

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)  
実施状況報告書(平成 23 年度)**

本様式の内容は一般に公表されません

研究課題名	食中毒に関わる海洋天然物の生合成・蓄積・変換機構の解明と食品衛生への応用
研究機関・ 部局・職名	東北大学・大学院農学研究科・教授
氏名	山下 まり

### 1. 当該年度の研究目的

フグ毒、麻痺性貝毒、下痢性貝毒は、テトロドトキシン、サキシトキシン類、オカダ酸類が主成分であり、食中毒を引き起こす代表的海洋生物毒である。また、麻痺性貝毒、下痢性貝毒は、プランクトンによって生産される毒で、貝が毒を蓄積するために、毒生産プランクトンが大量に発生した場合には貝が毒化し、二枚貝の養殖産業に世界的に大きな影響を及ぼす。しかし、フグ毒や海洋における麻痺性貝毒の生合成機構はまだ解明されず、下痢性貝毒の蓄積機構や類縁体間の変換機構についても未解明である。また、オゴノリは、環太平洋地域で食用とされる紅藻であるが、これまで食中毒の報告があり、日本でも極まれではあるが、死者を伴う食中毒が発生している。植物として唯一プロスタグランジンを生産し、また、ポリカバノシドなどによる食中毒への関与が疑われている紅藻オゴノリのこれらの物質の生成、代謝、分布機構も未解明だ。本研究は、これらの海洋生物毒の生合成、蓄積、変換機構を解明することを目的とする。

