

## 令和4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4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、形態学的検査で実施している。しかし、搬入時に虫体の破損や幼虫段階であることが確認され、同定が困難な事例がある。

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、同定に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遺伝子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、昆虫等の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

当所で飼養する衛生動物のうち次の種を対象とし、形態学的に同定したうえで検討に用いた。

##### ①室内塵中に見いだされるダニ4種

ケナガコナダニ (Tp)、ヤケヒョウヒダニ (Dp)、コナヒョウヒダニ (Df)、イエニクダニ (Gd)

##### ②家屋内で食品および衣類から発生する蛾3種

ノシメダラメイガ、スジコナダラメイガ、コイガ

##### ③貯穀を加害する甲虫2種

コクゾウムシ、ココクゾウムシ

#### 2 室内塵中のダニ4種

ダニのリボソームRNAのInternal transcribed spacer 1および2遺伝子 (*ITS1*および*ITS2*)の配列を用いたnested PCR法により、対象種を特異的に判定できた。また、実際の検体を想定し、吸引式掃除機で集めた室内塵から分離され、形態学的にTpと推定されたダニ1頭について、本nested PCR法で同定したところ、Tpと同定された。

#### 3 家屋内で食品および衣類から発生する蛾3種

対象とした3種について、PCR-RFLP法<sup>1)</sup>を用いて検討を行った。制限酵素Ase IおよびDra Iを用いて3種それぞれ

れが異なるバンドパターンを示したことから、鑑別可能であると判断した。

幼虫が食品中に混入し加熱調理された事を想定し、複数の加熱条件下で処理した虫体について本試験法を用いて検討を行った。その結果、60分間の沸騰水中の加熱までであれば検出可能であった。

#### 4 貯穀を加害する甲虫2種

対象とした2種のミトコンドリアDNAのシトクロムオキシゲナーゼ遺伝子 (*COI*)内の種特異的なプライマーペアを用いたPCR<sup>2)</sup>により鑑別可能となった。成虫が穀粒中に混入して加熱調理された事を想定して、コクゾウムシを複数の加熱条件下で処理した虫体および1か月間乾燥させた虫体について本試験法を用いて検討を行った。その結果、1か月間の乾燥後および30分間の沸騰水中の加熱では検出可能であった。

### 自己評価

本研究では対象とした3分類群の計9種について、遺伝子学的手法で虫体を同定することができた。室内塵中のダニについては先行研究等から有用なプライマーを転用する計画であったが有用なものはDpに特異的なもののみであった<sup>3)</sup>。このため、他の3種については自ら設計することとなった。設計する際には増幅されるPCR産物のサイズを種によって変え、操作が簡素となるようアニーリング温度は同一となるよう条件設定を行った。このプライマーを用いたnested PCR法の検討の結果、種の同定に有用な結果を得られた。

さらに検体として搬入された場合を想定した検査についても各分類群についてそれぞれ検討を行い、結果を出す際に必要となる参考情報が得られた。現在行っている形態学的検査の裏付けとして、本研究で構築した手法を用いることにより検査の精度が高まると考えられた。

#### 今後の展望

室内塵中のダニに関して、DNAを抽出する過程で虫体を破壊せず、形態学的な検査に必要な形質を残すことで後に形態も検証できる体制の構築が必要である。

本研究で対象とした以外の分類群や、他種についても検体となりうる種はまだある。さらに同種における系統内の変異についても検証していく必要がある。

#### 参考文献

- 1) 大類幸夫, 原田晴康 : PCR-RFLP法による貯穀害虫のマダラメイガ類 (Lepidoptera: Pyralidae) 4種の識別. 日本環境動物昆虫学会誌, 第12巻, 121-129, 2001
- 2) Mireia S, Jordi R, Nuria A : Ditectin and identification of five common internal grain insect pests by multiplex PCR. *Food control*, 84, 246-254, 2018
- 3) Vitor SA, Luis FS, Leonardo FS, et al. : Identification of *Glycocometus malaysiensis* (for the first time in Brazil), *Blomia tropicalis* and *Dermatophagoides pteronyssinus* through multiplex PCR. *Exp Appl Acarol*, 86, 385-406, 2022