

貝毒を迅速に分析する



新垣 雄光

1 はじめに

2007年は、日本国内・外において、食の安全・安心に不安を投げかける年であった。例えば、国内では牛肉偽装問題、賞味期限の改ざん等、さらに隣国の中国では、「ダンボール入り肉まん」なる偽装報道があり、不安を煽った。年が明け2008年に入ってから、中国産の毒入り餃子の問題が発覚するなど、食の安全が一層脅かされる事態となった。

そこで、本話題では、食の安全を分析する技術について紹介する。特に、日本人にとって魚貝類は重要な食材であり、生でも食することが多いため、本話題では迅速に貝の毒性を調べる分析技術を紹介する。

貝毒は、二枚貝類（ホタテガイ、カキ、アサリ、ムラサキガイなど）が毒素を持った植物プランクトンを捕食し、毒素を体内に蓄積し、その貝を人間が食べることで引き起こされる典型的な食物連鎖による食中毒である。原因物質としては、図1に示すようなオカダ酸（OA）やオカダ酸の官能基の一部がメチル基やアシル基に置換されたジノフィシトキシン群（DTX群）が知られている¹⁾。これらの毒成分は熱に強く、加熱しても毒性はほとんど変わらないとされている。

貝毒には、麻痺性貝毒と下痢性貝毒がある。麻痺性貝

毒は、唇、舌、顔面の麻痺を引き起こし、症状が重い場合、呼吸困難を引き起こし死に至ることもある。下痢性貝毒は、吐き気や嘔吐、腹痛を引き起こすが、毒性は比較的弱く、死亡までは至らないと言われている。

貝毒の監視は、各都道府県の水産課や水産研究所などが貝および貝毒の原因となる植物プランクトンについての調査を実施、監視している。

2 貝毒を調べる公定法

従来の下痢性貝毒の検査方法では、毒素を貝の中腸腺から有機溶媒を使って抽出し、これをマウスの腹腔内に投与し致死活性を測定する方法が用いられている。この場合、毒性はマウスユニット（MU）という単位で表される。1 MU/gとは二枚貝の可食部1g中に体重20gのマウスが15分で死ぬ毒性を含むことを意味し、体重60kgの人間の致死量は3000~20000 MUと言われている。食品衛生法では4 MU/gを超える貝は販売してはならないことになっている。

この検査法（マウス公定法）では、検査に実験動物であるマウスを用いるため、次の三つの問題点が指摘されている²⁾：①感度が悪く検査に時間がかかる（結果が出るまでに24時間程度かかる）、②マウスの健康状態などにより検査結果が変わる、③マウスの命を犠牲にしている。近年、欧米諸国では、動物を検査に使用することを可能な限り制限しようとする動きが広がっている。また、貝毒による被害を未然に防ぐためには、毒化した貝を早期に発見することが必要である。現在の公定法では、貝の検査に時間がかかり、さらに検査の回数が限られているため、場合によっては手遅れになることが考えられる。このため、高感度でありながら簡便で、さらに短時間に下痢原性毒素であるオカダ酸およびDTX群化合物を測定する方法の開発が望まれている。

3 PP2A 活性阻害を利用したオカダ酸の検出法

貝毒の原因物質として知られているオカダ酸やDTX群をプロテインホスファターゼ活性阻害法によって検出する検査キット（DSP Rapid Kit, DSP: diarrhoeic shellfish poisoning）が開発された（㈱トロピカルテク

