

イチゴウイルスの分子性状解析と分子診断法の検討

生物資源科学専攻 植物育種科学講座 植物病原学 高橋怜子

1. 緒言

日本を含む先進国ではウイルスフリー苗の利用が一般的になったことからウイルス病の被害は激減しているが、ここ 10 年ほどの間に北米のイチゴ生産地でのウイルス病の流行や新たなイチゴウイルスの発見の報告もあり、引き続きウイルス病に対する警戒が必要とされていることから、安定的で高感度な検出法の確立が求められる。ウイルスの分子性状解析から塩基配列の保存領域、可変領域や多様性を把握することは、信頼性の高い分子診断法の確立に役立つ。

2. 方法

日本で発生するイチゴ主要病害ウイルスのうち 2 種のウイルス（イチゴベインバンディングウイルス, SVBV とイチゴマイルドイエローエッジウイルス, SMYEV）ゲノムの一部の領域を PCR で増幅し塩基配列を解析した。DNA データバンクに登録されている外国株の配列情報や当研究室での過去の研究結果と比較し、系統解析を行った。また、2014 年に新たに報告されたイチゴ感染ポレロウイルス（Strawberry polerovirus 1; SPV1）の RT-PCR での検出を試みた。SVBV, SMYEV にイチゴ斑紋ウイルス（SMoV）を加えたイチゴ主要病害ウイルス 3 種について RT-PCR-マイクロプレートハイブリダイゼーション（MPH）法による分子診断系の検討を行った。

3. 結果と考察

① SVBV の外被タンパク質コード領域を解析した結果、日本産 3 分離株間での同一性は 98.8% 以上と非常に高かった。外国分離株を加えた計 24 分離株の部分配列情報を基に系統解析した結果、SVBV は大きく 2 つのクラスターを形成し、クラスターの分岐には地理的要因が関係していると考えられた。

② SMYEV の外被タンパク質コード領域の系統解析では、SMYEV は 4 つのクラスターに分岐する事が分かった。各クラスターには各国由来の分離株が混在しており、クラスターの分岐に地理的要因は見受けられなかった。

③ マイルドイエローエッジ病罹病個体から SMYEV のアブラムシ伝搬に関わるヘルパーウイルスである可能性が示唆された SPV1 の検出を試みた結果、イギリス産罹病個体からは一貫して検出されたのに対し、日本産罹病個体からは検出されなかった。報告された SPV1 検出プライマーの他、新たにポレロウイルス共通プライマーを設計し検定したが、日本産罹病個体からはポレロウイルスは検出されなかった。この事から少なくとも SPV1 は日本産 SMYEV のヘルパーウイルスではないと考えられる。

④ イチゴ主要病害ウイルス 3 種の RT-PCR-MPH 法による検出系では、健全イチゴ個体由来のコントロールを含む陰性コントロール区で非特異的な吸光値の上昇が見られたため、最適条件を検討した結果、洗浄条件を厳しくする方法が最も効果的であった。

4. 今後の課題

RT-PCR-MPH 法の最大の長所は陽性反応と陰性反応の判別が非常に明確である事であったが、本研究では非特異的な吸光値の上昇が見られ、その原因は突き止められなかった。今後、その原因解明が求められる。