

パリトキシン及びパリトキシン様毒の 検出技術に関する研究

1)現都農食肉衛生検査所 2)現日南保健所

Chemical structure of a complex polyketide molecule, likely a natural product, showing multiple sugar units, hydroxyl groups, and a long chain. The molecule is labeled with a molecular weight of 2,680.

Ostreopsis 属 渦鞭毛藻

Four photographs of fish species are displayed in a 2x2 grid. The top-left image shows a dark, elongated fish with a greenish tint near its mouth, labeled 'アオブダイ'. The top-right image shows a light-colored, puffer-like fish with a mottled pattern, labeled 'ハコフグ'. The bottom-left image shows a reddish-brown fish with a prominent red tail, labeled 'ブダイ'. The bottom-right image shows a brown, puffer-like fish with a mottled pattern, labeled 'ウミスズメ'.

出典:厚生労働省 自然毒のプロファイル:魚類:パリトキシン様毒
https://www.mhlw.go.jp/topics/syokuchu/poison/animal_det_03.html
 (2025年10月29日アクセス可能)

有毒渦鞭毛藻

付着

イワスナギンチャク

藍藻の共生

PTXの生成 & 蓄積

捕食

毒化

摂食

食中毒

アオブダイ他

地球温暖化に伴う海洋微生物の分布の

地球温暖化に伴う海洋微生物の分布の変化による毒化が懸念

出典: <https://gourmet-note.jp/posts/3308>
(2025年10月29日アクセス可能)

| | | PTX | PTX様毒 |
|---------|----------|---------------------|-----------------------|
| | 食中毒症状 | 不快な金属味を感じる、吐き気、筋肉痛等 | 横紋筋融解症 (筋肉痛、呼吸困難等) |
| | 発症時間 | 数分～数時間 | 6～24時間 |
| | 化学構造 | ○ | × |
| 分析 | LC-MS/MS | ○ | × |
| 試験 法 | マウス試験 | △ | △ |
| | その他 | 細胞培養法 | |

Map of Japan showing the number of international airports in each prefecture. The map includes labels for prefectures and their capital cities. Red callout boxes with numbers indicate the count of international airports:

- 1: Aomori, Iwate, Miyagi, Fukushima, Chiba, Tokyo, Kanagawa, Saitama, Choshi, Niigata, Toyama, Ishikawa, Fukui, Yamanashi, Nagano, Gifu, Shizuoka, Aichi, Mie, Shiga, Kyoto, Osaka, Hyogo, Nara, Wakayama, Tottori, Shimane, Izumi, Hiroshima, Yamaguchi, Tokushima, Kagawa, Ehime, Kochi, Fukuoka, Saga, Nagasaki, Kumamoto, Oita, Miyazaki, Kagoshima, and Okinawa.
- 5: Osaka area.
- 8: Tokyo area.

© 2023 TomTom. © 2023 Zenin. © 2023 Microsoft Corporation. Terms

調査研究の目的

1 LC-MS/MS分析の精度向上

- ・検体からの抽出方法・条件の検討
- ・LC-MS/MS分析条件及び回収率の向上

2 細胞培養法を用いた検出法の開発

- ・先行事例を参考に分析条件等の検討

PTX及びPTX様毒の検出技術の確立

7

調査研究の目的

1 LC-MS/MS分析の精度向上

- ・検体からの抽出方法・条件の検討
- ・LC-MS/MS分析条件及び回収率の向上

2 細胞培養法を用いた検出法の開発

- ・先行事例を参考に分析条件等の検討

PTX及びPTX様毒の検出技術の確立

8

対象

- ・ 魚種
アオブダイ
- ・ 採取場所
日南の漁港
- ・ 部位
筋肉、肝臓



成魚：額にコブ
幼魚はコブがなく
他種と判別が難しい

9

PTX抽出：従来法

試料＋メタノール

↓
ホモジナイズ

↓
遠心分離

↓
精製：ヘキサン×2

↓
精製：クロロホルム×2

↓
濃縮・定容

↓
LC-MS/MS

- ・ 課題
 - ▶ 時間 : 2日
 - ▶ 回収率 : 60%程度
- ・ 検討
 - 操作性・回収率向上
 - ▶ 使用器具(遠沈管)
 - 回収率向上
 - ▶ 精製工程

10

使用する遠沈管の検討

抽出・精製工程における
遠沈管の使用：3時間

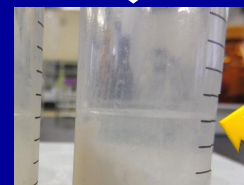
3時間の吸着試験

対象：ガラス製×1
PP製×4
PMP製×1

| | 材質 | 回収率 (n=3) |
|-----|-----|--------------|
| 従来法 | ガラス | 42% |
| A社 | PP | 55% |
| B社 | PP | 56% |
| C社 | PP | 59% |
| D社 | PP | 74% |
| E社 | PMP | 86% |

