

## 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) 実績報告書

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. 研究実施期間 平成23年2月10日～平成26年3月31日

## 2. 収支の状況

(単位:円)

	交付決定額	交付を受けた額	利息等収入額	収入額合計	執行額	未執行額	既返還額
直接経費	79,000,000	79,000,000	0	79,000,000	79,000,000	0	0
間接経費	23,700,000	23,700,000	0	23,700,000	23,700,000	0	0
合計	102,700,000	102,700,000	0	102,700,000	102,700,000	0	0

## 3. 執行額内訳

(単位:円)

費目	平成22年度	平成23年度	平成24年度	平成25年度	合計
物品費	1,400,000	56,424,889	6,534,626	10,733,740	75,093,255
旅費	0	615,030	334,595	155,240	1,104,865
謝金・人件費等	0	0	0	0	0
その他	0	1,556,306	220,519	1,025,055	2,801,880
直接経費計	1,400,000	58,596,225	7,089,740	11,914,035	79,000,000
間接経費計	210,000	9,219,472	2,892,792	11,377,736	23,700,000
合計	1,610,000	67,815,697	9,982,532	23,291,771	102,700,000

## 4. 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
顕微鏡デジタルカメラ	DP72-SET-S-4 オリンパス製	1	1,312,500	1,312,500	2011/3/31	東北大学
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	ブルガー・ダクトクス社製	1	40,944,750	40,944,750	2011/12/12	東北大学
PCR装置機器一式	効ラバイオ(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	ハイオ・ラットラボラトリーズ製	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
クロマトチャンバー	MC-8EF3	1	689,850	689,850	2013/3/13	東北大学
日立高速液体クロマトグラフ	5430形ダイオードアレイ検出器	1	1,627,500	1,627,500	2013/7/9	東北大学
高速冷却遠心機	日立工機(株)製 CR21N	1	1,680,000	1,680,000	2014/1/24	東北大学

5. 研究成果の概要

本研究では、フグ毒テトロドキシンの新規類縁体の構造から新たな生合成機構を推定し、フグの毒蓄積に関与する毒結合タンパク質の機能を推定した。麻痺性貝毒については、生産微生物の遺伝子より予想されていた生合成中間体を数種化学合成し、実際にその微小生物に存在することを初めて証明した。また、二枚貝に毒性を軽減する下痢性貝毒のエステル化酵素が存在することや、致死性海藻毒への藍藻の関与についても示した。これらは、全世界で経済的および食品衛生上被害をもたらす海産毒の制御に応用でき、健康で安全な国民生活に直接役立つ知見である。

課題番号	LS012
------	-------

**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)  
研究成果報告書**

本様式の内容は一般に公表されます
------------------

研究課題名 (下段英語表記)	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
	Elucidation of biosynthesis, accumulation and transformation systems of the marine toxins concerning to food poisoning, and its application to food hygiene
研究機関・部局・職名 (下段英語表記)	東北大学・大学院農学研究科・教授
	Tohoku University , Graduate School of Agricultural Science , Professor
氏名 (下段英語表記)	山下 まり
	Mari Yotsu-Yamashita

#### 研究成果の概要

(和文):本研究では、フグ毒テトロドトキシンの新規類縁体の構造から新たな生合成機構を推定し、フグの毒蓄積に関与する毒結合タンパク質の機能を推定した。麻痺性貝毒については、生産微小生物の遺伝子より予想されていた生合成中間体を数種化学合成して、実際にその微小生物に存在することを初めて証明した。また、二枚貝に毒性を軽減する下痢性貝毒のエステル化酵素が存在することや、致死性海藻毒への微小生物の関与についても示した。これらは、全世界で経済的および食品衛生上被害をもたらす海産毒の制御に応用でき、健康で安全な国民生活に直接役立つ知見である。

(英文):In this study, we proposed a new biosynthetic pathway toward tetrodotoxin based on the chemical structures of the newly found natural analogues. We also predicted the function of the saxitoxin and tetrodotoxin binding protein in the plasma of the puffer fish, which are expected to be implicated in the accumulation of these toxins in puffer fish. For paralytic shellfish toxins, we chemically synthesized the genetically predicted biosynthetic intermediates of saxitoxin, and identified them in the toxin producing microorganisms for the first time. For diarrhetic shellfish poisoning, we

proved the presence of the enzyme that catalyzes the esterification of okadaic acid at C7 to reduce the toxicity. For the fatal seaweed poisoning, the toxicity of the causative seaweeds was determined, and implication of microorganisms attached to the seaweed was suggested. These findings are practically applicable to control the marine toxins that affect the global aquaculture and food hygiene.

1. 執行金額           102,700,000 円  
    (うち、直接経費           79,000,000 円、 間接経費       23,700,000 円)

2. 研究実施期間       平成23年2月10日～平成26年3月31日

### 3. 研究目的

本研究は、フグ毒、麻痺性貝毒、下痢性貝毒、海藻毒を中心に海洋天然毒の起源生物、生合成、蓄積、変換機能を解明し、食品衛生へ応用することを目的とする。

#### (1) フグ毒テトロドトキシン(TTX)の生合成・蓄積・変換に関する研究

本研究では新規 TTX 天然類縁体を探索し、その化学構造からの生合成、変換機構を推定する。また、フグに存在する TTX とサキシトキシン (STX) を結合するタンパク質のフグ組織内分布を調べ、フグの毒の蓄積機構を推定する。さらに、メタゲノムのアプローチにより TTX の生合成、変換反応の追求に挑戦する。

