

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7231551号
(P7231551)

(45)発行日 令和5年3月1日(2023.3.1)

(24)登録日 令和5年2月20日(2023.2.20)

(51)国際特許分類

F I

A 0 1 N 63/60 (2020.01)

A 0 1 N 63/60

C 1 2 N 15/113 (2010.01)

C 1 2 N 15/113

Z

A 0 1 H 1/00 (2006.01)

A 0 1 H 1/00

A

A 0 1 P 7/04 (2006.01)

A 0 1 P 7/04

請求項の数 14 (全238頁)

(21)出願番号 特願2019-545243(P2019-545243)

(86)(22)出願日 平成30年2月23日(2018.2.23)

(65)公表番号 特表2020-511429(P2020-511429
A)

(43)公表日 令和2年4月16日(2020.4.16)

(86)国際出願番号 PCT/US2018/019577

(87)国際公開番号 WO2018/156998

(87)国際公開日 平成30年8月30日(2018.8.30)

審査請求日 令和3年2月22日(2021.2.22)

(31)優先権主張番号 62/463,451

(32)優先日 平成29年2月24日(2017.2.24)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(31)優先権主張番号 62/583,990

(32)優先日 平成29年11月9日(2017.11.9)

最終頁に続く

(73)特許権者 519263969

フラグシップ パイオニアリング イノベ
ーションズ ブイ, インコーポレーテッド
アメリカ合衆国 0 2 1 4 2 マサチュー
セッツ州, ケンブリッジ, 8 ティーエイ
チ フロア 8 0 0 イー, ケンブリッジ
パークウェイ 5 5

(74)代理人 110002572

弁理士法人平木国際特許事務所

(72)発明者 マルティネス, イグナシオ

アメリカ合衆国 0 2 4 2 1 マサチュー
セッツ州, レキシントン, ムーン ヒル
ロード 3 6

(72)発明者 アーメン, サチャリー, ガロ

アメリカ合衆国 0 2 1 1 8 マサチュー

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 内部共生体を調節するための組成物及び関連方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

カメムシ目(Hemiptera)昆虫の適応度を低下させる方法であって、dsRNAを含む有効量のポリヌクレオチドを前記昆虫に送達することを含み、前記dsRNAは、それが投与されていない昆虫と比較して、前記昆虫における昆虫バクテリオサイト調節遺伝子又は昆虫免疫調節遺伝子の発現を低減することを含み、

前記送達が、農作物に前記ポリヌクレオチドを噴霧することを含み、又は、前記ポリヌクレオチドが、前記昆虫による摂取のために昆虫が摂食可能な組成物として送達され、かつ、

前記遺伝子が、バクテリオサイト特異的システインリッチタンパク質BCRファミリー由来のタンパク質、分泌タンパク質SPファミリー由来のタンパク質、BicD(プロテインビカウダル(Protein bicaudal)D)、Cact(カクタス(cactus))、DIF(ドーサル(Dorsal)関連免疫因子)、Toll(トール(Toll)相互作用タンパク質)、グルタミントランスポータタンパク質、及びimd(免疫欠損タンパク質)からなる群から選択されるタンパク質をコードするものであり、かつ、

適応度を低下させることが寿命、繁殖力、移動性、及び、体重の少なくとも1つを低下させることである、

前記昆虫の適応度を低下させる方法。

【請求項2】

前記遺伝子が、配列番号 65～77 のいずれかのアミノ酸配列と少なくとも 90% のアミノ酸配列同一性を有するタンパク質をコードする、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記 dsRNA が、前記昆虫の遺伝子の 10～30 ヌクレオチドと相補的である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

前記方法が、前記昆虫の昆虫-バクテリオサイト調節遺伝子の発現を阻害するのに有効である、請求項 1～3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 5】

前記方法が、前記薬剤が送達されていない昆虫と比較して、前記昆虫に常在する 1 種以上の微生物のレベルを低下させるのに有効である、請求項 1 に記載の方法。

10

【請求項 6】

前記 1 種以上の微生物が、ブフネラ属種 (*Buchenera* spp.) である、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

前記方法は、前記ポリヌクレオチドが送達されていない昆虫と比較して、前記昆虫の適応度を低下させるのに有効であり、前記適応度の低下が死亡率の増加を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

前記ポリヌクレオチドが、昆虫に対する送達のために製剤化された組成物として送達される、請求項 1 に記載の方法。

20

【請求項 9】

前記送達は、前記害虫が成長、生息、繁殖、摂餌、又は寄生する少なくとも 1 つの生息場所に前記ポリヌクレオチドを送達することを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 10】

前記ポリヌクレオチドが、農業的に許容可能な担体と一緒に、液体、固体、エアゾール、ペースト、ゲル、又は気体組成物として製剤化される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 11】

前記昆虫が、アブラムシである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 12】

前記遺伝子が、ns1 結合タンパク質、Ubx 転写因子、ATPアーゼ、コハク酸セミアルデヒドデヒドロゲナーゼイソ型1、液胞型プロトンatpアーゼイソ型1、膜アラニルアミノペプチダーゼN、プロテアーゼm1亜鉛メタロプロテアーゼ、亜鉛メタロプロテアーゼ、プリン合成タンパク質6、myoイノシトールモノホスファターゼ、フェニルアラニンヒドロキシラーゼ、4-ニトロフェニルホスファターゼイソ型1、サイトゾルプリン5-ヌクレオチダーゼ、アミノキシダーゼ、ホスホセリンアミノトランスフェラーゼ、4-ヒドロキシ酪酸CoA-トランスフェラーゼ、ジヒドロピリミジンデヒドロゲナーゼ、ミトコンドリアグリシンデヒドロゲナーゼ、リボース-リン酸ピロホスホキナーゼ1、ホスホセリンホスファターゼイソ型1、アデニンホスホリボシルトランスフェラーゼ、パントテネートキナーゼ4、ホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ、シスタチオニンベータ-リアーゼ、5-ヌクレオチダーゼ、ジッパー、アコニターゼ、プロフェノールオキシダーゼ、グリシンアミドリボヌクレオチドシンテターゼ-アミノイミダゾールリボヌクレオチドシンテターゼ-グリシンアミドリボヌクレオチドトランスフォルミラーゼ、アルデヒドデヒドロゲナーゼ、メタロプロテアーゼ、プロフェノールオキシダーゼ、5-アミノイミダゾール-4-カルボキサミドリボヌクレオチドホルミルトランスフェラーゼ/IMPシクロヒドロラーゼ、Sec24Bタンパク質、GMPシンターゼ、mCG117402、ラムダ-クリスタリン、グリオキシル酸/ヒドロキシピルビン酸レダクターゼ、フルクトース-1,6-ビスホスファターゼ、成虫原基成長因子、リソソームアルファ-マンノシダーゼ、ATP-加水分解性5-オキソプロリナーゼ、アスパラギン酸アンモニアリアーゼ、アルド-ケトレダクターゼ、アミノメチルトランスフェラーゼ、バクテリオサイト-特異的システインリッチタンパク質1 (BCR1)、BCR2、BCR3、B

30

40

50

CR6、BCR8、分泌タンパク質1 (SP1)、SP2、SP3、SP4、SP5a、SP6、グリーン(GLEAN)ペプチド、past-1、液胞型ATPシンターゼサブユニットE イソ型1、液胞型 ATPシンターゼサブユニットH、液胞型 ATPアーゼサブユニットC、液胞型 ATPシンターゼ16 kDaプロテオリピドサブユニット、カリウム/塩化物共輸送体、及びカチオン性アミノ酸輸送体からなる群より選択されるタンパク質をコードする、請求項1に記載の方法。

【請求項13】

前記遺伝子が、プロテインピカウダルD (BicD)、ペプチドグリカン認識タンパク質 (PGRP SA)、Relish、ノックイン時の低Imd応答(pirk)、デュアルオキシダーゼ (DUOX)、p38c MAPキナーゼ、MKP3 (デュアルホスファターゼ)、カルシネウリンB (canB)、ホスホリパーゼD (PlaD)、カクタス(Cact)、ドーサル関連免疫因子(DIF)、ショウジョウバエアポトーシス阻害因子2 (diAP2)、トール相互作用タンパク質(Toll)、グラム陰性結合タンパク質1 (gnbp)、c-タイプリゾチーム(LysC)、免疫不全(imd)、細胞死関連アポトーシス阻害因子2 (Diap2)、及びECSITからなる群より選択されるタンパク質をコードする、請求項1に記載の方法。

【請求項14】

前記遺伝子が、配列番号65～77のいずれかのアミノ酸配列と少なくとも95%のアミノ酸配列同一性を有するタンパク質をコードする、請求項2に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本願は、2017年2月24日に出願された米国仮特許出願第62/463,451号明細書及び2017年11月9日に出願された米国仮特許出願第62/583,990号明細書に対する優先権を主張し、これらの仮特許出願の内容は、本明細書によって全体として参照により本明細書に援用される。

【背景技術】

【0002】

無脊椎動物（例えば、昆虫、軟体動物、又は線虫）は、ヒトの環境に普及している。一部の例において、無脊椎動物は、線虫又は節足動物など、農業では受粉作業及び病害虫防除に利用され、或いは、商業では商業生産物（例えば、蜂蜜又は絹など）の生産に利用され、有益な役割を果たしている。他の例では、無脊椎動物は、深刻な作物の害虫又は病原体となり得るある種の軟体動物（例えば、カタツムリ及びナメクジ）、線虫、又は昆虫を含め、有害となり得る。従って、農業上、商業上、又は公衆衛生上重要な無脊椎動物の適応度を調節する方法及び組成物が当該技術分野において必要とされている。

【発明の概要】

【0003】

本明細書には、宿主と、その宿主に常在する1種以上の微生物との相互作用を改変することにより、昆虫、線虫、又は軟体動物を含む無脊椎動物の適応度を調節する組成物及び方法が開示される。

【0004】

一態様において、本明細書には、昆虫の適応度を低下させる方法が提供され、本方法は、dsRNAを含む有効量のポリヌクレオチドを昆虫に送達することを含み、dsRNAは、それが投与されていない昆虫と比較して、昆虫における昆虫バクテリオサイト調節遺伝子又は昆虫免疫調節遺伝子の発現を低減する。

【0005】

一部の実施形態において、この遺伝子は、バクテリオサイト特異的システインリッチタンパク質BCRファミリー由来のタンパク質、分泌タンパク質SPファミリー由来のタンパク質、BicD（プロテインピカウダル (Protein bicaudal) D）、Cact（カクタス (cactus)）、DIF（ドーサル (Dorsal) 関連免疫因子）、Toll（Toll相互作用タンパク質）、又はimd（免疫欠損タンパク質）を

10

20

30

40

50

コードする。一部の実施形態において、遺伝子は、表 5、表 8、又は表 9 に挙げるタンパク質と少なくとも 30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、若しくは 100% のアミノ酸配列同一性を有するタンパク質をコードする。一部の実施形態において、遺伝子は、表 5、表 8、又は表 9 に挙げるタンパク質の機能的ホモログをコードする。例えば、遺伝子は、アブラムシのカクタス様タンパク質（例えば、GenBank アクセッション番号：XP_022175228.1、XP_016656687.1、NP_001156668.1、XP_008179071.1、若しくは XP_016656686.1 により記載されるタンパク質のいずれか 1 つ（それらの関連アミノ酸及びヌクレオチド配列は、参照により組み込まれる））をコードしうる。

10

【0006】

一部の実施形態において、dsRNA は、昆虫の遺伝子の 10～30 ヌクレオチド（例えば、10～30 ヌクレオチド、12～28 ヌクレオチド、14～26 ヌクレオチド、16～24 ヌクレオチド、14～22 ヌクレオチド、又は 18～20 ヌクレオチド）と相補的である。一部の実施形態において、dsRNA は、昆虫の遺伝子の 10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、又は 30 ヌクレオチドと相補的である。一部の実施形態において、dsRNA の全長が上記遺伝子と相補的である。別の実施形態では、dsRNA の一部のみが上記遺伝子と相補的である。

【0007】

20

一部の実施形態において、本方法は、ポリヌクレオチドが投与されていない昆虫と比較して、昆虫の遺伝子の発現を例えば、約 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは 99%、又はそれを超えて低減するのに有効である。一部の実施形態において、本方法は、参照レベルと比較して（例えば、1 つ以上の対照遺伝子（例えば、ハウスキーピング遺伝子）の発現、異なるサンプル（例えば、1 つ以上の対照サンプル）の同じ遺伝子の発現、又は 1 つ以上のより早い時点での同じサンプルの同じ遺伝子の発現と比較して）、昆虫の遺伝子の発現を例えば、約 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、若しくは 99%、又はそれを超えて低減するのに有効である。

30

【0008】

一部の実施形態において、本方法は、ポリヌクレオチドが投与されていない昆虫と比較して、昆虫の遺伝子の発現を例えば、約 1.5 倍、1.75 倍、2 倍、3 倍、4 倍、5 倍、6 倍、7 倍、8 倍、9 倍、10 倍、25 倍、50 倍、75 倍、又は 100 倍少なく、低減するのに有効である。一部の実施形態において、本方法は、参照レベルと比較して（例えば、1 つ以上の対照遺伝子（例えば、ハウスキーピング遺伝子）の発現、異なるサンプル（例えば、1 つ以上の対照サンプル）の同じ遺伝子の発現、又は 1 つ以上のより早い時点での同じサンプルの同じ遺伝子の発現と比較して）、昆虫の遺伝子の発現を例えば、約 1.5 倍、1.75 倍、2 倍、3 倍、4 倍、5 倍、6 倍、7 倍、8 倍、9 倍、10 倍、25 倍、50 倍、75 倍、又は 100 倍少なく、低減するのに有効である。

40

【0009】

一部の実施形態において、本方法は、昆虫の遺伝子の発現を阻害するか、又は遺伝子の発現を検出可能なレベルまで低下させるのに有効である。

【0010】

一部の実施形態において、本方法は、ポリヌクレオチドが送達されていない昆虫と比較して、昆虫に常在する 1 種以上の微生物のレベル、多様性、又は代謝を低下させるのに有効である。一部の実施形態において、本方法は、ポリヌクレオチドが送達されていない昆虫と比較して、昆虫に常在する 1 種以上の微生物のレベル、多様性、又は代謝を例えば、約 1.5 倍、1.75 倍、2 倍、3 倍、4 倍、5 倍、6 倍、7 倍、8 倍、9 倍、10 倍、25 倍、50 倍、75 倍、又は 100 倍少なく、低下させるのに有効である。一部の実施

50

形態において、本方法は、ポリヌクレオチドが送達されていない昆虫と比較して、昆虫に常在する１種以上の微生物のレベル、多様性、又は代謝を例えば、約１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、又は１００％少なく、低下させるのに有効である。特定の実施形態では、１種以上の微生物は、ブフネラ属種（*Buchnera* spp.）である。

【００１１】

一部の実施形態において、本方法は、ポリヌクレオチドが送達されていない昆虫と比較して、昆虫の適応度を低下させるのに有効である。一部の実施形態において、本方法は、ポリヌクレオチドが送達されていない昆虫と比較して、昆虫の適応度を例えば、約１．５倍、１．７５倍、２倍、３倍、４倍、５倍、６倍、７倍、８倍、９倍、１０倍、２５倍、５０倍、７５倍、又は１００倍少なく、低下させるのに有効である。一部の実施形態において、本方法は、ポリヌクレオチドが送達されていない昆虫と比較して、昆虫の適応度を例えば、約１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、又は１００％少なく、低下させるのに有効である。

【００１２】

一部の実施形態において、ポリヌクレオチドは、昆虫に対する送達のために製剤化された組成物として送達される。一部の実施形態において、送達は、害虫が成長、生息、繁殖、摂餌、又は寄生する少なくとも１つの生息場所にポリヌクレオチドを送達することを含む。一部の実施形態において、送達は、農作物に抗微生物ペプチドを噴霧することを含む。一部の実施形態において、ポリヌクレオチドは、昆虫による摂取のために昆虫が摂食可能な組成物として送達される。

【００１３】

一部の実施形態において、ポリヌクレオチドは、農業的に許容可能な担体と一緒に、液体、固体、エアゾール、ペースト、ゲル、又は気体組成物として製剤化される。

【００１４】

一部の実施形態において、昆虫は、アブラムシである。

【００１５】

別の態様では、本明細書に、昆虫への送達用に製剤化されたdsRNAを含むポリヌクレオチドを含む組成物が提供され、ここで、dsRNAは、昆虫バクテリオサイト調節遺伝子又は昆虫免疫調節遺伝子の１５～３０ヌクレオチドと相補的である。一部の実施形態において、遺伝子は、バクテリオサイト特異的システインリッチタンパク質BCRファミリー由来のタンパク質、分泌タンパク質SPファミリー由来のタンパク質、BicD（プロテインビカウダル（Protein bicaudal）D）、Cact（カクタス（cactus））、DIF（ドーサル（Dorsal）関連免疫因子）、Toll（トル（Toll）相互作用タンパク質）、及びimd（免疫欠損タンパク質）からなる群から選択されるタンパク質をコードする。一部の実施形態において、遺伝子は、表５、表８、又は表９に挙げるタンパク質と少なくとも３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、若しくは１００％のアミノ酸配列同一性を有するタンパク質をコードする。一部の実施形態において、遺伝子は、表５、表８、又は表９に挙げるタンパク質の機能的ホモログをコードする。例えば、遺伝子は、アブラムシのカクタス様タンパク質（例えば、GenBankアクセッション番号：XP_022175228.1、XP_016656687.1、NP_001156668.1、XP_008179071.1、若しくはXP_016656686.1により記載されるタンパク質のいずれか１つ（それらの関連アミノ酸及びヌクレオチド配列は、参照により組み込まれる））をコードする。一部の実施形態において、dsRNAは、昆虫の上記遺伝子の１０～３０ヌクレオチド（例えば、１０～３０ヌクレオチド、１２～２８ヌクレオチド、１４～２６ヌクレオチド、１６～２４ヌクレオチド、１４～２２ヌクレオチド、又は１８～２０ヌクレオチド）と相補的である。一部の実施形態において、dsRNAは、昆虫の上記遺伝子の１０、１１、１２、１３、１４、１

10

20

30

40

50

5、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、又は30ヌクレオチドと相補的である。一部の実施形態において、dsRNAの全長が上記遺伝子と相補的である。別の実施形態では、dsRNAの一部のみが上記遺伝子と相補的である。

【0016】

更なる態様において、本明細書には、本明細書に記載の組成物の局所塗布を含む植物が提供される。

【0017】

また別の態様において、本明細書には、そのゲノムに組換えDNA構築物を有するトランスジェニック植物細胞が提供され、ここで、組換えDNA構築物は、少なくとも1つの二本鎖RNA領域を含むRNAをコードするDNAに作動可能に連結した異種プロモータを含み、上記二本鎖の少なくとも一方の鎖は、昆虫バクテリオサイト調節遺伝子又は昆虫免疫調節遺伝子の15～30ヌクレオチドと相補的であるヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態において、遺伝子は、バクテリオサイト特異的システインリッチタンパク質BCRファミリー由来のタンパク質、分泌タンパク質SPファミリー由来のタンパク質、BicD（プロテインビカウダル（Protein bicaudal）D）、Cact（カクタス（cactus））、DIF（ドーサル（Dorsal）関連免疫因子）、Toll（トール（Toll）相互作用タンパク質）、及びimd（免疫欠損タンパク質）からなる群から選択されるタンパク質をコードする。一部の実施形態において、遺伝子は、表5、表8、又は表9に挙げるタンパク質に対して少なくとも30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、若しくは100%のアミノ酸配列同一性を有するタンパク質をコードする。一部の実施形態において、遺伝子は、表5、表8、又は表9に挙げるタンパク質の機能的ホモログをコードする。例えば、遺伝子は、アブラムシのカクタス様タンパク質（例えば、GenBankアクセッション番号：XP_022175228.1、XP_016656687.1、NP_001156668.1、XP_008179071.1、若しくはXP_016656686.1により記載されるタンパク質のいずれか1つ（それらの関連アミノ酸及びヌクレオチド配列は、参照により組み込まれる））をコードし得る。一部の実施形態において、dsRNAは、昆虫の遺伝子の10～30ヌクレオチド（例えば、10～30ヌクレオチド、12～28ヌクレオチド、14～26ヌクレオチド、16～24ヌクレオチド、14～22ヌクレオチド、又は18～20ヌクレオチド）と相補的である。一部の実施形態において、dsRNAは、昆虫の遺伝子の10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、又は30ヌクレオチドと相補的である。一部の実施形態において、dsRNAの全長が上記遺伝子と相補的である。別の実施形態では、dsRNAの一部のみが上記遺伝子と相補的である。

【0018】

また別の態様では、本明細書には、無脊椎動物宿主（例えば、昆虫、軟体動物、若しくは線虫）の適応度を調節する（例えば、増加若しくは低下させる）調節薬剤（例えば、ポリペプチド（例えば、抗体、バクテリオシン、抗微生物ペプチド、若しくはバクテリオサイト調節性ペプチド）、核酸（例えば、DNA、RNA（例えば、mRNA、gRNA、若しくは阻害性RNA（例えば、RNAi、shRNA、miRNA））、CRISPR核酸）、小分子（例えば、プロスタグランジン）、又はこれらの組合せ）を含む組成物が提供され、ここで、調節薬剤は、宿主と宿主に常在する1種以上の微生物との相互作用を改変する。

【0019】

一部の実施形態において、調節薬剤（例えば、ポリペプチド（例えば、抗体、バクテリオシン、抗微生物ペプチド、若しくはバクテリオサイト調節性ペプチド）、核酸（例えば、DNA、RNA（例えば、mRNA、gRNA、若しくは阻害性RNA（例えば、RNAi、shRNA、miRNA））、CRISPR核酸）、小分子（例えば、プロスタグ

10

20

30

40

50

ランジン)、又はこれらの組合せ)は、宿主と宿主に常在する1種以上の微生物との相互作用(例えば、宿主-微生物叢相互作用)を媒介する1つ以上の宿主経路を標的とする。特定の実施形態において、1つ以上の宿主経路のターゲティング(例えば、上方制御、下方制御、若しくは阻害)は、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較して、宿主に常在する1種以上の微生物のレベル、多様性、又は機能を改変する。特定の実施形態において、1つ以上の宿主経路のターゲティング(例えば、上方制御、下方制御、若しくは阻害)は、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較して、宿主に常在する1種以上の微生物のレベル、多様性、又は機能を増大する。別の実施形態では、特定の実施形態において、1つ以上の宿主経路のターゲティング(例えば、上方制御、下方制御、若しくは阻害)は、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較して、宿主に常在する1種以上の微生物のレベル、多様性、又は機能を低減する。

10

【0020】

一部の実施形態において、宿主経路は、バクテリオサイト機能又は発育を調節する経路である。一部の実施形態において、バクテリオサイト機能又は発育のターゲティングは、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較して、バクテリオサイトに常在する1種以上の微生物のレベル、多様性、及び／又は機能を増大及び／又は低減し得る。特定の実施形態において、バクテリオサイト機能又は発育のターゲティングは、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較して、バクテリオサイト(例えば、アブラムシのバクテリオサイト)に常在する1種以上の微生物のレベル、多様性、又は機能を低減する。特定の実施形態において、バクテリオサイト機能又は発育のターゲティングは、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較して、バクテリオサイト(例えば、アブラムシのバクテリオサイト)に常在する1種以上の微生物のレベル、多様性、又は機能を増大する。

20

【0021】

一部の実施形態において、宿主経路は、宿主の免疫系を調節する経路である。例えば、一部の実施形態において、調節薬剤は、宿主に常在する1種以上の微生物に対する免疫応答を活性化し、これにより、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較して、1種以上の微生物のレベル、多様性、及び／又は機能を低減する。或いは、一部の実施形態において、調節薬剤は、宿主に常在する1種以上の微生物に対する免疫応答を抑制し、これにより、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較して、1種以上の微生物のレベル、多様性、及び／又は機能を増大する。

30

【0022】

一部の実施形態において、調節薬剤(例えば、ポリペプチド(例えば、抗体、バクテリオシン、抗微生物ペプチド、若しくはバクテリオサイト調節性ペプチド)、核酸(例えば、DNA、RNA(例えば、mRNA、gRNA、若しくは阻害性RNA(例えば、RNAi、shRNA、miRNA))、CRISPR核酸)、小分子(例えば、プロスタグランジン)、又はこれらの組合せ)は、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較して、宿主における遺伝子発現を改変することにより、1つ以上の宿主経路を標的とする。例えば、調節薬剤は、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較して、宿主における遺伝子発現を増大及び／又は低減し得る。一部の実施形態において、調節薬剤は、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較して、表3、表4、表5、表7、表8、又は表9に挙げるタンパク質をコードする遺伝子の発現を改変する。一部の実施形態において、調節薬剤は、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較して、表3、表4、表5、表7、表8、又は表9に挙げるタンパク質をコードする遺伝子の発現を低減する。一部の実施形態において、調節薬剤は、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較して、表3、表4、表5、表7、表8、又は表9に挙げるタンパク質をコードする遺伝子の発現を低減する。一部の実施形態において、遺伝子は、バクテリオサイト調節性ペプチドをコードする。例えば、バクテリオサイト調節性ペプチドは、表5又は表8に挙げるもの(例えば、BCR1)であってもよい。一部の実施形態において、遺伝子は、免疫系成分をコードする。例えば、免疫系成分は、表9に挙げるものであってもよい。一部の実施形態において、調節薬剤は、宿主におけるペプチドを標的とする。一部の実施形態において、ポリペプチドは、酵

40

50

素又は細胞受容体である。一部の実施形態において、調節薬剤は、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較して、酵素活性を増大及び／又は低減する。一部の実施形態において、調節薬剤は、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較して、細胞受容体シグナル伝達を増大及び／又は低減する。一部の実施形態において、宿主タンパク質は、表 4、表 5、表 8、又は表 9 に挙げるものである。

【0023】

上記に加え、又は代わって、調節薬剤（例えば、ポリペプチド（例えば、抗体、バクテリオシン、抗微生物ペプチド、若しくはバクテリオサイト調節性ペプチド）、核酸（例えば、DNA、RNA（例えば、mRNA、gRNA、若しくは阻害性RNA（例えば、RNAi、shRNA、miRNA））、CRISPR核酸）、小分子（例えば、プロスタグランジン）、又はこれらの組合せ）は、宿主と宿主に常在する1種以上の微生物との相互作用を媒介する1つ以上の微生物経路を標的とし得る。一部の実施形態では、調節薬剤は、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較して、宿主に常在する1種以上の微生物における遺伝子発現を改変する。例えば、調節薬剤は、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較して、1種以上の微生物における遺伝子発現を増大及び／又は低減し得る。一部の実施形態では、調節薬剤は、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較して、表 3 又は表 7 に挙げるタンパク質をコードする遺伝子の発現を改変（例えば、増大又は低減）する。一部の実施形態では、調節薬剤は、宿主に常在する1種以上の微生物におけるペプチド（例えば、表 3 又は表 7 に挙げるタンパク質）を標的とする（例えば、結合、拮抗、及び／又は刺激する）。

【0024】

一部の実施形態において、宿主に常在する1種以上の微生物は、内部共生微生物である。一部の実施形態では、1種以上の微生物は、宿主の腸に常在する。一部の実施形態では、1種以上の微生物は、宿主のバクテリオサイトに常在する。一部の実施形態では、宿主に常在する1種以上の微生物は、真菌又は細菌である。上記の任意の組成物の一部の実施形態において、1つ以上の微生物は、宿主に常在する細菌又は真菌であり得る。一部の実施形態において、宿主に常在する細菌は、カンディダトゥス属種（*Candidatus spp*）、ブフネラ属種（*Buchenera spp*）、ブラッタバクテリウム属種（*Blattabacterium spp*）、バウマンニア属種（*Baumania spp*）、ウィグルスウォーチア属種（*Wigglesworthia spp*）、ボルバキア属種（*Wolbachia spp*）、リケッチア属種（*Rickettsia spp*）、オリエンティア属種（*Orientia spp*）、ソーダリス属種（*Sodalis spp*）、バークホルデリア属種（*Burkholderia spp*）、カプリアビダス属種（*Cupriavidus spp*）、フランキア属種（*Frankia spp*）、シノリゾビウム属種（*Snirrhizobium spp*）、ストレプトコッカス属種（*Streptococcus spp*）、ウォリネラ属種（*Wolinella spp*）、キシレラ属種（*Xylella spp*）、エルウィニア属種（*Erwinia spp*）、アグロバクテリウム属種（*Agrobacterium spp*）、バチルス属種（*Bacillus spp*）、パエニバチルス属種（*Paenibacillus spp*）、ストレプトミセス属種（*Streptomyces spp*）、マイクロコッカス属種（*Micrococcus spp*）、コリネバクテリウム属種（*Corynebacterium spp*）、アセトバクター属種（*Acetobacter spp*）、シアノバクテリア属種（*Cyanobacteria spp*）、サルモネラ属種（*Salmonella spp*）、ロドコッカス属種（*Rhodococcus spp*）、シュードモナス属種（*Pseudomonas spp*）、ラクトバチルス属種（*Lactobacillus spp*）、エンテロコッカス属種（*Enterococcus spp*）、アルカリゲネス属種（*Alcaligenes spp*）、クレブシエラ属種（*Klebsiella spp*）、パエニバチルス属種（*Paenibacillus spp*）、アルスロバクター属種（*Arthrobacter spp*）、コリネバクテリウム属種（*Corynebacterium spp*）、ブレビバクテリウム属種（*Brevibacterium spp*）、

vibacterium spp)、サーマス属種 (*Thermus* spp)、シュードモナス属種 (*Pseudomonas* spp)、クロストリジウム属種 (*Clostridium* spp) 及び大腸菌属種 (*Escherichia* spp) からなる群から選択される少なくとも1つである。一部の実施形態において、宿主に常在する真菌は、カンジダ属 (*Candida*)、メチニコウイア属 (*Metschnikowia*)、デバロマイセス属 (*Debaromyces*)、スターメラ属 (*Starmerella*)、ピキア属 (*Pichia*)、クリプトコッカス属 (*Cryptococcus*)、シュードジマ属 (*Pseudozyma*)、シンビオタフリナ・ブフネリ (*Symbiotaphrina buchneri*)、シンビオタフリナ・コチイ (*Symbiotaphrina kochii*)、シェフェルソマイセス・シェハテ (*Scheffersomyces shehatae*)、シェフェルソマイセス・スティピティス (*Scheffersomyces stipites*)、クリプトコッカス属 (*Cryptococcus*)、トリコスポロン属 (*Trichosporon*)、アミロステレウム・アレオラツム (*Amylostereum areolatum*)、エピクロエ属種 (*Epichloe* spp)、ピキア・ピヌス (*Pichia pinus*)、ハンゼヌラ・カプスラタ (*Hansenula capsulata*)、ダルディニア・デシピエン (*Daldinia decipien*)、セラトシスチス属種 (*Ceratocytis* spp)、オフィオストマ属種 (*Ophiostoma* spp) 及びアッタマイセス・ブロマティフィカス (*Attamyces bromatificus*) からなる群から選択される少なくとも1つである。一部の実施形態では、調節薬剤は、宿主に常在する微生物の成長、分化、生存能、代謝、及び／又は寿命を改変する。一部の実施形態では、調節薬剤は、1種以上の微生物の成長、分化、生存能、代謝、及び／又は寿命を低減する。一部の実施形態では、調節薬剤は、1種以上の微生物の成長、分化、生存能、代謝、及び／又は寿命を増大する。

【0025】

一部の実施形態において、調節薬剤は、ポリペプチド（例えば、抗体、バクテリオシン、抗微生物ペプチド、若しくはバクテリオサイト調節性ペプチド）、核酸（例えば、DNA、RNA（例えば、mRNA、gRNA、若しくは阻害性RNA（例えば、RNAi、shRNA、miRNA））、CRISPR核酸）、小分子（例えば、プロスタグランジン）、又はそれらの任意の組合せである。

【0026】

一部の実施形態において、調節薬剤は、核酸である。核酸は、DNA分子、RNA分子（例えば、二本鎖RNA (dsRNA) 若しくは一本鎖RNA (ssRNA)）、又はハイブリッドDNA-RNA分子である。一部の実施形態では、RNAは、メッセンジャーRNA (mRNA)、ガイドRNA (gRNA) 又は阻害性RNAである。一部の実施形態において、阻害性RNAは、RNAi、shRNA、又はmiRNAである。一部の実施形態では、核酸は、ポリペプチドをコードする。一部の実施形態では、核酸は、ポリペプチドをコードする発現ベクターである。一部の実施形態では、核酸は、CRISPR核酸である。

【0027】

一部の実施形態において、調節薬剤は、小分子である。一部の実施形態では、小分子は、アゴニスト、アンタゴニスト、阻害剤、又は宿主免疫系経路若しくはバクテリオサイト調節経路の成分のアクチベータである。一部の実施形態では、小分子は、プロスタグランジンである。

【0028】

一部の実施形態において、調節薬剤は、ポリペプチドである。一部の実施形態では、ポリペプチドは、抗体又は抗体フラグメントである。例えば、抗体又は抗体フラグメントは、宿主における酵素（例えば、免疫系若しくはバクテリオサイト調節酵素）又は宿主に常在する微生物における酵素のアゴニスト又はアンタゴニストであってもよく、表5、表7、表8、又は表9に挙げるタンパク質のいずれかを含む。

【0029】

一部の実施形態において、調節薬剤（例えば、ポリペプチド（例えば、抗体、バクテリオシン、抗微生物ペプチド、若しくはバクテリオサイト調節性ペプチド）、核酸（例えば、DNA、RNA（例えば、mRNA、gRNA、若しくは阻害性RNA（例えば、RNAi、shRNA、miRNA））、CRISPR核酸）、小分子（例えば、プロスタグランジン）、又はこれらの組合せ）は、農薬（例えば、表11に挙げる農薬）に対する宿主の感受性を増大又は低減することにより、宿主の適応度を調節する。一部の実施形態では、農薬は、殺菌剤又は殺真菌剤である。一部の実施形態では、農薬は、殺虫剤、軟体動物駆除剤、又は殺線虫剤である。

【0030】

一部の実施形態において、組成物は、複数（例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10、若しくは10超）の異なる調節薬剤（例えば、ポリペプチド（例えば、抗体、バクテリオシン、抗微生物ペプチド、若しくはバクテリオサイト調節性ペプチド）、核酸（例えば、DNA、RNA（例えば、mRNA、gRNA、若しくは阻害性RNA（例えば、RNAi、shRNA、miRNA））、CRISPR核酸）、小分子（例えば、プロスタグランジン）、又はこれらの組合せ）を含む。一部の実施形態では、組成物は、調節薬剤と農薬（例えば、表11に挙げる農薬）を含む。一部の実施形態では、農薬は、殺菌剤又は殺真菌剤である。一部の実施形態では、農薬は、殺虫剤、軟体動物駆除剤、又は殺線虫剤である。一部の実施形態では、組成物は、調節薬剤と、作物の成長を促進する薬剤とを含む。

【0031】

一部の実施形態において、調節薬剤（例えば、ポリペプチド（例えば、抗体、バクテリオシン、抗微生物ペプチド、若しくはバクテリオサイト調節性ペプチド）、核酸（例えば、DNA、RNA（例えば、mRNA、gRNA、若しくは阻害性RNA（例えば、RNAi、shRNA、miRNA））、CRISPR核酸）、小分子（例えば、プロスタグランジン）、又はこれらの組合せ）は、第2の部分に連結されている。一部の実施形態では、第2の部分は、調節薬剤、ペプチド核酸、細胞膜透過ペプチド（CPP）、及びターゲティングドメインからなる群から選択される。一部の実施形態では、調節薬剤は、リンカーを含む。一部の実施形態では、リンカーは、切断可能なリンカーである。一部の実施形態では、CPPは、表10に挙げるいずれか1つである。

【0032】

一部の実施形態において、組成物は、更に担体を含む。一部の実施形態では、担体は、農業的に許容可能な担体である。一部の実施形態では、組成物は、更に宿主用ベイト、粘着性薬剤、又はこれらの組合せを含む。一部の実施形態では、宿主用ベイトは、摂食可能な薬剤である。一部の実施形態では、宿主ベイトは、化学誘引剤である。

【0033】

一部の実施形態において、組成物は、宿主適応度を調節するのに有効な用量である。一部の実施形態では、組成物は、宿主適応度を増加させるのに有効な用量である。一部の実施形態では、組成物は、宿主適応度を低下させるのに有効な用量である。一部の実施形態では、宿主適応度は、宿主の生存、寿命、繁殖、又は代謝によって測定される。

【0034】

一部の実施形態において、組成物は、宿主の腸に生息する微生物への送達のために製剤化される。一部の実施形態において、組成物は、宿主のバクテリオサイトに生息する微生物への送達のために製剤化される。一部の実施形態において、組成物は、植物への送達のために製剤化される。一部の実施形態において、組成物は、宿主の餌場での使用のために製剤化される。一部の実施形態において、組成物は、液体、粉末、顆粒、又はナノ粒子として製剤化される。一部の実施形態において、組成物は、リボソーム、ポリマー、細菌分泌ペプチド、及び合成ナノカプセルからなる群から選択される1つとして製剤化される。一部の実施形態において、合成ナノカプセルは、宿主の標的部位に組成物を送達する。一部の実施形態において、標的部位は、宿主の腸である。一部の実施形態において、標的部

10

20

30

40

50

位は、宿主のバクテリオサイトである。

【0035】

別の態様では、前出の組成物（例えば、調節薬剤（例えば、ポリペプチド（例えば、抗体、バクテリオシン、抗微生物ペプチド、若しくはバクテリオサイト調節性ペプチド）、核酸（例えば、DNA、RNA（例えば、mRNA、gRNA、若しくは阻害性RNA（例えば、RNAi、shRNA、miRNA））、CRISPR核酸）、小分子（例えば、プロスタグランジン）、又はこれらの組合せ）のいずれかを含む植物が本明細書に提供される。一部の実施形態では、植物は、植物ゲノムに組み込まれた核酸を含み、ここで、核酸は、前出の調節薬剤（例えば、ポリペプチド（例えば、抗体、バクテリオシン（例えば、colA）、抗微生物ペプチド、バクテリオサイト調節性ペプチド、核酸、又は小分子）のいずれかをコードする。調節薬剤は、植物に対して非内在性であってもよい。一部の実施形態において、植物は更に、無脊椎動物（例えば、昆虫、軟体動物、又は線虫）用の摂食可能な薬剤も含み、ここで、摂食可能な薬剤は、調節薬剤を生成及び／又は含有する。一部の実施形態では、摂食可能な薬剤は、植物の1つ以上の構成要素を含む。一部の実施形態では、植物の1つ以上の構成要素は、根、茎、葉、花、樹液、樹皮、木材、棘、花粉、蜜管、種子、果実、又はその任意の組合せを含む。例えば、一部の実施形態では、植物は、本植物の1つ以上の構成要素を摂食することによって昆虫が摂取する調節薬剤を産生する。

【0036】

また別の態様において、前出の組成物（例えば、調節薬剤（例えば、ポリペプチド（例えば、抗体、バクテリオシン、抗微生物ペプチド、若しくはバクテリオサイト調節性ペプチド）、核酸（例えば、DNA、RNA（例えば、mRNA、gRNA、若しくは阻害性RNA（例えば、RNAi、shRNA、miRNA））、CRISPR核酸）、小分子（例えば、プロスタグランジン）、又はこれらの組合せ）のいずれかを含む宿主が本明細書に提供される。宿主は、無脊椎動物（例えば、昆虫、軟体動物、又は線虫）であってよい。一部の実施形態において、無脊椎動物は、昆虫である。一部の実施形態において、昆虫は、バクテリオサイト含有昆虫である。例えば、特定の実施形態において、バクテリオサイト含有昆虫は、アブラムシ（例えば、トウモロコシアブラムシ又はモモアカアブラムシ）であってよい。別の実施形態では、昆虫は、甲虫、ゾウムシ、ハエ、アブラムシ、コナジラミ、ヨコバイ、カイガラムシ、ガ、チョウ、バッタ、コオロギ、アザミウマ、又はダニである。他の実施形態では、無脊椎動物は、軟体動物である。一部の実施形態において、軟体動物は、アシヒダナメクジ科（Veronicellidae）、リンゴガイ科（Ampullariidae）、アフリカマイマイ科（Achatinidae）、マイマイ科（Helicidae）、ミズツボ科（Hydromiidae）、ヒラマキガイ科（Planorbidae）、モノアラガイ科（Lymnaeidae）、コウラナメクジ科（Urocyclidae）、オナジマイマイ科（Bradybaenidae）、ノハラナメクジ科（Agriolimacidae）、オオコウラナメクジ科（Ariionidae）、又はニワコウラナメクジ科（Milacidae）に属する種である。別の実施形態では、無脊椎動物は、線虫であり得る。一部の実施形態において、線虫は、ワセンチュウ科（Criconematidae）、ベロノライムス科（Belonolaimidae）、ホプロアイミダエ科（Hoplolaimidae）、ヘテロデラ科（Heteroderidae）、ロンギドルス科（Longidoridae）、プラティレンクス科（Pratylenchidae）、トリコドルス科（Trichodoridae）、又はアシナシトカゲ科（Anguinidae）に属する種である。

【0037】

別の態様では、宿主の適応度を調節する（例えば、増加又は低下させる）システムが本明細書に提供される。このシステムは、宿主と、宿主に常在する1種以上の微生物との相互作用を改変する調節薬剤（例えば、ポリペプチド（例えば、抗体、バクテリオシン、抗微生物ペプチド、若しくはバクテリオサイト調節性ペプチド）、核酸（例えば、DNA、RNA（例えば、mRNA、gRNA、若しくは阻害性RNA（例えば、RNAi、sh

RNA、miRNA))、CRISPR核酸)、小分子(例えば、プロスタグランジン)、又はこれらの組合せ)を含み、ここで、システムは、宿主の適応度を調節する(例えば、増加又は低下させる)のに有効であり、宿主は、無脊椎動物(例えば、昆虫(例えば、アブラムシ)、軟体動物、又は線虫)である。一部の実施形態では、システムの調節薬剤は、前出の組成物のいずれかである。一部の実施形態では、調節薬剤は、粉末として製剤化される。一部の実施形態では、調節薬剤は溶媒として製剤化される。一部の実施形態では、調節薬剤は濃縮物として製剤化される。一部の実施形態では、調節薬剤は希釈剤として製剤化される。一部の実施形態では、調節薬剤は、前出の組成物のいずれかを担体と組み合わせることにより送達用に調製される。

【0038】

別の態様では、本明細書に記載の組成物(例えば、調節薬剤(例えば、ポリペプチド(例えば、抗体、バクテリオシン、抗微生物ペプチド、若しくはバクテリオサイト調節性ペプチド)、核酸(例えば、DNA、RNA(例えば、mRNA、gRNA、若しくは阻害性RNA(例えば、RNAi、shRNA、miRNA))、CRISPR核酸)、小分子(例えば、プロスタグランジン)、又はこれらの組合せ))のいずれかを宿主に送達することを含む、宿主-微生物叢の調節方法が本明細書に提供され、ここで、調節薬剤は、宿主と、宿主に常在する1種以上の微生物との1つ以上の相互作用を改変する。

【0039】

別の態様では、無脊椎動物宿主(例えば、昆虫(例えば、アブラムシ)、軟体動物、又は線虫)の適応度を調節する方法が本明細書に提供され、ここで、この方法は、本明細書に記載の組成物(例えば、調節薬剤(例えば、ポリペプチド(例えば、抗体、バクテリオシン、抗微生物ペプチド、若しくはバクテリオサイト調節性ペプチド)、核酸(例えば、DNA、RNA(例えば、mRNA、gRNA、若しくは阻害性RNA(例えば、RNAi、shRNA、miRNA))、CRISPR核酸)、小分子(例えば、プロスタグランジン)、又はこれらの組合せ))のいずれかを宿主に送達することを含み、調節薬剤は、宿主と、宿主に常在する1種以上の微生物との相互作用を改変する。

【0040】

前出の方法のいずれかの一部の実施形態において、宿主に常在する1種以上の微生物は、真菌又は細菌であってよい。一部の実施形態では、1種以上の微生物は、共生細菌である。一部の実施形態では、1種以上の微生物は、宿主の腸に常在する。一部の実施形態では、1種以上の微生物は、宿主のバクテリオサイトに常在する。一部の実施形態では、1種以上の微生物は、宿主の適応度又は宿主の生存に必要である。

【0041】

前出の方法のいずれかの一部の実施形態において、調節薬剤は、宿主と1種以上の微生物との相互作用を媒介する1つ以上の宿主経路を標的とし得る。一部の実施形態において、宿主経路は、昆虫(例えば、アブラムシ)のバクテリオサイト機能又は発育を調節する経路である。一部の実施形態において、宿主バクテリオサイト機能又は発育のターゲティングは、バクテリオサイトに常在する1種以上の微生物のレベル、多様性、及び／又は機能を低減する。或いは、宿主バクテリオサイト機能又は発育のターゲティングは、バクテリオサイトに常在する1種以上の微生物のレベル、多様性、及び／又は機能を増大する。一部の実施形態において、宿主経路は、宿主の免疫系を調節する経路である。

【0042】

一部の実施形態において、調節薬剤は、宿主に常在する1種以上の微生物に対する免疫応答を活性化し、これにより、1種以上の微生物のレベル、多様性、及び／又は機能を低減する。一部の実施形態において、調節薬剤は、宿主に常在する1種以上の微生物に対する免疫応答を抑制し、これにより、1種以上の微生物のレベル、多様性、及び／又は機能を増大する。

【0043】

一部の実施形態において、調節薬剤は、宿主と1種以上の微生物との相互作用を媒介する1つ以上の微生物経路を標的とする。

10

20

30

40

50

【0044】

一部の実施形態において、送達ステップは、1種以上の微生物に作用するのに十分な用量及び時間で調節薬剤を供給し、これにより、宿主における微生物多様性を調節することを含む。一部の実施形態では、送達ステップは、植物に対する前出の組成物のいずれかの局所塗布を含む。一部の実施形態では、送達ステップは、遺伝子修飾、操作植物、又はトランスジェニック植物（例えば、本明細書に記載の植物のいずれか）を介して調節薬剤を供給することを含む。他の実施形態では、送達ステップは、無脊椎動物（例えば、昆虫、軟体動物、又は線虫）用の摂食可能な薬剤として調節薬剤を宿主に供給することを含む。別の実施形態では、送達ステップは、調節薬剤を担持する宿主を供給することを含む。一部の実施形態において、調節薬剤を担持する宿主は、1種以上の別の宿主に調節薬剤を送達することができる。

10

【0045】

また、本明細書には、宿主の適応度を調節する（例えば、増加又は低下させる）調節薬剤を同定するスクリーニングアッセイも提供される。スクリーニングアッセイは、（a）宿主に常在し得る微生物を1種以上の候補調節薬剤に暴露するステップと、（b）宿主の適応度を増加又は低下させる調節薬剤を同定するステップとを含み得る。一部の実施形態において、調節薬剤は、宿主に常在する微生物である。一部の実施形態では、微生物は、細菌である。一部の実施形態では、細菌は、宿主に常在するとき、適応度を増加させる。或いは、細菌は、宿主に常在するとき、適応度を低下させる。一部の実施形態では、調節薬剤は、本明細書に記載の調節薬剤（例えば、調節薬剤（例えば、ポリペプチド（例えば、抗体、バクテリオシン、抗微生物ペプチド、若しくはバクテリオサイト調節性ペプチド（例えば、コレオプテリシンA）、核酸（例えば、DNA、RNA（例えば、mRNA、gRNA、若しくは阻害性RNA（例えば、RNAi、shRNA、miRNA））、CRISPR核酸）、小分子（例えば、プロスタグランジン）、又はこれらの組合せ））のいずれかである。一部の実施形態では、調節薬剤は、遺伝子修飾ファージ又は細菌によって供給される。一部の実施形態では、宿主の適応度は、宿主微生物叢を調節することによって調節される。

20

【0046】

定義

本明細書で使用されるとき、用語「バクテリオサイト」は、共生細菌特性を備えた細胞内細菌が常在する無脊椎動物、例えば、昆虫、線虫、又は軟体動物に見られる特殊化した細胞を指す。一部の例では、バクテリオサイトは、他のバクテリオサイトと一緒にクラスター化して、菌細胞塊を形成する。

30

【0047】

本明細書で使用されるとき、用語「有効量」は、記載される結果を生じさせるのに十分な、例えば、宿主生物（例えば、昆虫、線虫、又は軟体動物）の適応度を増加若しくは低下させるのに十分な；標的宿主の内部で目標レベル（例えば、所定若しくは閾値レベル）の調節薬剤濃度に達するのに十分な；標的宿主の腸の内部で目標レベル（例えば、所定若しくは閾値レベル）の調節薬剤濃度に達するのに十分な；標的宿主のバクテリオサイトの内部で目標レベル（例えば、所定若しくは閾値レベル）の調節薬剤濃度に達するのに十分な；標的宿主の1種以上の微生物（例えば内部共生体）のレベル、若しくは活動を調節するのに十分な、調節薬剤（例えば、ポリペプチド、核酸、小分子、若しくはこれらの組合せ）又は前記薬剤を含む組成物の量を指す。

40

【0048】

本明細書で使用されるとき、用語「適応度」は、宿主無脊椎動物（例えば、昆虫、線虫、又は軟体動物）が生存する能力、及び／又は生存能力のある子孫を産生する能力を指す。宿主生物（例えば、昆虫、線虫、又は軟体動物）の適応度は、限定はされないが、寿命、繁殖率、移動性、体重、又は代謝率をはじめとする1つ以上のパラメータによって測定することができる。宿主に応じて、適応度は、更に、活動（例えば、動物若しくはヒトを刺す、植物の受粉）、疾病伝播（例えば、ベクター-ベクター伝播若しくはベクター-動

50

物伝播)、又は産出力(例えば、蜂蜜又は絹)の尺度に基づき測定することもできる。

【0049】

本明細書で使用されるとき、用語「腸」は、宿主の前腸、中腸又は後腸を含めた宿主の腸の任意の一部分を指す。

【0050】

本明細書で使用されるとき、用語「宿主」は、常在性微生物(例えば、内因性微生物、内部共生微生物(例えば、一次又は二次内部共生体)、片利共生生物及び／又は病原性微生物)を保有する生物、例えば無脊椎動物(例えば、昆虫、軟体動物、又は線虫)を指す。

【0051】

本明細書で使用されるとき、「宿主適応度を低下させる」又は「宿主適応度を低減する」は、限定はされないが、以下の所望の効果：(1) 宿主(例えば、昆虫、軟体動物、若しくは線虫)の個体群の約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%若しくはそれを超える減少；(2) 宿主(例えば、昆虫、軟体動物、若しくは線虫)の繁殖率の約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%若しくはそれを超える減少；(3) 宿主(例えば、昆虫、軟体動物、若しくは線虫)の移動性の約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%若しくはそれを超える減少；(4) 宿主(例えば、昆虫、軟体動物、若しくは線虫)の体重の約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%若しくはそれを超える減少；(5) 宿主(例えば、昆虫、軟体動物、若しくは線虫)の代謝率又は活動の約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%若しくはそれを超える減少；(6) 宿主(例えば、昆虫、軟体動物、若しくは線虫)による植物寄生の約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%若しくはそれを超える減少；(7) 宿主(例えば、昆虫、軟体動物、若しくは線虫)による(例えば、植物、動物、若しくはヒト病原体の)疾病伝播の約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%若しくはそれを超える減少；又は(8) 宿主(例えば、昆虫、軟体動物、若しくは線虫)の成長の約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%若しくはそれを超える減少、幼虫死亡率及び／又は成虫不稔性の約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%若しくはそれを超える増加のうちのいずれか1つ以上を含め、調節薬剤の投与がもたらす結果としての宿主生理機能の任意の破綻、又は前記宿主により行われるいずれかの活動の任意の破綻を指す。宿主適応度の低下は、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較して決定することができる。

【0052】

本明細書で使用されるとき、「宿主適応度を増加させる」又は「宿主適応度を促進する」は、限定はされないが、以下の所望の効果：(1) 宿主の個体群の約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%若しくはそれを超える増加；(2) 宿主(例えば、昆虫、軟体動物、若しくは線虫)の繁殖率の約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%若しくはそれを超える増加；(3) 宿主(例えば、昆虫、軟体動物、若しくは線虫)の移動性の約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%若しくはそれを超える増加；(4) 宿主(例えば、昆虫、軟体動物、若しくは線虫)の体重の約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%若しくはそれを超える増加；(5) 宿主(例えば、昆虫、軟体動物、若しくは線虫)の代謝率又は活動の約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%若しくはそれを超える増加；(6) 宿主(例えば、昆虫、軟体動物、若しくは線虫)による受粉(例えば、所与の時間量で受粉する植物の数)の約10%

10

20

30

40

50

、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%若しくはそれを超える増加；（7）宿主（例えば、昆虫、軟体動物、若しくは線虫）副産物（例えば、蜂蜜若しくは絹）の生産の約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%若しくはそれを超える増加；（8）宿主（例えば、昆虫、軟体動物、若しくは線虫）の栄養分（例えば、タンパク質、脂肪酸、若しくはアミノ酸）の約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%若しくはそれを超える増加；又は（9）農薬に対する宿主（例えば、昆虫、軟体動物、若しくは線虫）抵抗性の約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、100%若しくはそれを超える増加のうちのいずれか1つ以上を含め、調節薬剤の投与がもたらす結果としての宿主生理機能の任意の好ましい変化、又は前記宿主により行われるいずれかの活動の任意の好ましい変化を指す。宿主適応度の増加は、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較して決定することができる。

10

【0053】

本明細書で使用されるとき「宿主と、宿主に常在する微生物との相互作用」又は「宿主－微生物叢相互作用」は、（i）宿主に常在する微生物（例えば、内部共生微生物）の生存、成長、若しくは代謝に直接若しくは間接的に影響する、宿主のいずれかの経路（例えば、代謝、遺伝子調節、細胞シグナル伝達、若しくは免疫－炎症経路）、（ii）宿主無脊椎動物（例えば、昆虫、線虫、又は軟体動物）の適応度に直接若しくは間接的に影響する、常在微生物のいずれかの経路（例えば、代謝若しくは細胞シグナル伝達経路）、及び／又は（iii）宿主の生存、成長、若しくは代謝に直接若しくは間接的に影響する、常在微生物のいずれかの経路（例えば、代謝、細胞シグナル伝達、若しくは免疫－炎症経路）、及び／又は（iv）常在微生物の適応度に直接若しくは間接的に影響する、宿主のいずれかの経路（例えば、代謝、遺伝子調節、細胞シグナル伝達、若しくは免疫－炎症経路）を指す。

20

【0054】

用語「昆虫」には、任意の発育段階にある、即ち幼虫及び成虫の、節足動物門（Arthropoda）及び昆虫綱（Insecta）又は蛛形綱（Arachnida）に属するあらゆる生物が含まれる。

【0055】

用語「軟体動物」には、任意の発育段階にある、即ち幼虫及び成虫の、腹足綱（Gastropoda）の生物（例えば、カタツムリ及びナメクジ）をはじめとする、軟体動物門（Mollusca）に属するあらゆる生物が含まれる。

30

【0056】

用語「線虫」には、任意の発育段階にある、即ち幼虫及び成虫の、線形動物門（Nematoda）に属するあらゆる生物（例えば、線虫）が含まれる。

【0057】

本明細書で使用されるとき、用語「微生物」又は「微生物叢」は、細菌又は真菌を指す。微生物は、調節薬剤としての役割を果たし得るものを含め、宿主生物に常在する微生物（例えば、内因性微生物、内部共生微生物（例えば、一次又は二次内部共生体））又は宿主にとって外因性の微生物を指し得る。本明細書で使用されるとき、用語「標的微生物」は、宿主に常在し、且つ直接又は間接的のいずれかで調節薬剤の影響を受ける微生物を指す。

40

【0058】

本明細書で使用されるとき、用語「調節薬剤」又は「薬剤」は、宿主生物（例えば、無脊椎動物、例えば、昆虫、軟体動物、若しくは線虫）に常在する微生物のレベル及び／又は機能状態を改変して、それにより宿主生物の適応度を調節する（例えば、増加若しくは低下させる）ことができる薬剤を指す。

【0059】

本明細書で使用されるとき、用語「核酸」及び「ポリヌクレオチド」は、置き換え可能

50

であり、長さ（例えば、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、30、40、50、100、150、200、250、500、1000、又はそれを超える核酸）とは関係なく、直鎖状若しくは分岐、一本鎖若しくは二本鎖のRNA若しくはDNA、又はそれらのハイブリッドを指す。この用語はまた、RNA/DNAハイブリッドも包含する。ヌクレオチドは、典型的に、リン酸ジエステル結合により核酸中で連結されるが、用語「核酸」は、他のタイプの結合又は骨格（例えば、中でも、ホスホロアミド、ホスホロチオエート、ホスホロジチオエート、O-メチルホスホロアミダート、モルホリノ、ロックド核酸（LNA）、グリセロール核酸（GNA）、トレオース核酸（TNA）、及びペプチド核酸（PNA）結合又は骨格）を有する核酸類似体も包含する。核酸は、一本鎖、二本鎖であってもよいし、又は一本鎖及び二本鎖配列の両方の部分を含有してもよい。核酸は、デオキシリボヌクレオチド及びリボヌクレオチドの任意の組合せ、並びに例えば、アデニン、チミン、シトシン、グアニン、ウラシル、及び修飾若しくは非標準塩基（例えば、ヒポキサンチン、キサンチン、7-メチルグアニン、5,6-ジヒドロウラシル、5-メチルシトシン、及び5ヒドロキシメチルシトシンシトシンを含む）をはじめとする塩基の任意の組合せを含み得る。

【0060】

本明細書で使用されるとき、用語「病害虫」は、植物若しくは他の生物に対して害をもたらすか、又はヒト、例えば、ヒトの農業方法若しくは農産物に対して有害である無脊椎動物（例えば、昆虫、線虫、又は軟体動物）を指す。

【0061】

本明細書で使用されるとき、用語「農薬」又は「農薬用薬剤」は、農業、環境及び家庭／住居の病害虫、例えば昆虫、軟体動物、線虫、真菌、細菌及びウイルスの防除に使用することができる物質を指す。用語「農薬」は、天然に存在する又は合成の殺虫剤（幼虫駆除剤又は成虫駆除剤）、昆虫成長調節物質、殺線虫剤、軟体動物駆除剤、殺ダニ剤（ダニ駆除剤）、殺線虫剤、外部寄生生物撲滅薬、殺菌剤、殺真菌剤又は除草剤（農業において植物成長を制御又は変更するために使用することができる物質）を包含するものと理解される。農薬又は農薬用薬剤の更なる例は、表11に挙げられる。一部の例では、農薬は、アレロケミカルである。本明細書で使用されるとき、「アレロケミカル」又は「アレロケミカル薬剤」は、別の生物（例えば、昆虫、軟体動物、又は線虫）の生理学的機能（例えば、発芽、成長、生存又は繁殖）に影響を及ぼすことができる生物によって生産される物質である。

【0062】

本明細書で使用されるとき、用語「ペプチド」、「タンパク質」又は「ポリペプチド」は、長さ（例えば、少なくとも2、3、4、5、6、7、10、12、14、16、18、20、25、30、40、50、100アミノ酸又はそれを超える）、翻訳後修飾（例えば、グリコシル化又はリン酸化）の有無又は例えばペプチドに共有結合的に連結した1つ以上の非アミノアシル基（例えば、糖、脂質等）の存在に関わらず、天然に存在する又は天然に存在しないアミノ酸鎖（D-アミノ酸又はL-アミノ酸のいずれも）を包含し、例えば天然タンパク質、合成若しくは組換えのポリペプチド及びペプチド、ハイブリッド分子、ペプトイド又はペプチドミメティクスが含まれる。

【0063】

本明細書で使用されるとき、2つの配列間の「パーセント同一性」は、Altschul et al., J. Mol. Biol. 215:403-410, 1990に記載されるBLAST 2.0アルゴリズムによって決定される。BLAST解析の実行用ソフトウェアは、国立バイオテクノロジー情報センター（National Center for Biotechnology Information）を通じて公的に利用可能である。

【0064】

本明細書で使用されるとき、用語「植物」は、全植物、植物器官、植物組織、種子、植物細胞、種子又はその子孫を指す。植物細胞には、限定なしに、種子、浮遊培養物、胚、

10

20

30

40

50

分裂組織領域、カルス組織、葉、根、シュート、配偶体、孢子体、花粉又は小孢子の細胞が含まれる。植物部位には、限定はされないが、以下：根、茎、シュート、葉、花粉、種子、腫瘍組織又は様々な形態の細胞及び培養物（例えば、単一細胞、プロトプラスト、胚及びカルス組織）を含めた、分化した及び未分化の組織が含まれる。植物組織は、植物のものであるか、又は植物器官、組織若しくは細胞培養物のものであり得る。

【0065】

本明細書で使用されるとき、「トランスジェニック植物」、「遺伝子操作植物」、又は「遺伝子修飾植物」は、そのゲノム（例えば、染色体DNA、葉緑体DNA、又はミトコンドリアDNA）が、組換えDNAの安定な組込みによって改変された植物を指す。トランスジェニック植物は、初めに形質転換された植物細胞から再生された植物、及び後の世代からの子孫トランスジェニック植物又は形質転換植物の交雑を含む。例えば、トランスジェニック植物は、例えば、本明細書に記載の方法又は組成物の調節薬剤のいずれかの異種（例えば、非内在性）又は非異種（例えば、内在性）コード化タンパク質若しくはRNAを産生するように、遺伝子操作してもよい。任意の植物種を形質転換して、トランスジェニック植物を作出してもよい。トランスジェニック植物は、双子葉植物又は単子葉植物であってもよい。例えば、限定はしないが、本明細書に記載の組成物及び方法のトランスジェニック植物は、下記の双子葉植物科：エンドウ、アルファルファ及びダイズなどの植物を含むマメ科（*Leguminosae*）；ニンジン及びセロリーなどの植物を含むセリ科（*Umbelliferae*）；トマト、ジャガイモ、ナス、タバコ、及びコショウなどの植物を含むナス科（*Solanaceae*）；ナタネ、ビート、キャベツ、カリフラワー及びブロッコリーなどの植物を含むアブラナ科（*Cruciferae*）、特に、アブラナ属（*Brassica*）；並びにシロイヌナズナ（*Arabidopsis thaliana*）；レタスなどの植物を含むキク科（*Compositae*）；ワタを含むアオイ科（*Malvaceae*）；ピーナッツなどの植物を含むマメ科（*Fabaceae*）等のいずれに由来するものであってもよい。本発明のトランスジェニック植物は、例えば、コムギ、オオムギ、モロコシ、キビ、ライムギ、ライコムギ、トウモロコシ、コメ、オーツムギ、スイッチグラス、ススキ、及びサトウキビなどの単子葉植物に由来するものであってもよい。本発明のトランスジェニック植物はまた、例えば、リンゴ、ナシ、マルメロ、プラム、サクランボ、モモ、ネクタリン、アンズ、パパイヤ、マンゴーなどの樹木、並びに、例えば、ポプラ、マツ、セコイア、シダー、オーク、ヤナギなどの針葉樹及び落葉樹を含む他の本木植物としても実現される。

【0066】

本発明の他の特徴及び利点は、以下の詳細な説明及び特許請求の範囲から明らかとなるであろう。

【0067】

図は、本発明の1つ以上の特徴、態様又は実施形態を例示することを目的とし、限定することを意図するものではない。

【図面の簡単な説明】

【0068】

【図1】P. パストリス（*P. pastoris*）による処理が、アブラムシの発育を遅らせたことを示す一連のグラフである。1 齢及び2 齢LSR-1 アブラムシを水で灌流した葉（陰性対照）又はP. パストリス（*P. pastoris*）の水溶液で灌流した葉に載せ、実験期間中の各表示時点で発育段階をモニターした。各群のアブラムシの平均パーセンテージ±SDを示す。

【図2】P. パストリス（*P. pastoris*）処理が、アブラムシの死亡を引き起こしたことを示すグラフである。1 齢及び2 齢LSR-1 アブラムシを、葉の灌流により、水（対照）又はP. パストリス（*P. pastoris*）で処理し、実験期間中毎日生存をモニターした。N=62~63 匹のアブラムシ／群。統計的有意差は、ログ・ランク（マンテル・コックス）検定によって決定した；****、 $p < 0.0001$ 。

【図3】葉の噴霧によるP. パストリス（*P. pastoris*）処理が、アブラムシの

発育に影響しなかったことを示す一連のグラフである。1 齢及び 2 齢 L S R - 1 アブラムシを、エアブラシ噴霧により、水（対照）又は P . パストリス（P . p a s t o r i s）で処理し、時間経過に伴う発育段階をモニターした。各時点で死んだアブラムシ又は各発育段階（1 齢、2 齢、3 齢、4 齢、又は 5 齢）の生きているアブラムシの平均パーセンテージ ± S D を示す。N = 3 0 匹のアブラムシ／群の 2 つのレプリケート。

【図 4】P . パストリス（P . p a s t o r i s）処理が、アブラムシの死亡率を増加したことを示すグラフである。1 齢及び 2 齢 L S R - 1 アブラムシを、水（対照）又は P . パストリス（P . p a s t o r i s）を噴霧した葉に載せ、時間経過に伴う生存をモニターした。N = 6 0 匹のアブラムシ／群。

【図 5 A - 5 B】ソラマメ葉に P . パストリス（P . p a s t o r i s）を噴霧すると、その葉を食餌したアブラムシの共生ブフネラ属（B u c h n e r a）が減少することを示すグラフである。P . パストリス（P . p a s t o r i s）による処理から 6 日後（A）及び 9 日後（B）に共生体の力価を測定した。平均ブフネラ属（B u c h n e r a）／アブラムシコピー ± S D を示す。表示するデータセット上方のボックス内の数は、その群の中央値を表す。各点は、単一のアブラムシを表す。

【図 6】B C R - 4 P N A のマイクロインジェクションが、B C R - 4 発現を低減したことを示すグラフである。4 齢及び 5 齢 A . ピスム（A . p i s u m）アブラムシに 2 0 n l の水又は 3 2 1 n g / u l の B C R - 4 P N A を注入し、7 日後にアブラムシから R N A を抽出し、R T - q P C R を実施して、B C R - 4 の発現を測定した。平均 B C R - 4 / アクチンコピー ± S D を示す。各データポイントは、単一のアブラムシを表す。各データセット上方のボックス内の数は、データの中央値を表す。

【図 7】B C R - 4 に対する P N A による処理後の昆虫生存の低下を示すグラフである。4 齢及び 5 齢 A . ピスム（A . p i s u m）アブラムシに水又は B C R - 4 に対する P N A を注入した。実験期間中毎日生存をモニターした。N = 2 0 匹のアブラムシ／処理群。

【図 8】B C R - 4 に対する P N A をアブラムシに注入すると、繁殖力の低下を引き起こしたことを示すグラフである。4 齢及び 5 齢 A . ピスム（A . p i s u m）アブラムシに水又は B C R - 4 に対する P N A を注入した。各時点で各群により産生された子孫の数をカウントすることにより繁殖力を測定したが、繁殖力は、1 日当たり F 0（成虫）により産生される F 1（第 1 世代子孫）の数として表される。N = 2 0 匹のアブラムシ／処理群。

【図 9】B C R - 4 P N A による処理が、アブラムシの発育を遅らせたことを示す一連のグラフである。1 齢及び 2 齢 L S R - 1 アブラムシを水で灌流した葉（陰性対照）又は B C R - 4 P N A の水溶液で灌流した葉に載せ、実験期間中、各表示時点で発育段階をモニターした。各群のアブラムシの平均パーセンテージ ± S D を示す。

【図 10】B C R - 4 による処理が、アブラムシ死亡の増加を引き起こしたことを示すグラフである。1 齢及び 2 齢 L S R - 1 アブラムシを、葉の灌流により、水（対照）又は B C R - 4 P N A で処理し、実験期間中毎日生存をモニターした。N = 6 0 匹のアブラムシ／群。統計的有意差は、ログ・ランク（マンテル・コックス）検定によって決定した。

【図 11】葉の灌流を介して送達される B C R - 4 P N A による処理が、ブフネラ属（B u c h n e r a）力価を増加したことを示すグラフである。1 齢及び 2 齢 L S R - 1 アブラムシを、葉の灌流により、水（対照）又は B C R 4 P N A で処理し、処理後 5 及び 6 日目に死んだアブラムシを収集した。D N A を抽出し、q P C R を実施して、ブフネラ属（B u c h n e r a）／アブラムシ D N A コピーの数を決定した。6 ~ 7 匹のアブラムシ／群のブフネラ属（B u c h n e r a）／アブラムシ D N A コピーの平均数 ± S D を示す。

【図 12】葉の灌流を介した B C R - 4 に対する P N A によるアブラムシの処理が、B C R - 4 発現の低減を引き起こしたことを示すグラフである。1 齢及び 2 齢 L S R - 1 アブラムシを、葉の灌流により、水（陰性対照）又は B C R - 4 P N A で処理し、7 日目に、生きたアブラムシから R N A を抽出し、R T - q P C R を実施して、アクチン発現に対する B C R - 4 の発現を定量した。ボックス内の数は、データセットの中央値を表す。

【図 13】d s R N A - A p G L N T 1 による処理が、A p G L N T 1 の発現をノックダ

10

20

30

40

50

ウンしたことを示すグラフである。5 齢 *A. pisum* (*A. pisum*) アブラムシに水又は *dsRNA-ApGLNT1* の水溶液を注入した。処理から 2 日後に、全 RNA を抽出し、RT-qPCR を実施して、*ApGLNT1* 遺伝子相対発現 (内部標準遺伝子として *アクトン*) を決定した。5 ~ 7 匹のアブラムシ / 群の *ApGLNT1* / *アクトン* コピー ± SD の相対発現の平均比を示す。統計的有意差は、スチューデントの T 検定 (* *, $p < 0.01$) により決定した。

【図 14】 *dsRNA-ApGLNT1* による処理が、アブラムシ死亡率を増加したことを示すグラフである。LSR-1 *A. pisum* (*A. pisum*) アブラムシに水又は *dsRNA-ApGLNT1* の水溶液を注入し、実験期間中生存をモニターした。N = 40 匹のアブラムシ / 群。統計的有意差は、ログ・ランク (マンテル・コックス) 検定によって決定すると、2 つの群の間で認められた。

10

【図 15】 *dsRNA-ApGLNT1* による処理が、ブフネラ属 (*Buchnera*) 力価の低下を引き起こしたことを示すグラフである。LSR-1 *A. pisum* (*A. pisum*) アブラムシに水又は *dsRNA-ApGLNT1* の水溶液を注入し、注入から 5 日後にアブラムシから DNA を抽出し、qPCR を実施して、ブフネラ属 (*Buchnera*) を定量した。ブフネラ属 (*Buchnera*) / アブラムシ DNA コピーの平均数 ± SD を示す。各点は、個別のアブラムシを表す。各データセット上方のボックス内の数は、その群の中央値を表す。

【図 16 A】 *dsRNA-ApGLNT1* をマイクロインジェクションしたアブラムシからの子孫が、発育の遅れを呈示したことを示す一連のグラフである。図 16 A: LSR-1 *A. pisum* (*A. pisum*) アブラムシに水又は *dsRNA-ApGLNT1* の水溶液を注入し、注入後の表示時点でライフステージをモニターした。実験全体を通して死んだアブラムシ又は各齢の段階で生きているアブラムシの平均パーセント ± を示す。N = 40 匹のアブラムシ / 群。

20

【図 16 B】 *dsRNA-ApGLNT1* をマイクロインジェクションしたアブラムシからの子孫が、発育の遅れを呈示したことを示す一連のグラフである。図 16 B: 子孫を収集した 4 日後に、各アブラムシの写真を撮影して、各アブラムシの面積を決定した。水又は *dsRNA-ApGLNT1* のいずれかを注入したアブラムシから採取した子孫の平均面積 ± SD を示す。統計的有意差は、スチューデントの T 検定により決定した。各データポイントは、一匹の個別のアブラムシを表す。

30

【図 17】 *dsRNA* 発現カセットを示す図である。pCaMV 35S プロモータを *dsRNA* 発現配列の上流に配置する。標的アブラムシ遺伝子の領域のセンス及びアンチセンス鎖を、ヘアピンループとして作用する小さなスパーサとタンデムに配置する。発現されると、形成された RNA は、配列の相補性のために二本鎖構成をとるであろう。

【図 18】 タバコ (*N. tabacum*) に *dsRNA* を発現するための構築物のシャトルベクターの図である。プラスミドは、大腸菌 (*E. coli*) 及び *A. tumefaciens* (*A. tumefaciens*) に対応する複製起点と、カナマイシン及びゲンタマイシン耐性マーカと、パセリユビキチンプロモータ下の緑色蛍光発現カセットと、最後に、pCaMV 35S により駆動される *dsRNA* 発現カセットとを含む。

【図 19】 *A. tumefaciens* (*A. tumefaciens*) を浸透させたタバコ (*N. tabacum*) 植物における GFP 発現を示す一連の画像である。上の図は、タバコ (*N. tabacum*) における GFP の発現を構成的に駆動することができるプラスミドを含有する *A. tumefaciens* (*A. tumefaciens*) を浸透させたタバコ (*N. tabacum*) である (左上は、明視野であり、右上は、緑色チャンネルである)。下のパネルは、*A. tumefaciens* (*A. tumefaciens*) を浸透させていない陰性対照の葉である。

40

【発明を実施するための形態】

【0069】

本明細書には、宿主と、その宿主に常在する 1 種以上の微生物との相互作用を改変することにより、宿主無脊椎動物 (例えば、昆虫、軟体動物、又は線虫) の適応度を調節する

50

方法及び組成物が提供される。本発明は、宿主の適応度を調節する（例えば、増加又は低下させる）ように、宿主の微生物叢に間接的に変化を誘導することができる調節薬剤（例えば、ポリペプチド、核酸、小分子、又はこれらの組合せ）を含む組成物を特徴とする。例えば、調節薬剤は、微生物のレベル、微生物の活動、微生物の代謝、及び／又は微生物の多様性を改変する（例えば、増大又は低減する）宿主経路（例えば、免疫系若しくはバクテリオサイト経路）又は微生物経路を標的とすることができ、ひいては、農業、商業、及び／又は公衆衛生にとって重要な種々の無脊椎動物（例えば、昆虫、軟体動物、又は線虫）の適応度を調節する（例えば、増加又は低下させる）。

【0070】

本明細書に記載される方法及び組成物は、一部には、いかにして、様々な薬剤、例えば、小化合物（例えば、プロスタグランジン）、阻害性RNA（例えば、dsRNA若しくはPNA）、及び微生物（真菌若しくは細菌）を用いて、宿主に常在する微生物に対する宿主の免疫応答を改変することができるかを説明する実施例に基づく。更に、本明細書に記載の方法及び組成物を用いて、微生物が典型的に常在する宿主の器官又は細胞の機能を改変することもできる。例えば、RNAを用いて、アブラムシのバクテリオサイト機能を損傷させ、それにより、アブラムシのバクテリオサイトに常在する共生微生物集団を破綻させることができる。アブラムシの共生微生物集団（例えば、ブフネラ属種（*Buchnera* spp.））の破綻は、その結果、アブラムシの適応度を低下させる。RNA（例えば、dsRNA）若しくはPNA、又は小分子（例えば、プロスタグランジン）などの核酸は、本発明で有用な調節薬剤の代表的なものであり、このタイプの他の調節薬剤も本発明において有用となり得る。これに基づき、本開示は、無脊椎動物宿主（例えば、昆虫、軟体動物、又は線虫）の適応度を調節する（例えば、増加又は低下させる）薬剤を使用するための様々な異なるアプローチを記載し、ここで、調節薬剤は、宿主と、宿主に常在する1種以上の微生物との相互作用を改変する。

【0071】

I. 宿主

i. 昆虫宿主

一部の例では、本明細書に記載される宿主は、節足動物門（*Arthropoda*）に属する生物である。一部の例では、昆虫は、病害虫、例えば、農業病害虫とみなされる。一部の例では、昆虫は、植物の疾病の原因となる植物害虫とみなされる細菌又はウイルス（例えば、アグロバクテリウム（*Agrobacterium*）又はトマト黄化葉巻ウイルス（*tomato yellow leaf curl virus*）（TYLCV））を保有する。宿主は、いずれの発生段階であってもよい。例えば、宿主は、胚、幼虫、蛹、又は成虫であってもよい。

【0072】

一部の例では、昆虫は、以下の目に属し得る：ダニ目（*Acar*i）、クモ目（*Ara*neae）、シラミ亜目（*Anoplura*）、コウチュウ目（*Coleoptera*）、トビムシ目（*Collembola*）、ハサミムシ目（*Dermaptera*）、網翅目（*Dictyoptera*）、コムシ目（*Diplura*）、ハエ目（*Diptera*）（例えば、オウトウショウジョウバエ）、シロアリモドキ目（*Embioptera*）、カゲロウ目（*Ephemeroptera*）、ガロアムシ目（*Grylloblattodea*）、カメムシ目（*Hemiptera*）（例えば、アブラムシ、オンシツコナジラミ、又はカメムシ）、ヨコバイ亜目（*Homoptera*）、ハチ目（*Hymenoptera*）、シロアリ目（*Isoptera*）、チョウ目（*Lepidoptera*）、ハジラミ目（*Mallophaga*）、シリアゲムシ目（*Mecoptera*）、アミメカゲロウ目（*Neuroptera*）、トンボ亜目（*Odonata*）、バッタ目（*Orthoptera*）、ナナフシ目（*Phasmoda*）、カワゲラ目（*Plecoptera*）、カマアシムシ目（*Protura*）、チャタテムシ目（*Psocoptera*）、ノミ目（*Siphonaptera*）、シラミ目（*Siphunculata*）、シミ目（*Thysanura*）、ネジレバネ目（*Strepsiptera*）、アザミウマ目（*T*

hysanoptera)、トビケラ目(Trichoptera)又はジュズヒゲムシ目(Zoraptera)。

【0073】

一部の例では、昆虫は、クモ綱、例えばアカルス属(Acarus spp.)、アケリア・シェルドニ(Aceria sheldoni)、アクロプス属(Aculops spp.)、アクルス属(Aculus spp.)、アンブリオンマ属(Amblyomma spp.)、アムフィテトラニクス・ビエネンシス(Amphitetranychus viennensis)、アルガス属(Argas spp.)、ボオフィルス属(Boophilus spp.)、ブレビパルプス属(Brevipalpus spp.)、ブリオビア・グラミヌム(Bryobia graminum)、ブリオビア・プラエチオサ(Bryobia praetiosa)、セントルロイデス属(Centruroides spp.)、コリオプテス属(Choriotptes spp.)、デルマニクス・ガリナエ(Dermanyssus gallinae)、デルマトファゴイデス・プテロニクス(Dermatophagoides pteronyssinus)、デルマトファゴイデス・ファリナエ(Dermatophagoides farinae)、デルマセントル属(Dermacentor spp.)、エオテトラニクス属(Eotetranychus spp.)、エピトリメルス・ピリ(Epitrimerus pyri)、エウテトラニクス属(Eutetranychus spp.)、エリオフィエス属(Eriophyes spp.)、グリシファグス・ドメスチクス(Glycyphagus domesticus)、ハロチデウス・デストルクトル(Halotydeus destructor)、ヘミタロソネムス属(Hemitarsonemus spp.)、ヒアロンマ属(Hyalomma spp.)、イキシデス属(Ixodes spp.)、ラトロデクツス属(Latrodectus spp.)、ロキソスケレス属(Loxosceles spp.)、メタテトラニクス属(Metatetranychus spp.)、ネウトロムビクラ・アウツムナリス(Neutrombicula autumnalis)、ヌフェルサ属(Nuphersa spp.)、オリゴニクス属(Oligonychus spp.)、オルニトドルス属(Ornithodoros spp.)、オルニトニクス属(Ornithonyssus spp.)、パノニクス属(Panonychus spp.)、フィロコプトルタ・オレイボラ(Phyllocoptruta oleivora)、ポリファゴタルソネムス・ラツス(Polyphagotarsonemus latus)、ソロプテス属(Psoroptes spp.)、リビセファルス属(Rhipicephalus spp.)、リゾグリフス属(Rhizoglyphus spp.)、サルコプテス属(Sarcoptes spp.)、スコルピオ・マウルス(Scorpio maurus)、ステネオタルソネムス属(Steneotarsonemus spp.)、ステネオタルソネムス・スピッキ(Steneotarsonemus spinki)、タルソネムス属(Tarsonemus spp.)、テトラニクス属(Tetranychus spp.)、トロムビクラ・アルフレズゲシ(Trombicula alfreddugesi)、バエジョビス属(Vaejovis spp.)、バサテス・リコペルシシ(Vasates lycopersici)由来である。

【0074】

一部の例では、昆虫は、ムカデ綱(Chilopoda)、例えばゲオフィルス属(Geophilus spp.)、スクチゲラ属(Scutigera spp.)由来である。

【0075】

一部の例では、昆虫は、トビムシ目(Collemboles)、例えばオニキウルス・アルマツス(Onychiurus armatus)由来である。

【0076】

一部の例では、昆虫は、ヤスデ綱(Diplopoda)、例えば、ブラニウルス・グツラツス(Blaniulus guttulatus)由来である。

【0077】

一部の例では、昆虫は、昆虫綱 (Insecta)、例えば、ゴキブリ目 (Blattodea)、例えば、ブラッテラ・アサヒナイ (Blattella asahinai)、ブラッテラ・ゲルマニカ (Blattella germanica)、ブラッタ・オリエンタリス (Blatta orientalis)、レウコファエア・マデラエ (Leucophaea maderae)、パンクロラ属 (Panchlora spp.)、パルコブラッタ属 (Parcoblatta spp.)、ペリプラネタ属 (Periplaneta spp.)、スベラ・ロンギパルパ (Supella longipalpa) 由来である。

【0078】

一部の例では、昆虫は、コウチュウ目 (Coleoptera)、例えばアカリンマ・ビタツム (Acalymma vittatum)、アカントセリデス・オブテクツス (Acanthoscelides obtectus)、アドレツス属 (Adoretus spp.)、アゲラスチカ・アルニ (Agelastica alni)、アグリオテス属 (Agriotes spp.)、アルフィトビウス・ジアペリヌス (Alphitobius diaperinus)、アムフィマロン・ソルスチチアリス (Amphimallon solstitialis)、アノビウム・プンクタツム (Anobium punctatum)、アノプロホラ属 (Anoplophora spp.)、アントノムス属 (Anthonomus spp.)、アントレヌス属 (Anthrenus spp.)、アピオン属 (Apion spp.)、アポゴニア属 (Apogonia spp.)、アトマリア属 (Atomaria spp.)、アタゲヌス属 (Attagenus spp.)、ブルキジウス・オブテクツス (Bruchidius obtectus)、ブルクス属 (Bruchus spp.)、カッシダ属 (Cassida spp.)、セロトマ・トリフルカタ (Cerotoma trifurcata)、セウトリンクス属 (Ceutorrhynchus spp.)、カエトクネマ属 (Chaetocnema spp.)、クレオヌス・メンジクス (Cleonus mendicus)、コノデルス属 (Conoderus spp.)、コスモポリテス属 (Cosmopolites spp.)、コステリトラ・ゼアランジカ (Costelytra zealandica)、クテニセラ属 (Ctenicera spp.)、クルクリオ属 (Curculio spp.)、クリプトレステス・フェルギネウス (Cryptolestes ferrugineus)、クリプトリンクス・ラパチ (Cryptorhynchus lapathi)、シリンドロコプツルス属 (Cylindrocopturus spp.)、デンドロクトヌス属 (Dendroctonus spp.) (例えば、キクイムシ (Dendroctonus ponderosae))、デルメステス属 (Dermestes spp.)、ジアブロチカ属 (Diabrotica spp.) (例えば、トウモロコシの根切り虫)、ジコクロシス属 (Dichocrocis spp.)、ジクラジスパ・アルミゲラ (Dicladispa armigera)、ジロボデルス属 (Diloboderus spp.)、エピラクナ属 (Epilachna spp.)、エピトリクス属 (Epitrix spp.)、ファウスチヌス属 (Faustinus spp.)、ギビウム・プシロイデス (Gibbium psylloides)、グナトセルス・コルヌツス (Gnathocerus cornutus)、ヘルラ・ウンダリス (Hellula undalis)、ヘテロニクス・アラトル (Heteronychus arator)、ヘテロニクス属 (Heteronyx spp.)、ヒラモルフ・エレガンス (Hylamorpha elegans)、ヒロトルペス・バジュルス (Hylotrupes bajulus)、ヒペラ・ポスチカ (Hypera postica)、ヒポメセス・スクアモスス (Hypomeces squamosus)、ヒポテネムス属 (Hypothenemus spp.) コーヒーノミクイムシ (Hypothenemus hampei)、ラクノステルナ・コンサンガイネア (Lachnosterna consanguinea)、ラシドデルマ・セリコルネ (Lasioderma serricorne)、ラテチクス・オリザエ (Latheticus

10

20

30

40

50

oryzae)、ラトリジウス属 (*Lathridius* spp.)、レマ属 (*Lema* spp.)、レプチノタルサ・デセムリネアタ (*Leptinotarsa decemlineata*)、レウコプテラ属 (*Leucoptera* spp.)、リッソロプトルス・オリゾフィルス (*Lissorhoptrus oryzophilus*)、リキス属 (*Lixus* spp.)、ルペロデス属 (*Luperodes* spp.)、リクツス属 (*Lyctus* spp.)、メガセリス属 (*Megascelis* spp.)、メラノツス属 (*Melanotus* spp.)、メリゲテス・アエネウス (*Meligethes aeneus*)、メロロンタ属 (*Melolontha* spp.)、ミグドルス属 (*Migdolus* spp.)、モノカムス属 (*Monochamus* spp.)、ナウパクツス・キサントグラフス (*Naupactus xanthographus*)、ネクロビア属 (*Necrobia* spp.)、ニプツス・ホロレウス (*Nip tus hololeucus*)、オリクテス・リノセロス (*Oryctes rhinoceros*)、オリザエフィルス・スリナメンシス (*Oryzaephilus surinamensis*)、オリザファグス・オリザエ (*Oryzaphagus oryzae*)、オチオリンクス属 (*Otiorrhynchus* spp.)、オキシセトニア・ジュクンダ (*Oxycetonia jucunda*)、ファエドン・コクレアリアエ (*Phaedon cochleariae*)、フィロファガ属 (*Phyllophaga* spp.)、フィロファガ・ヘレリ (*Phyllophaga helleri*)、フィロトレタ属 (*Phyllotreta* spp.)、ポピリア・ジャポニカ (*Popillia japonica*)、プレムノトリペス属 (*Premnotrypes* spp.)、プロステファヌス・トルンカツス (*Prostephanus truncatus*)、プシリオデス属 (*Psylliodes* spp.)、プチヌス属 (*Ptinus* spp.)、リゾビウス・ベントラリス (*Rhizobius ventralis*)、リゾペルタ・ドミニカ (*Rhizopertha dominica*)、シトフィルス属 (*Sitophilus* spp.)、シトフィルス・オリザエ (*Sitophilus oryzae*)、スフェノホルス属 (*Sphenophorus* spp.)、ステゴビウム・パニセウム (*Stegobium paniceum*)、ステルネクス属 (*Stern nechus* spp.)、シムフィレテス属 (*Symphyletes* spp.)、タニメクス属 (*Tanymecus* spp.)、テネブリオ・モリトル (*Tenebrio molitor*)、テネブリオイデス・マウレタニクス (*Tenebrio ides m auretanicus*)、トリボリウム属 (*Tribolium* spp.)、トロゴデルマ属 (*Trogoderma* spp.)、チキウス属 (*Tychius* spp.)、キシロトレクス属 (*Xylotrechus* spp.)、ザブルス属 (*Zabrus* spp.) 由来；

ハエ目 (*Diptera*)、例えばアエデス属種 (*Aedes* spp.)、アグロミザ属 (*Agromyza* spp.)、アナストレファ属 (*Anastrepha* spp.)、アノフェレス属 (*Anopheles* spp.)、アスホンジア属 (*Asphondylia* spp.)、バクトロセラ属 (*Bactrocera* spp.)、ビビオ・ホルツラヌス (*Bibio hortulanus*)、カリホラ・エリトロセファラ (*Calliphora erythrocephala*)、カリホラ・ビシナ (*Calliphora vicina*)、セラチチス・カピタタ (*Ceratitis capitata*)、キロノムス属 (*Chironomus* spp.)、クリソミア属 (*Chrysomyia* spp.)、クリソプス属 (*Chrysops* spp.)、クリソゾナ・ブルビアリス (*Chrysosona pluvialis*)、コクリオミア属 (*Cochliomyia* spp.)、コンタリニア属 (*Contarinia* spp.)、コルジロビア・アントロポファガ (*Cordylobia anthropophaga*)、クリコトプス・シルベストリス (*Cricotopus sylvestris*)、クレキス属 (*Culex* spp.)、クリコイデス属 (*Culicoides* spp.)、クリセタ属 (*Culiseta* spp.)、クテレブラ属 (*Cuterebra* spp.)、ダクス・オレアエ (*Dacus oleae*)、ダシネウラ属 (*Dasyneu*

10

20

30

40

50

ra spp.)、デリア属 (*Delia* spp.)、デルマトビア・ホミニス (*Dermatobia hominis*)、ドロソフィラ属 (*Drosophila* spp.)、エキノクネムス属 (*Echinocnemus* spp.)、ファンニア属 (*Fannia* spp.)、ガステロフィルス属 (*Gasterophilus* spp.)、グロッシナ属 (*Glossina* spp.)、ハエマトポタ属 (*Haematopota* spp.)、ヒドレリア属 (*Hydrellia* spp.)、ヒドレリア・グリセオラ (*Hydrellia griseola*)、ヒレミア属 (*Hylemya* spp.)、ヒッポボスカ属 (*Hippobosca* spp.)、ヒポデルマ属 (*Hypoderma* spp.)、リリオミザ属 (*Liriomyza* spp.)、ルシリア属 (*Lucilia* spp.)、ルトゾミヤ属 (*Lutzomyia* spp.)、マンソニア属種 (*Mansonina* spp.)、ムスカ属 (*Musca* spp.) (例えば、ムスカ・ドメスチカ (*Musca domestica*))、オエストルス属 (*Oestrus* spp.)、オシネラ・フリト (*Oscinella frit*)、パラタニタルス属 (*Paratanytarsus* spp.)、パララウテルボルニエラ・スブシンクタ (*Paralauterborniella subcincta*)、ペゴミヤ属 (*Pegomyia* spp.)、フレボトムス属 (*Phlebotomus* spp.)、ホルビア属 (*Phorbia* spp.)、ホルミア属 (*Phormia* spp.)、ピオフィラ・カセイ (*Piophilidae casei*)、プロジプロシス属 (*Prodiptosis* spp.)、プシラ・ロサエ (*Psila rosae*)、ラゴレチス属 (*Rhagoletis* spp.)、サルコファガ属 (*Sarcophaga* spp.)、シムリウム属 (*Simulium* spp.)、ストモキス属 (*Stomoxys* spp.)、タバヌス属 (*Tabanus* spp.)、テタノプス属 (*Tetanops* spp.)、チプラ属 (*Tipula* spp.) 由来である。

【0079】

一部の例では、昆虫は、カメムシ亜目 (*Heteroptera*)、例えばアナサ・トリステス (*Anasa tristis*)、アンテスチオプシス属 (*Antestiopsis* spp.)、ボイセア属 (*Boisea* spp.)、ブリスス属 (*Blissus* spp.)、カロコリス属 (*Calocoris* spp.)、カムピロンマ・リビダ (*Campylomma livida*)、カベレリウス属 (*Cavelerius* spp.)、シメキス属 (*Cimex* spp.)、コラリア属 (*Collaria* spp.)、クレオンチアデス・ジルトス (*Creontiades dilutus*)、ダシヌス・ピペリス (*Dasynus piperis*)、ジケロプス・フルカツス (*Dichelops furcatus*)、ジコノコリス・ヘウエッチ (*Diconocoris hewetti*)、ジスデルクス属 (*Dysdercus* spp.)、エウスキスツス属 (*Euschistus* spp.)、エウリガステル属 (*Eurygaster* spp.)、ヘリオペルチス属 (*Heliopeltis* spp.)、ホルシアス・ノビレルス (*Horcias nobilellus*)、レプトコリス属 (*Leptocoris* spp.)、レプトコリス・バリコルニス (*Leptocoris varicornis*)、レプトグロッシス・フィロプス (*Leptoglossus phyllopus*)、リグス属 (*Lygus* spp.)、マクロペス・エキスカバツス (*Macropes excavatus*)、ミリダエ (*Miridae*)、モナロニオン・アトラツム (*Monalonion atratum*)、ナザラ属 (*Nezara* spp.)、オエバルス属 (*Oebalus* spp.)、ペントミダエ (*Pentomidae*)、ピエズマ・クアドラータ (*Piesma quadrata*)、ピエゾドラス属 (*Piezodorus* spp.)、サルス属 (*Psallus* spp.)、シューダシスタ・ペルセア (*Pseudacysta perseae*)、ロドニウス属 (*Rhodnius* spp.)、サールベルゲラ・シンギュラリス (*Sahlbergella singularis*)、スカプトコリス・カスターネア (*Scaptocoris castanea*)、スコチノフォラ属 (*Scotinophora* spp.)、ステファニティス・ナシ (*Stephanitis nashi*)、ティブラカ属 (*Tibraca* spp.)

