

機関番号：82603

究種目：基盤研究(C)

研究期間：2007～2009

課題番号：19580062

研究課題名(和文) 殺虫剤抵抗性昆虫におけるシトクロムP450の過剰発現機構に関する遺伝学的研究

研究課題名(英文) Genetic study on overexpression mechanisms of cytochrome P450 in insecticide resistant insect

研究代表者

富田 隆史 (TOMITA TAKASHI)

国立感染症研究所・昆虫医科学部・室長

研究者番号：20180169

研究成果の概要(和文)：ピレスロイド抵抗性のネッタイエカ JPal-per 系統では、シトクロム P450 遺伝子 *Cyp9m10* が感受性蚊に比べ 260 倍過剰発現していた。本系統の *Cyp9m10* 構造遺伝子座では、その 0.2 kb 上流域に MITE 様トランスポゾンが挿入され、転写開始点を含む上流の 1.1 kb を一方の端点とする約 100 kb 長を増幅単位とする遺伝子重複が生じていた。*Cyp9m10* の過剰発現はシス作用性遺伝的変異によりもたらされたこと、さらに、倍化した *Cyp9m10* のハプロタイプはピレスロイド抵抗性に強く連鎖することを戻し交配実験により明らかにした。

研究成果の概要(英文)：A P450 gene *Cyp9m10* is about 260-fold overexpressing in a pyrethroid-resistant strain of *Culex quinquefasciatus* compared to a susceptible strain. A region of approximately 100 kb in length including the *Cyp9m10* locus was specifically duplicated in the resistant strain. The two duplicated *Cyp9m10* copies shared a completely identical sequence within the transcribed region and the flanking region up to the breakpoint located 1.1 kb upstream of the transcriptional start site. A Miniature Inverted-repeat Transposable Element (MITE)-like element was specifically inserted 0.2 kb upstream of both *Cyp9m10* copies in the resistant strain. We obtained direct evidence that the *Cyp9m10* overexpression is caused by a cis-acting mutation. In backcross experiment, a haplotype containing the two duplicated *Cyp9m10* copies was strongly associated with the pyrethroid resistance.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|-----------|-----------|
| 2007年度 | 1,000,000 | 300,000 | 1,300,000 |
| 2008年度 | 1,900,000 | 570,000 | 2,470,000 |
| 2009年度 | 600,000 | 180,000 | 780,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,500,000 | 1,050,000 | 4,550,000 |

研究分野：昆虫毒物学

科研費の分科・細目：農学・応用昆虫学

キーワード：殺虫剤抵抗性, シトクロム P450, 遺伝子過剰発現, 遺伝子重複, シス作用性調節変異, ネッタイエカ, ピレスロイド

1. 研究開始当初の背景

(1) シトクロム P450 (P450 と略) はミクロソームモノオキシゲナーゼとも呼び、広範な

脂溶性物質を基質として、おもに水酸化反応を基本として酸素原子を基質に付加する酵素である。昆虫種の P450 は、ホルモン、フ

エロモン等の生理活性物質の合成と代謝、植物毒素や殺虫剤等の外来毒物質の代謝を担う。殺虫剤の解毒酵素として働く P450 の活性亢進が、昆虫成長阻害剤(IGR)を含む様々な殺虫剤に対する抵抗性の要因となっている。P450 遺伝子座の数は、ミツバチでは 46、ネッタイシマカでは 160、その他の昆虫種では 100 個前後あることが近年のゲノムプロジェクトの成果としてわかってきたが、特定の殺虫剤系の抵抗性に係わるとされる P450 について、個々の分子種を特定して殺虫剤代謝性と抵抗性をもたらす分子機構の両方が完全に証明された例は、未だに DDT とネオニコチノイド系殺虫剤に関する抵抗性要因となるキイロショウジョウバエの *Cyp6g1* 遺伝子に限られている(Daborn et al. 2002)。

(2) ヒトでは医薬品の薬効、副作用、毒物質代謝能の個人差に P450 の構造変化が多く係わり、点突然変異の遺伝子型判別が分子診断の対象として注目を集めているが、昆虫の殺虫剤抵抗性に関連するとされてきた P450 分子種では、タンパク質構造を変化させる点突然変異ではなく、遺伝子の過剰発現が認められている(Scott 1999, Feyereisen 1999)。

