

令和 3 年 5 月 21 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K05675

研究課題名(和文) 新規な殺蚊Cry46Abトキシンの作用機構とトキシン間シナジー効果の解明

研究課題名(英文) Channel-pores formed by *Bacillus thuringiensis* Cry46Ab toxin and synergistic interaction with other mosquitocidal Cry toxins.

研究代表者

早川 徹 (Hayakawa, Tohru)

岡山大学・ヘルスシステム統合科学研究科・助教

研究者番号：30313555

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：Cry46Abは既知の3ドメイン型Cryトキシンと同様にカチオン選択的な小孔を形成することが判明した。また膜貫入領域を標的とする変異導入解析の結果から、トキシン小孔のカチオン選択性と殺虫活性の強さの間に相関関係がみられた。一方、優先的に透過させるカチオンの順位はトキシン毎に異なることが判明した。カチオンの細胞内流入は浸透圧ショックのほかアポトーシスなどを誘導する可能性があり、この違いが「殺虫活性の助長」や「抵抗性昆虫の出現抑制」を引き出す要因になっている可能性がある。この疑問の答えを得るにはトキシンの膜貫入領域を標的とする変異導入解析を進める必要がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では殺蚊Cryトキシンが標的細胞膜上に形成する小孔の性状を解析した。その結果、殺虫トキシンがカチオンを選択的に透過させるチャネルポアであることを明らかにした。トキシンが形成するチャネルポアはカチオン間でも明確な選択性を示し、それが殺虫活性と相関することも判明した。本研究の成果は新しい微生物殺虫剤の開発に寄与すると考えるが、同時に最も原始的であるトキシンのチャネルポアがどのようにして透過させるイオンを選別できるのか？という新たな学術的疑問を生んでいる。細胞には恒常性を保つ様々なタイプのチャネルが存在する。トキシン小孔の研究はこれらチャネルの分子基盤の解明にも寄与することが期待される。

研究成果の概要(英文)：Our data demonstrated that Cry46Ab toxin formed cation-selective channel-pores in planar lipid bilayer as observed in other Cry toxins with 3 domain architecture. In addition, significant relationship between cation-selectivity of channel-pores and insecticidal activity was suggested by mutational analyses targeting the membrane-insertion region of Cry46Ab.

Interestingly, cation preference of the channel-pores for permeabilization varied with type of Cry toxins. Since influx of ions into a cell generally causes not only osmotic shock but also induces a variety of signal transduction pathways, including apoptosis, our observation suggested the difference in cation preference of the channel-pores resulted in differences in insecticidal activity.

研究分野：昆虫病理

キーワード：Bacillus thuringiensis Mosquitocidal Cry toxin Cry46Ab Mosquito larvae Channel-pores

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

土壌細菌 *Bacillus thuringiensis* 亜種 *israelensis* (Bti)は孢子形成期に殺虫トキシンで構成されるタンパク質結晶(クリスタル)を生産する。Bti クリスタルは蚊幼虫(双翅目昆虫)に特異的且つ非常に強い殺虫活性を示し、30年以上使用されている今でも野外における抵抗性蚊の出現が報告されていない。Bti クリスタルは少なくとも3種のCryトキシン(Cry4Aa, Cry4Ba, Cry11Aa)とCytトキシン(Cyt1Aa)で構成されるが、これらの中に作用機構の異なるトキシンが含まれており、それらが補完的・協調的に働いて「高い殺虫活性」と「抵抗性昆虫の出現抑制」のために働いていると考えられている。ただこれは確率の問題であり、その有効性が将来的にも保証されるものではないことは明らかである。