)、トリアトマ属 (*Triatoma* spp.) 由来である。

【0080】

一部の例では、昆虫は、半翅目 (Hemiptera) 又は亜目 (suborder) ヨコバイ亜目 (Homoptera)、例えばアシジア・アカシアエバイレイアナエ (*Acizzia acaciae baileyanae*)、アシジア・ドドナエアエ (*Acizzia dodonaeae*)、アシジア・ウンカトイデス (*Acizzia uncatoides*)、アクリダ・ツリタ (*Acrida turrita*)、アシルトシボン属 (*Acyrtosipon* spp.)、アクロゴニア属 (*Acrogonia* spp.)、アエネオラミア属 (*Aeneolamia* spp.)、アゴノセナ属 (*Agonoscena* spp.)、アレイロデス・プロレテラ (*Aleyrodes prolella*)、アレウロロブス・バロデンシス (*Aleurolobus barodensis*)、アレウロトリクス・フロコス (*Aleurothrixus floccosus*)、アロカリダラ・マライエンシス (*Allocaridara malayensis*)、アムラスカ属 (*Amrasca* spp.)、アヌラフィス・カルズイ (*Anuraphis cardui*)、アオニジエラ属 (*Aonidiella* spp.)、アフアノスチグマ・ピニ (*Aphanostigma pini*)、アフィス属 (*Aphis* spp.) (例えば、アピス・ゴシパイ (*Apis gossypii*))、アルボリジア・アピカリス (*Arboridia apicalis*)、アリタイニラ属 (*Arytainilla* spp.)、アスピジエラ属 (*Aspidiella* spp.)、アスピジオツス属 (*Aspidiotus* spp.)、アタヌス属 (*Atanus* spp.)、アウラコルツム・ソラニ (*Aulacorthum solani*)、ベミシア・タバシ (*Bemisia tabaci*)、ブラストプシラ・オッシデンタリス (*Blastopsylla occidentalis*)、ボレイオグリカスピス・メラレウカエ (*Boreioglycaspis melaleucae*)、ブラキカウズス・ヘリクリシ (*Brachycaudus helichrysi*)、ブラキコルス属 (*Brachycolus* spp.)、ブレビコリネ・ブラシカエ (*Brevicoryne brassicae*)、カコプシラ属 (*Cacopsylla* spp.)、カリギポナ・マルギナタ (*Calligypona marginata*)、カルネオセファラ・フルギダ (*Carneocephala fulgida*)、セラトバクナ・ラニゲラ (*Ceratovacuna lanigera*)、セルコピダエ (*Cercopidae*)、セロプラステス属 (*Ceroplastes* spp.)、カエトシホン・フラガエホリイ (*Chaetosiphon fragaefolii*)、キオナスピス・テガレンシス (*Chionaspis tegalensis*)、クロリタ・オヌキイ (*Chlorita onukii*)、コンドラクリス・ロセア (*Chondracris rosea*)、クロマフィス・ジュグランジコラ (*Chromaphis juglandicola*)、クリソムファルス・フィクス (*Chrysomphalus ficus*)、シカズリナ・ムビラ (*Cicadulina mbila*)、コッコミチルス・ハリイ (*Cocco-mytilus halli*)、コックス属 (*Coccus* spp.)、クリプトミズス・リビス (*Cryptomyzus ribis*)、クリプトネオサ属 (*Cryptoneossa* spp.)、クテナリタイナ属 (*Ctenarytaina* spp.)、ダルブルス属 (*Dalbulus* spp.)、ジアレウロデス・キテンデニ (*Dialeurodes citri*)、ジアレウロデス・シトリ (*Diaphorina citri*)、ジアスピス属 (*Diaspis* spp.)、ドロシカ属 (*Drosicha* spp.)、ジサフィス属 (*Dysaphis* spp.)、ジスミコックス属 (*Dysmicoccus* spp.)、エムポアスカ属 (*Empoasca* spp.)、エリオソマ属 (*Eriosoma* spp.)、エリトロネウラ属 (*Erythroneura* spp.)、エウカリプトリマ属 (*Eucalyptolyma* spp.)、エウフィルラ属 (*Euphyllura* spp.)、エウセリス・ビロバツス (*Euscelis bilobatus*)、フェリシア属 (*Ferrisia* spp.)、ゲオコックス・コフェアエ (*Geococcus coffeae*)、グリカスピス属 (*Gl*

10

20

30

40

50

ycaspis spp.)、ヘテロブシラ・クバナ (*Heteropsylla cubana*)、ヘテロブシラ・スピヌロサ (*Heteropsylla spinulosa*)、ホマロジスカ・コアグラタ (*Homalodisca coagulata*)、ホマロジスカ・ビトリペンニス (*Homalodisca vitripennis*)、ヒアロプテルス・アルンジニス (*Hyalopterus arundinis*)、イセリア属 (*Icerya* spp.)、イジオセルス属 (*Idiocerus* spp.)、イジオスコプス属 (*Idioscopus* spp.)、ラオデルファキス・ストリアテルス (*Laodelphax striatellus*)、レカニウム属 (*Lecanium* spp.)、レピドサフェス属 (*Lepidosaphes* spp.)、リパフィス・エリシミ (*Lipaphis erysimi*)、マクロシフム属 (*Macrosiphum* spp.)、マクロステレス・ファシフロンス (*Macrosteles fascifrons*)、マハナルバ属 (*Mahanarva* spp.)、メラナフィス・サッカリ (*Melanaphis sacchari*)、メトカルフィエラ属 (*Metcalfiella* spp.)、トポロフィウム・ジロズム (*Metopolophium dirhodum*)、モネリア・コスタリス (*Monellia costalis*)、モネリオプシス・ペカニス (*Monelliopsis pecanidis*)、ミズス属 (*Myzus* spp.)、ナソノビア・リビスニグリ (*Nasonovia ribisnigri*)、ネホテッチキス属 (*Nephotettix* spp.)、ネチゴニセラ・スペクトラ (*Nettigoniclla spectra*)、ニラパルバタ・ルゲンス (*Nilaparvata lugens*)、オンコメトピア属 (*Oncometopia* spp.)、オルテジア・プラエロンガ (*Orthezia praelonga*)、オキシヤ・キネンシス (*Oxya chinensis*)、パキブシラ属 (*Pachypsylla* spp.)、パラベミシア・ミリカエ (*Parabemisia myricae*)、パラトリオザ属 (*Paratrioza* spp.)、パルラトリア属 (*Parlatoria* spp.)、ペムフィグス属 (*Pemphigus* spp.)、ペレグリヌス・マイジス (*Peregrinus maidis*)、フェナコックス属 (*Phenacoccus* spp.)、フロエオミズス・パッセリニイ (*Phloeomyzus passerinii*)、ホロドン・フムリ (*Phorodon humuli*)、フィロキセラ属 (*Phylloxera* spp.)、ピンナスピス・アスピジストラエ (*Pinaspis aspidistrae*)、プラノコックス属 (*Planococcus* spp.)、プロソピドブシラ・フラバ (*Prosopidopsylla flava*)、プロトブルビナリア・ピリホルミス (*Protopulvinaria pyriformis*)、プセウダウラカスピス・ペンタゴナ (*Pseudaulacaspis pentagona*)、プセウドコックス属 (*Pseudococcus* spp.)、プシロプシス属 (*Psyllopsis* spp.)、プシラ属 (*Psylla* spp.)、プテロマルス属 (*Pteromalus* spp.)、ピリラ属 (*Pyrilla* spp.)、クアドラスピジオツス属 (*Quadraspidiotus* spp.)、クエサダ・ギガス (*Quesada gigas*)、ラストロコックス属 (*Rastrococcus* spp.)、ロパロシフム属 (*Rhopalosiphum* spp.)、サイセチア属 (*Saissetia* spp.)、スカホイデウス・チタヌ (*Scaphoideus titanus*)、スキザフィス・グラミヌム (*Schizaphis graminum*)、セレナスピズス・アルチクラツス (*Selenaspidus articulatus*)、ソガタ属 (*Sogata* spp.)、ソガテラ・フルシフェラ (*Sogatella furcifera*)、ソガトデス属 (*Sogatodes* spp.)、スティクトセファラ・フェスチナ (*Stictiocephala festina*)、シホニヌス・フィリレアエ (*Siphoninus phillyreae*)、テナラファラ・マライエンシス (*Tenalaphara malayensis*)、テトラゴノセフェラ属 (*Tetragonocephala* spp.)、チノカリス・カリアエホリアエ (*Tinocallis caryaefoliae*)、トマスピス属 (*Tomaspis* spp.)、トキシソプテラ属 (*Toxoptera* spp.)、トリアレ

10

20

30

40

50

ウロデス・バボラリオルム (*Trialeurodes vaporariorum*)、トリオザ属 (*Trioza* spp.)、チフロシバ属種 (*Typhlocyba* spp.)、ウナスピス属 (*Unaspis* spp.)、ビテウス・ビチホリイ (*Viteus vitifolii*)、ジギナ属 (*Zygina* spp.) 由来；

ハチ目 (*Hymenoptera*)、例えばアクロミルメキス属 (*Acromyrmex* spp.)、アタリア属 (*Athalia* spp.)、アッタ属 (*Atta* spp.)、ジプリオン属 (*Diprion* spp.)、ホプロカムパ属 (*Hoplocampa* spp.)、ラシウス属 (*Lasius* spp.)、モノモリウム・ファラオニス (*Monomorium pharaonis*)、シレキス属 (*Sirex* spp.)、ソレノプシス・インビクタ (*Solenopsis invicta*)、タピノマ属 (*Tapinoma* spp.)、ウロセルス属 (*Urocerus* spp.)、ベスパ属 (*Vespa* spp.)、キセリス属 (*Xeris* spp.) 由来である。特定の例では、昆虫は、アブラムシ (例えば、トウモロコシアブラムシ (*Rhopalosiphum maidis*) 又はモモアカアブラムシ (*Myzus persicae*)) である。

【0081】

一部の例では、昆虫は、ワラジムシ目 (*Isopoda*)、例えばアルマジリジウム・ブルガレ (*Armadillidium vulgare*)、オニスクス・アセルス (*Oniscus asellus*)、ポルセリオ・スカベル (*Porcellio scaber*) 由来である。

【0082】

一部の例では、昆虫は、シロアリ目 (*Isoptera*)、例えばコプトテルメス属 (*Coptotermes* spp.)、コルニテルメス・クムランス (*Cornitermes cumulans*)、クリプトテルメス属 (*Cryptotermes* spp.)、インシシテルメス属 (*Incisitermes* spp.)、ミクロテルメス・オベシ (*Microtermes obesi*)、オドントテルメス属 (*Odontotermes* spp.)、レチクリテルメス属 (*Reticulitermes* spp.) 由来である。

【0083】

一部の例では、昆虫は、チョウ目 (*Lepidoptera*)、例えばアクロイア・グリセラ (*Achroia grisella*)、アクロニクタ・マジョル (*Acronicta major*)、アドキソフィエス属 (*Adoxophyes* spp.)、アエジア・レウコメラス (*Aedia leucomelas*)、アグロチス属 (*Agrotis* spp.)、アラバマ属 (*Alabama* spp.)、アミエロイス・トランシテラ (*Amyelois transitella*)、アナルシア属 (*Anarsia* spp.)、アンチカルシア属 (*Anticarsia* spp.)、アルギロプロセ属 (*Argyroproce* spp.)、バラトラ・ブラシカエ (*Barathra brassicae*)、ボルボ・シンナラ (*Borbo cinnara*)、ブククラトリキス・ツルベリエラ (*Bucculatrix thurberiella*)、ブパルス・ピニアリウス (*Bupalus piniarius*)、ブッセオラ属 (*Busseola* spp.)、カコエシア属 (*Cacoecia* spp.)、カロプチリア・テイボラ (*Caloptilia theivora*)、カプア・レチクラナ (*Capua reticulana*)、カルポカプサ・ポモネラ (*Carpocapsa pomonella*)、カルポシナ・ニポネンシス (*Carposina niponensis*)、ケイマトビア・ブルマタ (*Cheimatobia brumata*)、キロ属 (*Chilo* spp.)、コリストネウラ属 (*Choristoneura* spp.)、クリシア・アムビグエラ (*Clysia ambiguella*)、クナファロセルス属 (*Cnaphalocerus* spp.)、クナファロクロシス・メジナリス (*Cnaphalocrocis medinalis*)、クネファシア属 (*Cnephasia* spp.)、コノポモルファ属 (*Conopomorpha* spp.)、コノトラケルス属 (*Conotrachelus* spp.)、コピタルシア属 (*Copitarsia* spp.)、シジ

10

20

30

40

50

ア属 (*Cydia* spp.)、ダラカ・ノクツイデス (*Dalaca noctuides*)、ジアフニア属 (*Diaphania* spp.)、ジアトラエア・サッカリス (*Diatraea saccharalis*)、エアリアス属 (*Earias* spp.)、エクジトロファ・アウランチュム (*Ecdytolopha aurantium*)、エラスモバルプス・リグノセルス (*Elasmopalpus lignosellus*)、エルダナ・サッカリナ (*Eldana saccharina*)、エフェスチア属 (*Ephestia* spp.)、エピノチア属 (*Epinotia* spp.)、エピフィアス・ポストビッタナ (*Epiphyas postvittana*)、エチエラ属 (*Etiella* spp.)、エウリア属 (*Eulia* spp.)、エウポエシリア・アムビグエラ (*Eupoecilia ambiguella*)、エウプロクテス属 (*Euproctis* spp.)、エウキソア属 (*Euxoa* spp.)、フェルチア属 (*Feltia* spp.)、ガレリア・メロネラ (*Galleria mellonella*)、グラシラリア属 (*Gracillaria* spp.)、グラホリタ属 (*Grapholitha* spp.)、ヘジレプタ属 (*Hedylepta* spp.)、ヘリコベルパ属 (*Helicoverpa* spp.)、ヘリオチス属 (*Heliothis* spp.)、ホフマンノフィラ・プセウドスプレテラ (*Hofmannophila pseudospretella*)、ホモエオソマ属 (*Homoeosoma* spp.)、ホモナ属 (*Homona* spp.)、ヒポノメウタ・パデラ (*Hyponomeuta padella*)、カキボリア・フラボファシアタ (*Kakivoria flavofasciata*)、ラフィグマ属 (*Laphygma* spp.)、ラスペイレシア・モレスタ (*Laspeyresia molesta*)、レウシノデス・オルボナリス (*Leucinodes orbonalis*)、レウコプテラ属 (*Leucoptera* spp.)、リトコレチス属 (*Lithocolletis* spp.)、リトファネ・アンテンナタ (*Lithophane antennata*)、ロベシア属 (*Lobesia* spp.)、ロキサグロチス・アルビコスタ (*Loxagrotis albicosta*)、リマントリア属 (*Lymantria* spp.)、リオネチア属 (*Lyonetia* spp.)、マラコソマ・ネウストリア (*Malacosoma neustria*)、マルカ・テスツラリス (*Maruca testulalis*)、マムストラ・ブラシカエ (*Mamstra brassicae*)、メラニチス・レダ (*Melanitis leda*)、モシス属 (*Mocis* spp.)、モノピス・オブビエラ (*Monopis obviella*)、ミチムナ・セパラタ (*Mythimna separata*)、ネマポゴン・クロアセルス (*Nemapogon cloacellus*)、ニムフラ属 (*Nymphula* spp.)、オイケチクス属 (*Oiketis* spp.)、オリア属 (*Oria* spp.)、オルタガ属 (*Orthaga* spp.)、オストリニア属 (*Ostrinia* spp.)、オウレマ・オリザエ (*Oulema oryzae*)、パノリス・フランメア (*Panolis flammea*)、パルナラ属種 (*Parnara* spp.)、ペクチノホラ属 (*Pectinophora* spp.)、ペリレウコプテラ属 (*Perileucoptera* spp.)、フトリマエア属 (*Phthorimaea* spp.)、フィロクニスチス・シトレラ (*Phyllocnistis citrella*)、フィロノリクテル属 (*Phyllonorycter* spp.)、ピエリス属 (*Pieris* spp.)、プラチノタ・スツルタナ (*Platynota stultana*)、プロジア・インテルプンクテラ (*Plodia interpunctella*)、プルシア属 (*Plusia* spp.)、プルテラ・キシロステラ (*Plutella xylostella*)、プライス属 (*Prays* spp.)、プロデニア属 (*Prodenia* spp.)、プロトパルセ属 (*Protoparce* spp.)、プセウダレチア属 (*Pseudaletia* spp.)、プセウダレチア・ユニプンクタ (*Pseudaletia unipuncta*)、プセウドプルシア・インクルデンス (*Pseudoplusia includens*)、ピラウスタ・ヌビラリス (*Pyrausta nubilalis*)、ラキプルシア・ヌ (*Rachiplusia nu*)、スコエノビウス属 (*Schoenobius* spp.)、シルポファガ属 (*S*

10

20

30

40

50

Scirpophaga spp.)、シルポファガ・インノタタ (*Scirpophaga innotata*)、スコチア・セゲツム (*Scotia segetum*)、セサミア属 (*Sesamia* spp.)、セサミア・インフェレンス (*Sesamia inferens*)、スパルガノチス属 (*Sparganothis* spp.)、スポドプテラ属 (*Spodoptera* spp.)、スポドプテラ・ブラエフィカ (*Spodoptera praefica*)、スタトモポダ属 (*Stathmopoda* spp.)、ストモプテリキス・スブセシベラ (*Stomopteryx subsecivella*)、シナンテドン属 (*Synanthedon* spp.)、テシア・ソラニボラ (*Tecia solanivora*)、テルメシア・ゲンマタリス (*Thermesia gemmatalis*)、チネア・クロアセラ (*Tinea cloacella*)、チネア・ペリオネラ (*Tinea pellionella*)、チネオラ・ビッセリエラ (*Tineola bisselliella*)、トルトリキス属 (*Tortrix* spp.)、トリコファガ・タペトゼラ (*Trichophaga tapetzella*)、トリコプルシア属 (*Trichoplusia* spp.)、トリポリザ・インセルツラス (*Tryporyza incertulas*)、ツタ・アブソルタ (*Tuta absoluta*)、ビラコラ属 (*Virachola* spp.) 由来である。

【0084】

一部の例では、昆虫は、バッタ目 (*Orthoptera*) 又はサルタトリア (*Saltatoria*)、例えばアケタ・ドメスチクス (*Acheta domesticus*)、ジクロプルス属 (*Dichroplus* spp.)、グリロタルパ属 (*Grylotalpa* spp.)、ヒエログリフス属 (*Hieroglyphus* spp.)、ロクスタ属 (*Locusta* spp.)、メラノプルス属 (*Melanoplus* spp.)、スキストセルカ・グレガリア (*Schistocerca gregaria*) 由来である。

【0085】

一部の例では、昆虫は、シラミ目 (*Phthiraptera*)、例えばダマリニア属種 (*Damalinia* spp.)、ハエマトピヌス属 (*Haematopinus* spp.)、リノグナツス属 (*Linognathus* spp.)、ペジクルス属 (*Pediculus* spp.)、プチルス・プビス (*Ptirus pubis*)、トリコデクテス属 (*Trichodectes* spp.) 由来である。

【0086】

一部の例では、昆虫は、チャタテムシ目 (*Psocoptera*)、例えばレピナツス属 (*Lepinatus* spp.)、リポセリス属 (*Liposcelis* spp.) 由来である。

【0087】

一部の例では、昆虫は、ノミ目 (*Siphonaptera*)、例えばセラトフィルス属 (*Ceratophyllus* spp.)、クテノセファリデス属 (*Ctenocephalides* spp.)、プレキス・イリタンス (*Pulex irritans*)、ツンガ・ペネトランス (*Tunga penetrans*)、キセノプシラ・ケオプシス (*Xenopsylla cheopsis*) 由来である。

【0088】

一部の例では、昆虫は、アザミウマ目 (*Thysanoptera*)、例えばアナホトリプス・オブスクルス (*Anaphothrips obscurus*)、バリオトリプス・ビホルミス (*Baliothrips biformis*)、ドレパノトリプス・レウテリ (*Drepanothrips reuteri*)、エンネオトリプス・フラベンス (*Enneothrips flavens*)、フランクリニエラ属 (*Frankliniella* spp.)、ヘリオトリプス属 (*Heliothrips* spp.)、ヘルシノトリプス・フェモラリス (*Hercinothrips femoralis*)、リピホロトリプス・クルエンタツス (*Rhipiphorothrips cruentatus*)、シルトトリプス属 (*Scirtothrips* spp.)、タエニノトリ

10

20

30

40

50

プス・カルダモミ (*Taeniothrips cardamomi*)、トリプス属 (*Thrips spp.*) 由来である。

【0089】

一部の例では、昆虫は、シミ目 (*Zygentoma*) (=シミ目 (*Thysanura*))、例えばクテナレピスマ属 (*Ctenolepisma spp.*)、レピスマ・サッカリナ (*Lepisma saccharina*)、レスピモデス・インクイリヌス (*Lepismodes inquilinus*)、テルモビア・ドメスチカ (*Thermobia domestica*) 由来である。

【0090】

一部の例では、昆虫は、コムカデ綱 (*Symphyla*)、例えばスクチゲレラ属 (*Scutigerebella spp.*) 由来である。

【0091】

一部の例では、昆虫は、シクラメンホコリダニ (*Phytonemus pallidus*)、チャノホコリダニ (*Polyphagotarsonemus latus*)、スジブトホコリダニ (*Tarsonemus bilobatus*) 等のホコリダニ (*Tarsonemid*)；ハクサイダニ (*Penthaleus erythrocephalus*)、ムギダニ (*Penthaleus major*) 等のユーボジド (*Eupodid*) ダニ；イネハダニ (*Oligonychus shinkajii*)、ミカンハダニ (*Panonychus citri*)、クワオオハダニ (*Panonychus mori*)、リンゴハダニ (*Panonychus ulmi*)、カンザワハダニ (*Tetranychus kanzawai*)、ナミハダニ (*Tetranychus urticae*) 等のハダニ；チャノナガサビダニ (*Acapphylla theavagrans*)、チューリップサビダニ (*Aceria tulipae*)、トマトサビダニ (*Aculops lycopersici*)、ミカンサビダニ (*Aculops pelekassii*)、リンゴサビダニ (*Aculus schlechtendali*)、ニセナシサビダニ (*Eriophyes chibaensis*)、シトラスラストマイト (*Phyllocoptruta oleivora*) 等のフシダニ；ロビンネダニ (*Rhizoglyphus robini*)、ケナガコナダニ (*Tyrophagus putrescentiae*)、ハウレンソウケナガコナダニ (*Tyrophagus similis*) 等のコナダニ；ミツバチヘギイタダニ (*Varroa jacobsoni*)、ミツバチヘギイタダニ (*Varroa destructor*) 等の蜂幼虫 (*Bee brood*) ダニ；オウシマダニ (*Boophilus microplus*)、クリイロコイタマダニ (*Rhipicephalus sanguineus*)、フタトゲチマダニ (*Haemaphysalis longicornis*)、カタダニ (*Haemaphysalis flava*)、ツリガネチマダニ (*Haemaphysalis campulata*)、ヤマトマダニ (*Ixodes ovatus*)、シュルツエマダニ (*Ixodes persulcatus*)、キララマダニ属 (*Amblyomma spp.*)、カクマダニ属 (*Dermacentor spp.*) 等のマダニ (*Ixodides*)；イヌツメダニ (*Cheyletiella yasguri*)、ネコツメダニ (*Cheyletiella blakei*) 等のツメダニ科 (*Cheyletidae*)；イヌニキビダニ (*Demodex canis*)、ネコニキビダニ (*Demodex cati*) 等のニキビダニ科 (*Demodicidae*)；ヒツジキュウセンダニ (*Psoroptes ovis*) 等のキュウセンダニ科 (*Psoroptidae*)；ヒゼンダニ (*Sarcoptes scabiei*)、ネコヒゼンダニ (*Notoedres cati*)、クネミドコプテス属 (*Knemidocoptes spp.*) 等のスカルコプチダニ科 (*Scarcoptidae*) を含むが、これらに限定されないダニである。

【0092】

本明細書に提供される方法及び組成物は、動物に疾病を引き起こし得る病原体の媒介物と考えられるあらゆる昆虫宿主について使用することができる。例えば、昆虫宿主として、限定されないが、以下のものが挙げられる：カ、ハチ、スズメバチ、小昆虫、シラミ、

10

20

30

40

50

ツェツェバエ、ノミ及びアリなどのカメムシ目 (Hemiptera) 及び一部のハチ目 (Hymenoptera) 及びハエ目 (Diptera)、並びにマダニ及びダニなどのクモ綱 (Arachnida) のメンバーに見出される、突き刺して吸う口器を有するもの：ダニ (Acarina) 目、綱若しくは科 (マダニ及びダニ)、例えば、ヒメダニ科 (Argasidae)、サシダニ科 (Dermanyssidae)、マダニ科 (Ixodidae)、マメヒョウダニ科 (Psoroptidae) 又はヒゼンダニ科 (Sarcoptidae) の代表的なもの、並びにアンブリオンマ属 (Amblyomma spp.)、アノセントン属 (Anocenton spp.)、アルガス属 (Argas spp.)、ボオフィルス属 (Boophilus spp.)、ツメダニ属 (Cheyletiella spp.)、コリオプテス属 (Chorioptes spp.)、ニキビダニ属 (Demodex spp.)、デルマセントル属 (Dermacentor spp.)、デンマニスス属 (Dermanyssus spp.)、チマダニ属 (Haemophysalis spp.)、ヒアロンマ属 (Hyalomma spp.)、イキシデス属 (Ixodes spp.)、リンキサカルス属 (Lynxacarus spp.)、トゲダニ亜目 (Mesostigmata spp.)、ノドエドネス属 (Notoednes spp.)、オルニトドロス属 (Ornithodoros spp.)、オルニトニスス属 (Ornithonyssus spp.)、オトビウス属 (Otobius spp.)、オトデクテス属 (otodectes spp.)、ニューモニスス属 (Pneumonyssus spp.)、ソロプテス属 (Psoroptes spp.)、リビセファルス属 (Rhipicephalus spp.)、サンコプテス属 (Sancoptes spp.)、又はトロムビクラ属 (Trombicula spp.) の代表的な種；シラミ亜目 (Anoplura) (吸い、刺すシラミ)、例えば、ボビコーラ属 (Bovicola spp.)、ケモノジラミ属 (Haematopinus spp.)、ケモノホソジラミ属 (Linognathus spp.)、ニワトリハジラミ属 (Menopon spp.)、ペディキュルス属 (Pediculus spp.)、ペムフィグス属 (Pemphigus spp.)、ネアブラムシ属 (Phylloxera spp.)、又はソレノポテス属 (Solenopotes spp.) の代表的な種；ハエ目 (Diptera) (ハエ)、例えば、アエデス属 (Aedes spp.)、アノフェレス属 (Anopheles spp.)、カリホラ属 (Calliphora spp.)、クリソミア属 (Chrysomyia spp.)、クリソプス属 (Chrysops spp.)、コクリオミア属 (Cochliomyia spp.)、Cw/ex 属 (Cw/ex spp.)、クリコイデス属 (Culicoides spp.)、クテレブラ属 (Cuterebra spp.)、デルマトビア属 (Dermatobia spp.)、ガステロフィルス属 (Gastrophilus spp.)、グロッシナ属 (Glossina spp.)、ハエマトビア属 (Haematobia spp.)、ハエマトポタ属 (Haematopota spp.)、ヒッポボスカ属 (Hippobosca spp.)、ヒポデルマ属 (Hypoderma spp.)、ルシリア属 (Lucilia spp.)、リペロシア属 (Lyperosia spp.)、メロファガス属 (Melophagus spp.)、オエストルス属 (Oestrus spp.)、ファエニシア属 (Phaenicia spp.)、フレボトムス属 (Phlebotomus spp.)、ホルミア属 (Phormia spp.)、サルコファガ属 (Sarcophaga spp.)、シムリウム属 (Simulium spp.)、ストモキス属 (Stomoxys spp.)、タバヌス属 (Tabanus spp.)、タニア属 (Tannia spp.) 又は Zzpu/α 属 (Zzpu/alpha spp.) の代表的な種；ハジラミ目 (Mallophaga) (刺すシラミ)、例えば、ダマリア属 (Damalina spp.)、フェリコラ属 (Felicola spp.)、ヘテロドクス属 (Heterodoxus spp.) 若しくはトリコデクテス属 (Trichodectes spp.) の代表的な種；又はノミ目 (Siphonaptera) (翅のない昆虫)、例えば、セラトフィルス属 (Ceratophyllus spp.)、ネズミノミ属 (Xenopsylla spp.) の代表的な種；トコジラ

10

20

30

40

50

ミ科 (Cimicidae) (真性昆虫)、例えば、シメクス種 (Cimex spp.)、トリトミナエ種 (Tritominae spp.)、ロディニウス種 (Rhodinius spp.)、又はトリアトマ種 (Triatoma spp.) の代表的な種を挙げることができる。一部の例では、昆虫は、ハエ目 (Diptera) 由来の吸血昆虫 (例えば、長角亜目 (Nematocera)、例えば、カ科 (Colicidae)) である。一部の例では、昆虫は、カ科 (Culicinae)、コレトリナ科 (Corethrinae)、ヌカカ科 (Ceratopogonidae)、又はブユ科 (Simuliidae) 由来である。一部の例では、昆虫は、イエカ属 (Culex spp.)、テオバルディア属 (Theobaldia spp.)、ヤブカ属 (Aedes spp.)、ハマダラカ属 (Anopheles spp.)、ヤブカ属 (Aedes spp.)、ホルシポニア属 (Forciponiyia spp.)、ヌカカ属 (Culicoides spp.)、又はヘレア属 (Helea spp.) 由来である。

【0093】

ii. 軟体動物宿主

一部の例では、本明細書に記載される宿主は、軟体動物門 (Mollusca) に属する生物であり得る。一部の例では、軟体動物は、病害虫、例えば、農業病害虫とみなされる。例えば、本方法及び組成物は、農業及び園芸において陸生腹足綱 (Gastropods) (例えば、ナメクジ及びカタツムリ) を防除する上で好適である。これらは、農業及び園芸作物において主に多食性害虫として発生する全ての陸生ナメクジ及びカタツムリを含む。

【0094】

一部の例では、軟体動物は、アフリカマイマイ科 (Achatinidae)、ノハラナメクジ科 (Agriolimacidae)、リンゴガイ科 (Ampullariidae)、オオコウラナメクジ科 (Arionidae)、オナジマイマイ科 (Bradybaenidae)、マイマイ科 (Helicidae)、ミズツボ科 (Hydromiidae)、モノアラガイ科 (Lymnaeidae)、ニワコウラナメクジ科 (Milacidae)、コウラナメクジ科 (Urocyclidae)、又はアシヒダナメクジ科 (Veronicellidae) に属する。

【0095】

例えば、一部の例では、軟体動物は、アフリカマイマイ属 (Achatina spp.)、アグリロリマックス属 (Agriolimax spp.)、アリオン属 (Arion spp.) (例えば、A. アター (A. ater)、A. サーカムクリプツス (A. circumscriptus)、A. ジスチンクツス (A. distinctus)、A. ファシアツス (A. fasciatus)、A. ホルテンシス (A. hortensis)、A. インテルメディウス (A. intermedius)、A. ルーフス (A. rufus)、A. サブフスカス (A. subfuscus)、A. シルバチカス (A. silvaticus)、A. ルシタニカス (A. lusitanicus))、ビオンファラリア属 (Biomphalaria spp.)、ブラジバエナ属 (Bradybaena spp.) (例えば、B. フルチクム (B. fruticum))、ブリヌス属 (Bulinus spp.)、カンタレウス属 (Cantareus spp.) (例えば、C. アスペルセス (C. asperses))、セパエア属 (Cepaea spp.) (例えば、C. ホルテンシス (C. hortensis)、C. ネモラリス (C. nemoralis))、セルヌエラ属 (Cernuella spp.)、コクリセラ属 (Cochlicella spp.)、コクロディナ属 (Cochlodina spp.) (例えば、C. ラミナタ (C. laminata))、デロセラス属 (Deroceas spp.) (例えば、D. アグレスティス (D. agrestis)、D. エムピリコルム (D. empiricorum)、D. リーブ (D. laeve)、D. パノルニマツム (D. panornimatum)、D. レチキュラツム (D. reticulatum))、ディスカス属 (Discus spp.) (例えば、D. ロツンダツス (D. rotundatus))、ユーオムファリア属 (Euomphalia s

10

20

30

40

50

pp.)、ガルバ属 (*Galba* spp.) (例えば、*G. tr*
unculata)、ヘリセラ属 (*Helicella* spp.) (例えば、*H. イ*
タラ (*H. itala*)、*H. オブビア* (*H. obvia*)、ヘリシゴナ属 (*Helicigona* spp.) (例えば、*H. アルブストルム* (*H. arbustorum*)
)、ヘリコジカス属 (*Helicodiscus* spp.)、ヘリクス属 (*Helix* spp.) (例えば、*H. アペルタ* (*H. aperta*)、*H. アスペルサ* (*H. aspersa*)、*H. ポマチア* (*H. pomatia*)、リマクス属 (*Limax* spp.) (例えば、*L. シネレオニガー* (*L. cinereoniger*)、*L. フラバス* (*L. flavus*)、*L. マルギナツス* (*L. marginatus*)、*L. マキシムス* (*L. maximus*)、*L. テネルス* (*L. tenellus*)、リムナエア属 (*Lymnaea* spp.) (例えば、*L. スタグリナス* (*L. stagnalis*)、ミラクス属 (*Milax* spp.) (例えば、*M. ガガテス* (*M. gagates*)、*M. マルギナツス* (*M. marginatus*)、*M. ソウェルビイ* (*M. sowerbyi*)、*M. ブタペンテンシス* (*M. budapestensis*)、オンコメラニア属 (*Oncomelania* spp.)、オペアス属 (*Opeas* spp.)、オキシロマ属 (*Oxyloma* spp.) (例えば、*O. フェイフェリ* (*O. pfeifferi*)、ポマセア属 (*Pomacea* spp.) (例えば、*P. カナリキュラタ* (*P. canaliculata*)、スクシネア属 (*Succinea* spp.)、タンドニア属 (*Tandonia* spp.) (例えば、*T. ブダペンテンシス* (*T. budapestensis*)、*T. ソウェルビイ* (*T. sowerbyi*)、テーバ属 (*Theba* spp.)、バロニア属 (*Vallonia* spp.)、及びゾニトイデス属 (*Zonitoides* spp.) (例えば、*Z. ニチダス* (*Z. nitidus*)) である。

【0096】

iii. 線虫宿主

本明細書に記載される組成物又は方法のいずれかの宿主は、また、線形動物門 (*Nematoda*) に属するあらゆる生物であってもよい。一部の例では、線虫は、病害虫、例えば、農業病害虫とみなされる。例えば、線虫は、寄生性であってもよいし、或いは植物若しくは真菌に対して (例えば、ハセンチュウ目 (*Aphelenchida*)、メロイドギネ目 (*Meloidogyne*)、チレンクス目 (*Tylenchida*) などの種) 又はヒト及び動物に対して (例えば、センモウチュウ目 (*Trichinellida*)、チレンクス目 (*Tylenchida*)、桿線虫目 (*Rhabditina*) 及び旋尾線虫目 (*Spirurida*) の種) 健康障害を引き起こし得る。

【0097】

植物線虫は、植物寄生線虫及び土壌中に生息する線虫を包含する。植物寄生線虫としては、限定はされないが、キシフェネマ属 (*Xiphinema* spp.)、ロンギドルス属 (*Longidorus* spp.)、及びトリコドルス属 (*Trichodorus* spp.) などの外部寄生虫；チレンクス属 (*Tylenchulus* spp.) などの半寄生虫；プラチレンクス属 (*Pratylenchus* spp.)、ラドホルス属 (*Radopholus* spp.)、及びスクテロネマ属 (*Scutellonema* spp.) などの移動性内部寄生虫；ヘテロデラ属 (*Heterodera* spp.)、グロボデラ属 (*Globodera* spp.)、及びメロイドギネ属 (*Meloidogyne* spp.) などの固着性寄生虫、並びにジチレンクス属 (*Ditylenchus* spp.)、アフエレンコイデス属 (*Aphelenchoides* spp.)、及びヒルシュマニエラ属 (*Hirshmaniella* spp.) などの茎葉内部寄生虫が挙げられる。特に有害な根寄生土壌線虫は、ヘテロデラ属 (*Heterodera*) 若しくはグロボデラ属 (*Globodera*) のシスト形成センチュウ、及び／又はメロイドギネ属 (*Meloidogyne*) のネコブセンチュウなどである。これらの属の有害な種は、例えば、メロイドギネ・インゴグニタ (*Meloidogyne incognita*)、ヘテロデラ・グリシネス (*Heterodera glycines*) (

ダイズシストセンチュウ)、グロボデラ・パリダ (*Globodera pallida*) 及びグロボデラ・ロストキエンシス (*Globodera rostochiensis*) (ジャガイモシストセンチュウ) であり、これらの種は、本明細書に記載される調節薬剤を用いて効果的に防除される。しかし、本明細書に記載される調節薬剤の使用は、これらの属又は種に何ら限定されるものではなく、同様に他の線虫にも拡張される。

【0098】

植物線虫として、限定はされないが、例えば、以下のものが挙げられる：アグレンクス・アグリコラ (*Aglenchus agricola*)、アンギナ・トリチシ (*Anguina tritici*)、アフエレンコイデス・アラキディス (*Aphelenchoides arachidis*)、アフエレンコイデス・フラガリア (*Aphelenchoides fragaria*) 及び莖葉内部寄生虫であるアフエレンコイデス属 (*Aphelenchoides* spp.) 全般、ベロノライムス・グラシリス (*Belonolaimus gracilis*)、ベロノライムス・ロンギカウダタス (*Belonolaimus longicaudatus*)、ベロノライムス・ノルトニ (*Belonolaimus nortonii*)、ブルサフェレンクス・ココフィルス (*Bursaphelenchus cocophilus*)、ブルサフェレンクス・エラムス (*Bursaphelenchus eremus*)、ブルサフェレンクス・キシロフィルス (*Bursaphelenchus xylophilus*)、ブルサフェレンクス・ムクロナツス (*Bursaphelenchus mucronatus*)、及びブルサフェレンクス属 (*Bursaphelenchus* spp.) 全般、カコパウルス・ペステイス (*Cacopaurus pestis*)、クリコネメラ・カルバタ (*Criconemella curvata*)、クリコネメラ・オノエンシス (*Criconemella onoensis*)、クリコネメラ・オルナタ (*Criconemella ornata*)、クリコネメラ・ルシウム (*Criconemella rusium*)、クリコネメラ・キセノプラクス (*Criconemella xenoplax*) (=メソクリコネマ・キセノプラクス (*Mesocriconema xenoplax*)) 及びクリコネメラ属 (*Criconemella* spp.) 全般、クリコネモイデス・フェルニエ (*Criconemoides femiae*)、クリコネモイデス・オノエン (*Criconemoides onoense*)、クリコネモイデス・オルナタム (*Criconemoides ornatum*) 及びクリコネモイデス属 (*Criconemoides* spp.) 全般、ジチレンクス・デストラクター (*Ditylenchus destructor*)、ジチレンクス・ジプサシ (*Ditylenchus dipsaci*)、ジチレンクス・ミセリオファガス (*Ditylenchus myceliophagus*) 及び莖葉内部寄生虫であるジチレンクス属 (*Ditylenchus* spp.) 全般、ドリコドルス・ヘテロセファルス (*Dolichodorus heterocephalus*)、グロボデラ・パリダ (*Globodera pallida*) (=ヘテロデラ・パリダ (*Heterodera pallida*))、グロボデラ・ロストキエンシス (*Globodera rostochiensis*) (ジャガイモシストセンチュウ)、グロボデラ・ソラナセルム (*Globodera solanacearum*)、グロボデラ・タバカム (*Globodera tabacum*)、グロボデラ・バージニア (*Globodera virginia*) 及び固着性シスト形成寄生虫であるグロボデラ属 (*Globodera* spp.) 全般、ヘリコチレンクス・ジゴニクス (*Helicotylenchus digonicus*)、ヘリコチレンクス・ジヒステラ (*Helicotylenchus dihystrera*)、ヘリコチレンクス・エリスリン (*Helicotylenchus erythrineri*)、ヘリコチレンクス・マルチシンクタス (*Helicotylenchus multicinctus*)、ヘリコチレンクス・ナヌス (*Helicotylenchus nannus*)、ヘリコチレンクス・シュードロブスタス (*Helicotylenchus pseudo robustus*) 及びヘリコチレンクス属 (*Helicotylenchus* spp.) 全般、ヘミクリコネモイデス (*Hemicriconemoides*)、ヘミシクリ

10

20

30

40

50

オフォラ・アレナリア (*Hemicycliophora arenaria*)、ヘミシ
 クリオフォラ・ヌダタ (*Hemicycliophora nudata*)、ヘミシクリ
 オフォラ・パルバナ (*Hemicycliophora parvana*)、ヘテロデラ
 ・アベナエ (*Heterodera avenae*)、ヘテロデラ・クルシフェラエ (*H*
eterodera cruciferae)、ヘテロデラ・グリシネス (*Hetero*
dera glycines) (ダイズシストセンチュウ)、ヘテロデラ・オリゼー (*H*
eterodera oryzae)、ヘテロデラ・シャクチ (*Heterodera s*
chachtii)、ヘテロデラ・ゼアエ (*Heterodera zeae*) 及び固着
 性シスト形成寄生虫であるヘテロデラ属 (*Heterodera spp.*) 全般、ヒル
 シュマニエラ・グラシリス (*Hirschmaniella gracilis*)、ヒル
 シュマニエラ・オリゼー (*Hirschmaniella oryzae*)、ヒルシュマ
 ニエラ・スピニカウダタ (*Hirschmaniella spinicaudata*)
 及び茎葉内部寄生虫であるヒルシュマニエラ属 (*Hirschmaniella spp*
.) 全般、ホプロライムス・エジプト (*Hoplolaimus aegyptii*)、
 ホプロライムス・カリフォルニクス (*Hoplolaimus californicus*
)、ホプロライムス・コロンブス (*Hoplolaimus columbus*)、ホプ
 ロライムス・ガレアタス (*Hoplolaimus galeatus*)、ホプロライム
 ス・インディクス (*Hoplolaimus indicus*)、ホプロライムス・マグ
 ニスチルス (*Hoplolaimus magnistylus*)、ホプロライムス・パ
 ラロブスタス (*Hoplolaimus pararobustus*)、ロンギドルス・
 アフリカヌス (*Longidorus africanus*)、ロンギドルス・ブレビア
 ヌラタス (*Longidorus breviannulatus*)、ロンギドルス・エ
 ロンガタス (*Longidorus elongatus*)、ロンギドルス・ラエビカピ
 タタス (*Longidorus laevicapitatus*)、ロンギドルス・ビネ
 アコラ (*Longidorus vineacola*) 及び外部寄生虫であるロンギドル
 ス属 (*Longidorus spp.*) 全般、メロイドギネ・アクロネア (*Meloi*
dogyne acronea)、メロイドギネ・アフリカナ (*Meloidogyne*
africana)、メロイドギネ・アレナリア (*Meloidogyne arena*
ria)、メロイドギネ・アレナリア・タメシ (*Meloidogyne arenar*
ia thamesi)、メロイドギネ・アルチエラ (*Meloidogyne arti*
ella)、メロイドギネ・チトウッドィ (*Meloidogyne chitwood*
i)、メロイドギネ・コフェイコラ (*Meloidogyne coffeicola*)
 、メロイドギネ・エチオピカ (*Meloidogyne ethiopica*)、メロイ
 ドギネ・エクシグア (*Meloidogyne exigua*)、メロイドギネ・ファラ
 クス (*Meloidogyne fallax*)、メロイドギネ・グラミニコラ (*Mel*
oidogyne graminicola)、メロイドギネ・グラミニス (*Meloi*
dogyne graminis)、メロイドギネ・ハブラ (*Meloidogyne h*
apla)、メロイドギネ・インコグニタ (*Meloidogyne incognit*
a)、メロイドギネ・インコグニタ・アクリタ (*Meloidogyne incogn*
ita acrita)、メロイドギネ・ジャバニカ (*Meloidogyne java*
nica)、メロイドギネ・キクイエンシス (*Meloidogyne kikuyen*
sis)、メロイドギネ・マイナー (*Meloidogyne minor*)、メロイド
 ギネ・ナアシ (*Meloidogyne naasi*)、メロイドギネ・パラナエンシス
 (*Meloidogyne paranaensis*)、メロイドギネ・タメシ (*Mel*
oidogyne thamesi) 及び固着性寄生虫であるメロイドギネ属 (*Melo*
idogyne spp.) 全般、メロイネマ属 (*Meloinema spp.*)、ナコ
 ブス・アベランズ (*Nacobbus aberrans*)、ネオチレンクス・ビギシ (*Neotylenchus vigissi*)、パラフェレンクス・シュードパリエチヌ
 ス (*Paraphelenchus pseudoparietinus*)、パラトリコ
 ドルス・アリウス (*Paratrichodorus allius*)、パラトリコドル

10

20

30

40

50

ス・ロバタス (*Paratrichodorus lobatus*)、パラトリコドルス・マイナー (*Paratrichodorus minor*)、パラトリコドルス・ナヌス (*Paratrichodorus nanus*)、パラトリコドルス・ポロサス (*Paratrichodorus porosus*)、パラトリコドルス・テレス (*Paratrichodorus teres*) 及びパラトリコドルス属 (*Paratrichodorus* spp.) 全般、パラチレンクス・ハマタス (*Paratylenchus hamatus*)、パラチレンクス・ミヌタス (*Paratylenchus minutus*)、パラチレンクス・プロジェクトス (*Paratylenchus projectus*) 及びパラチレンクス属 (*Paratylenchus* spp.) 全般、プラチレンクス・アギリス (*Pratylenchus agilis*)、プラチレンクス・アレニ (*Pratylenchus allenii*)、プラチレンクス・アンジヌス (*Pratylenchus andinus*)、プラチレンクス・ブラキユルス (*Pratylenchus brachyurus*)、プラチレンクス・セラリス (*Pratylenchus cerealis*)、プラチレンクス・コフェアエ (*Pratylenchus coffeae*)、プラチレンクス・クレナタス (*Pratylenchus crenatus*)、プラチレンクス・デラトレイ (*Pratylenchus delattreii*)、プラチレンクス・ギイビカウダタス (*Pratylenchus gibbicaudatus*)、プラチレンクス・ゴーデイ (*Pratylenchus goodeyi*)、プラチレンクス・ハマタス (*Pratylenchus hamatus*)、プラチレンクス・ヘキシシサス (*Pratylenchus hexincisus*)、プラチレンクス・ローシ (*Pratylenchus loosii*)、プラチレンクス・ネグレクトス (*Pratylenchus neglectus*)、プラチレンクス・ペネトランス (*Pratylenchus penetrans*)、プラチレンクス・プラテンシス (*Pratylenchus pratensis*)、プラチレンクス・スクリブネリ (*Pratylenchus scribnerii*)、プラチレンクス・テレス (*Pratylenchus teres*)、プラチレンクス・トルネイ (*Pratylenchus thornei*)、プラチレンクス・バルヌス (*Pratylenchus vulnus*)、プラチレンクス・ゼアエ (*Pratylenchus zeae*) 及び移動性内部寄生虫であるプラチレンクス属 (*Pratylenchus* spp.) 全般、シュードハレンクス・ミヌタス (*Pseudohalenchus minutus*)、シレンクス・マグニデンス (*Psilenchus magnidens*)、シレンクス・ツミダス (*Psilenchus tumidus*)、プンクトデラ・チャコエンシス (*Punctodera chalconensis*)、クイニスルシウス・アクタス (*Quinisulcius acutus*)、ラドフォルス・シトロフィルス (*Radopholus citrophilus*)、ラドフォルス・シミリス (*Radopholus similis*)、移動性内部寄生虫であるラドフォルス属 (*Radopholus* spp.) 全般、ロチレンクルス・ボレアリス (*Rotylenchulus borealis*)、ロチレンクルス・パルブス (*Rotylenchulus parvus*)、ロチレンクルス・レニフォルミス (*Rotylenchulus reniformis*) 及びロチレンクルス属 (*Rotylenchulus* spp.) 全般、ロチレンクス・ラウレンチヌス (*Rotylenchus laurentinus*)、ロチレンクス・マクロドラタス (*Rotylenchus macrodoratus*)、ロチレンクス・ロブスタス (*Rotylenchus robustus*)、ロチレンクス・ユニフォルミス (*Rotylenchus uniformis*) 及びロチレンクス属 (*Rotylenchus* spp.) 全般、スクテロネマ・ブラキユルム (*Scutellonema brachyurum*)、スクテロネマ・ブラディス (*Scutellonema bradys*)、スクテロネマ・クラスリカウダタム (*Scutellonema clathricaudatum*) 及び移動性内部寄生虫であるスクテロネマ属 (*Scutellonema* spp.) 全般、スバンギナ・ラジシオラ (*Subanguina radiciola*)、テチレンクス・ニコ

10

20

30

40

50

チアナエ (*Tetylelenchus nicotianae*)、トリコドルス・シリンドリクス (*Trichodorus cylindricus*)、トリコドルス・マイナー (*Trichodorus minor*)、トリコドルス・プリミチブス (*Trichodorus primitivus*)、トリコドルス・プロキシムス (*Trichodorus proximus*)、トリコドルス・シミリス (*Trichodorus similis*)、トリコドルス・スパルサス (*Trichodorus sparsus*) 及び外部寄生虫であるトリコドルス属 (*Trichodorus* spp.) 全般、チレンコリンクス・アグリ (*Tylenchorhynchus agri*)、チレンコリンクス・ブラシカエ (*Tylenchorhynchus brassicae*)、チレンコリンクス・クラルス (*Tylenchorhynchus clarus*)、チレンコリンクス・クレイトニ (*Tylenchorhynchus claytoni*)、チレンコリンクス・ジギタタス (*Tylenchorhynchus digitatus*)、チレンコリンクス・エブリエンシス (*Tylenchorhynchus ebriensis*)、チレンコリンクス・マキシムス (*Tylenchorhynchus maximus*)、チレンコリンクス・ヌダス (*Tylenchorhynchus nudus*)、チレンコリンクス・ブルガリス (*Tylenchorhynchus vulgaris*) 及びチレンコリンクス属 (*Tylenchorhynchus* spp.) 全般、チレンクルス・セミペネトランス (*Tylenchulus semipenetrans*) 及び半寄生虫であるチレンクルス属 (*Tylenchulus* spp.) 全般、キシフィネマ・アメリカナム (*Xiphinema americanum*)、キシフィネマ・ブレビコレ (*Xiphinema brevicolle*)、キシフィネマ・ジモルフィカウダツム (*Xiphinema dimorphicaudatum*)、キシフィネマ・インデックス (*Xiphinema index*) 及び外部寄生虫であるキシフィネマ属 (*Xiphinema* spp.) 全般。

【0099】

線虫宿主の他の例としては、ワセンチュウ科 (*Criconematidae*)、ベロノライムス科 (*Belonolaimidae*)、ホプロアイミダエ科 (*Hoploaimidae*)、ヘテロデラ科 (*Heteroderidae*)、ロンギドルス科 (*Longidoridae*)、プラティレンクス科 (*Pratylenchidae*)、トリコドルス科 (*Trichodoridae*)、又はアシナシトカゲ科 (*Anguinidae*) に属する種が挙げられる。

【0100】

iv. 有益宿主

一部の例では、本明細書に記載される宿主は、有益昆虫、軟体動物、又は線虫（例えば、花粉媒介者、病害虫の天然競合者、又はヒトにとって有用な物質の生産者）である。用語「有益昆虫」、「有益軟体動物」又は「有益線虫」は、本明細書で使用されるとき、ヒト、動物、生態系、並びに／又は環境に（例えば、経済的及び／若しくは生態学的）利益をもたらす昆虫、軟体動物、又は線虫を指す。例えば、宿主は、商業生産物の生産に関与する無脊椎動物（例えば、昆虫、軟体動物、又は線虫）であってよく、限定はされないが、食品（例えば、ミツバチ、例えば、アピス・メリフェラ (*Apis mellifera*) からの蜂蜜）、材料（例えば、ボンビックス・モリ (*Bombyx mori*) からの絹など）、及び／又は物質（例えば、ラッキフェル・ラッカ (*Laccifer lacca*) からのラック又はコチニールカイガラムシ (*Dactylopius coccus*) 及びタマバチ科 (*Cynipidae*) からの色素）の生産のために育てられる無脊椎動物が挙げられる。加えて、宿主には、作物の受粉、種子の拡散、又は病害虫防除に役立つ無脊椎動物（例えば、昆虫、軟体動物、又は線虫）を含め、農業適用に使用される無脊椎動物（例えば、昆虫、軟体動物、又は線虫）が含まれ得る。更に、一部の例では、宿主は、廃棄物処理及び／又は有機リサイクルに有用な無脊椎動物（例えば、昆虫、軟体動物、又は線虫）（例えば、ミミズ、シロアリ、又は双翅目 (*Diptera*) の幼虫）であってもよい。

【0101】

一部の例では、宿主は有用な産物（例えば、蜂蜜、絹、蜜ろう、又はシェラック）を生産する。一部の例では、宿主はハチである。例示的なハチの属としては、限定はされないが、ミツバチ属（*Apis*）、マルハナバチ属（*Bombus*）、ハリナシバチ属（*Trigona*）、及びツツハナバチ属（*Osmia*）が挙げられる。一部の例では、ハチはミツバチ（例えば、ミツバチ属（*Apis*）に属する昆虫）である。一部の例では、ミツバチは、アピス・メリフェラ（*Apis mellifera*）（ヨーロッパ又はセイウミツバチ）、アピス・ケラナ（*Apis cerana*）（アジア、トウヨウ、又はヒマラヤミツバチ）、アピス・ドルサタ（*Apis dorsata*）（「オオ（giant）」ミツバチ）、アピス・フロレア（*Apis florea*）（「ヒメ（red dwarf）」ミツバチ）、アピス・アンドレニフォルミス（*Apis andreniformis*）（「クロコ（black dwarf）」ミツバチ）、又はアピス・ニグロシンクタ（*Apis nigrocincta*）の種である。一部の例では、宿主はカイコである。カイコはカイコガ科（*Bombycidae*）又はヤマモリガ科（*Saturniidae*）の種であってもよい。一部の例では、カイコはボンビックス・モリ（*Bombyx mori*）である。一部の例では、宿主はラック虫である。ラック虫はラックカイガラムシ科（*Kerriidae*）の種であってもよい。一部の例では、ラック虫はケリア・ラッカ（*Kerria lacca*）である。

10

【0102】

一部の例では、宿主は植物の受粉に役立つ（例えば、ハチ、甲虫、スズメバチ、ハエ、チョウ、又はガ）。一部の例において、植物の受粉に役立つ宿主は甲虫である。一部の例では、甲虫は、タマムシ科（*Buprestidae*）、ジョウカイボン科（*Cantharidae*）、カミキリムシ科（*Cerambycidae*）、ハムシ科（*Chrysomelidae*）、カッコウムシ科（*Cleridae*）、テントウムシ科（*Coccinellidae*）、コメツキムシ科（*Elateridae*）、ナガクチキムシ科（*Melandryidae*）、ツチハンミョウ科（*Meloidae*）、ジョウカイモドキ科（*Melyridae*）、ハナノミ科（*Mordellidae*）、ケシクスイムシ科（*Nitidulidae*）、カミキリモドキ科（*Oedemeridae*）、コガネムシ科（*Scarabaeidae*）、又はハネカクシ科（*Staphyllinidae*）の種である。一部の例では、植物の受粉に役立つ宿主はチョウ又はガ（例えば、鱗翅目（*Lepidoptera*））である。一部の例では、チョウ又はガは、シャクガ科（*Geometridae*）、セセリチョウ科（*Hesperiidae*）、シジミチョウ科（*Lycaenidae*）、ヤガ科（*Noctuidae*）、タテハチョウ科（*Nymphalidae*）、アゲハチョウ科（*Papilionidae*）、シロチョウ科（*Pieridae*）、又はスズメガ科（*Sphingidae*）の種である。一部の例では、植物の受粉に役立つ宿主は、ハエ（例えば、双翅目（*Diptera*））である。一部の例では、ハエは、ハナバエ科（*Anthomyiidae*）、ケバエ科（*Bibionidae*）、ツリアブ科（*Bombyliidae*）、クロバエ科（*Calliphoridae*）、タマバエ科（*Cecidomyiidae*）、ヌカカ科（*Certopogonidae*）、ユスリカ科（*Chironomidae*）、メバエ科（*Conopidae*）、カ科（*Culicidae*）、アシナガバエ科（*Dolichopodidae*）、オドリバエ科（*Empididae*）、ミギワバエ科（*Ephydriidae*）、ヤリバエ科（*Lonchopteridae*）、イエバエ科（*Muscidae*）、キノコバエ科（*Mycetophilidae*）、ノミバエ科（*Phoridae*）、ブユ科（*Simuliidae*）、ミズアブ科（*Stratiomyidae*）、又はハナアブ科（*Syrphidae*）である。一部の例では、受粉に役立つ宿主は、アリ（例えば、アリ科（*Formicidae*））、ハバチ（例えば、ハバチ科（*Tenthredinidae*））、又はスズメバチ（例えば、アナバチ科（*Sphecidae*）又はスズメバチ科（*Vespidae*））である。一部の例では、植物の受粉に役立つ宿主はハチである。一部の例では、ハチは、ヒメハナバチ科（*Andrenidae*）、ミツバチ科（*Ap*

20

30

40

50

idae)、ムカシハナバチ科 (Colletidae)、コハナバチ科 (Halictidae)、又はハキリバチ科 (Megachilidae) である。

【0103】

一部の例では、宿主は病虫害防除に役立つ。一部の例では、病虫害防除に役立つ宿主は捕食性線虫である。具体的な例では、線虫はヘテロラブディティス属 (Heterorhabditis) 又はスタイナーネマ属 (Steinernema) の種である。一部の例では、病虫害防除に役立つ宿主は昆虫である。例えば、病虫害防除に役立つ宿主は、コマユバチ科 (Braconidae) (例えば捕食寄生性スズメバチ)、オサムシ科 (Carabidae) (例えば、オサムシ)、クサカゲロウ科 (Chrysopidae) (例えば、ミドリクサカゲロウ)、テントウムシ科 (Coccinellidae) (例えば、テントウムシ)、ヒメカゲロウ科 (Hemerobiidae) (例えば、ヒメカゲロウ)、ヒメバチ科 (Ichneumonidae) (例えば、ヒメバチ)、ホタル科 (Lampyridae) (例えば、ホタル)、カマキリ科 (Mantidae) (例えば、カマキリ)、ウスバカゲロウ科 (Myrmeleontidae) (例えば、ウスバカゲロウ (antlion))、トンボ目 (Odonata) (例えば、トンボ及びイトトンボ)、又はハナアブ科 (Syrphidae) (例えば、ハナアブ) に属する種であってもよい。他の例では、病虫害防除に役立つ宿主は、病虫害 (例えば農業病虫害) と考えられる昆虫と競合する昆虫である。例えば、チチュウカイミバエのケラティティス・カピタタ (Ceratitis capitata) は、世界中でよく見られる果実及び野菜の病虫害である。C. カピタタ (C. capitata) を防除する1つの方法は、不妊化した雄の昆虫を環境中に放すことにより、野生の雄と競合して雌と交尾させることである。このような例では、宿主は、典型的に病虫害と考えられる種に属する不妊化した雄であってもよい。

【0104】

一部の例では、宿主は、廃棄物又は有機材料の分解に役立つ。一部の例において、廃棄物又は有機材料の分解に役立つ宿主は、甲虫目 (Coleoptera) 又は双翅目 (Diptera) に属する。一部の例では、双翅目 (Diptera) に属する宿主は、クロバエ科 (Calliphoridae)、セダカショウジョウバエ科 (Curtonotidae)、ショウジョウバエ科 (Drosophilidae)、ヒメイエバエ科 (Fanniidae)、トゲハネバエ科 (Heleomyzidae)、クロコバエ科 (Milichiidae)、イエバエ科 (Muscidae)、ノミバエ科 (Phoridae)、チョウバエ科 (Psychodidae)、ニセケバエ科 (Scatopsidae)、ツヤホソバエ科 (Sepsidae)、ハヤトビバエ科 (Sphaeroceridae)、ミズアブ科 (Stratiomyidae)、ハナアブ科 (Syrphidae)、ミバエ科 (Tephritidae)、又はハネフリバエ科 (Ulidiidae) である。一部の例では、甲虫目 (Coleoptera) に属する宿主は、オサムシ科 (Carabidae)、ガムシ科 (Hydrophilidae)、ヒメハナムシ科 (Phalacaridae)、ムクゲキノコムシ科 (Ptiliidae)、又はハネカクシ科 (Staphylinidae) である。

【0105】

一部の例では、宿主は、摂食可能な生産物 (例えば、食品又は飼料) のために飼育され得る昆虫又はクモ形類動物であってもよい。例えば、宿主は、ガ、チョウ、ハエ、コウロギ、クモ、又は甲虫であってもよい。一部の例では、宿主は、シラミ目 (Anoplura)、クモ目 (Araneae)、ゴキブリ目 (Blattodea)、コウチュウ目 (Coleoptera)、ハサミムシ目 (Dermaptera)、網翅目 (Dictyoptera)、コムシ目 (Diplura)、ハエ目 (Diptera)、シロアリモドキ目 (Embioptera)、カゲロウ目 (Ephemeroptera)、ガロアムシ目 (Grylloblattodea)、カメムシ目 (Hemiptera)、ヨコバイ亜目 (Homoptera)、ハチ目 (Hymenoptera)、シロアリ目 (Isoptera)、チョウ目 (Lepidoptera)、カマキリ目 (Mantodea)

)、シリアゲムシ目 (*Mecoptera*)、アミメカゲロウ目 (*Neuroptera*)、トンボ目 (*Odonata*)、バッタ目 (*Orthoptera*)、ナナフシ目 (*Phasmida*)、カワゲラ目 (*Plecoptera*)、カマアシムシ目 (*Protura*)、チャタテムシ目 (*Psocoptera*)、ノミ目 (*Siphonaptera*)、シラミ目 (*Siphunculata*)、シミ目 (*Thysanura*)、ネジレバネ目 (*Strepsiptera*)、アザミウマ目 (*Thysanoptera*)、トビケラ目 (*Trichoptera*)、又はジュズヒゲムシ目 (*Zoraptera*)である。

【0106】

一部の例では、宿主は、アメリカミズアブ (ハーメチア・イルセンス (*Hermetia illucens*))、イエバエ、ガイマイゴミムシダマシ、ツムギアリ、カイコ (ボンビックス・モリ (*Bombyx mori*))、バッタ、ショウリョウバッタ (アクリダ・シネレア (*Acrida cinerea*))、チャイロコメゴミムシダマシ (クラリアス・グラリエピンズ (*Clarias gariepinns*))、ガ (アナフェ・インフラクタ (*Anaphe infracta*) 若しくはボンビックス・モリ (*Bombyx mori*))、スポデプテラ・リトラリス (*Spodoptera littoralis*)、イエコオロギ、シロアリ、ヤシオオオサゾウムシ (リコフォラス・フェルギネンス (*Rhynchophorus ferrugineus*))、タガメ (レトセルス・インディカス (*Lethocerus indicus*))、水生甲虫、シロアリ (マクロテルメス・スブヒアイヌス (*Macrotermes subhyalinus*))、ジンサンシバンムシ (ステゴビウム・パニセウム (*Stegobium panicum*))、イムブラシア・ベリナ (*Imbrasia belina*)、リンコフォラス・フェニシス (*Rhynchophorus phoenicis*)、オリクテス・リノセロス (*Oryctes rhinoceros*)、マクロテルメス・ベリコサス (*Macrotermes bellicosus*)、ルスボリア・ディフェレンス (*Ruspolia differens*)、オリクテス・モノセロス (*Oryctes Monoceros*)、又はオイコフィラ・サマラジナ (*Oecophylla smaragdina*) である。

【0107】

v. 宿主適応度の低下

本明細書に提供される方法及び組成物を用いて、本明細書に記載の宿主無脊椎動物 (例えば、昆虫、軟体動物、又は線虫) のいずれかの適応度を低下させることができる。適応度の低下は、宿主と、宿主に常在する微生物との相互作用を媒介する宿主経路の改変によって起こり、ここで、改変は、調節薬剤の投与の結果であり、宿主に有害な作用を及ぼす。

【0108】

一部の例では、宿主適応度の低下は、調節薬剤の投与がもたらす結果としての宿主の生理の増悪又は悪化 (例えば、健康又は生存の低下) として現れ得る。一部の例では、生物の適応度は、限定はされないが、繁殖率、生殖能力、寿命、生存能力、移動性、繁殖力、宿主成長、体重、代謝率又は活動又は生存を含めた1つ以上のパラメータにより、調節薬剤を投与されていない宿主生物との比較で測定され得る。例えば、本明細書に提供される方法又は組成物は、宿主の全般的な健康を低下させるか又は宿主の全生存を低下させるのに有効であり得る。一部の例では、宿主の生存の減少は、参照レベル (例えば、調節薬剤の投与を受けない宿主で見られるレベル) と比べて約2%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%又は100%超大きい。一部の例では、本方法及び組成物は、調節薬剤を投与されていない宿主生物と比較して宿主の繁殖 (例えば、繁殖率、生殖能力) を減少させるのに有効である。一部の例では、本方法及び組成物は、移動性、体重、寿命、生殖能力又は代謝率などの他の生理学的パラメータを参照レベル (例えば、調節薬剤の投与を受けない宿主で見られるレベル) と比べて約2%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%又は100%超減少させるのに有効である。

【0109】

一部の例では、宿主適応度の低下は、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較した宿主内の1つ以上の栄養素（例えば、ビタミン、炭水化物、アミノ酸又はポリペプチド）の産生の低下として現れ得る。一部の例では、本明細書に提供される方法又は組成物は、宿主における栄養素（例えば、ビタミン、炭水化物、アミノ酸又はポリペプチド）の生産量を参照レベル（例えば、調節薬剤の投与を受けない宿主で見られるレベル）と比べて約2%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%又は100%超低下させるのに有効であり得る。一部の例では、本明細書に提供される方法又は組成物は、宿主の1つ以上の微生物（例えば、内部共生体）による栄養素の生産を低下させることにより、宿主の栄養素を低下させることができる。

10

【0110】

一部の例では、宿主適応度の減少は、調節薬剤を投与されていない宿主生物と比較した、農薬用薬剤（例えば、表11に挙げられる農薬）に対する宿主の感度の上昇及び／又は農薬用薬剤（例えば、表11に挙げられる農薬）に対する宿主の抵抗性の減少として現れ得る。一部の例では、本明細書に提供される方法又は組成物は、農薬用薬剤（例えば、表11に挙げられる農薬）に対する宿主の感度を参照レベル（例えば、調節薬剤の投与を受けない宿主で見られるレベル）と比べて約2%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%又は100%超上昇させるのに有効であり得る。農薬用薬剤は、殺虫性薬剤を含めた、当該技術分野において公知の任意の農薬用薬剤であり得る。一部の例では、本明細書に提供される方法又は組成物は、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較して、農薬を代謝するか、又は利用可能な基質に分解する宿主の能力を低下させることにより、農薬（例えば、表11に挙げる農薬）に対する宿主の感受性を高めることができる。

20

【0111】

一部の例では、宿主適応度の低下は、調節薬剤を投与されていない宿主生物と比較した、アレロケミカル薬剤に対する宿主の感度の増加及び／又はアレロケミカル薬剤に対する宿主の抵抗性の低下として現れ得る。一部の例では、本明細書に提供される方法又は組成物は、アレロケミカル薬剤に対する宿主の抵抗性を参照レベル（例えば、調節薬剤の投与を受けない宿主で見られるレベル）と比べて約2%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%又は100%超低下させるのに有効であり得る。一部の例では、アレロケミカル薬剤は、カフェイン、大豆シスタチン、フェニトロチオン、モノテルペン類、ジテルペン酸又はフェノール化合物（例えば、タンニン、フラボノイド）である。一部の例では、本明細書に提供される方法又は組成物は、調節薬剤を投与されていない宿主生物と比較して、宿主のアレロケミカル薬剤を利用可能な基質に代謝又は分解する能力を低下させることにより、アレロケミカル薬剤に対する宿主の感度を増加させることができる。

30

【0112】

一部の例では、本明細書に提供される方法又は組成物は、調節薬剤を投与されていない宿主生物と比較して、寄生虫又は病原体（例えば、真菌性、細菌性又はウイルス性病原体又は寄生虫）に対する宿主の抵抗性を低下させるのに有効であり得る。一部の例では、本明細書に提供される方法又は組成物は、病原体又は寄生虫（例えば、真菌性、細菌性又はウイルス性病原体；又は寄生ダニ）に対する宿主の抵抗性を参照レベル（例えば、調節薬剤の投与を受けない宿主で見られるレベル）と比べて約2%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%又は100%超低下させるのに有効であり得る。

40

【0113】

一部の例では、本明細書に提供される方法又は組成物は、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較して、植物病原体（例えば、植物ウイルス（例えば、TYLCV）又は植物細菌（例えば、アグロバクテリウム属種（*Agrobacterium spp*）））を担持又は伝播する宿主の能力を低下させるのに有効であり得る。例えば、本明細書に提

50

供される方法又は組成物は、植物病原体（例えば、植物ウイルス（例えば、TYLCV）又は植物細菌（例えば、アグロバクテリウム属種（*Agrobacterium spp*）））を担持又は伝播する宿主の能力を、参照レベル（例えば、調節薬剤が投与されていない宿主に見られるレベル）と比べて約2%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、又はそれを超えて低下させるのに有効であり得る。

【0114】

一部の例では、宿主適応度の減少は、調節薬剤を投与されていない宿主生物と比較した、ある種の環境因子に対する耐性（例えば、高温又は低温耐性）の低下、ある種の生息場所で生き延びる能力の低下又はある種の食餌を持続させる能力の低下など、他の適応上の不利点として現れ得る。一部の例では、本明細書に提供される方法又は組成物は、本明細書に記載される任意の複数の方法で宿主適応度を減少させるのに有効であり得る。更に、調節薬剤は、任意の数の宿主綱、目、科、属又は種（例えば、1つの宿主種、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、200、250、500又はそれを超える宿主種）における宿主適応度を減少させることができる。一部の例では、調節薬剤は、単一の宿主綱、目、科、属又は種に作用する。

【0115】

宿主適応度は、当該技術分野における任意の標準方法を用いて判定され得る。一部の例では、宿主適応度は、個々の宿主を評価することにより判定され得る。或いは、宿主適応度は、宿主個体群を評価することにより判定され得る。例えば、宿主適応度の減少は、他の昆虫との競合の成功の減少として現れ、それが宿主個体群サイズの減少につながり得る。

【0116】

vi. 宿主適応度の増加

本明細書に提供される方法及び組成物を用いて、本明細書に記載の宿主のいずれかの適応度を増加させることができる。適応度の増加は、宿主と、宿主に常在する微生物との相互作用を媒介する宿主経路の改変によって起こり、ここで、この改変は、調節薬剤の投与の結果であり、宿主に有益な作用を及ぼす。

【0117】

一部の例では、宿主適応度の増加は、調節薬剤の投与の結果として、宿主の生理機能の改善（例えば、健康又は生存の改善）として現れ得る。一部の例では、宿主の適応度は、限定はされないが、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較した、繁殖率、寿命、移動性、繁殖力、体重、代謝率若しくは活動、又は生存を含む1つ以上のパラメータによって測定することができる。例えば、本明細書に提供される方法及び組成物は、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較して、宿主の健康全般を改善する、又は宿主の生存全般を改善するのに有効であり得る。一部の例では、宿主の生存の改善は、参照レベル（例えば、調節薬剤を受けていない宿主に見られるレベル）と比べて約2%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、又は100%超高い。一部の例では、本明細書に提供される方法及び組成物は、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較して、宿主の繁殖（例えば、繁殖率）を増加するのに有効である。一部の例では、本方法及び組成物は、移動性、体重、寿命、繁殖力、又は代謝率などの他の生理的パラメータを、参照レベル（例えば、調節薬剤を受けていない宿主に見られるレベル）と比べて約2%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、又は100%超増加させるのに有効である。

【0118】

一部の例では、宿主適応度の増加は、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較して、前記宿主により生産される産物の生産の増加として現れ得る。一部の例では、本明細書に提供される方法又は組成物は、本明細書に記載の通り、宿主により生産される産物（例えば、蜂蜜、蜜蝋、蜂パン、プロポリス、絹、又はラック）の生産を、参照レベル（例えば、調節薬剤を受けていない宿主に見られるレベル）と比べて約2%、5%、10%、2

10

20

30

40

50

0 %、30 %、40 %、50 %、60 %、70 %、80 %、90 %、100 %、又は100 %超増加させるのに有効であり得る。

【0119】

一部の例では、宿主適応度の増加は、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較して、宿主により実施される所望の活動（例えば、授粉、病害虫の捕食、種子拡散、又は廃棄物若しくは有機材料の分解）の頻度又は有効性の増加として現れ得る。一部の例では、本明細書に提供される方法又は組成物は、宿主により実施される所望の活動（例えば、授粉、病害虫の捕食、種子の伝播、又は廃棄物若しくは有機材料の分解）の頻度又は有効性を、参照レベル（例えば、調節薬剤を受けていない宿主に見られるレベル）と比べて約2 %、5 %、10 %、20 %、30 %、40 %、50 %、60 %、70 %、80 %、90 %、100 %、又は100 %超増加させるのに有効であり得る。

10

【0120】

一部の例では、宿主適応度の増加は、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較して、宿主における1種以上の栄養素の生産（例えば、ビタミン、炭水化物、アミノ酸、又はポリペプチド）の増加として現れ得る。一部の例では、本明細書に提供される方法又は組成物は、宿主における栄養素の生産（例えば、ビタミン、炭水化物、アミノ酸、又はポリペプチド）を、参照レベル（例えば、調節薬剤を受けていない宿主に見られるレベル）と比べて約2 %、5 %、10 %、20 %、30 %、40 %、50 %、60 %、70 %、80 %、90 %、100 %、又は100 %超増加させるのに有効であり得る。一部の例では、本明細書に提供される方法又は組成物は、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較して、宿主中の1種以上の微生物（例えば、内部共生体）による栄養素の生産を増加することにより、宿主における栄養素を増加することができる。

20

【0121】

一部の例では、宿主適応度の増加は、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較して、農薬用薬剤（例えば、表11に挙げる農薬）に対する宿主の感受性の低下及び／又は農薬用薬剤（例えば、表11に挙げる農薬）に対する宿主の抵抗性の増加として現れ得る。一部の例では、本明細書に提供される方法又は組成物は、農薬用薬剤（例えば、表11に挙げる農薬）に対する宿主の感受性を、参照レベル（例えば、調節薬剤を受けていない宿主に見られるレベル）と比べて約2 %、5 %、10 %、20 %、30 %、40 %、50 %、60 %、70 %、80 %、90 %、100 %、又は100 %超低下させるのに有効であり得る。農薬用薬剤は、殺虫剤を含め、当該技術分野で公知の任意の農薬用薬剤であってよい。一部の例では、農薬用薬剤は、ネオニコチノイドである。一部の例では、本明細書に提供される方法又は組成物は、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較して、農薬用薬剤を代謝するか、又は利用可能な基質に分解する宿主の能力を高めることにより、農薬用薬剤（例えば、表11に挙げる農薬）に対する宿主の感受性を低下させることができる。

30

【0122】

一部の例では、宿主適応度の増加は、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較して、アレロケミカル薬剤に対する宿主の感受性の低下及び／又はアレロケミカル薬剤に対する宿主の抵抗性の増加として現れ得る。一部の例では、本明細書に提供される方法又は組成物は、アレロケミカル薬剤に対する宿主の抵抗性を、参照レベル（例えば、調節薬剤を受けていない宿主に見られるレベル）と比べて約2 %、5 %、10 %、20 %、30 %、40 %、50 %、60 %、70 %、80 %、90 %、100 %、又は100 %超増加させるのに有効であり得る。一部の例では、アレロケミカル薬剤は、カフェイン、ダイズシスタチン、フェニトロチオン、モノテルペン、ジテルペン酸、又はフェノール化合物（例えば、タンニン、フラボノイド）である。一部の例では、本明細書に提供される方法又は組成物は、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較して、アレロケミカル薬剤を代謝するか、又は利用可能な基質に分解する宿主の能力を高めることにより、アレロケミカル薬剤に対する宿主の感受性を低下させることができる。

40

【0123】

50

一部の例では、本明細書に提供される方法又は組成物は、調節薬剤を投与されていない宿主生物と比較して、寄生虫又は病原体（例えば、真菌性、細菌性、若しくはウイルス性病原体；又は寄生ダニ（例えば、ミツバチにおけるミツバチヘギイタダニ（*Varroa destructor*）））に対する宿主の抵抗性を増加させるのに有効であり得る。一部の例では、本明細書に提供される方法又は組成物は、病原体又は寄生虫（例えば、真菌性、細菌性、若しくはウイルス性病原体；又は寄生ダニ（例えば、ミツバチにおけるミツバチヘギイタダニ（*Varroa destructor*）））に対する宿主の抵抗性を参照レベル（例えば、調節薬剤の投与を受けない宿主で見られるレベル）と比べて約2%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、又は100%超増加させるのに有効であり得る。

10

【0124】

一部の例では、宿主適応度の増加は、調節薬剤を投与されていない宿主生物と比較した、ある種の環境因子に対する耐性（例えば、高温若しくは低温耐性）の向上、ある種の生息場所で生き延びる能力の向上、又はある種の食餌を持続させる能力の向上（例えば、ダイズ対トウモロコシを代謝する能力の向上）など、他の適応上の利点として現れ得る。一部の例では、本明細書に提供される方法又は組成物は、本明細書に記載される任意の複数の方法で宿主適応度を増加させるのに有効であり得る。更に、調節薬剤は、任意の数の宿主綱、目、科、属、又は種（例えば、1つの宿主種、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、200、250、500、又はそれを超える宿主種）における宿主適応度を増加させることができる。一部の例では、調節薬剤は単一の宿主綱、目、科、属、又は種に作用する。

20

【0125】

宿主適応度は、当該技術分野における任意の標準方法を用いて判定することができる。一部の例では、宿主適応度は、個々の宿主を評価することにより判定することができる。或いは、宿主適応度は、宿主個体群を評価することにより判定されてもよい。例えば、宿主適応度の増加は、他の昆虫との競合の成功の増加として現れ、それにより宿主個体群サイズの増加につながり得る。

【0126】

v i i . 農業における宿主

30

本明細書に提供される調節薬剤は、植物の成長を促進するのに有用であり得る。例えば、本明細書に記載の調節薬剤は、有害な無脊椎動物（例えば、昆虫、軟体動物、又は線虫）の適応度を低下させることにより、典型的に宿主によって害を受ける植物の成長を促進するのに有効であり得る。或いは、本明細書に記載の調節薬剤は、有益な無脊椎動物（例えば、昆虫、軟体動物、又は線虫）の適応度を増加させることにより、前記宿主から利益を受ける植物の成長を促進するのに有効であり得る。調節薬剤は、本明細書に記載される任意の製剤及び送達方法を用いて、宿主適応度の調節（例えば、増加又は低下）に有効な量で有効な期間にわたって植物に送達することにより、植物に利益をもたらす、例えば作物の成長を増大させ、作物収量を増大させ、害虫寄生を低下させ、且つ／又は植物に対する損傷を低下させることができる。これは、植物への調節薬剤の直接適用を含み得るか又は含み得ない。例えば、一次宿主生息場所が植物成長の領域と異なる場合、調節薬剤は、一次宿主生息場所、関心対照の植物又はその両方の組み合わせのいずれかに適用され得る。

40

【0127】

一部の例では、植物は、穀草類、穀類、マメ科植物、果実若しくは野菜作物等の農業食用作物又は非食用作物、例えば草、顕花植物、綿花、干し草、大麻であり得る。本明細書に記載する組成物は、穀草類、穀類、マメ科植物、果実、野菜又は他の作物の収穫前又は後の任意の時間に作物に送達することができる。作物収量は、多くの場合に作物植物に用いられる測定量であり、通常、1ヘクタール当たりのメートルトン（又は1ヘクタール当たりのキログラム）で測定される。作物収量は、植物からの実際の種子産生とも称することができる。一部の例では、調節薬剤は、参照レベル（例えば、調節薬剤が投与されてい

50

ない作物)と比較した作物収量の約2%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%又はそれを超える増大(例えば、1ヘクタール当たりの穀草類、穀類、マメ科植物、果実若しくは野菜のメートルトンの増大及び／又は種子産生の増大)に有効であり得る。

【0128】

一部の例では、植物(例えば、作物)は、害虫寄生(例えば、昆虫、軟体動物、又は線虫)による)の発生の危険性を有し得るか、又は害虫寄生が既に発生し得る。本明細書に記載する方法及び組成物を使用して、植物に寄生する無脊椎動物(例えば、昆虫、軟体動物、又は線虫)の適応度を低下させることにより、そのような作物における害虫寄生を低下又は防止することができる。一部の例では、調節薬剤は、参照レベル(例えば、調節薬剤が投与されていない作物)と比較して約2%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%又はそれを超えて作物寄生を低下させる(例えば、寄生された植物の数を低下させる、害虫の個体群の大きさを減少させる、植物に対する損傷を低下させる)のに有効であり得る。他の例では、調節薬剤は、参照レベル(例えば、調節薬剤が投与されていない作物)と比較して作物寄生の可能性を約2%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%又はそれを超えて防止又は低下させるのに有効であり得る。

