

ネッタイシマカ由来カドヘリン様タンパク質の Cry トキシンレセプターとしての機能調査

生物資源科学専攻 応用分子生物学講座 応用分子昆虫学 中尾悠太

1.はじめに

カ類による熱帯性感染症の媒介は世界的問題であり、それらカ類の一防除手段として *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) を利用した Bti 剤が使用されている。当研究室で新たに発見された Cry44Aa トキシンはネッタイシマカに対し、Bti が生産する Cry トキシンよりも強い殺虫活性を示すため、Bti 剤に代わる防除資材としての利用が期待できる。他の防除資材との併用も含め、効率的に Cry44Aa トキシンをカ類の防除資材として利用するためには作用機構におけるトキシンレセプターの同定・比較が必要である。カドヘリン様タンパク質は多くの Cry トキシンのレセプターであることが知られていることから、本研究では、ネッタイシマカカドヘリン様タンパク質がカ類に殺虫活性を持つ Cry トキシンのレセプターであるかを細胞毒性を指標に検証した。

2.方法

ネッタイシマカカドヘリン様タンパク質を Sf9 細胞で発現させ、Cry44Aa トキシンならびに Cry11Aa トキシンによる細胞毒性を評価し、ネッタイシマカカドヘリン様タンパク質がどちらの Cry トキシンレセプターであるかを検証した。Bac to Bac システムを用いて組換え AcMNPV を作成し、ネッタイシマカカドヘリン様タンパク質、コントロールとして、Cry44Aa トキシンおよび Cry11Aa トキシンが殺虫効果を示さないコナガのカドヘリン様タンパク質のそれぞれを Sf9 細胞で発現させた。各 Sf9 細胞に両 Cry トキシンを供試し、死細胞をトリパンブルーで染色し、死細胞・生細胞の割合（細胞致死率）を細胞毒性として評価した。

3.結果・考察

Cry44Aa トキシンならびに Cry11Aa トキシンを供試したネッタイシマカカドヘリン様タンパク質発現 Sf9 細胞の細胞致死率はそれぞれ 18.9%, 40.0%であった。Cry44Aa トキシン供試ネッタイシマカカドヘリン様タンパク質発現 Sf9 細胞の細胞致死率は Cry11Aa トキシンを供試したネッタイシマカカドヘリン様タンパク質発現 Sf9 細胞の細胞致死率と比較しても有意に低く、また、コナガカドヘリン様タンパク質発現 Sf9 細胞に Cry44Aa トキシンを供試した際の細胞致死率が 16.6%であったことから、ネッタイシマカカドヘリン様タンパク質は Cry44Aa トキシンによる細胞毒性に関与しないと結論した。先行研究において、Cry44Aa トキシンは Cry11Aa トキシンとは異なりネッタイシマカカドヘリン様タンパク質のカドヘリリピート 7~11 と特異的に結合しない、もしくは、弱い親和性しか持たないことから、ネッタイシマカカドヘリン様タンパク質は Cry11Aa トキシンのレセプターであるが、Cry44Aa トキシンのレセプターではない可能性が示唆された。