P450 の遺伝子転写調節は、ステロイド、ビタミンなどの脂溶性物質がリガンドとなり、核内受容体遺伝子族の多様な分子種が担っていることがほ乳類について明らかにされているが、昆虫ではエクジソンホルモンをリガンドとするエクジソン受容体(EcR)がその一つである。このような背景から、ヒトでは、核内受容体を作用点とする作動薬・拮抗薬となる化合物の探索が着目されている。昆虫生理活性物質や外来毒物質の代謝に関わる P450 の特異的な阻害剤や、P450 遺伝子発現の調節を撓乱する核内受容体結合性化合物を探索することは、昆虫選択性の高い殺虫剤の開発に繋がる。

(3) アカイエカ種群蚊は、ウエストナイル熱・フィラリア症媒介蚊として重要であり、また、幼虫を用いた殺虫試験の簡便さから新規殺虫剤化合物の一次スクリーニングに用いられる。同群に属するネッタイエカではゲノムプロジェクトが進行中である。抵抗性昆虫において特定の P450 遺伝子が明瞭な過剰発現を示す同種群蚊系統を材料とすることにより、P450 活性亢進を要因とする殺虫剤抵抗性の分子機構の解明が進展すると考えた。

2. 研究の目的

ピレスロイド系殺虫剤のペルメトリンに 2500 倍の抵抗性を示すネッタイエカ JPal-per 系統の幼虫では、中腸内の全 P450 タンパク質量(モル数)が感受性蚊に比べ 2~3 倍高くなっていること、およびペルメト

リンの代謝活性増大していること、および、P450 による解毒作用がピレスロイド抵抗性の最大要因になっていることが明らかになっている(Kasai et al. 1998)。われわれは、2004-2006 年度基盤研究(B)(課題番号 16380045)において、ネッタイエカから 62 種の P450 遺伝子配列をほぼ新規にクローニングし、それらに関する cDNA マイクロアレイ解析を始め、抵抗性蚊終齢幼虫期の感受性蚊に対する遺伝子発現量を比較し、いくつかの JPal-per 系統において P450 遺伝子が過剰発現していることを明らかにしてきた。その結果に基づき、本研究では、過剰発現を示す各 P450 遺伝子の有意性をさらに確かめ、その過剰発現の大きさからもっとも注目し値する 1 つの P450 遺伝子 *Cyp9m10* に絞り、*Cyp9m10* 構造遺伝子とその周辺領域に含まれる過剰発現の原因となり得る遺伝的変異、さらに、過剰発現のシス/トランス作用性とピレスロイド抵抗性との遺伝学的関連性について明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 蚊系統:ネッタイエカ JPal-per 系統は、1980 年代にサウジアラビアで採集し、その後、室内で幼虫に対してペルメトリン選抜を行って確立した系統である。対照とした殺虫剤感受性の OGS 系統に対して、JPal-per 幼虫は 2500 倍のペルメトリン抵抗性を示す。

JPal-per のピレスロイド抵抗性には、シトクロム P450 による代謝酵素活性の亢進とナトリウムチャンネル作用点の感受性低下(そのような突然変異遺伝子は総称して *kdr* とよばれる)がおもな機構として含まれている。

(2) マイクロアレイ解析:62 のネッタイエカ P450 遺伝子とその他の遺伝子の配列をプローブとする 11k マイクロアレイを受託合成した(Agilent Technology)。JPal-per と OGS の終齢幼虫に由来する cRNA を、それぞれ、Cy-3 と Cy-5 で標識し、アレイの上でハイブリダイズさせた。5 回の生物学的反復のそれぞれにつき dye-swapping を行った。その解析結果に基づき、JPal-per 系統で有意な過剰発現性を示した P450 遺伝子については、定量 PCR によりさらに正確な発現量を求めた。

