

### 概要

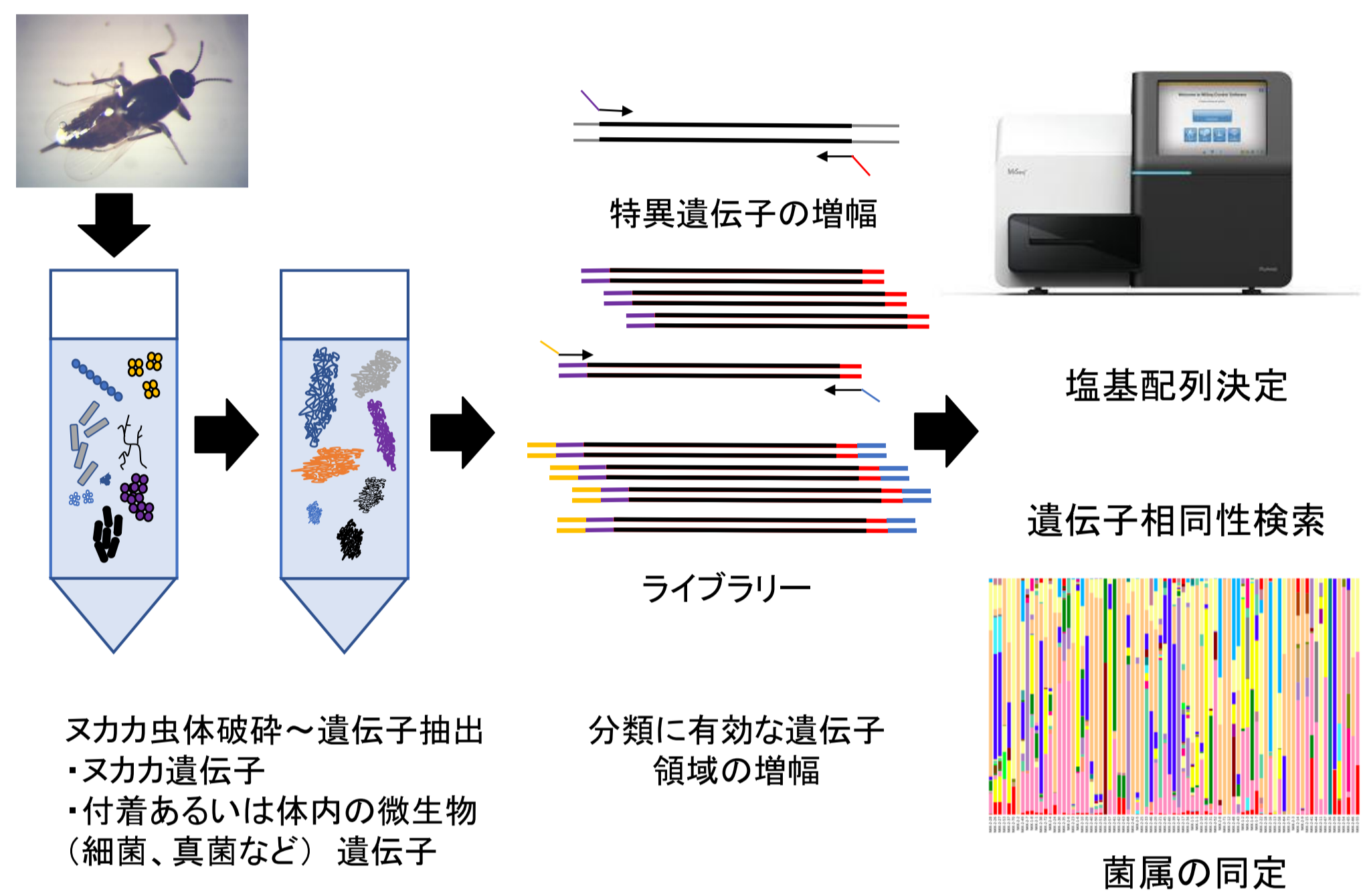
米子市の弓ヶ浜半島では、吸血性ヌカカによる住民の健康被害が毎年5-8月にかけておきる。ヌカカに咬まれた皮膚に生じる腫れや痒みは、ときに激しい炎症や皮膚傷害の拡大を起こす。しかしながら原因ヌカカ種や症状拡大原因については、これまで詳しく調べられていない。

