

バイオマテリアル養蚕と昆虫工場の将来

蚕糸・昆虫農業技術研究所

昆虫機能研究官 井上 元

はじめに

養蚕は古来より生糸・絹織物を生産するために営まれてきた。しかし、20世紀におけるカイコについての豊富で高度な研究蓄積や遺伝子工学の進展が、新しい形態の養蚕の確立を可能としている。

養蚕の形態をつぎの5つに分けて考えてみる。

- ①従来型生糸生産用の養蚕
- ②バイテク養蚕（昆虫工場）
- ③機能性食品生産用の養蚕
- ④バイオマテリアル養蚕
- ⑤いきがい養蚕

20世紀に蚕糸研究の世界的な COE(Center of Excellence)として我が国で開発された高度な技術を統括して、今後、従来型生糸生産用の養蚕では輸出を目標の一つとする超高級なジャパンブランド シルクの生産が期待される。バイテク養蚕では別称を昆虫工場としてカイコ体内で医薬となる有用タンパク質の大量生産が期待される。機能性食品生産用の養蚕では既に韓国においてカイコ粉末が血糖降下の健康補助食品として用いられており、新局面が拓かれている。バイオマテリアル養蚕ではカイコのトランスジェニック技術を応用してクモなどの他種生物の絹タンパク質遺伝子等をカイコのゲノム（染色体）に挿入し、その繭糸から医用、工業用等の新素材を作出することが期待される。いきがい養蚕は身近になってきた我が国の高齢化社会に対して養蚕が寄与することであり、人工飼料育などの技術は都会でもカイコの飼育を可能としており、豊作の喜びと自らの衣服を製作する喜びなどを与えうるものと期待される。

1. バイオマテリアル養蚕技術

絹タンパク質の特性解明が進み、絹微粉末化の新技术が開発されるなどによって、医用分野や工業分野で絹タンパク質の利用が図られている。

一方、遺伝子工学手法によるカイコの形質転換体の作出、すなわちトランスジェニックカイコの作出は、外来遺伝子をカイコに挿入する適当なベクターがなくて、その技術開発は困難を極めていたが、最近、弱毒性のバキュロウイルス AcNPV またはトランスポゾン piggyBac を用いて、マーカー遺伝子である発光クラゲの GFP タンパク質遺伝子のカイコ絹糸腺への挿入に成功し、紫外線をあてると後部絹糸腺が光ったり、繭糸が光って見える。