このような状況の下、本研究グループでは新しいタイプの殺蚊Cryトキシン(Cry46Ab)を同定した(Hayakawa et al., 2017a)。Cry46Abはもともとヒト白血病ガン細胞に対して選択的な細胞損傷活性を示すCryトキシン(パラスポリン)として見つかったものであるが(Hayakawa et al., 2007)、この研究でイエカ属の蚊幼虫にも殺虫活性を示すことが明らかになった。Cry46AbはBti由来のCryトキシン(3ドメイン型、3つのドメインで構成される特徴的な構造)やCytトキシンと異なる構造(アエロリシン型、エロモナス菌由来のアエロリシンに似た構造)を持ち、その作用機構もBti由来のトキシンと異なることが期待された。実際、Cry46AbをBti由来のCry4AaやCry11Aaと混合することで、殺虫活性に明らかな助長効果を示すことが判明した(Hayakawa et al., 2017a)。

Cry46AbはBtiに代わりうる新しい害虫防除システムの構築、少なくともBtiの延命につながるシステムの構築に資すると期待され、その作用機構や既知トキシンとの相互作用について解析する必要性が考えられた。

### 2. 研究の目的

「殺虫活性の助長」や「抵抗性昆虫の出現抑制」は、作用機構の異なる殺虫剤を混合使用した場合に観察される特徴である。よってCry46AbとBti由来のトキシンとは構造だけでなく、その作用機構においても異なっていることが期待される。一方、Cry46Abは小孔形成トキシンであることが示されており(Hayakawa et al., 2017a)、Bti由来のトキシンと同様な作用機構であることが示唆される。では一体Cry46AbとBti由来のトキシンの間にどのような違いがあり、「殺虫活性の助長」や「抵抗性昆虫の出現抑制」に寄与するのであろうか？本研究ではこの答えを明らかにするため、電気生理学的な手法を駆使してトキシン(Cry46AbやBti由来のCry4Aa、Cry11Aa等)が形成する小孔の性状を明らかにしようと考えた。

### 3. 研究の方法

#### (1)組換えトキシンタンパク質の調製

本研究ではCry46Ab(Hayakawa et al., 2017a)のほか、殺虫活性を有する3ドメイン型CryトキシンとしてBti由来のCry4Aa(Hayakawa et al., 2008)、Cry4Ba、Cry11Aa(Yamagiwa et al., 1999)、Bt菌亜種 *jagathesan* 由来のCry11Ba(Hayakawa et al., 2017b)を大腸菌で生産した。トキシンはグルタチオン *S*-トランスフェラーゼ(GST)融合タンパク質として大腸菌で発現させ、glutathione-sepharose 4B(GE Healthcare)を用いて精製した。精製したGST融合トキシンはトロンピン処理、もしくはトリプシン固定化カラム(Hayakawa et al., 2017a)で処理して活性化した。Cry4Baの生産ではHayakawaらの方法に従って作製した人工遺伝子(*cry4Ba-S1*, LC597654)を用いた。

#### (2)Cry46Ab変異体の構築

構造上の比較からCry46Abの膜貫入部位は $\beta 8$ - $\beta 9$ を含む領域と考えられた。本研究ではこの領域において正の電荷を持つリジンを負の電荷を持つグルタミン酸に置換した変異体(K155EとK156E)、逆に負の電荷を持つグルタミン酸を正の電荷を持つリジンに置換した変異体(E159KとE163K)、合計4種の変異体を構築した。変異は特異的プライマーセットを用いたSite-directed mutagenesis法で導入した。

#### (3)組換えトキシンの生物(殺虫)活性検定

トキシンの殺虫活性はアカイエカ幼虫を用いたバイオアッセイで評価した。アカイエカ卵は大日本除虫菊株式会社から供与していただき、23°Cのインキュベータ中で3齢幼虫まで飼育した。蚊の幼虫はある程度の粒径を持つものしか餌と認識しないため、トキシンはラテックスビーズ(径0.8  $\mu\text{m}$ , Sigma)に吸着させた。アカイエカ幼虫に対するトキシンの殺虫活性は、投与48時間後の死虫率から評価した。50%致死濃度(LC<sub>50</sub>)はプロビット法(Finney 1971)を用いて算出した。

