

家蚕軟化病ウイルスの免疫化学的性状について I

誌名	日本蠶絲學雜誌
ISSN	00372455
著者名	栗栖,式彦 松本,継男 姫野,道夫 富岡,慶信
発行元	日本蠶絲學會
巻/号	44巻2号
掲載ページ	p. 151-153
発行年月	1975年4月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



家蚕軟化病ウイルスの免疫化学的性状について

I. 中和試験

栗栖 弐彦¹⁾・松本 継男²⁾・姫野 道夫³⁾・富岡 慶信⁴⁾

- ・ 1) 左京区松ヶ崎・京都工芸繊維大学繊維学部 (〒606)
- 2) 神戸市・兵庫県衛生研究所 (〒652)
- 3) 京都市・京都大学農学部 (〒606)
- 4) 美濃加茂市・岐阜県蚕業試験場 (〒505)

(昭和49年3月25日 受理)

軟化病ウイルス(坂城株)の精製にあたり、180S(以下FVSIとよぶ)と135S(以下FVSIIとよぶ)との沈降恒数の異なる粒子分画を得(HIMENOら, 1974),ともに蚕児に対して病原性を有していた(栗栖・姫野, 1974)。一方,古田(1973),松井(1973)も従来から軟化病ウイルスとみなされてきたもの(鮎沢, 1972)より小型のウイルス粒子の存在を指摘している。そこでこの2種の軟化病ウイルス粒子存在の生物学的意義を明らかにする一助として、FVSIとFVSIIとの免疫抗血清を作成し、中和試験を中心として若干の血清学的検討を加えた。

本研究を行なうにあたり、武田薬品工業株式会社内藤謙一博士から材料蚕の提供をうけた。ここに厚く感謝の意を表する。

材料と方法

中和試験に用いた材料蚕は、稚蚕期を人工飼料で無菌飼育し、4齢以後は桑葉で飼育した郡秋×秀月である。また軟化病ウイルス(坂城株)は、農林省蚕糸試験場ウイルス研究室から分譲して貰い継代したものであ。

ウイルス液は蔗糖濃度勾配遠心法によって分画精製したもので(HIMENOら, 1974; 栗栖・姫野, 1974),透析濃縮したのちにO.D. 260 m μ 0.15に調製して原液とした。

抗血清の作成は、次の免疫スケジュールに従った。FVSI, FVSII各原液の2倍稀釈液を家兎(♂)の静脈に、初回2 ml, 以後4 ml, 4日間隔で10回

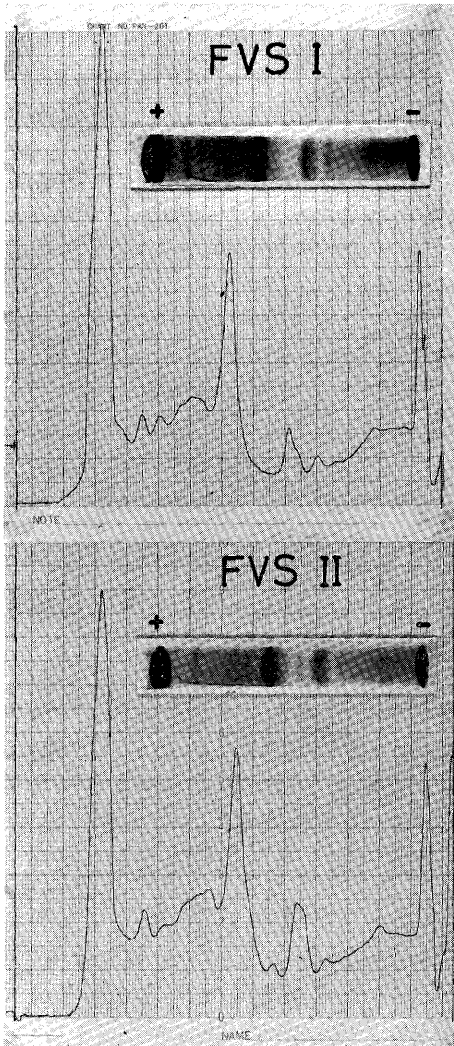
の免疫操作を繰返した。免疫抗血清は56°C, 30分間非動化したのちに小型アンプルに分注し、凍結保存した。

抗体価の測定はOUDIN法によったが、抗原の血清学的検索には、抗体検出感度の敏感な一次元の二重拡散法とよばれているOAKLEY-FURTHROPE法を用いた。内径3.5 mmの自作試験管の下層に抗血清7容に対し寒天3容を混ぜた約0.4%の抗血清寒天ゲルを置き、中層には0.8%の寒天ゲルを固め、最上層にウイルス原液を載せた。各層の厚さは15 mm前後であり、37°Cで1晩反応させた。

結果と考察

免疫に伴う抗体価の上昇が、10回の免疫でプラトーに達したのを確認して全採血した。FVSI抗体価は128, FVSII抗体価は256であった。小林・鮎沢(1968)の行なった軟化病ウイルス精製標品を抗原とした場合の家兎抗血清の補体結合反応試験でも、その抗体価は極めて低い。そこで軟化病ウイルスの抗血清の作成に際して、家兎が免疫動物種として適切であるか否かを検討するため、得られた抗血清中のグロブリン形成をディスク電気泳動で調べてみた(第1図)。

