

令和 5 年度・衛生研究所研究費事業報告

衛生動物の遺伝子学的検査手法による同定検査法の検討

(計画年度：令和 5 年度)

研究代表者

生活衛生担当

儀同清香

共同研究者

食品微生物担当

土井りえ

生活衛生担当

長島典夫

はじめに

現在、当所における衛生動物の同定検査は、形態学的手法により実施している。しかし、検体となる虫体が破損されている場合や検体が幼虫であった場合には、同定が困難である。

近年の遺伝子学的な手法の発展に伴い、昆虫類をはじめとした節足動物の分類や同定にも特定の遺伝子の塩基配列が用いられるようになりつつある。この方法は節足動物等の脚や破片等、検体が一部分であっても DNA を取り出すことができれば種の同定に有用な遺伝子学的な情報を得られる。これらのことから、衛生動物の同定に遺伝子学的手法を使用できるか検討を行った。

成果概要

1 対象種

次の種を対象とし、形態学的に同定したうえで検討に用いた。

(1) アカイエカ群

アカイエカ、チカイエカ

(2) ヤブカ属

ヒトスジシマカ、ヤマトヤブカ、コガタキンイロヤブカ

(3) ゴキブリ類

クロゴキブリ、チャバネゴキブリ、モリチャバネゴキブリ

2 アカイエカ群

文献¹⁾²⁾に倣い、アセチルコリンエステラーゼ遺伝子(*Ace*)領域の種特異的な配列を増幅させるプライマーを用いて、マルチプレックス PCR 法により当所の敷地内で捕獲した対象種 10 頭について検討を行ったところ、10 頭のうち 9 頭はアカイエカ、1 頭はチカイエカであると同定できた。

3 ヤブカ属

対象種のうち、ヒトスジシマカ、ヤマトヤブカについて、Internal Transcribed spacer (*ITS*) 領域の一部を標的と

したプライマーセット³⁾に加え、コガタキンイロヤブカの同領域を対象としたプライマーセットを新たに設計し、PCR 法により検討を行ったところ、対象種を特異的に判定できた。

さらにヒトスジシマカについて虫体の頭部、翅、触角、脚を切り離し、各パーツそれぞれに DNA を抽出し PCR 法を行ったところ、触角、翅、脚はそれぞれ特異的なバンドを示し、同定可能であると判断された。頭部は非特異的な増幅等を示し検体として不適と考えられた。

3 ゴキブリ類

対象とした 3 種について、ミトコンドリア DNA の *COI* 遺伝子および *CO2* 遺伝子の領域についてシーケンスにより解析した塩基配列をもとに、種特異的とみられる配列を標的としたプライマーセットを設計し PCR 法を行った。その結果、クロゴキブリはそれ以外の 2 種と区別することができた。チャバネゴキブリとモリチャバネゴキブリの 2 種を特異的に鑑別するプライマーを設計することはできなかった。

クロゴキブリについて、死後の時間経過や食品への混入を想定し、乾燥、加熱について種々の条件下で処理した虫体から抽出した DNA を用いて PCR を行った。その結果、乾燥条件および高圧蒸気滅菌器による加熱では増幅が確認され検査可能と判断されたが、乾熱滅菌器による 185°C、40 分間の加熱では増幅が確認されず検査不適と判断した。

自己評価

本研究では対象とした 3 分類群の計 8 種について、遺伝子学的手法で虫体を同定するための手法を構築することができた。さらに検体の状態を想定した検討を行い、検出可能な範囲を見極めるのに参考となる情報が得られた。従来から行ってきた形態学的検査と平行して遺伝子学的検査を行うことでさらに検査への精度が高まると考えられた。ヤブカ属とゴキブリ類についてはシーケンス解析により塩基配列を決定し、GenBank のデータと相同性検索を行ったことにより結果の信頼性も高まることが示された。コガタ

キンイロヤブカについては ITS 領域の塩基配列がデータベースに登録されておらず、本研究における解析結果が初の配列情報となった。

今後の展望

各分類群について、今後も対象種および系統を増やして検討していくことが必要である。さらに、食品中への混入異物として発見される事例等から、検査へ適用するにあたり必要なデータの収集に努めたい。