高密度での大量飼育が可能で、桑葉粉末を用いた人工飼料も開発されており、通年・無菌飼育も可能である。高額な飼育設備投資は不要であり、餌は1頭あたり約2円(桑)~20円(人工飼料)ほどで飼育コストも低い。ヒトに感染するウイルス等は確認されておらず、安全な生物である。

わが国には100年以上のカイコの遺伝学の歴史があり、生理学等の研究においても優れた研究が多くなされている。ゲノムが2009年に解読され、遺伝子組換え技術も、昆虫ではキイロショウジョウバエに次いで確立されており、日本が世界をリードしている研究材料といえる。しかしカイコは、相当の知識や経験がないと飼育・継代・研究するのが難しい材料でもあり、未経験者にとっては参入障壁が高い。特に欧米では、すでに養蚕業が廃れたため、なじみの少ない材料であり、カイコという生き物への認知が不足していることが問題であるが、参入障壁の高さや欧米での利用の少なさは、カイコ利用分野をリードできる利点にもなる。

2) 絹タンパク質を大量合成する器官：繅糸腺

カイコは、およそ3週間で約20 gの桑の葉を食べて0.2~0.5 gの絹タンパク質を作るため、非常に効率のよいタンパク質製造工場である²⁾。1世代は6~7週間であり、孵化してから4回脱皮を行って約5 gの5齢幼虫となり、長さ800~1,500 mの長繊維の繅糸を吐いて繭を作る。繅糸の約98%はフィブロインやセリシンと呼ばれる複数種のタンパク質であり、「繅糸腺(けんしせん)」という特殊な

器官で合成される(図1)。繅糸腺は、5齢幼虫の体重の4割を占める筒状の器官であり、繅糸タンパク質を大量合成・分泌・繊維化するために特化している。細胞が巨大で、染色体は数十万倍に倍加しており、タンパク質合成速度は1日あたり培養細胞の100万倍以上とされる。合成された繅糸タンパク質は、繅糸腺の内腔に分泌されて液状タンパク質として貯蔵され、吐糸口から出される際に物理的に繊維化される。

繅糸タンパク質の約75%は、絹繊維のフィブロインであり、後部繅糸腺で合成・分泌される³⁾(図1)。フィブロインは、約350 kDaのフィブロインH鎖と、約28 kDaのフィブロインL鎖がジスフィルド結合し、さらに約25 kDaのP25(別名フィブロヘキサマリン)という糖タンパク質と疎水性相互作用で結合し、複合体となって繅糸腺内腔に分泌される。繅糸タンパク質の約25%は、接着の役割を持つ水溶性のセリシンであり、中部繅糸腺で合成・分泌される(図1)。セリシンには、セリシン1~3の3種類があり、中部繅糸腺の異なる領域で発現しており、それぞれ異なる役割や性質を持つ。

3. 遺伝子組換えカイコの作出法

1) 遺伝子導入ベクター

遺伝子組換えカイコ(組換えカイコ, トランスジェニックカイコ, GMカイコ)とは、外来遺伝子がゲノムに組み込まれたカイコのことである。昆虫での組換えは、ゲノムの中を転移できるDNAである「トランスポゾン」をベクターに用いて、そのDNAを卵に注射して行い、トランスポゾンの挿入によってゲノムに外来目的遺伝子を組み込む方法が一般的である⁴⁾。

トランスポゾン、カイコでは主に *piggyBac* が用いられている^{1,4)}。ガの一種の昆虫由来の培養細胞 TN-368 から発見された *piggyBac* は、さまざまな生物種の個体や、植物や哺乳類の培養細胞等でも転移能力が高い。*piggyBac* は、逆方向末端反復配列 (ITR) が転移酵素によって切り出され、宿主のゲノムの TTAA という標的塩基配列に挿入される (図 2 上)。遺伝子組換えの際には、ITR の間に外来目的遺伝子とマーカー遺伝子を組み込んだトランスポゾンベクターと、転移酵素を供給するためのヘルパーを用

いる (図 2 下)。

2) 卵への DNA・RNA マイクロインジェクション法

産卵後 4~8 時間以内の卵 (初期胚) に、上記のトランスポゾンベクターとヘルパーのプラスミド DNA 溶液とヘルパーの mRNA を微量注射 (マイクロインジェクション) して、生殖細胞系列での形質転換を行う^{1,4)} (図 3)。ガラスの注射針で DNA 溶液等を注射するが、カイコは卵殻が厚いため、タングステン針で卵殻に穴を空けてから、ガラス