#### (4)トキシンが形成する小孔の性状解析

人工脂質の平面膜を作製し、そこにトキシンの小孔を形成させた。人工脂質には大豆由来のリン脂質(アゾレクチン, Sigma)を用い、以下の3通りの方法( ~ )で平面膜の作製および小孔形成を試みた。小孔由来のチャネル電流を計測することで、小孔のイオン透過性を解析した。

ペインティング法(最も基本的且つ簡易な手法であるが、効率が悪く膜電流の計測に時間がかかる。シングルチャネルの計測も可能): 実験では2つのチャンバー(シス側、トランス側)で構成される計測装置を用いた(図1)。n-デカンに懸濁したアゾレクチン溶液(40 mg/ml)をシス側チャンバー下部に開けた小孔(径200  $\mu\text{m}$ )に塗り付け、脂質の薄膜を形成させた(図1)。

薄膜形成後に活性化トキシンをシス側チャンバーに添加すると、通常は 30 分程度でトキシン小孔が形成されるので、チャンネル電流をその時点の電圧に対してプロットした I-V グラフを作成した。

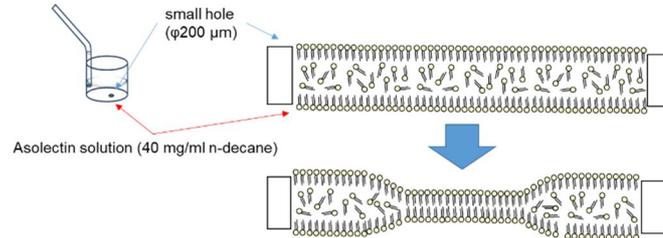


図 1 人工平面膜の作製(ペインティング法)

リポソーム融合法(無溶媒の脂質膜であるリポソーム上で小孔を形成させる。ペインティング法と比べて効率は良いが、シングルチャンネルの計測は困難)：ペインティング法と同様な脂質平面膜を作製した。また別途アゾレクチンで構成されるリポソームを作製した。活性化トキシンをリポソーム懸濁液に加えると、リポソーム上に小孔が形成されるので、それをシス側チャンバーに加えて脂質平面膜との融合を促した。

チップディップ法(無溶媒の脂質平面膜が作製できる。ペインティング法と比べて効率が良く、シングルチャンネルの計測も可能)：ガラス管(GD-1.2, Narishige)の先端を Puller(Nobato)で引き伸ばした後にヒートポリッシャーで先端の径が 10-30  $\mu\text{m}$  となるように整え、シスチャンバーとして利用した(図 2)。トランスチャンバーには 1.5 ml マイクロチューブを用いた(図 2)。トランスチャンバーを記録液で満たし、そこにトキシン入り記録液を満したシスチャンバーを挿入した。トランスチャンバーにヘキサンで懸濁したアゾレクチン溶液(5 mg/ml)を重層し、速やかにヘキサンを揮発させると液面に脂質の単層膜が形成される。シスチャンバーを上下させることで、先端に平面膜(脂質 2 重層)を形成させた(図 2)。

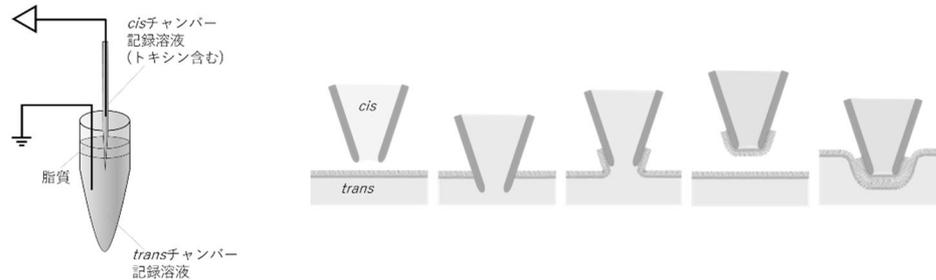


図 2 人工平面膜の作製(Tip-Dip 法)

