

アブによる吸血被害を可視化するための血清診断法の開発

菅 沼 啓 輔 [帯広畜産大学 グローバルアグロメディシン研究センター/准教授]

背景・目的

アブの吸血に起因し家畜生産性が大きく低下するが、吸血被害の把握や防除方法の選択は畜主の経験則によるものであり、定量的な被害推計や各種防除法の有効性比較は行われていない。

そこで本研究ではアブによる吸血被害を定量的に可視化するため、吸血に起因し産生される抗アブ唾液抗体を検出する血清診断法の開発を目指す。

研究の成果

(1) アブ唾液粗抽出抗原ELISAを用いた牛群におけるアブ被吸血歴の評価(図1)

アブの出現前(4,5月)、最盛期(7月)、出現後(10月)に搾乳牛30頭から採材した血清を用いて粗抗原ELISAによりアブ吸血歴の評価を行った。その結果、7月に採材した検体で他の採材時期に比べて有意に抗体応答が亢進し、アブの採集数(出現数)の推移と一致することが明らかとなった。

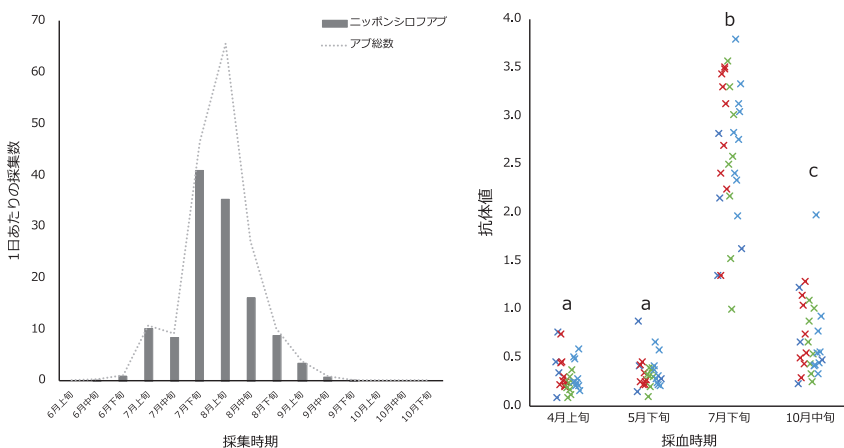


図1:アブの採集数および抗体値の変動

左図:アブの採集数の季節変動

右図:粗抗原ELISAによる抗体値の採材時期ごとの比較。各年齢ごとに異なる色でプロット(水色:1-2, 赤: 3-4, 緑: 5-6, 青: 7-9歳齢)。異なるアルファベット間で有意差あり。

(2) アブ唾液粗抽出物からの標的タンパク質の濃縮と免疫(図2)

アブ唾液素抽出物をSDS-PAGEで分離し、ウェスタンブロット法で特定された高い抗原性を有する二種類の標的タンパク質を有するゲル片を切り出した。切り出したゲル片から標的タンパク質を有利させ、限外濾過により標的タンパク質を抽出した。同様の工程を繰り返し、標的タンパク質の濃縮をおこなった。今後、濃縮されたタンパク質を抗原として、マウスに免疫、イムノスクリーニングを行うための抗血清を作製する。

将来展望

本研究により、アブ唾液粗抽出物に含まれるアブ唾液タンパク質を用いて、牛群におけるアブ被吸血歴を定量的に評価することが可能であることが示された。今後、遺伝子組換えアブ唾液タンパク質を用いて、より大規模に、安定した品質のアブ被吸血歴評価系を構築するために、当該タンパク質の遺伝子配列の同定と単離、遺伝子組換えタンパク質としての発現が望まれる。そのために、イムノスクリーニング法に加え、RNA-seqなどによるアブ唾液腺発現遺伝子の網羅的探索および標的タンパク質遺伝子配列の同定を行う必要がある。

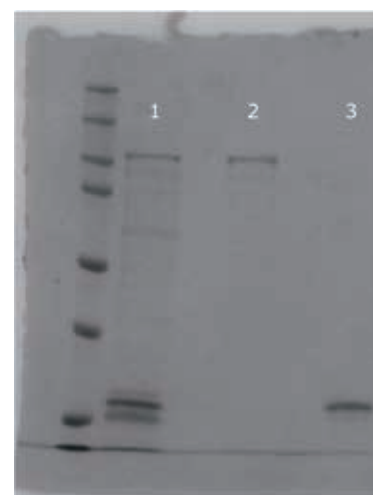


図2:単離された標的タンパク質のSDS-PAGE画像

1. 粗抗原
2. 単離した標的タンパク質1
3. 単離した標的タンパク質2