DNA型トランスポゾン (ゲノムの中を転移可能なDNA)

例: *piggyBac* トランスポゾン (2.4kb)

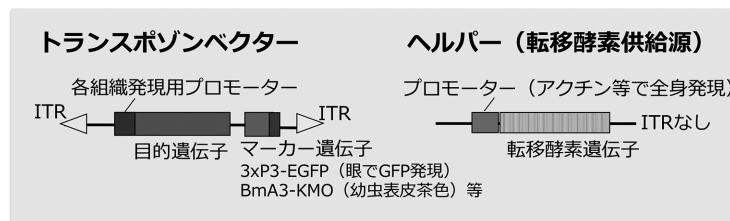
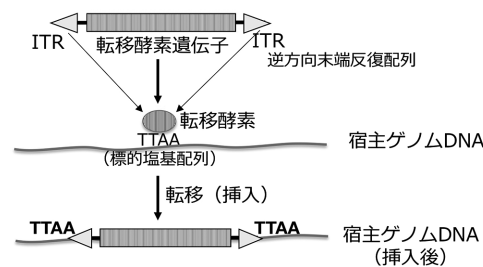


図 2 トランスポゾンと遺伝子導入ベクター

幅広い生物種で転移可能な *piggyBac* トランスポゾン (上) と、それを利用した遺伝子導入ベクター (下)。

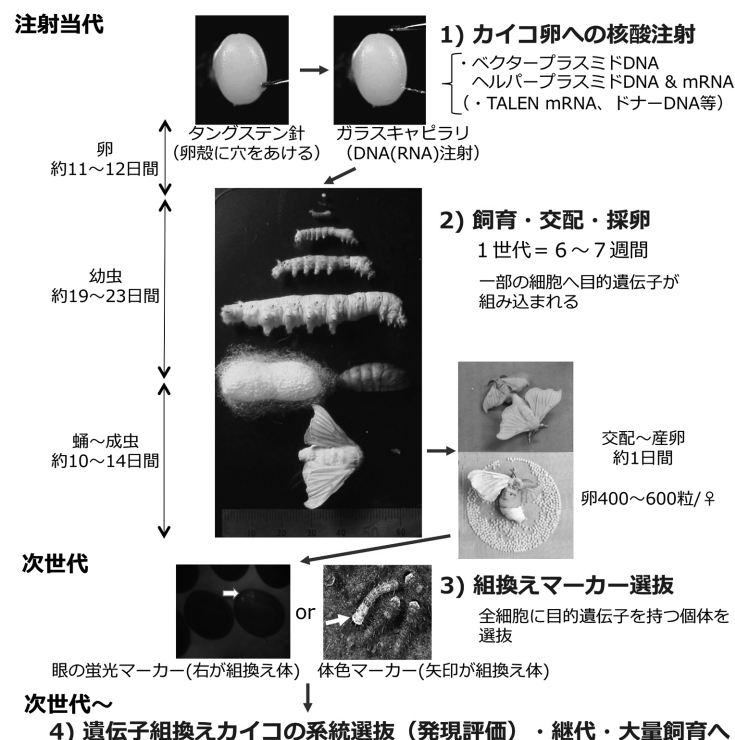


図 3 組換えカイコの作り方と選抜法

の注射針で注射する方法が開発された⁵⁾。注射世代では、外来遺伝子が体の細胞の一部に組み込まれるが、生殖細胞に組み込まれれば、その生殖細胞由来の精子や卵子から得られた個体では外来遺伝子が全細胞に組み込まれており、組換えカイコとなる。組換え体作出効率は近年上昇しており⁵⁾、数百個の卵に注射すれば、次世代で数系統以上の組換えカイコが得られ、その中から組換えタンパク質の発現量等を解析して系統を選抜している。

3) 組換え個体選別法

組換え個体を選別するためには、非侵襲的に外部からみてわかる遺伝子組換えマーカー（組換えマーカー）を用いることが多い⁴⁾（図2, 3）。蛍光タンパク質をカイコの眼（人工プロモーター 3×P3 使用）または全身（アクチンプロモーター BmA3 等使用）で発現させると判別しやすいため、よく用いられているが、判別に高価な蛍光顕微鏡が必要である。そのため、我々は肉眼で判別できる体色マーカーの開発を進めている。これまでに、キヌレニン酸化酵素遺伝子 *KMO* を用いて、第一白卵突然変異 *wI* を持つ実験用品種の幼虫体色が茶色になる体色マーカーを開発し⁶⁾、さらに黒卵黒眼の実用品種やほかの昆虫でも利用可能と思われるアリアルアルキルアミン *N*-アセチルトランスフェラーゼ遺伝子を用いて、幼虫体色の黒色部分が薄くなる優性マーカーを開発した⁷⁾。