#### 4. 研究成果

##### (1) Cry46Ab が形成する小孔の性状 シングルチャンネルコンダクタンス

150 mM NaCl や 150 mM CaCl<sub>2</sub> 溶液中における Cry46Ab 小孔のシングルチャンネルコンダクタンスを調査した。開状態と閉状態を行き交うチャンネル電流(図 3)が観察され、シングルチャンネルコンダクタンスは 150 mM NaCl 中で  $31.8 \pm 2.7$  pS、150 mM CaCl<sub>2</sub> 中で  $24.2 \pm 0.7$  pS と見積もられた。

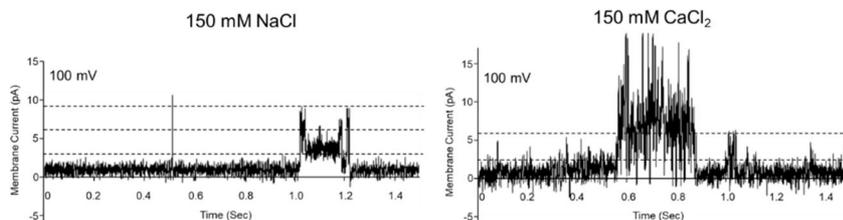


図 3 Cry46Ab 小孔のチャンネル電流

Cry46Ab 小孔の 150 mM KCl 溶液中でのシングルチャンネルコンダクタンスは  $103 \pm 4.1$  pS と見積もられている(Hayakawa et al., 2017a)。単純に比較することは難しいが、Cry46Ab 小孔は Na<sup>+</sup> や Ca<sup>2+</sup> よりも K<sup>+</sup>を透過させやすいことが示唆された(Sakakibara et al., 2019)。

##### 小孔のイオン選択性

Cry46Ab 小孔のイオン選択性を明らかにした。人工脂質平面膜はペインティング法で作製し、シス側とトランス側のチャンバーを異なる塩溶液で満たした。まずシス側に 600 mM KCl、トランス側に 150 mM KCl を用いた場合、I-V グラフに直線性が見られ、逆転電位( $V_R$ )は -18.38 mV と見積もられた。この値と計測に用いた塩濃度を Goldman-Hodgkin-Katz 式に導入した結果、Cl<sup>-</sup>に対する K<sup>+</sup>の透過率( $P_K/P_{Cl}$ )は 3.67、すなわち Cry46Ab 小孔はカチオン選択的であることが判明し

た(Sakakibara et al., 2019)。

またシスおよびトランスのチャンパーそれぞれが異なる塩溶液(150 mM KCl や 150 mM NaCl、75 mM CaCl<sub>2</sub>)で満たされている状態でチャンネル電流を測定し、K<sup>+</sup>や Na<sup>+</sup>、Ca<sup>2+</sup>の何れが優先的にCry46Ab 小孔を透過するか調査した。その結果、Cry46Ab 小孔が透過させるカチオンの優先度はK<sup>+</sup> > Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup> > Ca<sup>2+</sup>、Ca<sup>2+</sup> > Na<sup>+</sup>であることが明らかになった(Sakakibara et al., 2019)。Cry46Ab が形成する小孔はイオンチャンネルと異なり、非常に原始的な構造を持つと考えられるが、それでも明確なイオン選択性を備えていることが判明した。

## (2)Cry46Ab が形成する小孔のイオン選択性と殺虫活性

### Cry46Ab 変異体の構築

Cry46Ab と高い相同性を示すトキシン Cry46Aa では X 線結晶構造解析を基にした三次元構造モデルが構築されている(Akiba et al., 2009)。Cry46Aa では、同じアエロリシン型トキシン(アエロリシンや ε トキシン)との構造比較から β8-β9 を含む領域が膜貫入すると考えられている。この領域には疎水性アミノ酸残基と親水性アミノ酸残基が繰り返す構造があり、膜貫入後に β パレルを形成すると考えられている。

