



表3 ゴキブリ用粘着トラップによる捕獲数

和名	学名	区域A						区域B						区域C					
		0	1	2	3	4	5	0	1	2	3	4	5	0	1	2	3	4	5
ハエ目	Diptera	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
ハエ科	Cyber spinos complex	19	26	2	4	1	1	53	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ハエ科	Chironomidae spp.	2	1	4	1	3	11	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ハエ科	Limonia alternata	1	8	1	1	1	22	22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ハエ科	Clogmia albipunctatus	2	2	1	1	3	6	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ハエ科	Mycophoridae spp.	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ハエ科	Brusophyllidae spp.	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
コクエウ目	Coleoptera	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
カメムシ目	Carabidae sp.	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
チモウ目	Lepidoptera	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
チモウ科	Plodia interpunctella	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ハチ目	Hymenoptera	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ハチ科	Ichneumonidae sp.	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ハチ科	Tetraneurinae sushimae	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ゴキブリ目	Dictyoptera	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ゴキブリ科	Blattella germanica	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ゴキブリ科	Periplaneta fuliginosa	2	1	2	2	1	1	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ゴキブリ科	Periplaneta americana	2	1	2	2	1	2	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ゴキブリ科	Periplaneta brunnea	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ゴキブリ科	Periplaneta pacifica	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ゴキブリ科	Liposcelis bostrychophila	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ゴキブリ科	Lepidotus inquilinus	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
トビムシ目	Collembola spp.	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
クモ目	Araneae	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
クモ科	Pholcus phalangioides	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
クモ科	Spermobora sp.	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
クモ科	unidentified	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
その他	Others	2	2	2	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
その他	Tetranychidae sp.	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
その他	Parasitica scaber	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
小計		31	9	42	5	10	3	91	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
合計		40	47	13	13	1	5	109	218	14	4	3	1	4	18	10	0	1	29

表4 タバコシバンムシ用粘着トラップによる捕集数(1)

和名	学名	設置場所																							
		ビル内A						ビル内B																	
		0	N	壁	床	壁	小計	0	N	壁	床	壁	小計												
ハエ目	Diptera	19	1	26	4	115	2	1	7	2	80	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2		
タバコシバンムシ	<i>Culex pipiens complex</i>																								
シバンムシ	<i>Chironomidae spp.</i>																								
シバンムシ	<i>Tinearia alternata</i>	1	3	2			1				8														
シバンムシ	<i>Scatopsidae spp.</i>			1							1														
コウチュウ目	Coleoptera										0														
カマキリ目	<i>Lesioderma serricorne</i>										0														
クモ目	Lepidoptera										0														
クモ目	<i>Plodia interpunctella</i>										0														
ハチ目	Hymenoptera										1														
ハチ目	<i>Ichneumonidae spp.</i>			1							1														
ハチ目	<i>Tetramorium tsushimae</i>										0														
ゴキブリ目	Dictyoptera										0														
ゴキブリ目	<i>Blattella germanica</i>										0	1	1												
ゴキブリ目	<i>Periplaneta americana</i>										0														
ゴキブリ目	<i>Periplaneta brunnea</i>										0	1	1												
チャタテムシ目	Psocoptera										4														
チャタテムシ目	<i>Liposcelis bostrychophilus</i>	1									4														
チャタテムシ目	<i>Lepinotus inguilinus</i>										0														
チャタテムシ目	<i>Peripsocidae sp.</i>										0														
トビムシ目	Collembola spp.	1									1														
クモ目	Araucae										4														
クモ目	<i>Pholcus phalangoides</i>										4														
クモ目	<i>Spermophora sp.</i>										0														
クモ目	Others										0														
クモ目	<i>Porcellio scaber</i>										0														
小計		21	5	21	0	41	16	3	21	1	81	21	0	21	3	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
合計		26	2	30	5	59	19	3	9	2	96	5	5	4	4	2	2	0	0	0	0	0	0	0	11

タバコシバンムシ用粘着トラップによる捕集数(2)

和名	学名	設置場所																													
		民家A						民家B						民家C																	
		0	N	壁	床	壁	小計	0	N	壁	床	壁	小計	0	N	壁	床	壁	小計												
ハエ目	Diptera	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
タバコシバンムシ	<i>Culex pipiens complex</i>																														
シバンムシ	<i>Chironomidae spp.</i>																														
シバンムシ	<i>Tinearia alternata</i>																														
シバンムシ	<i>Scatopsidae spp.</i>																														
コウチュウ目	Coleoptera																														
カマキリ目	<i>Lesioderma serricorne</i>																														
クモ目	Lepidoptera																														
クモ目	<i>Plodia interpunctella</i>										20																				
ハチ目	Hymenoptera										1																				
ハチ目	<i>Ichneumonidae spp.</i>										1																				
ハチ目	<i>Tetramorium tsushimae</i>										0																				
ゴキブリ目	Dictyoptera										2																				
ゴキブリ目	<i>Blattella germanica</i>										0																				
ゴキブリ目	<i>Periplaneta americana</i>										0																				
ゴキブリ目	<i>Periplaneta brunnea</i>										0																				
チャタテムシ目	Psocoptera										0																				
チャタテムシ目	<i>Liposcelis bostrychophilus</i>										0																				
チャタテムシ目	<i>Lepinotus inguilinus</i>										0																				
チャタテムシ目	<i>Peripsocidae sp.</i>										1																				
トビムシ目	Collembola spp.										1																				
クモ目	Araucae										0																				
クモ目	<i>Pholcus phalangoides</i>										0																				
クモ目	<i>Spermophora sp.</i>										0																				
クモ目	Others										0																				
クモ目	<i>Porcellio scaber</i>										1																				
小計		8	6	4	3	1	1	1	0	0	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2					
合計		14	7	2	2	3	0	0	0	0	2	2	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9				

表5 マダラメイガ用粘着トラップによる捕集数 (1)

和名	学名	設置場所										小計					
		ビル内A					ビル内B										
設置位	設置位	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3
ハエ目	Diptera																
メダカ科	Tipulidae spp.																
メダカ科	<i>Culex pipiens</i> complex	4	3	1	12	1	2	1	10	1	2	1	1	2			
メダカ科	Chironomidae spp.																
メダカ科	<i>Tinearia alaternata</i>	30	3	1	24	6	2							48			
メダカ科	<i>Clogmia albipunctatus</i>	8												8			
メダカ科	Mycetophilidae spp.	1												1			
メダカ科	Sciariidae spp.	4												4			
メダカ科	Phoridae spp.															2	
メダカ科	Lepidoptera																
メダカ科	<i>Plodia interpunctella</i>	1												1			
ハチ目	Hymenoptera																
ハチ目	<i>Tetraneura tsushimae</i>																
ゴキブリ目	Dictyoptera																
ゴキブリ目	<i>Blattella germanica</i>					2								2	2		
ゴキブリ目	<i>Periplaneta fuliginosa</i>					1								1			
ゴキブリ目	<i>Periplaneta americana</i>									8	2			11			
ゴキブリ目	<i>Periplaneta brunnea</i>									0	1	1		2			
クモ目	Pococoptera																
クモ目	<i>Liposcelis bostrychophila</i>																2
クモ目	<i>Lepinotus inquilinus</i>																0
クモ目	Peripocidae sp.																0
クモ目	Collembola spp.																0
クモ目	Arenaeo																0
クモ目	<i>Pholcus phalangoides</i>																1
クモ目	<i>Spermophora</i> sp.																1
クモ目	unidentified																1
小計		49	7	4	28	18	3	4	11	5	1	2	5	1	2	1	2
合計		56	29	21	5	26	19	10	10	140	17	6	0	1	0	8	0

マダラメイガ用粘着トラップによる捕集数 (2)

