

底泥中における 有害・有毒プランクトンの休眠細胞

- I. どの種の休眠細胞が何年前から存在していたのか？
- II. 休眠細胞はどれくらいの期間生存能を有するのか？

神戸大学
内海域環境教育研究センター
田辺祥子

有毒・有害プランクトン (Harmful Algae Species : HABs)とは

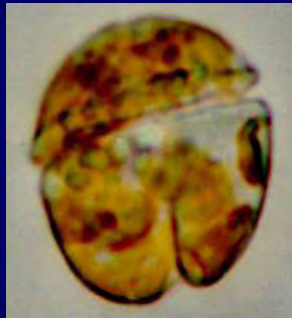
1. 赤潮形成型HABs:



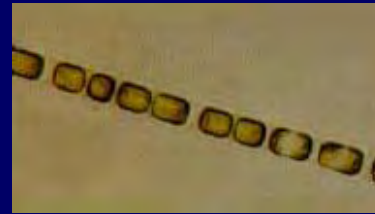
Heterosigma akasiwo



Chattonella antiqua



Gyjmnodinium mikimotoi



Skeletonema costatum

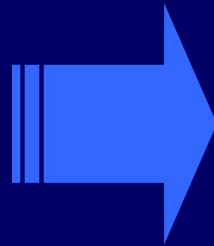
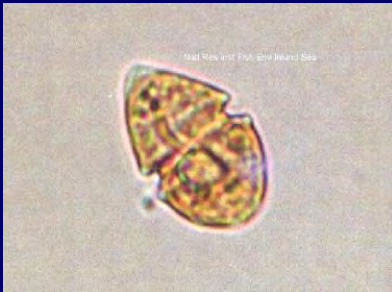


Cochlodinium polykrikoides

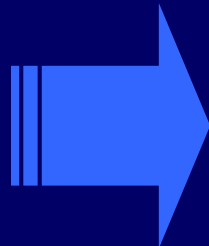


有毒・有害プランクトン (Harmful Algae Species : HABs)

2. 魚介類斃死型HABs:



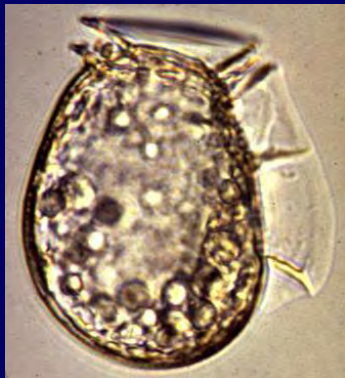
Heterocapsa circulariscurma



Pfisteria piscicida

有毒・有害プランクトン (Harmful Algae Species : HABs)

3. 毒生産型HABs:



Dinophysis fortii



Prorocentrum lima



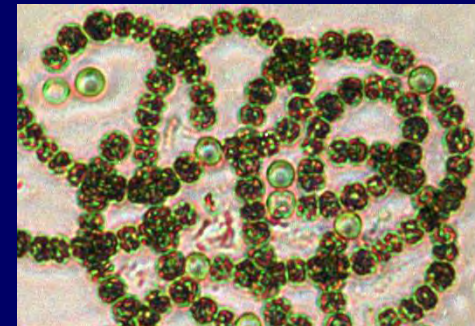
Gymnodinium catenatum



Pyrodinium bahamense



Gambierdiscus tixicus

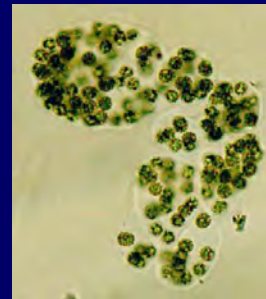
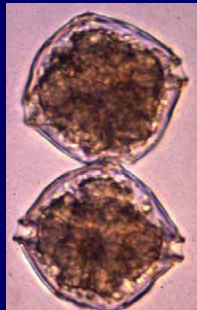
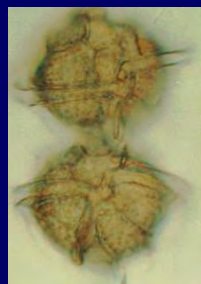
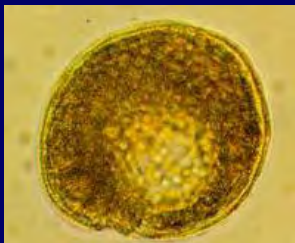


