

蝦類口服免疫促進劑關鍵技術之研究

丁雲源、林明男、劉熾揚、吳豐成、楊惠郎、林翰佑
海水繁養殖研究中心

本研究為與成功大學及富立洋公司產官學合作，應用富立洋公司之專利及運用基因工程與生物包埋等技術，包埋提煉自病原物質之具促免疫發生的抗原成分，投餵與蝦苗，並經由攻擊模式的建立，來模擬蝦類面對病原攻擊時可能的存活反應，作為免疫結果評估的方法。

本實驗以草蝦及白蝦作為試驗動物。實驗之口服疫苗由富立洋公司及成大楊教授惠郎合成，主要為應用生物技術表現之白點病病毒蛋白成分加上重要蝦類細菌病原抗原成分等。經由馴養後之蝦苗經過停餉一餐後，將口服成分灑布於槽內供蝦苗自由攝食，如此兩餐為一個循環。隔 1 週後再行餵飼 1 次。2 次餵飼後經由 2 週後進行攻擊試驗，以檢測免疫成果。

蓄養和攻擊試驗由本中心與成大共同進行白點病病毒攻擊試驗，攻擊使用之病毒由病蝦分離純化，經由 PCR 定量技術(圖 1) 得知其病毒顆粒濃度，以每克蝦體 5000 個病毒顆粒進行注射攻擊試驗(圖 2)。細菌性攻毒試驗則以哈維氏弧菌進行攻擊試驗，每公克蝦體以 10^5 cfu 菌體注射進行攻擊測試。攻擊試驗紀錄其存活率及外觀變化，經觀察兩週後結束，存活或死亡之蝦體均經收集後以微生物學及分子生物學檢測確認攻擊結果。

本年度研究具體成果如下：

- 1、對蝦類病毒攻擊的結果，顯示蝦類會有延遲死亡的現象，為對保護效力僅部分提昇，可能需要針對劑量，投餵次數加以調整。
- 2、對蝦類細菌攻擊的實驗結果，顯示對某些處理方法有明顯的保護效力，可以使用更多的蝦類進行對照。

- 3、本年度計劃確立了蝦類定量攻毒的方法，對日後進行類似實驗提供較為確認的評估方式。

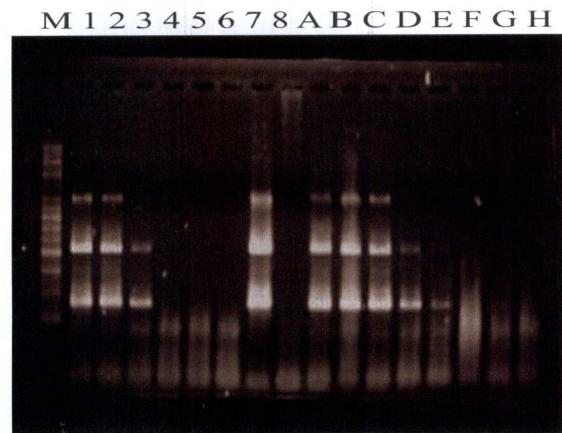


圖 1 以 PCR 定量 WSSV 病毒顆粒的結果，反應產物一共有三個主要的反應帶，分子量依序為 1000 bps、550 bps、250 bps，圖左(lane 1-6) 為待測病毒樣本序列稀釋，lane7 為陽性對照組，lane8 為陰性對照組。圖右(lane A-H) 為標準化的病毒核酸序列稀釋

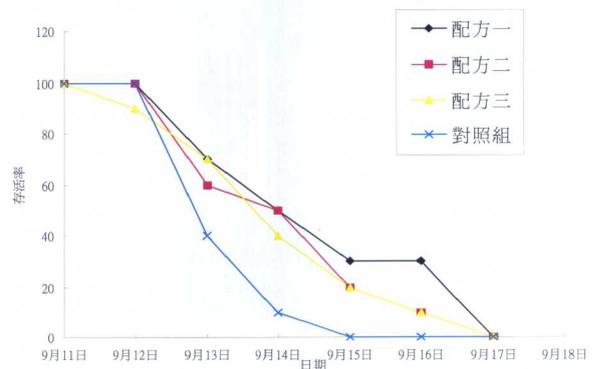


圖 2 草蝦以 WSSV 病毒攻擊後，存活率與時間的變化圖