

昆虫ゲノムと昆虫産業

農業生物資源研究所

昆虫ゲノム研究チーム

三田 和英

はじめに

昆虫は100万～200万種を擁する巨大な生物群であり、地球上の生物種数の約半数を占めている。昆虫は形態的・生態的にきわめて多様性に富み、最も繁栄している生物群である。この繁栄は約4億年の翅と飛翔機能の獲得、ならびに約3億年前に実現した変態による幼虫機能の特殊化に負うところが大きい。昆虫の形態や生態の多様性は、ゲノム上の既存遺伝子に他生物から獲得した遺伝子および自ら創成した新規遺伝子を加えて新しいゲノムと新しい遺伝子ネットワークを再構築し、そこに厳しい自然選択が働くことで実現してきた。特に、鱗翅目昆虫では唯一の資源である植物との特異的な寄生関係の構築に必要な選択機能、また多くの微生物や寄生虫、さらには天敵との熾烈な戦いで鍛えられたさまざまな防御機構がある。さらに複雑な性行動の解発に特異的な性フェロモンを用いていることはよく知られている。双翅目の蚊やハエなどは吸血行動と病原媒介能力を通してヒトや動物と関わり合っているが、鱗翅目はそれらと対照的に植物との関係があるゆえに多くの特異機能を保有していると考えられる。また、西アフリカに生息するネムリユスリカはその地域の環境上権に適應するために乾燥休眠という特異的生物機能を獲得している。このように多様な昆虫類のゲノムは特異的生物現象を産み出す新規の遺伝子の宝庫と言える。

近年、主要なモデル生物のゲノム構造解析によって、画期的な新薬開発などライフサイエンスの基礎科学、産業に飛躍的な変革をもたらされつつある。様々な生物のゲノム情報が着実に解読されつつある中、ショウジョウバエを除いて、昆虫類のゲノム情報解読は遅れているとされてきた。しかし、ここ一年～二年の間に、昆虫ゲノムの研究は急に進み出した感がある。ショウジョウバエの全ゲノム配列の発表が2000年春に行われ(Adams et al. 2000)、ショットガンシーケンスによる全ゲノム解析が有効であることが示され、他の生物にも適用されだした。そして、2002年春には、whole genome shotgun sequence法で、タバコガの一種 *Heliothis virescens* の解析が民間会社によって行われ、2002年秋にはハマダラカ *Anopheles gambiae* のゲノム配列が報告された(Holt et al. 2002)。多様性に富み、多くの種が存在する昆虫類のゲノム研究は、新規の遺伝子の宝庫であり、無脊椎動物の進化の頂点に立つ昆虫類がどのように遺伝子と機能とを結びつけて進化してきたのかが解明されることが期待できる。また、昆虫のゲノム情報は、様々な昆虫特異的機能を遺伝子レベルで解明し、それらの昆虫制御や産業への応用を飛躍的に加速するであろう。昆虫ではゲノム研究を十分活用する段階にはまだ至っていないが、今後の昆虫特異的生物現象の利用、害虫防除への発展についても、考えてみたい。

I. 昆虫ゲノム研究の現状

(1) 全ゲノム解析

全ゲノムを解析するには、多大の費用・労力・時間を必要とし、よほど重要な種でない限り、全ゲノム情報を解読することはできない。昆虫では、ショウジョウバエ *Drosophila melanogaster* とハマダラカ *A. gambiae* の2種で全ゲノムが解析され、タバコガ *H. virescens* でショットガンシーケンスが行われている。今後全ゲノムの解読が予定されているものとして、ミツバチ *Apis mellifera ligustica*、ネッタイシマカ *Aedes aegypti*、そしてカイコ *Bombix mori* があげられる (第1表)。

ショウジョウバエ *Drosophila melanogaster*

モデル生物として、生物学に大きな貢献をしてきているショウジョウバエは、バーレーの *Drosophila genome project* で解析が行われ、Celera Genomics 社でショットガンシーケンスが行われた (Adams et al. 2000)。真核生物において、ショットガンシーケンスの有用性が示され、ヒトゲノム解析にも使われ (Venter et al. 2001)、昨年のドラフトシーケンス公表 (International Human Genome Sequencing Consortium, 2001) にも影響した。