(3) 戻し交配:JPal-per 雌と OGS 雄を交配して得た *F1* 子孫雌に対し、OGS 雄を戻し交配して *BC1* 子孫を得た。

(4) *F1* 子孫における OGS 系統と JPal-per 系統に由来する *Cyp9m10* 対立遺伝子(それぞれ *Cyp9m10^{OGS}* と *Cyp9m10^{JPP}* と略)の量と mRNA レベルのそれぞれに関する相対的定量:Germer et al. (2000)の対立遺伝子特異的定量 PCR 法に基づき、*F1* 子孫における対立遺伝子の遺伝子量比と発現量比を求めた。

(5) *Cyp9m10* 遺伝子座と隣接領域のゲノム

構造の解析：

① サザン・ブロット解析：*Cyp9m10* 遺伝子のコード領域配列をプローブとし、OGS 系統と JPal-per 系統のゲノム配列に存在する *Bgl*II, *Bfi*I, および *Nsi*I の 3 つの制限酵素認識部位を解析した。

② インバース PCR に基づく塩基配列の解析：OGS 系統と JPal-per 系統のゲノム DNA のそれぞれに関し、*Bgl*II 制限酵素断片を環状化し、*Cyp9m10* コード配列に基づくプライマー・セットを用いてインバース PCR を行い、*Cyp9m10* 遺伝子隣接配列をクローニングし、単離した制限酵素断片の配列を決定した。

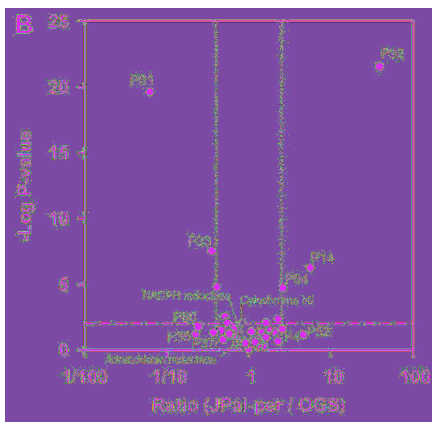
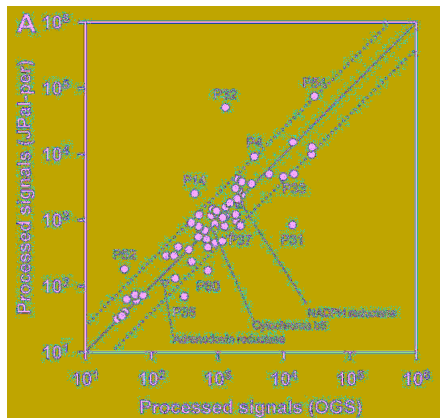


図 1. 62 の P450 遺伝子および P450 モノオキシゲナーゼ系に含まれる他の遺伝子の発現量差を示すためのマイクロアレイ解析。殺虫剤感受性 OGS 系統とピレスロイド抵抗性 JPal-per 系統の間で発現量を比較した。(A) 2 系統それぞれの相対的遺伝子発現レベルをプロットした。破線は両系統の間で 2.5 倍または 1/2.5 倍の差があることを示す。(B) 発現量比の有意性 (*t* 検定における *P* 値の常用対数) に対する発現量比の値 (JPal-per/OGS) をプロットしたもの。垂直方向の破線は両系統の間で 2.5 倍または 1/2.5 倍の差があることを示し、水平方向の破線は $P=0.01$ 有意水準を示す。両パネルにおいて、黒丸は P450 遺伝子を、白丸は P450 モノオキシゲナーゼ系に含まれる他の遺伝子を示す。P を頭とする番号は P450 遺伝子のコードを示し、その中で P32 は *Cyp9m10* を表す。

(6) 戻し交配子孫の殺虫剤感受性と *Cyp9m10* 遺伝子型の検定

① バイオアッセイ：OGS 系統, JPal-per 系統, 研究方法(3)により得た *F1* と *BC1* の終令幼虫のペルメトリン感受性を殺虫剤液浸漬

法により調べた。

② 遺伝子型推定：JPal-per 系統 *Cyp9m10* 遺伝子上流域に存在する *CuRE1* 配列の挿入 (*Cyp9m10*^{PP} と *Cyp9m10v2*^{PP} の重複遺伝子に共通) を Gen1F-Gen1R プライマー・セットを用いた PCR による産物のサイズで判定した (図 3A 参照)。*Cyp9m10*^{PP} と *Cyp9m10v2*^{PP} の重複遺伝子の識別は、*CuRE1* 挿入部位のさらに上流に存在しそれぞれ固有な配列の有無を検出する対立遺伝子特異的 PCR により行った