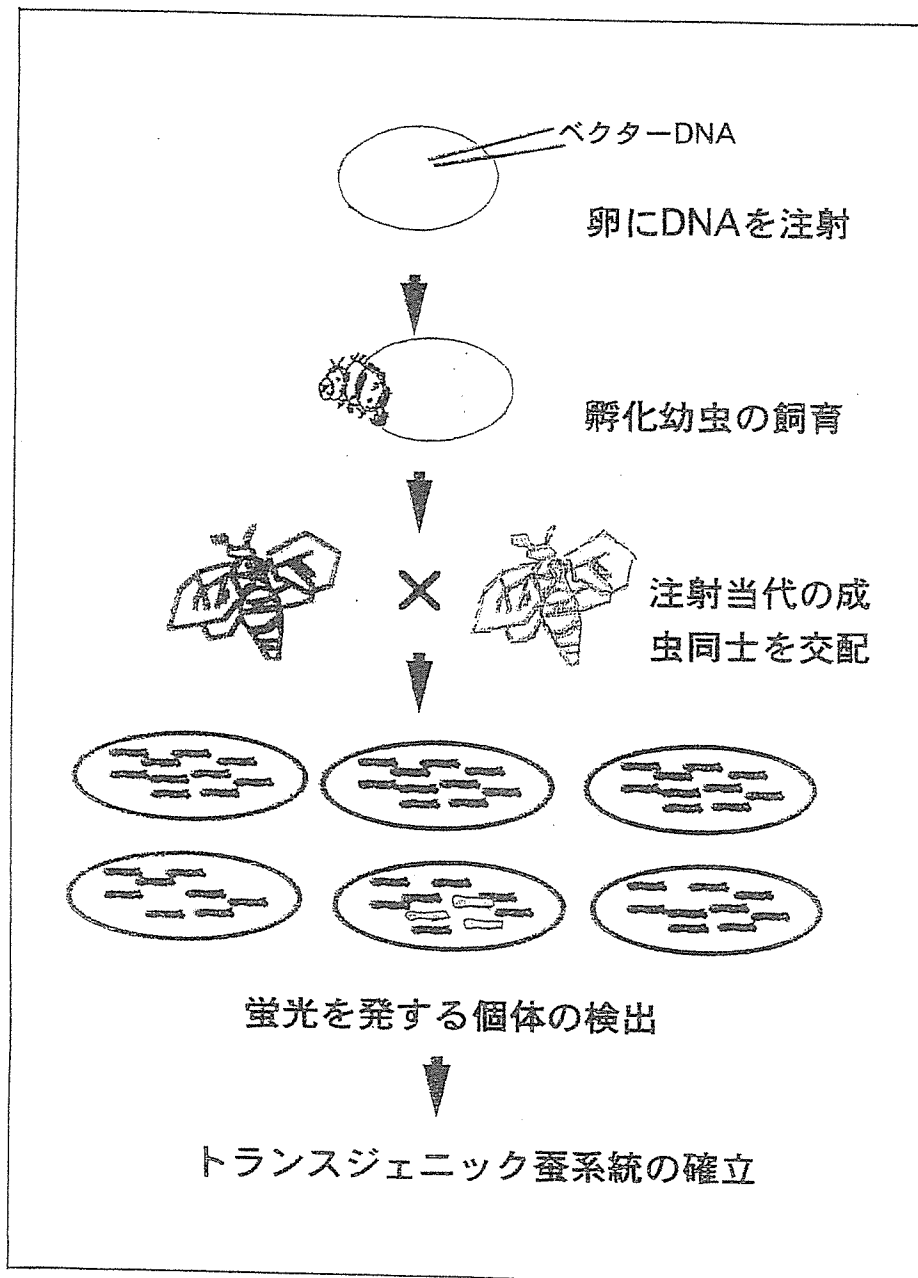
この基本技術の成功によってつぎのことが可能となった。①異なるアミノ酸配列を作るように改変した絹フィブロイン遺伝子を絹糸腺に挿入し、新しい特性を有する絹フィブロインタンパク質を生産する蚕品種を作出する、②クモ糸の絹タンパク質遺伝子をカイコ絹糸腺に挿入し、カイコ絹タンパク質とクモ絹タンパク質のハイブリッド素材を生み出す蚕品種を作出する、③テンサンの絹タンパク質遺伝子を絹糸腺に挿入し、テンサンとカイコの絹タンパク質のハイブリッド生糸を生産する蚕品種を作出する、④医薬品となりうる有用物質の遺伝子をカイコに挿入し、繭糸の中に有用物質を生産する蚕品種を作出する。

このようなことから、21世紀における未来技術としてトランスジェニックカイコを利用した新しい養蚕形態、称してバイオマテリアル養蚕の出現が期待できる。

カイコは安全性の高い昆虫である。例えば、実験動物のマウスに比べても、逃げないし、噛みつかないし、鳴かないし、臭くない。しかも、バイテク養蚕の場合にはカイコに病原性のバキュロウイルスを使用するので、組換えDNA実験安全指針に基づき閉鎖系で人工飼料によるカイコ幼虫の飼育が必要であるが、トランスジェニックカイコの場合には外来遺伝子がゲノム（染色体）の中に組み込まれているので、開放系で桑葉での飼育が可能である。遺失幼虫を出さないように努め、付加価値のあるカイコを丁寧に毎月飼育する技術が必要となる。冬期には人工飼料育も採用できることであろう。

加えて、セリシンの新用途が期待される。近年、セリシインタンパク質がアトピー性皮膚炎の抑制効果があることが報告されてから、以前にも増してセリシインタンパク質が注目を浴びている。製糸工場の廃液からの回収はもとより、育種技術

を生かしてセリシン生産を効率化する蚕品種の作出も進められている。さらに、現在でも医用または工業用素材である絹タンパク質生産を目的として、製糸用繭生産とは異なるカイコ幼虫の粗放的飼育が考えられる。この形態もバイオマテリアル養蚕の範疇に入ると考えられる。



