

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 14 日現在

機関番号：12605

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H02837

研究課題名(和文) オーガニックな殺虫システム「タンパク質殺虫剤」と「耐虫性組換え食品」の体系的展開

研究課題名(英文) Systematical study for development of safety insect regulation system including Proteinaceous insecticide and insect resistant GMO

研究代表者

佐藤 令一 (SATO, RYOICHI)

東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・教授

研究者番号：30235428

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：Cry毒素類がABCトランスポーター分子群を広く利用しており、ABC transporterにはカドヘリン様タンパク質に比較して数千倍も高いCry毒素を助ける力があることが分かったので、「BT菌殺虫性タンパク質をABC transporterを対象にして進化させる技術確立したなら自在に安全な殺虫剤が作れる」の発想の妥当性はさらに高まり、ABC transporterを対象とした様々なCry毒素の人工的進化モデル作りが具体的に提案できる状況になった。また、Cry毒素の進化のための変異体ライブラリー作りに必要な変異導入部位の情報が手に入り、進化分子工学の技術基盤が一層固まった。

研究成果の概要(英文)：Our study indicated that Cry toxins use widely ABC transporters as receptors and ABC transporters have thousands times higher facilitating activity than Cadherin for Cry toxins pore formation. This confirmed possibility and reality of our concept that we could freely design and modify activity of insecticidal protein from BT if we can develop a method for Cry toxin to mature fitting property to ABC transporters. In addition, this made the status where we can create several attractive evolution models to beat the realistic problems. In addition, as outline of Cry toxin's binding site to ABC transporter was indicated, basic strategy for the construction of Cry toxin library became easier to be planned.

研究分野：昆虫病理学、昆虫生理学

キーワード：Bacillus thuringiensis Cry toxin directed evolution insecticide 進化分子工学 殺虫性タンパク質 殺虫剤

1. 研究開始当初の背景

化学殺虫剤は人間にとって有害であり、残留して地球生態系に負担をかける側面を持つ。ところで、安全な殺虫剤は既に部分的には存在する。昆虫だけに病原性を持つ土壌細菌 BT (*Bacillus thuringiensis*) 菌は我々人類とは比べものにならないほど地球にとっておなじみの古株であり、ヒトにも環境にも優しい生物である。ところで、その BT の殺虫の仕組みの本質はそれが作る殺虫性のタンパク質である Cry 毒素にある。そこで、我々人類は多様に進化した各系統の BT 菌が作る、少しずつ活性スペクトルが違う Cry 毒素を、いろいろな害虫に当てはめて、オーガニック殺虫剤「BT 剤」や「遺伝子組換え食品の遺伝子資源」として利用し、40億の人口維持に役立ってきた。しかし、現実には手に入る BT 菌の殺虫活性は一般的に低いうえ、殺虫スペクトルも狭く、効かない害虫がたくさん存在する。一方、BT 菌を含めた地球上の生物が、あり得る全ての変異タンパク質（多少のアミノ酸配列が違ってても類似構造と類似機能を持つタンパク質）のうちのほんの一部しか作っておらず、変異体には無限の可能性があると知られている。したがって、もしそれらのすべてをスクリーニングにかけられるなら、今よりもっと活性の高いものが見つかるはずである。また、対象にできる害虫の幅も広がるはずである。しかし、100 種の変異体を作り調べるだけでも大変な既存のタンパク質工学の手法では、有り得る 10 の何十乗と言う変異体を調べつくすことなど不可能である。しかし、ファージディスプレイ系と言う手法を駆使する進化分子工学で多様な変異体分子を作り、受容体に対し結合性が向上した Cry 毒素変異体を選抜する技術を我々は確立した（特開 2007-089524）。よって、自在に目的害虫に効くタンパク質を作れると期待された。すなわち、天然物でできた「タンパク質殺虫剤」と言うオーガニックな殺虫剤のジャンルの創生が可能になったと思われる。ところが、カドヘリン様タンパク質を受容体と考えて、進化の対象分子と設定していたこれまでの試みにおいては、期待に反して殺虫活性は 4 倍にしか向上せず、理論の信憑性が疑われた。しかし、思わぬ展開が待っていた。すなわち、カドヘリン様タンパク質ではなく、これまで報告されたことがなかった ABC トランスポーターファミリー C2 (以降 ABCC2) が Cry 毒素の最も重要な受容体である可能性が、突如 2013 年に示されたのである。そこでその直後から我々は、これに対応して、昆虫培養細胞と Baculovirus 発現系を用いて ABCC ファミリー分子を発現させて個々の Cry 毒素が受容体に利用できる各昆虫の ABCC はそのファミリー中の何かを調べる