【0129】

体細胞胚、花粉、葉、莖、カルス、走根、マイクロチューバー又は苗条を含むが、これらに限定されない任意の好適な植物組織は、本明細書に記載する組成物及び方法から利益を得ることができる。本明細書に記載する方法及び組成物は、アカシア、アルファルファ、リンゴ、アンズ、アーティチョーク、トネリコ、アスパラガス、アボカド、バナナ、オオムギ、マメ、テンサイ、カバノキ、ブナ、ブラックベリー、ブルーベリー、ブロッコリー、芽キャベツ、キャベツ、キャノーラ、カンタループ、ニンジン、キャッサバ、カリフラワー、ヒマラヤスギ、穀草類、セロリ、クリ、サクランボ、ハクサイ、柑橘類、クレメンタイン、クローバ、コーヒー、トウモロコシ、綿花、針葉樹、ササゲ、キュウリ、イトスギ、ナス、ニレ、エンダイブ、ユーカリ属、ソラマメ、ウイキョウ、飼料作物、イチジク、モミ、果実及び堅果樹、ゼラニウム、ブドウ、ブドウ果実、ピーナッツ、ホオズキ、ドクニンジン、大麻、ヒッコリー、ケール、キウイ果実、コールラビ、カラマツ、レタス、ニラ、レモン、ライム、ハリエンジュ、マツ、ハウライシダ、トウモロコシ(maize)、マンゴー、カエデ、メロン、アワ、キノコ、カラシナ、ナッツ、オーク、カラスムギ、オクラ、タマネギ、オレンジ、観賞植物又は花又は木、パパイア、ヤシ、パセリ、パースニップ、エンドウマメ、モモ、ピーナッツ、セイヨウナシ、ピート、コショウ、カキ、キマメ、マツ、パイナップル、オオバコ、プラム、ザクロ、ジャガイモ、カボチャ、ラディッキオ、ダイコン、ナタネ、キイチゴ、米、ライムギ、モロコシ、サルヤナギ、大豆、ホウレンソウ、エゾマツ、カボチャ、イチゴ、サトウダイコン、サトウキビ、ヒマワリ、サツマイモ、トウモロコシ(sweet corn)、タンジェリン、茶、タバコ、トマト、木、ライコムギ、芝草、カブ、つる植物、クルミ、オランダガラシ、スイカ、小麦、ヤム、イチイ又はズッキーニ等の被子植物又は裸子植物の処理を含むことができる。

【0130】

v i i i . 飼料／食品生産における宿主

所望の生命段階に達したら、宿主を採集し、必要に応じて、摂食可能な製品の製造に使用するために加工することができる。一部の例では、採集された無脊椎動物宿主(例えば、昆虫、軟体動物、又は線虫)は、摂食可能な製品として、完全な形態(例えば、完全な、未加工の宿主)で流通させてもよい。一部の例では、採集された完全な宿主を摂食可能な製品として加工(例えば、粉碎)して、流通させる。或いは、摂食可能な製品の製造に使用するために、宿主の1つ以上の部分(例えば、1つ以上の虫体部分又は1つ以上の物質)を宿主から抽出してもよい。

【0131】

摂食可能な生産物は、ヒト又は動物の消費(例えば、摂食)のために安全な任意の生産

物であってよい。一部の例では、宿主は、動物用飼料の製造に使用され得る。一部の例では、動物は、家畜又は農場動物（例えば、ニワトリ、乳牛、ウマ、若しくはブタ）である。一部の例では、動物は、トリ、爬虫類、両生類、哺乳動物、又は魚類である。一部の例では、宿主は、通常の動物飼料に代わる生産物の製造に使用され得る。或いは、宿主は、通常の動物飼料を補充する生産物の製造に使用され得る。更に、宿主は、ヒト用の食品、食品添加剤、又は食品成分の製造にも使用され得る。一部の例では、ヒト用の栄養補給剤（例えば、タンパク質補給剤）の製造に宿主を使用する。

【0132】

宿主は、野生の宿主又は飼育された宿主であってよい。加えて、宿主は、本明細書に記載の組成物を送達又は適用する時点で、任意の発生段階であってよい。更に、宿主は、摂食可能な製品の製造に使用するための宿主を採集する時点で、任意の発生段階であってよい。一部の例では、宿主は、採集、使用、加工、又は製造の時点で、幼虫、蛹、又は成虫である。調節薬剤の送達及び採集ステップは、同時又は異なる時点のいずれに行ってもよい。

【0133】

一部の例では、宿主の種は、その天然の栄養プロフィールに基づいて選択する。一部の例では、昆虫の栄養プロフィールを改善するために調節薬剤を使用し、その際、調節薬剤は、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較して、栄養素の生産増加をもたらす。栄養素の例として、ビタミン、炭水化物、アミノ酸、ポリペプチド、又は脂肪酸が挙げられる。一部の例では、生産の増加は、宿主に常在する微生物による栄養素の生産増加に起因し得る。或いは、生産の増加は、宿主昆虫自体による栄養素の生産増加によって起こり得るものであり、ここで、宿主は、調節薬剤の送達又は投与後に適応度を増加している。

【0134】

一部の例では、最終加工ステップにおいて、その栄養プロフィールが、食品又は飼料製品の総栄養価に補足的な利益を賦与する第2の昆虫種と、第1の昆虫種を組み合わせる。例えば、高タンパク質プロフィールを含む種を高オメガ3／6脂肪酸プロフィールを含む種と組み合わせることができる。このようにして、ヒト又は様々な種の動物のニーズに合うように、宿主タンパク質ミールをカスタムブレンドすることができる。

【0135】

i x . 疾病伝播における宿主昆虫

本明細書に記載される調節薬剤は、ヒト及び／又は動物病原体を担持する宿主昆虫の適応度を低下させることによって、ベクター媒介性疾病の拡散を低減するのに有効であり得る。調節薬剤は、本明細書に記載される製剤及び送達方法のいずれかを用いて、例えば、ベクター間の垂直若しくは水平伝播を低減する、且つ／又はヒト及び／若しくは動物への疾病の伝播を低減するのに有効な量及び持続期間で、宿主に送達することができる。例えば、本明細書に記載される調節薬剤は、ベクター媒介性病原体の垂直若しくは水平伝播を、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較して、約2%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、又はそれを超えて低減し得る。別の例として、本明細書に記載の調節薬剤は、宿主ベクターのベクター能力を、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較して、約2%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、又はそれを超えて低減し得る。

【0136】

本明細書に提供される方法及び組成物により制御され得る疾病の非限定的な例としては、トガウイルス科 (Togaviridae) ウイルスに起因する疾病（例えば、チングニア熱、ロスリバー熱、マヤロ熱、オニオンニオン熱、シンドビス熱、東部ウマ脳脊髄炎、西部ウマ脳脊髄炎、ベネズエラウマ脳脊髄炎、若しくはバーマフォレスト (Barma forest) ; フラビウイルス科 (Flaviviridae) ウイルスに起因する疾病（例えば、デング熱、黄熱、キャサナル森林病、オムスク出血熱、日本脳炎、マレー溪谷脳炎、ロシオ (Rocio) 、セントルイス脳炎、ウエストナイル脳炎、若しくは

10

20

30

40

50

ダニ媒介性脳炎)；ブニヤウイルス科 (*Bunyaviridae*) ウイルスに起因する疾病 (例えば、サシチョウバエ (*Sandfly*) 熱、リットバレー熱、ラクロス脳炎、カリフォルニア脳炎、クリミア・コンゴ出血熱、若しくは口嚢熱)；ラブドウイルス科 (*Rhabdoviridae*) ウイルスに起因する疾病 (例えば、水泡性口炎)；オルビウイルス科 (*Orbiviridae*) ウイルスに起因する疾病 (例えば、ブルータング (*Bluetongue*))；細菌に起因する疾病 (例えば、疫病、野兎病、Q 熱、ロッキーマン山紅斑熱、ネズミチフス、ボタン熱、クイーンズランドマダニチフス、シベリアマダニチフス、ツツガムシ病、回帰熱、若しくはライム病)；又は原虫に起因する疾病 (例えば、マラリア、アフリカトリパノソーマ症、ナガナ病、シャーガス病、リーシュマニア症、ピロプラズマ病、バンクロフト・フィラリア症、若しくはブルギア・フィラリア症) が挙げられる。

10

【0137】

II. 標的微生物

本明細書に記載される調節薬剤の標的となる微生物には、限定はされないが、本明細書に記載される任意の細菌及び／又は真菌を含め、無脊椎動物宿主 (例えば、昆虫、軟体動物、又は線虫) 内又は宿主上に常在する任意の微生物が含まれ得る。宿主に常在する微生物には、例えば、共生微生物 (例えば、宿主に有益な栄養素又は酵素を提供する内部共生微生物)、片利共生微生物、病原性微生物又は寄生性微生物が含まれ得る。内部共生微生物は、一次内部共生体又は二次内部共生体であり得る。共生微生物 (例えば、細菌又は真菌) は、宿主の偏性共生体又は宿主の通性共生体であり得る。宿主に常在する微生物は、垂直伝播、水平伝播又は複数の伝播起源を含め、任意の伝播様式によって獲得され得る。

20

【0138】

i. 細菌

本明細書に提供される方法及び組成物において標的となり得る例示的な細菌としては、限定はされないが、以下：ゼノラブダス属種 (*Xenorhabdus* spp)、フォトラブダス属種 (*Photorhabdus* spp)、カンディダトウス属種 (*Candidatus* spp)、ブフネラ属種 (*Buchnera* spp)、ブラッタバクテリウム属種 (*Blattabacterium* spp)、バウマンニア属種 (*Baumania* spp)、ウィグルスウォーシア属種 (*Wigglesworthia* spp)、ボルバキア属種 (*Wolbachia* spp)、リケッチア属種 (*Rickettsia* spp)、オリエンティア属種 (*Orientia* spp)、ソーダリス属種 (*Sodalis* spp)、バークホルデルシア属種 (*Burkholderia* spp)、カプリアビダス属種 (*Cupriavidus* spp)、フランキア属種 (*Frankia* spp)、シノリゾビウム属種 (*Snirrhizobium* spp)、ストレプトコッカス属種 (*Streptococcus* spp)、ウォリネラ属種 (*Wolinella* spp)、キシレラ属種 (*Xylella* spp) (例えば、キシレラ・ファスティディオサ (*Xylella fastidiosa*))、エルウィニア属種 (*Erwinia* spp)、アグロバクテリウム属種 (*Agrobacterium* spp)、バチルス属種 (*Bacillus* spp)、コメンサリバクター属種 (*Commensalibacter* spp、(例えば、コメンサリバクター・インテスティニ (*Commensalibacter intestini*))、パエニバチルス属種 (*Paenibacillus* spp)、ストレプトミセス属種 (*Streptomyces* spp)、ミクロコッカス属種 (*Micrococcus* spp)、コリネバクテリウム属種 (*Corynebacterium* spp)、アセトバクター属種 (*Acetobacter* spp) (例えば、アセトバクター・ポモルム (*Acetobacter pomorum*))、シアノバクテリア属種 (*Cyanobacteria* spp)、サルモネラ属種 (*Salmonella* spp)、ロドコッカス属種 (*Rhodococcus* spp)、シュードモナス属種 (*Pseudomonas* spp) (例えば、シュードモナス・フルバ (*Pseudomonas fulva*) 若しくはシュードモナス・マンデリイ (*Pseudomonas mandelii*))、シュードモナス・ミグ

30

40

50

レ (*Pseudomonas migulae*)、パントエア属種 (*Pantoea* spp) (例えば、パントエア・バガンズ (*Pantoea vagans*))、ラクトバチルス属種 (*Lactobacillus* spp) (例えば、ラクトバチルス・プラタルム (*Lactobacillus plantarum*))、リソバクター属種 (*Lysobacter* spp.)、ヘルバスピリラム属種 (*Herbaspirillum* spp.)、エンテロコッカス属種 (*Enterococcus* spp)、グルコノバクター属種 (*Gluconobacter* spp.) (例えば、グルコノバクター・モルビフェル (*Gluconobacter morbifer*)、アルカリゲネス属種 (*Alcaligenes* spp)、ハミルトネラ属種 (*Hamiltonella* spp.)、クレブシエラ属種 (*Klebsiella* spp)、パエニバチルス属種 (*Paenibacillus* spp)、セラチア属種 (*Serratia* spp.) (例えば、セラチア・マルセッセンス (*Serratia marcescens*)、ラーネラ属種 (*Rahnella* spp.) (例えば、ラーネラ・アクアティリス (*Rahnella aquatilis*))、アルスロバクター属種 (*Arthrobacter* spp)、アゾトバクター属種 (*Azotobacter* spp.)、コリネバクテリウム属種 (*Corynebacterium* spp)、ブレビバクテリウム属種 (*Brevibacterium* spp)、レジエラ属種 (*Regiella* spp.) (例えば、レジエラ・インセクチコラ (*Regiella insecticola*)、サーマス属種 (*Thermus* spp)、シュードモナス属種 (*Pseudomonas* spp)、クロストリジウム属種 (*Clostridium* spp)、モルティエラ属種 (*Mortierella* spp.) (例えば、モルティエラ・エロンガタ (*Mortierella elongata*) 及びエシェリキア属種 (*Escherichia* spp) が挙げられる。一部の例では、標的となる細菌は、ゼノラブダス属種 (*Xenorhabdus* spp)、フォトラブダス属種 (*Photorhabdus* spp)、又はボルバキア属種 (*Wolbachia* spp) に属する種である。一部の例では、標的となる細菌は、以下の目：ストレプトミセス目 (*Streptomycetales*)、リゾビウム目 (*Rhizobiales*)、シュードモナス目 (*Pseudomonadales*)、キサントモナス目 (*Xanthomonadales*)、スフィンゴバクテリア目 (*Sphingobacteriales*)、クロロフレクサス目 (*Chloroflexales*)、ロドスピリルム目 (*Rhodospirillales*)、エンテロバクター目 (*Enterobacteriales*)、スフィンゴモナス目 (*Sphingomonadales*)、ゲンマティモナス目 (*Gemmatimonadales*)、ミクロコッカス目 (*Micrococcales*)、カウロバクター目 (*Caulobacteriales*)、サイトファガ目 (*Cytophagales*)、フィルミクテス目 (*Firmicutes*)、ミクロモノスポラ目 (*Micromonosporales*)、バークホルデルリア目 (*Burkholderiales*)、リケッチア目 (*Rickettsiales*)、フラボバクテリア目 (*Flavobacteriales*)、アシドミクロビウム目 (*Acidimicrobiales*)、ロドシクルス目 (*Rhodocyclales*)、又はブデロビブリオ目 (*Bdellovibrionales*) の種である。一部の例では、標的となる細菌は、アルマティモナス門 (*Armatimonadetes*)、フィルミクテス門 (*Firmicutes*)、TM7、バクテロイデス門 (*Bacteroidetes*)、プロテオバクテリア門 (*Proteobacteria*)、又はアクチノバクテリア門 (*Actinobacteria*) である。一部の例では、標的となる細菌は、ラクトコッカス属種 (*Lactococcus* spp)、エロモナス属種 (*Aeromonas* spp)、シュードモナス属種 (*Pseudomonas* spp)、エンテロバクター属種 (*Enterobacter* spp)、シトロバクター属種 (*Citrobacter* spp)、スルフロスピリラム属種 (*Sulfurospirillum* spp)、フェオスフェリア属種 (*Phaeosphaeria* spp)、又はマイコスフェレラ属種 (*Mycosphaerella* spp) に属する細菌である。一部の例では、調節薬剤の標的となる細菌は、

10

20

30

40

50

宿主（例えば、昆虫、軟体動物、又は線虫）から植物に伝播され得るものであってもよく、限定はされないが、細菌性植物病原体（例えば、アグロバクテリウム属種（*Agrobacterium* spp））を含む。本明細書に提供される方法及び組成物による標的となり得る細菌の非限定的な例を表1に示す。一部の例では、調節薬剤が標的とする細菌の16S rRNA配列は、表1に挙げる配列と少なくとも50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%、97%、99%、99.9%又は100%の同一性を有する。

【0139】

【表1】

表1: 標的細菌及び宿主昆虫の例

一次内部共生体	宿主	部位	16S rRNA
ガンマプロテオバクテリア			
カルソネラ・ルディアイ (<i>Carsonella ruddii</i>)	キジラミ類 (キジラミ上科 (Psylloidea))	バクテリオサイト	TATCCAGCCACAGGTTCCC CTACAGCTACCTTGTTACGA CTTCACCCCAGTTACAAATC ATACCGTTGTAATAGTAAAA TTACTTATGATACAATTTAC TTCCATGGTGTGACGGGCG GTGTGTACAAGGCTCGAGA ACGTATTCACCGTAACATTC TGATTTACGATTACTAGCGA TTCCAAC TTCATGAAATCGA GTTACAGATTTCAATCCGAA CTAAGAATATTTTTTAAGAT TAGCATTATGTTGCCATATA GCATATAACTTTTTGTAATA CTCATTGTAGCACGTGTGT AGCCCTACTTATAAGGGCC ATGATGACTTGACGTCGTC CTCACCTTCCTCCAATTTAT CATTGGCAGTTTCTTATTAG TTCTAATATATTTTAGTAAA ATAAGATAAGGGTTGCGCT CGTTATAGGACTTAACCCAA CATTTCAACACGAGCTG ACGACAGCCATGCAGCACC TGTCTCAAAGCTAAAAAAGC TTTATTATTTCTAATAAATTC TTTGGATGTCAAAGTAGGT AAGATTTTTCGTGTTGTATC GAATTAAACCACATGCTCCA CCGCTTGTGCGAGCCCCCG TCAATTCATTTGAGTTTAA

【0140】

【表 2】

			CCTTGCGGTCGTAATCCCC AGGCGGTCAACTTAACGCG TTAGCTTTTTCACTAAAAAT ATATAACTTTTTTCATAAAA CAAAATTACAATTATAATATT TAATAAATAGTTGACATCGT TACTGCATGGACTACCAG GGTATCTAATCCTGTTTGCT CCCCATGCTTTCGTGTATTA GTGTCAGTATTAATAAGAA ATACGCCTTCGCCACTAGT ATTCTTTCAGATATCTAAGC ATTTCACTGCTACTCCTGAA ATTCTAATTTCTTCTTTATA CTCAAGTTTATAAGTATTAA TTTCAATATTAAATTACTTTA ATAAATTTAAAAATTAATTTT TAAAAACAACCTGCACACC CTTTACGCCCAATAATTCCG ATTAACGCTTGACCCCTC GTATTACCGCGGCTGCTGG CACGAAGTTAGCCGGTGCT TCTTTTACAAATAACGTCAA AGATAATATTTTTTTATTATA AAATCTCTTCTTACTTTGTT GAAAGTGTTTTACAACCCTA AGGCCTTCTTCACACACGC GATATAGCTGGATCAAGCT TTCGCTCATTGTCCAATATC CCCCACTGCTGCCTTCCGT AAAAGTTTGGGCCGTGTCT CAGTCCCAATGTGGTTGTT CATCCTCTAAGATCAACTAC GAATCATAGTCTTGTTAAGC TTTTACTTTAACAATAACT AATTCGATATAAGCTCTTCT ATTAGCGAACGACATTCTC GTTCTTTATCCATTAGGATA CATATTGAATTACTATACAT TTCTATATACTTTTCTAATAC
--	--	--	---

10

20

30

40

【 0 1 4 1 】

【表 3】

			TAATAGGTAGATTCTTATAT ATTACTCACCCGTTTCGCTG CTAATTATTTTTTAATAATT CGCACAACTTGCATGTGTT AAGCTTATCGCTAGCGTTC AATCTGAGCTATGATCAAAC TCA (配列番号1)
ボルティエラ・ アレイロディダルム (<i>Portiera aleyrodidarum</i>) BT-B	コナジラミ類 (コナジラミ上科 (<i>Aleyrodoidea</i>))	バクテリオサイト	AAGAGTTTGATCATGGCTC AGATTGAACGCTAGCGGCA GACATAACACATGCAAGTC GAGCGGCATCATAAGGTT GGCAAGCGGCGCACGGGT GAGTAATACATGTAAATATA CCTAAAAGTGGGGAATAAC GTACGGAAACGTACGCTAA TACCGCATAATTATTACGAG ATAAAGCAGGGGCTTGATA AAAAAATCAACCTTGCCT TTAGAAAATTACATGCCGG ATTAGCTAGTTGGTAGAGTA AAAGCCTACCAAGGTAACG ATCCGTAGCTGGTCTGAGA GGATGATCAGCCACACTGG GACTGAGAAAAGGCCCAGA CTCCTACGGGAGGCAGCAG TGGGGAATATTGGACAATG GGGGGAACCCTGATCCAGT CATGCCGCGTGTGTGAAGA AGGCCTTTGGGTTGTAAAG CACTTTCAGCGAAGAAGAA AAGTTAGAAAATAAAAAGTT ATAACTATGACGGTACTCG CAGAAGAAGCACCGGCTAA CTCCGTGCCAGCAGCCGC GGTAAGACGGAGGGTGCAA GCGTTAATCAGAATTACTG GGCGTAAAGGGCATGTAGG TGGTTTGTTAAGCTTTATGT GAAAGCCCTATGCTTAACAT

10

20

30

40

【 0 1 4 2 】

50

【表 4】

		AGGAACGGAATAAAGAACT GACAAACTAGAGTGCAGAA GAGGAAGGTAGAATTCCCG GTGTAGCGGTGAAATGCGT AGATATCTGGAGGAATACC AGTTGCGAAGGCGACCTTC TGGGCTGACACTGACACTG AGATGCGAAAGCGTGGGGA GCAAACAGGATTAGATACC CTGGTAGTCCACGCTGTAA ACGATATCAACTAGCCGTT GGATTCTTAAAGAATTTGT GGCGTAGCTAACGCGATAA GTTGATCGCCTGGGGAGTA CGGTCGCAAGGCTAAACT CAAATGAATTGACGGGGGC CCGCACAAGCGGTGGAGC ATGTGGTTTAATTGATGCA ACGCGCAAAACCTTACCTA CTCTTGACATCCAAAGTACT TTCCAGAGATGGAAGGGTG CCTTAGGGAACTTTGAGAC AGGTGCTGCATGGCTGTCG TCAGCTCGTGTTGTGAAAT GTTGGGTTAAGTCCCGTAA CGAGCGCAACCCTTGTCCT TAGTTGCCAACGCATAAGG CGGGAACTTTAAGGAGACT GCTGGTGATAAACCGGAGG AAGGTGGGGACGACGTCAA GTCATCATGGCCCTTAAGA GTAGGGCAACACACGTGCT ACAATGGCAAAAACAAAGG GTCGCAAAATGGTAACATG AAGCTAATCCCAAAAAAATT GTCTTAGTTCGGATTGGAG TCTGAACTCGACTCCATAA AGTCGGAATCGCTAGTAAT CGTGAATCAGAATGTCACG GTGAATACGTTCTCGGGCC
--	--	--

10

20

30

40

【 0 1 4 3 】

50

【表 5】

			TTGTACACACCGCCCGTCA CACCATGGAAGTGAAATGC ACCAGAAGTGGCAAGTTTA ACCAAAAAACAGGAGAACA GTCACTACGGTGTGGTTCA TGA CTGGGGTGAAGTCGTA ACAAGGTAGCTGTAGGGGA ACCTGTGGCTGGATCACCT CCTTAA (配列番号2)
ブブネラ・アフエディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>)株 APS (エンドウヒゲナガアブラムシ (<i>Acyrtosiphon pisum</i>))	アブラムシ類 (アブラムシ上科 (Aphidoidea))	バクテリオサイト	AGAGTTTGATCATGGCTCA GATTGAACGCTGGCGGCAA GCCTAACACATGCAAGTCG AGCGGCAGCGAGAAGAGA GCTTGCTCTCTTTGTCCGC AAGCGCAAACGGGTGAGT AATATCTGGGGATCTACCC AAAAGAGGGGATAACTAC TAGAAATGGTAGCTAATACC GCATAATGTTGAAAAACCAA AGTGGGGGACCTTTTGGCC TCATGCTTTTGGATGAACCC AGACGAGATTAGCTTGTTG GTAGAGTAATAGCCTACCA AGGCAACGATCTCTAGCTG GTCTGAGAGGATAACCAGC CACACTGGAAGTGAACAC GGTCCAGACTCCTACGGGA GGCAGCAGTGGGGAATATT GCACAATGGGCGAAAGCCT GATGCAGCTATGCCGCGTG TATGAAGAAGGCCTTAGGG TTGTAAAGTACTTTCAGCGG GGAGGAAAAAATAAACT AATAATTTTATTTTCGTGACG TTACCCGCAGAAGAAGCAC CGGCTAACTCCGTGCCAGC AGCCGCGGTAATACGGAGG GTGCAAGCGTTAATCAGAA T TACTGGGCGTAAAGAGCG

10

20

30

40

【 0 1 4 4 】

50

【表 6】

			CGTAGGTGGTTTTTAAGTC AGGTGTGAAATCCCTAGGC TCAACCTAGGAACTGCATTT GAAACTGGAAACTAGAGT TTCGTAGAGGGAGGTAGAA TTCTAGGTGTAGCGGTGAA ATGCGTAGATATCTGGAGG AATACCCGTGGCGAAAGCG GCCTCCTAAACGAAAAGT ACACTGAGGCGCGAAAGCG TGGGGAGCAAACAGGATTA GATACCCTGGTAGTCCATG CCGTAAACGATGTCGACTT GGAGGTTGTTCCAAGAGA AGTGACTTCCGAAGCTAAC GCATTAAGTCGACCGCCTG GGGAGTACGGCCGCAAGG CTAAACTCAAATGAATTGA CGGGGGCCCGCACAAAGCG GTGGAGCATGTGGTTTAAT TCGATGCAACGCGAAAAAC CTTACCTGGTCTTGACATCC ACAGAATTCTTAGAAATAA AGAAGTGCCTTCGGGAGCT GTGAGACAGGTGCTGCATG GCTGTCGTCAGCTCGTGTT GTGAAATGTTGGGTAAAGT CCCGCAACGAGCGCAACCC TTATCCCCTGTTGCCAGCG GTTCGGCCGGGAACTCAGA GGAGACTGCCGGTTATAAA CCGGAGGAAGGTGGGGAC GACGTCAAGTCATCATGGC CCTTACGACCAGGGCTACA CACGTGCTACAATGGTTTAT ACAAAGAGAAGCAAATCTG CAAAGACAAGCAAACCTCA TAAAGTAAATCGTAGTCCG GACTGGAGTCTGCAACTCG ACTCCACGAAGTCGGAATC
--	--	--	--

10

20

30

40

【 0 1 4 5 】

【表 7】

			GCTAGTAATCGTGGATCAG AATGCCACGGTGAATACGT TCCCGGGCCTTGTACACAC CGCCCGTCACACCATGGGA GTGGGTTGCAAAAGAAGCA GGTATCCTAACCCTTTAAAA GGAAGGCGCTTACCACTTT GTGATTCATGACTGGGGTG AAGTCGTAACAAGGTAACC GTAGGGGAACCTGCGGTTG GATCACCTCCTT (配列番号3)
ブフネラ・アフエディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 Sg (ムギミドリアブラムシ (<i>Schizaphis graminum</i>))	アブラムシ類 (アブラムシ上科 (Aphidoidea))	バクテリオサイト	AAACTGAAGAGTTTGATCAT GGCTCAGATTGAACGCTGG CGGCAAGCCTAACACATGC AAGTCGAGCGGCAGCGAAA AGAAAGCTTGCTTTCTTGTC GGCGAGCGGCAAACGGGT GAGTAATATCTGGGGATCT GCCCAAAAGAGGGGGATAA CTACTAGAAATGGTAGCTAA TACCGCATAAAGTTGAAAAA CCAAAGTGGGGGACCTTTT TTAAAGGCCTCATGCTTTTG GATGAACCCAGACGAGATT AGCTTGTTGGTAAGGTAAA AGCTTACCAAGGCAACGAT CTCTAGCTGGTCTGAGAGG ATAACCAGCCACACTGGAA CTGAGACACGGTCCAGACT CCTACGGGAGGCAGCAGT GGGGAATATTGCACAATGG GCGAAAGCCTGATGCAGCT ATGCCGCGTGTATGAAGAA GGCCTTAGGGTTGTAAAGT ACTTTCAGCGGGGAGGAAA AAATTAATACTAATAATTTTA TTTTGTGACGTTACCCGCA GAAGAAGCACCGGCTAACT CCGTGCCAGCAGCCGCGG

10

20

30

40

【 0 1 4 6 】

50

【表 8】

		TAATACGGAGGGTGCGAGC GTTAATCAGAATTACTGGG CGTAAAGAGCACGTAGGTG GTTTTTAAAGTCAGATGTGA AATCCCTAGGCTTAACCTA GGAAGTGCATTTGAAACTG AAATGCTAGAGTATCGTAG AGGGAGGTAGAATTCTAGG TGTAGCGGTGAAATGCGTA GATATCTGGAGGAATACCC GTGGCGAAAGCGGCCTCCT AAACGAATACTGACACTGA GGTGCGAAAGCGTGGGGA GCAAACAGGATTAGATACC CTGGTAGTCCATGCCGTAA ACGATGTCGACTTGGAGGT TGTTTCCAAGAGAAGTGAC TTCCGAAGCTAACGCGTTA AGTCGACCGCCTGGGGAGT ACGGCCGCAAGGCTAAAC TCAAATGAATTGACGGGGG CCCGCACAAAGCGGTGGAG CATGTGGTTTAATTGATGC AACGCGAAAAACCTTACCT GGTCTTGACATCCACAGAA TTTTTTAGAAATAAAAAAGT GCCTTCGGGAAGTGTGAGA CAGGTGCTGCATGGCTGTC GTCAGCTCGTGTTGTGAAA TGTTGGGTAAAGTCCCGCA ACGAGCGCAACCCTTATCC CCTGTTGCCAGCGTTTCGG CCGGGAAGTCAGAGGAGAC TGCCGGTTATAAACCGGAG GAAGGTGGGGACGACGTC AAGTCATCATGGCCCTTAC GACCAGGGCTACACACGTG CTACAATGGTTTATACAAAG AGAAGCAAATCTGTAAAGA CAAGCAAACCTCATAAAGTA
--	--	---

10

20

30

40

【 0 1 4 7 】

【表 9】

			AATCGTAGTCCGGACTGGA GTCTGCAACTCGACTCCAC GAAGTCGGAATCGCTAGTA ATCGTGGATCAGAATGCCA CGGTGAATACGTTCCCGGG CCTTGACACACCGCCCGT CACACCATGGGAGTGGGTT GCAAAAGAAGCAGATTTC TAACCACGAAAGTGGAAGG CGTCTACCACTTTGTGATT ATGACTGGGGTGAAGTCGT AACAAGGTAACCGTAGGGG AACCTGCGGTTGGATCACC TCCTTA (配列番号4)
ブフネラ・アフエディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>)株 Bp(バイゾンギア・ピスタシエ (<i>Baizongia pistaciae</i>))	アブラムシ類 (アブラムシ上科 (Aphidoidea))	バクテリオサイト	ACTTAAAATTGAAGAGTTTG ATCATGGCTCAGATTGAAC GCTGGCGGCAAGCTTAACA CATGCAAGTCGAGCGGCAT CGAAGAAAAGTTTACTTTTC TGGCGGCGAGCGGCAAAC GGGTGAGTAACATCTGGGG ATCTACCTAAAAGAGGGGG ACAACCATTGGAACGATG GCTAATACCGCATAATGTTT TTAAATAAACCAAGTAGGG GACTAAAATTTTAGCCTTA TGCTTTTAGATGAACCCAGA CGAGATTAGCTTGATGGTA AGGTAATGGCTTACCAAGG CGACGATCTCTAGCTGGTC TGAGAGGATAACCAGCCAC ACTGGAAGTGAATACGGT CCAGACTCCTACGGGAGGC AGCAGTGGGGAATATTGCA CAATGGGCTAAAGCCTGAT GCAGCTATGCCGCGTGTAT GAAGAAGGCCTTAGGGTTG TAAAGTACTTTCAGCGGGG AGGAAAGAATTATGTCTAAT

10

20

30

40

【 0 1 4 8 】

【表 10】

		ATACATATTTTGTGACGTTA CCCGAAGAAGAAGCACCGG CTAACCTCCGTGCCAGCAGC CGCGGTAATACGGAGGGTG CGAGCGTTAATCAGAATTA CTGGGCGTAAAGAGCACGT AGGCGGTTTATTAAGTCAG ATGTGAAATCCCTAGGCTTA ACTTAGGAACTGCATTTGAA ACTAATAGACTAGAGTCTCA TAGAGGGAGGTAGAATTCT AGGTGTAGCGGTGAAATGC GTAGATATCTAGAGGAATA CCCGTGGCGAAAGCGACCT CCTAAATGAAAAGTACGCG TGAGGTGCGAAAGCGTGG GGAGCAAACAGGATTAGAT ACCCTGGTAGTCCATGCTG TAAACGATGTGCACTTGGA GGTGTTTCCTAGAGAAAGT GGCTTCCGAAGCTAACGCA TTAAGTCGACCGCCTGGGG AGTACGGTCGCAAGGCTAA AACTCAAATGAATTGACGG GGGCCCGCACAAAGCGGTG GAGCATGTGGTTTAATTCT ATGCAACGCGAAGAACCTT ACCTGGTCTTGACATCCATA GAATTTTTTAGAGATAAAAG AGTGCCTTAGGGAAGTATG AGACAGGTGCTGCATGGCT GTCGTCAGCTCGTGTTGTG AAATGTTGGGTAAAGTCCC GCAACGAGCGCAACCCCTA TCCTTTGTTGCCATCAGGTT ATGCTGGGAAGTCAAGGGA GACTGCCGGTTATAAACCG GAGGAAGGTGGGGATGAC GTCAAGTCATCATGGCCCT TACGACCAGGGCTACACAC
--	--	--

10

20

30

40

【0149】

【表 1 1】

			GTGCTACAATGGCATATAC AAAGAGATGCAACTCTGCG AAGATAAGCAAACCTCATAA AGTATGTCGTAGTCCGGAC TGGAGTCTGCAACTCGACT CCACGAAGTAGGAATCGCT AGTAATCGTGGATCAGAAT GCCACGGTGAATACGTTCC CGGGCCTTGTACACACCGC CCGTCACACCATGGGAGTG GGTTGCAAAAGAAGCAGGT AGCTTAACCAGATTATTTTA TTGGAGGGCGCTTACCACT TTGTGATTCATGACTGGGG TGAAGTCGTAACAAGGTAA CCGTAGGGGAACCTGCGGT TGGATCACCTCCTTA (配列番号5)
ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) BCc	アブラムシ類 (アブラムシ上科 (Aphidoidea))	バクテリオサイト	ATGAGATCATTAAATATATAA AAATCATGTTCCAATTAATAA AATTAGGACAAAATTTTTTA CAGAATAAAGAAATTATTAA TCAGATAATTAATTTAATAA ATATTAATAAAAAATGATAAT ATTATTGAAATAGGATCAGG ATTAGGAGCGTTAACTTTTC CTATTTGTAGAATCATTAAA AAAATGATAGTATTAGAAAT TGATGAAGATCTTGTGTTTT TTTTAACTCAAAGTTTATTTA TTAAAAAATTACAAATTATAA TTGCTGATATTATAAAATTT GATTTTTGTTGTTTTTTTCT TTACAGAAATATAAAAAATA TAGGTTTATTGGTAATTTAC CATATAATATTGCTACTATA TTTTTTTTAAAAACAATTAAA TTTCTTTATAATATAATTGAT ATGCATTTTATGTTTCAAAA AGAAGTAGCAAAGAGATTA

10

20

30

40

【 0 1 5 0 】

【表 1 2】

			TTAGCTACTCCTGGTACTAA AGAATATGGTAGATTAAGTA TTATTGCACAATATTTTATA AGATAGAACTGTTATTAAT GTTAATAAATTTAATTTTTT CCTACTCCTAAAGTAGATTC TACTTTTTTACGATTTACTC CTAAATATTTAATAGTAAAT ATAAAATAGATAAACATTTT TCTGTTTTAGAATTAATTAC TAGATTTTCTTTCAACATA GAAGAAAATTTTAAATAAT AATTTAATATCTTTATTTCT ACAAAGAATTAATTTCTTT AGATATTGATCCATATTCAA GAGCAGAAAATGTTTCTTTA ATTCAATATTGTAAATTAAT GAAATATTATTTGAAAAGAA AAATTTTATGTTTAGATTAA (配列番号6)
ブフネラ・アフィディコラ (Buchnera aphidicola) (コノテガシワオオアブラムシ (Cinara tujafilina))	アブラムシ類 (アブラムシ上科 (Aphidoidea))	バクテリオサイト	TTATCTTATTTACATATAC GTAATATTGCGCTGCGTGC ACGAGGATTTTTTTGAATTT CAGATATATTTGGTTTAATA CGTTTAATAAAACGTATTTT TTTTTTATTTTCTTATTTG CAATTCAGTAATAGGAAGTT TTTTAGGTATATTTGGATAA TTAATGTAATCTTAATAAAA GTTTTTTACAATCCTATCTT CAATAGAATGAAAATAATA ATAGCAATTTTGGATCCGGA ATGTAATATGTTAATAATAA TTTTAAATATTTATGTAATT CATTTATTTCTTGGTTAATAT ATATTCGAAAAGCTTGAAAT GTTCTCGTAGCTGGATGTTT AAATTTGTCATATTTGGGA TTGATTTTTTATGATTGAA CTAACCTAACGTGCTTGT

10

20

30

40

【 0 1 5 1】

50

【表 1 3】

			ATGGTTTTTTTTTTATTTGT AATATGATGGCTCGGGATA TTTTTTTGCGTATTTTCTT CGCCAAAATTTTTATTACC TGTTCTATTGTTTTTGGTTT GTTTTTTTAACCATTGACT AACTGATATTCCAGATTTAG GGTCATACGCATATCTAAA GGTCCATCATTCTAAATGA AAATCCTCGGATACTAGAAT TTAAGTATTGAAGAAATA CCTAAATCTAATAATATTCC ATCTATTTTATCTCTATTTT TTCTTTTTTAATATTTTTC AATATTAGAAAATTTACCTA AAAATATTTTAAATCGCGAA TCTTTATTTTTTTTCCGATT TTTATAGATTGTGGGTCTTG ATCAATACTATATACTTTC CATTAAACCCCTAATTCTTGA AGAATTGCTTTTGAATGACC ACCACCTCCAAATGTACAAT CAACATATGTACCGTCTTTT TTTATTTTAAAGTATTGTATG ATTTCTTTGTAAAACAGG TTTATGAATCAT (配列番号7)
ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>)株 G002(モモアカアブラムシ (<i>Myzus persicae</i>))	アブラムシ類 (アブラムシ上科 (Aphidoidea))	バクテリオサイト	ATGAAAAGTATAAAAACTTT TAAAAAACACTTTCCTGTGA AAAAAATATGGACAAAATTTT CTTATTAATAAAGAGATCAT AAAAAATATTGTTAAAAAAA TTAATCCAAATATAGAACAA ACATTAGTAGAAATCGGAC CAGGATTAGCTGCATTAAC GAGCCCATATCTCAGTTATT AAAAGAGTTAATAGTTATTG AAATAGACTGTAATCTATTA TATTTTTTAAAAACAACC ATTTTATTCAAAATTAATAGT

10

20

30

40

【 0 1 5 2】

【表 1 4】

			TTTTTGTCAGATGCTTTAA ACTTTAATTATACAAATTTAT TTTATAAAAAAATAAATTAA TTCGTATTTTGGTAATTTA CCATATAATATCTCTACATC TTTAATTATTTTTTTATTTC ACACATTAGAGTAATTCAAG ATATGAATTTTATGCTTCAA AAAGAAGTTGCTGCAAGAT TAATTGCATTACCTGGAAAT AAATATTACGGTCGTTTGAG CATTATATCTCAATATTATT GTGATATCAAAATTTTATTA AATGTTGCTCCTGAAGATTT TTGGCCTATTCCGAGAGTT CATTCTATATTTGTAAATTTA ACACCTCATCATAATTCTCC TTATTTTGTTTATGATATTAA TATTTTAAGCCTTATTACAA ATAAGGCTTTCCAAAATAGA AGAAAAATATTACGTCATAG TTTAAAAAATTTATTTTCTGA AACAACTTTATTAATTTAG ATATTAATCCCAGATTAAGA GCTGAAAATATTTCTGTTTT TCAGTATTGTCAATTAGCTA ATTATTTGTATAAAAAAATT ATACTAAAAAAATTA (配列番号8)
ブブネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>)株 Ak(コンドウヒゲナガ アブラムシ (<i>Acyrtosiphon kondoi</i>))	アブラムシ類 (アブラムシ上科 (Aphidoidea))	バクテリオサイト	ATTATAAAAAATTTAAAAAA CATTTTCCTTTAAAAAGGTA TGGACAAAATTTCTTGTC ATACAAAACTATTCAAAG ATAATTAATATAATTAATCCA AACACCAAACAAACATTAGT GGAAATTGGACCTGGATTA GCTGCATTAACAAAACCAAT TTGTCAATTATTAGAAGAAT TAATTGTTATTGAAATAGAT CCTAATTTATTGTTTTATTA

10

20

30

40

【 0 1 5 3 】

50

【表 1 5】

			AAAAACGTTTCATTTTATTC AAAATTAACAGTTTTTTATC AAGACGCTTTAAATTTCAAT TATACAGATTTGTTTTATAA GAAAAATCAATTAATTCGTG TTTTTGAAACTTGCCATAT AATATTTCTACATCTTTAATT ATTTCTTTATTCAATCATATT AAAGTTATTCAAGATATGAA TTTTATGTTACAGAAAGAGG TTGCTGAAAGATTAATTTCT ATTCCTGGAAATAAATCTTA TGGCCGTTTAAGCATTATTT CTCAGTATTATTGTAAAATT AAAATATTATTAAATGTTGT ACCTGAAGATTTTCGACCTA TACCGAAAGTGCATTCTGTT TTTATCAATTTAACTCCTCA TACCAATTCTCCATATTTTG TTTATGATACAAATATCCTC AGTTCTATCACAAGAAATGC TTTTCAAAATAGAAGGAAAA TTTTGCGTCATAGTTTAAAA AATTTATTTTCTGAAAAAGA ACTAATTCAATTAGAAATTA ATCCAAATTTACGAGCTGAA AATATTTCTATCTTTCAGTAT TGTCATTAGCTGATTATTT ATATAAAAAATTAAATAATCT TGTAATAATCAATTAA (配列番号9)
ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>)株 Ua (ウロレウコン・ アンブロシエ (<i>Uroleucon ambrosiae</i>))	アブラムシ類 (アブラムシ 上科 (Aphidoidea))	バクテリオサイト	ATGATACTAAATAAATATAA AAAATTTATTCCTTTAAAAA GATACGGACAAAATTTTCTT GTAAATAGAGAAATAATCAA AAATATTATCAAATAATTAA TCCTAAAAAACGCAACAT TATTAGAAATTGGACCGGG TTTAGGTGCGTTAACAAAAC CTATTTGTGAATTTTAAAT

10

20

30

40

【 0 1 5 4】

50

【表 1 6】

			GAACCTATCGTCATTGAAAT AGATCCTAATATATTATCTT TTTTAAAGAAATGTATATTTT TTGATAAATTAAAAATATATT GTCATAATGCTTTAGATTTT AATTATAAAAAATATATTCTAT AAAAAAAGTCAATTAATTCTG TATTTTGGAAATTTACCAT ATAATATTTCTACATCTTTAA TAATATATTTATTTCTGGAAT ATTGATATTATTCAAGATAT GAATTTTATGTTACAACAAG AAGTGGCTAAAAGATTAGTT GCTATTCCTGGTGAAAACT TTATGGTCGTTTAAGTATTA TATCTCAATATTATTGTAATA TTAAAATATTATTACATATTC GACCTGAAAATTTCAACCT ATTCCTAAAGTTAATTCAAT GTTTGTAATTTAACTCCGC ATATTCATTCTCCTTATTTTG TTTATGATATTAATTTATTA CTAGTATTACAAAACATGCT TTTCAACATAGAAGAAAAAT ATTGCGTCATAGTTTAAGAA ATTTTTTTCTGAGCAAGAT TTAATTCATTTAGAAATTAAT CCAAATTTAAGAGCTGAAAA TGTTTCTATTATTCAATATTG TCAATTGGCTAATAATTTAT ATAAAAAACATAAACAGTTT ATTAATAATTAA (配列番号10)
ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) (ダイズアブラムシ (<i>Aphis glycines</i>))	アブラムシ類 (アブラムシ上科 (Aphidoidea))	バクテリオサイト	ATGAAAAAGCATATTCCTAT AAAAAAATTTAGTCAAAATT TTCTTGATAGTTTGAGTGTG ATTAAAAAATAATTAAATTT ATTAATCCGCAGTTAAATGA AATATTGGTTGAAATTGGAC CGGGATTAGCTGCTATCAC

10

20

30

40

【 0 1 5 5 】

50

【表 1 7】

			TCGACCTATTTGTGATTGA TAGATCATTTAATTGTGATT GAAATTGATAAAATTTTATT AGATAGATTAACAGTTCT CATTTTATTCAAAATTAACA GTATATCATCAAGATGCTTT AGCATTTGATTACATAAAGT TATTTAATAAAAAAATAAAT TAGTTCGAATTTTGGTAAT TTACCATATCATGTTTCTAC GTCTTTAATATTGCATTATT TAAAAGAATTAATATTATTA AGATATGAATTTTATGCTAC AAAAAGAAGTTGCTGAACG TTTAATTGCAACTCCAGGTA GTAAATTATATGGTCGTTTA AGTATTATTTCTCAATATTAT TGTAATATAAAAGTTTTATT GCATGTGTCTTCAAAATGTT TTAAACCAGTTCCTAAAGTA GAATCAATTTTCTTAATTT GACACCTTATACTGATTATT TCCCTTATTTTACTTATAAT GTAAACGTTCTTAGTTATAT TACAAATTTAGCTTTTCAAA AAAGAAGAAAAATATTACGT CATAGTTTAGGTAAATATT TTCTGAAAAAGTTTTATAA AATTAATATTAATCCCAA TTAAGACCTGAGAATATTT TATATTACAATATTGTCAGT TATCTAATTATATGATAGAA AATAATATTCATCAGGAACA TGTTTGTATTAA (配列番号11)
アンナディア・ピニコラ (<i>Annandia pinicola</i>)	(ネアプラムシ科 (Phylloxeroidea))	バクテリオサイト	AGATTGAACGCTGGCGGCA TGCCTTACACATGCAAGTC GAACGGTAACAGGTCTTCG GACGCTGACGAGTGGCGAA CGGGTGAGTAATACATCGG

10

20

30

40

【0 1 5 6】

50

【表 18】

			AACGTGCCCAGTCGTGGGG GATAACTACTCGAAAGAGT AGCTAATACCGCATACGAT CTGAGGATGAAAGCGGGG GACCTTCGGGCCTCGCGC GATTGGAGCGGCCGATGG CAGATTAGGTAGTTGGTGG GATAAAAGCTTACCAAGCC GACGATCTGTAGCTGGTCT GAGAGGACGACCAGCCACA CTGGAACTGAGATACGGTC CAGACTCTTACGGGAGGCA GCAGTGGGGAATATTGCAC AATGGGCGCAAGCCTGATG CAGCTATGTCGCGTGTATG AAGAAGACCTTAGGGTTGT AAAGTACTTTCGATAGCATA AGAAGATAATGAGACTAATA ATTTTATTGTCTGACGTTAG CTATAGAAGAAGCACCGGC TAACTCCGTGCCAGCAGCC GCGGTAATACGGGGGGTG CTAGCGTTAATCGGAATTAC TGGGCGTAAAGAGCATGTA GGTGGTTTATTAAGTCAGAT GTGAAATCCCTGGACTTAAT CTAGGAACTGCATTTGAAA CTAATAGGCTAGAGTTTCGT AGAGGGAGGTAGAATTCTA GGTGTAGCGGTGAAATGCA TAGATATCTAGAGGAATATC AGTGGCGAAGGCGACCTTC TGGACGATAACTGACGCTA AAATGCGAAAGCATGGGTA GCAAACAGGATTAGATACC CTGGTAGTCCATGCTGTAA ACGATGTCGACTAAGAGGT TGGAGGTATAACTTTTAATC TCTGTAGCTAACGCGTTAA GTCGACCGCCTGGGGAGTA
--	--	--	---

10

20

30

40

【0157】

【表 19】

			CGGTCGCAAGGCTAAACT CAAATGAATTGACGGGGGC CTGCACAAGCGGTGGAGCA TGTGGTTTAATTCGATGCAA CGCGTAAAACCTTACCTGG TCTTGACATCCACAGAATTT TACAGAAATGTAGAAGTGC AATTTGAACTGTGAGACAG GTGCTGCATGGCTGTCTGC AGCTCGTGTGTGAAATGTT GGGTTAAGTCCCGCAACGA GCGCAACCCCTTGTCTTTG TTACCATAAGATTTAAGGAA CTCAAAGGAGACTGCCGGT GATAAACTGGAGGAAGGCG GGGACGACGTCAAGTCATC ATGGCCCTTATGACCAGGG CTACACACGTGCTACAATG GCATATACAAAGAGATGCA ATATTGCGAAATAAAGCCAA TCTTATAAAATATGTCCTAG TTCGGACTGGAGTCTGCAA CTCGACTCCACGAAGTCGG AATCGCTAGTAATCGTGGA TCAGCATGCCACGGTGAAT ATGTTTCCAGGCCTTGACA CACCGCCCGTCACACCATG GAAGTGGATTGCAAAAGAA GTAAGAAAATTAACCTTCTT AACAAGGAAATAACTTACCA CTTTGTGACTCATAACTGG GGTGA (配列番号12)
モラネラ (<i>Moranelia endobia</i>)	(カイガラムシ科 (Coccoidea))	バクテリオサイト	TCTTTTGGTAAGGAGGTG ATCCAACCGCAGGTTCCCC TACGGTTACCTTGTTACGAC TTCACCCAGTCATGAATCA CAAAGTGGTAAGCGCCCTC CTAAAAGGTTAGGCTACCT ACTTCTTTGCAACCCACTT

10

20

30

40

【0158】

【表 20】

		CCATGGTGTGACGGGCGGT GTGTACAAGGCCCGGAAC GTATTCACCGTGGCATTCT GATCCACGATTACTAGCGA TTCCTACTTCATGGAGTCGA GTTGCAGACTCCAATCCGG ACTACGACGCACTTTATGA GGTCCGCTAACTCTCGCGA GCTTGCTTCTCTTTGTATGC GCCATTGTAGCACGTGTGT AGCCCTACTCGTAAGGGCC ATGATGACTTGACGTCATC CCCACCTTCCTCCGGTTTAT CACCGGCAGTCTCCTTTGA GTTCCCGACCGAATCGCTG GCAAAAAAGGATAAGGGTT GCGCTCGTTGCGGGACTTA ACCCAACATTTACAACAC GAGCTGACGACAGCCATGC AGCACCTGTCTCAGAGTTC CCGAAGGTACCAAAACATC TCTGCTAAGTTCTCTGGATG TCAAGAGTAGGTAAGGTTT TTCGCGTTGCATCGAATTAA ACCACATGCTCCACCGCTT GTGCGGGCCCCCGTCAATT CATTTGAGTTTTAACCTTGC GGCCGTACTCCCCAGGCG GTCGATTTAACGCGTAACT ACGAAAGCCACAGTTCAAG ACCACAGCTTTCAAATCGA CATAGTTTACGGCGTGGAC TACCAGGGTATCTAATCCT GTTTGCTCCCCACGCTTTC GTACCTGAGCGTCAGTATT CGTCCAGGGGGCCGCCTT CGCCACTGGTATTCCTCCA GATATCTACACATTTACCG CTACACCTGGAATTCTACC CCCCTCTACGAGACTCTAG
--	--	--

10

20

30

40

【0159】

【表 2 1】

			CCTATCAGTTTCAAATGCAG TTCCTAGGTTAAGCCCAGG GATTTACATCTGACTTAAT AAACCGCCTACGTACTCTTT ACGCCCAGTAATTCCGATT AACGCTTGCACCCTCCGTA TTACCGCGGCTGCTGGCAC GGAGTTAGCCGGTGCTTCT TCTGTAGGTAACGTCAATCA ATAACCGTATTAAGGATATT GCCTTCCTCCCTACTGAAA GTGCTTTACAACCCGAAGG CCTTCTTCACACACGCGGC ATGGCTGCATCAGGGTTTC CCCCATTGTGCAATATTCCC CACTGCTGCCTCCCGTAGG AGTCTGGACCGTGTCTCAG TTCCAGTGTGGCTGGTCAT CCTCTCAGACCAGCTAGGG ATCGTCGCCTAGGTAAGCT ATTACCTCACCTACTAGCTA ATCCCATCTGGGTTTCATCT GAAGGTGTGAGGCCAAAAG GTCCCCCACTTTGGTCTTA CGACATTATGCGGTATTAG CTACCGTTTCCAGCAGTTAT CCCCCTCCATCAGGCAGAT CCCCAGACTTTACTCAGCC GTTGCTGCTCGCCGGCAA AAAAGTAACTTTTTTCCGT TGCCGCTCAACTTGATGT GTTAGGCCTGCCGCCAGCG TTCAATCTGAGCCATGATCA AACTCTTCAATTA (配列番号13)
イシカワエラ (<i>Ishikawaella capsulata</i>) <i>Mpkobe</i>	(カメムシ亜目 (Heteroptera))	バクテリオサイト	AAATTGAAGAGTTTGATCAT GGCTCAGATTGAACGCTAG CGGCAAGCTTAACACATGC AAGTCGAACGGTAACAGAA AAAAGCTTGCTTTTGTGCTG

10

20

30

40

【 0 1 6 0 】

50

【表 2 2】

			ACGAGTGGCGGACGGGTG AGTAATGTCTGGGGATCTA CCTAATGGCGGGGGATAAC TACTGGAAACGGTAGCTAA TACCGCATAATGTTGTAAAA CCAAAGTGGGGGACCTTAT GGCCTCACACCATTAGATG AACCTAGATGGGATTAGCT TGTAGGTGGGGTAAAGGCT CACCTAGGCAACGATCCCT AGCTGGTCTGAGAGGATGA CCAGCCACACTGGAAGTGA GATACGGTCCAGACTCCTA CGGGAGGCAGCAGTGGGG AATCTTGACAATGGGCGC AAGCCTGATGCAGCTATGT CGCGTGTATGAAGAAGGCC TTAGGGTTGTAAAGTACTTT CATCGGGGAAGAAGGATAT GAGCCTAATATTCTCATATA TTGACGTTACCTGCAGAAG AAGCACCGGCTAACTCCGT GCCAGCAGCCGCGGTAAAC CGGAGGGTGCGAGCGTTAA TCGGAATTACTGGGCGTAA AGAGCACGTAGGTGGTTTA TTAAGTCATATGTGAAATCC CTGGGCTTAACCTAGGAAC TGCATGTGAAACTGATAAAC TAGAGTTTCGTAGAGGGAG GTGGAATTCCAGGTGTAGC GGTGAAATGCGTAGATATC TGGAGGAATATCAGAGGCG AAGGCGACCTTCTGGACGA AAACTGACACTCAGGTGCG AAAGCGTGGGGAGCAAACA GGATTAGATACCCTGGTAG TCCACGCTGTAAACAATGT CGACTAAAAAAGTGTGAGC TTGACTTGTGGTTTTGTAG
--	--	--	--

10

20

30

40

【 0 1 6 1】

【表 2 3】

			CTAACGCATTAAGTCGACC GCCTGGGGAGTACGGCCG CAAGGTTAAACTCAAATGA ATTGACGGGGGTCCGCACA AGCGGTGGAGCATGTGGTT TAATTCGATGCAACGCGAA AAACCTTACCTGGTCTTGAC ATCCAGCGAATTATATAGAA ATATATAAGTGCCTTTCGGG GAACTCTGAGACGCTGCAT GGCTGTCGTCAGCTCGTGT TGTGAAATGTTGGGTTAAGT CCCGCAACGAGCGCCCTTA TCCTCTGTTGCCAGCGGCA TGGCCGGGAACTCAGAGGA GACTGCCAGTATTAAACTG GAGGAAGGTGGGGATGAC GTCAAGTCATCATGGCCCT TATGACCAGGGCTACACAC GTGCTACAATGGTGTATAC AAAGAGAAGCAATCTCGCA AGAGTAAGCAAACTCAA AAGTACATCGTAGTTCGGA TTAGAGTCTGCAACTCGAC TCTATGAAGTAGGAATCGC TAGTAATCGTGGATCAGAAT GCCACGGTGAATACGTTCT CTGGCCTTGTACACACCGC CCGTCACACCATGGGAGTA AGTTGCAAAAGAAGTAGGT AGCTTAACCTTTATAGGAG GGCGCTTACCACTTTGTGA TTTATGACTGGGGTGAAGT CGTAACAAGGTAAGTGTAG GGGAACCTGTGGTTGGATT ACCTCCTTA (配列番号14)
バウンマニア・シカデリニコラ (<i>Baumannia cicadellinicola</i>)	ヨコバイ (オオヨコバイ亜科 (Cicadellinae))	バクテリオサイト	TTCAATTGAAGAGTTTGATC ATGGCTCAGATTGAACGCT GGCGGTAAGCTTAACACAT

【0 1 6 2】

10

20

30

40

50

【表 2 4】

			GCAAGTCGAGCGGCATCG GAAAGTAAATTAATTACTTT GCCGGCAAGCGGCGAACG GGTGAGTAATATCTGGGGA TCTACCTTATGGAGAGGGA TAACTATTGGAACGATAGC TAACACCGCATAATGTCGT CAGACCAAAATGGGGGACC TAATTTAGGCCTCATGCCAT AAGATGAACCCAGATGAGA TTAGCTAGTAGGTGAGATA ATAGCTCACCTAGGCAACG ATCTCTAGTTGGTCTGAGA GGATGACCAGCCACACTGG AACTGAGACACGGTCCAGA CTCCTACGGGAGGCAGCAG TGGGGAATCTTGACAATG GGGGAACCCTGATGCAGC TATACCGCGTGTGTGAAGA AGGCCTTCGGGTTGTAAAG CACTTTCAGCGGGGAAGAA AATGAAGTTACTAATAATAA TTGTCAATTGACGTTACCCG CAAAAGAAGCACCGGCTAA CTCCGTGCCAGCAGCCGC GGTAAGACGGAGGGTGCAA GCGTTAATCGGAATTACTG GGCGTAAAGCGTATGTAGG CGGTTTATTTAGTCAGGTGT GAAAGCCCTAGGCTTAACC TAGGAATTGCATTTGAAACT GGTAAGCTAGAGTCTCGTA GAGGGGGGGAGAATTCCA GGTGTAGCGGTGAAATGCG TAGAGATCTGGAAGAATAC CAGTGGCGAAGGCGCCCC CCTGGACGAAAACGACGC TCAAGTACGAAAGCGTGGG GAGCAAACAGGATTAGATA CCCTGGTAGTCCACGCTGT
--	--	--	--

10

20

30

40

【0 1 6 3】

【表 2 5】

		AAACGATGTCGATTTGAAG GTTGTAGCCTTGAGCTATA GCTTTCGAAGCTAACGCAT TAAATCGACCGCCTGGGGA GTACGACCGCAAGGTTAAA ACTCAAATGAATTGACGGG GGCCCGCACAAAGCGGTGG AGCATGTGGTTTAATTGAT ACAACGCGAAAAACCTTAC CTACTCTTGACATCCAGAGT ATAAAGCAGAAAAGCTTTAG TGCCTTCGGGA ACTCTGAG ACAGGTGCTGCATGGCTGT CGTCAGCTCGTGTTGTGAA ATGTTGGGTTAAGTCCCGC AACGAGCGCAACCCTTATC CTTTGTTGCCAACGATTAAG TCGGGA ACTCAAAGGAGAC TGCCGGTGATAAACCGGAG GAAGGTGAGGATAACGTCA AGTCATCATGGCCCTTACG AGTAGGGCTACACACGTGC TACAATGGTGCATACAAAG AGAAGCAATCTCGTAAGAG TTAGCAAACCTCATAAAGTG CATCGTAGTCCGGATTAGA GTCTGCAACTCGACTCTAT GAAGTCGGAATCGCTAGTA ATCGTGGATCAGAATGCCA CGGTGAATACGTTCCCGGG CCTTGTACACACCGCCCGT CACACCATGGGAGTGTATT GCAAAAGAAGTTAGTAGCT TAACTCATAATACGAGAGG GCGCTTACCACTTTGTGATT CATAACTGGGGTGAAGTCG TAACAAGGTAACCGTAGGG GAACCTGCGGTTGGATCAC CTCCTTACACTAAA (配列番号15)
--	--	---

10

20

30

40

【 0 1 6 4】

【表 2 6】

ソダリス様 (<i>Sodalis like</i>)	ケブカヒメヘリ カメムシ (<i>Rhopalus sapporensis</i>)	広範な組織向性	ATTGAACGCTGGCGGCAGG CCTAACACATGCAAGTCGA GCGGCAGCGGGAAGAAGC TTGCTTCTTTGCCGGCGAG CGGCGGACGGGTGAGTAAT GTCTGGGGATCTGCCCGAT GGAGGGGGATAACTACTGG AAACGGTAGCTAATACCGC ATAACGTCGCAAGACCAAA GTGGGGGACCTTCGGGCC TCACACCATCGGATGAACC CAGGTGGGATTAGCTAGTA GGTGGGGTAATGGCTCACC TAGGCGACGATCCCTAGCT GGTCTGAGAGGATGACCAG TCACACTGGAAGTGAACA CGGTCCAGACTCCTACGGG AGGCAGCAGTGGGGAATAT TGCACAATGGGGGAAACCC TGATGCAGCCATGCCGCGT GTGTGAAGAAGCCTTCGG GTTGTAAAGCACTTTCAGC GGGGAGGAAGGCGATGGC GTTAATAGCGCTATCGATTG ACGTTACCCGCAGAAGAAG CACCGGCTAACTCCGTGCC AGCAGCCGCGGTAATACGG AGGGTGCGAGCGTTAATCG GAATTACTGGGCGTAAAGC GTACGCAGGCGGTCTGTTA AGTCAGATGTGAAATCCCC GGGCTCAACCTGGGAACTG CATTTGAACTGGCAGGCT AGAGTCTCGTAGAGGGGG GTAGAATTCCAGGTGTAGC GGTGAAATGCGTAGAGATC TGGAGGAATACCGGTGGCG AAGGCGGCCCCCTGGACG AAGACTGACGCTCAGGTAC GAAAGCGTGGGGAGCAAAC
----------------------------------	--	---------	---

10

20

30

40

【 0 1 6 5 】

50

【表 2 7】

			AGGATTAGATACCCTGGTA GTCCACGCTGTAAACGATG TCGATTTGAAGGTTGTGGC CTTGAGCCGTGGCTTTCGG AGCTAACGTGTAAATCGA CCGCCTGGGGAGTACGGC CGCAAGGTTAAACTCAAAT GAATTGACGGGGGCCCGC ACAAGCGGTGGAGCATGTG GTTTAATTCGATGCAACGC GAAGAACCTTACCTACTCTT GACATCCAGAGAACTTGGC AGAGATGCTTTGGTGCCTT CGGGAACCTCTGAGACAGGT GCTGCATGGCTGTGTCAG CTCGTGTTGTGAAATGTTG GGTTAAGTCCCGCAACGAG CGCAACCCTTATCCTTTATT GCCAGCGATTCGGTCGGGA ACTCAAAGGAGACTGCCGG TGATAAACCGGAGGAAGGT GGGGATGACGTCAAGTCAT CATGGCCCTTACGAGTAGG GCTACACACGTGCTACAAT GGCGCATACAAAGAGAAGC GATCTCGCGAGAGTCAGCG GACCTCATAAAGTGCGTCG TAGTCCGGATTGGAGTCTG CAACTCGACTCCATGAAGT CGGAATCGCTAGTAATCGT GGATCAGAATGCCACGGTG AATACGTTCCCGGGCCTTG TACACACCGCCCGTCACAC CATGGGAGTGGGTTGCAAA AGAAGTAGGTAGCTTAACC TTCGGGAGGGCGCTTACCA CTTTGTGATTCATGACTGG GGTG (配列番号16)
--	--	--	--

10

20

30

40

【 0 1 6 6 】

【表 2 8】

ハルティギア・ピニコラ (<i>Hartigia pinicola</i>)	マツカサ アブラムシ	バクテリオサイト	AGATTTAACGCTGGCGGCA GGCCTAACACATGCAAGTC GAGCGGTACCAGAAGAAGC TTGCTTCTTGCTGACGAGC GGCGGACGGGTGAGTAAT GTATGGGGATCTGCCCAGC AGAGGGGGATAACTATTGG AAACGGTAGCTAATACCGC ATAATCTCTGAGGAGCAA GCAGGGGAACCTCGGTCCT TGCGCTATCGGATGAACCC ATATGGGATTAGCTAGTAG GTGAGGTAATGGCTCCCCT AGGCAACGATCCCTAGCTG GTCTGAGAGGATGATCAGC CACACTGGGACTGAGACAC GGCCCAGACTCCTACGGGA GGCAGCAGTGGGGAATATT GCACAATGGGCGAAAGCCT GATGCAGCCATGCCGCGTG TATGAAGAAGGCTTTAGGG TTGTAAAGTACTTTCAGTCG AGAGGAAAACATTGATGCT AATATCATCAATTATTGACG TTTCCGACAGAAGAAGCAC CGGCTAACTCCGTGCCAGC AGCCGCGGTAATACGGAGG GTGCAAGCGTTAATCGGAA TACTGGGCGTAAAGCGCA CGCAGGCGGTTAATTAAGT TAGATGTGAAAGCCCCGGG CTTAACCCAGGAATAGCAT ATAAACTGGTCAACTAGA GTATTGTAGAGGGGGTAG AATTCCATGTGTAGCGGTG AAATGCGTAGAGATGTGGA GGAATACCAGTGGCGAAGG CGGCCCCCTGGACAAAAC TGACGCTCAAATGCGAAAG CGTGGGGAGCAAACAGGAT
---	---------------	----------	--

10

20

30

40

【 0 1 6 7 】

【表 2 9】

			TAGATACCCTGGTAGTCCA TGCTGTAAACGATGTCGATT TGGAGGTTGTTCCCTTGAG GAGTAGCTTCCGTAGCTAA CGCGTTAAATCGACCGCCT GGGGGAGTACGACTGCAA GGTTAAAACTCAAATGAATT GACGGGGGCCCCGCACAAG CGGTGGAGCATGTGGTTTA ATTCGATGCAACGCGAAAA ACCTTACCTACTCTTGACAT CCAGATAATTTAGCAGAAAT GCTTTAGTACCTTCGGGAA ATCTGAGACAGGTGCTGCA TGGCTGTCGTCAGCTCGTG TTGTGAAATGTTGGGTTAAG TCCCGCAACGAGCGCAACC CTTATCCTTTGTTGCCAGCG ATTAGGTCGGGAACTCAAA GGAGACTGCCGGTGATAAA CCGGAGGAAGGTGGGGAT GACGTCAAGTCATCATGGC CCTTACGAGTAGGGCTACA CACGTGCTACAATGGCATA TACAAAGGGAAGCAACCTC GCGAGAGCAAGCGAAACTC ATAAATTATGTCGTAGTTCA GATTGGAGTCTGCAACTCG ACTCCATGAAGTCGGAATC GCTAGTAATCGTAGATCAG AATGCTACGGTGAATACGT TCCCGGGCCTTGTACACAC CGCCCGTCACACCATGGGA GTGGGTTGCAAAAGAAGTA GGTAACTTAACCTTATGGAA AGCGCTTACCACTTTGTGAT TCATAACTGGGGTG (配列番号17)
--	--	--	---

10

20

30

40

【 0 1 6 8 】

【表 3 0】

ウィグルスウォーチア・ グロッシニディア (<i>Wigglesworthia glossinidia</i>)	ツェツェバエ(双翅目 (Diptera):ツェツェバエ科 (Glossinidae))	バクテリオサイト	
ベータプロテオバクテリア			
トレンブラヤ・フェナコラ (<i>Tremblaya phenacola</i>)	キュウコン コナカイガラムシ (<i>Phenacoccus avenae</i>) (TPPAVE).	バクテリオーム	AGGTAATCCAGCCACACCT TCCAGTACGGCTACCTTGT TACGACTTCACCCCAGTCA CAACCCCTTACCTTCGGAAC TGCCCTCCTCACAACCTCAA ACCACCAAACACTTTTAAAT CAGGTTGAGAGAGGTTAGG CCTGTTACTTCTGGCAAGA ATTATTTCCATGGTGTGACG GGCGGTGTGTACAAGACCC GAGAACATATTCACCGTGG CATGCTGATCCACGATTACT AGCAATTCCAACCTTCATGCA CTCGAGTTTCAGAGTACAAT CCGAACGTAGGCCGGCTTT GTGAGATTAGCTCCCTTTTG CAAGTTGGCAACTCTTTGG TCCGGCCATTGTATGATGT GTGAAGCCCCACCCATAAA GGCCATGAGGACTTGACGT CATCCCCACCTTCCTCCAA CTTATCGCTGGCAGTCTCTT TAAGGTAAGTACTAATCCA GTAGCAATTAAGACAGGG GTTGCGCTCGTTACAGGAC TTAACCCAACATCTCACGAC ACGAGCTGACGACAGCCAT GCAGCACCTGTGCACTAAT TCTCTTTCAAGCACTCCCG CTTCTCAACAGGATCTTAGC CATATCAAAGGTAGGTAAG GTTTTTCGCGTTGCATCGAA TTAATCCACATCATCCACTG CTTGTGCGGGTCCCCGTCA ATTCCTTTGAGTTTTAACCT

10

20

30

40

【 0 1 6 9 】

50

【表 3 1】

			TGCGGCCGTACTCCCCAGG CGGTCGACTTGTGCGTTAG CTGCACCACTGAAAAGGAA AACTGCCCAATGGTTAGTC AACATCGTTTAGGGCATGG ACTACCAGGGTATCTAATC CTGTTTGCTCCCCATGCTTT AGTGTCTGAGCGTCAGTAA CGAACCAGGAGGCTGCCTA CGCTTTCGGTATTCCTCCA CATCTCTACACATTTCACTG CTACATGCGGAATTCTACCT CCCCCTCTCGTACTCCAGC CTGCCAGTAACTGCCGCAT TCTGAGGTTAAGCCTCAGC CTTTCACAGCAATCTTAACA GGCAGCCTGCACACCCTTT ACGCCCAATAAATCTGATTA ACGCTCGCACCCCTACGTAT TACCGCGGCTGCTGGCACG TAGTTTGCCGGTGCTTATTC TTTCGGTACAGTCACACCA CCAAATTGTTAGTTGGGTG GCTTTCTTTCCGAACAAAAG TGCTTTACAACCCAAAGGC CTTCTTCACACACGCGGCA TTGCTGGATCAGGCTTCCG CCCATTGTCCAAGATTCCTC ACTGCTGCCTTCCTCAGAA GTCTGGGCCGTGTCTCAGT CCCAGTGTGGCTGGCCGTC CTCTCAGACCAGCTACCGA TCATTGCCTTGGAAGCCA TTACCTTTCCAACAAGCTAA TCAGACATCAGCCAATCTC AGAGCGCAAGGCAATTGGT CCCCTGCTTTCATTCTGCTT GGTAGAGAACTTTATGCGG TATTAATTAGGCTTTCACCT AGCTGTCCCCCACTCTGAG
--	--	--	---

10

20

30

40

【0 1 7 0】

【表 3 2】

			GCATGTTCTGATGCATTACT CACCCGTTTGCCACTTGCC ACCAAGCCTAAGCCCGTGT TGCCGTTGACTTGATGT GTAAGGCATGCCGCTAGCG TTCAATCTGAGCCAGGATC AAACTCT (配列番号18)
トレンブラヤ・プリンセプス (<i>Tremblaya princeps</i>)	カンキツ類 コナカイガラムシ、 プラノコッカス・ シトリ (<i>Planococcus citri</i>)	バクテリオーム	AGAGTTTGATCCTGGCTCA GATTGAACGCTAGCGGCAT GCATTACACATGCAAGTCG TACGGCAGCACGGGCTTAG GCCTGGTGGCGAGTGGCG AACGGGTGAGTAACGCCTC GGAACGTGCCTTGTAGTGG GGGATAGCCTGGCGAAAGC CAGATTAATACCGCATGAA GCCGCACAGCATGCGCGG TGAAAGTGGGGGATTCTAG CCTCACGCTACTGGATCGG CCGGGGTCTGATTAGCTAG TTGGCGGGGTAATGGCCCA CCAAGGCTTAGATCAGTAG CTGGTCTGAGAGGACGATC AGCCACACTGGGACTGAGA CACGGCCCAGACTCCTACG GGAGGCAGCAGTGGGGAA TCTTGACAATGGGCGCAA GCCTGATCCAGCAATGCCG CGTGTGTGAAGAAGGCCTT CGGGTCGTAAAGCACTTTT GTTGGGGATGAAGGGGGG CGTGCAAACACCATGCCCT CTTGACGATACCGAAAGAA TAAGCACCGGCTAACTACG TGCCAGCAGCCGCGGTAAT ACGTAGGGTGCGAGCGTTA ATCGGAATCACTGGGCGTA AAGGGTGCGCGGGTGGTTT GCCAAGACCCCTGTAAAAT

10

20

30

40

【 0 1 7 1 】

【表 3 3】

			CCTACGGCCCAACCGTAGT GCTGCGGAGGTTACTGGTA AGCTTGAGTATGGCAGAGG GGGGTAGAATTCCAGGTGT AGCGGTGAAATGCGTAGAT ATCTGGAGGAATACCGAAG GCGAAGGCAACCCCTGG GCCATCACTGACACTGAGG CACGAAAGCGTGGGGAGC AAACAGGATTAGATACCCT GGTAGTCCACGCCCTAAAC CATGTCGACTAGTTGTCGG GGGGAGCCCTTTTCTCG GTGACGAAGCTAACGCATG AAGTCGACCGCCTGGGGA GTACGACCGCAAGGTTAAA ACTCAAAGGAATTGACGGG GACCCGCACAAGCGGTGG ATGATGTGGATTAATTCGAT GCAACGCGAAAAACCTTAC CTACCCTTGACATGGCGGA GATTCTGCCGAGAGGCGGA AGTGCTCGAAAGAGAATCC GTGCACAGGTGCTGCATGG CTGTCGTCAGCTCGTGTCTG TGAGATGTTGGGTAAAGTC CCATAACGAGCGCAACCCC CGTCTTTAGTTGCTACCACT GGGGCACTCTATAGAGACT GCCGGTGATAAACCGGAGG AAGGTGGGGACGACGTCAA GTCATCATGGCCTTTATGG GTAGGGCTTCACACGTCAT ACAATGGCTGGAGCAAAGG GTCGCCAACTCGAGAGAGG GAGCTAATCCACAAACCC AGCCCCAGTTCGGATTGCA CTCTGCAACTCGAGTGCAT GAAGTCGGAATCGCTAGTA ATCGTGGATCAGCATGCCA
--	--	--	---

10

20

30

40

【0 1 7 2】

【表 3 4】

			CGGTGAATACGTTCTCGGG TCTTGACACACCGCCCGT CACACCATGGGAGTAAGCC GCATCAGAAGCAGCCTCCC TAACCCTATGCTGGGAAGG AGGCTGCGAAGGTGGGGT CTATGACTGGGGTGAAGTC GTAACAAGGTAGCCGTACC GGAAGGTGCGGCTGGATTA CCT (配列番号19)
ビダニア(Vidania)		バクテリオーム	
ナスイア・デルトケバリニコラ (<i>Nasuia deltocephalinicola</i>)	伝染性昆虫宿主、 ヨツテンヨコバイ (<i>Macrosteles</i> <i>quadripunctulatus</i>) (半翅目 (Hemiptera): オオヨコバイ科 (Cicadellidae))	バクテリオーム	AGTTTAATCCTGGCTCAGAT TTAACGCTTGCGACATGCC TAACACATGCAAGTTGAAC GTTGAAAATATTTCAAAGTA GCGTATAGGTGAGTATAAC ATTTAAACATACCTTAAAGT TCGGAATACCCCGATGAAA ATCGGTATAATACCGTATAA AAGTATTTAAGAATTAAGC GGGGAAAACCTCGTGCTAT AAGATTGTTAAATGCCTGAT TAGTTTGTTGGTTTTTAAGG TAAAAGCTTACCAAGACTTT GATCAGTAGCTATTCTGTGA GGATGTATAGCCACATTGG GATTGAAATAATGCCCAAAC CTCTACGGAGGGCAGCAGT GGGGAATATTGGACAATGA GCGAAAGCTTGATCCAGCA ATGTGCGGTGTGCGATTAA GGGAAACTGTAAAGCACTT TTTTTTAAGAATAAGAAATTT TAATTAATAATTAATTTTTT GAATGTATTAAGAATAAG TACCGACTAATCACGTGCC AGCAGTCGCGGTAATACGT GGGGTGCGAGCGTTAATCG

10

20

30

40

【0 1 7 3】

50

【表 3 5】

			GATTTATTGGGCGTAAAGT GTATTCAGGCTGCTTAAAAA GATTTATATTAAATATTTAAA TTAAATTTAAAAAATGTATAA ATTACTATTAAGCTAGAGTT TAGTATAAGAAAAAAGAATT TTATGTGTAGCAGTGAAATG CGTTGATATATAAAGGAAC GCCGAAAGCGAAAGCATTT TTCTGTAATAGAACTGACGC TTATATACGAAAGCGTGGG TAGCAAACAGGATTAGATA CCCTGGTAGTCCACGCCCT AAACTATGTCAATTAACAT TAGAATTTTTTTTAGTGGTG TAGCTAACGCGTTAAATTGA CCGCCCTGGGTATTACGATC GCAAGATTAAAACTCAAAG GAATTGACGGGGACCAGCA CAAGCGGTGGATGATGTGG ATTAATTCGATGATACGCGA AAAACCTTACCTGCCCTTGA CATGGTTAGAATTTTATTGA AAAATAAAAGTGCTTGAAA AGAGCTAACACACAGGTGC TGCATGGCTGTCGTCAGCT CGTGTCGTGAGATGTTGGG TTAAGTCCCGCAACGAGCG CAACCCCTACTCTTAGTTGC TAATTAAAGAACTTTAAGAG AACAGCTAACAATAAGTTTA GAGGAAGGAGGGGATGAC TTCAAGTCCTCATGGCCCTT ATGGGCAGGGCTTCACACG TCATACAATGGTTAATACAA AAAGTTGCAATATCGTAAGA TTGAGCTAATCTTTAAATT AATCTTAGTTCGGATTGTAC TCTGCAACTCGAGTACATG AAGTTGGAATCGCTAGTAAT
--	--	--	--

10

20

30

40

【0 1 7 4】

【表 3 6】

			CGCGGATCAGCATGCCGC GGTGAATAGTTTAACTGGT CTTGTACACACCGCCCGTC ACACCATGGAAATAAATCTT GTTTTAAATGAAGTAATATA TTTTATCAAAACAGGTTTTG TAACCGGGGTGAAGTCGTA ACA (配列番号20)
ジンデリア・インセクティコラ (<i>Zinderia insecticola</i>) CARI	アワフキムシ、 クラストプテラ・ アリゾナナ (<i>Clastoptera</i> <i>arizonana</i>)	バクテリオサイト	ATATAAATAAGAGTTTGATC CTGGCTCAGATTGAACGCT AGCGGTATGCTTTACACAT GCAAGTCGAACGACAATAT TAAAGCTTGCTTTAATATAA AGTGGCGAACGGGTGAGTA ATATATCAAAACGTACCTTA AAGTGGGGGATAACTAATT GAAAAATTAGATAATACCGC ATATTAATCTTAGGATGAAA ATAGGAATAATATCTTATGC TTTAGATCGGTTGATATCT GATTAGCTAGTTGGTAGGG TAAATGCTTACCAAGGCAAT GATCAGTAGCTGGTTTTAG CGAATGATCAGCCACACTG GAACTGAGACACGGTCCAG ACTTCTACGGAAGGCAGCA GTGGGGAATATTGGACAAT GGGAGAAATCCTGATCCAG CAATACCGCGTGAGTGATG AAGGCCTTAGGGTCGTAAA ACTCTTTTGTTAGGAAAGAA ATAATTTTAAATAATATTTAA AATTGATGACGGTACCTAAA GAATAAGCACCGGCTAACT ACGTGCCAGCAGCCGCGG TAATACGTAGGGTGCAAGC GTTAATCGGAATTATTGGG CGTAAAGAGTGCGTAGGCT GTTATATAAGATAGATGTGA

10

20

30

40

【 0 1 7 5】

50

【表 3 7】

			AATACTTAAGCTTAACCTAA GAACTGCATTTATTACTGTT TAACTAGAGTTTATTAGAGA GAAGTGGAATTTTATGTGTA GCAGTGAAATGCGTAGATA TATAAAGGAATATCGATGG CGAAGGCAGCTTCTTGGAA TAATACTGACGCTGAGGCA CGAAAGCGTGGGGAGCAAA CAGGATTAGATACCCTGGT AGTCCACGCCCTAACTAT GTCTACTAGTTATTAATTA AAAATAAAATTTAGTAACGT AGCTAACGCATTAAGTAGA CCGCCTGGGGAGTACGATC GCAAGATTAAAACTCAAAG GAATTGACGGGGACCCGCA CAAGCGGTGGATGATGTGG ATTAATTCGATGCAACACGA AAAACCTTACCTACTCTTGA CATGTTTGGAATTTTAAAGA AATTTAAAAGTGCTTGAAAA AGAACCAAAACACAGGTGC TGCATGGCTGTCGTCAGCT CGTGTCGTGAGATGTTGGG TTAAGTCCCGCAACGAGCG CAACCCTTGTTATTATTGC TAATAAAAAGAACTTTAATA AGACTGCCAATGACAAATT GGAGGAAGGTGGGGATGA CGTCAAGTCCTCATGGCCC TTATGAGTAGGGCTTCACA CGTCATACAATGATATATAC AATGGGTAGCAAATTTGTG AAAATGAGCCAATCCTTAAA GTATATCTTAGTTCGGATTG TAGTCTGCAACTCGACTAC ATGAAGTTGGAATCGCTAG TAATCGCGGATCAGCATGC CGCGGTGAATACGTTCTCG
--	--	--	---

10

20

30

40

【0 1 7 6】

【表 3 8】

			GGTCTTGTACACACCGCCC GTCACACCATGGAAGTGAT TTTTACCAGAAATTATTTGT TTAACCTTTATTGGAAAAA ATAATTAAGGTAGAATTCAT GACTGGGGTGAAGTCGTAA CAAGGTAGCAGTATCGGAA GGTGCGGCTGGATTACATT TTAAAT (配列番号21)
プロフテラ・アルマチュラ (<i>Proffitella armatura</i>)	ディアフォリナ・ キトリ (<i>Diaphorina citri</i>), アジアミカンキジラミ	バクテリオーム	
アルファプロテオバクテリア			
ホジキニア属(<i>Hodgkinia</i>)	セミ ディケロプロクタ・ セミキンクタ (<i>Diceroprocta semicineta</i>)	バクテリオーム	AATGCTGGCGGCAGGCCTA ACACATGCAAGTCGAGCGG ACAACGTTCAAACGTTGTTA GCGGCGAACGGGTGAGTA ATACGTGAGAATCTACCCAT CCCAACGTGATAACATAGT CAACACCATGTCAATAACGT ATGATTCCTGCAACAGGTA AAGATTTTATCGGGGATGG ATGAGCTCACGCTAGATTA GCTAGTTGGTGAGATAAAA GCCCAACCAAGGCCAAGATC TATAGCTGGTCTGGAAGGA TGGACAGCCACATTGGGAC TGAGACAAGGCCCAACCCT CTAAGGAGGGCAGCAGTGA GGAATATTGGACAATGGGC GTAAGCCTGATCCAGCCAT GCCGCATGAGTGATTGAAG GTCCAACGGACTGTAAAAC TCTTTTCTCCAGAGATCATA AATGATAGTATCTGGTGATA TAAGCTCCGGCCAACCTCG TGCCAGCAGCCGCGGTAAT

10

20

30

40

【0 1 7 7】

50

【表 3 9】

		ACGAGGGGAGCGAGTATTG TTCGGTTTTATTGGGCGTAA AGGGTGTCCAGGTTGCTAA GTAAGTTAACACAAAATCT TGAGATTCAACCTCATAACG TTCGGTTAATACTACTAAGC TCGAGCTTGGATAGAGACA AACGGAATCCGAGTGTAG AGGTGAAATTCGTTGATACT TGGAGGAACACCAGAGGC GAAGGCGGTTTGTCATACC AAGCTGACACTGAAGACAC GAAAGCATGGGGAGCAAAC AGGATTAGATACCCTGGTA GTCCATGCCCTAAACGTTG AGTGCTAACAGTTCGATCA AGCCACATGCTATGATCCA GGATTGTACAGCTAACGCG TTAAGCACTCCGCCTGGGT ATTACGACCGCAAGGTAA AACTCAAAGGAATTGACGG AGACCCGCACAAGCGGTG GAGCATGTGGTTTAATTCG AAGCTACACGAAGAACCTT ACCAGCCCTTGACATACCA TGGCCAACCATCCTGGAAA CAGGATGTTGTTCAAGTTAA ACCCTTGAAATGCCAGGAA CAGGTGCTGCATGGCTGTT GTCAGTTCGTGTCGTGAGA TGTATGGTTAAGTCCCAAAA CGAACACAACCCTCACCCA TAGTTGCCATAAACACAATT GGGTTCTCTATGGGTACTG CTAACGTAAGTTAGAGGAA GGTGAGGACCACAACAAGT CATCATGGCCCTTATGGGC TGGGCCACACATGCTAC AATGGTGGTTACAAAGAGC CGCAACGTTGTGAGACCGA
--	--	---

10

20

30

40

【0 1 7 8】

【表 4 0】

			GCAAATCTCCAAAGACCAT CTCAGTCCGGATTGTACTC TGCAACCCGAGTACATGAA GTAGGAATCGCTAGTAATC GTGGATCAGCATGCCACGG TGAATACGTTCTCGGGTCTT GTACACGCCGCCCGTCACA CCATGGGAGCTTCGCTCCG ATCGAAGTCAAGTTACCCTT GACCACATCTTGGCAAGTG ACCGA (配列番号22)
ボルバキア属種 (<i>Wolbachia sp.</i>) wPip	カ クレクス・ キンケファシアトウス (<i>Culex quinquefasciatus</i>)	バクテリオーム	AAATTTGAGAGTTTGATCCT GGCTCAGAATGAACGCTGG CGGCAGGCCTAACACATGC AAGTCGAACGGAGTTATATT GTAGCTTGCTATGGTATAAC TTAGTGGCAGACGGGTGAG TAATGTATAGGAATCTACCT AGTAGTACGGAATAATTGTT GGAAACGACAATAATACC GTATACGCCCTACGGGGGA AAAATTTATTGCTATTAGAT GAGCCTATATTAGATTAGCT AGTTGGTGGGGTAATAGCC TACCAAGGTAATGATCTATA GCTGATCTGAGAGGATGAT CAGCCACACTGGAAGTGA ATACGGTCCAGACTCCTAC GGGAGGCAGCAGTGGGGA ATATTGGACAATGGGCGAA AGCCTGATCCAGCCATGCC GCATGAGTGAAGAAGGCCT TTGGGTTGTAAAGCTCTTTT AGTGAGGAAGATAATGACG GTACTCACAGAAGAAGTCC TGGCTAACTCCGTGCCAGC AGCCGCGGTAATACGGAGA GGGCTAGCGTTATTCGGAA TTATTGGGCGTAAAGGGCG

10

20

30

40

【 0 1 7 9 】

50

【表 4 1】

		CGTAGGCTGGTTAATAAGT TAAAAGTGAAATCCCGAGG CTTAACCTTGGAATTGCTTT TAAACTATTAATCTAGAGA TTGAAAGAGGATAGAGGAA TTCCTGATGTAGAGGTAAAA TTCGTAAATATTAGGAGGAA CACCAGTGGCGAAGGCGTC TATCTGGTTCAAATCTGACG CTGAAGCGCGAAGGCGTG GGGAGCAAACAGGATTAGA TACCCTGGTAGTCCACGCT GTAAACGATGAATGTAAAT ATGGGGAGTTTACTTTCTGT ATTACAGCTAACGCGTTAAA CATTCCGCCTGGGGACTAC GGTCGCAAGATTAAACTC AAAGGAATTGACGGGGACC CGCACAAGCGGTGGAGCAT GTGGTTTAATTCGATGCAAC GCGAAAAACCTTACCACTT CTTGACATGAAAATCATACC TATTCGAAGGGATAGGGTC GGTTCGGCCGATTTTACA CAAGTGTTGCATGGCTGTC GTCAGCTCGTGTCGTGAGA TGTTGGGTTAAGTCCCGCA ACGAGCGCAACCCTCATCC TTAGTTGCCATCAGGTAATG CTGAGTACTTTAAGGAAACT GCCAGTGATAAGCTGGAGG AAGGTGGGGATGATGTCAA GTCATCATGGCCTTTATGG AGTGGGCTACACACGTGCT ACAATGGTGTCTACAATGG GCTGCAAGGTGCGCAAGCC TAAGCTAATCCCTAAAAGAC ATCTCAGTTCGATTGTACT CTGCAACTCGAGTACATGA AGTTGGAATCGCTAGTAAT
--	--	--