#### (2) 麻痺性貝毒サキシトキシン(STX)類の生合成・蓄積・変換に関する研究

麻痺性貝毒の生合成研究では、淡水産の藍藻及び海産渦鞭毛藻で、毒生産に関わると考えられる遺伝子が報告された。しかし、遺伝子にコードされていた酵素群から生合成経路は予測されても、生合成中間体の化学的同定はなされていなかった。そこで本研究では、主として、生合成中間体を化学合成して標品とし、有毒渦鞭毛藻、藍藻中で存在するかどうかを調べる。

#### (3) 下痢性貝毒の蓄積・変換に関する研究

ホタテガイ中腸腺では、オカダ酸は7位エステル体として存在する機会が多いが、毒結合蛋白質はまだ見つかっていない。そこで、エステル化に関する酵素を調べ、二枚貝中での下痢性貝毒の蓄積、弱毒化変換機構を追求する。

#### (4) オゴノリの新規エイコサノイドの単離、構造決定と致死毒ポリカバノシド類による海藻の毒化機構に関する研究

食用の紅藻オゴノリが突然毒化して発生する致死性の食中毒は、太平洋地域で発生する。これまで配糖体マクロリドのポリカバノシド類を有毒物質として同定したが、日本国内での事件では、プロスタグランジン(PG)類が同定された。本研究では、オゴノリより新規 PG 代謝物を発見したので、構造決定し存在意義を解明する。また、ポリカバノシ

ド類による食中毒発生時に採集された海藻を詳細に分析し、ポリカバノシド類による海藻の毒化機構解明を目指す。

#### 4. 研究計画・方法

##### (1) フグ毒 (TTX) :

- ① LC-MS の特異的フラグメントイオンや分子式による探索を行い、新規の TTX 類縁体を海洋生物やイモリからスクリーニングする。見つかった新規成分を単離、構造決定し、その構造から TTX 生合成経路を推定する。
- ② フグ組織中の STX, TTX 結合タンパク質 (PSTBP) の局在を組織免疫染色で明らかにし、組織分布から PSTBP の機能を推定し、フグにおける毒の蓄積機構について考察する。
- ③ イモリからの TTX 類縁体の構造から生合成に関わると考えられる酵素が示唆されたので、この酵素のコンセンサス配列をもとに環境中 DNA より cDNA のクローニングを行う。

##### (2) 麻痺性貝毒 :

STX 類の生合成遺伝子から予測された生合成中間体を化学合成して、淡水産有毒藍藻および海産渦鞭毛藻に存在することを証明する。また、それには高感度 LC-MS/MS による STX 類および生合成中間体の分析方法の開発する必要もあるのでこれを行なう。

##### (3) 下痢性貝毒 :

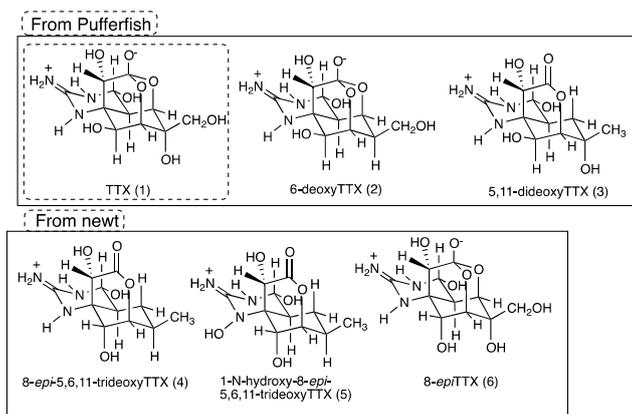
二枚貝のタンパク質抽出液を用いて、オカダ酸の 7 位の OH 基のアシル化反応を促進する活性を探索する。反応は LC-MS で追跡する。また、その至適反応条件や酵素タンパク質の性状に関する情報を得る。

##### (4) 海藻毒 :

- ① カタオゴノリの新規プロスタグランジン代謝物を単離、構造決定し、存在意義を考察する。
- ② 致死毒ポリカバノシド中毒事件発生時のカタオゴノリの毒性を LC/MS で定量する。また、カタオゴノリ付着物を分画して毒性を測定し、海藻の毒化機構を推定する。

#### 5. 研究成果・波及効果

##### (1) フグ毒



本研究でフグとイモリより発見、単離、構造決定した7つの新規TTX類縁体の内5つの構造(2-6)

- ①新規 TTX 類縁体の探索と生合成経路の推定：本研究で購入した Q-TOF MS を用いて、7 つの新規 TTX 類縁体をフグやイモリより発見し、単離、構造決定した(内 5 種を前頁図に示した)。特にその内 2 種は、TTX の環構造と違っていた。このことから TTX の生合成機構として、新たに出発物質 C10 ユニットの化合物を考え、環形成、その後、数段階の酸化反応にて TTX が形成されると考えられ、TTX 生合成のブレークスルーになり得る。
- ②フグの STX, TTX 結合タンパク質の機能の推定：フグ血漿中の Pufferfish Saxitoxin Tetrodotoxin Binding Protein(PSTBP)のポリクローナル抗体を作製して、免疫組織化学的にヒガング組織内分布を調べた。その結果、PSTBP は TTX を多量に蓄積する肝臓、卵巣にも存在するが、皮膚の TTX 分泌腺周辺に顕著に分布することが明らかになった。また、Northern blot から、PSTBP は肝臓で合成されて血液中に分泌されることも分かった。このことから、PSTBP は、餌から取り込まれた TTX を卵巣、肝臓、皮膚分泌腺に運搬する機能をもつことが推測され、フグの毒の蓄積に関与すると考えられた。
- ③メタゲノムのアプローチによる TTX 生合成、変換反応の追求への挑戦：生合成に関わることが示唆された酵素のコンセンサス配列をもとに、環境中 DNA より部分配列の cDNA クローニングを行なった。多くの新規配列が得られ、本酵素は多様性に富むことが示された。
- ④ TTX の電位依存性 Na<sup>+</sup> channel (Nav) 阻害活性：新規 TTX 類縁体の Nav 阻害活性を、培養細胞 (Neuro2A) を用いた試験により調べた結果、8 位 OH 基が活性に関与すること、および 6 位の OH 基より 11 位の OH 基がより強く活性に関与することが新たにわかった。