システムの構築に取り掛かり、Baculovirus 発現系を用いてカイコガの ABCC2 (BmABCC2) 分子を大量に生成して BmABCC2 と Cry 毒素の相互作用様式を詳細に調べる準備を始め、さらには BmABCC2 をモデル対象分子とする進化分子工学の条件検討に入る準備を開始した。すなわち、Cry 毒素が昆虫の ABCC ファミリー分子の多様性に対応して成し遂げた進化の本質を明らかにし、Cry 毒素の ABCC2 を介した高い特異性の仕組みと作用機構を解明し、それらを基盤知識にして、ABCC2 に対する Cry 毒素の進化分子工学に必要な知識と技術を固めることが可能なフェーズに我々は突入しようとしていた。

2. 研究の目的

Cry 毒素は BT 菌とともに宿主昆虫に対応して進化し、様々な昆虫に効くタイプに分化したと考えられる。Cry 毒素の進化分子工学の方法を完成させるためには、我々はまず、進化分子工学でまねるべき、「自然界が成し遂げた Cry 毒素の多様性創生（多様な進化）の歴史とそのしくみ」を知らなくてはならない。そこで本研究ではまず、「各種 Cry 毒素がどれ程殺虫のための受容体機能を ABC トランスポーターに依存しているか」を調査し、多様な Cry 毒素が実際にどのように ABC トランスポーターに対応して進化したかについて考察した。一方、進化分子工学はもともと理論に頼らずハイスループットなスクリーニング作業に身を任せる部分の大きな方法である。しかし、出来るなら、それをさらに合理的に効率的に進化を達成させたいのは勿論のことである。そこで、上記の調査の結果明らかになった「Cry 毒素が受容体として使える ABCC ファミリー分子と使えない ABCC ファミリー分子の違いは一体何なのか」、すなわち、「Cry 毒素の性状がどのように適応進化したことが、昆虫のあるタイプの ABCC ファミリー分子を受容体として使える分子になることに繋がったのか」を検討し、その結果の進化分子工学への応用の方向性を検討した。

一方、既に述べた通り、カドヘリン様タンパク質を受容体と考えたこれまでの Cry 毒素の進化分子工学の試みは失敗に終わっている。また、実際の生態系の出来事も、Cry 毒素が受容体としてはカドヘリン様タンパク質よりも ABCC ファミリー分子の重要性を示唆している。しかし、「それは一体どうしてなのか」「何故カドヘリン様タンパク質はだめで ABCC ファミリー分子なのか」は不明であった。ところで、このことを検討することは、ABCC ファミリー分子を進化分子工学の対象分子に据えることの適切さを検証することになる。また、我々の基盤的戦略の正しさ

を保証することに繋がる。そこで、次に、「何故 ABCC ファミリー分子なのか」に直結する問題「Cry 毒素の作用機構における ABCC ファミリー分子の役割」と「Cry 毒素に対する受容体機能に必要な ABCC ファミリー分子上の構造」について検討した。

