

고추냉이 주요 3종 바이러스 정밀 종합검정용 ELISA진단 키트개발

1. 현황 및 문제점

- 고추냉이의 재배기술개발 및 확대보급 중 : 강원도 0.4ha('00)→0.7ha('01)
- 확대 재배 시 바이러스 피해 예방 사전대책 수립 필요
 - 조직배양묘 및 포장에서 사전방제를 위한 조기, 정밀 진단법 필요
- 바이러스 진단 고가의 수입산 진단키트 사용 - 저가 진단 키트 개발, 보급 필요.

2. 연구결과 ('00~'01)

- 고추냉이 바이러스 다량, 정밀 종합검정용 ELISA 진단키트의 적정사용조건 설정

검 사 바이러스	최 적 조 건			평 균 OD405치	비 고 (진단기작)
	항체농도 ($\mu\text{g/ml}$)	이병즙액 희석(배)	효소표지 항체희석(배)		
TMV-W	2	10-1~10-2	1×10^{-3}	2.0 ± 0.5	항체 효소반응
TuMV	"	"	1×10^{-3}	2.0 ± 0.5	
CMV	"	"	1×10^{-3}	2.0 ± 0.5	

- 반응조건 : 항체(2hrs)→시료(2hrs)→효소결합항체(2hrs) →기질(30min)

- ELISA 진단 키트 제작 및 분양가능량 (2001년)

대상작물	바이러스	분양가능량(점)	비 고
고추냉이	TMV-W	5,000	최소 실험시설 필요
	TuMV	5,000	
	CMV	5,000	

3. 기대효과

- 고추냉이의 패키지형 ELISA진단키트 개발로 주요 바이러스에 대한 종합적인 정밀 진단이 가능
- 저가의 국산 바이러스 검정키트 공급가능
 - 수입ELISA키트(1,000원/점) → 개발 시제품 키트(300원/점)

4. 적 요

- 진단방법 : 바이러스항체 코팅(2hrs) → 이병식물 즙액처리(2hrs) → 효소표지항체반응(2hrs) → 기질첨가(30min) → 이병유무진단
- 분양방법 : 신청 접수 → 진단기술 교육 → 분양 (유, 무상)

5. 유사영농활용 기술과의 차이점 : 기존 활용자료 없음

<세부연구결과성적>

- 고추냉이 바이러스병 발생양상 조사
 - 국내 고추냉이에 발생하는 바이러스 종류 조사

조사 연도	조사 지역	조사주의 외관상 병징	조사 주수	이병주				이병율 (%)
				TuMV	TMV	CMV	복합감염	
2000	철원	잎의 기형,모자이크	50	1	2	2	0	10.0
2001	철원	"	60	2	3	2	1	10.0
"	평창	"	35	2	1	1	0	11.4

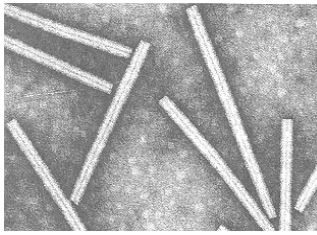
♪ Agdia사 바이러스 진단키트 SRA44501, 18700, 57400 사용

- 고추냉이에서 분리한 3종 바이러스의 지표식물 반응

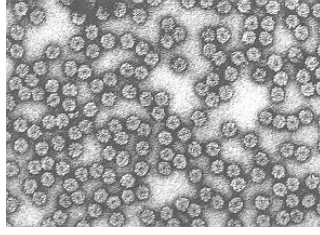
바이러스	N. glutinosa		C. amaraticola		순 무		잠 두	
	접종엽	상엽	접종엽	상엽	접종엽	상엽	접종엽	상엽
TuMV	-	M	L	-	-	M	-	-
TMV	L	-	L	M	-	M	-	-
CMV	-	M	L	-	-	M	L	-

L : 국부병반, M : 모자이크, - : 비감염, 무병징

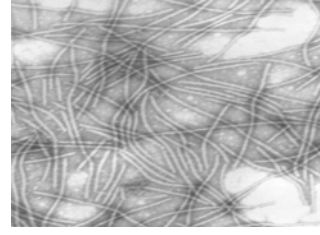
◦ 고추냉이에서 분리한 3종 바이러스 입자의 전자현미경 사진



TMV(300×18nm)

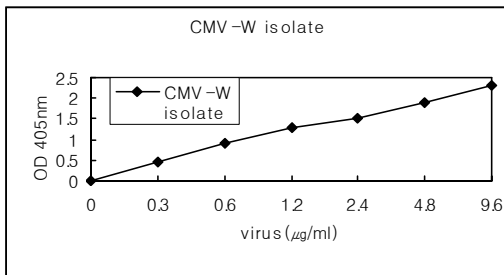
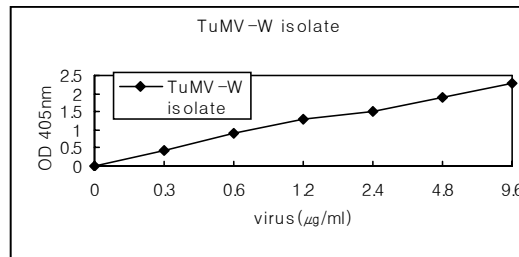
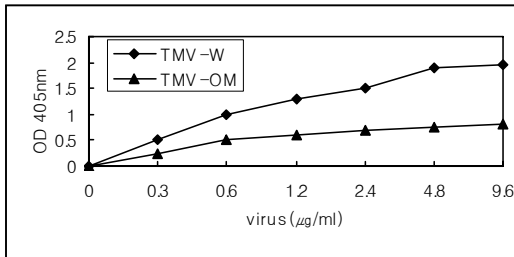


CMV(30nm)



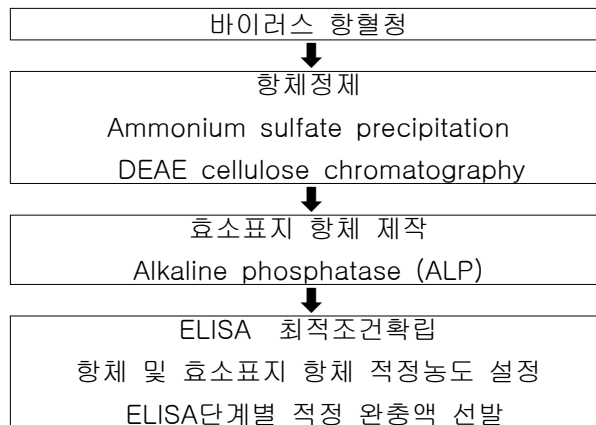
TuMV(750×13nm)

◦ 고추냉이에서 분리한 3종 바이러스의 혈청학적 특성 비교.



A : TMV-wasabi 계통과 TMV-OM의 DAS-ELISA에서 반응, TMV-W IgG 및 conjugate이용
 B : TuMV-wasabi분리주의 DAS-ELISA 에서 반응, TuMV(보통계) IgG 및 conjugate이용
 C : CMV-wasabi분리주의 DAS-ELISA 에서 반응, CMV-serotype I IgG 및 conjugate이용

◦ 바이러스병 진단법 개발



<그림 3> ELISA 검정 키트 개발 모식도