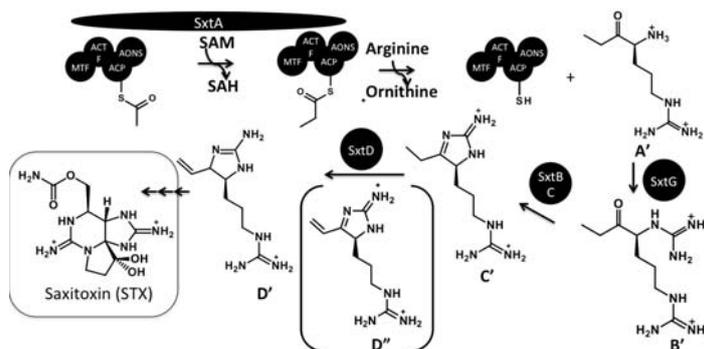
以上の結果から、未解明の TTX 生合成経路に新たな重要な情報を加えることができ、関与する生合成酵素を予測することができた。今後は、予測された酵素を鍵としたアプローチにより、生合成研究が進むと思われる。また、フグのフグ毒蓄積に関しても新たな知見を得ることができ、無毒フグの生産などに応用されることを期待する。また、TTX の Nav への結合に関しても新しい情報が得られ、これらの基礎的学術的成果は、多方面に応用可能で、最終的に食品衛生や国民の健康に役立つと期待する。

(2)麻痺性貝毒：

- ①本研究で購入した高感度 LC-MS を用いた STX 類や生合成中間体の分析方法を開発した。

- ②生合成中間体の化学合成と有毒渦鞭毛藻、藍藻中での存在の証明：

右図のように遺伝子配列より予測された生合成中間体 A', C', D' の化学合成を行い、それを標品として、これ



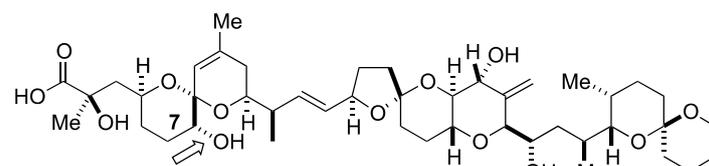
Neilanらが報告したSTX生合成遺伝子と予測生合成中間体の構造(本研究ではA', C', D'を化学合成した)

らの中間体が実際に有毒渦鞭毛藻の *Alexandrium tamarense* や有毒オーストラリア産藍藻 *Anabaena circinalis* の培養藻体に存在することを初めて明らかにした。また、無毒株には、これら中間体は存在しないことを明らかにした。また、本研究をきっかけに、有毒藍藻中に新規の生合成中間体の存在も示された。

本研究により、麻痺性貝毒の生合成中間体の構造が初めて証明でき、定量することが可能となった。そのため、毒生産藍藻やプランクトンが毒を生産する生理的条件、環境的条件などを詳細に調べることが可能となり、麻痺性貝毒の生産制御に応用されることを期待する。

(3) 下痢性貝毒：

ホタテガイに *in vitro* で palmitoyl CoA と OA, ATP を incubate すると OA の 7 位 OH をアシル化 する酵素



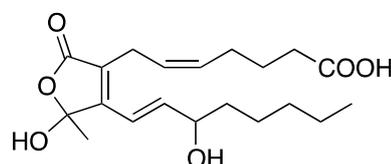
ホタテ貝中のオクタ酸7位OHを脂肪酸でエステル化して弱毒化する酵素

が存在することを初めて明らかにした。本酵素活性を促進することができれば、低毒のホタテガイの生産にも繋がると考えられる。

(4) 海藻毒：

① 紅藻カタオゴノリの新規プロスタグランジン (PG)

類縁体の発見し、構造決定し、ほ乳類中での存在意義を考察した。本化合物は、PGD<sub>2</sub> の酸化的代謝産物と考えられ、正常マウスの各組織にも存在することが LC/MS で示された。これまで PG の酸化代謝物はアルデ



カタオゴノリから得られた新規PG代謝産物 (マウスにも存在する)

ヒドタイプのレブグランジンが知られていて、レブグランジンはタンパク質、DNA、リン脂質のアミノ基と反応して修飾するために病態との関連性が示唆された化合物であった。今回見つけた新規 PG 代謝物はレブグランジンの酸化物であるので、その毒性を回避したレブグランジンの解毒的代謝産物と位置づけられた。

② 海藻致死毒ポリカバノシド類 (PA): フィリピンおよびグアムでポリカバノシド類による致死性的食中毒を発生した際に採集した有毒カタオゴノリを入手でき、それらの PA レベルを LC-MS で調べた。最高 700 ng/g で、このような低濃度でも致死性中毒が発生したため、PA のヒトの経口毒性が極めて強く、海藻を水洗いしても毒が残ることがわかった。また、付着物(微小生物を含む)に毒性が検出されることから付着生物が PA を生産している海藻が吸収している可能性が高い。

