

E. 結論

本研究により、有毒渦鞭毛藻ならびに有毒魚介類から、必要十分量の STX 群 (hyneoSTX, neoSTX, hySTX, dcSTX, STX)、GTX 群 (GTX1-6, dcGTX2,3)、C 群 (C1,2) の 15 種の PSP 精製毒を確保した。また同様に、TTX とその関連成分である 6-*epi*TTX, 4-*epi*TTX, 11-*oxo*TTX および DA を得た。

次に、HITACHI 社製 M-8000 を用いた PSP 17 成分 (hyneoSTX, neoSTX, hySTX, dcSTX, dcneoSTX, STX, GTX1-6, dcGTX2,3, C1-3) の一斉分析 (分析条件 I) が可能となり、本法は LC-FLD 検出法と MS 分析法に有効で、かつ相互に比較検討と補完できる性能を併せ持った手法であること、その分析時間も 60 分以内と迅速であることが確認され、その有用性が示された。さらに、本分析法では PSP 成分に加え、TTX, TTX 関連成分、DA も検出可能であった。このことから、PSP-DA-TTX の総合的な一斉分析法への応用が強く期待された。

一方、Thermo Fisher Scientific 社製 LCQ fleet (分析条件 II) では、まず、PSP 標準品または PSP 精製成分の分析において m/z 300, 316, 332, 396, 412 の各マスキングマトグラムにおいて、PSP 成分と示唆されるピークを見出した。これらピークの MS/MS および MS/MS/MS スペクトルから、脱水 $[M-H_2O+H]^+$ 、脱硫酸基 $[M-SO_3+H]^+$ 、脱水脱硫酸基 $[M-SO_3-H_2O+H]^+$ などのフラグメントイオンが検出されたことから、それぞれ C1, C2, C4, GTX5 および GTX6 と判断された。同様に、MS/MS ないし MS/MS/MS スペクトルによる STX 群および GTX 群の解析を行ったところ、hyneoSTX, neoSTX、

hySTX, STX, GTX1-5, dcGTX2,3 の同定に成功した。他方、 m/z 332 におけるピークを C3 と推定したものの、イオン量がごく微量であったことから、MS/MS スペクトルによる同定は困難であった。次いで、未知試料である有毒渦鞭毛藻の粗抽出液につき、分析条件 I と同様の固相抽出による前処理を施して分析条件 II に供したところ、neoSTX, STX, GTX1,4-6, C1,2 が同定された。従って、分析条件 II における MS/MS および MS/MS/MS スペクトル解析による PSP15 成分の分析法を確立し、その検出感度は分析条件 I よりも勝っていた。

以上、本研究事業は、研究開始当時に計画していた目的をほぼ達成できるものと考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- Beppu, R., Nojima, K., Tsuruda, S., Gomez-Delan, G., Barte-Quilantang, M., Taniyama, S., Sagara, T., Nishio, S., Takayama, H., Miyazawa, K., Asakawa, M.: Occurrence of PSP-producing dinoflagellate *Alexandrium tamiyavanichii* in Bingo-Nada, the central coastal water of the Seto Inland Sea, Hiroshima Prefecture, Japan. Marine Pollution Bulletin, 2008; 56(4): 758-763.
- 相良剛史, 谷山茂人, 江戸 梢, 橋本多美子, 西堀尚良, 浅川 学, 西尾幸郎. 西表島産イワスナギンチャク *Palythoa tuberculosa* の毒性について. 四国大学

- 紀要, 2008, 26(B), 9-12.
- 相良剛史, 西尾幸郎. パリトキシン分析における留意点. 食衛誌; 2008, 49 (2), j189-j190.
- 相良剛史. 中毒発生海域より分離した *Ostreopsis* sp. のパリトキシン様物質産生能. 日水誌 2008; 74 (5), 913-914.
- 谷山茂人, 諫見悠太, 松本拓也, 長島裕二, 高谷智裕, 荒川 修: 腐肉食性巻貝 *Nassarius (Alectrion) glans* に認められたフグ毒の毒性と毒成分. 食衛誌 50, 22-28 (2009).
- K. Ikeda, Y. Murakami, Y. Emoto, L. Ngy, S. Taniyama, M. Yagi, T. Takatani, O. Arakawa: Transfer profile of intramuscularly administered tetrodotoxin to non-toxic cultured specimens of the pufferfish *Takifugu rubripes*. *Toxicon* 53, 99-103 (2009).
- L. Ngy, S. Taniyama, K. Shibano, C. F. Yu, T. Takatani, O. Arakawa: Distribution of tetrodotoxin in pufferfish collected from coastal waters of Sihanouk Ville, Cambodia. *J. Food. Hyg. Soc. Japan* 49, 361-365 (2008).
- 相良剛史: Possible impacts of polyamines on the growth of HAB-causing microalgae. 5th World Fisheries Congress, Yokohama, Oct. 2008.
- M. Asakawa, R. Beppu, S. Tsuruda, E. Takeuchi, G. Gomez-Delan, T. Sagara, S. Nishio, K. Miyazawa, Occurrence of PSP-producing dinoflagellate *Alexandrium tamiyavanichii* in Bingo-Nada, the eastern coastal water of Hiroshima Prefecture, Japan. 5th World Fisheries Congress, Yokohama, Oct. 2008.
- 相良剛史. 中毒発生海域より分離した *Ostreopsis* sp. のパリトキシン様物質産生能. 平成 20 年度日本水産学会春季大会ミニシンポジウム, 静岡, 2008 年 3 月.
- 相良剛史, 西尾幸郎, 西堀尚良, 橋本多美子, 吉松定昭, 浅川 学, 谷山茂人, 高谷智裕, 荒川 修. 西日本を中心とした有毒渦鞭毛藻 *Gambierdiscus* 属および *Ostreopsis* 属の毒産性能と有毒成分. 平成 20 年度日本水産学会春季大会, 静岡, 2008 年 3 月.
2. 学会発表
- 竹内絵梨子, 藤田雄介, 鶴田慎太郎, 谷山茂人, 相良剛史, 伊藤克敏, 浅川学: PSP 毒化アサリ投与によるアカニシの毒化試験. 平成 21 年度日本水産学会春季大会, 東京, 2009 年 3 月.
- N. Nishibori, T. Sagara, S. Nishio, M. Yamaguchi, K. Nagasaki, Y. Tomaru, I.
1. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)
1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

