

特集：ポストゲノム時代の害虫防除研究のあり方～昆虫ゲノム情報とIPM～

昆虫ゲノム研究の現状と農業害虫防除への展開

農業生物資源研究所 ^の野 ^だ田 ^{ひろ}博 ^{あき}明

はじめに

害虫防除研究では、戦後の化学的防除中心の研究から、天敵を利用した防除法や工夫を凝らした物理的防除法など、栽培作物ごとに広範な防除手段が考え出されてきた。近年甚大な害虫被害が報じられることは少なくなっているが、害虫被害が下火になったわけではなく、むしろ新興害虫やカメムシやウンカなど再興害虫といえるものが常に問題となっている。食の安全・安心が叫ばれ、食料に対する一般消費者の関心も高い昨今、害虫防除はいかにあるべきかが問われている。

総合的害虫管理 (Integrated Pest Management : IPM) の概念が出されて半世紀にもなる。化学的防除、生物的防除、物理的防除や耕種の防除を組み合わせ、害虫密度を被害許容水準以下に抑えようという考え方は、かなり定着してきている。今後さらに効率的な防除を目指すとき、害虫防除の研究は、今の科学技術の進展に頼らざるをえない。

ここ10年で大きな二つの流れが人類にもたらされたと思われる。一つはインターネットに代表される情報の共有と情報伝達の迅速化である。もう一つは、ヒトゲノム解読に代表される、生物ゲノムの解読とより深い生物の成り立ちの理解、そしてそれら生物情報の利用である。前者は、当然植物防疫分野にも大きな影響を与えつつあるが、この特集号が扱う範疇にはなく、この特集では、後者であるゲノム情報がいかに害虫防除研究にかかわり、役に立っていくであろうかということが解説されている。

本稿では、昆虫学 (害虫学) 分野におけるゲノム研究の現状を概観し、ゲノム研究から産まれてきたツールがどのように使われ、さらにそれらが害虫防除研究にいかに関与していくかを展望したい。

I 昆虫ゲノム研究の現状

ヒトゲノム解読の前年、キイロショウジョウバエ

Insect Genome Researches and Their Application to Agricultural Pest Management. By Hiroaki NODA

(キーワード: ゲノム, 害虫管理, IPM, EST, マイクロアレイ, トビイロウンカ)

Drosophila melanogaster の全ゲノム解読が発表された (ADAMS et al., 2000)。これは、画期的な成果で、これまでの、クローン解析を中心とする解読方法に代わって、全ゲノムショットガン解析法 (WGS) が、微生物だけではなく、大型生物でも有効であることが示されたのである。このことが、ヒトゲノム計画に大きな影響を与え、全ゲノム解読を加速した (VENTER et al., 2001; International Human Genome Sequencing Consortium, 2001)。このころからショウジョウバエをはじめとするモデル生物では、遺伝子やタンパク質などを多数同時に研究するような網羅的解析といわれる研究が盛んになった。

2000年にショウジョウバエのゲノム解読が完了し、02年にはマラリア媒介虫であるハマダラカ *Anopheles gambiae* の全ゲノムが解読された (HOLT et al., 2002)。また、2002年には、タバコガの一種 *Heliothis virescens* において、ゲノム解読が行われたというニュースが報道された。これは、世界的な製薬メーカーと薬品開発にかかわる会社とのジョイントベンチャーによるものであった。残念ながらデータは公表されていない。ちょうどこのころ、農林水産省では、ゲノム情報の重要性に鑑み、「昆虫テクノロジー研究」プロジェクトを立ち上げ、鱗翅目 (チョウ目) 昆虫の代表であるカイコのゲノム情報とゲノム創薬開発の基盤整備を開始したところであった。既に、この時期に農業開発におけるゲノム情報の重要性が一部農業メーカーでは強く認識されていたといえる。

ゲノム解読は、他の昆虫でも進められ、セイヨウミツバチ *Apis mellifera* は2006年に (The honeybee genome sequencing consortium, 2006)、ネッタイシマカ *Aedes aegypti* が07年に (NENE et al., 2007)、そしてコクヌストモドキ *Tribolium castaneum* は08年に (Tribolium genome sequencing consortium, 2008) 論文が公表されている。2009年5月中旬のNCBI (National Center for Biotechnology Information) 閲覧情報では、ゲノム解読が行われたかあるいは進行中のものは、合わせて60種・系統あり、完了しているものが1種 (キイロショウジョウバエ)、アセンブリ中 (シーケンスデータのとりまとめ中) のものが31種、シーケンス中のものが28種となっている。この中には、系統も合わせるとショウジョウバエで38ものゲノム解読が行われている。また、

