

Cry1Ac トキシンレセプターとしてのコナガABC トランスポーターの機能解析

生物資源科学専攻 応用分子生物学講座 応用分子昆虫学 中石 有美

1. はじめに

アブラナ科作物を食害するコナガによる被害は全世界で年間40~50億USドルにもなり、その防除は不可欠である。*Bacillus thuringiensis kurstaki* HD-1由来のCry1Acは、コナガに対して強い殺虫活性を示すことから、防除資材として広く利用されてきた。防除資材として継続的に利用されたことにより、Cry1Acに抵抗性を発達させたコナガの報告があり、抵抗性獲得機構の解明が急務である。Cry1Acに抵抗性を獲得したコナガにおいてABCC2トランスポーターに10アミノ酸の欠失があったという報告があり(Baxter *et al.*, 2010)、ABCトランスポーター(PxABCC2)がCry1Ac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。本研究ではバキュロウイルス(AcMNPV)発現系を用い、昆虫培養細胞(Sf9)にてPxABCC2を発現させ、Cry1Acトキシンレセプターとしての機能を調査した。

2. 方法

abcc2 遺伝子をコナガ中腸よりクローニングし、Bac to Bac システムを用い、組換え AcMNPV (PxABCC2-AcMNPV) を作製した。さらに抵抗性系統のコナガで報告された PxABCC2-BM を組換えた AcMNPV (PxABCC2-BM-AcMNPV) も作製し、Sf9 細胞にインフェクションすることで PxABCC2, PxABCC2-BM を発現させた。PxABCC2, PxABCC2-BM を発現させた Sf9 細胞に Cry1Ac トキシンをアッセイし、細胞形態の変化を観察したのち、トキシン抗体を用いた免疫染色法により Sf9 細胞で発現させた2つの PxABCC2 と Cry1Ac トキシンの結合調査を行った。

3. 結果と考察

組換え AcMNPV をインフェクションした Sf9 細胞において、FLAG 抗体を用いて PxABCC2 の発現を確認した。PxABCC2 を発現させた Sf9 細胞に Cry1Ac トキシンをアッセイした結果、トキシンによる細胞損傷が観察された。さらに免疫染色により、Sf9 細胞上の PxABCC2 に Cry1Ac トキシンが結合していることが観察されたことから、PxABCC2 がレセプター分子として機能していると考えた。一方、PxABCC2-BM を発現させた Sf9 細胞では Cry1Ac トキシンによる細胞損傷が観察されず、また免疫染色による PxABCC2-BM と Cry1Ac トキシンの結合も観察されなかった。このことから、PxABCC2 の一部変異がコナガの Cry1Ac トキシン抵抗性獲得の原因であることが示唆された。

4. まとめ

PxABCC2 を発現した Sf9 細胞において Cry1Ac トキシンにより細胞損傷が見られたことから、PxABCC2 は Cry1Ac トキシンレセプターとして機能しており、PxABCC2 の変異がトキシン抵抗性に関与していると考えられた。