4) 系統維持・保存法

医薬品の品質恒常性を確保するためには、培養細胞のセルバンクに相当するバンクの開発が求められる。現在、カイコの系統維持・保存は、卵の冷蔵保存が主に行われているが、約1年間しか保存できない。カイコの系統は遺伝的バックグラウンドが比較的均一であり、導入遺伝子の安定性も高いため、継代してワーキングバンクとして生産に用いることができる世代数は相当多いと想定されるが、マスターバンクとなる凍結バンク化も必要と考えられる。長期保存のためには、受精卵凍結保存は難しいため、卵巣または精子凍結保存および卵巣移植や人工授精による復帰が有効と考えられている。容易な技術とはいえ習熟が必要であるが、近年方法が改善されて成功率が向上している⁸⁾。

5) 導入遺伝子の安定性

導入した遺伝子は、染色体に組み込まれて次世代に伝わり、1頭の雌が400~600個の卵を産むため、数万~数百万の卵を得て飼育することも難しくないが、世代間ならびに個体間における導入遺伝子のゲノムでの安定性や発現の安定性も、医薬品生産の品質管理においては重要である。カイコでは *piggyBac* が再転移しないためゲノム中で安定であり、11世代および17世代にわたって安定して発現したという報告がある⁹⁾。また、カイコゲノムはメチル化が少なく、導入遺伝子のサイレンシングもほとんど報告はない。*piggyBac* ベクターは1~数コピーがゲノムに挿入され

るが、サザンブロッティングによるコピーの確認や、ゲノム情報を用いた挿入位置解析が可能である。同一コピーを持つならば、導入遺伝子発現に関する個体間の差は非常に少ないと考えられている。

6) 新しい技術：ゲノム編集

トランスポゾンを用いない組換え技術の開発も進んでいる。現在、「ゲノム編集」と呼ばれる革新的な技術があらゆる生物で実施可能になっている¹⁰⁾。従来のトランスポゾンを用いた方法は、内在性遺伝子はそのままで、外来遺伝子をゲノムのランダムな位置に挿入する技術であったが、ゲノム編集では、狙った内在性遺伝子を自在に破壊または置換することが可能になる。この技術で形質を大幅に改変することにより、生物の利用可能性・有用性を飛躍的に高めることができる。ゲノム編集は、DNA切断部位を人工的にデザインできる TALE スクレアーゼ (TALEN) や CRISPR/Cas9 系等で任意の標的 DNA 配列を切断することにより、標的遺伝子を破壊する遺伝子ノックアウトや、相同組換えを利用して遺伝子を挿入・置換する遺伝子ノックイン等を行う技術である。2010年前後から技術が急速に普及し、カイコでも手法が確立されつつある¹¹⁾。

4. 遺伝子組換えカイコを用いた有用タンパク質生産系

1) フィブロイン融合型発現系：後部絹糸腺発現系

これまでに絹糸腺での有用タンパク質生産系がいくつか開発されている¹²⁾（図4）。後部絹糸腺発現系は、目的タンパク質をフィブロイン H 鎖やフィブロイン L 鎖と融合させて発現させる系である。フィブロイン H 鎖融合型発現系のベクターは、遺伝子発現に必要な H 鎖プロモーター領域とイントロンを組み込み、さらに分泌に必要な N 末端と L 鎖との結合に必要な C 末端領域の間に目的遺伝子を組み込んだものである（図4A）。フィブロイン L 鎖融合型発現系のベクターは、プロモーター領域を含むフィブロイン L 鎖遺伝子の末端に目的遺伝子を付加している（図4B）。フィブロインに融合した目的タンパク質は、内在性のフィブロインと複合体を形成して分泌・吐糸される。絹繊維中に存在し繊維の性質を変えうるため、遺伝子組換えによる新機能絹繊維の開発にはこの手法が用いられており、蛍光タンパク質や細胞接着因子等を融合した蛍光シルクや再生医療用シルク等の開発が進んでいる²⁾。

最初に有用タンパク質を絹糸腺で発現させた例は、2003年に富田らによってヒトのⅢ型プロコラーゲンの部分配列をフィブロイン L 鎖に融合させたものである¹³⁾。その後、ヒト線維芽細胞増殖因子等の発現が行われている。また、ネコインターフェロンをフィブロイン H 鎖に組み込んだものでも、プロテアーゼ切断部位を導入して切断することによって、活性の高いサイトカインを調製できている。ただし、目的タンパク質を抽出するためには、チオシアン酸リチウムや臭化リチウム等の強い変性剤で繊維を溶解する

