

令和 5 年 6 月 13 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19H03051

研究課題名(和文) フグの毒蓄積に関わる分子機構究明 - 毒選択性の視点から

研究課題名(英文) Studies on molecular mechanisms involved in selective toxin accumulation in pufferfish

研究代表者

荒川 修 (Arakawa, Osamu)

長崎大学・水産・環境科学総合研究科(水産)・教授

研究者番号：40232037

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,100,000円

研究成果の概要(和文)：多様なフグ種を対象に、テトロドトキシン(TTX)/サキシトキシン群(STXs)の分布プロファイルや選択的取り込み・蓄積能を調べるとともに、フグ毒結合タンパク質(PSTBP)/トリブチルスズ結合タンパク質(TBT-bp2)遺伝子の分布や系統、PSTBPのプロテオフォームについて検討した。その結果、新たにキタマクラ属やPao属フグ、広塩性フグの毒分布/選択的蓄積プロファイルが明らかとなり、フグのTTX蓄積にはPSTBP、STXs蓄積にはTBT-bp2が関与することが示唆された。さらに、トラフグ血漿PSTBPの基本的なプロテオフォームを解明することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、フグが何故、如何にして毒をもつようになったのかという水圏生命科学上の根源的な疑問の解明を目指しており、フグ毒化の分子機構のみならず、海水と淡水で異なる毒を獲得してきたフグの進化の過程にも迫るものである。さらに、食品衛生上世界的な問題となっている魚介類のTTX/STXs汚染リスクを根本的に回避するうえでも、重要な知見を提供するだろう。今回得られた成果は、フグの毒化機構の解明に大きく貢献するものであり、将来的にはゲノム編集技術によるスーパー無毒フグ(遺伝的に毒を蓄積しないフグ)の作出などにも応用可能と考えられる。

研究成果の概要(英文)：In various pufferfish species, the distribution profiles and selective uptake and accumulation abilities of tetrodotoxin (TTX)/saxitoxins (STXs) were investigated, and the distribution and phylogeny of pufferfish toxin binding protein (PSTBP)/tributyltin-binding protein (TBT-bp2) genes, and PSTBP proteoforms were examined. The results newly revealed toxin distribution/selective accumulation profiles for the genus Canthigaster/Pao and euryhaline pufferfish, suggesting that PSTBP is involved in TTX accumulation in pufferfish and TBT-bp2 in STXs accumulation. Furthermore, we were able to elucidate the basic proteoform of tiger pufferfish plasma PSTBP.

研究分野：水産食品衛生学、水産化学

キーワード：フグ テトロドトキシン サキシトキシン フグ毒結合タンパク質(PSTBP) トリブチルスズ結合タンパク質(TBT-bp2) キタマクラ属 Pao属 プロテオフォーム

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

フグの毒テトロドトキシン (TTX) は外因性で、フグには成長や成熟に伴い変化する TTX の特異な体内動態が存在する。研究代表者らは、それらを担う候補分子として、トラフグにはサキントキシン (STX)/TTX 結合タンパク質 (PSTBP) に相同な 4 種のアイソフォーム遺伝子が存在し、うち 2 種は肝臓や血液中で発現していることを示した。さらに、PSTBP アイソフォーム群は、他のトラフグ属有毒種にもみられるが、無毒種や一般魚には認められないことから、「TTX の輸送・蓄積には当該アイソフォーム群が関係し、それらの血中での組成変化が毒の運搬先を決定づける」と予想したが、いずれのアイソフォームも毒の有無や成長・成熟に関係なく構成的に発現していることがわかってきた。一方、淡水産のフグは、TTX に代え、主に皮と卵巣に STXs を保有する。研究代表者らは、淡水フグ *Pao tergidus* の無毒養殖個体を用いて TTX/STXs の投与実験を行い、STXs のみ皮に移行・蓄積することを見出した。さらに、ヒガンフグと *Pao suvattii* を用いた TTX/STXs 投与実験においても、前者は TTX、後者は STXs のみ選択的に体内に取り込み、特定の組織に蓄積することを見出した。このことは、毒蓄積部位や消化管に選択的毒取り込み/吸収機構が存在することを強く示唆するもので、そこに関わる分子機構を探索し、PSTBP との関連を究明することが、毒蓄積システムの全体像理解への突破口になると考えられた。

