

殺虫剤耐性とトランスポゾン

HIV などレトロウイルスの薬剤耐性は複製エラーに起因する非常に速い進化速度による。メチシリン耐性黄色葡萄球菌などのバクテリアの抗生物質耐性はプラスミドの水平伝播によることが知られている。ウイルスや原核生物に比べて真核生物では、進化速度は遅く、また遺伝子の水平伝播の頻度は非常に低い。ところが、農業害虫は往々にして農薬（殺虫剤）に対する耐性を獲得する。昆虫の殺虫剤耐性獲得の分子機構には、トランスポゾンが大きく関与していることがわかってきた。ここでは、3つの異なるグループのトランスポゾンによる2つの異なる機構での殺虫剤耐性の獲得を紹介する。

トランスポゾンは大きく2つのグループに分けられる。一つは、RNA を介して逆転写によって転移する Copy & Paste 型のレトロトランスポゾン、もう一つは DNA を切り出し、挿入する Cut & Paste 型の DNA トランスポゾンである。レトロトランスポゾンは古典的には LTR レトロトランスポゾンと non-LTR レトロトランスポゾンとに分類されてきた。

チトクローム P450 は巨大なファミリーを構成し、さまざまな化合物の代謝に関与していることが知られている。殺虫剤耐性の機構の一つとして殺虫剤の速やかな分解が想定される。そこで、Daborn らは DDT 耐性と非耐性のキヨウジョウバエ *Drosophila melanogaster* の全ての P450 遺伝子の転写量をマイクロアレイによって比較した (Daborn et al. 2002)。DDT は言うまでも無く悪名高い農薬である。多くの P450 遺伝子が殺虫剤耐性に関与しているという予想に反して、たった一つの遺伝子 Cyp6g1 だけが転写量が大きく増加しているという結果が得られた。異なる地域で採集された DDT 耐性キヨウジョウバエでも同じ結果が得られた。定量的 RT-PCR により、更に多くの耐性、非耐性キヨウジョウバエを比較したところ、やはり全ての DDT 耐性キヨウジョウバエで Cyp6g1 の転写量が増加していた。そして、これら全ての DDT 耐性キヨウジョウバエでは、Cyp6g1 のすぐ上流に Accord という DNA トランスポゾンが挿入されていた。配列比較からは、全ての DDT 耐性キヨウジョウバエは Accord の挿入によって耐性を獲得した1匹のキヨウジョウバエに由来し、これが世界中に拡散したことがわかった。上述のマイクロアレイの結果から、Cyp6g1 の上流への Accord の挿入が Cyp6g1 の転写量の増加を招いたことが DDT 耐性の原因であると考えられる。そこで、GAL4/UAS 系により Cyp6g1 を強制発現させたシステムを作り DDT 耐性を確認すると、確かに Cyp6g1 を強制発現させたシステムでは転写量が上昇しており、かつ DDT に対する耐性が高まっていることがわかった。

逆に、遺伝子が壊れることで耐性を獲得する場合もある。Aminetzach らは生存に有利なトランスポゾンの挿入は集団中に固定されるはずだと考えた。そこ

で、*Drosophila melanogaster* ゲノム中の non-LTR レトロトランスポゾン Doc の挿入の内、組換えの頻度の高い場所に挿入されているものだけを選び、16箇所 の挿入位置について世界各地から採集した集団での頻度を調べた (Aminetzach et al. 2005)。その内の一つの挿入 (Doc1420 と命名) だけはアフリカ以外の多くの 個体群で頻度が高く、かつ変異が少なかった。一方、アフリカの集団では頻 度が低かった。Doc1420 は CG10618 (CHKov1 と命名) の第 2 エクソンに挿入さ れている。CHKov1 の転写は Doc1420 の挿入によって、CHKov1 の頭から Doc1420 の途中までと、Doc1420 の途中から CHKov1 の終わりまでとに分断されるこ とが予想された。CHKov1 の配列がコリンキナーゼドメインを含んでおり、同じコ リンの代謝系の酵素アセチルコリンエステラーゼが有機リン系を含む各種の殺 虫剤の標的となっていることから、Aminetzach らは Doc1420 の挿入が有機リン 系殺虫剤への抵抗性を高めているのではないかと予測した。Doc1420 の挿入の有 無だけが異なり他が均一な 2 つの系統を作成し、有機リン系殺虫剤 AZM に対す る耐性を比較した結果、Doc1420 の挿入された系統では殺虫剤に対する耐性が確 かに上昇していた。