Anabaena circinalis

主な生物毒の毒力の比較

毒素	毒力 (LD50:μg/kg)	原因生物
ボツリヌス毒	0.003	細菌 (<i>Clostridium</i> sp.)
シガトキシン	0.35	渦鞭毛藻 (<i>Gambierdiscus</i> spp. etc.)
サキシトキシン	3	渦鞭毛藻 (<i>Alexandrium</i> spp. etc.)
テトラドキシシン(フグ毒)	9	魚 (<i>Takifugu</i> etc.)
ダイオキシシン	22	-
ミクロキスチン	60	ラン藻 (<i>Microcystis</i> spp. etc.)
オカダ酸	200	渦鞭毛藻 (<i>Dinophysis</i> spp. etc.)
コレラ毒	250	細菌 (<i>Vivrio cholera</i>)
サソリ毒	9000	サソリ
青酸カリウム	10000	-

(注) 毒力はマウスの腹腔内注射時の50%致死量



生物兵器として製造・研究の進んだ プランクトン由来の生物毒

(d) これらの物質がこの条約によって禁止されていない目的のために商業上多量に生産されるものであるか否か。

B 化学物質の表

次の表には、毒性化学物質及びその前駆物質を掲げる。この条約の実施上、これらの表は、検証附属書に従って検証措置を実施するために化学物質を特定する。これらの表は、第二条1(a)に規定する化学兵器の定義を構成するものではない。

(括弧内にアルキル基を掲げるジアルキル化合物類については、その括弧内のアルキル基の可能なすべての組合せにより考えられる可能なすべての化学物質は、明示的に除外されない限り、それぞれの表に掲げられたものとみなす。表2Aにおいて(*)が付されている化学物質については、検証附属書第七部の規定に従って申告及び検証のための特別な基準の対象とする。)

(CAS登録番号)

表1

A 毒性化学物質

- (1) O-アルキル (炭素数十以下のもの。シクロアルキルを含む。) =アルキル (メチル、エチル、ノルマルプロピル又はイソプロピル) ホスホノフルオリダート類
 例えは、
 サリン O-イソプロピル=メチルホスホノフルオリダート (107-14-8)
 ソマン O-ピナコリル=メチルホスホノフルオリダート (96-64-0)
- (2) O-アルキル (炭素数十以下のもの。シクロアルキルを含む。) = N・N-ジアルキル (メチル、エチル、ノルマルプロピル又はイソプロピル) ホスホルアミドシアンダート類
 例えは、
 タブン O-エチル=N・N-ジメチルホスホルアミドシアンダート (77-81-6)
- (3) O-アルキル (木素又は炭素数十以下のもの、シクロアルキルを含む。) = S-2-ジアルキル (メチル、エチル、ノルマルプロピル又はイソプロピル) アミノエチル=アルキル (メチル、エチル、ノルマルプロピル又はイソプロピル) ホスホノチオウラート類及びこれらのアルキル化塩類又はプロトン化塩類
 例えは、
 VX O-エチル=S-2-ジイソプロピルアミノエチル=メチルホスホノチオウラート (50782-69-9)
- (4) 硫黄マスタード類
 2-クロロエチルクロロメチルスルフィド (2625-76-5)
 マスタードガス ビス(2-クロロエチル) スルフィド (505-60-2)
 ビス(2-クロロエチルチオ) メタン (63869-13-6)
 セスキマスタード 1・2-ビス(2-クロロエチルチオ) エタン (3563-36-8)
 1・3-ビス(2-クロロエチルチオ) ノルマルプロパン (63905-10-2)
 1・4-ビス(2-クロロエチルチオ) ノルマルブタン (142868-93-7)
 1・5-ビス(2-クロロエチルチオ) ノルマルペンタン (142868-94-8)
 ビス(2-クロロエチルチオメチル) エーテル (63918-90-1)
 O-マスタード ビス(2-クロロエチルチオエチル) エーテル (63918-89-8)

- (5) ルイサイト類
 ルイサイト1 2-クロロビニルジクロロアルシン (541-25-3)
 ルイサイト2 ビス(2-クロロビニル) クロロアルシン (40334-69-8)
 ルイサイト3 トリス(2-クロロビニル) アルシン (40334-70-1)
- (6) 窒素マスタード類
 HN1 ビス(2-クロロエチル) エチルアミン (538-07-8)
 HN2 ビス(2-クロロエチル) メチルアミン (51-75-2)
 HN3 トリス(2-クロロエチル) アミン (555-77-1)
- (7) サキントキシン (35523-89-8)
- (8) リシン (9009-86-3)

