

自己評価報告書

平成 23 年 4 月 22 日現在

機関番号：82708

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：平成 20 年～平成 23 年

課題番号：20380116

研究課題名（和文） 下痢性貝毒原因種 *Dinophysis* 属の増殖生理と毒生産能に関する研究研究課題名（英文） Study on growth, physiology and toxicology of *Dinophysis* spp. causing diarrhetic shellfish poisoning

研究代表者

神山 孝史 (KAMIYAMA TAKASHI)

独立行政法人水産総合研究センター

研究者番号：60371803

研究分野：微小動物プランクトン

科研費の分科・細目：水産学・水産学一般

キーワード：有毒プランクトン、下痢性貝毒、ディノフィシス、*Dinophysis acuminata*、*Dinophysis fortii*、毒生産、オカダ酸、ペクテノトキシン

1. 研究計画の概要

これまで下痢性貝毒原因プランクトン *Dinophysis* 属の培養は困難であったが、最近その一部の種の培養が成功し、その解明の糸口が開けた。本研究では、その培養手法を発展させ、*Dinophysis* 属の増殖にかかわる栄養特性の詳細を明らかにするとともに、異なる海域から分離培養された *Dinophysis* 属の種類、分布海域および培養条件等の違いによる毒生産能や毒成分の特徴を詳細に調べ、*Dinophysis* 属の毒生産や毒組成に関する情報を得る。これらの成果から、*Dinophysis* 属の増殖のカギとなる栄養的な要因を解明するとともに、毒生産や組成に及ぼす地域的、環境的な要因を明らかにし、緻密で高精度な下痢性貝毒の監視体制の確立に資する。

2. 研究の進捗状況

(1) *Dinophysis* 属の栄養特性の把握

Dinophysis 属が餌料である *Myrionecta rubra* に対して強い依存性をもち、その葉緑体の起源が単一種のクリプト藻 (*Teleaulax amphioxeia*) であることを我が国の多くの海域で明らかにするとともに、*M. rubra* の長期間の培養と遺伝子解析によって、それら3者の関係が餌生物の葉緑体を利用する機構 (Kleptoplastidy) によって成り立っていることを確認した。当初想定していた *M. rubra* 以外の未知餌料の発見にはいまだ至っていない。

(2) *Dinophysis* 属の毒生産能に及ぼす環境条件の影響

室内培養実験での詳細な検討によって、*Dinophysis* 属主要種の温度と増殖および毒生産との関係が解明され、それぞれの指標に対

する適する温度域が判明した。また、増殖と毒生産能に餌料条件が大きな影響を及ぼすことが明らかになった。また、高密度に増殖すると一部の毒成分は細胞外に活発に排泄されることが確認された。さらに *Dinophysis* 属主要種の大量培養が可能となり、それを利用した標準毒生産技術開発や新規毒の探索への展開されつつある。また、全国の天然 *Dinophysis* 属の細胞毒量や毒組成の特徴に関するデータを蓄積できた。

3. 現在までの達成度

① 当初の計画以上に進展している

(理由) Kleptoplastidy とクリプト藻の葉緑体に対する強い依存性の確認によって *Dinophysis* 属の栄養特性の主要な部分が明らかにされた点、培養実験によって *Dinophysis* 属の主要種の増殖と毒生産に及ぼす温度や餌料の影響が確認された点、天然 *Dinophysis* 属の下痢性毒を含めた脂溶性毒の特徴を明らかにできた点は概ね計画どおりに進展している。さらに、大量培養による毒生産の詳細が明らかにされ、それを利用した脂溶性毒分析のための標準毒製造の可能性を示せた点 (特許申請内容) は計画以上の成果であり、総合的に計画以上の進展と判断される。

4. 今後の研究の推進方策

残された期間に、増殖や毒生産に及ぼすいまだ検討していない環境条件の解明、毒生産の地域的特性の解明を行うとともに、*Dinophysis* 属の未知餌料の探索も継続する。

