

演題番号：8

演題名：LAMP法を用いた豚丹毒菌および *Streptococcus suis* の検出法の検討

発表者名：○宮本雄二郎 大山み乃り

発表者所属：北部食肉衛生検査所

1. はじめに

近年、新たな遺伝子検査法としてLAMP法 (Loop-mediated Isothermal Amplification) が開発された。LAMP法は、反応から検出までの工程が少なく、PCR法のように電気泳動の必要も無い。また、PCR法に比べて反応時間も短く、結果判定までの時間を大幅に短縮できる。LAMP法は、と畜検査におけるスクリーニング検査にも応用が可能であることから、今回PCR法の検査結果と比較してその実用性を検討した。

2. 材料および方法

平成20年から平成24年までに当検査所で関節炎型豚丹毒を疑い保留になった豚40頭の関節液由来のDNAを材料として、PCR法およびLAMP法を実施した。両法とも豚丹毒菌および *Streptococcus suis* (以下 *S. suis*) を被検菌とした。LAMP法はDNA増幅試薬キットを用いて63℃で25分反応させ、結果は蛍光試薬による発光と核酸凝集剤であるポリエチレンジアミン(以下PEI)による沈殿を目視で確認する2法について検討を行った。PCR法はGo taq Green Master Mixを用いて反応させた後、電気泳動を行った。

3. 結果

(1)豚丹毒菌：LAMP法で陽性だった10検体はPCR法でも全て陽性であった。LAMP法で陰性だった30検体についてはPCR法でも全て陰性だった。

(2)*S. suis*：LAMP法では9検体陽性であり、31検体陰性であった。PCR法では11検体陽性であり、29検体陰性であった。LAMP法で陰性であった2検体がPCR法では陽性だった。両菌ともLAMP法の結果の確認には蛍光試薬とPEIを用いた2つの方法を行ったが同様の結果が得られた。

4. 考察およびまとめ

豚丹毒菌については、LAMP法とPCR法の結果が完全に一致したが、*S. suis*については2検体のLAMP法の陰性検体がPCR法では陽性であった。原因の1つとして *S. suis* の変異株であった可能性も考えられるが、究明には至っていない。また、LAMP法の増幅反応時間はプライマーによって条件検討が必要であり、これも原因として考えられるので、今後の課題としたい。LAMP法の結果の確認法として、蛍光試薬とPEIを用いた2つの方法を検討したが、両法とも目視で検査結果が確認でき、有用であると思われた。今回の実験では、LAMP法を用いることによって、PCR法では5時間かかった検査時間が1時間半程度に短縮された。検査方法も簡易であることから、今後のと畜検査に応用できるように検討していきたい。