

事項	ながいもに発生するえそモザイク病の抗血清によるイモおよびムカゴの簡易診断法		
ねらい	ナガイモえそモザイク病の病原ウイルスであるヤマノイモえそモザイクウイルス(CYNMV)の診断は、これまで主に葉の病徴で行われており、イモおよびムカゴでは診断が不可能であった。そこで、ウイルス粒子を精製、その抗血清を作製し、Tissue Print Immunoblot法(ティッシュブロット法)を検討したところ、ウイルス診断が可能となったので参考に供する。		
指導参考内容	<p>1 検定方法</p> <p>(1) ながいものイモまたはムカゴをカミソリで切断する。</p> <p>(2) 切断面をニトロセルロースメンブレンに押し付けた後、メンブレンを風乾する。</p> <p>(3) 前洗浄液を加え、20分間振とうする(以下、液は交換する)。</p> <p>(4) ブロッキング液を加え、15分間浸とうする。</p> <p>(5) 抗血清希釈液(1000倍希釈)を加え、15分間浸とうする。</p> <p>(6) 洗浄液を加え、10分間浸とうする。2回行う。</p> <p>(7) 酵素結合抗体希釈液(2000倍希釈)を加え、15分間浸とうする。</p> <p>(8) 洗浄液を加え、10分間浸とうする。2回行う。</p> <p>(9) 基質用緩衝液を加え、5分間浸とうする。</p> <p>(10) 基質液を加え、発色させる。感染株は、表皮部分が染色される(約20分)。</p> <p>2 検定上の留意事項</p> <p>(1) メンブレンは、直接手で触ってはならない。ピンセット等で取り扱うこと。</p> <p>(2) 抗血清希釈液および酵素結合抗体希釈液は、再利用が可能である。</p> <p>(3) 検定は、必ず表皮の切断面を含む切片でスタンプすること。</p> <p>(4) 植物組織中のウイルス感染部位にはむらがあるので、数カ所検定することが望ましい。</p>		
期待される効果	ながいものウイルス感染株を植え付け前に発見することにより、本病の蔓延を防止できる。		
利用上の注意事項	診断には技術習得のため、数日程度の簡単な研修が必要である。		
担当	青森県グリーンバイオセンター 微生物工学研究部	対象地域	県下全域
発表文献等	平成10年度 青森県グリーンバイオセンター試験成績書		

【根拠となった主要な試験結果】

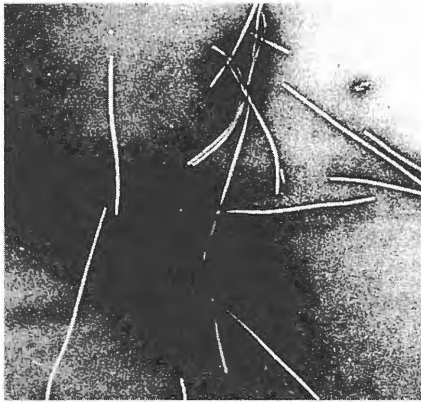


図1 精製ウイルス粒子



図2 抗体で装飾されたウイルス粒子

ながいものイモ、ムカゴをカミソリで切断してメンブレンにスタンプした後、メンブレンを風乾

↓

前洗浄、20分（以下、すべて振とう）

↓

ブロッキング、15分

↓

一次抗体反応、15分

↓

洗浄、10分、2回

↓

二次抗体反応、15分

↓

洗浄、10分、2回

↓

基質用緩衝液でリンス、5分

↓

基質液を加え発色

図3 ティッシュプロット法の手順

健全株

感染株



図4 ティッシュプロット法によるイモの検定例

健全株

感染株

感染株



図5 ティッシュプロット法によるムカゴの検定例