(Gen2Fa-Gen2R プライマー・セットが *Cyp9m10*^{PP} 特異的, Gen2Fb-Gen2R プライマー・セットが *Cyp9m10v2*^{PP} 特異的に増幅を行う; 図 3A 参照)。

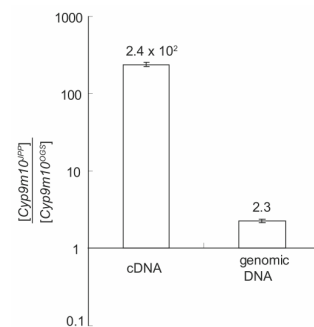


図 2. *F1* 子孫における cDNA とゲノム DNA のそれぞれに関する JPal-per 由来 *Cyp9m10* と OGS 由来 *Cyp9m10* の相対量。データは生物学的反復の幾何平均で示してある。縦軸は対数スケールで、エラーバーは標準誤差で示してある。

4. 研究成果

(1) *Cyp9m10* の過剰発現：ネッタイシマカの 62 の P450 遺伝子のうち、*Cyp4h34* (図中のコード名：P14), *Cyp9m10* (P32), および *Cyp6z10* (P54) の 3 つが JPal-per 系統幼虫で有意に過剰発現していた (図 1B)。このうち *Cyp9m10* の発現レベルは、*Cyp6z10* と並び対象とした 62 の P450 遺伝子の中で最も高く (図 1A)、また、*Cyp9m10* の感受性系統の OGS と比べた発現量比は 260 倍 (定量 PCR に基づく値) であり、際立った過剰発現性が示された。

(2) JPal-per 系統の *Cyp9m10* 過剰発現はシス作用性変異により生じている：JPal-per と OGS の *F1* において、両親由来の *Cyp9m10* 対立遺伝子を識別した上で、両者の転写量と遺伝子量の相対比を求めた (図 2)。JPal-per 由来の対立遺伝子 *Cyp9m10*^{PP} は OGS 由来の対立遺伝子 *Cyp9m10*^{OGS} に比べて 240 倍の転写レベルを示し、この値はそれぞれの両親を用いた測定で推定された 260 倍 (研究成果 (1)) とほぼ同等な比であった。この結果から、JPal-per 系統における *Cyp9m10* の過剰発現はシス作用性変異により生じていることが明らかになった。

(3) JPal-per 系統の *Cyp9m10* 遺伝子座は遺伝子重複を生じている：一方、*F1* における

遺伝子量に関する比較では、*Cyp9m10^{IPP}* 対立遺伝子が *Cyp9m10^{OGS}* に比べて 2.3 倍のレベルを示したことから (図 2)、JPal-per 系統には *Cyp9m10* 遺伝子の倍加が生じていることも示された。

