

平成 21 年 6 月 1 日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2006～2008

課題番号：18780146

研究課題名 (和文) 麻痺性貝毒の新規発生予察法の開発

研究課題名 (英文) Development of novel monitoring method of Paralytic shellfish poisoning

研究代表者 細井祥子 (田辺祥子) (Hosoi Shoko <Tanabe Shoko>)

神戸大学 内海域環境教育研究センター 助教

研究者番号 80423226

研究成果の概要：

神経毒生産型渦鞭毛藻による麻痺性貝毒の被害を未然に防ぐため、高感度発生予察法を開発することを目的とし研究を行った。手法としては、これまでの客観的で正確性に欠ける顕微鏡観察法に変わる手法として、新規遺伝マーカーを用いた網羅的クローンライブラリー法を開発した。開発した手法を用いた結果、麻痺性貝毒発生海域の海水中における本藻類の動態ならびに詳細な発生種の把握 (個体群解析) が可能であった。さらに、有毒・有害プランクトンの多くが休眠細胞となって沈降する底泥サンプルの培養ならびにクローンライブラリー法による実験結果から、春期における渦鞭毛藻のブルーム発生の予察もできる可能性が示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	1,900,000	0	1,900,000
2007 年度	800,000	0	800,000
2008 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	210,000	3,610,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：水産学・水産学一般

キーワード：分子生物学・遺伝マーカー・バラスト水・移入種・麻痺生貝毒

1. 研究開始当初の背景

渦鞭毛藻数種は、麻痺性貝毒 (Paralytic shellfish poisoning:PSP) の原因となるサキシトキシンやゴニオトキシン等の強力な神経毒を生産する。これら藻類の生産する毒は、食物連鎖を通じカキやホタテなどの二枚貝に蓄積され、万一人間が毒化した貝を食した場合、高死亡率の神経系中毒症状が現れる。近年、世界各地において麻痺性貝毒が多発し

ており、水産養殖業や食品衛生上深刻な問題となっている。日本においても、渦鞭毛藻有毒種が三陸沿岸や瀬戸内海沿岸を中心に発生を繰り返しており、本藻による被害防止のための監視体制を整えることは必須となっている。

2. 研究の目的

麻痺性貝毒の発生状況を正確に把握すると

ともに、春先の貝毒による被害を未然に防ぐ高感度発生予察法を開発する事を本研究の目的とした。

3. 研究の方法

1. 毎年貝毒発生が頻発する大阪湾5地点において定期的(月一回)サンプリング(平成18年3月~平成12年3月)を行った。サンプルとしては、海水ならびに底泥サンプルを採取した。
2. 新規遺伝子マーカーを開発し、クローンライブラリー法を用いた海水中の有毒・有害プランクトン個体群集の網羅的構造解析を行った。
3. seed population として有毒・有害プランクトンの多くが休眠する底泥中の個体群集構造解析を、開発した遺伝マーカーを用いて行った。
4. 底泥サンプルを藻類培地に摂取し大増殖時の条件で培養した。増殖した種の構造解析をするとともに、増殖時の全RNAを回収し、ブルームのマーカーとなる遺伝子を探索した。

4. 研究成果

1. 開発した網羅的手法により、これまでの顕微鏡観察によるモニタリングでは不可能であった詳細な渦鞭毛藻の個体群解析が現場レベルで可能であることが明らかとなった。
2. 網羅的遺伝解析により、大阪湾において発生する有毒有害プランクトンの詳細な種組成を明らかにした。構成種の中には、日本での大量発生の報告がほとんどない(ex. *Alexandrium minutum*)種も多数あり、今後は、綿密な動態把握を含めたモニタリングが必要である事が示唆された。
3. 底泥中のサンプルの網羅的解析により、貝毒発生の原因となる種の発生予察が可能であった。また、遺伝マーカーを用いた real time PCRにより、発生規模も把握できる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 12 件)

1. Hosoi-Tanabe S. and Yoshihiko Sako. 2006. Development and application of fluorescence *in situ* hybridization (FISH) method for simple and rapid identification of the toxic dinoflagellates *Alexandrium tamarense* and *Alexandrium catenella* in culture and natural seawater. *Fish. Sci.* **72**:77-82. 査読あり

