

研究成果の紹介

1 これがレタスピッグベイン病の病原ウイルス

ねらいと成果

洲本市および三原郡では、レタスがタマネギと並ぶ基幹品目となっている。1994年12月、このレタスに土壌伝染性ウイルス（レタスピッグベインウイルス：LBVV）によるビッグベイン病の発生が確認された。現在、本病の蔓延、拡大を防ぐために、淡路農技、南淡路普及センター、中央農技が協力して防除対策の確立に取り組んでいる。一方、淡路島内から採集したビッグベイン症状を示すレタスからはLBVVの粒子が確認できていなかった。そこで、LBVVの精製法についての検討と電子顕微鏡による検出を試みたところ、棒状のウイルス粒子を観察することができた。また、電気泳動の結果とあわせて、この棒状粒子は既報のLBVVであることが確認できた。

内容

材料はビッグベイン症状を現したレタス（南淡町阿万塩屋の現地試験圃場より採集）を用いた。精製は四国農業試験場の方法に準じて、材料の磨砕、再懸濁に0.1Mリン酸カリウム緩衝液（pH 7.0）を用いた。また、ウイルス粒子の分画については硫酸セシウム平衡密度勾配遠心（ Cs_2SO_4 -EDGC）を2回行った。電子顕微鏡観察は精製したウイルスを5%

グルタルアルデヒドで固定し、2%酢酸ウラニル溶液で染色して行った。15%低BIS濃度SDS-PAGE（Hirano, 1989）により電気泳動を行った。

1回目の Cs_2SO_4 -EDGC後の遠心チューブでは図1-Aのように3本のバンドが確認された。これらのバンドにウイルスが含まれていると考えて、それぞれを回収し、2回目の Cs_2SO_4 -EDGCを行った。回収した試料のうち、図1-Aの2のバンドからの試料を電子顕微鏡観察したところ、図2のような約 $320 \times 18\text{nm}$ の棒状のウイルス粒子が確認された。そして、SDS-PAGEによって、 Cs_2SO_4 -EDGCを2回行った同じ試料から分子量約46,000の位置にタンパク質のバンド（図1-BのL）が検出された。また、図1-Aの1のバンドからはSDS-PAGEにより糸状ウイルス粒子（夏秋ら、2000）の外被タンパク質（CP）と考えられるバンド（図1-BのT）および低分子の位置にレタス由来と考えられるひも状タンパク質（図1-BのF）が検出された。LBVVは粒子が $320 \sim 360 \times 18\text{nm}$ の棒状、CPは分子量約46,000と報告されており、これと一致することから図2の粒子はLBVVであると考えられた。そして、 Cs_2SO_4 -EDGCを2回することでLBVVは糸状ウイルス粒子と分離・精製することができた。

今後の方針

簡単な精製による試料からの電子顕微鏡観察によるウイルス検出法の検討を行う。また、精製したウイルスを用いて、より簡便なウイルス検定技術を確立する。

松本 純一（中央農技・生物工学研究所）

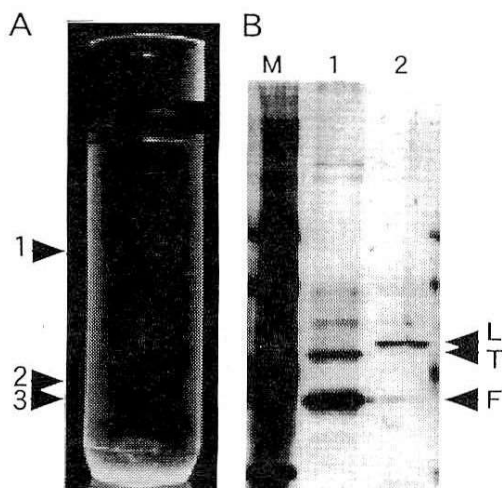


図1 平衡密度勾配遠心の分画によるLBVVの分離・精製（A）と精製試料のSDS-PAGE（B）
1：2のバンドをもう一度平衡密度勾配遠心した試料、
2：1のバンドからの試料
L：LBVV、T：糸状粒子、F：ひも状タンパク

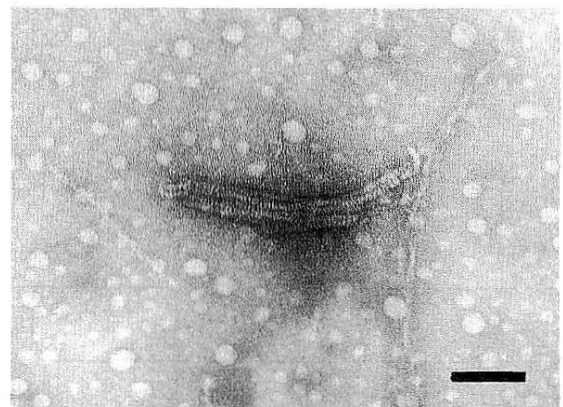


図2 精製試料から検出されたLBVVのウイルス粒子
スケールバーは100nm