

研究情報

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

AKIBA Masato

安全性研究チーム 主任研究員 秋庭 正人

サルモネラ感染は家畜生産の障害要因であるのみならず、畜産物を介してヒトに食中毒を起こすことから、公衆衛生上の脅威ともなっています。サルモネラは表面抗原の違いにより2,500以上の血清型に型別できますが、このうち家畜や人にしばしば感染する主要な6血清型は家畜伝染病予防法により監視伝染病と定められています。分離されたサルモネラが監視伝染病に含まれるか否かでその後の対応が異なるため、飼料や食肉衛生検査の現場では血清型別を行う必要があります。例えば、サルモネラ感染の疑われた豚であれば血清型別が終了するまで枝肉を保留しておく必要があります。食肉衛生上問題視されています。現行の方法ではサンプル培養を開始してから菌が分離されるまでに5日間、さらに血清型別に4日間以上の実質、約2週間を要しています。我々はサルモネラが分離された時点でPCR法により血清型特異的遺伝子を検出することで、主要5血清型（Typhimurium、Choleraesuis、Dublin、Enteritidis、Gallinarum）を同定する方法を開発しました。すなわち監視伝染病に含まれる6血清型のうち、5血清型については培養開始から5日間で同定することが可能となりました。

主要5血清型に特異的な遺伝子は以下に示す方法で選択しました。まず、5血清型の全ゲノム塩基配列をコンピューター上で比較することで血清型特異的遺伝子の候補を抽出し、相同性検索によりそれらを絞り込みました。次に、これまでに我々が収集したサルモネラ野外分離株3,700株を利用して、当該血清型およびそれ以外の血清型の何%がその遺伝子を保有する

かをPCR法で検討することで、最終的に各血清型に特異的な遺伝子を3つ選び出しました。各血清型に特異的なこれら3つの遺伝子が全て検出された場合、その株は当該血清型であると同定できます（図参照）。本法では偽陽性（他の血清型で3遺伝子陽性）となる例はDublinとEnteritidisにおいて近縁血清型でのみ認められました。また偽陰性（当該血清型で3遺伝子陽性とならない）となる例は認められませんでした。したがって本法は極めて特異性の高い手法と考えられます。また、将来的に近縁血清型以外での偽陽性や偽陰性の血清型が出現した場合には、他の特異的遺伝子を利用することで特異性を維持することができます。以上のことから従来、培養開始から約2週間を要した上記血清型の同定が、本法では5日間に短縮でき、迅速、高精度な同定法として活用できます。

本法は家畜保健衛生所における日常検査、血清型別不能菌の同定、スクリーニング検査等へも応用可能であり、飼料や食肉を汚染するサルモネラのリスク管理のみならず、生産現場における当該血清型感染の早期摘発のための極めて有効なツールとなることが期待されます。現在、1回のPCRで3つの遺伝子を同時に検出するマルチプレックスPCRの実用化に向けて検討を加えているところです。

関連特許：特願2008-177942（2008）

この研究内容は動衛研ホームページでもご覧いただけます。
<http://niah.naro.affrc.go.jp/publication/seikajoho2/2008/niah08003.html>

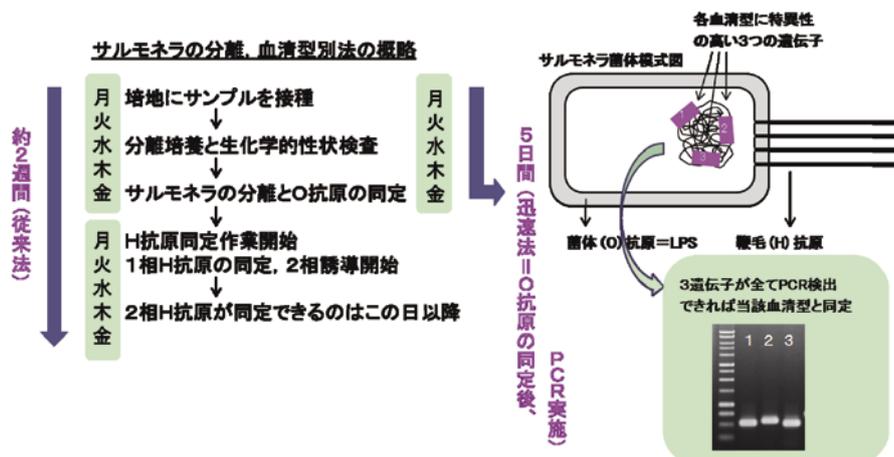


図 従来法と迅速法の比較