

濃核病ウイルスの精製標品に混入している伝染性軟化病ウイルスの除去について

誌名	日本蠶絲學雜誌
ISSN	00372455
著者	川瀬, 茂実 関, 宏夫
巻/号	56巻4号
掲載ページ	p. 355-356
発行年月	1987年8月

濃核病ウイルスの精製標品に混入している伝染性軟化病ウイルスの除去について

川瀬茂実¹⁾・関 宏夫²⁾

- 1) 名古屋市千種区・名古屋大学農学部
(〒 464)
- 2) 山梨県双葉町・山梨県蚕業試験場
(〒 407-01)
(1987年1月26日 受領)

SHIGEMI KAWASE and HIROO SEKI:
Elimination of contaminating infectious flacherie virus from the purified preparations of *Bombyx densonucleosis* virus

濃核病ウイルス (DNV) 伊那株や山梨株 (Y-DNV) を精製した標品には、しばしば伝染性軟化病ウイルス (IFV) の混入が認められ、蔗糖密度勾配遠心を行って 260 nm で吸光度を測定すると、DNV と IFV の2つのピークになって現れる (川瀬ら, 1983)。更に継代を重ねると、IFV のピークが DNV のそれよりも高くなる場合さえ生じる。これは、おそらく最初微量混入していたと考えられる接種液中の IFV の増殖度が、DNV のそれよりも高いため、継代に伴って IFV の割合の増大をもたらすものと推定される。このことは興味ある現象ではあるが、DNV に関する調査、研究を行う際には大きな障害になっていた。

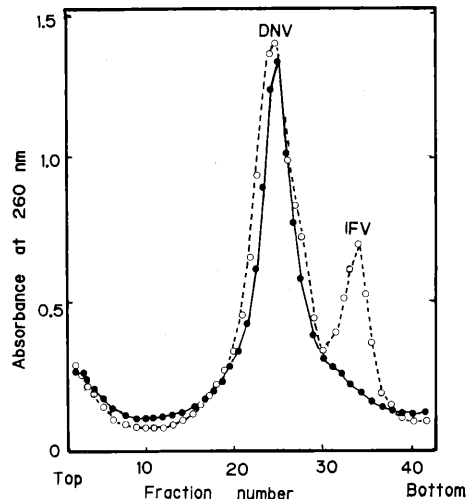
この汚染を防ぐため、IFV に対する抗血清で予め接種液を処理するなど、種々の方法を試みたが、完全に IFV の混入のない標品を得ることは出来なかった。今回、IFV の増殖抑制剤であるグアニジン塩酸塩 (GH) (川瀬・宮島, 1982) を供試したところ、ほぼ完全に IFV の混入のない DNV 標品を得ることができるようになったので、ここに報告する。

材料と方法: Y-DNV 精製のために供試した蚕品種は、DNV 伊那株に抵抗性で Y-DNV に感受性である錦秋×鐘和である。凍結保存してある Y-D

NV 感染蚕の 10% 乳剤を作製し、5,000 rpm, 20分遠心後、その上清をさらに 12,000 rpm で 30分遠心した上清を採取した。これを水で 10 倍に希釈し、それに 1% GH を最終濃度 0.005% になるように加え、接種ウイルス液とした。この液に桑葉を浸漬し、風乾後 4 令起蚕の蚕児に 24 時間給与した。その後は普通桑を給与し、48 時間毎に 0.005% GH 浸漬桑を与え、DNV 接種 10 日後に病蚕を採取し、凍結保存しておいて適宜精製に用いた。精製の方法は既述 (川瀬ら, 1984) したものとほぼ同様であるが、今回は蔗糖密度勾配遠心したチューブからの分画には、上層より下層へ採取する装置を使用し、各分画の 260 nm の吸光度を測定した。

結果と考察: Y-DNV と GH を同時に添食し、48 時間毎に GH 添加桑を給与した区と、GH 処理を行わなかった区の 260 nm での吸光度のパターンを、第 1 図に示した。

無処理区では、遠心後のチューブで肉眼でも 2 本の青色のバンドが認められるのに対し、GH 処理区では 1 本のバンドしか認められず、第 1 図からわかるとおり、IFV の分画のピークは完全に消失していた。GH は DNV の増殖を抑制しない (川瀬・未発表) ので、1 本のピーク部分が DNV による



第 1 図 GH 処理区と無処理区の DNV 感染蚕より得られた精製ウイルス標品の蔗糖密度勾配遠心のパターン。
○……○: 無処理区, ●——●: GH 処理区

ことは当然予想されたが、確認の意味で、この分画の電顕観察を行ったところ、IFV の混入は全く認められず、抽出した核酸も DNA の呈色反応に陽性を示した。すなわち、本法によって従来悩まされてきた IFV の混入の問題は、一応解決できたものと考えられる。GH は比較的安価な薬剤なので、この結果から考えて IFV による感染や汚染が心配される場合には、予防的に使用することが望ましいと考

えられる。

文 献

- 川瀬茂実・宮島成寿 (1982) : 日蚕雑, 51, 341-345.
川瀬茂実・伴戸久徳・蔡 幼民 (1983) : 日蚕雑, 52, 547-548.
川瀬茂実・蔡 幼民・伴戸久徳・関 宏夫 (1984) : 日蚕雑, 53, 341-347.