

通し番号	5096
------	------

分類番号	R03-97-32-03
------	--------------

アワビの筋萎縮症の病原体ウイルスの簡易抽出検査法の開発
[要約] アワビの筋萎縮症の病原体とされるウイルスのPCR 検査において、アワビの血リンパを熱抽出してサンプル調整する簡易抽出検査法について検討したところ、その有効性が確認された。
神奈川県水産技術センター・栽培推進部 連絡先046-882-2314

#### [背景・ねらい]

アワビ類の筋萎縮症は1970年代後半から種苗生産施設で発生し、本県においても1993年にクロアワビで確認されており、近年では全国的に蔓延していると考えられている。本病は濾過性病原体による感染症とされ、研究が進められてきたが、2020年にAbalone asfa-like virus (以下、AbALV) が病原体ウイルスであると推定され、そのPCR 検査方法が開発された。しかし、一般的なDNA 精製キットを用いたサンプル調整方法はコストと時間を要するため、生産現場で頻繁な魚病検査を実施するにあたっては低コストかつ簡易的な手法が望まれてきた。

当センターではアワビの細菌性疾病の診断については、簡易抽出検査法を用いてPCR検査を実施してきた。一方、ウイルス性の疾病については原因ウイルスが宿主の細胞内のみで増殖するため、アワビの細胞を十分に溶解する必要があるため、同検査法では困難であると考えられていた。

#### [成果の内容・特徴]

- 1 細菌性疾病の診断に用いている簡易抽出検査法が、ウイルス性疾病の検査に利用できるか検討したところ、AbALVの診断にも有効であることが明らかになった。
- 2 2020年の魚病検査において体組織からAbALV が検出された飼育群（表1）と2021年の死亡発生時の飼育群（表2）について、アワビ5 個体分の血リンパをまとめて1検体とし、AbALV 検出PCR を行った。簡易抽出検査法によるAbALV の検出率は40～100%（表1）、死亡発生時の検出率は50～100%となり（表2）、魚病検査に利用できることを明らかにした。
- 3 簡易抽出検査法はアワビの血リンパの加熱処理のみでDNA抽出を行うので、従来のDNA精製キットによるサンプルの溶解や遠心分離を繰り返す等の検査工程が省け、コストと時間が大幅に削減された。さらに魚病検査の際に血リンパによる細菌検査も同時に実施できるメリットもあった。

[成果の活用面・留意点]

- 1 血リンパや血球は体組織に比べAbALV の検出率が低いとの報告がある。
- 2 本手法は大量死が発生しておらず検出率が低いと見込まれる際の検査や、正確な感染率を求める必要のある疫学調査には適さないと考えられる。
- 3 一方で、生産現場で大量死が発生している際や、大量ロットにおける感染の有無を調べるなど簡易的な検査を行う際には有用と考えられた。
- 4 現在、当センターにおけるアワビの魚病検査の際には、細菌感染とAbALV感染の有無を同時に調べるため、血リンパを採取して細菌の培養を行うとともに簡易抽出検査法によるAbALV検出PCRを実施しており、同検査法を魚病診断業務に活用している。

[具体的データ]

**表1 簡易抽出検査法によるAbalone asfa-like virusの検出**

調査日	水温(°C)	サンプル	検査部位	水槽	平均殻長(mm)	外部症状(欠刻)	累積死亡率(%)	検出数/調査検体数	検出率(%)
2020年5月19日	18.2	メガイアワビ	血リンパ	巡流12	11.9	無	10	6/6	100
		メガイアワビ	血リンパ	角6	11.2	無	50	6/6	100
2020年6月3日	20.5	メガイアワビ	血リンパ	角8	12.7	無	50	2/5	40
		メガイアワビ	血リンパ	角12	15.4	無	20	2/5	40

注：魚病研究 57 巻 1 号の表 1 を抜粋

**表2 死亡発生時のAbalone asfa-like virusの検出**

調査日	水温(°C)	サンプル	検査部位	水槽	平均殻長(mm)	外部症状(欠刻)	死亡数/日	検出数/調査検体数	検出率(%)
2021年1月26日	18.0	クロアワビ	血リンパ	角1	10.8	無	1,000程度	6/6	100
		クロアワビ	血リンパ	角2	11.2	無	1,000程度	3/6	50
		クロアワビ	血リンパ	角4	7.8	無	1,000程度	4/6	66.7

注：魚病研究 57 巻 1 号の表 2 を抜粋

[資料名] 魚病研究 57 巻 1 号 p. 30-32.

[研究課題名] 神奈川県下のアワビ類種苗生産施設におけるAbalone Asfa-like ウイルス調査

[研究期間] 令和元年～3年度

[研究者担当名] 相川 英明