

血液中のウイルス遺伝子の検出に適した 核酸試料の簡易な調製法

2018年8月以降、国内では豚熱がまん延し、養豚業に大きな被害をもたらしています。また、同年8月には中国でアジア初となるアフリカ豚熱が発生し、以来、日本、台湾、スリランカを除くアジア全域で流行が続いています。これらは別の病気なのですが、症状が酷似するため判別が難しく、正確な診断にはPCR検査が必須です。都道府県の病性鑑定施設では、我々が民間試薬メーカーと共同開発した豚熱・アフリカ豚熱を判別可能な複合PCR法による同時検査が行われますが、この検査は血液や着色の強い血清、混濁の強い検体といった“難しい”検体が不得手です。とは言え、血液（血球）中には大量のウイルスが含まれること、野生のいのししではしばしば腐敗した検体の検査が求められることなどを考慮すると、このような検体を簡便、迅速に調製する技術の確立が急務でした。そこで我々は民間試薬メーカーと共同で、血液等の検体から複合PCR法に適した試料を簡易に調製する技術を開発しました。これにより、豚熱・アフリカ豚熱検査法の適用範囲が大幅に拡張されるとともに、簡便で効率的な検査が可能となります。

☆ 技術の概要

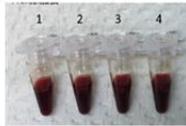
1. 僅かな量の血液や着色の強い血清、腐敗の進んだ検体や混濁の強い検体から短時間の熱処理と簡易な遠心分離操作でPCR検査に適した試料が調製できます。（図1）
2. 核酸の分解を抑制しつつ、検査に適した試料が得られます。

【新規の試料調製法】

- 1)血液と試薬を混合
血液が20μLあれば検査が可能!!
- 2)加熱処理（3分）
- 3)低速で遠心分離（2分）
簡易型卓上遠心機でもOK!!
- 4)上清を回収
- 5)そのままPCR反応液へ

従来法よりも簡便で検出効率も向上
どのような試料でも一律の処理が可能に

前処理実施前



↓

実施後

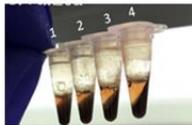


図1 新規に開発した核酸試料調製法の概略

☆ 活用面での留意点

1. 本法に用いる関連試薬は2023年6月に上市され、現行の「豚熱に関する特定家畜伝染病防疫指針」および「アフリカ豚熱に関する特定家畜伝染病防疫指針」（農林水産大臣公表）に基づく検査法として、病性鑑定施設での利用が開始されています。
2. 本法は、豚熱、アフリカ豚熱の複合PCR法のみならず、しばしば正しい診断の妨げとなる“難しい”検体を用いた他疾病の検査での活用も期待できます。

（農研機構 動物衛生研究部門 越境性家畜感染症研究領域 國保健浩、西達也）