Doc1420 の挿入された個体では、挿入されていない個体に比べて、周辺に多型 が少ない。これは、Doc1420 の挿入が適応的であり、Doc1420 周辺の配列がヒッ チハイキング効果によって集団中に広まっているためと考えられる。また、そ のヒッチハイキング効果の幅から過去数百年以内に世界中に Doc1420 の挿入が 広まったことが推測された。更に、CHKov1 とパラログ CHKov2 との間で同義 非同義置換の頻度を調べたところ、CHKov2 では Doc1420 の挿入の有無に関わ らず中立進化が起こっていることが支持された。一方、CHKov1 では、Doc1420 の挿入されている個体に限って、分断された前側の転写産物に適応進化、すな わち正の淘汰圧、が起こっていることが示唆された。これらの非同義置換は Doc1420 挿入個体では固定されているので、もしかすると分断された前側の CHKov1 から翻訳される蛋白質は新しい機能を持っているのかもしれない。

最後は厳密には殺虫剤ではなく、細菌の作る毒素に対する抵抗性の話である。 オオタバコガ *Heliothis virescens* は綿などの作物を加害する鱗翅目昆虫である。 商業用に生産される綿には、害虫に対する抵抗性を付与するために、*Bacillus thuringiensis* 由来の毒素 Cry1Ac を合成する遺伝子が組み込まれている。野生に はこの毒素に抵抗性のあるオオタバコガは存在していないが、研究室内で Cry1Ac 毒素を餌に混ぜることで人工的に Cry1Ac 毒素耐性オオタバコガが作り 出されている。この耐性の原因遺伝子は第 9 連鎖群の BtR-4 座位にあることが わかっていたが、具体的な遺伝子は不明のままだった。そこで、Gahan らはこの 耐性を生み出した機構を調べるため、まず、連鎖解析により BtR-4 の範囲を絞 り込んだ。しかし、候補遺伝子の同定にまでは至らなかったため、別の手法に

よる同定を試みた。他の昆虫では、中腸外壁に毒素が結合しないことによる毒素耐性が報告されている。そこで Gahan らは 2 種類の毒素結合蛋白質グループ、アミノペプチダーゼとカドヘリンをオオタバコガからクローニングし、座位を調べた。すると、カドヘリン遺伝子 HevCaLP が BtR-4 と同じ座位に位置することがわかった。ノーザンハイブリダイゼーションから、毒素耐性オオタバコガでは HevCaLP の転写産物の長さが増えていることがわかり、それは LTR レトロトランスポゾン Hel-1 が挿入されていることが原因であった。Hel-1 の挿入により、HevCaLP の転写開始点には変化は無いが、転写が Hel-1 の途中で終結する 2 種類の RNA が新たに転写されるようになっている。しかし、どれも Hel-1 内部に終止コドンを含むため、Hel-1 の挿入されたオオタバコガでは正常な HevCaLP 蛋白質は翻訳されない。

上記の 3 件はそれぞれ異なる目的のために異なる手法を用いてトランスポゾンの挿入による殺虫剤耐性の獲得という結果を導き出した。トランスポゾンの転移は、単に遺伝子を破壊するのみならず、遺伝子の発現量の増減や転写産物の分割などさまざまな影響を引き起こす。遺伝子を失うことで殺虫剤耐性を獲得するというのは一見不思議な現象だが、ゲノムから生存に不利な遺伝子を除去することも進化の一側面なのだろう。殺虫剤耐性の獲得は農業的、経済的には厄介な問題だが、わかりやすい人為淘汰の例として、自然淘汰の機構の解明のためには歓迎すべき現象と言えるかもしれない。

Daborn PJ, Yen JL, Bogwitz MR, Le Goff G, Feil E, Jeffers S, Tijet N, Perry T, Heckel D, Batterham P, Feyereisen R, Wilson TG, French-Constant RH.

A single p450 allele associated with insecticide resistance in *Drosophila*.
Science. 2002 Sep 27;297(5590):2253-6.

Aminetzach YT, Macpherson JM, Petrov DA.

Pesticide resistance via transposition-mediated adaptive gene truncation in *Drosophila*.
Science. 2005 Jul 29;309(5735):764-7.

Gahan LJ, Gould F, Heckel DG.

Identification of a gene associated with Bt resistance in *Heliothis virescens*.
Science. 2001 Aug 3;293(5531):857-60.

2006/01/17

小島 健司 著
禁 無断複写転載