B 前駆物質

- (9) アルキル (メチル、エチル、ノルマルプロピル又はイソプロピル) ホスホニルジフルオリド類
 例えは、
 DF メチルホスホニルジフルオリド (676-99-3)
- (10) O-アルキル (木素又は炭素数十以下のもの、シクロアルキルを含む。) = O-2-ジアルキル (メチル、エチル、ノルマルプロピル又はイソプロピル) アミノエチル=アルキル (メチル、エチル、ノルマルプロピル又はイソプロピル) ホスホニット類及びこれらのアルキル化塩類又はプロトン化塩類
 例えは、
 QL O-エチル=O-2-ジイソプロピルアミノエチル=メチルホスホニット (57856-11-8)
- (11) クロロサリン O-イソプロピル=メチルホスホノクロリダート (1445-76-7)
- (12) クロロソマン O-ピナコリル=メチルホスホノクロリダート (7040-57-5)

表2

A 毒性化学物質

- (1) アミトン O・O-ジエチル=S-[2-(ジエチルアミノ)エチル]ホスホチオウラート (78-53-5)
 及びそのアルキル化塩類又はプロトン化塩類
- (2) PFIB 1・1・3・3・3-ペンタフルオロ-2-(トリフルオロメチル)-1-プロペン (382-21-8)
- (3) BZ 3-キヌクリジニル=ベンジラート (*) (6581-06-2)

貝毒発生メカニズム

中毒発症
(麻痺, 下痢, 記憶喪失など)

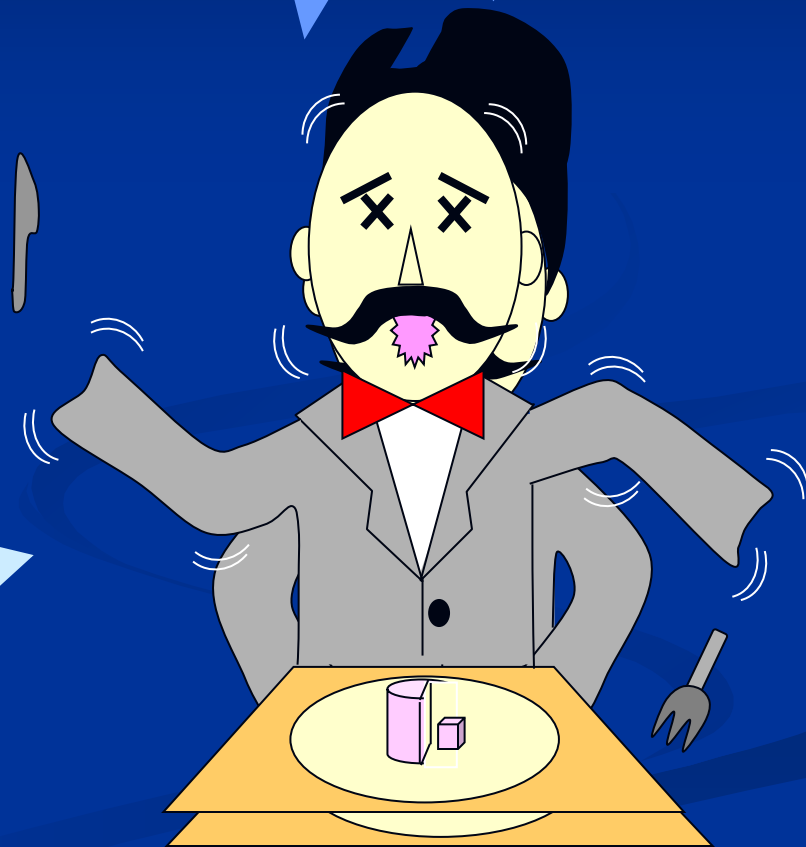
1. 二枚貝による
有毒プランクトンの摂餌



2. 二枚貝が体内に毒を蓄積



3. 人間による毒化貝の摂食



麻痺性貝毒による貝出荷自主規制状況 (平成18年3月 宮城県)