2. 研究の目的

以上のような状況の下、本研究では、フグにおける毒の吸収・輸送・蓄積機構の全容解明を目指し、海産/淡水フグにおける TTX/STXs の分布プロファイルや選択的取り込み・蓄積能に関する情報を集積するとともに、PSTBP に加え、PSTBP の分子進化の起源であるトリプチルスズ結合タンパク質 (TBT-bp2) に着目し、それらの遺伝子の分布や系統、選択的毒蓄積への関与、PSTBP のプロテオフォームなどについて検討した。

3. 研究の方法

(1) シマキンチャクフグとキタマクラの毒分析：奄美大島産のシマキンチャクフグ *Canthigaster valentini* 10 個体および長崎県産のキタマクラ *Canthigaster rivulata* 15 個体につき、各部位から毒を抽出し、LC-MS/MS で TTX を、HPLC-FLD で STXs を定量するとともに、別に採取した長崎県産のキタマクラ 4 個体につき、胃内容物を採取して光学顕微鏡による観察と illumina 社 MiSeq を用いたアンプリコンシーケンス解析を行った。

(2) オキナワフグへの *in vivo* 毒投与実験：オキナワフグ *Chelonodontops patoca* の無毒養殖個体 40 個体を 20 個体ずつ 2 群 (塩分 33‰ で馴致・飼育する「海水群」、および 8‰ で馴致・飼育する「汽水群」) に分け、TTX/STX 混合毒 (用量はともに 7.5 nmol/fish) を直腸内に投与後、1、12、24、48 時間経過時に各群 5 個体ずつ取り上げて、部位別に TTX/STX 含量を定量した。

(3) トラフグと広塩性淡水フグ・マミズフグの *in vitro* 組織切片培養実験：無毒養殖トラフグ *Takifugu rubripes* の肝臓、皮、腸から組織切片を作成し、25 µg/mL の TTX を含む培養液中、1-48 時間培養後、各切片の TTX 含量を測定した。一方、マミズフグ *Dichotomycere fluviatilis* とトラフグの無毒養殖個体から同様の組織切片を作成し、マミズフグでは TTX (20 nmol/mL) と STXs (計 20 nmol/mL)、トラフグでは TTX と STX (各 20 nmol/mL) を含む培養液中、最長 24 または 72 時間培養し、経時的に各組織切片が取り込んだ毒量を測定した。

(4) カンボジア産パオ属淡水フグの毒分析と遺伝子解析：カンボジア・プノンペンで採取した 11 個体の *Pao* sp. A とクラチエで採取した 5 個体の *Pao* sp. B につき、各部位から STXs を抽出し、HPLC-FLD で定量した。一方、両種の各個体から DNA を抽出し、ミトコンドリアのマーカー遺伝子を PCR 増幅して配列を決定した。また、近縁他種の配列から PSTBP 遺伝子/TBT-bp2 遺伝子の PCR プライマーを設計し、PCR 増幅産物の配列を決定した。他のパオ属のミトコンドリアマーカー遺伝子配列も加えてベイズ法、最尤法による系統樹を構築した。*Pao* sp. A と sp. B の PSTBP 遺伝子/TBT-bp2 遺伝子配列を最尤法で系統樹を構築して比較した。

(5) フグ目のゲノム/トランスクリプトーム解析：フグ目を網羅するようにサンプルを収集し、ショートリードによるゲノムシーケンシング、さらに一部のサンプルについては RNA シーケンシングも行った。得られたリードデータは IBDA_UD や BLAST を組み合わせて独自に開発したパイプラインを用いてアセンブルを行った。SRA データベースに登録されているフグ目サンプルのゲノムリードについても同様にアセンブルを行った。アセンブルと合わせて、各ゲノムリードデータの *k-mer* ヒストグラムを作成し、ゲノムサイズを推定した。得られたゲノム/トランスクリプトームアセンブリーから、PSTBP 遺伝子/TBT-bp2 遺伝子、ミトコンドリアゲノム、核ゲノム rRNA 遺伝子、さらにこれまでに他の研究によって解読されている構造遺伝子のアノテーションを行った。アノテーションされたミトコンドリアゲノムおよび核ゲノムについては、各遺伝子ごとに配列のアライメントを行った。ミトコンドリアゲノムと核ゲノムに分けてアライメントを結合し、塩基配列とアミノ酸配列のデータセットを作成した。これらのデータセットからベイズ法、最尤法などによる系統樹を構築した。また、PSTBP 遺伝子/TBT-bp2 遺伝子配列の最尤法による系統樹を構築した。