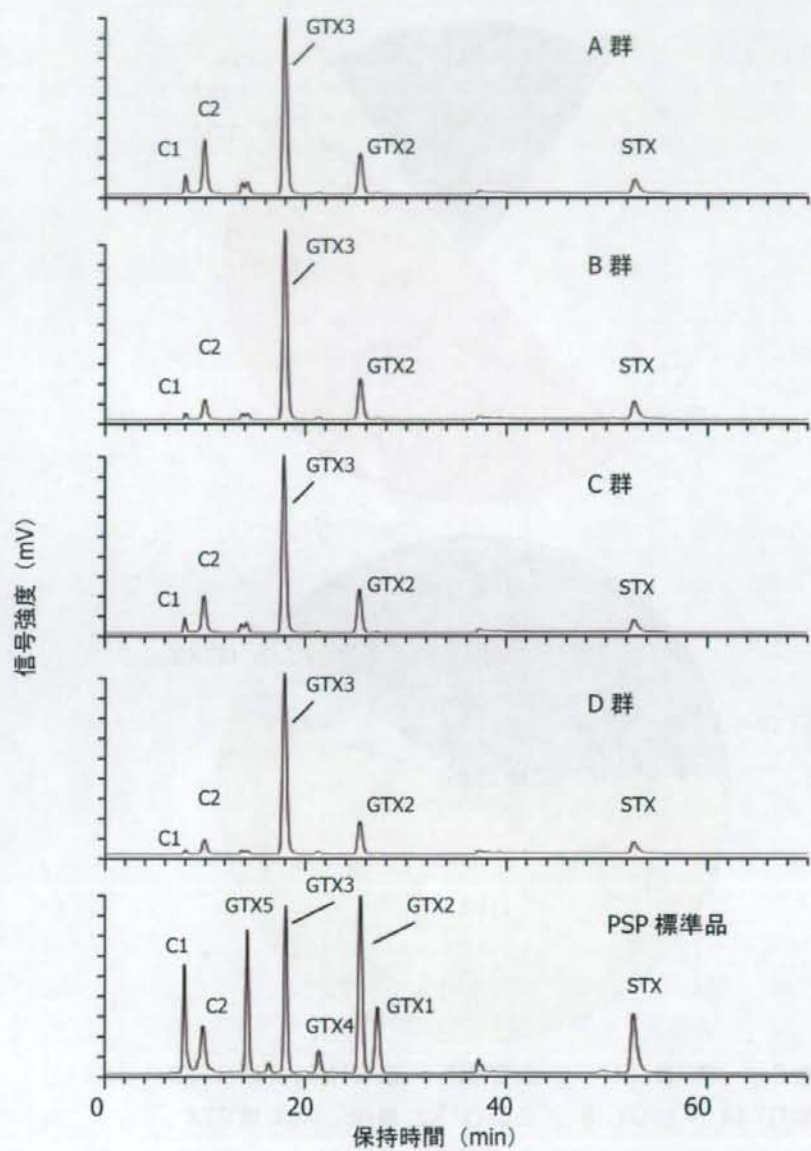


図 1. At041104 株の HPLC クロマトグラム

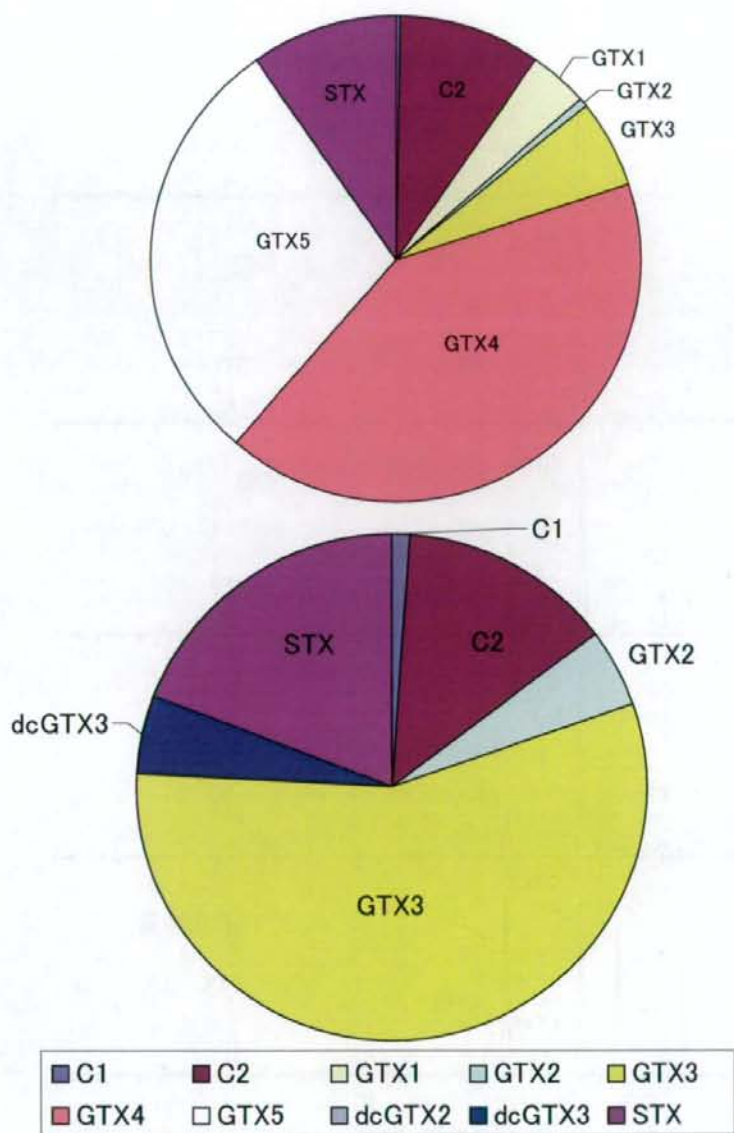


図2. *A. tamiyavanichii*の天然株(上)とAt041104株(下)の毒成分組成(mol%)