これらの結果は、直接、環太平洋地域で突発的に発生する PA による致死性的食中毒発生のメカニズム解明への基礎的情報となり、中毒防止に応用できると考えられる。

## 6. 研究発表等

雑誌論文 計 25 件	<p>(掲載済み一査読有り) 計 24 件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) Q. T. Islam, M. A. Razzak, M. A. Islam, M. I. Bari, A. Basher, F. R. Chowdhury, A. B. M. Sayeduzzaman, H. A. M. N. Ahasan, M. A. Faiz, O. Arakawa, <u>M. Yotsu-Yamashita</u>, U. Kuch, D. Mebs, Puffer fish poisoning in Bangladesh: clinical and toxicological results from large out breaks in 2008, <i>Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene</i>, 105, 74–80, 2011.</li> <li>2) <u>Mari Yotsu-Yamashita</u>, Jun-Ho Jang, Yuko Cho, Keiichi Konoki, Optimization for simultaneous analysis of tetrodotoxin, 4-epitetrodotoxin, 4,9-anhydrotetrodotoxin and 5,6,11-trideoxytetrodotoxin by hydrophilic interaction liquid chromatography–tandem mass spectrometry, <i>Forensic Toxicology</i>, 29, 61–64, 2011.</li> <li>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.</li> <li>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.</li> <li>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.</li> <li>6) 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, <i>Fugu poecilonotus</i>, <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>).</li> <li>7) <u>Mari Yotsu-Yamashita</u>, John Gilhen, Ronald W. Russell, Kenneth L. Krysko, Christian Melaun, Alexander Kurz, Silke Kauferstein, 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.</li> <li>8) Noriyoshi Teramoto, Hai-Lei Zhu, <u>Mari Yotsu-Yamashita</u>, Tetsuichiro Inai, Thomas C. Cunnane, Resurgent-like currents in mouse vas deferens myocytes are mediated by Nav1.6 voltage-gated sodium channels, <i>Pflügers Archiv – European Journal of Physiology</i>, 464, 493–502, 2012.</li> <li>9) Dietrich Mebs, <u>Mari Yotsu-Yamashita</u>, Hanns Martin Seitz, Osamu Arakawa, Tetrodotoxin does not protect red-spotted newts, <i>Notophthalmus viridescens</i>, from intestinal parasites. <i>Toxicon</i>, 60, 66–69, 2012.</li> <li>10) Kazuya Ishigai, Haruhiko Fuwa, Keisuke Hashizume, Ryo Fukazawa, Yuko Cho, <u>Mari Yotsu-Yamashita</u>, and Makoto Sasaki, Total Synthesis and Biological Evaluation of (+)-Gambieric Acid A and Its Analogues, <i>Chem. Eur. J.</i>, 19, 5276–5288, 2013.</li> <li>11) Yuko Cho, Ryoko Ozeki, <u>Mari Yotsu-Yamashita</u>, and Yasukatsu Oshima, Single-cell analysis of paralytic shellfish toxins in <i>Alexandrium tamarense</i> by HPLC with post-column fluorescent derivatization. <i>Harmful Algae</i>, 25, 47–53, 2013.</li> <li>12) Keiichi Konoki Tatsuya Onoda, Ryuichi Watanabe, Yuko Cho, Shinnosuke Kaga, Toshiyuki Suzuki, and <u>Mari Yotsu-Yamashita</u>, In vitro Acylation of Okadaic Acid in the Presence of Various Bivalves' Extracts, <i>Marine Drugs</i>, 11, 300–315, 2013 (Open access: <a href="http://www.mdpi.com/1660-3397/11/2/300">http://www.mdpi.com/1660-3397/11/2/300</a>).</li> <li>13) <u>Mari Yotsu-Yamashita</u>, Sawako Kondo, Shinya Segawa, Yi-chin Lin, Haruhiko Toyohara, Hisatomi Ito, Keiichi Konoki, Yuko Cho and Takafumi Uchida, Isolation and Structural Determination of Two Novel Phlorotannins from the Brown Alga <i>Ecklonia kurome</i> Okamura, and Their Radical Scavenging Activities, <i>Marine Drugs</i>, 11, 165–183, 2013 (Open access: <a href="http://www.mdpi.com/1660-3397/11/1/165">http://www.mdpi.com/1660-3397/11/1/165</a>).</li> <li>14) Atsuo Nakazaki, Yuki Ishikawa, Yusuke Sawayama, <u>Mari Yotsu-Yamashita</u>, Toshio Nishikawa, Synthesis of crambescic B carboxylic acid, a potent inhibitor of voltage-gated sodium channels, <i>Org. Biomol. Chem.</i>, 12, 53–56, 2014.</li> <li>15) Yoshihisa Tanaka, Masayuki Satake, <u>Mari Yotsu-Yamashita</u>, and Yasukatsu Oshima, Gymnocin-A carboxylic acid and gymnocin-a2, cytotoxic polyethers from the red tide dinoflagellate <i>Karenia mikimotoi</i>, <i>Heterocycles</i>, 87 (10), 2037–2046, 2013.</li> <li>16) Keiichi Konoki, Tatsuya Onoda, Sachie Furumochi, Yuko Cho, <u>Mari Yotsu-Yamashita</u>, Takeshi Yasumoto, The binding of okadaic acid analogues to recombinant OABP2.1 originally isolated from the marine sponge <i>Halichondria okadai</i>, <i>Bioorg. Med. Chem. Lett.</i>, 23, 5833–5835, 2013.</li> <li>17) Takafumi Akimoto, Asako Masuda, <u>Mari Yotsu-Yamashita</u>, Takatsugu Hirokawa, and Kazuo Nagasawa, Synthesis of saxitoxin derivatives bearing guanidine and urea groups at C13 and evaluation of their inhibitory activity on voltage-gated sodium channel. <i>Org. Biomol. Chem.</i>, 11, 6642–6649, 2013.</li> <li>18) <u>Mari Yotsu-Yamashita</u>, Yuka Abe, Yuta Kudo, Raphael Ritson-Williams, Valerie J. Paul, Keiichi Konoki, Yuko Cho, Masaatsu Adachi, Takuya Imazu, Toshio Nishikawa, and Minoru Isobe, First identification of 5,11-dideoxytetrodotoxin in marine animals, and characterization of major fragment ions of tetrodotoxin and its analogs by high resolution ESI-MS/MS. <i>Marine Drugs</i>, 11, 2799–2813, 2013. (Open access: <a href="http://www.mdpi.com/1660-3397/11/8/2799/">http://www.mdpi.com/1660-3397/11/8/2799/</a>)</li> <li>19) <u>Mari Yotsu-Yamashita</u>, Natsumi Okoshi, Kouichi Watanabe, Nao Araki, Hiroe Yamaki, Yuki Shoji,</li> </ol>
----------------	--