### 2. 研究の実施状況

- (1) **フグ毒**: フグ毒として知られるテトロドトキシンは海洋生物のみではなく、陸上生物にも分布している。沖縄産のシリケンイモリ *Cynops ensicauda popei* より、我々が開発した液体クロマトグラフィー/質量分析の手法を用いて、新規のテトロドトキシン類縁体を4成分発見し、単離とNMRなどによる構造解析を行った。この化合物はフグ中には存在せず、イモリなど陸上生物と海洋生物ではテトロドトキシンの生合成機構が異なっていることが示唆された。この内容は *Marine Drugs* (IF 3.471) に掲載された。
- (2) **麻痺性貝毒**: サキシトキシンの渦鞭毛藻や藍藻による生合成機構は、その遺伝子解析より Neilan らにより報告されているが、生合成中間体を詳細に分析した例はない。我々は、予想された生合成化合物の数種を化学合成し、有毒渦鞭毛藻や藍藻中での存在を液体クロマトグラフィー/質量分析の手法を用いて分析し、数種について同定できた。
- (3) **下痢性貝毒**: オカダ酸の7位がアシル化され、毒性が軽減されることから、種々の条件で反応を試みたところ、実際に7位をアシル化する酵素活性がホタテ貝中に見いだされた。
- (4) **オゴノリ**: オゴノリの新規プロスタグランジン類の探索を行い、新規の酸化的プロスタグランジン代謝物を単離、構造決定し、これがマウスなど動物や培養細胞でもアラキドン酸から誘導されることを明らかにした。この内容は *Journal of Lipid Research* (IF 6.115) に掲載された。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 5 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 5 件                  1) Yuta Kudo, Takeshi Yasumoto, Keiichi Konoki, Yuko Cho, <u>Mari Yotsu-Yamashita</u>, Isolation and structural determination of the first 8-<i>epi</i>-type tetrodotoxin analogs from the newt, <i>Cynops ensicauda popei</i>, and comparison of tetrodotoxin analogs profiles of this newt and the puffer fish, Fugu poecilonotus, <i>Marine Drugs</i>, 10, 655-667, 2012. (<a href="http://www.mdpi.com/1660-3397/10/3/655/">http://www.mdpi.com/1660-3397/10/3/655/</a>).                  2) <u>Mari Yotsu-Yamashita</u>, John Gilhen, Ronald W. Russell, Kenneth L. Krysko, Christian Melaun, Alexander Kurz, Silke Kaufenstein, Dusan Kordis, Dietrich Mebs, Variability of tetrodotoxin and of its analogues in the red-spotted newt, <i>Notophthalmus viridescens</i> (Amphibia: Urodela: Salamandridae), <i>Toxicon</i>, 59, 257-264, 2012.                  3) Yoshikazu Kanai, Sadahiko Hiroki, Hiroyuki Koshino, Keiichi Konoki, Yuko Cho, Mirriam Cayme, Yasuo Fukuyo, and <u>Mari Yotsu-Yamashita</u>, Identification of novel oxidized levuglandin D2 in marine red alga and mouse tissues. <i>Journal of Lipid Reserach</i>, 52 (12), 2245-2254, 2011.                  4) Ryoko Shinohara, Osamu Iwamoto, Takafumi Akimoto, <u>Mari Yotsu-Yamashita</u>, Kaoru Yamaoka, and Kazuo Nagasawa, Synthesis of skeletal analogs of saxitoxin derivatives and evaluation of their inhibitory activity on sodium ion channels Nav1.4 and Nav1.5. <i>Chemistry- A European Journal</i>, 17 (43), 12144-12152, 2011.                  5) Eva Cagide, M Carmen Louzao, Begoña Espiña, Isabel Rodriguez Ares, Mercedes, R. Vieytes, Makoto Sasaki, Haruhiko Fuwa, Chihiro Tsukano, Yu Konno, <u>Mari Yotsu-Yamashita</u>, Leo A Paquette, Takeshi Yasumoto, and Luis M. Botana, Comparative cytotoxicity of gambierol versus other marine Neurotoxins, <i>Chemical Research in Toxicology</i>, 24 (6), 835-842, 2011.                  (掲載済み一査読無し) 計 0 件                  (未掲載) 計 0 件</p>
<p>会議発表 計 14 件</p>	<p>専門家向け 計 14 件                  1) 工藤雄大、此木敬一、長由扶子、安元健、山下まり、沖縄産シリケンイモリ (<i>Cynops ensicauda popei</i>) の新規テトロドトキシン類縁体の単離と構造決定、第 53 回天然有機化合物討論会、大阪市、2011 年 9 月 27 日-29 日 日本化学会、日本薬学会、日本農芸化学会                  2) 阿部由佳、西川俊夫、磯部稔、小野寺健一、此木敬一、長由扶子、安元健、山下まり 新規テトロドトキシン類縁体の同定と各種海洋生物中の毒組成の比較、日本農芸化学会東北支部会 146 回大会 鶴岡市、2011 年 10 月 8 日 山形大学農学部                  3) 山下まり、LC/MS を用いた海洋天然物に関する最近の研究、第 12 回理研シンポジウム 2011 年 12 月 13 日 理研、和光市                  4) Mari Yotsu - Yamashita, Identification of Novel Oxidized Levugland in D2 in Marine red alga and mouse tissues VIIth US - JAPAN SEMINAR, MARINE NATURAL PRODUCTS: CROSS - DISCIPLINARY EXPANSIONS IN MARINE BIOORGANIC CHEMISTRY, 11th-16th December, 2011, Laguna Garden Hotel, 沖縄県宜野湾市、海洋天然物日米セミナー実行委員会                  5) Sawako Kondo, Yi-Chin Lin, Haruhiko Toyohara, Hisatomi Ito, Takafumi Uchida, Mari Yotsu-Yamashita, Isolation and Structural Elucidation of Two New Phlorotannins from the Brown Alga, <i>Ecklonia kurome</i>, 8th AFMC Medicinal Chemistry Symposium, 2011 年 11 月 29 日-12 月 2 日, Tokyo, AFMC International Medicinal Chemistry Symposium 実行委員会                  6) Yoshikazu Kanai, Sadahiko Hiroki, Hiroyuki Koshino, Mirriam Cayme, Yasuo Fukuyo and Mari Yotsu-Yamashita, Identification of Novel Oxidized Levuglandin D2 in Marine Red Alga and Mouse Tissues, 同上                  7) 野村 駿、此木 敬一、長 由扶子、山下 まり、海洋性カロテノイド、フコキサンチンのヒドロキシル基修飾体の細胞毒性とタンパク質結合体の作製、日本農芸化学会大会 2012 大会 京都、2012 年 3 月 23 日-25 日                  8) 工藤雄大、此木敬一、長由扶子、安元健、山下まり、沖縄産シリケンイモリ (<i>Cynops ensicauda popei</i>) の新規テトロドトキシン類縁体の単離・構造決定、及びイモリとフグの毒組成比較、同上                  9) 近藤左和子、林 宜瑾、豊原治彦、伊藤久富、内田隆史、山下まり、褐藻クロメ <i>Ecklonia kurome</i> の新規フロロタンニンの単離・構造決定と抗酸化活性、同上</p>

