

## 薬剤解毒酵素遺伝子の構造解析およびその発現量比較による 抵抗性ワタアブラムシの識別

資材動態部農薬動態科殺虫剤動態研究室 鈴木 健

はじめに

農作物に付く害虫を殺すために同じ殺虫剤を使い続けるとだんだんと効かなくなってくる場合があります。この現象を「抵抗性がつく」といいます。害虫に抵抗性がつくと防除が難しくなり農作物に対する被害が大きくなったり、防除のコストが高く付いたりするので農家の人たちやわれわれ消費者が直接的に困るのはもちろんなのですが、近頃とみに危惧されているのは、抵抗性の発達が農薬使用量の低減化を阻害する大きな要因の一つになっているという点です。殺虫剤が効かなくなってくれば当然散布する量や回数、殺虫剤の種類が増えてきます。ある殺虫剤に対して抵抗性があった場合、タイプの違う殺虫剤に変えたりして対抗してきましたが、最近では複数のタイプの殺虫剤に抵抗性のついた害虫も少なくなくなり、従来の対抗策も限界が近づいてきました。地球環境問題に対する社会的関心が高まる中、農業においても「環境に優しい農業」や「安全な食料の供給」といったことが強く求められており、さらに、最近ではいわゆる「環境ホルモン」問題がにわかにくローズアップされているのはご存知の通りです。環境庁がリストアップした環境ホルモン様作用を持つことが疑われる化合物中にも農薬が多数含まれており、農薬に対する社会的不安、反発は日増しに高まるばかりです。「無農薬」は誰が考えても理想です。しかし、無農薬で今の地球上の人口を支えていくことは現在の技術ではまず不可能です。抵抗性がつく原因を科学的に解明して最小限の農薬投入量で最大限の効果を生み出す防除技術を早急に開発することが望まれます。

### 抵抗性と遺伝子

殺虫剤抵抗性は WHO によって「昆虫の正常な集団の大多数を殺す薬量に対して耐える能力がその系統に発達したこと」(傍点著者)と定義されています。すなわち、抵抗性は遺伝する性質であり、抵抗性に関連する遺伝子(以下「抵抗性遺伝子」と略)が存在するという事です。この「抵抗性遺伝子」はどこから来るのでしょうか。これまでのところ、殺虫剤が虫の遺伝子を変化させて抵抗性遺伝子を生じさせたという例は一つも発見されていません。抵抗性遺伝子は極々小さい割合の虫が殺虫剤と接する以前から既に持っていたというのが定説です。それを持っていた虫がたまたま殺虫剤散布にあった際に生き残って抵抗性遺伝子を子孫に伝える・・・というサイクルを重ねることで、ついにはほとんどの虫が抵抗性遺伝子を持つものになってしまうわけです。殺虫剤に強くなるということ以外には役に立っているとは思えない遺伝子を殺虫剤なんかが出現する以前から持っていたなんて改めて遺伝子の多様性のすごさを思い知らされるような気がします。

害虫に殺虫剤抵抗性がつくのを避けるということは抵抗性遺伝子を持った虫の割合が経済的に許しがたいほどの被害を与えるまでに増えないように管理するという事です。そのためには、抵抗性遺伝子の構造や性質を詳しく調べて、正確に高感度で、しかも簡便に抵抗性遺伝子の頻度を把握する技術(モニタリング技術といいます)を開発する必要があります。

### ワタアブラムシの抵抗性遺伝子

ワタアブラムシ(図1, ゴキブリの仲間ではありません。いわゆるアリマキの一種です)は1.5 mm ほどの小さな虫ですが、大変多くの種類の農作物に被害を与える大害虫です。最近有機リン系、カーバメート系、ピレスロイド系など各種の殺虫剤に対して抵抗性がついて、防除が非常に困難になっ