10

20

30

40

【0 1 8 0】

【表 4 2】

			CGTGGATCAGCATGCCACG GTGAATACGTTCTCGGGTC TTGTACACACTGCCCCGTCA CGCCATGGGAATTGGTTTC ACTCGAAGCTAATGGCCTA ACCGCAAGGAAGGAGTTAT TTAAAGTGGGATCAGTGAC TGGGGTGAAGTCGTAACAA GGTAGCAGTAGGGGAATCT GCAGCTGGATTACCTCCTT A (配列番号23)
パクテロイデス門(Bacteroidetes)			
ウジヌラ・ディアスピディコラ (<i>Uzinura diaspidicola</i>)	マル カイガラムシ類	バクテリオサイト	AAAGGAGATATTCCAACCA CACCTTCCGGTACGGTTAC CTTGTTACGACTTAGCCCTA GTCATCAAGTTTACCTTAGG CAGACCACTGAAGGATTAC TGACTTCAGGTACCCCGA CTCCCATGGCTTGACGGGC GGTGTGTACAAGGTTTCGAG AACATATTCACCGCGCCATT GCTGATGCGCGATTACTAG CGATTCTGCTTCATAGAGT CGAATTGCAGACTCCAATC CGAACTGAGACTGGTTTTA GAGATTAGCTCCTGATCAC CCAGTGGCTGCCCTTTGTA ACCAGCCATTGTAGCACGT GTGTAGCCCCAAGGCATAGA GGCCATGATGATTTGACAT CATCCCCACCTTCCTCACA GTTTACACCGGCAGTTTTGT TAGAGTCCCCGGCTTTACC CGATGGCAACTAACAATAG GGGTTGCGCTCGTTATAGG ACTTAACCAAACTTCACA GCACGAACTGAAGACAACC ATGCAGCACCTTGTAAATAC

10

20

30

40

【 0 1 8 1 】

【表 4 3】

			GTCGTATAGACTAAGCTGTT TCCAGCTTATTCGTAATACA TTTAAGCCTTGGTAAGGTTT CTCGCGTATCATCGAATTAA ACCACATGCTCCACCGCTT GTGCGAACCCCCGTC AATT CCTTTGAGTTTCAATCTTGC GACTGTACTTCCCAGGTGG ATCACTTATCGCTTTCGCTA AGCCACTGAATATCGTTTTT CCAATAGCTAGTGATCATC GTTTAGGGCGTG GACTACC AGGGTATCTAATCCTGTTTG CTCCCCACGCTTTCGTGCA CTGAGCGTCAGTAAAGATT TAGCAACCTGCCTTCGCTA TCGGTGTTCTGTATGATATC TATGCATTTACCGCTACAC CATACTTCCAGATGCTCCA ATCTTACTCAAGTTTACCAG TATCAATAGCAATTTTACAG TTAAGCTGTAAGCTTTCACT ACTGACTTAATAAACAGCCT ACACACCCTTTAAACCCAAT AAATCCGAATAACGCTTGT GTCATCCGTATTGCCGCGG CTGCTGGCACGGAATTAGC CGACACTTATTCGTATAGTA CCTTCAATCTCCTATCACGT AAGATATTTATTTCTATACA AAAGCAGTTTACAACCTAAA AGACCTTCATCCTGCACGC GACGTAGCTGGTTCAGAGT TTCCTCCATTGACCAATATT CCTCACTGCTGCCTCCCGT AGGAGTCTGGTCCGTGTCT CAGTACCAGTGTGGAGGTA CACCTCTTAGGCCCCCTA CTGATCATAGTCTTGGTAGA GCCATTACCTCACCACTAA
--	--	--	---

10

20

30

40

【 0 1 8 2 】

【表 4 4】

			CTAATCAAACGCAGGCTCA TCTTTTGCCACCTAAGTTTT AATAAAGGCTCCATGCAGA AACTTTATATTATGGGGGAT TAATCAGAATTTCTTCTGGC TATACCCCAGCAAAAGGTA GATTGCATACGTGTTACTCA CCCATTGCGCGGTCGCCGA CAAATTA AAAATTTTCGAT GCCCCTCGACTTGCATGTG TTAAGCTCGCCGCTAGCGT TAATTCTGAGCCAGGATCA AACTCTTCGTTGTAG (配列番号24)
スルキア・ミュエレリ (<i>Sulcia muelleri</i>)	緑青シャープ シューター (Blue-Green Sharpshooter) 及び他の幾つかの ヨコバイ種	バクテリオサイト	CTCAGGATAAACGCTAGCG GAGGGCTTAACACATGCAA GTGCGAGGGGCAGCAAAAT AATTATTTTGGCGACCGG CAAACGGGTGAGTAATACA TACGTAACCTTCCTTATGCT GAGGAATAGCCTGAGGAAA CTTGGATTAATACCTCATAA TACAATTTTTAGAAAGAAA AATTGTTAAAGTTTTATTAT GGCATAAGATAGGCGTATG TCCAATTAGTTAGTTGGTAA GGTAATGGCTTACCAAGAC GATGATTGGTAGGGGGCCT GAGAGGGGCGTCCCCCA CATTGGTACTGAGACACGG ACCAAACCTTCTACGGAAGG CTGCAGTGAGGAATATTGG TCAATGGAGGAACTCTGA ACCAGCCACTCCGCGTGCA GGATGAAAGAAAGCCTTAT TGGTTGTAACTGCTTTTGT ATATGAATAAAAAATTCTAA TTATAGAAATAATTGAAGGT AATATACGAATAAGTATCGA CTAACTCTGTGCCAGCAGT

10

20

30

40

【 0 1 8 3 】

50

【表 4 5】

			CGCGGTAAGACAGAGGATA CAAGCGTTATCCGGATTAT TGGGTTTAAAGGTGCGTA GGCGGTTTTTAAAGTCAGT AGTGAAATCTTAAAGCTTAA CTTTAAAAGTGCTATTGATA CTGAAAACTAGAGTAAGG TTGGAGTAACTGGAATGTG TGGTGTAGCGGTGAAATGC ATAGATATCACACAGAACAC CGATAGCGAAAGCAAGTTA CTAACCCTATACTGACGCT GAGTCACGAAAGCATGGGG AGCAAACAGGATTAGATAC CCTGGTAGTCCATGCCGTA AACGATGATCACTAACTATT GGGTTTTATACGTTGTAATT CAGTGGTGAAGCGAAAGTG TTAAGTGATCCACCTGAGG AGTACGACCGCAAGGTTGA AACTCAAAGGAATTGACGG GGGCCCCGACAATCGGTG GAGCATGTGGTTTAATTCG ATGATACACGAGGAACCTT ACCAAGACTTAAATGTACTA CGAATAAATTGGAACAATT TAGTCAAGCGACGGAGTAC AAGGTGCTGCATGGTTGTC GTCAGCTCGTGCCGTGAGG TGTAAGGTAAAGTCCTTTAA ACGAGCGCAACCCTTATTA TTAGTTGCCATCGAGTAATG TCAGGGGACTCTAATAAGA CTGCCGGCGCAAGCCGAG AGGAAGGTGGGGATGACGT CAAATCATCACGGCCCTTA CGTCTTGGGCCACACACGT GCTACAATGATCGGTACAA AAGGGAGCGACTGGGTGA CCAGGAGCAAATCCAGAAA
--	--	--	---

10

20

30

40

【 0 1 8 4】

【表 4 6】

			GCCGATCTAAGTTCGGATT GGAGTCTGAAACTCGACTC CATGAAGCTGGAATCGCTA GTAATCGTGCATCAGCCAT GGCACGGTGAATATGTTCC CGGGCCTTGTACACACCGC CCGTCAAGCCATGGAAGTT GGAAGTACCTAAAGTTGGT TCGCTACCTAAGGTAAGTC TAATAACTGGGGCTAAGTC GTAACAAGGTA (配列番号25)
酵母様			
シンビオタフリナ・ ブフネリ (<i>Symbiotaphrina</i> <i>buchneri</i>) 証拠標本JCM9740	シバンムシ ステゴビウム・ パニセウム (<i>Stegobium</i> <i>paniceum</i>)	前腸と 中腸との間の マイセトーム	AGATTAAGCCATGCAAGTC TAAGTATAAGNAATCTATAC NGTGAAACTGCGAATGGCT CATTAAATCAGTTATCGTTT ATTTGATAGTACCTTACTAC ATGGATAACCGTGGTAATT CTAGAGCTAATACATGCTAA AAACCCCGACTTCGGAAGG GGTGTATTTATTAGATAAAA AACCAATGCCCTTCGGGGC TCCTTGGTGATTCATGATAA CTTAACGAATCGCATGGCC TTGCGCCGGCGATGGTTCA TTCAAATTTCTGCCCTATCA ACTTTCGATGGTAGGATAG TGGCCTACCATGGTTTTAAC GGGTAACGGGGAATTAGGG TTCGATTCCGGAGAGGGAG CCTGAGAAACGGCTACCAC ATCCAAGGAAGGCAGCAGG CGCGCAAATTACCCAATCC CGACACGGGGAGGTAGTG ACAATAAATACTGATACAGG GCTCTTTTGGGTCTTGTAAT TGGAATGAGTACAATTTAAA TCCCTTAACGAGGAACAATT

10

20

30

40

【0 1 8 5】

【表 4 7】

			GGAGGGCAAGTCTGGTGC CAGCAGCCGCGGTAATTCC AGCTCCAATAGCGTATATTA AAGTTGTTGCAGTTAAAAAG CTCGTAGTTGAACCTTGGG CCTGGCTGGCCGGTCCGC CTAACCGCGTGTACTGGTC CGGCCGGGCCTTTCTTCT GGGGAGCCGCATGCCCTTC ACTGGGTGTGTCGGGGAAC CAGGACTTTTACTTTGAAAA AATTAGAGTGTTCAAAGCA GGCCTATGCTCGAATACAT TAGCATGGAATAATAGAATA GGACGTGCGGTTCTATTTT GTTGGTTTCTAGGACCGCC GTAATGATTAATAGGGATAG TCGGGGGCATCAGTATTCA ATTGTCAGAGGTGAAATTCT TGGATTTATTGAAGACTAAC TACTGCGAAAGCATTGCGC AAGGATGTTTTCATTAAATCA GTGAACGAAAGTTAGGGGA TCGAAGACGATCAGATACC GTCGTAGTCTTAACCATAAA CTATGCCGACTAGGGATCG GGCGATGTTATTATTTGAC TCGCTCGGCACCTTACGAG AAATCAAAGTCTTTGGGTTT TGGGGGGAGTATGGTCGCA AGGCTGAAACTTAAAGAAAT TGACGGAAGGGCACCACCA GGAGTGGAGCCTGCGGCTT AATTTGACTCAACACGGGG AAACTCACCAGGTCCAGAC ACATTAAGGATTGACAGATT GAGAGCTCTTTCTTGATTAT GTGGGTGGTGGTGCATGG CCGTTCTTAGTTGGTGGAG TGATTTGTCTGCTTAATTGC
--	--	--	---

10

20

30

40

【0 1 8 6】

【表 4 8】

			GATAACGAACGAGACCTTA ACCTGCTAAATAGCCCGGT CCGCTTTGGCGGGCCGCT GGCTTCTTAGAGGGACTAT CGGCTCAAGCCGATGGAAG TTTGAGGCAATAACAGGTC TGTGATGCCCTTAGATGTTC TGGGCCGCACGCGCGCTA CACTGACAGAGCCAACGAG TAAATCACCTTGCCCGAA GGTCTGGGTAATCTTGTTAA ACTCTGTCGTGCTGGGGAT AGAGCATTGCAATTATTGCT CTTCAACGAGGAATTCCTA GTAAGCGCAAGTCATCAGC TTGCGCTGATTACGTCCCT GCCCTTTGTACACACCGCC CGTCGCTACTACCGATTGA ATGGCTCAGTGAGGCCTTC GGACTGGCACAGGGACGTT GGCAACGACGACCCAGTGC CGGAAAGTTGGTCAAACCTT GGTCATTTAGAGGAAGTAA AAGTCGTAACAAGGTTTCC GTAGGTGAACCTGCGGAAG GATCATTA (配列番号26)
シンビオタフリナ・コッホイ (<i>Symbiotaphrina kochii</i>) 証拠標本CBS 589.63	シバンムシ ラシオデルマ・ セリコルネ (<i>Lasioderma serricorne</i>)	マイセトーム	TACCTGGTTGATTCTGCCA GTAGTCATATGCTTGCTCA AAGATTAAGCCATGCAAGT CTAAGTATAAGCAATCTATA CGGTGAAACTGCGAATGGC TCATTAAATCAGTTATCGTT TATTTGATAGTACCTTACTA CATGGATAACCGTGGTAAT TCTAGAGCTAATACATGCTA AAAACCTCGACTTCGGAAG GGGTGTATTTATTAGATAAA AAACCAATGCCCTTCGGGG CTCCTTGGTGATTGATGATA

【0 1 8 7】

10

20

30

40

50

【表 4 9】

		ACTTAACGAATCGCATGGC CTTGCGCCGGCGATGGTTC ATTCAAATTTCTGCCCTATC AACTTTTCGATGGTAGGATA GTGGCCTACCATGGTTTCA ACGGGTAACGGGGAATTAG GGTTTCGATTCCGGAGAGGG AGCCTGAGAAACGGCTACC ACATCCAAGGAAGGCAGCA GGCGCGCAAATTACCCAAT CCCGACACGGGGAGGTAG TGACAATAAATACTGATACA GGGCTCTTTTGGGTCTTGT AATTGGAATGAGTACAATTT AAATCCCTTAACGAGGAAC AATTGGAGGGCAAGTCTGG TGCCAGCAGCCGCGGTAAT TCCAGCTCCAATAGCGTAT ATTAAAGTTGTTGCAGTTAA AAAGCTCGTAGTTGAACCTT GGGCCTGGCTGGCCGGTC CGCCTAACCGCGTGTACTG GTCCGGCCGGGCCCTTCCT TCTGGGGAGCCGCATGCCC TTCACTGGGTGTGTCGGGG AACCAGGACTTTTACTTTGA AAAAATTAGAGTGTTCAAAG CAGGCCTATGCTCGAATAC ATTAGCATGGAATAATAGAA TAGGACGTGTGGTTCTATTT TGTTGGTTTCTAGGACCGC CGTAATGATTAATAGGGATA GTCGGGGGCATCAGTATTC AATTGTCAGAGGTGAAATTC TTGGATTTATTGAAGACTAA CTA CTGCGAAAGCATTTGC CAAGGATGTTTTCATTAATC AGTGAACGAAAGTTAGGGG ATCGAAGACGATCAGATAC CGTCGTAGTCTTAACCATAA
--	--	---

10

20

30

40

【0 1 8 8】

【表 5 0】

		ACTATGCCGACTAGGGATC GGGCGATGTTATTATTTGA CTCGCTCGGCACCTTACGA GAAATCAAAGTCTTTGGGT CTGGGGGAGTATGGTCG CAAGGCTGAACTTAAAGA AATTGACGGAAGGGCACCA CCAGGAGTGGAGCCTGCG GCTTAATTTGACTCAACACG GGGAACTCACCAGGTCCA GACACATTAAGGATTGACA GATTGAGAGCTCTTCTTGA TTATGTGGGTGGTGGTGCA TGGCCGTTCTTAGTTGGTG GAGTGATTTGTCTGCTTAAT TGCATAACGAACGAGACC TTAACCTGCTAAATAGCCC GGTCCGCTTTGGCGGGCC GCTGGCTTCTTAGAGGGAC TATCGGCTCAAGCCGATGG AAGTTTGAGGCAATAACAG GTCTGTGATGCCCTTAGAT GTTCTGGGCCGCACGCGC GCTACACTGACAGAGCCAA CGAGTACATCACCTTGCC GGAAGGTCTGGGTAATCTT GTTAACTCTGTGCTGCTG GGGATAGAGCATTGCAATT ATTGCTCTTCAACGAGGAAT TCCTAGTAAGCGCAAGTCA TCAGCTTGCGCTGATTACG TCCCTGCCCTTTGTACACA CCGCCCGTCGCTACTACCG ATTGAATGGCTCAGTGAGG CCTTCGACTGGCACAGGG ACGTTGGCAACGACGACCC AGTGCCGGAAGTTCGTCA AACTTGGTCATTTAGAGGAA GNNNAAGTCGTAACAAGGT
--	--	---

10

20

30

40

【0 1 8 9】

【表 5 1】

			TTCCGTAGGTGAACCTGCG GAAGGATCATT (配列番号27)
一次細胞外共生体	宿主	部位	16 rRNA
フェニトロチオン分解 細菌			
バークホルデリア属種 (<i>Burkholderia</i> sp.) SFA1	ホソヘリカメムシ (<i>Riptortus</i> <i>pedestris</i>)	腸	AGTTTGATCCTGGCTCAGA TTGAACGCTGGCGGCATGC CTTACACATGCAAGTCGAA CGGCAGCACGGGGGCAAC CCTGGTGGCGAGTGGCGA ACGGGTGAGTAATACATCG GAACGTGTCCTGTAGTGGG GGATAGCCCGGCGAAAGC CGGATTAATACCGCATACG ACCTAAGGGAGAAAGCGGG GGATCTTCGGACCTCGCGC TATAGGGGCGGCCGATGG CAGATTAGCTAGTTGGTGG GGTAAAGGCCTACCAAGGC GACGATCTGTAGCTGGTCT GAGAGGACGACCAGCCACA CTGGGACTGAGACACGGCC CAGACTCCTACGGGAGGCA GCAGTGGGGAATTTTGGAC AATGGGGGCAACCCTGATC CAGCAATGCCGCGTGTGTG AAGAAGGCTTCGGGTTGTA AAGCACTTTTGTCCGAAA GAAAACTTCGTCCCTAATAT GGATGGAGGATGACGGTAC CGGAAGAATAAGCACCGGC TAACTACGTGCCAGCAGCC GCGGTAATACGTAGGGTGC GAGCGTTAATCGGAATTAC TGGGCGTAAAGCGTGCGCA GGCGGTCTGTTAAGACCGA TGTGAAATCCCCGGGCTTA

10

20

30

40

【0 1 9 0】

50

【表 5 2】

		ACCTGGGAACTGCATTGGT GACTGGCAGGCTTTGAGTG TGGCAGAGGGGGGTAGAAT TCCACGTGTAGCAGTGAAA TGCGTAGAGATGTGGAGGA ATACCGATGGCGAAGGCAG CCCCCTGGGCCAACTACTG ACGCTCATGCACGAAAGCG TGGGGAGCAAACAGGATTA GATACCCTGGTAGTCCACG CCCTAAACGATGTCAACTA GTTGTTGGGGATTCAATTC TTAGTAACGTAGCTAACGC GTGAAGTTGACCGCCTGGG GAGTACGGTCGCAAGATTA AAACTCAAAGGAATTGACG GGGACCCGACAAAGCGGT GGATGATGTGGATTAATTC GATGCAACGCGAAAAACCT TACCTACCCTTGACATGGT CGGAACCCTGCTGAAAGGT GGGGGTGCTCGAAAGAGAA CCGGCGCACAGGTGCTGC ATGGCTGTCGTCAGCTCGT GTCGTGAGATGTTGGGTTA AGTCCCGCAACGAGCGCAA CCCTTGTCCTTAGTTGCTAC GCAAGAGCACTCTAAGGAG ACTGCCGGTGACAAACCGG AGGAAGGTGGGGATGACGT CAAGTCCTCATGGCCCTTA TGGGTAGGGCTTCACACGT CATACAATGGTCGGAACAG AGGGTTGCCAAGCCGCGA GGTGGAGCCAATCCCAGAA AACCGATCGTAGTCCGGAT CGCAGTCTGCAACTCGACT GCGTGAAGCTGGAATCGCT AGTAATCGCGGATCAGCAT GCCGCGGTGAATACGTTCC
--	--	--

10

20

30

40

【0 1 9 1】

【表 5 3】

			CGGGTCTTGTACACACCGC CCGTCACACCATGGGAGTG GGTTTCACCAGAAGTAGGT AGCCTAACCGCAAGGAGGG CGCTTACCACGGTGGGATT CATGACTGGGGTGAAGTCG TAACAAGGTAGC (配列番号28)
バークホルデリア属種 (<i>Burkholderia</i> sp.) KM-A	ホソヘリカメムシ (<i>Riptortus</i> <i>pedestris</i>)	腸	GCAACCCTGGTGGCGAGTG GCGAACGGGTGAGTAATAC ATCGGAACGTGTCCTGTAG TGGGGGATAGCCCCGGCGA AAGCCGGATTAATACCGCA TACGATCTACGGAAGAAAG CGGGGGATCCTTCGGGAC CTCGCGCTATAGGGGCGG CCGATGGCAGATTAGCTAG TTGGTGGGGTAAAGGCCTA CCAAGGCGACGATCTGTAG CTGGTCTGAGAGGACGACC AGCCACACTGGGACTGAGA CACGGCCCAGACTCCTACG GGAGGCAGCAGTGGGGAA TTTTGGACAATGGGGGCAA CCCTGATCCAGCAATGCCG CGTGTGTGAAGAAGGCCTT CGGGTTGTAAAGCACTTTT GTCCGGAAGAAAACGTCT TGGTTAATACCTGAGGCGG ATGACGGTACCGGAAGAAT AAGCACCGGCTAACTACGT GCCAGCAGCCGCGTAATA CGTAGGGTGCGAGCGTTAA TCGGAATTACTGGGCGTAA AGCGTGCGCAGGCGGTCT GTTAAGACCGATGTGAAAT CCCCGGGCTTAACCTGGGA ACTGCATTGGTGAAGTGGCA GGCTTTGAGTGTGGCAGAG GGGGGTAGAATTCCACGTG

10

20

30

40

【 0 1 9 2 】

【表 5 4】

			TAGCAGTGAAATGCGTAGA GATGTGGAGGAATACCGAT GGCGAAGGCAGCCCCCTG GGCCAACACTGACGCTCAT GCACGAAAGCGTGGGGAG CAAACAGGATTAGATACCC TGGTAGTCCACGCCCTAAA CGATGTCAACTAGTTGTTG GGGATTTCATTTCTTAGTAA CGTAGCTAACGCGTGAAGT TGACCGCCTGGGGAGTACG GTCGCAAGATTAAACTCAA AGGAATTGACGGGGACCCG CACAAGCGGTGGATGATGT GGATTAATTCGATGCAACG CGAAAAACCTTACCTACCCT TGACATGGTCGGAAGTCTG CTGAGAGGTGGACGTGCTC GAAAGAGAACCGGCGCACA GGTGCTGCATGGCTGTCGT CAGCTCGTGTGCTGAGATG TTGGGTAAAGTCCCGCAAC GAGCGCAACCCTTGTCCTT AGTTGCTACGCAAGAGCAC TCTAAGGAGACTGCCGGTG ACAAACCGGAGGAAGGTGG GGATGACGTCAAGTCCTCA TGGCCCTTATGGGTAGGGC TTCACACGTCATACAATGGT CGGAACAGAGGGTTGCCAA GCCGCGAGGTGGAGCCAA TCCCAGAAAACCGATCGTA GTCCGGATCGCAGTCTGCA ACTCGACTGCGTGAAGCTG GAATCGCTAGTAATCGCGG ATCAGCATGCCGCGGTGAA TACGTTCCCGGGTCTTGTA CACACCGCCCGTCACACCA TGGGAGTGGGTTTCACCAG AAGTAGGTAGCCTAACCGC
--	--	--	--

10

20

30

40

【0 1 9 3】

50

【表 5 5】

			AAGGAGGGCGCTTACCACG GTGGGATTTCATGACTGGGG TGAAGT (配列番号29)
バークホルデリア属種 (Burkholderia sp.) KM-G	ホソヘリカメムシ (Riptortus pedestris)	腸	GCAACCCTGGTGGCGAGTG GCGAACGGGTGAGTAATAC ATCGGAACGTGTCCTGTAG TGGGGGATAGCCCGGCGA AAGCCGGATTAATACCGCA TACGACCTAAGGGAGAAAG CGGGGGATCTTCGGACCTC GCGCTATAGGGGCGGCCG ATGGCAGATTAGCTAGTTG GTGGGGTAAAGGCCTACCA AGGCGACGATCTGTAGCTG GTCTGAGAGGACGACCAGC CACACTGGGACTGAGACAC GGCCCAGACTCCTACGGGA GGCAGCAGTGGGGAATTTT GGACAATGGGGGCAACCCCT GATCCAGCAATGCCGCGTG TGTGAAGAAGGCCTTCGGG TTGTAAAGCACTTTTGTCCG GAAAGAAAACCTTCGAGGTT AATACCCTTGAGGATGAC GGTACCGGAAGAATAAGCA CCGGCTAACTACGTGCCAG CAGCCGCGTAATACGTAG GGTGCGAGCGTTAATCGGA ATTACTGGGCGTAAAGCGT GCGCAGGCGGTCTGTTAAG ACCGATGTGAAATCCCCGG GCTTAACCTGGGAACTGCA TTGGTGA CTGGCAGGCTTT GAGTGTGGCAGAGGGGGG TAGAATTCCACGTGTAGCA GTGAAATGCGTAGAGATGT GGAGGAATACCGATGGCGA AGGCAGCCCCCTGGGCCA ACACTGACGCTCATGCACG

10

20

30

40

【 0 1 9 4】

50

【表 5 6】

			AAAGCGTGGGGAGCAAACA GGATTAGATACCCTGGTAG TCCACGCCCTAAACGATGT CAACTAGTTGTTGGGGATT CATTTCTTAGTAACGTAGC TAACGCGTGAAGTTGACCG CCTGGGGAGTACGGTCGCA AGATTAAACTCAAAGGAAT TGACGGGGACCCGCACAA GCGGTGGATGATGTGGATT AATTCGATGCAACGCGAAA AACCTTACCTACCCTTGACA TGGTCGGAAGTCTGCTGAG AGGTGGACGTGCTCGAAAG AGAACCGGCGCACAGGTG CTGCATGGCTGTCGTCAGC TCGTGTCGTGAGATGTTGG GTTAAGTCCCGCAACGAGC GCAACCCTTGTCCTTAGTT GCTACGCAAGAGCACTCTA AGGAGACTGCCGGTGACAA ACCGGAGGAAGGTGGGGA TGACGTCAAGTCCTCATGG CCCTTATGGGTAGGGCTTC ACACGTCATACAATGGTCG GAACAGAGGGTTGCCAAGC CGCGAGGTGGAGCCAATCC CAGAAAACCGATCGTAGTC CGGATCGCAGTCTGCAACT CGACTGCGTGAAGCTGGAA TCGCTAGTAATCGCGGATC AGCATGCCGCGGTGAATAC GTTCCCGGCTCTGTACAC ACCGCCCGTCAACCATGG GAGTGGGTTTCACCAGAAG TAGGTAGCCTAACCTGCAA AGGAGGGCGCTTACCACG (配列番号30)
センチュウ類			

10

20

30

40

【 0 1 9 5 】

50

【表 5 7】

キシフィネマトバクター 属種 (<i>Xiphinematobacter</i> sp.)	アメリカオオハリ センチュウ (<i>Xiphinema americanum</i>)	卵巣、 発育卵、 及び腸壁	GCAAGTCGAACGGAGTGGA ACCTGCAGTAATGCAGATT CGATTCACTGGCGTACGGG TGCGTAACACGTGAGTGAT CTACCGGTAAGTGGGGGAT AACCCGCCGAAAGGCGAAT TAATACCGCATGTGGCTAG GGATGCCTTCATCCTGTAG CTAAAGTCGATTTTGACGCT TTCTGATGAGCTCGCGGCC TATCAGCTTGTTGGTGAG GTAATGGCCACCAAGGCA ATGACGGGTAGCTGGTCTG AGAGGACGATCAGCCACAC TGGAAGTGAACACGGTCC AGACACCTACGGGTGGCAG CAGTCGAGAATTTTTCACAA TGGGGGAAACCCTGATGAA GCAACGCCCGCTGGAGGA TGAAGGGCTTCGCGCTCGT AAACTCCTGTCAAGCGGGA ACAAGAAAGTGATAGTACC GCTAGAGGAAGAGACGGCT AACTCTGTGCCAGCAGCCG CGGTAATACAGAGGTCTCG AGCGTTGTTCCGATTATTG GGCGTAAAGGGTGCGTAG GCGGTGTGGCAAGTCAAGT GTGAA (配列番号31)
バナネモグリセンチュウ(<i>Radopholus similis</i>)			
ボルバキア属種 (<i>Wolbachia</i> sp.) wOo	オンコケルカ・ オケンギ (<i>Onchocerca ochengi</i>)	線虫の長さに 沿って伸びる 体性角皮下索 及び雌の性腺の 胚帯内	ATGACACACATACCGGTTTT ACTAAAAGAAATGCTATCGC AACTTTCACCACAAAATGGT AGTGTATATGTGGATGCCA CATTTGGAGCTGGAGGATA TAGTAAAGCAATATTGGAGT CAGCTGATTGCAGAGTGTA TGCAATCGACAGAGATGAA

【 0 1 9 6 】

10

20

30

40

50

【表 5 8】

		ACGGTTATTAAATTTTATAA TAGTTTGAATACCAAGTACC ACGGTAAAATAAACTATTT ATTGAAAAGTTTAGCAATAT TCAAACATACTAAACAGTA GTAATCTCAAACACTTTACA GAACCTTCCGTCATTGTTTC AGCTGGAATTCAGAAAAAA AATGCAAGGTCAAGCACCG AGATGATACAAAGTAATACC GTAGATGGAGTTGTGTTCCG ATATAGGAGTATCGTCTATG CAGCTTGATGAAGAAAATA GAGGATTTTCATTTTACAT AACAGTCCGCTTGATATGC GCATGGATACCTCTTCTCA CATTAACGCTTCAATATTTG TTAATGCCTTACGCGAAGA AGAAATTGCAAACACTATAT ATAGCTATGGAGGTGAACG TTATTCTCGCAAATTGCAA GAGCAATAGTGAACGTACG TAAGAAAAAACTATCGACA CTACATTTGAGCTTGCAGA CATTGTACGTTCCGTGGTAT CTCGCGGAAAAAGCAAGAT TGATCCTGCAACTAGGACA TTTCAAGCAATCAGAATATG GGTAAACGATGAGCTTAGA GAGCTTGAAAAGGGTATTA AAGCTGCATCCAAATCTTA AATAGGAATGGCAAGCTGA TTGTCATTACTTTTCATTCC TTGGAAGATCGTATAGTCAA GACCTTTTTTAAAGGCTTAT GTGAGCCAAAATTCACCAA CTGTAGAACGTTTTCTCTTC TGAATAAAAAAGTAATCAAG GCAAGCGCAGAAGAAATAA GTGCAAATCCACGTGCGCG
--	--	---

10

20

30

40

【0 1 9 7】

50

【表 5 9】

			TTCAGCAAACTAAGAGCTA TACAAAGGTTATTATGA (配列番号32)
スノッドグラセラ・アルビ (<i>Snodgrassella alvi</i>)	ミツバチ (アピス・ メリフェラ (<i>Apis mellifera</i>)) 及び マルハナバチ 属種 (<i>Bombus</i> spp.)	回腸	GAGAGTTTGATCCTGGGCTC AGATTGAACGCTGGCGGCA TGCCTTACACATGCAAGTC GAACGGCAGCACGGAGAG CTTGCTCTCTGGTGGCGAG TGGCGAACGGGTGAGTAAT GCATCGGAACGTACCGAGT AATGGGGGATAACTGTCCG AAAGGATGGCTAATACCGC ATACGCCCTGAGGGGGAAA GCGGGGGATCGAAAGACCT CGCGTTATTTGAGCGGCCG ATGTTGGATTAGCTAGTTG GTGGGGTAAAGGCCTACCA AGGCGACGATCCATAGCGG GTCTGAGAGGATGATCCGC CACATTGGGACTGAGACAC GGCCCAAACCTACGGGA GGCAGCAGTGGGGAATTTT GGACAATGGGGGGAACCT GATCCAGCCATGCCGCGTG TCTGAAGAAGGCCTTCGGG TTGTAAAGGACTTTTGTTAG GGAAGAAAAGCCGGGTGTT AATACCATCTGGTGCTGAC GGTACCTAAAGAATAAGCA CCGGCTAACTACGTGCCAG CAGCCGCGGTAATACGTAG GGTGCGAGCGTTAATCGGA ATTACTGGGCGTAAAGCGA GCGCAGACGGTTAATTAAG TCAGATGTGAAATCCCCGA GCTCAACTTGGGACGTGCA TTTGAACTGGTTAACTAGA GTGTGTCAGAGGGAGGTAG AATTCCACGTGTAGCAGTG AAATGCGTAGAGATGTGGA

10

20

30

40

【 0 1 9 8 】

50

【表 6 0】

			GGAATACCGATGGCGAAGG CAGCCTCCTGGGATAACAC TGACGTTTCATGCTCGAAAG CGTGGGTAGCAAACAGGAT TAGATACCCTGGTAGTCCA CGCCCTAAACGATGACAAT TAGCTGTTGGGACACTAGA TGTCTTAGTAGCGAAGCTA ACGCGTGAAATTGTCCGCC TGGGGAGTACGGTCGCAAG ATTAAACTCAAAGGAATTG ACGGGGACCCGCACAAGC GGTGGATGATGTGGATTAA TTCGATGCAACGCGAAGAA CCTTACCTGGTCTTGACAT GTACGGAATCTCTTAGAGA TAGGAGAGTGCCTTCGGGA ACCGTAACACAGGTGCTGC ATGGCTGTCGTCAGCTCGT GTCGTGAGATGTTGGGTTA AGTCCCGCAACGAGCGCAA CCCTTGTCATTAGTTGCCAT CATTAAAGTTGGGCACTCTAA TGAGACTGCCGGTGACAAA CCGGAGGAAGGTGGGGAT GACGTCAAGTCCTCATGGC CCTTATGACCAGGGCTTCA CACGTCATACAATGGTCGG TACAGAGGGTAGCGAAGCC GCGAGGTGAAGCCAATCTC AGAAAGCCGATCGTAGTCC GGATTGCACTCTGCAACTC GAGTGCATGAAGTCGGAAT CGCTAGTAATCGCAGGTCA GCATACTGCCGTGAATACG TTCCCGGGTCTTGACACA CCGCCCCGTCACACCATGGG AGTGGGGGATACCAGAATT GGGTAGACTAACCGCAAGG AGGTCGCTTAACACGGTAT
--	--	--	--

10

20

30

40

【 0 1 9 9】

50

【表 6 1】

			GCTTCATGACTGGGGTGAA GTCGTAACAAGGTAGCCGT AG (配列番号33)
ギリアメラ・アピコラ (<i>Gilliamella apicola</i>)	ミツバチ (アピス・ メリフェラ (<i>Apis mellifera</i>)) 及び マルハナバチ 属種 (<i>Bombus</i> spp.)	回腸	TTAAATTGAAGAGTTTGATC ATGGCTCAGATTGAACGCT GGCGGCAGGCTTAACACAT GCAAGTCGAACGGTAACAT GAGTGCTTGCACTTGATGA CGAGTGGCGGACGGGTGA GTAAAGTATGGGGATCTGC CGAATGGAGGGGACAACA GTTGGAAACGACTGCTAAT ACCGCATAAAGTTGAGAGA CCAAAGCATGGGACCTTCG GGCCATGCGCCATTTGATG AACCCATATGGGATTAGCT AGTTGGTAGGGTAATGGCT TACCAAGGCGACGATCTCT AGCTGGTCTGAGAGGATGA CCAGCCACACTGGAAGTGA GACACGGTCCAGACTCCTA CGGGAGGCAGCAGTGGGG AATATTGCACAATGGGGGA AACCCTGATGCAGCCATGC CGCGTGTATGAAGAAGGCC TTCGGGTTGTAAAGTACTTT CGGTGATGAGGAAGGTGGT GTATCTAATAGGTGCATCAA TTGACGTTAATTACAGAAGA AGCACCGGCTAACTCCGTG CCAGCAGCCGCGTAATAC GGAGGGTGCGAGCGTTAAT CGGAATGACTGGGCGTAAA GGGCATGTAGGCGGATAAT TAAGTTAGGTGTGAAAGCC CTGGGCTCAACCTAGGAAT TGCACTTAAACTGGTTAAC TAGAGTATTGTAGAGGAAG GTAGAATTCCACGTGTAGC

10

20

30

40

【 0 2 0 0 】

50

【表 6 2】

			GGTGAAATGCGTAGAGATG TGGAGGAATACCGGTGGCG AAGGCGGCCTTCTGGACAG ATACTGACGCTGAGATGCG AAAGCGTGGGGAGCAAACA GGATTAGATACCCTGGTAG TCCACGCTGTAAACGATGT CGATTTGGAGTTTGTTCCT AGAGTGATGGGCTCCGAAG CTAACGCGATAAATCGACC GCCTGGGGAGTACGGCCG CAAGGTTAAAACTCAAATGA ATTGACGGGGGCCCCGACA AGCGGTGGAGCATGTGGTT TAATTCGATGCAACGCGAA GAACCTTACCTGGTCTTGA CATCCACAGAATCTTGCA AGATGCGGGAGTGCCCTCG GGAAGTGTGAGACAGGTGC TGCATGGCTGTCGTCAGCT CGTGTTGTGAAATGTTGGG TTAAGTCCCGCAACGAGCG CAACCCCTTATCCTTTGTTGC CATCGGTTAGGCCGGGAAC TCAAAGGAGACTGCCGTTG ATAAAGCGGAGGAAGGTGG GGACGACGTCAAGTCATCA TGGCCCTTACGACCAGGGC TACACACGTGCTACAATGG CGTATACAAAGGGAGGCGA CCTCGCGAGAGCAAGCGG ACCTCATAAAGTACGTCTAA GTCCGGATTGGAGTCTGCA ACTCGACTCCATGAAGTCG GAATCGCTAGTAATCGTGA ATCAGAATGTCACGGTGAA TACGTTCCCGGGCCTTGTA CACACCGCCCGTCACACCA TGGGAGTGGGTTGCACCAG AAGTAGATAGCTTAACCTTC
--	--	--	--

10

20

30

40

【 0 2 0 1】

【表 6 3】

			GGGAGGGCGTTTACCACG GTGTGGTCCATGACTGGGG TGAAGTCGTAACAAGGTAA CCGTAGGGGAACCTGCGGT TGGATCACCTCCTTAC (配列番号34)
バルトネラ・アピス (<i>Bartonella apis</i>)	ミツバチ (アピス・ メリフェラ (<i>Apis mellifera</i>))	腸	AAGCCAAAATCAAATTTTCA ACTTGAGAGTTTGATCCTG GCTCAGAACGAACGCTGGC GGCAGGCTTAACACATGCA AGTCGAACGCACTTTTCGG AGTGAGTGGCAGACGGGT GAGTAACGCGTGGGAATCT ACCTATTTCTACGGAATAAC GCAGAGAAATTTGTGCTAAT ACCGTATACGTCCTTCGGG AGAAAGATTTATCGGAGATA GATGAGCCCGCGTTGGATT AGCTAGTTGGTGAGGTAAT GGCCCACCAAGGCGACGAT CCATAGCTGGTCTGAGAGG ATGACCAGCCACATTGGGA CTGAGACACGGCCGAGACT CCTACGGGAGGCAGCAGT GGGGAATATTGGACAATGG GCGCAAGCCTGATCCAGCC ATGCCGCGTGAGTGATGAA GGCCCTAGGTTGTAAAGC TCTTTCACCGGTGAAGATAA TGACGGTAACCGGAGAAGA AGCCCCGGCTAACTTCGTG CCAGCAGCCGCGGTAATAC GAAGGGGGCTAGCGTTGTT CGGATTTACTGGGCGTAAA GCGCACGTAGGCGGATATT TAAGTCAGGGGTGAAATCC CGGGGCTCAACCCCGGAA CTGCCTTTGATACTGGATAT CTTGAGTATGGAAGAGGTA AGTGAATTCGAGTGTAG

10

20

30

40

【 0 2 0 2 】

50

【表 6 4】

		AGGTGAAATTCGTAGATATT CGGAGGAACACCAAGTGGC GAAGGCGGCTTACTGGTCC ATTACTGACGCTGAGGTGC GAAAGCGTGGGGAGCAAAC AGGATTAGATACCCTGGTA GTCCACGCTGTAAACGATG AATGTTAGCCGTTGGACAG TTTACTGTTGCGTGGCGCA GCTAACGCATTAAACATTCC GCCTGGGGAGTACGGTCG CAAGATTAAAACTCAAAGGA ATTGACGGGGGCCCCGACA AGCGGTGGAGCATGTGGTT TAATTCGAAGCAACGCGCA GAACCTTACCAGCCCTTGA CATCCCGATCGCGGATGGT GGAGACACCGTCTTTCACT TCGGCTGGATCGGTGACAG GTGCTGCATGGCTGTCGTC AGCTCGTGTCGTGAGATGT TGGGTTAAGTCCCGCAACG AGCGCAACCCTCGCCCTTA GTTGCCATCATTTAGTTGG GCACTCTAAGGGGACTGCC GGTGATAAGCCGAGAGGAA GGTGGGGATGACGTCAAGT CCTCATGGCCCTTACGGGC TGGGCTACACACGTGCTAC AATGGTGGTGACAGTGGGC AGCGAGACCGCGAGGTCG AGCTAATCTCCAAAAGCCAT CTCAGTTCGGATTGCACTC TGCAACTCGAGTGCATGAA GTTGGAATCGCTAGTAATC GTGGATCAGCATGCCACGG TGAATACGTTCCCGGGCCT TGTACACACCGCCCGTCAC ACCATGGGAGTTGGTTTTA CCCGAAGGTGCTGTGCTAA
--	--	--

10

20

30

40

【 0 2 0 3 】

50

【表 6 5】

			CCGCAAGGAGGCAGGCAA CCACGGTAGGGTCAGCGAC TGGGGTGAAGTCGTAACAA GGTAGCCGTAGGGGAACCT GCGGCTGGATCACCTCCTT TCTAAGGAAGATGAAGAATT GGAA (配列番号35)
パラサッカリバクター・ アピウム (<i>Parasaccharibacter apium</i>)	ミツバチ (アピス・ メリフェラ (<i>Apis mellifera</i>))	腸	CTACCATGCAAGTCGCACG AAACCTTTCTGGGGTTAGTG GCGGACGGGTGAGTAACG CGTTAGGAACCTATCTGGA GGTGGGGGATAACATCGG GAAACTGGTGCTAATACCG CATGATGCCTGAGGGCCAA AGGAGAGATCCGCCATTGG AGGGGCCTGCGTTCGATTA GCTAGTTGGTTGGGTAAAG GCTGACCAAGGCGATGATC GATAGCTGGTTTGAGAGGA TGATCAGCCACACTGGGAC TGAGACACGGCCCAGACTC CTACGGGAGGCAGCAGTG GGGAATATTGGACAATGGG GGCAACCCTGATCCAGCAA TGCCGCGTGTGTGAAGAAG GTCTTCGGATTGTAAAGCA CTTTCAGTAGGGAAGATGA TGACGGTACCTAGAGAAGA AGCCCCGGCTAACTTCGTG CCAGCAGCCGCGGTAATAC GAAGGGGGCTAGCGTTGCT CGGAATGACTGGGCGTAAA GGGCGCGTAGGCTGTTTGT ACAGTCAGATGTGAAATCC CCGGGCTTAACCTGGGAAC TGCATTTGATACGTGCAGA CTAGAGTCCGAGAGAGGGT TGTGGAATCCCAAGTGTAG AGGTGAAATTCGTAGATATT

10

20

30

40

【 0 2 0 4】

50

【表 6 6】

			GGGAAGAACACCGGTTGCG AAGGCGGCAACCTGGCTNN NNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNGAGCTAACGCGTTAA GCACACCGCCTGGGGAGTA CGGCCGCAAGGTTGAACT CAAAGGAATTGACGGGGGC CCGCACAAGCGGTGGAGC ATGTGGTTTAATTCGAAGCA ACGCGCAGAACCTTACCAG GGCTTGCATGGGGAGGCT GTATTCAGAGATGGATATTT CTTCGGACCTCCCGCACAG GTGCTGCATGGCTGTCGTC AGCTCGTGTCGTGAGATGT TGGGTAAAGTCCCGCAACG AGCGCAACCCTTGTCTTTA GTTGCCATCACGTCTGGGT GGGCACTCTAGAGAGACTG CCGGTGACAAGCCGGAGG AAGGTGGGGATGACGTCAA GTCCTCATGGCCCTTATGT CCTGGGCTACACACGTGCT ACAATGGCGGTGACAGAGG GATGCTACATGGTGACATG GTGCTGATCTCAAAAACC GTCTCAGTTCGGATTGTACT CTGCAACTCGAGTGCATGA AGGTGGAATCGCTAGTAAT CGCGGATCAGCATGCCGC GGTGAATACGTTCCCGGGC CTTGACACACCGCCCGTC ACACCATGGGAGTTGGTTT GACCTTAAGCCGGTGAGCG AACCGCAAGGAACGCAGCC
--	--	--	--

10

20

30

40

【 0 2 0 5】

【表 6 7】

			GACCACCGGTTGCGGGTTCA GCGACTGGGGGA (配列番号36)
ラクトバチルス・クンケイ (<i>Lactobacillus kunkeei</i>)	ミツバチ (アピス・ メリフェラ (<i>Apis mellifera</i>))	腸	TTCCTTAGAAAGGAGGTGA TCCAGCCGCAGGTTCTCCT ACGGCTACCTTGTTACGAC TTCACCCTAATCATCTGTCC CACCTTAGACGACTAGCTC CTAAAAGGTTACCCCATCG TCTTTGGGTGTTACAACTC TCATGGTGTGACGGGCGGT GTGTACAAGGCCCGGGAAC GTATTCACCGTGGCATGCT GATCCACGATTACTAGTGAT TCCAACCTTCATGCAGGCGA GTTGCAGCCTGCAATCCGA ACTGAGAATGGCTTTAAGA GATTAGCTTGACCTCGCGG TTTCGCGACTCGTTGTACC ATCCATTGTAGCACGTGTG TAGCCCAGCTCATAAGGGG CATGATGATTTGACGTCGT CCCCACCTTCCTCCGTTT ATCACCGGCAGTCTCACTA GAGTGCCCAACTAAATGCT GGCAACTAATAATAAGGGT TGCGCTCGTTGCGGGACTT AACCCACATCTCACGACA CGAGCTGACGACAACCATG CACCACCTGTCATTCTGTC CCCGAAGGGAACGCCCAAT CTCTTGGGTGGCAGAAGA TGTCAGAGCTGGTAAGGT TCTTCGCGTAGCATCGAATT AAACCACATGCTCCACCAC TTGTGCGGGCCCCGTCOA TTCCTTTGAGTTTCAACCTT GCGGTCGTA CTCCCAGGC GGAATACTTAATGCGTTAG CTGCGGCACTGAAGGGCG

10

20

30

40

【 0 2 0 6 】

50

【表 6 8】

			GAAACCCTCCAACACCTAG TATTCATCGTTTACGGCATG GACTACCAGGGTATCTAAT CCTGTTGCTACCCATGCT TTCGAGCCTCAGCGTCAGT AACAGACCAGAAAGCCGCC TTCGCCACTGGTGTTCCTC CATATATCTACGCATTTAC CGCTACACATGGAGTTCCA CTTCTCTTCTGTAAGTCAA GTTTTGTAGTTTCCACTGCA CTTCTCAGTTGAGCTGAG GGCTTTCACAGCAGACTTA CAAAACCGCCTGCGCTCGC TTTACGCCCAATAAATCCG GACAACGCTTGCCACCTAC GTATTACCGCGGCTGCTGG CACGTAGTTAGCCGTGGCT TTCTGGTTAAATACCGTCAA AGTGTTAACAGTTACTCTAA CACTTGTTCTTCTTTAACA CAGAGTTTTACGATCCGAA AACCTTCATCACTCAGCG GCGTTGCTCCATCAGACTT TCGTCCATTGTGGAAGATT CCCTACTGCTGCCTCCCGT AGGAGTCTGGGCCGTGTCT CAGTCCCAATGTGGCCGAT TACCCTCTCAGGTGCGCTA CGTATCATCGTCTTGGTGG GCTTTTATCTCACCAACTAA CTAATACGGCGCGGTCCA TCCCAAAGTGATAGCAAAG CCATCTTTCAAGTTGAACC ATGCGGTTCCAATAATTAT GCGGTATTAGCACTTGTTTC CAAATGTTATCCCCGCTTC GGGGCAGGTTACCCACGTG TTACTCACCAGTTCGCCACT CGCTCCGAATCCAAAAATC
--	--	--	---

10

20

30

40

【 0 2 0 7 】

【表 6 9】

			ATTTATGCAAGCATAAAATC AATTTGGGAGAAGCTCGTTC GACTTGCAATGTATTAGGCA CGCCGCCAGCGTTCGTCCT GAGCCAGGATCAAACCTCTC ATCTTAA (配列番号37)
ラクトバチルス属 (<i>Lactobacillus</i>) Firm-4	ミツバチ (アピス・ メリフェラ (<i>Apis mellifera</i>))	腸	ACGAACGCTGGCGGCGTG CCTAATACATGCAAGTCGA GCGCGGGAAGTCAGGGAA GCCTTCGGGTGGAAGTGGT GGAACGAGCGGCGGATGG GTGAGTAACACGTAGGTAA CCTGCCCTAAAGCGGGGGA TACCATCTGGAACAGGTG CTAATACCGCATAAACCCA GCAGTCACATGAGTGCTGG TTGAAAGACGGCTTCGGCT GTCACCTTAGGATGGACCT GCGGCGTATTAGCTAGTTG GTGGAGTAACGGTTCACCA AGGCAATGATACGTAGCCG ACCTGAGAGGGTAATCGGC CACATTGGGACTGAGACAC GGCCCAAACCTCCTACGGGA GGCAGCAGTAGGGAATCTT CCACAATGGACGCAAGTCT GATGGAGCAACGCCGCGT GGATGAAGAAGGTCTTCGG ATCGTAAATCCTGTTGTTG AAGAAGAACGGTTGTGAGA GTAACCTGCTCATAACGTGA CGGTAATCAACCAGAAAGT CACGGCTAACTACGTGCCA GCAGCCGCGGTAATACGTA GGTGGCAAGCGTTGTCCGG ATTTATTGGGCGTAAAGGG AGCGCAGGCGGTCTTTTAA GTCTGAATGTGAAAGCCCT CAGCTTAACTGAGGAAGAG

10

20

30

40

【 0 2 0 8 】

【表 7 0】

			CATCGGAAACTGAGAGACT TGAGTGCAGAAGAGGAGAG TGGAACCTCCATGTGTAGCG GTGAAATGCGTAGATATAT GGAAGAACACCAGTGGCGA AGGCGGCTCTCTGGTCTGT TACTGACGCTGAGGCTCGA AAGCATGGGTAGCGAACAG GATTAGATACCCTGGTAGT CCATGCCGTAAACGATGAG TGCTAAGTGTTGGGAGGTT TCCGCCTCTCAGTGCTGCA GCTAACGCATTAAGCACTC CGCCTGGGGAGTACGACC GCAAGGTTGAACTCAAAG GAATTGACGGGGGCCCGC ACAAGCGGTGGAGCATGTG GTTTAATTCGAAGCAACGC GAAGAACCTTACCAGGTCT TGACATCTCCTGCAAGCCT AAGAGATTAGGGTTCCCT TCGGGGACAGGAAGACAG GTGGTGCATGGTTGTCGTC AGCTCGTGTCTGAGATGT TGGGTTAAGTCCCGCAACG AGCGCAACCCTTGTTACTA GTTGCCAGCATTAAAGTTGG GCACTCTAGTGAGACTGCC GGTGACAAACCGGAGGAAG GTGGGGACGACGTCAAATC ATCATGCCCCCTTATGACCT GGGCTACACACGTGCTACA ATGGATGGTACAATGAGAA GCGAACTCGCGAGGGGAA GCTGATCTCTGAAAACCATT CTCAGTTCGGATTGCAGGC TGCAACTCGCCTGCATGAA GCTGGAATCGCTAGTAATC GCGGATCAGCATGCCGCG
--	--	--	---

10

20

30

40

【 0 2 0 9】

【表 7 1】

			GTGAATACGTTCCCGGGCC TTGTACACACCGCCC (配列番号38)
カイコ			
エンテロコッカス属 (Enterococcus)	ボンビックス・ モリ (<i>Bombyx mori</i>)	腸	AGGTGATCCAGCCGCACCT TCCGATACGGCTACCTTGT TACGACTTCACCCCAATCAT CTATCCCACCTTAGGCGGC TGGCTCCAAAAGGTTACC TCACCGACTTCGGGTGTTA CAAACCTCTCGTGGTGTGAC GGGCGGTGTGTACAAGGC CCGGGAACGTATTCACCGC GGCGTGCTGATCCGCGATT ACTAGCGATTCCGGCTTCA TGCAGGCGAGTTGCAGCCT GCAATCCGAAGTGAAGAA GCTTTAAGAGATTTGCATGA CCTCGCGGTCTAGCGACTC GTTGTACTTCCCATTGTAGC ACGTGTGTAGCCCAGGTCA TAAGGGGCATGATGATTG ACGTCATCCCCACCTTCCT CCGGTTTGTACCGGCAGT CTCGCTAGAGTGCCCAACT AAATGATGGCAACTAACAAT AAGGGTTGCGCTCGTTGCG GGACTTAACCCAACATCTC ACGACACGAGCTGACGACA ACCATGCACCACCTGTCAC TTTGTCCCGAAGGGAAAG CTCTATCTCTAGAGTGGTCA AAGGATGTCAAGACCTGGT AAGGTTCTTCGCGTTGCTT CGAATTAAACCACATGCTC CACCGCTTGTGCGGGCCCC CGTCAATTCCTTTGAGTTTC AACCTTGCGGTCGTACTCC CCAGGCGGAGTGCTTAATG

10

20

30

40

【 0 2 1 0 】

50

【表 7 2】

		CGTTTGCTGCAGCACTGAA GGGCGGAAACCCTCCAACA CTTAGCACTCATCGTTTACG GCGTGGACTACCAGGGTAT CTAATCCTGTTTGCTCCCCA CGCTTTGAGCCTCAGCGT CAGTTACAGACCAGAGAGC CGCCTTCGCCACTGGTGTT CCTCCATATATCTACGCATT TCACCGCTACACATGGAAT TCCACTCTCCTCTTCTGCAC TCAAGTCTCCCAGTTTCCAA TGACCCTCCCCGGTTGAGC CGGGGGCTTTCACATCAGA CTTAAGAAACCGCCTGCGC TCGCTTTACGCCCAATAAAT CCGGACAACGCTTGCCACC TACGTATTACCGCGGCTGC TGGCACGTAGTTAGCCGTG GCTTTCTGGTTAGATACCGT CAGGGGACGTTTCACTTACT AACGTCCTTGTTCTTCTCTA ACAACAGAGTTTTACGATCC GAAAACCTTCTTCACTCACG CGGCGTTGCTCGGTCAGAC TTTCGTCCATTGCCGAAGAT TCCCTACTGCTGCCTCCCG TAGGAGTCTGGGCCGTGTC TCAGTCCCAGTGTGGCCGA TCACCCTCTCAGGTCGGCT ATGCATCGTGGCCTTGGTG AGCCGTTACCTCACCAACT AGCTAATGCACCGCGGGTC CATCCATCAGCGACACCCG AAAGCGCCTTTCACTTTAT GCCATGCGGCATAAACTGT TATGCGGTATTAGCACCTG TTTCCAAGTGTTATCCCCCT CTGATGGGTAGGTTACCCA CGTGTTACTACCCGTCCG
--	--	---

10

20

30

40

【 0 2 1 1 】

【表 7 3】

			CCACTCCTCTTTCCAATTGA GTGCAAGCACTCGGGAGGA AAGAAGCGTTTCGACTTGCA TGTATTAGGCACGCCGCCA GCGTTCGTCTGAGCCAGG ATCAAACCTCT (配列番号39)
デルフチア属 (<i>Delftia</i>)	ボンビックス・モリ (<i>Bombyx mori</i>)	腸	CAGAAAGGAGGTGATCCAG CCGCACCTTCCGATACGGC TACCTTGTTACGACTTCACC CCAGTCACGAACCCCGCCG TGGTAAGCGCCCTCCTTGC GGTTAGGCTACCTACTTCT GGCGAGACCCGCTCCCATG GTGTGACGGGCGGTGTGTA CAAGACCCGGGAACGTATT CACCGCGGCATGCTGATCC GCGATTACTAGCGATTCCG ACTTCACGCAGTCGAGTTG CAGACTGCGATCCGGAATA CGACTGGTTTTATGGGATTA GCTCCCCCTCGCGGGTTGG CAACCCTCTGTACCAGCCA TTGTATGACGTGTGTAGCC CCACCTATAAGGGCCATGA GGACTTGACGTCATCCCCA CCTTCCTCCGTTTGTAC CGGCAGTCTCATTAGAGTG CTCAACTGAATGTAGCAACT AATGACAAGGTTGCGCTC GTTGCGGGACTTAACCCAA CATCTCACGACACGAGCTG ACGACAGCCATGCAGCACC TGTGTGCAGTTCTCTTTC GAGCACGAATCCATCTCTG GAAACTTCCTGCCATGTCA AAGGTGGGTAAGGTTTTTC GCGTTGCATCGAATTAAAC CACATCATCCACCGCTTGT GCGGGTCCCCGTCAATTCC

10

20

30

40

【 0 2 1 2 】

50

【表 7 4】

		TTTGAGTTTCAACCTTGCGG CCGTACTCCCCAGGCGGTC AACTTCACGCGTTAGCTTC GTTACTGAGAAAATAATTC CCAACAACCAGTTGACATC GTTTAGGGCGTGGAATACC AGGGTATCTAATCCTGTTTG CTCCCCACGCTTTCGTGCA TGAGCGTCAGTACAGGTCC AGGGGATTGCCTTCGCCAT CGGTGTTCTCCGCATATC TACGCATTTCACTGCTACAC GCGGAATTCCATCCCCCTC TACCGTACTCTAGCCATGC AGTCACAAATGCAGTTCCC AGGTTGAGCCCGGGGATTT CACATCTGTCTTACATAACC GCCTGCGCACGCTTTACGC CCAGTAATTCCGATTAACG CTCGCACCTACGTATTAC CGCGGCTGCTGGCACGTA GTTAGCCGGTGCTTATTCTT ACGGTACCGTCATGGGCCC CCTGTATTAGAAGGAGCTTT TTCGTTCCGTACAAAAGCA GTTTACAACCCGAAGGCCT TCATCCTGCACGCGGCATT GCTGGATCAGGCTTTCGCC CATTGTCCAAAATTCCCCAC TGCTGCCTCCCGTAGGAGT CTGGGCCGTGTCTCAGTCC CAGTGTGGCTGGTCGTCCT CTCAGACCAGCTACAGATC GTCGGCTTGGAAGCTTTT ATCCCACCAACTACCTAATC TGCCATCGGCCGCTCCAAT CGCGCGAGGCCCGAAGGG CCCCCGCTTTCATCCTCAG ATCGTATGCGGTATTAGCTA CTCTTTCGAGTAGTTATCCC
--	--	---

10

20

30

40

【 0 2 1 3 】

【表 7 5】

			CCACGACTGGGCACGTTCC GATGTATTACTACCCGTTCC GCCACTCGTCAGCGTCCGA AGACCTGTTACCGTTCGAC TTGCATGTGTAAGGCATGC CGCCAGCGTTCAATCTGAG CCAGGATCAAACCTCTACAG TTCGATCT (配列番号40)
ペロモナス属 (<i>Pelomonas</i>)	ボンビックス・ モリ (<i>Bombyx mori</i>)	腸	ATCCTGGCTCAGATTGAAC GCTGGCGGCATGCCTTACA CATGCAAGTCGAACGGTAA CAGGTTAAGCTGACGAGTG GCGAACGGGTGAGTAATAT ATCGGAACGTGCCCAGTCG TGGGGGATAACTGCTCGAA AGAGCAGCTAATACCGCAT ACGACCTGAGGGTGAAAGC GGGGGATCGCAAGACCTC GCNNGATTGGAGCGGCCG ATATCAGATTAGGTAGTTGG TGGGGTAAAGGCCACCAA GCCAACGATCTGTAGCTGG TCTGAGAGGACGACCAGCC ACACTGGGACTGAGACACG GCCCAGACTCCTACGGGAG GCAGCAGTGGGGAATTTTG GACAATGGGCGCAAGCCTG ATCCAGCCATGCCGCGTGC GGGAAGAAGGCCTTCGGGT TGTAACCGCTTTTGTGAC GGAAGAAAAGGTTCTGGTT AATACCTGGGACTCATGAC GGTACCTGAAGAATAAGCA CCGGCTAACTACGTGCCAG CAGCCGCGGTAATACGTAG GGTGCAAGCGTTAATCGGA ATTACTGGGCGTAAAGCGT GCGCAGGCGGTTATGCAAG ACAGAGGTGAAATCCCCGG

10

20

30

40

【 0 2 1 4 】

50

【表 7 6】

			GCTCAACCTGGGAACTGCC TTTGTGACTGCATAGCTAGA GTACGGTAGAGGGGGATG GAATTCCGCGTGTAGCAGT GAAATGCGTAGATATGCGG AGGAACACCGATGGCGAAG GCAATCCCCTGGACCTGTA CTGACGCTCATGCACGAAA GCGTGGGGAGCAAACAGG ATTAGATACCCTGGTAGTC CACGCCCTAAACGATGTCA ACTGGTTGTTGGGAGGGTT TCTTCTCAGTAACGTANNTA ACGCGTGAAGTTGACCGCC TGGGGAGTACGGCCGCAA GGTTGAAACTCAAAGGAAT TGACGGGGACCCGCACAA GCGGTGGATGATGTGTTT AATTCGATGCAACGCGAAA AACCTTACCTACCCTTGACA TGCCAGGAATCCTGAAGAG ATTTGGGAGTGCTCGAAAG AGAACCTGGACACAGGTGC TGCATGGCCGTCGTCAGCT CGTGTCGTGAGATGTTGGG TTAAGTCCCGCAACGAGCG CAACCCTTGTCATTAGTTGC TACGAAAGGGCACTCTAAT GAGACTGCCGGTGACAAAC CGGAGGAAGGTGGGGATG ACGTCAGGTCATCATGGCC CTTATGGGTAGGGCTACAC ACGTCATACAATGGCCGGG ACAGAGGGCTGCCAACCCG CGAGGGGGAGCTAATCCCA GAAACCCGGTCGTAGTCCG GATCGTAGTCTGCAACTCG ACTGCGTGAAGTCGGAATC GCTAGTAATCGCGGATCAG CTTGCCGCGGTGAATACGT
--	--	--	--

10

20

30

40

【0 2 1 5】

【表 7 7】

			TCCCGGGTCTTGTACACAC CGCCCGTCACACCATGGGA GCGGGTTCTGCCAGAAGTA GTTAGCCTAACCGCAAGGA GGGCGATTACCACGGCAG GGTTCGTGACTGGGGTGAA GTCGTAACAAGGTAGCCGT ATCGGAAGGTGCGGCTGGA TCAC (配列番号41)
--	--	--	---

10

【0 2 1 6】

任意の数の細菌種は、本明細書に記載される組成物又は方法の標的となり得る。例えば、一部の例では、調節薬剤は、単一の細菌種を標的とし得る。一部の例では、調節薬剤は、少なくとも約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250、500又はそれを超えるもののいずれかの異なる細菌種を標的とし得る。一部の例では、調節薬剤は、約1～約5、約5～約10、約10～約20、約20～約50、約50～約100、約100～約200、約200～約500、約10～約50、約5～約20又は約10～約100のいずれか1つの異なる細菌種を標的とし得る。一部の例では、調節薬剤は、少なくとも約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100又はそれを超えるもののいずれかの細菌門、綱、目、科又は属を標的とし得る。

20

【0 2 1 7】

一部の例では、調節薬剤は、宿主における1種以上の細菌の個体群を少なくとも約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%又はそれを超えるもののいずれかだけ増加させることができる。一部の例では、調節薬剤は、宿主における1種以上の細菌の個体群を少なくとも約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%又はそれを超えるもののいずれかだけ低減することができる。一部の例では、調節薬剤は、宿主の細菌の個体群を根絶することができる。

30

【0 2 1 8】

一部の例では、調節薬剤は、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較して、宿主の細菌多様性及び／又は細菌組成を改変することができる。一部の例では、調節薬剤は、調節薬剤を投与されていない宿主生物と比較して、宿主における出発時の多様性と比べた細菌多様性を少なくとも約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%又はそれを超えるもののいずれかだけ増加させることができる。一部の例では、調節薬剤は、調節薬剤を投与されていない宿主生物と比較して、宿主における出発時の多様性と比べた細菌多様性を少なくとも約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%又はそれを超えるもののいずれかだけ低下させることができる。

40

【0 2 1 9】

一部の例では、調節薬剤は、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較して、1種以上の細菌細胞の機能、活動、成長、及び／又は分化を改変し得る。例えば、調節薬剤は、細菌の1つ又は遺伝子の発現を変化させることができる。一部の例では、調節薬剤は、細菌の1つ以上のタンパク質の機能を変化させることができる。一部の例では、調節薬剤は、細菌の1つ以上の細胞構造（例えば、細胞壁、外膜又は内膜）の機能を変化させることができる。一部の例では、調節薬剤は、細菌を死滅（例えば、溶解）させることができる。

50

【0220】

標的細菌は、無脊椎動物宿主（例えば、昆虫、軟体動物、又は線虫）の1つ以上の部位に常在し得る。更に、標的細菌は、細胞内又は細胞外であり得る。一部の例では、細菌は、例えば、前腸、中腸及び／又は後腸を含め、宿主の腸の1つ以上の部位内又は部位上に常在する。一部の例では、細菌は、宿主昆虫の細胞内に細胞内細菌として常在する。一部の例では、細菌は、宿主無脊椎動物（例えば、昆虫、軟体動物、又は線虫）のバクテリオサイトに常在する。

【0221】

宿主無脊椎動物（例えば、昆虫、軟体動物、又は線虫）における細菌の個体群の変化は、標準培養技術、CFUカウント、マイクロアレイ、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）、リアルタイムPCR、フローサイトメトリー、蛍光顕微鏡法、透過電子顕微鏡法、蛍光インサイチュハイブリダイゼーション（例えば、FISH）、分光測定法、マトリックス支援レーザー脱離イオン化－質量分析法（MALDI-MS）又はDNAシーケンシングなど、当該技術分野において公知の任意の方法によって決定され得る。一部の例では、調節薬剤で処理した宿主のサンプルがシーケンシング（例えば、16S rRNA又はrDNAのメタゲノミクスシーケンシングにより）され、調節薬剤の送達又は投与後の宿主のマイクロバイームが決定される。一部の例では、調節薬剤の投与を受けなかった宿主のサンプルもシーケンシングされ、参照が提供される。

【0222】

i i . 真菌及び酵母

本明細書に提供される方法及び組成物において標的となり得る例示的真菌としては、限定はされないが、アミロステレウム・アレオラツム（*Amylostereum areolatum*）、エピクロエ属種（*Epichloe spp*）、ピキア・ピヌス（*Pichia pinus*）、ハンゼヌラ・カプスラタ（*Hansenula capsulata*）、ダルディニア・デシピエン（*Daldinia decipien*）、セラトシスチス属種（*Ceratocytis spp*）、オフィオストマ属種（*Ophiostoma spp*）及びアッタマイセス・ブロマティフィカス（*Attamyces bromatificus*）が挙げられる。無脊椎動物（例えば、昆虫、軟体動物、又は線虫）に存在する酵母及び酵母様共生体の非限定な例として、カンジダ属（*Candida*）、メチニコウイア属（*Metschnikowia*）、ロイココプリヌス属（*Leucocoprinu*）（例えば、ロイココプリヌス・ゴンギロフォラス（*Leucocoprinus gongylophorus*）、デバロマイセス属（*Debaromyces*）、シェフェルソマイセス・シェハテ（*Scheffersomyces shehatae*）及びシェフェルソマイセス・スティピティス（*Scheffersomyces stipites*）、スターメラ属（*Starmerella*）、ピキア属（*Pichia*）、トリコスポロン属（*Trichosporon*）、クリプトコッカス属（*Cryptococcus*）、シュードジマ属（*Pseudozyma*）、及びチャワンタケ亜門（*Pezizomycotina*）からの酵母様共生体（例えば、シンビオタフリナ・ブクネリ（*Symbiotaphrina buchneri*）及びシンビオタフリナ・コチイ（*Symbiotaphrina kochii*））が挙げられる。本明細書の方法及び組成物による標的となり得る酵母の非限定的な例を表2に挙げる。

【0223】

10

20

30

40

50

【表 7 8】

表 2: 昆虫における酵母の例

昆虫種	目: 科	酵母部位 (種)
ステゴビウム・パニセウム (<i>Stegobium paniceum</i>)	甲虫目(Coleoptera): シバンムシ科(Anobiidae)	マイセトーム
(= シトドレパ・パニセア (<i>Sitodrepa panicea</i>))		(<i>サッカロミセス属(Saccharomyces)</i>)
		盲嚢 (トルロブシス・ブクネリ(<i>Torulopsis buchnerii</i>))
		前腸と中腸との間のマイセトーム
		マイセトーム (シンビオタフリナ・ブクネリ (<i>Symbiotaphrina buchnerii</i>))
		マイセトーム及び消化管 (トルロブシス・ブクネリ(<i>Torulopsis buchnerii</i>))
		腸盲嚢 (シンビオタフリナ・ブクネリ (<i>Symbiotaphrina buchnerii</i>))
ラシオデルマ・セリコルネ (<i>Lasioderma serricorne</i>)	甲虫目(Coleoptera): シバンムシ科(Anobiidae)	前腸と中腸との間のマイセトーム
		(シンビオタフリナ・コッホイ (<i>Symbiotaphrina kochii</i>))
エルノビウス・アビエティス (<i>Ernobius abietis</i>)	甲虫目(Coleoptera): シバンムシ科(Anobiidae)	マイセトーム (トルロブシス・カラワイエウイ (<i>Torulopsis karawaiewii</i>))
		(カンジダ・カラワイエウイ (<i>Candida karawaiewii</i>))
エルノビウス・モリス (<i>Ernobius mollis</i>)	甲虫目(Coleoptera): シバンムシ科(Anobiidae)	マイセトーム (トルロブシス・エルノビイ (<i>Torulopsis ernobii</i>))
		(カンジダ・エルノビイ(<i>Candida ernobii</i>))
ヘミコエルス・ギブニコリス (<i>Hemicoelus gibbicollis</i>)	甲虫目(Coleoptera): シバンムシ科(Anobiidae)	幼虫のマイセトーム
クセストビウム・プルムベウム (<i>Xestobium plumbeum</i>)	甲虫目(Coleoptera): シバンムシ科(Anobiidae)	マイセトーム (トルロブシス・クセストビイ (<i>Torulopsis xestobii</i>))
		(カンジダ・クセストビイ (<i>Candida xestobii</i>))
クリオケファルス・ルスティクス (<i>Criocephalus rusticus</i>)	甲虫目(Coleoptera): カミキリムシ科(Cerambycidae)	マイセトーム
フォラカンタ・セミプンクタタ (<i>Phoracantha semipunctata</i>)	甲虫目(Coleoptera): カミキリムシ科(Cerambycidae)	消化管 (カンジダ・ギリエルモンディ (<i>Candida guilliermondii</i>), C. テヌイス(<i>C. tenuis</i>))
		中腸周囲の盲嚢 (カンジダ・ギリエルモンディ(<i>Candida guilliermondii</i>))
ハルピウム・インキシトル (<i>Harpium inquisitor</i>)	甲虫目(Coleoptera): カミキリムシ科(Cerambycidae)	マイセトーム (カンジダ・ラギイ(<i>Candida rhagii</i>))
ハルピウム・モルダクス (<i>Harpium mordax</i>) H. シコファンタ (<i>H. sycophanta</i>)	甲虫目(Coleoptera): カミキリムシ科(Cerambycidae)	中腸周囲の盲嚢 (カンジダ・テヌイス(<i>Candida tenuis</i>))
ガウロテス・ビルギネア (<i>Gaurotes virginea</i>)	甲虫目(Coleoptera): カミキリムシ科(Cerambycidae)	中腸周囲の盲嚢 (カンジダ・ラギイ(<i>Candida rhagii</i>))

【0 2 2 4】

10

20

30

40

50

【表 7 9】

レプチュラ・ルブラ (<i>Leptura rubra</i>)	甲虫目(Coleoptera): カミキリムシ科(Cerambycidae)	中腸周囲の盲嚢 (カンジダ・テヌイス(<i>Candida tenuis</i>))
		中腸周囲の盲嚢 (カンジダ・パラプシローシス (<i>Candida parapsilosis</i>))
レプチュラ・マクリコルニス (<i>Leptura maculicornis</i>)	甲虫目(Coleoptera): カミキリムシ科(Cerambycidae)	中腸周囲の盲嚢 (カンジダ・パラプシローシス (<i>Candida parapsilosis</i>))
L. ケラムビシフォルミス (<i>L. cerambyciformis</i>)		
レプチュラ・サンギノレンタ (<i>Leptura sanguinolenta</i>)	甲虫目(Coleoptera): カミキリムシ科(Cerambycidae)	中腸周囲の盲嚢 (カンジダ属種(<i>Candida sp.</i>))
ラギウム・ビファスキアツム (<i>Rhagium bifasciatum</i>)	甲虫目(Coleoptera): カミキリムシ科(Cerambycidae)	中腸周囲の盲嚢 (カンジダ・テヌイス(<i>Candida tenuis</i>))
ラギウム・インキシトル (<i>Rhagium inquisitor</i>)	甲虫目(Coleoptera): カミキリムシ科(Cerambycidae)	中腸周囲の盲嚢 (カンジダ・ギリエルモンディ (<i>Candida guilliermondii</i>))
ラギウム・モルダクス (<i>Rhagium mordax</i>)	甲虫目(Coleoptera): カミキリムシ科(Cerambycidae)	中腸周囲の盲嚢 (カンジダ属(<i>Candida</i>))
カルポフィルス・ヘミプテルス (<i>Carpophilus hemipterus</i>)	甲虫目(Coleoptera): ケシキスイムシ科(Nitidulidae)	腸管 (10 酵母種)
オドントテニウス・デイスジュン クツス(<i>Odontotaenius</i> <i>disjunctus</i>)	甲虫目(Coleoptera): クロツヤムシ科(Passalidae)	後腸 (エンテロラムス・ディモルフス (<i>Enteroramus dimorphus</i>))
オドントテニウス・デイスジュン クツス(<i>Odontotaenius</i> <i>disjunctus</i>)	甲虫目(Coleoptera): クロツヤムシ科(Passalidae)	腸 (ピキア・スチピチス(<i>Pichia stipitis</i>), <i>P. セゴビエンシス</i> (<i>P. segobiensis</i>), カンジダ・シェハテ(<i>Candida shehatae</i>)) (<i>C. エルガテンシス</i> (<i>C. ergatensis</i>))
ベレス・ステルンベルギアヌス (<i>Verres sternbergianus</i>)		
スカラベウス・セミプンクタツス (<i>Scarabaeus semipunctatus</i>)	甲虫目(Coleoptera): コガネムシ科(Scarabaeidae)	消化管 (10 酵母種)
キロニティス・フルキフェル (<i>Chironitis furcifer</i>)		
未知種	甲虫目(Coleoptera): コガネムシ科(Scarabaeidae)	腸 (トリコスポロン・クタネウム (<i>Trichosporon cutaneum</i>))
デンドロクトヌス属 (<i>Dendroctonus</i>) 及び イプス属種(<i>Ips spp.</i>)	甲虫目(Coleoptera): キクイムシ科(Scolytidae)	消化管 (13 酵母種)
デンドロクトヌス・フロンタリス (<i>Dendroctonus frontalis</i>)	甲虫目(Coleoptera): キクイムシ科(Scolytidae)	中腸 (カンジダ属種(<i>Candida sp.</i>))

【 0 2 2 5 】

10

20

30

40

50

【表 80】

イプス・セクスデントアツス (<i>Ips sexdentatus</i>)	甲虫目(Coleoptera): キクイムシ科(Scolytidae)	消化管 (ピキア・ボビス(<i>Pichia bovis</i>), <i>P. ロダネンシス</i> (<i>P. rhodanensis</i>))
		ハンゼヌラ・ホルステイ (<i>Hansenula holstii</i>) (カンジダ・ラギイ (<i>Candida rhagii</i>))
		消化管
		(カンジダ・プルケリマ (<i>Candida pulcherina</i>))
イプス・チポグラフィウス (<i>Ips typographus</i>)	甲虫目(Coleoptera): キクイムシ科(Scolytidae)	消化管
		消化管 (ハンゼヌラ・カプスラタ (<i>Hansenula capsulata</i>), カンジダ・パラプシローシス (<i>Candida parapsilosis</i>))
		腸及びカプトムシホモジネート (ハンゼヌ ラ・ホルステイ(<i>Hansenula holstii</i>), <i>H. カ</i> <i>プスラタ</i> (<i>H. capsulata</i>), カンジダ・ジッデ ンシイ(<i>Candida diddensii</i>), <i>C. モフスクタ</i> <i>ナ</i> (<i>C. mohshtana</i>), <i>C. ニトラトフィラ</i> (<i>C.</i> <i>nitratophila</i>), クリプトコッカス・アルビダ ス(<i>Cryptococcus albidus</i>), <i>C. ローレンテ</i> <i>イ</i> (<i>C. laurentii</i>))
トリポデンドロン・リネアツム (<i>Trypodendron lineatum</i>)	甲虫目(Coleoptera): キクイムシ科(Scolytidae)	不特定
キシロテリヌス・ポリツス (<i>Xyloterinus politus</i>)	甲虫目(Coleoptera): キクイムシ科(Scolytidae)	頭部, 胸部, 腹部 (カンジダ属(<i>Candida</i>), ピキア属(<i>Pichia</i>), サッカロミコプシス属 (<i>Saccharomycopsis</i>))
ペリプラネタ・アメリカナ (<i>Periplaneta americana</i>)	防翅目(Dictyoptera): ゴキブリ科(Blattidae)	血体腔 (カンジダ属新種 (<i>Candida sp. nov.</i>))
ブラッタ・オリエンタリス (<i>Blatta orientalis</i>)	防翅目(Dictyoptera): ゴキブリ科(Blattidae)	腸管 (クルイベロミセス・ブラタエ (<i>Kluyveromyces blattae</i>))
ブラテッラ・ゲルマニカ (<i>Blatella germanica</i>)	防翅目(Dictyoptera): チャバネゴキブリ科(Blattellidae)	血体腔
クリプトケルクス・ プンクツラツス(<i>Cryptocercus</i> <i>punctulatus</i>)	防翅目(Dictyoptera): クリプトケルクス科 (Cryptocercidae)	後腸 (1 酵母種)

【0226】

10

20

30

40

50

【表 8 1】

フィロフィラ・ヘラクレイ (<i>Philophylla heraclei</i>)	双翅目(Diptera): ミバエ科(Tephritidae)	血体腔
ヤブカ属(<i>Aedes</i>) (4 種)	双翅目(Diptera): カ科(Culicidae)	内部マイクロフローラ (9 酵母属)
ドロソフィラ・シュードオブ スキュラ(<i>Drosophila</i> <i>pseudoobscura</i>)	双翅目(Diptera): ショウジョウバエ科(Drosophilidae)	消化管 (24 酵母種)
ショウジョウバエ属 (<i>Drosophila</i>) (5 種)	双翅目(Diptera): ショウジョウバエ科(Drosophilidae)	作物 (42 酵母種)
ドロソフィラ・メラノガスター (<i>Drosophila melanogaster</i>)	双翅目(Diptera): ショウジョウバエ科(Drosophilidae)	作物 (8 酵母種)
ショウジョウバエ属 (<i>Drosophila</i>) (4 種)	双翅目(Diptera): ショウジョウバエ科(Drosophilidae)	作物 (7 酵母種)
ショウジョウバエ属 (<i>Drosophila</i>) (6 種)	双翅目(Diptera): ショウジョウバエ科(Drosophilidae)	幼虫の腸 (17 酵母種)
ショウジョウバエ属 (<i>Drosophila</i>) (20 種)	双翅目(Diptera): ショウジョウバエ科(Drosophilidae)	作物 (20 酵母種)
ショウジョウバエ属 (<i>Drosophila</i>) (8 種群)	双翅目(Diptera): ショウジョウバエ科(Drosophilidae)	作物 (クロエケラ属(<i>Kloeckera</i>), カンジダ属(<i>Candida</i>), クルイペロミセス属 (<i>Kluyveromyces</i>))
ドロソフィラ・セリド (<i>Drosophila serido</i>)	双翅目(Diptera): ショウジョウバエ科(Drosophilidae)	作物 (18 酵母種)
ショウジョウバエ属 (<i>Drosophila</i>) (6 種)	双翅目(Diptera): ショウジョウバエ科(Drosophilidae)	腸上皮 (コクシジアスクス・レゲリ (<i>Coccidiascus legeri</i>))
プロタクシミア・メラノプテラ (<i>Protaxymia melanoptera</i>)	双翅目(Diptera)	不明 (カンジダ属(<i>Candida</i>), クリプトコッカス属(<i>Cryptococcus</i>), スポロボロマイセス属(<i>Sporoblomyces</i>))
アステゴプテリクス・スチラキ (<i>Astegopteryx styraci</i>)	同翅亜目(Hemiptera): アブラムシ科(Aphididae)	血体腔及び脂肪体
ヤドリギアブラムシ属種 (<i>Tuberaphis</i> sp.)	同翅亜目(Hemiptera): アブラムシ科(Aphididae)	組織切片
ハミルトナフィス・スチラキ (<i>Hamiltonaphis styraci</i>)		
グリフィナフィス・バンブセ (<i>Glyphinaphis bambusae</i>)		
ヒラタツノアブラムシ属種 (<i>Cerataphis</i> sp.)		

