

## 研究成果

|   |
|---|
| サブテーマ名:赤潮プランクトンの生理化学的分析<br>小テーマ名:赤潮プランクトンの生理化学的分析(物理的破壊の有効性)  |
| サブテームリーダー:長崎大学・水産学部・海洋生物機能科学講座、教授、藤田雄二<br>研究従事者:長崎大学・水産学部・海洋生物機能科学講座、教授、小田達也<br>長崎大学・水産学部・海洋生物機能科学講座、助教授、山口健一<br>(財)長崎県産業振興財団、研究員、中島琢自<br>研究補助員、宮崎洋介<br>研究補助員、亀川加奈子<br>研究補助員、諸石圭一   |
| <p>研究の概要、新規性及び目標</p> <p>研究の概要:赤潮による被害は現在も頻発しており、その被害総額は場合によっては数億円に達する。しかしながら赤潮防除対策については未だ有効な方法が確立されていないのが現状である。これまで、毒性が強く甚大な漁業被害を引き起こすことが知られている赤潮原因プランクトンの毒性発現機構について研究を行っているが、赤潮プランクトンの魚介類に対する毒性はその種類により大きく異なることがわかってきた。従って、その防除法の確立にはそれぞれの赤潮プランクトンの生理化学的諸性質の解明が必要となる。一方、二枚貝に対して強い毒性を示す赤潮プランクトン、<i>Heterocapsa circularisquama</i>や強い魚毒性が知られている <i>Chattonella marina</i>は物理的細胞破壊により、その毒性が著しく低下することを見出している。さらに、これらの赤潮プランクトンの場合、自らの細胞破壊が周辺の他の同類プランクトンの毒性を中和する現象も観察されており、物理的細胞破壊が有効な赤潮防除法となると考えられる。一般に、多くの赤潮プランクトン細胞は強固な細胞壁を持たず、物理的強度に劣っており、単なる攪拌によっても、細胞形態が変化したり、一部細胞が破壊されたりする。本研究では、特に大きな漁業被害の原因となる代表的赤潮プランクトンである、<i>H.circularisquama</i>と<i>C.marina</i>を中心として、赤潮プランクトン自身が持つ生物生理学的特性の解明を目指すと共に、得られた知見に立脚した赤潮防除法の開発、特に物理的細胞破壊或いは攪拌の有効性についての解明を目的とする。</p> <p>研究の独自性・新規性:赤潮プランクトンの毒性発現機構、特にその毒性因子の解明との観点からの研究により、<i>H.circularisquama</i>細胞からは強い溶血性毒素の存在を見出している。興味あることに、本溶血性毒素に対する阻害物質が<i>H.circularisquama</i>細胞内に存在すること、さらに本プランクトン細胞破壊液は他の同種プランクトンの毒性をも阻害しうることを見出した。一方、<i>C.marina</i>の場合は、非常に高レベルの活性酸素を常時産生放出しており、活性酸素を介した鰓組織への損傷が魚毒性の機構であると推定されている。<i>C.marina</i>の活性酸素産生は本プランクトン細胞の代謝レベルと連動しており、死細胞では全く活性酸素は検出されず、また、細胞破壊によってもその産生はほぼ完全に停止する。従って、<i>C.marina</i>の場合も物理的細胞破壊によってその毒性は阻止される。以上の知見から、赤潮防除法として、物理的細胞破壊が有効であると考えられる。また、多くの赤潮原因プランクトンは、一般に、強固な細胞壁を持たず、物理的には脆弱であることから、然るべきプランクトン細胞破壊装置は、多くの赤潮に対して有効な防除手段となりうると考えられる。さらに、これまでの赤潮防除法として提案されている、ある種の薬剤散布や泥散布等の方法に比べ、もともと海域に存在する赤潮プランクトンを破壊するのみであることから、環境への影響が少ない等の利点も考えられる。実験室レベルでは超音波発生装置或いは単なる攪拌装置の有効性が見出されており、赤潮が実際に発生している現場海域に対応した装置の開発が今後の課題である。</p> <p>研究の目標</p> <p>フェーズ1:(1) <i>H.circularisquama</i>の毒性因子としての溶血毒素の生化学的諸性質について解明した。また、細胞内に存在する溶血毒素阻害因子の実体についても解明した。<i>C.marina</i>については、活性酸素産生レベルに対する細胞破壊の影響について詳細な検討を行った。これら赤潮プランクトンの細胞破壊による毒性低下に関する基礎的知見を得た。</p> <p>フェーズ2:(1) 超音波処理を介した赤潮プランクトン細胞破壊による赤潮防除対策法の開発に関して、超音波強度と細胞破壊の度合いに関する室内実験を<i>H.circularisquama</i>と<i>C.marina</i>を中心にパイロットスタディーを行った。</p> <p>フェーズ3:(1)超音波処理を利用した赤潮防除法の有効性についてフィールド規模での検討を行っていく。(2)<i>H.circularisquama</i>や<i>C.marina</i>以外のその他の赤潮プランクトンからの生理活性物質の検索を継続する。(3)超音波処理による赤潮防除法の有効性について、種々の赤潮プランクトンについて検討する。</p> |

