

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
共同研究機関等	

<目的>

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。

<方法>

○LAMP法の導入

県沿岸一帯にて実施するプランクトン調査時において検出された*Alexandrium*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。

○貝毒簡易検査キットの有効性の検証

試料は松茂町、徳島市及び小松島市で採取されたカキを用いた。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 イムノクロマト-PSP「ニッスイ」(日水製薬製)(以下:イムノクロマトキット)とSkit ELISA for PSP(一般財団法人新日本検定協会)(以下:ELISAキット)について検証した。イムノ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。ELISAキットはPST抽出液について、キットにより求めたPSP濃度(nM)とマウス毒性試験により求めた毒量(MU/g)との相関性から、キットの有効性を検証した。

<結果>

○LAMP法の導入

令和3年11月の鳴門市北灘町での調査時に検出された*Alexandrium*属プランクトンに対してLAMP法による同定を行ったところ、*A. tamiyavanicii*が検出された。これにより、*A. pacificam*及び*A. catenalla*を含む徳島県で出現する*Alexandrium*属プランクトン主要3種全てに対して、LAMP法の有効性が確認された。

○貝毒簡易検査キットの有効性の検証

イムノクロマトキットでは、判定部(T)に形成されるラインの発色が希釈段階に沿った結果にならず、うまく検証できなかった(表1)。

ELISAキットでは、キットにより求めたPSP濃度(nM)とマウス毒性試験により求めた毒量(MU/g)に比較的高い正の相関性がみられた(図1)。また、5nM以下であれば偽陰性(公定法:4MU/g)

g以上)はみられなかったため、5nMをスクリーニング基準とした本キットによるスクリーニングが有効である可能性が示唆された。

<今後の課題>

イムノクロマトキットの精度向上

<次年度の計画>

各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

<結果の発表・活用状況等>

特になし

表1. イムノクロマトキットによる検証例(松茂)

希釈倍率	毒量(MU/g)				
	4	3	2	1	0
x60	-	±	-	-	±
x80	-	±	-	-	+
x100	±	-	±	±	+
x120	±	±	±	±	+
x140	±	±	-	-	+
x200	-	-	±	±	+

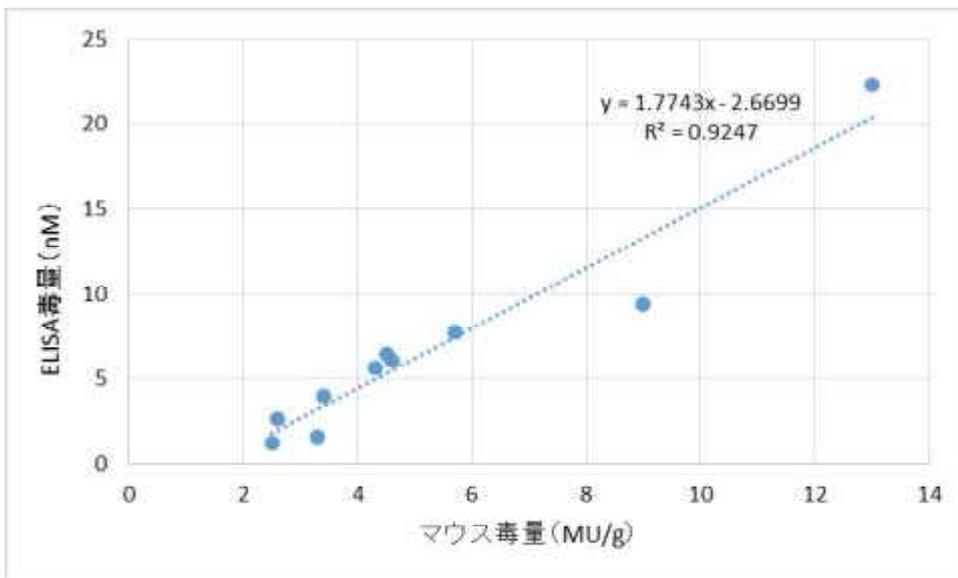


図1. マウス毒性試験による毒量とELISAキットによる毒量との相関性