本研究の究極の目標は言うまでもなく「Cry 毒素の進化分子工学の方法の完成」である。ところで、上で述べた目的に関する結果は、「BT 菌の Cry 毒素は自然界で ABCC ファミリー分子に結合親和性を増す方向に進化した」ことを示唆していた。ならば、ある ABCC ファミリー分子に結合親和性を獲得するように進化させるには、どこに変異を入れれば効果的なのだろうか。本研究では「ABCC ファミリー分子を対象に据えた Cry 毒素の進化分子工学の方法の完成」に向けて、効果的な変異体ライブラリー構築の基盤になる「Cry 毒素上の ABCC ファミリー分子結合部位」についても検討した。

3. 研究の方法

(1) HEK293 細胞を用いた ABC トランスポーター分子の受容体機能評価

ヒト胎児腎由来 HEK293 細胞に各種 ABCC ファミリー分子を発現させた後、各種 Cry 毒素を添加し、膨張破裂指標とする感受性の獲得の有無を評価し、多様な昆虫に由来する夫々の ABCC ファミリー分子の各種 Cry 毒素に対する受容体機能の有無を判定した。

(2) ABCC2 と Cry 毒素の SPR による結合親和性の評価

Baculovirus (AcMNPV) 発現システムで昆虫由来 SF9 細胞の膜上 BmABCC2 を FLAG タグ付きで発現させたのち、n-Dodecyl-β-D-maltoside で可溶化し、抗 FLAG 抗体を結合させたアフィニティーゲルで精製した。精製した分子はセンサーチップに結合させ、バイオセンサー-Biacore を用いた表面プラズモン共鳴法 (SPR) で解析し、結合と解離の動態に関する定数を得て、結合親和性の最も一般的な指標である解離定数を算出して結合親和性を評価した。

(3) ABCC2 上の結合部位および受容体機能に必要な構造の決定

Site directed mutagenesis 法で変異を導入した、あるいは PCR 法で部分欠失させた、さらにはアミノ酸配列を入れ替えた、BmABCC2 を HEK293 細胞もしくは SF9 細胞の膜上に発現させ、Cry 毒素を添加し、感受性(膨張破裂)の有無を指標にして夫々の BmABCC2 変異体の受容体機能の評価した。

(4) Cry 毒素のイオンチャネル形成を誘導する活性の評価

アフリカツメガエルの卵母細胞にキャップ化 mRNA を注入して受容体分子を膜上に発現させた。Voltage clamp 法で電流を測定し、Cry 毒素によって作られたイオンチャネルの量を電流値として定量的に評価した。

(5) Cry 毒素上の BmABCC2 結合部位の評価

Cry 毒素のドメイン ループ部位に変異あるいは欠失をいれ、GST との融合タンパク質として大腸菌で生産精製し、それら変異体に対して、BmABCC2 を付けたセンサーチップを用いた Biacore による SPR 解析と、BmABCC2 を発現させた SF9 細胞に対する傷害活性試験を行い、結合活性と傷害活性を損ねる部位を特定した。

