

免疫測定法によるカワヒバリガイ *Limnoperna fortunei* の検出に向けた基礎試験 Preliminary Examination for the Detection of the Golden Mussel, *Limnoperna fortunei*, Using Immunoassay

○渡部恵司*・神谷享子**・太田真紀**
WATABE, Keiji, KAMIYA, Kyoko and OTA, Maki

1. はじめに

水路やため池等の農業水利施設において、特定外来生物のカワヒバリガイ *Limnoperna fortunei* による通水阻害等が問題となっており、その早期検出や駆除対策が推進されている。カワヒバリガイを現地で簡単かつ高感度に検出する技術の開発に向けて、本研究では免疫測定法に着目した。免疫測定法は、抗原と抗体の反応を利用して抗原（あるいは抗体）を検出・定量する方法であり、ごく微量の対象物質を特異的かつ容易に測定可能である。そこで、ムラサキイガイ *Mytilus galloprovincialis* およびミドリイガイ *Perna viridis* を基に作製した既存の抗体（以下、それぞれ「ムラサキイガイ抗体」「ミドリイガイ抗体」）とカワヒバリガイ幼生・成体との反応性を、免疫測定法の一種であるドットプロット法およびホールマウント免疫染色法により検証した。

2. 材料と方法

抗体には、8種類のマウスモノクローナル抗体（Ab1～Ab4：ムラサキイガイ抗体、Ab5～Ab8：ミドリイガイ抗体）を用いた。試験サンプル S1～S7 は、カワヒバリガイ（S1：D型幼生、S2：成体の体液、S3：成体の足）と、対照としてイシガイ科のドブガイ属（ヌマガイ *Sinanodonta lauta* またはドブガイ（外来種）*S. cf. woodiana* 1. S4：グロキディウム幼生）、タテボシガイ *Nodularia nipponensis*（S5：同幼生）およびイケチヨウガイ *Sinohyriopsis schlegelii*（S6：同幼生、S7：成体の足）とした。これらは茨城県もしくは青森県内の水路、ため池、湖沼で採集した。

抗体 Ab1～Ab8 とサンプル S1～S7 のタンパク質抽出液の各組合せについて、ドットプロット法により反応の有無を確認した。なお、ポジティブコントロール PC として Ab1～Ab4 の試験ではムラサキイガイ幼生、Ab5～Ab8 の試験ではミドリイガイ幼生を、ネガティブコントロール NC としてタテジマフジツボ *Amphibalanus amphitrite* 幼生を用いた。さらに、ドットプロット法で反応が確認された 4種類の抗体について、ホールマウント免疫染色法によりカワヒバリガイ幼生・成体の染色部位を確認した。

3. 結果とまとめ

ドットプロット法では、各試験のポジティブコントロール PC とネガティブコントロール NC の染色の濃淡にばらつきが見られたため、これらの濃淡と比較しながら、それぞれの反応の有無を判定した（図1）。この結果、ムラサキイガイ抗体 Ab2・Ab3 およびミドリイガイ抗体 Ab7・Ab8 について、カワヒバリガイ幼生・成体 S1～S3 との反応

*農研機構 (NARO) **株式会社セシルリサーチ (Sessile Research Corporation)
キーワード：特定外来生物、ドットプロット法、ホールマウント免疫染色法、生物調査、農業水利施設

