

に、ATRA 強化ワムシをヒラメの A-B ステージに給餌すると、白化率の増加、顎・尾椎の異常のみならず、腹椎骨数の増加などが観察されている。一方、ヒラメの黒化(無眼側色素異常)も最近大きな問題となっているが、発現要因の一つにビタミン D の過剰投与が関与しているとの示唆を与える結果が報告された。なお、ヒラメの体色異常の要因を突き詰めるとホルモンの関与が想起され(例えば、E ステージのヒラメを 10 nM のチロキシンで浸漬すると 90% 以上の魚が白化する)、今後栄養素からの代謝産物やホルモンがクローズアップされよう。(竹内俊郎・東水大)

### PCR による魚類の細菌感染症の迅速診断法

PCR (Polymerase Chain Reaction: ポリメラーゼ連鎖反応) は微量の DNA (RNA) からその特定領域をおよそ百万倍にも増幅することが出来る。この画期的な技術が Kary Mullis (1986) によって考案され、次いで、PCR は自動化され、誰にでも簡単に行えるようになった。魚病の分野においても各々の魚類病原菌が持つ特異的な断片を増やすことにより、各種魚類病原菌の同定あるいは検出が迅速かつ簡便に行えるようになった。以下、その原理、手法を紹介する。

まず、鋳型となる DNA 2 本鎖を加熱して変性し、1 本鎖に解離する(熱変性)。次に、増幅したい特定領域の DNA 鎖の両端に相補的な 2 種類のプライマーを変性 1 本鎖 DNA と反応させ、温度を下げることによりプライマーが DNA 相補的な部位と 2 本鎖を形する(アニーリング)。この状態で DNA 合成基質の 4 種類のデオキシリボヌクレオチド三リン酸と耐熱性 DNA 合成酵素を作用させると、プライマー部位から鋳型 DNA の塩基配列に従って相補鎖を合成し、2 本鎖 DNA を合成する(相補鎖の伸長)。この 3 段階の反応を 30 サイクル繰り返すことにより同じ塩基配列を持つ DNA 断片を短時間の内に多量に得ることが出来る。増幅した DNA 断片はアガロースゲル電気泳動を行うことにより確認できる。また、鋳型 DNA (魚類病原菌の染色体 DNA) を煮沸法により簡単に抽出できる。

現在までのところ魚類病原菌; *Aeromonas salmonicida* subspecies *salmonicida*, *Cytophaga psychrophila*, *Edwardsiella tarda*, *Lactococcus garvieae* (*Enterococcus seriolicida*), *Pasteurella piscicida*, *Renibacterium salmoninarum*, *Vibrio anguillarum*, *Vibrio trachuri* および *Yersinia ruckeri* の持つ特異的な DNA 断片がクローン化され、すでに PCR 用プライマーが設計されている。これらのプライマーを用いて PCR 法により魚病診断あるいは病原菌の養殖場の池水、底泥から検出が広く行われるようになってきている。(青木 宙・東水大)

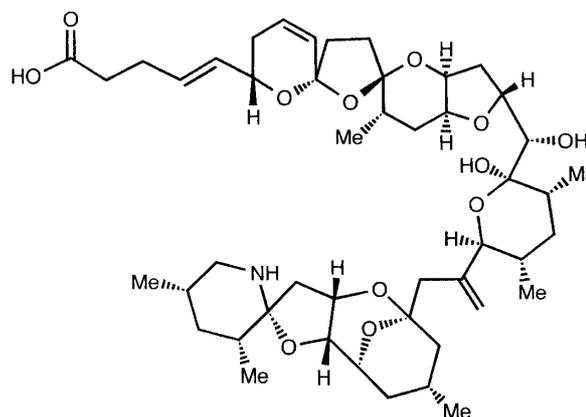
### PCR 法による魚介類病原ウイルスの検出

魚介類病原ウイルスの遺伝子レベルでの解析が進み、既に多くのウイルスで PCR 法による検出系が確立されている。特に、分離培養系が樹立されていないウイルスの検出には PCR 法は不可欠である。例えば、シマアジ仔稚魚のウイルス性神経壊死症 (VNN) では、種苗生産用の親魚から VNN 原因ウイルス (SJNNV) を PCR 法により検出し、ウイルス保有親魚を排除することにより垂直感染の防除が行われている。また、SJNNV 検出用 PCR により 20 種以上の VNN 罹病魚種からウイルスが検出され、それらの分子進化学的解析も行われた。クルマエビの急性ウイルス血症 (PAV) の原因ウイルスである PRDV では、PCR 法が国内での標準的な検出法として普及しており、PRDV の感染経路あるいは宿主範囲の解明にも応用されている。この様に、PCR 法は魚介類のウイルス感染症に関する様々な研究で多用されているが、感度が高すぎるために診断法としては必ずしも適当ではない。すなわち、PCR 法によりウイルスが検出されても、そのウイルスが病気の原因となっているとは限らないからである。したがって、確定診断を行うためには、従来用いられてきた組織学的あるいは免疫学的検査などの併用が不可欠である。

(西澤豊彦・広大生物生産)

### 下痢を主徴とする新しい貝毒の出現

アイルランドから輸入された養殖ムラサキイガイによる食中毒が 1995 年 11 月にオランダで発生した。下痢、腹痛など消化器系障害がおもな症状であったため、当初は下痢性貝毒が疑われたが、産地の貝からマウス試験で毒性が検出されたものの、HPLC 分析でオカダ酸などの下痢性貝毒群は検出されなかった。東北大学で毒性を指標にした精製・単離、構造解析が行われた結果、アザスピロ環など特異な構造をもつ新しい化合物が発見され、アザスピロ酸 (azaspiracid) と命名された。アイ



アザスピロ酸の構造