

遺伝子組換えハマダラカにおける導入遺伝子を唾液成分として発現させるシステム

山本 大介・南雲 浩志・吉田 栄人

Daisuke S. YAMAMOTO, Hiroshi NAGUMO and Shigeto YOSHIDA: A Transgenic Mosquito Expressing Transgene Products As a Component of Saliva in the Salivary Glands *

Division of Medical Zoology, Department of Infection and Immunity, Jichi Medical University, Yakushiji, Shimotsuke, Tochigi
329-0498, Japan

E-mail: daisukey@jichi.ac.jp (DSY)

現在、マラリアはエイズ、結核と並ぶ世界3大感染症の一つである。推定で年間約2億5千万人の患者がおり、年間で100万人以上が死亡していると報告されている。マラリアはマラリア原虫 (*Plasmodium*) を病原体とし、マラリア原虫に感染したハマダラカ (*Anopheles stephensi*) に刺されると原虫が蚊の唾液とともに宿主 (ヒト) 体内に放出され、感染することが知られている。マラリアコントロール (制御) のためにワクチンの開発が行われているが多くの研究者の努力にも関わらず、未だヒトでの実用化には至っていない。現在、非常に有効なマラリアコントロールは殺虫剤処理を施した蚊帳の中で眠ること、および漢方薬由来のアルテメシニンと呼ばれる特効薬を使った治療であるが、WHO (世界保健機構) が目指すマラリアコントロール達成にはほど遠いのが現状である。そこで近年、新しいマラリアコントロール法として人為的に遺伝子操作を行った遺伝子組換えハマダラカを使用する方法 (ベクターコントロール) が注目されており (Terenius *et al.* 2008 ; Marshall and Taylor, 2009)、多くのグループで遺伝子組換え蚊を用いた研究が行われている (Chen *et al.* 2008)。

マラリア原虫はハマダラカ体内でスポロゾイトと呼ばれる状態で唾液腺内部に集積し、吸血によるヒトへの放出を待っていることが知られている。このため唾液腺において遺伝子発現を制御し、スポロゾイトの唾液腺侵入を抑制、あるいは唾液腺内部でスポロゾイトを制御することで、吸血による蚊からヒトへのマラリアの伝播を阻止することが可能になると期待される。我々のグループでは最近、ハマダラカの唾液腺特異的に機能するプロモーターを同定し、雌成虫の唾液腺細胞にDsRed遺伝子を発現させることに世界で初めて成功している (Yoshida and Watanabe, 2006)。本研究では次のステップとして唾液腺細胞で発現した導入遺伝子産物を唾液腺内部に唾液成分として分泌させることを目的に、そのモデ

ル実験としてサシチョウバエ (*Phlebotomus papatasi*) の唾液タンパク質遺伝子である *sp15* 遺伝子 (Valenzuela *et al.*, 2001) を可溶性の高い単量体型のDsRed遺伝子 (*mDsRed*) と融合させた配列を導入した遺伝子組換えハマダラカを作製した。作製された系統の雌唾液腺では単量体型DsRed (*mDsRed*) とSP15が融合タンパク質 (*mDsRed-SP15*) として発現していることが確認され、また蛍光顕微鏡下でこの系統の唾液腺を観察するとDsRedの蛍光は唾液腺細胞だけでなく、cavityおよびductと呼ばれる内部の唾液が蓄積される部位にもみられた。これらの結果から、導入した遺伝子産物が唾液腺の内部に唾液成分として存在していることが考えられた。この発現制御系を利用することで唾液腺内部のスポロゾイトを殺す、あるいは感染能力を無効化することが可能となれば、マラリア非媒介蚊の作製の可能性が高まることが期待できる。現在、この系統の蚊が吸血時に*mDsRed-SP15* タンパク質を唾液として口吻から分泌しているかどうかの解析を行っている。

引用文献

- Chen, X.G., G. Mathur and A.A. James (2008) Gene expression studies in mosquitoes. *Advances in Genetics*, **64**, 19-50.
- Marshall, J.M. and C.E. Taylor (2009) Malaria control with transgenic mosquitoes. *PLoS Medicine*, **6**, e20.
- Terenius, O., O. Marinotti, D. Sieglaff and A.A. James (2008) Molecular genetic manipulation of vector mosquitoes. *Cell Host & Microbe*, **4**, 417-423.
- Valenzuela, J.G., Y. Belkaid, M.K. Garfield, S. Mendez, S. Kamhawi, E.D. Rowton, D.L. Sacks and J.M.C. Ribeiro (2001) Toward a defined anti-*Leishmania* vaccine targeting vector antigens: characterization of a protective salivary protein. *Journal of Experimental Medicine*, **194**, 331-342.
- Yoshida, S and H. Watanabe (2006) Robust salivary gland-specific transgene expression in *Anopheles stephensi* mosquito. *Insect Molecular Biology*, **15**, 403-410.

* Abstract of paper read at the 45th Annual Meeting of the Arthropodan Embryological Society of Japan, June 5-6, 2009 (Oarai, Ibaraki).