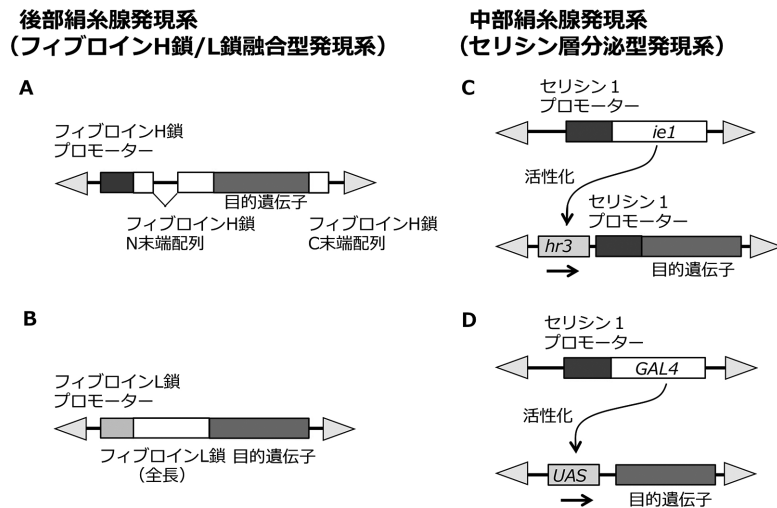


図4 組換えカイコによる有用タンパク質発現系
(A) フィブロイン H 鎖との融合型, (B) フィブロイン L 鎖との融合型, (C) IE1/hr3 発現系, (D) GAL4/UAS 発現系.

必要があり、その際に活性が損なわれることがある。立体構造に変化が生じにくいタンパク質であれば、絹糸タンパク質生産量が多い後部絹糸腺で生産・精製可能である。その他に、一本鎖抗体をフィブロイン L 鎖と融合させることにより、抗原結合活性を持つシルクパウダーやフィルムが作製されており¹⁴⁾、有用タンパク質をシルクに封じ込めて室温長期保存やドラッグデリバリーに用いる等の利用法も期待されている。

2) セリシン層分泌型発現系：中部絹糸腺発現系

現在、有用タンパク質を生産する際には中部絹糸腺発現系が主に用いられている。セリシン層へ分泌させれば、セリシンは水溶性なのでリン酸緩衝液等で溶解可能であり、目的タンパク質の抽出が容易で、活性が損なわれにくいのである。3種のセリシンのうち最も発現量が多いセリシン 1 遺伝子のプロモーターが利用されているが、セリシン 1 プロモーターに目的遺伝子を直接つないだ場合には発現量が不十分なため、発現を増強させる二元 (バイナリ) 発現系がいくつか開発されている。

IE1/hr3 系は、昆虫に感染するバキュロウイルスが持つ IE1 トランスアクチベーターと hr3 エンハンサーが宿主の昆虫の遺伝子の発現をコントロールする性質を利用して、目的遺伝子の発現量を上昇させる系である¹³⁾。セリシン 1 プロモーターで発現させた IE1 が、hr3 を活性化することにより目的タンパク質の発現量を増強する (図 4C)。この発現系は (株)免疫生物研究所が精力的に研究開発を進めており、1 頭あたり数 mg 以上の抗体、フィブリノゲン、コラーゲン等を生産する等、効率のよい系であり、すでに化粧品や検査薬等が実用化されている。

GAL4/UAS 系は、酵母の転写活性化因子 GAL4 と、その認識配列の上流活性化配列 UAS を用いて目的遺伝子の発現を活性化・増強させる系である¹²⁾ (図 4D)。発現組織の変更や発現量の調節が可能なので用途が広いことに加

え、GAL4 がないと目的遺伝子が発現しないので致死遺伝子等を持つカイコ系統の確立も可能という利点があるため、我々は主にこの系を利用している。セリシン 1 プロモーターで GAL4 を発現する系を用いて (図 5A)、現在では最大で 1 頭あたり数 mg の組換えタンパク質を生産可能である。これまでに抗体、サイトカイン、酵素等を、生理活性を維持したまま生産することに成功しており、2011 年には体外診断薬が共同研究先の企業から上市されている。