蚕糸昆虫研ニュース No.42 (1999.3) より

2. バイテク養蚕 ―昆虫工場技術の開発―

「動物工場」を企図するクローン羊の誕生が世界的な話題を呼んでいる。これに対置する形での「昆虫工場」の概念が確立している。昆虫を利用して有用物質を大量に生産することを昆虫工場と称するが、とくに昆虫バキュロウイルス発現ベクターとカイコの組み合わせで有用物質を大量生産するシステムを「バイテク養蚕」と称し、その施設を地域に設置することを通じて農村地域振興を図る新しい昆虫利用産業の創出を目指し研究が進められている。

1) 基本原理

カイコに感染して膿病を起こす核多角体病ウイルス（以下バキュロウイルスと称する）が有効利用される。すなわち、このウイルスはカイコの体の中で大量の多角体をつくる。そこで、この多角体の遺伝子を捨てて、そこへ有用物質の遺伝子を挿入して、多角体の代わりに有用物質をつくらせるアイデアである。

2) 発現効率

昆虫のバキュロウイルスベクターは、外来遺伝子の発現量が*大腸菌*などの系に比べて極めて高く、さらに生産物に糖鎖が付加されることから、広く遺伝子発現の研究に利用されるようになり、既に1,000種類を超える遺伝子がこの系で発現されている（前田進,1998年私信）。カイコを使用すると*大腸菌*に比べて10,000倍ほど生産性が向上する。実用的な有用物質の生産技術の開発については、アメリカで別種のバキュロウイルスと昆虫培養細胞系を使ってエイズウイルスのワクチンが生産され臨床試験が行われているが、未だ実用化されたとの情報はない。カイコでは既に民間企業によってネコのインターフェロンが生産され、カリシウイルス感染症への治療剤として1993年から市販されているが、1997年にはイヌへの適用拡大が認可されている。

今、大量生産のモデルとして吸血昆虫のオオサシガメから単離されプロリキシンSと命名された物質が候補にあがっている。この遺伝子をバキュロウイルスベクターを用いて昆虫細胞で発現させると生体内のものと同様の機能を示したことから、カイコでの大量生産に期待が寄せられている。この物質は一酸化窒素（NO）を結合したり放出したりする機能があり、血管の拡張作用を有するため手術の時に使用したり心筋梗塞などの予防治療剤としての利用が考えられている。

3) 技術的な一連の手順

①有用遺伝子のウイルスベクターへの組込み、②組換えウイルスのカイコへの接種と飼育、③カイコからの体液（血液）の採取、④体液からの有用物質の精製である。言うまでもなくこれらの一連の作業においては、組換えDNA実験指針に基づく封じ込めに配慮しなければならない。

実際には、このような一連の技術をいかに自動化し効率化するかが求められている。現在、カイコ 20,000 頭を人工飼料で飼育できるコンパクトな装置と、その操作をパソコンで管理するシステム、飼育環境制御システムは完成しているが、ウイルスの自動接種装置や体液の効率的な採取方法はまだ開発中である。カイコを水で麻酔し体が伸びきった状態でアルコール凍結を行い、融解すると、幼虫が自然に収縮する現象に着目し、それを体液採取に利用するアイデアも生まれ特許出願されている。

昆虫を使って大量に有用物質を生産することへの期待は大きいものがあり、中でもカイコはマウスなどに比べて、逃げない、噛まない、啼かない、臭くないなどの優れた利点を有しており、組換えDNA実験レベルでの大量飼育に適している。また、広食性蚕の育成によって人工飼料での大量飼育が極めて安定したし、外来遺伝子発現能力のより高いバキュロウイルスの選抜や遺伝子組換えウイルスの選抜に必要な昆虫培養細胞系の作出、物質生産に適する蚕品種の育成などに、蓄積された蚕糸研究の学問的な厚みが大変役に立っている。

4) 技術開発の要点

(1) 外来遺伝子の発現系の改良については、①ウイルスベクターの発現能力の強化、②発現に至適のカイコ品種の育成など； (2) 飼育体系については、③適切な幼虫飼育と運搬技術、④カイコの大量飼育装置の開発・改良、⑤大量のカイコへの効率的なウイルスベクター接種方法、⑥蚕糞蚕沙の処理方法など；

(3) 生産物の抽出・精製については⑦効率的な体液採取方法、⑧体液中の組換えウイルスの不活化方法、⑨目的蛋白質の単離精製など； (4) その他の技術としては、⑩工場内の封じ込め環境の確保、⑪廃棄物の利用などである。