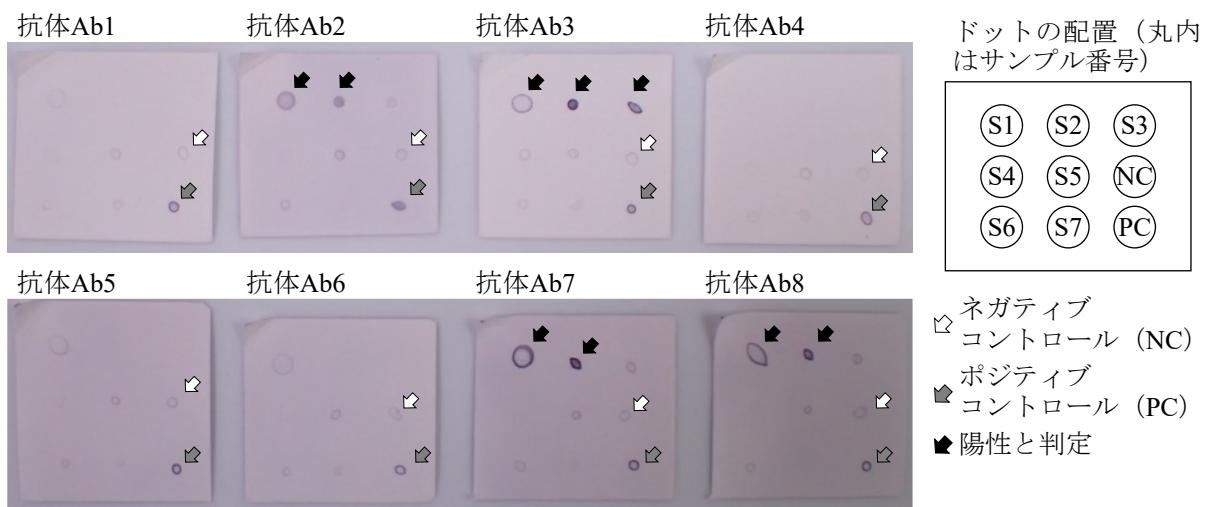


図1 ドットプロット法による染色結果
Photographs of staining from dot-blotting assay

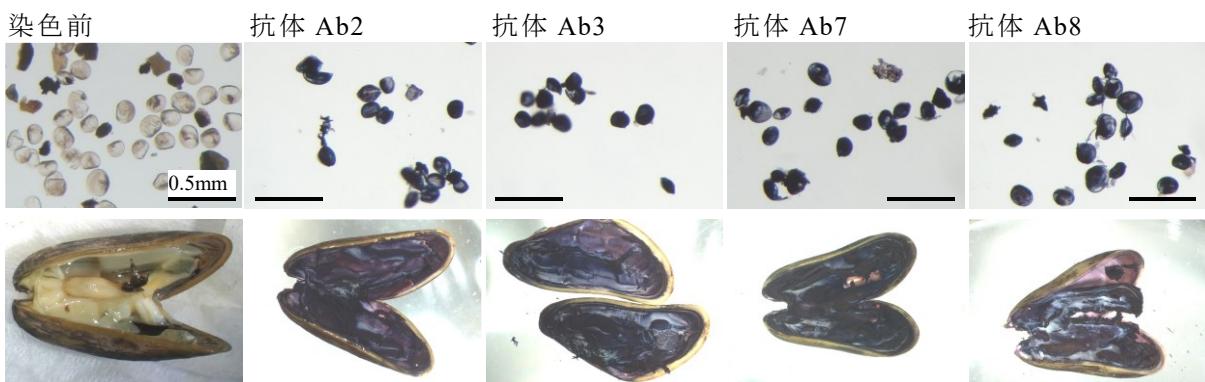


図2 ホールマウント免疫染色法による染色結果（上：幼生，下：成体）
Immunostaining results for larval and adult samples of golden mussels

が認められた。一方で、抗体 Ab1～Ab8 のいずれも、ドブガイ属・タテボシガイ・イケチョウガイ S4～S7 との反応は認められなかった。また、ホールマウント免疫染色法により抗体 Ab2・Ab3・Ab7・Ab8 とカワヒバリガイ幼生・成体の反応を確認した結果、染色前と比べて 4 種類の抗体とともに幼生・成体との明瞭な反応が認められた（図2）。

抗体 Ab2・Ab3・Ab7・Ab8 は、ムラサキイガイとカワヒバリガイ、あるいはミドリイガイとカワヒバリガイといったイガイ科の一部の種に共通するような抗原物質に反応すると推察される。一方、少数の対照サンプルであるものの、これら 4 種類の抗体は、イシガイ科 3 種とは反応しないことが確認された。現在、日本国内の淡水域に生息するイガイ科貝類はカワヒバリガイ 1 種のみであり、農業用水等として利用される淡水域において、これら 4 種類の抗体の活用によりカワヒバリガイを種特異的に検出できる可能性がある。

謝辞：本研究は JSPS 科研費 22K20605 の助成を受けた。また、農研機構の伊藤健二博士および北里大学の柿野亘博士にご助言・ご協力いただいた。ここに記して深謝する。