(6) **トラフグ血漿由来 PSTBP のエンリッチ化およびグライコプロテオミクス**: フグ類の PSTBP は、それらの遺伝子から推定されたアミノ酸配列に基づき、リポカリンファミリーに属する酸性糖タンパク質の一種であることが知られていたが、それらの質量の 50–62% が糖鎖であり、また一つのリポカリンドメインあたり 6–7 残基のシステインを有しているため、化学構造解析が難しく、これまで PSTBP の詳細なプロテオフォーム解析はなされていなかった。そこで、無毒トラフグ血漿中に含まれる PSTBP 様タンパク質のエンリッチ化とグライコプロテオミクスによるプロテオフォーム解析を行った。まず、硫酸分画 (50%–70% 飽和塩析) と小麦胚芽凝集素 (WGA) を用いたアフィニティーカラムクロマトグラフィーにより PSTBP 様タンパク質のエンリッチ化を行った。エンリッチ化のステップにおける各画分の単位タンパク質量あたりの TTX 結合能は、遠心限外濾過と LC-MS/MS による TTX 定量により評価した。WGA カラム吸着画分と PNGase F 処理した WGA カラム吸着画分を SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動で分離後、クーマシーブルー (CBB) 染色、抗 Tr1 ペプチド抗体を用いたウエスタンブロット染色、Pro-Q Emerald 488 染色 (糖鎖を有するタンパク質の検出) による生化学的解析を行った。また、分離した各バンド (CBB 染色) をゲル内消化し、得られたペプチドを MALDI-QIT-TOF 型質量分析計を用いた MS/MS イオンサーチに供してタンパク質の同定を行った。

4. 研究成果

(1) **シマキンチャクフグとキタマクラの TTX/STXs プロファイル**: 有毒であることは知られているものの、毒の本体に関する知見がないシマキンチャクフグについて、毒の体内分布と毒組成を調査したところ、皮と卵巣から、TTX (平均濃度は雌の皮で 328 nmol/g、卵巣で 448 nmol/g、雄の皮で 123 nmol/g) に加えて neoSTX を主成分、decarbamyloSTX (dcSTX) と STX を副成分とする多量の STXs (3 成分の総和の平均濃度は雌の皮で 30 nmol/g、卵巣で 65 nmol/g、雄の皮で 30 nmol/g) が検出された。他の部位 (筋肉、肝臓、腸、胆嚢、精巣) も有毒であったが、毒量は皮と卵巣より遥かに少なかった。TTX/STXs の比率は組織により大きく異なったが、魚体全体で見ると主要毒成分は TTX で、雄では総毒量の 25%、雌では 13% を STXs が占めていた。一方、同属のキタマクラからも TTX に加えて多量の STXs が検出された。皮の毒濃度 (TTX+STXs=0.7–223.1 MU/g) が最も高く、個体の総毒量の平均 98.7% が皮に局在していた。総毒量に占める STXs の割合は、弁天白浜 0.4–47.7% (n=5)、為石 0.4–99.5% (n=8)、福江港 4.0–29.1% (n=2) で総じて既報 (1.8–4.0%) よりも遥かに高かった。したがって、キタマクラ属の海産フグは、モヨウフグ属のフグ同様、TTX と STXs を同時に保有しうる種と考えられた。キタマクラの胃内容物からは多数の二枚貝、アメフラシ、カイアシ類などが検出された。