対象種	海域	規制開始日	規制終了日
1. カキ	石巻湾東部	H18,2,27	H18,5,1
2. カキ	石巻湾中央部	H18,3,22	H18,4,10
3. ムラサキイガイ	宮城県南部	H18,3,3	H18,5,23
4. アサリ	仙台湾中央部	H18,3,8	H18,4,25
5. カキ	荻浜湾	H18,3,13	H18,4,24
6. トゲクリガイ	宮城県南部	H18,3,11	H18,6,27
7. コタマガイ	宮城県南部	H18,3,15	H18,4,25
8. アカガイ	宮城県南部	H18,3,28	H18,4,25
9. ウバガイ	宮城県南部	H18,3,27	H18,4,25

麻痺性貝毒による貝出荷自主規制状況 (平成17年3月 宮城県)

対象種	海域	規制開始日
1. ムラサキイガイ	宮城県南部	H17,3,14
2. カキ	石巻湾東部	H17,3,14 H17,4, 5
3. カキ	荻浜湾	H17,3,14 H17,4,12
4. コタマガイ	宮城県南部	H17,3,14 H17,4,26
5. アサリ	石巻湾中央	H17,3,15 H17,4,19
6. カキ	石巻湾中央部	H17,3,22 H17,4,12
7. カキ	松島湾	H17,3,22 H17,4,11
8. アサリ	仙台湾中央部	H17,3,23 H17,4,26
9. トゲクリガニ	宮城県南部	H17,3,24

**なぜ有毒・有害プランクトンは
毎年発生を繰り返すのか？**



海底の底泥に原因の種が!!!