キイロショウジョウバエのゲノムサイズは、137 Mbp で約 14,000 個の遺伝子をもつ。ショウジョウバエの遺伝子情報は FlyBase というデータベースに集約され、公開されている。ショウジョウバエは、発生学や神経生物学のモデルとして研究が進んでいるが、ヒトの病気に関係する遺伝子のホモログも多く見つかることから、それら遺伝子の機能解析も盛んになっている。

ハマダラカ *Anopheles gambiae*

ショウジョウバエに次いで、マラリア媒介蚊である *Anopheles gambiae* の全ゲノムが先月公表された (Holt et al. 2002)。ショウジョウバエの場合と同様に、Celera Genomics 社がホールゲノムショットガンシーケンスを行い、The International *Anopheles* Sequence Committee がマッピングを行っている。ホールゲノムショットガンによるシーケンスのカバー率は10倍で、タンパクをコードする約 1,4000 個の遺伝子を同定した。ハマダラカの染色体数は3本 (n=3) と少ないが、ゲノムサイズはショウジョウバエの2倍にあたる 287 Mbp であった。

第1表 全ゲノムが解析または解析予定の昆虫 (線虫) のゲノム比較

種名	染色体数	ゲノムサイズ	遺伝子数	データベース	発表年月
線虫 <i>Caenorhabditis elegans</i>	6	97 Mbp	19,000	WormBase	1998.12
ショウジョウバエ <i>Drosophila melanogaster</i>	5	137 Mbp	14,000	FlyBase	2000.3
ハマダラカ					2002.10

<i>Anopheles gambiae</i>	3	278 Mbp	14,000	AnoBase AgaBase	
タバコガ <i>Heliothis virescens</i>	3 1				2002.4 ショットガンシー ケンスだけ
ミツバチ <i>Apis mellifera</i>	1 6				
ネッタイシマカ <i>Aedes aegypti</i>	3	800 Mbp			
カイコ <i>Bombyx mori</i>	2 8	530 Mbp		SilkBase	

ハマダラカは、モデル生物としてではなく、マラリア媒介をする害虫としてシーケンス解析が行われ、同時期に病原体のマラリアの全ゲノムについても報告された (Gardner et al. 2002)。マラリア原虫は、14本の染色体を持ち、23 Mbp のゲノムサイズで、5,300 個の遺伝子を持っていた。今後、この媒介虫と病原体の相互関係解明やマラリア撲滅のためのポストゲノム研究が加速される気配である。

オオタバコガの一種 *Heliothis virescens*

今年 2002 年の 4 月に *H. virescens* のゲノムが解読されたと報道があった。世界的な製薬メーカーであるバイエルとゲノム情報に基づいた薬品開発を行っている Exelixis という会社とのジョイントベンチャーによるもので、このベンチャーは Genoptera (<http://www.genoptera.com>) と名付けられている。約 1 年をかけて、ホールゲノムショットガンシーケンスを行い、この虫の 90% にあたる遺伝子を同定できたと公表しているが、ゲノムのカバー率は低いと言われている。シーケンスデータは公表されていない。遺伝子の annotation では、ショウジョウバエのゲノム情報が、役立っているとのことである。

この害虫は、鱗翅目害虫のなかでも多大な被害をもたらす種で、殺虫剤や植物保護剤の開発のために、ゲノム解析が行われた。殺虫剤の標的になりそうな分子の遺伝子情報が、農薬開発に使われると考えられる。この目的に限れば、カバー率が低くても、重要な遺伝子情報を早く手に入れることができるという点で、非常に有用なアプローチといえる。

