

## Ⅲ-C 病害対策

### 13 魚病診断：より速く、より正確に

#### — 疾病診断手法の開発 —

魚病対策は、もちろん予防が第一ですが、発生した場合には、早期に発見し、迅速かつ正確な診断に基づく早期の対策が重要になります。例えば、投薬による治療を行う場合、病原体によって効果のある薬剤が異なり、また1日でも早い治療開始が求められます。従って、「より速く、より正確」な診断が魚病対策の鍵を握ります。

ここでは、近年技術進歩の著しい遺伝子診断法について紹介します。

#### PCR（ポリメラーゼ連鎖反応）診断法

PCR 診断法とは、病原体の遺伝子の一部をポリメラーゼという酵素を用いてねずみ算式に増幅し、それらを電気泳動法（写真）により検出する方法で、検出感度が高く、検査も6時間内で終了し、迅速性、信頼性において優れた手法です。現在では、新たな病原体が見つかるたびに、その増幅に適した条件が開発されるようになり、PCR 診断法は一般的な診断法となりました。

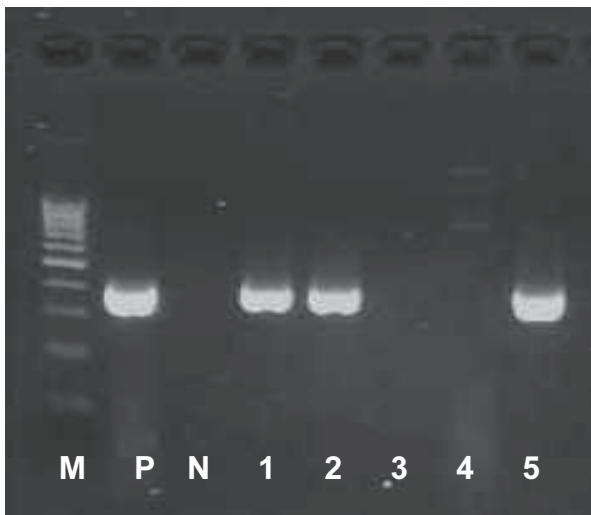


写真 PCR 法の電気泳動像の例

病原体があると特定の位置に白いバンドとして示される。

M: DNA 分子量マーカー

P: 病原体の陽性対照

N: 陰性対照

1, 2, 5: 病原体の陽性サンプル

3, 4: 陰性サンプル

#### DNA チップ

開発した DNA チップ（小さな基板（チップ）の上に病原体の DNA を貼り付けたもの）は、魚介類の病原となる細菌を多数の細菌の中から検出するもので、扱いが容易で感度も良く費用も安いのが特徴です（1回 100 円程度です）。この細菌検出用の

DNA チップには国内で発生する既知の病原細菌の大部分と国内未侵入の重要病原細菌の 28 種類の DNA を貼り付けてあります。このチップを用い、病魚の試料との反応後、チップ上の 1 つのスポットが陽性となったとすると、この陽性スポットを示す細菌と、同種か近縁の細菌がこの病気の原因と推定できます。



写真 魚介類病原細菌検出用 DNA チップ

右側：青いスポットは病原体の DNA を貼り付けている場所を示している

### 近い将来は・・・

迅速に病気が診断され、初期に、そして的確に治療することができることから、薬代が低減でき、歩留まりも向上し、収益アップにつながります。

(養殖研究所：釜石 隆、湯浅 啓)

なお、本項で紹介した DNA チップはまだ市販されていません。魚病診断についてはまず地元都道府県の水産関係試験研究機関にご相談下さい。養殖研究所も病害防除に関する相談をお受けしますので、養殖技術相談窓口までお問い合わせ下さい。

## コラム7. 原因不明な病気の診断

養殖場で病気が発生した場合、通常養殖場のある地区を担当する都道府県の水産試験場など試験研究機関の魚病担当者が病気の診断を行っています。しかしながら、最近は様々な種類の魚介類が養殖されるようになってきているのに伴って、原因のわからない新しい病気が次々に出てきています。水産総合研究センター養殖研究所の魚病診断・研修センターでは、この様な原因が不明な病気が発生した場合、試験場の魚病担当者から連絡を受け、病理組織の観察、培養細胞によるウイルスの分離、様々な培地を用いた細菌培養、種々の PCR 法や DNA チップによる検査など、様々な

方法を用いて原因の究明を行っています。

(養殖研究所：大迫典久)