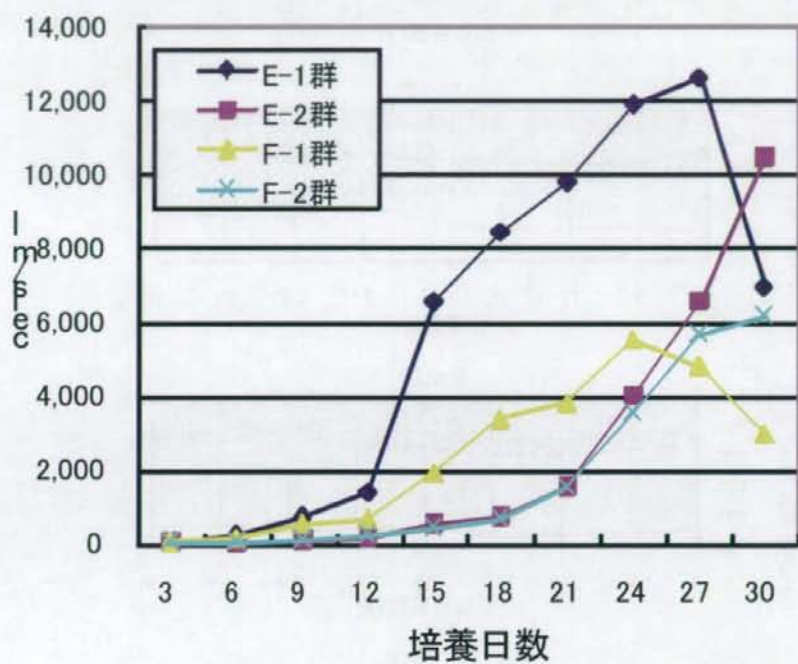


図 3. At041104 株の成長曲線

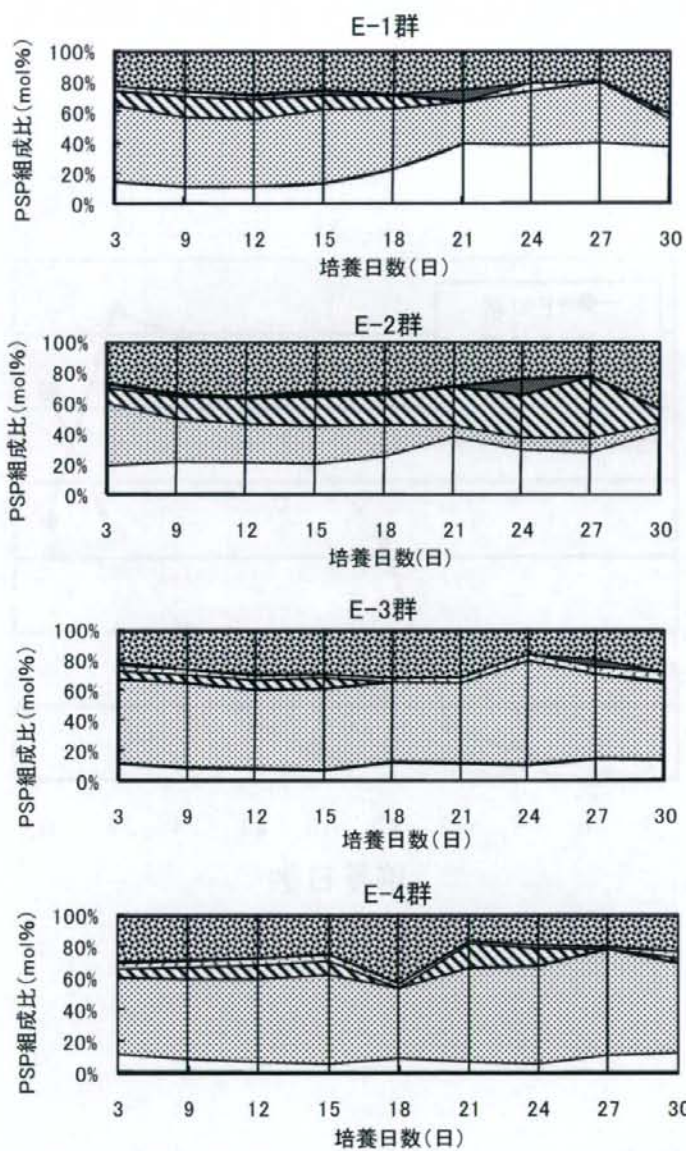


図 4. At041104 株の培養条件別 PSP 組成

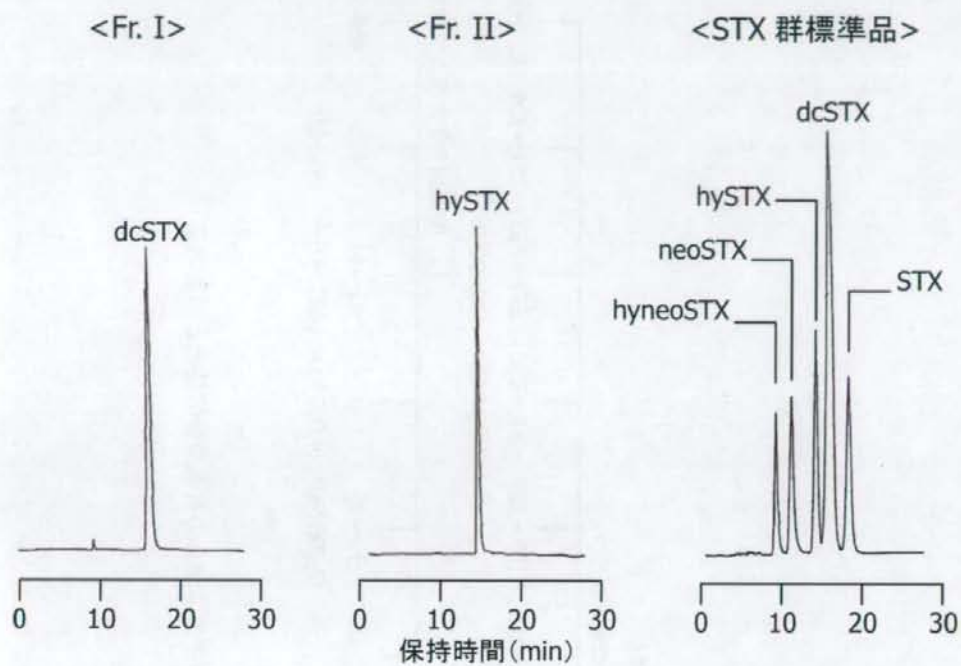


