

参考資料

分類名〔病害虫〕

参 12

## ろ紙粉末を利用した植物ウイルス由来二本鎖 RNA の検出

宮城県農業・園芸総合研究所

## 要約

ろ紙粉末に二本鎖 RNA が特異的に吸着する性質を利用して、宿主の植物から植物ウイルス由来の二本鎖 RNA を精製する。ウイルス由来の二本鎖 RNA の全長はウイルスの種により異なるので、精製したウイルスの全長を測定することでウイルス診断の手法として活用できる。

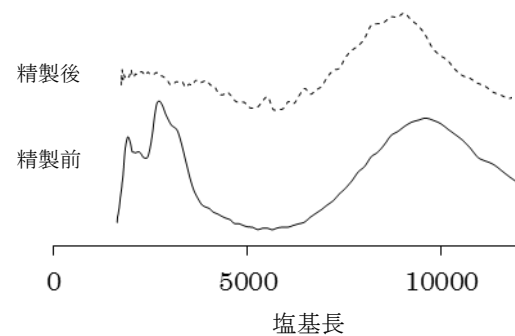
## 1 取り上げた理由

農業改良普及センター等からの植物ウイルス感染の診断依頼については、一次診断としてイムノクロマト等の血清学的診断と PCR 法等の遺伝子診断を用いている。一次診断で植物ウイルスが同定できない場合、二次診断として透過型電子顕微鏡により植物ウイルスの有無と形状を観察している。近年、高品質なろ紙粉末が入手可能となり、これを利用して植物ウイルス由来二本鎖 RNA の全長を測定する方法が二次診断の手法として有効であることから参考資料とする。

## 2 参考資料

- 1) 植物ウイルスの多くは、宿主の植物の中で増殖する際に二本鎖 RNA を合成する。微細なセルロース粉末であるろ紙粉末は、特異的に二本鎖 RNA を吸着する性質があり、この性質を利用してウイルス由来の二本鎖 RNA を精製する。精製前には宿主の植物由来の一本鎖 RNA や DNA、ウイルス由来の二本鎖 RNA が混在しているが、ろ紙粉末により二本鎖 RNA のみが精製して得られる（図1）。

図1 濾紙粉末によるポティウイルス属  
ズッキーニ黄斑モザイクウイルス  
の二本鎖 RNA（全長 9,500 塩基）  
の精製  
実線：精製前、破線：精製後。



- 2) 二本鎖 RNA の全長は植物ウイルスの種により異なる。得られた二本鎖 RNA の全長、透過型電子顕微鏡で観察した形態、病徴、媒介した昆虫種等を分類表（表1）と照合し、分類群を推定する（図2，3）。

## 3 利活用の留意点

- 1) 植物ウイルスの二次診断の手法のひとつとして活用する。  
2) 1回の分析で使用する検体はウイルス感染葉等で生重量1から5gである。ろ紙粉末はシグマセルセルロース101（100g（約1,000回分）参考価格6,300円）を使用する。酵素や抗体は一切使用せず、1検体当たりの試薬代は100円未満で、分析時間は約半日である。

（問い合わせ先：宮城県農業・園芸総合研究所 園芸環境部 電話 022-383-8111）

#### 4 背景となった主要な試験研究の概要

- 1) 試験研究課題名及び研究期間  
病害診断における遺伝子解析技術の開発と活用（平成 30 年度～平成 34 年度）
- 2) 参考データ

表1 国内で発生するポティウイルス科ウイルスの分類群と主な性状(大島2012, 山下2011)

ポティウイルス科属名	塩基長	宿主範囲	主な伝染	形態	長さ×幅 (nm)
パイモウイルス属	3,585 7,326	2分節 イネ科	菌類(土壌伝染)	ひも状	250-300,500-600 × 13
ポティウイルス属	9,475-9,784 *	30科	アブラムシ	ひも状	680-900 × 12
ライモウイルス属	9,463-9,540 *	イネ科	ダニ	ひも状	700 × 15
マクルラウイルス属	8,000	6科	アブラムシ	ひも状	672 × 13-16

\* : 国内発生する植物ウイルスの中で長さ約9,500塩基の種を含むのはポティウイルス科2属のみ。

図2 ポティウイルス属の透過型電子顕微鏡写真  
スケールバー：200nm

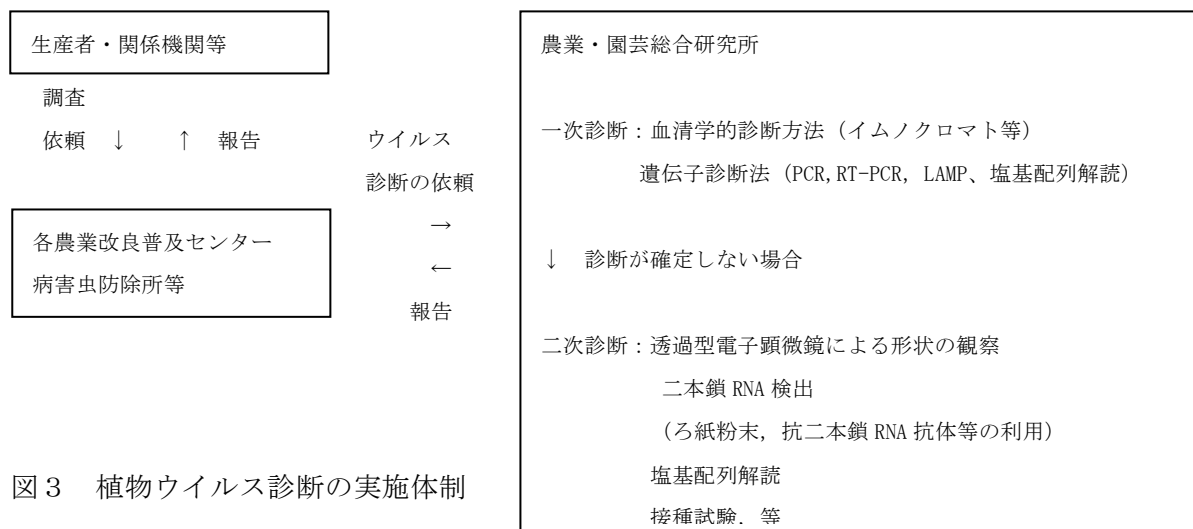
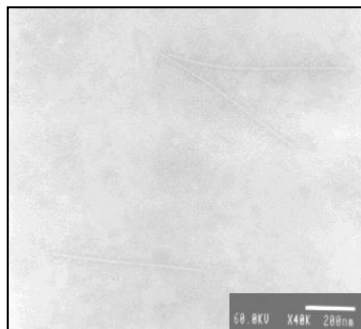


図3 植物ウイルス診断の実施体制

#### (3) 発表論文等

なし

#### イ 関連する普及に移す技術

- (イ) 依頼診断結果の分析に基づく園芸作物に発生するウイルス病の動向（第80号参考資料）
- (ロ) 園芸作物に発生するウイルス病の依頼診断結果（平成17～20年）（第84号普及情報）
- (ハ) 園芸作物に発生するウイルス病の依頼診断結果（平成21～25年）（第89号普及情報）
- (ニ) 園芸作物等の依頼診断で検出されたウイルス・ウイロイド（平成26～29年）  
(第93号普及情報)

#### ロ その他

なし

#### (4) 共同研究機関

なし