

# 研究情報

## 豚胸膜肺炎菌血清型 1、2 及び 5 の型別用 マルチプレックス PCR の開発

生物学的製剤製造グループ 安全管理科長 伊藤 博哉  
兼 環境・常在疾病研究チーム ITO Hiroya

### ◆ はじめに

豚の重要な呼吸器病の原因菌である豚胸膜肺炎菌 (*Actinobacillus pleuropneumoniae* (App)) は、主に菌体表層の莢膜の抗原性に基づき15の血清型に型別されます。流行している血清型は国、地域及び農場によって異なり、日本で分離される血清型はほとんど血清型1、2または5であり、分離株の88%以上を占めます。病原性の強弱は血清型間で異なり、またワクチン効果にも血清型特異性が認められることから、本菌の血清型別は重要な検査項目であり、多くの検査機関で実施されています。しかし、型別用試薬（抗血清）は市販されていないため、血清型別を実施できる検査室は少数です。さらにいくつかの血清型間で交差反応がしばしば認められ、正確かつ迅速な型別をできないことがあります。そこで、日本での主要な流行血清型である血清型1、2及び5を遺伝学的に簡便かつ正確に型別できる莢膜合成遺伝子を標的にしたマルチプレックスPCR（1本のチューブで一度に型別が可能な省力型PCR）の開発を行いました。

### ◆ 成 績

App血清型1～15の参考株をマルチプレックスPCRに供試すると、血清型1、2及び5の参考株からはそれぞれ約0.75 kb、0.5 kb、1.1 kbの特異DNAが増幅されますが、他の血清型参考株からは、DNAは増幅されませんでした（図）。

次に、開発したマルチプレックスPCR法が野外分離株でも有用かどうか確認するため、App血清型1 (n=15)、2 (n=53)、5 (n=15)、7 (n=11)、8 (n=3)、10 (n=2)、12 (n=3) 及び型別不能 (n=4) の野外分離株を上記マルチプレックスPCRに供試しました。その結果、血清型1、2及び5の野外分離株からはそれぞれ約0.75 kb、0.5

kb、1.1 kbの特異DNAが増幅されましたが、血清型7、8、10、12及び型別不能の野外分離株からは、DNAは増幅されませんでした。このように、今回開発したマルチプレックスPCRは、野外でも利用可能と考えられます。

### ◆ 結 論

莢膜合成遺伝子を標的にしたマルチプレックスPCR法により、日本での主要な流行血清型である豚胸膜肺炎菌の血清型1、2及び5を簡便かつ正確に遺伝学的に型別できるようになりました。本法は型別用抗血清が不要であり、特異性も高いことから、簡便かつ正確に分離株の血清型を推定できます。型別用抗血清を保有しない検査機関では、分離株が日本での主要な血清型である血清型1、2、5であるかどうかを遺伝学的に型別するための簡易検査法として使用できます。一方、保有する検査機関では、従来の抗血清を用いた血清型別の際に、交差反応が認められた場合には、有用な補助検査法となります。PCR装置がある検査室であれば、PCR試薬等の市販品を用いて容易に検査できることが、本法の大きな利点です。

掲載誌 Ito H., J Vet Med Sci. 72(5), 2010, 653-655.

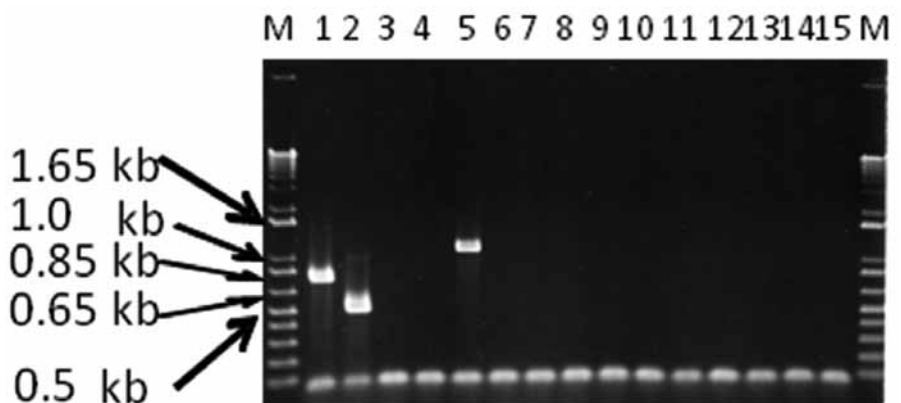


図. 豚胸膜肺炎菌血清型1、2及び5の型別用マルチプレックスPCR  
各レーンの上の数字は血清型を示す。M: サイズマーカー。