【0 2 2 7】

10

20

30

40

50

【表 8 2】

ハミルトナフィス・ステラキ (<i>Hamiltonaphis styraci</i>)	同翅亜目(Hemiptera): アブラムシ科(Aphididae)	腹部血体腔
コファナ・ウニマキュラタ (<i>Cofana unimaculata</i>)	同翅亜目(Hemiptera): オオヨコバイ科(Cicadellidae)	脂肪体
レオファ・ウニコロル (<i>Leofa unicolor</i>)	同翅亜目(Hemiptera): オオヨコバイ科(Cicadellidae)	脂肪体
レカニイネス (<i>Lecaniines</i>) 等	同翅亜目(Hemiptera): カイガラムシ上科(Coccoidea d)	血リンパ、脂肪組織等
レカニウム属種 (<i>Lecanium sp.</i>)	同翅亜目(Hemiptera): カタカイガラムシ科(Coccidae)	血リンパ、脂肪組織
ロウムシ属 (<i>Ceroplastes</i>) (4 種)	同翅亜目(Hemiptera): カタカイガラムシ科(Coccidae)	血液スミア
ラオデルファクス・ ストリアテルス (<i>Laodelphax striatellus</i>)	同翅亜目(Hemiptera): ウンカ科(Delphacidae)	脂肪体
		卵
		卵 (カンジダ属(<i>Candida</i>))
ニラパルバタ・ルゲンス (<i>Nilaparvata lugens</i>)	同翅亜目(Hemiptera): ウンカ科(Delphacidae)	脂肪体
		卵 (2 つの未確認の酵母種)
		卵, 若虫 (カンジダ属(<i>Candida</i>))
		卵 (7 つの未確認の酵母種)
		卵 (カンジダ属(<i>Candida</i>))
ニシア・ネルボサ (<i>Nisia nervosa</i>)	同翅亜目(Hemiptera): ウンカ科(Delphacidae)	脂肪体
ニシア・グランディケプス (<i>Nisia grandiceps</i>)		
ペルキンシエラ属種 (<i>Perkinsiella spp.</i>)		
サルディア・ロストラタ (<i>Sardia rostrata</i>)		
ソガテラ・フルキフェラ (<i>Sogatella furcifera</i>)		

【 0 2 2 8 】

10

20

30

40

50

【表 8 3】

ソガトデス・オリジコラ (<i>Sogatodes orizicola</i>)	同翅亜目(Hemiptera): ウンカ科(Delphacidae)	脂肪体
アムラスカ・デバスタンス (<i>Amrasca devastans</i>)	同翅亜目(Hemiptera): アオズキンヨコバイ科(Jassidae)	卵, マイセトーム, 血リンパ
タカルディナ・ロバタ (<i>Tachardina lobata</i>)	同翅亜目(Hemiptera): ラックカイガラムシ科(Kerriidae)	血液スメア (トルロブシス属(<i>Torulopsis</i>))
ラッキフェル属種 (<i>Laccifer</i> sp.) (=ラクシャディア属種 (<i>Lakshadia</i> sp.))	同翅亜目(Hemiptera): ラックカイガラムシ科(Kerriidae)	血液スメア (トルラ・バリアビリス(<i>Torula variabilis</i>))
コンペリア・メルケティ (<i>Comperia merceti</i>)	膜翅目(Hymenoptera): トビコバチ科(Encyrtidae)	血リンパ, 腸, 毒腺
ソレノプシス・インビクタ (<i>Solenopsis invicta</i>)	膜翅目(Hymenoptera): アリ科(Formicidae)	血リンパ (ミルメコミセス・アンエリサエ (<i>Myrmecomyces annellisae</i>))
S. キンケクスピス (<i>S. quinquecupis</i>)		
ソレノプシス・インビクタ (<i>Solenopsis invicta</i>)	膜翅目(Hymenoptera): アリ科(Formicidae)	4 齢幼虫 (カンジダ・パラブシローシス (<i>Candida parapsilosis</i>), ヤロウイア・リポリティカ (<i>Yarrowia lipolytica</i>))
		腸及び血リンパ (カンジダ・パラブシローシス (<i>Candida parapsilosis</i>), C. リポリティ カ(<i>C. lipolytica</i>), C. ギリエルモンディ(<i>C. guillermundii</i>), C. ルゴサ(<i>C. rugosa</i>), デバリオミセス・ハンセンイ (<i>Debaryomyces hansenii</i>))
アピス・メリフェラ (<i>Apis mellifera</i>)	膜翅目(Hymenoptera): ミツバチ科(Apidae)	消化管 (トルロブシス属種 (<i>Torulopsis</i> sp.))
		腸管 (トルロブシス・アピコラ (<i>Torulopsis apicola</i>))
		消化管 (8 酵母種)
		腸の内容物 (12 酵母種)
		腸の内容物 (7 酵母種)
		腸 (14 酵母種)
		腸管 (ピキア・メリソフィラ (<i>Pichia melissophila</i>))
		腸管 (7 酵母種)
		消化管 (ハンゼヌラ・シルビコラ (<i>Hansenula silvicola</i>))
		作物及び腸 (13 酵母種)
アピス・メリフェラ (<i>Apis mellifera</i>)	膜翅目(Hymenoptera): ミツバチ科(Apidae)	中腸 (9 酵母属)

【 0 2 2 9 】

10

20

30

40

50

【表 8 4】

アントフォラ・オクシデンタリス (<i>Anthophora occidentalis</i>)	膜翅目(Hymenoptera): コシブトハナバチ科 (Anthophoridae)	
ノミア・メランデリ (<i>Nomia melanderi</i>)	膜翅目(Hymenoptera): コハナバチ科(Halictidae)	
ハリクツス・ルビクンデウス (<i>Halictus rubicundus</i>)	膜翅目(Hymenoptera): コハナバチ科(Halictidae)	
メガキレ・ロトゥンダタ (<i>Megachile rotundata</i>)	膜翅目(Hymenoptera): ハキリバチ科(Megachilidae)	

10

【0 2 3 0】

任意の数の真菌種は、本明細書に記載される組成物又は方法の標的となり得る。例えば、一部の例では、調節薬剤は、単一の真菌種を標的とし得る。一部の例では、調節薬剤は、少なくとも約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250、500又はそれを超えるもののいずれかの異なる真菌種を標的とし得る。一部の例では、調節薬剤は、約1～約5、約5～約10、約10～約20、約20～約50、約50～約100、約100～約200、約200～約500、約10～約50、約5～約20又は約10～約100のいずれか1つの異なる真菌種を標的とし得る。一部の例では、調節薬剤は、少なくとも約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100又はそれを超えるもののいずれかの真菌門、綱、目、科又は属を標的とし得る。

20

【0 2 3 1】

一部の例では、調節薬剤は、調節薬剤を投与されていない宿主生物と比較して、宿主における1種以上の真菌の個体群を少なくとも約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%又はそれを超えるもののいずれかだけ増加させることができる。一部の例では、調節薬剤は、調節薬剤を投与されていない宿主生物と比較して、宿主における1種以上の真菌の個体群を少なくとも約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%又はそれを超えるもののいずれかだけ低減することができる。一部の例では、調節薬剤は、宿主における真菌の個体群を根絶することができる。

30

【0 2 3 2】

一部の例では、調節薬剤は、宿主の真菌多様性及び／又は真菌組成を変化させることができる。一部の例では、調節薬剤は、調節薬剤を投与されていない宿主生物と比較して、宿主における出発時の多様性と比べた真菌多様性を少なくとも約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%又はそれを超えるもののいずれかだけ増加させることができる。一部の例では、調節薬剤は、調節薬剤を投与されていない宿主生物と比較して、宿主における出発時の多様性と比べた真菌多様性を少なくとも約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%又はそれを超えるもののいずれかだけ低下させることができる。

40

【0 2 3 3】

一部の例では、調節薬剤は、1つ以上の真菌の機能、活動、成長及び／又は分裂を変化させることができる。例えば、調節薬剤は、真菌の1つ以上の遺伝子の発現を変化させることができる。一部の例では、調節薬剤は、真菌の1つ以上のタンパク質の機能を変化させることができる。一部の例では、調節薬剤は、真菌の1つ以上の細胞成分の機能を変化させることができる。一部の例では、調節薬剤は真菌を死滅させることができる。

【0 2 3 4】

更に、標的真菌は、昆虫の1つ以上の部位に常在し得る。一部の例では、真菌は、例えば、前腸、中腸及び／又は後腸を含め、昆虫の腸の1つ以上の部位内又は部位上に常在す

50

る。一部の例では、真菌は、細胞外で血リンパ、脂肪体において、又は宿主の特殊化した構造において生活する。

【0235】

宿主における真菌の個体群の変化は、マイクロアレイ、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）、リアルタイムPCR、フローサイトメトリー、蛍光顕微鏡法、透過電子顕微鏡法、蛍光インサイチュハイブリダイゼーション（例えば、FISH）、分光測定法、マトリック支援レーザー脱離イオン化－質量分析法（MALDI-MS）及びDNAシーケンシングなど、当該技術分野において公知の任意の方法によって決定され得る。一部の例では、調節薬剤で処理した宿主のサンプルがシーケンシング（例えば、メタゲノミクスシーケンシングにより）され、調節薬剤の送達又は投与後の宿主のマイクロバイームが決定される。一部の例では、調節薬剤の投与を受けなかった宿主のサンプルもシーケンシングされ、参照が提供される。

10

【0236】

III. 調節薬剤

本明細書に提供される方法及び組成物の調節薬剤は、ポリペプチド、核酸、小分子、又はこれらの任意の組合せを含み得る。一部の例では、調節薬剤は、核酸分子（例えば、DNA分子又はRNA分子、例えば、mRNA、ガイドRNA（gRNA）、又は阻害性RNA分子（例えば、siRNA、shRNA、若しくはmiRNA）、又はハイブリッドDNA-RNA分子）、小分子、ペプチド、又はポリペプチド（例えば、抗体分子、例えば、抗体若しくはその抗原結合フラグメント）である。これらの薬剤のいずれかを用いて、宿主及び／又は常在微生物における経路（例えば、宿主－微生物叢相互作用を媒介する経路、例えば、宿主免疫系経路若しくはバクテリオサイト経路）を標的とすることにより、宿主無脊椎動物（例えば、昆虫、軟体動物、若しくは線虫）の微生物叢を改変することができる。例えば、本明細書に記載される任意の調節薬剤を用いて、宿主又は宿主に常在する微生物における遺伝子若しくはタンパク質（例えば、表7、表8、若しくは表9に挙げるタンパク質若しくはタンパク質をコードする遺伝子）を調節する（例えば、誘発する、又は阻害する）ことができる。

20

【0237】

i. ポリペプチド

本明細書に記載される調節薬剤は、ポリペプチド（例えば、抗体）を含み得る。一部の例では、本明細書に記載の調節薬剤は、宿主無脊椎動物（例えば、昆虫、軟体動物、若しくは線虫）及び／又は常在微生物における経路（例えば、宿主－微生物叢相互作用を媒介する経路、例えば、宿主免疫系経路若しくはバクテリオサイト経路）を標的とするポリペプチド又はその機能的断片若しくは誘導体を含む。一部の例では、薬剤は、表7、表8、若しくは表9に挙げるポリペプチドであり、ここで、薬剤ポリペプチドの一次配列は、そのアクセッション番号を参照にして提供される。

30

【0238】

本明細書に記載される通りのポリペプチドを含む調節薬剤は、（a）標的宿主の内部で目標レベル（例えば、所定若しくは閾値レベル）の濃度に達する；（b）標的宿主の腸の内部で目標レベル（例えば、所定若しくは閾値レベル）の濃度に達する；（c）標的宿主のバクテリオサイトの内部で目標レベル（例えば、所定若しくは閾値レベル）の濃度に達する；（d）標的宿主の1種以上の微生物（例えば、内部共生体）のレベル、又は活動を調節する；或いは／並びに（e）標的宿主の適応度を調節するのに十分な量で、且つ十分な時間にわたって標的宿主と接触させることができる。

40

【0239】

本明細書で包含されるポリペプチドは、天然に存在するポリペプチド又は組換えにより作製される変異体を含み得る。一部の例では、ポリペプチドは、その機能的断片又は変異体（例えば、表7、表8、若しくは表9に挙げるポリペプチドの酵素活性断片又は変異体）であってもよい。こうした断片又は変異体は、本明細書に記載するように作製して、類似の活動についてスクリーニングすることができ、開示される方法及び組成物において以

50

下も同様である)。例えば、ポリペプチドは、例えば、特定の領域にわたり又は配列全体にわたり、本明細書に記載されるポリペプチド又は天然に存在するポリペプチドの配列と少なくとも70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%又は99%の同一性を有する本明細書に記載される任意のポリペプチドの機能的に活性な変異体であり得る。一部の例では、ポリペプチドは、提供されるアクセッション番号を参照にして、表7、表8、若しくは表9に挙げるタンパク質のアミノ酸配列と少なくとも50%（例えば、少なくとも50%、60%、70%、80%、90%、95%、97%、99%、又はそれを超える）同一性を有し得る。

【0240】

治療用ポリペプチドを作製する方法は、当該技術分野においてルーティンである。一般的に、Smales & James (Eds.), *Therapeutic Proteins: Methods and Protocols* (Methods in Molecular Biology), Humana Press (2005); 及び Crommelin, Sindelar & Meibohm (Eds.), *Pharmaceutical Biotechnology: Fundamentals and Applications*, Springer (2013) を参照されたい。

【0241】

ポリペプチドを作製する方法は、哺乳動物細胞での発現を含むが、適切なプロモータの制御下、昆虫細胞、酵母、細菌、又はその他の細胞を用いて、組換えタンパク質を作製することもできる。哺乳動物発現ベクターは、複製起点などの非転写エレメント、好適なプロモータ及びエンハンサー、並びに他の5'若しくは3'フランキング非転写配列、及び必要なりボソーム結合部位などの5'若しくは3'非転写配列、ポリアデニル化部位、スプライスドナー及びアクセプター部位、並びに終結配列を含み得る。SV40ウイルスゲノム由来のDNA配列、例えばSV40起点、早期プロモータ、エンハンサー、スプライス、及びポリアデニル化部位を用いて、異種DNA配列の発現に必要な他の遺伝子エレメントを提供することもできる。細菌、真菌、酵母、及び哺乳動物細胞宿主と一緒に使用するのに適切なクローニング及び発現ベクターは、Green & Sambrook, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (Fourth Edition), Cold Spring Harbor Laboratory Press (2012) に記載されている。

【0242】

様々な哺乳動物細胞培養系を使用して、組換えポリペプチド薬剤（例えば、表4、表5、若しくは表6に挙げるもの）を発現させて、製造することができる。哺乳動物発現系の例としては、CHO細胞、COS細胞、HeLA及びBHK細胞株が挙げられる。タンパク質治療薬生産のための宿主細胞培養の方法は、例えば、Zhou and Kantardjieff (Eds.), *Mammalian Cell Cultures for Biologics Manufacturing* (Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology), Springer (2014) に記載されている。タンパク質治療薬の精製については、Franks, *Protein Biotechnology: Isolation, Characterization, and Stabilization*, Humana Press (2013); 及び Cutler, *Protein Purification Protocols* (Methods in Molecular Biology), Humana Press (2010) に記載されている。タンパク質治療薬の製剤化については、Meyer (Ed.), *Therapeutic Protein Drug Products: Practical Approaches to formulation in the Laboratory, Manufacturing, and the Clinic*, Woodhead Publishing Series (2012) に記載されて

10

20

30

40

50

いる。

【0243】

以下に論じるポリペプチド調節薬剤、即ち、抗体、バクテリオシン、抗微生物ペプチド、及びバクテリオサイト調節性ペプチドを用いて、宿主の適応度の増加又は低下の節で示される通り、宿主と宿主に常在する微生物との相互作用を媒介する宿主の経路を改変することができる。

【0244】

(a) 抗体

一部の例では、調節薬剤は、抗体又はその抗原結合フラグメントを含む。例えば、本明細書に記載の薬剤は、表8又は表9に挙げる宿主免疫系経路若しくはバクテリオサイト調節経路の構成要素の活性及び／若しくは機能を遮断又は増強する抗体であってよい。抗体は、表7、表8、若しくは表9に挙げる任意のタンパク質を含め、宿主又は宿主に常在する微生物におけるポリペプチド（例えば、酵素若しくは細胞受容体）のアнтаゴニスト又はアゴニストとして作用し得る。

【0245】

標的抗原に対する抗体（例えば、宿主－微生物叢相互作用を媒介するタンパク質、例えば、宿主免疫系タンパク質又はバクテリオサイトタンパク質、例えば、表7、表8、若しくは表9に記載のタンパク質）の作製及び使用は、当該技術分野において公知である。例えば、抗体操作、変性オリゴヌクレオチド、5'－RACE、ファージディスプレイ、及び突然変異誘発の使用；抗体試験及び特性決定；抗体薬物動態及び薬力学；抗体精製及び保存；並びにスクリーニング及び標識技術を含む、組換え抗体の製造方法については、Zhiqiang An (Ed.), *Therapeutic Monoclonal Antibodies: From Bench to Clinic*, 1st Edition, Wiley, 2009、更には、Greenfield (Ed.), *Antibodies: A Laboratory Manual*, 2nd Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2013を参照されたい。

【0246】

(b) バクテリオシン

本明細書に記載される調節薬剤は、バクテリオシンを含み得る。一部の例では、バクテリオシンは、シュードモナス属 (*Pseudomonas*)、ストレプトミセス属 (*Streptomyces*)、バチルス属 (*Bacillus*)、スタフィロコッカス属 (*Staphylococcus*) 又は乳酸菌 (*LAB*、例えばラクトコッカス・ラクチス (*Lactococcus lactis*)) などのグラム陽性細菌によって天然に生産される。一部の例では、バクテリオシンは、ハフニア・アルベ (*Hafnia alvei*)、シトロバクター・フロインディ (*Citrobacter freundii*)、クレブシエラ・オキシトカ (*Klebsiella oxytoca*)、クレブシエラ・ニューモニエ (*Klebsiella pneumonia*)、エンテロバクター・クロアカ (*Enterobacter cloacae*)、セラチア・プリミチウム (*Serratia plymthicum*)、キサントモナス・カンペストリス (*Xanthomonas campestris*)、エルウィニア・カロトボラ (*Erwinia carotovora*)、ラルストニア・ソラナケアルム (*Ralstonia solanacearum*) 又は大腸菌 (*Escherichia coli*) などのグラム陰性細菌によって天然に生産される。例示的バクテリオシンとしては、限定はされないが、クラスI～IV *LAB* 抗生物質（ランチビオティックなど）、コリシン、ミクロシン及びピオシンが挙げられる。バクテリオシンの非限定的な例を表3に挙げる。

【0247】

10

20

30

40

50

【表 8 5】

表3: バクテリオシンの例

クラス	名称	生産者	標的	配列
クラス I	ナイシン	ラクトコッカス・ラクチス (<i>Lactococcus lactis</i>)	活性の対象となる グラム陽性細菌: エンテロコッカス属(<i>Enterococcus</i>), ラクトバチルス属(<i>Lactobacillus</i>), ラクトコッカス属(<i>Lactococcus</i>), ロイコノストック属(<i>Leuconostoc</i>), リステリア属(<i>Listeria</i>), クロストリジウム属(<i>Clostridium</i>)	ITSISLCTPGCKT GALMGCNMKTA TCHCSIHVSK (配列番号 42)
	エピデルミン	表皮ブドウ球菌 (<i>Staphylococcus epidermis</i>)	グラム陽性細菌	IASKFICTPGCA KTGSFNSYCC (配列番号 43)

10

【 0 2 4 8 】

20

30

40

50

【表 8 6】

クラス II				
クラス II a	ペディオシン PA-1	ペディオコッカス・ アシディラクティシ (<i>Pediococcus</i> <i>acidilactici</i>)	ペディオコッカス(<i>Pediococci</i>), ラクトバチルス(<i>Lactobacilli</i>), ロイコノストック属(<i>Leuconostoc</i>), ブロコトリックス・サーモスファクタ (<i>Brochothrix thermosphacta</i>), プロビオニバクテリウム (<i>Propionibacteria</i>), バチルス(<i>Bacilli</i>), エンテロコッカス(<i>Enterococci</i>), スタフィロコッカス(<i>Staphylococci</i>), リステリア・クロストリジア (<i>Listeria clostridia</i>), リステリア・モノサイトゲネス (<i>Listeria monocytogenes</i>), リステリア・イノキュア (<i>Listeria innocua</i>)	KYYGNGVTCG KHSCSVDWGK ATTCIINNGAMA WATGGHQGNH KC (配列番号 44)
クラス II b	エンテロシン P	エンテロコッカス・ フェシウム (<i>Enterococcus</i> <i>faecium</i>)	ラクトバチルス・サケイ (<i>Lactobacillus sakei</i>), エンテロコッカス・フェシウム (<i>Enterococcus faecium</i>)	ATRSYGNGVYC NNSKCWVNWG EAKENIAGIVISG WASGLAGMGH (配列番号 45)
クラス II c	ラクトコッシン G	ストレプトコッカス・ ラクチス (<i>Streptococcus</i> <i>lactis</i>)	グラム陽性細菌	GTWDDIGQGIG RVAYWVGKAM GNMSDVNQAS RINRKKKH (配列番号 46)
クラス II d	ラクタシン F	ラクトバチルス・ ジョンソニイ (<i>Lactobacillus</i> <i>johnsonii</i>)	ラクトバチルス(<i>Lactobacilli</i>), エンテロコッカス・フェカリス (<i>Enterococcus faecalis</i>)	NRWGDTVLSAA SGAGTGIKACK SFGPWGMAICG VGGAIGGYFG YTHN (配列番号 47)

【 0 2 4 9 】

10

20

30

40

50

【表 8 7】

クラス III				
クラス III a	エンテロシン AS-48	エンテロコッカス・ フェカリス (<i>Enterococcus faecalis</i>)	広域スペクトル: グラム陽性及び グラム陰性細菌	MAKEFGIPAAVA GTVLNVVEAGG WVTIVSILTAV GSGGLSLLAAA GRESIKAYLKKE IKKKGKRAVIAW (配列番号 48)
クラス III b	オーレオシン A70	黄色ブドウ球菌 (<i>Staphylococcus aureus</i>)	広域スペクトル: グラム陽性及び グラム陰性細菌	MSWLNFLKYIAK YGKKAWSAAWK YKGKVLWLVN GPTLEWVWQKL KKIAGL (配列番号 49)
クラス IV	ガルピシン A	ラクトコッカス・ ガルピエアエ (<i>Lactococcus garvieae</i>)	広域スペクトル: グラム陽性及び グラム陰性細菌	IGGALGNALNGL GTWANMMNGG GFVNQWQVYA NKGKINQYRPY (配列番号 50)
未分類	コリシン V	大腸菌 (<i>Escherichia coli</i>)	活性対象は大腸菌 (<i>Escherichia coli</i>) (また近縁細菌も)、腸内細菌科 (Enterobacteriaceae)	MRTLTLNELDS VSGGASGRDIA MAIGTLGQFV AGGIGAAAGGV AGGAIYDYAST HKPNPAMSPSG LGGTIKQKPEGI PSEAWNYAAGR LCNWSPNNLSD VCL (配列番号 51)

10

20

30

【0 2 5 0】

一部の例では、バクテリオシンは、グラム陰性細菌によって生産されるコリシン、ピオシン又はミクロシンである。一部の例では、バクテリオシンは、コリシンである。コリシンは、A群コリシン（例えば、T o l系を使用して標的細菌の外膜に侵入する）又はB群コリシン（例えば、T o n系を使用して標的細菌の外膜に侵入する）であり得る。一部の例では、バクテリオシンは、ミクロシンである。ミクロシンは、クラスIミクロシン（例えば、< 5 k D a、翻訳後修飾を有する）又はクラスIIミクロシン（例えば、5 ~ 1 0 k D a、翻訳後修飾有り又は無し）であり得る。一部の例では、クラスIIミクロシンは、クラスII aミクロシン（例えば、機能性ペプチドの合成及びアセンブリに2つ以上の遺伝子を必要とする）又はクラスII bミクロシン（例えば、C末端の翻訳後修飾有り又は無しの線状ペプチド）である。一部の例では、バクテリオシンは、ピオシンである。一部の例では、ピオシンは、R-ピオシン、F-ピオシン又はS-ピオシンである。

40

【0 2 5 1】

一部の例では、バクテリオシンは、グラム陽性細菌によって生産されるクラスI、クラスII、クラスIII又はクラスIVバクテリオシンである。一部の例では、調節薬剤は、クラスIバクテリオシン（例えば、グラム陽性細菌によって生産されるランチオニン含有抗生物質（ランチビオティック））を含む。クラスIバクテリオシン又はランチビオティックは、低分子量ペプチド（例えば、約5 k D a未満）であり得、翻訳後修飾されたア

50

ミノ酸残基（例えば、ランチオニン、 β -メチルランチオニン又は脱水アミノ酸）を有し得る。

【0252】

一部の例では、バクテリオシンは、クラスIIバクテリオシン（例えば、グラム陽性細菌によって生産される非ランチビオティック）である。多くは、正電荷の非ランチオニン含有ペプチドであり、これは、ランチビオティックと異なり、大規模な翻訳後修飾を受けない。クラスIIバクテリオシンは、以下のサブクラスの1つに属し得る：「ペディオシン様」バクテリオシン（例えば、ペディオシンPA-1及びカルノバクテリオシンX（クラスIIa））；2ペプチドバクテリオシン（例えば、ラクタシンF及びABP-118（クラスIIb））；環状バクテリオシン（例えば、カルノシクリンA（carnocyclin A）及び及びエンテロシンAS-48（クラスIIc））；又は修飾されていない線状の非ペディオシン様バクテリオシン（例えば、エピデルミシンNI01及びラクトコッシンA（クラスIId））。

10

【0253】

一部の例では、バクテリオシンは、クラスIIIバクテリオシン（例えば、グラム陽性細菌によって生産される）である。クラスIIIバクテリオシンは、10kDaより大きい分子量を有し得、熱不安定性タンパク質であり得る。クラスIIIバクテリオシンは、IIIA群及びIIIB群バクテリオシンに更に細分される。IIIA群バクテリオシンは、エンテロリシンAなど、敏感な株を細胞の溶解によって十分に死滅させる細菌溶解酵素を含む。IIIB群バクテリオシンは、カゼイシン80、ヘルベティシンJ及びラクタシンBなど、非溶菌性タンパク質を含む。

20

【0254】

一部の例では、バクテリオシンは、クラスIVバクテリオシン（例えば、グラム陽性細菌によって生産されるもの）である。クラスIVバクテリオシンは、活性に必要と見られる他の脂質又は炭水化物部分と会合した一群の複合タンパク質である。これは、比較的低水溶性が高く、熱安定性である。クラスIVバクテリオシンの例は、ロイコノシンS、ラクトシン27及びラクトシンSである。

【0255】

一部の例では、バクテリオシンは、R型バクテリオシンである。R型バクテリオシンは、収縮性殺菌性タンパク質複合体である。一部のR型バクテリオシンは、収縮性ファージ尾部様構造を有する。ファージ尾繊維タンパク質のC末端領域は、標的結合特異性を決定する。これは、受容体結合タンパク質、例えば尾繊維を介して標的細胞に付着し得る。付着に続いて鞘が収縮し、標的細菌のエンベロップを通してコアが入り込む。コアが侵入すると、細胞膜電位の急速な脱分極が起こり、細胞死が促進される。単一のR型バクテリオシン粒子との接触で細胞死が起こり得る。R型バクテリオシンは、例えば、易熱性、耐弱酸性、トリプシン耐性、遠心によって沈降可能、電子顕微鏡法によって解像可能又はこれらの組み合わせであり得る。他のR型バクテリオシンは、複数のタンパク質、ポリペプチド又はサブユニットを含む複合分子であり得、マイオウイルス科（Myoviridae）のバクテリオファージの尾部構造に類似したものであり得る。天然に存在するR型バクテリオシンでは、サブユニット構造は、C.ディフィシル（C. difficile）又は緑膿菌（P. aeruginosa）などの細菌ゲノムによってコードされ、R型バクテリオシンを形成して他の細菌に対する天然の防御としての役割を果たし得る。一部の例では、R型バクテリオシンは、ピオシンである。一部の例では、ピオシンは、R-ピオシン、F-ピオシン又はS-ピオシンである。

30

40

【0256】

一部の例では、バクテリオシンは、本明細書に記載されるバクテリオシンの機能的に活性な変異体である。一部の例では、バクテリオシンの変異体は、例えば、特定の領域にわたり又は配列全体にわたり、本明細書に記載されるバクテリオシン又は天然に存在するバクテリオシンの配列と少なくとも70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、8

50

6 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %又は99 %の同一性を有する。

【0257】

一部の例では、バクテリオシンは、標準方法に従って生物工学的に操作され得、その生物活性を調節し、例えば増加若しくは低下させるか、又は調整するか、又はその標的微生物を指定し得る。他の例では、バクテリオシンは、微生物細胞の翻訳機構（例えば、リボソーム等）によって産生される。一部の例では、バクテリオシンは、化学的に合成される。一部のバクテリオシンは、ポリペプチド前駆体に由来することができる。ポリペプチド前駆体は、切断（例えば、プロテアーゼによるプロセッシング）を受けると、バクテリオシン自体のポリペプチドを生じさせることができる。このように、一部の例では、バクテリオシンは、前駆体ポリペプチドから産生される。他の一部の例では、バクテリオシンは、翻訳後修飾、例えば切断又は1つ以上の官能基の付加を受けたポリペプチドを含む。

10

【0258】

本明細書に記載されるバクテリオシンは、本明細書に記載される任意の使用のために組成物に製剤化され得る。本明細書に開示される組成物は、少なくとも約1つのバクテリオシン、2、3、4、5、10、15、20、30、40、50、100又はそれを超えるバクテリオシンのいずれか1つなど、任意の数又は種類（例えば、クラス）のバクテリオシンを含み得る。本明細書に記載される組成物中の各バクテリオシンの好適な濃度は、バクテリオシンの有効性、安定性、組成物中にある異なるバクテリオシン種類の数、製剤及び組成物の施用方法などの要因に依存する。一部の例では、液体組成物中の各バクテリオシンは、約0.01 ng/mL～約100 mg/mLである。一部の例では、固体組成物中の各バクテリオシンは、約0.01 ng/g～約100 mg/gである。一部の例では、ここで、本組成物は、少なくとも2種類のバクテリオシンを含み、各種類のバクテリオシンの濃度は、同じであるか又は異なり得る。一部の例では、バクテリオシンは、バクテリオシンを分泌する細菌細胞を含む組成物で提供される。一部の例では、バクテリオシンは、ポリペプチド（例えば、細菌細胞から単離されたポリペプチド）を含む組成物で提供される。

20

【0259】

バクテリオシンは、その細菌細胞にクローン的に関連する細胞及び他の微生物細胞を含め、そのポリペプチドを作る個別の細菌細胞以外の少なくとも1つの微生物を中和し得る（例えば、死滅させ得る）。このように、細菌細胞は、バクテリオシンを分泌することにより複数の微生物に細胞傷害効果又は成長阻害効果を及ぼし得る。一部の例では、バクテリオシンは、細胞膜孔形成、細胞壁干渉（例えば、ペプチドグリカナーゼ（peptidoglycanase）活性）又はヌクレアーゼ活性（例えば、DNアーゼ活性、16S rRNAアーゼ活性若しくはtRNAアーゼ活性）によって1つ以上の宿主常在細菌種を標的とし、それを死滅させる。

30

【0260】

一部の例では、バクテリオシンは、中和活性を有する。バクテリオシンの中和活性としては、限定はされないが、微生物生殖の停止又は細胞傷害性を挙げることができる。一部のバクテリオシンは、細胞傷害活性を有し、従って微生物、例えば細菌、酵母、藻類などを死滅させることができる。一部のバクテリオシンは、微生物、例えば細菌、酵母、藻類などの生殖を例えば細胞周期の停止によって阻害することができる。

40

【0261】

一部の例では、バクテリオシンは、殺傷活性を有する。バクテリオシンの殺傷機構は、各バクテリオシン群に特異的である。一部の例では、バクテリオシンは、狭域スペクトル生物活性を有する。バクテリオシンは、その標的株に対するその極めて高い効力で知られる。一部のバクテリオシン活性は、バクテリオシン生産株に近縁の株に限定されている（狭域スペクトル生物活性）。一部の例では、バクテリオシンは、幅広い属に対して広域スペクトル生物活性を有する。

【0262】

50

一部の例では、バクテリオシンは、標的細菌細胞膜上の受容体分子又はドッキング分子と相互作用する。例えば、ナイシンは、その標的細菌株に対して極めて効力が強く、1桁のナノモル濃度でも抗微生物活性を示す。ナイシン分子は、ペプチドグリカンサブユニットを細胞質から細胞壁に運ぶ主要なトランスポーターであるリポD IIに結合することが示されている。

【0263】

一部の例では、バクテリオシンは、抗真菌活性を有する。抗酵母又は抗真菌活性を有する幾つものバクテリオシンが同定されている。例えば、バチルス属 (*Bacillus*) のバクテリオシンは、一部の酵母株に対して中和活性を有することが示されている (例えば、Adetunji and Olaoye, *Malaysian Journal of Microbiology* 9:130-13, 2013を参照されたい)。別の例では、フェカリス菌 (*Enterococcus faecalis*) ペプチドは、カンジダ属 (*Candida*) 種に対して中和活性を有することが示されている (例えば、Shekh and Roy, *BMC Microbiology* 12:132, 2012を参照されたい)。別の例では、シュドモナス属 (*Pseudomonas*) のバクテリオシンは、クルブラリア・ルナータ (*Curvularia lunata*)、フザリウム属 (*Fusarium*) 種、ヘルミントスポリウム属 (*Helminthosporium*) 種及びビポラリス属 (*Biopolaris*) 種などの真菌に対して中和活性を有することが示されている (例えば、Shalani and Srivastava, *The Internet Journal of Microbiology Volume 5 Number 2*, 2008を参照されたい)。別の例では、枯草菌 (*B. subtilis*) のボトリシジン (botrycidin) AJ1316及びアリリンB1は、抗真菌活性を有することが示されている。

【0264】

本明細書に記載されるとおりのバクテリオシンを含む調節薬剤は、(a) 標的宿主の内部で目標レベル (例えば、所定又は閾値レベル) のバクテリオシン濃度に達する；(b) 標的宿主の腸の内部で目標レベル (例えば、所定又は閾値レベル) のバクテリオシン濃度に達する；(c) 標的宿主のバクテリオサイトの内部で目標レベル (例えば、所定又は閾値レベル) のバクテリオシン濃度に達する；(d) 標的宿主における1つ以上の微生物 (例えば、内部共生体) のレベル又は活動を調節する；又は／及び (e) 標的宿主の適応度を調節するのに十分な量で且つ十分な時間にわたって標的宿主と接触させることができる。

【0265】

実施例5により示されるように、バクテリオシン (例えば、トランスジェニック植物により産生されるcolA) を、宿主経路 (例えば、昆虫、例えば、アブラムシ) を標的とする調節薬剤として使用することができ、これは、ブフネラ属種 (*Buchnera* spp.) などの宿主に常在する共生菌の活動、レベル、又は代謝を改変して、宿主の適応度を調節する (例えば、低下させる)。

【0266】

(c) 抗微生物ペプチド

本明細書に記載される調節薬剤は、抗微生物ペプチド (AMP) を含み得る。宿主に常在する微生物を阻害するのに好適ないずれのAMPを使用してもよい。AMPは多様な分子群であり、そのアミノ酸組成及び構造に基づいて亜群に分けられる。AMPは、植物 (例えばコブシン)、昆虫 (例えば、マストパラン、ポネラトキシン、セクロピン、モリシン、メリチン)、カエル (例えば、マガイニン、ダーマセプチン、オーレイン)、及び哺乳動物 (例えば、カテリシジン類、デフェンシン類及びプロテグリン類) に由来するAMPを含め、天然でAMPを産生する任意の生物に由来するか、又はそれから生産されるものであってもよい。AMPの非限定的な例を表4に挙げる。

【0267】

10

20

30

40

50

【表 8 8】

表4: 抗微生物ペプチドの例

種類	特徴	例示的 AMP	配列
アニオン性 ペプチド	グルタミン酸及び アスパラギン酸リッチ	ダームシジン	SSLLEKGLDGAKKAVGGLGK LGKDAVEDLESVGKGAVHDVKD VLDSVL (配列番号 52)
線状カチオン性 α -ヘリックス ペプチド	システイン欠損	セクロピン A	KWKLFKKIEKVGQNIRDGHIKAG PAVAVVGQATQIAK (配列番号 53)
		アンドロピン	MKYFSVLVVLTLILAIVDQSDAFI NLLDKVEDALHTGAQAGFKLIR PVERGATPKKSEKPEK (配列番号 54)
		モリシン	MNILKFFFVFIVAMSLVSCSTAA PAKIPIKAIKTVGKAVGKGLRAI NIASTANDVFNFLKPKKRKH (配列番号 55)
		セラトキシ	MANLKAVFLICIVAFIALQCVVA EPAAEDSVVVKRSIGSALKKAL PVAKKIGKIALPIAKAALPVAAG LVG (配列番号 56)
特定の amino 酸が エンリッチされた カチオン性 ペプチド	プロリン, アルギニン, フェニルアラニン, グリシン, トリプトファンリッチ	アバエシン	MKVVFIFALLATICAFAFAYVPLP NVPQPGRRPFPTFPQGQPFNP KIKWPQGY (配列番号 57)

【 0 2 6 8 】

10

20

30

40

50

【表 8 9】

		アビダエシン	KNFALAILVVTFFVAVFGNTNLD PPTRPTRLRREAKEPEAPGNN RPVYIPQPRPPHPRLRREAEPE AEPGNNRPVYIPQPRPPHPRL RREAELEAEPGNNRPVYISQP RPPHPRLRREAEPEAEPGNNR PVYIPQPRPPHPRLRREAELEA EPGNNRPVYISQPRPPHPRLR REAEPEAEPGNNRPVYIPQPR PPHPRLRREAEPEAEPGNNRP VYIPQPRPPHPRLRREAEPEAE PGNNRPVYIPQPRPPHPRLRR EAKPEAKPGNNRPVYIPQPRP PHPRI (配列番号 58)	10
		プロフェニン	METQRASLCLGRWSLWLLLLA LVVPSASAQALSYREAVLRAVD RLNEQSSEANLYRLELDQPPK ADEDPGTPKPVSTVKETVCP RPTRRPPELCDFKENGVRKQC VGTVTLDQIKDPLDITCNEGVR RFPWWWPFLLRRPRLRRQAFP PPNVPGPRFPPPNVPGPRFPP PNFPGPRFPPPNFPGPRFPP NFPGPPFPPPIFPGPWFPFPP FRPPPFPPRFPGRR (配列番号 59)	20
		インドリジン	MQTQRASLSLGRWSLWLLLLG LVVPSASAQALSYREAVLRAVD QLNELSSEANLYRLELDPPPK DNEDLGTRKPVSTVKETVCP RTIQQPAEQCDFKEKGRVKQC VGTVTLDPSNDQFDLNCNELQ SVILPWKWPWWPWRRG (配列番号 60)	30

【 0 2 6 9 】

【表 9 0】

システインを含有し且つジスルフィド結合を形成するアニオン性及びカチオン性ペプチド	1-3 ジスルフィド結合含有	プロテグリン	METQRASLCLGRWSLWLLLLA LVVPSASAQALSREAVLRAVD RLNEQSSEANLYRLELDQPPK ADEDPGTPKPVSTVKETVCP RPTRQPPELCDFKENGVRVKQC VGTVTLDQIKDPLDITCNEVQG VRGGRLCYCRRRFCVCVGRG (配列番号 61)
		タキプレシン類	KWCFRVCYRGICYRRCR (配列番号 62)
		デフェンシン	MKCATIVCTIAVVLAATLLNGSV QAAPQEEAALSGGANLNTLLD ELPEETHHAALENYRAKRATC DLASGFGVGSSCAAHCIARR YRGGYCNSKAVCVCRN (配列番号 63)
		ドロソマイシン	MMQIKYLFALFAVLMLVVLGAN EADADCLSGRYKGPCAVWDN ETCRRVCKEEGRSSGHCSPSL KCWCEGC (配列番号 64)

10

20

【0 2 7 0】

A M P は、任意の数の標的微生物に対して活性があり得る。一部の例では、A M P は、抗細菌及び／又は抗真菌活性を有し得る。一部の例では、A M P は、狭域スペクトル生物活性又は広域スペクトル生物活性を有し得る。例えば、一部の A M P は、少数の細菌種又は真菌種のみを標的としてそれを死滅させるが、別の A M P は、グラム陰性及びグラム陽性の両方の細菌並びに真菌に対する活性がある。

30

【0 2 7 1】

更に、A M P は、幾つもの既知の作用機構で機能し得る。例えば、細胞膜は、A M P の高頻度標的であるが、A M P は、D N A 及びタンパク質合成、タンパク質フォールディング及び細胞壁合成にも干渉し得る。一部の例では、正味カチオン荷電の、両親媒性の性質を有する A M P は、細菌膜を破壊して細胞溶解をもたらす。一部の例では、A M P は、細胞に侵入して細胞内標的と相互作用することにより、D N A、R N A、タンパク質又は細胞壁合成に干渉し得る。微生物を死滅させることに加えて、A M P は、宿主遺伝子発現を変化させ、ケモカインとして役割を果たし且つ／又はケモカイン産生を誘導し、リポ多糖誘発性炎症誘発性サイトカイン産生を阻害し、創傷治癒を促進し、及び樹状細胞及び適応免疫応答細胞の応答を調節する能力を含め、感染のクリアランスに関わる幾つもの免疫調節機能を実証している。

40

【0 2 7 2】

一部の例では、A M P は、本明細書に記載される A M P の機能的に活性な変異体である。一部の例では、A M P の変異体は、例えば、特定の領域にわたり又は配列全体にわたり、本明細書に記載される A M P 又は天然由来の A M P の配列と少なくとも 7 0 %、7 1 %、7 2 %、7 3 %、7 4 %、7 5 %、7 6 %、7 7 %、7 8 %、7 9 %、8 0 %、8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 % 又は 9 9 % の同一性を有する。

【0 2 7 3】

50

一部の例では、AMPは、生物工学的に操作され得、その生物活性を調節し、例えば増加若しくは低下させるか、又は調整するか、又は標的微生物を指定し得る。一部の例では、AMPは、細胞の翻訳機構（例えば、リボソーム等）によって産生される。一部の例では、AMPは、化学的に合成される。一部の例では、AMPは、ポリペプチド前駆体由来する。ポリペプチド前駆体は、切断（例えば、プロテアーゼによるプロセッシング）を受けると、AMP自体のポリペプチドを生じさせることができる。このように、一部の例では、AMPは、前駆体ポリペプチドから産生される。一部の例では、AMPは、翻訳後修飾、例えば切断又は1つ以上の官能基の付加を受けたポリペプチドを含む。

【0274】

本明細書に記載されるAMPは、本明細書に記載される任意の使用のために組成物に製剤化され得る。本明細書に開示される組成物は、少なくとも約1つのAMP、2、3、4、5、10、15、20又はそれを超えるAMPのいずれか1つなど、任意の数又は種類（例えば、クラス）のAMPを含み得る。組成物中の各AMPの好適な濃度は、AMPの有効性、安定性、組成物中にある異なるAMPの数、製剤及び組成物の施用方法などの要因に依存する。一部の例では、液体組成物中の各AMPは、約0.1 ng/mL～約100 mg/mLである。一部の例では、固体組成物中の各AMPは、約0.1 ng/g～約100 mg/gである。一部の例では、ここで、本組成物は、少なくとも2種類のAMPを含み、AMPの各種類の濃度は、同じであるか又は異なり得る。

【0275】

本明細書に記載されるとおりのAMPを含む調節薬剤は、(a) 標的宿主の内部で目標レベル（例えば、所定又は閾値レベル）のAMP濃度に達する；(b) 標的宿主の腸の内部で目標レベル（例えば、所定又は閾値レベル）のAMP濃度に達する；(c) 標的宿主のバクテリオサイトの内部で目標レベル（例えば、所定又は閾値レベル）のAMP濃度に達する；(d) 標的宿主の1つ以上の微生物（例えば、内部共生体）のレベル又は活動を調節する；又は／及び(e) 標的宿主の適応度を調節するのに十分な量で且つ十分な時間にわたって標的宿主と接触させることができる。

【0276】

(d) バクテリオサイト調節性ペプチド

本明細書に記載される調節薬剤は、バクテリオサイト調節性ペプチド(BRP)を含み得る。BRPは、昆虫のバクテリオサイトに発現するペプチドである。この遺伝子は、初めに発育時点で共生体の取り込みと同時に発現し、そのバクテリオサイト特異的発現が昆虫の生涯にわたって維持される。一部の例では、BRPは、疎水性アミノ末端ドメインを有し、これは、シグナルペプチドであると予想されている。加えて、一部のBRPは、システインリッチドメインを有する。一部の例では、バクテリオサイト調節性ペプチドは、バクテリオサイト特異的システインリッチ(BCR)タンパク質である。バクテリオサイト調節性ペプチドは、長さが約40～150アミノ酸である。一部の例では、バクテリオサイト調節性ペプチドは、長さが約45～約145、約50～約140、約55～約135、約60～約130、約65～約125、約70～約120、約75～約115、約80～約110、約85～約105の範囲又はその間にある任意の範囲である。BRP及びその活性の非限定的な例を表5に挙げる。

【0277】

10

20

30

40

50

【表 9 1】

表5: バクテリオサイト調節性ペプチドの例

名称	ペプチド配列
バクテリオサイト特異的システインリッチ タンパク質 BCR ファミリー、ペプチド BCR1	MKLLHGFLIIMLTMHLSIQYAYGGPFLLTKYLCDRVC HKLCGDEFVCSCIQYKSLKGLWFPHCPTGKASVV LHNFLTSP (配列番号 65)
バクテリオサイト特異的システインリッチ タンパク質 BCR ファミリー、ペプチド BCR2	MKLLYGFLIIMLTIHLSVQYFESPFETKYNCDDTHCN KLCGKIDHCSCIQYHSMEGLWFPHCRTGSAAQML HDFLSNP (配列番号 66)
バクテリオサイト特異的システインリッチ タンパク質 BCR ファミリー、ペプチド BCR3	MSVRKNVLPTMFVVLIMSPVTPTSVFISAVCYSG CGSLALVCFVSNGITNGLDYFKSSAPLSTSETSCG EAFDTCTDHCLANFKF (配列番号 67)
バクテリオサイト特異的システインリッチ タンパク質 BCR ファミリー、ペプチド BCR4	MRLLYGFLIIMLTIYLSVQDFDPTFEKGPFPPTIEICS KYCAVVCNYTSRPCYCVEAAKERDQWFPYCYD (配列番号 68)
バクテリオサイト特異的システインリッチ タンパク質 BCR ファミリー、ペプチド BCR5	MRLLYGFLIIMLTIHLSVQDIDPNTLRGPYPTKEICS KYCEYNVVCASLPCICVQDARQLDHWFAACCYD GGPEMLM (配列番号 69)
分泌タンパク質 SP ファミリー、ペプチド SP1	MKLFVVVVLVAVGIMFVFASDTAAAPTDYEDTND MISLSSLVGDNSPYVRVSSADSGGSSKTSSKNPIL GLLKSVIKLLTKIFGTYSDAAPAMPPIPPALRKNRG MLA (配列番号 70)
分泌タンパク質 SP ファミリー、ペプチド SP2	MVACKVILAVAVVFVAAVQGRPGGEPEWAAPIFA ELKSVDNITNLVGLDNAGEYATAAKNNLNAFAES LKTEAAVFSKSFEGKASASDVFKESTKNFQAVVD TYIKNLPKDLTLKDFTEKSEQALKYMVEHGTEITKK AQGNTETEKEIKEFFKKQIENLIGQGKALQAKIAEA KKA (配列番号 71)
分泌タンパク質 SP ファミリー、ペプチド SP3	MKTSSSKVFASCVAIVCLASVANALPVQKSVAATT ENPIVEKHGCRAHKNLVRQNVVDLKYDMSMLITNE VVQKQSNVQSSEQSNEGQNSEQSNVQSNVQ SNEVQSSEHSNEGQNSKQSNVQSNVQSNVQ SSEHSNEGQNSEQSNVQSSEHSNEGQNSKQSN NEGQNSKQSNVQSSEHSNEGQNSKQSNVQSN SEQSNVQSNVQSSEHSNEGQNSKQSNVQSNVQ EQSNVQSNVQSSEHSNEGQNSKQSNVQSNVQ EQSNVQSNVQSSEHSNEGQNSKQSNVQSNVQ EETKGSHEGDDSEHR (配列番号 72)

【0 2 7 8】

10

20

30

40

50

【表 9 2】

分泌タンパク質 SP ファミリー、ペプチド SP4	MKTIILGLCLFGALFWSTQSMPLVGEVAPAVPAVPS EAVPQKQVEAKPETNAASPVSDAKPESDSKPVDA EVKPTVSEVKAESQKPSGEPKPESDAKPVVASE SKPESDPKPAAVVESKPENDAVAPETNNDKAKPEN AAPVSENKPDADAKAETELIAQAKPESKPAASDLK AEPEAAKPNSEVPVALPLNPTETKATQQSVETNQ VEQAAPAAAQADPAAAPAAPAPAPAAAAPVAAEE AKLSEAPSTENKAAEESKPAEQQSAPKVEDAV PAASEISETKVSPAVPAVPEVPASPSAPAVADPVS APEAEKNAEPAKAANSAEPAVQSEAKPAEDIQKS GAVVSAENPKPVVEQKPAEVAKPAEQSKSEAPAE APKPTEQSAAEPPKPKESANDEKKEQHSVNKRDA TKEKKPTDSIMKKQKQKKAN (配列番号 73)	10
分泌タンパク質 SP ファミリー、ペプチド SP5a	MNGKIVLCFAVVFQAMSAATGTTPEVEDIKKVA EQMSQTFMSVANHLVGITPNSADAQKSIEKIRTIM NKGFTDMETEANKMKDIVRKNADPKLVEKYDELE KELKKHLSTAKDMFEDKVVKPIGEKVELKKITENVI KTTKDMEATMNKAIDGFKKQ (配列番号 74)	
分泌タンパク質 SP ファミリー、ペプチド SP6	MHLFLALGLFIVCGMVDATFYNPRSQTFNQLMER RQRSIPYPSYGYHYNPIEPSINVLDLSEGLDSRI NTFKPIYQNVKMSTQDVNSVPRTQYQPKNSLYDS EYISAKDIPSLFPEEDSYDYKYLGSPLNKYLTRPST QESGIAINLVAIKETSVFDYGFPTYKSPYSSDSVW NFGSKIPNTVFEDPQSVESDPNTFKVSSPTIKIVKL LPETPEQESIITTTKNYELNYKTTQETPTAEALYPIT SEEFQTEDEWHPMPKENTTKDESSFITTEEPLTE DKSNSITIEKTQTEDESNSIEFNSIRTEEKSNITTE ENQKEDDESMSTTSQETTTAFNLNDTFDTRNYSS SHESLMLRIRELMKNIADQQNKSQFRTVDNIPAKS QSNLSSDESTNQFEPQLVNGADTYK (配列番号 75)	20
コレオプテリシン A (Coleopteracin A), ColA ペプチド	MTRTMLFLACVAALYVCISATAGKPEEFAKLSDEA PSNDQAMYESIQRYYRFVDGNRYNGGQQQQQQ PKQWEVRPDLSDRQRGNTKAQVEINKKGDNHDI NAGWGKNINGPDSHKDTWHVGGSVRW (配列番号 76)	30
RlpA タイプ I	MKETTIVWAKLFLILILAKPLGLKAVNECKRLGN NSCRSHGECCSGFCFIEPGWALGVCKRLGTPKKS DDSNNGKNIEKNNGVHERIDDVFERGVCSYYKGP SITANGDVFDENEMTAAHRTLPFNTMVKVEGMGT SVVVKINDRKTAADGKVMLLSRAAAESLNIDENTG PVQCQLKFVLDGSGCTPDYGDTCVLHHECCSQN CFREMFSDKGFCLPK (配列番号 77)	40

【0 2 7 9】

一部の例では、BRPは、宿主のバクテリオサイトに常在する1つ以上の細菌の成長及び／又は活動を変化させる。一部の例では、BRPは、生物工学的に操作され得、その生物活性を調節するか（例えば、増加させるか、低下させるか、若しくは調整し）、又は標的微生物を指定し得る。一部の例では、BRPは、細胞の翻訳機構（例えば、リボソーム等）によって産生される。一部の例では、BRPは、化学的に合成される。一部の例では、BRPは、ポリペプチド前駆体由来する。ポリペプチド前駆体は、切断（例えば、プロテアーゼによるプロセッシング）を受けると、BRP自体のポリペプチドを生じさせることができる。このように、一部の例では、BRPは、前駆体ポリペプチドから産生される

。一部の例では、BRPは、翻訳後修飾、例えば切断又は1つ以上の官能基の付加を受けたポリペプチドを含む。

【0280】

本明細書に記載されるとおりのBRPの機能的に活性な変異体も、本明細書に記載される組成物及び方法において有用である。一部の例では、BRPの変異体は、例えば、特定の領域にわたり又は配列全体にわたり、本明細書に記載されるBRP又は天然由来のBRPの配列と少なくとも70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%又は99%の同一性を有する。

10

【0281】

本明細書に記載されるBRPは、本明細書に記載される任意の使用のために組成物に製剤化され得る。本明細書に開示される組成物は、少なくとも約1つのBRP、2、3、4、5、10、15、20又はそれを超えるBRPのいずれか1つなど、任意の数又は種類（例えば、クラス）のBRPを含み得る。組成物中の各BRPの好適な濃度は、BRPの有効性、安定性、異なるBRPの数、製剤及び組成物の施用方法などの要因に依存する。一部の例では、液体組成物中の各BRPは、約0.1 ng/mL～約100 mg/mLである。一部の例では、固体組成物中の各BRPは、約0.1 ng/g～約100 mg/gである。一部の例では、ここで、本組成物は、少なくとも2種類のBRPを含み、BRPの各種類の濃度は、同じであるか又は異なり得る。

20

【0282】

本明細書に記載されるとおりのBRPを含む調節薬剤は、(a) 標的宿主の内部で目標レベル（例えば、所定又は閾値レベル）のBRP濃度に達する；(b) 標的宿主の腸の内部で目標レベル（例えば、所定又は閾値レベル）のBRP濃度に達する；(c) 標的宿主のバクテリオサイトの内部で目標レベル（例えば、所定又は閾値レベル）のBRP濃度に達する；(d) 標的宿主の1つ以上の微生物（例えば、内部共生体）のレベル又は活動を調節する；又は／及び(e) 標的宿主の適応度を調節するのに十分な量で且つ十分な時間にわたって標的宿主と接触させることができる。

【0283】

ii. 小分子

一部の例では、調節薬剤は、小分子を含む。多種の小分子薬剤が、本明細書に記載される方法及び組成物において有用である。以下に論じる小分子を用いて、アブラムシなどの昆虫の適応度の低下の節で示される通り、宿主と宿主に常在する微生物との相互作用を媒介する宿主の経路を改変することができる。更なる小分子薬剤を、宿主無脊椎動物（例えば、昆虫、軟体動物、若しくは線虫）及び／又は常在微生物における経路の構成要素（例えば、ポリペプチド、例えば、酵素若しくは細胞表面受容体）（例えば、宿主－微生物叢相互作用を媒介するポリペプチド、例えば、宿主免疫系経路若しくはバクテリオサイト経路）を標的とするそれらの能力に基づいてスクリーニングすることもできる。一部の例では、小分子は、アゴニスト、アンタゴニスト、阻害剤、又はアクチベータを含む。例えば、本明細書に記載の小分子は、表8又は表9に挙げる宿主免疫系経路若しくはバクテリオサイト調節経路の構成要素の活性及び／若しくは機能を遮断又は増強するアゴニスト、アンタゴニスト、阻害剤、又はアクチベータであってよい。小分子は、表7、表8、若しくは表9に挙げる任意のタンパク質を含め、宿主又は宿主に常在する微生物におけるポリペプチド（例えば、酵素若しくは細胞受容体）のアンタゴニスト又はアゴニストとして作用し得る。

30

40

【0284】

小分子として、限定はされないが、小ペプチド、ペプチド模倣物（例えば、ペプトイド）、アミノ酸、アミノ酸類似体、合成ポリヌクレオチド、ポリヌクレオチド類似体、ヌクレオチド、ヌクレオチド類似体、概してモル当たり約5,000グラム未満の分子量を有する有機及び無機化合物（ヘテロ有機及び有機金属化合物を含む）、例えば、モル当たり

50

約 2, 000 グラム未満の分子量を有する有機又は無機化合物、例えば、モル当たり約 1, 000 グラム未満の分子量を有する有機又は無機化合物、例えば、モル当たり約 500 グラム未満の分子量を有する有機又は無機化合物、並びにそうした化合物の塩、エステル、及びその他の薬学的に許容可能な形態が挙げられる。

【0285】

本明細書に記載される小分子は、本明細書に記載される使用のいずれかのための組成物に製剤化してもよい。本明細書に開示される組成物は、任意の数又は種類（例えば、クラス）の小分子を含んでもよく、例えば、少なくとも約 1 小分子、2、3、4、5、10、15、20、若しくはそれを超える小分子のいずれか 1 つを含んでもよい。組成物中の各小分子の好適な濃度は、小分子の有効性、安定性、個別の小分子の数、製剤化、組成物の適用方法などの要因に応じて変動する。一部の例では、組成物が少なくとも 2 種類の小分子を含む場合、各種小分子の濃度は同じでも、又は異なってもよい。

10

【0286】

本明細書に記載される通りの小分子を含む調節薬剤は、（a）標的宿主の内部で目標レベル（例えば、所定若しくは閾値レベル）の小分子濃度に達する；（b）標的宿主の腸の内部で目標レベル（例えば、所定若しくは閾値レベル）の小分子濃度に達する；（c）標的宿主のバクテリオサイトの内部で目標レベル（例えば、所定若しくは閾値レベル）の小分子濃度に達する；（d）標的宿主の 1 種以上の微生物（例えば、内部共生体）のレベル、若しくは活動を調節する；又は／並びに（e）標的宿主の適応度を調節するのに十分な量で、且つ十分な時間にわたって標的宿主と接触させることができる。

20

【0287】

一部の例では、小分子は、小分子が投与されていない宿主生物と比較して、宿主の免疫応答をトリガー、刺激、又は増大する。例えば、小分子は、上皮細胞表面に結合することにより、昆虫の ROS 系を活性化し、ひいては細胞内カルシウムを動員することにより、DUOX 酵素活性を誘導するペプチドグリカン分子であってもよい。別の例では、分子ジヒドロキシフェニルアラニン（DOPA）は、クチクラ合成の必須成分である。クチクラが達成されると、DOPA は、昆虫内で高い量に達し、これがアポトーシス及びオートファジー活性化をトリガーする。別の例では、免疫応答は、小分子が投与されていない宿主生物と比較して、内部共生体のレベルを低下させる、又は内部共生体を殺傷するのに有効である。一部の例では、小分子は、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較して、バクテリオサイト機能を破綻又は低下させるのに有効である。例えば、バクテリオサイト内部の必須アミノ酸前駆体の輸送を遮断する分子も、必須アミノ酸、例えば、アルギニンの生産を破綻させる。この改変は、最終的に、内部共生体の死、ひいては宿主の死を招く。宿主の免疫系を刺激し、それにより宿主に常在する内部共生体のレベルを低下させるために使用することができる調節薬剤の他の例としては、リポ多糖、ラパマイシン、及びβ-グルカンが挙げられる。

30

【0288】

一部の例では、小分子は、ノンコーディング RNA 領域に結合することにより、常在微生物の遺伝子発現を低減又は増大する。例えば、小分子は、リボフラビン合成に関与するシンターゼ酵素をコードするメッセンジャー RNA のノンコーディング領域内の「リボスイッチ」調節ドメインに結合する、リボシルなどのリボスイッチ阻害剤であってもよく、したがってこの経路を阻害する。別の例では、小分子は、内部共生体の殺傷を引き起こす遺伝子発現を増大又は低下させるのに有効である。一部の例では、小分子は、バクテリオサイト機能を破綻させるのに有効である。

40

【0289】

一部の例では、小分子は、宿主のホメオスタシスを改変する。例えば、小分子は、プロスタグランジンなどのエイコサノイド分子であってもよく、これは、感染に対する発熱応答、並びに唾液腺におけるタンパク質エキソサイトーシスを活性化する。ホメオスタシスにおける進行中の作用とは別に、特定のエイコサノイド作用は、昆虫の生活史における重要な時点で、例えば、感染攻撃及び繁殖での重要な事象の間にも起こる。エイコサノイドは

50

、昆虫の細胞防御反応を媒介する。一例では、プロスタグランジン合成の阻害は、血リンパから細菌を排除する昆虫の能力を著しく損なう。別の例では、小分子は、内部共生体に対する宿主の免疫応答を増大若しくは低減するか、又は宿主の発熱応答を増大若しくは低減して、内部共生体の死滅を引き起こすのに有効である。一部の例では、小分子は、バクテリオサイト機能を破綻させるのに有効である。

【0290】

実施例14に示すように、小分子（例えば、プロスタグランジン）は、宿主経路を標的とする調節薬剤として使用することができ、これが、ひいては、宿主に常在する共生細菌の活動、レベル、又は代謝を改変し、これにより、宿主の適応度を調節する（例えば、低下させる）。

【0291】

i i i . 核酸

多くの核酸は、本明細書に記載される組成物及び方法に有用である。本明細書に開示される組成物は、任意の数又は種類（例えば、クラス）の核酸（例えば、DNA分子又はRNA分子、例えば、mRNA、ガイドRNA（gRNA）、又は阻害性RNA分子（例えば、siRNA、shRNA、若しくはmiRNA）、又はハイブリッドDNA-RNA分子）、例えば、少なくとも約1クラス又は変異体の核酸、2、3、4、5、10、15、20、若しくはそれを超えるクラス又は変異体の核酸を含み得る。組成物中の各核酸の好適な濃度は、核酸の有効性、安定性、個別の核酸の数、製剤化、組成物の適用方法などの要因に応じて変動する。一部の例では、組成物が少なくとも2種類の核酸を含む場合、各種核酸の濃度は同じでも、又は異なってもよい。

【0292】

本明細書に記載される通りの核酸を含む調節薬剤は、（a）標的宿主の内部で目標レベル（例えば、所定若しくは閾値レベル）の核酸濃度に達する；（b）標的宿主の腸の内部で目標レベル（例えば、所定若しくは閾値レベル）の核酸濃度に達する；（c）標的宿主のバクテリオサイトの内部で目標レベル（例えば、所定若しくは閾値レベル）の核酸濃度に達する；（d）標的宿主の1種以上の微生物（例えば、内部共生体）のレベル、若しくは活動を調節する；又は／及び（e）標的宿主の適応度を調節するのに十分な量で、且つ十分な時間にわたって標的宿主と接触させることができる。

【0293】

ポリペプチドをコードする核酸、合成RNA、阻害性RNA、及び遺伝子編集系を含め、以下に論じる核酸調節薬剤を用いて、宿主（例えば、アブラムシ）の適応度の増加又は低下の節で示される通り、宿主と宿主に常在する微生物との相互作用を媒介する宿主の経路を改変することができる。

【0294】

（a）ポリペプチドをコードする核酸

一部の例では、組成物は、本明細書に記載されるポリペプチドのいずれか1つをコードする核酸を含む。ポリペプチドをコードする核酸は、約10～約50,000ヌクレオチド（nt）、約25～約100nt、約50～約150nt、約100～約200nt、約150～約250nt、約200～約300nt、約250～約350nt、約300～約500nt、約10～約1000nt、約50～約1000nt、約100～約1000nt、約1000～約2000nt、約2000～約3000nt、約3000～約4000nt、約4000～約5000nt、約5000～約6000nt、約6000～約7000nt、約7000～約8000nt、約8000～約9000nt、約9000～約10,000nt、約10,000～約15,000nt、約10,000～約20,000nt、約10,000～約25,000nt、約10,000～約30,000nt、約10,000～約40,000nt、約10,000～約45,000nt、約10,000～約50,000nt、又はこれらの間の任意の範囲の長さを有し得る。

【0295】

調節薬剤は、また、本明細書に記載される核酸の機能的に活性の変異体も含み得る。一

部の例では、核酸の変異体は、例えば、本明細書に記載される核酸の配列と、指定領域にわたって、又は配列全体にわたって、少なくとも70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有する。一部の例では、本発明は、本明細書に記載される通りの核酸変異体によりコードされる機能的に活性のポリペプチドを含む。一部の例では、核酸変異体によりコードされる機能的に活性のポリペプチドは、例えば、本明細書に記載のポリペプチドの配列又は天然由来のポリペプチド配列と、指定領域にわたって、又はアミノ酸配列全体にわたって、少なくとも70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有する。

【0296】

タンパク質をコードする核酸を発現させるいくつかの方法は、適切なプロモータの制御下で、宿主細胞（例えば、昆虫細胞、軟体動物細胞、若しくは線虫細胞）、酵母、細菌、又は他の細胞をはじめとする細胞における発現を含み得る。発現ベクターは、複製起点などの非転写エレメント、好適なプロモータ及びエンハンサー、並びに他の5'若しくは3'フランキング非転写配列、及び必要なリボソーム結合部位などの5'若しくは3'非転写配列、ポリアデニル化部位、スプライスドナー及びアクセプター部位、並びに終結配列を含み得る。SV40ウイルスゲノム由来のDNA配列、例えばSV40起点、早期プロモータ、エンハンサー、スプライス、及びポリアデニル化部位を用いて、異種DNA配列の発現に必要な他の遺伝子エレメントを提供することもできる。細菌、真菌、酵母、及び哺乳動物細胞宿主と一緒に使用するのに適切なクローニング及び発現ベクターは、Green et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Fourth Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2012に記載されている。

【0297】

組換え方法を用いた遺伝子修飾は、当該技術分野で公知である。所望の遺伝子をコードする核酸配列は、当該技術分野で公知の組換え方法を用いて、例えば、遺伝子を発現する細胞からのライブラリーのスクリーニング、それを含むことが分かっているベクターからの当該遺伝子の誘導、又は標準技術を用いた、それを含む細胞及び組織からの直接単離などによって取得することができる。或いは、目的の遺伝子をクローニングではなく、合成により作製することもできる。

【0298】

天然又は合成核酸の発現は、典型的に、目的の遺伝子をコードする核酸をプロモータと作動可能に連結して、構築物を発現ベクターに組み込むことにより、達成される。発現ベクターは、細菌内での複製及び組込みに好適であり得る。発現ベクターは、また、真核生物内での複製及び発現にも好適であり得る。典型的なクローニングベクターは、転写及び翻訳ターミネータ、開始配列、並びに所望の核酸配列の発現に有用なプロモータを含む。

【0299】

更なるプロモータエレメント、例えば、エンハンサーが、転写開始の頻度を調節する。典型的に、これらは、開始部位の30~110塩基対(bp)上流に位置するが、近年、いくつかのプロモータは、開始部位の下流にも機能的エレメントを含むことが判明している。プロモータエレメント同士の間隔は、多くの場合、柔軟であり、エレメントが互いに対して反転又は移動した場合も、プロモータ機能は保存される。チミジンキナーゼ(tk)プロモータの場合、プロモータエレメント同士の間隔は、活性が低下し始めるまで、最大50bpに増加することができる。プロモータに応じて、個別のエレメントは、転写を活性化するために、共同又は独立のいずれかで機能し得ると思われる。

【0300】

好適なプロモータの一例は、前初期サイトメガロウイルス（CMV）プロモータ配列である。このプロモータ配列は、そこに作動可能に連結した任意のポリヌクレオチド配列の高レベルの発現を駆動することができる強力な構成的プロモータ配列である。好適なプロモータの別の例は、伸長成長因子-1 α （EF-1 α ）である。しかし、他の構成的プロモータ配列を使用することもでき、限定はされないが、シミアンウイルス40（SV40）初期プロモータ、マウス乳腺腫瘍ウイルス（MMTV）、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）長末端反復（LTR）プロモータ、MoMuLVプロモータ、トリ白血病ウイルスプロモータ、エプスタイン・バー（Epstein-Barr）ウイルス前初期プロモータ、ラウス肉腫ウイルスプロモータ、並びにヒト遺伝子プロモータ、例えば、限定はされないが、アクチンプロモータ、ミオシンプロモータ、ヘモグロビンプロモータ、及びクレアチンキナーゼプロモータが挙げられる。

10

【0301】

或いは、プロモータは、誘導性プロモータであってもよい。誘導性プロモータの使用は、そのような発現が要望される場合に、それが作動可能に連結されたポリヌクレオチド配列の発現をオンにする、又は発現が求められない場合には発現をオフにすることができる分子スイッチを提供する。誘導性プロモータの例として、限定はされないが、メタロチオニンプロモータ、グルココルチコイドプロモータ、プロゲステロンプロモータ、及びテトラサイクリンプロモータが挙げられる。

【0302】

導入しようとする発現ベクターは、ウイルスベクターを介してトランスフェクト又は感染させようとする細胞の個体群からの発現細胞の同定及び選択を促進するために、選択性マーカー遺伝子若しくはリポータ遺伝子のいずれか、又はその両方を含有し得る。他の態様では、選択性マーカーをDNAの個別の部分に担持させて、同時トランスフェクション法に使用してもよい。宿主細胞での発現を可能にするために、選択性マーカー及びリポータ遺伝子の両方を適切な調節配列とフランキングさせてもよい。有用な選択性マーカーとして、例えば、neoなどの抗生物質耐性遺伝子がある。

20

【0303】

潜在的に形質転換された細胞を同定するため、及び調節配列の機能性を評価するために、リポータ遺伝子を用いることができる。一般に、リポータ遺伝子は、レシピエント供給源に存在しないか、又はそれにより発現される遺伝子であり、何らかの容易に検出可能な特性、例えば、酵素活性によって発現が呈示されるポリペプチドをコードする。リポータ遺伝子の発現は、DNAをレシピエント細胞に導入した後、好適な時点でアッセイする。好適なリポータ遺伝子は、ルシフェラーゼ、 β -ガラクトシダーゼ、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ、分泌アルカリホスファターゼ、又は緑色蛍光タンパク質遺伝子をコードする遺伝子を含み得る（例えば、Uiet al., F E B S Letters 479:79-82, 2000）。好適な発現系はよく知られており、公知の技術を用いて調製することもできるし、又は市販のものを取得してもよい。一般に、リポータ遺伝子の最高レベルの発現を示す最小5'フランキング領域を有する構築物は、プロモータとして同定される。こうしたプロモータ領域は、リポータ遺伝子に連結することができ、プロモータ駆動転写を調節する能力について薬剤を評価するために使用することができ。

30

40

【0304】

一部の例では、生物を遺伝子修飾して、1つ以上のタンパク質の発現を改変することができる。1つ以上のタンパク質の発現は、特定の時点、例えば、生物の発育又は分化状態について改変することができる。一例では、本発明は、1つ以上のタンパク質、例えば、活性、構造、又は機能の発現に影響するタンパク質の発現を改変するための組成物を含む。1つ以上のタンパク質の発現を特定の位置に限定することも、又は生物全体に広げることができる。

【0305】

(b) 合成mRNA

50

調節薬剤は、mRNA分子、例えば、ポリペプチドをコードする合成mRNA分子を含み得る。一部の例では、mRNA分子は、薬剤、例えば、機能の正調節因子、例えば、表7、表8、若しくは表9に挙げる遺伝子若しくは遺伝子産物のレベル（例えば、タンパク質及び／若しくはmRNAレベル）並びに／又は活性を増大する。一部の例では、mRNA分子は、ポリペプチド薬剤又はその断片をコードする。例えば、mRNA分子は、全て提供されるアクセッション番号を参照にして、表7、表8、若しくは表9に挙げる薬剤のアミノ酸配列と、少なくとも50%（例えば、少なくとも50%、60%、70%、80%、90%、95%、97%、99%、又はそれを超える）の同一性を有するポリペプチドをコードし得る。他の例では、mRNA分子は、表7、表8、若しくは表9に挙げる薬剤をコードする核酸配列と、少なくとも50%（例えば、少なくとも50%、60%、70%、80%、90%、95%、97%、99%、又はそれを超える）の同一性を有する。一部の例では、mRNA分子は、全て提供されるアクセッション番号を参照にして、表7、表8、若しくは表9に挙げる薬剤のアミノ酸配列と、30以下（例えば、30、20、10、5、4、3、2、若しくは1以下）のアミノ酸しか変わらないアミノ酸配列をコードする。一部の例では、mRNA分子は、全て提供されるアクセッション番号を参照にして、表7、表8、若しくは表9に挙げる遺伝子又は遺伝子産物の断片をコードする配列を含む。例えば、断片は、10～20、20～40、40～60、60～80、80～100、100～120、120～140、140～160、160～180、180～200、200～250、250～300、300～400、400～500、500～600、若しくはそれを超えるアミノ酸長を含む。一部の例では、断片は、全て提供されるアクセッション番号を参照にして、表7、表8、若しくは表9に挙げる完全長遺伝子又は遺伝子産物の、例えば少なくとも20%、例えば、少なくとも20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、若しくはそれを超える活性を有する機能的断片である。一部の例では、mRNA分子は、薬剤（若しくはその断片）のレベル及び／若しくは活性を増大するか、又はそれをコードする。

【0306】

例示的なmRNA分子としては、表7、表8、若しくは表9から選択されるいずれかのポリペプチドをコードするRNAがある。

【0307】

合成mRNA分子は、例えば、化学的に修飾することができる。mRNA分子は、化学的に合成するか、又はインビトロで転写することができる。mRNA分子は、プラスミド、例えば、ウイルスベクター、細菌ベクター、又は真核生物発現ベクターに配置することができる。一部の例では、mRNA分子は、トランスフェクション、エレクトロポレーション、又は形質導入（例えば、アデノウイルス若しくはレンチウイルス形質導入）によって、細胞に送達することができる。

【0308】

一部の例では、本明細書に記載される目的の修飾RNA薬剤は、修飾ヌクレオチド又はヌクレオチドを有する。こうした修飾は、公知であり、例えば、国際公開第2012/019168号パンフレットに記載されている。更なる修飾は、例えば、国際公開第2015/038892号パンフレット；同第2015/038892号パンフレット；同第2015/089511号パンフレット；同第2015/196130号パンフレット；同第2015/196118号パンフレット及び同第2015/196128 A2号パンフレットに記載されている。

【0309】

一部の例では、本明細書に記載される目的のポリペプチドをコードする修飾RNAは、1つ以上の末端修飾、例えば、5'キャップ構造及び／又はポリAテール（例えば、100～200ヌクレオチド長）を有する。5'キャップ構造は、CapO、CapL、ARCA、イノシン、N¹-メチルグアノシン、2'フルオログアノシン、7-デアザグアノシン、8-オキソグアノシン、2-アミノグアノシン、LNA-グアノシン、及び2-アジドグアノシンからなる群から選択され得る。一部のケースでは、修飾RNAは、

少なくとも1つのコザック (K o z a k) 配列を含む5' UTRと、3' UTRとを含有する。こうした修飾は、公知であり、例えば、国際公開第2012/135805号パンフレット及び同第2013/052523号パンフレットに記載される。更なる末端修飾は、例えば、国際公開第2014/164253号パンフレット及び同第2016/011306号パンフレット、国際公開第2012/045075号パンフレット、及び同第2014/093924号パンフレットに記載されている。

【0310】

少なくとも1つの化学修飾を含み得るキャップRNA分子（例えば、修飾mRNA）を合成するためのキメラ酵素は、国際公開第2014/028429号パンフレットに記載されている。

【0311】

一部の例では、修飾mRNAを環状化、又はコンカテマー化して、ポリA結合タンパク質と5'末端結合タンパク質との相互作用を補助する翻訳コンピテント分子を作製することができる。環状化又はコンカテマー化のメカニズムは、少なくとも3つの異なる経路：1) 化学、2) 酵素、及び3) リボザイム触媒を通して起こり得る。新たに形成される5'ー/3'ー結合は、分子内又は分子間のいずれであってもよい。こうした修飾は、国際公開第2013/151736号パンフレットに記載されている。

【0312】

修飾RNAを作製及び精製する方法は、当該技術分野で公知である。例えば、修飾RNAは、インビトロ転写 (I V T) 酵素合成のみを用いて作製される。I V Tポリヌクレオチドを作製する方法は、当該技術分野で公知であり、国際公開第2013/151666号パンフレット、同第2013/151668号パンフレット、同第2013/151663号パンフレット、同第2013/151669号パンフレット、同第2013/151670号パンフレット、同第2013/151664号パンフレット、同第2013/151665号パンフレット、同第2013/151671号パンフレット、同第2013/151672号パンフレット、同第2013/151667号パンフレット及び同第2013/151736.S号パンフレットに記載されている。精製方法には、複数のチミジン若しくはその誘導体及び/又は複数のウラシル若しくはその誘導体 (ポリT/U) に連結させた表面とサンプルを、RNA転写物が表面に結合するような条件下で接触させた後、表面から精製RNA転写物を溶出させることにより、ポリAテールを含むRNA転写物を精製する方法 (国際公開第2014/152031号パンフレット) ; スケーラブルな方法で10,000ヌクレオチド長までの長いRNAの分離を可能にするイオン (例えば、アニオン) 交換クロマトグラフィーを用いる方法 (国際公開第2014/144767号パンフレット) ; 並びに修飾mRNAサンプルをDNAse処理に付す方法 (国際公開第2014/152030号パンフレット) を含む。

【0313】

修飾RNAの製剤は公知であり、例えば、国際公開第2013/090648号パンフレットに記載されている。例えば、製剤は、限定はされないが、ナノ粒子、ポリ乳酸・グリコール酸共重合体 (P L G A) ミクロスフェア、リポドイド、リポプレクス、リポソーム、ポリマー、炭水化物 (単糖を含む)、カチオン性脂質、フィブリンゲル、フィブリンハイドロゲル、フィブリングラー、フィブリンシーラント、フィブリノーゲン、トロンビン、急速排出脂質ナノ粒子 (r e L N P) 及びこれらの組合せであってよい。

【0314】

ヒトの疾患、抗体、ウイルス、及び様々なインビボ環境の分野におけるポリペプチドをコードする修飾RNAは、公知であり、例えば、国際公開第2013/151666号パンフレット、同第2013/151668号パンフレット、同第2013/151663号パンフレット、同第2013/151669号パンフレット、同第2013/151670号パンフレット、同第2013/151664号パンフレット、同第2013/151665号パンフレット、同第2013/151736号パンフレットの表6 ; 国際公開第2013/151672号パンフレットの表6及び表7 ; 国際公開第2013/151

10

20

30

40

50

671号パンフレットの表6、表178及び表179；国際公開第2013/151667号パンフレットの表6、表185及び表186に開示されている。前述のいずれかは、I V Tポリヌクレオチド、キメラポリヌクレオチド又は環状ポリヌクレオチドとして合成してもよく、各々、1つ以上の修飾ヌクレオチド又は末端修飾を含み得る。

【0315】

(c) 阻害性RNA

一部の例では、調節薬剤は、例えば、RNA干渉(RNAi)経路を介して作用する阻害性RNA分子を含む。例えば、阻害性RNA分子としては、宿主無脊椎動物(例えば、昆虫、軟体動物、若しくは線虫)の宿主経路(例えば、宿主-微生物叢相互作用を媒介する経路、例えば、宿主免疫系経路若しくはバクテリオサイト経路、例えば、全て提供されるアクセッション番号を参照にして、表8若しくは表9に挙げるタンパク質若しくはタンパク質をコードする遺伝子)及び／又は常在微生物の経路(例えば、全て提供されるアクセッション番号を参照にして、表7に挙げるタンパク質若しくはタンパク質をコードする遺伝子)を標的とする低分子干渉RNA、低分子ヘアピンRNA、及び／又はマイクロRNAを挙げることができる。特定のRNA分子は、RNA干渉(RNAi)の生物学的プロセスを介して遺伝子発現を阻害することができる。RNAi分子は、典型的に、15～50塩基対(例えば、約18～25塩基対)を含むRNA又はRNA様構築物を含み、細胞内の発現された標的遺伝子中のコード配列と同一(相補的)か、又はほぼ同一(実質的に相補的)なヌクレオ塩基配列を有する。RNAi分子としては、限定はされないが、以下：低分子干渉RNA(sirRNA)、二本鎖RNA(dsRNA)、低分子ヘアピンRNA(shRNA)、部分二重鎖(meroduplex)、ダイサー基質、及び多価RNA干渉(米国特許第8,084,599号明細書、同第8,349,809号明細書、同第8,513,207号明細書、及び同第9,200,276号明細書)が挙げられる。shRNAは、RNAiを介して標的遺伝子の発現を低減するヘアピンターンを含むRNA分子である。shRNAは、例えば、トランスフェクション、エレクトロポレーション、又は形質導入により)、プラスミド、例えば、ウイルス若しくは細菌ベクターの形態で細胞に送達することができる。マイクロRNAは、典型的に、約22ヌクレオチド長を有するノンコーディングRNA分子である。miRNAは、mRNA分子上の標的部位に結合し、例えば、mRNAの切断、mRNAの不安定化、又はmRNAの翻訳の阻害を引き起こすことにより、mRNAを抑制する。一部の例では、阻害性RNA分子は、機能の負調節因子のレベル及び／又は活性を低減する。他の実施形態では、阻害性RNA分子は、機能の正調節因子のレベル及び／又は活性を低減する。

【0316】

RNAi分子は、標的遺伝子の全部又は断片と実質的に相補的か、又は完全に相補的な配列を含む。RNAi分子は、イントロンとエキソンとの間の境界における配列を補足して、転写のためにmRNAへの特定の遺伝子の新しく生成されたRNA転写物の成熟を阻止し得る。特定の遺伝子と相補的なRNAi分子は、標的遺伝子のmRNAとハイブリダイズして、その翻訳を阻止することができる。アンチセンス分子は、DNA、RNA、又はその誘導体若しくはハイブリッドであってよい。こうした誘導体分子の例として、限定はされないが、ペプチド核酸(PNA)及びデオキシリボ核酸グアニジン(DNG)又はリボ核酸グアニジン(RNG)などのホスホロチオエートベースの分子が挙げられる。

【0317】

RNAi分子は、インビトロで合成された「すぐに使用可能な(ready-to-use)RNAとして、又は転写時にRNAi分子を産生する細胞にトランスフェクトされたアンチセンス遺伝子として提供することができる。mRNAとのハイブリダイゼーションによって、RNAse Hによるハイブリダイズ分子の分解及び／又は翻訳複合体の形成の阻害が起こる。いずれによっても、起源遺伝子の産物の生産ができなくなる。

【0318】

目的の転写物にハイブリダイズするRNAi分子の長さは、約10ヌクレオチド、約15～30ヌクレオチド、又は約15、16、17、18、19、20、21、22、23

、24、25、26、27、28、29、30ヌクレオチド若しくはそれを超える長さであってもよい。標的転写物に対するアンチセンス配列の同一性の程度は、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、又は少なくとも95であり得る。

【0319】

RNAi分子はまた、オーバーハング、即ち典型的に不對の突出したヌクレオチドを含んでもよく、これらは、本明細書で定義するセンス鎖対及びアンチセンス鎖対のコア配列によって通常形成される二重螺旋構造に直接関与しない。RNAi分子は、センス鎖及びアンチセンス鎖の各々とは独立に、約1～5塩基の3'及び／又は5'オーバーハングを含有し得る。一部の例では、センス鎖及びアンチセンス鎖の両方が、3'及び5'オーバーハングを含有する。一部の例では、一方の鎖塩基の1つ以上の3'オーバーハングヌクレオチドは、他方の鎖の1つ以上の5'オーバーハングヌクレオチドと対合する。他の例では、一方の鎖塩基の1つ以上の3'オーバーハングヌクレオチドは、他方の鎖の1つ以上の5'オーバーハングヌクレオチドと対合しない。RNAi分子のセンス及びアンチセンス鎖は、同数のヌクレオチド塩基を含んでも、又は含まなくてもよい。アンチセンス及びセンス鎖は、5'末端だけが平滑末端を有するか、3'末端だけが平滑末端を有するか、5'及び3'末端の両方が平滑末端であるか、又は5'及び3'末端のいずれも平滑末端ではないデュプレックスを形成し得る。別の例では、オーバーハング中の1つ以上のヌクレオチドは、チオリン酸エステル、ホスホロチオエート、デオキシヌクレオチド逆位(3'-3'結合)ヌクレオチドを含むか、又は修飾リボヌクレオチド若しくはデオキシヌクレオチドである。

【0320】

低分子干渉RNA(sRNA)分子は、標的mRNAの約15～約25の連続的ヌクレオチドと同一のヌクレオチド配列を含む。一部の例では、sRNA配列は、ジヌクレオチドAAで開始し、約30～70%(約30～60%、約40～60%、又は約45～55%)のGC含量を含み、例えば、標準的BLAST検索により決定される通り、それを導入しようとするゲノム中の標的以外のいずれのヌクレオチド配列に対しても高い同一性パーセンテージを含まない。

【0321】

sRNA及びshRNAは、内在性マイクロRNA(miRNA)遺伝子のプロセッシング経路における中間体と類似している(Bartel, Cell 116:281-297, 2004)。一部の例では、sRNAは、miRNAとして機能することができ、逆も同様である(Zeng et al., Mol. Cell 9:1327-1333, 2002; Doench et al., Genes Dev. 17:438-442, 2003)。外性sRNAは、sRNAに対してシード相補性を有するmRNAを下方制御する(Birmingham et al., Nat. Methods 3:199-204, 2006)。3'UTR内の複数の標的部位は、より強力な下方制御をもたらす(Doench et al., Genes Dev. 17:438-442, 2003)。

【0322】

既知の有効なsRNA配列及び同種結合部位も関連文献に詳しく記載されている。RNAi分子は、容易に設計され、当該技術分野において公知の技術により作製される。加えて、有効且つ特異的な配列モチーフを見出す機会を高める計算ツールもある(Pei et al., Nat. Methods 3(9):670-676, 2006; Reynolds et al., Nat. Biotechnol. 22(3):326-330, 2004; Khvorova et al., Nat. Struct. Biol. 10(9):708-712, 2003; Schwarz et al., Cell 115(2):199-208, 2003; Ui-Tei et al., Nucleic Acids Res. 32(3):936-948, 2004; Heale et al., Nucleic Acids Res. 33(3):e30, 2005; Chalk et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 319(1):264-274, 2004; 及び Amarzguioui et al., Biochem. Bioph

ys. Res. Commun. 316 (4) : 1050-1058, 2004)。

【0323】

RNAi分子は、遺伝子によりコードされるRNAの発現を調節する。複数の遺伝子が、互いにある程度の配列相同性を共有できることから、一部の例では、RNAi分子は、十分な配列相同性を有する遺伝子のクラスを標的とするように設計することができる。一部の例では、RNAi分子は、異なる遺伝子標的の間で共有されるか、又は特定の遺伝子標的についてユニークな配列に対して相補性を有する配列を含み得る。一部の例では、RNAi分子は、いくつかの遺伝子同士で相同性を有するRNA配列の保存領域を標的とし、それによって、遺伝子ファミリー内のいくつかの遺伝子（例えば、異なる遺伝子アイソフォーム、スプライス変異体、突然変異遺伝子など）を標的とするように設計することができる。一部の例では、RNAi分子は、単一の遺伝子の特定のRNA配列に対してユニークな配列を標的とするように設計することができる。

10

【0324】

一部の例では、阻害性RNA分子は、全て提供されるアクセッション番号を参照にして、表7、表8、若しくは表9に挙げるタンパク質をコードする遺伝子を含め、宿主構成要素（例えば、宿主-微生物叢相互作用を媒介する経路、例えば、宿主免疫系経路若しくはバクテリオサイト経路の構成要素）及び／又は微生物構成要素のレベル及び／又は活動を低下させる。一部の例では、阻害性RNA分子は、宿主構成要素（例えば、宿主-微生物叢相互作用を媒介する経路、例えば、宿主免疫系経路若しくはバクテリオサイト経路の構成要素）又は微生物構成要素、例えば、表7、表8、若しくは表9に挙げるタンパク質をコードする遺伝子の発現を阻害する（例えば、タンパク質への翻訳を阻害する）。他の例では、阻害性RNA分子は、宿主構成要素（例えば、宿主-微生物叢相互作用を媒介する経路、例えば、宿主免疫系経路若しくはバクテリオサイト経路の構成要素）及び／又は微生物構成要素、例えば、表7、表8、若しくは表9に挙げるタンパク質をコードする遺伝子の分解を増大させ、且つ／又は経路構成要素の安定性（即ち、半減期）を低下させる。阻害性RNA分子は、化学的に合成するか、又はインビトロで転写させることができる。

20

【0325】

一部の例では、本明細書に記載の組成物は、宿主の免疫系を調節する本明細書に記載の成分のいずれかをコードする遺伝子の発現を調節（例えば、阻害）するために、RNAi、例えば、siRNAを含む。一部の例では、組成物は、宿主中のバクテリオサイトの発育又は機能を調節（例えば、阻害）する本明細書に記載の遺伝子のいずれか1つの発現を阻害するたために、RNAi、例えば、siRNAを含む。一部の例では、宿主免疫系の調節は、宿主中の共生微生物の減少又は死滅を引き起こし、ひいては、宿主の適応度を低下させる。一部の例では、バクテリオサイトの発育及び／又は機能の調節は、宿主中の共生微生物の減少又は死滅を引き起こし、ひいては、宿主の適応度を低下させる。一部の例では、RNAi（例えば、siRNA）は、Ubxの発現を阻害して、バクテリオサイトの共生体局在化を破綻させ得る。一部の例では、RNAi（例えば、siRNA）は、abd-A及びAntpの発現を阻害して、細菌叢の完全性及び位置選定を破綻させる。

30

【0326】

一部の例では、1つ以上のRNAi分子は、本明細書に記載されるいずれかのタンパク質をコードする任意の遺伝子を標的とする（例えば、表7、表8、又は表9を参照）。一部の例では、1つ以上のRNAi分子は、本明細書に記載される細菌遺伝子を標的とする。一部の例では、1つ以上のRNAi分子は、本明細書に記載される共生遺伝子を標的とする。一部の例では、1つ以上のRNAi分子は、本明細書に記載されるバクテリオサイト遺伝子を標的とする。一部の例では、1つ以上のRNAi分子は、本明細書に記載される宿主遺伝子を標的とする。一部の例では、1つ以上のRNAi分子は、本明細書に記載される宿主の免疫系遺伝子を標的とする。

40

【0327】

阻害性RNA分子は、例えば、修飾ヌクレオチド、例えば、2'-フルオロ、2'-オームチル、2'-デオキシ、アンロックド核酸、2'-ヒドロキシ、ホスホロチオエート、2'

50

ーチオウリジン、4'ーチオウリジン、2'ーデオキシウリジンを含有するように修飾することができる。理論に拘束されるわけではないが、こうした修飾は、ヌクレアーゼ抵抗性及び／又は血清安定性を増大し得るか、又は免疫原性を低下させ得ると考えられる。

【0328】

一部の例では、RNAi分子は、生理的に不安定な結合又はリンカーを介して送達ポリマーに連結される。生理的に不安定なリンカーは、それが特定の生理的条件下で存在するとき、化学変換（例えば、切断）を被るように選択される（例えば、ジスルフィド結合は、細胞質の還元的環境で切断される）。生理的に不安定な結合の切断によるポリマーからの分子の放出は、活動のために適切な細胞構成要素と当該分子の相互作用を促進する。

【0329】

RNAi分子-ポリマーコンジュゲートは、ポリマーと分子を共有結合させることによって形成され得る。ポリマーは、それが反応性基Aを含有するように重合又は修飾される。RNAi分子はまた、それが反応性基Bを含有するように重合又は修飾される。反応性基A及びBは、当該技術分野で公知の方法を用いて、それらが可逆的共有結合を介して連結され得るように選択される。

【0330】

RNAi分子とポリマーの共役は、過剰のポリマーの存在下で実施することができる。RNAi分子とポリマーは、共役の間に反対電荷となり得るため、過剰ポリマーの存在によって、コンジュゲートの凝集を低減又は排除することができる。或いは、ポリカチオンなどの過剰の担体ポリマーを使用することもできる。過剰ポリマーは、コンジュゲートの投与前に共役ポリマーから除去することができる。或いは、過剰ポリマーは、コンジュゲートと一緒に同時投与することもできる。

【0331】

母昆虫への二本鎖RNA (dsRNA) の注入によって、胚形成中のそれらの子孫の遺伝子発現を効率的に抑制する。例えば、Khila et al., PLoS Genet. 5 (7): e1000583, 2009; 及び Liu et al., Development 131 (7): 1515-1527, 2004を参照されたい。Matsuura et al. (PNAS 112 (30): 9376-9381, 2015) は、Ubxの抑制によって、バクテリオサイト及びバクテリオサイトの共生体局在化が排除されることを明らかにしている。

【0332】

リボザイム、RNAse P、siRNA、及びmiRNAなどのノンコーディングRNAに基づく阻害剤の作製及び使用も、例えば、Sioud, RNA Therapeutics: Function, Design, and Delivery (Methods in Molecular Biology). Humana Press (2010) に記載されているように、当該技術分野で公知である。

【0333】

本明細書で使用することができる核酸調節薬剤の他の例としては、配列番号148~150のいずれか1つの配列と少なくとも50%（例えば、少なくとも50%、60%、70%、80%、90%、95%、97%、99%、若しくはそれを超える）の同一性を有するdsRNAを含む。