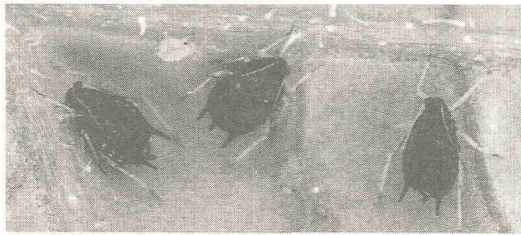


図1 ワタアブラムシ

た害虫の一つです。

私たちはワタアブラムシが有機リン系の殺虫剤（例えばスミチオンとかマラソンとかが含まれます）に強くなった原因を調べてみました。その結果、体内にカルボキシエステラーゼ（以下「CE」と略）という殺虫剤を壊す酵素の一種をたくさん持っているものほど強いことがわかりました。一番強いものは一番弱いものの30倍以上ものCEを持っていました。酵素というのはタンパク質でできていて、タンパク質の設計図が遺伝子です。つまり、ワタアブラムシの有機リン剤に対する抵抗性遺伝子はCEの遺伝子ということになります。わたしたちは、このCE遺伝子の構造を明らかにすることに成功しました。遺伝子は、A、C、G、Tと略される4種類の「塩基（えんき）」という成分が長く一列に並んでいて、その並び方がタンパク質の材料のアミノ酸の並び方を決めています。ワタアブラムシのCE遺伝子は2,228個の塩基が並んでいて526個のアミノ酸の並び方を決めていることがわかりました（図2）。

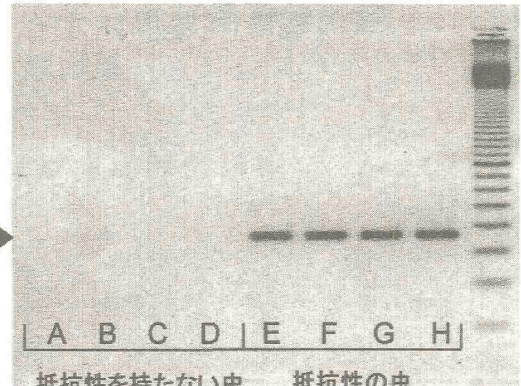


図3 PCR法による抵抗性虫の識別

### CE 遺伝子量の比較による抵抗性虫の識別

次に、遺伝子の一部を2~3時間で100万倍にも増幅し、高感度で検出できる方法（PCR法といいます）を用いて、抵抗性の虫とそうでない虫とをCE遺伝子の量の違いで識別できないか試してみました。図3を見てください。抵抗性の虫では矢印で示したところにはっきりとバンドが見られます。このバンドはPCR法によって増幅されたCE遺伝子の一部です。ところが、抵抗性を持たない虫ではバンドがほとんど見えません。つまり、抵抗性を持たない虫は100万倍に増やしてもまだ

検出できないほど元々持っていたCE遺伝子が少ないということです。このように、PCR法でCE遺伝子量を比較することで抵抗性の虫とそうでない虫が明確に識別できることがわかりました。

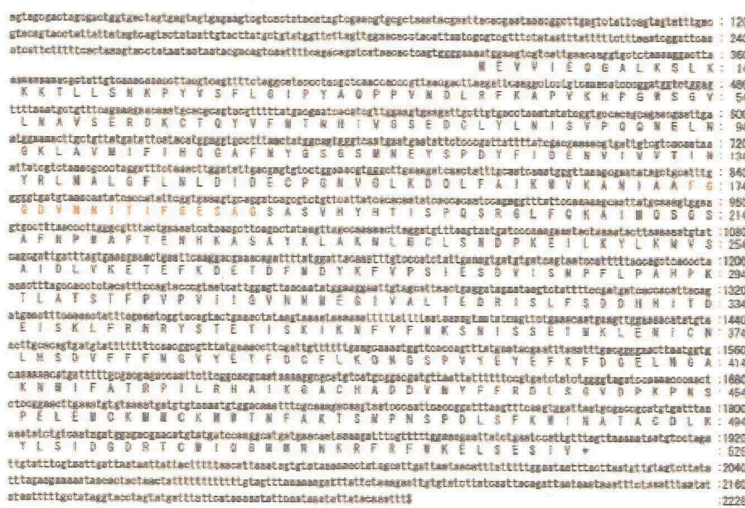


図2 CE遺伝子の塩基配列（黒小文字）と推定されるCEタンパクのアミノ酸配列（青大文字）；赤大文字はCEタンパクに特徴的な配列

では、即実用化・・・とはいきません。正確なモニタリングには非常にたくさんの虫を検定する必要がありますが、この方法は今の段階では手間的、コスト的に簡便で経済的とは言えないのです。実験室の中では満足のいく結果が得られても、現場で実用できる形にしていくにはまだまだたくさんのハードルをクリアしていかなければなりません。

2000年10月