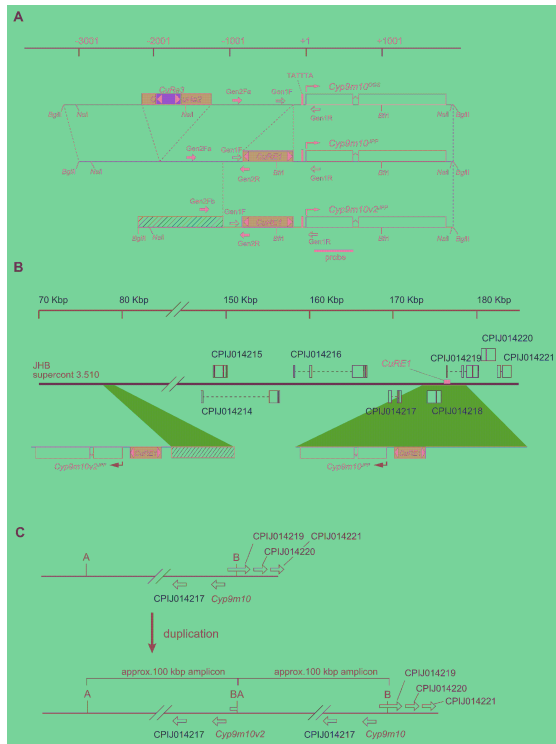


図 3. *Cyp9m10* のゲノム構造と重複。

(A) OGS と JPal-per のゲノムに含まれる 3 つの *Cyp9m10* 遺伝子とその隣接領域の構成。塩基座位は推定上の転写開始点座位 +1 として相対的に示されている。サザン・プロットに用いられた制限酵素部位とプローブの標的となる配列が示されている。白抜きボックスは、*Cyp9m10* に含まれる 2 つのエクソンを示す。灰色ボックスは 3 つの MITE 様エレメント、*CuRE1*、*CuRE2*、および *CuRE3* による挿入/欠失を示す。黒塗りボックスは TATA-結合性タンパク質に関する予想される結合部位を示す。破線囲みボックスは、*Cyp9m10v2^{IPP}* の -1085 塩基座位の上流域を示す。白抜きと黒塗りのボックス矢印は、遺伝子型判定のための PCR I メソッドと PCR II メソッドに用いたプライマーの標的部位と名前をそれぞれ指す。(B) 現在の JHB 系統 (ネットアイエカ・ゲノムプロジェクトの供試系統) に関するゲノム・アセンブリで利用可能な supercont 3.510。CPUJ014214-CPUJ014221 は、VectorBase において予想される CDS (コード・ドメイン配列) に付けられた遺伝子 ID; 正鎖に基づく CDS は上方に、負鎖に基づく CDS は下方に示してある。*CuRE1* 挿入は黒塗りボックスで示されている。コンティグの塩基座位は上段の縮尺に示してある。*Cyp9m10^{IPP}* の相同領域と *Cyp9m10v2^{IPP}* の -1085 塩基座位より上流にあたる領域は対応するコンティグの構成の下に示してある。(C) JPal-per 系統のゲノムの原型から遺伝子重複が生じた過程を説明する模式図。記号 A と B は重複領域の両切断点を示す。

(4) *Cyp9m10* 遺伝子構造 :

① MITE 様配列の挿入 : OGS 系統の

Cyp9m10 遺伝子と JPal-per 系統に含まれる倍化した 2 つの *Cyp9m10* 遺伝子のそれぞれについて、構造遺伝子とその上流域の約 5 kb までの構造を比較した (図 3A)。JPal-per の各重複遺伝子の上流域には OGS 系統にはない MITE 転移因子に相同性の高い約 670 塩基長の挿入があり、これを *CuRE1* と名づけた。

② 重複遺伝子間の構造の差異とゲノム上の配置 : 重複遺伝子 (*Cyp9m10^{IPP}* と *Cyp9m10v2^{IPP}*) の間では、構造遺伝子領域

1.8 kb と *CuRE1* 挿入を含む上流の隣接配列 1.1 kb が完全に同一な配列を示していたが、そのさらに上流域で構造が異なっていた。

Cyp9m10^{IPP} の上流域は、MITE 様配列 (*CuRE1*, *CuRE2*, *CuRE3*) の挿入欠失変異を別にする制限酵素部位で表したマップは非常に類似していた (図 3A)。一方 *Cyp9m10v2^{IPP}* の上流域には OGS と *Cyp9m10^{IPP}* の上流域には存在しない約 2.2 kb の配列が存在した (図 3A)。JPal-per 系統における 2 つの重複遺伝子の配置は、VectorBase から利用可能なネットアイエカ JHB 系統における supercont 3.510 の構造との比較して推定することが可能であった (図 3B)。上に述べた *Cyp9m10v2^{IPP}* の上流域に特異的な約 2.2 kb 配列は *Cyp9m10^{IPP}* 構造遺伝子の約 100 kb 下流に見出されたことから、2 つの遺伝子は順向きに約 100 kb 離れて配置されていると推定された。