	<p>and Takahiro Terakawa, Localization of pufferfish saxitoxin and tetrodotoxin binding protein (PSTBP) in the tissues of the pufferfish, <i>Takifugu pardalis</i>, analyzed by immunohistochemical staining, <i>Toxicon</i>, 72, 23-28, 2013.</p> <p>20) Haruhiko Fuwa, Masato Kawakami, Kenkichi Noto, akashi Muto, Yuto Suga, Keiichi Konoki, <u>Mari Yotsu-Yamashita</u>, Makoto Sasaki, Concise Synthesis and Biological Assessment of (+)-Neopeltolide and a 16-Member Stereoisomer Library of 8,9-Dehydroneopeltolide: Identification of Pharmacophoric Elements, <i>Chem. Eur. J.</i>, 19, 8100-8110, 2013.</p> <p>21) Kazuya Ishigai, Haruhiko Fuwa, Keisuke Hashizume, Ryo Fukazawa, Yuko Cho, <u>Mari Yotsu-Yamashita</u>, and Makoto Sasaki, Total Synthesis and Biological Evaluation of (+)-Gambieric Acid A and Its Analogues, <i>Chem. Eur. J.</i>, 19, 5276-5288, 2013.</p> <p>22) Shigeki Tsuchiya, Yuko Cho, Keiichi Konoki, Kazuo Nagasawa, Yasukatsu Oshima and <u>Mari Yotsu-Yamashita</u>, Synthesis and identification of proposed biosynthetic intermediates of saxitoxin in the cyanobacterium <i>Anabaena circinalis</i> (TA04) and the dinoflagellate <i>Alexandrium tamarense</i> (Axat-2), <i>Org. Biomol. Chem.</i> 12, 3016-3020, 2014.</p> <p>23) Yuta Kudo, Julian Finn, Kohei Fukushima, Satsuki Sakugawa, Yuko Cho, Keiichi Konoki, and <u>Mari Yotsu-Yamashita</u>, Isolation of 6-deoxytetrodotoxin from the pufferfish, <i>takifugu pardalis</i>, and a comparison of the effects of the C-6 and C-11 hydroxy groups of tetrodotoxin on its activity, <i>J. Nat. Prod.</i>, 77, 1000-1004, 2014.</p> <p>24) Yuko Cho, Motoo Ogawa, <u>Mari Yotsu-Yamashita</u>, and Yasukatsu Oshima, Effect of 5-fluoro-2'-deoxyuridine on toxin production and cell cycle regulation in marine dinoflagellate, <i>Alexandrium tamarense</i>, <i>Harmful Algae</i>, 32, 64-72, 2014.</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計0件</p> <p>(未掲載) 計1件</p> <p>1) Mori, Tadashi; HIDAKA, Masafumi; Ikuji, Hiroko; Yoshizawa, Ibuki; TOYOHARA, Haruhiko; Okuda, Toru; Uchida, Chiyoko; Asano, Tomoichiro; Yotsu-YAMASHITA, Mari; UCHIDA, Takafumi, A High-Throughput Screen for Inhibitors of the Prolyl Isomerase, Pin1, Identifies a Seaweed Polyphenol that Reduces Adipose Cell Differentiation, <i>Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry</i>, accepted (5th March, 2014).</p>
<p>会議発表</p> <p>計62件</p>	<p>専門家向け 計62件</p> <p>1) 木村奏子、長 由扶子、永井宏史、安元 健、山下まり、沖縄で大量発生した藍藻のアプリシアトキシン類生産種の同定、東京、2011年3月30日、平成23年度日本水産学会春季大会</p> <p>2) 中島康寛、西本佳弘、金井良和、長 由扶子、山下まり、紅藻オゴノリ (<i>Gracilaria vermiculophylla</i>) の新規ヒドロキシエココサノイドの単離と生理活性、東京、2011年3月28日、平成23年度日本水産学会春季大会</p> <p>3) 金井 良和、吾妻 行雄、谷口和也、此木敬一、長由扶子、山下まり、紅藻オゴノリ (<i>Gracilaria vermiculophylla</i>) のプロスタグランジン合成酵素の粗分画、京都、2011年3月27日、日本農芸化学会2011年度大会</p> <p>4) 木村奏子、此木敬一、長由扶子、山下まり、マウス神経芽細胞腫 Neuro2A 細胞に発現する電位依存性 Na<sup>+</sup>チャネル (Na<sub>v</sub>) サブタイプの解析、京都、2011年3月27日、日本農芸化学会2011年度大会</p> <p>5) 山口日出起、山田京平、金子陸、阿部由佳、工藤雄大、山下まり、11-オキソテロドトキシンを用いたアフィニティーゲルの作製と抗体精製への応用、京都、2011年3月28日、日本農芸化学会2011年度大会</p> <p>6) 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</p> <p>7) 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</p> <p>8) 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</p> <p>9) 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</p>

