

参考資料

研究の背景と経緯

昆虫病原細菌 *Bacillus turingiensis* が作る殺虫性タンパク質(Bt毒素)は、特定の昆虫グループに対する殺虫性が高く、その一方で哺乳動物には無害なことから、殺虫剤(BT剤)として使用されています。さらに、Bt毒素の遺伝子は、ワタやトウモロコシなどの作物に組み込まれて、耐虫性作物(Bt組換え作物)の開発に利用されています。しかし、BT剤を連続して使用すると、他の殺虫剤と同様に、害虫の**抵抗性発達**⁴⁾が問題となります。このような抵抗性発達を抑える技術を開発するためには、Bt毒素の抵抗性に関わる遺伝子を究明することが重要となっています。近年、ABCトランスポーターという膜タンパク質の遺伝子が抵抗性遺伝子の1つと推定されましたが、まだ証明はされていませんでした。

生物研が有するカイコの中には、Bt毒素に対して強い抵抗性を示す系統があります。そこで、カイコのゲノム解析の成果や遺伝子組換え技術を利用してBt毒素抵抗性遺伝子を突き止める研究に取り組みました。

内容・意義

生物研が保存しているカイコの系統のうち、Bt毒素に感受性の606号と抵抗性の401号とでは(図2)、感受性が300倍以上も異なっていました。両系統の交配実験及び戻し交雑により得られた抵抗性個体のゲノム解析から、抵抗性遺伝子は**劣性の遺伝子**⁵⁾で第15番染色体上にあることがわかりました。

次に、カイコのゲノム情報を利用した**ポジショナルクローニング法**⁶⁾により、ABCトランスポーター遺伝子が抵抗性に関わることが推測されました。このABCトランスポーター遺伝子は、消化管の細胞でのみ発現していました。抵抗性と感受性を示す複数の系統で、このトランスポーター遺伝子を比較したところ、抵抗性系統では、推定されるアミノ酸配列にチロシンというアミノ酸が一つ余分に入っており、これが感受性を抵抗性に変えた原因であると考えられました(図3)。

この考えを裏付けるため、遺伝子組換え技術を用いて、感受性カイコのABCトランスポーター遺伝子を抵抗性カイコに導入して働かせ、その幼虫にBt毒素を食べさせたところ、全て死んでしまい(図4)、抵抗性が感受性になったことがわかりました。すなわち、抵抗性はABCトランスポーター遺伝子の変異が原因であることが証明されました。

今後の予定・期待

本研究成果により、今後少なくとも二つの展開が可能となります。一つ目は、このABCトランスポーターが、Bt毒素が殺虫作用を示す上でどのような働きをし、アミノ酸1個の挿入が抵抗性とどう関わるのかを研究することで、まだ不明な点の多いBt毒素の作用の解明に迫ることです(図3)。

二つ目は、コナガなどの害虫でみられるBt毒素抵抗性が、今回カイコで明らかにされた遺伝子と同じ遺伝子によって引き起こされているかどうかを調査することです。今回証明した抵抗性遺伝子に関しては、すでに一部の害虫で抵抗性への関与を示唆する報告が出ています。

害虫の抵抗性遺伝子が解明されると、防除対象の害虫がBt毒素に抵抗性か否かを簡単にモニタリングする技術の開発が期待されます。

発表論文

Shogo Atsumi, Kazuhisa Miyamoto, Kimiko Yamamoto, Junko Narukawa, Sawako Kawai, Hideki Sezutsu, Isao Kobayashi, Keiro Uchino, Toshiki Tamura, Kazuei Mita, Keiko Kadono-Okuda, Sanae Wada, Kohzo Kanda, Marian R. Goldsmith, Hiroaki Noda. (2012) **A single amino acid mutation in an ATP-binding cassette transporter gene causes resistance to Bt toxin Cry1Ab in the silkworm, *Bombyx mori*.** Proceedings of the National Academy of Sciences. 109: E1591–E1598, [DOI:10.1073/pnas.1120698109](https://doi.org/10.1073/pnas.1120698109)

用語の解説

1) Bt毒素

昆虫病原細菌 *B. thuringiensis* は、生育環境が悪化すると、孢子とタンパク質の結晶体を作ります (図1)。昆虫がこの結晶体を食べると、結晶体は消化管内で溶けて、殺虫活性を示すBt毒素になります。Bt毒素は、消化管の細胞表面の受容体に結合して、細胞に穴を開けて壊し、昆虫は死に至ります (図3)。なお、ほ乳類はBt毒素をアミノ酸にまで完全に消化するうえに、消化管にBt毒素の受容体もないため、毒素は無害です。