(2) **オキナワフグの TTX/STXs 蓄積プロファイル**: TTX を主要毒成分とするが、STXs をもつこともあるオキナワフグにつき、TTX と STX の混合毒を直腸内投与したところ、腸組織、肝臓、筋肉、および皮に移行・蓄積した量は、海水群、汽水群ともに総じて TTX より STX の方が多かった。特に腸組織では、TTX は漸減して最終的にほとんど検出されなくなったのに対し、STX は投与量の概ね 5–10% のレベルで保持されており、また、肝臓には STX のみ一過的な移行が見られた。海水群と汽水群の比較では、①汽水群の方が腸での TTX 減少が速く、STX 保持量が多い、②汽水群の方が肝臓に一過的に移行する STX 量が多く、その減衰に伴って汽水群のみ筋肉の STX 量が一時的に増加する、③皮における STX 量と TTX 量の差は、海水群では経時的に減少、汽水群では増加する、などの差異が認められた。したがって、オキナワフグは、TTX と STXs のどちらか一方に選択性を示すトラフグ属の海産フグやパオ属淡水フグとは異なり、TTX と STXs の両方を体内に取り込み蓄積することができるが、潜在的には TTX より STXs に対する選択性の方が高く、特に低浸透圧下では STXs をより蓄積し易い可能性のあることが示唆された。

(3) **トラフグとマミズフグ各組織の TTX/STXs 取り込み能**: トラフグの肝臓、皮、腸から作成した組織切片は、TTX 存在下で培養すると、いずれも培

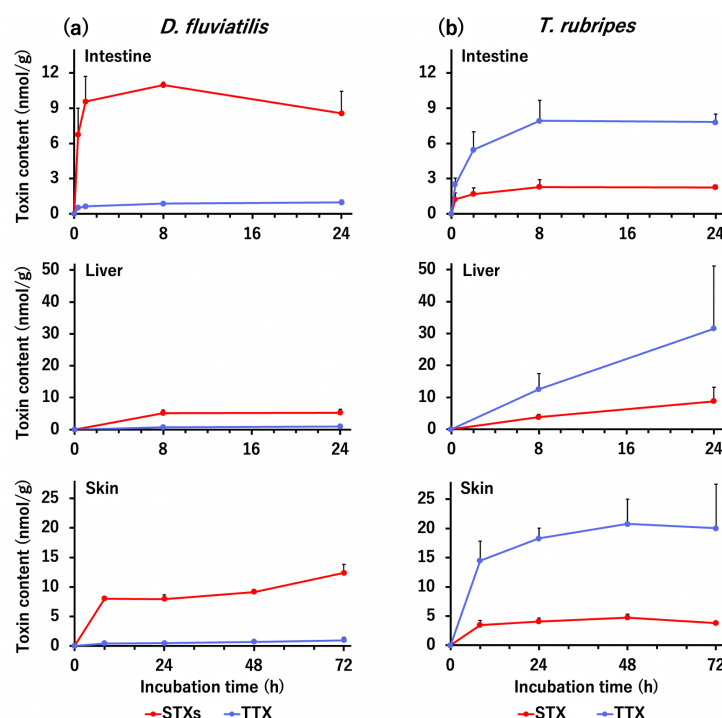


図1 マミズフグ (a) とトラフグ (b) の腸、肝臓、および皮組織切片に取り込まれた毒量の推移

養液中の TTX を顕著に取り込んだ。皮と腸の切片の TTX 取り込み量は、ともに肝臓切片と同程度かやや高く、総じて肝臓切片と同様の経時的推移を示したことから、トラフグの皮と腸は肝臓と同様の TTX 取り込み能をもつことが示唆された。幼魚と成魚の比較では、肝臓と腸の TTX 取り込み能に顕著な差はみられなかったが、幼魚の皮は成魚の約 2 倍の TTX を取り込んだ。一方、マミズフグとトラフグから同様の組織切片を作成し、TTX/STXs 存在下で培養したところ、トラフグでは各組織で TTX の取り込み量が STX のそれを凌駕したのとは対照的に、マミズフグの腸、肝臓、および皮組織は STXs のみを選択的に取り込むことが示された (図 1)。すなわち、淡水フグと海産フグとでは、個体レベルのみならず組織レベルでも TTX/STXs 選択性が全く異なることが明らかとなった。

