

早くて簡単！牛の大敵ヨーネ菌の見つけ方

～LAMP法を用いた細菌コロニーからのヨーネ菌検出～

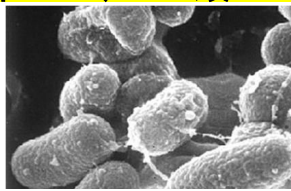
ヨーネ病

家畜法定伝染病。反芻動物が経口感染し、発症すると水様性下痢、体重の著しい減少を引き起こし、淘汰するしかない。

北海道での発生 H23年 **112戸296頭**
H24年 **116戸316頭**



ヨーネ病の牛



ヨーネ菌
Mycobacterium avium
subsp. *paratuberculosis*

LAMP法

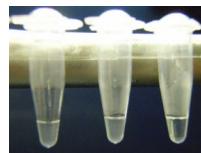
プライマーセットと標的DNA、鎖置換型DNA合成酵素等の試薬を混合し、一定温度(65℃付近)で反応させて、特定のDNAだけを増幅させる手法。



試薬の調製



LAMP反応装置



液の濁り具合で判定
(チューブ内で増幅)

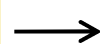
LAMP法によりヨーネ菌を蛍光目視で判定できる手法を開発した！

培地上に発現した細菌コロニーの同定作業の比較

1) 細菌コロニーから
DNAを抽出



2) ヨーネ菌DNAの増幅



3) ヨーネ菌の確認



ヨーネ菌培地



細菌
コロニー



コロニーを採取



試薬を加え
加熱



抽出
DNA

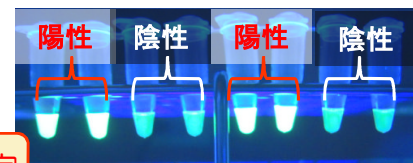
●開発した手法 (LAMP蛍光判定法)

約30分 → 65分

試薬調整

増幅反応等

判定



紫外線を当てて
蛍光を目視で判定

60分以上
時間短縮

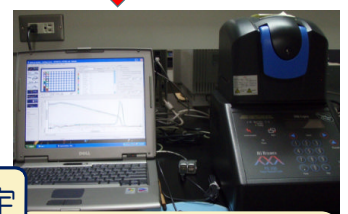
●従来の手法 (リアルタイムPCR)

約30分 → 130～150分

試薬調整

増幅反応 (PCRサイクル) 等

判定



高額な機器により
増幅と判定