4. 研究成果

(1) 各種 Cry 毒素の ABCC ファミリー分子への受容体の役割依存

各種 Cry 毒素が殺虫のための受容体機能を各昆虫において ABCC ファミリー分子にどれほど依存しているかを調査した。チョウ目昆虫に殺虫活性を持つ Cry1Aa, Cry1Ca, Cry1Da 毒素および、主にコウチュウ目昆虫に活性を持つ Cry8Ca, Cry3Bb 毒素がどのような ABCC ファミリー分子を利用して細胞を殺せるかを ABCC クレード(正確にはヒト ABCC4 クレードと呼ぶ)に属する 5 種類の分子(ABCC2, ABCC3, ABCC4 など)について既に述べた HEK293 細胞系で調査した。その結果、Cry1Aa 毒素はシロイチモジヨトウ (*Spodoptera exigua*) の SfABCC2 と SfABCC3 をともに受容体として利用できることが明らかになった。すなわち、これまで Cry1Aa 毒素に対する受容体機能は ABCC2 にだけ示されていたが、さらに ABCC3 も受容体機能を発揮しうることが示された。ただし、SfABCC3 の受容体機能は SfABCC2 に比べてはるかに低かった。また、Cry8Ca はコウチュウ目昆虫 *Tribolium castaneum* の TcABCC4 を受容体にすることができるばかりか、十分とは言えないながらも SfABCC3 をも受容体にできることが明らかになった。これは Cry8Ca がチョウ目昆虫に極めて弱い活性を持つことと辻褃が合う結果であった。また、Cry 毒素が想像されていたよりも広い範囲の ABCC ファミリー分子に適応できるポテンシャルを持つことがはじめて明らかになった。一方、すべての Cry 毒素は、もともと活性がないとされているカやヒトの ABCC4 クレード分子を受容体としては利用できなかった。これらのことは、チョウ目昆虫に殺虫活性を持つ Cry1A 毒素類や弱いながらもチョウ目昆虫に活性を示す Cry8Ca はヒト ABCC4 クレードに属する分子群に依存して殺虫活性を発現できること、Cry 毒素は多様化する中で昆虫の ABCC ファミリー分子の進化に適応して「殺せる関係を広げて来た」ことを示唆している。しかし、今回の調査の範囲ではチョウ目昆虫に殺虫活性を持つにもかかわらず、Cry1Ca や Cry1Da に関しては、ヒト ABCC4 クレードに属する分子の中から受容体機能を持つ分子は見つからなかった。このことは、「Cry 毒素が ABCC ファミリー分子にとどまらずに更に離れた関係にある ABC トランスポーター分子を利用している」か、あるいは、「ABC トランスポーターではない分子

さえも利用している可能性さえある」ことを意味しており、今後の検討に興味を持たれた。
(2) Cry 毒素が ABC トランスポーターを受容体として使えるか使えないかはどこで決まるのか

(1) で明らかになったように、ある ABC トランスポーターが受容体として使えるか使えないかは Cry 毒素によって異なっていた。しかし、それはどこで決まるのであろうか。ところで、多くの受容体・リガンド関係論を見る限り、「この関係性を規定しているのは ABC トランスポーター分子と Cry 毒素の結合親和性である」という仮説が最も考えやすい。そこで、各種 ABC 分子をセンサーチップに付けて、それらを受容体として使える、あるいは使えない Cry 毒との結合親和性を、バイオセンサー-Biacore による SPR 解析を行った。その結果、Cry1Aa 毒素に対して高い受容体機能を発揮するカイコガの ABCC2(BmABCC2) は Cry1Aa 毒素に対して高い結合親和性を持っていた。一方、Cry1Aa 毒素に対して低い受容体機能しか発揮できないカイコの ABCC3(BmABCC3) は Cry1Aa 毒素に対して低い結合親和性を持っていた。また、BmABCC2 が受容体機能を発揮できない毒素である Cry1Ca、CryDa および Cry3Bb に対しては、BmABCC2 は結合親和性を持たなかった。これらのことから、基本的には、ABC ファミリー分子の高い受容体機能には、Cry 毒素に対する高い結合親和性が基盤になることが明になった。すなわち、各種の Cry 毒素は、それぞれ異なる ABC ファミリー分子に対して高い結合親和性を示し、それらの分子を利用して細胞を殺すことが明らかになった。

一方、ABC ファミリー分子のどこに Cry 毒素が結合するのかを BmABCC2 に変異を入れて調べたところ、細胞外ループ 1 のある狭い領域が特に重要であることが明らかになった。また、Cry1Aa 毒素に対して低い受容体機能しか持たない BmABCC3 のループを BmABCC2 のループで挿げ替えると、Cry1Aa 毒素に対して高い受容体機能を発揮することが明らかになった。すなわち、受容体機能の高低は ABC ファミリー分子のループ 1 を中心にした細胞外ループ部位との結合親和性の高低に由来することが明らかになった。