様式19 別紙1

	<p>10) 金井 良和、廣木 禎彦、越野 広雪、此木 敬一、長 由扶子、Cayme Mirriam、福代 康夫、山下 まり、紅藻からの新規プロスタグランジン代謝物の単離、構造決定とマウス組織中での同定、同上</p> <p>11) 小濱 真実、松浦 宏樹、西谷 豪、伊東久美子、大和田 修一、長 由扶子、山下 まり、此木 敬一、クロイソカイメン細胞の培養およびオカダ酸結合タンパク質 OABP2 の局在、同上</p> <p>12) 松浦 宏樹、小濱 真実、福沢 世傑、橘 和夫、長 由扶子、山下 まり、此木 敬一、クロイソカイメン中のオカダ酸、オカダ酸結合タンパク質の定量および局在、同上</p> <p>13) 山下まり、フグの毒化に関わるタンパク質、平成 23 年度日本水産学会秋季大会、シンポジウム、フグ研究とトラフグ生産技術開発の最前線、長崎、長崎大学、2011 年 10 月 2 日</p> <p>14) 工藤雄大、阿部由佳、山下まり、西川俊夫、磯部 稔、安元 健、海洋生物とイモリからの新規テトロドトキシン類縁体の同定、平成 24 年度日本水産学会春季大会、東京、東京海洋大学、2012 年 3 月 29 日</p> <p>一般向け 計 0 件</p>
<p>図書</p> <p>計 1 件</p>	<p>工藤雄大、此木敬一、長由扶子、安元健、山下まり、沖縄産シリケンイモリ (<i>Cynops ensicauda popei</i>) の新規テトロドトキシン類縁体の単離と構造決定、第 53 回天然有機化合物討論会講演要旨集、p367-371、総ページ数 713、2011 年、発行人：大船泰史</p>
<p>産業財産権 出願・取得状況</p> <p>計 0 件</p>	<p>(取得済み) 計 0 件</p> <p>(出願中) 計 0 件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>天然物生命化学、研究内容紹介、<a href="http://www.agri.tohoku.ac.jp/j030100/id0042.html">http://www.agri.tohoku.ac.jp/j030100/id0042.html</a></p>
<p>国民との科学・技術対話 の実施状況</p>	<p>1) 食中毒に関わる海洋天然物の生合成・蓄積・変換機構の解明と食品衛生への応用、2011 年 7 月 27 日-28 日、仙台市、東北大学農学部、一般人、高校生、約 100 名、オープンキャンパスにおいて研究内容をポスターを用いて説明した。</p> <p>2) 海洋生物毒の謎を化学と生物で解明したい、2012 年 1 月 24 日、仙台市、仙台第三高等学校(Super Science School)、理数科高校生 1,2 年生、約 90 名、理数科講演会で出前授業を実施した。</p>
<p>新聞・一般雑誌等掲載</p> <p>計 1 件</p>	<p>朝日新聞土曜版 Be、2011 年 9 月 3 日、ののちゃんの Do 科学 フグが自分の毒にしびれないのは？ 取材された内容が解説として掲載された。</p>
<p>その他</p>	

4. その他特記事項

該当なし

## 実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

## 1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	79,000,000	60,000,000	0	19,000,000	0
間接経費	23,700,000	18,000,000	0	5,700,000	0
合計	102,700,000	78,000,000	0	24,700,000	0

## 2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	58,600,000	0	0	58,600,000	58,596,225	3,775	0
間接経費	17,790,000	0	0	17,790,000	9,219,472	8,570,528	0
合計	76,390,000	0	0	76,390,000	67,815,697	8,574,303	0

## 3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	56,424,889	高精度構造解析装置、タンパク質等自動精製システム、PCR装置機器一式、実験試薬、実験用動物等
旅費	615,030	研究成果発表旅費(理研)等
謝金・人件費等	0	
その他	1,556,306	実験機器修理費、論文投稿費等
直接経費計	58,596,225	
間接経費計	9,219,472	
合計	67,815,697	

## 4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
ジャイアント単相ベ シクル作製装置	Nanion社製	1	1,995,000	1,995,000	2011/11/4	東北大学
ORFクローン	Origene社製	1	536,035	536,035	2011/11/8	東北大学
高精度構造解析装 置	ブルーガー・ダクニ クス社製	1	40,944,750	40,944,750	2011/12/12	東北大学
PCR装置機器一式	タカラバイオ(株)製	1	599,550	599,550	2011/12/13	東北大学
タンパク質等自動 精製システム	バイオ・ラッドラボ ラトリーズ製	1	2,999,955	2,999,955	2012/1/13	東北大学
インテリジェント蛍 光検出器	日本分光製	1	1,282,050	1,282,050	2012/3/7	東北大学
マルチ検出モード・ プレートリーダー	TECAN製	1	2,995,650	2,995,650	2012/3/16	東北大学