ミツバチ *Apis mellifera*

ミツバチのホールゲノムショットガンシーケンスがアメリカでスタートすることが決まっており、今年の春にはシーケンシング・アセンブル・自動アノテーションの結果が出る予定である。養蜂業としての利用の他に、社会性昆虫や脳研究の材料として重要視されている。NIH の National Human Genome Research Institute が、ニワトリやチンパンジーとともに、今後ホールゲノムショットガンシーケンスを行う生物の一つにあげている。

ネッタイシマカ *Aedes aegypti*

ウイルス媒介蚊として、重要なネッタイシマカについては、アメリカ NIH の National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID) が、スポンサーとなつてすでにゲノムプロジェクトが立ち上がっているとのことである。この蚊のゲノムサイズは、764-813 Mbp と見積もられており、昆虫のなかではかなり大きなサイズである。

カイコ *Bombyx mori*

既存の鱗翅目昆虫のゲノム研究は、ほとんどカイコのゲノム解析である。それはほとんど日本が主体となつて行われてきた。これは日本における 100 年以上にわたるカイコの膨大な研究成果が背景となつて、特異的機能解明を目指したカイコゲノム研究が生物研を中心に急速に進み始めたからである。世界の鱗翅目研究者によって鱗翅目昆虫ゲノム国際コンソーシアムが形成され (International Lepidopteran Genome Project, <http://www.ab.a.u-tokyo.ac.jp/lep-genome/>)、日本、中国、フランスなどが中心になつてゲノム解析が進展がアピールされた。このコンソーシアムでは鱗翅目昆虫の代表モデル生物種としてのカイコゲノム解析の遂行が第一の目標であることが合意された。こうした状況の中で、生物研を中心に、BAC (bacterial artificial chromosome) ライブラリーが作られ、コンティグ作製も進んでいる。今年度カイコのホールゲノムショットガンの予算が認められ、ゲノム解析が実質的にスタートした。遺伝資源としてもわが国が多くを維持しており、早期のゲノム情報の解読が期待されている。

(2) EST 解析

全ゲノムの配列解読には至らない昆虫やダニでは、cDNA ライブラリーからクローンの配列を一回だけシーケンスして、データベースに保存していく作業が行われている。この EST (expressed sequence tag) 解析は、昆虫の体内で発現している遺伝子のカタログで、比較的小規模の研究室でも解析できる。また、この EST 解析は、実際に mRNA として発現している遺伝子を解読するところから、ゲノム遺伝子のエクソン部分の推定やタンパクをコードしていない遺伝子の発見などにも役立つ。第 2 表に、NCBI (National Center for Biotechnology Information) に登録されている、昆虫、ダニ、線虫の種名とその登録クローン数を示した。まだ登録されていない種や一部しか登録されていないものが多く、実際にはもっと多くの解析事例や解析クローン数になると考えられる。

ミツバチでは、イリノイ大学において Brain EST project が行われており、2 万本以上の cDNA クローンが解読されている (Whitfield et al. 2002)。ネムリ病を媒介するツェツェバエ *Glossina morsitans* では、イギリスの The Sanger Center とウエールズ大学との共同により、2 万本の cDNA が解析されている。病原媒介を行うマダニ *Amblyomma americanum* においても、唾液腺の cDNA を中心に解析が行われている。その他に、蚊では、*Aedes albopictus*, *A. triseriatus*, *Culex pipiens* などのゲノムプロジェクトが知られている (NCBI)。その他に、フランスと日本の共同作業により、ヨトウムシの *Spodoptera frugiperda* の EST も 2 万数千クローン

解析されている。カナダでは、林業害虫の *Choristoneura fumiferana* で 2 万本の EST が解析されている。オーストラリアでは、オオタバコガ *Helicoverpa armigera* の解析（約 5 千クローン）が行われている。

