

エゾアワビに対する *Vibrio harveyi* の感染様式解明の試み

○ 吉江香・澤辺智雄・田島研一（北大院水）

キーワード：*Vibrio harveyi*・腹部膨満症・緑色蛍光タンパク質（GFP）・感染様式

【目的】エゾアワビ種苗生産施設では、夏季の高水温期に腹部膨満症と呼ばれるエゾアワビの大量死が発生し、この施設における計画的な生産事業の妨げとなっている。この腹部膨満症原因細菌は、*Vibrio harveyi* であることが解明され^{※1}、また、この *V. harveyi* が沿岸海水からエゾアワビ水槽に侵入する生態も明らかになりつつある^{※2}。しかし、*V. harveyi* のエゾアワビ体内への感染様式や侵入門戸は明らかとなっていない。病原微生物の宿主生物への感染様式および侵入門戸を調べる方法として、緑色蛍光タンパク質(GFP)を発現した細胞を用いる手法が知られている。GFP 発現微生物は、蛍光顕微鏡下で容易に視覚化でき、微生物が宿主と相互作用する部位を観察できる利点がある。そこで、本研究では、GFP 標識 *V. harveyi* を用い、本菌のエゾアワビへの感染様式および侵入門戸の解明を試みたので、その結果を報告する。

【材料と方法】供試菌株には、*V. harveyi* S20 株（エゾアワビに対する LD₅₀ が 6.4×10^5 CFU/g 個体）、および pKV111 (*gfp*, Cp^R) プラスミッドを接合伝播された GFP 標識 *V. harveyi* を用いた。まず、GFP 標識 S20 株は、エゾアワビ（平均 5.36g）に対する注射法による感染実験を行い、プロビット法により LD₅₀ を算出し、S20 野生株のそれと比較した。次に、この GFP 標識株を 10^5 CFU/ml になるよう調製した密閉水槽（20）に、アワビ（平均 3.70g）を 6 個体ずつ入れ 48 時間までの浸漬法による攻撃を行い、本菌のエゾアワビへの侵入門戸の解明を試みた。浸漬攻撃、6, 24, 48 時間後にアワビを取り出し、エラ、腹足、口器、上足、内臓におけるこの GFP 標識株の生菌数の変動を調べるとともに、本菌の付着状況を蛍光顕微鏡下で観察した。

【結果と考察】GFP 標識 S20 株の LD₅₀ は、アワビ 1g 当たり $10^5 \sim 10^6$ CFU となり、野生株の毒力と大きな差異は認められなかった。この GFP 標識株を用い、エゾアワビに対して浸漬攻撃をしたところ、内臓において著しい生菌数の増加が観察され、攻撃 6 時間後に 7.8×10^1 CFU/個体であった生菌数が、24 時間では 2.9×10^5 CFU/個体、48 時間後では 1.6×10^6 CFU/個体に増加した。また、腹足とエラにおいては、攻撃 6 時間後には 10^3 オーダーであったものが、24 時間後には腹足では 7.0×10^4 CFU/個体、エラでは 2.1×10^4 CFU/個体、に増加した。顕微鏡観察において、本菌がエラで密集している様子が観察された。エラ以外の部位では菌体の付着がほとんど認められなかった。この結果から、内臓およびエラが、アワビに対する *V. harveyi* の侵入門戸の可能性が高いと考えられた。

※ 1：井上ら、2005、日本水産学会 平成 17 年度大会要旨集 p251.

※ 2：福井ら、2005、日本水産学会 平成 17 年度大会要旨集 p251.