

事業名	遺伝子同定手法とスクリーニング法の導入による効率的な貝毒モニタリング体制の確立
予算区分	地方創生推進交付金
事業実施期間	令和2～4年度
担当者	(環境増養殖担当) 朝田健斗, 吉田和貴
共同研究機関等	
<p>&lt;目的&gt;</p> <p>LAMP法(遺伝子同定手法)による貝毒原因プランクトンの同定や, 貝毒簡易検査キットによるスクリーニング法について, 徳島県海域における有効性を検証し, より効率的な貝毒モニタリング体制を確立する。</p> <p>&lt;方法&gt;</p> <p>○LAMP法の導入</p> <p>令和元年度及び2年度の椿湾調査時に検出された<i>Alexandrium</i>属プランクトンに対し, LAMP法用プライマー(ユーロフィンジェノミクス株式会社)を用いてその有効性を検証した。LAMP法による反応は, 蛍光を目視検出して判定した。</p> <p>○貝毒簡易検査キットの有効性の検証</p> <p>試料は阿南市椿湾で採取されたマガキを用いた。PST抽出液の調整及びマウス毒性試験による毒力の算出は民間検査機関に委託した。キットはMTテスト イムクロマト-PSP「ニッスイ」(日水製薬製)を使用した。イムクロマト試験は測定液をテストプレートへ滴下し, 20分後に判定部(T)に形成されるラインの発色強度を目視により4段階(++、+、±及び-)で判定した。また, スクリーニング基準値は2MU/gとし, それ以上を確実に陽性と判定できる希釈倍率を決定した。</p> <p>&lt;結果&gt;</p> <p>○LAMP法の導入</p> <p><i>Alexandrium</i>属プランクトンの細胞密度とLAMP法による同定結果について表1に示した。調査期間中に<i>A.pacificum</i>(Group IV)及び<i>A.catenella</i>(Group I)が交互にまたは混在して出現したが, LAMP法により確実に種同定を行うことができた。</p> <p>○貝毒簡易検査キットの有効性の検証</p> <p>マガキについて100倍の希釈倍率でスクリーニングした結果, 2～4MU/gの検体では一部に偽陰性が生じたが, 4MU/g以上の検体では全て陽性と判定され偽陰性は認められなかった(表2)。</p> <p>&lt;今後の課題&gt;</p> <p>貝毒簡易検査キットの精度向上</p> <p>&lt;次年度の計画&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・<i>A.tamiyavanichii</i>に対するLAMP法の有効性の確認</li> <li>・イムクロマトキットについて他海域での有効性の確認及び精度の向上</li> <li>・他の簡易検査キットについての有効性の検証</li> </ul> <p>&lt;結果の発表・活用状況等&gt;</p> <p>特になし</p>	

表1. 令和元年度及び2年度の樺湾調査時に検出された *Alexandrium* 属プランクトンのLAMP法による同定結果と細胞密度 (cells/ml)

※P:*A. pacificum*(Group IV)      C:*A. catenella*(Group I)

調査日	同定結果	細胞密度
1/30	P	10.3
3/6	C	0.03
3/19	P	7.7
3/26	P	3.0
4/9	P	4.3
4/16	P	1.7
4/23	C+P	23.0
5/7	C+P	132
5/12	P	0.12
5/21	C+P	0.08

表2. イムノクロマトキットによる反応性試験結果(上段:目視判定結果, 下段:T/C値)

毒量		毒量		毒量		毒量	
2未満	±	2未満	±	2未満	+	2.1	±
	0.182		0.159		0.217		0.164
2.1	—	2.3	—	2.4	±	2.5	±
	0.083		0.053		0.178		0.151
2.6	—	2.7	—	3.2	—	3.6	—
	0.073		0.057		0.034		0.063
3.8	—	3.8	—	5.2	—	5.6	—
	0.014		0.025		0.025		0.022
7.4	—	7.6	—	11	—	25	—
	0.035		0.003		0.032		0.049