(4) カンボジア産パオ属淡水フグの毒分析と遺伝子解析：カンボジアのプノンペンで採取した *Pao* sp. A (PNH-1~11) およびクラチエで採取した *Pao* sp. B (KTI-1~5) につき毒分析を行ったところ、ともに STX を主成分とする STXs を保有していた。*Pao* sp. A では各組織の毒濃度はいずれもきわめて高く、Codex Committee の STX 規制値 (0.8 mg STX·diHCL equivalent/kg) を遥かに上回ったのに対し、*Pao* sp. B では皮の毒濃度のみ高かった (図 2)。一方、*Pao* 属を網羅して構築した系統樹から *Pao* sp. A と *Pao* sp. B がそれぞれ単一の種であること、また両者は別々の種であることがわかった。*Pao* sp. A と sp. B それぞれの PSTBP 遺伝子/TBT-bp2 遺伝子の PCR 増幅を試みた結果、PSTBP 遺伝子と思われる配列 (2 つの TBT-bp2 遺伝子が融合した配列) はどの個体からも増幅されなかった。一方、TBT-bp2 遺伝子はすべての個体から増幅された。ただし、2 個体で複数の波形が重なり配列が決定できなかった。これは、TBT-bp2 遺伝子のコピー間で配列が異なるためだと考えられる。得られた配列のコンセンサス領域の系統解析 (図 2) の結果、*Pao* sp. A と *Pao* sp. B の TBT-bp2 遺伝子の塩基配列には共通した違いがあるだけでなく、アミノ酸配列にも両者間に相違があることがわかった。これらのことから、TBT-bp2 遺伝子が STXs の蓄積に質的・量的に関係していることが示唆された。

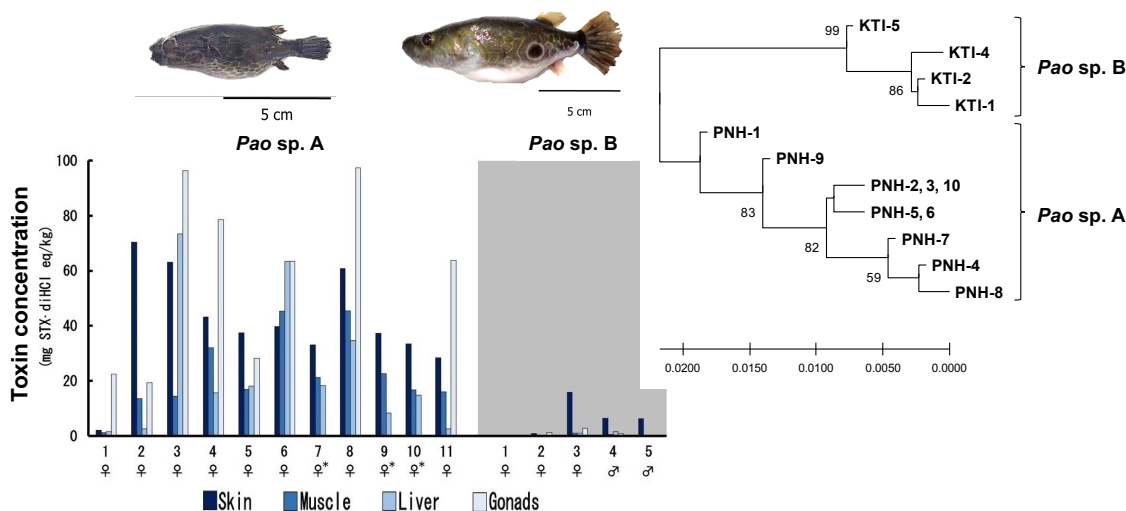


図 2 カンボジア産パオ属淡水フグの STXs 蓄積プロファイルと TBT-bp2 遺伝子の分子系統樹

(5) フグ目のゲノム/トランスクリプトーム解析：フグ目の系統解析ではミトコンドリアゲノムのデータセット、核ゲノム遺伝子のデータセットそれぞれで、塩基配列およびアミノ酸配列による系統樹を構築した。フグ目の科間の系統関係、フグ科の属間の系統関係は、データセットの違いと塩基配列とアミノ酸配列の違いによって大きく異なることになったので、生態や生息環境を考慮して最終的に図 3 に示すトポロジーが妥当であると考えられた。PSTBP 遺伝子/TBT-bp2 遺伝子のアノテーションを行った結果、PSTBP 遺伝子はトラフグ属、モヨウフグ属、キタマクラ属のほとんどの個体が有していることがわかった。また、個体によって PSTBP 遺伝子のコピー数が異

