

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共同で実施し、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及び野外試験を行い、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。本事業では、効果的な接種部位について検討し、ワクチン接種時の液漏れがより少ないと思

われる腹腔への接種においても有効性を確認するとともに、有効な投与量を明らかにした。

試験区は、高濃度ワクチン1回接種区、低濃度ワクチン2回接種区、対照区、計3試験区とし、マハタを100L水槽6個に25尾ずつ収容し、水温25℃に馴致した後、各試験区に2水槽を割り当てた。高濃度ワクチン1回接種区には、ワクチンを100µg/0.1ml/尾の濃度で接種し、その10日後に、0.1mlのPBSを接種した。低濃度ワクチン2回接種区には、ワクチンを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/尾の濃度で接種し、その10日後にも、同濃度の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 $10^{4.5}$ TCID₅₀/0.1ml/尾の濃度で接種し、14日間の累積死亡率を観察した。死亡魚については、抗SJNNVウサギ血清を用いた間接蛍光抗体法で、VNNによる死亡であることを確認した。

結果と考察

ワクチン接種区の累積死亡率は対照区よりも有意に低く、低濃度ワクチン2回接種区の累積死亡率は高濃度ワクチン1回接種区よりも有意に低かった。つまり、組換えワクチンは50µg/0.1ml/尾の濃度で、10日おきに2回接種すればよいことがわかった。