

## 等温遺伝子増幅法 (ICAN 法) によるキクわい化病の簡便な診断法

### 【1 成果概要】

キクわい化病は、草丈の伸長抑制や葉の小型化を引き起こす病害であり、芽かき作業等を通じて汁液伝染するため、早期診断に基づき罹病株を抜き取る必要があります。今回、市販の遺伝子診断試薬を用いた簡便な検定法を確立し、普及センター等の簡便な実験設備でも検定できるようになりました。

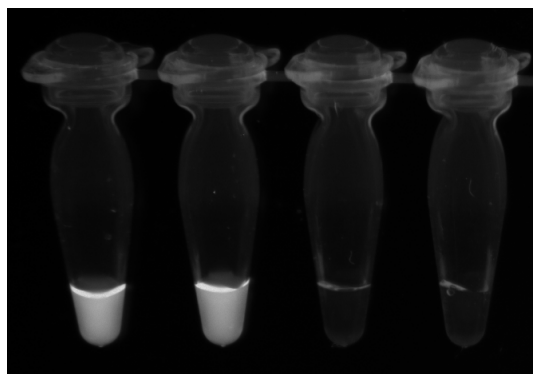
また、その所要時間は10検体当たり1時間30分と従来法 (RT-PCR 法) よりも簡便です。

(検定方法の概要)

- 1 検定に用いるキク葉は新葉を用います。葉を二つ折りにしたつまようじを用いて3回刺し、その先端に汁液が付着したものを試料とします。(図1)
- 2 汁液の付着したつまようじの先端部を専用の反応液におよそ30秒間浸漬します。
- 3 所定温度に加熱した後、UVランプ照射下でオレンジ色の発色を確認します。(図2)



図1 つまようじの先端に付着した汁液を検定試料とする



罹病株 健全株  
図2 ICAN法による保毒キク葉からのCSVdの検出 UVランプ照射下でオレンジ色に発色

### 【2 留意事項】

- 1 検定に必要な設備は、恒温器 (45 - 55 に設定できるもの)、マイクロピペット、冷蔵庫、小型簡易遠心器およびUVランプです。
- 2 検定に要する費用は、100検体当たり試薬 (Cycleave ICAN CSVd Detection Kit、タカラバイオ (株) 製) が55,000円、資材 (サンプルチューブ、チップ等) が2,500円です。
- 3 コンタミネーションを避けるため、つまようじを用いた試料の調製は別の部屋で実施します。また、検出後のサンプルチューブは、蓋を開けずに産業廃棄物として処分します。

### 【3 効果】

速やかな防除指導、健全種苗の供給につながります。

### 【4 適応対象】

農業普及員等の指導者等