

# Cry2Aa が Cry39Aa のハマダラカ殺虫活性に与える影響について

生物資源科学専攻 応用分子生物学講座 応用分子昆虫学 高野 恵美子

## 1. はじめに

*Bacillus thuringiensis* が産生する結晶タンパク質 (Cry) は、特定の昆虫や線虫に殺虫活性を示すものが存在する。一般に Cry トキシンは一つの目に対し殺虫活性を示すが、Cry2Aa は鱗翅目及び双翅目昆虫の二つの目に対して殺虫活性を示す。鱗翅目昆虫においては、実際に防除資材として Cry1A とともに利用されている。このように殺虫活性作用機構が異なる Cry トキシンを併用することで、標的昆虫種を増やし、抵抗性の獲得を遅らせることができる。一方で、双翅目昆虫に対する Cry2Aa の殺虫活性は低く、防除資材としての利用は現在されていないが、Cyt1Aa や Cry11Aa との併用により殺虫活性の相乗効果がみられるとの報告があり、双翅目昆虫においても Cry2Aa は他の Cry トキシンとの併用により防除資材としての利用が期待できると考えた。本研究では、ハマダラカに対し強い殺虫活性を示す Cry39Aa を用い、Cry2Aa と併用することで、ハマダラカ殺虫活性におよぼす効果について調査した。

## 2. 方法

Cry2Aa と Cry39Aa を混合し、ステフェンスハマダラカ (*Anopheles stephensi*) 幼虫に対する殺虫活性試験を行った。殺虫活性におよぼす効果の原因解明のため、レセプターへの結合とオリゴマー形成の調査を行った。ハマダラカ幼虫の中腸刷子縁膜小胞 (BBMV) における 2 つのトキシンの結合競合の有無、Cry39Aa トキシンにおけるレセプターであるステフェンスハマダラカ ALP (AsALP4) への Cry2Aa トキシン結合調査としてリガンドプロットによる結合試験と AsALP4 によるハマダラカ BBMV 結合阻害試験を行った。さらに 2 つのトキシンを混合した際のオリゴマー形成の調査を行った。

## 3. 結果と考察

ハマダラカ殺虫活性試験の結果、Cry2Aa と Cry39Aa の組み合わせでは、殺虫活性の相乗効果は得られず、むしろ殺虫活性は低下した。このことから、Cry2Aa と Cry39Aa の作用機構においてレセプター競合等の現象がおり、殺虫活性を低下させているのではないかと考えた。この殺虫活性低下の原因解明と、Cry2Aa の作用機構解明を目的とし、レセプターへの結合とオリゴマー形成の調査を行った。ハマダラカ BBMV 上で Cry2Aa トキシンと Cry39Aa トキシンは結合が競合せず、異なる部位に結合することが明らかとなった。また、Cry2Aa トキシンは Cry39Aa トキシンのレセプター分子である AsALP4 への結合が見られたが、AsALP4 によるハマダラカ BBMV 結合阻害試験より、Cry2Aa トキシンの BBMV への結合を AsALP4 は阻害しなかったため、Cry2Aa トキシンの AsALP4 への結合は非特異的であると考えられる。Cry2Aa トキシンと Cry39Aa トキシンを混合した際のオリゴマー形成について調査を行ったところ、2 つのトキシンがヘテロオリゴマーを形成することが示唆され、このヘテロオリゴマーが殺虫活性低下の原因であると考えられた。

## 4. まとめ

Cry2Aa と Cry39Aa の併用により、ハマダラカ幼虫に対する殺虫活性は低下した。この現象は 2 つのトキシンによるヘテロオリゴマーの形成により引き起こされたと考えられる。