米子市でヒト被害の原因ヌカカとしてはトクナガクロヌカカとイソヌカカが生息している。各ヌカカによる刺咬吸血による被害や症状の相違について調べるため、また今後の生息地の特定調査に必要なヌカカ判別ツール開発のため以下のことを行った。

- 1) ヌカカ保有細菌叢解析
- 2) 生息地特定のためのヌカカ遺伝子判別法開発
- 3) ヌカカ抽出液による動物での炎症誘導試験

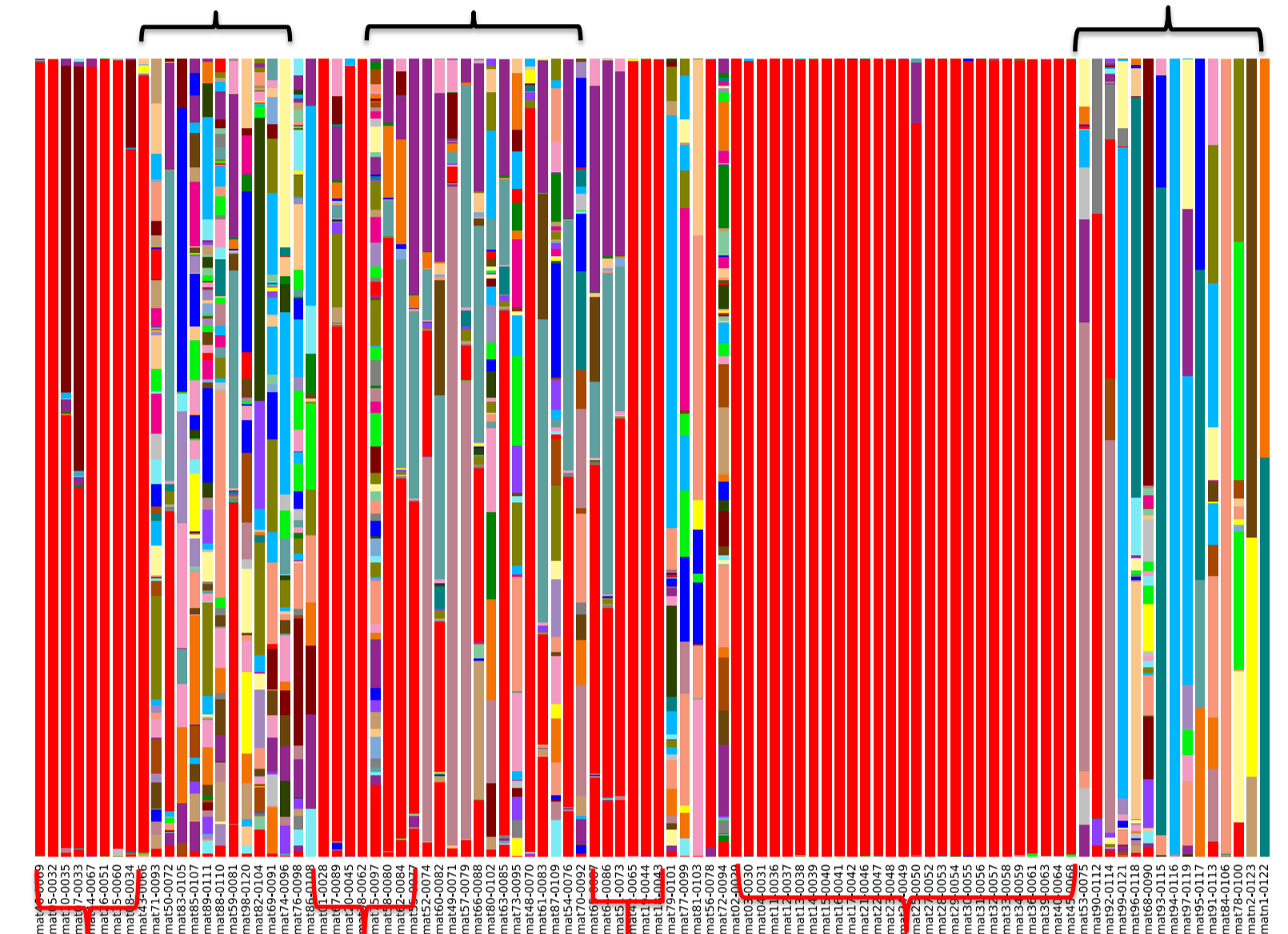
### 研究内容

#### ヌカカ虫体の保有細菌叢を遺伝子レベルで調べる



ヌカカの保有する細菌叢の違いが刺咬性、吸血性、炎症誘導性に違いを生みだすのだろうか？

#### モザイク様に複数の細菌保有を示すトクナガクロヌカカ



横軸はヌカカ各サンプルを縦軸は各個体の保有する細菌が色分けされている。複数細菌(色の違い)が各個体に保有されていることを示す。

イソヌカカ成虫は赤ほぼ一色＝ほぼ単一細菌保有を示す。イソヌカカ幼虫保有細菌の種類は、成虫より多い。

#### 用語説明

次世代シーケンサー：従来の遺伝子塩基配列解析能力が大幅に向上した高速遺伝子塩基配列解析装置  
 メタゲノム：生物の遺伝子全体を意味する「ゲノム(genome)」に、「超越」を意味するメタ(meta-)を融合した造語。  
 微生物群のゲノムを培養することなく網羅的解析することをメタゲノム解析と呼ぶ。  
 メタゲノム解析：多様な微生物のDNAを混合物として抽出し、このDNA混合物の塩基配列を解読することで、試料中に含まれる微生物(培養できない微生物を含む)の種類やその存在比率を推定することが可能。

