

## カイコを用いた組換えタンパク質生産

加藤 竜也

遺伝子組換えに代表されるバイオテクノロジーの発展により、現在までにさまざまな組換えタンパク質生産法が開発されている。大腸菌を用いた組換えタンパク質生産は、簡便であり迅速に組換えタンパク質を生産できる利点があり広く用いられているが、組換えタンパク質の不溶化や翻訳後修飾の不備がしばしば問題となる。そのためより高度な生物（酵母、昆虫細胞、植物細胞、哺乳動物培養細胞など）を用いる方法や無細胞タンパク質生産法など開発されているが、今までの医薬品生産への実績により、主にCHO (Chinese Hamster Ovary) 細胞が用いられている。また最近ではイラクサギンウワバ (*Trichoplusia ni*) やツマジロクサヨトウ (*Spodoptera frugiperda*) 由来の培養昆虫細胞 (High Five™, Sf-9) も医薬品を目指した組換えタンパク質生産に利用されている。

培養昆虫細胞を用いたタンパク質生産は、主にバキュロウイルスを用いる方法が一般的であり、1980年代に開発されて現在までに広く用いられている。特に用いられるバキュロウイルスの特異性は鱗翅目の昆虫に限られ、ヒトを含めた哺乳動物には感染しない。そのため安全なウイルスベクターとして利用されている。さらにこのバキュロウイルスベクターを用いれば、昆虫そのものを用いた組換えタンパク質生産が可能である。昆虫を用いたタンパク質生産は他のタンパク質生産法と違い、培養タンクなどの大型設備を必要とせず、スケールアップのためには、昆虫の数を増やすだけでよいという利点がある。

特に日本を含めた東アジアでは、太古から絹を得るためにカイコを飼育しており、このカイコ幼虫や蛹を用いて組換えタンパク質を生産する方法が同じく1980年代に開発された。カイコを用いた組換えタンパク質生産は、東アジアに特徴的であり、その他の地域では主に前述したイラクサギンウワバやツマジロクサヨトウの幼虫を用いた組換えタンパク質生産が行われているが、幼虫の大きさやタンパク質生産量の点で、カイコは組換えタンパク質生産により適した昆虫であるといえる。またさらにカイコは長年にわたり高度に家畜化されてきており、成虫は飛ぶことができず、逃げ出して野生化して生態系を乱す可能性がない、食用として用いられるなどヒトや哺乳動物に対して非常に安全であるといった利点もあり、組換えタンパク質生産のホスト“昆虫工場”として非常に有用であると期待される。

カイコで組換えタンパク質を生産するためには主に *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus (BmNPV) が使用される。BmNPVはカイコに特異的に感染するバキュロウイルスである。昆虫細胞による組換えタンパク質生産で広く用いられている *Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus (AcMNPV) では、現在までに数多くのタンパク質発現キットが開発・販売されており、その中でもLife Technologies社のBac-to-Bacシステム<sup>1)</sup>がその簡便さから広く用いられているが、BmNPVについてもBac-to-Bacシステムが開発され、昆虫細胞系同様に簡単かつ迅速にカイコでタンパク質を生産することが可能となっている<sup>2)</sup>。また近年トランスジェニックカイコを用いた組換えタンパク質生産法も開発され、さまざまな組換えタンパク質が生産されている。カイコ卵にトランスポゾン遺伝子を含んだ外来遺伝子発現ベクターを注射することで作出することができる。またトランスジェニックカイコを用いる場合、組換えタンパク質は繭の中に生産させることも可能で、絹糸のセリシン層に組換えタンパク質を生産させることで、繭をバッファーで浸すだけで組換えタンパク質を抽出できる<sup>3)</sup>。絹糸は主にフィブロインとセリシンの2種類のタンパク質から構成されており、この方法はその後の組換えタンパク質の精製工程を簡素化することが可能である。

しかしこれらカイコを“昆虫工場”として利用した組換えタンパク質生産には問題点もある。バキュロウイルスを用いる系では組換えタンパク質が不均一になる傾向がある。また特に糖タンパク質の場合、タンパク質に付加される糖鎖が哺乳動物細胞とは異なるという問題もある。それらの課題はあるものの、現在は東レ(株)からカイコで生産されたイヌ・ネコのインターフェロンが獣医薬薬として販売されており、診断薬用に利用される組換えタンパク質 (IgG抗体など) もカイコで生産されている (シスメックス(株)、(株)免疫生物研究所)。今後バイオ医薬品生産にカイコを利用するためには、糖鎖構造を厳密に制御できるような系の作出など、さらなる改良が期待される。

- 1) <http://www.lifetechnologies.com/order/catalog/product/10359016>
- 2) Motohashi, R. *et al.*: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **326**, 564 (2005).
- 3) Tomita, M.: *Biotechnol. Lett.*, **33**, 645 (2011).