<p>10) 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</p> <p>11) 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</p> <p>12) 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</p> <p>13) 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</p> <p>14) 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> <p>15) 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>16) 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>17) 松浦 宏樹、小濱 真実、福沢 世傑、橋 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>18) 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>19) 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>20) 土屋成輝、長由扶子、此木敬一、長澤和夫、山下まり、麻痺性貝毒生成中間体の合成と毒生産生物からの同定、第 23 回万有仙台シンポジウム、仙台市、2012.6.2、万有生命科学振興国際交流財団</p> <p>21) 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、第 7 回化学生態学研究会、函館市、2012.6.29-30、化学生態学研究会</p> <p>22) 工藤佑馬・松浦宏樹・長由扶子・山下まり・此木敬一、質量分析によるイチイ中のタキソール結合タンパク質の探索 (同上)</p> <p>23) 此木敬一、小野田竜也、長由扶子、加賀新之助、渡邊龍一、鈴木敏之、山下まり、ホタテ貝中の下痢性貝毒変換酵素の探索、第 59 回毒素シンポジウム、帯広市、2012.8.30-8.31、毒素シンポジウム事務局</p> <p>24) 土屋成輝、長由扶子、此木敬一、長澤和夫、大島泰克、山下まり、麻痺性貝毒生成初期中間体の合成と毒生産生物からの同定、第 54 回天然有機化合物討論会、2012.9.18-20、東京農大、東京都、日本化学会、日本薬学会、日本農芸化学会</p> <p>25) 工藤雄大、此木敬一、長由扶子、山下まり、HILIC-ESI-TOF-MS を用いた TTX 類縁体の一斉分析法の確立日本農芸化学会東北支部 第 147 回大会 2012.10.6 弘前大学農学生命学部、弘前市、日本農芸化学会</p> <p>26) 武田篤、長由扶子、佐久川さつき、須田彰一郎、此木敬一、山下まり、沖縄県阿嘉島産リングピアトキシン生産藍藻の 16S rDNA の部分塩基配列解析 (同上)</p> <p>27) 工藤佑馬・阿部晃大・長由扶子・山下まり・此木敬一、質量分析を用いたイチイ中のタ</p>
---