和名	学名	設置場所										小計					
		民家A					民家B										
設置位	設置位	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3
ハエ目	Diptera																
メダカ科	Tipulidae spp.																
メダカ科	<i>Culex pipiens</i> complex																
メダカ科	Chironomidae spp.																
メダカ科	<i>Tinearia alaternata</i>																
メダカ科	<i>Clogmia albipunctatus</i>																
メダカ科	Mycetophilidae spp.																
メダカ科	Sciariidae spp.																
メダカ科	Phoridae spp.																
メダカ科	Lepidoptera																
メダカ科	<i>Plodia interpunctella</i>	2	1	8	28					1				1			
ハチ目	Hymenoptera																
ハチ目	<i>Tetraneura tsushimae</i>																
ゴキブリ目	Dictyoptera																
ゴキブリ目	<i>Blattella germanica</i>																
ゴキブリ目	<i>Periplaneta fuliginosa</i>																
ゴキブリ目	<i>Periplaneta americana</i>																
ゴキブリ目	<i>Periplaneta brunnea</i>																
クモ目	Pococoptera																
クモ目	<i>Liposcelis bostrychophila</i>																
クモ目	<i>Lepinotus inquilinus</i>																
クモ目	Peripocidae sp.																
クモ目	Collembola spp.																
クモ目	Arenaeo																
クモ目	<i>Pholcus phalangoides</i>																
クモ目	<i>Spermophora</i> sp.																
クモ目	unidentified																
小計		11	1	8	28	6	1	0	1	0	0	0	0	66	0	1	0
合計		12	36	6	1	7	0	0	1	1	0	0	0	10	13	2	0

表6 捕集種のトラップ別上位5種

トラップ名	捕集種 (捕集数)				
ライト	1. ノハエ科(1,558)	2. ユスリ科(318)	3. アカイ群(260)	4. ネショウハエ(127)	5. クロハ科ノハエ科(80)
ゴキブリ用	1. トビイロキアリ(112)	2. チャハコキアリ(66)	3. アカイ群(53)	4. ワモノキアリ(36)	5. ツヤコチャタテ(28)
シバンムシ用	1. アカイ群(80)	2. タハコシバンムシ(21)	3. ツヤコチャタテ(9)	4. ネショウハエ(8)	5. ヒラキチャタテ、イコウレイゴモ(4)
メイガ用	1. ネショウハエ(68)	2. アカイ群(48)	3. ノソマダラメイガ(43)	4. ツヤコチャタテ(22)	5. チャハコキアリ(12)

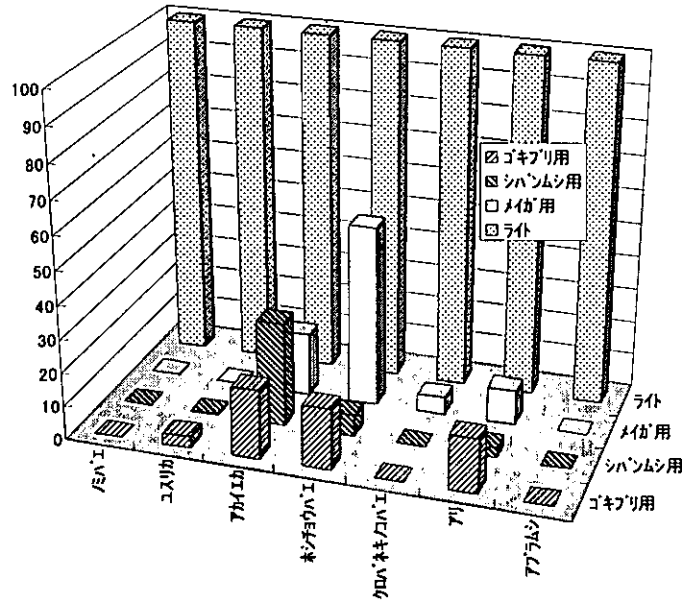


図1-1 最大捕集数を100とした場合の各トラップの捕集数(1)

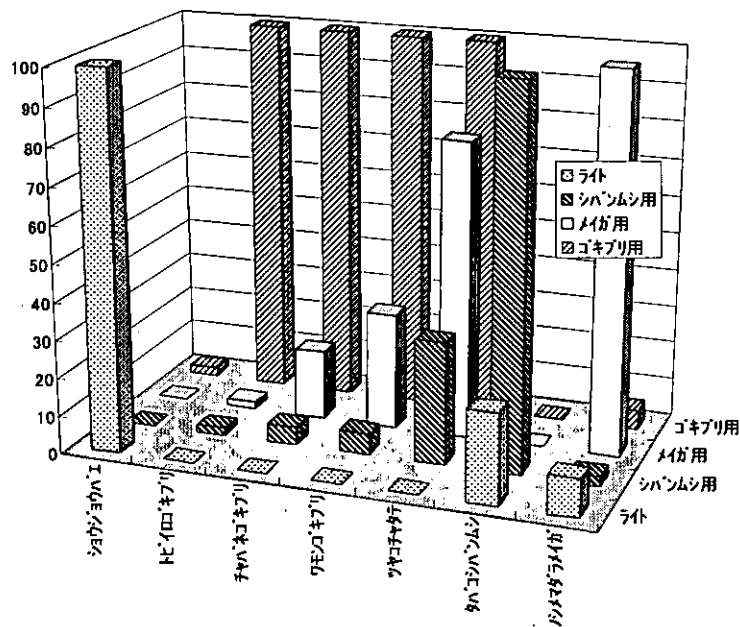


図1-2 最大捕集数を100とした場合の各トラップの捕集数(2)

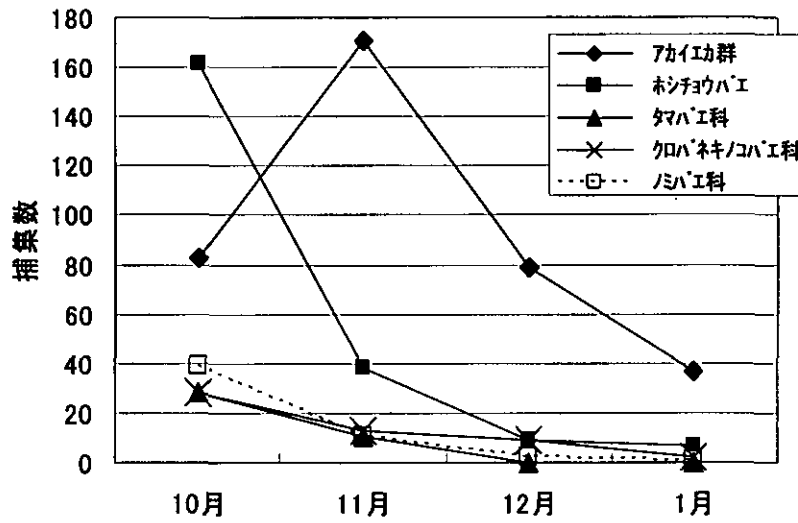


図2 ビル内Aにおける捕集数の変動

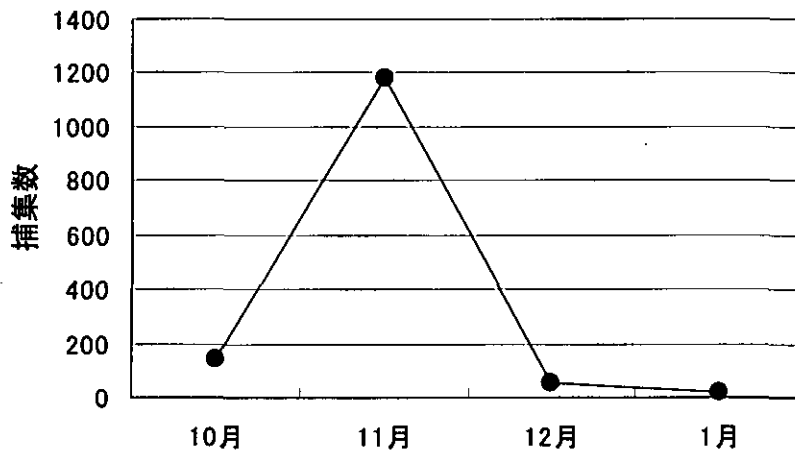


図3 ビル内Bにおけるノミハエ類捕集数の変動

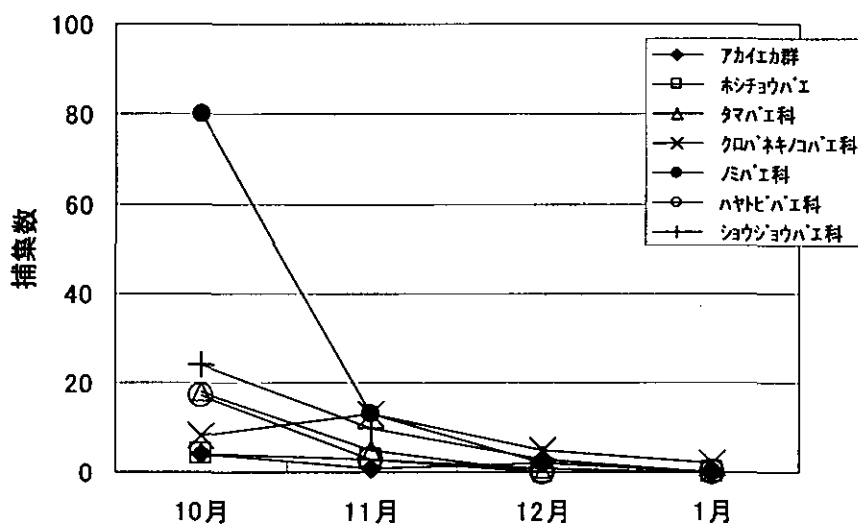


図4 民家Aにおける捕集数の変動

厚生労働科学研究費補助金（健康科学総合研究事業）  
分担研究報告書

蚊・ゴキブリ類に関する殺虫剤抵抗性分子診断法の確立

分担研究者 富田 隆史 国立感染症研究所昆虫医科学部室長  
協力研究者 葛西 真治 国立感染症研究所昆虫医科学部主任研究官  
津田 良夫 国立感染症研究所昆虫医科学部室長  
石川 剛 シェル商事(株)  
正野 俊夫 国立感染症研究所昆虫医科学部客員研究員