11

精製工程の検討



- ・ 従来法
 - 遠心分離 約1,200G 5分
 - 分離度 低い (泡沫発生)
- ・ 改良法
 - 冷却 -80°C 10分
 - 遠心分離 3,000G 2分
 - 分離度 向上

2層の境界線

12

従来法と改良法の比較

| | 従来法 | 改良法 |
|---------|-----------------|-----------------------|
| 使用器具 | ガラス器具 | PMP製遠沈管 (クロロホルム対応) |
| ホモジナイズ | ポリトン ホモジナイザー | 超音波 |
| 遠心分離 | 約1,200G | 3,000G |
| 精製:ヘキサン | — | -80℃冷却 |
| 抽出・精製工程 | 2日 | 1日 |
| 回収率 | 筋肉・肝臓:60% | 筋肉:86%、肝臓:107% |

13

調査研究の目的

1 LC-MS/MS分析の精度向上

- ・検体からの抽出方法・条件の検討
- ・LC-MS/MS分析条件及び回収率の向上

2 細胞培養法を用いた検出法の開発

- ・先行事例を参考に分析条件等の検討

PTX及びPTX様毒の検出技術の確立

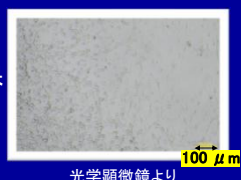
14

先行研究

長崎県環境保健研究センター

RD-A細胞株(ヒト胎児横紋筋肉腫)を使用
アオブダイ肝臓から、EU基準(貝可食部の
PTX推定許容値30 ng/g相当)を検出できる
手法を確立

- ・ RD-A細胞株を培養、細胞の確保
- ・ 検査手順の検討



光学顕微鏡より

15

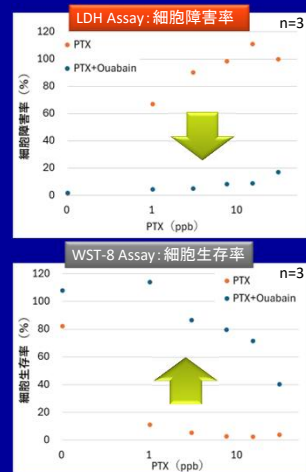
PTXの検出(標準品)

<使用キット>

- ・LDH Assay: 死細胞の指標
- ・WST-8 Assay: 生細胞の指標

<条件>

- ・使用培地: 細胞増殖用培地
No.104
- ・培養期間: 24 h(1日)
- ・細胞数: 25,000 cells/well
- ・ウアバイン: 10 mM(5 μL/well)
- ・試料添加量: 60 μL/well



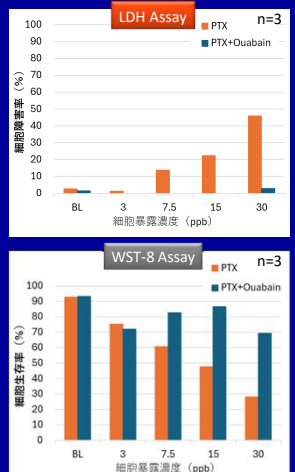
16

PTXの検出(添加試験)

<抽出フロー>

筋肉1.0 g
| ←PBS(-)4 mL
加温(100℃ 20分)
| 遠心分離(2200 rpm 10分)
上層
| フィルター(滅菌)
暴露試料(0.25 g/mL)

30 ng/g(筋肉)の
検出が可能

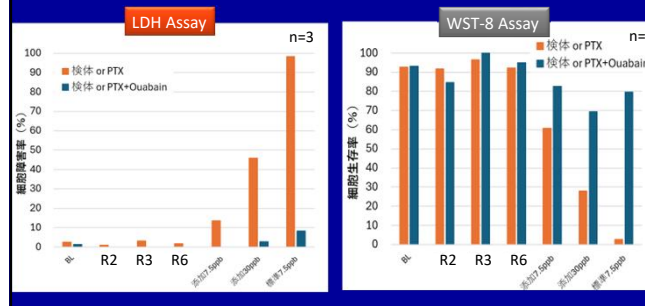


17

食中毒検体を使用したPTX様毒の検出

本県で令和2,3,6年度に発生した原因物質がPTX様毒
と疑われる食中毒3検体を検査した。

▶ 不検出



18

まとめ

<LC-MS/MS分析法>

使用器具や精製工程の改良等を行うことで、
抽出時間を短縮し、回収率の向上を実現

<細胞培養法を用いた検出法>

PTX: 30 ng/g(筋肉)の検出が可能であったが、
より高感度での検出を実現するには抽出
方法の検討が必要

PTX様毒: 食中毒疑いの3検体を検査した結果、
不検出であったが、先行研究と同じ
結果であり、再確認できた