

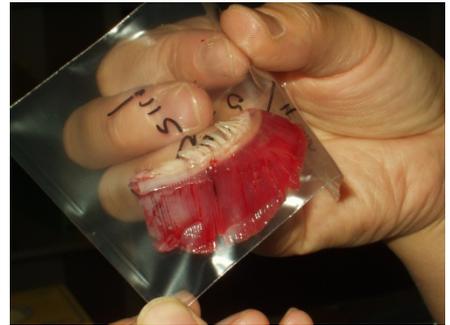
5 コイヘルペスウイルス病の検査（一次検査）

1 測定と鰓の観察



コイの体長、体重などの基礎的なデータのほか、外傷や、鰓に症状があるかどうかなど観察し、記録します。

2 鰓採取



検査には、感染していればウイルスがたくさんいると考えられる鰓を用います。

3 DNA を取り出す（DNA 抽出）

コイの鰓（米粒半分程度）から薬品や遠心分離機などを使って DNA を取り出します。取り出した DNA にはコイの DNA のほか、感染していれば KHV の DNA が含まれています。DNA 抽出には、いろいろな方法がありますが、市販のキットなどを使うことにより、早く安全に DNA をとり出すことができるようになりました。



4 ウイルスの DNA の一部を増やす（PCR 法）



PCR 法は、特定の部分の DNA を爆発的に増やすことができる技術です。PCR には「サーマルサイクラー（遺伝子増幅装置）」という機械が使われ、この機械がないと PCR はできません。KHV 診断の PCR では、鰓から取り出した DNA の中にウイルスの DNA があった場合、その一部をもとの 10 億倍（理論上）にも増やします。DNA の量を増やすことによって、電気泳動や染色などの操作によって、ウイルスの存在を目で確認することができるようになります。

5 目に見える形にする（電気泳動と染色・観察）

PCR の終わった DNA を、薬品を含んだ板状の寒天（アガロース）の中に入れ、電気を流す（電気泳動）と DNA は寒天の中で長さ別にわかれます。その後、LED の下で観察すると、PCR で増えたウイルスの DNA が集まっている部分が光って見えます（バンド）。PCR に問題がないことや、まぎらわしい光（コイの DNA やタンパク質によって起きる）と区別するために、検査では陽性対照（ポジコン）と一緒に PCR し、ポジコンと同じ位置でバンドがみえた場合は陽性。同じ位置にバンドがない場合を陰性とします。