③ 予想される *Cyp9m10^{IPP}* 遺伝子座の遺伝子重複の過程 : 本来 1 つの遺伝子座としてゲノム中に存在していた *Cyp9m10^{IPP}* が遺伝子重複により倍加したと考えられる。その過程を想定される 100 kb のサイズから成る増幅単位の縦列増幅として模式的に図 4C (記号 A と B を端点とする区間が増幅単位として示されている) に示した。

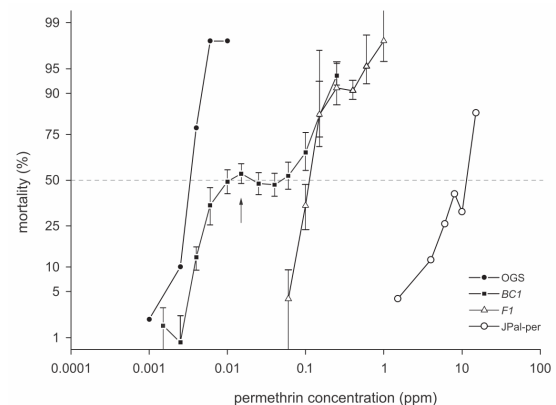


図 4. ベルメトリン処理に対する OGS, JPal-per, *F1*, および *BC1* 各世代の幼虫が示す薬量応答曲線。

縦軸はプロビット目盛で示されている。*F1* と *BC1* 子孫に関するエラーバーは、別個に用意した 3 つの交配系列の間の標準偏差を示す。矢印で示したベルメトリン薬量 0.015 ppm は、後に実施した別実験 (本薬量における生/死と *Cyp9m10* に関する *F1* 型/OGS 型の相関をみる試験) の識別薬量とした。

(5) 重複した *Cyp9m10^{IPP}*-*Cyp9m10v2^{IPP}* ハプロタイプのピレスロイド抵抗性への連鎖 :

OGS 系統, JPal-per 系統, *F1* 雑種, および戻し交配子孫 *BC1* の終齢幼虫のベルメトリンを用いたバイオアッセイの結果を図 4 に示す。*F1* は JPal-per に比べ抵抗性レベルが約 1/100 に低下した。この理由は JPal-per 蚊がホモ接合体として保有していた劣性の低神経感受性遺伝子 *kdr* が *F1* 雑種においてヘテロ接合体となり、抵抗性要因としての表現型を書いたことによると説明できる。*F1*

は OGS に比べてなお約 100 倍の抵抗性を保っていた。*BC1* 子孫では OGS 型と *F1* 型の感受性を示す個体がほぼ同率で分離した。この結果は、*F1* のピレスロイド抵抗性が単一の遺伝的要因により発現していることを示す。さらに *BC1* では、分子ジェノタイプングにより、*F1* 型の

Cyp9m10^{OGS} [*Cyp9m10^{IPP}*-*Cyp9m10v2^{IPP}*] と OGS 型の *Cyp9m10^{OGS}* *Cyp9m10^{OGS}* が同率で分離し、*F1* 型と OGS 型の遺伝子型が、それぞれ、*F1* と *BC1* の殺虫剤感受性を識別するベルメトリン 0.015 ppm 濃度での生残と死亡という殺虫剤感受性を表す表現型とほぼ完全に一致した (図表省略)。以上の結果から、重複した

Cyp9m10^{IPP}-*Cyp9m10v2^{IPP}* ハプロタイプはピレスロイド抵抗性に遺伝学的に強い連鎖を示した。この遺伝子重複ハプロタイプが代謝亢進によるピレスロイド抵抗性の主要因である可能性が強く示唆される。

(6) シス作用性変異の解明に関する今後の課題: JPal-per 系統蚊では重複した

Cyp9m10^{IPP} と *Cyp9m10v2^{IPP}* (図 3) の遺伝子のうち、「両方とも」あるいは「どちらかが」過剰発現しているのかを特定することが、過剰発現をもたらすシス作用性変異を解明する手がかりになる。

① *CuRE1* の遺伝子調節領域への挿入が両方の遺伝子に均等に過剰発現をもたらしている可能性を確かめるためには、*Cyp9m10^{IPP}* の増幅単位と同一なハプロタイプを示すがゲノム中で単一遺伝子座としてしか存在する蚊を得て、その発現量を測定することが手がかりになる。

