

特集：次世代農業への挑戦—抵抗性機構の解明と環境調和型殺虫剤の開発—

# 神経作用性殺虫剤のターゲット：ゲノム情報， 多様性および調節

近畿大学農学部応用生命化学科 <sup>まつ</sup>松 <sup>だ</sup>田 <sup>かず</sup>一 <sup>ひこ</sup>彦

## はじめに

現在実用されている殺虫剤の多くは神経系をターゲットとしている。これは、害虫による農作物の被害を最小限に食い止めることが可能な、切れ味の鋭い(即効性の)殺虫剤が求められてきたことと関係する。これまでの食糧生産における神経作用性殺虫剤の功績は誰しもが認めるところであり、将来もこの切れ味に対する需要は続くと思われる。しかし、環境保全型農業へのシフトに伴い、殺虫剤に対してターゲットベースでの害虫選択性(特異性)が求められるようになってきた。

このような厳しい要求をも可能にしてくれるのがゲノム情報である。ヒトゲノムの解読を頂点に矢継ぎ早に生物のゲノムが解読され、昆虫もその対象となった。これまでにショウジョウバエ、ハマダラカ、ミツバチ、コクヌストモドキおよびカイコのゲノムが解読され、殺虫剤の標的あるいは標的候補遺伝子の情報が精密にかつ膨大に蓄積された(SATTELLE, 2009)。そしてこの潮流はDNAシーケンサーの機能の驚異的な向上によって急速に加速され、今や一昆虫種のゲノムの解読は普通のテーマになろうとしている。

昆虫のゲノムデータベースの充実に伴い、ゲノム創農業という言葉が盛んに使われるようになった。ターゲットに対するハイスループットなアッセイ系をベースにしたリードディスクバリはその一つの流儀である。しかしデータベースがあるからといって、ターゲットに対するアッセイ系をつくるのは容易かというところとは限らない。実際にやってみるとデータベースからは見えない遺伝子産物の多様性と調節にしばしば遭遇する。そのような例として、殺虫剤のターゲットとなっている神経イオンチャンネルで見られる現象を二つ紹介したい。

## I リガンド作動性イオンチャンネルの多様性

リガンド作動性塩素チャンネル(LGIC)は、動物のみ

Insecticide Targets : Genome, Diversity and Regulation. By Kazuhiko MATSUDA

(キーワード：昆虫ゲノム，多様性，GABA 作動性塩素チャンネル，グルタミン酸作動性塩素チャンネル，RNA 編集)

ならず昆虫の神経シナプス伝達において主要な役割を果たしている。興奮性のシナプス伝達では、ヒトでも昆虫でもニコチン性アセチルコリン受容体(nAChR)とグルタミン酸受容体が中心的な役割を果たしている。一方抑制性シナプス伝達には、ヒトの場合γ-アミノ酪酸受容体(GABA<sub>A</sub>R)とグリシン受容体がかかわるのに対して、昆虫ではGABA<sub>A</sub>R受容体とグルタミン酸作動性塩素チャンネル(GluCl)がかかわる。特にGluClは、脊椎動物には見られないリガンド作動性塩素チャンネルであることから、昆虫選択的な殺虫剤の標的として重要である(Ozof et al., 2009)。

これらのLGICうち興奮性のグルタミン酸受容体を除くイオンチャンネルはいずれも5量体構造をとり、リガンドの結合とともに内在するイオンチャンネルを開き、膜電位をシフトさせる。すなわち化学信号を電気信号へモーダルシフトさせる機能を有する。

フェニルピラゾール構造をもつ殺虫剤フィプロニルや有機塩素系殺虫剤は昆虫のGABA<sub>A</sub>Rに作用する。昆虫の主要なGABA<sub>A</sub>RであるRDL(Resistant to dieldrin)をコードする遺伝子*rdl*は、2箇所のエクソンで選択的にスプライシングを受け4種のアイソフォームを生じる(BUCKINGHAM et al., 2005)。最近、この変化にRNA編集が加わってRDLが著しく多様化することが見いだされた(図-1)(JONES et al., 2009)。RNA編集によって起こるDNAの塩基の変化はすべてアデニンからグアニンへの変化であり、これはアデノシンデアミナーゼの働きによってmRNA上のアデニンがイノシンへと変化するために生じる。選択的プライシングの場合の数とRNA編集の場合の数を掛け合わせると、その数の多さは膨大な数になる。しかし、スプライシングパターンにせよRNA編集にせよ、すべてが等しい確率で生じるわけではなく、どちらも変態ステージに依存して変化した。特筆すべきこととして、幼虫ステージに比べて成虫ステージにおいてより高頻度のRNA編集が見られ、それによって起こるアミノ酸の変化に応じてRDLのGABAに対する感受性も変動した。RNA編集はGABA<sub>A</sub>Rに限定されるものではなく、nAChRでも起こる(SATTELLE et al., 2005)。最近、トビイロウンカのnAChRのRNA編集が殺虫剤ネ