目的タンパク質の抽出と精製は、絹糸腺または繭からの粗抽出後に、タゲ・カラム等を使用して精製するが、タンパク質ごとに異なる。目的タンパク質は、絹糸腺では液状のセリシン中に含まれ、繭では固まったセリシン中に含まれるが、いずれからも抽出できる。繭は夾雑タンパク質が少なく、長期保存も可能であるが、タンパク質の種類によっては、繭からの回収量が低くて活性が低下する場合もあり、その場合には絹糸腺の利用が有効である。絹糸腺の摘出は想像されるより容易であり、繭を切って蛹を取り除くのに要する時間と大差はないが、いずれも効率的な自動回収装置等の開発が望まれる。

3) 中部絹糸腺での有用タンパク質生産例

我々は、(独)農業・食品産業技術総合研究機構と共同で、国内で年間 800 億円以上の畜産被害をもたらすウシ乳房炎に対する新規動物用バイオ医薬品の開発を進めている。ウシ乳房炎治療薬の原材料のウシ顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF) を生産する流れを図 5 に示す。まず、UAS 配列の下流に GM-CSF 遺伝子をつないだ UAS 系統を作出し、中部絹糸腺 GAL4 系統と交配する。次世代のうち GAL4 および UAS ベクターを同時に持つ個体を眼の組換えマーカーを用いて選抜し、5 齢後期の絹糸腺または繭を回収して緩衝液を用いてタンパク質を抽出すれば、粗抽出液が得られる。中部絹糸腺と繭を比較す

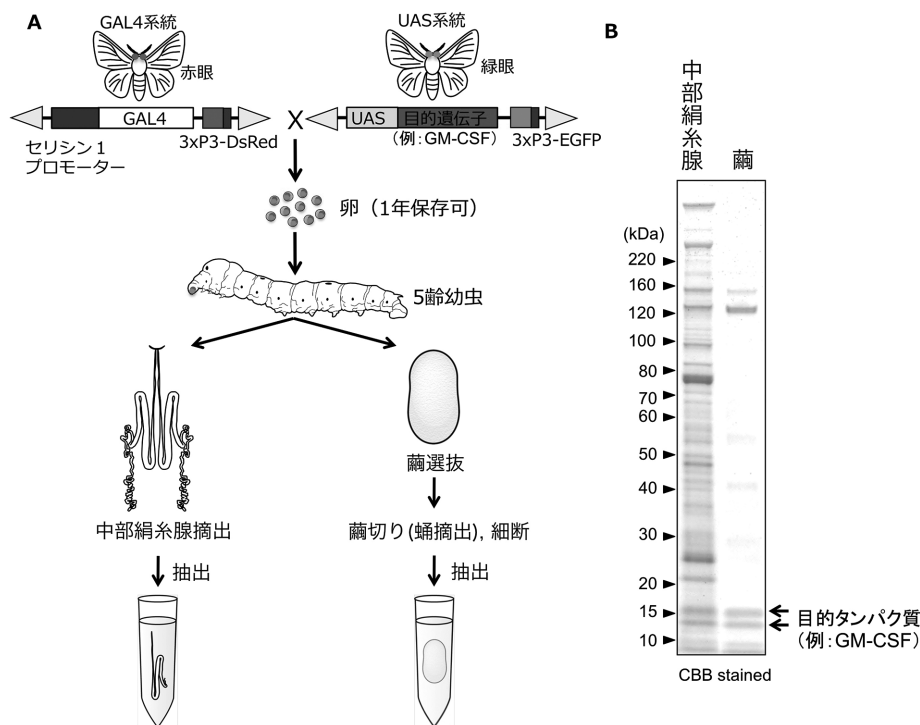


図5 組換えカイコによる有用タンパク質生産例

(A) GAL4/UAS 系による目的タンパク質の生産と絹糸腺または繭からの抽出, (B) 絹糸腺および繭の抽出液の SDS-PAGE.

ると, GM-CSF では夾雑タンパク質の量は繭からの抽出の方が少ないが (図 5B), 抽出量は絹糸腺の方が高かった. 粗抽出液は, 硫酸沈殿を行った後, 3 回のカラムワークで純度の高い GM-CSF を精製することが可能であった. 精製 GM-CSF を乳房炎発症牛へ投与したところ, 高い治療効果が得られており, 早期の製剤化が期待される.