わが国では、カイコにおいて、すでに 3 万 5 千の EST クローンから 1 万 2 千の独立した（重複しない配列）クローンが得られており、全遺伝子の 6 割程度をカバーする配列を入手できるように解析が進められている。カイコについては、全 EST データが、‘SilkBase’ (<http://www.ab.a.u-tokyo.ac.jp/silkbase/>) として公開されている。また、稲の害虫トビイロウンカでは、1 万 5 千以上の cDNA が解読されている。組織別にライブラリーを作って解析されており、組織特異的遺伝子も多く見つかった。現在唯一解析が進んでいる不完全変態昆虫である。その他に、ナミハダニ *Tetranychus urticae* やワタアブラムシ *Aphis gossypii* の解析も始まっている。

完全長 cDNA 解析は、まだ昆虫では行われていない。現在、ウンカやカイコで準備が進められている。完全長 cDNA を解読することにより、ゲノム上の転写位置、エクソン、イントロンの配列などがわかるだけでなく、重要遺伝子の全長配列を入手することができ、遺伝子のアノテーションには必須である。さらに、機能解析研究には不可欠の情報である。

今後、解析が進んでいない鞘翅目の害虫のどれかを解析する必要があると思われる。昆虫は多様な進化を遂げており、農業害虫としても重要な鞘翅目でのゲノムデータは、比較ゲノム学の上からも、貴重なものとなろう。

第 2 表 データベース (NCBI) に登録されている昆虫/ダニ/植物寄生線虫の EST クローン数

種 名	登録数
<i>Drosophila melanogaster</i> (fruit fly)	256,583
<i>Caenorhabditis elegans</i> (nematode)	189,632
<i>Anopheles gambiae</i> (African malaria mosquito)	94,032
<i>Apis mellifera</i>	15,395
<i>Bombyx mori</i> (domestic silkworm)	14,878
<i>Meloidogyne incognita</i> (root-knot nematode)	12,752
<i>Meloidogyne hapla</i>	10,444
<i>Meloidogyne javanica</i> (root-knot nematode)	5,600
<i>Amblyomma variegatum</i>	3,992
<i>Meloidogyne arenaria</i>	3,334
<i>Aedes aegypti</i> (yellow fever mosquito)	2,315
<i>Amblyomma americanum</i>	1,971
<i>Manduca sexta</i> (tobacco hornworm)	1,626
<i>Helicoverpa armigera</i>	474
<i>Drosophila simulans</i>	259
<i>Bombyx mandarina</i> (wild silkworm)	226
<i>Boophilus microplus</i>	143
<i>Culex pipiens pallens</i>	40

<i>Trichoplusia ni</i> (cabbage looper)	34
<i>Dermacentor variabilis</i>	30
<i>Galleria mellonella</i>	26
<i>Anopheles stephensi</i>	24

2002年9月27日現在、データベース登録分。

(3) 形質転換昆虫と RNAi

しばらく前までは、ショウジョウバエでしか形質転換 (germline transformation) 昆虫は得られなかったが、1995年にチチュウカイミバエで遺伝子の導入に成功し (Loukeris et al. 1995)、その後カやハエなどで成功が相次ぎ、いまでは、双翅目から鱗翅目、鞘翅目など多くの昆虫で遺伝子の導入が行われるようになった (田村 2000; Tamura 2001; Handler 2001; Atkinson 2002)。多くの昆虫で成功するようになったのは、トランスポゾンなどのベクターの発達と、導入するマーカー遺伝子として識別しやすい眼色の変異遺伝子や GFP 等の蛍光タンパク質遺伝子の利用 (Horn et al. 2002) とによるところが大きい。

ショウジョウバエでは P 因子がもっぱら使われ、その他の昆虫では、他の DNA 型のトランスポゾンが利用される。*hobo*, *Hermes*, *mariner*, *Minos*, *piggyBac* が知られており、なかでも *piggyBac* が一番いろいろな昆虫に利用されているようである。ウイルスを用いたものとしては、核多角体病ウイルスを用いたカイコの遺伝子ターゲティングが知られている (Yamao et al. 1999)。

このトランスジェニック技術は、遺伝子の機能を解析する上で、重要な手法であり、効率のよく転換昆虫が得られるように、技術の改良が加えられている。また、ショウジョウバエでは、targeted mutagenesis がやっとなできるようになった (Rong et al. 2000)。

