
[成果情報名] 酵素結合抗体法 (ELISA) における温州萎縮ウイルス (SDV) およびリンゴ
ステムグルーピングウイルス (ASGV) の同時検定法

[要約] 温州萎縮ウイルス (SDV) およびリンゴステムグルーピングウイルス (ASGV) の
各固相抗体および酵素標識抗体を混用してELISA検定すると、1回の操作で2種またはい
ずれか1種の保毒の有無が判定できる。次ぎに陽性検体のみを対象に単独種の検定を行う
ことで、当初から1種ずつ個別に検定する現行法の約1/2の検査回数で2種のウイルス
診断が可能となる。

[キーワード] カンキツウイルス、温州萎縮ウイルス、リンゴステムグルーピングウイル
ス、E L I S A

[担当部署] 果樹苗木分場・果樹苗木チーム

[連絡先] 電話 0943-72-2243

[対象作物] 果樹 [専門項目] 病害虫 [成果分類] 新技術

[背景・ねらい]

本県は、全国カンキツ苗木の約70%、約600万本を生産している。健全なカンキツ苗
木を供給するために、年間約3,000検体のカンキツウイルス検査を実施しているが、標
記の主要2種を対象に、酵素結合抗体法 (ELISA) 法で1種ずつ個別に検定しているた
め、多大な労力や時間等を必要とする。そこで、迅速かつ2種同時に検定できる手法を
開発し、検定労力や時間等の削減を図る。

[成果の内容・特徴]

1. 固相抗体としてASGV, SDV共に濃度400~600倍を混合して使用し、酵素標識抗
体として2ウイルスとも濃度400倍で混合使用することで、2種またはいずれか1種の
保毒の有無が判定できる (表1)。
2. 両ウイルスの検出限界は磨砕サンプル濃度で600倍程度で、ウイルスが低濃度でも検
定が可能である (図1)。
3. SDV、ASGV単独保毒のサンプルでは、吸光度がやや低下する傾向にある (図
1)。
4. 今回開発した方法を活用すると、保毒率1~10%のカンキツ母集団の検定回数は現行
法の49~40%減となり、大幅に労力、資材等が低減できる。

[成果の活用面・留意点]

1. 県のウイルス検定事業におけるカンキツの温州萎縮ウイルスおよびリンゴステムグル
ーピングウイルスの診断に活用する。
2. ELISAに使用するサンプルは、従来通り、両ウイルスともに発芽して展葉する前
の新梢を用いる。

[具体的データ]

表 1 固相抗体濃度別 A S G V 及び S D V の同時検出

第1表

サンプル割合	固相抗体濃度											
	ASGV抗体 SDV抗体	200			400			600			400	0
		200	400	600	200	400	600	200	400	600	0	400
ASGV 1 :SDV 1	保毒	636	551	598	596	570	510	680	665	631	386	513
	フリー	112	114	91	87	94	89	87	91	92	86	95
	吸光度倍率	5.7	4.8	6.6	6.9	6.1	5.7	7.8	7.3	6.9	4.5	5.4
ASGV1 SDV 2	保毒	579	579	558	536	453	454	575	586	618	174	577
	フリー	112	114	91	87	94	89	87	91	92	86	95
	吸光度倍率	5.2	5.1	6.1	6.2	4.8	5.1	6.6	6.4	6.7	2.0	6.1
ASGV2 SDV1	保毒	640	577	573	553	504	489	542	482	504	400	321
	フリー	112	114	91	87	94	89	87	91	92	95	86
	吸光度倍率	5.7	5.1	6.3	6.4	5.4	5.5	6.2	5.3	5.5	4.2	3.7
単独ASGV	保毒	407	397	415	331	326	297	306	293	318	431	83
	フリー	112	114	91	87	94	89	87	91	92	86	95
	吸光度倍率	3.6	3.5	4.6	3.8	3.5	3.3	3.5	3.2	3.5	5.0	0.9
単独SDV	保毒	376	365	356	409	378	335	474	389	369	86	409
	フリー	112	114	91	87	94	89	87	91	92	86	95
	吸光度倍率	3.4	3.2	3.9	4.7	4.0	3.8	5.4	4.3	4.0	1.0	4.3

注) 1) 酵素標識抗体 : ASGV ,SDV濃度とも400倍

2) 吸光度倍率 : 保毒 / フリー

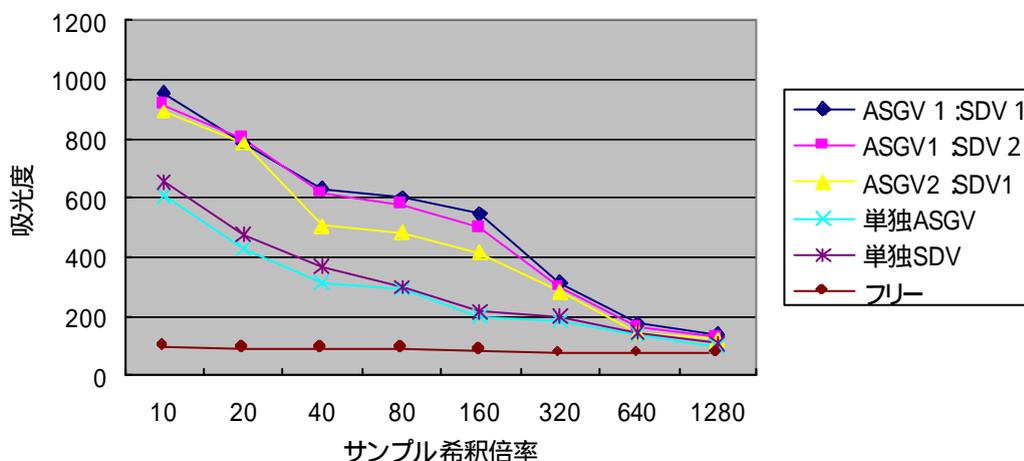


図 1 サンプル希釈による吸光度の変化

注) 固相抗体 : 各 5 0 0 倍混用、酵素標識抗体 : 各 5 0 0 倍混用

[その他]

研究課題名 : カンキツウイルス病の大量検定法および簡易診断キットの開発
 予算区分 : 国庫受託
 研究期間 : 平成16年度 (平成16~18年)
 研究担当者 : 草野 成夫・栗原 実