

## マダニからの DNA 抽出方法の検討

○大澤修一<sup>1)</sup>、喜安嘉彦<sup>2)</sup>、堤徳正<sup>2)</sup>、寺田教彦<sup>3)</sup>、阿部櫻子<sup>1)</sup>、森田俊二<sup>1)</sup>  
1)茨城県衛生研究所 2)筑波大学附属病院 3)筑波メディカルセンター病院

### I. はじめに

近年、日本紅斑熱の発生件数が全国的に増加傾向にあり、発生地域も拡大している。発生地域の一部では、遺伝子検査によりマダニのリケッチア保有状況を明らかにし、リケッチア感染症対策に活用している。リケッチア保有状況は様々な都道府県において報告されているが、調査を行う上で重要となるマダニから DNA を抽出する方法を比較した報告は少ない。そこで本試験では、6つの DNA 抽出法を比較し、各抽出法について特徴を明らかにした。

### II. 材料および方法

#### 1 供試マダニ

茨城県県南地域で採取されたキチマダニの若虫 150 検体を用いた。

#### 2 マダニからの DNA 抽出法の比較

以下の 6 つの DNA 抽出法を試験し、DNA 濃度、純度、試験時間、コスト、マダニのミトコンドリア 16S rDNA 配列を標的とした PCR 成功率、シーケンス解析成功率およびリケッチア遺伝子検出リアルタイム PCR における阻害作用を比較した。

- (1)アルカリ抽出法 (2)Gencheck 法 (3)Instagene 法  
(4)カネカキット法 (5)Nucleospin 法 (6)DNA mini kit 法

### III. 成績

6 つの抽出法の中で Nucleospin 法、DNA mini kit 法は DNA 濃度、純度が最も高かった。試験時間はカネカキット法が最も短く、コストはアルカリ抽出法が最も低かった。いずれの抽出法においても PCR とシーケンス解析の成功率は 100%であり、リアルタイム PCR における阻害作用もみられなかった。

### IV. 考察

各抽出法において、DNA の濃度、純度、試験時間およびコストにおいてメリット、デメリットがあることがわかった。マダニの調査は、検体数が数検体から数百検体に及ぶことがあり、試験に要する費用や時間などを考慮し、目的に合った抽出法を選択する必要がある。リケッチア感染症発生時に推定感染地が明確な場合など採取場所を限定し、調査するマダニが少数の場合、高い DNA 濃度、純度が得られる Nucleospin 法、DNA mini kit 法が適していると考えられる。しかし、両抽出法は試験時間、コスト面から多検体処理には不向きである。よって、採取場所を広範囲に設定したスクリーニング検査など、多数のマダニを調査する場合には、DNA 収量と試験時間から、カネカキット法が適していると考えられる。