ウイルスベクターの改変では、感染カイコの皮膚を丈夫にし、かつ、生産物を分解から守るためにウイルスの有するシステインプロテアーゼ遺伝子やキチナーゼ遺伝子の除去、生産物の体液中への分泌を効率化するためにベクターに分泌シ

グナル遺伝子の導入、大型外来遺伝子の導入のためのウイルス不要遺伝子の除去などの技術開発が必要である。カイコへのウイルスベクターの接種は、ポリヘドリン遺伝子のプロモーターを利用する場合は注射となるが、ペリスタリックポンプ等を用いる簡便な注射装置が開発されている。また、経口接種のためにウイルスの P10 遺伝子のプロモーターを利用するベクターも開発されているが、前者の発現効率に比べると少し低い結果が得られている。封じ込めの面からは注射用のウイルスベクターを使用するのが望ましいが、そのベクターを経口感染できるような特殊な方法の開発も進んでいる。また、カイコ 2 万頭を人工飼料で飼育するコンパクトな飼育装置が開発されていて、発育や行動のシミュレーションモデルの開発からシステムの全自動化に向けて研究が進められているが、封じ込めの他に高齢者やハンディキャップの者も参加しうる社会的理念を意識している。さらに、カイコに苦痛を与えずに効率よく生産物を含む体液を採取する技術や生産物に悪影響を及ぼすことなく体液中のウイルスを不活化する技術開発が必要である。体液採取に関しては、凍結融解における幼虫体の収縮現象を利用する方法が開発された段階にある。

材料となるカイコは微粒子やウイルス、細菌、糸状菌などの特定病原体に感染していない、いわゆる SPF カイコでなければならないので、清浄な環境での人工飼料育となる。そのため、物質生産に至適のカイコ品種は広食性で人工飼料育が容易であり、加えてタンパク質生産能力の高いことが期待される。

工場は組換え DNA 実験の指針に照らして、排水もタンクに集めて消毒してから流すなどの一定の封じ込めレベルが要求される。

5) 生産が期待される有用物質

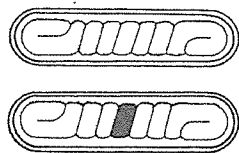
バキュロウイルス発現ベクター系を用いてこれまでに発現された多くの遺伝子からみて、各種の酵素類、サイトカイン類、ホルモン類、生理活性ペプチド類、糖タンパク質類、核内タンパク質類、ウイルスのタンパク質類などが期待できる。

現在医療場面で使用されていて将来、開発や生活水準の向上によって入手が困難視されるものを安価に生産することに期待が寄せられる。人間の医薬品開発には通常長期間を要するので動物医薬や検査・診断薬などの先行も考えられる。生産対象となる有用物質については、民間企業が遺伝子を保有しているところであり、マーケティングリサーチに基づいて開発の可否が選択されることであろう。そのため、民間企業との連携が不可欠である。

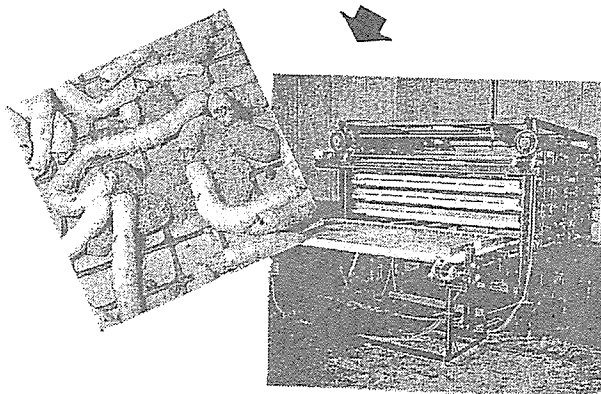
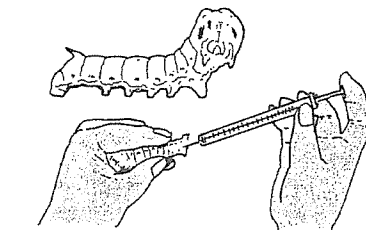
研究目的

