

亜熱帯生物資源の高度利用技術の開発

オカダ酸類を中心とする生化学・分析化学試薬の微細藻類の大量培養による生産

研究者名(所属機関) 吉野 敦、東門真紀、宮城文香、當間志乃、安元 健
(沖縄県地域結集型共同研究事業 コア研究室)

◆分析標準品の作製—マウス毒性試験法から機器分析法への転換を目指して

1. 本研究の目的

有毒プランクトンの発生に伴ってムール貝、ホタテ貝、アサリ、カキ等の重要二枚貝が毒化する現象が世界的に拡大しています。これら二枚貝の出荷・販売・輸出入には検査による安全性証明が必要となります。現在の公定分析法であるマウス毒性試験法は、動物倫理と感度・精度の面で問題があり、LC/MSのような機器分析や検出キットによる検査への移行が求められています。機器分析の実施には標準品の使用が必須ですが、これらの貝毒を検出するに当たり分析対象の標準品が現存しないのが実状です。本研究では、主要下痢性貝毒成分を培養と化学合成から得て、分析標準品を商業ベースで調製(調達)することを目的とします。



2. 研究内容

国際的に貝毒の機器分析標準品が無い為、市場への供給が必要

1. 渦鞭毛藻の採集と商業的生産を目指した培養
2. 渦鞭毛藻からの抽出・精製 → オカダ酸、DTX1の単離
3. オカダ酸類を原料とした化学修飾 → エステル化(DTX3)
4. LC/MS用分析標準品としての試作

3. 研究成果

- ▶ 沖縄本島内各地で渦鞭毛藻 *Prorocentrum lima* を採集し培養
- ▶ オカダ酸(OA)、ディノフィシトキシニン-1(DTX1)の抽出・精製
- ▶ 下痢性貝毒主要4成分のオカダ酸の脂肪酸エステル類を合成
- ▶ 標準品の調製・試験供給し、EU中央研究所から高い評価を得た
- ▶ 大量高密度培養法を確立した

従来の培養方法ではオカダ酸類の収量が極微量である為、高密度かつ大量培養する必要がありました。しかし、種々の培養条件の検討により従来法よりも極めて効率的に生産量をアップさせる事に成功しています。

大量培養により大幅に生産量アップ
オカダ酸(28倍)、DTX1(62倍)

OA: 28 mg/200L/2 months
DTX1: 18 mg/200L/2 months

(培養手法について特許出願準備中)

4. 今後の展開

- ▶ 渦鞭毛藻 *Prorocentrum lima* の産業規模へ向けた大量高密度培養
- ▶ オカダ酸、ディノフィシトキシニン-1の抽出・精製
- ▶ 下痢性貝毒主要4成分の標準品の調製・供給

市場が必要としているオカダ酸類

- ◆ 生化学用試薬: オカダ酸類(各種の塩類を含む)
- ◆ LC/MSを主とする分析化学用標準品

R=H, OA
R=CH₃, DTX1

R=H, 7-O-Pal-OA
R=CH₃, 7-O-Pal-DTX1

渦鞭毛藻 *P. lima* 培養液

↓ 培地 ↓ 藻体

逆相吸着剤(ODS) 樹脂吸着剤(HP20)

↓

メタノール抽出と精製

↓

オカダ酸とその類縁体

OA : R1 = H, R2 = OH, 500 µg/100L
DTX1 : R1 = CH₃, R2 = OH, 150 µg/100L

↓

一部をエステル体の化学合成に使用

オカダ酸類の7-O-パルミチン酸エステルの合成

R=H, OA
R=CH₃, DTX1

1a R=H, OA-BrPac (95%)
1b R=CH₃, DTX1-BrPac (95%)

2a R=H, 7-O-Pal-OA-BrPac (35%)
2b R=CH₃, 7-O-Pal-DTX1-BrPac (40%)

3a R=H, 7-O-Pal-OA (95%)
3b R=CH₃, 7-O-Pal-DTX1 (55%)