

## クルマエビの免疫様現象を利用したWSDの防除技術 の開発

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 水産総合研究センター 公開日: 2024-07-17 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	<a href="https://fra.repo.nii.ac.jp/records/2010144">https://fra.repo.nii.ac.jp/records/2010144</a>

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.



## クルマエビの免疫様現象を利用したWSDの防除技術の開発

養殖研究所 病害防除部

### 研究の背景・目的

1. ホワイトスポット病(white spot disease (WSD = PAV : penaeid acute viremia))は、国内のクルマエビ類の増養殖のみならず世界的にも被害をもたらしています(2005年国内7億円, 1992~2006年間アジア地域60億USドル)。
2. この研究では、ウイルスタンパク質の経口投与効果による免疫様現象(ワクチン)を利用したWSD予防効果を確認するとともに、効率的な投与手法の検討も進め、クルマエビ養殖漁業におけるWSDの実用的な予防策の構築を目的としています。

### 研究成果

1. WSD原因ウイルス(WSSV)の組換え外被タンパク質(以下rVPs)の有効最少投与量が約10 $\mu$ g/g shrimpであることを明らかにしました(表1)。
2. 同じrVPを追加投与することで、防除効果を維持させることができました(表2)。
3. 一方、追加投与するrVPが初回と異なる場合には、防除効果は小さくなりました(表2)。
4. ウイルス表面タンパク質であるrVP28を投与し

表1. WSSVのrVP26およびrVP28の経口による有効投与量に関する試験

投与量 ( $\mu$ g/g shrimp/day)	rVP26		rVP28		E.coli*1		PBS 累積 死亡率 (%)
	累積 死亡率 (%)	RPS (%)	累積 死亡率 (%)	RPS (%)	累積 死亡率 (%)	RPS (%)	
10	24**	73	36**	59	96	0	88
5.0	52**	11	72	18	—	—	—
2.5	36**	59	80	9	—	—	—
1.25	56	36	76	14	—	—	—
0.63	64	27	80	9	—	—	—

\*1. 投与量は、25 $\mu$ g/g shrimp  
n=25

平均体重0.5gのクルマエビにそれぞれのタンパク質を配合飼料に添加して、フィードオイルでコーティングして15日間投与しました。rVP26は、WSSVの内側の外被タンパク質でrVP28は、外側の外被タンパク質とされています。投与開始から40日後にWSSVの含まれた海水に浸漬して、人為感染を起こし、20日間観察し、死亡数をカウントしました。その結果、非投与対照区としたPBS区については、88%の死亡率を示しました。rVPsには、発現に用いたE coli(大腸菌)由来のタンパク質が含まれることから、投与対照区としてE Coliを与える試験区を設けたところ、死亡率は96%に達しました。rVPsを10 $\mu$ g/g shrimp/dayで投与した試験区においては、対照区に比較して有意に(危険率1%)死亡率が減少し、RPS(ワクチン有効率:60%以上で有効とされる)も60%前後となり、高い防除効果が示されました。

たクルマエビ血リンパ中に、ウイルスを中和する活性があることを見出しました(表3)。

### 波及効果

1. 得られた成果は、rVP投与による免疫様現象を利用した本病の予防法開発・実用化へ向けた基礎データとなりました。本技術の早期実用化を目指します。
2. 抗体を持たない甲殻類において、追加投与に特異性が見られることから、本技術の実用化、さらにはその高度化にあたっては、本免疫様現象のメカニズム解明が重要であることを示しました。

表2. WSSVのrVPsの経口投与による防除効果の現れ方について

初回投与 1-15日	初回投与からの経過日数						
	35日	45日	55日	106日	追加投与 106-112日	113日	
VP26	累積死亡率(%)	80	87	24**	55	VP26 累積死亡率(%)	0**
	RPS(%)	11	0	73	21	VP28 累積死亡率(%)	30
VP28	累積死亡率(%)	87	87	36**	90	VP26 累積死亡率(%)	26
	RPS(%)	4	0	59	0	VP28 累積死亡率(%)	42
E.coli	累積死亡率(%)	43**	100	96	61	VP26 累積死亡率(%)	45
	RPS(%)	52	0	0	13	E.coli 累積死亡率(%)	0
PBS	累積死亡率(%)	90	80	88	70	VP26 累積死亡率(%)	25
	RPS(%)	—	—	—	—	VP28 累積死亡率(%)	44
						PBS 累積死亡率(%)	45

平均体重80mgのクルマエビに大腸菌で発現したrVP26またはrVP28を配合飼料に混入し、追加投与時に初回投与と同じ(ホモ)あるいは異なる(ヘテロ)rVPを投与して、感染防御反応の出現状況を観察しました。その結果、初回投与と同じrVPsを投与した追加投与区において高い防除効果が確認されました(RPS:rVP26:100%, rVP28:67%)。

X<sup>2</sup>検定による有意差\* (5% level) \*\* (1% level)

表3. rVPs投与個体の血リンパ中のWSSV中和活性

	投与個体の防除能		投与個体の血リンパの中和能	
	累積死亡率(%)	RPS(%)	累積死亡率(%)	RPS(%)
PBS	60	—	53	—
rVP26	5**	92	53	0
rVP28	10**	83	13**	75

平均体重1.0gのクルマエビに大腸菌で発現したrVP26またはrVP28を筋肉注射(2回)し、初回投与から30日後に人為感染させるとともに、一部の個体から血リンパを採取して、試験管内でWSSVと混合して、新たな感染履歴のないクルマエビに筋肉注射しました。その結果、rVPsを投与した個体で高い防除効果が確認されました(RPS:rVP26:92%, rVP28:83%)。一方、中和試験では、rVP28投与区のみで死亡率の低下が観察されました。X<sup>2</sup>検定による有意差\*\* (1% level)。