

薬剤抵抗性研究の最前線

ナミハダニのエトキサゾール抵抗性と
診断法京都大学大学院農学研究科 おさか 刑 べ 部 まさ 正 ひろ 博

はじめに

薬剤抵抗性の発達は農作物の被害と薬剤散布量の増加等を通じて経済的被害をもたらし、また他の生物相に対する副次的影響などから環境への負荷を増加させる要因となっている。ハダニの防除では、古くからまさに殺ダニ剤抵抗性との戦いが繰り返されており、近年ではさらにその様相が複雑化している（山本，2015）。薬剤抵抗性の発達速度を左右する要因として、従来から薬剤の作用機構や抵抗性の遺伝様式、害虫の遺伝的特性等が検討されてきた。しかし、それらに加えて、ハダニの移動や分散等の生態的特性に基づいた抵抗性遺伝子の分布や頻度の変動が考えられる（刑部・上杉，2009）。

抵抗性遺伝子の動態をモニターするには作用点変異など抵抗性遺伝子に関する具体的な情報が必要であるが、ハダニ類ではそれらの情報が乏しく、個体群の抵抗性遺伝子頻度やその動態を直接調べることは困難であった。しかし、近年のゲノム研究の進展により、薬剤抵抗性に関連する遺伝子が次々に同定されており（Van LEEUWEN et al., 2010）、作用点変異による抵抗性についてはシーケンサーを用いた抵抗性遺伝子頻度の推定なども試みられている（Van LEEUWEN et al., 2008；KWON et al., 2015；WU et al., 2019）。なお、この方法で検出可能な抵抗性遺伝子の最低頻度は4.4~9.7%（KWON et al., 2008）または2.0~5.4%（GELLATLY et al., 2016）等と見積もられている。しかし、殺ダニ剤を使用するための死亡率低下の限度となる基準の死亡率を95%と考えると、抵抗性が劣性遺伝する場合は22%未満となるが、優性遺伝では3%未満の変異を検出する必要がある（「ゲノム情報等を活用した薬剤抵抗性管理技術の開発」コンソーシアム，2019）。このため、さらに高精度で簡便な薬剤抵抗性遺伝子頻度

推定法の確立が望まれる。

筆者らは、作用点変異と抵抗性の関係がよく調べられているナミハダニのエトキサゾール抵抗性を材料として、より検出感度の高い診断法の開発を目指して研究を進め、制限酵素とリアルタイム PCR を用いた新たな検出法を開発した（OSAKABE et al., 2017）。そこで本稿では、エトキサゾール抵抗性に関する研究の流れと抵抗性診断法について紹介する。なお、エトキサゾールの開発から販売開始後の抵抗性の出現経緯については本誌（石田，2015）や日本応用動物昆虫学会誌（小林ら，2001）に詳細に紹介されているので、そちらをご覧ください。

I キチン合成酵素の点突然変異による
エトキサゾール抵抗性発現の解明への流れ

エトキサゾールやヘキシチアゾクス、クロフェンテジン等のハダニ発育阻害剤の分子レベルでの作用機構は長らく不明のままであった。そもそも、10年余り前まではナミハダニのゲノムに関する情報が乏しかったために、作用点変異や解毒酵素等の関与は基質特異性の変化や酵素活性、阻害剤の共力効果試験等を用いて推定するにとどまり、なかなか原因遺伝子の特定には結び付かなかった。そのような中、西オンタリオ大学の GRBIĆ 博士を中心とした国際研究グループ The Genomics in Agricultural Pest Management (GAP-M) group によって、2011年にナミハダニのゲノム DNA の塩基配列が 640 個の scaffolds として発表された（GRBIĆ et al., 2011）。このデータは web 上の一般的なデータバンク（DDBJ/EMBL/GenBank 国際塩基配列データベース）に加え、オンラインリソースである ORCAE (<https://bioinformatics.psb.ugent.be/orcae/>, STERCK et al., 2012) にまとめて収録され、公開されている。ORCAE ではゲノム DNA の塩基配列だけでなく、cDNA や CDS 等の検索も可能であり、必要な遺伝子に関する情報が迅速に得られるようになった。これによってナミハダニの薬剤抵抗性研究が急速に進み、抵抗性の原因と考えられる様々な作用点変異や解毒酵素が明らかにされてきた（Van LEEUWEN et al., 2010）。

Etozazole Resistance in the Two-Spotted Spider Mite and Diagnostic Method for Detecting the Resistance Allele. By Masahiro OSAKABE

（キーワード：薬剤抵抗性管理，発育阻害剤，キチン合成酵素，作用点変異，リアルタイム PCR）