

LAMP 法によるヒアリ早期発見技術の開発

環境

SATテクノロジー・ショーケース2019

■ はじめに

平成29年6月に特定外来生物ヒアリが尼崎市内で輸入コンテナとともに侵入していることが明らかとなって以降、東京・横浜・名古屋・大阪・博多などの国際港湾を中心に、ヒアリの上陸が次々と報告されており、今後、定着・分布拡大した場合、甚大な経済被害が生じるおそれがあります。ヒアリの分布拡大を防ぐためには、いち早くヒアリの存在を検出して防除する必要があります。特に、ヒアリが巣を作っている場合には、巣の大きさが大きくなる前に、的確な薬剤防除を施すことが重要です。しかし、ヒアリは体長が2.5ミリ～6ミリ程度しかない小さなアリで、目視だけで日本のアリと区別することは難しく、現状ではアルコール標本などを専門家に送付して、形態の顕微鏡観察に基づき同定する以外に、ヒアリの存在を確認する方法がありませんでした。この方法では、ヒアリの送付から同定までに数日を要するため、今後より広範に監視（モニタリング）を行う上で、より早期に、かつ簡易にヒアリを確認する手法が必要とされます。

そこで、国立環境研究所では、より迅速にヒアリを発見するために、LAMP法（Loop-mediated isothermal AMplification）というDNA技術を活用したヒアリ検出技術を開発しました。LAMP法とは、特定の種のDNA断片を特異的に増幅して検出する技術で、鳥インフルエンザの検出などにも活用されている技術です。我々研究チームは以下の工程で、ヒアリDNA検出手法を開発しました。

■ 活動内容

● LAMP反応条件の検討

DNAデータベース上に登録されているヒアリのミトコンドリアDNAの部分塩基配列情報に基づき、ヒアリに特異的に反応する検出用プライマー（DNA複製時の起点となる短いDNA断片）の設計を行いました。このプライマーとDNA合成試薬を用いて、ヒアリ1個体の全身および後脚1本のみをそれぞれすり潰して得られたDNA溶液を基にDNA合成反応を行った結果、どちらもミトコンドリアDNA断片の増幅に成功し、DNAの合成量に比例して生じる副産物のピロリン酸マグネシウムによって反応溶液が白濁化することが確認されました。

● ヒアリの検出

次に、野外モニタリング時のトラップによって多数のアリ類とともに混獲されたサンプルから同定する場合を想定し

て、ヒアリ1個体と在来アリ9個体を混合したサンプルから、一度にまとめてDNAを抽出し、この抽出液とヒアリ検出用プライマーを利用した同定を試みました（図1）。その結果、ヒアリの混じったサンプルでは反応溶液の白濁化が確認され、一方ヒアリが混入していないサンプルでは反応溶液の白濁は認められませんでした（図2）。このことから、野外で採集したサンプルの中にヒアリが1匹でも混入していれば、検出が可能であることが判明し、本手法の高い汎用性が示唆されました。

以上のことから、このLAMP法に基づくヒアリDNA検出技術を使用すれば、野外において捕獲されたアリが、ヒアリであるか否かを、数時間のうちに確認することが可能となると考えられます。

国立環境研究所ではLAMP法に必要な器材や試薬をセットにした「ヒアリDNA検出キット」を作成し、7月より全国10地点の試験研究機関に配布して、実働試験を行い、再現性の確認を行いました。昨年末、本試験に基づき、問題点を分析して改良したキットを希望する自治体および研究機関に配布しました。今後もさらに広く自治体や研究機関に実装していく計画です。

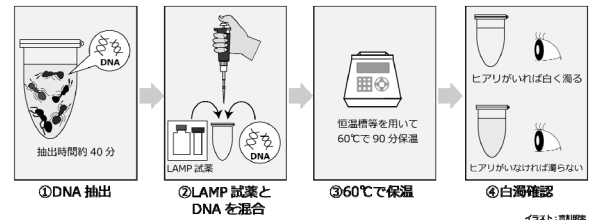


図1 LAMP法によるヒアリ簡易検出法の概略図

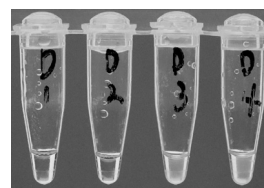


図2 LAMP法を用いたヒアリ検出試験結果

1. 蒸留水
2. 在来アリのDNA抽出液
3. ヒアリのDNA抽出液
4. ヒアリ1個体と在来アリ9個体のDNA抽出液

■ 関連情報（検出キットの試験配布プレス記事掲載誌）

朝日新聞/毎日新聞/日刊工業新聞/日本農業新聞/産経新聞（大阪版）/茨城新聞/読売新聞/山梨日日新聞/岩手日報/静岡新聞/京都新聞/神戸新聞/河北新報/秋田魁新報/岐阜新聞/日経産業新聞/東京新聞/中国新聞/化学工業日報

代表発表者 五箇 公一（ごか こういち）
所 属 国立研究開発法人 国立環境研究所
生物・生態系環境研究センター
問合せ先 〒305-8606 茨城県つくば市小野川16-2
TEL: 029-850-2480
goka@nies.go.jp

■ キーワード: (1) ヒアリ
(2) LAMP 法
(3) 簡易検査キット

■ 共同研究者: 中嶋 信美、坂本 佳子（国立環境研究所 生物・生態系環境研究センター）