② 一方、シス作用性変異が増幅単位の外にある場合は、*Cyp9m10^{IPP}* と *Cyp9m10v2^{IPP}* の間に、組織・発育ステージ特異的発現性に関することも含め、発現量に何らかの差異が生じている可能性もある。この可能性は縦列重複の結果に照らして、次のように理解される。JPal-per 系統においては、重複遺伝子の 1 つのコピーである *Cyp9m10^{IPP}* から見れば、その構造遺伝子の下流域の構造が遺伝重複に伴ない変化しているし、もう一方のコピーである *Cyp9m10v2^{IPP}* から見れば、上流域の構造が遺伝重複に伴ない変化しているからである。*Cyp9m10* 構造遺伝子も含め遺伝子増幅単位に含まれる配列は同一なため、転写産物の配列に基づく両者の転写産物の定量はできない。この技術上の問題は、代わりに、haploChIP 法などの転写酵素-DNA 複合体を標的とする免疫沈降法を適用することで解決できる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

- ① Kentaro Itokawa, Osamu Komagata, Shinji Kasai, Yoshika Okamura, Masahiro Masada, Takashi Tomita, 2010. Genomic structures of *Cyp9m10* in pyrethroid resistant and -susceptible strains of *Culex quinquefasciatus*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, DOI# 10.1016/j.ibmb.2010.06.001 (accepted June 3, 2010; in press), 査読有.
- ② Osamu Komagata, Shinji Kasai, Takashi Tomita, 2010. Overexpression of cytochrome P450 genes in pyrethroid-resistant *Culex quinquefasciatus*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 40 (2), 146-152, 査読有.

[学会発表] (計 6 件)

- ① 富田隆史, 殺虫剤抵抗性蚊におけるシトクロム P450 遺伝子の過剰発現, 第 54 回日本応用動物昆虫学会大会研究小集会, 2010 年 3 月 28 日, 千葉大学.
- ② 糸川健太郎 (他 6 名), 殺虫剤抵抗性と連鎖する *CYP9M10* 遺伝子の過剰発現と進化, 第 54 回日本応用動物昆虫学会大会, 2010 年 3 月 27 日, 千葉大学.
- ③ 糸川健太郎 (他 4 名), ネットアイエカ幼虫のピレスロイド抵抗性に関する解毒酵素シトクロム P450 (*CYP9M10*) の遺伝学的研究, 第 62 回日本衛生動物学会東日本支部大会, 2009 年 10 月 17 日, 国立感染症研究所.
- ④ 糸川健太郎 (他 5 名), 殺虫剤抵抗性ネットアイエカで高発現しているピレスロイド代謝性 P450 遺伝子の発現機構に関する研究, 第 53 回日本応用動物昆虫学会大会, 2009 年 3 月 30 日, 北海道大学.
- ⑤ Takashi Tomita (他 2 名), Insecticide resistance in the mosquito *Culex pipiens complex*, 4th Pan Pacific Conference on Pesticide Science, 2008 年 6 月 2 日, Waikiki Beach Marriott Resort & Spa, Honolulu.
- ⑥ 駒形修 (他 6 名), アカイエカ種群蚊の殺虫剤抵抗性及び亜種判別に関わる遺伝子型の個体別決定法, 第 59 回日本衛生動物学会大会, 2007 年 4 月 3 日, 大阪市立大学.

[図書] (計 1 件)

- ① Osamu Komagata, Shinji Kasai, Takashi Tomita, 2009. Insecticide resistance in the mosquito *Culex pipiens* Complex, in: Clark, J.M.,

Bloomquist, J.R., Kawada, H. (Eds.),
Advances in Human Vector Control.
ACS Publications, Washington, pp.
27-37.

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.nih.go.jp/niid/entomology/manuscript.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

富田 隆史 (TOMITA TAKASHI)

国立感染症研究所・昆虫医科学部・室長

研究者番号：20180169

(2) 研究分担者

葛西 真治 (KASAI SHINJI)

国立感染症研究所・昆虫医科学部・主任研究官

研究者番号：80332360

(H20→H21：連携研究者)