建築物内で発生または侵入する衛生害虫のうち、日本において殺虫剤抵抗性の発達により化学的防除が困難になるおそれがあるアカイエカ種群蚊とチャバネゴキブリについて、殺虫剤に関する感受性レベルならびに抵抗性機構の推定を行い、殺虫剤抵抗性に関連づけられる作用点遺伝子の構造変化を解析した。2003年におもに首都圏の市街地で採取したアカイエカとチカイエカの合わせて15の蚊コロニーについて、有機りん系殺虫剤のフェニトロチオンとテメフォス、ピレスロイド系のエトフェンプロックス、昆虫成長抑制剤のディミリンとピリプロキシフェンを使い、幼虫の殺虫剤感受性試験を行った。エトフェンプロックスを除いた各殺虫剤では、同一の殺虫剤を唯一の有効成分として含む製剤の用法用量に定められている有効成分の濃度以下で有効性を確認した。エトフェンプロックスを用いた試験では、8コロニーについては、感受性対照系統の示すLC99の100倍濃度における死亡率が90%以下であり、中でも、チカイエカの渋谷コロニーは著しい感受性低下を示し、20%を下回る死亡率であった。アカイエカ種群蚊集団ではエトフェンプロックスに対する効力が低下していた。渋谷コロニーのもつ主要なエトフェンプロックス抵抗性要因としては、チトクロム酸化酵素P450による解毒作用の増大のほか、ピレスロイド作用点であるナトリウムチャンネルの構造変化による殺虫剤感受性低下が含まれている。渋谷コロニーを含む2つのチカイエカコロニーの蚊からは、ナトリウムチャンネルのドメインII-膜貫通セグメント6にLeu1014Phe置換（イエバエのナトリウムチャンネル座位番号を引用）をもつ典型的なノックダウン抵抗性(knock down resistance: *kdr*)型遺伝子が、また、6つのアカイエカコロニーの蚊からは、同座位の異なる置換にあたるLeu1014Ser置換が日本産のアカイエカ種群蚊として初めて同定された。ピレスロイド剤であるペルメトリンに25倍の抵抗性比を示すチャバネゴキブリの新幹線系統からは、ナトリウムチャンネルの典型的な*kdr*型遺伝子が日本産のゴキブリとして初めて同定された。これらの害虫種に共通する殺虫剤低感受性ピレスロイド作用点に生じている点突然変異を分子診断することがピレスロイド剤抵抗性の検出に有効であるといえる。

A. 研究目的

害虫種の野外コロニーに関する殺虫剤の有効性は殺虫試験により評価するのが通例であ

る。個体のレベルで示される殺虫剤感受性を評価するには殺虫試験に代わるものはないといえる。しかしながら、そのためには、殺虫

試験に先立ち、新たに採取した野外コロニーを室内で継代飼育し、発育ステージの揃った多数の虫を準備する必要がある。蚊種ではとくに室内飼育環境に順化して生殖・発育が行えるようようになるには世代数を要する。その過程で、野外で採集した個体がもつ遺伝的多様性が実際にどの程度供試虫の世代に伝えられているか不明になるという弊害を伴う。ゴキブリ種では、双し昆虫種と比べ一世代あたり長い飼育日数を要する。野外コロニーに関する殺虫剤の有効性を評価するには、殺虫試験は時間と労力に関するコストを要し、数多くのコロニーについて感受性レベルを調査するに難のある方法といえる。

殺虫剤抵抗性は、1つの昆虫集団に一様に発達するものではなく、殺虫剤散布歴による選択圧や近隣のコロニーとの間に起こる昆虫の移動の程度に依存して、集団内に現れるものである。昆虫が1つの殺虫剤に対して抵抗性を示す場合には、殺虫剤作用点の感受性低下により生じる場合、解毒作用の増大により生じる場合、またはその両方による場合などいろいろな原因がある。害虫集団内の抵抗性個体の頻度や分布を監視し、抵抗性が発達した場合には交差抵抗性を生じない他の有効な代替薬剤を選択可能にするためには、殺虫試験による感受性レベルの推定と主要な抵抗性機構に含まれる変異型作用点や解毒作用の増大を生理・生化学的に推定することに頼るのが従来の方法であった。主要な抵抗性機構の要因となる生体分子と変異の型が特定されているならば、より簡易な遺伝子診断にもとずいて抵抗性遺伝子の頻度分布を調査することにより、抵抗性の監視と有効な薬剤の選択が可能である。抵抗性コロニーが、例えば作用点の殺虫剤非感受性構造変化とある解毒酵素の過剰発現というように、1つの殺虫剤に関して複数の主要な抵抗性機構を含んでいる場合にも、個体レベルで抽出した核酸に基づき、それぞれをコードする遺伝子の点突然変異と

転写産物量(または遺伝子量)の差異として、一律に実験的取り扱いが可能である。

わが国の建築物内でヒトを吸血するおもな蚊種はアカイエカ種群のアカイエカ(*Culex pipiens pallens*)とチカイエカ(*Cx. p. molestus*)である。アカイエカとチカイエカの発生源は、それぞれ、側溝や雨水ますの水たまりおよび建築物地下の空間にできた水たまりや汚水槽である。両種の形態学的形質の差異は不明瞭で、両種の吸血嗜好性や行動の範囲の違い、集団の隔離の度合いは十分研究されていない。最初の産卵が未吸血で行えるチカイエカは地下汚水槽などのように閉ざされた空間で継代を重ねることが可能であり、ビル管理法に対応して防除の対象になり、幼虫の駆除には有機りん系、ピレスロイド系、昆虫成長抑制剤に分類される殺虫剤が使われている。家屋に侵入した成虫蚊対策にはピレスロイド系殺虫剤を有効成分とするスプレー缶、蚊取り線香、電気蚊取りが用いられている。日本産アカイエカ種群の各種殺虫剤系についての感受性レベルの現状に関しては調査・研究報告例がほとんどない。ゴキブリ種の化学的防除には、ベイト剤(食毒)のほかに、即効的致死効果があるものとしておもにピレスロイド系殺虫剤が空間噴霧処理により厨房内で、スプレー缶直噴により一般家庭内で使われている。チャバネゴキブリのピレスロイド抵抗性は全国的に広まっていることを示す研究報告が、抵抗性コロニーの割合については明らかにされていない。

本分担研究では、アカイエカ種群蚊とチャバネゴキブリの殺虫剤抵抗性を対象にして、抵抗性遺伝子の分子診断法確立とそれにより各害虫種集団の抵抗性遺伝子頻度分布を調査することを研究期間内の目的とする。本年度はおもに首都圏地域に発生したアカイエカ種群蚊の各種殺虫剤に対する感受性レベルを調査し、ピレスロイド抵抗性コロニーに含まれていた主要な抵抗性機構およびの作用点遺伝