4) バキュロウイルス発現系との違い

昆虫培養細胞やカイコ個体を用いたバキュロウイルス発現系は, 故・前田進博士らによって開発され¹⁵⁾, よく利用されている. バキュロウイルスを感染させて, 一過的に組換えタンパク質を作らせるもので, 迅速かつ簡便な発現系である. 昆虫培養細胞でインフルエンザやヒトパピローマウイルス等のワクチンの開発が行われており, カイコ個体を用いた系では, イヌとネコのインターフェロンが東レ (株) によってすでに実用化されており, さらに, ダニのアレルゲンの Der f 2 プルラルワクチンを用いたイヌのアトピー性皮膚炎治療薬が 2014 年に日本全薬工業 (株) から販売開始されている. バキュロウイルス発現系は, 体液等からの粗抽出液に夾雑物が多く, 個体ごとにウイルスを接種する手間がかかり, さらに精製後の組換えウイルス残存の可能性も問題であり, 同一タンパク質の大量生産には組換えカイコの方が向いている. しかし迅速・簡便で少量多品目の試験生産に向くため, 組換えカイコとうまく組み合わせるのが効果的と思われる.

5. 組換えカイコを用いた医療有用タンパク質等の生産の現状

1) 医薬品・検査薬等の開発の現状

現在, 臨床検査薬・試薬, 化粧品, 希少疾病用医薬品や抗体医薬品等のヒト医薬品, および動物医薬品の原料となる有用タンパク質について, 組換えカイコによる生産と実用化が産学官連携で進められている. 2011 年には企業数社によって検査薬や化粧品が上市され, 組換えカイコを用いて原料を生産する需要が拡大している. バイオ医薬品の開発についてはまだ課題が多いが, 抗体医薬等の生産が試みられており, 徳島大学の伊藤らによってヒト難病治療薬 (リソソーム病治療薬) の開発等も行われている. その他, 上述のように動物用バイオ医薬品 (ウシ乳房炎治療薬等) の開発等も進められている. (株) 免疫生物研究所は, ヒトコラーゲン α1(I) 鎖タンパク質を用いた化粧品や, 検査薬用抗体等を実用化しており, 2013 年末にはアステラス製薬 (株) とともにヒト医薬品の開発可能性の検討を開始している. さらに, カイコの繭にインフルエンザワクチン (ヘマグルチニン) を発現させて, 繭の形で長期保存が可能であることも示している.

2) 組換えカイコの大量飼育

組換えカイコの飼育・管理には高度な技術やノウハウが必要なこともあり, 高品質の組換えカイコを安定的に入手することが可能な, 受託による大量飼育システムが望まれ

ている。組換えカイコの飼育には、「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による多様性の確保に関する法律」（通称カルタヘナ法）の規制をクリアする必要もある。

日本一の養蚕県である群馬では、組換えカイコの大量飼育システムの構築を進めており、(株)免疫生物研究所や(独)農業生物資源研究所と協力して、県内の養蚕農家で構成された前橋遺伝子組換えカイコ飼育組合によって数万頭レベルの受託飼育を開始することに2010年に成功している。その後、飼育受託数は年々増加しており、2014年には、JA所有の稚蚕共同飼育所という年間124万頭のカイコの飼育ができる施設での飼育が認可され、需要増加に対応している。また民間企業でも、大関(株)等による組換えカイコを用いたタンパク質受託生産も開始されている。

6. 今後の展望

1) 医薬品生産に必要な要件の明確化

バイオ医薬品生産では、原料となる粗抽出液を得るまでに、基材独自のリスクに基づいた管理手法の構築が必要だが、組換えカイコを生産基材としたバイオ医薬品についてはまだ評価および管理手法が確立されていない。我々は国立医薬品食品衛生研究所等と共同で、組換えカイコのバンク作成と管理手法に関する要件の明確化や、製造される医薬品の品質安全性評価に関する研究を行っており、合理的な品質管理技術の開発と標準化を進めようとしている。品質管理技術の課題としては、糖鎖修飾等の翻訳後修飾、製造工程由来の不純物、ウイルス等の混入汚染物質、原材料の管理手法等の検討を行っている。

2) 糖鎖修飾について

タンパク質の糖鎖修飾は、活性、体内動態、免疫原性等に関わるため、有用タンパク質生産の品質管理において重

要である。N結合型糖鎖に関しては、これまでに大阪大学の藤山らや(株)免疫生物研究所の富田らによる解析で、絹糸腺においては、脂肪体等で主に付加されるトリマンノシルコア型とは異なり、ヒト型にやや近いコンプレックス型糖鎖（末端がN-アセチルグルコサミン）やハイマンノース型糖鎖が付加されるが、ガラクトースやシアル酸はつかず、またフコースもほぼ付加されないことがわかりつつある¹³⁾(図6)。組換えカイコで生産した抗体のリツキシマブ（抗CD20抗体）の糖鎖構造解析を、国立医薬品食品衛生研究所と共同で行ったところ、フコースを持った糖鎖が著しく少なく、ガラクトースも付加されず、CHO細胞由来抗体との糖鎖構造の違いが明らかであった。しかし、フコースがないためにCHO細胞由来の抗体に比べて著しく高い抗体依存性細胞傷害（ADCC）活性を有することが示された。