Cry46Ab の β8-β9 領域には正の電荷を持つリジンが 2 つ(K<sup>155</sup> と K<sup>156</sup>)と負の電荷を持つグルタミン酸が 2 つ(E<sup>159</sup> と E<sup>163</sup>)が存在する。これらアミノ酸残基は形成する小孔の内腔側に配置され、小孔のイオン透過性に影響する可能性があると考えた。そこでこれらアミノ酸残基を反対の電荷を持つアミノ酸残基に置換した 4 種の変異体(K155E, K156E, E159K, E163K)を構築した。

### Cry46Ab 変異体の殺虫活性

Cry46Ab 変異体は GST 融合タンパク質として大腸菌で生産した。変異体 K156E については構造安定性に問題があり、トキシン活性化の過程で分解されてしまったが、残りの変異体トキシンは問題なく生産できた。精製した変異体トキシンを 3 齢アカイエカ幼虫に投与し、48 時間後の死亡率を観察、50% 致死濃度(LC<sub>50</sub>)を算出した(図 4)。

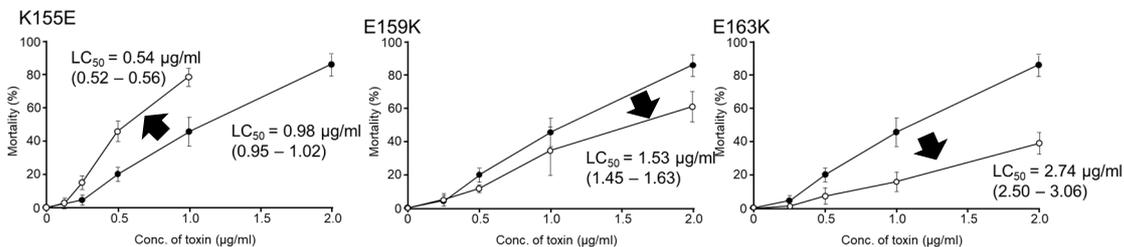


図 4 Cry46Ab 変異体の殺虫活性

Cry46Ab WT の LC<sub>50</sub> 値は 0.98 μg/ml と見積もられた。一方、変異体では K155E が 0.54 μg/ml、E159K が 1.53 μg/ml、E163K が 2.74 μg/ml であった(図 4)。この結果は変異体 K155E で殺虫活性が大幅に上昇し、逆に E159K と E163K で活性が減少していることを示していた。変異を導入することで形成する小孔のイオン透過性が変化して、それが殺虫活性に影響したと予想された。

### Cry46Ab 変異体が形成する小孔のイオン透過性

Cry46Ab 変異体が形成する小孔のイオン選択性を調査した。トキシンの小孔形成はリポソーム融合法で行い、平面膜両側を 4 倍の濃度差の KCl 溶液(600 mM KCl/シス側、150 mM KCl/トランス側)で満たした条件下でチャンネル電流を測定した。

測定したチャンネル電流を I-V グラフ上にプロットすると、全てのグラフが直線性を示した。逆転電位(V<sub>R</sub>)は WT で -9.38 ± 0.66 mV(n = 7)、P<sub>K</sub>/P<sub>Cl</sub> 値は 1.86 と見積もられた。これは Cry46Ab WT が形成する小孔において、K<sup>+</sup>の方が Cl<sup>-</sup>よりも 2 倍程度透過しやすいことを示している。一方、殺虫活性が上昇していた K155E 変異体の V<sub>R</sub> 値は -17.06 ± 2.82 mV(n = 5)、P<sub>K</sub>/P<sub>Cl</sub> 値は 3.29 となり、Cl<sup>-</sup>に対する K<sup>+</sup>の選択性が WT よりも 1.5 倍程度上昇していた。一方、殺虫活性が低下していた変異体 E159K と E163K の V<sub>R</sub> 値はそれぞれ -6.17 ± 1.58 mV(n = 5)と -5.66 ± 2.30 mV(n = 11)であり、P<sub>K</sub>/P<sub>Cl</sub> 値はそれぞれ 1.50 と 1.45 であった。これらの値は WT よりも低く、E159K および E163K が形成する小孔において Cl<sup>-</sup>に対する K<sup>+</sup>の選択性が減少していることを示していた。