子の抵抗性型突然変異を明らかにした。また、チャバネゴキブリの日本産ピレスロイド抵抗性系統から作用点遺伝子の抵抗性型突然変異を明らかにした。

## B. 研究方法

### 昆虫：

2003年にアカイエカ種群蚊の幼虫または成虫を採集し、それぞれに由来する16の室内コロニーを殺虫剤選抜なしに継代飼育した。チカイエカコロニーは、成虫を野外採集した場合は次世代の室内飼育コロニーにおいて、または幼虫を野外採集した場合は羽化したコロニーにおいて、雌成虫が未吸血で産卵した卵舟より孵化した個体群に基づき判別した。未吸血産卵をまったく示さなかった室内コロニーをアカイエカコロニーと判別した。アカイエカ種群蚊の殺虫剤感受性対照系統として国立感染症研究所で維持しているアカイエカ洞穴系統とネッタイエカ小笠原系統を用いた。蚊の飼育は室温25℃、湿度65%、日長条件16L-8Dに保った恒温室内で行い、マウスを吸血源とした。チャバネゴキブリは国立感染症研究所内で維持している殺虫剤感受性の感染研系統とピレスロイド抵抗性系統の新幹線系統を用いた。ゴキブリの飼育は室温25℃、湿度50%、日長条件12L-12Dに保った恒温室内で行った。

### 殺虫剤：

次の殺虫剤原体または製剤の供与をうけ、蚊幼虫の殺虫試験に用いた。フェニトロクソン（原体と10%乳剤；住友化学工業）；テメフォス（原体と5%水和剤；三共ライフテック）；エトフェンプロックス（原体；三井化学）；ジフルベンズロン（デミリン水和剤25%；三共ライフテック）；ピリプロキシフェン（シントースミラブS粒剤0.5%；シントーファイン）。チャバネゴキブリの殺虫試験にはペルメトリン（原体；住友化学工業）を用いた。

### 殺虫試験：

4齢幼虫約30頭を底面直径6 cm、容積100 mLのプラスチックカップに入れた50mLの蒸留水に浸漬し、エタノールに溶解（または十分に懸濁させた）殺虫剤溶液を250 $\mu$ L添加し十分攪拌した。フェニトロチオン、テメフォス、エトフェンプロックスの効力は処理開始24時間後の致死率により判定した。ジフルベンズロンとピリプロキシフェンの効力は羽化阻止率により判定した。各濃度あたり処理を2回反復した。殺虫剤感受性対照系統に対する殺虫剤の効力は、SPSSソフトウェアを用いプロビット法により解析した(SPSS Inc.)

### 遺伝子解析：

アカイエカ種群蚊とチャバネゴキブリの遺伝子配列解析には、それぞれ、幼虫全体と成虫頭部を使い、いずれもIsogen (NipponGene) を使い1頭ごとに核酸を抽出した。アカイエカ種群蚊のナトリウムチャンネル遺伝子配列に関しては、Total RNA抽出物に残存するDNAを鋳型として利用し、ExTaq DNA ポリメラーゼ(Takara)、CTTCACCGACTTCATGCAC (F1CqSC) と CACGGACGCAATCTGGCTTG (R18CqSC) プライマーを使い、ナトリウムチャンネル遺伝子のDII-S6コード領域を増幅した。増幅産物はTA Cloning kit (Invitrogen) でクローニングし、クローン化した遺伝子配列を解析に用いた。F1CqSC-R18CqSC プライマーセットにより増幅された遺伝子断片を鋳型にして ACGTGTCCCTGCATTCCTGTTTC (F11CqSC) と CTTGATCCAGTTGGAGAAGC (R18CqSC) プライマーで内側の配列を増幅し、その産物に含まれる1つのイントロン配列のサイズをアガロースゲル電気泳動により検出した。チャバネゴキブリのナトリウムチャンネル遺伝子配列に関しては、全RNAに基づきOligo(dT)16とReverTra Ace逆転写酵素(Toyobo) を使い合成したcDNAを鋳型とし、ACTGTTGTGCTCTGGGTA (F1BgSC) と CAGGATTCAKCCGCTGTGAG (R2BgSC) プライマー

を使い、ナトリウムチャンネルのDII-S6コード領域を増幅し、cDNA配列をダイレクトシーケンシングにより解析した。BigDye Terminator Cycle Sequencing kit v1.1 (ABI)によりシーケンシング反応を行い、ABI Prism 310 System (ABI) でDNA配列を決定した。

## C. 研究結果

### 1. アカイエカ種群蚊

野外コロニーの殺虫剤感受性調査法：

アカイエカの殺虫剤感受性対照系統洞穴に対する各種殺虫剤の効力を表1に示す。用いた殺虫剤は、わが国で蚊幼虫の防除に登録のある殺虫剤の中から、原体または1つの殺虫剤を有効成分として含み、共力剤を含まないものを選んだ。フェニトロチオンとテメフォスのそれぞれに関しては、原体と製剤を用いて殺虫試験を行ったが、剤型による効力はほぼ同等であった。洞穴系統蚊が示した有機りん系のフェニトロチオンとテメフォス、ピレスロイド系のエトフェンプロックス各原体、および昆虫成長抑制剤に分類される皮膚形成阻害剤のジフルベンズロンと幼弱ホルモン様剤のピリプロキシフェンの各製剤を野外コロニーの感受性レベルの調査に用いることにした。この調査に用いた各殺虫剤の濃度は感受性対照系統の示すLC99値に基づき、LC99値の等倍、10倍、100倍の3濃度とした(表2)。表2には、表1に示したフェニトロチオン、テメフォス、ジフルベンズロン、ピリプロキシフェン各製剤に定められている用法・用量を付した。エトフェンプロックスに関しては、本剤のみを有効成分として含む蚊幼虫防除用製剤が登録されていないため、共力剤を含むレナトップ乳剤に定められている用法・用量を参考のため付した。

野外コロニーの殺虫剤感受性：

2003年夏期と秋期に、アカイエカの盛岡コロニーを除き、首都圏内の14地点で採集して得たアカイエカのべ13コロニーとチカイエカ

2コロニーを数世代室内飼育し殺虫試験に用いた(表3)。野生コロニーに対する各種殺虫剤の効力を図1に示す。有機りん系のフェニトロチオンとテメフォスに関しては、感受性系統の示すLC99濃度においてコロニー間の感受性に違いが認められたが、LC99 X10の濃度では調べた全コロニーに対して高い効力を示した(図1, AとB)。これら2つの殺虫剤の用法用量の範囲はともにLC99 X10とLC99 X100の間に位置することから、これら殺虫剤の現在の野外集団蚊に対する有効性が推測される。ピレスロイド系のエトフェンプロックスに関しては、試験した15コロニー中8コロニーがLC99 X100の濃度において90%以下の致死率しか示さなかった(図1, C)。とくにチカイエカの渋谷コロニーの致死率は20%を下回る感受性の低下を示し、アカイエカの粕江と林試の森コロニーがこれに次ぐ感受性の低下を示した。アカイエカ種群蚊の集団にエトフェンプロックス抵抗性が発達する過程にあるといえる。皮膚形成阻害剤のジフルベンズロンに関しては、LC99 X10濃度において調べた全コロニーに対して高い効力を示した(図1, D)。幼弱ホルモン様剤のピリプロキシフェンに関しては、LC99およびLC99 X10の濃度において、コロニー間の感受性に違いが認められたが、LC99 X100の濃度では調べた全コロニーに対して高い効力を示した(図1, E)。ジフルベンズロンとピリプロキシフェンの殺虫剤の用法用量の範囲は、それぞれ、LC99 X100に重なるか同じオーダーのレベルにあることから、これら殺虫剤の現在の野外集団蚊に対する有効性が推測される。

殺虫剤解毒機構：

エトフェンプロックスに対して著しい抵抗性を示すことが確認されたチカイエカの渋谷コロニーに関して、一般的な加水分解酵素の阻害剤であるDEF (S,S,S-tributyl phosphate)とチトクロムP450酸化酵素の阻害剤であるPBO (piperonyl butoxide)それぞれのエトフェン

ロックスの効力への共力効果をバイオアッセイにより検討した。その結果、DEFとPBOそれぞれの一定濃度添加によるエトフェンプロックス感受性低下への効果が認められた(図2)。殺虫剤感受性対照系統への同様な試験は未だ実施していないことと、エトフェンプロックスが一般的なピレスロイド系化合物と異なりその化学構造にエステル結合を含まないことから、DEFの加水分解酵素による共力効果は現時点では評価し難いものがある。一方、PBO添加によるエトフェンプロックス感受性低下への効果は著しく、その共力効果は現時点で疑いないものと考えられる。エトフェンプロックスに関する殺虫剤感受性のネッタイエカ小笠原系統に対する渋谷コロニーの抵抗性比は1046倍と推定された(表4)。また、PBO添加による共力比285倍からは、P450の解毒活性増大が渋谷コロニーのエトフェンプロックス抵抗性の主要な抵抗性機構として関与しているといえる(表4)。アカイエカ林試の森コロニーは、エトフェンプロックス抵抗性個体を20%前後含んでおり、PBOの添加によってエトフェンプロックスに対する感受性が低下するものの、「死亡率-殺虫剤濃度」の主応答から外れる低感受性個体が低い頻度で残存した(図3と表4)。