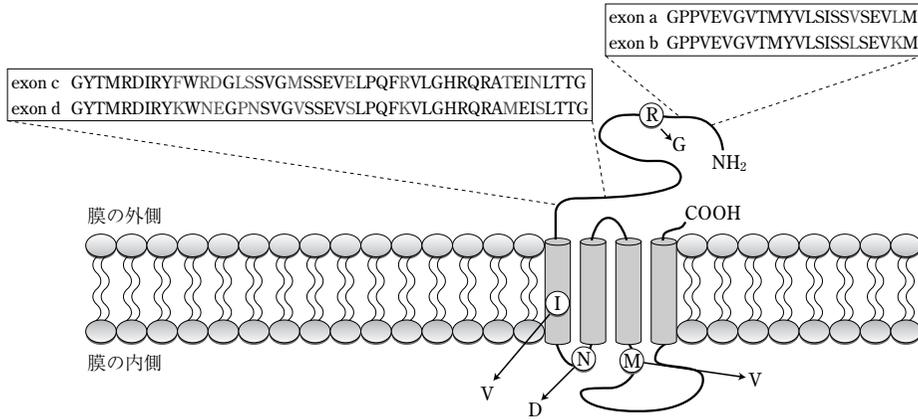


図-1 ショウジョウバエの GABA<sub>A</sub>R である RDL で見られる RNA 編集により生じるアミノ酸の変異。この受容体は細胞膜上に存在する。アルファベット一文字がアミノ酸の種類を表す。Society for Neuroscience の許可を得て掲載。

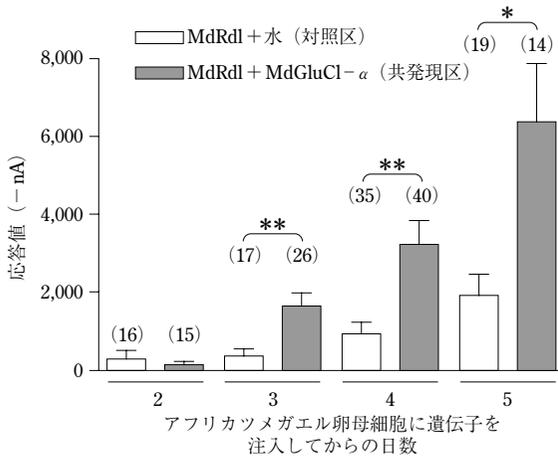


図-2 イエバエ (*Musca domestica*) 抑制性グルタミン酸受容体 MdGluCl との共発現によって引き起こされるイエバエ GABA<sub>A</sub> 受容体 RDL の GABA に対する応答の増強

\*  $P = 0.007$ , \*\*  $P < 0.005$  (unpaired  $t$ -test). Wiley 社の許可を得て掲載。

オニコチノイド感受性の変化を引き起こすことが見いだされた (Yao et al., 2009)。このことは、RNA 編集が神経作用性殺虫剤抵抗性の一要因になることを示している。

## II イオンチャネル間のクロストーク

昆虫のニューロンでは、複数のイオンチャネルが発現している。GluCl と RDL との関係についても同様で、昆虫の中枢では常に共存している。これは単なる偶然ではないことが免疫沈降実験によって示された。すなわち

両者はショウジョウバエから一塊となって抽出され、お互いに連携している可能性が示唆された (LUDMERER et al., 2002)。そこで筆者らは、イエバエの RDL と GluCl をアフリカツメガエル卵母細胞で同時に発現させたとき、単独で発現させたときとの間で、アゴニストに対するイオンチャネルの応答を比較した。興味深いことに、RDL の GABA に対する応答の大きさは GluCl と共発現させることで有意に増強した (図-2)。しかし GABA の RDL に対する親和性は、単独で発現させようと GluCl と共発現させようと変化しなかったことから、GluCl は RDL と膜上で複合体 (ヘテロマー) をつくるというよりは、RDL の膜への移行を助ける役目を果たしていると推察された (EGUCHI et al., 2006)。

## おわりに

昆虫からクローニングしたターゲット遺伝子の塩基配列がゲノムデータベースと異なっているとき、RNA 編集が関係しているのではないかと疑っていただきたい。それは単なるエラーではなく、意味をもった変異かもしれない。

GluCl による RDL の発現調節の例は氷山の一角であり、一般に神経イオンチャネル蛋白質は合成されてから膜に移行する過程のみならず、膜に埋め込まれてからも様々な蛋白質とパートナーを組んでいると考えられる。それによるゲノムを超えた調節機構を解き明かすことが、次代の環境保全型害虫防除につながると期待される。

## 引用文献

- 1) BUCKINGHAM, S. D. et al. (2005): Mol. Pharmacol. 68: 942 ~ 951.
- 2) EGUCHI, Y. et al. (2006): Insect Mol. Biol. 15: 773 ~ 783.