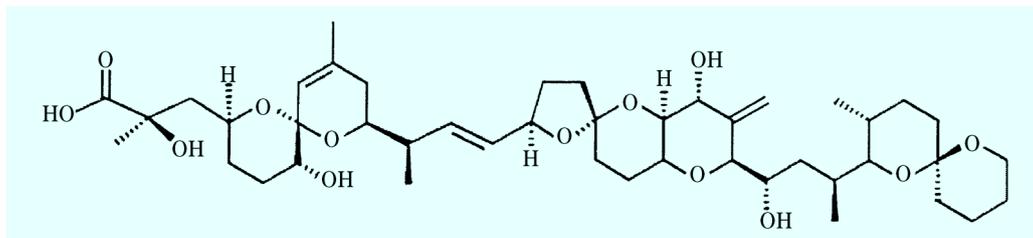


図1 オカダ酸

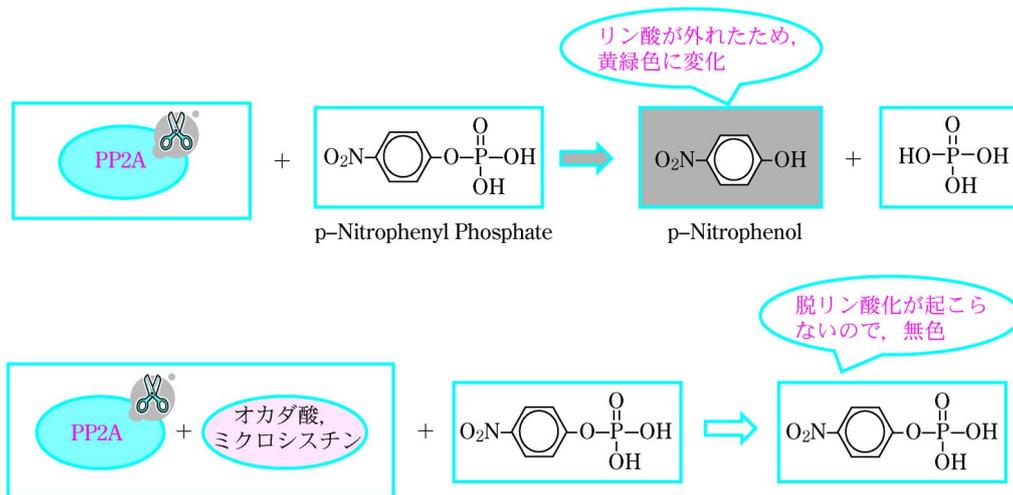


図2 PP2A 活性阻害を利用したオカダ酸および DTX 群の検出法

表1 マウス公定法との比較

	マウス公定法	エライザ法*	DSP Rapid Kit**
分析時間	24 時間程度	2 時間以内	1 時間以内
コスト	約 12,000 円/ 検体	約 1,500 円/ 検体	約 1,000 円/ 検体
検出下限	2 MU	0.02 換算 MU 程度	0.005 MU 程度

* エライザ法 (酵素結合抗体法): enzyme linked immunosorbent assay, ELISA

** セティ株式会社 (www.scteci.co.jp/medical/)

ノセクター)。本法では、実験用のマウスを必要としないだけでなく、特別な施設・設備等も必要とせず、通常の実験室で測定が可能である。また、表1に示すように、DSP Rapid Kitは分析時間やコスト面、感度において、これまでのマウス公定法よりも優れている。さらに、海外で広く実用化されているエライザ法 (酵素結合抗体法) よりもコスト面、感度において優れている。

DSP Rapid Kitの測定原理を図2に示す。プロテインホスファターゼ2A (PP2A)の基質としてパラニトロフェニルリン酸を用いると、脱リン酸化反応によってパラニトロフェノール (黄緑色)が生成し、反応液が黄緑色に発色する。しかし、OAやDTX群が存在すると、PP2Aの活性阻害が起こり、脱リン酸化が起こらないため、発色しない。従って、この発色の程度を測定することによって、OAおよびDTX群を定量することができるというものである³⁾⁴⁾。

ここで、本検出法を普及させるためには、活性が比較的安定で、かつ大量のタンパク質脱リン酸化酵素2A (PP2A)を生産する必要がある。これまで、ヒト血球から調整されたものが市販されていたが、高価なうえに活性が一定ではなかった。そこで、Ikeharaら⁵⁾は、遺伝子工学的手法を用いてバキュロウイルス-昆虫培養細胞発現系を利用し、リコンビナトPP2Aの発現、精製

に成功し、活性の安定したPP2Aを大量に供給する技術を開発した。この技術を用いることで、大量培養、大量精製が可能となり、タンパク質脱リン酸化酵素を用いた簡易測定キットの需要に対応することができるようになった。

4 おわりに

人間活動から排出される様々な化学物質により海洋環境がますます悪化し、毒素をもった植物プランクトンが増加する懸念がある。また、食材の国際化が進むにつれ、輸出入された食材の安全を保障する検査に対する期待は高まるばかりである。さらに、貝毒をもった二枚貝を捕食した甲殻類 (カニ類やエビ類)にも毒が蓄積されることが知られるようになった²⁾ことから、今後、ますます貝毒を迅速、かつ安価に調べる検査方法の開発が求められる。

文 献

- 1) 安元 健編: “化学で探る海洋生物の謎”, (1992), (化学同人).
- 2) 農林水産研究開発レポート No. 16, 農林水産省農林水産技術会議, (2006).
- 3) A. Tubaro, C. Florio, E. Luxich, S. Sosa, R. Della Loggia, T. Yasumoto: *Toxicon*, **34**(7), 743 (1996).
- 4) A. Takai, G. Mieskes: *Biochem J.*, **275**, 233 (1991).
- 5) T. Ikehara, F. Shinjo, S. Ikehara, S. Imamura, T. Yasumoto: *Protein Expr. Purif.*, **45**, 150 (2006).



新垣雄光 (Takemitsu ARAKAKI)

琉球大学理学部海洋自然科学科 (〒903-0213 沖縄県西原町千原1)。米国 Duke 大学大学院博士課程修了。Ph.D. (環境化学)。《現在の研究テーマ》環境水中でおこる光化学反応。《趣味》スポーツ観戦、旅行。

E-mail: arakakit@sci.u-ryukyu.ac.jp