ヤドリコバチ *Nasonia* 属が3種含まれている。ダニではマダニの一種 *Ixodes scapularis* でゲノム解読が進んでいる。このマダニはライム病やエリキア症の病原を媒介するので、米国では盛んに研究されている。この *I. scapularis* はゲノムサイズがショウジョウバエの10倍以上あり、反復配列が多いのでアセンブルに困難を伴っていると言われている(野田・三田, 2008)。

ショウジョウバエ類と *Nasonia* の2種(解読のレベルが1倍程度でシーケンス量が少ない)を除くと、現在約16種の昆虫とダニ1種でゲノム解読が行われていることになる(表-1)。また、新世代シーケンサーを用いて、オオカバマダラ *Danaus plexippus* とドクチョウの一種である *Heliconius melpomene* のゲノム解読が進められているとのことである(三田, 私信)。また、タバコスズメガ *Manduca sexta* においても、新世代シーケンサーによるゲノム解読が予定されている。ゲノム解読が行われている昆虫類(ダニを含む)を見ると、これまでモデルとして生物学の対象とされてきたものと、衛生害虫が多い。カイコはその詳細な情報が他の鱗翅目の農業害虫にも有用ではないかと期待されているが、純粋に農業害虫を対象としたものは、ミカンキジラミ *Diaphorina citri* とキクイムシの1種 *Dendroctonus ponderosae* だけである。

II 我が国の昆虫ゲノム研究

我が国では線虫 *C. elegans* のゲノム研究は行われていたが、昆虫のゲノムに関してはほとんど研究されていなかった。12～13年前、故 前田進カリフォルニア大学教授(理化学研究所主任)が、当時、放射線医学研究所

におられた三田和英氏や東京大学農学部の中嶋透氏らとともにカイコのEST(expressed sequence tag)解析を始められた。その後、農業生物資源研究所(生物研)に移られた三田氏と東京大学の中嶋氏を中心に、広範なEST解析、マイクロアレイ解析へと繋がっていった(MITA et al., 2003)。そして、農林水産省の委託プロジェクト「昆虫テクノロジープロジェクト」で、カイコのホールゲノムショットガンによるシーケンス解析が行われ、その成果が公表された(MITA et al., 2004)。同じころ中国でもシーケンス解析が行われ(XIA et al., 2004)、ドラフトシーケンスがそれぞれ公開された。三田らによってカイコのゲノムリソース(BACライブラリー、完全長cDNAライブラリー、ESTライブラリー、遺伝子地図、SNPマーカー)の拡充が行われ、動物のゲノムリソースとしても高いレベルのものが整備されている(YAMAMOTO et al., 2008)。日本と中国で独自に行われたデータをあわせて、より高度なゲノムデータとして統合されたものが、昨年末に公表され(The international silkworm consortium, 2008)、インターネットでも公開されている(<http://sgp.dna.affrc.go.jp/KAIKObase/>)。

その他の昆虫に関しては、我が国ではほとんどゲノム研究が行われていないが、トビイロウンカのEST解析がゲノム研究の例としてあげられる(NODA et al., 2008)。トビイロウンカのEST解析については後述するが、生物研では、ほかにも害虫・昆虫のEST解析が行われている。しかし、まだ整備が十分ではなく、利用は一部の研究者に限られている。カイコのような全ゲノム解析は費用がかかるため、特定のモデル昆虫や経済的に重要な昆虫種以外では、EST解析は有効な手段である。ただし、発現量の高い遺伝子の塩基配列情報は得られるが、転写因子など低発現量の遺伝子情報を得にくいという問題点もある。現在までにNCBIに登録されている昆虫類のEST解析状況を表-2に示した。登録されたEST数から見て、カイコは上位3位に、トビイロウンカは16位に位置する。