一般的に Cry トキシンが標的細胞膜上に小孔を形成すると、イオンや水の細胞内流入が促され、オスモティックショックで細胞が破壊されると考えられている。本研究で構築した Cry46Ab 変異体 K155E では形成する小孔のカチオン選択性が上昇しており、その結果として細胞外カチオンさらには水の細胞内流入が促されたと考えられた。逆に変異体 E159K と E163K が形成する小孔ではカチオン選択性が低下しており、その結果としてイオンや水の細胞内流入が抑制されていることが考えられた。Cry46Ab の膜貫入領域におけるアミノ酸残基 K<sup>155</sup> や E<sup>159</sup>、E<sup>163</sup> は、小孔を透過するイオンの種類や量を制御するホットスポットである可能性が考えられた。

## (3) 3 ドメイン型殺蚊 Cry トキシンが形成する小孔のイオン透過性

上述のように、Cry46Ab の構造(アエロリシン型)は既知の殺蚊 Cry トキシン(3 ドメイン型)と

大きく異なるため、その作用機構においても大きな違いがあると期待される。実際、Cry46Ab と 3ドメイン型 Cry トキシン(Cry4Aa や Cry11Aa、Cry11Ba)を混合使用すると、明らかな殺虫活性助長効果が観察される(Hayakawa et al., 2017a)。これは作用機構が異なる殺虫剤を混合使用した場合に特徴的な現象である。一方、本研究の結果では Cry46Ab も既知の Cry トキシンと同様な小孔形成トキシンであることが示されている(Sakakibara et al., 2019; Hayakawa et al., 2020)。

本研究では作用機構上の違いを明らかにする目的で、いくつかの 3ドメイン型殺虫 Cry トキシン(Bt 由来の Cry4Aa および Cry4Ba、Cry11Aa、Bt 亜種 *jagathesan* 由来の Cry11Ba)について形成する小孔の性状を解析し、Cry46Ab 小孔との差異を明らかにしようと考えた。

#### Cry4Aa が形成する小孔のイオン透過性

GST 融合タンパク質として生産した組換え Cry4Aa を glutathione-sepharose 4B に吸着させた後、トロンピン処理することで活性化トキシンを切り出した。Tip-Dip 法で作製したアゾレクチン平面膜を用いてチャンネル電流を測定した結果、150 mM KCl 溶液中でのシングルチャンネルコンダクタンスは約 200 pS と見積もられた。これは Cry46Ab 小孔のシングルチャンネルコンダクタンスよりも 2 倍程度高い値であり、Cry4Aa 小孔の方が Cry46Ab 小孔よりもイオンを透過させやすいと示唆された。また平面膜両側を 4 倍の濃度差の KCl 溶液(600 mM KCl/シス側、150 mM KCl/トランス側)で満たした条件下での  $P_K/P_{Cl}$  値は 4.7 と見積もられ、Cry46Ab 小孔と同様なカチオン選択的であることが示された。一方、Cry4Aa 小孔を透過するカチオンの優先順位は  $Na^+ > K^+$ 、 $Na^+ > Ca^{2+}$ 、 $K^+ > Ca^{2+}$  であり、Cry46Ab 小孔( $K^+ > Na^+$ 、 $K^+ > Ca^{2+}$ 、 $Ca^{2+} > Na^+$ )と異なることが明らかになった。

