

特異的遺伝子の多重検出による サルモネラ主要血清型迅速同定法

サルモネラの血清型別同定には、通常4日程度の時間を必要としますが、検査の現場では特定の血清型を迅速に同定する手法の開発が望まれています。そこで、我々は公衆衛生ならびに家畜衛生上、重要な血清型 Typhimurium、Choleraesuis、Infantis、Hadar、Enteritidis、Dublin、Gallinarum のそれぞれに特徴的な遺伝子（血清型特異的遺伝子領域=SSGR）を見つけ、複数の遺伝子をマルチプレックス PCR（m-PCR）という方法で同時に検出することにより、血清型を迅速に同定する手法を開発しました。これにより検査時間を3日以上、短縮することが可能となります（図1）。

☆ 技術の概要

血清型 Typhimurium、Choleraesuis、Infantis、Hadar、Dublin、Enteritidis、Gallinarum の全ゲノム塩基配列から各血清型に特異性の高い3つのSSGRを選択しました。これらの遺伝子領域に加えて、サルモネラ属が特異的に保有する *invA* 遺伝子の計4遺伝子領域を同時検出することにより、7種の血清型を同定する m-PCR 系を構築しました。本法では *invA* の増幅を600 bp に、SSGR の増幅を300、200、100 bp に設定しました。4遺伝子が全て検出されたときに、被検菌は当該血清型であると判定できます（図2）。野外分離株を用いて本法の特異性を検証したところ、いずれの血清型を標的とした m-PCR でも標的血清型における陰性例、すなわち偽陰性は認められませんでした。一部の近縁血清型においては偽陽性が認められますが、これらの血清型の分離頻度は低いことから、実用上問題はないと考えています。

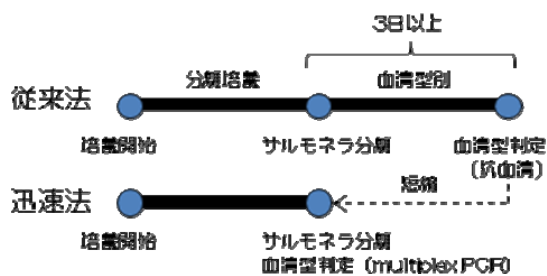


図1. 従来法と迅速法の比較

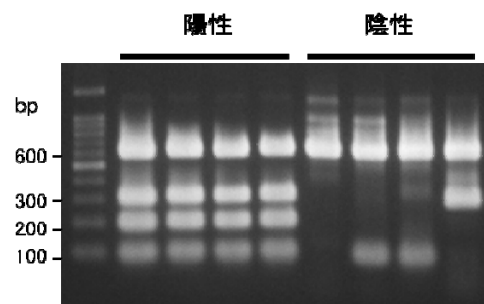


図2. m-PCR 実施例

総て(4つ)の遺伝子で増幅を認めたものを陽性、そうでないものを陰性と判定した。

☆ 活用面での留意点

本法は、日常のスクリーニング検査としての使用に耐えうる簡便性と特異性を十分に有しています。現在、キットとしての製品化を検討中です。

詳細については、農研機構 動物衛生研究所 情報広報課 (TEL: 029-838-7708) までお問い合わせ下さい。

(農研機構 動物衛生研究所 安全性研究チーム 主任研究員 秋庭正人)