

# 簡易・高精度・短時間のウイルス診断法

～R I P A法（迅速免疫ろ紙検定法）によるゆうがおモザイク病の診断

## 1. 試験のねらい

農作物のウイルス病診断には、各種の方法があり簡便性、精度や器具・機材の必要性などの点でそれぞれ一長一短がある。最近、新たに開発された血清学的な診断法であるR I P A法（迅速免疫ろ紙検定法）は、方法が簡便で特別な器具を必要とせず、短時間で結果が判定でき検出精度も高いことから現場での診断に応用できる可能性が高い。そこで、R I P A法によるゆうがおからのキュウリ緑斑モザイクウイルス（CGMMV）の検出限界を調査し、その実用性を明らかにする。

## 2. 試験方法

R I P A法の診断手順は、亀谷らの方法に準じて行った。ゆうがお葉からの検出限界については、CGMMV弱毒株又はCGMMV強毒株の感染葉を緩衝液Aで磨砕して粗汁液を作製し、その20倍～10000倍液を供試しR I P A法を用いてCGMMVの検出を行った着色ラテックスの濃度は40倍液及び100倍液の2段階で行った。

また、CGMMVの純化ウイルスからの検出限界については、CGMMV強毒株を用いてウイルス濃度0.01～100  $\mu\text{g}/\text{cc}$ の範囲で検討した。

## 3. 試験結果及び考察

R I P A法により、CGMMV弱毒株はゆうがおの感染葉から緩衝液による希釈倍率5000倍液まで検出することができた（表-1）。

着色ラテックス濃度は、粗汁液の希釈倍率が極端に低かったり、逆に高すぎる場合にバンドが淡いため判定が難しい面があるものの、100倍液は40倍液とほぼ同等の検出精度であった。

CGMMVの純化ウイルスを用いた場合には、着色ラテックス濃度40倍液及び100倍液とも1  $\mu\text{g}/\text{cc}$ まで検出することができた（表-2）。

以上から、R I P A法はゆうがお感染葉からのCGMMV検出法として非常に有効であることが判明した。また、着色ラテックスの濃度は、検定での抗血清等の消費量も少なく反応も明瞭であるため、100倍液を用いるのが適当であると考えられた。

## 4. 成果の要約

簡便かつ短時間（約10分）でウイルス診断が可能なR I P A法は、ゆうがおの主要な病原ウイルスであるCGMMVの検出に応用できることが明らかになり、今後、現場での診断法として利用できる。

（病理昆虫部 中山喜一）

表-1 R I P A 法によるゆうがお感染葉からのCGMMV の検出限界

ウイルス名	着色ラテックス濃度	希 釈 倍 数					
		×10000	×5000	×1000	×500	×100	×20
弱毒ウイルス	40倍	-	+	+	+	+	+
"	100倍	-	+	+	+	+	+
強毒ウイルス	40倍	+	NT	+	+	+	+
健全葉	40倍	-	-	-	-	-	-
"	100倍	-	-	-	-	-	-

注. NT: 未実施

表-2 R I P A 法によるCGMMV 純化ウイルスの検出限界

着色ラテックス濃度	ウイルス濃度 (μg/cc)						
	0.01	0.1	1	5	10	50	100
40倍	-	-	+	+	+	+	+
100倍	-	-	+	+	+	+	+