

10. ブドウ根頭がん腫病菌の遺伝子診断（情報）			
[要約] ブドウ根頭がん腫病菌はマルチプレックス PCR 法による迅速な簡易同定ができる。			
研究室名	病虫研究室	連絡先	0869-55-0543

[背景・ねらい]

ブドウ根頭がん腫病菌は培地上での識別が難しく、検定植物での病原性確認が必須である。しかし、病原性の検定にはトマト苗に接種後 3 週間程度を要する。

そこで、*Agrobacterium* 属細菌 bi ovar 3 に対する特異的プライマーと、病原性遺伝子検出用特異的プライマーとを同時に用いて、ブドウ根頭がん腫病菌(*A. tumefaciens* bi ovar 3) のマルチプレックス PCR 法による迅速な簡易同定法を開発する。

[成果の概要・特徴]

ブドウ根頭がん腫病菌 11 菌株を含む *Agrobacterium* 属細菌 39 菌株について、マルチプレックス PCR 法によるブドウ根頭がん腫病菌の簡易同定を試みた。

1. *A. tumefaciens* bi ovar 3 の全 11 菌株について 570bp と 414bp のバンドが確認された。また、*A. radiobacter* bi ovar 3 の全 9 菌株からは 570bp のバンドのみが確認された（図 1；代表的な菌株のデータのみ）。
2. 供試した bi ovar 3 以外の菌株のうち、病原性を持つ菌株(*A. tumefaciens* bi ovar 1 及び bi ovar 2, *A. rhizogenes* bi ovar 1) では 414bp のバンドのみが検出され、病原性を持たない菌株(*A. radiobacter* bi ovar 1) ではどちらのバンドも検出されなかった（図 1；代表的な菌株のデータのみ）。
3. 本手法を用いることで、従来と同定手法と比較して所要時間が大幅に短縮され、ブドウ根頭がん腫病菌の迅速検出が可能であった(図 2)。

以上の結果、ブドウ根頭がん腫病菌はマルチプレックス PCR 法による迅速な簡易同定が可能である。

[成果の活用面・留意点]

1. 本法によるブドウ根頭がん腫病菌の迅速検出には特殊な機器、道具が必要であることから、標本（がん腫組織）を農業試験場へ持ち込み、診断を依頼する。

[具体的データ]

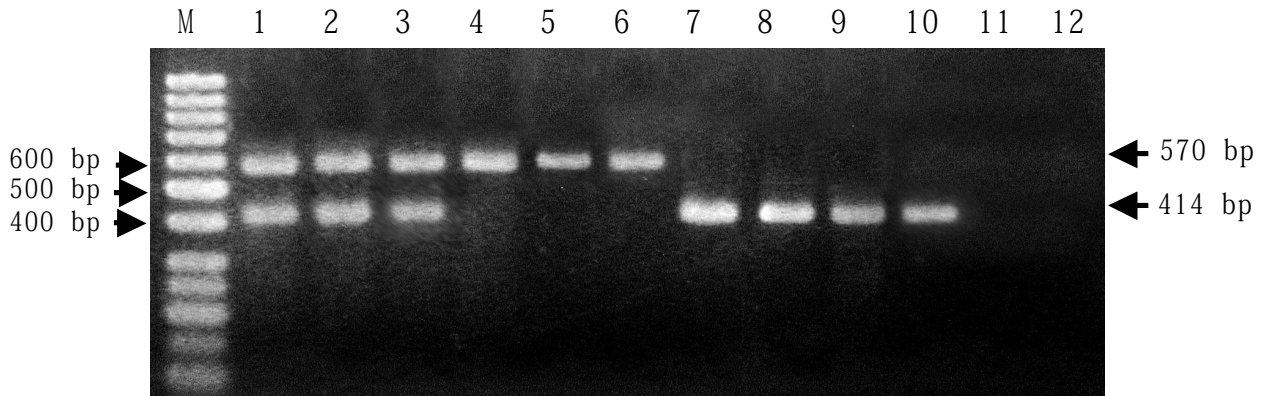


図1 *Agrobacterium* 属細菌 bi ovar3 の 16S rDNA の一部と病原性遺伝子の一部とを増幅させたマルチプレックス PCR 産物の電気泳動写真

M: マーカー(50bp DNA Ladder Marker)

1: *A. tumefaciens* bi ovar 3 strain G-Ag-3

2: *A. tumefaciens* bi ovar 3 strain At-90-23

3: *A. tumefaciens* bi ovar 3 strain VAT-03-20

4: *A. radi obacter* bi ovar 3 strain VAT-03-1

5: *A. radi obacter* bi ovar 3 strain VAT-03-3

6: *A. radi obacter* bi ovar 3 strain VAT-7-1

7: *A. tumefaciens* bi ovar 1 strain AtC1

8: *A. rhi zogenes* bi ovar 1 strain MAFF03-01724

9: *A. tumefaciens* bi ovar 2 strain Ch-Ag-2

10: *A. tumefaciens* bi ovar 2 strain AtR1

11: *A. radi obacter* bi ovar 1 strain Ar-9

12: dH₂O (Negative Control)

} ブドウ根頭がん腫病菌

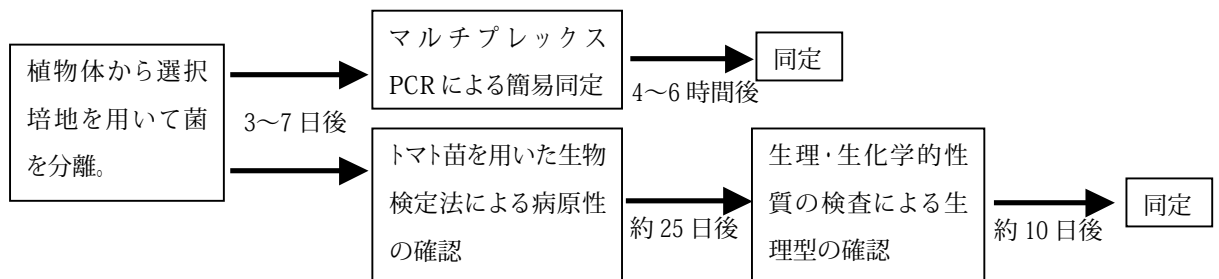


図2 マルチプレックス PCR 法による簡易同定(上段)と従来の同定手法(下段)との同定までに要する操作及び所用時間の比較

[その他]

試験研究課題・事業名: 病虫害・生育障害の診断と対策指導

予算区分: 県単

研究期間: 平成 14 年度~15 年度

関連情報等: なし