

二国間交流事業 共同研究報告書

令和6年4月8日

独立行政法人日本学術振興会理事長 殿

[日本側代表者所属機関・部局]
北海道大学・人獣共通感染症国際共同研究所
[職・氏名]
教授・鈴木 定彦
[課題番号]
JPJSBP 120218601

1. 事業名 相手国: フィリピン (振興会対応機関: DOST) との共同研究

2. 研究課題名

(和文) ナノセンサーを応用した農場で使用可能なヨーネ病及びマイコプラズマ症診断法の開発

(英文) Development of a pen-side nanosensor diagnostic tools for *Mycobacterium avium* subsp.
paratuberculosis and *Mycoplasma bovis*

3. 共同研究実施期間 2021年4月1日 ~ 2024年3月31日 (3年0ヶ月)【延長前】 2021年4月1日 ~ 2023年3月31日 (2年0ヶ月)

4. 相手国側代表者(所属機関名・職名・氏名【全て英文】)

Philippine Carabao Center ・ Scientist III ・ Mingala N Claro

5. 委託費総額(返還額を除く)

本事業により執行した委託費総額		4,452,065 円
内訳	1年度目執行経費	2,077,065 円
	2年度目執行経費	2,375,000 円
	3年度目執行経費	- 円

6. 共同研究実施期間を通じた参加者数(代表者を含む)

日本側参加者等	2名
相手国側参加者等	5名

* 参加者リスト(様式 B1(1))に表示される合計数を転記してください(途中で不参加となった方も含め、全ての期間で参加した通算の参加者数となります)。

7. 派遣・受入実績

	派遣		受入
	相手国	第三国	
1年度目	0	0	(0)
2年度目	2	0	1 (0)
3年度目	1	0	0 (0)

* 派遣・受入実績(様式 B1(3))に表示される合計数を転記してください。

派遣: 委託費を使用した日本側参加者等の相手国及び相手国以外への渡航実績(延べ人数)。

受入:相手国側参加者等の来日実績(延べ人数)。カッコ内は委託費で滞在費等を負担した内数。

8. 研究交流の概要・成果等

(1)研究交流概要(全期間を通じた研究交流の目的・実施状況)

A) 検体収集と検体バンク、検体DNAバンクの構築

計画に従って、フィリピン側研究グループが中心となって、糞便サンプル、鼻腔スワブおよび牛乳サンプルをフィリピン国内に13 あるフィリピン水牛センター支所管理下の農場においてヨーネ病ないしは牛マイコプラズマ症疑い臨床症状のある動物から収集した。得られた検体は、バイオバンクとして直接凍結保存した。収集にあたっては、日本側研究グループのメンバー2名が2回渡航して、共同で作業にあたる予定であったが、新型コロナウイルス感染症パンデミックの影響で渡航が叶わなかったため、Zoom会議室システムを活用してフィリピン水牛センターのカウンターパートとの会議を開催して検体収集指導を行った。

B) 培養による菌株分離と菌株バンク、菌株DNA バンクの構築

Zoom会議室システムを活用しての日本側からフィリピン側への培養技術指導の下、フィリピン側研究グループが実施した。*Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (ヨーネ菌) の培養は、糞便検体を処理後、マイコバクチン添加ハロルド培地上に塗布して実施した。その結果、50菌株の分離に成功し、菌株バンクに収蔵した。*Mycoplasma bovis* の培養は、鼻腔スワブおよび牛乳サンプルを対象として実施した結果、1株の分離に成功し、菌株バンクに収蔵した。

C) ラテラルフロー試験ストリップの作出

日本-フィリピン間の議論をZoom会議室システム活用により実施し、ヨーネ菌検出のための標的DNA配列としては、当該菌種特異的な挿入配列であるIS900を選定した。一方、*Mycoplasma bovis* 検出のための標的DNA配列としては、当該菌種特異的な配列であるDeoxyribodipyrimidine photolyase遺伝子(*phrB*)を選定した。Zoom会議室システムを活用して議論をしつつ、2022年12月にはフィリピン人研究者を本邦に招聘して当初計画に則って試験を実施したが、予想された結果が得られなかったため、本邦において、温遺伝子増幅法であるLoop Mediated Isothermal Amplification (LAMP)法とラテラルフローを基盤とするIS900を標的としたヨーネ菌検出用ラテラルフロー試験ストリップの試製を完了した。フィリピンにおいてヨーネ病遺伝子診断法の現場実装を目的として、標準菌株から抽出したDNAを用いて本試験法の最適化をフィリピンカウンターパートと共同実施した。その結果、10個のヨーネ菌まで検出できる高感度なものにできた。一方、ヨーネ菌に係る研究に注力したため、*Mycoplasma bovis* 検出のためのラテラルフロー試験ストリップは完成に至っていないが、今後の共同研究により完成に至るものと考えている。

(2)学術的価値(本研究交流により得られた新たな知見や概念の展開等、学術的成果)

等温遺伝子増幅法であるLAMP法とラテラルフローを基盤とする現場実装可能なヨーネ病遺伝子診断法が完成したことは、同様な方法での現場実装可能な他の感染症の診断法を樹立することが可能であることを示している。

(3)相手国との交流(両国の研究者が協力して学術交流することによって得られた成果)

対象とする感染症に関する情報が十分でなかった相手国側でのフィールド調査により、発生が確認された。一方、フィリピン側の研究者とオンライン会議を通じた意見交換により、本法においてフィリピン側の研究者がフィールドで使用方法が確立した。

(4)社会的貢献(社会の基盤となる文化の継承と発展、社会生活の質の改善、現代的諸問題の克服と解決に資する等の社会的貢献はどのようにあったか)

牛および水牛におけるヨーネ病、ならびに *Mycoplasma bovis* 感染症はフィリピンのみならず地球規模で問題となっており、大きな経済損失をもたらしている。本研究において、ヨーネ病の簡便、迅速かつ安価な診断法が開発されたことは、今後同法が現場実装された際には、ヨーネ病罹患動物の早期摘発淘汰による感染拡大防止につながるものである。

(5)若手研究者養成への貢献(若手研究者養成への取組、成果)

フィリピン側研究グループに参画している若手研究者 2 名 (VILLANUEVA A. Marvin、並びに Lawrence P. Belotindos) は、日本側の代表研究者である鈴木の下で博士の学位を取得したものであり、本事業を通じて継続的な研究指導につながった。また、両名は、フィリピンカラバオセンターにおいて既に指導的地位についており、両名の部下にあたる世代の若手研究者養成にもつながる。

(6)将来発展可能性(本事業を実施したことにより、今後どのような発展の可能性が認められるか)

LAMP 法とラテラルフローを基盤とする現場実装可能な遺伝子診断法は、他の感染症にも応用が可能である。

(7)その他(上記(2)～(6)以外に得られた成果があれば記載してください)

例:大学間協定の締結、他事業への展開、受賞など
なし。