現在、糖鎖修飾をヒト型に近づけたり、自在に制御したりするための研究が進められている。たとえば、糖転移酵素の強制発現によりガラクトースが付加されることがわかり(図6)、シアル酸についても基質投与と糖転移酵素の組み合わせによって付加されることが、シスメックス(株)らによって報告されている。

3) 遺伝子組換えカイコを用いる利点まとめ

有用タンパク質の生産基材として遺伝子組換えカイコを用いるメリットをまとめると、①個体差や飼育環境差等のロット差が小さく、スケール変更が容易である。②ウイルスフリーの生産系で、ヒト感染性の病気も知られていない。③大型設備投資が不要で、高額な培地も不要でランニングコストも低い。④血液由来タンパク質や抗体等が生産可能であり、動物由来原料のような人権問題や動物愛護問題がない。⑤ヒト型糖鎖に比較的近い糖鎖が付加され、抗体医薬品のADCC活性が高い。⑥カイコの飼育・育種・

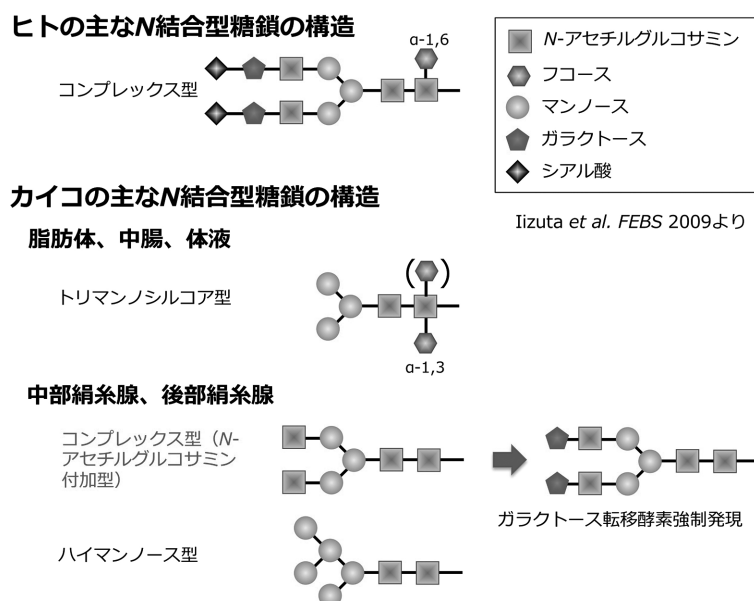


図6 ヒトとカイコの糖タンパク質の主なN結合型糖鎖の構造

組換え技術は、国内に知財・ノウハウが多い、等があげられる。

4) 今後の課題と展望

今後の課題としては、まず、組換えカイコで生産すべきターゲットをよく選定する必要がある。たとえばヒト血液由来等の特殊なタンパク質や、カイコの糖鎖の特徴を利用した医薬品等であると考えられる。また、今後はゲノム解析技術の発展と低コスト化に伴い、アンメットニーズに応えるような希少疾患治療薬等や個人ゲノム情報に基づくオーダーメイド医薬品等、少量多品目のタンパク質がターゲットになると予想される。技術的には、従来の生産基材をカイコに置き換えることも可能になるように発現量を飛躍的に増加するとともに、糖鎖を制御し品質を向上させる技術等の開発が必要である。そしてわが国発の医薬品新規生産基材としての有用性や品質安全性確保の要件を明らかにしながら、各課題を一つずつクリアしていく必要がある。当然ながら、今後の開発には大手製薬企業やベンチャー企業等の参入が必須である。日本の養蚕業は存亡の危機にあり、養蚕技術の継承が危ぶまれているが、産業基盤なしには技術の継承発展は成り立たない。福岡製糸場と絹産業遺産群の世界遺産登録をきっかけとして、従来の養蚕業を新たな産業に転換し発展させていくことが望まれる。なお、(独)農業生物資源研究所の取り組みとして、組換えカイコ利用のサポートや新規参入者へ技術紹介も行っている。