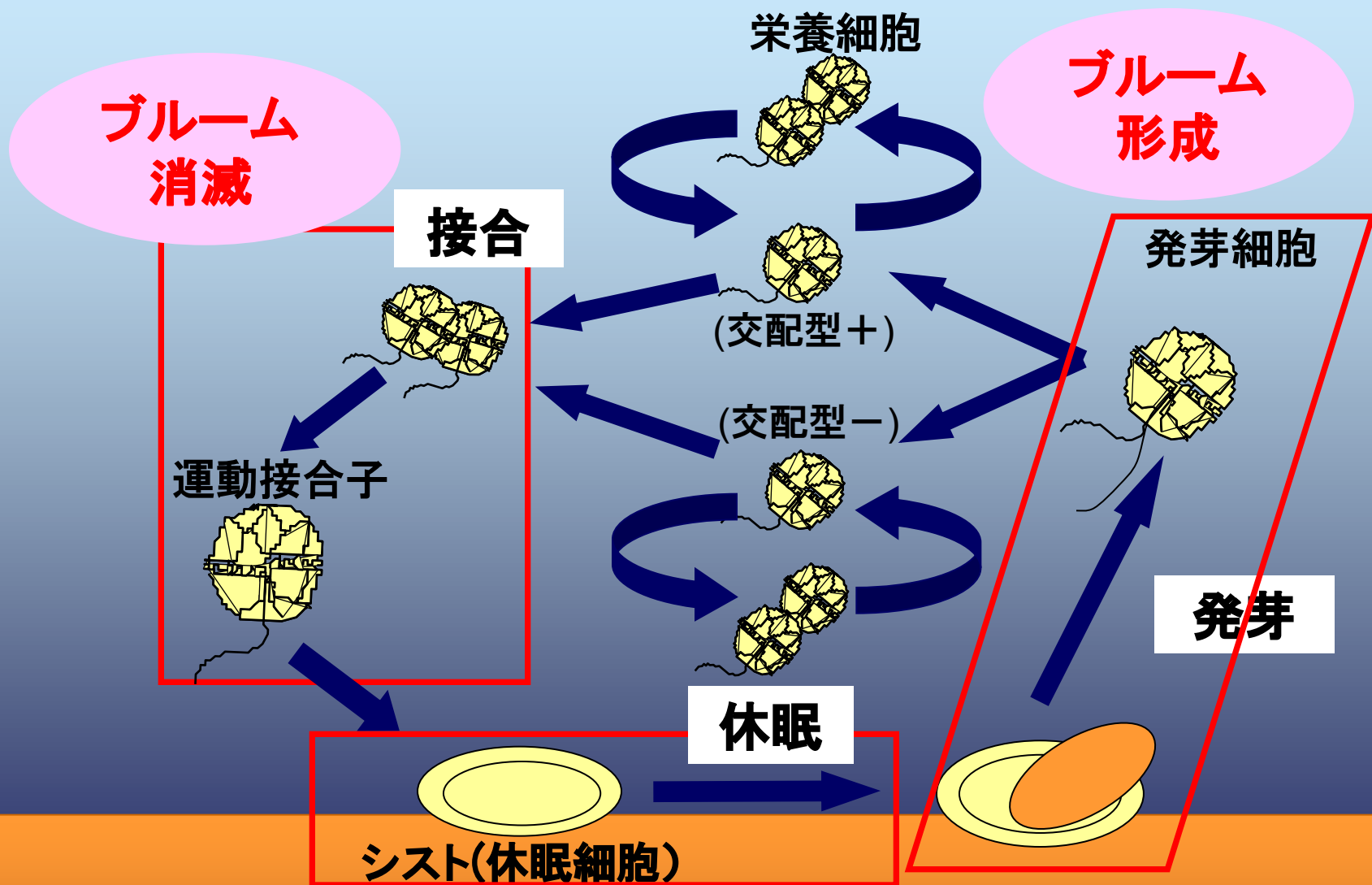


休眠細胞（シスト）

シストとは？

特徴その1

環境の悪化によりシストとなり，環境が良好になると栄養細胞として発芽しブルームを形成する

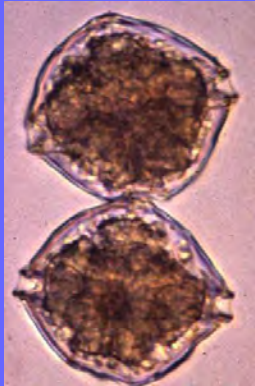


シスト形成・発芽がブルーム発生・消滅機構の鍵

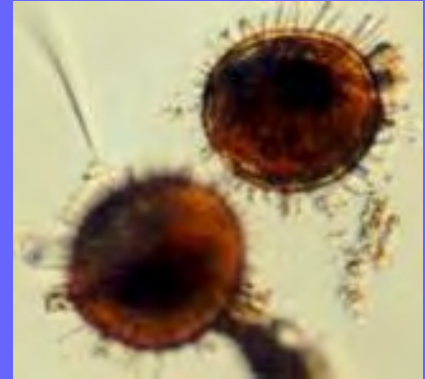
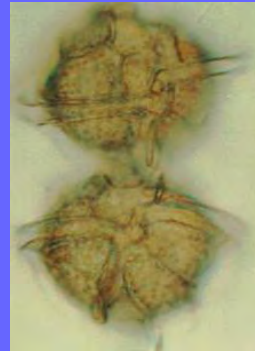
シストとは

特徴その2

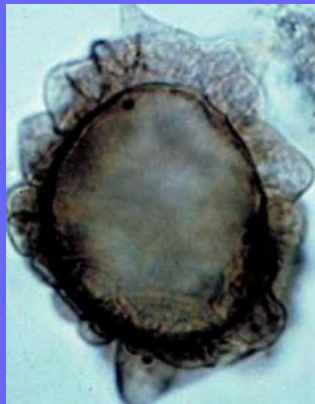
形態的特徴が栄養細胞と全く異なる。



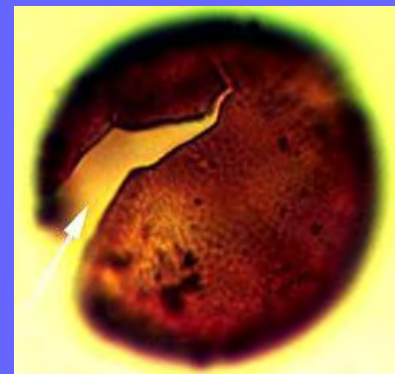
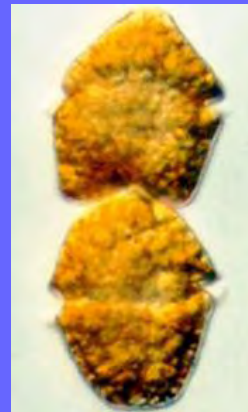
Alexandrium tamarense



