

ネッタイシマカアミノペプチデース N 遺伝子解析および

Cry トキシンレセプター分子としての機能解析

応用分子生物学講座 応用分子昆虫学分野

小池 遼

(背景と目的)

Bacillus thuringiensis israelensis (Bti) を用いた Bti 剤は、蚊類の防除に用いられているが、野外において多量連続使用による抵抗性獲得蚊の出現が問題視されている。今後も継続して Bti 剤による蚊類の防除を行うためにも、Cry トキシンの蚊類殺虫活性機構の解明による抵抗性獲得機構解明は大きな意義を持つ。ネッタイシマカにおける Cry トキシンのレセプター候補のひとつとしてあげられているアミノペプチデース N (APN) と Cry11Aa トキシンとの結合を調査することで、ネッタイシマカにおける Cry11Aa トキシンに対するレセプターとしての APN の機能の解析を行い、殺虫活性機構において APN がどのような役割を示すのかを明らかにすることを目的として本研究を進めてきた。

(方法)

ネッタイシマカの *aaeapn* 遺伝子について、その遺伝子解析を行った。次に、ネッタイシマカ幼虫における *aaeapn1*~*4* 遺伝子の発現状況を調査した。中腸において発現し、Cry11Aa トキシンレセプターであると推測した AaeAPN1, AaeAPN2 を GST 融合タンパク質として大腸菌で発現させ、トキシンオーバーレイアッセイおよびプルダウンアッセイによって Cry11Aa トキシンとの結合を調査した。

(結果と考察)

APN は蚊類において相同性が高く、その機能が保存されていることが推測された。また、キイロショウジョウバエの染色体との遺伝子の座位の比較から、蚊類において *apn* 遺伝子は同一染色体上に位置し制御されていると考えられ、双方の種において染色体上の遺伝子配置や機能が変化していないということが明らかになった。ガンビアハマダラカの APN である AgAPN2 で報告されている Cry トキシン結合領域をもとに AaeAPN の Cry トキシン結合領域を推定した。

aaeapn1, aaeapn2 遺伝子はネッタイシマカ幼虫中腸において発現量が多いが、*aaeapn3, aaeapn4* 遺伝子は発現しているものの中腸において発現が確認できなかった。そのため、Cry11Aa トキシンレセプターとして機能しているのは AaeAPN1、AaeAPN2 であると考えた。ビオチン化 Cry11Aa トキシンを用いたトキシンオーバーレイアッセイおよびプルダウンアッセイによる結合試験では、推定した Cry トキシン結合領域 AaeAPN1B、AaeAPN2B 共に Cry11Aa トキシンとの結合が確認され、中腸において Cry11Aa トキシンレセプターとして機能していると考えられた。

AaeAPN についてさらに研究を進め、他のレセプターに関する知見と合わせてネッタイシマカにおける殺虫活性機構が解明されれば、Bti 剤に対する蚊の抵抗性に対処する科学的基盤となると考えられる。