

|             |                                |
|-------------|--------------------------------|
| 氏 名 (本籍)    | なべしま たけし<br>鍋 島 武 (徳 島 県)      |
| 学 位 の 種 類   | 博 士 (農 学)                      |
| 学 位 記 番 号   | 博 甲 第 3341 号                   |
| 学位授与年月日     | 平成 16 年 3 月 25 日               |
| 学位授与の要件     | 学位規則第 4 条第 1 項該当               |
| 審 査 研 究 科   | 農学研究科                          |
| 学 位 論 文 題 目 | モモアカアブラムシの殺虫剤抵抗性機構に関する分子生物学的研究 |
| 主 査         | 筑波大学教授 農学博士 河 野 義 明            |
| 副 査         | 筑波大学併任教授 理学博士 山 川 稔            |
| 副 査         | 筑波大学助教授 農学博士 本 田 洋             |
| 副 査         | 筑波大学教授 農学博士 松 本 宏              |

## 論 文 の 内 容 の 要 旨

本研究は、昆虫の殺虫剤抵抗性をもたらす生理的、生化学的な機構、とりわけ殺虫剤に対して低感受性を示すアセチルコリンエステラーゼ（以下 AChE）の分子生物学的な背景を明らかにすることを目的とした。

はじめに、西日本各地の殺虫剤抵抗性個体群由来の、モモアカアブラムシ *Myzus persicae* の高度の殺虫剤複合抵抗性系統の中から、8 系統をクローン化系統として確立し、局所施用法による殺虫試験、および AChE の阻害試験を行った。協力剤の協力作用から、有機リン剤抵抗性にはカルボキシルエステラーゼによる捕捉結合活性と加水分解活性、エチオフェンカルブとピレスロイド剤抵抗性にはシトクロム P450 薬物酸化酵素が抵抗性機構として関与していることが明らかになった。また、ピレスロイド剤と DDT との間で交差抵抗性が見られたことから、これらの殺虫剤に対する抵抗性には *kdr* 因子の関与が示唆された。ピリミカーブ抵抗性には作用点である AChE の感受性低下が関与しており、阻害曲線の形状から、用いた 3 系統のピリミカーブ抵抗性系統は、ピリミカーブ低感受性を決定する遺伝子座についてヘテロ接合体であると予想された。

AChE の感受性低下をもたらす分子生物学的な背景を明らかにするために、AChE をコードする構造遺伝子の配列を解読した。モモアカアブラムシには 2 つの AChE 構造遺伝子が存在し、一つはキイロショウジョウバエ *Drosophila melanogaster* の *ace* 遺伝子と orthologous な MpAChE1 遺伝子、もう一つは *ace* paralogous な MpAChE2 遺伝子であった。ピリミカーブ抵抗性系統の MpAChE2 遺伝子では、基質特異性に関連が深い、アシルポケットの周縁部に、アミノ酸置換、Ser431Phe を引き起こすような突然変異が見つかった。抵抗性系統の MpAChE2 遺伝子は、感受性系統と同一の配列と、抵抗性系統特有の突然変異を持った配列とのヘテロ接合体として現われ、この遺伝子型は、低感受性決定遺伝子がヘテロ接合体であると予想されたことと一致していた。

一方の MpAChE1 遺伝子には、ピリミカーブ感受性系統と抵抗性系統との間で塩基配列に違いが見られなかった。このことから、モモアカアブラムシでは、*ace* paralogous な AChE 構造遺伝子、MpAChE2 がピリミカーブの標的となる AChE をコードしていると考えられた。

コガタアカイエカ *Culex tritaeniorhynchus* にも、MpAChE2 遺伝子と相同の AChE 構造遺伝子、CtAChE2

遺伝子が存在していた。殺虫剤抵抗性系統の CtAChE2 遺伝子では、アミノ酸置換、Phe474Trp を引き起こすような突然変異が見つかった。ツマグロヨコバイ *Nephotettix cincticeps* にも、MpAChE2、CtAChE2 遺伝子と相同の、NcAChE2 遺伝子が存在し、殺虫剤抵抗性系統では、アミノ酸置換、Phe349Val を引き起こす突然変異が見つかった。

キイロショウジョウバエ *ace* orthologous 遺伝子は双翅目、短角亜目のハエ以外の昆虫では AChE の殺虫剤低感受性への関与が疑問視されていること、本研究においても MpAChE1 遺伝子上にはピリミカーブ低感受性に関与する塩基置換が見つからなかったこと、また、系統的に離れていると考えられる半翅目、同翅目のモモアカアブラムシ、ツマグロヨコバイと、双翅目、糸角亜目のコガタアカイエカで、MpAChE2 と相同の遺伝子上の突然変異が AChE の殺虫剤低感受性と関連していることから、MpAChE2 と相同の遺伝子がコードしている AChE は、有機リン剤、カーバメート剤の標的として、昆虫全体の中ではより一般的なタンパクであると推測された。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

この研究は野菜、果樹、花卉の世界的な重要害虫であり、殺虫剤抵抗性が大きな問題となっているモモアカアブラムシの抵抗性機構の解明を目的としており、特に、有機リン、カーバメート殺虫剤抵抗性要因として重要な AChE 薬剤感受性低下の分子機構解明が中心ある。

これまで、有機リン、カーバメート殺虫剤抵抗性の要因として AChE の薬剤感受性低下が関与している例は 30 種以上の昆虫、ダニで報告されている。AChE 薬剤感受性低下の分子生物学的研究はキイロショウジョウバエで最初に行われ、AChE (*ace*) 構造蛋白質中の数個のアミノ酸置換によることが明らかにされた。その後、多くの昆虫、ダニにおいて同様な研究がなされ、イエバエ、ミバエの 1 種で同様なアミノ酸置換による感受性低下が証明されたが、他の昆虫、ダニでは *ace* orthologous な AChE には感受性低下に関連したアミノ酸置換が見つからなかった。その理由は、ゲノム解析の完了したキイロショウジョウバエでは AChE 遺伝子が 1 ゲノムに 1 遺伝子座であることから、他の昆虫も同様だと考えられたことである。しかし、2002 年になって *ace* paralogous AChE の存在が昆虫において報告され、それが有機リン、カーバメート殺虫剤の作用点となる AChE ではないかと考えられるようになった。以上の背景の中で、モモアカアブラムシ *ace* paralogous AChE の感受性低下に関連したアミノ酸置換の発見がなされ、世界で 2 番目の報告となったことは高く評価される。明らかにされた置換アミノ酸は AChE 構造の中でも基質、アセチルコリン、のアシル基と結合する重要な場所にあり、阻害剤である有機リン、カーバメートの結合にも影響を及ぼすものである。さらに、論文の後半で述べられているコガタアカイエカの感受性低下 AChE においても相同なアミノ酸部位で置換がおきていることは、薬剤感受性低下とこの部位のアミノ酸置換との関連を強く示唆すると同時に、研究の質の高さを示している。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。