

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 1

金辻宏明

1. 目的

冷水病浸漬ワクチンを開発するため、本研究では、冷水病菌のホルマリン不活化菌体(FKC)を超音波破碎することでアユの免疫系に認識されやすくなると想定し、さらに冷水病菌由来コラゲナーゼ(特許第6709395号)を併用することで効果がより高まるかどうか検討した。

2. 方法

供試魚には、2017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。超音波破碎ワクチン(WCSワクチン)および冷水病菌由来コラゲナーゼワクチン(大腸菌組み換え産物)は、松岡科学研究所提供のものを用いた。

ワクチン処理は、まず供試魚500g(平均体重1.8g)を地下水で20倍希釈したコラゲナーゼワクチン液2Lに30分浸漬し、次に地下水で20倍希釈したWCSワクチン液に供試魚を移して30分浸漬して行った。また、このワクチン処理2週間後に再度、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(2.3×10^9 CFU/mL)した液に30分浸漬攻撃して評価した。攻撃用菌液は、種培養として1mM CaCl₂を含む200 mLの1/2CGY培地に種菌を接種して15℃、48時間120rpmで振盪種培養を行い、1Lの同培地に種培養菌液を加えてさらに15℃、48時間、200rpmで攪拌培養したものを用いた。攻撃後は60×30×35cm水槽(55L)に移し、地下水を通水しながら21日間飼育して死

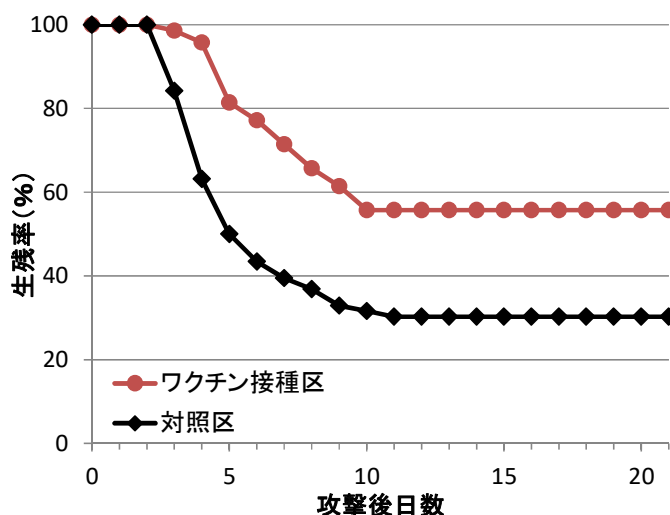


図. ワクチン接種アユの攻撃後の生残率の推移。

亡魚を計数した。

また、ワクチンの有効性はRPSおよびFisherの直接確率計算法(片側検定)で評価した。

3. 結果

攻撃後の生残率の推移を図に示す。対照区は3日後から死亡しはじめ、最終生残率は30.3%であったのに対し、ワクチン接種区の最終生残率は55.7%で、RPSは36.5%であった。Fisherの直接確率計算法(片側検定)による検定では $p < 0.002$ と有意であった。

この結果から、WCSワクチンとコラゲナーゼとの併用による冷水病に対するワクチン効果は認められたが、従来から効果があるとされるオイルアジュバント混合FKC注射ワクチンの効果より低いと推察され、さらに市販するにはWCSを作製する工程に時間と費用がかかること、アユへの接種が30分、2回と長く、それを2週間後に再度行わなければならないことから、今後さらに実用的なワクチンに改良する必要がある。

※ 本報告は(財)松岡科学研究所による「平成29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。