RT-LAMP法を用いた Plum pox virus の検出について

本年4月、東京都青梅市のウメにこれまで我 が国で報告のないPlum pox virus (PPV) の発 生が確認された。PPVは、ヨーロッパやアフリ カ、南北アメリカの一部等で発生しており、モ 干、スモモ等Prunus属の核果類に感染し、発生 国では、果実の商品価値を失わせるとともに、 大きな減収をもたらす農業生産上重要なウイル スである。これまで、青梅市及び全国での発生 調査は、植物体の目視による病徴の有無の調査 及び採取した試料の精密検定により実施してい る。精密検定は、ELISA法及びRT-PCR法により 実施しているが、植物防疫所は、より簡便、高 感度のRT-LAMP法(本誌82号参照)によるPPV の検出方法を開発した。プライマーは米国国立 生物工学情報センター(NCBI)が公開してい るPPV-D系統の全塩基配列のうち外被タンパク 質をコードしている部分をターゲットとして、 LAMP法プライマー設計支援ソフトウェアを用 いて設計した。詳細は表のとおりである。設計したプライマーセット及びRT-LAMPキット(栄研化学)を用い、63℃でRT-LAMP反応を行い、リアルタイム濁度計で濁度を測定したところ、PPV陽性試料においては17~30分後から特徴的な濁度上昇が見られたことから、本プライマーによりPPVを特異的に検出できることを確認した。また、青梅市で発生したPPVについても検出可能である。LAMP法では、植物体から抽出した核酸を試料とする他、つまようじ等で植物の葉を刺す簡便な方法でも検定可能なことが知られている。PPVについても昆虫針(5号)で葉や樹皮を刺し、これを反応液に浸漬することで検出が可能であった。

このように、簡便、迅速で、高感度な検定法であるRT-LAMP法は、今後、PPVの発生調査等における検定への適用が期待される。

表 プライマーの塩基配列

PPV3-F3: 5'-GGAATTCAGCGCAACCTGA-3', PPV3-B3: 5'-GCGGTGTGTCTCTCTGTG-3'

PPV3-FIP: 5'-GAGCTTCACGTGCCCGTACGCAGACTACAGCCTCGCCAGA-3' PPV3-BIP: 5'-TCCAGATGAAGGCAGCAGCATCCTCTTCTTGTGTTCCGACG-3'

世界のニュース 米国がウイルス2種の宿主植物を輸入禁止品に

米国農務省は、本年5月5日、Tomato torrado virus (ToTV)及びTomato severe leaf curl virus (ToSLCV)に関して、カナダを除く全ての国からの宿主植物の輸入を禁止する連邦規則を制定し(6月1日発効)、5月29日、WTO・SPS委員会に通報を行った。輸入禁止の対象となるのは、トマト属、トウガラシ属及びナス属を含む7科12属の栽植用植物で、種子は含まれていない。同省は、両ウイルスが米国内で発生しておらず、輸入港での検査で検出することが非常に困難であること、米国内の農業に対して重大な脅威となることから、この措置が必要であるとしている。

ToTVは、スペイン、ハンガリー、ポーランド、パナマ及びオーストラリアで発生し、本ウイルスに感染したトマトは、葉や果実が激しいえそ症状を呈し、株全体の生育が抑えられ、経済的に著しい被害を引き起こす。

一方、ToSLCVは、ホンジュラス、グアテマラ、ニカラグア及びメキシコで発生し、本ウイルスに感染したトマトは、株の萎縮、葉巻き、縮葉等の症状を現す。

両ウイルスは、我が国での発生は確認されていないが、各地で問題となっているトマト黄化葉巻ウイルス(Tomato yellow leaf curl virus)と同様、タバココナジラミ(Bemicia tabaci)によって永続的に伝搬されるため、一旦国内に侵入した場合、防除は非常に困難となる。

(参考) http://www.aphis.usda.gov/import_export/plants/ plant_imports/federal_order/

発 行 所 横浜植物防疫所

発行人川口嘉久編集責任者金田昌士

掲載 植物防疫所ホームページ http://www.maff.go.jp/pps/