図5. Fr. I、Fr. IIおよびSTX群標準品のHPLCクロマトグラム

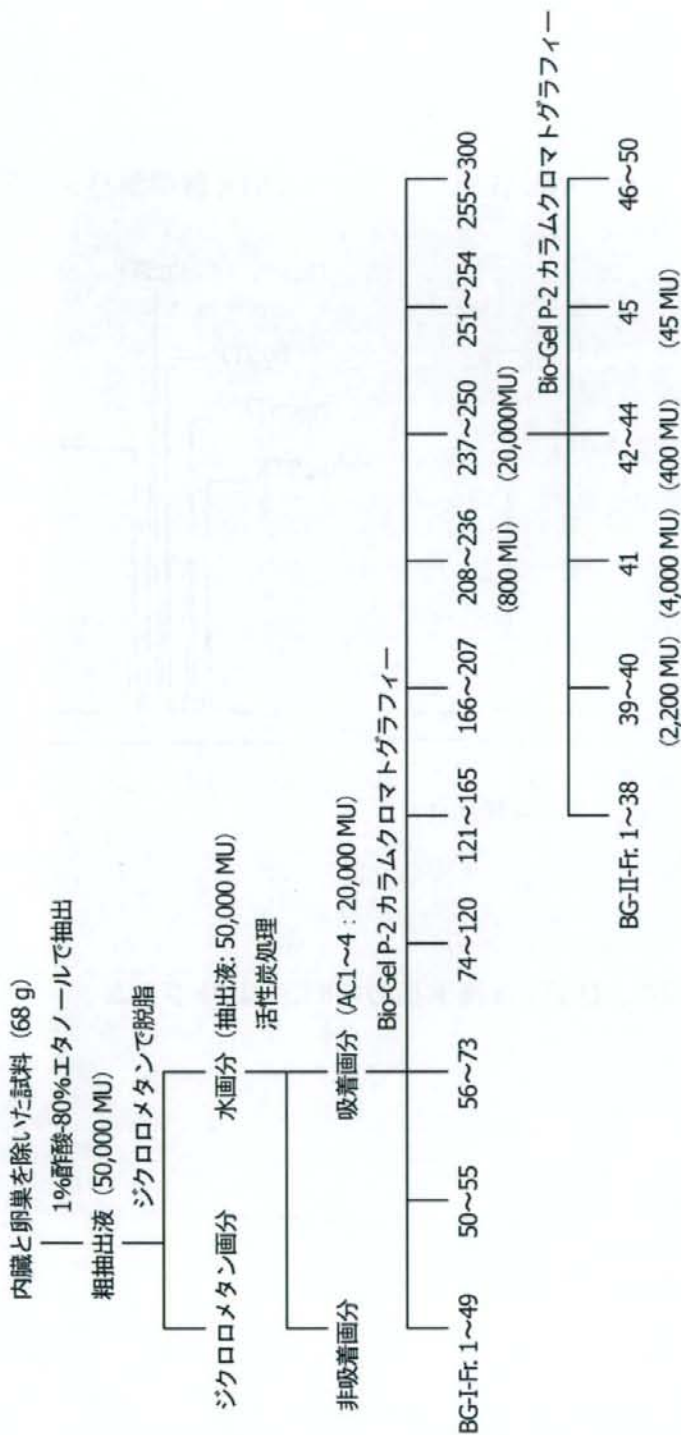


図6. ウモレオウギガニからの有毒成分の抽出と精製方法

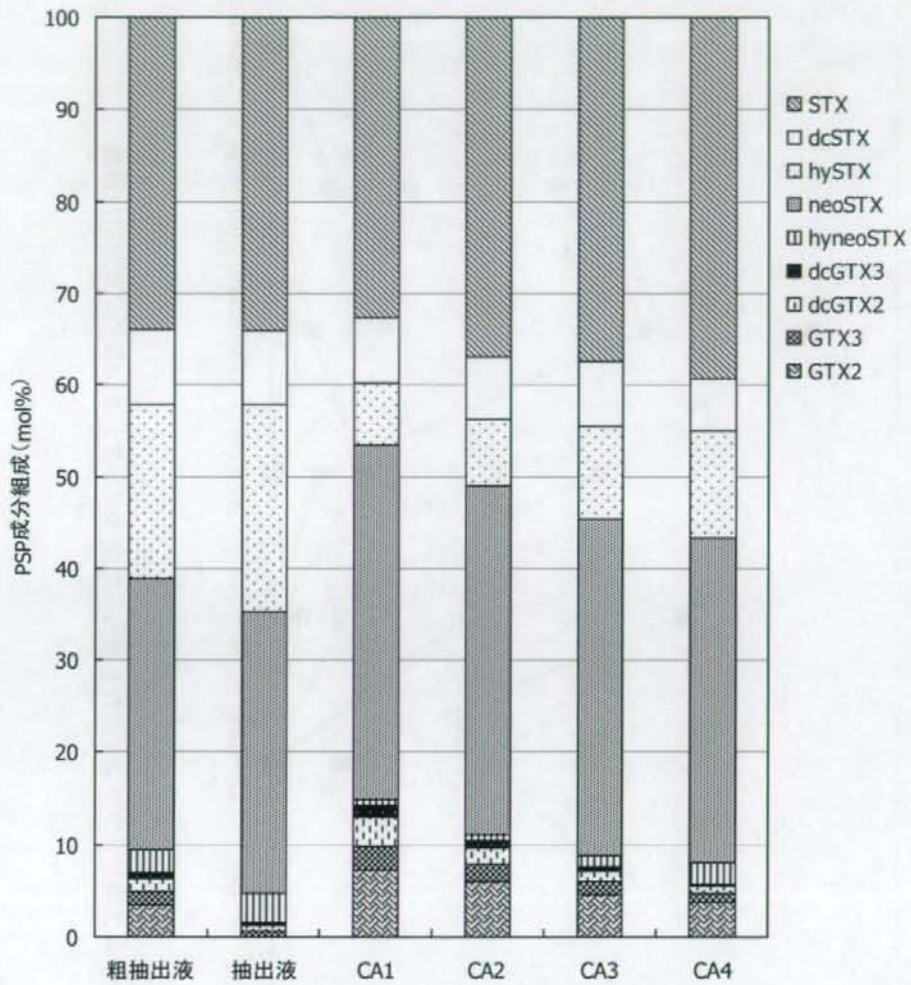


図7. 粗抽出液・抽出液・CA1~4のPSP成分組成

