

超音波破碎した冷水病菌FKC および冷水病菌由来コラゲナーゼを併用した冷水病浸漬ワクチンの効果2

金辻宏明

1. 目的

冷水病菌のホルマリン不活化菌体(FKC)を超音波破碎したワクチン(WCS)と冷水病菌由来コラゲナーゼ(特許第6709395号)を併用したワクチンを研究中であるが、コラゲナーゼの酵素活性がWCSに作用するため混合できない。このため、コラゲナーゼの酵素活性部位を除いた不活性コラゲナーゼを作製し、WCSと混合した1回の浸漬で済むワクチンを開発した。本研究ではWCSと不活性コラゲナーゼ混合液またはWCSと活性コラゲナーゼを併用した時のワクチン効果について比較した。

2. 方法

供試魚には、2018年に琵琶湖で採捕され、28℃で加温処理した無病歴アユを用いた。供試菌には冷水病菌SG150804株を用いた。活性コラゲナーゼ溶液、WCS液および不活性コラゲナーゼとWCS混合液は、松岡科学研究所提供のものを用いた。ワクチン試験は2回実施した。ワクチン処理は、活性コラゲナーゼ区ではまず供試魚500g(1回目平均体重2.0、2回目3.0g)を地下水で20倍希釈した活性コラゲナーゼ溶液2Lに30分浸漬し、次に地下水で20倍希釈したWCSに供試魚を移して30分間浸漬して行った。不活性コラゲナーゼとWCS混合ワクチン区は供試魚500gを地下水で10倍希釈した混合液2Lに30分間浸漬して行った。また各区のワクチン処理2週間後に再度、それぞれ同様にして2回目のワクチン処理を行った。ワクチンの効果は、初回免疫28日後のアユを、攻撃用菌液を2Lになるよう地下水で4倍希釈(1回目1.4、2回目1.1×10⁹CFU/mL)した液に30分浸漬して攻撃を行って評価した。攻撃用菌液は前報と

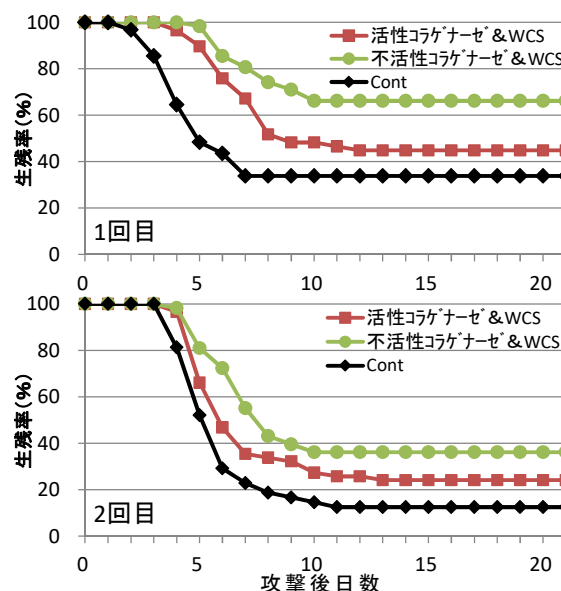


図. ワクチン接種アユの攻撃後の生残率の推移.

同様の方法で培養したものを用いた。攻撃後は前報と同様にして飼育・死亡魚を計数し、ワクチンの有効性をRPSおよびFisherの直接確率計算法で評価した。

3. 結果

2回の試験の攻撃後の生残率の推移を図に示す。活性コラゲナーゼ区および不活性コラゲナーゼ区のRPSは1回目ではそれぞれ16.6および51.2%、2回目はそれぞれ13.4および27.1%、Fisherの直接確率計算法では1回目はそれぞれ $p=0.149$ および $p<0.001$ 、2回目はともに $p<0.001$ で、不活性コラゲナーゼの方が効果は高かった。このことからWCSと混合でき、1回で投与可能な不活性コラゲナーゼの方が活性コラゲナーゼより効果および使用において優れていると考えられる。しかし、実用性があると判断されるRPS値が60%以上に達していないことから、さらに効果を上げるための研究が必要である。

※ 本報告は(財)松岡科学研究所による「平成30年度アユ冷水病ワクチンの開発に関する研究」の成果の一部である。