

ネッタイシマカにおける Cry11Aa トキシンレセプター分子の機能解析

生物資源科学専攻 応用分子生物学講座 応用分子昆虫学 小野山雄亮

1. はじめに

ネッタイシマカは様々な熱帯感染症を引き起こすウイルスの媒介者であり、その防除が必要である。防除法として、*Bacillus thuringiensis israelensis* (*Bti*) が産生する結晶タンパク質を用いる手法がある。*Bti* の産生する結晶タンパク質のうち、Cry11Aa はネッタイシマカに対して強い殺虫活性を示すが、その作用機構は未解明なところもある。実験室内においてはCry11Aaの連続投与による抵抗性を持つネッタイシマカも報告されており、*Bti* の継続的な利用のためにはCry11Aa トキシン抵抗性の解明が急務となっている。カイコにおけるCry1Ab抵抗性研究において、Cry1Ab トキシンレセプターであるABCC2 トランスポーターの変異が関与していると報告されている。Cry トキシンの殺虫活性機構は鱗翅目ならびに双翅目においても共通していると考えられているために、ネッタイシマカにおいてもABC トランスポーターがCry11Aa トキシンレセプター分子として機能しているのではないかと考えた。本研究ではネッタイシマカABC トランスポーター (AeABC) と既にレセプター分子として報告されているネッタイシマカALP (AeALP), ネッタイシマカAPN (AeAPN) をSf9細胞で発現させ、Cry11Aa トキシンの添加によるレセプター分子としての機能について調査した。

2. 方法

aeabc, *aealp*, *aeapn* 遺伝子をネッタイシマカ中腸よりクローニングし、Bac to Bac システムを用い、各種組換えAcMNPV (AeABC-AcMNPV, AeALP-AcMNPV, AeAPN-AcMNPV) を作製した。各種組換えAcMNPVをSf9細胞にインフェクションすることでAeABC, AeALP, AeAPNを発現させた。AeABC, AeALP, AeAPNを発現させたSf9細胞にCry11Aa トキシンを添加し、トリパンブルーによって死細胞の観察を行った。

3. 結果と考察

各種組換えAcMNPVをSf9細胞にインフェクションした結果、AeABC, AeALP, AeAPNのそれぞれの発現が確認された。AeABC, AeALP, AeAPNを発現させたSf9細胞にCry11Aa トキシンを添加した結果、トリパンブルーにより染色される細胞が観察された。しかし、同様の実験系においてAeALPを発現させたCry4Ba トキシンで報告されているような死細胞の増加は認められなかった。Cry11Aa トキシン殺虫活性において、レセプター分子上でのトキシンオリゴマー化が重要であり、オリゴマー化にカドヘリン様タンパク質が関与するという報告から、本研究の発現系においてはカドヘリン様タンパク質との共発現がないことにより死細胞の増加が観察されなかったと考えた。

4. まとめ

AeABC, AeALP, AeAPNを単独で発現させたSf9細胞にCry11Aa トキシン添加による死細胞の増加は観察されなかった。Cry11Aa トキシン殺虫活性機構において、細胞崩壊には複数のレセプター分子の存在やCry11Aa トキシンのレセプター分子上でのオリゴマー化が必要であり、カドヘリン様タンパク質と共発現による検証が必要であると考えた。