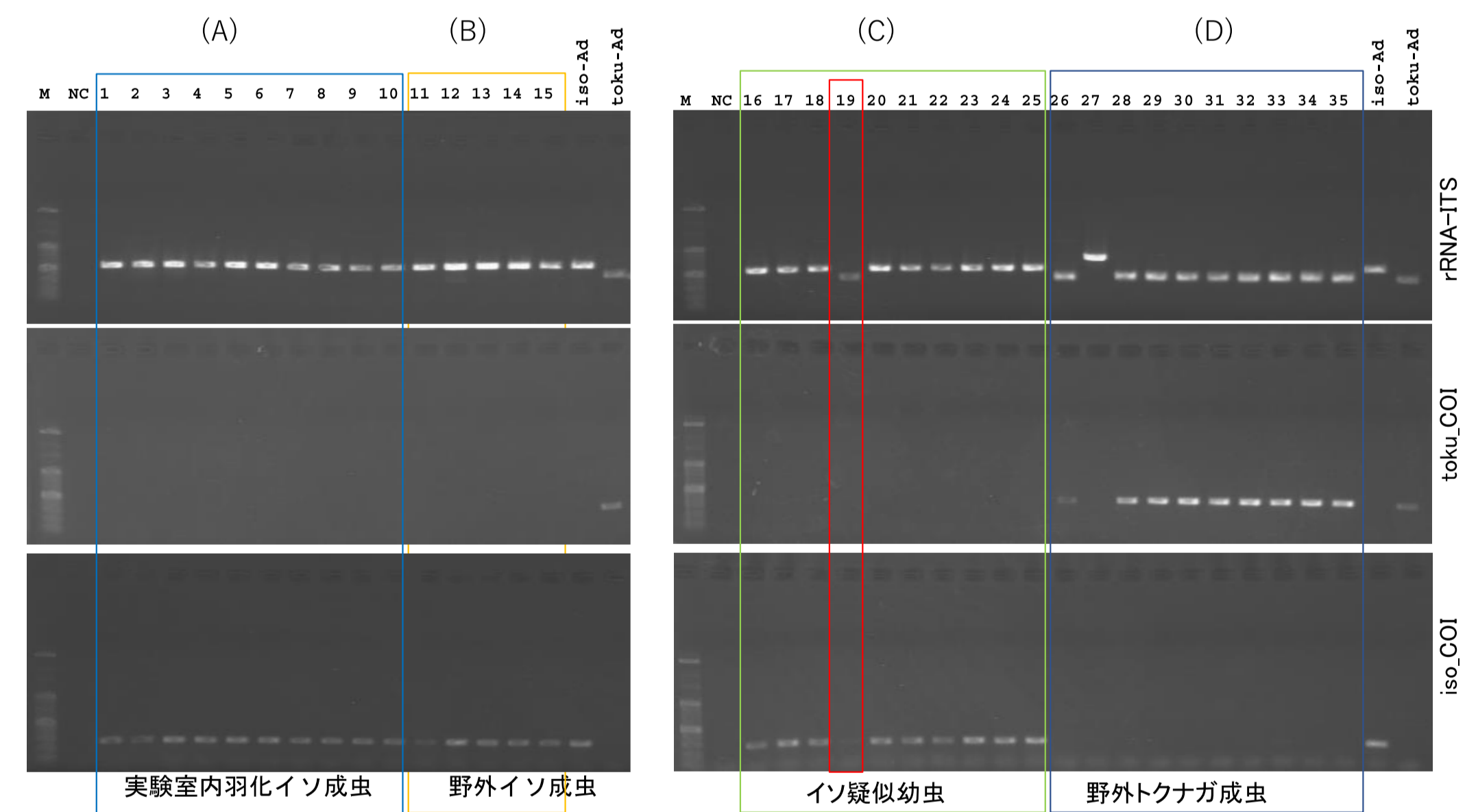
#### ヌカカ成虫の形態学的識別

	トクナガクロヌカカ♂	トクナガクロヌカカ♀	イソヌカカ
体長	1.5 mm~2.0 mm	1.5 mm~2.0 mm	トクナガより小さめ
体の色	黒	褐色	薄茶色
腹部の形	長い	アーモンド形	丸い
尾部	丸い	尖っている(産卵管)	丸い
触覚	枝分かれ	数珠つなぎ	数珠つなぎ
翅(脈)			全体は鉛色 白い斑点がある



