

豚丹毒原因菌の全遺伝情報解析の基礎研究

Erysipelothrix 属菌の PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) による解析

*Basic genome analysis of Swine erysipelas:
Analysis of the genus Erysipelothrix
by PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)*

木内明男, 鈴木嘉彦, 志村純子

麻布大学大学院獣医学研究科

Akio Kiuchi, Yoshihiko Suzuki, Junko Shimura

Graduate School of Veterinary Science, Azabu University

Abstract: Basic genome analysis of Swine erysipelas: Analysis of the genus *Erysipelothrix* by PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)

Genus *Erysipelothrix* has been divided into two species, *Erysipelothrix rhusiopathiae* and *Erysipelothrix tonsillarum*. There are another unclassified strains. We made specific primer pairs for the detection of Genus *Erysipelothrix* based on the 16S rRNA (DNA) DATABASE. It got a specific 417 base pairs PCR products only for the genus *Erysipelothrix*. Other bacterial strains concerning swine infectious diseases didn't react later on. Based on the analysis of 16SrDNA sequences (1500bp), 3 nucleotides mutated *Erysipelothrix rhusiopathiae* and *Erysipelothrix tonsillarum* reference strains each other. On the other hand, a homology with "the serotype 13" and the *E. rhusiopathiae* type strain in the unclassified bacterial strain was 99.9%.

The results of RFLP have been corresponded to the reported DNA-DNA homology. And, an unclassified bacterial strain "serotype 13 and 18" was classified in the category of *E. rhusiopathiae*.

Using these PCR-RELP method, it is detectable the *Erysipelothrix* strain rapidly, and it is the useful procedure which the identification of the species can utilize again, too.

要約

Erysipelothrix 属は、豚丹毒菌 *E. rhusiopathiae* と豚扁桃菌 *E. tonsillarum* に分類され、未命名菌種の存在も知られている。PCR プライマーは、*Erysipelothrix* 属を特異的に増幅する塩基配列を 16SrDNA DATABASE より設計した *E. rhusiopathiae* 15 血清型と N 型、*E. tonsillarum* 7 血清型および未命名菌

種 2 菌種を用いた。PCR 反応は、94C5 分間に続いて 94C30 秒間、60C30 秒間、72C30 秒間を 25 サイクル後、72C7 分間を追加した。PCR 産物を *E. rhusiopathiae* と *E. tonsillarum* の基準株および参照株の 16S rRNA 塩基配列の解析結果に基づいて制限酵素 *Dde* I あるいは *Eco* 81I で処理し、切断パターンを解析した。

1. 選定したプライマーにより、417 塩基対が特異

- 的に増幅し、対照としたグラム陽性菌 8 菌属 9 菌種およびグラム陰性 8 菌属 8 菌種とは反応しなかった。
2. 16SrRNA 遺伝子の約 1,500 塩基の解析から、*E. rhusiopathiae* と *E. tonsillarum* の基準株は、3 塩基の置換が確認された。一方、未命名菌種のうち「血清型 13」と *E. rhusiopathiae* 基準株とのホモロジーは、99.9%であった。
 3. RFLP の成績は、報告されている DNA-DNA 相同性の成績と一致した。また、未命名菌種「血清型 13 および 18」は、*E. rhusiopathiae* のカテゴリーに分類された。
- 以上の結果により、PCR-RELP 法は、*Erysipelothrix* 属菌株を迅速・簡易な手技で検出可能で、種の同定にも利用できる有用な方法である。