(3) 何故カドヘリン様タンパク質は受容体としてだめで ABC ファミリー分子は高機能なのか

Cry 毒素に対しては概してカドヘリン様タンパク質は低い受容体機能しか示すことができず、ABC2 は高い機能を示すことができる。その理由の理解に向けて、まず、Cry 毒素のイオンチャネル形成能へのこれら受容体の影響力を、アフリカツメガエルにこれら受容体を発現させて電気生理学的手法 (Voltage clamp 法) で調べて評価した。その結果、BmABCC2 にはカドヘリン様タンパク質に比較して数千倍も高い、Cry 毒素のイオンチャネル形成を誘導する機能があること

が明らかになった。

ところで、カドヘリン様タンパク質は「単に細胞貫通ドメインによって細胞外ドメインが膜にぶら下がっている」が、ABC ファミリー分子は「ATP の駆動力に依存して細胞内外をつなぐ穴を開く膜タンパク質」である。よって、この『穴を開く性状が Cry 毒素のイオンチャネル、すなわち「Cry 毒素の穴」の形成を誘導する能力に繋がる可能性』が疑われた。そこで、ATP 結合ドメインや ATP 結合に関与するアミノ酸残基を欠失させた BmABCC2 分子を作り Cry1Aa に対する受容体機能を評価した。しかし、予想に反してそれら変異体の受容体機能は維持されていた。すなわち、BmABCC2 の受容体機能の本質は穴にあるのではなく、Cry1Aa 毒素がイオンチャネルの穴を作るために構造の一部を細胞膜に刺すための「足場になること」であると考えられた。また、この足場になる性状においてはカドヘリン様タンパク質も基本的に同じであると考えられた。したがって、未だに、「何故カドヘリン様タンパク質は受容体としてだめで ABC ファミリー分子は高機能なのか」については満足の行く回答は得られていない。しかし、この間の調査によって、ABC ファミリー分子がカドヘリン様タンパク質よりも高い受容体機能を発揮することはさらに明らかになった。よって、少なくとも、ABC ファミリー分子を進化分子工学の対象に据えることの適切さは十分証明されたと考えられる。

(4) 変異体ライブラリー構築の基盤情報「Cry 毒素上の ABC ファミリー分子結合部位」

変異を導入した Cry 毒素に対して実施した Biacore の SPR 解析と SF9 細胞に対する傷害活性試験により、Cry1Aa 毒素の BmABCC2 結合部位はループ 2 と 3 を中心とした領域であり、カドヘリン様タンパク質結合部位と一部重なることが明らかになった。一方、ループ上の結合部位をさらに詳細に検討したところ、これまで言われて来たループの先端部位ではなく、むしろループの付け根部分に重要な領域があることが示唆された。よって、進化工学用の変異体ライブラリーを作る目的においては、Cry 毒素のループ 2 と 3 のループの付け根部分を対象にして変異を導入すべきであることが明らかになった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

【雑誌論文】(計 9 件)

1. Endo H, Tanaka S, Adegawa S, Ichino F, Tabunoki H, Kikuta S, Sato R. Extracellular loop structures in silkworm ABC transporters determine their specificities for *Bacillus thuringiensis* Cry toxins. J Biol Chem. 査読あり 2018 293: 8569-8577. doi:

- 10.1074/jbc.RA118.001761.
2. Endo H, Adegawa S, Kikuta S, Sato R. The intracellular region of silkworm cadherin-like protein is not necessary to mediate the toxicity of *Bacillus thuringiensis* Cry1Aa and Cry1Ab toxins. *Insect Biochem Mol Biol*. 査読あり 2018 94: 36-41. doi: 10.1016/j.ibmb.2018.01.005.
 3. Tanaka S, Endo H, Adegawa S, Iizuka A, Imamura K, Kikuta S, Sato R. *Bombyx mori* ABC transporter C2 structures responsible for the receptor function of *Bacillus thuringiensis* Cry1Aa toxin. *Insect Biochem Mol Biol*. 査読あり 2017 91: 44-54. doi: 10.1016/j.ibmb.2017.11.002.
 4. Endo H, Tanaka S, Imamura K, Adegawa S, Kikuta S, Sato R. Cry toxin specificities of insect ABCC transporters closely related to lepidopteran ABCC2 transporters. *Peptides*. 査読あり 2017 98: 86-92. doi: 10.1016/j.peptides.2017.04.003.
 5. Endo H, Azuma M, Adegawa S, Kikuta S, Sato R. Water influx via aquaporin directly determines necrotic cell death induced by the *Bacillus thuringiensis* Cry toxin. *FEBS Lett*. 査読あり 2017 591: 56-64. doi: 10.1002/1873-3468.12506.
 6. Adegawa S, Nakama Y, Endo H, Shinkawa N, Kikuta S, Sato R. The domain II loops of *Bacillus thuringiensis* Cry1Aa form an overlapping interaction site for two *Bombyx mori* larvae functional receptors, ABC transporter C2 and cadherin-like receptor. *Biochim Biophys Acta*. 2017 査読あり 1865: 220-231. doi: 10.1016/j.bbapap.2016.11.011.
 7. Tanaka S, Endo H, Adegawa S, Kikuta S, Sato R. Functional characterization of *Bacillus thuringiensis* Cry toxin receptors explains resistance in insects. *FEBS J*. 査読あり 2016 283: 4474-4490. doi: 10.1111/febs.13952.
 8. Tanaka S, Miyamoto K, Noda H, Endo H, Kikuta S, Sato R. Single amino acid insertions in extracellular loop 2 of *Bombyx mori* ABCC2 disrupt its receptor function for *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab and Cry1Ac but not Cry1Aa toxins. *Peptides*. 2016 78: 99-108. doi: 10.1016/j.peptides. 査読あり 2016.01.006.
 9. Obata F, Tanaka S, Kashio S, Tsujimura H, Sato R, Miura M. Induction of rapid and selective cell necrosis in *Drosophila* using *Bacillus thuringiensis* Cry toxin and its silkworm receptor. *BMC Biol*. 査読あり 2015 8: 48. doi: 10.1186/s12915-015-0160-2.

【学会発表】(計16件)

1. 阿出川さとみ, 山口奈緒美, 佐藤令一 Cry

毒素上の受容体 ABC トランスポーターC2 との結合に重要なアミノ酸残基の推測
平成 30 年度蚕糸・昆虫機能利用学術講演会 2018 年 3 月 20 日 名古屋大学, 名古屋.

2. Endo H, Adegawa S, Sato R. The intracellular region of the *Bombyx mori* cadherin-like protein is not necessary to mediate cytotoxicity of Cry1A toxins. International Congress on Invertebrate Pathology and Microbial Control and the 50th Annual Meeting of the Society for Invertebrate Pathology. August 13-17, 2017, San Diego, USA.
3. Endo H, Tanaka S, Sato R. Structures of *Bombyx mori* ABCC transporters responsible for mediating Cry1A toxin intoxication. International Congress on Invertebrate Pathology and Microbial Control and the 50th Annual Meeting of the Society for Invertebrate Pathology. August 13-17, 2017, San Diego, USA.
4. 畔柳ひとみ, 佐藤令一. *Bacillus thuringiensis* Cry1Ca および Cry1Da 毒素のカイコガ幼虫における受容体の探索 第 2 回蚕糸・昆虫機能利用関東地区学術講演会 2016 年 11 月 5 日 宇都宮大学, 宇都宮
5. 阿出川さとみ, 佐藤令一. 複数受容体と結合し毒素活性を左右する Cry 毒素上の領域解析 第 12 回昆虫病理研究会シンポジウム 2016 年 9 月 15-17 日 モンタナリゾート, 岩沼.
6. 畔柳ひとみ, 遠藤悠, 佐藤令一. *Bacillus thuringiensis* Cry1Ca および Cry1Da 毒素のカイコガ幼虫における受容体の探索 第 12 回昆虫病理研究会シンポジウム 2016 年 9 月 15-17 日 モンタナリゾート, 岩沼.
7. Endo H, Ichino F, Adegawa S, Tabunoki H, Sato R. The limited role of *Bombyx mori* ABCC3 as a Cry toxin receptor in comparison to ABCC2. International Congress on Invertebrate Pathology and Microbial Control and the 49th Annual Meeting of the Society for Invertebrate Pathology. July 24-28, 2016, Tours, France.
8. Endo H, Azuma M, Sato R. Aquaporins contribute to water influx into Sf9 cells intoxicated by *Bacillus thuringiensis* Cry toxin. International Congress on Invertebrate Pathology and Microbial Control and the 49th Annual Meeting of the Society for Invertebrate Pathology. July 24-28, 2016, Tours, France.
9. Adegawa S, Kikuta S, Sato R. Multi-binding ability to functional receptors and BmABCC2 dependent cytotoxicity-relevant property of the domain II loop region of Cry1Aa. International Congress on Invertebrate Pathology and Microbial Control and the 49th Annual Meeting of the Society for Invertebrate Pathology. July 24-28,

