

10) 冷水病菌の培養方法の違いによる抗原性の変化について III 塩化ナトリウム添加の影響

金辻宏明

【目的】

前報で脂質やタンパク質を培地に添加すると冷水病水平感染耐過アユ血清との反応性は上昇するが、冷水病菌のウサギ赤血球に対する凝集活性と相関しないことを報告した。本報では冷水病菌の抗原性におよぼす塩化ナトリウム添加の影響について検討した。

【方法】

供試菌には1999年3月2日に冷水病で死亡したアユの腎臓から分離した*Flavobacterium psychrophilum* SG990302株および1995年に冷水病で死亡したアユの腎臓から分離された*F. psychrophilum* CS-1株を用いた。試験用培地には図1に示すように0~0.85%になるよう塩化ナトリウムをMCY 50mLに加えて調製した。種培養および試験用培地での培養(培養直後の630nmの菌液濁度も測定)は前報^{*1)}と同様とし、0.3%量のホルマリンを加えて4℃で24時間固定(FKC)した。FKCの感染耐過アユ血清に^{*2)}対する反応性は、FKC液を50mM 酢酸緩衝液pH4.5で1,000倍希釈して100 μ Lをマイクロタイタープレート〔Costar〕に加えて固相化し、前報^{*3)}と同様にして洗浄、ブロッキング、洗浄、感染耐過アユ血清と反応、洗浄、酵素標識抗体と反応、洗浄、発色、停止を行い、490nmの吸光度を測定した。また、本試験は固相化抗原の量が異なるため、図3に示すように補正式で補正して抗原性を判断した。

【結果】

培養終了直後の菌液濁度測定結果を図1に、抗原性解析結果を図2に、抗原性結果を濁度結果で補正した結果を図3に示した。増殖の指標となる濁度結果では塩化ナトリウムの濃度が高くなるにしたがって増殖量は低下した。つぎに、冷水病感染耐過アユ血清との反応性をELISAで検討したところ、塩化ナトリウム濃度で0.2%までは塩化ナトリウム不含MCYと同程度であったが、0.5%以上では抗原性は大きく低下した。この結果から、感染耐過アユ血清の認識による抗原性を高めるための塩化ナトリウムの添加は培地成分として不要またはごくわずかでよいと推察された。

※1) 金辻宏明：冷水病生菌の各種動物血球に対する凝集活性，平成15年度滋賀水試事報，in press，(2004).
※2) 金辻宏明・二宮浩司・山本充孝・遠藤誠：冷水病耐過アユの抗病性，平成14年度滋賀水試事報，204-205，(2003).
※3) 金辻宏明：冷水病菌のELISA検出時の菌体抗原の固相化条件に伴う抗原性の低下，in press，(2004).

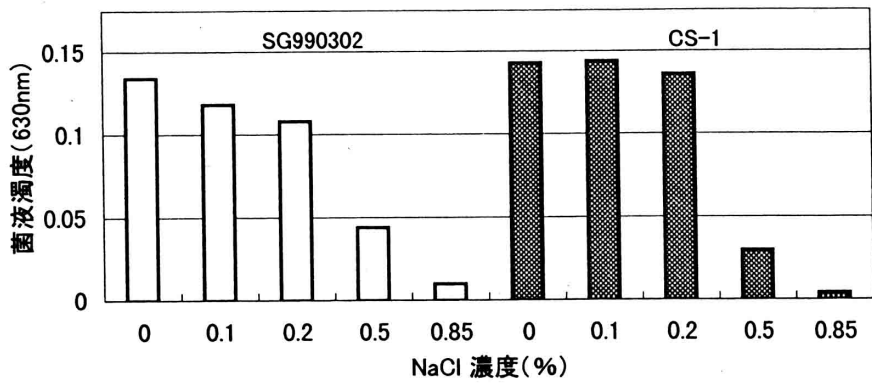


図1. 塩化ナトリウムを含むMCYで培養した培養液の濁度.

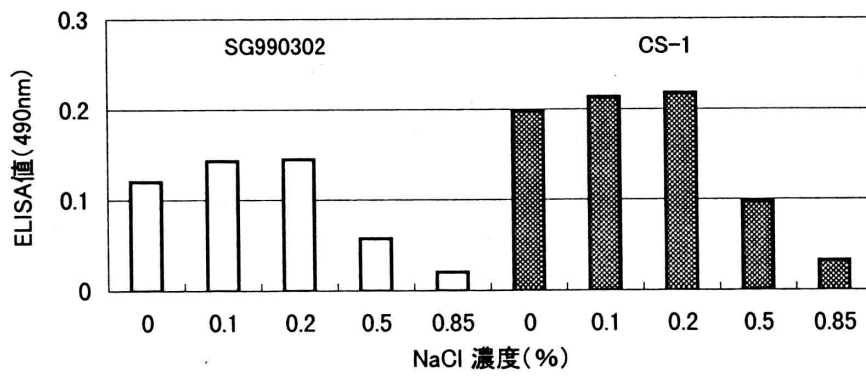


図2. 塩化ナトリウムを含むMCYで培養した培養液の感染耐過アユ血清に対する反応性(ELISA).

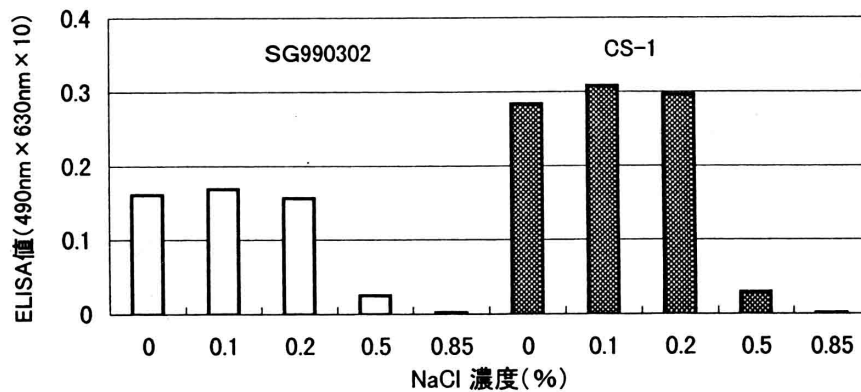


図3. 塩化ナトリウムを含むMCYで培養した培養液の感染耐過アユ血清に対する反応性(補正後).

補正式: (ELISA490nm値/濁度630nm値) × 100.