【0334】

実施例1~4及び7~9により示される通り、阻害剤RNA（例えば、dsRNA又はPNA）は、宿主経路（例えば、昆虫、例えば、アブラムシ）を標的とする調節薬剤として使用することができ、これがひいては、ブフネラ属種（Buchnera spp）など、宿主に常在する内部共生細菌の活動、レベル、若しくは代謝を改変し、それにより、宿主の適応度を調節する（例えば、低下させる）。

【0335】

(d) 遺伝子編集

本明細書に記載される調節薬剤は、遺伝子編集系の構成要素を含み得る。例えば、薬剤

10

20

30

40

50

は、宿主無脊椎動物（例えば、昆虫、軟体動物、若しくは線虫）の免疫系若しくはバクテリオサイトに関連する遺伝子、又は宿主無脊椎動物に常在する微生物の遺伝子、例えば、全て提供されるアクセッション番号を参照にして、表7、表8、若しくは表9に記載される酵素又は受容体遺伝子に、改変（例えば、挿入、欠失（例えば、ノックアウト）、転座、反転、単一点突然変異、又は他の突然変異）を導入することができる。例示的な遺伝子編集系として、亜鉛フィンガーヌクレアーゼ（ZFN）、転写アクチベータ様エフェクターベースのヌクレアーゼ（TALEN）、及びクラスター化され規則的に間隔を置いた短鎖回文配列反復（CRISPR）系が挙げられる。ZFN、TALEN、及びCRISPRに基づく方法は、例えば、Gaj et al., Trends Biotechnol. 31 (7): 397-405, 2013に記載されている。

10

【0336】

典型的なCRISPR/Cas系では、一本鎖若しくは二本鎖DNA配列を標的とする配列特異的、ノンコーディング「ガイドRNA」により、エンドヌクレアーゼは、標的ヌクレオチド配列（例えば、配列編集しようとするゲノム内の部位）に向けられる。3つのクラス（I~III）のCRISPR系が同定されている。クラスII CRISPR系は、単一のCasエンドヌクレアーゼ（複数のCasタンパク質ではなく）を使用する。1つのクラスII CRISPR系は、Cas9などのII型Casエンドヌクレアーゼ、CRISPR RNA（「crRNA」）、及びトランススクリプティブ型crRNA（「tracrRNA」）を含む。crRNAは、「ガイドRNA」、即ち、典型的には、標的DNA配列に対応する約20ヌクレオチドRNA配列を含有する。crRNAはまた、tracrRNAに結合する領域を含んで、RNase IIIにより切断される部分的二本鎖構造を形成し、crRNA/tracrRNAハイブリッドをもたらす。RNAは、Casタンパク質を指令して、スペーサ配列に応じて、特定のDNA/RNA配列を抑制するガイドの役割を果たす。例えば、Horvath et al., Science 327: 167-170, 2010; Makarova et al., Biology Direct 1: 7, 2006; Pennisi, Science 341: 833-836, 2013を参照されたい。標的DNA配列は、一般に、所与のCasエンドヌクレアーゼに対して特異的な「プロトスペーサ隣接モチーフ」（「PAM」）に隣接していなければならないが；PAM配列は、所与のゲノム全体を通して出現する。種々の原核生物種から同定されたCRISPRエンドヌクレアーゼは、ユニークなPAM配列要件を有し；PAM配列の例として、5'-NGG（配列番号78）（化膿レンサ球菌（*Streptococcus pyogenes*））、5'-NNAGAA（配列番号79）（ストレプトコッカス・サーモフィラス（*Streptococcus thermophilus*）CRISPR1）、5'-NGGNG（配列番号80）（ストレプトコッカス・サーモフィラス（*Streptococcus thermophilus*）CRISPR3）、及び5'-NNNGATT（配列番号81）（髄膜炎菌（*Neisseria meningitidis*））が挙げられる。いくつかのエンドヌクレアーゼ、例えば、Cas9エンドヌクレアーゼは、グリッチP（の5'側）AM部位、例えば、5'-NGG（配列番号78）と結合して、PAM部位から3ヌクレオチド上流の位置で標的DNAの平滑末端切断を実施する。別のクラスII CRISPR系は、V型エンドヌクレアーゼCpf1を含み、これは、Cas9より小さく；例として、AsCpf1（アシダミノコッカス属種（*Acidaminococcus* sp.）由来）及びLbCpf1（ラクノスピラ科種（*Lachnospiraceae* sp.）由来）が挙げられる。Cpf1結合CRISPRアレイは、tracrRNAの要件なしに成熟型crRNAにプロセッシングされ；言い換えれば、Cpf1系は、標的DNA配列を切断するために、Cpf1ヌクレアーゼ及びcrRNAだけを必要とする。Cpf1エンドヌクレアーゼは、トリッチPAM部位、例えば、5'-TTNと結合している。Cpf1はまた、5'-CTA PAMモチーフを認識する。Cpf1は、4'-若しくは5'-ヌクレオチド5'オーバーハングを含むオフセット又はスタッガード二本鎖切断を導入することによりDNAを切断し、例えば、コーディング鎖のPAM部位（の3'側）から18ヌクレオチド下流及び相補鎖のPAM部位から2

20

30

40

50

3ヌクレオチド下流に位置する5-ヌクレオチドオフセット又はスタガード切断で標的DNAを切断し、こうしたオフセット切断から生じる5-ヌクレオチドオーバーハングは、相同組換えによるDNA挿入によって、平滑末端切断DNAでの挿入によるものよりも正確なゲノム編集を可能にする。例えば、Zetsche et al., Cell 163:759-771, 2015を参照にされたい。

【0337】

遺伝子編集の目的で、所望の標的DNA配列に対応する1つ又は複数のガイドRNA配列を含有するように、CRISPRアレイを設計することができる；例えば、Cong et al., Science 339:819-823, 2013; Ran et al., Nature Protocols 8:2281-2308, 2013を参照されたい。Cas9によりDNA切断を起こすためには、gRNA配列の少なくとも約16又は17ヌクレオチドが必要であり；Cpf1の場合、検出可能なDNA切断を実施するために、gRNA配列の少なくとも約16ヌクレオチドが必要である。実際に、ガイドRNA配列は、概して、17~24ヌクレオチド（例えば、19、20、若しくは21ヌクレオチド）の長さで、標的とされる遺伝子又は核酸配列との相補性とを有するように設計される。カスタムgRNA作製装置及びアルゴリズムは、有効なガイドRNAの設計に使用するために市販されている。遺伝子編集はまた、キメラ「シングルガイドRNA」（「sgRNA」）、即ち、天然のcrRNA-tracrRNA複合体を模倣し、tracrRNA（ヌクレアーゼとの結合のため）と少なくとも1つのcrRNA（編集の標的とされる配列にヌクレアーゼを誘導するため）との両方を含有する操作（合成）単一RNA分子を用いて達成されている。また、化学修飾sgRNAも、ゲノム編集に有効であることが実証されており；例えば、Hendel et al., Nature Biotechnology 985-991, 2015を参照されたい。

【0338】

野生型Cas9は、gRNAが標的とする特定のDNA配列で二本鎖切断（DSB）を生成するが、修飾された機能性を有するいくつかのCRISPRエンドヌクレアーゼが利用可能であり、例えば：Cas9の「ニッカーゼ」バージョンは、一本鎖切断のみを生成し；触媒能のないCas9（「dCas9」）は、標的DNAを切断しないが、立体障害によって転写を妨害する。dCas9は、更にエフェクターと融合させて、標的遺伝子の発現を抑制（CRISPRi）又は活性化（CRISPRa）することもできる。例えば、Cas9を転写リプレッサ（例えば、KRABドメイン）又は転写アクチベータ（例えば、dCas9-VP64融合）と融合させることができる。FokIヌクレアーゼと融合した触媒能のないCas9（dCas9）（「dCas9-FokI」）を用いて、2つのgRNAと相同性の標的配列でDSBを生成することができる。例えば、Addgeneリポジトリ（Addgene, 75 Sidney St., Suite 550A, Cambridge, MA 02139; addgene.org/crispr/）に開示され、そこから一般に入手可能な多数のCRISPR/Cas9プラスミドを参照されたい。各々が個別のガイドRNAにより指令される2つの個別の二本鎖切断を導入する「ダブルニッカーゼ」Cas9は、Ran et al., Cell 154:1380-1389, 2013によって、より正確なゲノム編集を達成するものとして記載されている。

【0339】

真核生物の遺伝子を編集するためのCRISPR技術は、米国特許出願公開第2016/0138008 A1号明細書及び同第2015/0344912 A1号明細書、並びに米国特許第8,697,359号明細書、同第8,771,945号明細書、同第8,945,839号明細書、同第8,999,641号明細書、同第8,993,233号明細書、同第8,895,308号明細書、同第8,865,406号明細書、同第8,889,418号明細書、同第8,871,445号明細書、同第8,889,356号明細書、同第8,932,814号明細書、同第8,795,965号明細書、及び同第8,906,616号明細書に開示されている。Cpf1エンドヌクレアーゼ及び対応す

るガイドRNA並びにPAM部位は、米国特許出願公開第2016/0208243 A 1号明細書に開示されている。

【0340】

一部の例では、所望のゲノム修飾は、相同組換えを含み、この場合、RNA誘導ヌクレアーゼ及びガイドRNAにより、標的ヌクレオチド配列に1つ以上の二本鎖DNA切断が生成された後、相同組換え機構を用いた切断の修復（「相同組換え修復」）が起こる。こうした例では、二本鎖切断において挿入又はノックインしようとする所望のヌクレオチド配列をコードするドナーテンプレートが、細胞又は対象に提供され；好適なテンプレートの例として、一本鎖DNAテンプレート及び二本鎖DNAテンプレート（例えば、本明細書に記載のポリペプチドに連結される）が挙げられる。一般に、約50ヌクレオチド未満の領域にわたってヌクレオチド変更をコードするドナーテンプレートは、一本鎖DNAの形態で提供され；より大きなドナーテンプレート（例えば、100ヌクレオチド超）は、多くの場合、二本鎖DNAプラスミドとして提供される。一部の例では、ドナーテンプレートは、所望の相同組換え修復を達成するのに十分であるが、所与の期間の後（例えば、1つ以上の細胞分裂周期後）、細胞又は対象において持続しない量で、細胞又は対象に供給される。一部の例では、ドナーテンプレートは、少なくとも1つ、少なくとも5つ、少なくとも10、少なくとも20、少なくとも30、少なくとも40、少なくとも50、又はそれ以上のヌクレオチドだけ標的ヌクレオチド配列と異なるコアヌクレオチド配列（例えば、相同的内在性ゲノム領域）を有する。このコア配列は、標的ヌクレオチド配列と高い配列同一性の「相同性アーム」又は領域によってフランキングされ；一部の例では、高い配列同一性の領域は、コア配列の両側に少なくとも10、少なくとも50、少なくとも100、少なくとも150、少なくとも200、少なくとも300、少なくとも400、少なくとも500、少なくとも600、少なくとも750、又は少なくとも1000ヌクレオチドを含む。ドナーテンプレートが一本鎖DNAの形態である一部の例では、コア配列は、コア配列の両側で、少なくとも10、少なくとも20、少なくとも30、少なくとも40、少なくとも50、少なくとも60、少なくとも70、少なくとも80、又は少なくとも100ヌクレオチドを含む相同性アームによりフランキングされる。ドナーテンプレートが二本鎖DNAの形態である一部の例では、コア配列は、コア配列の両側で、少なくとも500、少なくとも600、少なくとも700、少なくとも800、少なくとも900、又は少なくとも1000ヌクレオチドを含む相同性アームによりフランキングされる。一例では、「ダブルニッカーゼ」Cas9を用いて、2つの個別の二本鎖切断を細胞又は対象の標的ヌクレオチド配列に導入した（Ran et al., Cell 154: 1380-1389, 2013を参照）後、ドナーテンプレートの送達が行われる。

【0341】

一部の例では、組成物は、gRNAと標的ヌクレアーゼ、例えば、Cas9、例えば、野生型Cas9、ニッカーゼCas9（例えば、Cas9D10A）、不活性型Cas9（dCas9）、eSpCas9、Cpf1、C2C1、若しくはC2C3、又はこうしたヌクレアーゼをコードする核酸を含む。ヌクレアーゼ及びgRNAの選択は、標的突然変異が、ヌクレオチドの欠失、置換、又は付加、例えば、標的配列へのヌクレオチドの欠失、置換、又は付加であるかどうかによって決定される。（1つ以上の）エフェクタードメインの全部又は一部（例えば、生物学的に活性の部分）とテザリングした触媒能のないエンドヌクレアーゼ、例えば、不活性型Cas9（dCas9、例えば、D10A；H840A）の融合によって、キメラタンパク質を作出し、これをポリペプチドと連結させて、1つ以上のRNA配列（sgRNA）により組成物を特定のDNA部位に誘導して、1つ以上の標的核酸配列の活性及び／又は発現を調節することができる。

【0342】

一部の例では、薬剤は、遺伝子編集のためにCRISPR系に使用するガイドRNA（gRNA）を含む。一部の例では、薬剤は、亜鉛フィンガーヌクレアーゼ（ZFN）、又はZFNをコードするmRNAを含み、これは、宿主無脊椎動物（例えば、昆虫、軟体動物、若しくは線虫）及び／又は常在微生物の経路（例えば、宿主-微生物叢相互作用を媒

10

20

30

40

50

介する経路、例えば、宿主免疫系経路若しくはバクテリオサイト経路、例えば、全て提供されるアクセッション番号を参照にして、表7、表8、若しくは表9に挙げるタンパク質をコードする遺伝子)に関連する遺伝子の核酸配列(例えば、DNA配列)を標的とする(例えば、切断する)。一部の例では、薬剤は、T A L E N、又はT A L E NをコードするmRNAを含み、これは、宿主無脊椎動物(例えば、昆虫、軟体動物、若しくは線虫)及び／又は常在微生物の経路(例えば、宿主－微生物叢相互作用を媒介する経路、例えば、宿主免疫系経路若しくはバクテリオサイト経路、例えば、全て提供されるアクセッション番号を参照にして、表7、表8、若しくは表9に挙げるタンパク質をコードする遺伝子)に関連する遺伝子の核酸配列(例えば、DNA配列)を標的とする(例えば、切断する)。

10

【0343】

例えば、CRISPR系にgRNAを用いて、宿主無脊椎動物(例えば、昆虫、軟体動物、若しくは線虫)及び／又は常在微生物の経路(例えば、宿主－微生物叢相互作用を媒介する経路、例えば、宿主免疫系経路若しくはバクテリオサイト経路、例えば、全て提供されるアクセッション番号を参照にして、表7、表8、若しくは表9に挙げるタンパク質をコードする遺伝子)に関連する遺伝子の改変を操作することができる。他の例では、ZFN及び／又はTALENを用いて、宿主無脊椎動物(例えば、昆虫、軟体動物、若しくは線虫)及び／又は常在微生物の経路(例えば、宿主－微生物叢相互作用を媒介する経路、例えば、宿主免疫系経路若しくはバクテリオサイト経路、例えば、全て提供されるアクセッション番号を参照にして、表7、表8、若しくは表9に挙げるタンパク質をコードする遺伝子)に関連する遺伝子の改変を操作することができる。例示的な改変として、挿入、欠失(例えば、ノックアウト)、転座、反転、単一点突然変異、又は他の突然変異が挙げられる。改変は、細胞の遺伝子に、例えば、インビトロ、エキスピボ、又はインビボで導入することができる。一部の例では、改変は、宿主無脊椎動物(例えば、昆虫、軟体動物、若しくは線虫)及び／又は常在微生物の経路(例えば、宿主－微生物叢相互作用を媒介する経路、例えば、宿主免疫系経路若しくはバクテリオサイト経路、例えば、全て提供されるアクセッション番号を参照にして、表7、表8、若しくは表9に挙げるタンパク質をコードする遺伝子)に関連する遺伝子のレベル及び／又は活性を増大する。他の例では、改変は、宿主無脊椎動物(例えば、昆虫、軟体動物、若しくは線虫)及び／又は常在微生物の経路(例えば、宿主－微生物叢相互作用を媒介する経路、例えば、宿主免疫系経路若しくはバクテリオサイト経路、例えば、全て提供されるアクセッション番号を参照にして、表7、表8、若しくは表9に挙げるタンパク質をコードする遺伝子)に関連する遺伝子のレベル及び／又は活性を低下させる(例えば、ノックダウン若しくはノックアウトする)。また別の例では、改変は、宿主無脊椎動物(例えば、昆虫、軟体動物、若しくは線虫)及び／又は常在微生物の経路(例えば、宿主－微生物叢相互作用を媒介する経路、例えば、宿主免疫系経路若しくはバクテリオサイト経路、例えば、全て提供されるアクセッション番号を参照にして、表7、表8、若しくは表9に挙げるタンパク質をコードする遺伝子)に関連する遺伝子の欠陥(例えば、欠陥を引き起こす突然変異)を修正する。

20

30

【0344】

一部の例では、CRISPR系を用いて、標的遺伝子(例えば、宿主無脊椎動物(例えば、昆虫、軟体動物、若しくは線虫)及び／又は常在微生物の経路、例えば、宿主－微生物叢相互作用を媒介する経路、例えば、宿主免疫系経路若しくはバクテリオサイト経路、例えば、全て提供されるアクセッション番号を参照にして、表7、表8、若しくは表9に挙げるタンパク質をコードする遺伝子)に関連する遺伝子)を編集する(例えば、塩基対を付加する、又は欠失させる)。他の例では、CRISPR系を用いて、未成熟終止コドンを導入し、例えば、これにより、標的遺伝子の発現を低減する。また別の例では、CRISPR系を用いて、例えば、RNA干渉と同様に、可逆的方法で標的遺伝子をオフにする。一部の例では、CRISPR系を用いて、Casを遺伝子のプロモータに向け、これにより、RNAポリメラーゼを立体的に遮断する。

40

【0345】

50

一部の例では、CRISPR系は、米国特許公開第20140068797号明細書、Cong, Science 339:819-823, 2013; Tsai, Nature Biotechnol. 32:6569-576, 2014; 米国特許第8,871,445号明細書; 同第8,865,406号明細書; 同第8,795,965号明細書; 同第8,771,945号明細書; 及び同第8,697,359号明細書に記載される技術を用いて、宿主無脊椎動物（例えば、昆虫、軟体動物、若しくは線虫）及び／又は常在微生物の経路（例えば、宿主－微生物叢相互作用を媒介する経路、例えば、宿主免疫系経路若しくはバクテリオサイト経路、例えば、全て提供されるアクセッション番号を参照にして、表7、表8、若しくは表9に挙げるタンパク質をコードする遺伝子）に関連する遺伝子を編集するように生成することができる。

【0346】

一部の例では、CRISPR干渉（CRISPRi）技術は、特定の遺伝子、例えば、宿主免疫系又はバクテリオサイト構成要素（例えば、本明細書に記載の酵素若しくは受容体）をコードする遺伝子の転写抑制のために使用することができる。CRISPRiの場合、操作Cas9タンパク質（例えば、ヌクレアーゼ－ヌルdCas9、又はdCas9融合タンパク質、例えば、dCas9－KRAB若しくはdCas9－SID4X融合物）を配列特異的ガイドRNA（sgRNA）と対合させることができる。Cas9－gRNA複合体は、RNAポリメラーゼを遮断することができ、それにより、転写伸長を妨害する。この複合体は、転写因子結合を妨害することにより、転写開始も遮断することができる。CRISPRi法は、最小オフターゲット効果を固有に有し、しかもマルチプレクサブル（multiplexable）であり、例えば、同時に2つ以上の遺伝子を抑制することができる（例えば、複数のsgRNAを用いて）。また、CRISPRi方法は、可逆的遺伝子抑制も可能にする。

【0347】

一部の例では、例えば、本明細書に記載される1つ以上の遺伝子（例えば、表7、表8、若しくは表9に挙げるタンパク質のいずれかをコードする遺伝子）の転写活性化のために、CRISPR媒介性遺伝子活性化（CRISPRa）を用いることができる。CRISPRa技術では、dCas9融合タンパク質が、転写アクチベータを動員する。例えば、dCas9をVP64又はp65活性化ドメイン（p65D）などのポリペプチド（例えば、活性化ドメイン）と融合させ、sgRNA（例えば、単一のsgRNA又は複数のsgRNA）と一緒に用いて、宿主又は宿主に常在する微生物の遺伝子、例えば、内在性遺伝子を活性化することができる。複数のsgRNAを用いることにより、複数のアクチベータを動員することができ、これは、活性化効率を高め得る。様々な活性化ドメイン及び単一又は複数の活性化ドメインを使用することができる。アクチベータを動員するためにdCas9を操作する以外に、sgRNAも、アクチベータを動員するように操作することができる。例えば、RNAアプタマーをsgRNAに組み込むことにより、VP64などのタンパク質（例えば、活性化ドメイン）を導入することができる。一部の例では、転写活性化のために相乗的活性化メディエータ（SAM）系を用いることができる。SAMでは、MS2アプタマーをsgRNAに付加する。MS2は、p65AD及びヒートショック因子1（HSF1）と融合したMS2コートタンパク質（MCP）を動員する。

【0348】

CRISPRi及びCRISPRa技術について、更に詳しくは、Dominguez et al., Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 17:5-15, 2016（参照により本明細書に組み込まれる）に記載されている。加えて、Dominguez et al.に記載されているように、dCas9媒介性のエピジェネティクス修飾並びに同時活性化及びCRISPR系による抑制を用いて、本明細書に記載される宿主又は微生物経路（例えば、宿主－微生物叢相互作用を媒介する経路、例えば、宿主免疫系経路若しくはバクテリオサイト経路、例えば、全て提供されるアクセッション番号を参照にして、表7、表8、若しくは表9に挙げるタンパク質をコードする遺伝子）の構成要素を調節することができる。

10

20

30

40

50

【0349】

i v . 標的遺伝子及びタンパク質

本明細書に記載される調節薬剤のいずれかを用いて、遺伝子発現を改変（例えば、増大若しくは低減）する、標的タンパク質活性を改変（例えば、増大若しくは低減）する、及び／又は宿主若しくは宿主に常在する微生物の機能を改変することができる。表6に挙げる機能クラスのいずれかを含め、様々なプロセスに関与するタンパク質又は遺伝子を標的とすることができる。

【0350】

【表93】

表6: 標的遺伝子の機能クラス

機能クラス	作用
ホメオスタシス	これらの遺伝子の下方制御又はノックアウトは、内部標的微生物ホメオスタシスの均衡を破綻させ、宿主において細胞機能不全、並びにその結果、その適応度の低下を引き起こす。
情報	これらの遺伝子の下方制御又はノックアウトは、タンパク質合成を停止又は遅延させ、これにより微生物の増殖に影響を及ぼす。これがひいては、宿主において細胞機能不全、並びにその結果、その適応度の低下を引き起こす。
代謝	これらの遺伝子の下方制御又はノックアウトは、栄養素の異化及び同化を停止し、微生物の増殖に影響を及ぼす。これがひいては、宿主において細胞機能不全、並びにその結果、その適応度の低下を引き起こす。
輸送	これらの遺伝子の下方制御又はノックアウトは、アミノ酸又はその前駆体の輸送を停止又は低減し、これにより微生物の生存に影響を及ぼす。これがひいては、宿主において細胞機能不全、並びにその結果、その適応度の低下を引き起こす。

【0351】

(a) 標的微生物遺伝子及びタンパク質

本明細書に記載される調節薬剤のいずれかを用いて、宿主に常在する微生物の遺伝子発現又は標的タンパク質を改変することができる。一部の例では、調節薬剤（例えば、抗体）は、表7に挙げるタンパク質のいずれか1つを含め、宿主に常在する微生物のタンパク質を直接標的とする。他の例では、調節薬剤（例えば、核酸、例えば、RNAi）は、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較して、表7に挙げるタンパク質のいずれかをコードする遺伝子を含め、宿主に常在する微生物における遺伝子発現を改変（例えば、遺伝子発現を増大若しくは低減）する。

【0352】

10

20

30

40

50

【表 9 4】

表 7: 標的細菌タンパク質

機能クラス	タンパク質名	配列アクセシ ョン番号	生物
ホメオスタシス	シャペロニン GroEL	NP_239860.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)))
ホメオスタシス	DnaK タンパク質	NP_239985.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)))
ホメオスタシス	ヒートショックタンパク質 GrpE1	NP_240076.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)))
ホメオスタシス	ATP 依存性プロテアーゼ ATP 結合 サブユニット	NP_240382.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)))
ホメオスタシス	ヒートショックタンパク質 GrpE2	NP_240015.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)))
情報	メチオニンアミノペプチダーゼ	NP_240059.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)))
情報	30S リボソームタンパク質 S1	NP_240132.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)))
情報	DnaJ タンパク質	NP_239984.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)))

【 0 3 5 3 】

10

20

30

40

50

【表 9 5】

情報	ポリスクレオチドホスホリラーゼ/ ポリアデニラーゼ	NP_240191.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>))
情報	DNA ジャイレースサブユニット B	NP_239852.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>))
情報	トリプトファン-tRNA シンテターゼ	NP_240343.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>))
情報	トレオニル-tRNA シンテターゼ	NP_239957.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>))
情報	アラニル-tRNA シンテターゼ	NP_240220.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>))
情報	アスパラギニル-tRNA シンテターゼ	NP_240178.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>))
情報	tRNA (グアニン-N1)-メチルトランス フェラーゼ	NP_240213.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>))
情報	50S リボソームタンパク質 L30	NP_240313.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>))
情報	複製 DNA ヘリカーゼ	NP_240352.2	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>))

【 0 3 5 4】

10

20

30

40

50

【表 9 6】

情報	グリシル-tRNA シンテターゼサブ ユニットα	NP_239968.2	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)))
情報	A/G-特異的アデニングリコシラーゼ	NP_240358.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)))
情報	tRNA プソイドウリジン 55 シンターゼ	NP_240193.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)))
情報	メチオニル-tRNA シンターゼ	NP_239942.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)))
情報	リシル-tRNA シンターゼ	NP_240385.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)))
情報	グルタミニル-tRNA シンテターゼ	NP_240227.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)))
情報	DNA ポリメラーゼ I	NP_240243.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)))
情報	リボソーム大サブユニットプソイド ウリジンシンターゼ C	NP_240167.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)))
情報	ヒスチジル-tRNA シンテターゼ	NP_240112.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)))

【 0 3 5 5 】

10

20

30

40

50

【表 9 7】

情報	DNA ポリメラーゼ III サブユニット ガンマ及びタウ	NP_240292.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)))
情報	tRNA 修飾 GTPase TrmE	NP_239858.2	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)))
情報	DNA ポリメラーゼ III ベータ鎖	NP_239853.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)))
情報	RNA ポリメラーゼシグマ因子 RpoD	NP_239892.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)))
情報	アルギニル-tRNA シンテターゼ	NP_240071.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)))
情報	セリル-tRNA シンテターゼ	NP_240135.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)))
情報	DNA ポリメラーゼ III アルファ鎖	NP_240067.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)))
情報	アスパルチル-tRNA シンテターゼ	NP_240138.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)))
情報	ロイシル-tRNA シンテターゼ	NP_240256.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)))
情報	フェニルアラニル-tRNA シンテターゼベータ鎖	NP_239962.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)))

【 0 3 5 6 】

10

20

30

40

50

【表 9 8】

代謝	5-メチルトetraヒドロプロテイルトリ グルタメート-ホモシステインメチル トランスフェラーゼ	NP_239871.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>))
代謝	二官能基アスパルトキナーゼ I/ ホメセリンデヒドロゲナーゼ I	NP_240025.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>))
代謝	硫酸アデニレートトランスフェラーゼ サブユニット I	NP_240235.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>))
代謝	アデニロコハク酸シンターゼ	NP_240370.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>))
代謝	ホスホアデノシンホスホ硫酸レダク ターゼ	NP_240238.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>))
代謝	ホスホセリンアミノトランスフェラーゼ	NP_240134.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>))
代謝	F0F1 ATP シンターゼサブユニット ガンマ	NP_239849.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>))
輸送	細胞分裂阻害剤 MinC	NP_240149.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>))
輸送	23S rRNA m(2)G2445 メチル トランスフェラーゼ	NP_240181.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>))
輸送	tRNA ウリジン 5-カルボキシメチル アミノメチル修飾酵素 GidA	NP_239843.1	ブフネラ・アフィディコラ (<i>Buchnera aphidicola</i>) 株 APS (アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>))

【0 3 5 7】

(b) 宿主における標的遺伝子及びタンパク質

本明細書に記載される調節薬剤のいずれかを用いて、宿主における遺伝子発現又は標的タンパク質を改変することができる。一部の例では、調節薬剤（例えば、抗体）は、表 8 又は表 9 に挙げるタンパク質のいずれか 1 つを含め、宿主におけるタンパク質を直接標的とする。他の例では、調節薬剤（例えば、核酸、例えば、RNA i）は、表 8 又は表 9 に挙げるタンパク質のいずれかをコードする遺伝子を含め、宿主における遺伝子を標的とする。例えば、本明細書に記載される核酸を用いて、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較して、限定はされないが、表 8 又は表 9 に挙げる遺伝子のいずれかを含め、宿主に

おける遺伝子発現（例えば、バクテリオサイト機能若しくは発育を調節する遺伝子（例えば、バクテリオサイト調節ペプチド）又は免疫系を調節する遺伝子）を改変（例えば、増大若しくは低減）することができる。

【0358】

【表99】

表 8: バクテリオサイト機能を調節するタンパク質

機能クラス	タンパク質名	配列アクセッション番号	生物
ホメオスタシス	nsI 結合タンパク質	ACYPI000701-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
ホメオスタシス	Ubx 転写因子	ACYPI001856-RA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
代謝	ATPase	ACYPI002584-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
代謝	コハク酸セミアルデヒドデヒドロゲナーゼイソ型 1	ACYPI002063-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
代謝	液胞型プロトン atp アーゼイソ型 1	ACYPI007445-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
代謝	膜アラニルアミノペプチダーゼ N	ACYPI006675-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
代謝	プロテアーゼ mI 亜鉛メタロプロテアーゼ	ACYPI009427-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
代謝	亜鉛メタロプロテアーゼ	ACYPI000580-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
代謝	プリン生合成タンパク質 6, pur6	ACYPI010114-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
代謝	Myo イノシトールモノホスファターゼ	ACYPI009018-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
代謝	フェニルアラニンヒドロキシラーゼ	ACYPI007803-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
代謝	4-ニトロフェニルホスファターゼイソ型 1	ACYPI005939-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
代謝	サイトゾルプリン 5-ヌクレオチダーゼ	ACYPI007730-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
代謝	アミノキシダーゼ	ACYPI006507-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
代謝	ホスホセリンアミノトランスフェラーゼ	ACYPI004666-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
代謝	4-ヒドロキシ酪酸 CoA-トランスフェラーゼ	ACYPI001782-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
代謝	ジヒドロピリミジンデヒドロゲナーゼ	ACYPI004747-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)

【0359】

10

20

30

40

50

【表 100】

代謝	グリシンデヒドロゲナーゼ、ミトコンドリア	ACYPI005060-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
代謝	リボース-リン酸ピロホスホキナーゼ 1、推定	ACYPI006288-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
代謝	ホスホセリンホスファターゼイソ型 1	ACYPI000304-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
代謝	アデニンホスホリボシルトランスフェラーゼ	ACYPI003436-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
代謝	パントテネートキナーゼ 4 (パントテン酸キナーゼ 4) (hPanK4)	ACYPI003518-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
代謝	ホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ	ACYPI001978-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
代謝	シスタチオニンペーラーゼ、部分	ACYPI000593-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
代謝	推定 5-ヌクレオチダーゼ、部分	ACYPI002452-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
代謝	ジッパー (Zipper) CG15792-PD	ACYPI004129-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
代謝	アコニターゼ	ACYPI008211-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
代謝	プロフェノールオキシダーゼ	ACYPI001367-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
代謝	グリシンアミドリボヌクレオチドリボヌクレオチドシンテターゼ-アミノイミダゾールリボヌクレオチドシンテターゼ-グリシンアミドリボヌクレオチドトランスホルミラーゼ、部分	ACYPI009448-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
代謝	アルデヒドデヒドロゲナーゼ	ACYPI003925-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
代謝	メタロプロテアーゼ	ACYPI008675-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
代謝	プロフェノールオキシダーゼ	ACYPI004484-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
代謝	5-アミノイミダゾール-4-カルボキサミドリボヌクレオチドホルミルトランスフェラーゼ/IMP シクロヒドラーゼ	ACYPI008919-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)

【0360】

10

20

30

40

50

【表 101】

代謝	Sec24B タンパク質、推定	ACYPI005848-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
代謝	Gmp シンターゼ	ACYPI006177-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
代謝	mCG117402	ACYPI000180-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
代謝	ラムダ-クリスタリン	ACYPI001738-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
代謝	グリオキシル酸/ヒドロキシピルビン酸レダクターゼ	ACYPI001693-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
代謝	フルクトース-1,6-ビスホスファターゼ	ACYPI002694-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
代謝	成虫原基成長因子	ACYPI001365-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
代謝	リソソームアルファ-マンノシダーゼ(マンノシダーゼアルファクラス 2b メンバー1)	ACYPI000371-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
代謝	5-オキソプロリナーゼ(ATP-加水分解)	ACYPI004211-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
代謝	アスパラギン酸アンモニリアーゼ	ACYPI006003-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
代謝	アルド-ケトレダクターゼ	ACYPI005685-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
代謝	アミノメチルトランスフェラーゼ	ACYPI002795-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
調節	バクテリオサイト特異的システインリッチタンパク質 BCR ファミリー、ペプチド BCR1	ACYPI32128	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
調節	バクテリオサイト特異的システインリッチタンパク質 BCR ファミリー、ペプチド BCR2	ACYPI38738	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
調節	バクテリオサイト特異的システインリッチタンパク質 BCR ファミリー、ペプチド BCR3	ACYPI44142	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
調節	バクテリオサイト特異的システインリッチタンパク質 BCR ファミリー、ペプチド BCR6	ACYPI49532	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
調節	バクテリオサイト特異的システインリッチタンパク質 BCR ファミリー、ペプチド BCR8	ACYPI45157	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
調節	分泌タンパク質 SP ファミリー、ペプチド SP1	ACYPI008389	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)

【0361】

10

20

30

40

50

【表 102】

調節	分泌タンパク質 SP ファミリー、ペプチド SP2	ACYPI000294	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
調節	分泌タンパク質 SP ファミリー、ペプチド SP3	ACYPI005168	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
調節	分泌タンパク質 SP ファミリー、ペプチド SP4	ACYPI009984	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
調節	分泌タンパク質 SP ファミリー、ペプチド SP5a	ACYPI004796	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
調節	分泌タンパク質 SP ファミリー、ペプチド SP6	ACYPI001839	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
シグナル伝達	グリーン(Glean)ペプチド GLEAN_28598	ACYPI48598-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
シグナル伝達	グリーン(Glean)ペプチド GLEAN_33885	ACYPI53885-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
シグナル伝達	past-1	ACYPI007266-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
輸送	推定液胞型 ATP シンターゼサブユニット E イソ型 1	ACYPI006090-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
輸送	液胞型 ATP シンターゼサブユニット H	ACYPI002312-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
輸送	液胞型 ATPase サブユニット C	ACYPI006545-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
輸送	液胞型 ATP シンターゼ 16 kDa プロテオリピドサブユニット(ダクチン (Ductin)) (VHA16K)	ACYPI003545-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
輸送	カリウム/塩化物共輸送体、推定、部分	ACYPI000507-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)
輸送	カチオンアミノ酸輸送体	ACYPI008904-PA	アキルトシフォン・ピスム (<i>Acyrtosiphon pisum</i>)

10

20

【0362】

一部の例では、本明細書に提供される方法又は組成物は、調節薬剤を投与されていない宿主生物と比較して、寄生体又は病原体（例えば、真菌性、細菌性、若しくはウイルス病原体又は寄生虫）に対する宿主の抵抗性を低下させるのに有効であり得る。一部の例では、本明細書に提供される方法又は組成物は、病原体又は寄生虫（例えば、真菌性、細菌性又はウイルス性病原体；又は寄生ダニ）に対する宿主の抵抗性を参照レベル（例えば、調節薬剤を受けていない宿主に見られるレベル）と比べて、約 2 %、5 %、10 %、20 %、30 %、40 %、50 %、60 %、70 %、80 %、90 %、100 %、又はそれを超えて低下させるのに有効であり得る。

30

【0363】

一部の例では、本調節薬剤は、調節薬剤を投与されていない宿主生物と比較して、宿主の先天性免疫系を改変して、宿主の微生物多様性を間接的に変化させるのに有効である。無脊椎動物は、複数の免疫反応を呈示し、そのいくつかは、哺乳動物に見られる免疫機構と相同である。昆虫の先天性免疫の一般原理は、他の資料によって要約されている（Lemaitre et al., Annu. Rev. Immunol. 25: 697-743, 2007; Charroux et al., Fly 4: 40-47, 2010; Ganesan et al., Curr. Top. Microbiol. Immunol. 349: 25-60, 2011; Chambers et al., Curr. Opin. Immunol. 24: 10-14, 2012）。例えば、キイロショウジョウバエ（*D. melanogaster*）の場合、腸管上皮細胞系での局所免疫を可能にする 2 つの主要な誘導性応答：AMP の産生及び活性酸素種（ROS）の合成がある。これらの誘導された応答は共に、古典的な抵抗性機構として観察され得るが、これらはいずれも、片利共

40

50

生腸内微生物叢に対する耐性を宿主に賦与することができる負のフィードバックループ及び調節成分を含む。

【0364】

片利共生菌による腸のコロニー形成は、免疫プライミング事象を誘導し、その結果、片利共生菌の頻発的なコロニー形成に対するだけではなく、病原体に対しても免疫応答の活性化又は改変を引き起こす。腸内微生物叢は、細菌に対する宿主、例えば、プラスモジウム属 (*Plasmodium*) に対する力 (蚊) の免疫系のプライミングだけではなく、細菌による宿主の再攻撃時のプライミング応答の誘発にも必須である。力 (蚊) における細菌依存性プライミング応答は、顆粒球への原血球の分化と、形態及び結合特性が変化した増加数の循環顆粒球の存在とを特徴とする。別の例では、腸に存在するガンマプロテオバクテリウムの *S. glossini* (*S. glossini*) を含め、ツェツェバエ共生菌は、成虫のハエがトリパノソーマ耐性表現型を提示することができるために、幼虫発育中に必須である。この場合、細菌は、成虫の囲食膜の形成及び完全性に影響を及ぼし、これによって、間接的にトリパノソーマの存在を感知し、それに応答するハエの能力を調節すると思われる、

【0365】

一部の例では、調節薬剤の生産により免疫応答を調節する。例えば、キイロショウジョウバエ (*D. melanogaster*) の全身免疫応答では、Toll 及び IMD が、抗微生物ペプチド (AMP) 生産を誘導する2つの主要なシグナル伝達経路である。病原体曝露時に、IMD 経路のみが活性であり、局所 AMP 応答をトリガーする。ペプチドグリカン認識タンパク質 (PGRP) ファミリーに属する細胞外若しくは細胞内上皮受容体に対する細菌性ペプチドグリカン (PGN) の様々な変異体の結合によって、活性化が起こる。タンパク質 Pirk は、細胞質中の特定の PGN 結合受容体 (PGRP-LE) を隔離し、それにより、細胞表面に局在化するこれらの受容体の数を減少させて、IMD 経路シグナル伝達を遅らせる。PGRP-LE は、アミダーゼ及び Pirk の上方制御を介した共生微生物叢に対する免疫耐性を確実にする。IMD 経路を介した下流シグナル伝達は、転写因子 Relish の活性化を引き起こし、これが、ひいては、いくつかの AMP 及び他の免疫関連遺伝子の発現を誘導する。PGRP-LE は、病原菌に対する Relish 依存性免疫応答を誘導する。PGRP-LE はまた、アミダーゼ及び Pirk の上方制御を介した共生微生物叢に対する免疫耐性も確実にする。

【0366】

ホメオボックス転写因子の Caudal は、プロモータ領域に結合することにより、腸内の AMP 遺伝子転写を特異的に抑制する。Caudal の欠失は、構成的 AMP 生産を発生させて、腸内微生物叢のシフトを引き起こす。一実施形態では、IMD 経路を不活性化して、1つ以上の AMP 及び／又は他の免疫関連遺伝子の発現を制限し (例えば、caudal 欠失)、これにより、腸内微生物叢に対する免疫応答を活性化する。

【0367】

一部の例では、腸内の病原菌に対する曝露によって、膜結合デュアルオキシダーゼ (DUOX) 系を介した ROS の産生をトリガーする。例えば、キイロショウジョウバエ (*D. melanogaster*) では、PGN 依存性及び PGN 非依存性シグナル伝達経路が、ROS を産生し、これは、細菌だけではなく、宿主の上皮細胞に対しても酸化ストレスを引き起こす。キイロショウジョウバエ (*D. melanogaster*) は、免疫応答カタラーゼを活性化することにより、過剰な ROS を排除する。このカタラーゼ産生は、恐らく、例えば、上皮表面近傍への局所的に制限されたカタラーゼ活性を介した、細菌誘導性免疫応答によって引き起こされる自傷の減少により、耐性を増大する。一実施形態では、腸内微生物叢に対する免疫応答を活性化するために、免疫応答性カタラーゼを不活性化又は抑制して、DUOX 系を介した ROS 産生並びに PGN 依存性及び PGN 非依存性シグナル伝達経路を介した酸化ストレスを維持する。

【0368】

一部の例では、調節薬剤は、調節薬剤が投与されていない宿主生物と比較して、宿主の

10

20

30

40

50

遺伝子発現を改変（例えば、増大若しくは低減）して、宿主の免疫系応答又は免疫調節シグナル伝達、例えば、宿主に常在する微生物（例えば、宿主バクテリオサイトに常在する微生物）に対する免疫系応答を増大若しくは低減することができる。免疫系関連遺伝子／バクテリオサイトのタンパク質の非限定的な例を表9に示す。

【0369】

【表103】

表9: バクテリオサイトを調節する免疫調節タンパク質

機能クラス	タンパク質名	配列 アクセッション 番号	生物
調節	BicD (プロテインピカウダル(Protein bicaudal)D)	CG6605	キイロショウジョウバエ (<i>D. melanogaster</i>)
調節	PGRP SA (ペプチドグリカン認識タンパク質)	CG11709	キイロショウジョウバエ (<i>D. melanogaster</i>)
調節	Relish (転写因子)	CG11992	キイロショウジョウバエ (<i>D. melanogaster</i>)
調節	Pirk (ノックイン時の低 Imd 応答)	CG15678	キイロショウジョウバエ (<i>D. melanogaster</i>)
調節	DUOX (デュアルオキシダーゼ)	CG3131	キイロショウジョウバエ (<i>D. melanogaster</i>)
調節	p38c (p38c MAP キナーゼ)	CG33338	キイロショウジョウバエ (<i>D. melanogaster</i>)
調節	MKP3 (デュアルホスファターゼ)	CG14080	キイロショウジョウバエ (<i>D. melanogaster</i>)
調節	CanB (カルシネウリン B)	CG4209	キイロショウジョウバエ (<i>D. melanogaster</i>)
調節	Plad (ホスホリパーゼ D)	CG12110	キイロショウジョウバエ (<i>D. melanogaster</i>)
調節	Cact (カクタス)	CG5848	キイロショウジョウバエ (<i>D. melanogaster</i>)
調節	DIF (ドーサル関連免疫因子)	CG6794	キイロショウジョウバエ (<i>D. melanogaster</i>)
調節	dIAP2 (ショウジョウバエ(<i>Drosophila</i>) アポトーシス阻害因子 2)	CG8293	キイロショウジョウバエ (<i>D. melanogaster</i>)
調節	Toll (トール相互作用タンパク質)	CG5490	キイロショウジョウバエ (<i>D. melanogaster</i>)
調節	gnbp1 (グラム陰性結合タンパク質 1)	CG6895	キイロショウジョウバエ (<i>D. melanogaster</i>)
調節	LysC (c-タイプリゾチーム)	CR9111	キイロショウジョウバエ (<i>D. melanogaster</i>)
調節	imd (免疫不全)	CG5576	キイロショウジョウバエ (<i>D. melanogaster</i>)
調節	Diap2 (細胞死関連アポトーシス阻害因子 2)	CG8293	キイロショウジョウバエ (<i>D. melanogaster</i>)
調節	ecsit	CG10610	キイロショウジョウバエ (<i>D. melanogaster</i>)

【0370】

v. 調節薬剤としての細菌

一部の例では、本明細書に記載される調節薬剤は、1つ以上の細菌を含む。多くの細菌は、本明細書に記載される組成物及び方法に有用である。一部の例では、薬剤は、宿主に内因的に見られる細菌種である。一部の例では、細菌性調節薬剤は、内部共生細菌種である。一部の例では、細菌調節薬剤は、宿主内の病原体である。調節薬剤として使用し得る

細菌の非限定的な例としては、本明細書で詳細な説明の第ⅠⅠ節に記載されるあらゆる細菌種及び表1に挙げられるものが含まれる。例えば、調節薬剤は、ガンマプロテオバクテリア綱（*Gamma proteobacteria*）、アルファプロテオバクテリア（*Alphaproteobacteria*）、ベータプロテオバクテリア（*Betaproteobacteria*）、バクテロイデス門（*Bacteroidetes*）、フィルミクテス門（*Firmicutes*）（例えば、ラクトバチルス属（*Lactobacillus*）及びバチルス属種（*Bacillus spp.*））、クロストリジウム綱（*Clostridia*）、放線菌類（*Actinomycetes*）、スピロヘータ門（*Spirochetes*）、ウェルコミクロビウム門（*Verrucomicrobia*）及び放線菌門（*Actinobacteria*）を含め、宿主（例えば、昆虫、軟体動物、又は線虫）の腸に存在する任意の細菌門からの細菌種であり得る。

10

【0371】

一部の例では、宿主に常在する1種以上の微生物のレベル、多様性、又は代謝の低下を招く宿主の免疫応答を刺激する調節薬剤として、細菌を使用することができる。一部の例では、細菌は、生存細菌細胞（例えば、大腸菌（*E. coli*）細胞）として送達される。或いは、細菌は、加熱殺菌細胞（例えば、加熱殺菌した大腸菌（*E. coli*）細胞）として送達してもよい。他の例では、細菌は、溶解物（例えば、溶解した全細胞から調製される）、又はその断片として送達してもよい。

【0372】

一部の例では、調節薬剤は、本明細書に記載の遺伝子修飾又は形質転換細胞を含む。一部の例では、細菌は、遺伝子修飾されている。例えば、当該技術分野で標準的な方法（例えば、形質導入、形質転換、若しくは共役）を用いた細菌への遺伝子材料の導入によって細菌を修飾し、これにより、細菌の細胞生理学、及び／若しくは生化学を修飾又は改変することができる。遺伝子材料の導入によって、修飾された細菌は、新たな機能又は特性を獲得し得る。一部の例では、遺伝子修飾細菌は、本明細書に記載の調節薬剤を産生し、分泌することができる。例えば、遺伝子修飾細菌は、宿主に常在する特定の宿主内部共生体又は他の微生物を標的とするポリペプチド、小分子、若しくは核酸を産生することができる。一部の例では、遺伝子修飾細菌を用いて、宿主免疫応答を刺激する産物を生産することができる。

20

【0373】

一部の例では、新たな機能性を宿主に付与するために、遺伝子操作又は形質転換された細菌が提供される。新たな機能性としては、例えば、農薬（例えば、殺虫剤、軟体動物駆除剤、若しくは殺線虫剤；例えば、表11に挙げる農薬）、植物用アロケミカルを分解する能力、又は栄養素を産生する能力を挙げることができる。例えば、遺伝子修飾細菌は、農薬（例えば、殺虫剤、軟体動物駆除剤、若しくは殺線虫剤；例えば、表11に挙げる農薬）抵抗性病害虫から単離した天然の細菌、例えば、ホソヘリカメムシ（*R. pedestris*）由来のバークホルデリア属（*Burkholderia*）株から作製することができる。殺虫剤抵抗性病害虫由来の細菌を目的の宿主（例えば、ハチ）から単離した片利共生細菌と一緒に培養すると、殺虫剤抵抗性（例えば、炭素源として殺虫剤を使用する能力）を付与する遺伝子を目的の宿主（例えば、ハチ）の片利共生細菌に移入することができる。次に、遺伝子修飾細菌を宿主、例えば、ハチに再導入して、それらを殺虫剤が豊富な環境で飼育することにより、殺虫剤抵抗性昆虫を選択する。限定はされないが、ガンマプロテオバクテリア綱（*Gamma proteobacteria*）、アルファプロテオバクテリア綱（*Alphaproteobacteria*）、ベータプロテオバクテリア綱（*Betaproteobacteria*）、バクテロイデス門（*Bacteroidetes*）、フィルミクテス門（*Firmicutes*）（例えば、ラクトバチルス属（*Lactobacillus*）及びバチルス属（*Bacillus*）種）、クロストリジウム綱（*Clostridia*）、放線菌類（*Actinomycetes*）、スピロヘータ門（*Spirochetes*）、ウェルコミクロビウム門（*Verrucomicrobia*）、放線菌門（*Actinobacteria*）などを含め、宿主に常在する

30

40

50

任意の細菌門を修飾して、新たな機能性を備えさせることができる。

【0374】

細菌を遺伝子修飾して、宿主の適応度を低下させるか、又は宿主を殺傷することもできる。一部の例では、細菌を遺伝子修飾して、宿主細胞の生存を改善する、宿主細胞に対するその毒性を高める、及び／又は宿主の適応度を低下させる機能（例えば、農薬、例えば、表11に挙げる農薬に対する抵抗性の低下）を賦与することもできる。一部の例では、細菌を修飾して、それが宿主細胞に典型的に供給する必須分子をもはや合成しないようにする。一部の例では、必須材料若しくは機構の過剰な使用により、又は宿主に常在する有益微生物と競合することにより、細菌の個体群が、宿主に負の影響をもたらすレベルまで増加するように、細菌を遺伝子修飾する。一部の例では、細菌は、ヒトの更なる介入後

10

【0375】

本明細書に記載の遺伝子修飾細菌は、当該技術分野で公知の任意の方法を用いて作製することができる。例えば、細菌への核酸の送達方法としては、限定はされないが、様々な化学的、電気化学及び生物学的アプローチ、例えば、ヒートショック形質転換、エレクトロポレーション、トランスフェクション、例えば、リポソーム媒介性トランスフェクション、DEAE-デキストラン媒介性トランスフェクション又はリン酸カルシウムトランスフェクションが挙げられる。一部の例では、遺伝子材料の移入のために、媒体、又はベクターを用いて、少なくとも1つの核酸配列を含む核酸構築物、例えば、発現構築物を細菌に導入する。細菌に遺伝子材料を移入するためのベクターは、当業者には周知であり、例えば、プラスミド、人工染色体、及びウイルスベクターが挙げられる。構成的若しくは誘導性異種プロモータを含む発現構築物、ノックアウト及びノックダウン構築物をはじめとする核酸構築物の構築方法、並びに核酸若しくは核酸構築物を細菌に送達するための方法及びベクターは、当業者には周知であり、例えば、以下：Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 2001; Amberg et al., Methods in Yeast Genetics: A Cold Spring Harbor Laboratory Course Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2005; Abelson et al., Guide to Yeast Genetics and Molecular Biology, Part A, Volume 194 (Methods in Enzymology Series, 194), Academic Press, 2004; Guthrie et al., Guide to Yeast Genetics and Molecular and Cell Biology, 1st edition, Part B, Volume 350 (Methods in Enzymology, Vol 350), Academic Press, 2002; Stephanopoulos et al., Metabolic Engineering: Principles and Methodologies, 1st edition, Academic Press, 1998; 及び Smolke, The Metabolic Pathway Engineering Handbook: Fundamentals, 1st edition, CRC Press, 2009に記載されており、これらは全て、全体として参照により本明細書に組み込まれる。

20

30

40

【0376】

vi. 調節薬剤としての真菌

一部の例では、本明細書に記載される調節薬剤は、1種以上の真菌を含む。多数の真菌が本組成物及び方法で有用である。例えば、真菌性調節薬剤は、サッカロミセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) 又はピキア・パストリス (*Pichia pastoris*) などの酵母であってもよい。

【0377】

50

一部の例では、宿主に常在する1種以上の微生物（例えば、細菌若しくは真菌）のレベル、多様性、又は代謝の低下を招く、宿主の免疫応答を刺激する調節薬剤として、真菌（例えば、*S. セレビシエ*（*S. cerevisiae*）又は*P. パストリス*（*P. pastoris*））を使用することができる。一部の例では、真菌を生存真菌細胞（例えば、*P. パストリス*（*P. pastoris*）細胞、実施例15を参照）として送達する。或いは、真菌を加熱死滅真菌細胞（例えば、加熱死滅*S. セレビシエ*（*S. cerevisiae*）細胞）として送達してもよい。他の例では、真菌を溶解物（例えば、溶解した全細胞から調製）又はその画分として送達してもよい。

【0378】

一部の例では、調節薬剤は、本明細書に記載される通りの遺伝子修飾又は形質転換真菌を含む。一部の例では、真菌は、遺伝子修飾される。例えば、当該技術分野で標準的な方法を用いた真菌への遺伝子材料の導入により真菌を修飾して、これにより、真菌の細胞生理学及び／若しくは生化学を修飾又は改変することができる。遺伝子材料の導入によって、修飾真菌は新たな機能又は特性を獲得することができる。一部の例では、遺伝子修飾真菌は、本明細書に記載の調節薬剤を産生し、分泌することができる。一部の例では、遺伝子修飾真菌を用いて、宿主免疫応答を刺激する産物を生産することができる。

【0379】

一部の例では、新たな機能性を宿主に付与するために、遺伝子操作又は形質転換された真菌が提供される。新たな機能性としては、例えば、農薬（例えば、殺虫剤）、植物用アロケミカルを分解する能力、又は栄養素を産生する能力を挙げることができる。限定はされないが、カンジダ属（*Candida*）、メチニコウイア属（*Metschnikowia*）、デバロマイセス属（*Debaromyces*）、シェフェルソマイセス・シェハテ（*Scheffersomyces shehatae*）及びシェフェルソマイセス・スティピティス（*Scheffersomyces stipites*）、スターメレラ属（*Starmerella*）、ピキア属（*Pichia*）、トリコスポロン属（*Trichosporon*）、クリプトコッカス属（*Cryptococcus*）、シュードジマ属（*Pseudozyma*）、及びチャワンタケ亜門（*Pezizomycotina*）からの酵母様共生体（例えば、シンビオタフリナ・ブクネリ（*Symbiotaphrina buchneri*）及びシンビオタフリナ・コチイ（*Symbiotaphrina kochii*））などを含め、宿主に常在する任意の真菌門を遺伝子修飾して、新たな機能性を備えさせることができる。

【0380】

実施例15に示すように、宿主免疫応答（例えば、昆虫、例えば、アブラムシにおける）を刺激する調節薬剤として、*P. パストリス*（*P. pastoris*）などの酵母を使用することができ、これが、ひいては、ブフネラ属種（*Buchnera* spp）など、宿主に常在する共生細菌の活動、レベル、又は代謝を改変し、これにより、宿主の適応度を調節する（例えば、低下させる）。

【0381】

vii. 調節薬剤への修飾

一部の例では、核酸分子、ペプチド、ポリペプチド、又は抗体分子を修飾することができる。例えば、修飾は、化学修飾、例えば、マーカ（例えば、蛍光マーカ若しくは放射性マーカ）との共役であり得る。他の例では、修飾は、薬剤、例えば、脂質、グリカン、ポリマー（例えば、PEG）、カチオン部分の安定性、送達、ターゲティング、バイオアベイラビリティ、又は半減期を増強する部分との共役又は作動可能な連結を含み得る。

【0382】

(a) 融合

本明細書に記載される調節薬剤のいずれも追加的な部分に融合又は連結し得る。一部の例では、調節薬剤には、1つ以上の追加的な部分（例えば、1つの追加的な部分、2、3、4、5、6、7、8、9、10又はそれを超える追加的な部分）の融合物が含まれる。一部の例では、追加的な部分は、本明細書に記載される調節薬剤（例えば、ペプチド、ポ

10

20

30

40

50

リペプチド、小分子又は抗生物質）のいずれか1つである。或いは、追加的な部分は、調節薬剤自体として作用しなくてもよく、代わりに二次的機能を果たし得る。例えば、追加的な部分は、宿主の標的部位（例えば、宿主の腸又は宿主バクテリオサイト）において又は宿主に常在する標的微生物において調節薬剤が到達するか、結合するか、又は活性化された状態になることを促進し得る。

【0383】

一部の例では、追加的な部分は、調節薬剤が標的宿主細胞又は宿主に常在する標的微生物に侵入することを促進し得る。例えば、追加的な部分には、細胞透過性ペプチドが含まれ得る。細胞透過性ペプチド（CPP）は、タンパク質に由来する天然配列；2つの天然配列の融合によって形成されるキメラペプチド；又は構造－活性研究に基づいて合成的に設計された配列である合成CPPであり得る。一部の例では、CPPは、限られた毒性で細胞膜（例えば、原核及び真核細胞膜）を遍在的に通過する能力を有する。更に、CPPは、特定の受容体によるキラル認識の必要なしに、エネルギー依存性及び／又は非依存性機構によって細胞膜を通過する能力を有し得る。CPPの非限定的な例を表10に挙げる。

【0384】

【表104】

表10: 細胞透過性ペプチド(CPP)の例

ペプチド	由来	配列
<u>タンパク質由来</u>		
ペネトラチン	アンテナペディア	RQIKIWFQNRRMKWKK (配列番号82)
Tat ペプチド	Tat	GRKKRRQRRPPQ (配列番号83)
pVEC	カドヘリン	LLIILRRRIRKQAHASK (配列番号84)
<u>キメラ</u>		
トランスポータン	ガラニン/マストパン	GWTLNSAGYLLGKINLKALAALAKKIL (配列番号85)
MPG	HIV-gp41/SV40 T 抗原	GALFLGFLGAAGSTMGAWSQPKKRKV (配列番号86)
Pep-1	HIV 逆転写酵素/ SV40 T 抗原	KETWWETWWTEWSQPKKRKV (配列番号87)
<u>合成</u>		
ポリアルギニン	Tat ペプチドベース	(R) _n ; 6 < n < 12
MAP	デノボ	KLALKLALKALKALKLA (配列番号88)
R ₆ W ₃	ペネトラチンベース	RRWWRRWRR (配列番号89)

【0385】

一部の例では、追加的な部分は、ペプチド核酸（PNA）である。ペプチド核酸（PNA）は、アミド骨格に連結された1つ以上の核酸側鎖を含む。PNA中の1つ以上のアミノ酸単位は、ペプチド骨格と類似した骨格を含むアミド、例えば、アミノエチル－グリシンを有し、アミノ酸側鎖に代わって核酸側鎖を含む。PNAは、オリゴヌクレオチド対応部よりも高い親和性を有する相補性DNA及びRNAをハイブリダイズすることがわかっている。PNAのこの特性は、本発明のポリペプチドを核酸側鎖との安定なハイブリッド

にするだけではなく、同時に、中性骨格と疎水性側鎖は、ポリペプチド内の疎水性単位となる。PNA部分の例として、CPPなどのペプチド（例えば、配列番号106と少なくとも80%（例えば、80%、90%、95%、97%、99%、又はそれを超える）の同一性を有するアミノ酸配列）及び配列番号105若しくは151～153のいずれか1つの配列と少なくとも80%（例えば、80%、90%、95%、97%、99%、又はそれを超える）の同一性を有するヌクレオチド配列を含む分子を含む。

【0386】

核酸側鎖としては、限定はされないが、アデニン、シトシン、グアニン、チミン、及びウラシルなどのプリン又はピリミジン側鎖が挙げられる。一例では、核酸側鎖としては、5-フルオロウラシルなどのヌクレオシド類似体；5-ブロモウラシル、5-クロロウラシル、5-ヨードウラシル、ヒポキサンチン、キサンチン、4-アセチルシトシン、4-メチルベンズイミダゾール、5-（カルボキシヒドロキシメチル）ウラシル、5-カルボキシメチルアミノメチル-2-チオウリジン、5-カルボキシメチルアミノメチルウラシル、ジヒドロウラシル、ジヒドロウリジン、 β -D-ガラクトシルケオシン（galactosylqueosine）、イノシン、N6-イソペンテニルアデニン、1-メチルグアニン、1-メチルイノシン、2,2-ジメチルグアニン、2-メチルアデニン、2-メチルグアニン、3-メチルシトシン、5-メチルシトシン、N6-アデニン、7-メチルグアニン、5-メチルアミノメチルウラシル、5-メトキシアミノメチル-2-チオウラシル、 β -D-マンノシルケオシン、5'-メトキシカルボキシメチルウラシル、5-メトキシウラシル、2-メチルチオ-N6-イソペンテニルアデニン、ウラシル-5-オキシ酢酸（v）、ワイブトドキシシン（wybutoxosine）、シュードウラシン、ケオシン、2-チオシトシン、5-メチル-2-チオウラシル、2-チオウラシル、4-チオウラシル、5-メチルウラシル、ウラシル-5-オキシ酢酸メチルエステル、ウラシル-5-オキシ酢酸（v）、5-メチル-2-チオウラシル、3-（3-アミノ-3-N-2-カルボキシプロピル）ウラシル（acp³U）、2,6-ジアミノプリン、3-ニトロピロール、イノシン、チオウリジン、キューオシン（queuosine）、ワイオシン、ジアミノプリン、イソグアニン、イソシトシン、ジアミノピリミジン、2,4-ジフルオロトルエン、イソキノリン、ピロロ[2,3- β]ピリジン、並びにプリン若しくはピリミジン側鎖と塩基対形成することができる他の任意のものが挙げられる。

【0387】

他の例では、追加的な部分は、調節薬剤が宿主に常在する標的微生物（例えば、真菌又は細菌）に結合することを促進する。追加的な部分は、1つ以上のターゲティングドメインを含み得る。一部の例では、ターゲティングドメインは、調節薬剤を宿主の腸に常在する1つ以上の微生物（例えば、細菌又は真菌）に標的化し得る。一部の例では、ターゲティングドメインは、調節薬剤を宿主の特定の領域（例えば、宿主の腸又はバクテリオサイト）に標的化することにより、概して宿主の前記領域に存在する微生物に到達し得る。例えば、ターゲティングドメインは、調節薬剤を宿主の前腸、中腸又は後腸に標的化し得る。他の例では、ターゲティングドメインは、調節薬剤を宿主のバクテリオサイト及び／又は宿主バクテリオサイトに常在する1つ以上の特定の細菌に標的化し得る。

【0388】

（b）プレ又はプロドメイン

一部の例では、調節薬剤は、プレ又はプロアミノ酸配列を含み得る。例えば、調節薬剤は、プレ配列又はプロ配列の切断又は翻訳後修飾によって活性化され得る不活性なタンパク質又はペプチドであり得る。一部の例では、調節薬剤は、不活性化プレ配列又はプロ配列によって操作される。例えば、プレ配列又はプロ配列は、調節薬剤上の活性化部位、例えば受容体結合部位を隠し得るか又は調節薬剤のコンホメーション変化を誘導し得る。従って、プレ配列又はプロ配列の切断を受けると、調節薬剤が活性化される。

【0389】

或いは、調節薬剤は、プレ又はプロ小分子、例えば抗生物質を含み得る。調節薬剤は、宿主内部の標的環境で活性化され得る不活性な本明細書に記載される小分子であり得る。

例えば、小分子は、宿主腸内が特定の pH に達したときに活性化され得る。

【0390】

(c) リンカー

調節薬剤が追加的な部分に結び付いている例では、調節薬剤は、リンカーを更に含み得る。例えば、リンカーは、化学結合、例えば1つ以上の共有結合又は非共有結合であり得る。一部の例では、リンカーは、ペプチドリンカー（例えば、2、3、4、5、6、8、10、12、14、16、20、25、30、35、40アミノ酸又はそれを超えて長い）であり得る。リンカーには、本明細書に記載される任意のフレキシブルリンカー、リジッドリンカー又は切断可能リンカーが含まれ得る。

【0391】

フレキシブルペプチドリンカーには、主にGly及びSer残基を有する配列を有するリンカー（「GS」リンカー）を含め、当該技術分野で一般的に使用されるもののいずれが含まれ得る。フレキシブルリンカーは、ある程度の動き又は相互作用を必要とするドメインをつなぎ合わせるのに有用となることもあり、小型の非極性（例えば、Gly）又は極性（例えば、Ser又はThr）アミノ酸を含み得る。

【0392】

或いは、ペプチドリンカーは、リジッドリンカーであり得る。リジッドリンカーは、部分間を固定的な距離に保ってその独立した機能を維持するのに有用である。リジッドリンカーは、融合物中の1つ以上の構成成分の安定性又は生物活性を確保するためにドメインの空間的隔離が決定的に重要な場合にも有用であり得る。リジッドリンカーは、例えば、 α ヘリックス構造又はProリッチ配列（XP）_n（ここで、Xは、任意のアミノ酸、好ましくはAla、Lys又はGluを意味する）を有し得る。

【0393】

更に他の例では、ペプチドリンカーは、切断可能リンカーであり得る。一部の例では、リンカーは、還元試薬又はプロテアーゼの存在下など、特定の条件下で切断され得る。インビボ切断可能リンカーは、ジスルフィド結合の可逆的な性質を利用し得る。一例としては、2つのCys残基間におけるトロンビン感受性配列（例えば、PRS）が挙げられる。インビトロでCPRSCをトロンビン処理すると、トロンビン感受性配列の切断が起こる一方、可逆的ジスルフィド結合がインタクトなまま残る。かかるリンカーは、公知であり、例えばChen et al., Adv. Drug Deliv. Rev. 65 (10) : 1357-1369, 2013に記載されている。融合物中のリンカーの切断は、宿主の特定の細胞若しくは組織又は宿主に常在する微生物における条件下においてインビボで発現するプロテアーゼでも行われ得る。一部の例では、標的部位又は細胞への到達時、リンカーが切断されると、遊離した機能性の調節薬剤が放出され得る。

【0394】

本明細書に記載される融合物は、或いは、疎水性リンカー、例えば負電荷スルホン酸基；脂質、例えばポリ（-CH₂-）炭化水素鎖、例えばポリエチレングリコール（PEG）基、その不飽和変種、そのアミド化された又は他にNを含有する変種、非炭素リンカー；炭水化物リンカー；リン酸ジエステルリンカー又はその他、2つ以上の分子、例えば2つの調節薬剤を共有結合的に連結する能力を有する分子を含めた連結分子によって連結され得る。ロイシン、イソロイシン、バリン又は場合によりアラニン、フェニルアラニン又は更にはチロシン、メチオニン、グリシン又は他の疎水性残基がリッチな一連の残基など、調節薬剤の疎水性領域又は調節薬剤の疎水性伸長部を例えば介して調節薬剤が連結される疎水性脂質小球など、非共有結合リンカーも使用し得る。調節薬剤は、調節薬剤の正電荷部分が別の調節薬剤又は追加的な部分の負電荷に連結されるなど、電荷に基づいた化学を用いて連結され得る。

【0395】

IV. 製剤及び組成物

本明細書に記載される組成物は、純粋な形態で製剤化されるか（例えば、組成物は調節薬剤のみを含む）、又は組成物の施用若しくは送達を促進するため1つ以上の追加的な薬

10

20

30

40

50

剤（賦形剤、送達媒体、担体、希釈剤、安定剤など）と共に製剤化され得る。好適な賦形剤及び希釈剤の例としては、限定はされないが、ラクトース、デキストロース、スクロース、ソルビトール、マンニトール、デンプン、アカシアゴム、リン酸カルシウム、アルギン酸塩、トラガカント、ゼラチン、ケイ酸カルシウム、微結晶性セルロース、ポリビニルピロリドン、セルロース、水、生理食塩水、シロップ、メチルセルロース、ヒドロキシ安息香酸メチル及びプロピル、タルク、ステアリン酸マグネシウム及び鉱油が挙げられる。

【0396】

一部の例では、本組成物は、送達媒体又は担体を含む。一部の例では、送達媒体は、賦形剤を含む。例示的賦形剤としては、限定はされないが、固体又は液体担体材料、溶媒、安定剤、徐放賦形剤、着色料及び界面活性物質（サーファクタント）が挙げられる。一部の例では、送達媒体は、安定化媒体である。一部の例では、安定化媒体は、安定化賦形剤を含む。例示的安定化賦形剤としては、限定はされないが、エポキシ化植物油、消泡剤、例えばシリコン油、保存剤、粘性調節剤、結合剤及び粘着付与剤が挙げられる。一部の例では、安定化媒体は、調節薬剤に好適な緩衝液である。一部の例では、本組成物は、ポリマービーズ送達媒体にマイクロカプセル化される。一部の例では、安定化媒体は、調節薬剤をUV及び／又は酸性条件から保護する。一部の例では、送達媒体は、pH緩衝液を含有する。一部の例では、本組成物は、例えば、5.0～約8.0、約6.5～約7.5又は約6.5～約7.0のいずれか1つのpH範囲を含め、約4.5～約9.0の範囲のpHを有するように製剤化される。

【0397】

意図される目的及び優勢な状況に応じて、本組成物は、乳化性濃縮物、懸濁濃縮物、直接噴霧可能又は希釈可能な溶液、塗布可能なペースト、希釈エマルジョン、噴霧粉末、可溶性粉末、分散性粉末、水和性粉末、ダスト、顆粒、ポリマー物質にカプセル化されたもの、マイクロカプセル、泡、エアロゾル、二酸化炭素ガス調製物、錠剤、樹脂調製物、紙調製物、不織布調製物又は編物若しくは織物調製物に製剤化され得る。一部の例では、本組成物は、液体である。一部の例では、本組成物は、固体である。一部の例では、本組成物は、加圧エアロゾル缶などに入ったエアロゾルである。一部の例では、本組成物は、病害虫の廃棄物（糞便など）に存在する。一部の例では、本組成物は、生きている病害虫の体内又は体上に存在する。

【0398】

一部の例では、送達媒体は、宿主の飼料又は水である。他の例では、送達媒体は、宿主の飼料供給源である。一部の例では、送達媒体は、宿主のベイト飼料である。一部の例では、本組成物は、宿主によって摂取される摂食可能な薬剤である。一部の例では、本組成物は、宿主によって第2の宿主に送達され、第2の宿主によって摂取される。一部の例では、本組成物は、宿主又は第2の宿主によって摂取され、本組成物は、宿主又は第2の宿主の廃棄物（糞便など）を介して宿主又は第2の宿主の周囲に放出される。一部の例では、調節薬剤は、宿主が摂取するか、又はそのコロニーに持ち帰ることが意図されるベイト飼料中に含まれる。

【0399】

一部の例では、送達媒体は、細菌ベクターである。Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1989に記載の通り、当該技術分野で公知の任意の好適なクローニング方法及び試薬を用いて、調節薬剤を細菌ベクターに組み込むことができる。本明細書で使用されるとき、「細菌ベクター」は、細菌細胞内部での複製を可能にすると共に、細胞間で遺伝子を輸送することができるあらゆる遺伝子エレメント、例えば、プラスミド、バクテリオファージベクター、トランスポゾン、コスミド、及び染色体を指す。例示的な細菌ベクターとしては、限定はされないが、λベクター系gt11、gtWES、tB、Charon 4、並びにプラスミドベクター、例えば、pBR322、pBR325、pACYC177、pACYC184、pUC8、pUC9、pUC

18、pUC19、pLG339、pR290、pKC37、pKCL01、SV 40、pBluescript IISK +/−若しくはKS +/−（"Stratagene Cloning Systems" Catalog, Stratagene, La Jolla, California, 1993を参照）、pQE、pIH821、pGEX、pETシリーズ（Studier et al., "Use of T7 RNA Polymerase to Direct Expression of Cloned Genes," Gene Expression Technology, Vol. 185, 1990を参照）、並びにそれらの任意の誘導体が挙げられる。

【0400】

各細菌ベクターは、1種以上の調節薬剤をコードし得る。一部の例では、細菌ベクターは、標的共生細菌又は宿主細菌に発現させようとするポリペプチドをコードする核酸分子を含む。一部の例では、細菌ベクターは、標的細菌に発現させようとするバクテリオシンをコードする核酸分子を含む。一部の例では、細菌ベクターは、更に、プロモータ、停止シグナル、並びに転写及び翻訳エレメントなどの1つ以上の調節エレメントを含む。一部の例では、調節配列は、標的共生細菌に発現させようとする遺伝子をコードする核酸（例えば、本明細書に記載される核酸のいずれか）と作動可能に連結される。

【0401】

一部の例では、宿主に摂食させようとする細菌又は宿主のコロニーのメンバーに細菌ベクターを導入する。一部の例では、細菌は、標的共生細菌である。一部の例では、細菌は、宿主の腸の天然の細菌、又は遺伝子改変されたその変異体であり、これらは、注入により宿主に容易に導入することができる。細菌ベクターを運ぶのに使用する例示的な細菌として、限定はされないが、シュードモナス属（*Pseudomonas*）を含むプロテオバクテリア門（*Proteobacteria*）；プロピオニバクテリウム属（*Propionibacterium*）及びコリネバクテリウム属（*Corynebacterium*）を含むアクチノバクテリア門；マイコプラズマ属（*Mycoplasma*）、バチルス属（*Bacillus*）、ストレプトコッカス属（*Streptococcus*）、スタフィロコッカス属（*Staphylococcus*）の任意の種を含むフィルミクテス門（*Firmicutes*）；フィプロバクテリア属（*Fibrobacteres*）；トレポネマ属（*Treponema*）及びボレリア属（*Borrelia*）を含むスピロヘータ門（*Spirochaetes*）；バクテロイデス属（*Bacteroides*）及びフラボバクテリウム属（*Flavobacterium*）を含むバクテロイデス門（*Bacteroides*）が挙げられる。更に、腸内細菌科（*Enterobacteriaceae*）の任意の細菌も好適であり、そうしたものとして、限定はされないが、*S. マルセッセンス*（*S. marcescens*）、*S. エントモフィラ*（*S. entomophila*）、*S. プロテアマクランス*（*S. proteamaculans*）を含むセラチア属（*Serratia*）；*E. クロアカ*（*E. cloacae*）、*E. アエロゲネス*（*E. aerogenes*）、*E. ディソルベンス*（*E. dissolvens*）、*E. アグロメラン*（*E. agglomerans*）、*E. ハフィアエ*（*E. hafii*）を含むエンテロバクテリア属（*Enterobacter*）の任意の種；並びに下記の属：シトロバクテリア属（*Citrobacter*）、エシェリキア属（*Escherichia*）、クレブシエラ属（*Klebsiella*）、クルイベラ属（*Kluyvera*）、パノテア属（*Panotaea*）、プロテウス属（*Proteus*）、サルモネラ属（*Salmonella*）、ゼノラブダス属（*Xenorhabdus*）、及びヨケネラ属（*Yokenella*）に属する任意の種が挙げられる。

【0402】

一部の例では、調節薬剤は、約0.01%～約100%、約1%～約99.9%、約0.1%～約10%、約1%～約25%、約10%～約50%、約50%～約99%、又は約0.1%～約90%のいずれか1つの活性成分（例えば、ポリペプチド、核酸、小分子、又はこれらの組合せ）など、組成物の約0.1%～約100%を占め得る。一部の例では、本組成物は、少なくとも0.1%、0.5%、1%、5%、10%、20%、30%

10

20

30

40

50

、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、又はそれを超えるもののいずれかの活性成分（例えば、ポリペプチド、核酸、小分子、又はこれらの組合せ）を含む。一部の例では、市販品として濃縮薬剤が好ましく、最終使用者は、通常、活性成分の濃度が実質的に低い希釈された薬剤を使用する。

【0403】

本明細書に記載される製剤のいずれも、ベイト、コイル、電気マット、燻煙製剤、燻蒸剤又はシートの形態で使用され得る。

【0404】

i. 液体製剤

本明細書に提供される組成物は、液体製剤であり得る。液体製剤は、概して水と混合されるが、一部の例では、担体としての作物油、ディーゼル燃料、灯油又は他の軽油と共に使用され得る。活性成分の量は、多くの場合に約0.5～約80重量パーセントの範囲である。

【0405】

乳化性濃縮製剤は、液体活性成分と、1つ以上の石油系溶媒と、製剤を水と混合してエマルションを形成することを可能にする薬剤とを含有し得る。かかる濃縮物は、農業、観賞植物及び芝生、林業、構造物、食品加工、家畜及び公衆衛生のための農薬製剤中に使用され得る。これは、小型の可搬式散布器から油圧散布器、少量地上散布器、ミストブロワ及び少量空中散布器に至る施用機器と適合性があり得る。一部の活性成分は、液体担体に易溶解性である。活性成分は、担体と混合すると、沈降又は分離しない溶液、例えば均一溶液を形成する。この種の製剤は、活性成分と、担体と、1つ以上の他の成分とを含み得る。溶液は、屋内及び屋外においていかなる種類の散布器でも使用され得る。

【0406】

一部の例では、本組成物は、逆エマルションとして製剤化され得る。逆エマルションは、水溶性活性成分が油担体中に分散したものである。逆エマルションは、活性成分を多量の石油系担体、通常、燃料油と混合可能にする乳化剤が必要である。逆エマルションは、ドリフトの低減に役立つ。他の製剤では、水滴が目標表面に達する前に蒸発し始めると、結果として極めて小さく軽い液滴となり、何らかの散布ドリフトが起こる。油は、水よりも蒸発が遅いため、逆エマルションの液滴は、縮小が小さく、より多くの活性成分が標的に到達する。油は、更に流亡を低減し、耐降雨性を向上させることを促進する。油は、更に表面被覆及び吸収の向上により粘着剤－展着剤としての役割を果たす。液滴は、比較的大きく重いため、葉の裏面への被覆を通じて染み込ませることは難しい。逆エマルションは、影響を受け易い標的外の場所へのドリフトが問題となり得る沿道で最も一般的に用いられる。

【0407】

流動性体又は液体製剤は、乳化性濃縮物及び水和性粉末の特徴の多くを合わせ持つ。製造者は、活性成分が水にも油にも溶解しない固体である場合にこれらの製剤を使用する。粘土などの物質に含浸させた活性成分を粉碎して微細粉末にする。次に、この粉末を少量の液体に懸濁する。得られる液体産物は、かなり濃厚である。流動性体及び液体は、乳化性濃縮物の特徴の多くを共有し、これらは、同様の欠点を有する。これらは、懸濁液中に保つのに適度の攪拌が必要であり、水和性粉末と同様に目に見える残渣が残る。

【0408】

流動性体／液体は、取り扱い及び散布が容易である。これらは、液体であるため、こぼれたり、跳ね返ったりしがちである。これらは、固体粒子を含有し、そのため、ノズル及びポンプの摩損の一因となる。流動性体及び液体懸濁物は、その容器内で沈降する。流動性体及び液体製剤は、沈降する傾向があるため、5ガロン以下の容器に詰めると混合し直し易くなる。

【0409】

エアロゾル製剤は、1つ以上の活性成分と溶媒とを含有する。ほとんどのエアロゾルが低率の活性成分を含有する。2つのタイプのエアロゾル製剤－加圧密閉容器に入って市販

10

20

30

40

50

されている即時使用型と、製剤を煙又は霧として放出する電動式又はガソリン動力式エアロゾル発生器で使用される製品とがある。

【0410】

即時使用型エアロゾル製剤は、通常、ノズル弁の作動時に製剤を放出する小さい内蔵型ユニットである。圧力下の不活性ガスによって製剤が微細な開口部に押し通され、微細液滴を作り出す。こうした製品は、温室、建物内の狭い場所又は局所的な屋外場所に使用される。5～5ポンドの活性成分を保持する市販のモデルは、通常、詰め替え可能である。

【0411】

煙又は霧エアロゾル製剤は、圧力下でない。これは、急激に回転するディスク又は加熱された表面を使用して液体製剤を微細なミスト又は霧（エアロゾル）に細かくする機械で

10

【0412】

i i . 乾燥又は固体製剤

乾燥製剤は、2つのタイプ：即時使用型及び散布剤として施用するために水と混合しなければならない濃縮物に分けることができる。ほとんどのダスト製剤は、即時使用型であり、低率の活性成分（約10重量パーセント未満）と、加えてタルク、チョーク、粘土、堅果の殻又は火山灰で作られた超微細な乾燥不活性担体とを含有する。個々のダスト粒子のサイズは、様々である。少数のダスト製剤は、濃縮物であり、高率の活性成分を含有する。これらを施用前に乾燥不活性担体と混合する。ダストは、常に乾燥して使用され、標的外の部位にドリフトし易い。

20

【0413】

i i i . 顆粒又はペレット製剤

一部の例では、本組成物は、顆粒として製剤化される。顆粒状製剤は、ダスト製剤と同様であり、但し顆粒状粒子の方が大きくて重い。粗粒子は、粘土、トウモロコシの穂軸又はクルミ殻などの材料から作られ得る。活性成分は、顆粒の外面を被覆するか、又はその中に吸収されるかのいずれかである。活性成分の量は、比較的少ないことができ、通常、約0.5～約15重量パーセントの範囲である。顆粒状製剤は、ほとんどの場合、土壌、土壌中で生活する昆虫、軟体動物、又は線虫への施用に使用されるか、又は根から植物中に吸収される。顆粒状製剤は、時に、ドリフトを最小限に抑えるか、又は高密度の植生に浸透させるため、飛行機又はヘリコプターによって施用される。施用後、顆粒は、活性成分を徐々に放出し得る。一部の顆粒は、活性成分の放出に土壌水分を必要とする。顆粒状製剤は、幼虫の力及び他の水生病害虫の防除にも使用される。顆粒は、農業、構造物、鑑賞植物、芝生、水生、道路用地及び公衆衛生（刺咬昆虫）のための病害虫防除活動において使用される。

30

【0414】

一部の例では、本組成物は、ペレットとして製剤化される。ほとんどのペレット製剤が顆粒状製剤と極めて良く類似しており、これらの用語は、同義的に使用される。しかしながら、ペレット製剤では、全ての粒子が同じ重量及び形状である。粒子が均一であるため、精密な施用機器で使うことが可能である。

【0415】

i v . 粉末

一部の例では、本組成物は、粉末として製剤化される。一部の例では、本組成物は、水和性粉末として製剤化される。水和性粉末は、ダストに類似した微粉碎された乾燥製剤である。これは、通常、散布剤として施用するため、水と混合しなければならない。しかしながら、少数の製品は、ダストとしても、又は水和性粉末としても施用し得る。その選択は、施用者次第である。水和性粉末は、活性成分を約1～約95重量パーセント；場合により約50パーセント超有する。粒子は、水に溶解しない。粒子は、絶えず攪拌して懸濁しない限り直ちに沈降する。粒子は、ほとんどの病害虫問題及び攪拌が可能なほとんどのタイプの散布機器で使うことができる。水和性粉末は、優れた残効性を有する。その物理的特性を理由として、大部分の製剤は、加工された多孔質材料、例えばコンクリー

40

50

ト、石膏及び未加工木材などの表面上に留まる。そのような場合、水のみが材料に浸透する。

【0416】

一部の例では、本組成物は、可溶性粉末として製剤化される。可溶性粉末製剤は、水和性粉末と類似している。しかしながら、可溶性粉末は、水と混合すると容易に溶解し、真溶液を形成する。完全に混合した後に更なる攪拌は必要ない。可溶性粉末中の活性成分の量は、約15～約95重量パーセントの範囲であり；場合により約50パーセント超である。可溶性粉末は、水和性粉末のあらゆる利点を有し、且つ混合中に吸入の危険性があることを除き、不利な点が1つもない。

【0417】

一部の例では、本組成物は、水分散性顆粒として製剤化される。乾燥流動性体としても知られる水分散性顆粒は、代わりにダスト様であることを除いて水和性粉末に類似しており、計量が容易な小さい顆粒として製剤化される。水分散性顆粒は、施用するには水と混合しなければならない。水中に入ると、顆粒は、水和性粉末と同様に粉々に崩れて微細粒子になる。製剤を水中に懸濁しておくには絶えず攪拌する必要がある。活性成分の割合は、高く、往々にして90重量パーセントにも上る。水分散性顆粒は、計量及び混合がより容易であることを除き、水和性粉末と同じ利点及び不利点の多くを共有する。粉立ちが少ないため、これは、取り扱い時に施用者に吸入危害を引き起こしにくい。

【0418】

v. ベイト

一部の例では、本組成物は、ベイトを含む。ベイトは、固体、ペースト、ペレット又は粉末状形態など、任意の好適な形態であり得る。ベイトは、宿主によって運び去られ、前記宿主の個体群（例えば、コロニー又は巣箱）に持ち帰られることもある。ベイトは、次にコロニーの他のメンバーの飼料供給源としての役割を果たすことができ、従って多数の宿主、潜在的に宿主のコロニー全体に有効な調節薬剤を付与し得る。

【0419】

ベイトは、好適な「ハウジング」又は「トラップ」に提供することができる。かかるハウジング及びトラップは、市販されており、本明細書に記載される組成物を含むように既存のトラップを適合させることができる。ハウジング又はトラップは、例えば、箱形であり得るか、予め形成された状態で提供され得るか、又は例えば折り畳み可能なボール紙で形成され得る。ハウジング又はトラップに好適な材料としては、プラスチック及びボール紙、特に段ボール紙が挙げられる。トラップの内表面は、トラップ内に入った後の宿主の移動を制限するため粘着性物質で裏打ちされ得る。ハウジング又はトラップは、ベイトをその内部に入れて適所に保つことができる好適な陥凹部を含むことができる。宿主は、侵入後にトラップを容易に離れることができない一方、ハウジングは、「餌場」として役割を果たし、そこで宿主が摂餌し、捕食者の恐れなしに安心できる好ましい環境を宿主に提供するため、トラップは、ハウジングと区別される。

【0420】

vi. 誘引剤

一部の例では、本組成物は、誘引剤（例えば、化学誘引剤）を含む。誘引剤は、組成物の近傍に成虫宿主又は幼若宿主（例えば、幼虫）を誘引し得る。誘引剤としては、動物、特に宿主（例えば、昆虫、軟体動物、又は線虫）によって分泌される、同じ種の他の動物の行動又は発育に影響を及ぼす化学物質であるフェロモン類が挙げられる。他の誘引剤としては、糖及びタンパク質加水分解物のシロップ、酵母及び腐りかけの肉が挙げられる。誘引剤は、活性成分と組み合わせられ、茎葉又は処理範囲にある他の物品にも噴霧され得る。

【0421】

宿主の行動、例えば宿主の餌探し、産卵又は交配場所又は交配相手に影響を及ぼす様々な誘引剤が公知である。本明細書に記載される方法及び組成物において有用な誘引剤としては、例えば、オイゲノール、プロピオン酸フェネチル、ジメチルイソブチルシクロプロパンカルボン酸エチル、ベンゾジオキサンカルボン酸プロピル、cis-7,8-エポキ

10

20

30

40

50

シー２－メチルオクタデカン、trans-8, trans-0－ドデカジエノール、cis-9－テトラデセナール（加えてcis-11－ヘキサデセナール）、trans-11－テトラデセナール、cis-11－ヘキサデセナール、(Z)-11, 12－ヘキサデカジエナール、酢酸cis-7－ドデセニル、酢酸cis-8－ドデセニル、酢酸cis-9－ドデセニル、酢酸cis-9－テトラデセニル、酢酸cis-11－テトラデセニル、酢酸trans-11－テトラデセニル（加えてcis-11）、酢酸cis-9, trans-11－テトラデカジエニル（加えてcis-9, trans-12）、酢酸cis-9, trans-12－テトラデカジエニル、酢酸cis-7, cis-11－ヘキサデカジエニル（加えてcis-7, trans-11）、酢酸cis-3, cis-13－オクタデカジエニル、酢酸trans-3, cis-13－オクタデカジエニル、アネトール及びサリチル酸イソアミルが挙げられる。