2. Hosoi-Tanabe S. and Yoshihiko Sako. 2006. Genetic differentiation in the marine dinoflagellates *Alexandrium tamarense* and *Alexandrium catenella* based on DNA-DNA hybridization. *Plankton Benthos Res.* **1**:138-146. 査読あり
3. Hosoi-Tanabe S., Otake I and Sako Y. 2006. Phylogenetic analysis of noxious red tide flagellates *Chattonella antiqua*, *C. marina*, *C. ovata*, and *C. verruculosa* (Raphidophyceae) based on the rRNA gene family. *Fish. Sci.* **72**:1200-1208. 査読あり
4. Kamikawa R., Nagai S., Hosoi-Tanabe S., Itakura S., Yamaguchi M., Uchida Y., Baba, T. and Sako Y. 2007. Application of real-time PCR assay for detection and quantification of *Alexandrium tamarense* and *Alexandrium catenella* cysts from marine sediments. *Harmful Algae* **6**:413-420. 査読あり
5. Hosoi M., Shinzato C. Takagi M. Hosoi-Tanabe S., Sawada H, Terasawa E. and Toyohara. 2007. Taurine transporter from the giant Pacific oyster: function and expression in response to hyper- and hypo-osmotic stress. *Fish. Sci.* **73**:385-394. 査読あり
6. Tang J. C., Wei J. H., Maeda K., Kawai H., Zhou Q., Hosoi-Tanabe S. and Nagata S. 2007. Degradation of seaweed Wakame (*Undaria pinnatifida*) by composting process with inoculation of *Bacillus* sp. HR6. *Biocontrol Science* **12**:47-54. 査読あり
7. Hosoi-Tanabe S., Honda D., Fukaya S., Otake I., Inagaki Y. and Sako Y. Proposal of *Pseudochattonella verruculosa* gen. nov., comb. nov. (Dictyochophyceae) for a former raphidophycean alga *Chattonella verruculosa*, based on 18S rDNA phylogeny and ultrastructural characteristics. *Phycol. Res.* **55**:185-192. 査読あり
8. Kamikawa R., Hosoi-Tanabe S., Yoshimatsu S., Oyama K., Masuda I. and Sako Y. 2007. Development of a novel

- molecular marker on the mitochondrial genome of a toxic dinoflagellate *Alexandrium* spp. and its application in single-cell PCR. *J. Appl. Phycolol.* *J. Appl. Phycolol.* 20:153-159. 査読あり
9. Osman O., Wang Y.Q., Zhu D., Hosoi-Tanabe S. and Nagata S. 2008. Significant yield of ectoine by *Halomonas* sp. EG6 during osmotic downshock treatment, *Diamino Amino Acid Research*, Nova Science Publishers. 査読あり
 10. Zhang H., Hosoi-Tanabe S., Nagata S., Ban S. and Imura S. Characterization of microorganisms in Antarctic lakes. OCEANS' 08 MTS/IEEE KOBE-TECHNO-OCEAN '08 (OTO'08), Proceedings in CD. 査読あり
 11. 田辺祥子. 生物学的手法を用いたアオコ除去の可能性—琵琶湖の浄化を目指して. *水* (2006) Vol. 48-7. p14-19. 査読なし
 12. 神川龍馬・田辺(細井)祥子・左子芳彦. 有害・有毒微細藻の分子モニタリング法の開発. *BRAIN TECHNO NEWS* (2006) Vol. 117, p28-31 査読なし
- [学会発表] (計 20 件)
1. Ishikawa K. and Hosoi-Tanabe S., and Ban S. Application of real-time PCR for monitoring a freshwater red-tide agent *Uroglena americana* (Chrysophyceae). ASLO 2007 Aquatic Sciences Meeting, USA, 4-9 February, 2007.
 2. Kamikawa R., Nagai S., Hosoi-Tanabe S., Itakura S., Yamaguchi M., Uchida Y., Baba T. and Sako Y. Application of real-time PCR assay to detection and quantification of *Alexandrium tamarense* and *Alexandrium catenella* cysts from marine sediments. 3rd International workshop on targeted HAB species in the east Asia waters, Nagasaki, Japan, 17-19 November, 2006.
 3. Zhang H., Hosoi-Tanabe S., Nagata S., Ban S., Imura S., Kudo S. and Matsuzaki, M. Temperature adaptability and characteristics of microbial community in Antarctic oligohaline lake. Techno-Ocean 2006/19th JASNAOE Ocean Engineering Symposium. Kobe, Japan, 18-20 October, 2006.
 4. Zhang H., Hosoi-Tanabe S., Ban S., Imura S., Kudo S. and Matsuzaki M. Molecular analysis of microbial diversity and temperature adaptability in Antarctic Lake. Polar Biology Symposium of the National Institute of Polar Research, Tokyo, Japan, November, 2006.
 5. 伴修平, 田上琢自, 田辺(細井)祥子, 石川可奈子「琵琶湖北湖堆積物からの *Uroglena americana* シストの収集と real-time PCRによる定量法の検討」日本陸水学会第 71 回大会. 愛媛. 2006 年 9 月 15-18.
 6. 村田綾子, 石田昭夫, 大島朗伸, 佐々木秀明, 田辺祥子, 永田進一「細菌における塩分ストレス耐性と増殖能に関する一考察」第 43 回好塩微生物研究会. 奈良. 2006 年 12 月 17 日.
 7. 大澤飛鳥, 田辺祥子, 永田進一, 大島朗伸「好アルカリ性 *Bacillus* U-21 株を用いた補償溶質エクトインの生産方法について」第 43 回好塩微生物研究会. 奈良. 2006 年 12 月 17 日.
 8. 更井紀一・市井涼子・田辺(細井)祥子・森司・伴修平「オオミジンコ (*Daphnia magna*) におけるこみ合い応答遺伝子の発現解析」日本生態学会. 愛媛. 2007 年 3 月 19-23 日
 9. 田辺祥子・伴修平・木村成子・工藤栄・伊村智・松崎雅広「クローンライブラリー法による南極昭和基地
 10. Hosoi Tanabe, S., Park, H-D., Lee, H., Ban, S. Distribution and diversity of planktonic microalgae in the coastal area and freshwater lake in south China (Hainan Island). 21st Pacific Science Congress (PSC21), Okinawa, Japan, 12-18 June, 2007.
 11. Ban, S., Yasuoka, H., Tagami, T., Hosoi-Tanabe, S., Ishikawa, K. Horizontal distribution of *Uroglena Americana* resting cysts in bottom sediment of lake Biwa, Japan. *Societas Internationalis Limnologiae*, Montreal, Canada, August, 2007.
 12. Zhang H., Hosoi-Tanabe S., Nagata, S., Ban S., Imura S. Cultivation of microbial community in Antarctic lakes and phylogenetic analysis based on 16S rRNA gene sequences.. Polar Biology Symposium of the National Institute of