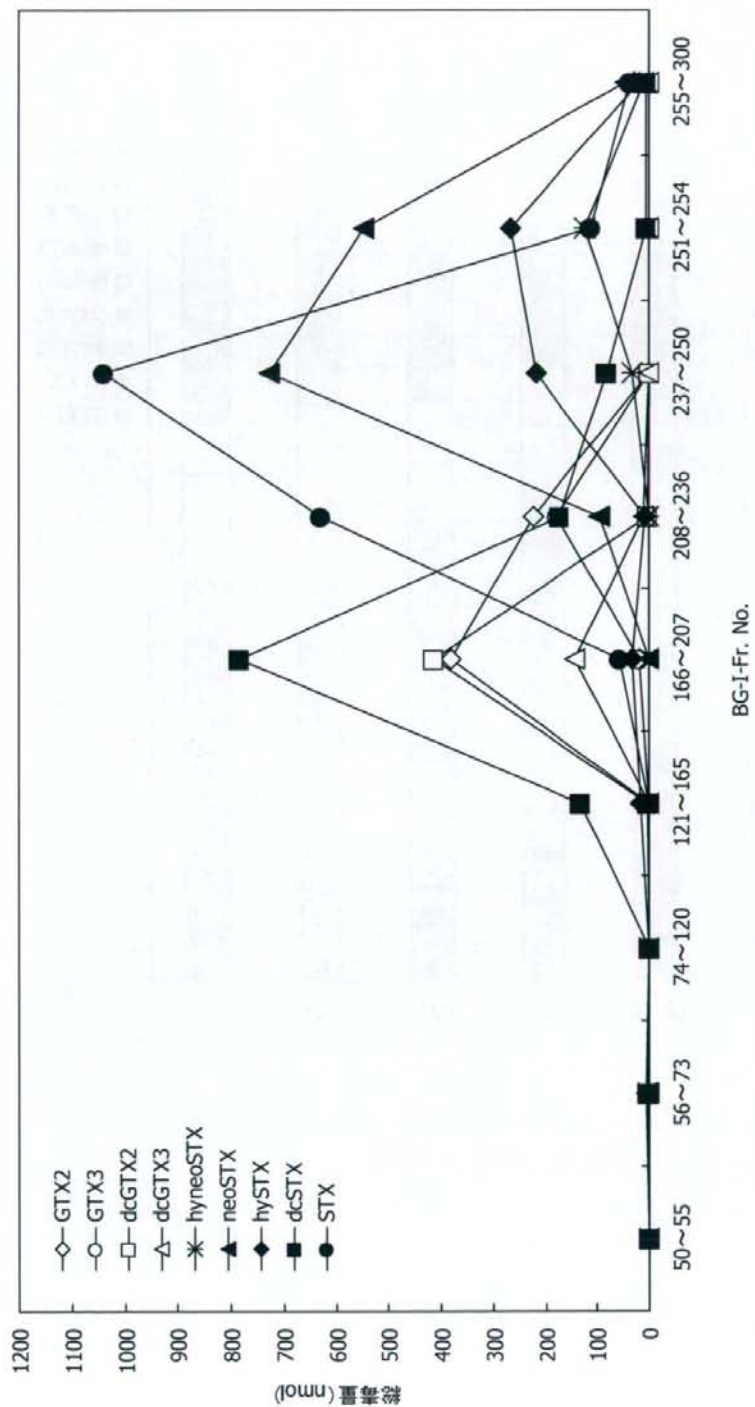


図 8. Bio-Gel P-2 カラムクロマトグラフィーから得られた合フラクションの PSP 成分の総毒量

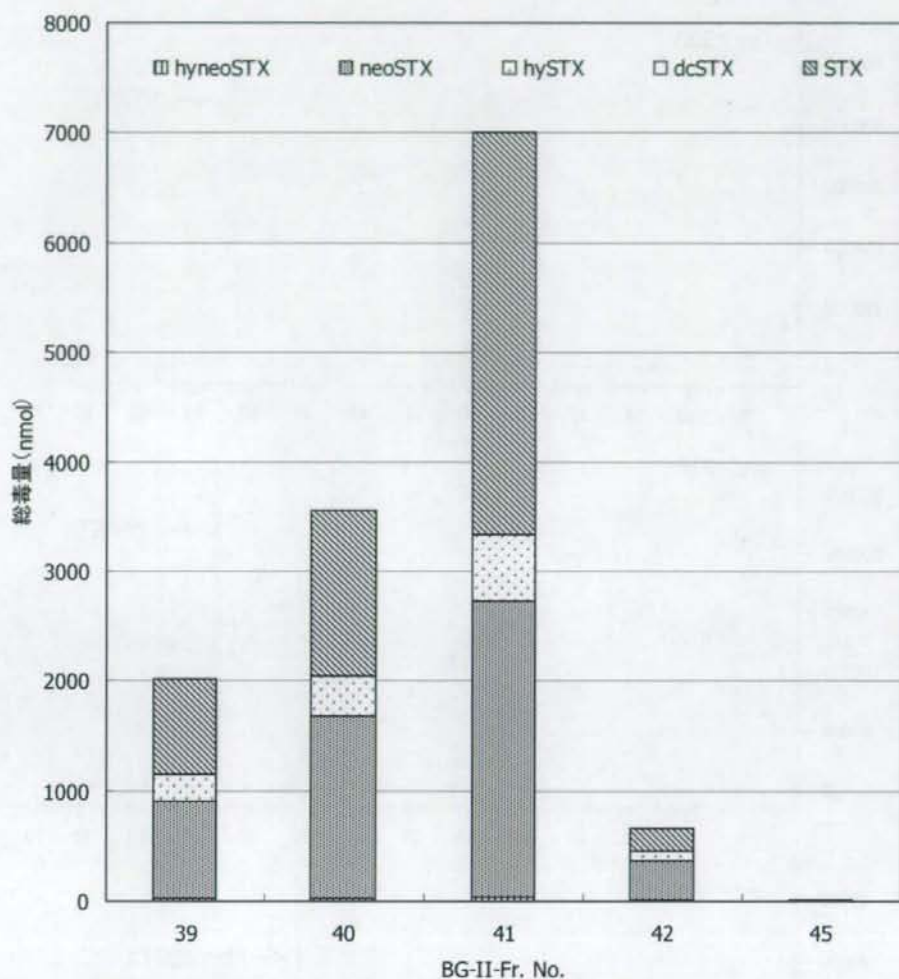


図9. Bio-Gel P-2 カラムクロマトグラフィーから得られたフラクションのPSP成分の総毒量