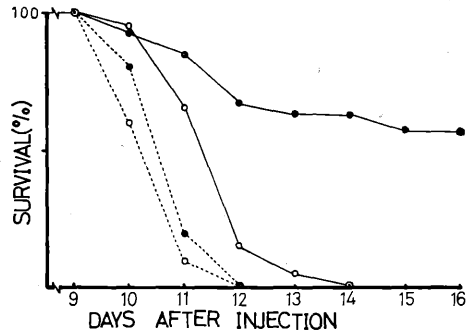
両抗血清とも、典型的なアルブミン、グロブリンのゾーンが明確に分離しており、またFVSII抗体価がFVSI抗体価よりも高いことがグロブリンの吸光度に示されていた。一方、家兎血清に特有なプレアルブミンが明らかでなく、またリボプロティ



第1図 ウイルス抗血清のディスク電気泳動泳動条件: 3 mA/cm², 4時間, 室温, 支持体 7.5% ポリアクリルアミド・ゲル, EDTA・トリス緩衝液 (pH=8.2, α=0.06 μ), アミドブラック染色。

ン, グロブリンへのパターンもゆるやかであった。これらのことから両抗血清には, 抗原に対する特異抗体が産生されていると考えられる。

FVSI および FVSII に対する中和試験は, 反応検液を4齢起蚕に皮下注射して検討した。中和反応は氷水中で40分間しか行っていない点が気がかりであるが, これは操作中におけるウイルス不活化を



第2図 中和試験
○は FVSI, ●は FVSII, 破線は対照区, 実線は試験区。ウイルス原液と対応抗血清の混和容量比は 1:9, 対照区では滅菌水を混和。対照区は各10頭, 試験区は FVSI で20頭, FVSII で30頭供試。

おそれたためである。FVSI, FVSII のみの接種蚕はすべて致死したにも拘らず, FVSII の中和試験区では半数が蛹化し, また FVSI の中和試験区でも延命効果が認められた (第2図)。従って, 各ウイルスに対して対応抗血清による中和反応が成立している。

次に FVSI, FVSII の抗原特異性を OAKLEY-FURTHROPE 法で検討してみた。FVSI と FVSII 抗血清, FVSII と FVSI 抗血清との間に各々1本の沈降線が現われた。この事実から, FVSI と FVSII とは沈降恒数は異なっているが, 抗原性において共通な部位の存在が示唆される。そこで交差中和試験を行なってみた。抗血清を混和しない場合の対照区では, 供試蚕のすべてが致死するウイルス接種量のもとで試験を行なった。抗血清とウイルス原液との混和容量比が 3:7 の場合, 中和試験, 交差中和試

第1表 交差中和試験

混和容量比 (7:3)	生存比(蛹化まで)
FVSI 抗血清: FVSI 原液	6/10
同上 : FVSII 原液	7/8
FVSII 抗血清: FVSII 原液	10/10
同上 : FVSI 原液	6/10

4 齢起蚕に検液 0.01 ml 皮下注射。対照区は抗血清の代りに滅菌水を混和し, 供試蚕はすべて致死した。

験ともに約半数が蛹化した。また同上混和容量比を7:3にした場合には、第1表の結果を得た。これら *in vitro* における検討結果は、寒天ゲル内沈降反応から得た FVSI と FVSII との間に抗原性において共通な部位が存在するとの示唆を支持している。したがって、FVSI と FVSII とは血清学的にみると互に極めて近縁なものと思われる。

摘 要

沈降恒数を異にする2種の軟化病ウイルス (FVS I, FVSII) を抗原とした家兎免疫抗血清を作成し、中和試験を行なったところ中和効果が認められた。また交差中和試験を行なったところ交差中和効果が認められ、さらに一次元の二重拡散法で寒天ゲル内

交差沈降反応が認められた。したがって FVSI と FVSII とは、その抗原性において共通な部位の存在が示唆され、血清学的にみた場合にはたがいにきわめて近縁なものと思われた。

文 献

- 鮎沢千尋 (1972): 日蚕雑, 41, 338-343.
 古田要二 (1973): 日蚕雑, 42, 443-453.
 HIMENO, M., K. ONODERA and Y. TANAMI (1974): J. Invertebr. Pathol., 23, 164-171.
 小林英子・鮎沢千尋 (1968): 日蚕雑, 37, 13-16.
 栗栖式彦・姫野道夫 (1974): 日蚕雑, 43, 195-199.
 松井正春 (1973): 応動昆, 17, 113-115.

Summary

Immunochemical properties of the flacherie viruses in the silkworm, *Bombyx mori* L. I. Neutralization test

By

Kazuhiko KURISU, Tsuguo MATSUMOTO*, Michio HIMENO**
 and Yoshinobu TOMIOKA***

Antisera against the two flacherie viruses (FVS I and FVS II) with the different sedimentation coefficient were prepared in the albino rabbits, and the following immunochemical properties were obtained;

(1) In the neutralization tests, both viruses were neutralized by the corresponding antiserum.

(2) In the cross-reacting tests of FVS I or FVS II antiserum against the other virus, the neutralizing activities were similar and a precipitation band was recognized in each reaction by the OAKLEY-FURTHROPE's method.

These evidences suggest that both viruses serologically resemble each other and they have a common antigen.

(Faculty of Textile Fibers, Kyoto University of Industrial Arts and Textile Fibers, Kyoto 〒606; *Institute of Public Health in Hyogo, Kobe 〒652; **Laboratory of Biochemistry, Division of Agricultural Chemistry, Kyoto University, Kyoto 〒606 and ***Gifu-ken Sericultural Experiment Station, Minokamo 〒505)