III 農業害虫のゲノム研究の今後

ゲノム解読の中心はモデル昆虫で、衛生害虫のゲノム研究も推進されている。農業害虫のゲノム研究は遅れているが、これは、以下のような理由によるものと思われる。まず、農業害虫は作物ごとに害虫種が多く、特定のワースト害虫だけを対象としていても作物防除が成り立たない場合があること、そして、個々の害虫ごとにゲノム研究を行うことは効率的ではなく、費用対効果が小さいことが上げられる。また、これまで農業害虫研究で

表-1 ゲノム解析が進行中の昆虫・ダニ (2009年5月, NCBI)

ハチ目	セイヨウミツバチ <i>Apis mellifera</i> 寄生バチの一種 <i>Nasonia vitripennis</i>
チョウ目	カイコ <i>Bombyx mori</i> チョウの一種 <i>Bicyclus anynana</i> チョウの一種 <i>Melitaea cinxia</i>
コウチュウ目	コクヌストモドキ <i>Tribolium castaneum</i> キクイムシの一種 <i>Dendroctonus ponderosae</i>
ハエ目	ハマダラカ <i>Anopheles gambiae</i> ネッタイエカ <i>Culex quinquefasciatus</i> ネッタシマカ <i>Aedes aegypti</i> ラセンウジバエ <i>Cochliomyia hominivorax</i> ノサンバエ <i>Haematobia irritans</i>
カメムシ目	オオサシガメ <i>Rhodnius prolixus</i> エンドウヒゲナガアブラムシ <i>Acyrtosiphon pisum</i> ミカンキジラミ <i>Diaphorina citri</i>
シラミ目	コロモジラミ <i>Pediculus humanus corporis</i>
ダニ目	マダニの一種 <i>Ixodes scapularis</i>

表-2 NCBIに登録されているEST数の多い昆虫とダニ (2009)

キイロショウジョウバエ <i>Drosophila melanogaster</i>	820,591
ネッタイシマカ <i>Aedes aegypti</i>	301,342
カイコ <i>Bombyx mori</i>	245,761
ネッタイエカ <i>Culex quinquefasciatus</i>	204,742
マダニの一種 <i>Ixodes scapularis</i>	193,773
エンドウヒゲナガアブラムシ <i>Acyrtosiphon pisum</i>	169,599
ハマダラカの一種 <i>Anopheles gambiae</i>	153,165
寄生バチの一種 <i>Nasonia vitripennis</i>	145,793
オナジショウジョウバエ <i>Drosophila simulans</i>	118,742
セイヨウミツバチ <i>Apis mellifera</i>	78,191
コクヌストモドキ <i>Tribolium castaneum</i>	64,571
マダニの一種 <i>Rhipicephalus microplus</i>	52,629
トノサマバッタ <i>Locusta migratoria</i>	45,708
ショウジョウバエの一種 <i>Drosophila sechellia</i>	38,257
ショウジョウバエの一種 <i>Drosophila auraria</i>	38,110
トビイロウンカ <i>Nilaparvata lugens</i>	37,312
ショウジョウバエの一種 <i>Drosophila pseudoobscura</i>	35,042
ヤガの一種 <i>Spodoptera frugiperda</i>	32,255
寄生バチの一種 <i>Nasonia giraulti</i>	30,060

は、害虫管理学、生態学等が主体で分子生物学的な研究は一部を除いて盛んではなかったことによる。しかし、ゲノム研究やそれから派生するツールを利用することにより、農業現場で問題となっている農業害虫に対して、有用な管理技術に繋がる研究が展開できることが、認識されつつある。

ゲノム情報を整備し、ゲノムツールを充実させることにより、農業害虫の研究を飛躍的に進展させることが必要と思われる。例えば、圃場で害虫の薬剤感受性が低下した場合、その原因と対策を早急に決定することが必要である。一般に、薬剤感受性低下の大きな要因として、対象昆虫の代謝酵素活性の上昇による薬剤の早期分解と薬剤の標的分子の変異による薬剤そのものの効力低下の二つが考えられる。特定の薬剤に対する代謝酵素の遺伝子情報はゲノム情報から得られ、その酵素活性はmRNA量の多少によって推定できる。また、標的分子が特定されていれば、その塩基配列決定により変異が起こっているかどうか判断できる。さらに、殺虫剤開発から考えると、標的分子がまだ解明されていない殺虫剤の作用機構解明や、さらには特定の標的分子をねらった薬剤開発も可能と思われる(野田, 2004)。そのほかに、作物の耐虫性と害虫との相互作用なども分子のレベルで解析されるようになれば、より信頼性の高い、効果的な防除を目指すことができる。