Polar Research, Tokyo, Japan, 15-16 November, 2007.

13. 田辺祥子「分子生物学的手法による有毒アオコの動態解析」平成 19 年度日本水産学会近畿支部前期例会シンポジウム。神戸。2007 年 7 月 7 日
14. 田辺祥子・朴虎東・李洪武・伴修平「中国海南省からの有毒・有害プランクトン移入の可能性」平成 19 年度日本水産学会秋季大会。北海道。2007 年 25-28 日
15. Zhang H., Hosoi-Tanabe S., Nagata S., Ban S. and Imura S. Characterization of microorganisms in Antarctic lakes. OCEANS'08 MTS/IEEE KOBE-TECHNO-OCEAN '08 (OTO'08), Kobe, Japan, April, 8-11 日.
16. Hosoi M., Hosoi-Tanabe S., Sarai N., Ichii R., Ban S. and Mori T. cDNA cloning and mRNA expression analysis of cuticle proteins in *Daphnia magna*. ASLO meeting 2008 summer, St. John's, Newfoundland, Canada, June 8-13.
17. Ichi R, Hosoi M, Hosoi-Tanabe S, Sarai N, Mori T, Ban S. Molt cycle related vitellogenin mRNA expression in daphnia magna. ASLO meeting, 2008 summer, St. John's, Newfoundland, Canada, June 8-13.
18. Zhang H., Hosoi-Tanabe S., Nagata S. and Hoshino T. Analysis of community structure of eukaryotic in the Arctic lake sediment. Polar Biology Symposium of the National Institute of Polar Research, Tokyo, Japan, November, 2008.
19. 田辺祥子・豊原治彦・大橋友隆「海洋生物由来成分を用いた凝集沈澱によるバラスト水中の有害・有毒プランクトン除去の試み」平成 21 年日本水産学会春季春季大会。東京。2009 年 3 月 27-31 日。
20. 田辺祥子・細井 公富・伴 修平・朴 虎東・李 洪武「水産養殖用稚魚を介した中国からの有毒・有害プランクトンの越境移入の可能性」第 33 回日本藻類学会大会。沖縄。2009 3 月 25-29 日。

〔図書〕(計 1 件)

田辺(細井)祥子・神川龍馬・左子芳彦. 貝毒原因有毒プランクトンの分子モニタリング. 水産学シリーズ 153「貝毒研究の最前線」(今井一郎・福代康夫・広石伸互編), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 54-62 (2007).

〔その他〕

ホームページ

<http://www.research.kobe-u.ac.jp/rcis-kurcis/>

<http://www.research.kobe-u.ac.jp/rcis-cobio/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

細井祥子(田辺祥子)

神戸大学・内海域環境教育研究センター・助教

研究者番号: 80423226

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者