

九州地方のサツマイモから RT-PCR によって検出された sweetpotato virus G

酒井淳一・山崎修一¹⁾・小川哲治²⁾・大貫正俊・花田 薫

(九州農業試験場¹⁾ 大分県農業技術センター²⁾ 長崎県総合農林試験場)

Junichi SAKAI, Shuichi YAMASAKI, Tetuji OGAWA, Masatoshi OHNUKI and Kaoru HANADA :

Detection of Sweetpotato Virus G by RT-PCR from Sweet Potato in kyushu

サツマイモ斑紋モザイクウイルス (SPFMV) の系統共通プライマーを用いた RT-PCR 法により、九州各地から採集したサツマイモ葉から SPFMV の検出を行った。その結果、これまでに報告されている普通系統、強毒系統、徳島系統の他にこれらの3系統とは異なるウイルスが検出された。本研究では、このウイルスの外被タンパク質遺伝子の一部をクローニングし、塩基配列を決定した。

1. 材料および方法

九州各地のサツマイモ圃場より SPFMV に感染していると思われる紫斑症状を呈している葉を採取し、供試材料とした。RT-PCR には花田らが報告した SPFMV の系統共通プライマーを用いた。この系統共通プライマーを用いて RT-PCR を行うと、SPFMV の普通系統、強毒系統、徳島系統の3系統を同時に検出することができ、さらに制限酵素 *EcoRI* および *BamHI* で PCR 増幅断片を切断することにより、これら3系統を識別することができる。サツマイモ葉からの全 RNA 抽出には大貫、花田が報告した方法¹⁾を用いた。RT-PCR には RNA PCR Core Kit (パーキンエルマー) を用い、反応条件は添付のプロトコールに従った。

増幅した DNA 断片を制限酵素 *EcoRI*、または *BamHI* で切断後、アガロースゲル電気泳動により系統の識別を行った。さらに、塩基配列を決定するため、PCR 増幅断片をプラスミド Bluescript SK に挿入し、クローニングを行った。塩基配列の決定には蛍光 DNA シークエンサー (ABI 373A) を用いた。

2. 結果および考察

第1表に系統識別の結果を示した。供試株 NO3, 4, 10 は普通系統、徳島系統と同様に *EcoRI* では切断されず、*BamHI* では切断されたが、その切断パターンは徳島系統とは異なっていた。このことから供試株 NO3, 4, 10 は従来報告されている SPFMV の3系統とは異なった系統であると考えられた。そこで、これらの供試株に由来する PCR 増幅断片をクローニングし、N131 というクローンを得た。このクローンの塩基配列を決定し、推定されるアミノ酸配列について中国で報告されている Sweetpotato virus G (SPV-G)²⁾、強毒系統、徳島系統と比較した。第1図に外被タンパク質のアミノ酸配列 (一部) を示した。N131 は SPV-G とよく類似しており、特に N 末端部については極めて相同性が高かった。強毒系統および徳島系統とは大きく異なっていた (第1図)。このことから、新たに検出されたウイルスは SPV-G であると考えられ、九州においても SPV-G が発生していること

が示唆された。

今後、この新たに検出された SPV-G の生物学的性状を明らかにするとともに、九州における本ウイルスの分布についても調査する必要がある。

引用文献

- 1) 大貫正俊・花田 薫：植物防疫 50：102-105, 1996.
- 2) Colinet, D., J. Kummert and P. Lepoivre: Arch. Virol. 139：327-336, 1994.

第1表 RT-PCRによる系統識別

SPFMV 供試株/系統	PCR増幅断片 (kb)		
	全長	<i>EcoRI</i> 切断	<i>BamHI</i> 切断
NO3,4,10	1.4	1.4	1.0,0.4
強毒系統	1.3	0.7,0.6	1.3
普通系統	1.3	1.3	1.3
徳島系統	1.4	1.4	0.7×2

	1	40
N131	SAEE-----IY DAGKTGNTGR GRGRGTVPPP PPPPGAPRTG	
SPV-G	
強毒系統	.S.RTEFK-----AN-----	
徳島系統	.GT.ETK---...TPTPGKL VKT.TGQTQ. LKA.EGSMDP	
	41	80
N131	DLPPAVQTGP LPPGAASKPP IIEEIQPES PRAKALREAR	
SPV-GL.....T.....	
強毒系統	---...PKPQN I..... T.T.VTD.ED .KQA...A..	
徳島系統	TD-----..-----..TV...IEE.T.AQ.....	

第1図 クローンN131の外被タンパク質 N末端部のアミノ酸配列の比較 (一部)

注) 同じアミノ酸はピリオド (.) で示した。また、アミノ酸の欠失はバー (-) で示した