分子系統樹	分類群	PSTBP 遺伝子	TBT-bp2 タイプ1	ゲノム サイズ
フグ科	ミドリフグ属	—	○	3.5Mbp
	パオ属	—	○	3.3Mbp
	キタマクラ属	○	○	3.2Mbp
	モヨウフグ属	○	○	3.6Mbp
	トラフグ属	○	—	4.0Mbp
	サバフグ属	—	—	3.2Mbp
ハリスンボン科	ハコフグ科・マンボウ科	—	n.t.	6.1Mbp
	カワハギ科・モンガラカワハギ科	—	n.t.	4.6-9.4 Mbp

図 3 フグ目の科間、フグ科の属間の比較

なっている可能性が示された。一方、これら3属以外の属からは PSTBP 遺伝子は見られなかった。TBT-bp2 遺伝子は解析したすべての個体から得られ、PSTBP 遺伝子を含む TBT-bp2 遺伝子の系統樹を構築したところ、フグ科の配列は大きく2つの系統 (TBT-bp2 タイプ1とタイプ2) に分けられることがわかった。興味深いことに、TBT-bp2 タイプ1は STXs を蓄積するパオ属、キタマクラ属、モヨウフグ属だけに見られた。ゲノムサイズについては、フグ目では特にフグ科が小さいことが明らかになった。配列の詳細な解析から、ゲノムの縮小には、トランスポゾンが関係していることが考えられた。これらのことから、TTX/STXs の選択的取り込み・蓄積には PSTBP 遺伝子または TBT-bp2 タイプ1 遺伝子が大きく関わっていることが考えられた。また、PSTBP 遺伝子と TBT-bp2 タイプ1 遺伝子はフグ科のみに見られたことから、これらの遺伝子の進化にはゲノムサイズの縮小がなんらかの影響を持っていることが予測された。

(6) **トラフグ血漿由来 PSTBP のエンリッチ化およびグライコプロテオミクス** : WGA カラム吸着画分の主要タンパク質バンドは、PSTBP に特異的な検出が可能な抗 Tr1 ペプチド抗体に反応性を示したことから、PSTBP 様タンパク質がエンリッチ化されていることが示唆された。また、トラフグ血漿、血漿の50%-70%飽和塩析沈殿画分、WGA カラム吸着画分の TTX 結合能は、それぞれ 7.4 ng/mg、77.5 ng/mg、403.4 ng/mg となり、WGA カラム吸着画分は血漿の 54.5 倍の TTX 結合能を示したことから、機能面からも効率良いエンリッチ化を確認できた。エンリッチ化した PSTBP の還元プロピオンアミド化 (システイン残基の堅実な保護による再酸化防止) と PNGase F 処理 (脱糖鎖処理) を施すことにより、観測質量と配列データベースからの理論質量を照合する MASCOT 検索時のペプチドカバー率を向上させたことで、ゲノム上に少なくとも5つ存在する PSTBP 様遺伝子の中から血漿 PSTBP をコードする一つの遺伝子 (LOC101075943) を特定できた。その結果を模式図で示す (図4)。すなわち、新規な3つのドメイン繰り返し配列を有する TrubPSTBP1L_X1 (125-kDa 糖タンパク質)、および、2つのリポカリンドメインの繰り返し配列を持ったヒガンフグ血漿 PSTBP と同じドメイン構造を有する TrubPSTBP1L_X2 バリエント (X2 α/β : 88-および 79-kDa 糖タンパク質) を同定した。さらに、TrubPSTBP1L_X2 バリエントについて、それらの前駆体 X2 の5箇所に対応する N-グリカン結合部位を実験的に決定した。トラフグ血漿 PSTBP は、高マンノース型の N-グリカン認識するコンカナバリン A よりも WGA に高い親和性を示すことから、シアル酸を末端に有するコンプレックス型の N-グリカンを持つものと考えられた。トラフグ血漿 PSTBP の基本的なプロテオフォームとそれらをコードする遺伝子が明らかになったことから、今後、血漿 PSTBP と相互作用する生体分子の探索や TTX の組織特異的輸送機構の解明、ゲノム編集による機能解析や無毒フグ作出に繋がると期待できる。

