

鳥インフルエンザウイルスの 精度の高い遺伝子亜型判定法の開発

鳥インフルエンザウイルスは呼吸器症状を特徴とする人獣共通感染症の病原体で、粒子内部には亜型共通な NP（核蛋白質）があり、粒子表面には HA（ヘマグルチニン）と NA（ノイラミニダーゼ）と呼ばれる亜型に特異的なスパイクがあります。後者は抗原性状の違いにより、16種類の HA 亜型と9種類の NA 亜型に細分類されています。また、家畜伝染病予防法では、H5 又は H7 亜型のウイルスに感染した家禽は殺処分の対象であり、高病原性と低病原性に分けられています。本病の診断では亜型と病原性の判定が重要であり、前者は抗血清パネルを用いた血清学的検査で、後者は鶏感染試験で判定されます。しかし、これらの検査法は煩雑で時間を要する上に、特殊隔離施設を必要とします。我々は、特異性と感度に優れ、簡便・迅速で、一般検査室でも利用可能な遺伝子亜型判定法を開発しました。

☆ 技術の概要

ウイルス液（尿腔液）から精製したウイルス RNA から cDNA を合成し、これを 10 倍希釈して、26 種類のプライマーセット（H1-H16, N1-N9, NP）を用いて 30 サイクル増幅すれば、それぞれ 1 種類の HA, NA, NP の遺伝子だけが増幅され、本ウイルスの亜型を判定することができます。亜型判定率はウイルス液（尿腔液）を用いた場合には 99% で、血清学的亜型判定法より優れています。臨床材料に含まれる少量のウイルスであっても、40 サイクル増幅すれば、比較的高率に亜型の判定が可能です。また、増幅産物の塩基配列解析から、亜型の確定と病原性の推定ができます。このように本法は、特異性と感度が高く、簡便・迅速で、一般検査室でも利用できることから、野鳥調査に有用です。

(A) PCR による亜型の判定

(B) リアルタイム PCR による亜型の判定

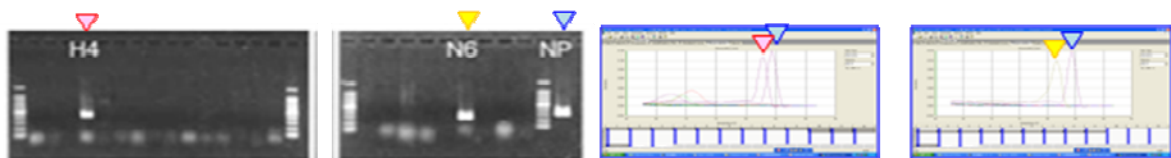


図. 鳥インフルエンザウイルスの遺伝子亜型の判定

☆ 活用面での留意点

本法は亜型判定の補助検査であり、確定には塩基配列解析又は血清学的検査が必要です。詳細は、動物衛生研究所企画管理部情報広報課(電話 029-838-7708)にお問い合わせください。

(動物衛生研究所 ウイルス・疫学研究領域 塚本健司)