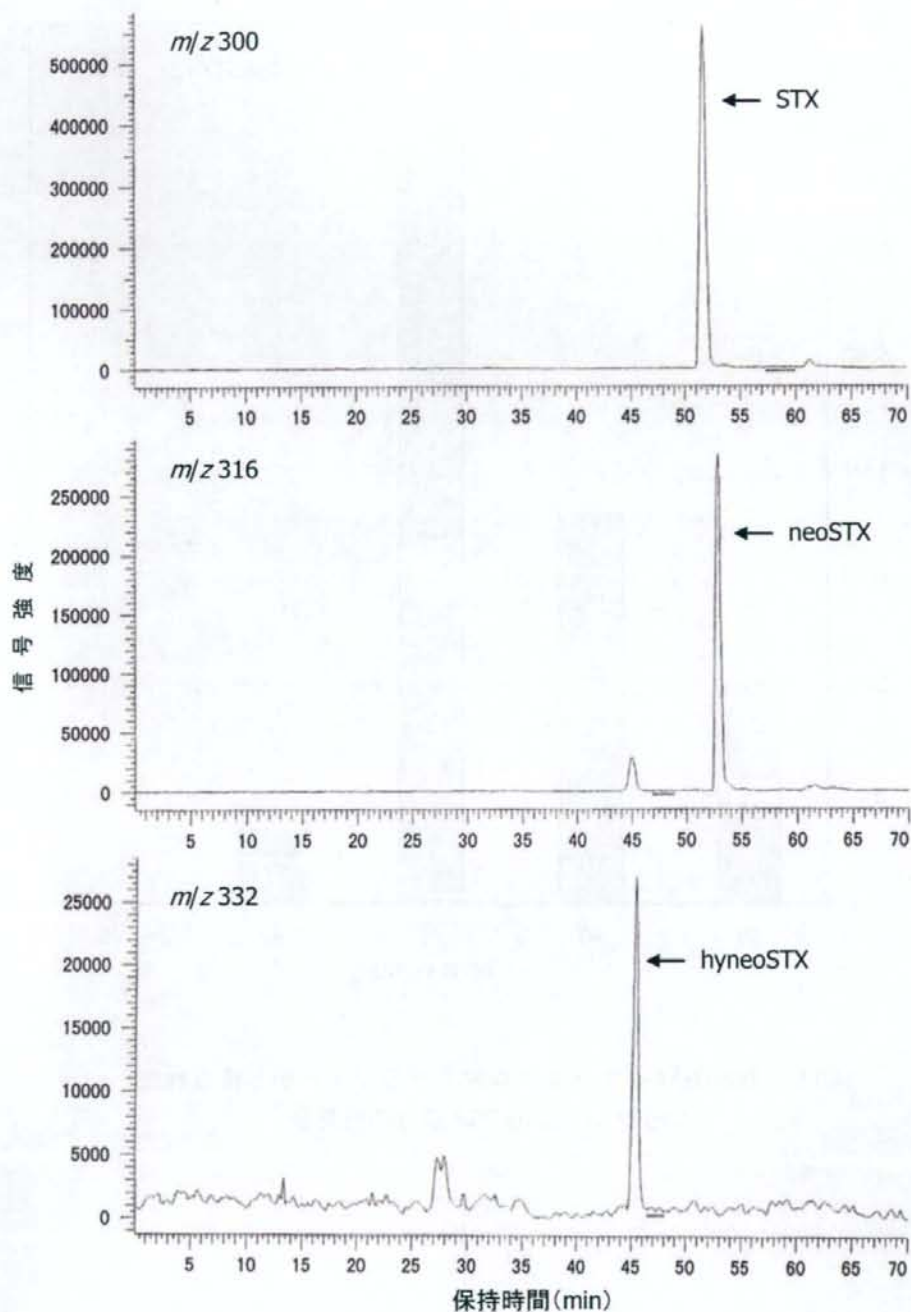


図 10. BG-II-Fr. 41 の LC-MS クロマトグラム

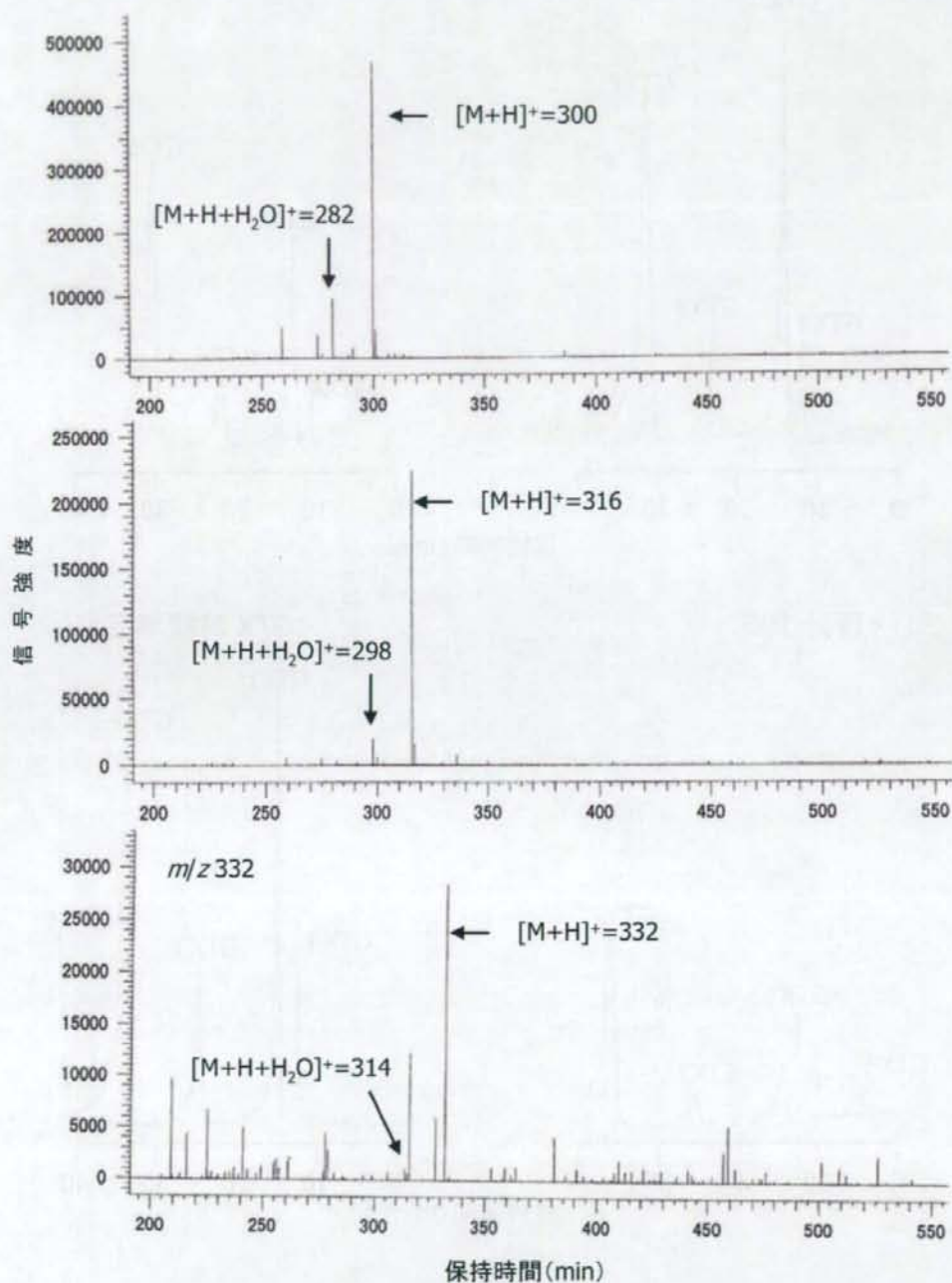
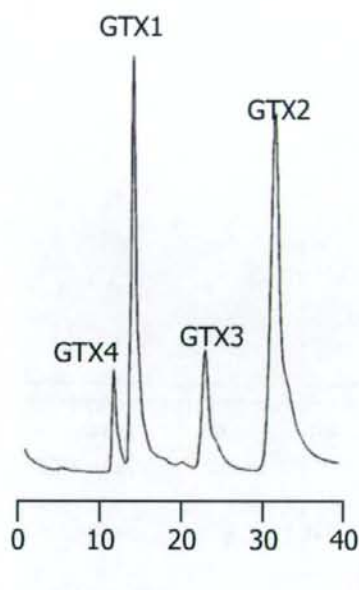
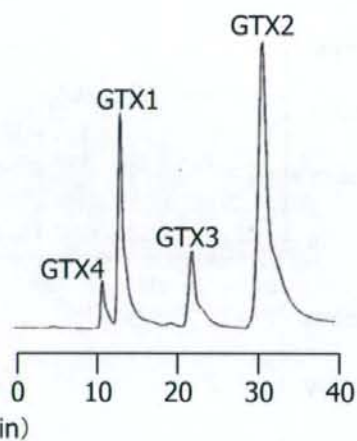