ゲノム情報は半永久的に保存され利用できるもので、それにかけた投資は無駄にはならない。ゲノム配列情報を取得する際の方向性として、より高度なゲノムリソー

ス整備を行うべきか、EST解析程度にとどめるべきかの判断が各害虫ごとに必要であろう。数年前ならば、農業害虫の全ゲノム解読はとても考えられなかったが、シーケンス費用が下がってきて、農業害虫のゲノム解読を目指す動きが世界的に盛んになってきている。モデル生物を中心とした重要な生物種のゲノム解析は一息つき、これまでに積み上げてきたシーケンスパワーを農業害虫に当てることが可能になってきたこと、そして、次世代シーケンサーが普及してきて以前よりもゲノム解析のハードルが随分低くなってきたことも重要な要因である。特に、高性能なシーケンサーの開発には、今後目が離せなくなりつつある。そして、同時に大量に生産されるゲノム情報を扱うコンピューターパワーと情報処理ができる技術者(bioinformatician, bioinformaticist)の養成が重要になりつつある。

IV トビイロウンカのゲノム研究とその応用

農業害虫の典型的な例としてトビイロウンカのゲノム研究とその展開について、現状を紹介したい。カイコのEST解析と同様に組織ごとにcDNAライブラリーを作製し、クローンごとに5'側から1回配列決定を行い、データを蓄積してきている。この解析の特徴は、小さな組織からも簡単にcDNAライブラリーを作製できるように、少量のサンプルからPCRにより増幅し、TAクローニングを行っている点である。初期に作製したファージライブラリーに比べて遜色ないライブラリーが少量のサンプルから容易にできる。現在までの解析分(約37,000 EST)は生物研のサイトに公開されている(<http://bphest.dna.affrc.go.jp/>)。

トビイロウンカのESTライブラリーは組織別に作られているので、組織特異的に発現する遺伝子などを見つけることができる。実際、卵巣や精巣で特異的に発現している遺伝子がいくつか見つかった(NODA et al., 2008)。ウンカで高発現している遺伝子の多くは、ハウスキーピング遺伝子であるが、発現量が高い機能不明の新規遺伝子がいくつか見つかり、その役割解明が課題である。

EST解析データなどをもとに、ウンカではマイクロアレイが作られている。アジレント社製の4×44K(スライドガラス上に44,000スポットのアレイが4個載っている)のオリゴマイクロアレイを現在使用している。マイクロアレイは、トビイロウンカで発現している遺伝子を組織別や発育ステージ別に調査したり、実験処理間で比較できるなど強力な解析ツールである。現在、生物

研ではオープンラボを開設して、カイコのマイクロアレイとともに、研究者に実験手法も提供している (<http://www.nias.affrc.go.jp/openlabo2/index.html>)。

トビイロウンカに感染する微生物の研究、吸汁と栄養代謝の研究、殺虫剤抵抗性と遺伝子発現解析など、マイクロアレイを用いて新しい取り組みが行われている。トビイロウンカに関しては、まだEST数が十分ではないと考えられ、完全長 cDNA 解読とともにさらに解読を進める必要がある。また、今後全ゲノム解読が容易に進められるように、BAC ライブラリーなどのリソースの整備が必要であると考えられる。

おわりに

今後の展開として、対象とする昆虫だけではなく、その昆虫の生息環境下にある他生物との相互作用の研究の重要性がますます高まると考えられる。畑や圃場での実態に即した相互作用研究を行うことの必要性が考えられる。ゲノム研究が多くの生物に及ぶようになると、害虫と相互作用する生物のゲノム研究にも注目していかなければならない。ウンカに関しては、その寄主植物であるイネのゲノム解読がほぼ終わっており、イネのゲノム解析ツールが利用できる。また、ウンカ類からは寄生・共生する微生物が多く見つかり、それら微生物のゲノム解読も将来有望な研究展開に繋がると考えられる。共生微生物のゲノム解読は、昆虫の共生現象の理解を大きく進展させており (MORAN, 2007; MORAN et al., 2009), 共生微生物自体の利用だけでなく、宿主昆虫の発育制御に繋

