

サブテーマ名：沖縄産有用生化学資源の探索と生産技術の開発（B-1） 小テーマ名：底性渦鞭毛藻の培養による生化学・分析化学試薬及び医薬品リード化合物の生産
サブテーマリーダー 吉野 敦（TTC）、田中 淳一（琉球大学理学部） 研究従事者 吉野 敦、小野寺 健一、東門 真紀、當間 志乃、宮城 文香、佐竹 真幸（TTC） 大谷 光（金秀バイオ） 岩井 憲司（水産海洋研究センター）
研究の概要、新規性及び目標 ① 研究の概要 下痢性貝毒の原因毒であるオカダ酸類は、生化学試薬や機器分析標準試薬として大きな需要がありながら、オカダ酸を除いては供給がない。そこで沖縄沿岸に生息する渦鞭毛藻の大量高密度培養によって、オカダ酸類を単離し、更にエステル体の化学合成によって分析標準品を調製して商品化することを目指した。さらに、オカダ酸以外の新規活性物質を探索した。 ② 研究の独自性・新規性 1) オカダ酸と類縁体を生産する渦鞭毛藻が沖縄沿岸に生息することに着目した。2) 商業的採算を可能にするために、循環型大量培養装置を考案した（特許出願）。3) エステル型標品を化学合成によって製作した。4) 新規細胞毒性化合物のオキリマリド2成分を発見して平面構造を決定した。 ③ 研究の目標（フェーズ毎に数値目標等をあげ、具体的に） フェーズⅠ：渦鞭毛藻 <i>Prorocentrum lima</i> の採集と培養、オカダ酸及びディノフィシストキシン1の単離、パルミトイルエステル体の化学合成、LC/MS用標準品の試作（50%） フェーズⅡ：渦鞭毛藻の大量高密度培養とLC/MS用標準品作成の実施及び新規活性物質の発見（100%）
研究の進め方及び進捗状況（目標と対比して） 沖縄本島周辺で渦鞭毛藻を採集して培養に成功した。ついで、オカダ酸(OA)及びディノフィシストキシン1(DTX1)を単離し、これらを原料に3段階でパルミトイルエステルの化学合成を行った。試作したLC/MS用標準品をEU中央研究所に提供して高い評価を得た。最も困難であった大量培養に成功して商業生産に道を開いた。新規化合物も発見したので目標の100%を達成した
主な成果 フェーズⅠ：オカダ酸は4つの水酸基を有するので位置選択的エステル化の条件を検討し、目的とするエステル体を合成した。遊離型とエステル型の4種混合標準品を製作し、EU加盟各国の研究機関から高い評価と商品化への要請を受けた。デンマークで開催された国際有害有毒微生物学会でも標準品の市販を期待された。 フェーズⅡ：世界の需要に応える「量の確保」と「コスト低減」に向け、渦鞭毛藻の培養法改善に取り組み、光源の選択、吸着樹脂の使用、培地循環方式の採用によって従来培養法に比べて大幅な増収（OA28倍、DTX162倍）に成功した（新培養法は特許出願済み）。新規抗ガン剤候補物質を発見した。 特許出願件数：1      論文数：2      口頭発表件数：15
研究成果に関する評価 1 国内外における水準との対比 機器分析用分析標準品として販売されているのはオカダ酸のみであり、極めて高価格である（12μgで\$110）。高純度の下痢性貝毒主要4成分を揃えることが可能なのは世界中で本研究室のみであり、EU各国研究者からも大きな期待が寄せられている。 海洋生理活性天然物は、海綿動物やホヤ類から得られるものの供給が困難であった。培養可能な鞭毛藻類から活性物質を得た例は極めて少ない。 2 実用化に向けた波及効果 現在、下痢性貝毒の検出にはマウス毒性試験が公定試験法として採用されており、各国で年間数千件規模の検査が行われている。しかし、感度、特異性、動物倫理上の問題があり、次世代の検出法の候補としてLC/MS分析法が検討されている。しかし、分析に必須な標準品の供給

がない 本研究開発の実用化により、下痢性貝毒の検出が高精度、高感度、迅速、簡便、効率的に行うことが可能となる。

残された課題と対応方針について

標準品の継続的な供給・販売体制を構築することが最大の課題である。さらに、他種貝毒(Yessotoxin)も渦鞭毛藻の培養で生産可能なので、メニューの拡大を行って採算性を向上させることが好ましい。精製毒を抗原として抗体を作製してキット化すること、あるいは化学誘導体を調製して受容体との競合的結合試験検出キットを作製するなどの展開が期待される。

	J S T負担分 (千円)							地域負担分 (千円)							合計
	H 14	H 15	H 16	H 17	H 18	H 19	小計	H 14	H 15	H 16	H 17	H 18	H 19	小計	
人件費	225	13,128	17,137	14,318	22,246	16,096	83,150	3,470	4,209	3,148	3,540	1,058	1,394	16,819	99,969
設備費	4,597	10,008	3,800	1,397	1,995	0	21,797	0	300	0	0	0	0	300	22,097
その他研究 費(消耗品費 、材料費等)	850	7,468	3,940	2,933	8,713	4,918	28,822	0	2,643	3,400	2,680	3,292	2,623	14,638	43,460
旅費	0	348	566	1,335	1,761	984	4,994	0	110	200	126	339	142	917	5,911
その他	0	860	916	1,671	1,516	1,581	6,544	0	0	0	22	93	15	130	6,674
小 計	5,671	31,812	26,359	21,654	36,231	23,579	145,306	3,470	7,262	6,748	6,368	4,782	4,174	32,804	178,110

代表的な設備名と仕様 [既存 (事業開始前) の設備含む]

J S T負担による設備：オートクレーブ、倒立顕微鏡、メディカルフリーザー、高速液体クロマトグラフィー、ホモジナイザー、ロータリーエバポレーター、恒温振とう培養器  
 地域負担による設備：タンデム型質量分析装置、実証用凍結乾燥機、核磁気共鳴装置、  
 液体クロマト四重極質量分析装置