Pyrodinium bahamense



Cochlodinium polykrikoides



Gymnodinium catenatum

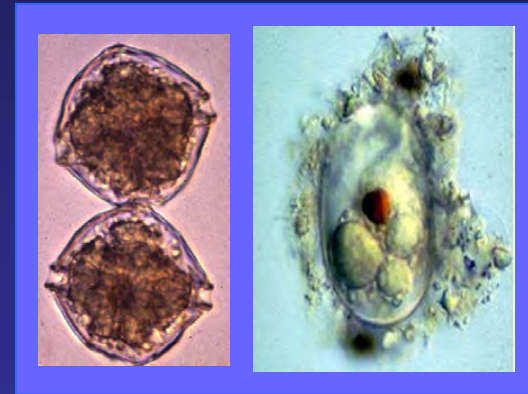
シストとは

特徴その2

様々な環境に対する耐性をもつ

- ・ 生物的要因（細菌など）への抵抗性がある。
- ・ 低温環境下，低酸素下，および低pHなど物理的悪条件に強い。

→大量の多糖で守られた強固な細胞壁と，細胞レベルでの生存戦略機構



底泥中に長期に渡って蓄積している可能性

研究その1

どの種の休眠細胞が何年前から存在していたのか

- シストは形態に基づく種同定ができないため、水平および垂直方向の詳細な分布は不明
- 年代測定と照合された詳細な同定結果がない。



DNAマーカーを利用した種同定・定量法を用いて、有毒プランクトンの年代別種分布を明らかにする。

遺伝子マーカーとなる塩基配列の探索

A種 ATGCCCGTATATAGGGCGATTT
B種 ATGCTATACCAAAGGGCGATTT
C種 ATGCCCATTAGTAGGGCGATTT
D種 ATGCCCAAAGTAAGGGCGATTT



種同定のDNAマーカー

e.g

- ・米の産地判別
- ・牛肉偽造検査
- ・親子鑑定

研究その2

休眠細胞はどれくらいの期間増殖能を有するのか？

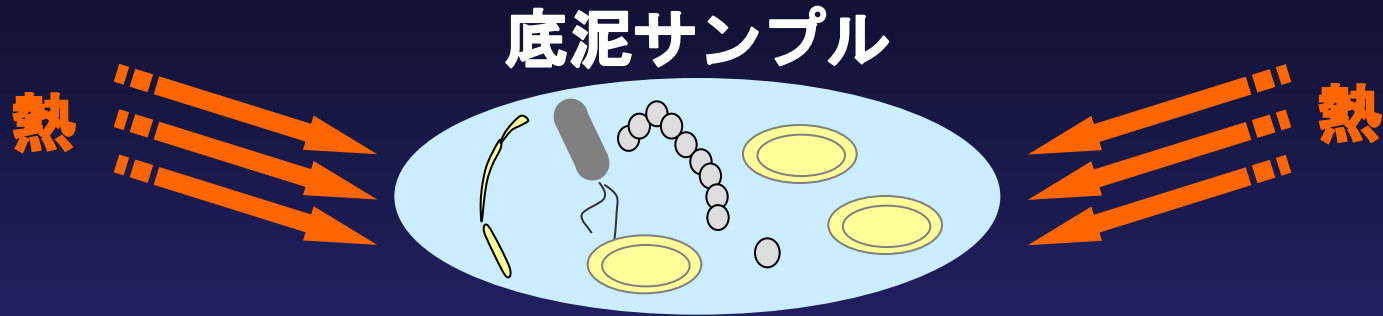
→顕微鏡観察では増殖能の有無が区別できない。

→培養系が確立されている有毒プランクトンが少なく，培養実験を応用することが困難

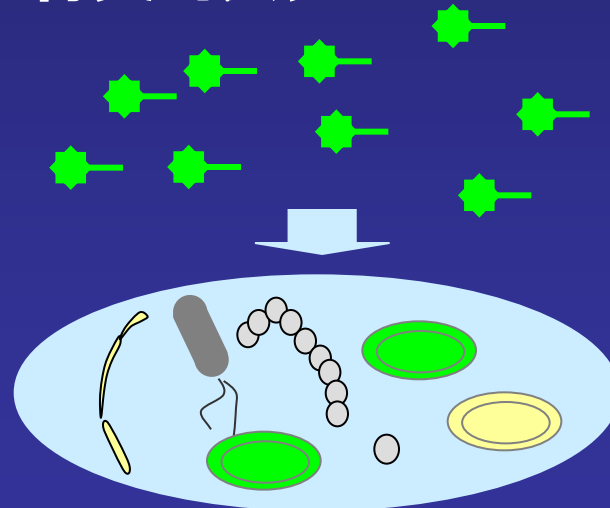


遺伝子発現解析により，年代別に増殖能をもつ有毒プランクトンを定量する

遺伝子発現解析による 増殖能を有する有毒プランクトンの定量



Heat shock protein遺伝子
特異的蛍光プローブ



網羅的遺伝子解析法を用いた 生活環（シスト形成・休眠・発芽）に 関与する遺伝子の探索

