

# アユ冷水病ワクチン開発研究 - プロテアーゼに注目して -

佐野 聡哉

## 1. 研究目的

冷水病を培養した菌液の上澄み（培養上清）には冷水病菌から分泌された複数種のタンパク質分解酵素（プロテアーゼ）が存在しており、それらはワクチンの有効成分（抗原）の1つとして重要であると考えられている。従ってワクチンに含まれるプロテアーゼを増量できれば、冷水病予防効果が高まる可能性がある。本研究では、アユ冷水病菌が菌液中に多量のプロテアーゼを分泌するような培養条件を探索した。

## 2. 研究方法

培養条件の異なる菌液の培養上清中のプロテアーゼ量を比較することで、プロテアーゼ分泌量が多くなる培養条件を探索した。プロテアーゼ量の推定は、培養上清をアゾカゼイン（分解されると色素を放出するタンパク質）と一定時間反応させた後に 420nm の吸光値を測定する方法で行った。

## 3. 研究結果

培養温度は 10～16 の範囲では大きな差はなかったが、16 以上のときにプロテアーゼ分泌量が低下する傾向を示した（図1）。

培地への  $\text{CaCl}_2$  の添加の影響について検討した結果、1/2 CGY 培地に 1～10mM、MCY 培地に 5mM 添加することで、プロテアーゼ分泌量は  $\text{CaCl}_2$  を添加しないときと比べて大幅に増加した。 $\text{CaCl}_2$  を添加したときのプロテアーゼ分泌量は、1/2 CGY 培地と MCY 培地でほとんど差はなかった（図2）。

菌株間で比較した結果、アユ冷水病研究標準株である PH0424 株のプロテアーゼ分泌量は、他菌株よりも多く、 $\text{CaCl}_2$  を添加したときには添加しないときの 6 倍以上にまで増加した。一方、 $\text{CaCl}_2$  を培地に添加しても全くプロ

テアーゼ分泌量が増加しない菌株も存在しており、 $\text{CaCl}_2$  添加の効果は菌株によって大きく異なった（図3）。

