

コイヘルペスウイルス病の診断・防疫技術の開発～PCR法の改良～

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 水産総合研究センター 公開日: 2024-07-17 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	https://fra.repo.nii.ac.jp/records/2010222

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.



コイヘルペスウイルス病の診断・防疫技術の開発 ～PCR法の改良～

病害防除部 魚病診断・研修センター

研究の背景・目的

1. 特定疾病コイヘルペスウイルス病の診断に用いられていたPCR法には、反応に時間が掛かる、非特異反応がみられるとの問題点が指摘されていたため、そのPCR法の改良を試みました。
2. 採材試料の保存あるいは輸送は冷凍により行われていますが、輸送中の病原体汚染の防止を目的とし、病原体を不活化できるアルコール固定法について検討しました。
3. 本症の発症・死亡のピークには鰓がウイルス検出のための最適臓器であることが知られていますが、それ以降の時点における検出に最適な魚体部位について実験感染魚を用いて検討しました。

研究成果

1. プライマーの一部を修正し、PCRプログラム反応を改良することにより、改良PCR法では非特異反応が低減し、反応所要時間も短縮されました（表1お

よび図1)。

2. 70%以上のエタノール溶液に試料を保存した場合、20℃で9カ月後でもウイルスDNAが検出でき、エタノールを用いた固定がPCR法に有用であることが判明しました。
3. 発症・死亡のピークが過ぎた時点においても、鰓からのKHV検出率は高く、鰓を用いた現行の検出方法で問題がないことが明らかとなりました。

波及効果

1. 改良されたコイヘルペスウイルス病の診断法を各試験機関が実施することにより、より精度の高い検査体制のもとで診断が行われ、疾病の拡散防止に貢献できます。
2. 本研究の成果を基にコイヘルペス病の病性鑑定指針におけるPCR検査法が農林水産省消費安全局により平成16年10月12日付けで改訂されました。

表1 各PCR反応プログラムの所要時間

	改良プログラム	改良前プログラム
前熱処理	94℃・30秒 x 1	94℃・30秒 x 1
変性	94℃・30秒 x 40	94℃・1分 x 30
アニーリング	63℃・30秒 x 40	55℃・2分 x 30
伸長	72℃・30秒 x 40	72℃・3分 x 30
再伸長	72℃・7分 x 1	72℃・7分 x 1
反応所要時間	2時間10分	3時間50分

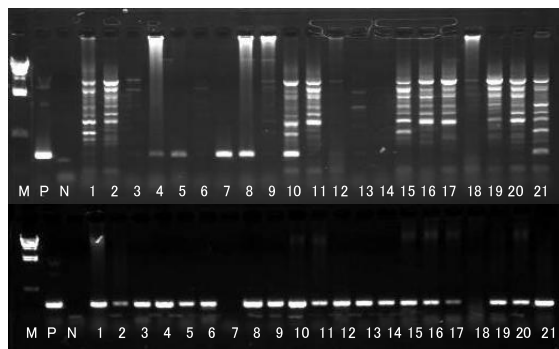


図1 改良プログラム（下）および改良前プログラム（上）によるPCR電気泳動機

③ 水域生態系の構造・機能及び漁業環境の動態の解明とその管理・保全技術の開発(資料7～11)

<概要>

- 海域においては生態系モニタリング調査による現況の把握に努め、それらの解析から海域の環境特性や生物生産構造の解明が進んでいます。内水面では、イワナ・アユ等の生態調査を進めています。
- 漁業への影響が懸念される有毒プランクトンについて、発生機構の解明とその影響の軽減化に向けた研究を、また、有害物質の安全確認と物質循環過程の解明に向けた研究を進めています。

<トピックス>

- 貝毒原因プランクトンであるアレキサンドリウム・タマレンセの個体群構造を解明し、貝毒原因プランクトンの発生予察や防除技術の開発に必要な知見を得ました。
- 知多湾で干潟生態系モデルと循環モデルを結合させ、矢作川からの栄養塩負荷濃度を半減すれば、貧酸素による貝類斃死や赤潮を抑制する効果があることを明らかにしました。
- 有機スズ化合物を曝露したメダカ類（マミチヨグ）の精巣で生殖細胞の活性が低下することを発見し、この機構を利用した内分泌かく乱物質等の影響評価手法の高度化を可能にしました。