5. 代表的な研究成果

(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 Kamiyama, T., Nagai, S., Suzuki, T., ほか 1 名 (2010) Effect of temperature on production of okadaic acid, dinophysistoxin-1, and pectenotoxin-2 by *Dinophysis acuminata* in culture experiments. *Aquatic Microbial Ecology* 60: 193-202. 査読有

② Suzuki, T., Kamiyama, T., ほか 4 名 (2009) Liquid-chromatographic hybrid triple-quadrupole linear-ion-trap MS/MS analysis of fatty acid esters of dinophysistoxin-1 in bivalves and toxic dinoflagellates in Japan *Fisheries Science* 75: 1039-1048. 査読有

③ Nishitani, G., Nagai, S., Baba, K., Kiyokawa, S., Kousaka, Y., Miyamura, K., Nishikawa, T., Sakurada, K., Shinada, A. and Kamiyama, T. (2010) High-level congruence of *Myrionecta rubra* prey and *Dinophysis* species plastid identities as revealed by genetic analyses of isolates from Japanese coastal waters. *Applied and Environmental Microbiology* 76: 2791-2798. 査読有

④ Nagai, S., Nishitani, G., Tomaru, Y., Sakiyama, S. and Kamiyama, T. (2008) Predation by the toxic dinoflagellate *Dinophysis fortii* on the ciliate *Myrionecta rubra* and observation of sequestration of ciliate chloroplasts. *Journal of Phycology* 44:909-922. 査読有

⑤ Kamiyama, T. and Suzuki, T. (2008) Production of *Dinophysistoxin-1* and pectenotoxin-2 by a cultured of *Dinophysis acuminata* (Dinophyceae). *Harmful Algae* 8: 312-317. 査読有

〔学会発表〕(計 15 件)

① 神山 孝史、有毒渦鞭毛藻 *Dinophysis tripos* の増殖特性と毒生産、平成 22 年度日本水産学会秋季大会 2010 年 9 月 24 日、京都大学

② 西谷 豪、下痢性貝毒原因渦鞭毛藻 *Dinophysis* 属の葉緑体起源に関する分子生態学的研究、平成 21 年度日本水産学会春季大会、2009 年 3 月 28 日、東京海洋大学

③ 鈴木 敏之、Fatty acid esters of diarrhetic shellfish toxin dinophysistoxin-1 in bivalves and toxic dinoflagellates in Japan, 44 th Toxic Microorganisms Joint Panel, UJNR Scientific Session, 2009 年 11 月 10 日、国立医薬品食品衛生研究所

④ Nagai, S., Predation on the ciliate *Myrionecta rubra* by the toxic dinoflagellate *Dinophysis acuminata/fortii/infundibulus* and observation of sequestration of ciliate chloroplasts, 6th International Workshop on Targeted HAB species in the East Asia

Waters. 6th International Workshop on Targeted HAB species in the East Asia Waters, 2009 年 11 月 21 日、東京大学

⑤ 長井 敏、西日本から単離した下痢性貝毒原因渦鞭毛藻 *Dinophysis fortii* の毒生産に及ぼす培養温度の影響、平成 22 年度日本水産学会春季大会、2009 年 3 月 27 日、日本大学藤沢キャンパス

⑥ 長井 敏、西日本から単離した下痢性貝毒原因渦鞭毛藻 *Dinophysis acuminata* および *D. fortii* の毒生産と排出、2009 年 3 月 27 日、日本大学藤沢キャンパス

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 1 件)

名称：下痢性貝毒オカダ酸・ジノフィシストキシン群または脂溶性毒ペクテノトキシン群の製造方法

発明者：鈴木敏之・長井 敏・神山孝史
権利者：独立行政法人水産総合研究センター

種類：特許、特願

番号： 2009-275063 (基礎出願 2009-141174)

出願年月日：平成 21 年 12 月 3 日 (基礎出願 平成 21 年 6 月 12 日)

国内外の別：国内

○取得状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