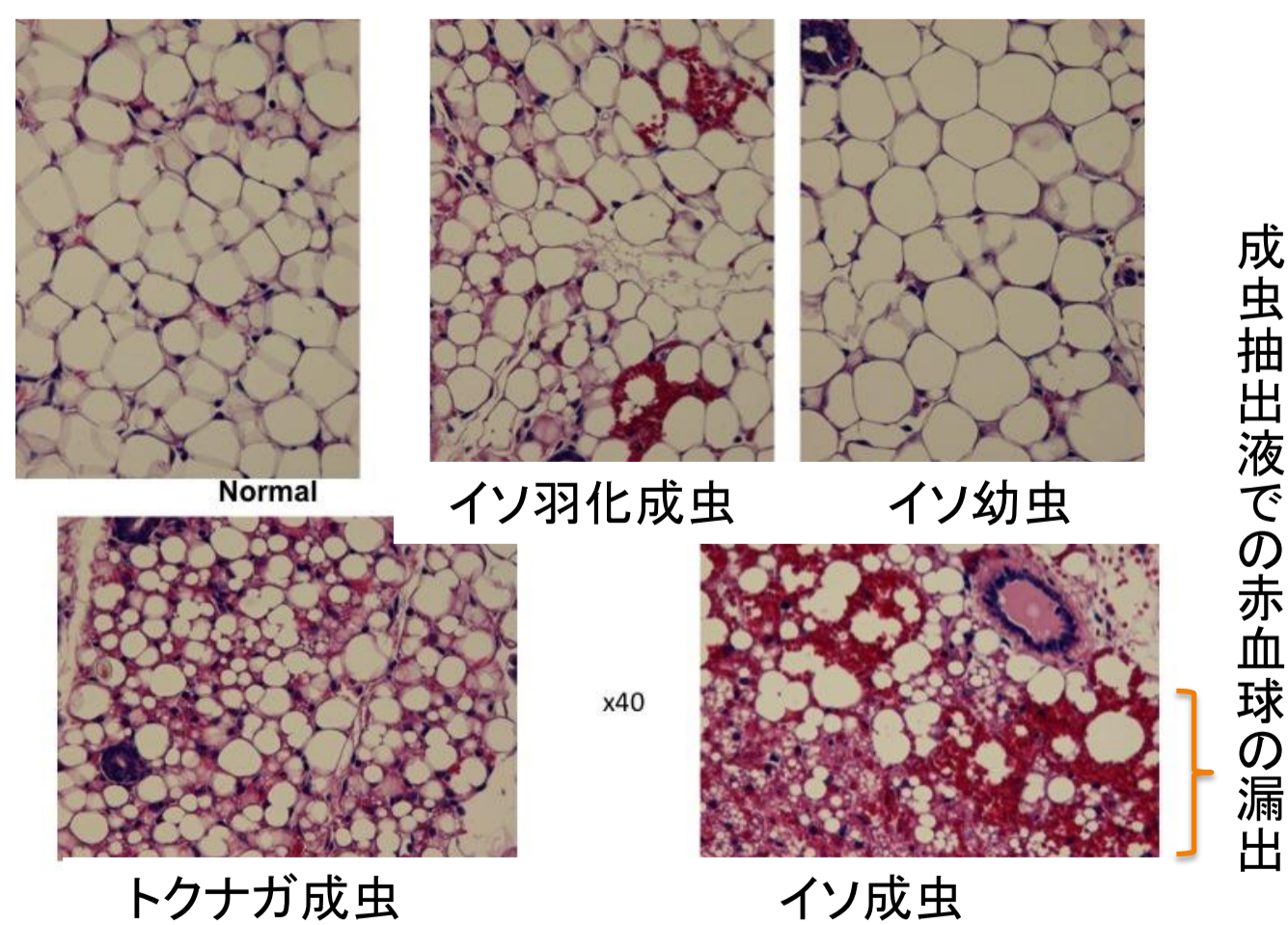
成虫は形態で判別できるが、幼虫の形態判別は熟練と時間を要する。  
 ↓ 解決法  
 ヌカカ遺伝子の違いを利用した判別法を開発  
 ↓  
 幼虫生息地の探索に活用  
 ↓  
 駆除(発生源根絶)

#### ヌカカの遺伝子識別法の確立



PCR法で増幅された遺伝子電気泳動像を示す。3種プライマーの組み合わせにより、トクナガクロヌカカ、イソヌカカとそれら以外について成虫、幼虫問わず遺伝子レベルで識別できる。  
 (A)は、イソヌカカが疑われた捕獲幼虫サンプル(C)群のなかから実験室内羽化した成虫サンプルを示す。野外イソ羽化成虫(B)と野外トクナガ成虫(D)は、形態選別を行った成虫材料を示す。パネル上段のrRNA-ITSでは、イソ、トクナガ、それら以外の各昆虫遺伝子が全て増幅されるが各増幅長(泳動度)で分類し、トクナガ検出用とイソ検出用の各プライマーによる遺伝子増幅の有無で選別できる。

#### ヌカカ抽出液を接種したマウス皮膚～皮下組織染色像



成虫抽出液での赤血球の漏出

#### 共同研究者

青木薫, 伊達勇介, 藤井貴敏 (米子高専)、山岸潤也 (北海道大・人獣センター)

### 応用分野

疾病の原因微生物解明、予防・治療薬品開発