研究の進め方及び進捗状況(目標と対比して)

種々の赤潮プランクトンの毒性因子について解析を行っている。*H.circularisquama*から抽出されてくる物質について、抗菌活性、細胞毒性等の生理活性の検索を行った結果、*H.circularisquama*からは光依存性溶血毒素を発見し、さらにその毒素に対する阻害物質の存在を明らかにしている。また、細胞破壊に伴うこの阻害物質遊離現象を利用した赤潮防除法の検討も行っている。*C.marina*細胞内からは活性酸素消去物質が見出されており、その利用法についても同様に検討している。

主な成果

具体的な成果内容：*H.circularisquama*より精製された光依存的溶血毒素は比較的分子量化合物で、熱安定性にもすぐれ、その細胞毒性は光非存在下では全く発現されない、大変興味ある物質であることが明らかとなった。また、活性が発現される光の波長領域は460nm付近と630nm付近の二カ所に存在し、既知の光依存的溶血毒素として知られている、フェオホルバイドの活性発現波長である680 nm付近とは異なっていた。また、両者の吸収スペクトルも全く異なっていた。さらに、Photodynamic therapy (PDT, 光線力学療法)においてこれまで利用されている化合物の多くはポルフィリン化合物でいずれも680nmの光によって活性が発現することが知られている。以上のことから、今回*H.circularisquama*細胞から精製された光依存的溶血阻害物質は新規物質であると推定された。*C.marina*の活性酸素産生機構はマクロファージに類似したNADPH oxidaseであると推定された。上記赤潮プランクトンの毒性はいずれも細胞破壊により著しく低下することを見出している。

特許件数:1                      論文数:23                      口頭発表件数:39

研究成果に関する評価

1 国内外における水準との対比

(1) *C.marina*の魚毒性については、未だに多くの点が不明であるが、活性酸素を介した魚毒性との観点からの研究は世界をリードしているといえる。*H.circularisquama*が溶血毒素を産生していることを突き止めたのは世界で本研究が最初であり、しかもその活性が光依存的であることを発見した例は赤潮プランクトンが産生する溶血毒素では今回が初めてである。

(2) 赤潮防除法に関してはこれまで、赤潮時の餌止めや粘土質微粒子等の散布などの方法が試みられ、ある程度の効果が認められているが、更により有効な方法の開発が求められている。多くの赤潮原因プランクトンは細胞壁を持たず、物理的に脆弱な細胞であり、超音波処理により容易に破壊される。

*H.circularisquama*や*C.marina*の場合、細胞破壊はプランクトン自身の毒性因子に対する解毒物質の放出を伴うことから、生細胞数低下に加え、毒性軽減も期待でき、この点に着目した防除法は装置の開発も含め、今後の課題である。

2 実用化に向けた波及効果

超音波や攪拌等物理的処理による赤潮防除法は環境に比較的優しい、有効な方法と考えられ、今後はフィールドでの条件を考慮した装置の開発が必要である。

残された課題と対応方針について

赤潮発生海域に対応する超音波発生装置の開発が必要である。この点に関しては、工学的観点からの検討が必要である。

|                           | JST負担分(千円) |       |       |       |       |       |        | 地域負担分(千円) |     |     |     |     |     |    | 合計     |
|---------------------------|------------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|-----------|-----|-----|-----|-----|-----|----|--------|
|                           | H13        | H14   | H15   | H16   | H17   | H18   | 小計     | H13       | H14 | H15 | H16 | H17 | H18 | 小計 |        |
| 人件費                       | 0          | 0     | 0     | 3,235 | 2,443 | 1,034 | 6,712  | 0         | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0  | 6,712  |
| 設備費                       | 0          | 0     | 0     | 2,392 | 3,476 | 497   | 6,365  | 0         | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0  | 6,365  |
| その他研究費<br>(消耗品費、<br>材料費等) | 0          | 2,731 | 2,000 | 2,349 | 2,305 | 1,342 | 10,727 | 0         | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0  | 10,727 |
| 旅費                        | 0          | 0     | 0     | 231   | 221   | 14    | 466    | 0         | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0  | 466    |
| その他                       | 0          | 0     | 0     | 28    | 17    | 1     | 46     | 0         | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0  | 46     |
| 小計                        | 0          | 2,731 | 2,000 | 8,235 | 8,462 | 2,888 | 24,316 | 0         | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0  | 24,316 |

代表的な設備名と仕様[既存(事業開始前)の設備含む]

JST負担による設備:ユニバーサルCO2インキュベータ、分光蛍光光度計、微量高感度分光光度計、多検体細胞破碎装置

地域負担による設備:

複数の研究課題に共通した経費については按分する。