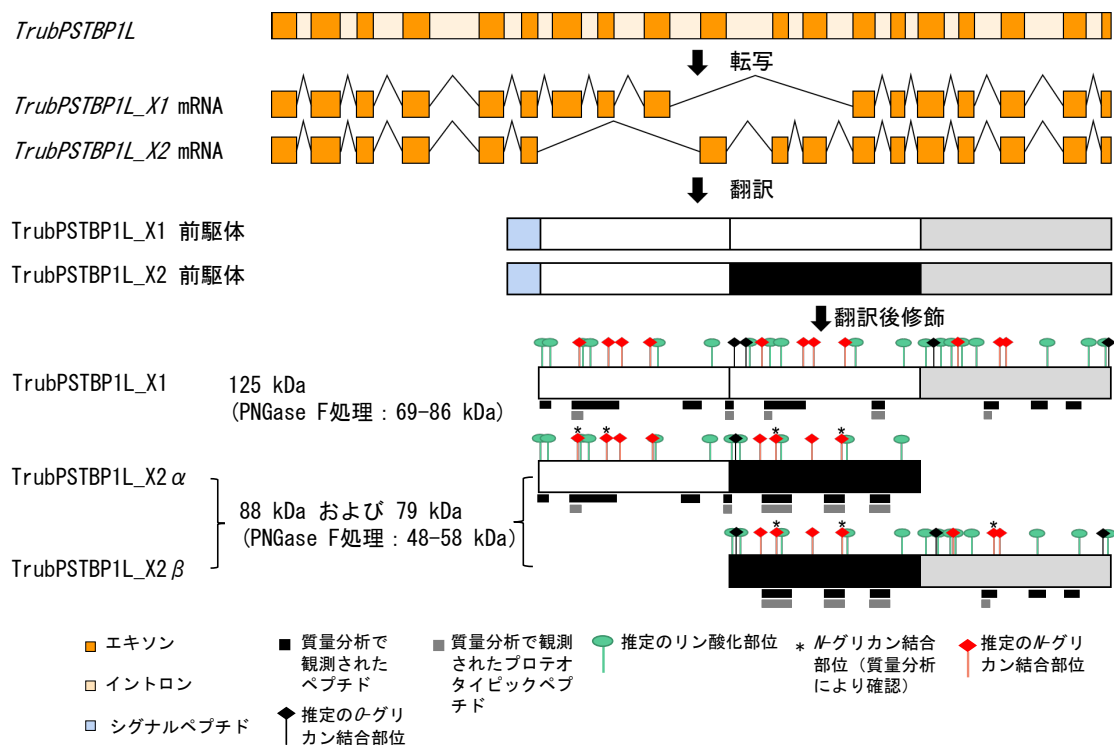


図4 トラフグ血漿 TTX 結合タンパク質 (TrubPSTBP1L_X1、TrubPSTBP1L_X2 α/β) は、一つの遺伝子 (LOC101075943) に由来するスプライシングアイソフォームを介した翻訳後修飾により生じる。白色ボックス、灰色ボックス、黒色ボックスは、それぞれ、Tr1 に相同なタイプ1ドメイン、Tr2 に相同なタイプ2ドメイン、Tr3 の N 末端ドメインに相同なタイプ3ドメインを示す。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Yamada Akinori, Hamaguchi Ayaka, Sakoda Hikari, Kakamu Motohiro, Doi Hiroyuki, Hasin Sasitorn, Arakawa Osamu	4. 巻 6
2. 論文標題 Complete mitochondrial genomes of the Southeast Asian freshwater pufferfishes, <i>Pao abei</i> (Roberts, 1998) and <i>Pao suvattii</i> (Sontirat and Soonthornsatit, 1985) (Tetraodontiformes: Tetraodontidae) and an insight into the taxonomic status of <i>Pao</i> species	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Mitochondrial DNA Part B	6. 最初と最後の頁 1448 ~ 1450
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/23802359.2021.1911708	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Zhu Hongchen, Sakai Towa, Nagashima Yuji, Doi Hiroyuki, Takatani Tomohiro, Arakawa Osamu	4. 巻 13
2. 論文標題 Tetrodotoxin/Saxitoxins Selectivity of the Euryhaline Freshwater Pufferfish <i>Dichotomyctere fluviatilis</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Toxins	6. 最初と最後の頁 731 ~ 731
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/toxins13100731	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Zhang Yuchengmin, Tsutsui Hideto, Yamawaki Nobuhiro, Morii Yasuhiro, Nishihara Gregory N., Ito Shiro, Arakawa Osamu, Takatani Tomohiro	4. 巻 19
2. 論文標題 Geographic Variations in the Toxin Profile of the Xanthid Crab <i>Zosimus aeneus</i> in a Single Reef on Ishigaki Island, Okinawa, Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Marine Drugs	6. 最初と最後の頁 670 ~ 670
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/md19120670	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Zhu Hongchen, Sonoyama Takayuki, Yamada Misako, Gao Wei, Tatsuno Ryohei, Takatani Tomohiro, Arakawa Osamu	4. 巻 12
2. 論文標題 Co-Occurrence of Tetrodotoxin and Saxitoxins and Their Intra-Body Distribution in the Pufferfish <i>Canthigaster valentini</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Toxins	6. 最初と最後の頁 436 ~ 436
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/toxins12070436	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Zhu Hongchen, Yamada Akinori, Goto Yui, Horn Linan, Ngy Laymithuna, Wada Minoru, Doi Hiroyuki, Lee Jong Soo, Takatani Tomohiro, Arakawa Osamu	4. 巻 12
