

水平感染耐過アユ血清と反応する冷水病不活化菌のワクチン効果			
<p>[要約]冷水病菌を酢酸緩衝ホルマリンで固定(反応性強化)もしくは冷水病菌体を脂質・蛋白質を微量含む培地で培養(抗原性強化)すると水平感染耐過アユ血清との反応性が上昇した。これらを浸漬ワクチンとすると抗原性強化ワクチンで効果があった。ゆえに、水平感染耐過アユ血清と培養菌体の反応性はワクチン作製の指標になると考えられる。</p>			
水産試験場・環境病理担当		[実施期間]平成11年度～	
[部会] 水産	[分野]高品質化技術	[予算区分]国庫補助	[成果分類]研究

[背景・ねらい] 冷水病菌に感染し、生残(耐過)したアユはその後の水平感染に対して高い抗病性を有する現象が知られている。この感染耐過アユの血清と反応性が高い冷水病菌体はワクチンとしての効果がある可能性が高い。このことから、本研究では従来のアジュバント添加ホルマリン不活化菌体(FKC)注射ワクチンよりも効果が高く、浸漬または経口で投与できるワクチンを開発する一環として、水平感染耐過魚血清との反応性の高い培養菌体FKCの浸漬ワクチンとしての効果について検討した。

[成果の内容・特徴]

- ① 冷水病FKCを酸またはアルカリ性溶液に浮遊させ、冷水病水平感染耐過アユ血清と酵素抗体免疫測定法(ELISA)で反応させた。通常、アルカリ性溶液を用いると反応性が上昇することが知られているが、本実験の結果、酸性溶液により反応性が上昇することが明らかとなった。なお酸性緩衝液を用いてホルマリン固定したFKCでも同様に上昇した。
- ② 冷水病菌体をTween80およびブタゲラチンを含む改変サイトファーガ液体培地(MCY)で培養した。培養菌体のFKCをELISAで感染耐過魚血清と反応させたところ、Tween80およびブタゲラチンがそれぞれ0.001および0.01%含まれるMCYで培養した菌で抗原性が上昇することが明らかとなった(抗原性強化FKC)。なお、塩化ナトリウム、金属イオン、アミノ酸、糖類等の添加では反応性は上昇しなかった。
- ③ 酸性緩衝液ホルマリン固定FKCおよび抗原性強化FKCの浸漬ワクチンとしての効果を調べた。浸漬4週間後に冷水病の水平感染攻撃を行ったところ、抗原性強化FKC浸漬ワクチンで注射ワクチン程度の有効性を示した。

[成果の活用面・留意点]

pHの影響で冷水病菌体の抗原性に変化が起こることが明らかとなった。このことは基本的な物理化学的条件での変化が起こりうることを示しており、今後このことを利用することでワクチンの有効性が高められるかもしれないと考えられる。また、培養法を変更して耐過魚血清との反応性を高めるとワクチンの有効性も上昇することから*in vitro*でのワクチン効果のスクリーニングに用いることができる可能性がある。

[具体的データ]

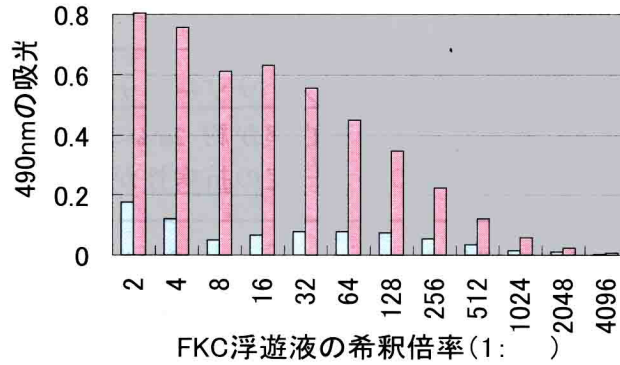


図1. 酵素抗体免疫測定法(ELISA)による、冷水病水平感染耐過アユを用いた冷水病菌体の検出における固相化用緩衝液のpHの影響。  
赤色:pH4.5, 水色:pH9.5.

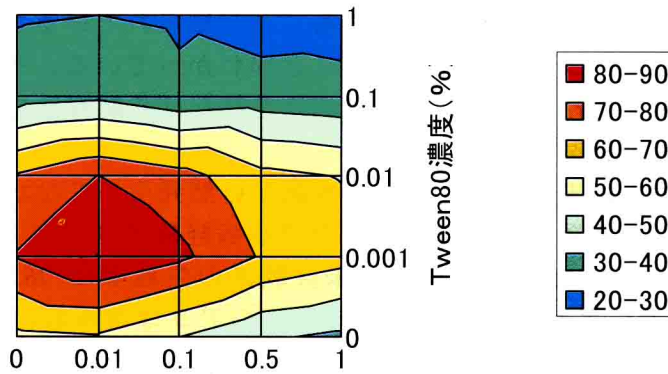


図2. Tween80およびゲラチンを含むMCYで培養した冷水病菌体の感染耐過アユ血清に対する反応性(ELISAによる490nmの吸光度/供試した菌液濁度).

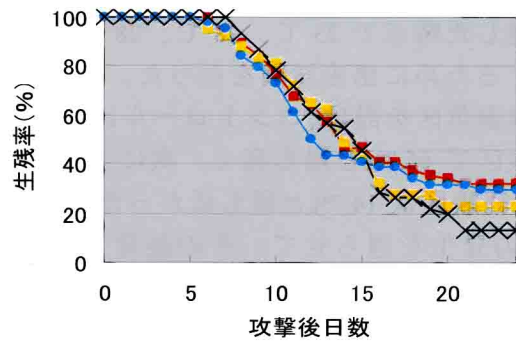


図3. 水平感染耐過湯血清と反応性の高いFKC浸漬ワクチン投与アユの4週間後の水平感染攻撃結果。  
 橙色:酢酸緩衝(pH4.5)ホルマリン固定菌体,  
 水色:ゲラチン-Tween80培養FKC(抗原性強化),  
 赤色:FKC注射,  
 ×:無処理対照区.

[その他]

- ・研究課題名
- 大課題名:消費者の多様なニーズに応える高品質・高付加価値化技術の開発
- 中課題名:特産種の安定した養殖技術の開発
- 小課題名:アユの冷水病に対する予防技術に関する研究
- ・研究担当者名
- 金辻宏明(H13~16), 二宮浩司(H6~14), 山本充孝(H9~13)