

トマトなどの新興ウイルス ToBRFV の国内侵入と発生拡大を防ぐ検出技術

2014 年にイスラエルで初めて報告された tomato brown rugose fruit virus (以下 ToBRFV) は、トマト等ナス科作物に感染して、生育不良や果実奇形などの被害をもたらします。種子伝染性を有するため世界各国に急速に分布を広げており、日本での発生報告はありませんが、トマト等種子の輸入を介して国内に侵入することが危惧されています。そこで、輸入種子を対象とした種子検査法として、現在標準的な TaqMan プローブを用いる検査法より低コストなリアルタイム RT-PCR 法を開発しました。さらに、国内の圃場で発生した場合にいち早く発見して発生拡大を食い止めるために、感染の疑いのあるナス科作物を対象とした圃場診断技術も開発しました。

☆ 技術の概要

1. 現行の検査法は試薬コストが高いため、コストを抑えるために SYBR Green 系試薬による ToBRFV 検出用リアルタイム RT-PCR 法を開発しました。999 粒の健全トマト種子に 1 粒の ToBRFV 汚染トマト種子が混入しているサンプルでも陽性と判定することができます (図 1 グラフの黒線)。
2. 国内の栽培圃場における診断法として、汎用性の高いワンステップ RT-PCR による検出法を開発しました。世界各地で発生している様々な ToBRFV 分離株を検出でき、かつ近縁種であり国内既発生のトバモウイルス (ToMV 等) は検出しません (図 2)。検出感度が非常に高く、感染トマト葉に通常含まれる ToBRFV 量の 100 万分の 1 量でも検出することが可能です。

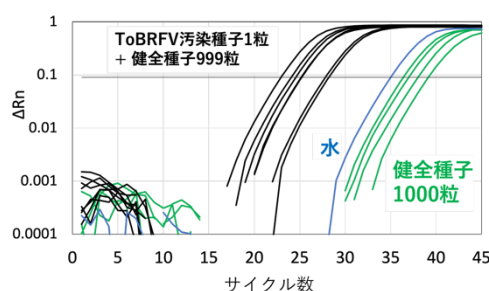


図1. トマト種子サンプルからのリアルタイムRT-PCRによる検出結果。立ち上がりの早いものを陽性と判定する。

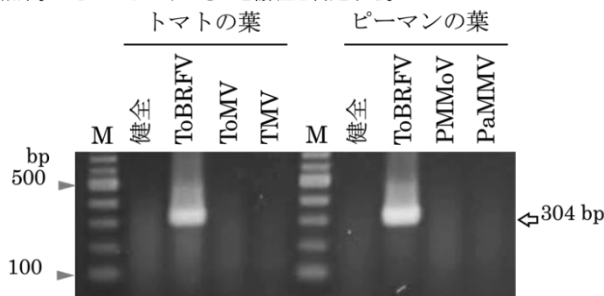


図2. 葉からのワンステップRT-PCRによる検出結果。ToBRFVが感染していた場合、アガロースゲル電気泳動で304 bpの位置にバンドが生じる。

☆ 活用面での留意点

1 のリアルタイム RT-PCR 法については植物防疫所、民間登録検査機関、種苗会社等での利用を、2 については地方公設試験研究機関等での利用を想定しています。両検出法を実施する際は、試薬や PCR 装置等の条件検討が必要です。また 1 は特許出願済で、利用にあたり許諾手続が必要です。

(農研機構 植物防疫研究部門 防除基盤研究領域 太田江美・久保田健嗣)