

# コクヌストモドキ由来カドヘリン様タンパク質の Cry8Da トキシンレセプター分子としての機能調査

応用分子生物学講座 応用分子昆虫学分野  
竹林 健人

## (背景と目的)

*Bacillus thuringiensis* serovar *galleriae* SDS-502 株から *cry8Da* 遺伝子がクローニングされた (Asano *et al.*, 2003)。この SDS-502 株はコガネムシ類およびハムシ類の幼虫・成虫だけでなく、貯蔵穀物の世界的な大害虫であるコクヌストモドキ (*Tribolium castaneum*) 成虫に対しても殺虫活性を発揮することが確認されたため、コクヌストモドキの新たな防除資材として期待されている。しかし、SDS-502 株由来の Cry8Da トキシンの殺虫活性機構は未だ解明されていない。Cry トキシンレセプターを同定することは Cry トキシンの殺虫活性機構解明と、感受性昆虫の Cry トキシン抵抗性獲得のメカニズムを知る上で重要であり、*B. thuringiensis* を害虫防除資材として今後も持続的に使用するために不可欠であると考えられる。Cry トキシンのレセプター分子は様々なものが提唱されている。その中でも、カドヘリン様タンパク質はターゲットとなる昆虫種間に共通するレセプターとして報告されている。よって、Cry8Da トキシンの殺虫活性機構においてもカドヘリン様タンパク質が重要な役割を担っていると考えた。

## (方法と結果)

タバコスズメガ由来カドヘリン様タンパク質における Cry1Ab トキシンとの結合領域に相当するコクヌストモドキ由来カドヘリン様タンパク質 (TcCad) の領域を推定し、大腸菌で発現させた。この領域と Cry8Da トキシンが結合することをプルダウンアッセイにより確認し、TcCad が Cry8Da トキシンのレセプターである可能性が示唆された。そこで、TcCad の生体内での動態や機能について明らかにするため、TcCad に対するポリクローナル抗体 (TcCad 抗体) を作製した。tccad 遺伝子を pFastBac1 ベクターに組み込み、Bac-to-Bac システムにより、組換えバキュロウイルス (AcMNPV-TcCad) を作製した。AcMNPV-TcCad を感染させた Sf9 細胞から発現タンパク質を回収し、ウェスタンブロットおよび TcCad 抗体を用いたエンザイムイムノアッセイを行うことで TcCad が Sf9 細胞で発現していることが確認された。Sf9 細胞で発現させた TcCad と Cry8Da トキシンが結合するか、TcCad を発現させた Sf9 細胞が Cry8Da トキシン感受性になるかを調査した結果、TcCad と Cry8Da トキシンの結合およびトキシンの感受性は確認できなかった。TcCad 抗体を用いて Sf9 細胞の細胞膜上に TcCad が発現しているか調査したが、発現は確認できなかった。

## (考察)

細胞膜上での発現が確認できなかった理由として、TcCad の膜貫通領域が鱗翅目昆虫由来のものと異なるため、この組換え系では Sf9 細胞で TcCad が細胞膜上に発現できなかったと考えられた。TcCad を Sf9 細胞膜上で発現させるためには、組換え系の変更や鱗翅目昆虫由来の膜貫通領域と置換する等の改変が必要であると考えた。