ナトリウムチャンネルの*kdr*型構造変化:

ナトリウムチャンネルは神経軸索に存在しナトリウムイオンの細胞への流入の開/閉により活動電位発生の継続/終止を司る生体分子で、DDTとピレスロイド系殺虫剤の作用点である。多くの衛生・農業害虫種でこの作用点のアミノ酸置換による構造変化がピレスロイド抵抗性の原因になっている。とくに、イエバエの座位番号で表してナトリウムチャンネルの1014番目の座位Leu (Leu1014)がPheに置換している遺伝子(または表現型)を*kdr* (knock down resistance)遺伝子(または表現型)とよび、相同座位に生じたイエバエとチャバネゴキブリの*kdr*型遺伝子がナトリウムチャ

ネルの殺虫剤低感受性をもたらすことが実験的に証明されているほか、少なくとも6つの害虫種でこの座位に生じたアミノ酸置換が殺虫剤抵抗性系統に特異的な構造変化として表れることが明らかになっている。

エトフェンプロックスの殺虫効力が著しく低下している個体を含んでいたアカイエカ種群蚊の野生コロニー8つに関して、ネッタイエカシマカのLeu999 (イエバエ座位で表すとLeu1014)を含むエクソンとその3'側に位置する次のエクソンの一部、およびそれらエクソンの間に挟まれたイントロンをPCR増幅し、その内側のDNA配列をクローニングにより解析した(図4)。その結果、チカイエカの渋谷と市川コロニーからはLeu999Phe置換(TTA to TTT)を有する典型的な*kdr*遺伝子を保有する蚊が検出された(図5)。渋谷コロニーは野外で採集した2頭の雌成虫から出発して室内コロニーを増殖させたが、テストした10個体すべてが*kdr*遺伝子をホモ接合体として有していた。また、アカイエカの稲荷木、林試の森、狛江、野毛町公園、日野、駒沢公園コロニーの蚊からは*kdr*型変異と同座位に生じているが置換したアミノ酸が異なる*kdr*様変異、Ser999 (TCA)、が検出された。これら6つのアカイエカコロニーからは見つかった*kdr*様遺伝子はホモ接合体としてではなく、ヘテロ接合体として見いだされたが、そのヘテロ接合体のコロニー内に占める割合は一様に少数であった(データ詳細略)。今回の調査により初めて、日本産蚊からナトリウムチャンネル遺伝の*kdr*型と*kdr*様の、それぞれ、Leu999PheとSer置換変異がアカイエカ種群蚊から見い出された。

Ser1014置換をコードする*kdr*様遺伝子がエトフェンプロックス抵抗性の遺伝的要因になりえるかを検討するために、林試の森コロニーから抽出した幼虫を用い、母集団より無作為に抽出した幼虫と一定濃度のPBOを添加したエトフェンプロックスで処理した後に生残

した幼虫の遺伝子型を比較した(図6)。選抜処理に用いたエトフェンプロックス濃度は0.01, 0.015, および0.02 ppmで, 図3に示したとおり, PBO添加を伴う「死亡率-エトフェンプロックス」応答において高濃度で少数の生残個体が観察された濃度であった。これら3つの濃度に関してあらためて殺虫試験を行い, 濃度の低い順にそれぞれ4/67, 2/79, および2/64の割合で生残個体を得た。林試の森コロニーには, Leu999をコードするエクソンの3'側に隣接するイントロンサイズが317 bpのハプロタイプとSer999をコードし隣接するイントロン長が224 bpのハプロタイプが主要なタイプとして含まれていた(データ詳細省略)。F11CqSC-R18CqSCプライマーセットにより, これらの合わせて8つの生残個体のPCR産物のサイズを調べた結果, 6個体が短いイントロンと長いイントロンをもつハプロタイプヘテロ接合体で, 他の2個体は長いイントロンをもつハプロタイプのホモ接合体であった。一方, 母集団から殺虫剤選抜なしに無作為に選んだ幼虫8個体は長いイントロンをもつハプロタイプのホモ接合体であった。イントロンサイズの長/短が, それぞれ, Leu999型(殺虫剤感受性型遺伝子)/Ser999型(*kdr*様遺伝子)に関連づけられるため, Ser型のナトリウムチャンネル遺伝子はエトフェンプロックスにより選抜されたといえ, エトフェンプロックス抵抗性要因となる可能性が示唆される。

## 2. チャバネゴキブリ

殺虫剤抵抗性を示す日本産チャバネゴキブリの新幹線系統の殺虫剤感受性を感受性の感染研系統を対照として殺虫試験によりテストした。新幹線系統が示す抵抗性比はペルメトリンとDDTのそれぞれに関して25倍と少なくとも11倍と推定され, 新幹線系統は2つの殺虫剤に抵抗性を示した(表5)。新幹線系統に含まれる2つの殺虫剤に対する抵抗性機構として, 両殺虫剤に共通の作用点であるナトリウムチャンネルの構造変化がまず疑われた。

米国産のピレスロイド抵抗性チャバネゴキブリ系統を用いては, ナトリウムチャンネルのLeu993座位(TTG)(イエバエの相同座位で表すとLeu1014)がPhe(TTC)に置換した典型的な*kdr*型の構造変化によりピレスロイド抵抗性要因となることが実験的に明らかにされている。新幹線系統のゴキブリ5頭に個別に由来するナトリウムチャンネルのDII-S6領域cDNAの配列512bpの塩基置換をダイレクトシーケンシングにより解析し, すでに公表されている殺虫剤感受性系統のCSMA, ピレスロイド抵抗性のEctiban-R, および今回初めて解析した日本産感受性系統の感染研(NIID)系統の配列と比較した(図7)。その結果, 日本産のチャバネゴキブリとしては初めて, 新幹線系統ゴキブリのナトリウムチャンネルにLeu993Phe置換変異を有する*kdr*型の変異が同定された。解析した5頭のゴキブリはいずれもホモ接合体としてPhe993変異を保有していた。解析したcDNA配列の範囲内には, 新幹線系統とEctiban-R系統の比較において3つの塩基座位に同義置換があり, 日本産と米異国産の*kdr*型ナトリウムチャンネル遺伝子のLeu993Phe置換変異が単一起源に由来するものとはいえない。

## D. 考察

ピレスロイド系のエトフェンプロックスを除く殺虫剤は, 殺虫剤感受性レベルを調査したアカイエカとチカイエカの野生コロニーに対して, 製剤の用法・用量に定められた濃度で十分な効力を表した。有機りん系のフェニトロチオンとテメフォスに関しては, アカイエカ感受性対照系統が示すLC99の濃度において, コロニー間に著しい効力の違いがあり, コロニーによるフェニトロチオンとテメフォスの効力の大きさには相関性がみられた。かつて, 新宿区のビル地下に発生したチカイエカコロニーには多種の有機りん剤に100倍以上抵抗性を示すコロニーが見つかり

(川上 1989), その抵抗性要因はesterase遺伝子のDNA増幅に基づく加水分解酵素の活性増大にあった (Kono and Tomita 1993; Tomita et al 1996)。同様な抵抗性要因が今回調べた野生コロニーの一部にも含まれていると推測される。幼若ホルモン様物質のピリプロキシフェンに関しては, LC99の濃度において調べたコロニー全般に対する効力の低下が認められた。その理由は不明であるが, イエバエは本剤に対する抵抗性にチトクロムP450酸化酵素による解毒作用の増大が大きく寄与していることが報告されている(Zhan et al 1997; 1998)ので, アカイエカ種群蚊においても同様な解毒機構との関連が疑われる。

調べたアカイエカ種群蚊15コロニー中8コロニーで, LC99 X100濃度のエトフェンプロックスに対する効力低下が認められた。この濃度はエトフェンプロックス製剤 (エトフェンプロックス 5%, S-421 11% 含有乳剤) の用法用量に定められている希釈液中のエトフェンプロックス濃度にほぼ匹敵する。実際の蚊幼虫防除には作用性が十分に解明されていない共力剤S-421を含有する製剤が使用されているので, 野生コロニーに対するエトフェンプロックス効力の低下は現れにくい可能性がある。とくに著しい感受性低下を表したチカイエカの渋谷とアカイエカの林試の森コロニーについては, P450による解毒作用の増大が幼虫のエトフェンプロックス抵抗性に大きく関与していることが示された。