RNAi については、ショウジョウバエをはじめとして、いろいろな昆虫で試されている。RNAi の効果により目的の遺伝子の働きを抑えるような、トランスジェニックなショウジョウバエ系統が作られつつある。

(4) マイクロアレイ

ショウジョウバエでは市販のマイクロアレイ (The GeneChip[®] Drosophila Genome Array, Affymetrix) がある。このマイクロアレイは、13,500 の遺伝子をのせている。カイコでは、現在約 6,000 個の遺伝子をのせた cDNA マイクロアレイが作製されており、さらに、9,000~10,000 個の遺伝子が解析できるように検討が進められている。その他には、ヨトウムシ *Spodoptera frugiperda* で約 6000 個の遺伝子をのせたマイクロアレイ作製が進行中である。

(5) 昆虫関連微生物のゲノム解析

前述のように、真核微生物としてマラリア原虫の2種、*Plasmodium falciparum* と *P. yoelii yoelii* において、全ゲノムが解読されている。2002年9月現在で、222の微生物ゲノム（細菌と古細菌）が解析されており、そのうち90種でシーケンス解析が終了しており、約20種でannotationが行われており、残り110種以上でシーケンス作業中である（NCBI）。おそらく、NCBIのリストにないものもあるので、もっと多くの微生物が解析中と思われる。

これらの中で、発疹チフス *Rickettsia prowazekii*, 紅斑熱 *R. conorii* の病原リケッチア、そしてマダニによって媒介されるライム病の病原 *Borrelia burgdorferi* においてすでにゲノムの解読がされ、アブラムシの共生細菌 *Buchnera* 2種においても解読が終了している。シーケンス中のものとしては、病原リケッチア *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia chaffeensis*, 病原細菌 *Coxiella burnetii*, *Francisella tularensis*, そして節足動物の性や生殖に関係する共生リケッチア *Wolbachia* がある。

II. ゲノム研究と昆虫特異的生物現象の利用

(1) 害虫防除—ゲノム創薬

現在地球上には60億人が存在し、農業は日々これらの人を養っている。そして50年以内には人口は90億人に膨れ上がる。世界の農業生産物の約1/3が害虫、病原体、雑草によって失われていると推定されている。農林害虫による被害の約半数が鱗翅目昆虫によるものである。農林害虫防除は主に化学殺虫剤によって行われており、殺虫剤の世界使用量は毎年1兆5千億円にもなっている。これに対し、昆虫のゲノムが解読されることにより、殺虫剤開発に利用しようとするのは自然の成り行きであり、すでにその目的のために、*H. virescens* のシーケンス解読が行われた。しかし、どのように、農薬開発に利用するかは、まだ、試行錯誤を伴う段階ではないかと思われる。農薬開発には、多くの費用と時間を要し、しかも、昆虫には良く効くが人畜には安全であること、残効性は長い方が良いが残留性はない方が良い、多くの害虫に効果があったほうが良いが天敵には影響が少ない方が良い、など相反する要求を取り入れていく必要がある。また、たとえ登録がおりて市販されても、薬剤抵抗性害虫の発達というやっかいな問題がある。これらの、問題解決のために、ゲノム情報に基づく新しい殺虫剤の標的分子の探索、殺虫剤の開発法、安全性の評価、薬剤抵抗性対策などが課題である。

殺虫剤は、有機リン系、カーバメート系、ピレスロイド系、ネオニコチノイド系など、神経系に働くものが多く、人畜に対しても毒性のあるものが多い。今後、開発される殺虫剤として、大きく分けて二通りのアプローチが考えられる。一つは、神経毒性を有する薬剤のなかから、より人畜に安全なものを見つけ出すことである。神経に働く薬剤は、即効性が期待でき、害虫の被害を素早く食い止める効果をもつ。従って、殺虫剤の標的としては、今後も重要な対象である。しかし、人畜にも影響があること、これまでの既知の構造から類推される薬剤はかなり調べられてきているので、これまでとは異なる構造を持つ薬剤が設計されて、より安全に使えるかどうか大切なポイントとなろう。もう一つは、昆虫特有の組織や機能に関係した分子を標的とする殺虫剤開発である。すでに、脱皮阻害剤や昆虫ホルモンの拮抗剤などがあるが、さらに昆