がる研究を期待したい。

これまで多くの害虫種において、IPM を目指した研究が行われている。しかし、作物栽培が既存の害虫に脅かされる事態が十分改善されているとは言い難い。また、栽培体系や気象条件の変化が作物被害に与える影響も無視できない。健全な作物栽培を目指すために、より新しい研究アプローチを模索し、現場でのニーズに応じていく必要がある。ゲノム研究は生物学に大きな変革をもたらした。害虫管理技術開発においても、そのポテンシャルを大いに活用する時期が到来している。

引用文献

- 1) ADAMS, M. D. et al. (2000): Science **287**: 2185 ~ 2195.
- 2) HOLT, R. A. et al. (2002): ibid. **298**: 129 ~ 149.
- 3) International Human Genome Sequencing Consortium (2001): Nature **409**: 860 ~ 921.
- 4) MITA, K. et al. (2003): Proc. Nat. Acad. Sci. USA **100**: 14121 ~ 14126.
- 5) ——— et al. (2004): DNA Res. **11**: 27 ~ 35.
- 6) MORAN, N. A. (2007): Proc. Nat. Acad. Sci. USA **104**: 8627 ~ 8633.
- 7) ——— et al. (2009): Science **232**: 379 ~ 382.
- 8) NENE, V. et al. (2007): ibid. **316**: 1718 ~ 1723.
- 9) 野田博明 (2004): 日本農薬学会誌 **29**: 163 ~ 169.
- 10) NODA, H. et al. (2008): BMC Genomics **9**: 117.
- 11) 野田博明・三田和英 (2008): 蚕糸・昆虫バイオテック **77**: 131 ~ 138.
- 12) The honeybee genome sequencing consortium (2006): Nature **443**: 931 ~ 949.
- 13) The international silkworm genome consortium (2008): Insect Biochem. Mol. Biol. **38**: 1036 ~ 1045.
- 14) Tribolium genome sequencing consortium (2008): Nature **452**: 949 ~ 955.
- 15) VENTER, C. et al. (2001): Science **291**: 1304 ~ 1351.
- 16) XIA, Q. et al. (2004): ibid. **306**: 1937 ~ 1940.
- 17) YAMAMOTO, K. et al. (2008): Genome Biol. **9**: R21.

新しく登録された農薬 (21.6.1 ~ 6.30)

掲載は、**種類名**、登録番号:**商品名** (製造者又は輸入者) 登録年月日、有効成分: 含有量、**対象作物**: 対象病害虫: 使用時期等。ただし、除草剤・植物成長調整剤については、**適用作物**、適用雑草等を記載。(登録番号: 22379 ~ 22399) 下線付きは新規成分。

「殺虫剤」

●クロチアニジンマイクロカプセル剤

22391: モリエートマイクロカプセル (住友化学) 09/6/10
22392: ヤシマモリエートマイクロカプセル (ヤシマ産業) 09/6/10
クロチアニジン: 7.5%
まつ (生立木): マツノマダラカミキリ成虫: 成虫の発生初期

「殺虫・殺菌剤」

●シフルトリン・ピテルタノール液剤

22398: アースガーデン W (アース農薬) 09/6/24
シフルトリン: 0.0050%, ピテルタノール: 0.025%
ばら: うどんこ病, アブラムシ類, チュウレンジハバチ, 黒

星病: —

きく: アブラムシ類, 褐斑病: —

はばたん: アオムシ: —

●フェンプロパトリン・ヘキサコナゾール乳剤

22399: 花セラビー 100 (ヤシマ産業) 09/6/24
フェンプロパトリン: 1.0%, ヘキサコナゾール: 0.20%
花き類・観葉植物 (ばら, きく, ガーベラを除く): アブラムシ類: —

きく: アブラムシ類, 白さび病: —

ばら: アブラムシ類, ハダニ類, うどんこ病, 黒星病: —
ガーベラ: タバココナジラミ類 (シルバーリーフコナジラミを含む), アブラムシ類: —

(8 ページに続く)