

B. thuringiensis Cry8 トキシンに関する研究

応用分子生物学講座 応用分子昆虫学分野
山口 拓也

最大種数をほこる鞘翅目昆虫に属するコガネムシ類の幼虫は農業において多大な被害を与える害虫である。また、幼虫は地中に生息しているため発生の予察、生息域の推定が難しく、難防除害虫とされている。よってコガネムシ類幼虫だけでなく成虫に対する防除を併せて行うことが可能となればコガネムシ類をより効果的に防除できると考えられる。

本研究では、コガネムシ類幼虫および成虫に対して殺虫活性を示す *B. thuringiensis* をスクリーニングし、*galleriae* SDS-502 株および BBT2-5 株を得た。また、*galleriae* SDS-502 株由来の Cry8Da、BBT2-5 株由来の Cry8Db、さらに、コガネムシ類幼虫に対して殺虫活性を示す *japonensis* Buibui 株由来の Cry8Ca を用いてマメコガネに対する殺虫活性試験を行った。その結果、Cry8Ca、Cry8Da および Cry8Db はマメコガネ幼虫に対して殺虫活性を示すこと、Cry8Da および Cry8Db はマメコガネ成虫に対して殺虫活性を示すことが明らかとなった。

そこで、Cry8Ca がマメコガネ成虫に対して殺虫活性を示さない原因を明らかにするため、殺虫活性に深く関わっているとされるプロセシング様式、中腸 BBMV への結合様式について解析した。マメコガネ幼虫および成虫消化液で各 Cry8 を処理した結果、各 Cry8 は 64 kDa および 54 kDa の 2 断片にプロセシングされた。N 末端アミノ酸配列解析の結果、64 kDa 断片の N 末端側がさらにプロセシングされ 54 kDa 断片が生じることが明らかとなった。以上のことからプロセシング様式に違いは見られなかった。次に、各 Cry8 トキシンのマメコガネ幼虫および成虫中腸 BBMV への結合を解析した。その結果、各 Cry8 トキシンはマメコガネ幼虫および成虫中腸 BBMV への結合が認められた。さらにホモロガスコンペティションアッセイおよびヘテロロガスコンペティションアッセイを行った結果、マメコガネ幼虫中腸 BBMV と各 Cry8 トキシンの結合には特異的な結合だけでなく、非特異的な結合が多く含まれていると考えられた。また、マメコガネ成虫中腸 BBMV と各 Cry8 トキシンの結合は、ヘテロロガスコンペティションアッセイにおいて競合しないことから、各 Cry8 トキシンはマメコガネ成虫中腸 BBMV にある異なる部位または複数の部位と結合することが明らかとなった。

Cry トキシンは中腸 BBMV に結合後、細孔を形成することで殺虫活性を発揮することから、Cry8Ca がマメコガネ成虫に殺虫活性を示さない原因は中腸 BBMV と結合できるが殺虫活性と関わりの無い分子との結合であり、細孔を形成できないからであると考えられた。