

〈研究成果の紹介〉

## コムギ縞萎縮病ウイルスのRT-LAMP法を用いた高感度な検出

農業研究所 循環機能開発研究課

### 1. 成果の内容

コムギ縞萎縮病は、土壤微生物媒介性のウイルス病害です。コムギの栽培面積の増加とともに、本病害の発生面積も増加し問題となっています。現在、コムギ縞萎縮病ウイルスの検出には、DAS-ELISA法やRT-PCR法による検出法が開発されていますが、今回、より簡易に短時間で検出できるRT-LAMP法のプライマーを開発しました。

RT-LAMP法は、増幅対象領域をはさむ6ヶ所の塩基配列をもとに設計した4種類のプライマーセットおよびRNA増幅試薬キット（栄研化学株式会社）を用います。

ウイルス検出にあたっては、切手大のコムギ葉を少量の緩衝液で磨砕し、その後緩衝液を追加（原体×20）したものをそのまま反応に用いることができるため、簡単です。

RT-LAMP反応により遺伝子が増幅すると、蛍光・目視検出試薬により蛍光発色するので、60分後に目視するだけで判定できます（図1）。

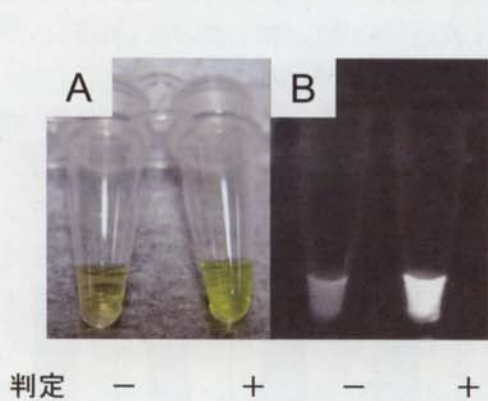


図1 RT-LAMP法によるコムギ縞萎縮病ウイルスの検出（63°C60分後）

- A 可視光下での蛍光発色
- B 紫外線下での蛍光発色
- + : 陽性 - : 陰性

RT-LAMP法は検出感度が高く、DAS-ELISA法と比較し1,000倍程度希釈しても検出できます（図2）。

### 2. 技術の適用効果と適用範囲

コムギ縞萎縮病ウイルスを検出することにより、適切な被害軽減対策を講じることができません。

### 3. 普及・利用上の問題点

RT-LAMP反応は検出感度が高いので、試料、反応液の調製に当たってはコンタミネーションに注意が必要です。

RT-LAMP反応時間は60分とします。60分を超えると非特異反応が起こる場合があります。

RT-LAMP法を用いた検出を研究目的以外で行う場合は、RT-LAMP法に関する特許について、栄研化学株式会社の実施許諾が必要です。

（鈴木 啓史）

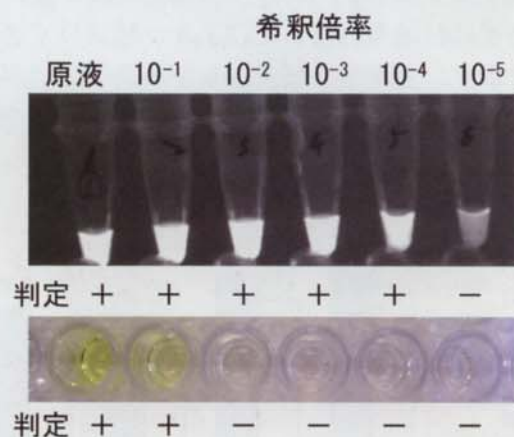


図2 RT-LAMP法とDAS-ELISA法によるコムギ縞萎縮病ウイルスの検出感度比較

- 上段は、RT-LAMP反応物の紫外線下発光
- 下段は、DAS-ELISA法による発色反応
- + : 陽性 - : 陰性