	<p>キソール結合タンパク質の探索 (同上)</p> <p>28) Shigeki Tsuchiya, Yuko Cho, Keiichi Konoki, Kazuo Nagasawa, Yasukatsu Oshima, and Mari Yotsu-Yamashita, Synthesis of putative biosynthetic intermediates in early stage for paralytic shellfish toxins and their identification in toxin producing microorganisms, 15th International Conference on Harmful Algae, 1st Nov, 2012, oral presentation, Oct29-Nov2, 2012, CECO, Gyeongnam, Korea</p> <p>29) Yuko Cho, Motoo Ogawa, Mari Yotsu-Yamashita and Yasukatsu Oshima, Effect of 5-fluoro-2'-deoxyuridine on the cell proliferation and toxin production of <i>Alexandrium tamarense</i>, 15th International Conference on Harmful Algae, 1st Nov, 2012, poster presentation, Oct29-Nov2, 2012, CECO, Gyeongnam, Korea</p> <p>30) 瀬川 慎也、伊藤 久富、山下 まり、褐藻クロメ <i>Ecklonia kurome</i> の硫酸化フロロタンニンの単離と構造研究、口頭、日本農芸化学会 2013 年度大会、2013. 3. 25-27、仙台市、東北大学、日本農芸化学会</p> <p>31) 土屋 成輝、長 由扶子、此木敬一、長澤 和夫、大島 泰克、山下 まり、麻痺性貝毒生合成初期中間体の合成と毒生産生物からの同定 (同上)</p> <p>32) 長 由扶子、土屋 成輝、此木 敬一、大島 泰克、山下 まり、5-Fluoro-2'-deoxyuridine の渦鞭毛藻 <i>Alexandrium tamarense</i> における麻痺性貝毒生合成初期中間体合成に与える影響 (同上)</p> <p>33) 工藤雄大、此木敬一、長由扶子、山下まり、新規テトロドトキシン類縁体 6-デオキシテトロドトキシンの単離・構造決定 (同上)</p> <p>34) 生地紘子、森正、吉澤いぶき、林宣瑾、豊原治彦、奥田徹、内田千代子、山下まり、内田隆史、プロリン異性化酵素 Pini 阻害剤のハイスルーブットスクリーニングによる、脂肪細胞分化抑制効果を有する海藻ポリフェノールの同定 (同上)</p> <p>35) 小濱真実、岡田華弥、西谷豪、長由扶子、山下まり、此木敬一、クロイソカイメン中でオカダ酸およびオカダ酸結合タンパク質 OABP2 を生産する生物の探索 (同上)</p> <p>36) 小野田竜也、渡邊龍一、長由扶子、加賀新之助、鈴木敏之、山下まり、此木敬一、下痢性貝毒貯蔵生物における自己体制機構の探索 (同上)</p> <p>37) 山下まり、シンポジウム：MS 解析による農学と医学の融合研究 LC-MS を用いた海洋天然物研究 2013 年 3 月 27 日 (同上)</p> <p>38) 阿部由佳、小野寺健一、安元健、山下まり、腐食性巻貝シイノミヨウバイ (<i>Nassarius velatus</i>) 中のテトロドトキシン類縁体の同定と人工飼育による毒組成変化、平成 25 年度日本水産学会春季大会、東京都、東京海洋大学、2013 年 3 月 29 日、日本水産学</p> <p>39) 増田朝子、篠原涼子、秋元隆史、山下まり、長澤和夫、C13 位 N 置換型サキシトキシン誘導体類の合成と NaVCh 阻害活性評価、日本化学会第 93 春季年会 (立命館 びわこ・くさつキャンパス)、草津市、2013 年 3 月 22 日~25 日、日本化学会</p> <p>40) 石貝 和也、深澤 亮、不破春彦、長由扶子、山下まり、佐々木誠、ガンビエル酸 A および類縁体の合成と生物活性評価 (同上)</p> <p>41) 工藤 佑馬、長 由扶子、山下 まり、此木 敬一、イチイ <i>Taxus cuspidata</i> 由来 <math>\alpha</math>、<math>\beta</math> チュープリンの発現とタキソール結合性の評価、口頭、日本農芸化学会 2014 年度大会、明治大学生田キャンパス (神奈川県)、2014 年 3 月 27-30 日</p> <p>42) 工藤 雄大、山下 瑠子、此木 敬一、長 由扶子、安元 健、山下 まり、口頭、10-hemiketal 型テトロドトキシン類縁体の構造決定と生合成経路の考察 (同上)</p> <p>43) 前田 高輔、田谷 有妃、大水 絵理、Mirriam A. Cayme、長 由扶子、此木 敬一、Sherwood Hall、福代 康夫、安元 健、山下 まり、口頭、致死性海藻食中毒原因物質ポリカバノシドAの起源生物の推定 (同上)</p> <p>44) 此木 敬一、古用 幸愛、小野田 竜也、長 由扶子、山下 まり、口頭、ホタテ貝中で進行する下痢性貝毒オカダ酸のアシル化反応 (同上)</p> <p>45) 山下 瑠子、山下 まり、工藤 雄大、長 由扶子、此木 敬一、口頭、メタゲノムからの新規 Baeyer-Villiger monooxygenase のスクリーニング (同上)</p> <p>46) 土屋成輝、長由扶子、吉岡廉平、此木敬一、長澤和夫、大島泰克、山下まり、口頭、麻痺性貝毒の生合成中間体の定量及び未知中間体について (同上)</p> <p>47) 長由扶子、吉岡廉平、土屋成輝、此木敬一、大島泰克、山下まり、口頭、渦鞭毛藻 <i>Alexandrium tamarense</i> 有毒株の dcSTX-12 <math>\alpha</math>-ol の同定、平成 26 年度日本水産学会春季大</p>
--	--

	<p>会、北海道大学函館キャンパス、2014年3月27-31日</p> <p>48) 前田高輔、山下まり、此木敬一、長由扶子、Sherwood Hall、安元健、グアムの致死性食中毒発生時に採集されたカタオゴノリのポリカバノシドAの分析 (同上)</p> <p>49) Shigeki Tsuchiya, Yuko Cho, Keiichi Konoki, Kazuo Nagasawa, Yasukatsu Oshima and Mari Yotsu-Yamashita, Synthesis of putative biosynthetic intermediates in early stage for paralytic shellfish toxins, and their identification in toxin producing microorganisms, Tohoku University's Chemistry Summer School, 2013. 8.29-30 (poster).</p> <p>50) Yuko Cho, Shigeki Tsuchiya, Keiichi Konoki, Yasukatsu Oshima and Mari Yotsu-Yamashita, 5-Fluoro-2'-deoxyuridine influenced the growth and the biosynthesis of intermediates for paralytic shellfish toxins of the dinoflagellate, <i>Alexandrium tamarense</i>, International Symposium for the 70th Anniversary of the Tohoku Branch Chemical Society of Japan, Tohoku University Kawauchi Campus, 2013. 9.28-29 (poster).</p> <p>51) Tsuchiya Shigekia, Cho Yukoa, Konoki Keiichia, Nagasawa Kazuob, Oshima Yasukatsua, Yotsu-Yamashita Mari, Synthesis and identification of putative biosynthetic intermediates in early stage for paralytic shellfish toxins (poster) (Same as above).</p> <p>52) Mari Yotsu-Yamashita, Yuka Abe, Yuta Kudo, Keiichi Konoki, Yuko Cho, Toshio Nishikawa and Minoru Isobe, Identification of 5,11-dideoxytetrodotoxin in marine animals, and ccharacterization of ESI-MS fragment ions of tetrodotoxin and its analogs (poster) (Same as above).</p> <p>53) Yuta Kudo, Keiichi Konoki, Yuko Cho, and Mari Yotsu-Yamashita, The structure of the novel tetrodotoxin analog, 6-deoxytetrodotoxin, and structure activity relationship study on C-6 and C-11 hydroxyl groups of tetrodotoxin, (poster) (Same as above).</p> <p>54) 岡田華弥・小野田竜也・長由扶子・山下まり・此木敬一、オカダ酸貯蔵生物が獲得した生理機能、第8回化学生態学研究会、2013年6月28-29日、函館、湯の川プリンスホテル渚亭、poster.</p> <p>55) 工藤雄大、山下瑤子、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構造と生合成経路の推定、口頭、第55回天然有機化合物討論会、同志社大学寒梅館、京都市、2013年9月18-20日。</p> <p>56) 吉岡廉平、土屋成輝、長由扶子、此木敬一、大島泰克、山下まり、麻痺性貝毒の生合成中間体の探索、口頭、日本農芸化学会東北支部第148回大会、2013年10月26日 岩手大学農学部 盛岡市</p> <p>57) 上野 美紗、野村 駿、此木 敬一、長 由扶子、山下 まり、抗フコキサンチンポリクローナル抗体の作製、口頭、(同上)</p> <p>58) 千葉雪絵、長由扶子、安立昌篤、榊原良、所聖太、今津拓也、磯部稔、西川俊夫、山下まり、此木敬一、Nav 安定発現系の構築とTTX関連化合物の結合性評価、口頭、(同上)</p> <p>59) Yuta Kudo, Keiichi Konoki, Yuko Cho, and Mari Yotsu-Yamashita, Isolation and structural determination of a novel tetrodotoxin analog, 6-deoxyTTX, and its voltage-gated sodium channel blocking activity, poster, American Society of Pharmacognosy 2013 annual meeting, 13<sup>th</sup>-15<sup>th</sup>, July, 2013, St. Louis, USA.</p> <p>60) 廣田一晃、菅悠人、此木敬一、山下まり、不破春彦、佐々木誠、光親和性標識基を導入したガンビエロール単純化類縁体の合成と生物活性評価、口頭、日本化学会第94春季年会(2014)、2014年3月27-30日、名古屋大学 東山キャンパス</p> <p>61) 山下まり、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、FIRST シンポジウム「科学技術が拓く2030年」へのシナリオ、ポスター、2014年2月28日、新宿、ベルサール新宿グランド内コンファレンスセンター</p> <p>62) T. Nishikawa, M. Adachi, R. Sakakibara, T. Imazu, Y. Satake, S. Tokoro, A. Nakazaki, Y. Ishikawa, Y. Sawayama, M. Isobe, K. Konoki, M. Yamashita, Synthesis of Marine Toxins Aiming at Developing Ion-Channel Inhibitors ChemBioChem international symposium 2013. 10. 28-29. poster</p>
--	---