虫のゲノム研究や生理学の研究から、新たな標的分子を選定して、それらの阻害を引き起こす薬剤を開発していく方向である。例えば、嗅覚は、昆虫行動を制御するための重要な対象である。これによって餌や交尾相手の存在、産卵場所の認識など昆虫制御に利用できる可能性が高い。嗅覚に関連する遺伝子をリストアップすれば、これらが害虫防除の標的遺伝子の候補となる。分子の構造やその阻害剤に対する情報が少ないところから出発することになり、今後多くの研究の積み重ねが必要である。

標的分子の選定とともに、農薬開発で重要なのはスクリーニング系の構築と思われる。多くの化合物の効果を迅速に検定できる方法の開発が、農薬開発の正否を決める。今後、分子の阻害実験は *in vitro* でできるようになると思われるが、殺虫剤の場合、室内検定の効果が圃場レベルでの結果に結びつかない場合も多いとされており、最終的に野外で有効となる薬剤のスクリーニングはもっとも大切な部分かもしれない。

(2) 殺虫剤抵抗性

殺虫剤の抵抗性の機構は一般に、薬剤を虫体内で速く代謝してしまう個体群の発達と、作用点の分子構造的な変化により薬剤の作用が低下する個体群の発達によると考えられている。ゲノム研究は、殺虫剤抵抗性の機構を解き明かしつつある。

代謝酵素としては、チトクロム P450、グルタチオン S-トランスフェラーゼ、カルボキシエステラーゼがよく知られている。このうちチトクロム P450 は、遺伝子ファミリーをなしており、多くの薬物代謝に係わっていることが知られている。一月半ほど前に、世界中に分布するショウジョウバエの DDT 抵抗性が、たった一つのチトクロム P450 遺伝子 (*Cyp6g1*) の高発現によることが、ゲノム情報をもとに明らかにされた (Daborn et al. 2002)。ショウジョウバエのすべてのチトクロム P450 遺伝子を用いてマイクロアレイを作製し、チトクロム P450 遺伝子のなかで、この *Cyp6g1* だけが低い発現を示すこと、この遺伝子を導入して発現させたハエは抵抗性を示すこと、世界中の抵抗性の遺伝子は同じ配列の特徴 (トランスポゾン挿入) を持つことが明らかとなった。これなどは、ゲノム研究によって初めて証明できたことであろう。

(3) 昆虫特異的生物機能を産み出す遺伝子の探索と利用

カイコの繭層重、耐病性など種々の形質に対する優良品種育種にはゲノム情報は最大限に利用される。特に、多数の形質変異体が保存されており、ゲノム研究によってそれらの原因遺伝子が同定されれば、産業への利用が飛躍的に計られる。このための基盤となるゲノム情報、やマイクロアレイ、遺伝子導入技術などのツールが整いつつある。また、カイコでは性決定、性フェロモン合成系や受容機構、生物時計、休眠などの固有生物現象の研究が EST データベースなどのゲノム情報を用いて進められ、これらに関わる遺伝子の多くが同定されつつある。

昆虫の抗微生物タンパク質のうち抗菌性タンパク質は、様々な優れた特性、幅広い抗菌スペクトル、薬物耐性病原細菌を殺す、脊椎動物などの真核生物の細胞には作用しない、を持つことが明らかにされ、実用化されている。カイコの EST データベースからも抗菌、抗カピタンパク質ホモログが見つかってきており、様々な特性を示

す抗微生物タンパク質がゲノム情報から得られ、広く産業に利用可能となるだろう。

三重大の鎮西らは、カ、マダニ、サシガメなどの吸血昆虫の唾液腺の cDNA 解析から抗凝固活性物質、血管拡張活性物質、血小板凝集阻害物質など生理活性物質を同定した(Isawa et al, 2002)。これらの分子は医薬品開発のリード物質となり、新薬開発につながる事が期待されている。