図 11. BG-II-Fr. 41 の MS スペクトラム

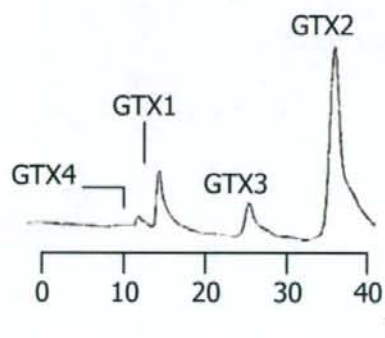
<画分 17>



<画分 18>



<画分 19>



<GTX 群標準品>

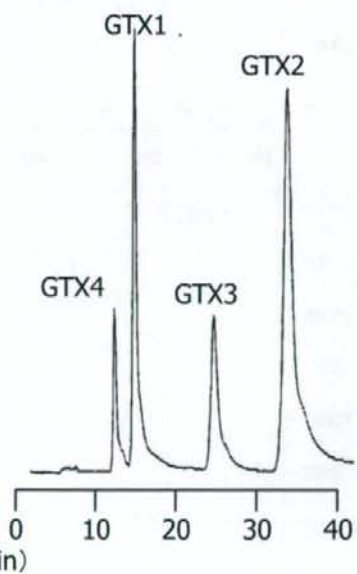


図 12. 試料 B の Fr. 17~19 および GTX 群標準品の HPLC クロマトグラ

ム



図 13. 試料 B の画分 17~19 の GTX 群の組成

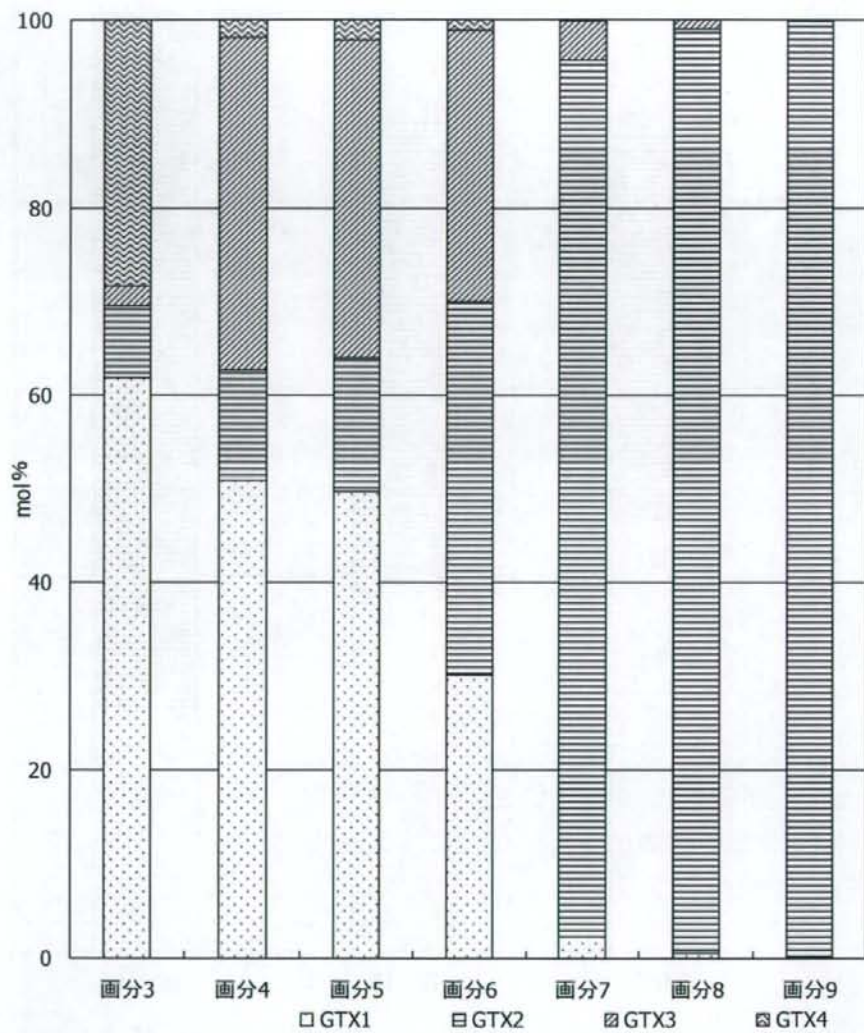


図 14. 試料 C の画分 3~9 の GTX 群の組成

