

ダイレクト PCR 法による迅速かつ簡便な カンキツグリーンング病検出法

カンキツグリーンング病は我が国南西諸島で発生し、カンキツ栽培に深刻な被害をもたらしています(図1)。本病の根絶や発生分布域の縮小のためには感染樹を速やかに伐採する必要があります、そのため迅速かつ大規模な感染樹検定を実施しなければなりません。しかし従来の検定方法では、検定数の増加に伴って多大な時間と労力を掛ける必要がありました。(独)農研機構果樹研究所では、検出感度を維持しつつも迅速かつ簡便にカンキツグリーンング病を診断できる方法を新たに開発しました。



図1. 罹病樹につく果実は奇形であったり苦味を有していて商品価値を有さない

☆ 技術の概要

1. DNA 精製等が不要で検査樹から直接病原体の核酸増幅検査ができるダイレクト PCR 法は、従来の本病検査用の PCR プライマーセットでは困難でしたが、新しく開発した PCR プライマーセット Las606/LSS を用いることで可能となりました。
2. 検査樹の葉より切り出した中肋部(葉脈部分)を、細断後にミニホモジナイザーチューブのカラム上で滅菌水とともに軽くすり潰します(図2)。次に、遠心ろ過したカラム通過画分の沈殿物を滅菌水で再懸濁し回収します。この粗抽出液中に病原体細胞が含まれており、これを鋳型としてダイレクト PCR 法を行うと、従来法より明瞭に本病の感染を診断することができます。
3. 本法では少ない作業工程で容易に試料調製でき、多数の検体を扱う際でも、従来法に比べ大幅な作業時間の短縮と省労力化が実現できます。また、有機溶媒を用いず試料調製できますので、従来法に比べて、より安全であるとともに、特殊な機器・設備をも必要としません。

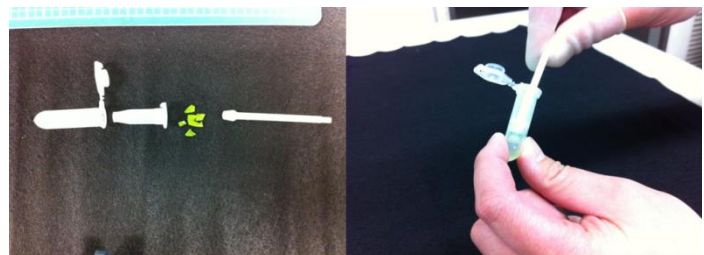


図2. ミニホモジナイザーチューブのカラム部分に細断した中肋部を入れ、摩砕棒で軽くすり潰すだけで、ダイレクト PCR 法の鋳型を調製することができる

☆ 活用面での留意点

1. 本内容については、以下の URL も参照してください。本法は従来法同様にエタノールによる前処理を施した葉からも試料調製ができ、従来のサンプリングや保存・運搬法にも適用できます。
http://www.naro.affrc.go.jp/project/results/laboratory/fruit/2013/13_044.html
2. 詳細は、農研機構果樹研究所 品種育成・病害虫研究領域(電話: 029-838-6544, 電子メール: ftakashi@affrc.go.jp) にお問い合わせ下さい。

(農研機構果樹研究所 品種育成・病害虫研究領域 主任研究員 藤川 貴史)