

安全な農畜水産物安定供給のための包括的レギュラトリーサイエンス研究推進委託事業

「持続可能な農林水産業推進とフードテック等の振興に対応した未来の食品安全プロジェクトのうち、
脂溶性貝毒アザスピロ酸のモニタリング技術の高度化」

令和5年度 研究実績報告書

課題番号	23812757
課題名	脂溶性貝毒アザスピロ酸のモニタリング技術の高度化

研究実施期間	令和5年度～令和9年度（5年間）
代表機関	国立研究開発法人 水産研究・教育機構 水産技術研究所
研究総括者	松嶋 良次
共同研究機関	国立大学法人 東京大学 大学院農学生命科学研究科
	国立大学法人 高知大学 教育研究部自然科学系農学部門

＜別紙様式2＞研究実績報告書

令和5年度 安全な農畜水産物安定供給のための
包括的レギュラトリーサイエンス研究推進委託事業
「持続可能な農林水産業推進とフードテック等の振興に対応した未来の食品安全プロジェクト
のうち、脂溶性貝毒アザスピロ酸のモニタリング技術の高度化」
研究実績報告書

I. 研究の進捗状況等

ホタテガイへ培養アザスピロ酸 (AZA) 生産藻類 *Azadinium poporum* の給餌を行い、軟体部を部位ごとに分け各部位のAZAを測定した。ホタテガイにおけるAZA群の分布を明らかにし、AZAの蓄積率を算出した。AZA群の代謝物と推定されるピークを検出した。日本沿岸に出現するアンフィドマ科渦鞭毛藻を定量検出するため、定量PCR (qPCR) 用のプライマーとプローブを作成した。qPCRでのDNA増幅を確認するとともに検量線を作成した。アザスピロ酸生産種を解析対象とする定量メタバーコーディング解析に、適切な遺伝子領域について検討し、28S rDNA D2領域を選定した。本領域のDNA断片を増幅可能なPCRプライマーを開発した。培養したAZA2生産藻類をろ過海水で段階的に希釈し、各希釈段階のAZA2生産藻類を含む海水試料を精製濃縮し、LC/MS/MS分析した。

1. アザスピロ酸の二枚貝の複数種への蓄積特性の解明

ホタテガイへ培養アザスピロ酸 (AZA) 生産藻類 *Azadinium poporum* の給餌を行い、軟体部を部位 (閉殻筋、外套膜、生殖巣、鰓、中腸腺) ごとに分け各部位のAZAを測定した。ホタテガイにおけるAZA群の分布を明らかにし、給餌した *Az. poporum* の毒量から蓄積率を算出した。LC/MS/MS分析によりホタテガイにおけるAZA群の代謝物を検索し、代謝物と推定されるピークを検出した。

2. アザスピロ酸のモニタリング手法の開発

アンフィドマ科渦鞭毛藻を定量検出するため、定量PCR (qPCR) 用のプライマーとプローブを作成した。培養株を用いてqPCRでのDNA増幅を確認するとともに検量線を作成し、検出精度の確認を進めている。*Amphidoma* の一種について、*Amphidoma languida* との形態形質の相違を明らかにするために、鋳板配列を走査電顕で、ピレノイドなど細胞内微細構造を透過電顕で観察した。

アザスピロ酸生産種を解析対象とする定量メタバーコーディング解析に、最も適切な遺伝子領域について検討し、適切な領域として28S rDNA D2領域を選定した。本領域のDNA断片を増幅可能なPCRプライマー (LSUD2MiSeqFow並びにLSUD2MiSeqRev) を開発した。

培養したAZA2生産藻類をろ過海水で段階的に希釈し、各希釈段階のAZA2生産藻類を含む海水試料を逆相固相抽出カラムを用いて精製濃縮し、LC/MS/MS分析した。