

リアルタイムPCR法を用いた アブラナ科野菜根こぶ病菌の簡便・高感度検出

バイオテクノロジー開発部 遺伝子工学チーム TEL:022-383-8131

研究の目的

アブラナ科野菜根こぶ病の防除対策には、土壌中の菌（休眠孢子）密度を把握することが大切です。従来法（蛍光顕微鏡を用いた形態識別による測定法）は、菌の識別に熟練が必要な上に、検出感度が低い問題点がありました。そこで、遺伝子診断技術の一つであるリアルタイムPCR法（qPCR）を用いた菌密度の測定法について検討しました。

研究成果

根こぶ病菌に特異的なDNA塩基配列を検出できるプライマー、プローブを利用してqPCR解析を行うことで、従来法よりも簡便かつ高感度な検出が可能になりました。検出作業は、DNA抽出、サンプル調整、qPCR解析の順で行い、約3時間半で根こぶ病菌DNA量の指標であるCt値を得ることができます（図1）。標準サンプルのCt値と乾土1g当たりの根こぶ病菌DNA量および休眠孢子数の間には高い相関があるため、Ct値から休眠孢子数を推定することができます（図2）。本法の検出限界は、乾土1g当たり休眠孢子数 10^2 個と、従来法（同 10^4 個）より100倍高い感度での検出が可能です。

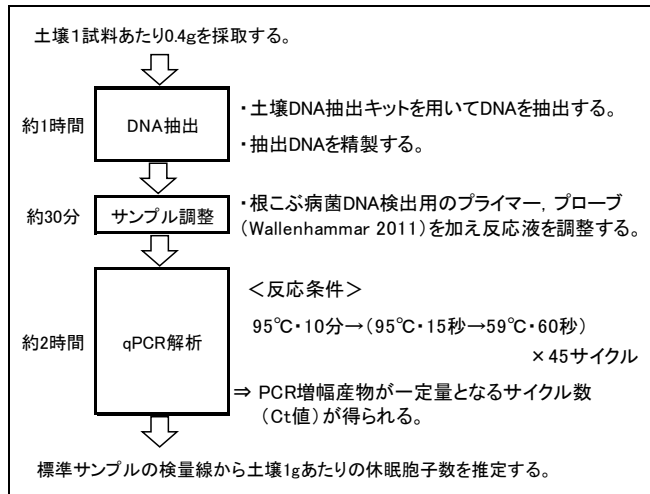


図1 根こぶ病菌定量検出の流れ

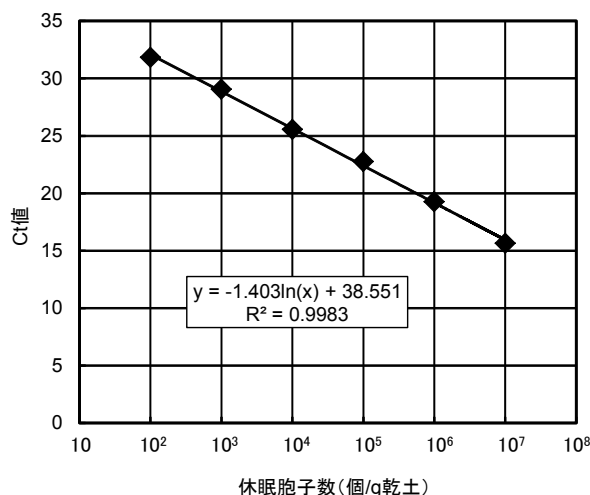


図2 標準サンプルのCt値と休眠孢子数の関係（検量線）

利活用の留意点等

本法により土壌中の菌密度を推定でき、ほ場間比較や土壌消毒効果の確認等に活用できます。土壌抽出DNAは凍結状態（ -80°C ）で長期間保存が可能です。本法にはリアルタイムPCR装置が必要であり、1試料当たりの消耗品の費用は約110円です。

より詳しい内容は「普及に移す技術」

第90号（平成27年発行）「リアルタイムPCR法を用いたアブラナ科野菜根こぶ病菌の簡便・高感度検出」をご覧ください。

http://www.pref.miyagi.jp/soshiki/res_center/hukyuu-index.html

