

安全な農畜水産物安定供給のための包括的レギュラトリーサイエンス研究推進委託事業 短期課題解決型研究
「野生イノシシにおけるアフリカ豚熱防疫措置の具体化に関する緊急実証研究」

資料 6 - 2

2. ASF・CSFの採材手法および高感度検査方法の実証

実行課題2-1

ASF・CSFの採材手法の確立およびウイルスの残存性の検証

農研機構・動物衛生研究部門	生澤充隆、西達也
農研機構・畜産研究部門	平田滋樹、長沼知子

実行課題2-2

ASF・CSFの高感度検査方法の開発実証および普及手法の検討

タカラバイオ(株)	松本裕之、名倉有一
農研機構・動物衛生研究部門	生澤充隆、西達也

耳介片および臓器片からの新規法による簡易核酸抽出

新規法の概要

作業手順

1. 耳介、臓器の小片（5mm角、0.05 g程度）を採取する
2. **新たに開発した試薬** 200 μ Lを加え、90 $^{\circ}$ Cで10分間加熱する
3. 高速遠心（15,000 x g、2分間）で上清を清澄にする
4. 清澄な上清2 μ LをダイレクトリアルタイムRT-qPCRに供試

処理後のイノシシの耳介片 ➡



新規法の特長

1. タカラバイオ社製ダイレクトリアルタイムRT-qPCR法に最適化済み
（豚熱・アフリカ豚熱検出用および豚熱遺伝子型1検出用）
2. **耳介や臓器試料の乳剤調製が不要**
3. 死後4週間経過した**腐敗した感染死体からのASFV/CSFV遺伝子の検出に
対応**（死後0日時点と比較した場合の診断結果は100%一致）

【まとめ】

耳介片および臓器片中からのウイルス遺伝子の検出に適した簡易核酸抽出法（新規法）の開発

- 新規法（新規簡易核酸抽出法）を利用することで、防疫指針別紙「診断マニュアル」に記載された臓器（扁桃、脾臓、腎臓および耳片（野生いのししのみ））から、**乳剤化や核酸精製工程を要することなく**ウイルス遺伝子の検出が可能である。
- 核酸の抽出効率従来法と同等で、実験的に作製した**腐敗した死体に由来する検体やCSFV陽性野生いのししに由来する検体**（兵庫県、栃木県、香川県家畜保健衛生所協力）に対して適用可能であった。
- 多検体の検査を効率的かつ精度高く行う上で、この新規の抽出法は極めて有効であると結論付けられる。とりわけ、野外で発見された**死体の検査が必要とされる野生いのししのサーベイランスに大きく貢献する**と期待される。
〔事務連絡 令和6年10月28日 農林水産省消費・安全局動物衛生課 課長補佐〕
- この抽出法/PCR検査法に最適化した試薬を**本年10月に発売**を開始。
佐賀県でのサーベイランスの効率化を促進。