有用物質の遺伝子を組込んだバキュロウイルスをカイコ体内で増殖させて、カイコで有用物質を大量に生産する技術を開発する。

組換えウイルスの作製

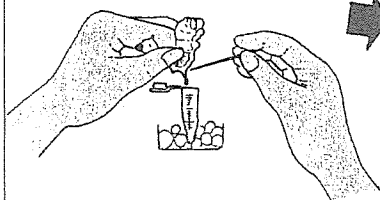


ウイルスの接種

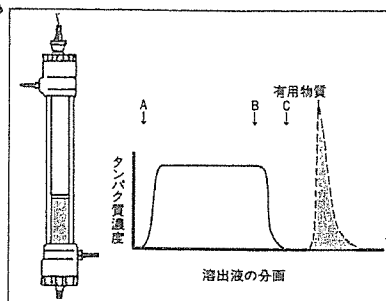


カイコ幼虫飼育装置

体液の採取



有用物質の回収と精製

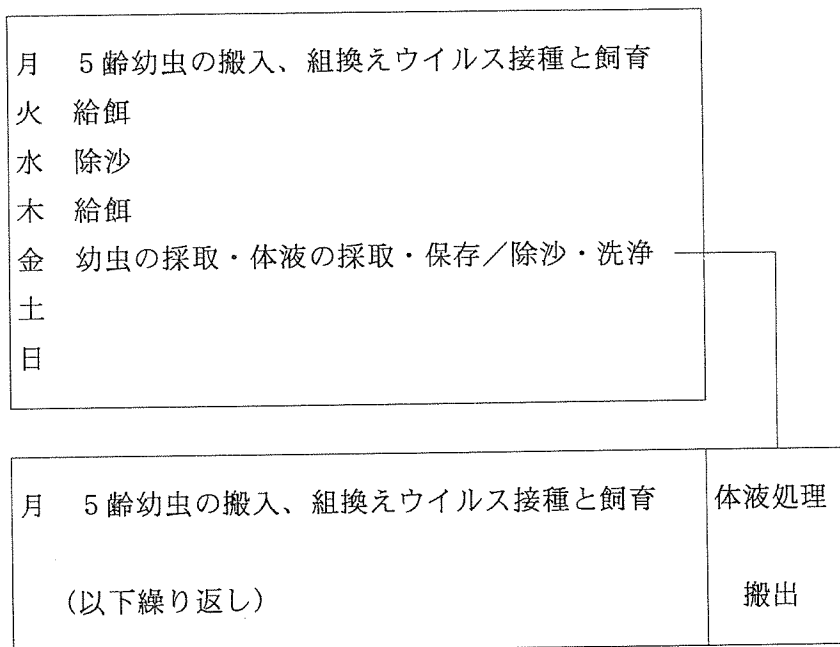


製品化

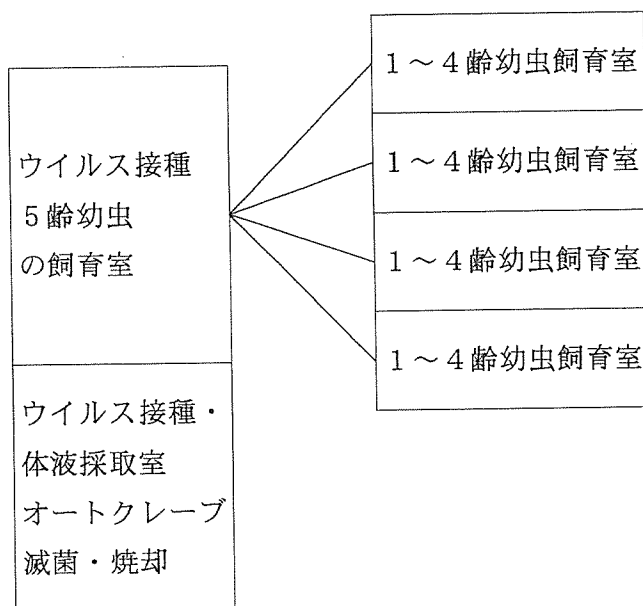


6) モデルシステム例

システム例① 遺伝子組換えウイルス接種幼虫の飼育形態



システム例② 飼育施設



1 ～ 4 齢幼虫飼育は離れた場所に設置しても可。その場合は、幼虫の運搬方法の検討が必要。

7) 地域振興方策例

工場を地域に設置し地域の振興を図る場合、どのような形態にするかは検討事項であるが、バイテク養蚕は組換えDNA実験技術を基幹とするものであり、パブリックアクセプタンスの面からみて養蚕農家の現場で実施することは困難である。養蚕農家の参画は材料蚕の提供や蚕種供給のための種繭生産が想定される。

民間企業（事業体）等、公共機関等、養蚕農家