	一般向け 計0件
図書 計6件	<ol style="list-style-type: none"> <li>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講演要旨集、p367-371、総ページ数713、2011年、発行人：大船泰史</li> <li>2) 藻類ハンドブック、監修、編集委員長：渡邊信、第2節-5. 大型藻類の毒 山下まり (株) エヌ・ティー・エス社 p268-270、総ページ数768、2012年、ISBN978-4-86469-002-7.</li> <li>3) 水産学シリーズ 174 フグ研究とトラフグ生産技術の最前線 日本水産学会監修 編集：長島裕二、村田修、渡部終五、恒星社厚生閣、第9章フグ毒化関連タンパク質 山下まり、p111-121、総ページ数141、2012年、ISBN978-4-7699-1285-9.</li> <li>4) 第54回天然有機化合物討論会講演要旨集、発行者：渡邊秀典、麻痺性貝毒生合成と毒生産生物からの同定、土屋成輝、長由扶子、此木敬一、長澤和夫、大島泰克、山下まり、p459-464、総ページ数669、2012年</li> <li>5) 工藤雄大、山下瑤子、此木敬一、長由扶子、安元健、<u>山下まり</u>、新規テトロドトキシン類縁体の構造と生合成経路の推定、p169-174、第55回天然有機化合物討論会要旨集、発行人 入江一浩、2013、総頁637.</li> <li>6) M. Carmen Louzao, Natalia Vilarino, and <u>Mari Yotsu-Yamashita</u>, Polycavernosides and Other Scarce New Toxins, pp 857-284, in Seafood and Freshwater Toxins: Pharmacology, Physiology, and Detection, Third Edition, Edited by Luis M. Botana, total 1198 page, 2014, CRC Press, Taylor &amp; Francis group, total 1198 pages, ISBN: 976-1-4665-054-8.</li> </ol>
産業財産権 出願・取得 状況  計0件	<p>(取得済み) 計0件</p> <p>(出願中) 計0件</p>
Webページ (URL)	<p>東北大学大学院農学研究科・生物産業創成科学専攻・天然物生物機能科学講座 天然物生命化学分野ホームページ <a href="http://www.agri.tohoku.ac.jp/bukka/index-j.html">http://www.agri.tohoku.ac.jp/bukka/index-j.html</a></p>
国民との科学・技術対話の実施状況	<ol style="list-style-type: none"> <li>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て研究内容についてポスターを用いて説明した。</li> <li>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。</li> <li>3) 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、2012年7月30-31日、東北大学大学院農学研究科、オープンキャンパス、高校生および一般参加者(総数2,200人)、本研究の成果について説明した。</li> <li>4) 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、2013年7月30-31日、東北大学大学院農学研究科、オープンキャンパス、高校生および一般参加者(総数2,200人)、本研究の成果について説明した。</li> <li>5) 海洋生物毒の謎を探る、2013年5月24日、福島県成蹊高等学校、高校生、350名、出理科講演会にて出前授業を実施した。</li> </ol>

様式21

新聞・一般雑誌等掲載計2件	1) 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。 2) 河北新報、2013年8月20日-25日（6回連載）、科学の泉、海洋生物の毒
その他	なし

7. その他特記事項

なし