アフリカ班乾燥地帯に棲息するネムリユスリカは、その環境に適応して特異的生物機能を獲得した。乾季には完全脱水し乾燥休眠に入るが、雨期になると給水し、1時間以内に蘇生する。同種の日本産ユスリカはこの機能を持たない。この生物現象を産み出す因子、酵素は乾燥耐性遺伝子によってコードされており、組織の乾燥休眠誘導や蘇生可能な状態での長期常温乾燥保存へと導く。生物研の奥田らは、ゲノム情報を用いて、これらの観桜耐性遺伝子の同定とその機能解明を進めている(Watanabe et al, 2002)。これらの因子は臓器保存や食料保存など医療、食糧分野への利用が期待される。

おわりに

多様な昆虫類のゲノム情報が明らかになり、各生物主観でゲノム構造や遺伝子比較ができるようになれば、どのように昆虫が様々な外的要因と相互作用してこれらの遺伝子を獲得し、その特異的生物機能を獲得してきたかが解明され、その特異機能の産業への利用に大きな突破口を開くことになる。昆虫ゲノム研究においては、タンパク質の研究への発展はまだこれからであり、バイオインフォマティクスなどの分野も今後期待される。

本講演のとりまとめに際し、当研究所の野田博明、田村俊樹両氏に多大の助言を頂いたことに感謝します。

参考文献

- Adams, M. D. et al. (2000) The genome of *Drosophila melanogaster*. *Science* 287:2185-2195.
- Atkinson, P. W. (2002) Genetic engineering in insects of agricultural importance. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 32:1237-1242.
- Daborn, P. J. et al. (2002) A single P450 allele associated with insecticide resistance in *Drosophila*. *Science* 297:2253-2256.
- Gardner, M. J. et al. (2002) Genome sequence of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Nature* 419:498-511.
- Handler, A. M. (2001) A current perspective on insect gene transformation. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 31:111-128.
- Holt, R. A. et al. (2002) The genome sequence of the malaria mosquito *Anopheles gambiae*. *Science* 298:129-149.
- Horn, C. et al. (2002) Fluorescent transformation markers for insect transgenesis. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 32:1221-1235.
- Isawa, H., et al. (2002) Mosquito salivary protein inhibits activation of a contact system by

- binding to factor XII and high molecular weight kininogen. J. Biol. Chem. (in press)
- Loukeris, T. G. et al. (1995) Gene transfer into the medfly, *Ceratitis capitata*, with a *Drosophila hydei* transposable element. Science 270:2002-2005.
- Rong, Y. S. and Golic, K. G. (2000) Gene targeting by homologous recombination in *Drosophila*. Science 288:2013-2018.
- 田村俊樹 (2000) トランスジェニックカイコ：現状と展望. 日本蚕糸学雑誌 69:1-12.
- Tamura, T. et al. (2001) A piggyBac element-derived vector efficiently promotes germ-line transformation in silkworm *Bombyx mori* L. Nature Biotechnology 18, 81-84.
- The *C. elegans* Sequencing Consortium (1998) Genome sequence of the nematode *C. elegans*: a platform for investigating biology. Science 282:2012-2018.
- The International Human Genome Sequencing Consortium (2002) Initial sequencing and analysis of the human genome. Nature 409:860-921.
- Venter, J. C. et al. (2001) The sequence of the human genome. Science 291:1304-1351.
- Watanabe, M., et al. (2002) Mechanism allowing insect to survive complete dehydration and extreme temperature. J. Exp. Biol. 205, 2799-2802.
- Whitfield, C. W. et al. (2002) Annotated expressed sequence tags and cDNA microarrays for studies of brain and behavior in the honey bee. Genome Research 12:555-566.
- Yamao, M. et al. (1999) Gene targeting in the silkworm by use of a baculovirus. Genes Dev. 13:511-516.