謝辞

遺伝子組換えカイコを用いた研究開発は、非常に多くの内外の関係者・共同研究者の多大なご協力をいただきながら進めており、ここで全員の名前をあげることができない

が、あらためて関係各位にお礼申し上げる。

文 献

- 1) Tamura, T., Thibert, C., Royer, C., Kanda, T., Abraham, E., Kamba, M., Komoto, N., Thomas, J.L., Mauchamp, B., Chavancy, G., Shirk, P., Fraser, M., Prudhomme, J.C., & Couble, P. (2000) *Nat. Biotechnol.*, 18, 81-84.
- 2) 瀬筒秀樹 (2013) 日本絹の里紀要, 15, 56-63.
- 3) 富田正浩 (2009) 分子昆虫学 (神村, 日本, 葛西, 竹内, 畠山, 石橋編), pp. 397-401, 共立出版.
- 4) 瀬筒秀樹, 富田正浩 (2009) 分子昆虫学 (神村, 日本, 葛西, 竹内, 畠山, 石橋編), pp. 36-45, 共立出版.
- 5) Tamura, T., Kuwabara, N., Uchino, K., Kobayashi, I., & Kanda, T. (2007) *J. Insect Biotechnol. Sericol.*, 76, 155-159.
- 6) Kobayashi, I., Uchino, K., Sezutsu, H., Iizuka, T., & Tamura T. (2007) *J. Insect Biotechnol. Sericol.*, 76, 145-148.
- 7) Osanai-Futahashi, M., Ohde, T., Hirata, J., Uchino, K., Futahashi, R., Tamura, T., Niimi, T., & Sezutsu, H. (2012) *Nat. Commun.*, 3, 1295.
- 8) Banno, Y., Nagasaki, K., Tsukada, M., Minohara, Y., Banno, J., Nishikawa, K., Yamamoto, K., Tamura, K., & Fujii, T. (2013) *Cryobiology*, 66, 283-287.
- 9) Jiang, L., Sun, Q., Liu, W., Guo, H., Peng, Z., Dang, Y., Huang, C., Zhao, P., & Xia, Q. (2014) *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 50C, 18-23.
- 10) 佐久間哲史, 山本 卓 (2014) 今すぐ始めるゲノム編集 (山本編), pp. 8-41, 羊土社.
- 11) Daimon, T., Kiuchi, T., & Takasu, Y. (2014) *Dev. Growth Differ.*, 56, 14-25.
- 12) Tatemastu, K., Sezutsu, H., & Tamura, T. (2012) *J. Biotechnol. Biomater.*, S9, 004.
- 13) Tomita, M. (2011) *Biotechnol. Lett.*, 33, 645-654.
- 14) Sato, M., Kojima, K., Sakuma, C., Murakami, M., Aratani, E., Takenouchi, T., Tamada, Y., & Kitani, H. (2014) *Sci. Rep.*, 4, 4080.
- 15) Maeda, S., Kawai, T., Obinata, M., Fujiwara, H., Horiuchi, T., Saeki, Y., Sato, Y., & Furusawa, M. (1985) *Nature*, 315, 592-594.

著者寸描

●瀬筒秀樹 (せづつ ひでき)



農業生物資源研究所遺伝子組換えカイコ研究開発ユニット長。東京大学大学院新領域創成科学研究科先端生命科学専攻客員教授。理学博士。

■略歴 鹿児島県出身。1990年九州大学理学部卒業、96年同大学院退学、蚕糸・昆虫農業技術研究所特別研究員、2001年理研GSC研究員、04年より農業生物資源研究所研究員、06年仏INRA留学。

■研究テーマと抱負 カイコやその他の昆虫の能力・多様性を分子レベルで理解し、昆虫を自在に改変する「インセクトデザイン」を可能にし、デザインした昆虫を研究や産業に利用することを目指しています。

■ウェブサイト <http://www.nias.affrc.go.jp/tgsilkworm/>

■趣味 虫採り、釣り。

●立松謙一郎 (たてまつ けんいちろう)

(独)農業生物資源研究所遺伝子組換えカイコ研究開発ユニット主任研究員。理学博士。

■略歴 1973年北海道生まれ。2000年東京工業大学生命理工学研究科博士課程修了。01年(独)農業生物資源研究所入所。06年より遺伝子組換えカイコを用いた研究に携わる。

■研究テーマと抱負 就職するまでは昆虫やカイコとは研究面では全く縁がなかったが、素人なりの目線で昆虫やカイコを用いて人の役に立つ研究をするべく日夜奮闘中。

■ウェブサイト <http://www.nias.affrc.go.jp/tgsilkworm/>

■趣味 観劇。