

## トビイロウンカの nAChR 遺伝子の単離と機能的発現

野田博明（生物研）・旭 美穂（日産化学）・小泉蓉子（生物研）・真田幸代・  
松村正哉（九沖農研）・松田一彦（近畿大学）・中平国光（日産化学）

ネオニコチノイド剤などの普及で発生が抑えられていたトビイロウンカにおいて、2005年頃から東南アジアを中心に大発生がみられるようになってきた。この原因の一つがネオニコチノイド剤に対する抵抗性と考えられる。ネオニコチノイド剤の分子標的は、ニコチンアセチルコリンレセプター（nAChR）であり、このレセプターは昆虫の神経膜上にサブユニットが5量体を形成することによって作られている。トビイロウンカのnAChRのサブユニット遺伝子（ $\alpha$  1, 2, 3・・・、 $\beta$  1, 2 など）の配列がこれまでに報告されてきたが、その配列から目的の遺伝子を容易に PCR で増幅できないということがしばしば認められた。そこで、その原因を明らかにし、トビイロウンカの nAChR に対する薬剤の検定系を作ることが重要であると考えられた。

本研究では、1. トビイロウンカから新規に nAChR 遺伝子をクローニングし、配列を明らかにすること、2. クローニングした遺伝子がレセプターとしての機能を有することを証明すること、そして、3. 抵抗性の原因を究明する一環として、抵抗性系統と感受性系統とで nAChR 遺伝子の配列を比較すること、を目的としている。3 番目は、現在進行中であり、今回は 1 番目と 2 番目について報告する。

DNA データベースに登録されている昆虫の nAChR 遺伝子の配列を元に、プライマーをいくつか作製した。トビイロウンカから RNA を抽出し、cDNA を合成して、PCR により、nAChR の遺伝子断片を得た。そして、5' RACE と 3' RACE により、その遺伝子断片の両端の配列を解析して、ほぼ全長の遺伝子配列を得た。この方法を各サブユニット遺伝子に対して行い、これまでに、 $\alpha$  サブユニットの 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 10, そして  $\beta$  1 サブユニットをクローニングした。サブユニット分子は 464~595 アミノ酸残基からなっていた。これまでに、トビイロウンカゲノム配列の部分的な情報を得ており、得られたサブユニット遺伝子の配列をゲノム中から探索したところ、どの配列もゲノム中にコードされていることが確認できた。

一般に、昆虫の nAChR の  $\alpha$  サブユニットは、ほ乳類の  $\beta$  サブユニットとヘテロペンタマーとして発現させると機能することが知られているので、ニワトリの  $\beta$  2 サブユニット遺伝子をクローニングした。そして、トビイロウンカのサブユニット  $\alpha$  3 とこのニワトリの  $\beta$  2 サブユニットの遺伝子を、カエル卵母細胞で発現させた。アセチルコリンならびにイミダクロプリドを作用させることにより、トビイロウンカの  $\alpha$  3 遺伝子が機能することを確認した。

（本研究遂行に際し、農業生物資源研究所昆虫ゲノム研究ユニットならびに昆虫成長制御研究ユニットの協力を得た。本研究は、科研費基盤 (B) 「アジア域イネウンカ類の遺伝的多様性の類型化と広域移動動態の解明（代表松村正哉）」の一部として実施された。）