

研究 成果 情報	生産環境	1 1	果 樹	病虫害
新技術 情報名	モノクローナル抗体による温州萎縮ウイ ルスの検出		分類	③

## 1. 成果の内容

### 1) 技術、情報の内容及び特徴

ポリクローナル抗体(PAB)でのウイルス診断では近縁ウイルスの判別ができないこと、及び抗体の生成量に永続性がない等の欠点が多い。そこで、温州萎縮ウイルス(SDV)のモノクローナル(MAB)の作出を試み、その特徴を明らかにした。

- (1) SDVを抗原とし、抗MAB抗体産生マウスハイブリトマ718株作出した。
- (2) 作出したMABはSDVに存在する3種類の抗原決定基を識別する。
- (3) それぞれに異なった抗原決定基に吸着するMABを使用することでウイルスの検出感度が高く、従来のPABに比較して100倍の感度が得られる。

注) ポリクローナル抗体(PAB): 抗原物質のおおまかな判別は可能であるが近縁物質の識別はできない。抗体の生成量も採取する血液量に限られる。

モノクローナル抗体(MAB): 抗原物質の細かな識別が可能で、得られた抗体は長期保存、増殖も無限にできる。

### 2) 技術・情報の適用効果

均質な抗体の半永久的的生産供給が可能。

SDVの検出感度が高く、検定精度が向上する。

### 3) 適用範囲

かんきつ生産地域、ウイルスフリー樹育成機関

### 4) 成果の利活用・普及指導上の留意点

- (1) 固相化MABと標識MABの組み合わせによって、ウイルスの検出が不可能な場合がある。
- (2) 同一MABの組み合わせでは検出感度は低い場合が多く、この場合は、試料粗汁液と標識抗体を同時に処理する簡易法では利用できない。

2. 具体的データ

表1 SDVモノクローナル抗体の特性 (平成2年,3年)

M A B 株	希釈限界濃度		利用 適性	抗原結 合部位	SDS 抗原	スクリーニ* ク抗原	免疫 期間
	固相化	標識抗体					
	μg/ml	μg/ml			KD		日
2G2	0.8	0.1	標識	A	23	PAB-T	60
1A11	----	2.0	標識	A	-	PAB-T	60
4E6	0.8	2.0	固、標	B	-	PAB-T	60
3F10	0.1	0.1	固、標	A	-	PAB-T	60
4A5	1.5	2.0	固、標	C	23	PAB-T	60
2D9	0.1	0.1	固、標	A	-	PAB-T	60
1A4	1.7	0.3	固相化	A	-	PAB-T	60
6B4	1.3	0.1	固相化	A	23	PAB-T	60
3D2	0.5	---	固相化	-	23	CB-T	30
1F4	5.0	---	固相化	-	23	CB-T	30
2A10	0.5	---	固相化	-	23	CB-T	30
3D3	----	---	固相化	-	23	CB-T	30
3E1	5.0	---	固相化	-	23	CB-T	30
3H9	0.5	---	固相化	-	23	CB-T	30
4F10	5.0	---	固相化	-	23	CB-T	30
4G6	5.0	---	固相化	-	23	CB-T	30
5D7	----	---	固相化	-	23	CB-T	30
5G10	5.0	---	固相化	-	23	CB-T	30

注) PAB-T:ウツキ抗体トラップ粗汁液抗原、CB-T:炭酸緩衝液トラップ純化抗原

表2 M A Bの固相化及び標識抗体の組み合わせと吸光度(×10<sup>-3</sup>)(平成3年)

固相化 抗体	A L P 標 識 抗 体								
	2G2	1A11	4E6	3F10	4A5	2D9	1A4	6B4	RPAB
2G2	343	232	725	568	1413	917	111	102	337
1A11	74	148	94	78	108	79	65	70	77
4E6	1978	275	657	1566	542	1793	158	126	383
3F10	567	197	713	689	1328	1080	99	87	321
4A5	2513	323	523	2287	309	2157	181	140	653
2D9	1233	227	733	1145	1455	1420	142	94	517
1A4	314	170	665	477	1446	847	122	64	323
6B4	449	188	655	588	1120	907	94	77	330
RPAB	1300	131	172	661	537	1326	1116	734	450

3. その他の特記事項

担 当 部 科 室 名 : 果樹苗木分場 ウイルス無毒化研究室

研 究 担 当 者 名 : 平島敬太、草野成夫、野口保弘

研 究 課 題 名 : 果樹病原菌に対する抗体の作出と適応性の検討

期 間 : 平成2年~平成6年 予算区分 : 県特

既発表論文・資料名等 : 九州農業研究 53号

取りまとめ責任者名 : 平島敬太