#### Cry4Ba が形成する小孔のイオン透過性

組換え Cry4Ba は Cry4Aa と同様な手法で生産・精製した。Tip-Dip 法で作製したアゾレクチン平面膜を用いてチャンネル電流を測定した結果、150 mM KCl 溶液中でのシングルチャンネルコンダクタンスは最大約 400 pS と見積もられた。平面膜両側を 4 倍の濃度差の KCl 溶液(600 mM KCl/シス側、150 mM KCl/トランス側)で満たした条件下での  $P_K/P_{Cl}$  値は 2.2 と見積もられ、Cry4Aa や Cry46Ab 小孔と同様なカチオン選択的であることが示された。一方、Cry4Ba 小孔を透過するカチオンの優先順位は  $Na^+ < K^+$ 、 $Na^+ < Ca^{2+}$ 、and  $K^+ < Ca^{2+}$  であり、Cry46Ab 小孔だけでなく、Cry4Aa 小孔とも異なっていた。構造が類似するトキシン間でもイオン透過性が異なることが示された。

#### Cry11Aa が形成する小孔のイオン透過性

組換え Cry11Aa も Cry4Aa と同様な手法で生産・精製した。Tip-Dip 法で作製したアゾレクチン平面膜を用いてチャンネル電流を測定した結果、150 mM KCl 溶液中でのシングルチャンネルコンダクタンスは最大約 300 pS と見積もられ、Cry4Aa 小孔や Cry46Ab 小孔よりも高い値が得られた。しかし Cry4Aa や Cry46Ab の方が若干高い殺虫活性を示すことが  $LC_{50}$  値を基にした比較で示されており、コンダクタンスの値だけでは殺虫活性の強さが説明できないと考えられた。平面膜両側に 4 倍濃度差の KCl 溶液が存在する条件下での  $P_K/P_{Cl}$  値は 1.1 であり、カチオン/アニオン選択性がないか、わずかにカチオン選択的な小孔であることが示された。Cry11Aa 小孔を透過するカチオンの優先順位は  $K^+ > Na^+$ 、 $Ca^{2+} > K^+$ 、and  $Ca^{2+} > Na^+$  であり、Cry4Aa 小孔や Cry4Ba 小孔、Cry46Ab 小孔とも異なることが明らかになった。

#### Cry11Ba が形成する小孔のイオン透過性

GST 融合タンパク質として生産した組換え Cry11Ba は glutathione-sepharose 4B を用いて精製した。トキシンはトリプシン固定化カラムを用いて活性化し、リボソーム融合法で形成する小孔の性状を解析した。平面膜両側に 4 倍濃度差の KCl 溶液が存在する条件下での  $P_K/P_{Cl}$  値は 2.2 であり、構造が類似する Cry11Aa の小孔よりもカチオン選択的であることが示された。Cry11Ba 小孔を透過するカチオンの優先順位は  $Na^+ < K^+$ 、 $Na^+ > Ca^{2+}$ 、 $K^+ > Ca^{2+}$  であり、Cry46Ab 小孔や他の 3ドメイン Cry トキシン小孔と異なることが明らかになった。

以上、Cry46Ab は既知の 3ドメイン型殺虫 Cry トキシン(Cry4Aa、Cry4Ba、Cry11Aa、Cry11Ba)と全く異なる構造を持つが、共にカチオン選択的な小孔を形成するトキシンであることが判明した。また Cry46Ab の膜貫入領域を標的とする変異導入解析の結果から、トキシン小孔のカチオン選択性が殺虫活性の強さと相関することが明らかになった。一方、優先的に透過させるカチオンの順位は Cry46Ab と 3ドメイン型殺虫 Cry トキシン間で、さらに言うと同じ 3ドメイン型殺虫 Cry トキシンでもトキシン毎に異なることが判明した。

