

サシチョウバエにおける遺伝子ノックアウト解析に向けた試み（双翅目）

山本 大介・水島 大貴・Ahmed TABBABI・加藤 大智

Daisuke S. YAMAMOTO, Daiki MIZUSHIMA, Ahmed TABBABI and Hirotomo KATO:
Toward gene knockout analysis in sand flies (Diptera)*

*Division of Medical Zoology, Department of Infection and Immunity, Jichi Medical University, 3311-1 Yakushiji,
Shimotsuke, Tochigi 329-0498, Japan*
Corresponding author: DSY (daisukey@jichi.ac.jp)

https://doi.org/10.60372/paesj.57.0_23

サシチョウバエは、双翅目長角亜目チョウバエ科サシチョウバエ亜科に属する吸血性昆虫のグループである。サシチョウバエの多くは吸血の際にリーシュマニア症の病原体であるリーシュマニア原虫を媒介する媒介者（ベクター）として知られる。リーシュマニア症はWHOが指定する「顧みられない熱帯病」の一つとして対策が重要視されている人獣共通感染症である。我々は感染症対策の観点から、サシチョウバエにおける病原体媒介機構や吸血機構などの解明を進めており、その一環で性的二型に関与する性分化遺伝子の解析を行なっている。遺伝子の機能を解析する上で遺伝子ノックアウト・ノックインの技術は非常に有用であり、我々はサシチョウバエにおいてゲノム編集技術の開発も進めている。

昆虫の個体におけるゲノム編集法としては、主としてゲノム編集ツールを産卵後の初期胚への注入する方法と雌成虫への注入する方法の二つに大別され、どちらもメリットとデメリットがある。本研究では、旧大陸に分布

するサシチョウバエ種の *Phlebotomus papatasi* を対象に、初期胚への CRISPR/Cas9 の顕微注入による遺伝子ノックアウトの取り組みについて報告する。最初に、吸血後1週間程度の雌を湿らせた濾紙を敷いたシャーレに封入し、暗条件にして産卵させた。産卵後3-4時間および産卵後7-8時間の胚に Cas9 および標的遺伝子（体色遺伝子）の sgRNA を混合して胚の後端付近から注入した。その結果、産卵後3-4時間の条件では14%、産卵後7-8時間の条件では25%の孵化率で幼虫が得られた。幼虫期で死亡した個体についてDNAを抽出し、標的遺伝子の変異の有無について調べたところ、一部の個体では、変異の存在が推測された。この結果から、*P. papatasi* において胚への注入による遺伝子ノックアウトは導入可能であることが示唆された。今後、注入個体の子孫を得てさらに変異の解析を進めるとともに、性分化遺伝子のノックアウト解析を行うことを目指している。

* Abstract of paper read at the 61st Annual Meeting of the Arthropodan Embryological Society of Japan, June 6-7, 2025, Nasu Kogen, Tochigi, Japan.