10

【0422】

様々な波長又は色の光を含め、化学誘引剤以外の手段も宿主（例えば、昆虫、軟体動物、又は線虫）の誘引に使用され得る。

【0423】

vii. ナノカプセル／マイクロカプセル化／リポソーム

一部の例では、本組成物は、マイクロカプセル化製剤で提供される。マイクロカプセル化製剤は、水と混合され、他の噴霧可能製剤と同じように噴霧される。噴霧後、プラスチックコーティングが破れ、活性成分が徐々に放出される。

【0424】

20

viii. 担体

本明細書に記載される組成物のいずれも、本明細書に記載される調節薬剤と不活性担体とを含むように製剤化され得る。かかる担体は、固体担体、液体担体、ゲル担体及び／又はガス担体であり得る。特定の例では、担体は、種子コーティングであり得る。種子コーティングは、種子の表面に全面的に又は部分的に付着する任意の天然に存在しない製剤である。製剤は、アジュバント又は界面活性剤を更に含み得る。製剤は、作用域を拡大するために1つ以上の調節薬剤も含み得る。

【0425】

製剤に使用される固体担体としては、粘土（例えば、カオリン粘土、珪藻土、ベントナイト、フバサミ（Fubasami）粘土、酸性粘土等）、合成酸化ケイ素水和物、タルク、セラミック、他の無機ミネラル（例えば、セリサイト、石英、硫黄、活性炭、炭酸カルシウム、水和シリカ等）、昇華させることができる室温で固形の物質（例えば、2, 4, 6－トリイソプロピル－1, 3, 5－トリオキサン、ナフタレン、p－ジクロロベンゼン、樟腦、アダマンタン等）；羊毛；絹；綿；麻；パルプ；合成樹脂（例えば、低密度ポリエチレン、直鎖低密度ポリエチレン及び高密度ポリエチレンなどのポリエチレン樹脂；エチレン－酢酸ビニル共重合体などのエチレン－ビニルエステル共重合体；エチレン－メタクリル酸メチル共重合体及びエチレン－メタクリル酸エチル共重合体などのエチレン－メタクリル酸エステル共重合体；エチレン－アクリル酸メチル共重合体及びエチレン－アクリル酸エチル共重合体などのエチレン－アクリル酸エステル共重合体；エチレン－アクリル酸共重合体などのエチレン－ビニルカルボン酸共重合体；エチレン－テトラシクロドデセン共重合体；プロピレンホモポリマー及びプロピレン－エチレン共重合体などのポリプロピレン樹脂；ポリ－4－メチルペンテン－1、ポリブテン－1、ポリブタジエン、ポリスチレン；アクリロニトリル－スチレン樹脂；アクリロニトリル－ブタジエン－スチレン樹脂、スチレン－共役ジエンブロック共重合体及びスチレン－共役ジエンブロック共重合体水素化物などのスチレン系エラストマー；フッ素樹脂；ポリ（メタクリル酸メチル）などのアクリル樹脂；ナイロン6及びナイロン66などのポリアミド樹脂；ポリエチレンテレフタレート、ポリエチレンナフタレート、ポリブチレンテレフタレート及びポリシクロヘキシレンジメチレンテレフタレートなどのポリエステル樹脂；ポリカーボネート類、ポリアセタール類、ポリアリールスルホン類、ポリアリレート類、ヒドロキシ安息香酸ポリエステル類、ポリエーテルイミド類、炭酸ポリエステル類、ポリフェニレンエーテル樹

30

40

50

脂、ポリ塩化ビニル、ポリ塩化ビニリデン、ポリウレタン及び多孔質樹脂、例えば発泡ポリウレタン、発泡ポリプロピレン又は発泡エチレン等）、ガラス、金属、セラミック、繊維、布、編物、シート、紙、糸、泡、多孔性物質及びマルチフィラメントの微細粉末又は顆粒が挙げられる。

【0426】

液体担体としては、例えば、芳香族又は脂肪族炭化水素（例えば、キシレン、トルエン、アルキルナフタレン、フェニルキシリルエタン、ケロシン、ガス油、ヘキサン、シクロヘキサン等）、ハロゲン化炭化水素（例えば、クロロベンゼン、ジクロロメタン、ジクロロエタン、トリクロロエタン等）、アルコール類（例えば、メタノール、エタノール、イソプロピルアルコール、ブタノール、ヘキサノール、ベンジルアルコール、エチレングリコール等）、エーテル類（例えば、ジエチルエーテル、エチレングリコールジメチルエーテル、ジエチレングリコールモノメチルエーテル、ジエチレングリコールモノエチルエーテル、プロピレングリコールモノメチルエーテル、テトラヒドロフラン、ジオキサン等）、エステル類（例えば、酢酸エチル、酢酸ブチル等）、ケトン類（例えば、アセトン、メチルエチルケトン、メチルイソブチルケトン、シクロヘキサノン等）、ニトリル類（例えば、アセトニトリル、イソブチロニトリル等）、スルホキシド類（例えば、ジメチルスルホキシド等）、アミド類（例えば、N，N-ジメチルホルムアミド、N，N-ジメチルアセトアミド、環状イミド類（例えば、N-メチルピロリドン）、炭酸アルキリデン類（例えば、炭酸プロピレン等）、植物油（例えば、ダイズ油、綿実油等）、植物性揮発油（例えば、オレンジ油、ヒソップ油、レモン油等）又は水を挙げることができる。

【0427】

ガス担体としては、例えば、ブタンガス、フロンガス、液化石油ガス（LPG）、ジメチルエーテル及び炭酸ガスを挙げることができる。

【0428】

i x . アジュバント

一部の例では、本明細書に提供される組成物は、アジュバントを含み得る。アジュバントは、活性を有しない化学物質である。アジュバントは、混合又は施用の向上のため、又はパフォーマンスの増強のため、製剤中に予め混合されるか又は噴霧タンクに加えられるかのいずれかである。アジュバントは、葉面施用向けに設計された製品に広く使用されている。アジュバントを使用すると、製剤を具体的な必要性に合わせてカスタマイズし、局所的条件を補うことができる。アジュバントは、濡れ、展着、粘着、蒸発の低減、揮発の低減、緩衝、乳化、分散、散布ドリフトの低減及び起泡の低減を含め、特定の機能を果たすように設計され得る。単一のアジュバントがこれらの全ての機能を果たすことはできず、多くの場合、適合性のあるアジュバントが組み合わせられて複数の機能を同時に果たし得る。

【0429】

製剤中に含まれるアジュバントの非限定的な例の中には、結合剤、分散剤及び安定剤、具体的には例えばカゼイン、ゼラチン、多糖類（例えば、デンプン、アラビアゴム、セルロース誘導体、アルギン酸等）、リグニン誘導体、ベントナイト、糖類、合成水溶性ポリマー（例えば、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリアクリル酸等）、PAP（酸性リン酸イソプロピル）、BHT（2，6-ジ-tert-ブチル-4-メチルフェノール）、BHA（2-tert-ブチル-4-メトキシフェノールと3-tert-ブチル-4-メトキシフェノールとの混合物）、植物油、鉱油、脂肪酸及び脂肪酸エステルがある。

【0430】

x . 界面活性剤

一部の例では、本明細書に提供される組成物は、界面活性剤を含む。界面活性剤は、濡れ剤及び展着剤とも称され、噴霧液滴の表面張力を物理的に変化させる。製剤がその機能を正しく果たすには、噴霧液滴が茎葉を濡らし、葉の全面にわたって均一に広がるのが可能でなければならない。界面活性剤は、製剤被覆面積を拡大し、それにより病害虫の化学物質への曝露を増加させる。界面活性剤は、製剤を蠟質の葉又は有毛の葉に施用すると

きに特に重要である。適切な濡れ性及び展着性がないと、往々にして噴霧液滴が流亡するか、又は葉の表面を十分に被覆することができない。しかしながら、界面活性剤が多過ぎると過剰な流亡が引き起こされ、有効性が低下し得る。

【0431】

界面活性剤は、イオンと呼ばれる電荷を帯びた原子又は分子へのそのイオン化の方法又は分離の方法によって分類される。負電荷の界面活性剤は、アニオン性である。正電荷のものは、カチオン性であり、及び電荷を帯びていないものは、非イオン性である。非イオン性界面活性剤の存在下における製剤活性は、カチオン性又はアニオン性界面活性剤の存在下における活性と全く異なり得る。誤った界面活性剤を選択すると、農薬製品の有効性が低下し、標的植物が傷害を受け得る。アニオン性界面活性剤は、接触性農薬（吸収されて全体に行き渡るのでなく、直接的な接触によって病害虫を防除する農薬）との使用時に最も有効である。カチオン性界面活性剤は、通常、植物毒性であるため、決して単独の界面活性剤として使用してはならない。

【0432】

非イオン性界面活性剤は、浸透性農薬と使用されることが多く、噴霧農薬が植物クチクラに浸透することを促進する。非イオン性界面活性剤は、ほとんどの農薬と適合性があり、界面活性剤が必要なEPA登録農薬のほとんどが非イオン性タイプを推奨している。アジュバントとしては、限定はされないが、粘着剤、増量剤、植物浸透剤、適合性薬剤、緩衝液又はpH調整剤、ドリフト制御添加剤、消泡剤及び増粘剤が挙げられる。

【0433】

本明細書に記載される組成物に含まれる界面活性剤の非限定的な例の中には、アルキル硫酸エステル塩、スルホン酸アルキル類、スルホン酸アルキルアリール、アルキルアリエーテル類及びそのポリオキシエチレン化生成物、ポリエチレングリコールエーテル類、多価アルコールエステル類及び糖アルコール誘導体がある。

【0434】

x i . 併用

製剤において及びこれらの製剤から調製される使用形態において、調節薬剤は、農薬用薬剤（例えば、殺虫剤、滅菌剤、殺ダニ剤、殺線虫剤、軟体動物駆除剤又は殺真菌剤；例えば、表11に挙げる農薬）、誘引剤、成長調整物質又は除草剤など、他の活性化化合物との混合物であり得る。本明細書で使用されるとき、用語「農薬用薬剤」は、任意の病害虫を予防、駆逐、忌避又は軽減することを意図した任意の物質又は物質の混合物を指す。農薬は、食物に関してヒトと競合するか、所有物を破壊するか、疾患を蔓延させるか、又は不快害虫である昆虫、軟体動物、病原体、雑草、線虫及び微生物を含め、病害虫に対して使用される化学的物質又は生物学的薬剤であり得る。用語「農薬用薬剤」は、抗生物質、抗ウイルス薬、農薬、抗真菌薬、駆虫薬、栄養素、花粉、ショ糖及び／又は昆虫の動きを止める又は遅くする薬剤など、他の生物活性分子を更に包含し得る。

【0435】

調節薬剤が植物に施用される例では、除草剤、肥料、成長調節物質、毒性緩和剤、情報化学物質などの他の公知の化合物との、或いは植物特性を改善するための薬剤との混合物も可能である。

【0436】

V . 送達

本明細書に記載される宿主は、宿主無脊椎動物（例えば、昆虫、軟体動物、又は線虫）への組成物の送達又は投与を可能にする任意の好適な方法において、本明細書に記載される組成物のいずれかに曝露され得る。調節薬剤は、単独で送達され得るか、或いは他の活性又は不活性物質と組み合わせて送達され得、有効濃度の調節薬剤を送達するように製剤化された濃縮液、ゲル、溶液、懸濁液、散布液、粉末、ペレット、ブリケット、ブリックなどの形態で例えば噴霧、マイクロインジェクション、植物経由、注入、浸漬によって施用され得る。本明細書に記載される組成物の施用量及び施用部位は、概して、宿主の習性、宿主の微生物が調節薬剤の標的となり得るのがいずれの生活環ステージであるか、施用

10

20

30

40

50

が行われる部位並びに調節薬剤の物理的及び機能的特性によって決まる。本明細書に記載される調節薬剤は、宿主無脊椎動物（例えば、昆虫、軟体動物、又は線虫）に経口摂取によって投与され得るが、クチクラを通じた浸透又は宿主（例えば、昆虫、軟体動物、又は線虫）の呼吸器系への浸透を可能にする手段によっても投与され得る。

【0437】

一部の例では、無脊椎動物宿主（例えば、昆虫、軟体動物、又は線虫）は、単純に調節薬剤を含む溶液に「浸漬」されるか、又はそれが「噴霧」され得る。或いは、調節薬剤を無脊椎動物宿主（例えば、昆虫、軟体動物、又は線虫）の飼料成分（例えば、摂食可能物）に連結して送達を容易にし、及び／又は宿主による調節薬剤の取込みを増加させ得る。経口導入方法には、例えば、調節薬剤を宿主の飼料と直接混合すること、宿主の生息場所又は活動場所に調節薬剤を噴霧すること、並びに飼料として使用される種が調節薬剤を発現するように改変され、次に影響を与えようとする宿主に給餌されるエンジニアリング手法が含まれる。一部の例では、例えば、調節薬剤組成物は、宿主の食餌中に配合するか又は食餌の上にかけることができる。例えば、調節薬剤組成物は、宿主が生息する作物畑の上に噴霧することができる。

【0438】

一部の例では、本組成物は、例えば、背負式散布、空中散布、作物散布／散粉等により、植物、例えば作物の上に直接噴霧される。調節薬剤が植物に送達される例では、調節薬剤を受け取る植物は、いずれの植物成長段階にもあり得る。例えば、製剤化された調節薬剤は、植物成長初期に種子コーティング又は経根処理として、又は作物サイクル後期に植物全体の処理として施用することができる。一部の例では、調節薬剤は、局所薬剤として植物に施用され得、宿主無脊椎動物（例えば、昆虫、軟体動物、又は線虫）がその植物を食べるか、又は他にその植物との相互作用時に植物と接触することになる。

【0439】

更に、調節薬剤は、植物又は動物宿主の組織を通じて吸収され、分布する浸透性薬剤として（例えば、植物が成長する土壤中又は植物の水やりに使用される水中に）施用され得、それを餌にする宿主無脊椎動物（例えば、昆虫、軟体動物、又は線虫）が有効用量の調節薬剤を得ることになる。一部の例では、植物又は飼料生物は、調節薬剤を発現するように遺伝的に形質転換され得、その植物又は飼料生物を餌にする宿主が調節薬剤を食べることになる。

【0440】

遅延放出又は継続的放出も、調節薬剤又は1つ以上の調節薬剤を有する組成物をゼラチンなどの溶解性又は生体内分解性コーティング層で被覆することにより、このコーティングが使用環境内で溶解又は分解し、次に調節薬剤が利用可能になることで達成でき、又は薬剤を溶解性又は分解性マトリックス中に分散させることにより達成できる。このような継続的放出及び／又は分注手段装置が有利に用いられることにより、本明細書に記載される調節薬剤の1つ以上の有効濃度が特定の宿主生息場所において常に維持され得る。

【0441】

或いは、調節薬剤を細菌又は真菌細胞において発現させて、細菌又は真菌細胞を宿主無脊椎動物（例えば、昆虫、軟体動物、若しくは線虫）種に取り込むか、又は摂食させる。細菌又は真菌細胞は、本明細書に記載の調節薬剤のいずれかを産生するように操作することができる。他の例では、宿主無脊椎動物（例えば、昆虫、軟体動物、若しくは線虫）に特異的に感染するバキュロウイルスなどのウイルスを使用してもよい。ウイルスは哺乳動物には感染しないことから、これは、哺乳動物、特にヒト及び動物に対しての安全性を確実にする。

【0442】

調節薬剤は、宿主無脊椎動物（例えば、昆虫、軟体動物、若しくは線虫）が成長、生活、繁殖、摂餌又は寄生する媒体に配合することもできる。例えば、調節薬剤は、飼料容器、餌場、保護用ラッピング材又は巣箱に配合することができる。いくつかの適用の場合、調節薬剤は、粉末形態での適用、又は「トラップ」若しくは「餌場」への適用のための固

体支持体に結合してもよい。例として、組成物が特定の宿主無脊椎動物（例えば、昆虫、軟体動物、若しくは線虫）のためのトラップにおいて又はベイトとして使用される適用の場合にも、組成物を固体支持体に結合するか、又は時限放出材料に封入してもよい。例えば、本明細書に記載される組成物は、農業病害虫（例えば、アブラムシ）が成長、生活、繁殖又は摂餌する少なくとも1つの生息場所に組成物を送達することにより投与され得る。

【0443】

i. 操作植物

用語「遺伝子操作植物」又は「トランスジェニック植物」は、調節薬剤を発現する植物細胞又は植物を指す。トランスジェニック植物はまた、こうしたトランスジェニック植物の任意の世代の子孫（後代、オフスプリングなど）又はこうしたトランスジェニック植物全ての任意の世代の種子を含むことも意味し、ここで、前記子孫又は種子は、調節薬剤を含む。

【0444】

当業者は、極めて多様な形質転換技術が当該技術分野に存在し、新規の技術が絶えず利用可能になっていることを認識されよう。標的宿主植物に好適な任意の技術を使用することができる。例えば、構築物は、限定はされないが、DNAの鎖として、プラスミド中、又は人工染色体中を含む様々な形態で導入することができる。標的植物細胞への構築物の導入は、様々な技術により達成することができ、そうしたものとして、限定はされないが、異種核酸のアグロバクテリウム (*Agrobacterium*) 媒介性形質転換、エレクトロポレーション、マイクロインジェクション、パーティクル・ガンカルシウムーリン酸-DNA同時沈降又はリポソーム媒介性形質転換が挙げられる。植物の形質転換は、好ましくは永続的であり、即ち、宿主植物ゲノムへの導入発現構築物の組込みによって行われ、これにより、導入された構築物は、連続した植物世代に継代される。

【0445】

任意の植物種を形質転換して、トランスジェニック植物を作出することができる。トランスジェニック植物は、双子葉植物又は単子葉植物であり得る。例えば、限定はされないが、本明細書に記載される組成物及び方法のトランスジェニック植物は、下記の双子葉植物科：エンドウ、アルファルファ及びダイズなどの植物を含むマメ科 (*Leguminosae*)；ニンジン及びセロリーなどの植物を含むセリ科 (*Umbelliferae*)；トマト、ジャガイモ、ナス、タバコ、及びコショウなどの植物を含むナス科 (*Solanaceae*)；ナタネ、ビート、キャベツ、カリフラワー及びブロッコリーなどの植物を含むアブラナ科 (*Cruciferae*)、特に、アブラナ属 (*Brassica*)；並びにシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*)；レタスなどの植物を含むキク科 (*Compositae*)；ワタを含むアオイ科 (*Malvaceae*)；ピーナッツなどの植物を含むマメ科 (*Fabaceae*) のいずれかに由来するものであってよい。本発明のトランスジェニック植物は、例えば、コムギ、オオムギ、モロコシ、キビ、ライムギ、ライコムギ、トウモロコシ、コメ、オーツムギ、スイッチグラス、ススキ、及びサトウキビなどの単子葉植物に由来するものであってよい。本発明のトランスジェニック植物はまた、例えば、リンゴ、ナシ、マルメロ、セイヨウモモ、サクランボ、モモ、ネクタリン、アンズ、パパイヤ、マンゴーなどの樹木、及びポプラ、マツ、セコイア、シダー、オーク、ヤナギなどの針葉樹及び落葉樹を含む他の木本種としても実現される。

【0446】

目的の植物での発現を駆動することができる任意のプロモータを使用することができる。プロモータは、植物宿主に対してネイティブ又は類似又は外来又は異種のいずれであってもよい。含有させようとするプロモータの選択は、限定はされないが、効率、選択性、誘導性、所望の発現レベル、及び細胞又は組織優先発現を含むいくつかの要因に左右される。配列の発現を、当該配列に関してプロモータ及び他の調節領域を適切に選択及び配置することにより調節することは、当業者には常用の作業である。

【0447】

10

20

30

40

50

葉及び茎などの緑色組織での転写を駆動するために、光合成組織において活性のプロモータが、特に興味深い。最も好適なのは、こうした組織のみで、又は主にこうした組織において発現を駆動するプロモータである。プロモータは、植物全体を通して、又は緑色組織に関して別様に、又は発現が起こる緑色組織の発生段階に関して別様に、又は外部刺激に応答して、発現を構成的に付与し得る。

【0448】

こうしたプロモータの例として、イースタンラーチ（カラマツ (*Larix laricina*) 由来のRbcSプロモータなどのリブローズ-1, 5-ビスリン酸カルボキシラーゼ (RbcS) プロモータ、マツcab6プロモータ (Yamamoto et al., Plant Cell Physiol. 35:773-778, 1994)、コムギ由来のCab-1遺伝子プロモータ (Fejes et al., Plant Mol. Biol. 15:921-932, 1990)、ハウレンソウ由来のCAB-1プロモータ (Lubberstedt et al., Plant Physiol. 104:997-1006, 1994)、コメ由来のcab1 Rプロモータ (Luan et al., Plant Cell 4:971-981, 1992)、トウモロコシ由来のビルビン酸オルトリン酸ジキナーゼ (PPDK) プロモータ (Matsuoka et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:9586-9590, 1993)、タバコLhcb1*2プロモータ (Cerdan et al. (1997) Plant Mol. Biol. 33:245-255)、シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) SUC2ショ糖H⁺共輸送体プロモータ (Truernit et al. Planta 196:564-570, 1995)、及びハウレンソウ由来のチラコイド膜タンパク質プロモータ (psaD、psaF、psaE、PC、FNR、atpC、atpD、cab、rbcSが挙げられる。茎、葉及び緑色組織において転写を駆動する他のプロモータは、米国特許出願公開第2007/0006346号明細書に記載されている。TrpAプロモータは、髄 (pith) 優先型プロモータであり、米国特許第6,018,104号明細書に記載されている。

【0449】

ホスホエノールカルボキシラーゼ (PEPC) をコードするトウモロコシ遺伝子は、Hudspeth et al. (Plant Molec. Biol. 12:579-589, 1989) により記載されている。標準的分子生物学的技術を用いて、この遺伝子用のプロモータを用いて、トランスジェニック植物において緑色組織特異的様式で任意の遺伝子の発現を駆動することができる。

【0450】

一部の他の例では、誘導性プロモータが要望され得る。誘導性プロモータは、化学物質又は環境刺激などの外部刺激に応答して転写を駆動する。例えば、誘導性プロモータは、ジベレリン酸若しくはエチレンなどのホルモンに応答して、又は光若しくは干ばつに応答して、転写を付与することができる。

【0451】

VI. スクリーニング

本明細書に記載される調節薬剤のいずれも、スクリーニングアッセイから分離することができ、ここで、調節薬剤のライブラリー（例えば、出発調節薬剤の変異体の混合物）を宿主（例えば、昆虫／軟体動物／線虫）の微生物叢を改変し、且つそれにより宿主適応度を調節する（例えば、増加又は低下させる）のに有効な調節薬剤（例えば、調節薬剤変異体）についてスクリーニングする。

【0452】

例えば、本明細書に提供されるスクリーニングアッセイは、宿主に常在する共生微生物を標的とし、且つそれにより宿主の適応度を低下させる1つ以上の調節薬剤（例えば、ポリペプチド、核酸、小分子、又はこれらの組合せ）を同定するのに有効であり得る。例えば、同定された調節薬剤（例えばポリペプチド、核酸、小分子、又はこれらの組合せ）は、農薬分解性又はアレロケミカル分解性微生物（例えば、細菌、例えば表11に挙げる農

薬を分解する細菌)の生存能を低下させ、それにより宿主の農薬に対する感受性(例えば、表11に挙げる農薬に対する感受性)又はアレロケミカル薬剤に対する感受性を増加させるのに有効であり得る。

【0453】

或いは、スクリーニングアッセイを用いて、宿主(例えば、昆虫、軟体動物、又は線虫)の適応度を増加させるのに有効な調節薬剤を同定することができる。例えば、スクリーニングアッセイを用いて、特定の微生物及び／又は特定の宿主を標的とする1つ以上の調節薬剤を同定することができる。更に、スクリーニングアッセイを用いて、増強された機能性を1種以上の微生物に賦与する調節薬剤を同定することができる。例えば、スクリーニングアッセイは、農薬(例えば、殺虫剤、例えば、ネオニコチノイド)又は植物アレロケミカル(例えば、カフェイン、ダイズシスタチン、フェニトロチオン、モノテルペン、ジテルペン酸、又はフェノール化合物(例えば、タンニン、フラボノイド))を代謝(例えば、分解)する増強された能力を1種以上の微生物に賦与する調節薬剤を分離するのに有効であり得る。単離された微生物の宿主への送達及びコロニー形成によって農薬又は植物アレロケミカルに対する宿主の抵抗性を高め、それにより、宿主適応度を増加させることができる。本方法はまた、本明細書に記載される宿主のいずれかにコロニー形成する増強された能力を微生物に賦与する調節薬剤の分離にも有用であり得る。

【0454】

10

20

30

40

50

【表 1 0 5】

表 11. 農薬

アクロニフェン	フェンクロラゾールエチル	ベンディメタリン
アセタミプリド	フェノチオカルブ	ベンフルフェン
アラニカルブ	フェニトロチオン	ベンフルフェン
アミドスルフロン	フェンプロビジン	ペンタクロロベンゼン
アミノシクロピラクロル	フルアゾラート	ペンチオピラド
アミスルブロム	フルフェノクスロン	ペンチオピラド
アントラキノン	フルメトラリン	ピリミホスメチル
アスラム、ナトリウム塩	フルキサピロキサド	ブラレトリン
ベンフラカルブ	フベリダゾール	プロフェノホス
ベンスリド	グルホシネートアンモニウム	プロキナジド
β-HCH; β-BCH	グリホサート	プロチオホス
ピオレスメトリン	群: ホウ砂, ホウ酸塩 (参照)	ピラクロホス
ブラストサイジン-S	群: パラフィン油, ミネラル	ピラザクロル(Pyrazachlor)
ホウ砂; 四ホウ酸二ナトリウム	ハルフェンプロックス	ピラゾホス
ホウ酸	イミプロスリン	ピリダベン
ヘプタン酸プロモキシニル	イミダクロプリド	ピリダリル
オクタン酸プロモキシニル	イプコナゾール	ピリダフェンチオン
カルボスルファン	イソピラザム	ピリフェノックス
クロラントラニリプロール	イソピラザム	キンメラック
クロルジメホルム	レナシル	ロテノン
クロルフルアズロン	リン化マグネシウム	セダキサン
クロルプロファム	メタフルミゾン	セダキサン
クリンバゾール	メタザクロール	シラフルオフエン
クロピラリド	メタザクロール	シントフェン

【 0 4 5 5】

10

20

30

40

50

【表 1 0 6】

水酸化銅(II)	メトブロンロン	スピネトラム
シフルフェナミド	メクスロン	スルホキサフロル
シハロトリン	メトスルフロメチル	テメホス
シハロトリン, γ	ミルベメクチン	チアクロプリド
十水和物	ナレド	チアメトキサム
ジアフェンチウロン	ナプロパミド	トルフェンピラド
ジメフロ	ニコスルフロ	トラロメリン
ジモキシストロビン	ニテンピラム	トリブチルスズ化合物
ジノテフラン	ニトロベンゼン	トリジファン
ジクワット二塩化物	o-フェニルフェノール	トリフルミゾール
ジチアノン	油	バリダマイシン
E-ホスファミドン	オキサジアルギル	リン化亜鉛
EPTC	オキシカルボキシ	
エタボキサム	パラフィン油	
エチリモール	ペンコナゾール	

10

20

【実施例】

【0 4 5 6】

以下は、本発明の方法の例である。上記に提供される概要を所与として、様々な他の実施形態を実施し得ることが理解される。

【0 4 5 7】

実施例 1：トウモロコシアブラムシ幼虫（トウモロコシアブラムシ（*Rhopalosiphum maidis*）からの cDNA ライブラリーの作製

本実施例は、トウモロコシアブラムシ幼虫（トウモロコシアブラムシ（*Rhopalosiphum maidis*）からの cDNA ライブラリーの作製を実証する。

30

【0 4 5 8】

実験計画：

ライブラリーを作製するために、0.9 g の全 1 齢幼虫（孵化後 4～5 日；16℃で保持）からの RNA を、次のフェノール／TRI REAGENT（登録商標）に基づく方法（MOLECULAR RESEARCH CENTER, Cincinnati, Ohio）を用いて精製する。幼虫は、均質な懸濁液が得られるまで、10 mL の TRI REAGENT（登録商標）を用い、15 mL ホモジナイザー中で室温にて均質化する。室温で 5 分のインキュベーション後に、ホモジネートを 1.5 mL 遠心管中に分散させ（管当たり 1 mL）、200 μ L のクロロホルムを添加してから、混合物を 15 秒間激しく振盪させる。抽出物を室温で 10 分間静置した後、4℃で 12,000 $\times$ g の遠心分離により相を分離する。上部の相（約 0.6 mL を含む）を別の滅菌 1.5 mL 管に注意深く移し、等量の室温イソプロパノールを添加する。5～10 分間の室温でのインキュベーション後、混合物を 12,000 $\times$ g で 8 分間遠心分離する（4℃又は 25℃）。

40

【0 4 5 9】

上清を注意深く取り出して廃棄し、75%エタノールを用いたボルテックスにより RNA ペレットを 2 回洗浄し、各回の洗浄後に 7,500 $\times$ g で 5 分間の遠心分離により回収する（4℃又は 25℃）。エタノールを注意深く除去し、ペレットを 3～5 分間空気乾燥させた後、ヌクレアーゼ不含滅菌水に溶解させる。260 nm 及び 280 nm で吸光度（A）を測定することにより、RNA 濃度を決定する。抽出された RNA は、更に処理する

50

まで -80°C で保存し、1%アガロースゲルを通してアリコート泳動させることにより、RNAの質を決定する。

【0460】

ランダムプライミングを用いて、幼虫の全RNAをcDNAライブラリーに変換する。EUROFINS MWG Operonにおいて、GS FLX454 Titanium (商標) シリーズケミストリーにより、1/2プレートスケールで幼虫cDNAライブラリーを配列決定し、これによって、348bpの平均リード長を有する600,000を超えるリードを得る。350,000リードを50,000超のコンティグにアセンブルする。一般に入手可能なプログラムであるFORMATDB (NCBIから入手可能)を用いて、アセンブルされていないリード及びコンティグの両方をBLASTableデータベースに変換する。

10

【0461】

実施例2: Bcr1 dsRNAの作製及び精製

この実施例は、cDNAライブラリーからの合成dsRNAの作製及び精製を実証する。

【0462】

実験計画:

Bcr1遺伝子 (ACYPI32128) は、昆虫におけるバクテリオサイト調節及び機能の必須遺伝子である。Bcr1 cDNAを実施例1に記載の幼虫全RNAから作製し、Bcr1 dsRNAの合成の場合は、プライマー対: フォワード5'-aaactgctgcatggcctttct-3' (配列番号90) 及びリバース5'-acaggccctttcaggcctttta-3' (配列番号91) を用いたPCRにより作製する。標的遺伝子領域については、2つの個別のPCR増幅を実施する。第1のPCR増幅は、増幅センス鎖の5'末端にT7プロモータ配列 (TTAATACGACTCACTATAGG GAGA; 配列番号92) を導入する。第2の反応は、アンチセンス鎖の5'末端にT7プロモータ配列を組み込む。次に、標的Bcr1遺伝子の各領域について2つのPCR増幅断片を等量ずつ混合して、混合物をdsRNA作製のための転写テンプレートとして使用する。昆虫バイオアッセイのための二本鎖RNAを合成し、製造者の指示 (INVITROGEN) に従いAMBION (登録商標) MEGASCRIPT (登録商標) RNAiキットを用いるか、又は製造者の指示 (New England Biolabs, Ipswich, Mass.) に従いHIScribe (登録商標) T7インビトロ転写キットを用いて精製する。NANODROP (商標) 8000分光光度計 (THERMO SCIENTIFIC, Wilmington, Del.) を用いてBcr1 dsRNAの濃度を測定し、精製Bcr1 dsRNAをTEバッファー中で調製する。

20

30

1つの鎖のBcr1 dsRNAヘアピン配列:

【化1】

```
AUGAAACUGCUGCAUGGCUUUCUGAUUAUUAUGCUGACCAUGCAUCUGAGCAUUCAGUAUGCGU
AUGGCGGCCCGUUUCUGACCAAUAUCUGUGCGAUCGCGUGUGCCAUAACUGUGCGGCGAUGA
AUUUGUGUGCAGCUGCAUUCAGUAUAAAAGCCUGAAAGGCCUGUGGUUUCGCAUUGCCCGACC
GGCAAAGCGAGCGUGGUGCUGCAUAACUUUCUGACCAGCCCGUUUUUUUUUCGGGCUGGUCAG
AAAGUUAUGCAGCACCCACGCUCGCUUUGCCGGUCGGGCAAUGCGGAAACCACAGGCCUUUCAGG
CUUUUAUACUGAAUGCAGCUGCACACAAUUAUCGCCGCACAGUUUAUGGCACACGCGAUCGCA
CAGAUUUUGGUCAGAAACGGGCCGCCAUACGCAUACUGAAUGCUCAGAUUGCAUGGUCAGCAUAA
UAAUCAGAAAGCCAUGCAGCAGUUUCAU (配列番号93)
```

40

【0463】

実施例3: Bcr1 dsRNAによるアブラムシ (トウモロコシアブラムシ (Rhopalosiphum maidis)) の処理

本実施例は、dsRNA溶液による処理を通し、昆虫におけるバクテリオサイト調節及び機能にとって必須の遺伝子であるBcr1遺伝子 (ACYPI32128) の発現を標

50

的とすることによって、アブラムシ、即ち、トウモロコシアブラムシ (*Rhopalosiphum maidis*) を殺傷するか又はその適応度を低下させることが可能であることを実証する。

【0464】

アブラムシは、最も重要な農業害虫の1つである。アブラムシは、作物に直接的な給餌障害をもたらし、植物ウイルスの媒介物として機能する。加えて、アブラムシ甘露は、すす病菌の増殖を促進し、有害なアリを引き付ける。残念ながら、依然として蔓延している化学処理の使用により、その根絶がますます困難となる耐性個体の選択がもたらされる。

【0465】

治療計画：

0.5%ショ糖及び必須アミノ酸を含有する10mLのTEバッファー中の0（陰性対照）、0.5、1又は5 µg/mLの実施例2からのBcr1 dsRNAを用いて、dsRNA溶液を製剤化する。

【0466】

実験計画：

処理の準備のため、アブラムシを実験室環境及び培地中で成長させる。環境制御された室内において（16時間光周期；60±5%RH；20±2℃）、ソラマメ植物をバーミキュライトとパーライトとの混合物中で成長させ、アブラムシを寄生させる。母性効果又は植物間の健康の差を抑制するため、異なる植物からの5～10匹の成虫を10本の2週齢植物に分配し、高密度になるまで5～7日間増殖させる。実験のため、健康植物から2

【0467】

96ウェルプレートのウェルに200 µLのアブラムシ用人工食（Febvay et al., Canadian Journal of Zoology 66 (11) : 2449–2453, 1988）を充填し、プレートをパラフィルムで被覆して、給餌サシェを作製する。人工食は、陰性対照としての0.5%ショ糖及び必須アミノ酸のみを含むTEバッファー（Tris HCl (1mM)とEDTA (0.1mM)のバッファー、pH 7.2）の溶液と混合するか、又は様々な濃度のdsRNAを含有するTEバッファー希釈dsRNA溶液と混合する。dsRNA溶液は0.5～5 µg/mLの最終濃度が得られるように人工食と混合する。

【0468】

各レプリケート処理のために、30～50匹の2齢及び3齢アブラムシを96ウェルプレートのウェルに個別に置き、給餌サシェプレートを逆さにしてその上に被せることにより、昆虫を、パラフィルムを通じて摂餌させると共に、個々のウェルに拘束しておく。実験用アブラムシは、アブラムシコロニーと同じ環境条件下に保つ。アブラムシに24時間給餌した後、給餌サシェを滅菌人工食が入った新しいサシェに交換し、4日間にわたって24時間毎に新しい滅菌サシェを提供する。サシェの交換時、アブラムシの死亡に関しても確認する。アブラムシは、褐色に変化していた場合、又はウェルの底にいて、観察している間に動かない場合に死んでいると見なす。アブラムシが給餌サシェのパラフィルム上にいるものの動かない場合、摂餌中で生きていると考える。

【0469】

Bcr1 dsRNAで処理したアブラムシの生存率を、陰性対照で処理したアブラムシと比較する。Bcr1 dsRNAで処理したアブラムシの生存率は、対照処理アブラムシと比較して低下している。

【0470】

実施例4：Bcr1 dsRNAを発現するトランスジェニック草の作製

本実施例は、アブラムシに送達するためのトランスジェニック草におけるBcr1 dsRNAの遺伝子修飾及び作製を実証する。

【0471】

植物ゲノムに安定に組み込まれたキメラ遺伝子の発現によって、Bcr1 dsRNA 分子を産生するトランスジェニック飼料草ブルーグラマ、即ち、ブルーグラマ (*Bouteloua gracilis*) を、高葉緑素且つ胚形成性の細胞株「TIANSJ98」(Agüado-Santacruz et al., Theoretical and Applied Genetics 104 (5) : 763-771, 2002) を用いて、パーティクル・ガンにより作製する。

【0472】

「TIANSJ98」細胞株樹立及び維持：

胚形成性高葉緑素「TIANSJ98」細胞株は、記載されている (Agüado-Santacruz et al., Plant Cell Rep. 20 : 131-136, 2001) 通りに、液体MPC培地中での莖頂由来の緑色カルスの培養から取得する。この細胞株を20日毎に継代培養し、1mlの細胞懸濁液を24mlの新鮮なMPC培地中に移す。胚形成カルスの微細に分散した状態を使用する理由は、1) 標的細胞の生理学的段階を一致させるため、2) 濾紙上の全能性材料の分布を最大限にする (衝突させたプラスミドのシュート範囲を最適化する) ため、並びに3) 選択下の分散細胞クラスター内の独立した形質転換事象 (グリーンスポット) の同定を促進するためである。

【0473】

胚形成細胞のパーティクル・ガン：

Bcr1 dsRNA発現のためのテンプレート断片と一緒にバイナリ形質転換ベクターを使用する。このプラスミドは、ダブル35Sカリフラワーモザイクウイルス (Cauliflower Mosaic Virus) プロモータ、及びアルファルファモザイクウイルス (Alfalfa Mosaic Virus) 由来のリーダ配列の制御下で標的Bcr1遺伝子の逆向き反復配列を含む (Agüado-Santacruz et al., Theoretical and Applied Genetics 104 (5) : 763-771, 2002)。

【0474】

高度葉緑素胚形成細胞株「TIANSJ98」をパーティクル・ガン送達実験の標的として使用する。2.0cm径の濾紙ディスク上に細胞を分布させる (約2gのFW細胞)。ボンバードメント混合物は次の通りである：50µLのM10タングステン粒子 (15mg/ml)、10µLのDNA (1µg/ml)、50µLの2.5M CaCl₂及び20µLの0.1Mエスペルミジンを順に混合し、5分間ボルテックスした後、短時間音波処理する。混合物を10,000rpmで10秒間遠心分離する。60µLの上清を除去し、残りを個々のシュートのために5µLアリコートに分散させる。Particle Inflow Gun (Finer et al., Plant Cell Rep. 11 : 323-328, 1992) を用いて、ボンバードメントを実施する。粒子/DNA混合物をシリンジフィルターユニットの中心に配置する。胚形成細胞を500µmバッフルで被覆し、粒子を含むスクリーンフィルターユニットから10cmの距離に配置して、60mmHgの真空チャンバー内で1回衝突させる。ボンバードメント前及び後処理についての2つの異なる浸透圧培地 (固体MPC培地に0.4及び1Mマンニトールを供給) 並びに3つのボンバードメント圧力 (60、80及び100PSI) を試験する。ボンバードメント前処理は、シューティングの24時間前に施す。発射後、胚形成細胞を支持する濾紙をボンバードメント前処理に用いた同じ浸透圧培地上で更に3日間維持する。このようにして、処理毎に衝突させた10のディッシュを用いて、計9つの処理を評価する。対照として、DNAなしの粒子を用いて、懸濁液材料を含むフィルターに衝突させる。

【0475】

安定な形質転換クローンの選択及び植物の回収：

0.4又は1Mマンニトールを含有するが、抗生物質は含まないMPC培地上での3日間のボンバードメント後浸透圧処理の後に、衝突させた細胞を支持する濾紙ディスクを、140mg/lのカナマイシン含有MPC培地上に移してから、冷陰極蛍光管により供給される白色光の下、30±1℃でインキュベートする。衝突させたが、浸透圧処理には付さ

10

20

30

40

50

ない細胞についても、同じ手順に従う。2ヵ月後、カナマイシン濃度を150又は160 mg/lまで増加する。3週間毎に細胞を継代培養し、8ヵ月間選択を維持する。この期間の後、カナマイシン耐性クローンを、完全濃度MS培地、3%ショ糖、2.5%フィタゲル (Sigma, St. Louis, Missouri) を含有するが、抗生物質は含まない再生培地に移す。再生した若茎を発根のために、3.0 μ M (0.56 mg/l) α -ナフタレン酢酸、2.5 μ M (0.51 mg/l) インドール-3-酪酸及び2.5%フィタゲルを含有する1/2MSに移し、連続的な蛍光の下、30 $\pm$ 1 $^{\circ}$ Cでインキュベートする。その後、発根した幼植物をポットに移し、寒さに慣れさせ、温室内で成熟まで成長させる。

【0476】

形質転換の確認のためのPCR分析：

次のプロトコルを用いて、カナマイシン耐性及び非形質転換対照植物から全ゲノムDNAを作製する：約250mgの細胞を2mLエッペンドルフ試験管中に収集し、ホモジナイザー (Cafamo, Stirrer type RZR) に取り付けられた乳棒を用いて、液体N₂中で微粉末に粉碎する。粉末状の細胞を500 μ Lの抽出バッファー (7.0M尿素、0.35M NaCl、0.05M Tris-HCl、pH8.0、0.02M EDTA、1%サルコシン) と一緒に少なくとも45分間再懸濁させる。細胞ホモジネートを1volのフェノール/クロロホルムで抽出する。遠心分離により水相を分離し、等量のイソプロピルアルコールを用いて沈殿させる。沈殿したDNAを70%エタノールで1回洗浄し、TEバッファー (0.01M Tris-HCl、0.01M EDTA、pH8.0) 中に再懸濁させる。

【0477】

PCR分析のために、25 μ Lの反応物中に、100~150 ngをゲノムDNA増幅に使用する。Bcr1センス抗センス挿入断片の内部169 bp断片を増幅するために、プライマーフォワード5'-aaactgctgcatggctttct-3' (配列番号91) 及びリバース5'-acaggcctttcaggcttttta-3' (配列番号92) を設計する。Perkin Elmerサーモサイ클ラーを用いて、PCR反応を30サイクル実施する。反応温度は、変性95 $^{\circ}$ C (2分)、アニーリング56 $^{\circ}$ C (30秒)、及び伸長72 $^{\circ}$ C (30秒) である。25 μ Lの反応容積は、以下：1 $\times$ PCRバッファー、0.25mMのdNTP、2mM MgCl₂、0.2 μ Mのプライマー及び2.5 uのTaqを含む。1%アガロース/SYBRグリーンゲル中での電気泳動により、増幅産物を分析する。

【0478】

実施例5：colAバクテリオシンを産生するトランスジェニック草の作製

本実施例は、アブラムシへの送達のためのトランスジェニック草中のバクテリオサイト調節ペプチドコレオプテリシン (Coleopteriscin) A (colA) の遺伝子修飾及び作製を実証する。

【0479】

植物ゲノム中に安定に組み込まれるキメラ遺伝子の発現を介して、コレオプテリシンAを産生するトランスジェニック飼料草ブルーグラマ、即ち、ブルーグラマ (Bouteloua gracilis) を、実施例4に記載されるシステムを用いて、パーティクル・ガンにより作製する。

【0480】

胚形成高葉緑素細胞「TIANSJ98」細胞株を20日毎に継代培養し、1mLの細胞懸濁液を24mLの新鮮なMPC培地中に移す。

コレオプテリシンA (colA)

10

20

30

40

50

【化 2】

atgacccgcaccatgctgtttctggcgtgcgtggcgccgctgtatgtgtgcattagcgcgaccgcgggcaaaccggaagaatttgcgaaactgagc
 gatgaagcgccgagcaacgatcaggcgatgtatgaaagcattcagcgctatcgccgctttgtggatggcaaccgctataacggcgccagcagc
 agcagcagcagccgaaacagtgggaagtgcgcccgatctgagccgcatcagcgcggaacaccaaagcgcaggtggaaattaacaaaa
 aaggcgataaccatgatattaacgcgggctggggcaaaaacattaacggcccgatagccataaagatacctggcatgtggcgccgagcgtgc
 gctgg (配列番号94)

【0481】

形質転換プラスミドをコレオプテリシンA (colA) 発現のために構築する。プラスミドは、ダブル35Sカリフラワーモザイクウイルス (Cauliflower Mosaic Virus) プロモータ、及びアルファモザイクウイルス (Alpha Mosaic Virus) 由来のリーダ配列の制御下でcolAの核酸を含む (Agudo-Santacruz et al., Theoretical and Applied Genetics 104 (5) : 763-771, 2002)。

10

【0482】

高度葉緑素胚形成細胞株「TIANSJ98」をパーティクル・ガン送達実験の標的として使用する。2.0cm径の濾紙ディスク上に細胞を分布させる (約2gのFW細胞)。ボンバードメント混合物は次の通りである: 50μLのM10タングステン粒子 (15mg/ml)、10μLのDNA (1μg/ml)、50μLの2.5M CaCl₂及び20μLの0.1Mエスペルミジンを順に混合し、5分間ボルテックスした後、短時間音波処理する。混合物を10,000rpmで10秒間遠心分離する。60μLの上清を除去し、残りを個別のシュートのために5μLアリコートに分散させる。Particle Inflow Gun (Finer et al., Plant Cell Rep. 11: 323-328, 1992) を用いて、ボンバードメントを実施する。粒子/DNA混合物をシリンジフィルターユニットの中心に配置する。胚形成細胞を500μmバッフルで被覆し、粒子を含むスクリーンフィルターユニットから10cmの距離に配置して、60mmHgの真空チャンバー内で1回衝突させる。ボンバードメント前及び後処理のための2つの異なる浸透圧培地 (固体MPC培地に0.4及び1Mマンニトールを供給) 並びに3つのボンバードメント圧力 (60、80及び100PSI) を試験する。ボンバードメント前処理は、シューティングの24時間前に施す。発射後、胚形成細胞を支持する濾紙をボンバードメント前処理に用いた同じ浸透圧培地上で更に3日間維持する。このようにして、処理毎に衝突させた10のディッシュを用いて、計9つの処理を評価する。対照として、DNAなしの粒子を用いて、懸濁液材料を含むフィルターに衝突させる。

20

30

【0483】

安定な形質転換クロンの選択及び植物の回収:

0.4又は1Mマンニトールを含有するが、抗生物質は含まないMPC培地上での3日間のボンバードメント後浸透圧処理の後に、衝突させた細胞を支持する濾紙ディスクを、140mg/lのカナマイシン含有MPC培地上に移してから、冷陰極蛍光管により供給される白色光の下、30±1℃でインキュベートする。衝突させたが、浸透圧処理には付さない細胞についても、同じ手順に従う。2ヵ月後、カナマイシン濃度を150又は160mg/lまで増加する。3週間毎に細胞を継代培養し、8ヵ月間選択を維持する。この期間の後、カナマイシン耐性クロンを、完全濃度MS培地、3%ショ糖、2.5%フィタゲル (Sigma, St. Louis, Missouri) を含有するが、抗生物質は含まない再生培地に移す。再生した若茎を発根のために、3.0μM (0.56mg/l) α-ナフタレン酢酸、2.5μM (0.51mg/l) インドール-3-酪酸及び2.5%フィタゲルを含有する1/2MSに移し、連続的な蛍光の下、30±1℃でインキュベートする。その後、発根した幼植物をポットに移し、寒さに慣れさせ、温室内で成熟まで成長させる。

40

【0484】

50

形質転換の確認のためのPCR分析：

次のプロトコルを用いて、カナマイシン耐性及び非形質転換対照植物から全ゲノムDNAを作製する：約250mgの細胞を2mLエッペンドルフ試験管中に収集し、ホモジナイザー（Cafamo, Stirrer type RZR）に取り付けられた乳棒を用いて、液体N₂中で微粉末に粉碎する。粉末状の細胞を500μLの抽出バッファー（7.0M尿素、0.35M NaCl、0.05M Tris-HCl、pH8.0、0.02M EDTA、1%サルコシン）と一緒に少なくとも45分間再懸濁させる。細胞ホモジネートを1volのフェノール／クロロホルムで抽出する。遠心分離により水相を分離し、等量のイソプロピルアルコールを用いて沈殿させる。沈殿したDNAを70%エタノールで1回洗浄し、TEバッファー（0.01M Tris-HCl、0.01M EDTA、pH8.0）中に再懸濁させる。

【0485】

PCR分析のために、25μLの反応物中に、100～150ngをゲノムDNA増幅に使用する。colA遺伝子挿入断片の内部165bp断片を増幅するために、プライマーフォワード5'-caacgatacaggcgatgtatg-3'（配列番号95）及びリバース5'-ttaattttccacctgcgccttt-3'（配列番号96）を設計する。Perkin Elmerサーモサイクラーを用いて、PCR反応を30サイクル実施する。反応温度は、変性95℃（2分）、アニーリング56℃（30秒）、及び伸長72℃（30秒）である。25μLの反応容積は、以下：1×PCRバッファー、0.25mMのdNTP、2mM MgCl₂、0.2μMのプライマー及び2.5uのTaqを含む。1%アガロース／SYBRグリーンゲル中での電気泳動により、増幅産物を分析する。

【0486】

実施例6：colAバクテリオシンを産生するトランスジェニック草の作製

本実施例は、アブラムシへの送達のためのトランスジェニック草中のcolAバクテリオシンの遺伝子修飾及び作製を実証する。

【0487】

植物ゲノムに安定に組み込まれるキメラ遺伝子の発現を介して、colAバクテリオシンを産生するトランスジェニック飼料草ブルーグラマ、即ち、ブルーグラマ（*Bouteloua gracilis*）を、高葉緑素且つ胚形成性の細胞株「TIANSJ98」（Aguado-Santacruz et al., 2002. Theoretical and Applied Genetics 104（5）：763-771）を用いて、パーティクル・ガンにより作製する。

【0488】

「TIANSJ98」細胞株樹立及び維持：

胚形成性高葉緑素「TIANSJ98」細胞株は、記載されている（Aguado-Santacruz et al., 2001. ex Steud. Plant Cell Rep. 20：131-136）通りに、液体MPC培地中での莖頂由来の緑色カルスの培養から取得する。この細胞株を20日毎に継代培養し、1mLの細胞懸濁液を24mLの新鮮なMPC培地中に移す。胚形成カルスの微細に分散した状態を使用する理由は、1）標的細胞の生理学的段階を一致させるため、2）濾紙上の全能性材料の分布を最大限にする（衝突させたプラスミドの射出範囲を最適化する）ため；並びに3）選択下の分散細胞クラスター内の独立した形質転換事象（グリーンスポット）の同定を促進するためである。

【0489】

胚形成細胞のパーティクル・ガン：

colAバクテリオシン発現のためのテンプレート断片と一緒に形質転換ベクターを使用する。

colAバクテリオシン

10

20

30

40

50

【化 3】

atgacccgcaccatgctgtttctggcgtgctggcgcgctgtatgtgtgcattagcgcgaccgcgggcaaaccggaagaatttgcgaa
 actgagcgtagaagcgccgagcaacgatcaggcgatgtatgaaagcattcagcgctatcgccgctttgtggatggcaaccgctataacggcgcc
 agcagcagcagcagcagccgaaacagtgggaagtgcgcccggatctgagccgcgatcagcgcggaacaccaaagcgcagggtggaatta
 acaaaaaaggcgataacatgatattaacgcgggctggggcaaaaacattaacggcccggatagccataaagatacctggcatgtggcgccga
 gcgtgcgctgg (配列番号94)

【0490】

このプラスミドは、ダブル35Sカリフラワーモザイクウイルス (Cauliflower Mosaic Virus) プロモータ、及びアルファルファモザイクウイルス (Alfalfa Mosaic Virus) 由来のリーダ配列の制御下でcolAバクテリオシンの核酸を含む (Aguado-Santacruz et al., 2002. Theoretical and Applied Genetics, 104 (5), 763-771)。

10

【0491】

高度葉緑素胚形成細胞株「TIANSJ98」をパーティクル・ガン送達実験の標的として使用する。2.0cm径の濾紙ディスク上に細胞を分布させる (約2gのFW細胞)。ボンバードメント混合物は次の通りである: 50μLのM10タングステン粒子 (15mg/ml)、10μLのDNA (1μg/ml)、50μLの2.5M CaCl₂及び20μLの0.1Mエスペルミジンを順に混合し、5分間ボルテックスした後、短時間音波処理する。混合物を10,000rpmで10秒間遠心分離する。60μLの上清を除去し、残りを個別のシュートのために5μLアリコートに分散させる。

20

【0492】

Particle Inflow Gun (Finer et al., 1992. Plant Cell Rep. 11:323-328) を用いて、ボンバードメントを実施する。粒子/DNA混合物をシリンジフィルターユニットの中心に配置する。胚形成細胞を500μmバッフルで被覆し、粒子を含むスクリーンフィルターユニットから10cmの距離に配置して、60mmHgの真空チャンバー内で1回衝突させる。ボンバードメント前及び後処理のための2つの異なる浸透圧培地 (固体MPC培地に0.4及び1Mマニトールを供給) 並びに3つのボンバードメント圧力 (60、80及び100PSI) を試験する。ボンバードメント前処理は、シューティングの24時間前に施す。

30

【0493】

発射後、胚形成細胞を支持する濾紙をボンバードメント前処理に用いた同じ浸透圧培地上で更に3日間維持する。このようにして、処理毎に衝突させた10のディッシュを用いて、計9つの処理を評価する。対照として、DNAなしの粒子を用いて、懸濁液材料を含むフィルターに衝突させる。

【0494】

安定な形質転換クロンの選択及び植物の回収:

0.4又は1Mマニトールを含有するが、抗生物質は含まないMPC培地上での3日間のボンバードメント後浸透圧処理の後に、衝突させた細胞を支持する濾紙ディスクを、140mg/lのカナマイシン含有MPC培地上に移してから、冷陰極蛍光管により供給される白色光の下、30±1℃でインキュベートする。衝突させたが、浸透圧処理には付さない細胞についても、同じ手順に従う。2ヵ月後、カナマイシン濃度を150又は160mg/lまで増加する。3週間毎に細胞を継代培養し、8ヵ月間選択を維持する。この期間の後、カナマイシン耐性クロンを、完全濃度MS培地、3%ショ糖、2.5%フィタゲル (Sigma, St. Louis, Missouri) を含有するが、抗生物質は含まない再生培地に移す。再生した若茎を発根のために、3.0μM (0.56mg/l) α-ナフタレン酢酸、2.5μM (0.51mg/l) インドール-3-酪酸及び2.5%フィタゲルを含有する1/2MSに移し、連続的な蛍光の下、30±1℃でインキュベ

40

50

ートする。その後、発根した幼植物をポットに移し、寒さに慣れさせ、温室内で成熟まで成長させる。

【0495】

形質転換の確認のためのPCR分析：

次のプロトコルを用いて、カナマイシン耐性及び非形質転換対照植物から全ゲノムDNAを調製する：約250mgの細胞を2mLエッペンドルフ試験管中に収集し、ホモジナイザー（Cafamo, Stirrer type RZR）に取り付けられた乳棒を用い、液体N₂中で微粉末に粉碎する。粉末状の細胞を500μLの抽出バッファー（7.0M尿素、0.35M NaCl、0.05M Tris-HCl、pH8.0、0.02M EDTA、1%サルコシン）と一緒に少なくとも45分間再懸濁させる。細胞ホモジネートを1volのフェノール／クロロホルムで抽出する。遠心分離により水相を分離し、等量のイソプロピルアルコールを用いて沈殿させる。沈殿したDNAを70%エタノールで1回洗浄し、TEバッファー（0.01M Tris-HCl、0.01M EDTA、pH8.0）中に再懸濁させる。

【0496】

PCR分析のために、25μLの反応物中に、100～150ngをゲノムDNA増幅に使用する。ColA遺伝子挿入断片の内部165bp断片を増幅するために、プライマーフォワード5'-caacgattcaggcgattatg-3'及びリバース5'-ttaatttccaccctgctttt-3'を設計する。Perkin Elmerサーモサイクラーを用いて、PCR反応を30サイクル実施する。反応温度は、変性95℃（2分）、アニーリング56℃（30秒）、及び伸長72℃（30秒）である。25μLの反応容積は、以下：1×PCRバッファー、0.25mMのdNTP、2mM MgCl₂、0.2μMのプライマー及び2.5uのTaqを含む。1%アガロース／SYBRグリーンゲル中での電気泳動により、増幅産物を分析する。

【0497】

実施例7：モモアカアブラムシ（モモアカアブラムシ（*Myzus Persicae*））からのcDNAライブラリーの作製

本実施例は、モモアカアブラムシ幼虫（モモアカアブラムシ（*Myzus Persicae*））からのcDNAライブラリーの作製を実証する。

【0498】

アブラムシ幼虫からの全RNAの単離及びcDNAライブラリー作製：

0.9gの全1齢幼虫（孵化後4～5日；16℃で保持）からの全RNAを、次のフェノール／TRI REAGENT（登録商標）に基づく方法（MOLECULAR RESEARCH CENTER, Cincinnati, Ohio）を用いて抽出する。幼虫は、均質な懸濁液が得られるまで、10mLのTRI REAGENT（登録商標）を用い、15mLホモジナイザー中で室温にて均質化する。室温での5分のインキュベーション後に、ホモジネートを1.5mL遠心管中に分散させ（管当たり1mL）、200μLのクロロホルムを添加してから、混合物を15秒間激しく振盪させる。抽出物を室温で10分間静置した後、4℃で12,000×gの遠心分離により相を分離する。上部の相（約0.6mLを含む）を別の滅菌1.5mL管に注意深く移し、等量の室温イソプロパノールを添加する。5～10分間の室温でのインキュベーション後、混合物を12,000×gで8分間遠心分離する（4℃又は25℃）。

【0499】

上清を注意深く取り出して廃棄し、75%エタノールを用いたボルテックスによりRNAペレットを2回洗浄し、各回の洗浄後に7,500×gで5分間（4℃又は25℃）の遠心分離により回収する。エタノールを注意深く除去し、ペレットを3～5分間空気乾燥させた後、ヌクレアーゼ不含滅菌水に溶解させる。260nm及び280nmで吸光度（A）を測定することにより、RNA濃度を決定する。抽出されたRNAは、更に処理するまで-80℃で保存し、1%アガロースゲルを通してアリコート泳動させることにより、RNAの質を決定する。

【0500】

ランダムプライミングを用いて、幼虫の全RNAをcDNAライブラリーに変換する。EUROFINS MWG OperonにおけるGS FLX454 Titanium (商標) シリーズケミストリーにより、1/2プレートスケールで幼虫cDNAライブラリーを配列決定し、これによって、348bpの平均リード長を有する600,000を超えるリードを得る。350,000リードを50,000超のコンティグにアSEMBLする。一般に入手可能なプログラムであるFORMATDB (NCBIから入手可能)を用いて、アSEMBLされていないリード及びコンティグの両方をBLASTableデータベースに変換する。

【0501】

実施例8：Bcr1 dsRNAの作製

この実施例は、cDNAライブラリーからの合成dsRNAの作製及び精製を実証する。

【0502】

実験計画：

Bcr1遺伝子 (ACYPI32128) は、昆虫におけるバクテリオサイト調節及び機能の必須遺伝子である。Bcr1 dsRNAの合成のために、実施例6に記載のcDNAを使用し、プライマー対：フォワード5'-aaactgctgcatggcctttct-3' (配列番号90) 及びリバース5'-acaggccctttcaggccttttta-3' (配列番号91) を用いたPCRにより作製する。標的遺伝子領域については、2つの個別のPCR増幅を実施する。第1のPCR増幅により、増幅センス鎖の5'末端にT7プロモータ配列 (TTAATACGACTCACTATAGGGAGA; 配列番号92) を導入する。第2の反応では、アンチセンス鎖の5'末端にT7プロモータ配列を組み込む。次に、標的遺伝子Bcr1の各領域の2つのPCR増幅断片を等量ずつ混合して、混合物をdsRNA作製のための転写テンプレートとして使用する。昆虫バイオアッセイのための二本鎖RNAを合成し、製造者の指示 (INVITROGEN) に従いAMBION (登録商標) MEGASCRIPT (登録商標) RNAiキットを用いるか、又は製造者の指示 (New England Biolabs, Ipswich, Mass.) に従いHISCRIBE (登録商標) T7インビトロ転写キットを用いて精製する。NANO DROP (商標) 8000分光光度計 (THERMO SCIENTIFIC, Wilmington, Del.) を用いてBcr1に対するdsRNAの濃度を測定し、精製されたdsRNA分子をTEバッファ中で調製する。

1つの鎖のBcr1 dsRNAヘアピン配列：

【化4】

```
AUGAAACUGCUGCAUGGCUUUCUGAUUAUUAUGCUGACCAUGCAUCUGAGCAUUCAGUAUGCGU
AUGGCGGCCCGUUUCUGACCAAAUAUCUGUGCGAUCGCGUGUGCCAUAACUGUGCGGCGAUGA
AUUUGUGUGCAGCUGCAUUCAGUAUAAAAGCCUGAAAGGCCUGUGGUUUCGCAUUGCCCGACC
GGCAAAGCGAGCGUGGUGCUGCAUAACUUUCUGACCAGCCCGUUUUUUUUUUCGGGCGUGGUCAG
AAAGUUUAUGCAGCACCCACGCUCGCUUUGCCGGUCGGGCAAUGCGGAAACCACAGGCCUUUCAGG
CUUUUAUACUGAAUGCAGCUGCACACAAAUAUCGCGCCGACAGUUUAUGGCACACGCGAUCGCA
CAGAUUAUUGGUCAGAAACGGGCCGCCAUACGCAUACUGAAUGCUCAGAUCAUGGUCAGCAUAA
UAAUCAGAAAGCCAUGCAGCAGUUUCAU (配列番号93)
```

【0503】

実施例9：Bcr1 dsRNA溶液によるアブラムシ (モモアカアブラムシ (Myzus Persicae)) の処理

本実施例は、dsRNA溶液による処理を通し、昆虫におけるバクテリオサイト調節及び機能にとって必須の遺伝子であるBcr1遺伝子 (ACYPI32128) の発現を標的とすることによって、アブラムシ、即ち、モモアカアブラムシ (Myzus Persicae) を殺傷するか又はその適応度を低下させることが可能であることを実証する。

【0504】

アブラムシは、最も重要な農業害虫の1つである。アブラムシは、作物に直接的な給餌障害をもたらす、植物ウイルスの媒介物として機能する。加えて、アブラムシ甘露は、すす病菌の増殖を促進し、有害なアリを引き付ける。残念ながら、依然として蔓延している化学処理の使用により、その根絶がますます困難となる耐性個体の選択がもたらされる。

【0505】

治療計画：

0.5%ショ糖及び必須アミノ酸を含有する10mLのTEバッファー中に0（陰性対照）、0.5、1、又は5µg/mLの実施例7からのBcr1 dsRNAでdsRNA溶液を製剤化する。

【0506】

実験計画：

処理の準備のため、アブラムシを実験室環境及び培地中で成長させる。環境制御された室内において（16時間光周期；60±5%RH；20±2℃）、植物をバーミキュライトとパーライトとの混合物中で成長させ、アブラムシを寄生させる。母性効果又は植物間の健康の差を抑制するため、異なる植物からの5～10匹の成虫を10本の2週齢植物に分配し、高密度になるまで5～7日間増殖させる。実験のために、健康植物から2齢及び3齢アブラムシを採集し、各処理が採集植物の各々からほぼ同じ数の個体を受け取るように複数の処理に分ける。

【0507】

96ウェルプレートのウェルに200µLのアブラムシ用人工食（Febvay et al., Canadian Journal of Zoology 66(11):2449-2453, 1988）を充填し、プレートをパラフィルムで覆って給餌サシェを製作する。人工食は、陰性対照として0.5%ショ糖及び必須アミノ酸のみを含むTEバッファー（Tris HCl（1mM）とEDTA（0.1mM）バッファー、pH7.2）の溶液と混合するか、又は様々な濃度のdsRNAを含むTEバッファー希釈dsRNA溶液と混合する。dsRNA溶液は、0.5～5µg/mLの最終濃度が得られるように人工食と混合する。

【0508】

各レプリケート処理について、30～50匹の2齢及び3齢アブラムシを96ウェルプレートのウェルに個別に置き、給餌サシェプレートを逆さにしてその上に被せることにより、昆虫を、パラフィルムを通じて摂餌させると共に、個々のウェルに拘束しておく。実験用アブラムシは、アブラムシコロニーと同じ環境条件下に保つ。アブラムシに24時間給餌した後、給餌サシェを滅菌人工食が入った新しいサシェに交換し、4日間にわたって24時間毎に新しい滅菌サシェを提供する。サシェの交換時に、アブラムシの死亡に関しても確認する。アブラムシは、褐色に変化していた場合、又はウェルの底にいて、観察中に動かない場合に死んでいると見なす。アブラムシが給餌サシェのパラフィルム上にいるものの動かない場合、摂餌中で生きていると考える。

【0509】

Bcr1 dsRNAで処理したアブラムシの生存率を、陰性対照で処理したアブラムシと比較する。Bcr1 dsRNAで処理したアブラムシの生存率は、対照処理アブラムシと比較して低下している。

【0510】

実施例10：作物保護のためのバクテリオサイト特異的dsRNAの局所植物送達

本実施例は、タバコ植物の葉に局所適用することにより、バクテリオサイト特異的dsRNAを送達できることを実証する。dsRNAは、昆虫におけるバクテリオサイト調節及び機能にとって必須の遺伝子であるBcr1遺伝子（ACYPI32128）の発現を標的とする。

【0511】

治療計画：

125 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ 葉表面、1:0 (陰性対照)、1:1、1:2、又は1:3のdsRNA:LDH比で、実施例7で作製したBcr1 dsRNAを用いて、dsRNA-LDH噴霧溶液を製剤化する。

【0512】

LDHナノシートの調製及び特性決定

シート状クレイナノ粒子、具体的には陽荷電LDHは、作物保護のための安定なスプレー製剤としてRNAiを送達するための、dsRNAのための優れたナノキャリアシステムである(Mitter et al., Nature Plants 1-10, 2017)。LDHコンジュゲートは、激しいすすぎの後でも葉表面に強力に付着しており、環境条件下で、より長期間にわたってdsRNAの安定性を高める。dsRNAの持続放出は、大気CO₂及び湿度からの葉表面での炭酸の形成によって促進され、これが、LDHナノシートの分解を助ける。

10

【0513】

LDHナノシートは、(Mitter et al., Nature Plants 1-10, 2017)に従って調製され、水中での改変非水性沈殿、続いて、熱処理、精製及び分散により、45 nmの平均粒径を得る。粒子(5つの反復LDHサンプル)をNanosizer Nano ZS計器(Malvern Instruments)により特性決定して、Z平均サイズ及びPdlを取得し、JEOL JSM-2010 TEM22を用いて画像化する。Rigaku Miniflex X線回析計及びNicolet 6700 FT-IR(Thermo Electron Corporation)をそれぞれ用いた、5つのLDHサンプルについての粉末XRDと、減衰全反射モードでのフーリエ変換赤外分光法とにより、化学組成及び結晶構造を確認する。

20

【0514】

LDHへのdsRNAローディング

LDHナノシートへの実施例7で得られたdsRNAヘアピン構築物の最適且つ完全なローディングを定義するために、インビトロ転写dsRNA(500 ng)とLDH(dsRNA-LDH(w/w))の比を1:1、1:2、1:3、1:4、1:5及び1:10で複数回アッセイする。穏やかな軌道攪拌を行いながら、総容積10 μL 中でdsRNA及びLDHを室温にて30分間インキュベートする。完全なdsRNAローディングは、1%アガロースゲルのウェル内のdsRNA-LDH複合体の保持により評価する。適切なローディング比は、要求されるスケールアップ容積とは関係なく、一定である。

30

【0515】

dsRNA-LDH複合体からのdsRNAの放出及び放出されたdsRNAの安定性は、(Mitter et al., Nature Plants 1-10, 2017)に記載される通りに試験する。

【0516】

葉内のdsRNA検出のためのノーザンブロット分析:

dsRNA摂取を検出するために、0日目に、LDH、Bcr1-dsRNA又はBcr1-dsRNA-LDHのいずれかで、タバコ(N. tabacum)植物(3つのレプリケート)に噴霧する。試験した複合体の比は、1:1、1:2、又は1:3のdsRNA-LDH比である。温室条件(自然光と共に平均温度25°C)下、10 cm幅のポット内のUQ23土壌で植物を栽培する。噴霧時にマスキングテープを用いて、これらの植物の先端を覆う。噴霧から20日後に発生した新しい葉を採集する。TRIzol抽出により全RNAを抽出し、小分子RNAを濃縮させる(Mitter et al., Am. Phytopathological Soc. 16:936-944, 2003)。各処理の小分子RNA(20 μg)を15% (wt/vol) 変性尿素ポリアクリルアミドゲル(PAGE)上で泳動させる。3'末端がDIGで標識されたZR小分子RNAラダー(Zymo Research)をマーカーとして使用する。Hybond-N膜(Roche)上でのトランスブロット-SDセミドライ転移ユニット(trans-blot SD semi-dry transfer unit)(Bio-Rad)によりブロッ

40

50

トを転移させる。DIG標識Bcr1 24ntプローブ (5'-atgctgaccatgcatctgagcatt)、専有のバッファーセット (Roche) を用い、製造者の推奨事項に従ってプロットを処理する。ハイブリダイゼーション後、CSPD化学発光アルカリホスファターゼ基質を用いて、フィルターを検出する。NIH Image 1.6ソフトウェアを用いて、定量分析を実施する。

【0517】

実施例11：PNAの固相合成

本実施例は、PNAの固相合成を実証する。

【0518】

治療計画：

バクテリオサイト標的遺伝子Bcr1：gaatgcagctgcに対する相補的アンチセンスPNA構築物

【0519】

実験計画：

PNAアンチセンスは、連続フローモードの標準的Fmoc (N-(9-フルオレニル)メトキシカルボニル) ケミストリーを用いた固相法により自動的に合成する (MilliGen 9050ペプチド合成装置)。

【0520】

PNAアンチセンス精製は、260nmでのUV検出を含み、セミ分取カラムC18 (10µm、300×7.7mm、Xterra Waters、300Å) を用い、0.1% TFAを含む水 (溶出剤A) 及び0.1% TFAを含むアセトニトリル (溶出剤B)；溶出勾配：30分で100%Aから50%B、流量：4mL/分で溶出する逆相高速液体クロマトグラフィー (RP-HPLC) によって実施する。精製されたPNAアンチセンスの純度及び同一性は、Acquity UPLC BEH C18；2.1×50MM、1.7µmカラムを用いる超高速液体クロマトグラフータンデム質量分析計 (UPLC-MS；ESI-Q分析装置を装備したWater Acquity) により調べる。正しいアミノ酸及び核酸配列について予想される質量ピークが観察される。

【0521】

実施例12：Cy3標識PNAの作製

本実施例は、クリックケミストリーにより、実施例10に記載のPNAをマーカとしてのCy3色素と結合させて、PNAをタグ付けすることを実証する。

【0522】

治療計画：

ジベンジルシクロオクチン (DBCO) 修飾を有するPNA及びアジド修飾を有するCy3色素：Cy3-gaatgcagctgc

【0523】

実験計画：

クリック反応を準備するために、実施例10で合成したPNAをDBCO (Glen Research, Sterling, VA) で標識する。DBCO-スルホ-NHSエステルを60µL当たり5.2mgの濃度で水又は無水DMSOに溶解させる。このストック溶液を用いて、炭酸ナトリウム/重炭酸共役バッファー (pH=約9) 中のアミノ修飾PNAと共役させる。

【0524】

0.2µmolのPNA合成のために、PNAを500µLの共役バッファーに溶解させる。約6倍過剰量 (6µL) のDBCO-スルホ-NHSエステル溶液を溶解PNAに添加する。混合物をボルテックスして、2～4時間からほぼ一晩までの間、室温でインキュベートする。共役PNAを脱塩用カラム (Glen Research, Sterling, VA) で脱塩して、塩類及び有機物を除去する。

【0525】

Cy3-アジド修飾色素は、Sigma Aldrich (777315) から取得す

10

20

30

40

50

る。クリック反応のために、1 mg の Cy 3 - アジドを 150 μ L の DMSO に溶解させる。Cy 3 - アジド溶液を 100 μ L 水中の 100 OD の DBCO 共役 PNA に添加する。混合物を室温で一晩インキュベートする。結合した PNA を脱塩用カラム (Glen Research, Sterling, VA) で脱塩して、塩類及び有機物を除去する。

【0526】

実施例 13 : Cy 3 - PNA の溶液によるアブラムシ (モモアカアブラムシ (Myzus Persicae)) の処理

本実施例は、Cy 3 - PNA 構築物による処理を通し、昆虫におけるバクテリオサイト調節及び機能に必須の遺伝子である Bcr1 遺伝子 (ACYPI32128) の発現を標的とすることによって、アブラムシ、即ち、モモアカアブラムシ (Myzus Persicae) を殺傷するか又はその適応度を低下させることが可能であることを実証する。

【0527】

アブラムシは、最も重要な農業害虫の 1 つである。アブラムシは、作物に直接的な給餌障害をもたらし、植物ウイルスの媒介物として機能する。加えて、アブラムシ甘露は、すす病菌の増殖を促進し、有害なアリを引き付ける。残念ながら、依然として蔓延している化学処理の使用は、耐性個体の選択を招き、その根絶がますます困難になる。

【0528】

治療計画 :

10 mL の 0.5 % ショ糖及び必須アミノ酸中に、0、0.5、1、5 又は 10 mg / L の実施例 11 からの Cy 3 - PNA で Cy 3 - PNA 溶液を製剤化する。

【0529】

実験計画 :

処理の準備のため、アブラムシを実験室環境及び培地中で成長させる。環境制御された室内において (16 時間光周期 ; 60 $\pm$ 5 % RH ; 20 $\pm$ 2 $^{\circ}$ C)、植物をパーミキュライトとパーライトとの混合物中で成長させ、アブラムシを寄生させる。母性効果又は植物間の健康の差を抑制するため、異なる植物からの 5 ~ 10 匹の成虫を 10 本の 2 週齢植物に分配し、高密度になるまで 5 ~ 7 日間増殖させる。実験のため、健康植物から 2 齢及び 3 齢アブラムシを採集し、各処理が採集植物の各々からほぼ同じ数の個体を受け取るように複数の処理に分ける。

【0530】

96 ウェルプレートのウェルに 200 μ L のアブラムシ用人工食 (Febvay et al., Canadian Journal of Zoology 66 (11) : 2449 - 2453, 1988) を充填し、プレートをパラフィルムで覆って給餌サシェを製作する。人工食は、陰性対照として 0.5 % ショ糖及び必須アミノ酸のみを含む滅菌水の溶液と混合するか、又は Cy 3 - PNA 溶液と混合する。Cy 3 - PNA 溶液は、0.5 ~ 10 mg / mL の最終濃度が得られるように人工食と混合する。

【0531】

各レプリケート処理について、30 ~ 50 匹の 2 齢及び 3 齢アブラムシを 96 ウェルプレートのウェルに個別に置き、給餌サシェプレートを逆さにしてその上に被せることにより、昆虫を、パラフィルムを通じて摂餌させると共に、個々のウェルに拘束しておく。実験用アブラムシは、アブラムシコロニーと同じ環境条件下に保つ。アブラムシに 24 時間給餌した後、給餌サシェを滅菌人工食が入った新しいサシェに交換し、4 日間にわたって 24 時間毎に新しい滅菌サシェを提供する。サシェの交換時に、アブラムシの死亡に関しても確認する。アブラムシは、褐色に変化していた場合、又はウェルの底にいて、観察中に動かない場合に死んでいると見なす。アブラムシが給餌サシェのパラフィルム上にいるものの動かない場合、摂餌中で生きていると考える。

【0532】

Bcr1 特異的 Cy 3 - PNA で処理したアブラムシの生存率を、陰性対照で処理したアブラムシと比較する。Bcr1 特異的 Cy 3 - PNA で処理したアブラムシの生存率は、対照処理アブラムシと比較して低下している。

【0533】

実施例14：作物保護のためのCy3-PNAの局所植物送達

本実施例は、タバコ植物の葉に局所適用することにより、Cy3-PNAを送達できることを実証する。Cy3-PNAは、昆虫におけるバクテリオサイト調節及び機能にとって必須の遺伝子であるBcr1遺伝子(ACYPI32128)の発現を標的とする。

【0534】

治療計画：

125 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ 葉表面、1:0 (陰性対照)、1:1、1:2、又は1:3のCy3-PNA:LDH比で、実施例11で合成したCy3-PNAを用いて、Cy3-PNA-LDH噴霧溶液を製剤化する。

【0535】

LDHナノシートの調製及び特性決定

シート状クレイナノ粒子、具体的には陽荷電LDHは、作物保護のための安定なスプレー製剤として核酸を送達するための優れたナノキャリアシステムである(Mitter et al., Nature Plants 1-10, 2017)。LDHコンジュゲートは、激しいすすぎの後でも葉表面に強力に付着しており、環境条件下で、より長期間にわたってPNAの安定性を高める。PNAの持続放出は、大気CO₂及び湿度からの葉表面での炭酸の形成によって促進され、これが、LDHナノシートの分解を助ける。

【0536】

LDHナノシートは、(Mitter et al., Nature Plants 1-10, 2017)に従って調製され、水中での改変非水性沈殿、続いて、熱処理、精製及び分散により、45 nmの平均粒径を得る。粒子(5つの反復LDHサンプル)をNanosizer Nano ZS計器(Malvern Instruments)により特性決定して、Z平均サイズ及びPdlを取得し、JEOL JSM-2010 TEM22を用いて画像化する。Rigaku Miniflex X線回析計及びNicolet 6700 FT-IR(Thermo Electron Corporation)をそれぞれ用いて、5つのLDHサンプルについての粉末XRDと、減衰全反射モードでのフーリエ変換赤外分光法とにより、化学組成及び結晶構造を確認する。

【0537】

LDHへのCy3-PNAローディング

LDHナノシートへの実施例11で得られたCy3-PNAの最適且つ完全なローディングを定義するために、Cy3-PNA(0.5 μg)とLDH(Cy3-PNA-LDH(w/w))の比を1:1、1:2、1:3、1:4、1:5及び1:10で複数回アッセイする。穏やかな軌道攪拌を行いながら、総容積10 μL 中で、Cy3-PNA及びLDHを室温にて30分間インキュベートする。完全なCy3-PNAローディングは、1%アガロースゲルのウェル内のCy3-PNA-LDH複合体の保持により評価する。適切なローディング比は、要求されるスケールアップ量とは関係なく、一定である。

【0538】

植物葉内のCy3-PNA検出のための共焦点イメージング：

シロイヌナズナ(*Arabidopsis thaliana*) Col-0の表面滅菌種子の開花結実を促進し、平板培養し、固体MS培地で11日間21℃で(16時間/8時間昼/夜)垂直に成長させる。

【0539】

Cy3-PNAの取込みを検出するために、3つのレプリケートの11日齢シロイヌナズナ(*A. thaliana*) 苗をCy3のみ、Cy3-PNA(1 μg)及びCy3-PNA-LDH(1:3)各々の3 μL 液滴で処理する。個々の葉に液滴を適用する。48時間後、激しいピペット操作により3 mLの水で葉を2分ずつ2回すすいだ後、LDH処理の場合には表面に残る蛍光として表皮の下を視覚化する。天然クロロフィル蛍光を650~800 nmバンドパスフィルターで検出する。Zスタックを用いて、多孔質のメソフィル及びキシレム中に観察される蛍光が内在化されていることを確認する。Zeiss

10

20

30

40

50

LSM510META (Carl Zeiss) 共焦点レーザ走査顕微鏡下で葉を観察する。543 nmのHeNeレーザでの励起によりCy3 蛍光を視覚化し、560～615 nmバンドパスフィルターで検出する。

【0540】

実施例15：体温を上げる溶液によるアブラムシの処理

本実施例は、プロスタグランジンを用いてアブラムシを処理することにより、アブラムシを死滅させるか、又はその適応度を低下させることができることを実証する。プロスタグランジンは、免疫機能に関連するエイコサノイドであり、これは、脊椎動物及び無脊椎動物において発熱を急速に誘導する。本実施例は、アブラムシに対するプロスタグランジンの作用が、プロスタグランジンにより発生する温度の上昇に対して感受性のアブラムシに内在性の細菌個体群の調節によって媒介されることを実証する。標的とされる1つの細菌株は、ブフネラ属 (Buchnera) である。

【0541】

治療計画：

0 (陰性対照)、10、20又は50 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ のプロスタグランジンを用いて、0.5%ショ糖及び必須アミノ酸を含むエタノール及び滅菌水の溶液中にプロスタグランジン溶液E2 (PEG E2) を製剤化した。

【0542】

実験計画：

処理の準備のため、アブラムシを実験室環境及び培地中で成長させる。環境制御された室内において (16時間光周期；60 $\pm$ 5% RH；20 $\pm$ 2 $^{\circ}\text{C}$)、ソラマメ植物をバーミキュライトとパーライトとの混合物において16時間明期及び8時間暗期として24 $^{\circ}\text{C}$ で成長させる。母性効果又は植物間の健康の差を抑制するため、異なる植物からの5～10匹の成虫を10本の2週齢植物に分配し、高密度になるまで5～7日間増殖させる。実験のため、健康植物から2齢及び3齢アブラムシを採集し、各処理が採集植物の各々からほぼ同じ数の個体を受け取るように処理に分ける。

【0543】

プロスタグランジン溶液は、0.5%ショ糖及び必須アミノ酸を含む滅菌水及びエタノール (1:1) の溶液中に、プロスタグランジン (SIGMA-ALDRICH, P5640) を溶解することにより調製する。96ウェルプレートのウェルに200 μl のアブラムシ用人工食 (Febvay et al., Canadian Journal of Zoology, 1988, 66 (11): 2449-2453) を充填し、プレートをパラフィルムで覆って給餌サシェを作製する。人工食は、陰性対照として0.5%ショ糖及び必須アミノ酸のみを含む滅菌水の溶液と混合するか、又は複数のうち1つの濃度のプロスタグランジンを含有するプロスタグランジン溶液と混合する。プロスタグランジン溶液は、10～50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の最終濃度が得られるように人工食と混合する。

【0544】

各レプリケート処理について、30～50匹の2齢及び3齢アブラムシを96ウェルプレートのウェルに個別に置き、給餌サシェプレートを逆さにしてその上に被せることにより、昆虫を、パラフィルムを通じて摂餌させると共に、個々のウェルに拘束しておく。実験用アブラムシは、アブラムシコロニーと同じ環境条件下に保つ。アブラムシに24時間給餌した後、給餌サシェを滅菌人工食が入った新しいサシェに交換し、4日間にわたって24時間毎に新しい滅菌サシェを提供する。サシェの交換時、アブラムシの死亡に関しても確認する。アブラムシは、褐色に変化していた場合、又はウェルの底にいて、観察している間に動かない場合に死んでいると見なす。アブラムシが給餌サシェのパラフィルム上にいるものの動かない場合、摂餌中で生きていると考える。

【0545】

アブラムシサンプル中のブフネラ属 (Buchnera) の状態をPCRによって評価する。対照 (プロスタグランジン処理なし) 及びプロスタグランジン処理した個体から、昆虫DNAキット (OMEGA, Bio-teck) を製造者のプロトコルに従って使用し

10

20

30

40

50

て全DNAを単離する。ブフネラ属 (*Buchnera*) のプライマー、フォワードプライマー 5'-GTCGGCTCATCACATCC-3' (配列番号97) 及びリバースプライマー 5'-TTCCGTCTGTATTATCTCCT-3' (配列番号98) は、Primer 5.0ソフトウェア (Primer-E Ltd., Plymouth, UK) を使用して、ブフネラ属 (*Buchnera*) ゲノム (受託番号: GCA_000009605.1) から得られた23S-5S rRNA配列をベースとして設計する (Shigenobu, et al., Nature 2000. 407, 81-86)。PCR増幅サイクルには、95℃で5分の初期変性ステップと、95℃で30秒、55℃で30秒及び72℃で60秒の35サイクルと、72℃で10分の最終延長ステップとが含まれた。プロスタグランジン処理サンプル及び対照サンプルからの増幅産物を1%アガロースゲル上で分析し、SYBR safeで染色し、イメージングシステムを使用して可視化する。プロスタグランジン処理したアブラムシは、ブフネラ属 (*Buchnera*) 特異的遺伝子の減少を示す。

【0546】

プロスタグランジン溶液で処理したアブラムシの生存率を陰性対照処理のアブラムシと比較する。プロスタグランジン溶液で処理したアブラムシの生存率は、対照と比較して低下する。

【0547】

実施例16：昆虫の免疫応答を刺激して、適応度を低下させるためのdsRNAによるアブラムシの処理

本実施例は、二本鎖RNA (dsRNA) でのアブラムシの処理が、免疫調節遺伝子のノックダウンをもたらし、免疫応答を誘導して、アブラムシ適応度を低下させることを実証する。免疫調節遺伝子、具体的にはCact、即ち、アブラムシの一次免疫経路であるToll経路の負の調節因子を阻害することによって、免疫応答を誘導することにより、Toll経路活性化を誘導して、抗菌ペプチド、リソザイム、及びプロフェノールオキシダーゼを発現及び分泌させ、その結果、最終的にアブラムシに内在性の細菌個体群に影響を及ぼす。本実施例は、全身免疫応答を上方制御するように、アブラムシのCactのレベルを低下させる作用が、Toll経路活性化によって発生するアブラムシ免疫応答の増大に対して感受性であるアブラムシに内在性の細菌個体群の調節異常を引き起こすことを実証する。標的とされる1つの細菌株は、ブフネラ属 (*Buchnera*) である。

【0548】

治療計画：

5齢LSM-1アブラムシにマイクロインジェクションを実施する。注入液は、dd-水 (陰性対照) 又は様々な濃度でdd-水に希釈された (8又は60ng/アブラムシ；以下を参照) dsRNAである。

【0549】

実験計画：

アブラムシLSR-1 (ブフネラ属 (*Buchnera*) のみを含む)、A.ピスム (*A. pisum*) を環境制御されたインキュベーター (16時間明期/8時間暗期の光周期；60±5%RH；25±2℃) においてソラマメ植物 (Johnny's Selected Seedsからのプロマソラマメ (*Vicia faba*)) 上で育てる。アブラムシの飼育に使用する前に、ソラマメ植物は、鉢植えのための土において24℃で16時間明期及び8時間暗期で成長させる。母性効果又は植物間の健康の差を抑制するため、異なる植物からの5~10匹の成虫を10本の2週齢植物に分配し、高密度になるまで5~7日間増殖させる。実験のために、健康植物から5齢アブラムシを採集し、2つの異なる処理群に分割する：1) 水 (陰性対照)、又は2) ApGLNT1に対するdsRNA (本明細書に示す濃度)。

【0550】

マイクロインジェクション送達実験計画

NanoJet IIIオートナノリットルインジェクタを使用して、インハウスの熱

10

20

30

40

50

引きしたハウケイ酸ニードル (Drummond Scientific; カタログ番号 3-000-203-G/XL) でマイクロインジェクションを実施する。絵筆を用いて、アブラムシを真空中に接続されたチュービングシステムに移し、このシステムは、マイクロインジェクションの間、アブラムシを特定の位置に保持する。注入部位は、アブラムシの腹側胸部とする。注入容積は、成虫の場合、 $2\text{ nl} / \text{秒}$ の速度で 20 nl (両方とも) とする。各処理群は、採集植物の各々からのほぼ同じ数の注入された個体を有する。

【0551】

注入後、ペトリ皿内のソラマメの葉の上にアブラムシを放すが、ソラマメの茎は、 1 ml の水を充填したエペンドルフ試験管中にある。アブラムシの生存を毎日モニターし、死んだアブラムシは見つけ次第、除去する。各群からの子孫の数をカウントし、各時点でアブラムシ 1 匹当たり産生された子孫 (F1) の数として繁殖力を測定する。

