

研究成果の紹介

1 逆転写-遺伝子増幅法 (RT-PCR) を使ったジネンジョのウイルス検出

ねらいと成果

ヤマイモ類のなかでジネンジョは日本に自生する固有の種で、粘りが強く、芋が非常に細長く掘取りにくいこともあり、古来珍重されてきた。パイプ栽培等栽培法の改善により、地域特産物として定着しつつある。

しかし、他のヤマイモ類同様にジネンジョもウイルス病に冒されることによって収量が低下することが知られている。その対策として、これまでウイルスフリー化したむかごを配布するなどしてきた。ウイルス感染の有無は葉に現れるモザイク症状によって判断してきたが、今後ウイルスフリー株の再感染の検定等にはそれより精度の高い検定法が必要になると考えられる。そこで今回、ウイルスの遺伝子を検出する RT-PCR 法によりヤマノイモモザイクウイルス (JYMV) の検出に成功した。

内容

実験に用いたジネンジョは、愛知県から導入した系統と業者から購入した系統で、それぞれ、ウイルス汚染株と茎頂培養によって育成したモザイク症状を呈さない株を供試した。

まず、緑葉50mgから藤と中前 (1999) の方法により RNA を抽出した。逆転写と PCR 反応は、EZrTth RNA PCR Kit (アプライドバイオシステムズ社) によって行った。

JYMV 検出のためのプライマーとしては、当初、藤と中前 (1999) のものを用いたが、罹病個体からの検出ができなかった。ウイルスの系統による遺伝子の変異の可能性があると考え、改めて DNA データベースを検索し、種々の系統で共通の配列から新たにプライマーを設計した。その結果、プライマー SE1 と RE2 を用いることにより JYMV を検出することができた (図1)。

次に、海外のヤマイモ類では以前から知られていたが近年日本でも発生していることが明らかになった yam mild mosaic virus (YMMV) の検出を試みた。プライマーとして、藤 (未発表) の SP1 と R2 を用いた。その結果、比較的明瞭に検出できたものもあるが、やや不明瞭な反応のものもあった (図2)。レーン2と3は同じ個体の異なる葉であるが、反応に差があった。このウイルスに関してもプライマーを設計し直す必要がある。YMMV は茎頂培養株でも一部疑わしいバンドを現し、電子顕微鏡により、ひも状ウイルスが発見されたものもある。

今後の方針

今回は緑葉からの検出を行ったが、今後は、保存中の種芋やむかごからの検出を検討する。また、茎頂培養株からも検出された YMMV は、収量等への影響もまだ不明であり、今後の対応を検討する。

山元 義久 (部長 (生工))

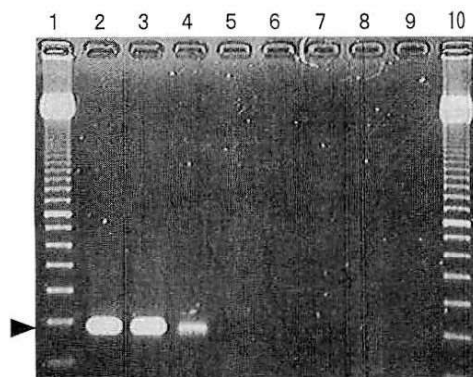


図1. RT-PCR による JYMV の検出

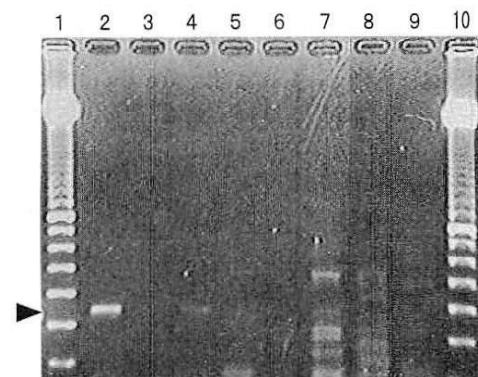


図2. RT-PCR による YMMV の検出

注) レーン1, 10: 分子量マーカー (100塩基ラダー)、2, 3: 愛知系汚染株、4: 購入系統汚染株、5-7: 愛知系茎頂培養株、8, 9: 購入系統茎頂培養株