

メロンえそ斑点ウイルス3系統の酵素結合抗体法における血清反応

松尾和敏・太田孝彦 (長崎県総合農林試験場)

Kazutoshi MATSUO and Takahiko OTA: Serological Reactions among Three Strains of Melon Necrotic Spot Virus in Enzyme-linked Immunosorbent Assay

メロンえそ斑点ウイルス (MNSV) には病原性や耐物理性が異なる MNSV-NK, MNSV-NH 及び MNSV-S の3系統があるが, 寒天ゲル内拡散法による血清試験で MNSV-NK と MNSV-NH は血清型が同じで, MNSV-S は異なることをすでに報告した^{4,5)}。そこで本研究では, これら3系統の抗血清と純化ウイルス液並びにメロン罹病葉粗汁液を用いて, 酵素結合抗体法 (ELISA) における血清反応を調べ, 圃場試料診断への利用の可能性を検討したので, その結果の概要を報告する。

1. 試験方法

ELISA については直接二重抗体法 (DAS-ELISA) と1次抗体をプレートに処理しない抗原吸着間接法 (I-ELISA) の2つの方法を用い, それぞれ Clark ら¹⁾と Koenig²⁾の方法に準じて行った。また, 抗血清からのγグロブリンの調製並びに DAS-ELISA における酵素 (アルカリフォスファターゼ) 結合抗体 (conjugate-D) の作製も Clark ら¹⁾の方法に準じた。I-ELISA における酵素結合抗ウサギ IgG 山羊抗体 (conjugate-I) は市販品 (Sigma 社製) を用いた。

MNSV の純化は古木³⁾の方法に準じて行い, 純化並びに検定に供したメロンの罹病葉は本業展開時の子葉に汁液接種し, 接種3~4日後に局部病斑を生じた子葉を用いた。

2. 結果及び考察

DAS-ELISA におけるγグロブリン及び conjugate-D の至適濃度を検討した結果, γグロブリンは3系統とも $2\mu\text{g/ml}$, conjugate-D は MNSV-NH が1,000倍, MNSV-NK が2,000倍, MNSV-S が8,000倍であった。また, I-ELISA におけるγグロブリン及び conjugate-I は $2\mu\text{g/ml}$ と4,000倍の濃度で行った。

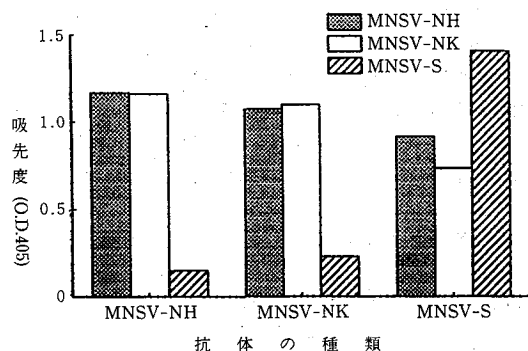
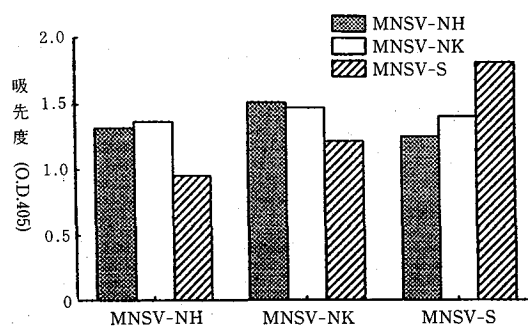
DAS-ELISA における検出限界は, 3系統とも純化ウイルス液で 10ng/ml , 罹病葉粗汁液で10万倍であった。同様に I-ELISA では, 純化ウイルス液では DAS-ELISA に比べ検出感度が高く, 1ng/ml まで検出可能であったが, 粗汁液では非特異反応を生じ検出できなかった。

3系統の純化ウイルス液とγグロブリンを用いた heterologous な抗原抗体の組合せでの反応については, DAS-ELISA において MNSV-NK と MNSV-NH の2系統間では homologous な場合とほぼ同様の反応をしたが, これら2系統と MNSV-S との heterologous な組合せの場合は反応が著しく弱く, MNSV-NK 並びに MNSV-NH の抗体に対する MNSV-S の反応は homologous な場合の約6分の1の吸光度を示し, MNSV-S の抗体に対する他の2系統の反応は2分の1

であった (第1図)。また, I-ELISA においても同様な傾向が認められたが, DAS-ELISA に比べてその反応の低下や組合せ間の差は小さかった (第2図)。しかし, I-ELISA では粗汁液の検出で非特異な反応を生じた。したがって, 圃場試料の診断は現時点では MNSV-NH あるいは MNSV-NK と MNSV-S の2系統の抗体を用いた DAS-ELISA で行う必要がある。なお, I-ELISA については今後さらに検討したい。

引用文献

- 1) CLARK, M. F. and ADAMS, A. N.: J. gen. Virol. **34**, 475-483, 1977.
- 2) 古木市重郎: 静岡農試特別報告 **14**, 1-94, 1981.
- 3) KOENIG, R.: J. gen. Virol. **55**, 53-62, 1981.
- 4) 松尾和敏: 日植病報 **55**, 80, 1989.
- 5) 松尾和敏・津田新哉・亀谷満朗・太田孝彦: 日植病報 **56**, 423, 1990.

第1図 MNSV 各種抗体を用いた DAS-ELISA による純化 MNSV 3 系統 ($1\mu\text{g/ml}$) の検出第2図 MNSV 各種抗体を用いた I-ELISA による純化 MNSV 3 系統 ($0.1\mu\text{g/ml}$) の検出