2) BT剤

昆虫病原細菌 *B. thuringiensis* 由来の殺虫剤です。この細菌は、1901年に我が国の農商務省蚕業試験場 (農業生物資源研究所の前身の一つ) の石渡繁胤 (いしわたしげたね) 博士により、カイコの卒倒病菌として世界で初めて発見されました。この細菌はBT剤として害虫防除に長らく使用されており、人畜に無害なことから有機農業でも使われています。

3) ABCトランスポーター (ATP-binding cassette transporter)

細胞膜に存在するタンパク質で、膜の外側と内側とで物質の輸送を行います。生物は多種類のABCトランスポーターを持っています。今回突き止められたABCトランスポーターは、消化管 (昆虫の中腸) で働いています。

4) 抵抗性発達

農薬で害虫を防除し続けると、その農薬に強い個体が生き残り、さらに農薬に強い個体群が形成されていくことが知られています。同じ薬剤を続けて使わないことや、害虫を防除し過ぎないなどの方法が提唱されていますが、薬剤による害虫の防除法では、たびたび問題となっています。

5) 劣性の遺伝子

劣性の遺伝子とは、異なる形質を示す遺伝子を持つ個体で、その個体に現れない形質の遺伝子を言います。形質が現れる場合は優性の遺伝子と呼びます。優性のBt毒素感受性遺伝子と劣性のBt毒素抵抗性遺伝子を両方持っている個体は、Bt毒素感受性になります。

6) ポジショナルクローニング法

目的の遺伝子について、その染色体上の位置を特定して、遺伝子を取得する方法です。目的の形質の原因遺伝子が、染色体上のどのDNAマーカーの間に存在するかを突き止めて、染色体上の位置を絞り込んで行きます。