- 3) JONES, A. K. et al. (2009) : J. Neurosci. **29** : 4287 ~ 4292.  
 4) LUDMERER, S. W. et al. (2002) : Biochemistry **41** : 6548 ~ 6560.  
 5) OZOE, Y. et al. (2009) :  $\gamma$ -Aminobutyric acid receptors : a rationale for developing selective insect pest control chemicals, *In* "Biorational Control of Arthropod Pests Application and Resistance Management", ed. by ISHAYA, I. and HOROWITZ, A. R., Springer, Heidelberg, p. 131 ~ 162.  
 6) SATTELLE, D. B. et al. (2005) : BioEssays **27** : 366 ~ 376.  
 7) \_\_\_\_\_ (2009) : J. Pestic. Sci. in press.  
 8) YAO, X. et al. (2009) : Insect Biochem. Mol. Biol. **39** : 348 ~ 354.

## 新しく登録された農薬 (21.10.1 ~ 10.31)

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：22476 ~ 22498）下線付きは新規成分。

### 「殺虫剤」

#### ●イソキサチオン粒剤

- 22484：カルホスベイト K（保土谷 UPL）09/10/07  
 22485：ネキリエース K（保土谷化学）09/10/07  
 22486：ネキリガード K（ユービーエル）09/10/07  
 イソキサチオン：0.50%  
**はくさい**：コオロギ類，ネキリムシ類：は種時又は定植時～生育初期 但し，収穫 14 日前まで  
**キャベツ**：ネキリムシ類：は種時又は定植時  
**だいこん**：ネキリムシ類：は種時又は定植時  
**はつかだいこん**：ネキリムシ類：は種時又は定植時  
**ブロッコリー**：ネキリムシ類：定植時～生育初期 但し，収穫 14 日前まで  
**レタス**：ネキリムシ類：は種時又は定植時～生育初期 但し，収穫 21 日前まで  
**非結球レタス**：ネキリムシ類：は種時又は定植時  
**なばな**：ネキリムシ類：発芽期まで  
**だいず**：ネキリムシ類：は種時～本葉 2 葉期  
**えだまめ**：ネキリムシ類：収穫 21 日前まで  
**いちご**：ハスモンヨトウ：収穫前日まで  
**葉ごぼう**：ネキリムシ類：は種時～子葉展開期  
**さといも**：ネキリムシ類：収穫 14 日前まで  
**ごぼう**：ネキリムシ類：収穫 14 日前まで  
**かぶ**：ネキリムシ類：収穫 30 日前まで  
**ねぎ**：ネキリムシ類：収穫 30 日前まで  
**にんじん**：ネキリムシ類：発芽期～生育初期 但し，収穫 14 日前まで  
**えごま（種子）**：ネキリムシ類：定植時  
**たばこ**：ネキリムシ類：植付時  
 ●ジノテフラン剤  
 22495：スタークルメイト豆つぶ（三井化学アグロ）09/10/21  
 ジノテフラン：12.0%  
**稲**：カメムシ類，ウンカ類，ツマグロヨコバイ：収穫 7 日前まで  
 ●スピノサド水和剤  
 22496：スピノエースベイト（ダウケミカル）09/10/21  
 22497：サンケイスピノエースベイト（琉球産経）09/10/21  
 スピノサド：0.020%  
**ミバエ類が加害する農作物（ミバエ類発生地域におけるミバ**

工類加害農作物周辺の藪地）：ミバエ類：—（スポット散布）

### 「殺虫殺菌剤」

- ソルビタン脂肪酸エステル乳剤  
 22476：カダンセーフ原液（フマキラー）09/10/07  
 22477：ムシラップ（丸和バイオケミカル）09/10/07  
 ソルビタン脂肪酸エステル：70.0%  
**野菜類**：アブラムシ類，ハダニ類：うどんこ病収穫前日まで  
**いも類**：アブラムシ類，ハダニ類，うどんこ病：収穫前日まで  
**豆類（種実）**：アブラムシ類，ハダニ類：うどんこ病収穫前日まで  
**花き類・観葉植物（パンジーを除く）**：アブラムシ類，ハダニ類，うどんこ病発生初期  
**パンジー**：アブラムシ類，ハダニ類，うどんこ病，灰色かび病：発生初期  
 ●ジノテフラン・カスガマイシン・トリシクラゾール粉剤  
 22479：ダブルカットスタークル粉剤 DL（北興化学工業）09/10/07  
 ジノテフラン：0.35%，カスガマイシン：0.11%，トリシクラゾール：0.50%  
**稲**：いもち病，ウンカ類，ツマグロヨコバイ，カメムシ類：収穫 14 日前まで  
 ●エトフェンプロックス・カスガマイシン・トリシクラゾール粉剤  
 22481：ダブルカットトレボン粉剤 3DL（北興化学工業）09/10/07  
 エトフェンプロックス：0.50%，カスガマイシン：0.34%，トリシクラゾール：0.50%  
**稲**：いもち病，もみ枯細菌病，ツマグロヨコバイ，ウンカ類，カメムシ類：収穫 14 日前まで  
 ●エトフェンプロックス・カスガマイシン・トリシクラゾール粉剤  
 22490：ダブルカットトレボン粉剤 DL（北興化学工業）09/10/21  
 エトフェンプロックス：0.50%，カスガマイシン：0.11%，トリシクラゾール：0.50%  
**稲**：いもち病，ツマグロヨコバイ，ウンカ類，カメムシ類，コブノメイガ：収穫 14 日前まで

(30 ページに続く)