エトフェンプロックス感受性が低下していた8つの蚊コロニーには, ピレスロイド作用点であるナトリウムチャンネル遺伝子に, 他の昆虫種でチャンネルの殺虫剤感受性低下をもたらすことが明らかになっている*kdr*型(Leu999Ser)と*kdr*様(Leu999Ser)置換変異が同定された。渋谷コロニー蚊は*kdr*型遺伝子のホモ接合体であった。他の7つのアカイエカとチカイエカコロニーでは, *kdr*型または*kdr*様遺伝子は頻度が低くヘテロ接合体として存在した。イ

エバエの*kdr*遺伝子は抵抗性表現型に関して劣性の度合いの大きい不完全劣性遺伝子として知られるが, アカイエカ林試の森コロニーの*kdr*様遺伝子はヘテロ接合体であってもエトフェンプロックス処理による選抜を受けることを確かめた。アカイエカ種群蚊においてはPhe999置換およびSer999置換をもつ遺伝子が, それぞれ, 米国とチュニジアおよび中国のピレスロイド抵抗性コロニーから見い出されているが (Martinez-Torres et al 1999), それら遺伝子のハプロタイプ塩基配列は公表されていないため, 抵抗性遺伝子の起源については不明である。

本研究で調べた限り, Phe999置換はチカイエカのみから, Ser999置換はアカイエカのみから見つかっている。首都圏以外の地方でもこれら遺伝子が2つの蚊集団に同様に分布しているかについて, 継続して調査する必要がある。アカイエカ種群蚊コロニーからエトフェンプロックス抵抗性幼虫が見つかったことで, 成虫蚊防除の目的で家庭で使われている蚊取り線香, 電気蚊取り, 蚊取りマット, 殺虫スプレー, または疾病媒介蚊防除の目的で空中に散布される可能性があるULVの有効殺虫成分がピレスロイド系化合物であることに注目し, 野外集団の成虫蚊のピレスロイド系殺虫剤に対する感受性を調査する必要がある。本研究で日本産のアカイエカ種群蚊とチャバネゴキブリより初めてピレスロイド作用点遺伝子から抵抗性型点突然変異が同定された。これらの突然変異を対立遺伝子特異的PCRまたはTaqManプローブ法により個体レベルで簡易に検出する方法を確立したい。

## E. 結論

1. おもに首都圏で採取して得た15のアカイエカ種群蚊コロニーの幼虫に対して, フェニトロチオン, テメフォス, ジフルベンズロン, ピリプロキシフェンの殺虫効力は用法・用量の濃度以下で有効であった。

2. 少なくとも8つの蚊コロニーに、幼虫防除に影響するレベルのエトフェンプロックス感受性低下がみられた。
3. アカイエカ種群蚊のエトフェンプロックス抵抗性には、チトクロム酸化酵素P450の解毒作用増大が主要因の1つとなっている。
4. ピレスロイド剤低感受性型アミノ酸置換Leu999PheとLeu999Serをもつナトリウムチャンネル遺伝子が、それぞれ、エトフェンプロックス抵抗性の日本産チカイエカとアカイエカコロニーの中から初めて同定された。
5. ペルメトリン抵抗性の日本産チャバネゴキブリ系統から、ピレスロイド剤低感受性型アミノ酸置換Leu993Pheをもつナトリウムチャンネル遺伝子が初めて同定された。

F. 健康危険情報  
(無し)

G. 研究発表

1. 論文発表

Anazawa Y, Tomita T, Aiki Y, Kozaki T, Kono Y. Sequence of a cDNA encoding acetylcholinesterase from susceptible and resistant two-spotted spider mite, *Tetranychis urticae*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 33: 509-514 (2003).

Nabeshima T, Kozaki T, Tomita T, Kono Y. An amino acid substitution on the second acetylcholinesterase in the pirimicarb resistant strains of the peach potato aphid, *Myzus persicae*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 307: 12-22 (2003).

Tomita T, Yaguchi N, Mihara M, Takahashi M, Agui N, Kasai S. Molecular analysis of para-sodium channel gene in pyrethroid-resistant head louse, *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae). *Journal of Medical Entomology*, 40: 468-474 (2003).

Nabeshima T, Mori A, Kozaki T, Iwata Y, Hid

oh O, Harada S, Kasai S, Severson DW, Kono Y, Tomita T. An amino acid substitution attributable to insecticide-insensitivity of acetylcholinesterase in a Japanese encephalitis vector mosquito, *Culex tritaeniorhynchus*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 313: 794-801 (2004).

2. 学会発表

葛西真治, 李時雨, 富田隆史. ピレスロイド剤抵抗性ネッタイエカの作用点変異. 第55回日本衛生動物学会大会, 2003年4月1日.

富田隆史, 葛西真治, 李時雨, 矢口昇, 三原実, 安居院宣昭. アタマジラミのピレスロイド剤抵抗性に関連するナトリウムチャンネル遺伝子の点突然変異. 第55回日本衛生動物学会大会, 2003年4月1日.

Tomita T, Kasai S, Nabeshima T, Kozaki T, Kono Y. Insecticide-resistance due to structural changes of target sites in medical pests. Korea-Japan Joint Conference on Applied Entomology and Zoology 2003, May 28, 2003.

Lee S-W, Tomita T, Kasai S. Preservation of louse, *Pediculus humanus*, DNA for PCR with gene specific primers. Korea-Japan Joint Conference on Applied Entomology and Zoology 2003, May 30, 2003.

Kozaki T, Tomita T, Kono Y. Structural changes of acetylcholinesterase accompanied the insecticide resistance in the housefly, *Musca domestica*. Korea-Japan Joint Conference on Applied Entomology and Zoology 2003, May 30, 2003.

Tomita T, Yaguchi N, Mihara M, Agui N, Kasai S. Sodium channel point mutations associated with pyrethroid-resistance in the head louse. 3rd Pan-Pacific Conference on Pesticide Science, June 3, 2003.

李時雨, 葛西真治, 富田隆史. コガタアカイエカ集団における殺虫剤抵抗性アセチルコリンエステラーゼ遺伝子の全国的分布. 第48回日本応用動物昆虫学会大会, 2004年3月28日

(予定)

2. 実用新案登録

(無し)

H. 指摘財産の出願・登録状況

3. その他

1. 特許取得

(無し)

(無し)

表1. アカイエカの殺虫剤感受性対照系統(洞穴)に対する殺虫剤の効力

殺虫剤	供試虫数	回帰係数 * ±SE	LC50 (ppm)	95%信頼限界
フェントロチオン原体	133	9.6 ± 1.40	0.019	0.018-0.020
フェントロチオン10%乳剤	361	6.3 ± 0.66	0.016	0.015-0.017
テメフォス原体	328	6.0 ± 0.75	0.0045	0.0041-0.0048
テメフォス5%水和剤	340	8.6 ± 0.83	0.0039	0.0029-0.0047
エトフェンプロックス原体	357	6.9 ± 0.59	0.026	0.020-0.036
ジフルベンズロン25%水和剤	418	3.8 ± 0.33	0.0022	0.0020-0.0025
ピリプロキシフェン0.5%粒剤	341	6.2 ± 0.68	0.000094	0.000087-0.000102

\* プロビット死亡率 vs 対数濃度。

表2. 野外コロニー蚊の殺虫剤試験に用いた殺虫剤濃度(ppm)

殺虫剤	アカイエカ *1			用法・用量
	LC99 X1	LC99 X10	LC99 X100	
フェントロチオン	0.033	0.33	3.3	2.0
テメフォス	0.011	0.11	1.1	0.5-1.0
エトフェンプロックス	0.057	0.57	5.7	0.5-1.0 *2
ジフルベンズロン	0.0092	0.092	0.92	0.5-1.25
ピリプロキシフェン	0.00022	0.0022	0.022	0.05

\*1, アカイエカ洞穴系統のLC99値に基づく; \*2, 他に共力剤を含むレナトツブ乳剤(エトフェンプロックス 5%, S-421 11%, 乳剤)中のエトフェンプロックス濃度に換算して。

