

# 高級魚「アラ」の安定養殖生産のための VNN ワクチンの開発

羽生和弘・田中真二・津本欣吾

## 目的

本研究は、農林水産研究高度化事業の中で、水産総合研究センター、広島大学、愛媛県および日生研株式会社とともに実施し、アラ（マハタ）のウイルス性神経壊死症（VNN）に対して、既に実験室レベルで有効性を確認している2種類のワクチン（ホルマリン不活化ワクチン、大腸菌組換えタンパクワクチン）について、その実用化に必要な知見を得ることを目的とする。研究課題は、1. ワクチン株に関する研究、2. ワクチンの投与方法に関する研究、3. ワクチンタイプに関する研究、4. 野外での自然感染に対する有効性に関する研究の4つである。本県は、共同研究機関が作製したワクチンを用いて人為感染試験および野外試験を行い、ワクチンの有効性を評価するとともに、用法と用量を決定する。

## 方法

過去の研究において、大腸菌のタンパク質発現系を用い調製した組換えウイルス外被タンパク質（大腸菌組換えタンパクワクチン）をマハタの筋肉内に2回接種する条件下で、血中のウイルス中和抗体の誘導が確認されている。さらに同条件でワクチンを接種したマハタでは、

注射攻撃による人為感染に対し、有意な感染死亡率の低下が認められている。今年度は、組換えワクチンを2回接種する方法の有効性を、より小さな魚体サイズで確認した。試験区は、平均体重4.5gと10.6gの2条件、ワクチン接種とPBS接種（対照）の2条件、ウイルス攻撃濃度2条件の組み合わせで、計8試験区とし、マハタを100L水槽16槽に25尾ずつ収容し、水温25℃に馴致した後、各試験区に2槽を割り当てた。ワクチン接種区には、ワクチンを抗原量50µg/0.1mL/尾の濃度で接種し、その10日後にも同濃度のワクチンを接種した。対照区には、PBSを0.1mL/尾の容量で接種し、その10日後にも等量のPBSを接種した。2回目接種の10日後に、E-11細胞で培養したSGMie95株ウイルスを筋肉内に $10^{3.0}$ または $10^{4.0}$ TCID<sub>50</sub>/0.1mL/尾の濃度で接種し、20日間の累積死亡率を観察した。

## 結果および考察

ワクチン接種区の累積死亡率は対照区と差がなく、魚体重5~10g程度のマハタでは組換えワクチンの有効性は認められなかった（表1）。これまでの試験では、平均体重13gで有効性が確認されていることから、組換えワクチンの投与可能最小サイズは十数g以上と思われる。

表1. 組換えワクチンの最小魚体サイズの試験結果

平均魚体重 (g)	攻撃ウイルス量 (LogTCID <sub>50</sub> /尾)	接種物	ワクチン抗原量 (µg/回/尾)	接種回数	ウイルス攻撃後 平均累積死亡率 (%)
4.5	3.0	組換えワクチン	50	2回	40
		PBS (対照)	0	2回	36
	4.0	組換えワクチン	50	2回	42
		PBS (対照)	0	2回	36
10.6	3.0	組換えワクチン	50	2回	44
		PBS (対照)	0	2回	38
	4.0	組換えワクチン	50	2回	40
		PBS (対照)	0	2回	42