- 2016, Tours, France.
10. 遠藤悠, 田中 詩穂, 市野史佳, 天竺桂 弘子, 佐藤令一. カイコガ ABC トランスポーター C2 と C3 の Cry 毒素受容体機能における比較解析. 平成 28 年度蚕糸・昆虫機能利用学術講演会. 2016 年 3 月 17 日. 京都工芸繊維大学松ヶ崎キャンパス, 京都.
 11. 今村一博, 中嶋夏子, 遠藤悠, 佐藤令一. Cry 毒素の活性向上を目的とする ABCC2 を標的とした進化分子工学. 平成 27 年度蚕糸・昆虫機能利用学術講演会. 2015 年 9 月 27 日. 北大農学部, 札幌.
 12. 阿出川さとみ, 菊田真吾, 佐藤令一. Cry1Aa domain II loop2, 3 は BmABCC2 との結合やそれを介した細胞障害活性に影響を与える領域である. 平成 27 年度蚕糸・昆虫機能利用学術講演会. 2015 年 9 月 27 日. 北大農学部, 札幌.
 13. 遠藤悠, 佐藤令一. 標的昆虫の ABC トランスポーターを介して作用する Cry 毒素の解析. 平成 27 年度蚕糸・昆虫機能利用学術講演会. 2015 年 9 月 27 日. 北大農学部, 札幌.
 14. Adegawa S, Tanaka S, Kikuta S, Sato R. Loop regions of domain II of Cry1Aa have an important role for binding with BmABCC2 and its BmABCC2-dependency activity. International Congress on Invertebrate Pathology and Microbial Control and the 48th Annual Meeting of the Society for Invertebrate Pathology. AUG. 8-13, 2015, Vancouver, Canada.
 15. Endo H, Tanaka S, Sato R. Functional range of insect ABCC transporters as a Cry toxin receptor. International Congress on Invertebrate Pathology and Microbial Control and the 48th Annual Meeting of the Society for Invertebrate Pathology. AUG. 8-13, 2015, Vancouver, Canada.
 16. Imamura K, Nakajima N, Endo H, Sato R. Development of a Cry toxin activity-improving method based on the directed evolution that targets ABCC2. International Congress on Invertebrate Pathology and Microbial Control and the 48th Annual Meeting of the Society for Invertebrate Pathology. AUG. 8-13, 2015, Vancouver, Canada.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐藤 令一 (SATO RYOICHI)
東京農工大学・大学院農学研究院・教授
研究者番号：30235428

(2) 研究分担者

天竺桂 弘子 (TABUNOKI HIROKO)
東京農工大学・大学院農学研究院・講師
研究者番号：80434190

(3) 研究分担者

菊田 真吾 (KIKUTA SHINGO)
茨城大学・農学部・助教