表3. 野外より採集して得た蚊コロニー

名称	採集年	採集地	名称	採集年	採集地
アカイエカ ( <i>Culex pipiens pallens</i> ):			チカイエカ ( <i>Culex pipiens molestus</i> ):		
盛岡	2003	盛岡市	渋谷	2003	東京都渋谷区
戸山東	2003	東京都新宿区戸山東公園	市川	2003	市川市
林試の森1	2003	東京都目黒区林試の森公園			
林試の森2	2003	東京都目黒区林試の森公園			
日野	2003	日野市市民の森公園			
立川	2003	立川市立川諏訪ノ森公園			
稲荷木	2003	府中市稲荷木公園			
野毛町公園	2003	東京都世田谷区玉川野毛町公園			
戸越公園	2003	東京都品川区戸越公園			
狛江	2003	狛江市狛江西河原公園			
砧公園	2003	東京都世田谷区砧公園			
萩中公園	2003	東京都大田区萩中公園			
北府中	2003	府中市北府中公園			

表4. アカイエカ種群蚊の野外コロニーに対するエトフェンプロクスの効力と解毒酵素阻害剤の共力効果

系統またはコロニー	処理	供試虫数	回帰係数 *1 ±SE	LC50 (ppm)	95%信頼限界	共力比	抵抗性比
小笠原系統 *2	エトフェンプロックス	439	6.7 ± 0.40	0.017	0.016-0.018	-	-
渋谷 *3	エトフェンプロックス	828	1.9 ± 0.12	23.9	18.2-33.1	285	1046
	+PBO	575	2.8 ± 0.22	0.084	0.063-0.013	-	-
林試の森 *4	エトフェンプロックス	589	1.1 ± 0.085	0.12	0.022-0.32	32	7.1
	+PBO	554	3.2 ± 0.25	0.0038	0.0031-0.0046	-	-

\*1, プロビット死亡率 vs 対数濃度; \*2, ネットアイエカ殺虫剤感受性対照系統; \*3, チカイエカ; \*4, アカイエカ。

表5. チャバネゴキブリ系統の殺虫剤感受性

殺虫剤	LD50 (µg/♀)		抵抗性比
	感染研	新幹線	
ペルメトリン	0.20	5.0	25
DDT	14	> 160	> 11



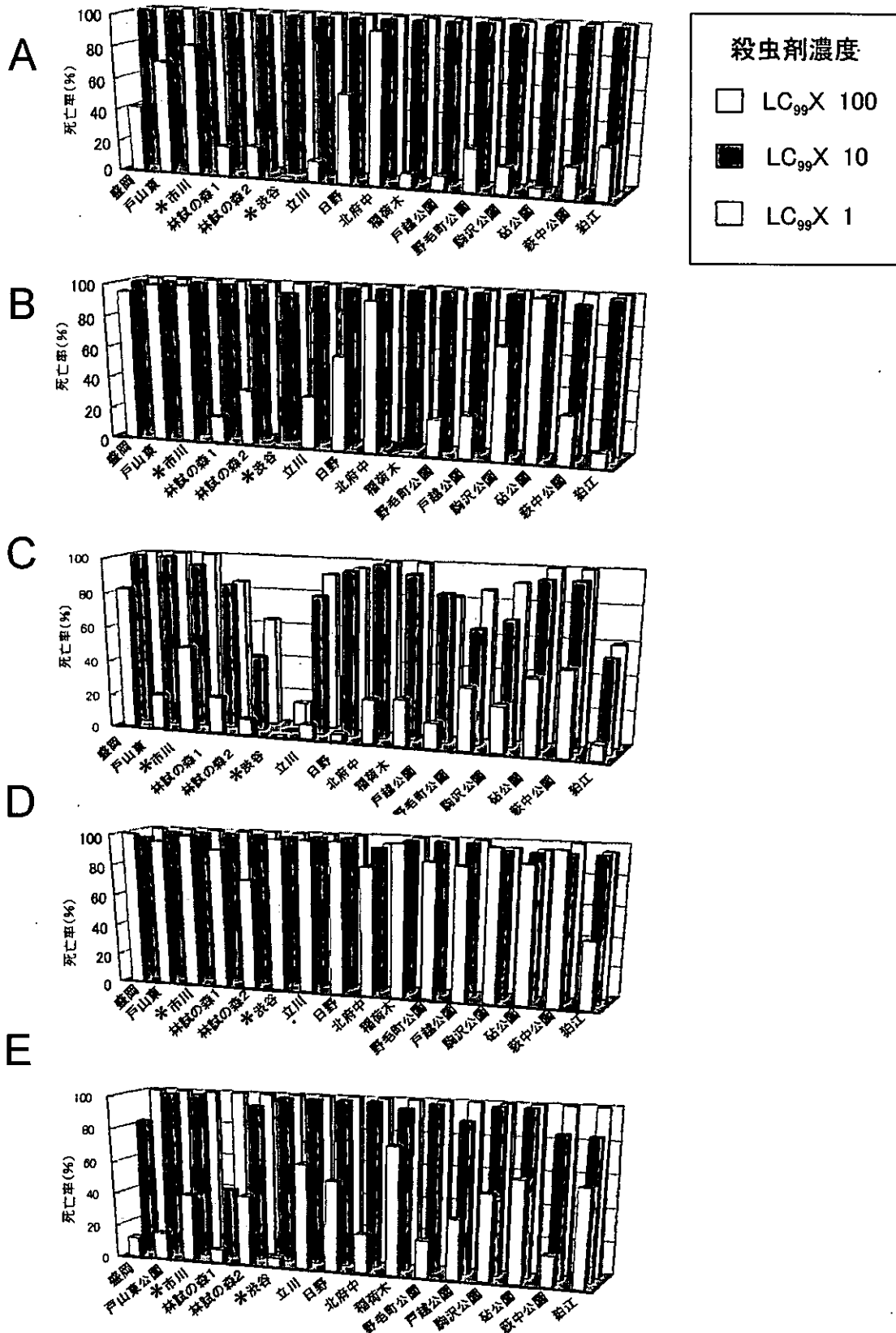


図1. アカイエカ種群蚊の野生コロニーに対する殺虫剤効力  
 A, フェニトロチオン; B, テメフォス; C, エトフェンプロックス; D, ジフルベンズロン; E, ピリプロキシフェン; \*, チカイエカ。用いた殺虫剤濃度はアカイエカ洞穴系統が示すLC99値の倍数で示してある。