写真 不明病診断の取り組み

(a) 観察・解剖 (b) ウイルス・細菌の培養  
(c) 組織観察 (d) PCR診断

## 14 治療から予防へ

### —魚病ワクチンの開発—

消費者の養殖生産物への安心・安全性への関心が高まっており、薬剤を使用しない養殖が求められています。病気になった魚に抗菌性物質等の薬剤を投与して治療するのではなく、ワクチン接種により病気を予防した魚で養殖することが期待されるようになったのです。現在、魚類用ワクチンは様々な病気に対して開発が試みられ、その中には非常に有効なワクチンも作製されており、養殖魚の生産増加に貢献しています。実際、ここ何年かでは、販売額で水産用ワクチンが薬剤を追い抜くという状況になっています。

#### 現在のワクチン

日本では、病原体をホルマリンで殺して作製するワクチン（ホルマリン不活化ワクチン）が主流です。これを魚に注射したり、餌や飼育水に混ぜたりして魚の体内に取り込ませます。体内に入ったワクチン（殺した病原体）に対して魚は免疫を作り、その病気に対する抵抗性を得ることができるのです。

#### 日本で承認されている魚類ワクチン

病名	対象魚種	投与方法
ピブリオ病	アユ、サケ科魚 ブリ属	浸漬 注射
$\alpha$ 溶血性レンサ球菌症	ブリ ブリ属	経口 注射 注射
$\beta$ 溶血性レンサ球菌症	ヒラメ	注射
イリドウイルス病	マダイ ブリ属 シマアジ ヤイトハタ	注射 注射 注射 注射
油性アジュバント加 $\alpha$ 溶血性レンサ球菌症 +類結節症	ブリ	注射

$\alpha$  溶血性レンサ球菌+ピブリオの2価ワクチン有り  
 $\alpha$  溶血性レンサ球菌+イリドウイルスの2価ワクチン有り  
イリドウイルス+ピブリオ+ $\alpha$  溶血性レンサ球菌の3価ワクチン有り

#### ワクチンの開発

これまでに開発したマダイのイリドウイルスワクチンは、ブリなど他の魚種にも適応拡大され、実際の養殖場で広く使用されており、その効果が実証されています。現在は、大きな問題となっているアユの冷水病やマハタのウイルス性神経壊死症（VNN）

に対してワクチンを開発しています。

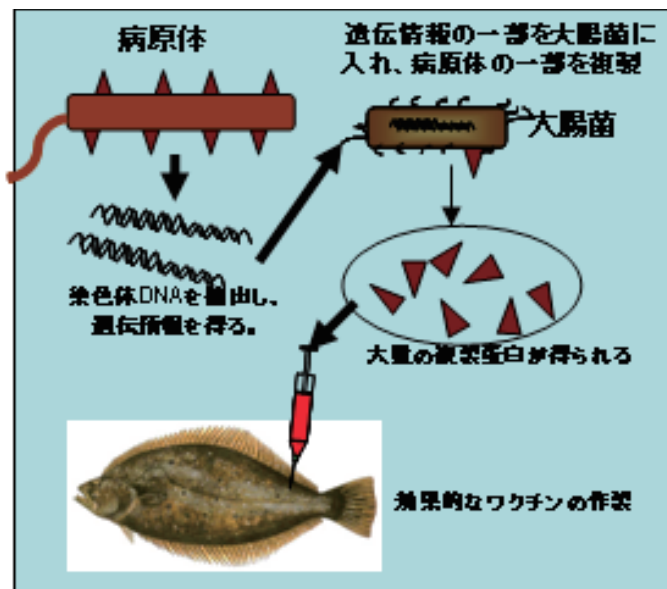
特にVNNは様々な魚種で被害をもたらしており、ワクチンの実用化が期待されていることから、有効なワクチンの作製方法や投与方法を検討し、注射ワクチンを試作しました（写真）。この試作品を養殖場において使用したところ、VNNの感染を抑えることが実証されました。このワクチンの実用化が現在進行中です。



写真：注射ワクチンの接種の様子

### 新しいワクチン開発への試み

病気の種類によってはワクチンの作製が難しい場合もあり、そのような病気に対応するため、新しいタイプのワクチン開発にも取り組んでいます。まず、病原体の遺伝情報から、その病原体のワクチン（抗原）となる部分の情報（DNA配列）を見つけ出します。そして、その遺伝情報を大腸菌に導入し、大腸菌に大量の抗原を作らせます。



この方法では、ワクチンの元となる病原体を増やさなくても、遺伝情報さえあればいくらでも大腸菌にワクチンを作らせることができるので、ワクチンの作製が簡単になります。この方法が実用化されれば、多くの病気の予防に応用でき、役立つことが期待されています。

### 近い将来は・・・

いろいろな病気に対するワクチンの導入により、新たにワクチン代が必要になりますが、歩留まりが飛躍的に向上し、薬代もなくなりますので、収益アップにつながります。さらに、消費者に安全・安心な商品（養殖魚）を提供することができます。

（養殖研究所：中易千早、森広一郎）