上述のように Cry46Ab と 3ドメイン型殺虫 Cry トキシン(Cry4Aa、Cry11Aa、Cry11Ba)の混合トキシンでは明らかな殺虫活性助長効果が観察される。これは作用機構の異なるトキシンを混合使用した場合に特徴的な現象である。一般的にカチオンの細胞内流入は浸透圧ショックのほかアポトーシスなどを誘導する可能性がある。Cry トキシンの殺虫活性はこれらが複合的に組み合わせられた複雑な機構で引き起こされる可能性が示唆される。形成する小孔のカチオン透過性の違いが「殺虫活性の助長」や「抵抗性昆虫の出現抑制」を引き出す要因になっている可能性がある。本研究では行ったような膜貫入領域を標的とする変異導入解析を様々なトキシンで進め、野生型(WT)と異なるイオン透過性が異なる変異体が得られれば、新たに生じたこの疑問の答えも得られると考える。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Sakakibara A, Takebe S, Ide T, Hayakawa T.	4. 巻 54
2. 論文標題 Characterization of the channel-pores formed by Bacillus thuringiensis Cry46Ab toxin in planar lipid bilayers.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Applied Entomology and Zoology	6. 最初と最後の頁 389-398
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s13355-019-00635-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yamagishi T., Endo H., Fukumura K., Nagata S., Hayakawa T., Adegawa S., Kasubuchi M., Sato R.	4. 巻 106
2. 論文標題 Glucose, some amino acids and a plant secondary metabolite, chlorogenic acid induce the secretion of a regulatory hormone, tachykinin-related peptide, from the silkworm midgut.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Peptides	6. 最初と最後の頁 21-27
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.peptides.2018.06.004.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Okazaki T., Ichinose J., Takebe S., Ide T., Hayakawa T.	4. 巻 53
2. 論文標題 Potency of the mosquitocidal Cry46Ab toxin produced using 4AaCter-tag that facilitates formation of protein inclusion body in Escherichia coli.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Applied Entomology and Zoology	6. 最初と最後の頁 67-73
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s13355-017-0529-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Hayakawa T, Miyazaki M, Harada S, Asakura M, Ide T.	4. 巻 104
2. 論文標題 Channel-pore cation selectivity is a major determinant of Bacillus thuringiensis Cry46Ab mosquitocidal activity.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Applied Microbiology and Biotechnology	6. 最初と最後の頁 8789-8799
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00253-020-10893-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hirano M, Yamamoto D, Asakura M, Hayakawa T, Mise S, Matsumoto A, Ide T.	4. 巻 11
2. 論文標題 A lipid bilayer formed on a hydrogel bead for single ion-channel recordings.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Micromachines	6. 最初と最後の頁 1070
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/mi11121070	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 早川徹、宮崎美登香、榊原暁、原田翔也、朝倉真実、井出徹
2. 発表標題 殺蚊トキシンCry46Abの小孔形成と殺虫活性
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会、博多
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 白石優里、小園寛人、宮崎美登香、新谷彩子、井出徹、早川徹
2. 発表標題 殺蚊トキシンCry4Aaが形成するチャネルポアの性状
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会、博多
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 新谷彩子、白石優里、汐崎友哉、井出徹、早川徹
2. 発表標題 非常に強い殺蚊活性を示すCry11Baトキシンの作用機構
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会、博多
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 榊原暁・植田翔・武部聡・井出徹・早川徹
2. 発表標題 新規な殺蚊トキシンCry46Abの小孔形成
3. 学会等名 第13回昆虫病理研究会シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 早川徹，榊原暁，武部聡，井出徹
2. 発表標題 新規な殺蚊Cry46Abトキシンの殺虫活性メカニズム
3. 学会等名 第63回日本応用動物昆虫学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hayakawa T.
2. 発表標題 Strategy to improve Bio-insecticide: Pore-forming Cry toxins from soil bacterium <i>Bacillus thuringiensis</i> .
3. 学会等名 Sister Nivedita University & Okayama University jointly presents an interactive seminar（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 早川徹	4. 発行年 2020年
2. 出版社 朝倉書店	5. 総ページ数 204 (pp99-100)
3. 書名 カイコの科学 日本蚕糸学会（編）、第4章カイコの病気から学ぶ、4.4病原細菌が放つ殺虫性タンパク質	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------