

助成年度：平成8年度

[所属] 東京農工大学大学院 生物システム応用科学研究科 生物関連システム研究室

[役職] 助教授

[氏名] 佐藤 令一

[課題]

細菌の殺虫性タンパク質に学んだ残留性の心配のない

タンパク質殺虫剤の作製法の開発

[内容]

はじめに

昆虫病原細菌 *Bacillus thuringiensis* は殺虫性タンパク質を産生することから、生物的殺虫剤として世界中で利用されている。しかし、人類が手にしているこの細菌の種類は限られており、全ての害虫をこの細菌で制御するのは不可能である。一方、医学の分野では、毒素タンパク質の構造の一部にモノクローナル抗体を結合することで、その作用の特異性を任意に改変する手法が確立されており、そのような毒素は「イムノトキシン」と呼ばれている。ところで、この発想は医薬にとどまらず、農薬の分野においても応用が可能である。すなわち、人畜に無害な殺虫性のたんぱく質を素材にして、分解性に優れ環境に低負荷な、タンパク質性の殺虫剤の作製に応用できる。

そこで本研究では、イムノトキシンの発想を応用し、*B. thuringiensis* の殺虫性タンパク質を素材にして、「タンパク質殺虫剤」、の作製法の開発を目指した。

結果と考察

本研究ではモデル実験系としてカイコ由来の培養細胞に効くイムノトキシン型組換え殺虫性タンパク質の作製法を検討することとした。そこでまず、その培養細胞を用いた活性の測定系を作製した。次に、この培養細胞の細胞膜状のタンパク質に結合するモノクローナル抗体を作製し、親和性の高い2種類の抗体を選定した。そして、さらには、イムノトキシン型組換え殺虫性タンパク質の遺伝子工学的作製法を検討した。すなわち、殺虫性タンパク質の3パターンの部分構造に、結合対象の異なる2種類の抗体をそれぞれ結合し(図1)、分泌発現系 pCANTAB 5E を利用して組換えタンパク質の高産生系の構築を試みた。しかし、本系はイムノトキシン型組換え殺虫性タンパク質の大量生産には適さないことが明らかになった。そこで、イムノトキシン型組換え殺虫性タンパク質を封入体として生産する pBTac1 を利用した生産系を構築することとした。これまでに、少なくとも殺虫性タンパク質だけを発現させる場合には、封入体として活性を保持したままで大量に生産できることを確認している。

結論

以上のように、イムノトキシン型組換え殺虫性タンパク質を遺伝子工学的に作製し評価するための一通りの方法を完成した。また、このタンパク質を大量生産するためには、封入体として生産するのが好ましいことが明らかになった。今後は、高い活性を持つイムノトキシン型組換え殺虫性タンパク質作製のための各部品と作製ノウハウについて検討を進め、残留性の心配のいらないタンパク質殺虫剤の実現に向けて更に努力を続けたい。