

下痢性貝毒の簡易迅速分析キットの開発

事業名 平成11年度水産業再生・ベンチャー創出緊急技術開発

課題名 下痢性貝毒の簡易迅速分析キットの開発



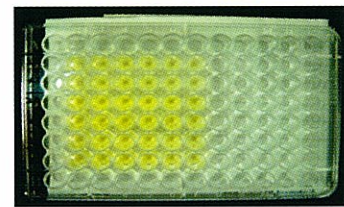
現状（マウス法）



モニタリング検査

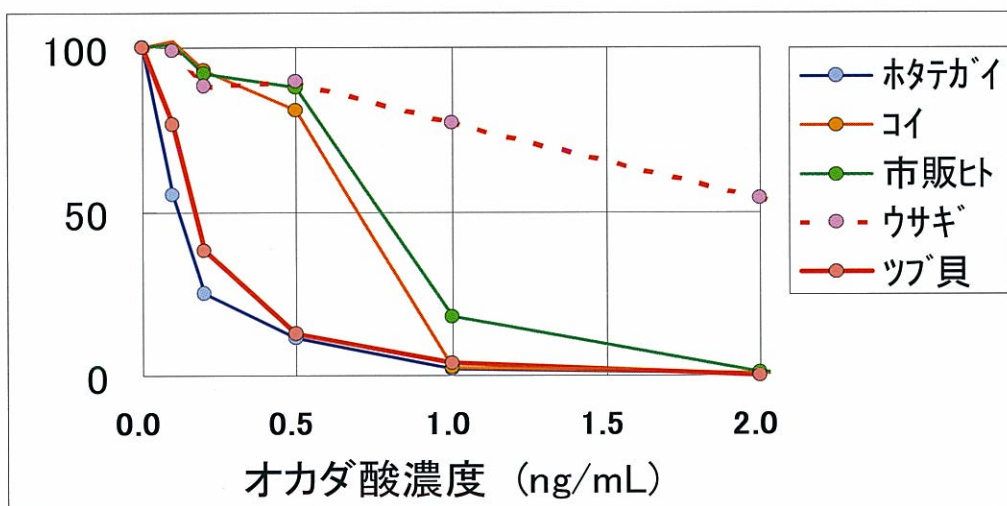
低—感度—高
 低—精度—高
 低—特異性—高
 高—コスト—低
 長—検査時間—短

酵素阻害利用 オカダ酸群測定キット



96穴マイクロプレート使用

水生生物から得られた高感度・低価格な酵素を利用し、オカダ酸群簡易測定キットを開発することで現場での迅速、的確な貝毒検査を可能とする。



各種生物由来の酵素（PP2A）を用いた場合のオカダ酸に対する感度の比較（今回検索したツブ貝、ホタテガイ由来の酵素が高感度を示すことが明らかとなった）

事業概要

●事業の背景および目的

二枚貝の毒化は世界的に経年化しており、マウス法による一括規制のために漁業者の被害は甚大である。すなわち、マウス法の感度・精度・再現性が悪いために、長期の出荷規制を招いている可能性が高い。マウス試験法はさらに複雑・高コスト・長時間化すると予想され、代替法開発の必要性が一層高まっている。

そこで、本事業では下痢性貝毒のうちオカダ酸(OA)・ジノフィシストキシン(DTX)群に焦点を絞り、本毒が特異的に阻害するプロテインホスファターゼ 2A(PP2A)型を利用した測定法のキット化を検討した。本酵素は生物試料中に多量に存在するのでモノクローナル抗体よりはるかに安価に製造出来ること、毒との親和性が極めて特異的かつ強力であること、さらに安定性に優れていることが判明した。従って、本酵素を利用したキットを構築することで、高精度・高感度・簡便・迅速・安価な下痢性貝毒 OA・DTX 群検査法の実現を目指した。

●事業実施期間および内容

平成 12 年度～13 年度

平成 12 年度 プロテインホスファターゼ 2A (PP2A) の抽出原料の選定
プロテインホスファターゼ 2A (PP2A) の精製方法の検討
測定方法の検討 (96 穴マイクロプレートの利用性検討)

平成 13 年度：分析法の検証 (添加回収試験による精度、真度の確認)
実試料を用いた妥当性確認 (LC/MS 法とのデータ比較)
他機関を含めた共同実験による分析法の室間再現精度の確認

●主な成果

下痢性貝毒 (オカダ酸及びジノフィシストキシン) の PP2A 阻害活性を利用した測定キットを開発した。従来この原理を用いた測定法の報告があるが、PP2A の起源をツブガイに求めることにより、感度及び精度が飛躍的に向上した。同時にこの測定キットは、これまで実施されていたマウス法や LC/MS 法と比較すると極めて簡便に、迅速に、安価に分析が可能となっただけでなく LC/MS 法に匹敵する精度を有していることが明らかとなった。これを用いることにより、現在よりさらに養殖現場に近い場所で、貝毒の出荷規制に対してきめ細かく、かつタイムリーな海域の貝毒の毒化状況を把握することが可能となるものと期待される。

なお、本技術は特許出願中 (特願 2002-049539) である。

●実施会員

財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所

〒206-0025 東京都多摩市永山 6-11-10 TEL.042-372-6758