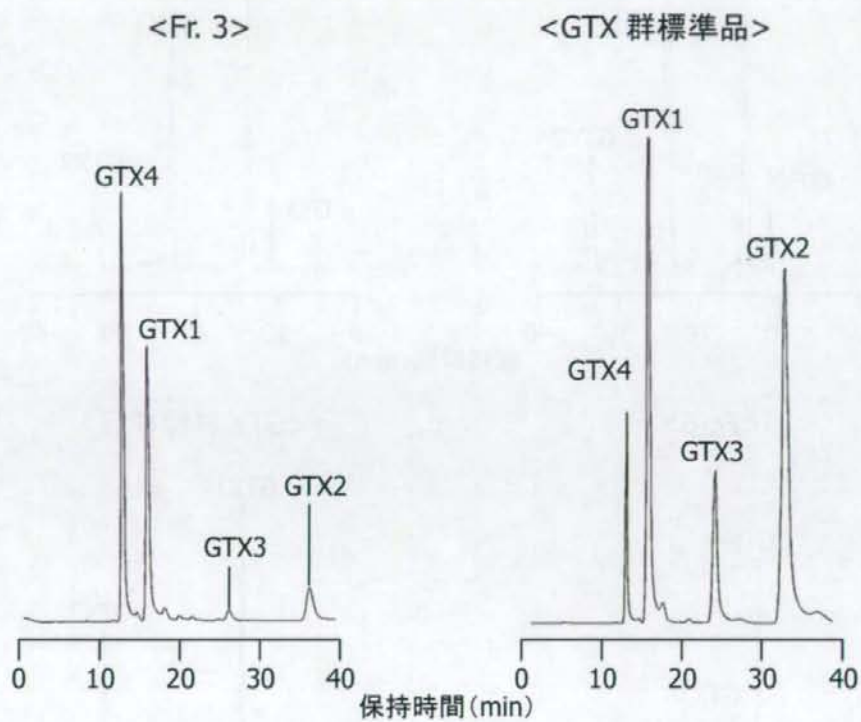


図 15. 試料 C の Fr. 3 と GTX 群標準品の HPLC クロマトグラム

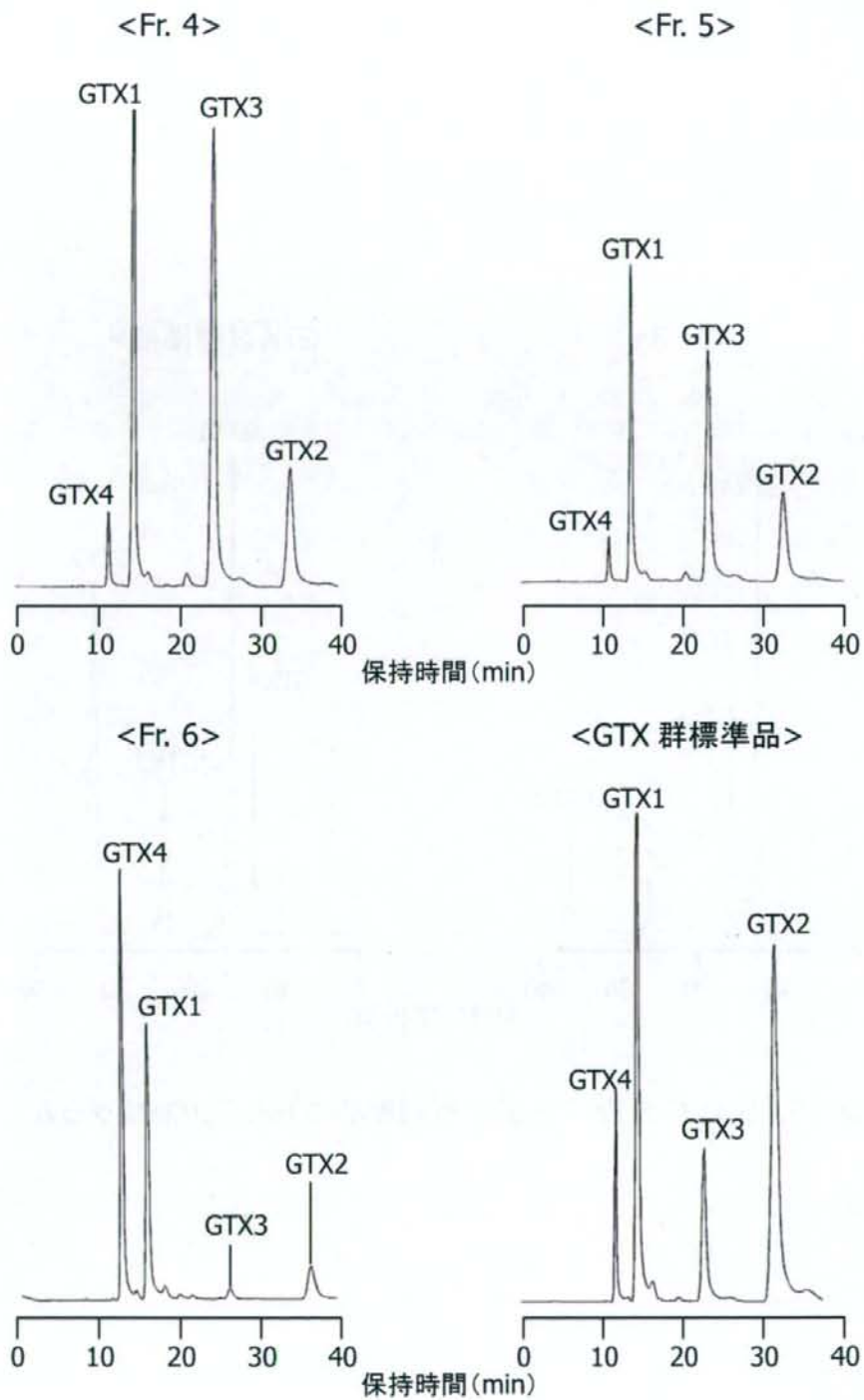


図 16. 試料 C の Fr. 4~6 と GTX 群標準品の HPLC クロマトグラム

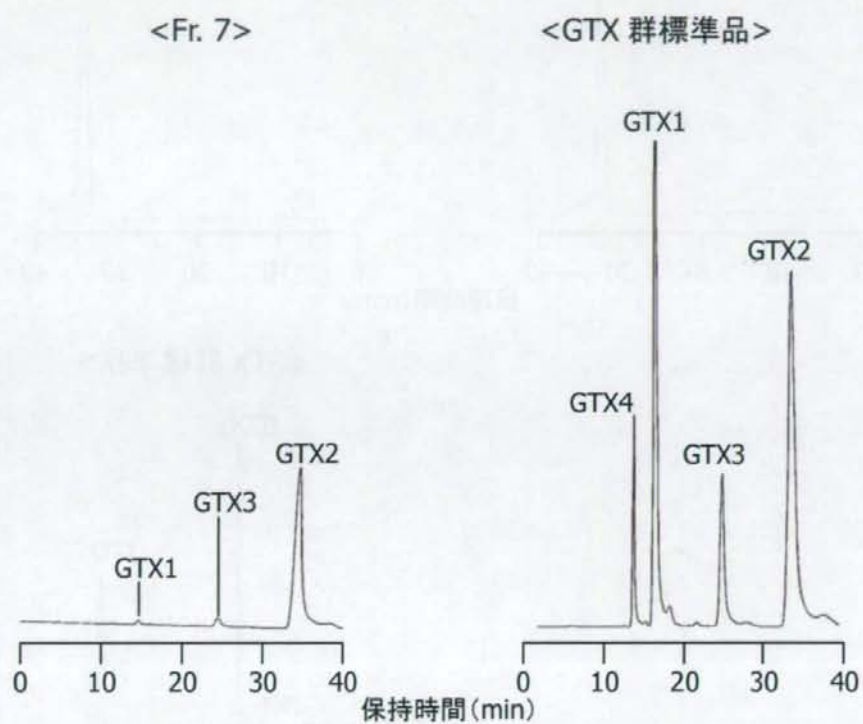


図 17. 試料 C の Fr. 7 と GTX 群標準品の HPLC クロマトグラム

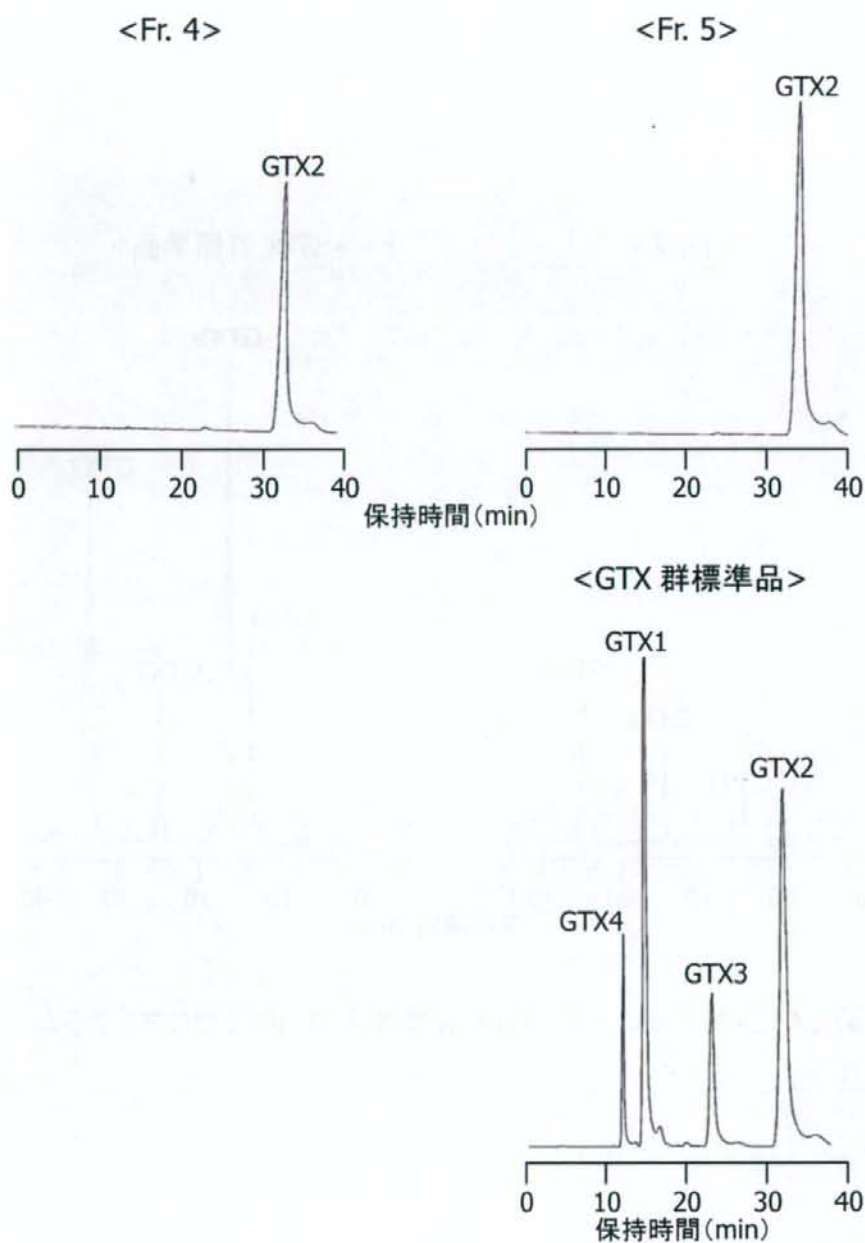


図 18. 試料 C の Fr. 8、9 と GTX 群標準品の HPLC クロマトグラム