

## ヨーネ病の遺伝子診断法

ヨーネ病は抗酸菌の一種であるヨーネ菌の経口感染によって引き起こされる牛、山羊、めん羊等反芻獣の慢性消化器感染症です。我が国では本病を家畜法定伝染病に規定し、摘発・淘汰による防疫対策が進められています。感染牛では糞便中にヨーネ菌が排泄される為、培養検査が行われますが、ヨーネ菌の発育速度が極めて遅い為、結果を得るまでに通常2ヶ月以上を必要とします。この長期間を必要とする培養検査に代わる迅速なヨーネ病診断法として、遺伝子検査法が開発、実用化され、昨年4月から全国の家畜保健衛生所において本検査によるヨーネ病の診断が行われています。

### 技術の概要

糞便中のヨーネ菌 DNA の検出には、Polymerase Chain Reaction (PCR) と呼ばれる DNA 増幅法を用いますが、さらに、リアルタイム PCR という技術が組合わされています。ヨーネ菌リアルタイム PCR 検査では、ヨーネ菌のみが持つ IS900 と呼ばれる DNA を PCR により増幅しますが、この PCR 反応液に二本鎖 DNA に特異的に結合する蛍光色素 SYBR Green I が添加されています。PCR 反応の進行に伴って増幅された二本鎖 DNA に SYBR Green I が取り込まれ、DNA への結合により強い蛍光を発します (図1)。PCR 検査の過程で反応液の蛍光の強さを測定することにより、DNA の増幅をリアルタイムで検出することが可能となり、DNA が増幅される様子がグラフに描かれます (図2)。さらに、リアルタイム PCR 検査では糞便サンプル中のヨーネ菌 DNA 量を定量することも可能です。このようなリアルタイム PCR 検査の開発により、数時間で排菌牛の診断が可能となりました (図2)。

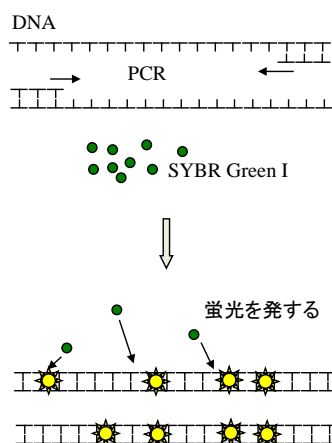


図1. リアルタイムPCR (SYBR Green I 法) の原理

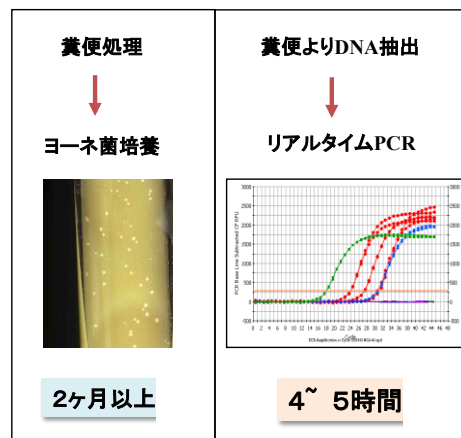


図2. 糞便中ヨーネ菌検出法の比較  
右図中の赤いラインは参照ヨーネ菌DNAを、緑と青色のラインが糞便中ヨーネ菌DNA陽性像を示し、早く蛍光が立ち上がる緑色の糞便の方がヨーネ菌DNAを沢山含む。

### 活用面での留意点

ヨーネ病遺伝子検査は家畜保健衛生所の獣医師によって行われますが、検査手法がやや複雑である為、初めて検査を行う場合は、正確な検査が実施できているか否かの検定を行ってから本検査を行う事を推奨しています。その為に、動物衛生研究所からはヨーネ病遺伝子検査用の検定用糞便を提供しています。

詳細については、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。

(動物衛生研究所 細菌・寄生虫研究領域 森 康行)