参考図

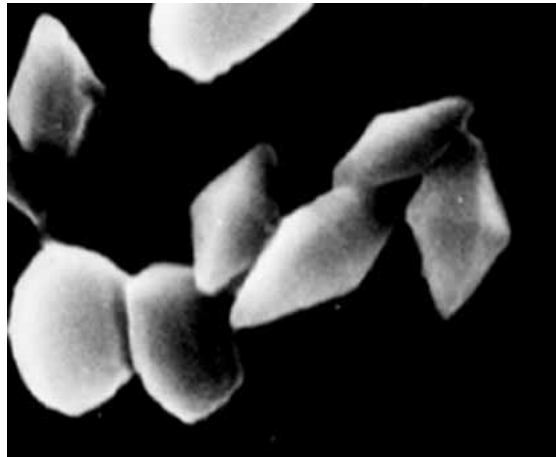


図1 . 昆虫病原細菌 *Bacillus thuringiensis* の孢子（楕円形）と殺虫性タンパク質の結晶体（ひし形）



図2 . 遺伝子の探索に用いた感受性と抵抗性のカイコ。これらを交配し、殺虫試験を行ない、生き残った個体のDNA配列を調べ、抵抗性遺伝子を解明しました。

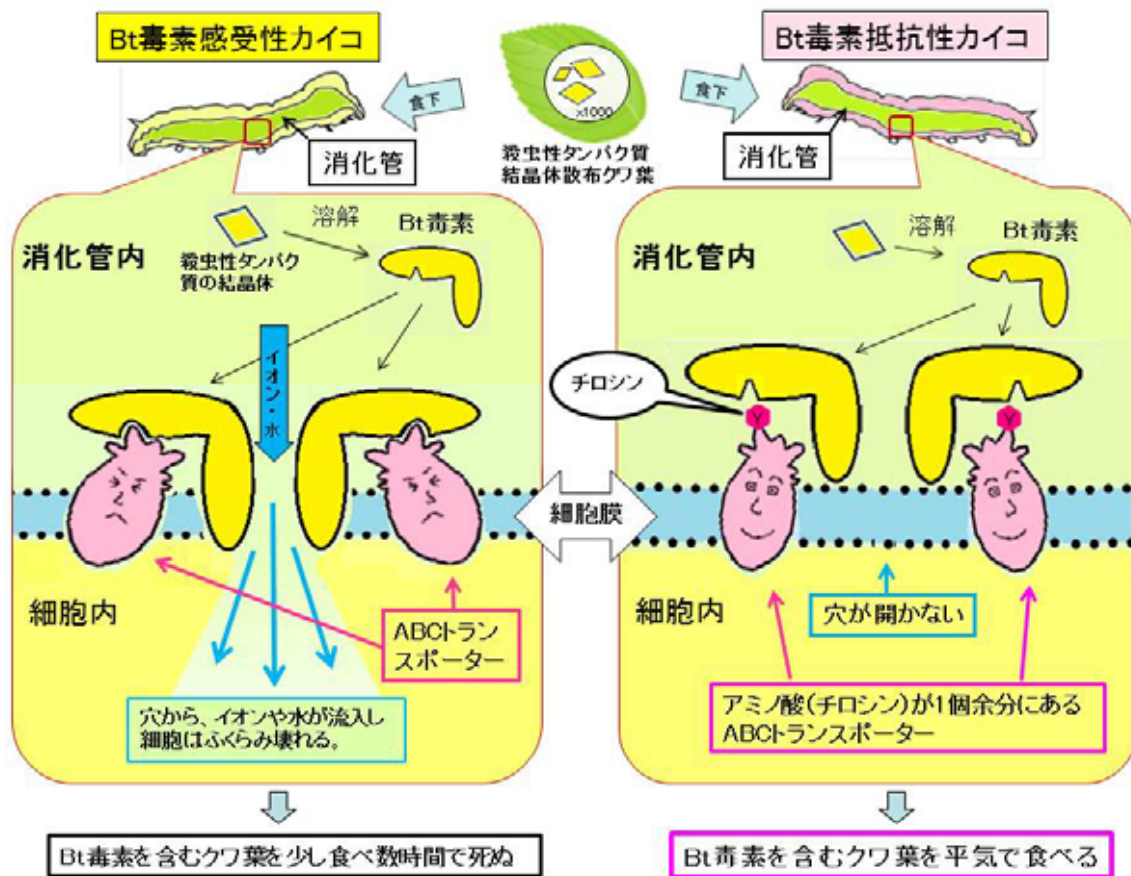


図3 . カイコのBt毒素抵抗性のしくみにおけるABCトランスポーターの役割の推定。感受性カイコの場合、Bt毒素が消化管の細胞膜に結合すると細胞膜に穴が開き、細胞は膨潤して壊れて死に至ります。抵抗性カイコでもBt毒素は細胞膜に結合しますが、細胞に変化は起きません。抵抗性カイコのABCトランスポータータンパク質には、アミノ酸の一種のチロシンが1個余分があり、これが毒素の細胞への作用を妨げていると考えられますが、そのしくみの説明は今後の課題です。

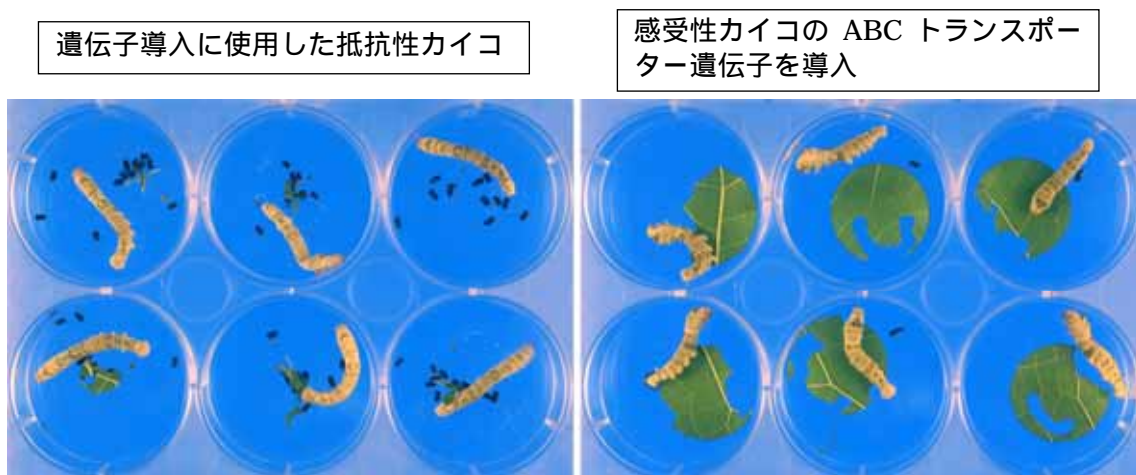


図4 . 形質転換カイコの殺虫試験。遺伝子導入に使用した抵抗性のカイコ（左）はBt毒素を処理したクワの葉を食べても元気でしたが、感受性カイコ由来のABCトランスポーター遺伝子を導入した抵抗性カイコ（右）は、感受性に変化し、処理したクワの葉を食べている途中で全て死んでしまい、クワの葉が残りました。