2. 論文標題 Phylogeny and Toxin Profile of Freshwater Pufferfish (Genus Pao) Collected from 2 Different Regions in Cambodia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Toxins	6. 最初と最後の頁 689 ~ 689
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/toxins12110689	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Gao Wei, Kanahara Yoko, Yamada Misako, Tatsuno Ryohei, Yoshikawa Hiroyuki, Doi Hiroyuki, Takatani Tomohiro, Arakawa Osamu	4. 巻 11
2. 論文標題 Contrasting Toxin Selectivity between the Marine Pufferfish Takifugu pardalis and the Freshwater Pufferfish Pao suvattii	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Toxins	6. 最初と最後の頁 470 ~ 470
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/toxins11080470	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Gao Wei, Yamada Misako, Ohki Rieko, Nagashima Yuji, Tatsuno Ryohei, Ikeda Koichi, Kawatsu Kentaro, Takatani Tomohiro, Arakawa Osamu	4. 巻 174
2. 論文標題 Evaluation of the tetrodotoxin uptake ability of pufferfish Takifugu rubripes tissues according to age using an in vitro tissue slice incubation method	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Toxicon	6. 最初と最後の頁 8 ~ 12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.toxicon.2019.11.014	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 O. Arakawa, A. Yamada, K. Yamaguchi, T. Takatani
2. 発表標題 Tetrodotoxin/saxitoxin selectivity in pufferfish
3. 学会等名 6th Asia-Pacific Symposium on Food Safety 2021 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 南 良直, Zhang Yafei, 山口健一, 大嶋雄治, 山田明德, 高谷智裕, 荒川 修
2. 発表標題 フグ毒結合タンパク質アイソフォームのプロテオーム解析
3. 学会等名 令和4年度日本水産学会春季大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 五十川純太、鈴木重則、荒川 修、高谷智裕
2. 発表標題 人工種苗トラフグの孵化後初期におけるTTX量の変化
3. 学会等名 令和元年度日本水産学秋季大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 野口玉雄、濱田英嗣、荒川 修	4. 発行年 2022年
2. 出版社 筑波書房	5. 総ページ数 143
3. 書名 無毒フグ肝を食用化する	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	山田 明德 (Yamada Akinori) (40378774)	長崎大学・水産・環境科学総合研究科(水産)・准教授 (17301)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	高谷 智裕 (Takatani Tomohiro) (90304972)	長崎大学・水産・環境科学総合研究科（水産）・教授 (17301)	
研究分担者	山口 健一 (Yamaguchi Kenichi) (90363473)	長崎大学・水産・環境科学総合研究科（水産）・教授 (17301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
カンボジア	University of Kratie			
韓国	Gyeongsang National University			