【0552】

選択実験では、子孫の発育段階 (1 齢、2 齢、3 齢、4 齢、及び 5 齢) を毎日記録することにより、各処理群からの子孫の群の発育を測定する。発育はまた、採集から 4 日後にアブラムシを画像化し、それらの面積を決定することによっても測定する。dsRNA を合成するためのテンプレートは、mRNA から逆転写された cDNA である。1 匹の 5 齢 A. ピスム (A. pisum) (LSR-1 株) から RNA を抽出し、Nanodrop (Thermo fisher scientific) により定量する。Surpercript IV キット (Thermo Fisher Scientific) を用い、製造者のプロトコルに従って、約 $100\text{ }\mu\text{g}$ の全 RNA をテンプレートとして逆転写反応に添加する。

【0553】

dsRNA 用のテンプレートを増幅するために、cDNA を 100 倍希釈し、次の PCR で使用する。PCR 反応 ($25\text{ }\mu\text{L}$ 最終容積) は、 $12.5\text{ }\mu\text{L}$ の Go Taq Green 2×ミックス (Promega)、 $0.2\text{ }\mu\text{L}$ のフォワードプライマー (表 12)、 $0.2\text{ }\mu\text{L}$ のリバースプライマー (表 12)、及び $12.1\text{ }\mu\text{L}$ の 100 倍希釈 cDNA を含有する。PCR 反応は、以下の条件を用いて実施する: 1) 95°C で 2 分、2) 95°C で 20 秒、3) 55°C で 15 秒、4) 72°C で 30 秒、5) ステップ 2~4 の反復 35×、6) 72°C で 5 分。PCR 増幅された産物のサイズは、1.5% アガロース上での電気泳動により確認し、予想サイズのバンドを切断して、QIAquick DNA 精製キット (Qiagen) により精製する。T7 MEGAscript キット (Ambion, Thermo Fisher Scientific; カタログ番号 AM1334) を用い、製造者のプロトコルに従って dsRNA をインビトロで合成する。dsRNA の濃度は、Nanodrop (Thermo Fisher Scientific) により測定する。

【0554】

【表 107】

表 12: Cact dsRNA 配列:

標的遺伝子	フォワードプライマー	リバースプライマー	産物サイズ
Mpcactus	taatacgactcactatagggTACACC CATTGTGTGCACCT (配列 番号 99)	taatacgactcactatagggCCACTG TCCAAGGCAATTTT (配列 番号 100)	487

【0555】

アブラムシサンプル中のブフネラ属 (Buchnera) の状態を PCR により評価する。陰性対照及びファージ処理からのアブラムシ成虫をまず、70% エタノールで 1 分間、10% 漂白剤で 1 分間、そして超純水で 1 分ずつ 3 回の洗浄により表面滅菌する。昆虫 DNA キット (OMEGA, Bio-tek) を用い、製造者のプロトコルに従って各々

の個体（全虫体）から全DNAを抽出する。ブフネラ属（*Buchnera*）のプライマー、即ち、フォワードプライマー5'-GTCGGCTCATCACATCC-3'（配列番号97）及びリバースプライマー5'-TTCCGTCTGTATTATCTCCT-3'（配列番号98）は、プライマー5.0ソフトウェア（Primer-E Ltd., Plymouth, UK）を用いて、ブフネラ属（*Buchnera*）ゲノム（アクセッション番号：GCA_000009605.1）から得られた23S-5S rRNA配列をベースとして設計する（Shigenobu, et al., Nature 200. 407, 81-86）。PCR増幅サイクルは、95℃で5分の初期変性ステップ、95℃で30秒、55℃で30秒、及び72℃で60秒の35サイクル、並びに72℃で10分の最終伸長ステップを含む。リファンピシン処理及び対照サンプルからの増幅産物を1%アガロースゲル上で分析し、SYBRで安全に染色してから、イメージングシステムを用いて視覚化する。dsRNA処理アブラムシは、ブフネラ属（*Buchnera*）特異的遺伝子の減少を示すことが予想される。

【0556】

カクタス（*Cactus*）で処理したアブラムシの*Cact*の発現及び生存率を陰性対照で処理したアブラムシと比較する。*Cact*に対するdsRNAで処理したアブラムシの*Cact*の発現及び生存率は、対照処理アブラムシと比較して低減することが予想される。

【0557】

実施例17：昆虫の免疫応答を刺激して、適応度を低下させた真菌溶液で処理したアブラムシ

本実施例は、アブラムシ適応度低下を引き起こしたピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）、即ち、酵母によるアブラムシの処理を実証する。昆虫に存在する先天性免疫系経路の多くが、アブラムシには存在しないが、真菌を認識して、それに対する免疫応答を誘導するキープレイヤー（key player）は、インタクトなまま残っている。具体的には、真菌の存在が、アブラムシセリンプロテアーゼであるペルセフォネ（*Persephone*）の切断を誘導し、これが、ひいてはToll経路を活性化する。次に、*Cactus*がリン酸化され、*Dorsal*が放出されて、核に転座し、核は、抗菌ペプチド、リソザイム、及びプロフェノールオキシダーゼの発現及び分泌を活性化し、これが、最終的にアブラムシに内在性の細菌個体群に影響を及ぼす。本実施例は、アブラムシに対するピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）の溶液の作用が、酵母の存在によって生成されるアブラムシ免疫応答の増大に対して感受性であるアブラムシに内在性の細菌個体群の調節により媒介されたことを実証する。標的とされる1つの細菌株は、ブフネラ属（*Buchnera*）である。

【0558】

アブラムシは、植物に直接的な給餌障害をもたらし、植物ウイルスの媒介物として機能する農業害虫である。加えて、アブラムシ甘露は、すす病菌の増殖を促進し、有害なアリを引き付ける。残念ながら、依然として蔓延している化学処理の使用により、その根絶がますます困難となる耐性個体の選択がもたらされる。

【0559】

治療計画

P. パストリス（*P. pastoris*）は、2つの異なる方法を用いて送達した：ソラマメ葉の灌流及びソラマメ葉へのエアブラシ噴霧。各々の実験のために、2つの実験群が用意された：1）陰性対照として水による処理；及びP. パストリス（*P. pastoris*）の水溶液による処理。処理方法及び用量は、本明細書の実験計画の節に記載されている。

【0560】

葉の灌流実験計画

アブラムシ（LSR-1系統、アキルトシフォン・ピスム（*Acyrtosiphon pisum*））を、環境制御されたインキュベーター（16時間明期／8時間暗期の

10

20

30

40

50

光周期； $60 \pm 5\%$ RH； $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ）においてソラマメ植物（Johnny's Selected Seedsからのプロマソラマメ（*Vroma vicia faba*））上で育てた。アブラムシの飼育に使用する前に、ソラマメ植物は、鉢植えのための土において 24°C で16時間明期及び8時間暗期で成長させた。母性効果又は植物間の健康の差を抑制するため、異なる植物からの5～10匹の成虫を10本の2週齢植物に分配し、高密度になるまで5～7日間増殖させた。実験のため、健康植物から1齢及び2齢アブラムシを採集し、2つの異なる処理群に分割した：1）水で灌流した葉を食餌させる群；及び2）*P. pastoris*（*P. pastoris*）の水溶液で灌流した葉を食餌させる群。

【0561】

Pichia Pink System（Thermo Fisher Scientific）からの「プロテアーゼ野生型」ade2ノックアウト株（株1）を実験のために使用した。*P. pastoris*（*P. pastoris*）をYPDにおいて 30°C で一晩増殖させ、翌日、培養物を水で1回洗浄し、0日目の最初の葉の灌流では0.918の最終OD₆₀₀まで、又は実験3日目の2回目の葉の灌流では5.58のOD₆₀₀まで水に再懸濁させた。各々の葉の灌流のために、約1mlの*P. pastoris*（*P. pastoris*）溶液又は水（陰性対照）をソラマメの葉に注入した。葉の茎を1.5mlエッペンドルフ試験管内に配置し、これをパラフィルムで密封した。葉茎をベトリ深皿（Fisher Scientific、カタログ番号FB0875711）内に配置し、アブラムシを植物の葉に載せ、摂食させた。葉は実験の3日目に交換し、古い葉を*P. pastoris*（*P. pastoris*）（表示のOD₆₀₀）又は水で灌流した新しい葉に取り替えた。

【0562】

各処理のために、62～63匹のアブラムシを各葉に載せた。アブラムシを生存について毎日モニターし、死んだアブラムシは見つけ次第除去した。更に、実験全体を通して、発育段階（1齢、2齢、3齢、4齢、及び5齢）を毎日決定した。

【0563】

7日間の処理後、各処理群の複数のアブラムシからDNAを抽出した。簡潔に言えば、アブラムシを6%ブリーチ溶液に約5秒間浸漬することによりアブラムシの体表を滅菌した。次に、アブラムシを滅菌水でリンスし、DNA抽出キット（Qiagen、DNeasyキット）を製造者の指示に従って使用して各個別のアブラムシからDNAを抽出した。nanodrop核酸定量を用いてDNA濃度を測定し、ブフネラ属（*Buchnera*）及びアブラムシDNAコピー数をqPCRによって測定した。ブフネラ属（*Buchnera*）に使用したプライマーは、Buch__groES__18F（CATGATCGTGCTTGTTAAG；配列番号101）及びBuch__groES__98R（CTGTTCTCTCGAGTCGATTTCC；配列番号102）であった（Chong and Moran, 2016 PNAS）。アブラムシに使用したプライマーは、ApEF1a_107F（CTGATTGTGCCGTGCTTATTG；配列番号103）及びApEF1a_246R（TATGGTGGTTCAGTAGAGTCC；配列番号104）であった（Chong and Moran, 2016 PNAS）。qPCRを $1.6^\circ\text{C}/\text{s}$ のqPCR増幅ランプ及び以下の条件を用いて実施した：1） 95°C で10分、2） 95°C で15秒、3） 55°C で30秒、4）ステップ2～3を40回繰り返す、5） 95°C で15秒、6） 55°C で1分、7）ランプを $0.15^\circ\text{C}/\text{s}$ に変更、8） 95°C で1秒。分析（Thermo Fisher Scientific、QuantStudio Design and Analysis）ソフトウェアを使用してqPCRデータを分析した。

【0564】

酵母溶液による処理は、アブラムシ発育の進行を遅らせた

葉の灌流実験計画で定義した通りに、LSR-1齢及び2齢アブラムシを2つの処理群に分割した。アブラムシを毎日モニターし、各発育段階のアブラムシの数を決定した。実験の6日目までに、水で灌流した葉を摂食したアブラムシの約30%が5齢段階に達した（図1）。対照的に、*P. pastoris*（*P. pastoris*）で灌流した葉を摂食した

アブラムシの約3%しか実験の6日目までに5齢段階に達しなかった(図1)。P. パストリス(P. pastoris)で灌流した葉を摂食し、6日目まで生き延びたアブラムシの大部分は、4齢段階であった(約5%)(図1)。これらのデータは、P. パストリス(P. pastoris)処理が、アブラムシの発育を遅らせたことを示した。

【0565】

酵母溶液による処理は、アブラムシの死亡率を高めた

処理の間、アブラムシの生存も測定した。水で灌流した葉を摂食したアブラムシの約55.5%が、実験の6日目まで生き延びた(図2)。対照的に、P. パストリス(P. pastoris)で灌流した葉を摂食したアブラムシは、処理後2日目に急速に死滅し始め、6日目までにはアブラムシの11%しか生存していなかった(図2)。これらのデータは、葉の灌流によって送達されたP. パストリス(P. pastoris)処理が、アブラムシ死亡率の有意な($p < 0.0001$)増加をもたらしたことを示した。

【0566】

P. パストリス(P. pastoris)処理が、特にアブラムシ中のブフネラ属(Buchnera)の喪失を引き起こしたか否か、そしてこの喪失が、アブラムシ適応度に影響を及ぼしたことを試験するために、処理の6日後に各処理群のアブラムシからDNAを抽出し、qPCRを実施して、ブフネラ属(Buchnera)/アブラムシコピー数を決定した。結果は、6日目のP. パストリス(P. pastoris)処理群に残ったアブラムシの数が少なく、また、抽出可能なブフネラ属(Buchnera)DNAが不足したために、確定的ではなかった。

【0567】

エアブラシ噴霧実験計画:

アブラムシ(LSR-1株、アキルトシフォン・ピスム(Acyrtosiphon pisum))を、本明細書に記載されるようにソラマメ植物上で育てた。実験のため、健康植物から1齢及び2齢アブラムシを採集し、2つの異なる処理群に分割した: 1) 水を噴霧した葉に載せたアブラムシ(陰性対照)、及び2) P. パストリス(P. pastoris)を噴霧した葉に載せたアブラムシ。

【0568】

Pichia Pink System(Thermo Fisher Scientific)からの「プロテアーゼ野生型」ade2ノックアウト株(株1)を実験のために使用した。P. パストリス(P. pastoris)をYPDにおいて30℃で一晩増殖させ、翌日、培養物を水で1回洗浄し、1回目及び2回目の葉の噴霧(0日目及び3日目)では0.918の最終OD600まで、また、実験6日目の葉の最終噴霧では5.58のOD600まで水に再懸濁させた。処理のために、ソラマメの葉を切断し、滅菌水を含む1.5mLエッペンドルフ試験管内に茎を配置し、エアブラシを用いて、水又は上に示す濃度のP. パストリス(P. pastoris)を両側に噴霧した。次に、葉をペトリ深皿(Fisher Scientific, カタログ番号FB0875711)に配置し、アブラムシを植物の葉に載せ、摂餌させた。実験の3及び6日目に、古い葉を新たに噴霧した新しい葉に取り替えた。

【0569】

各処理群は、採集植物の各々からほぼ同じ数の個体を受けた。各処理のために、30匹のアブラムシを各葉に配置した。各処理は、処理群当たり計60匹のアブラムシについて2回反復で実施した。アブラムシの生存について毎日モニターし、死んだアブラムシは見つけ次第除去した。更に、実験全体を通して、発育段階(1齢、2齢、3齢、4齢、及び5齢)を毎日決定した。

【0570】

6及び9日の処理後、各処理群の複数のアブラムシからDNAを抽出し、ブフネラ属(Buchnera)レベルを定量するためのqPCRを本明細書に記載の通りに実施した。

【0571】

酵母溶液による処理は、アブラムシ発育に大きく影響しなかった

本明細書に記載のエアブラシ噴霧実験計画で定義した通りに、LSR-1 齢及び 2 齢アブラムシを 2 つの処理群に分割した。アブラムシを毎日モニターし、各発育段階のアブラムシの数を決定した。処理後 6 日目までに、両方の処理群からのアブラムシが 5 齢段階に達し始めた（図 3）。処理後 9 日目までに、各群に残ったほぼ全てのアブラムシが、成熟に達した（図 3）。これらのデータは、水又は P. パストリス（*P. pastoris*）で処理したアブラムシの発育にほとんど差がないことを示した。

【0572】

噴霧による酵母溶液処理は、アブラムシの死亡率を高めた

葉の噴霧実験の間、アブラムシの生存も測定した。実験期間全体を通して、水を噴霧した葉を摂食した数匹のアブラムシしか死ななかったのに対し、P. パストリス（*P. pastoris*）処理群では、より多数のアブラムシが各時点で死んだ（図 4）。具体的には、処理後 2 日目に、水処理アブラムシの 91% は生き延びたが、P. パストリス（*P. pastoris*）処理アブラムシの 80% しか生存していなかった。この傾向は、実験の 3、6、及び 7 日目を通して継続し、各時点でそれぞれ、水処理アブラムシの 82%、66%、及び 60% が生存し、対照的に、P. パストリス（*P. pastoris*）処理アブラムシは各時点でそれぞれ、73%、55%、及び 49% しか生存していなかった（図 4）。これらのデータは、エアブラシ噴霧によって送達された P. パストリス（*P. pastoris*）処理が、水のみによる処理と比較して、高い死亡率をもたらすことを示した。

【0573】

酵母溶液は、アブラムシ中のブフネラ属（*Buchnera*）力価を低下した

エアブラシ噴霧によって送達された P. パストリス（*P. pastoris*）が、特異的にアブラムシ中のブフネラ属（*Buchnera*）の喪失を引き起こしたか否か、そしてこの喪失が、アブラムシ適応度に影響したことを試験するために、処理の 6 及び 9 日後に各処理群のアブラムシから DNA を抽出し、qPCR を実施して、ブフネラ属（*Buchnera*）／アブラムシコピー数を決定した。処理から 6 日後、平均ブフネラ属（*Buchnera*）／アブラムシ比は、水を噴霧した葉を摂食したアブラムシにおいて 47.5 であった（図 5）。対照的に、平均ブフネラ属（*Buchnera*）／アブラムシ比は、P. パストリス（*P. pastoris*）を噴霧した葉を摂食したアブラムシでは、約 1.2 倍低かった（約 39）（図 5）。しかし、処理から 9 日後では、両方の処理群で、ブフネラ属（*Buchnera*）／アブラムシ DNA コピーの比は類似していた（図 5）。

【0574】

これらのデータは、ソラマメの葉への P. パストリス（*P. pastoris*）噴霧が、処理から 6 日後のアブラムシ中の共生ブフネラ属（*Buchnera*）を減少させたことを示した。処理から 9 日後まで生存した P. パストリス（*P. pastoris*）処理アブラムシは、免疫応答増大の有害な作用を克服することができた可能性があり、これは、これらのアブラムシが、何故水処理対照と同様のブフネラ属（*Buchnera*）力価を有するかを説明し得る。それにもかかわらず、9 日目のブフネラ属（*Buchnera*）／アブラムシコピー中央値の試験は、P. パストリス（*P. pastoris*）処理群におけるブフネラ属（*Buchnera*）減少の傾向を明らかにした。

【0575】

P. パストリス（*P. pastoris*）が、アブラムシにおける免疫応答を上方制御することの確認

P. パストリス（*P. pastoris*）による処理が、アブラムシ適応度の低下及びアブラムシ内部共生体であるブフネラ属（*Buchnera*）のより低い力価をもたらしたことを考慮して、次の実験では、P. パストリス（*P. pastoris*）が、免疫応答を上方制御していることを確認する。これを試験するために、本明細書に記載の実験（葉の灌流実験計画及びエアブラシ噴霧実験計画）各々のアブラムシから RNA を単離し、Gerardo et al., 2010, Genome Biology, 11:R21, <https://doi.org/10.1186/gb-2010-11-2-r2>

1に記載される通り、真菌免疫応答経路に関与する遺伝子の発現を測定する（ペルセホネ（*Persephone*）、カクタス（*Cactus*）、及びドーサル（*Dorsal*））。この経路に関与する遺伝子の上方制御を認めることが予想される。

【0576】

総合すると、これらの実施例に記載されるデータは、恐らくアブラムシ免疫応答の活性化をもたらす*P. pastoris*でアブラムシを処理することにより、アブラムシの発育、寿命、及び内在性の細菌個体群、例えば、適応度を低減することができることを実証した。

【0577】

実施例18：ペプチド核酸の溶液で処理したアブラムシ

本実施例は、細胞透過ペプチド（CPP）（*Cermenati et al.*, 2011; *Zhou et al.*, 2015）に融合したBCR-4に対するペプチド核酸（PNA）（本明細書では、BCR-4に対するPNA又はBCR-4 PNAと呼ぶ）によるアブラムシの処理が、BCR-4遺伝子発現のノックダウン及びアブラムシ適応度の低下を引き起こしたことを実証する。

【0578】

BCR-4は、エンドウヒゲナガアブラムシ、即ち、アキルトシフォン・ピスム（*Acyrtosiphon pisum*）のバクテリオサイトで発現される数種のシステインリッチ分泌ペプチドの1つである。偏性アブラムシ細菌共生体であるブフネラ属（*Buchnera*）は、バクテリオサイトの内部に生息している。BCR-4は、植物細菌共生数の抑制に関与するノジュールシステインリッチ（NCR）ペプチドの多くと配列相同性を有する（*Pan and Wang*, 2017 *Nature Plants and Durgó et al.*, 2015 *Proteomics*）。BCR-4及びNCRの配列類似性を考慮して、この実施例は、遺伝子ノックダウンによりBCR-4を破壊して、ブフネラ属（*Buchnera*）に調節異常を起こし、これにより、アブラムシ適応度に負の作用を与えることによって、BCR-4が、バクテリオサイト内部の内部共生体ホメオスタシスを維持する上で同様の役割を果たしていたことを実証する。

【0579】

治療計画

BCR-4 PNAは、マイクロインジェクション又はソラマメの葉灌流のいずれかにより送達した。マイクロインジェクション実験の場合、注入液は、水（陰性対照）又はBCR-4 PNAの水溶液のいずれかであった。葉の灌流試験の場合、ソラマメの葉を水（陰性対照）又はBCR-4 PNAの水溶液で灌流した。各実験送達計画を以下に詳しく説明する。

【0580】

マイクロインジェクション送達実験計画

NanoJet IIIオートナノリットルインジェクタを使用して、インハウスの熱引きしたハウケイ酸ニードル（*Drummond Scientific*; カタログ番号3-000-203-G/XL）でマイクロインジェクションを実施した。絵筆を用いて、アブラムシを真空中に接続されたチュービングシステムに移し、このシステムは、マイクロインジェクションの間、アブラムシを特定の位置に保持した。注入部位は、アブラムシの腹側胸部とした。注入液は、水（陰性対照）又は321 ng/μLのBCR-4 PNAの水溶液であった。注入容積は、成虫（4齢及び5齢）アブラムシの場合、2 nL/秒の速度で20 nLであった。各処理群は、採集植物の各々からほぼ同じ数の注入された個体を有する。注入後、ペトリ皿内のソラマメの葉の上にアブラムシを放すが、ソラマメの茎は、1 mLの水を充填したエッペンドルフ試験管中にあった。実験期間全体を通して、生存及び繁殖力を毎日モニターした。

【0581】

アブラムシの飼育及び維持：

アブラムシLSR-1（ブフネラ属（*Buchnera*）のみを含む）、A.ピスム（

A. p i s u m) を環境制御されたインキュベーター (16 時間明期 / 8 時間暗期の光周期 ; $60 \pm 5 \% \text{RH}$; $25 \pm 2 ^\circ \text{C}$) においてソラマメ植物 (J o h n n y ' s S e l e c t e d S e e d s) からのプロマソラマメ (V r o m a v i c i a f a b a)) 上で育てた。アブラムシの飼育に使用する前に、ソラマメ植物は、鉢植えのための土において $24 ^\circ \text{C}$ で 16 時間明期及び 8 時間暗期で成長させた。母性効果又は植物間の健康の差を抑制するため、異なる植物からの 5 ~ 10 匹の成虫を 10 本の 2 週齢植物に分配し、高密度になるまで 5 ~ 7 日間増殖させた。実験のため、健康植物から 4 及び 5 齢アブラムシを採集し、2 つの処理群に分割した : 1) 水 (陰性対照) 又は 2) B C R - 4 P N A の水溶液。
【0582】

B C R - 4 P N A 合成

B C R - 4 - C P P を P N A b i o により合成し、配列は、Y G R K K R R Q R R R - C G T A C A A T A A T C T C A T G G ; 配列番号 105 及び 106 である。C P P (T a t) の配列は、Y G R K K R R Q R R R ; 配列番号 106 である。P N A を、0.1 % トリフルオロ酢酸 (T F A) で補充した 80 % アセトニトリル及び 20 % 水に溶解させた。一旦溶解したら、P N A をアリコートに等分し [アリコート当たり $32.1 \mu \text{g} / 5 \text{nmol}$]、空気乾燥した後、 $-20 ^\circ \text{C}$ で保存した。P N A の希釈標準溶液を水中 $50 \mu \text{M}$ で調製した。
【0583】

7 日の処理後、各処理群に残ったアブラムシから R N A を抽出した。手短には、6 % 漂白剤溶液中にアブラムシを約 5 秒間浸漬することにより、アブラムシの虫体表面を滅菌した。次に、アブラムシを滅菌水ですすいでから、R N A 抽出キット (Q i a g e n m i R N e a s y k i t) を用い、製造者の指示に従って個々のアブラムシから全 R N A を抽出した。ナノドロップ核酸定量を用いて、R N A 濃度を測定した。B C R - 4 相対発現を R T - q P C R により測定した。用いたプライマーは、A p B C R - 4 F (C T C T G T C A A C C A C C A T G A G A T T A ; 配列番号 107) 及び A p B C R - 4 R (T G C A G A C T A C A G C A C A A T A C T T ; 配列番号 108) であった。内部参照遺伝子プライマーは、アクチン (ハウスキーピング遺伝子) 用であった。フォワード配列は、G A T C A G C A G C C A C A C A C A A G ; 配列番号 109 であり、リバーズ配列は、T T T G A A C C G G T T T A C G A C G A ; 配列番号 110 であった。R T - q P C R は、 $1.6 ^\circ \text{C} / \text{s}$ の q P C R 増幅ランプ並びに次の条件 : 1) $48 ^\circ \text{C}$ で 30 分、2) $95 ^\circ \text{C}$ で 10 分、3) $95 ^\circ \text{C}$ で 15 秒、4) $60 ^\circ \text{C}$ で 1 分、5) ステップ 3 ~ 4 を反復 40 ×、6) $95 ^\circ \text{C}$ で 15 秒、7) $60 ^\circ \text{C}$ で 1 分、8) $0.15 ^\circ \text{C} / \text{s}$ へのランプ変更、9) $95 ^\circ \text{C}$ で 1 秒を用いて実施した。解析 (T h e r m o F i s h e r S c i e n t i f i c , Q u a n t S t u d i o D e s i g n a n d A n a l y s i s) ソフトウェアを用いて、R T - q P C R データを解析した。
【0584】

B C R - 4 遺伝子に対する P N A のマイクロインジェクションは、B C R - 4 の発現低下を引き起こした

マイクロインジェクションにより送達された B C R - 4 に対する P N A が、アブラムシにおける B C R - 4 遺伝子発現の低下を引き起こすか否かを試験するために、アブラムシに水 (対照) 又は B C R - 4 P N A を注入した。処理の 7 日後、各処理群のアブラムシから R N A を抽出し、R T - q P C R を実施した。水をマイクロインジェクションしたアブラムシは、B C R - 4 P N A を注入したアブラムシと比較して、B C R - 4 の約 2 倍高い発現を有し (図 6)、これは、B C R - 4 P N A の注入が、B C R - 4 のノックダウンを引き起こしたことを示している。
【0585】

B C R - 4 に対する P N A による処理は、アブラムシ死亡率を増加した

処理の間、アブラムシの生存率も測定した。実験期間中ほとんどの時点で、B C R - 4 に対する P N A を注入したアブラムシと比較して、生存する対照 (水を注入) アブラムシの方が多かった (図 7)。これらのデータは、B C R - 4 に対する P N A を注入すると、

10

20

30

40

50

生存率に若干の低下があったことを示した。

【0586】

BCR-4に対するPNAによる処理は、アブラムシの繁殖力を低下させた

実験期間中、各処理群のアブラムシから産生された子孫の数も評価し、繁殖力は、評価した各時点で成虫1匹当たり産生された子孫の数として表した。全体的に、BCR-4に対するPNAを注入したアブラムシと比較して、対照（水を注入）アブラムシの方が多数の子孫を産生する傾向があった。具体的には、処理から3及び7日後、水処理群のアブラムシは、平均5匹の子孫／成虫を産生したのに対し、BCR-4 PNA処理群のアブラムシは、4匹の子孫／成虫しか産生しなかった（図8）。これらのデータは、BCR-4 PNAでの処理が、アブラムシ繁殖力の若干の低下を招いたことを示した。

10

【0587】

葉の灌流実験計画：

アブラムシ（LSR-1株、アキルトシフォン・ピスム（*Acyrtosiphon pisum*））を環境制御されたインキュベーター（16時間明期／8時間暗期の光周期； $60 \pm 5\% \text{ RH}$ ； $25 \pm 2^\circ \text{C}$ ）においてソラマメ植物（Johnny's Selected Seedsからのプロマソラマメ（*Vicia faba*））上で育てた。アブラムシの飼育に使用する前に、ソラマメ植物は、鉢植えのための土において 24°C で16時間明期及び8時間暗期で成長させた。母性効果又は植物間の健康の差を抑制するため、異なる植物からの5～10匹の成虫を10本の2週齢植物に分配し、高密度になるまで5～7日間増殖させた。実験のために、健康植物から1及び2齢アブラムシを採集し、2つの異なる処理群に分割した：1）水で灌流した葉を摂餌させた群、及び2）BCR-4 PNA水溶液で灌流した葉を摂餌させた群。

20

【0588】

CPPに融合したBCR-4 PNAを本明細書に記載の通りに合成した（マイクロインジェクション送達実験計画 BCR-4 PNA合成を参照）。

【0589】

各々の葉の灌流のために、約1mlの水（陰性対照）又は1uMのBCR-4 PNA溶液をソラマメの葉に注入した。次に、葉の莖を1.5mlエッペンドルフ試験管内に配置し、これをパラフィルムで密封した。次に、葉莖をペトリ深皿（Fisher Scientific, カタログ番号FB0875711）内に配置し、アブラムシを植物の葉に載せ、摂餌させた。古い葉は、実験全体を通して、2～3日毎に新しく注入した新しい葉に取り替えた。各処理のために、60匹のアブラムシを各葉に配置した。アブラムシを生存について毎日モニターし、死んだアブラムシは見つけ次第除去した。更に、実験全体を通して、発育段階（1齢、2齢、3齢、4齢、及び5齢）を毎日決定した。

30

【0590】

処理から5及び6日後、各処理群の死んだアブラムシからDNAを抽出した。手短には、6%漂白剤溶液中にアブラムシを約5秒間浸漬することにより、アブラムシの虫体表面を滅菌した。次に、アブラムシを滅菌水ですすいでから、DNA抽出キット（Qiagen DNeasy kit）を用い、製造者の指示に従って個々のアブラムシからDNAを抽出した。ナノドロップ核酸定量を用いて、DNA濃度を測定し、qPCRによりブフネラ属（*Buchnera*）及びアブラムシDNAコピー数を測定した。ブフネラ属（*Buchnera*）に使用したプライマーは、Buch__groES__18F（CATGATCGTGTTGCTTGTAAAG；配列番号101）及びBuch__groES__98R（CTGTTCTCTCGAGTCGATTTTCC；配列番号102）（Chong and Moran, 2016 PNAS）であった。アブラムシに用いたプライマーは、ApEF1a_107F（CTGATTGTGCCGTGCTTATTG；配列番号103）及びApEF1a_246R（TATGGTGGTTTCAGTAGAGTCC；配列番号104）（Chong and Moran, 2016 PNAS）であった。qPCRは、 1.6°C/s のqPCR増幅ランプ並びに次の条件：1） 95°C で10分、2） 95°C で15秒、3） 55°C で30秒、4）ステップ2～3を反復40×、5） 95°C で15秒、

40

50

6) 55℃で1分、7) 0.15℃/sへのランプ変更、8) 95℃で1秒を用いて実施した。解析 (Thermo Fisher Scientific, QuantStudio Design and Analysis) ソフトウェアを用いて、qPCRデータを解析した。

【0591】

処理から7日後、生きたアブラムシからRNAを抽出し、前述のように (マイクロインジェクション送達実験計画を参照) RT-pPCRを実施して、BCR-4の発現を定量する。

【0592】

BCR-4 PNAによる葉の灌流処理は、アブラムシ発育の進行を遅らせた

10

葉の灌流実験計画で定義した通りに、LSR-1 齢及び2 齢アブラムシを2つの群に分割した。アブラムシを毎日モニターし、各発育段階のアブラムシの数を決定した。実験期間中いくつかの時点で、BCR-4 PNAで処理したアブラムシでは発育が遅れた。例えば、処理後2日目に、水で灌流した葉を摂食したアブラムシの約19%は3 齢段階であった (図9)。対照的に、BCR-4 に対するPNAで灌流した葉を摂食したアブラムシのわずか8%が3 齢段階であった。これらのデータは、BCR-4 に対するPNAによる処理が、アブラムシの発育を遅らせたことを示した。

【0593】

BCR-4 PNAによる葉の灌流処理は、アブラムシの死亡率を増加した

20

処理期間全体を通して、生存もモニターした。処理から7日後までに、水 (対照) 処理群のアブラムシの約53%が生き延びた (図10)。対照的に、PNA BCR-4 処理群のアブラムシの30%しか7日目に生存していなかった (図10)。これらのデータは、BCR-4 に対するPNAによる処理が、アブラムシ死亡率の増加をもたらしたことを示した。

【0594】

BCR-4 PNAによる葉の灌流処理は、アブラムシ中のブフネラ属 (Buchnera) 力価を増加した

葉の灌流によって送達されたBCR-4 PNAが、特異的にアブラムシ中のブフネラ属 (Buchnera) への影響を引き起こしたか否か、そしてこれが、アブラムシ適応度に影響したことを試験するために、処理から5 及び6 日後に各処理群の死んだアブラムシからDNAを抽出し、qPCRを実施して、各処理群のブフネラ属 (Buchnera) 力価を決定した。水で灌流した葉を摂食したアブラムシは、約20のブフネラ属 (Buchnera) /アブラムシコピーの平均比を有したのに対し、BCR-4 に対するPNAを灌流した葉を摂食したアブラムシは、実質的に高いブフネラ属 (Buchnera) /アブラムシコピー (約57) を有した (図11 参照)。これらのデータは、BCR-4 に対するPNAによる処理が、ブフネラ属 (Buchnera) 力価の不均衡を招くことを示す。

30

【0595】

葉の灌流を介してBCR-4 に対するPNAによる処理は、BCR-4 をノックダウンした

BCR-4 発現が、BCR-4 に対するPNAを灌流した葉を摂食したアブラムシにおいて低減したか否かを評価するために、処理から7 日後に生存アブラムシからRNAを単離し、RT-qPCRを実施した。BCR-4 に対するPNAで処理したアブラムシのBCR-4 の転写物レベルの中央値は、水だけで処理したアブラムシの約3 倍低く (図12)、BCR-4 に対するPNAが、BCR-4 発現をノックダウンしたことが確認された。

40

【0596】

総合すると、これらのデータは、バクテリオサイト (BCR-4) で発現される遺伝子を標的として、共生ブフネラ属 (Buchnera) の個体群を制御することにより、アブラムシを殺傷し、アブラムシの発育、繁殖力、及び寿命 (例えば、適応度) をPNAで処理することにより低減することができることを実証した。

【0597】

50

実施例 19：バクテリオサイトトランスポータに対する dsRNA の溶液で処理したアブラムシ

本実施例は、二本鎖 RNA (dsRNA) によるアブラムシの処理が、アブラムシ、即ち、アキルトシフォン・ピスム (*Acyrtosiphon pisum*) 中のバクテリオサイトにおいて同定されているグルタミントランスポータ 1 遺伝子 (ApGLNT1) などの一部の必須遺伝子のノックダウンを引き起こしたことを実証する。グルタミントランスポータは、アブラムシ血リンパからバクテリオサイトへのグルタミン取込みを担っており、バクテリオサイトには偏性内部共生体、ブフネラ・アフディコラ (*Buchnera aphidicola*) が存在する。ホロビオン (Holobiont) (*A. pisum*) 及びブフネラ属 (*Buchnera*) の複合生合成能力は、アブラムシ単独では合成することができないアミノ酸を含め、20 のタンパク質コード配列アミノ酸全ての生合成に十分である。グルタミントランスポータを不活性化又は抑制する (例えば、dsRNA により RNAi を) ことによって、取り込まれたグルタミンを遮断すると、バクテリオサイト及びアブラムシ全体のアミノ酸及びタンパク質合成にマイナスに作用し、これにより、それらの適応度にもマイナスに影響する。

【0598】

治療計画

5 齢 LSR-1 アブラムシをマイクロインジェクションした。注入液は、dd-水 (陰性対照) 又は様々な濃度で dd-水に希釈された dsRNA のいずれかであった (8 又は 60 ng/アブラムシ; 以下を参照)。

【0599】

アブラムシの飼育及び維持

アブラムシ LSR-1 (これは、ブフネラ属 (*Buchnera*) のみを含む)、*A. pisum* (*A. pisum*) を、環境制御されたインキュベーター (16 時間明期/8 時間暗期の光周期; $60 \pm 5\% \text{ RH}$; $25 \pm 2^\circ \text{C}$) においてソラマメ植物 (Johnny's Selected Seeds からのプロマソラマメ (*Vicia faba*)) 上で育てた。アブラムシの飼育に使用する前に、ソラマメ植物は、鉢植えのための土において 24°C で 16 時間明期及び 8 時間暗期で成長させた。母性効果又は植物間の健康の差を抑制するため、異なる植物からの 5~10 匹の成虫を 10 本の 2 週齢植物に分配し、高密度になるまで 5~7 日間増殖させた。実験のため、健康植物から 5 齢アブラムシを採集し、2 つの異なる処理群に分割した: 1) 水 (陰性対照) 又は 2) ApGLNT1 に対する dsRNA (本明細書に示す濃度)。

【0600】

マイクロインジェクション送達実験計画

NanoJet III オートナノリットルインジェクタを使用して、インハウスの熱引きしたハウケイ酸ニードル (Drummond Scientific; カタログ番号 3-000-203-G/XL) でマイクロインジェクションを実施した。絵筆を用いて、アブラムシを真空中に接続されたチュービングシステムに移し、このシステムは、マイクロインジェクションの間、アブラムシを特定の位置に保持した。注入部位は、アブラムシの腹側胸部であった。注入容積は、成虫の場合、2 nl/秒の速度で 20 nl であった。各処理群は、採集植物の各々からほぼ同じ数の注入された個体を有した。

【0601】

注入後、ペトリ皿内のソラマメの葉の上にアブラムシを放すが、ソラマメの茎は、1 ml の水を充填したエペンドルフ試験管中にあった。アブラムシの生存を毎日モニターし、死んだアブラムシは見つけ次第、除去した。各群からの子孫の数をカウントし、各時点でアブラムシ 1 匹当たり産生された子孫 (F1) の数として繁殖力を測定した。

【0602】

選択実験では、子孫の発育段階 (1 齢、2 齢、3 齢、4 齢、及び 5 齢) を毎日記録することにより、各処理群からの子孫の群の発育を測定した。発育はまた、採集から 4 日後にアブラムシを画像化し、それらの面積を決定することによっても測定した。dsRNA を

合成するためのテンプレートは、mRNAから逆転写されたcDNAであった。1匹の5齢A.ピスム（*A. pisum*）（LSR-1株）からRNAを抽出し、Nanodrop（Thermo Fisher Scientific）により定量した。Surper script IVキット（Thermo Fisher Scientific）を用い、製造者のプロトコルに従って、約100 µgの全RNAをテンプレートとして逆転写反応に添加する。

【0603】

dsRNAのテンプレートを増幅するために、cDNAを100倍希釈し、次のPCRで使用する。PCR反応（25 µL最終容積）は、12.5 µLのGo Taq Green 2×ミックス（Promega）、0.2 µLのフォワードプライマー（表12）、0.2 µLのリバースプライマー（表12）、及び12.1 µLの100倍希釈cDNAを含有する。PCR反応は、以下の条件を用いて実施した：1）95℃で2分、2）95℃で20秒、3）55℃で15秒、4）72℃で30秒、5）ステップ2～4の反復35×、6）72℃で5分。PCR増幅された産物のサイズは、1.5%アガロース上での電気泳動により確認し、予想サイズのバンドを切断して、QIAquick DNA精製キット（Qiagen）により精製した。T7 MEGAscriptキット（Ambion, Thermo Fisher Scientific；カタログ番号AM1334）を用い、製造者のプロトコルに従ってdsRNAをインビトロで合成した。dsRNAの濃度は、Nanodrop（Thermo Fisher Scientific）により測定した。

【0604】

【表108】

表 12: dsRNA 合成のためのアクセッション番号及びプライマー

遺伝子	遺伝子 ID	フォワードプライマー	リバースプライマー
ApGLNT1	ACYPI001018	TAATACGACTCACTATAGGG CAATTACAAAAGGACGGCA G (配列番号 111)	TAATACGACTCACTATAG GGCCGCTCTAGGAACACC GTAT (配列番号 112)

【0605】

処理後の表示時点で、DNA及び／又はRNAを各処理群のアブラムシから抽出した。手短には、6%漂白剤溶液中にアブラムシを約5秒間浸漬することにより、アブラムシの虫体表面を滅菌した。次に、アブラムシを滅菌水ですすいでから、DNA又はRNA抽出キット（Qiagen、それぞれ、DNeasy又はmiRNeasy キット）のいずれかを用い、製造者の指示に従って個々のアブラムシからDNA又はRNAを抽出した。ナノドロップ核酸定量を用いて、DNA及びRNA濃度を測定した。qPCRによりブフネラ属（*Buchnera*）及びアブラムシDNAコピー数を測定した。ブフネラ属（*Buchnera*）に使用したプライマーは、Buch__groES__18F（CATGATCGTGTTGCTTGTTAAG；配列番号101）及びBuch__groES__98R（CTGTTCTCTCGAGTCGATTTCC；配列番号102）（Chong and Moran, 2016 PNAS）であった。アブラムシに用いたプライマーは、ApEF1a 107F（CTGATTGTGCGGTGCTTATTG；配列番号103）及びApEF1a 246R（TATGGTGGTTTCAGTAGAGTCC；配列番号104）（Chong and Moran, 2016 PNAS）。qPCRを1.6℃/sのqPCR増幅ランプ及び以下の条件を用いて実施した：1）95℃で10分、2）95℃で15秒、3）55℃で30秒、4）ステップ2～3を40回繰り返す、5）95℃で15秒、6）55℃で1分、7）ランプを0.15℃/sに変更、8）95℃で1秒。分析（Thermo Fisher Scientific、QuantStudio Design and Analysis）ソフトウェアを使用してqPCRデータを分析した。ApGLNT1相対発現をRT-qPCRにより測定した。ApGLNT1に使用

したプライマーは、ACYP1001018-fwd (CCTGAAATCGACGGGGTCC; 配列番号113) 及びACYP1001018-rev (AGATCGGCAACATCTGTTCTGT; 配列番号114) (いずれもNCBIピックアッププライマーにより設計される) であった。内部参照遺伝子は、アクチン (ハウスキーピング遺伝子) であった。アクチンに使用したプライマーは、アクチン-F (GATCAGCAGCCACACACAAG; 配列番号109) 及びアクチン-R (TTTGAACCGGTTTACGACGA; 配列番号110) であった。RT-qPCRは、1.6°C/sのqPCR増幅ランプ並びに次の条件: 1) 48°Cで30分、2) 95°Cで10分、3) 95°Cで15秒、4) 60°Cで1分、5) ステップ3~4を反復40×、6) 95°Cで15秒、7) 60°Cで1分、8) 0.15°C/sへのランプ変更、9) 95°Cで1秒を用いて実施した。解析 (Thermo Fisher Scientific, QuantStudio Design and Analysis) ソフトウェアを用いて、RT-qPCRデータを解析した。

【0606】

dsRNAのマイクロインジェクションは、アブラムシのバクテリオサイトトランスポータ遺伝子発現をノックダウンした

予備実験で、アブラムシへのdsRNAの注入が、遺伝子発現の低減を引き起こしたか否かを評価した。成虫アブラムシに、8 ngのdsRNA又は水 (陰性対照として) を注入した。注入から2日後に、各処理群に残ったアブラムシからRNAを抽出し、RT-qPCRを実施して、ApGLNT1の発現を定量した。陰性対照溶液 (水) をマイクロインジェクションしたアブラムシは、ApGLNT1遺伝子の高い相対発現を有した。対照的に、ApGLNT1のdsRNAをマイクロインジェクションしたアブラムシ成虫は、顕著で、しかも有意なApGLNT1遺伝子発現の低減を有した (図13) が、このことは、dsRNAマイクロインジェクション処理が、ApGLNT1遺伝子の発現を低減したことを示している。

【0607】

dsRNA-ApGLNT1のマイクロインジェクションは、アブラムシ死亡率の増加をもたらした

昆虫適応度に対するdsRNA-ApGLNT1マイクロインジェクションの作用を評価するために、LSR-1 5齢アブラムシに、60 ngのdsRNAを注入し、生存を5日間モニターした。注入から3日後、水を注入したアブラムシの約72%が生きていた (図14)。対照的に、dsRNAを注入したアブラムシの52%しか生きていなかった (図14)。注入後4及び5日目には、dsRNA注入群と比較して、水注入群には有意に多くの生きたアブラムシがいた。水注入アブラムシは、4及び5日目にそれぞれ、約62%及び51%が生きていたのに対し、dsRNA注入アブラムシは、4及び5日目にそれぞれ、30%及び12.5%しか生きていなかった (図14)。これらのデータは、ApGLNT1に対するdsRNAが、水注入対照と比較して、有意に ($p=0.0004$) アブラムシ死亡率を高めたことを示した。

【0608】

dsRNA-ApGLNT1のマイクロインジェクションは、ブフネラ属 (Buchnera) 力価の減少をもたらした

生存及び適応度の低下が、内部共生体の数の減少によるものであったか否かを試験するために、注入から5日後に生きたアブラムシからDNAを抽出し、qPCRを実施して、アブラムシに存在するブフネラ属 (Buchnera) の量を定量した。水をマイクロインジェクションしたアブラムシは、約11のブフネラ属 (Buchnera) /アブラムシコピーの平均比を有した (図15)。対照的に、ApGLNT1に対するdsRNAを注入したアブラムシは、約1.28倍低いブフネラ属 (Buchnera) /アブラムシコピーを有した (図15)。これらのデータは、dsRNA-ApGLNT1のマイクロインジェクションが、ブフネラ属 (Buchnera) 力価の減少を引き起こし、これが、アブラムシ適応度の低下を招いたことを示す。

10

20

30

40

50

【0609】

dsRNA-ApGLNT1をマイクロインジェクションしたアブラムシの子孫では発育が遅れた

注入後3日目に、各処理群からの40匹の子孫(初齢)をそれら自身の人工食(パラフィルムで密封された1.5mLエッペンドルフ試験管中に導入されたソラマメ葉茎を含むペトリ皿)に移し、時間経過による発育をモニターした。全体として、dsRNA-ApGLNT1を注入した成虫から取り出した子孫では発育が遅れた。子孫の移動後4日目までに、水を注入したアブラムシからの子孫の約22.5%が、5齢段階に達し始めた(図4A)。対照的に、4日目に、dsRNA-ApGLNT1を注入した成虫からの子孫の7.5%しか5齢段階に達しなかった(図16A)。更に、4日目に、各群のアブラムシ各々を画像化することにより、アブラムシの面積を測定した。水注入成虫からの子孫の平均サイズが、0.55mm²であったのに対し、dsRNA-ApGLNT1注入成虫からの子孫は、有意に小さく($p=0.009$)、平均0.4mm²であった(図16B)。これらのデータは、dsRNA-ApGLNT1による成虫の処理によって、著しく発育が遅れた子孫をもたらしたことを示した。

10

【0610】

実施例20：トランスジェニック植物を用いたアブラムシの処理によって昆虫共生体ホメオスタシスを不安定化させるための複数の経路を標的とするdsRNAを発現するトランスジェニック植物の作製

本実施例は、タバコ(*Nicotiana tabacum*)を遺伝子修飾して、昆虫-共生体ホメオスタシスに影響を与える目的でアブラムシに送達するためのdsRNAを作製することができることを実証する。植物にプラスミドを運ぶトランスジェニックアグロバクテリウム・ツメファシエンス(*Agrobacterium tumefaciens*)を用いて、タバコ(*Nicotiana tabacum*)においてdsRNAを安定に発現する遺伝子構築物を植物に送達する。

20

【0611】

実験計画

アブラムシとそれらの偏性共生細菌のブフネラ属(*Buchnera*)との共生関係に重要である複数の経路のノックダウンのために、いくつかの遺伝子が標的とされる。具体的には、バクテリオサイトのグルタミントランスポータ(*Glnt1*)、ウルトラバイソラックス(*Ubx*)、βアラニンシンターゼ(*bAS*)、及びカクタス(*Cact*)を標的とする。*Glnt1*は、バクテリオサイトへのグルタミンの輸入のために用いられるグルタミントランスポータであり、グルタミンの下流の産物は、ブフネラ属(*Buchnera*)による必須アミノ酸の合成に不可欠である。*Ubx*は、アブラムシの発育全般、並びにブフネラ属(*Buchnera*)を収容するバクテリオサイトの形成の両方に関連する遺伝子である。*bAS*は、ブフネラ属(*Buchnera*)によるビタミンB5の合成のための前駆体であるβアラニンを合成するために必要なアブラムシ遺伝子である。*Cact*は、アブラムシにおける一次免疫経路である*Toll*経路の負の調節因子である。*Cact*のレベルが低下すると、全身免疫応答が下方制御されて、ブフネラ属(*Buchnera*)レベルの調節異常を引き起こし得る。

30

40

【0612】

dsRNA発現カセットを含むプラスミドの作製：

大腸菌(*E. coli*)及びA. ツメファシエンス(*A. tumefaciens*)間のシャトルベクターを用いて、dsRNA発現配列の上流にカリフラワーモザイクウイルス35Sプロモータ(*pCaMV 35S*)を含むdsRNA発現カセットを運搬する。dsRNA発現配列は、センス配列と、それに続き、小ヘアピンループ配列により結合された標的アブラムシ遺伝子の領域のアンチセンス配列とを含む(図17)。

【0613】

次に、dsRNA発現カセットを、大腸菌(*E. coli*)及びA. ツメファシエンス(*A. tumefaciens*)のシャトルベクター中に配置する(図18)。プラスミ

50

ドはまた、カナマイシン及びゲンタマイシン耐性カセットも含み、これらを選択マーカとして使用することができる。ランナウェイ (runaway) 転写を排除するために、dsRNA発現転写物の後に転写終結配列を配置する。

【0614】

各種遺伝子 (GlnT1、Ubx、bAS、及びCact) のdsRNA発現配列を、Gibsonアセンブリを介してベクターに導入することができる。最初に、プラスミド内の隣接領域とマッチするオーバーハングを含むセンス及びアンチセンスアンプリコンを、PCRで適切なプライマーを用いて作製する。具体的には、センス鎖の左オーバーハングは、pCMV 35Sに対する相同性の領域 (約30bp) を有し、アンチセンス鎖の右オーバーハングは、35Sターミネータ領域に対する相同性の領域 (約30bp) を有する。センス鎖の右オーバーハングとアンチセンス鎖の左オーバーハングは、小さなヘアピン領域 (acacgt、配列番号115) の含有により、互いの重複部分を有することになる。アンプリコンを作製するためのプライマー配列を表13に示す。

【0615】

10

20

30

40

50

【表 109】

表 13: A.ピスム(A.pisum)遺伝子に対するヘアピン dsRNA 配列を作製する目的で Gibson アセンブリ用のアンプリコンを作製するためのプライマーのリスト。各標的遺伝子の領域は、Gibson アセンブリ用のプラスミド骨格と相同性のフランキング領域を有するセンス又はアンチセンスとして増幅されることになる。

プライマー名	プライマー配列
ApGlnT1 センス fwd	ctacaaatctatctctcctaggCAATTACAAAAGGACGGCAG (配列番号 116)
ApGlnT1 センス rev	ttacaaactgggaagaacctggagacgtgCCGCTCTAGGAACACCGTAT (配列番号 117)
ApGlnT1 アンチセンス fwd	ttacaaactgggaagaacctggagacgtcCCGCTCTAGGAACACCGTAT (配列番号 118)
ApGlnT1 アンチセンス rev	agaaactagagcttgcgatcgtaattaaCAATTACAAAAGGACGGCAG (配列番号 119)
ApUbx センス fwd	ctacaaatctatctctcctaggTTTTACCGTCACAGGCATCA (配列番号 120)
ApUbx センス rev	acgagtgcgaagtcctagccagacgtgTCGTGCTCGTTACCAAATGT (配列番号 121)
ApUbx アンチセンス fwd	acgagtgcgaagtcctagccaacacgtcTCGTGCTCGTTACCAAATGT (配列番号 122)
ApUbx アンチセンス rev	agaaactagagcttgcgatcgtaattaaTTTTACCGTCACAGGCATCA (配列番号 123)
ApbAs センス fwd	ctacaaatctatctctcctaggGGTGTCAACATCGAGACGTT (配列番号 124)
ApbAs センス rev	aaaaaccacatacctcgagtgggacgtgCATGACTCTGGCAGTTGAAGTT (配列番号 125)
ApbAs アンチセンス fwd	aaaaaccacatacctcgagtgggacacgtcCATGACTCTGGCAGTTGAAGTT (配列番号 126)
ApbAs アンチセンス rev	agaaactagagcttgcgatcgtaattaaGGTGTCAACATCGAGACGTT (配列番号 127)
Apcactus センス fwd	ctacaaatctatctctcctaggGTCGTCGTCGTCGTCGTAGT (配列番号 128)
Apcactus センス rev	accaaattgccttggacagtgggacgtgGCACGCACGGAAAACATTTA (配列番号 129)
Apcactus アンチセンス fwd	accaaattgccttggacagtggacacgtcGCACGCACGGAAAACATTTA (配列番号 130)
Apcactus アンチセンス rev	agaaactagagcttgcgatcgtaattaaGTCGTCGTCGTCGTCGTAGT (配列番号 131)

【0616】

10

20

30

40

50

【表 1 1 0】

表 14: モモアカアブラムシ(*Myzus persicae*)遺伝子に対するヘアピン dsRNA 配列を作製する目的で Gibson アセンブリ用のアンプリコンを作製するためのプライマーのリスト。各標的遺伝子の領域は、Gibson アセンブリ用のプラスミド骨格と相同性のフランキング領域を有するセンス又はアンチセンスとして増幅されることになる。

プライマー名	プライマー配列
MpGlnT1 センス fwd	ctacaaatctatctctctagTTGGAAGGGATTGGTGTGTAATGCC (配列番号 132)
MpGlnT1 センス rev	ttacaaactgggaagaacctggagacgtgTTCCAGGTTCTTCCCAGTTTGTAACTAGATCG (配列番号 133)
MpGlnT1 アンチセンス fwd	ttacaaactgggaagaacctggaacacgtcTCCAGGTTCTTCCCAGTTTGTAACTAGATCG (配列番号 134)
MpGlnT1 アンチセンス rev	agaaactagagcttgatcgatcgtaattaaTTGGAAGGGATTGGTGTGTAATGCC (配列番号 135)
MpUbx センス fwd	ctacaaatctatctctctagTCGTGTGGAGCAAGTACAGCG (配列番号 136)
MpUbx センス rev	acgagtgtggaagtcctagccagacgtgTGGCTAGGGACTTCAGCACTCG (配列番号 137)
MpUbx アンチセンス fwd	acgagtgtggaagtcctagccacacgtcTGGCTAGGGACTTCAGCACTCG (配列番号 138)
MpUbx アンチセンス rev	agaaactagagcttgatcgatcgtaattaaTCGTGTGGAGCAAGTACAGCGG (配列番号 139)
MpbAs センス fwd	ctacaaatctatctctctagGAGGAAGTCCAACTGCCAGAGTCATG (配列番号 140)
MpbAs センス rev	aaaaaccacatacctcagtgaggacgtgTCCACTCGAGGTATGTGGTTTTTCCTATG (配列番号 141)
MpbAs アンチセンス fwd	aaaaaccacatacctcagtgaggacacgtcTCCACTCGAGGTATGTGGTTTTTCC (配列番号 142)
MpbAs アンチセンス rev	agaaactagagcttgatcgatcgtaattaaGAGGAAGTCCAACTGCCAGAGTCATG (配列番号 143)
Mpcactus センス fwd	ctacaaatctatctctctagTACACCCATTGTGTGCACCTGAGTAC (配列番号 144)
Mpcactus センス rev	accaaattgccttgacagtgaggacgtgTCCACTGTCCAAGGCAATTTTGTTG (配列番号 145)
Mpcactus アンチセンス fwd	accaaattgccttgacagtgaggacacgtcTCCACTGTCCAAGGCAATTTTGTTG (配列番号 146)
Mpcactus アンチセンス rev	agaaactagagcttgatcgatcgtaattaaTACACCCATTGTGTGCACCTGAGTAC (配列番号 147)

【0 6 1 7】

センス及びアンチセンスアンプリコンを作製したら、プラスミドを二重消化して、pC a M V 3 5 S の終点及び3 5 Sターミネータの開始点にオーバーハングを作製する。消化されたプラスミド（センス）及びアンチセンスアンプリコンを、Gibsonアセンブリキット（SGI Gibson Assembly kitなど）を用いて、Gibsonアセンブリと一緒にアセンブリングする。次に、大腸菌（*E. coli*）（DH5α、エレクトロコンピテント細胞）をプラスミドで形質転換して、50mg/mlのカナマイシンを含有するLBプレート上で増殖させる。耐性コロニーを用いて、dsRNA発現カセットを含むプラスミドを回収する。プラスミドは、4つの異なる挿入片の各々についてpGlnT1dsRNA、pUbxdsRNA、pBASdsRNA、及びpCactdsRNAと称される。これらのプラスミドを用いて、エレクトロポレーションにより、A. ツメファシエンス（*A. tumefaciens*）を形質転換する。カナマイシン（50mg/ml）及びゲンタマイシン（50mg/ml）を含有するLB培地上での選択時に、耐性コロニーを単離し、選択プレート上に維持する。

【0 6 1 8】

タバコ（*N. tabacum*）に浸透させた形質転換A. ツメファシエンス（*A. tum*

e f a c i e n s) :

形質転換 A. ツメファシエンス (A. t u m e f a c i e n s) は、選択抗生物質を含む LB 培地で、OD 600 が 0.6 になるまで一晩増殖させた。細胞をペレット化し、浸透媒体 (10 mM MES、150 μ M アセトシリゴン、及び 10 mM $MgCl_2$ 、pH 5.5) に再懸濁させ、0.6 の OD 600 まで調節した。細胞を室温で 2~4 時間インキュベートした。細胞懸濁液を健康なタバコ (N. t a b a c u m) の葉に浸透させた。浸透処理は、葉の裏側に 1 mL シリンジの平滑な開放端を配置し、細胞懸濁液を葉に押し入れることにより達成した。浸透領域は、未処理の領域から容易に識別され、マーカで明瞭に境界を示した。次に、植物を被覆して、24 時間にわたり高湿環境を形成した。

【0619】

葉は緑色蛍光タンパク質を発現し、1~2 日後に落射蛍光顕微鏡下で視覚化した (図 19 を参照)。A. ツメファシエンス (A. t u m e f a c i e n s) によって植物に移入される遺伝子材料は、緑色蛍光 (GFP) 発現カセットを含んでおり、これは、タバコ (N. t a b a c u m) 中で活性のコピキチンプロモータによって駆動された。dsRNA の発現の代わりに GFP の発現を使用することになる。

【0620】

dsRNA を発現するタバコ (N. t a b a c u m) の安定なクローンの作製

GFP の発現を示す、浸透させた葉を分離し、GFP を非常に強力に発現する中肋付近の葉の領域を切り取る。次に、この葉ディスクを、滅菌溶液 (2% 塩酸塩、0.01% t w e e n 20) を用いて攪拌により 10 分間完全に滅菌する。滅菌葉ディスクを発芽培地 (2.15 g/l のムラシゲ・スクーグ塩 (M u r a s h i g e a n d S k o o g s a l t s) (IAA、キネチン若しくはショ糖不含)、0.8% (w/v) 寒天、3.0% (w/v) ショ糖、0.1 mg/l のインドール酪酸、0.8 mg/l の 6-ベンジルアミノプリン、0.1 mg/l のカルベニシリン (C a r b e n i c i l l i n) 、0.2 mg/l のチカルシリン/クラブラン酸 (T i c a r c i l l i n / C l a v u l a n i c a c i d) 及び各自の FP 融合構築物を運搬するバイナリベクターに好適な選択) を含むペトリ皿上に、芽が出現するまで、25℃、16 時間: 8 時間の明: 暗周期で配置する。次に、新しい幼植物体を、発根培地 (2.15 g/l のムラシゲ・スクーグ塩 (M u r a s h i g e a n d S k o o g s a l t s) 、0.8% (w/v) 寒天、3.0% (w/v) ショ糖、0.5 mg/l のインドール酪酸、0.1 mg/l のカルベニシリン、0.2 mg/l のチカルシリン/クラブラン酸 (T i c a r c i l l i n / C l a v u l a n i c a c i d) を含むプレートに、根が出現するまで、25℃、16 時間: 8 時間の明: 暗サイクルで移す。これらの新しい植物は、それらを土に移すことができるように、更に大きな根を成長させる目的でフィタトレイ (p h y t a t r a y) に移す。GFP の発現は、安定な発現を全ての確実にするために新規のクローンで試験する。

【0621】

dsRNA を発現するタバコ (N. t a b a c u m) でアブラムシを飼育することによる dsRNA でのアブラムシの処理

アブラムシを環境制御されたインキュベーター (16 時間: 8 時間の明: 暗周期、60% 湿度、25℃) において 10 週齢タバコ (N. t a b a c u m) 植物上で育てる。母性効果又は植物間の健康の差を抑制するため、異なる植物からの 5~10 匹の成虫を 10 本の 2 週齢植物に分配し、高密度になるまで 5~7 日間増殖させる。実験のため、健康植物から 1 及び 2 齢アブラムシを採集し、2 つの異なる処理群に分割する: 1) dsRNA を発現する葉を摂餌させた群、及び 2) dsRNA を発現しない対照葉を摂餌させた群。

【0622】

各々の給餌実験のために、植物から葉を採取し、パラフィルムで密封した 1.5 mL エッペンドルフ試験管内に葉を配置する。葉茎をペトリ深皿 (F i s h e r S c i e n t i f i c 、カタログ番号 F B 0 8 7 5 7 1 1) 内に配置し、アブラムシを植物の葉に載せ、摂餌させる。古い葉は、実験全体を通して、2~3 日毎に新しく注入した新しい葉に取り替える。各処理のために、60 匹のアブラムシを各葉に配置する。アブラムシを生存に

10

20

30

40

50

ついて毎日モニターし、死んだアブラムシは見つけ次第除去する。更に、実験全体を通して、発育段階（1 齢、2 齢、3 齢、4 齢、及び 5 齢）を毎日決定する。

【0623】

処理から 5 及び 6 日後、各処理群からの死んだアブラムシから DNA を抽出する。手短には、6 % 漂白剤溶液中にアブラムシを約 5 秒間浸漬することにより、アブラムシの虫体表面を滅菌する。次に、アブラムシを滅菌水ですすいでから、DNA 抽出キット（Qiagen, DNeasy kit）を用い、製造者の指示に従って個々のアブラムシから DNA を抽出する。ナノドロップ核酸定量を用いて、DNA 濃度を測定し、qPCR によりブフネラ属（*Buchnera*）及びアブラムシ DNA コピー数を測定する。ブフネラ属（*Buchnera*）に使用するプライマーは、Buch__groES__18F（CAT GATCGTGTGCTTGTTAAG；配列番号 101）及び Buch__groES__98R（CTGTTCTCTCGAGTCGATTTCC；配列番号 102）（Chong and Moran, 2016 PNAS）である。アブラムシに用いるプライマーは、ApEF1a 107F（CTGATTGTGCGCGTGCTTATTG；配列番号 103）及び ApEF1a 246R（TATGGTGGTTTCAGTAGAGTCC；配列番号 104）（Chong and Moran, 2016 PNAS）である。qPCR は、1.6 °C/s の qPCR 増幅ランプ並びに次の条件：1）95 °C で 10 分、2）95 °C で 15 秒、3）55 °C で 30 秒、4）ステップ 2～3 を反復 40 ×、5）95 °C で 15 秒、6）55 °C で 1 分、7）0.15 °C/s へのランプ変更、8）95 °C で 1 秒を用いて実施する。解析（Thermo Fisher Scientific, QuantStudio 10

【0624】

処理から 7 日後、生きたアブラムシから RNA を抽出し、RT-pPCR を実施して、BCR-4 の発現を定量する。手短には、6 % 漂白剤溶液中にアブラムシを約 5 秒間浸漬することにより、アブラムシの虫体表面を滅菌する。次に、アブラムシを滅菌水ですすいでから、RNA 抽出キット（Qiagen miRNeasy kit）を用い、製造者の指示に従って個々のアブラムシから総 RNA を抽出する。ナノドロップ核酸定量を用いて、RNA 濃度を測定する。RT-qPCR により BCR-4 相対発現を測定する。使用するプライマーは、ApBCR-4F（CTCTGTCAACCAACCATGAGATTA；配列番号 107）及び ApBCR-4R（TGCAGACTACAGCACAAATAC TT；配列番号 108）である。内部参照遺伝子プライマーは、アクチン（ハウスキーピング遺伝子）用であった。フォワード配列は、GATCAGCAGCCACACACAA G；配列番号 109 であり、リバース配列は、TTTGAACCGGTTTACGACG A；配列番号 110 である。RT-qPCR は、1.6 °C/s の qPCR 増幅ランプ並びに次の条件：1）48 °C で 30 分、2）95 °C で 10 分、3）95 °C で 15 秒、4）60 °C で 1 分、5）ステップ 3～4 を反復 40 ×、6）95 °C で 15 秒、7）60 °C で 1 分、8）0.15 °C/s へのランプ変更、9）95 °C で 1 秒を用いて実施する。解析（Thermo Fisher Scientific, QuantStudio Design and Analysis）ソフトウェアを用いて、RT-qPCR データを解析した。40

【0625】

既述の実施例に示すように、dsRNA を発現する葉を摂餌したアブラムシは、対照葉で飼育したアブラムシと比較して、低い生存率を有し、発育が遅く、少ないブフネラ属（*Buchnera*）を含み、そして標的遺伝子発現が低減していることが予想される。

【0626】

総合すると、本明細書に記載されるこのデータは、アブラムシにおけるバクテリオサイトの必須遺伝子（例えば、グルタミントランスポータ ApGLNT1）を標的とする dsRNA を発現する植物でアブラムシを処理することによって、死滅させるか又はアブラムシの発育及び寿命（例えば、適応度）を低下させることができることを実証する。

【0627】

他の実施形態

前述の本発明は、理解を明確にするために説明及び例として幾らか詳細に記載されているが、そうした記載及び例が本発明の範囲を限定するものと解釈されてはならない。本明細書に引用される全ての特許及び科学文献の開示は、全体として参照により明示的に援用される。本開示は以下の実施形態を包含する。

[1] 昆虫の適応度を低下させる方法であって、d s RNAを含む有効量のポリヌクレオチドを前記昆虫に送達することを含み、前記 d s RNAは、それが投与されていない昆虫と比較して、前記昆虫における昆虫バクテリオサイト調節遺伝子又は昆虫免疫調節遺伝子の発現を低減する方法。

[2] 前記遺伝子が、前記バクテリオサイト特異的システインリッチタンパク質 B C Rファミリー由来のタンパク質、分泌タンパク質 S Pファミリー由来のタンパク質、B i c D（プロテインビカウダル（P r o t e i n b i c a u d a l）D）、C a c t（カクタス（c a c t u s））、D I F（ドーサル（D o r s a l）関連免疫因子）、T o l l（トール（T o l l）相互作用タンパク質）、又は i m d（免疫欠損タンパク質）からなる群から選択されるタンパク質をコードする、実施形態 1 に記載の方法。

[3] 前記遺伝子が、表 5、表 8、又は表 9 に挙げるタンパク質と少なくとも 90% のアミノ酸配列同一性、少なくとも 95% のアミノ酸配列同一性、又は 100% のアミノ酸配列同一性を有するタンパク質をコードする、実施形態 1 又は 2 に記載の方法。

[4] 前記 d s RNA が、前記昆虫の遺伝子の 10 ~ 30 ヌクレオチドと相補的である、実施形態 1 ~ 3 のいずれかに記載の方法。

[5] 前記方法が、前記昆虫の遺伝子の発現を阻害するのに有効である、実施形態 1 ~ 4 のいずれかに記載の方法。

[6] 前記方法が、前記薬剤が送達されていない昆虫と比較して、前記昆虫に常在する 1 種以上の微生物のレベル、多様性、又は代謝を低下させるのに有効である、実施形態 1 ~ 5 のいずれかに記載の方法。

[7] 前記 1 種以上の微生物が、ブフネラ属種（B u c h e n e r a s p p . ）である、実施形態 6 に記載の方法。

[8] 前記方法は、前記薬剤が送達されていない昆虫と比較して、前記昆虫の適応度を低下させるのに有効である、実施形態 1 ~ 7 のいずれかに記載の方法。

[9] 前記ポリヌクレオチドが、昆虫に対する送達のために製剤化された組成物として送達される、実施形態 1 ~ 8 のいずれかに記載の方法。

[10] 前記送達は、前記害虫が成長、生息、繁殖、摂餌、又は寄生する少なくとも 1 つの生息場所に前記ポリヌクレオチドを送達することを含む、実施形態 1 ~ 9 のいずれかに記載の方法。

[11] 前記送達が、農作物に前記ポリヌクレオチドを噴霧することを含む、実施形態 1 ~ 10 のいずれかに記載の方法。

[12] 前記ポリヌクレオチドが、前記昆虫による摂取のために昆虫が摂食可能な組成物として送達される、実施形態 1 ~ 11 のいずれかに記載の方法。

[13] 前記ポリヌクレオチドが、農業的に許容可能な担体と一緒に、液体、固体、エアゾール、ペースト、ゲル、又は気体組成物として製剤化される、実施形態 1 ~ 12 のいずれかに記載の方法。

[14] 前記昆虫が、アブラムシである、実施形態 1 ~ 13 のいずれかに記載の方法。

[15] 昆虫への送達用に製剤化された d s RNA を含むポリヌクレオチドを含む組成物であって、前記 d s RNA が、昆虫バクテリオサイト調節遺伝子又は昆虫免疫調節遺伝子の 15 ~ 30 ヌクレオチドと相補的である組成物。

[16] 前記遺伝子が、前記バクテリオサイト特異的システインリッチタンパク質 B C Rファミリー由来のタンパク質、分泌タンパク質 S Pファミリー由来のタンパク質、B i c D（プロテインビカウダル（P r o t e i n b i c a u d a l）D）、C a c t（カクタス（c a c t u s））、D I F（ドーサル（D o r s a l）関連免疫因子）、T o l l（トール（T o l l）相互作用タンパク質）、及び i m d（免疫欠損タンパク質）からなる

10

20

30

40

50

群から選択されるタンパク質をコードする、実施形態 15 に記載の組成物。

[17] 前記遺伝子が、表 5、表 8、又は表 9 に挙げるタンパク質と少なくとも 90 % のアミノ酸配列同一性、95 % のアミノ酸配列同一性、又は 100 % のアミノ酸配列同一性を有するタンパク質をコードする、実施形態 15 又は 16 に記載の組成物。

[18] 実施形態 15 ～ 17 のいずれかに記載の組成物の局所塗布を含む植物。

[19] そのゲノムに組換え DNA 構築物を有するトランスジェニック植物細胞であって、前記組換え DNA 構築物が、少なくとも 1 つの二本鎖 RNA 領域を含む RNA をコードする DNA に作動可能に連結した異種プロモータを含み、その少なくとも一方の鎖は、昆虫バクテリオサイト調節遺伝子又は昆虫免疫調節遺伝子の 15 ～ 30 ヌクレオチドと相補的であるヌクレオチド配列を含むトランスジェニック植物細胞。

10

[20] 前記遺伝子が、前記バクテリオサイト特異的システインリッチタンパク質 BCR ファミリー由来のタンパク質、分泌タンパク質 SP ファミリー由来のタンパク質、BicD (プロテインビカウダル (Protein bicaudal) D)、Cact (カクタス (cactus))、DIF (ドーサル (Dorsal) 関連免疫因子)、Toll (トール (Toll) 相互作用タンパク質)、及び imd (免疫欠損タンパク質) からなる群から選択されるタンパク質をコードする、実施形態 19 に記載のトランスジェニック植物。

[21] 前記遺伝子が、表 5、表 8、又は表 9 に挙げるタンパク質と少なくとも 90 % のアミノ酸配列同一性、95 % のアミノ酸配列同一性、又は 100 % のアミノ酸配列同一性を有するタンパク質をコードする、実施形態 19 又は 20 に記載の組成物。

20

【図面】

【図 1】

【図 2】

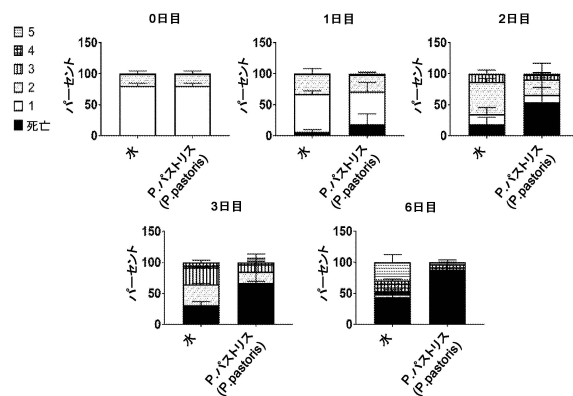


図 1

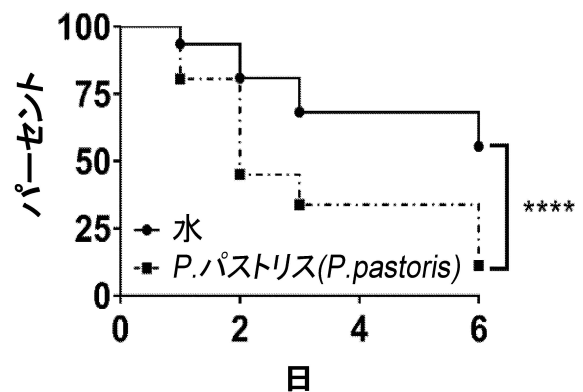


図 2

30

40

50

【図 3】

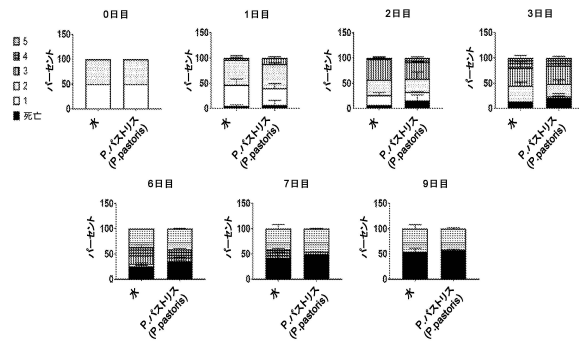


図 3

【図 4】

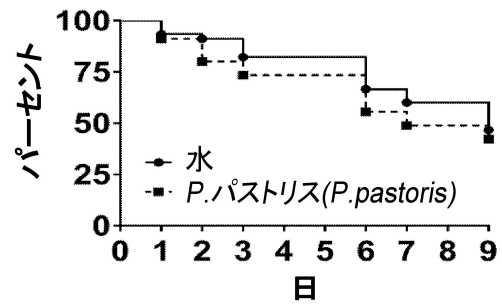


図 4

【図 5 A - 5 B】

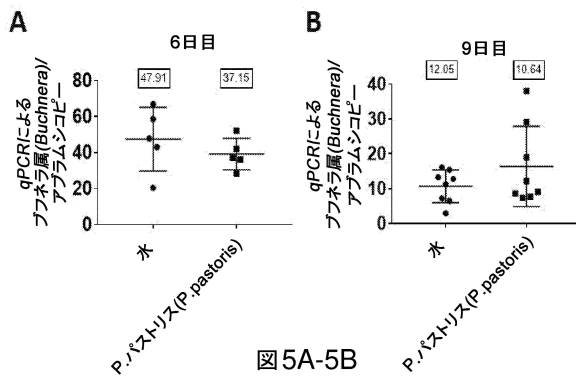


図 5A-5B

【図 6】

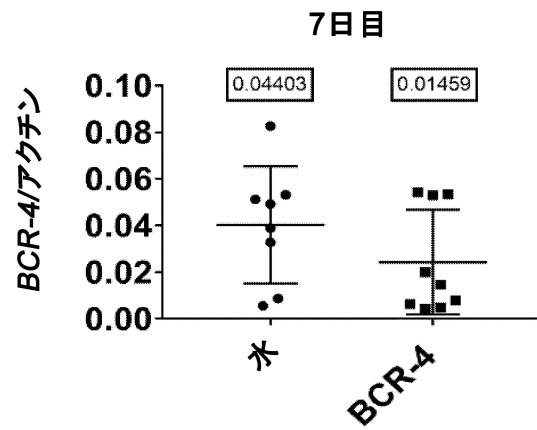


図 6

10

20

30

40

50

【図 7】

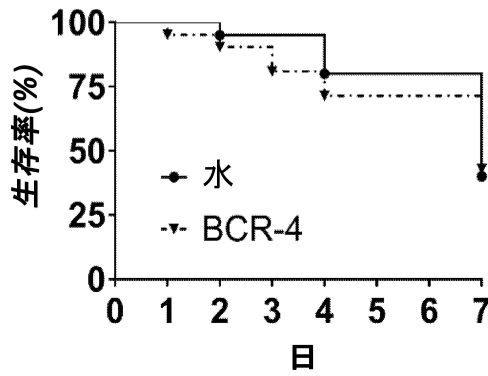


図 7

【図 8】

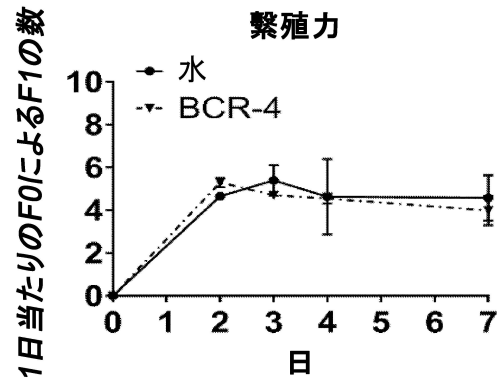


図 8

【図 9】

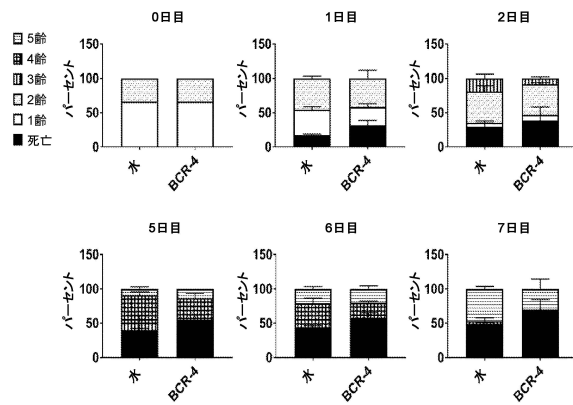


図 9

【図 10】

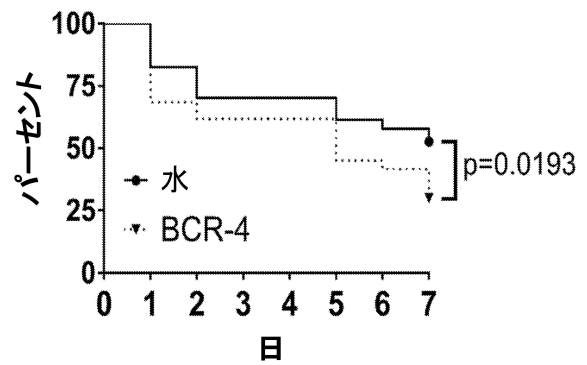


図10

10

20

30

40

50

【図 1 1】

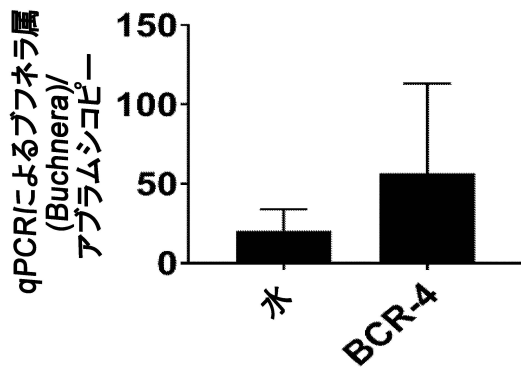


図11

【図 1 2】

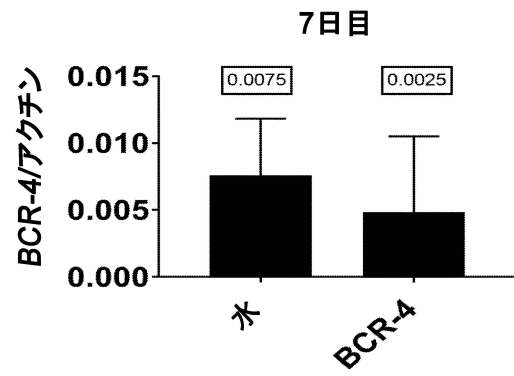


図12

【図 1 3】

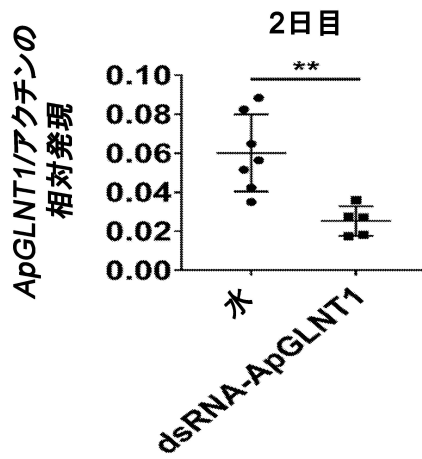


図13

【図 1 4】

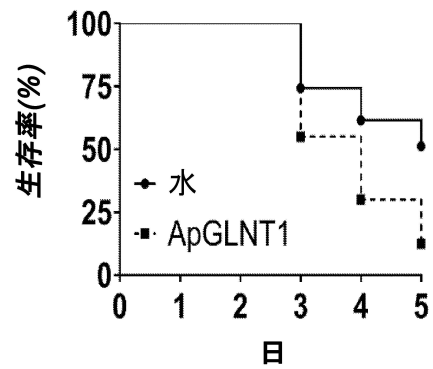


図14

10

20

30

40

50

【図 1 5】

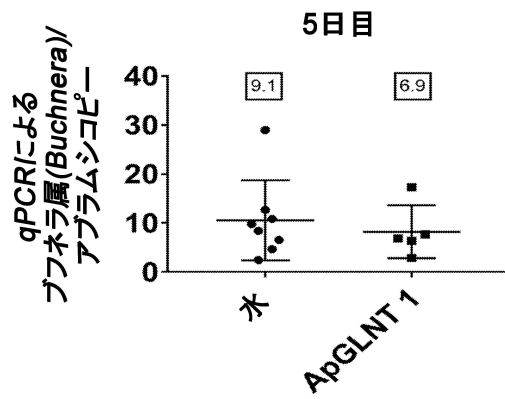


図15

【図 1 6 A】

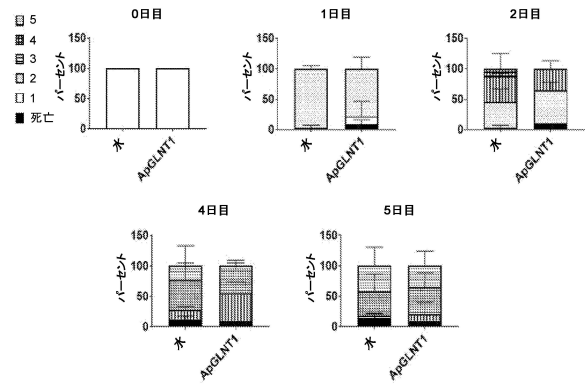


図16A

【図 1 6 B】

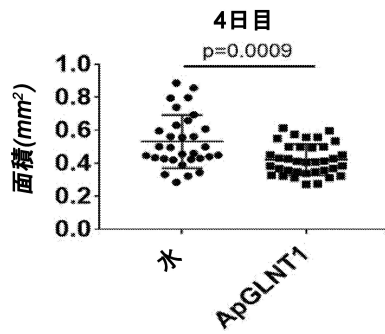


図16B

【図 1 7】

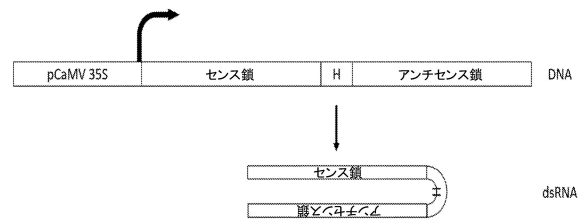


図17

10

20

30

40

50

【図 18】

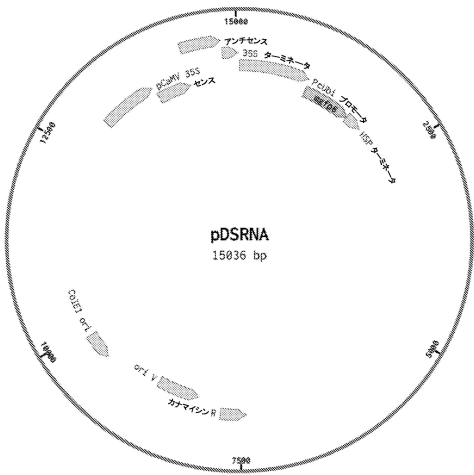


図18

【図 19】

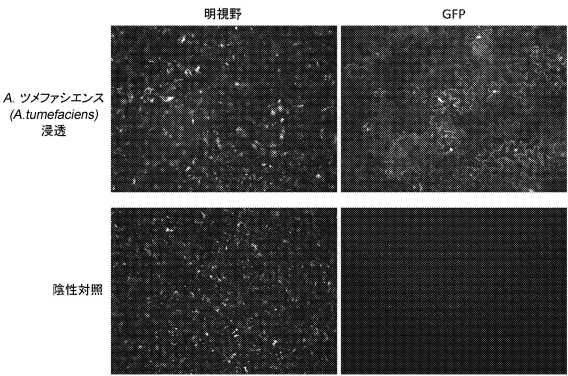


図19

【配列表】

0007231551000001.app

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

セッツ州, ボストン, ワシントン ストリート 1200, ユニット 412

(72)発明者 マーティン, バリー, アンドリュウ

アメリカ合衆国 02108 マサチューセッツ州, ボストン, マウント ヴァーノン ストリート 150

(72)発明者 アベンダノ アマド, マイヤー, スティーヴ

アメリカ合衆国 02141 マサチューセッツ州, ケンブリッジ, グラスワークス アベニュー 10, アpartment 411

審査官 神野 将志

(56)参考文献 米国特許出願公開第2006/0272049 (US, A1)

中国特許出願公開第104109671 (CN, A)

国際公開第2010/140675 (WO, A1)

特開2009-263362 (JP, A)

国際公開第2016/165729 (WO, A1)

Viola Gesellchen, et al., An RNA interference screen identifies Inhibitor of Apoptosis Protein 2 as a regulator of innate immune signalling in *Drosophila*, EMBO reports, EMBO press, 2005年, Vol.6, No.10, 979-984, <https://doi.org/10.1038/sj.embor.7400530>Frederic H. Login, et al., Antimicrobial Peptides Keep Insect Endosymbionts Under Control, Science, American Association for the Advancement of Science, 2011年, Vol.334, No. 6054, 362-365, <http://science.sciencemag.org/content/334/6054/362>Shuji Shigenobu, et al., Aphids evolved novel secreted proteins for symbiosis with bacterial endosymbiont, Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, The Royal Society, 2013年, Vol.280, No.1750, <https://doi.org/10.1098/rspb.2012.1952>, Article Number: 20121952Xue-Yi Xue, et al., New Approaches to Agricultural Insect Pest Control Based on RNA Interference, Advances in Insect Physiology, Elsevier, 2012年, Vol.42, 73-117, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-387680-5.00003-3>

YU, X. D. et al., RNAi-mediated plant protection against aphids, Pest Manag. Sci., 2016年, Vol. 72, pp. 1090-1098

Agnes Vallier, et al., RNAi in the cereal weevil *Sitophilus* spp: Systemic gene knockdown in the bacteriome tissue, BMC Biotechnology, BioMed Central, 2009年, Vol.9, <http://www.biomedcentral.com/1472-6750/9/44>, Article Number:44

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

A01N

C12N

A01H

JSTPlus/JST7580/JMEDPlus/JSTChina (JDream II)

CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)