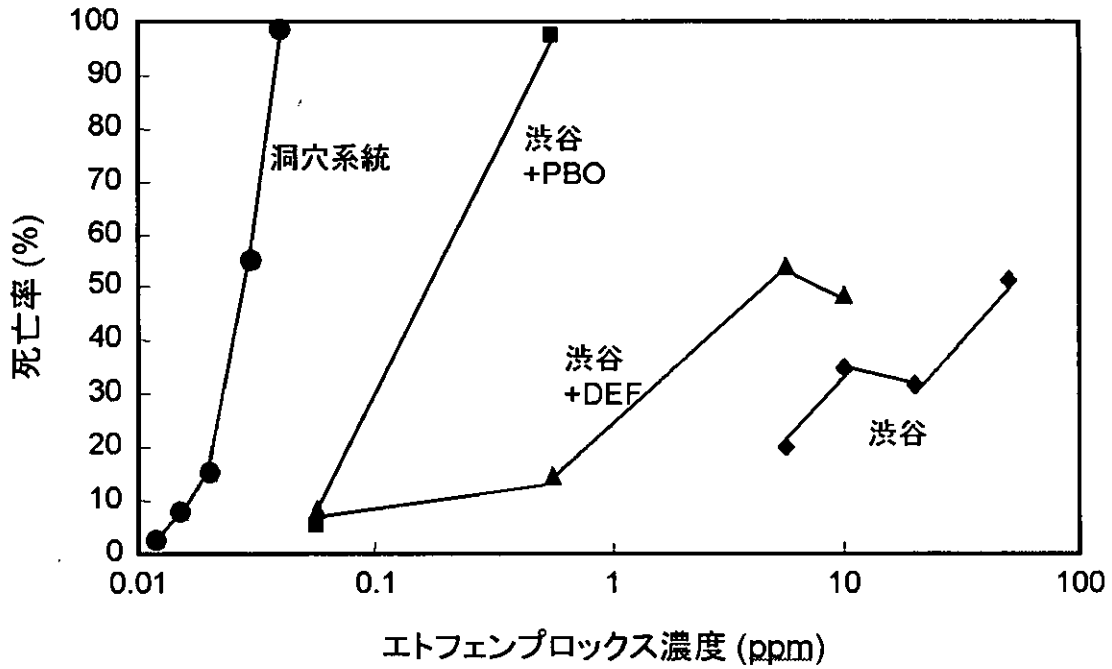


図2. チカイエカ渋谷コロニーに対するエトフェンプロックスの効力と解毒酵素阻害剤の共力効果

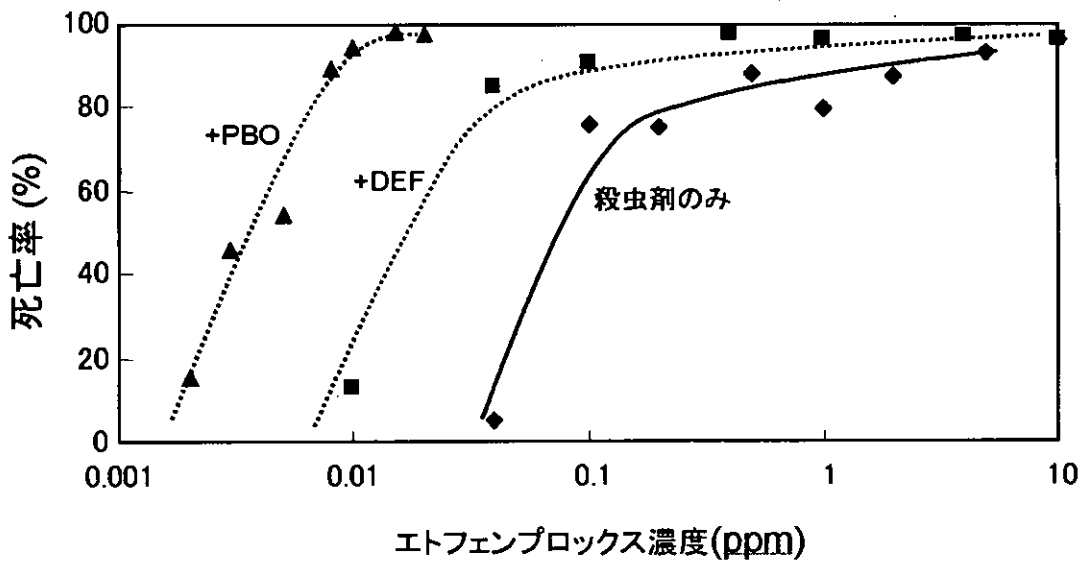


図3. アカイエカ林試の森コロニーに対するエトフェンプロックスの効力と解毒酵素阻害剤の共力効果

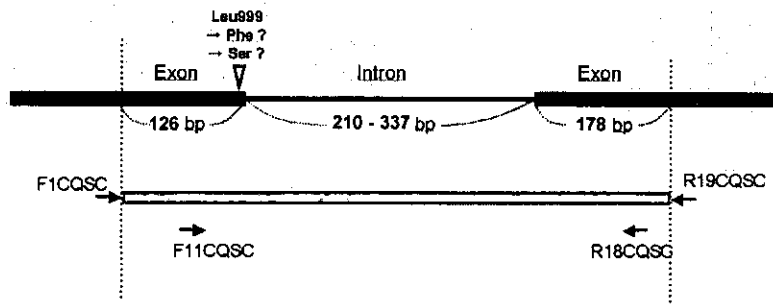


図4. アカイエカ種群蚊のナトリウムチャンネル遺伝子DII-S6領域のゲノムDNA配列の増幅

	988	1011
Susceptible	PFFLATVWIGNLVVLNLF LALLLS	
*Ichikawa (L)	PFFLATVWIGNLVVLNLF LALLLS	
Rinshi (L)	PFFLATVWIGNLVVLNLF LALLLS	
Komae2	PFFLATVWIGNLVVLNLF LALLLS	
Komazawa2	PFFLATVWIGNLVVLNLF LALLLS	
Hino(L)	PFFLATVWIGNLVVLNLF LALLLS	
*Shibuya	PFFLATVWIGNFVVLNLF LALLLS	
*Ichikawa (S)	PFFLATVWIGNFVVLNLF LALLLS	
Inarigi	PFFLATVWIGNSVVLNLF LALLLS	
Rinshi (S)	PFFLATVWIGNSVVLNLF LALLLS	
Komae1	PFFLATVWIGNSVVLNLF LALLLS	
Noge (S)	PFFLATVWIGNSVVLNLF LALLLS	
Hino (S)	PFFLATVWIGNSVVLNLF LALLLS	
Komazawa1	PFFLATVWIGNSVVLNLF LALLLS	

図5. アカイエカ種群蚊のナトリウムチャンネル遺伝子DII-S6領域のタンパク質配列  
\* チカイエカ; その他はアカイエカ。

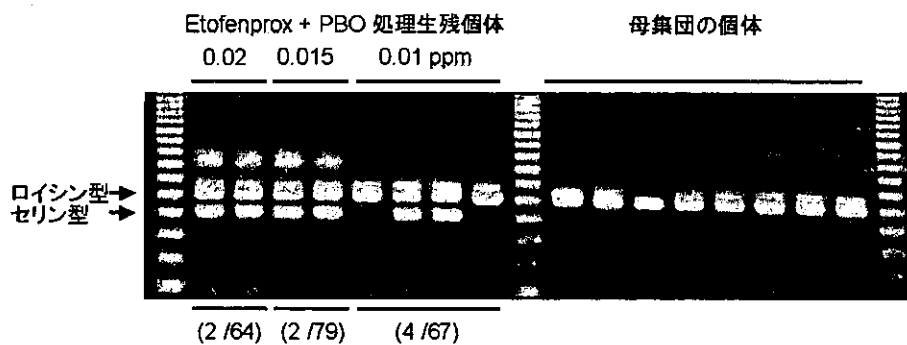


図6. アカイエカ林試の森コロニーのナトリウムチャンネル遺伝子DII-S6領域のPCR産物  
括弧内は各殺虫処理区において生残した供試幼虫の割合。

```

CSMA      L T F V L C I I I F I F A V M G M Q L F G K H Y Y D H V E R
           CTGACCTTTGTGCTTTGTATTATCATTTCATCTTTGCGGTATGCGCAACTCTTTGSCAAAATTTATTATGATAATGTTGAAAGGT

CSMA      F P D G D M P R W H E F T D F M H S F H I V F R V L C G E W I
Ectiban-R TTCCCTGACGGGGATATGCCGAGATGGAACCTTACCGACTTCATGCACCTCATTGATGTTGTTCCGAGTGTGTGCGGGGAGTGGATA
NIID      C G
Shinkansen T A
           T A

CSMA      E S M W D C M L V G D W S C I P F F F L A T V V I G H L V V L
           GAGTCTATGTGGATTGTATGCTTGTGGAGACTGGTCCTGCATCCCGTTCCTTGGCCACTGTCGTGATGGAAACTTGTGTGTG
Ectiban-R C G
NIID      C G
Shinkansen C

CSMA      N L F L A L L L S N F G S S N L S A P T A D N E T H K I A E
           AACCTCTTCTTGGCCCTTGTCTGCTCAGCAACTTTGGTTCATCCAATCTGTGAGCCCAACAGCTGACAAAGAAACCAAGATTGCTGAG

CSMA      A F E R F S R F F H W I K R S A L H V A K M L R A K L T H Q
           GCATTTGAGCGTTTCTCAGGATCTTTAACTGGATAAAAGTAGCGGCTAAACGTGGCAAAAATGTTGCGTGCCAAATTAACCAATCAG

CSMA      I S D Q T P G * G P S S * W K * D A H E R D T D L D
Ectiban-R ATATCCGATCAGACGCCAGgtgagggaccctcctccagttggsaagaagATGCCCATGAAACGTGACACGGACCTTGAC
NIID      A
Shinkansen A
           G

```

図7. チャバネゴキブリのナトリウムチャンネル遺伝子DII-S6領域のcDNA配列と予想されるタンパク質配列の比較

CSMAとEctiban-Rは、それぞれ、米国産の殺虫剤感受性系統とピレスロイド抵抗性系統。NIIDとShinkansenは、それぞれ、日本産の殺虫剤感受性系統とピレスロイド抵抗性系統。イタリクスは非同義置換を示す。小文字で記した配列を欠く転写産物も生じる。