

課題番号7

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

衛生化学部

○鈴木郷

松川浩子¹⁾

溝添暁子

黒木麻衣

中村麻羽

落合克紀

¹⁾ 現延岡保健所

1

食中毒の分類



2

自然毒とは

動植物が体内に持つ毒成分



動物性

フグ毒
貝毒
シガテラ毒
パリトキシン及び
パリトキシン様毒 等

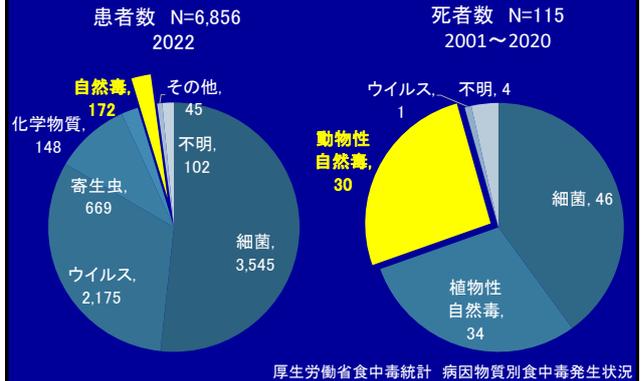


植物性

毒キノコ
有毒植物 等

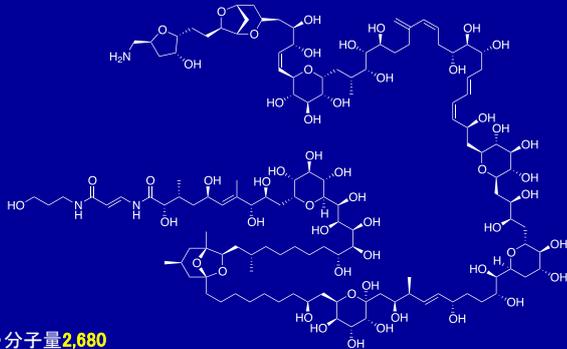
3

食中毒の発生状況



4

パリトキシン (PTX)



・分子量 **2,680**

・**猛毒** (フグ毒の20倍、青酸カリの8,000倍)

・1971年にイワシナギンチャクから単離

・**横紋筋融解症**

(筋肉痛、呼吸困難等)

5

原因魚種



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
(2023年5月25日アクセス可能)

6



7



8



9

PTX・PTX様毒

	PTX	PTX様毒
食中毒症状	<ul style="list-style-type: none"> 横紋筋融解症(筋肉痛) CPKの上昇 呼吸困難 など 	
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

10

調査研究の目的

- 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
- 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

11

調査研究の目的

- 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
- 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

12

対象

魚種
アオブダイ

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

13

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

問題点

- PTX: プラスチック吸着
- クロロホルム使用
 - ▶ ガラス器具の使用
 - ▶ 実験条件の制限 (遠心条件等)
- 操作が煩雑
 - ▶ 時間 : 2日
 - ▶ 回収率 : 60~70%程度

14

PP製遠沈管使用の確認試験

試料+メタノール
↓
ホモジナイズ
↓
遠心分離
↓
精製: ヘキサン
↓
精製: クロロホルム
↓
濃縮・定容
↓
LC-MS/MS

PTX吸着

使用: 3時間

↓

吸着試験: 6時間

↓

吸着なし

クロロホルム耐性

使用: 20分

↓

耐久試験: 30分

↓

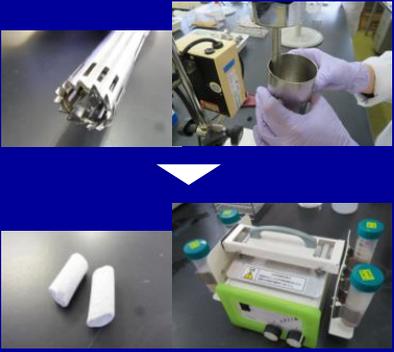
溶出・変形なし

▶ PP製遠沈管を使用

15

改良: ホモジナイズ

試料+メタノール
↓
ホモジナイズ
↓
遠心分離
↓
精製: ヘキサン
↓
精製: クロロホルム
↓
濃縮・定容
↓
LC-MS/MS



▶ 多検体同時処理が可能に

16

改良: ヘキサン精製

試料+メタノール
↓
ホモジナイズ
↓
遠心分離
↓
精製: ヘキサン
↓
精製: クロロホルム
↓
濃縮・定容
↓
LC-MS/MS

冷却

↓

遠心分離

-80°C 10分

↓

5000G 2分

冷却、遠心力増強 ▶ 分離度の向上

17

改良: 濃縮

試料+メタノール
↓
ホモジナイズ
↓
遠心分離
↓
精製: ヘキサン
↓
精製: クロロホルム
↓
濃縮・定容
↓
LC-MS/MS

KCl水溶液: 水が濃縮の妨げに
無添加を検討

筋肉: 分離○

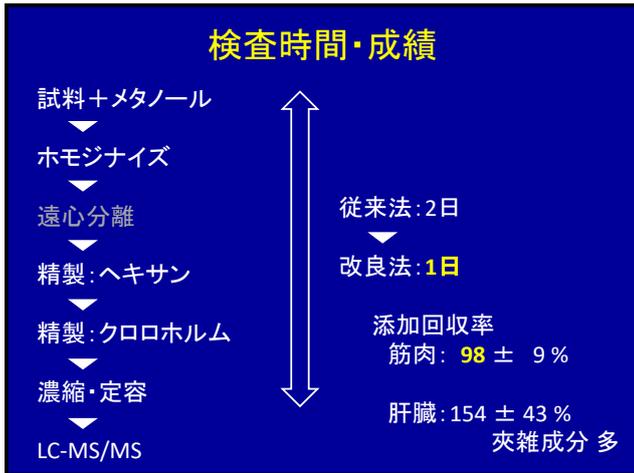


肝臓: 分離×



▶ 必要に応じて水を添加

18

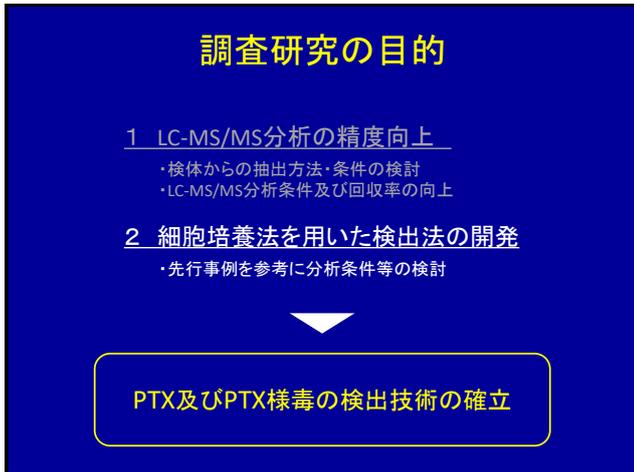


19

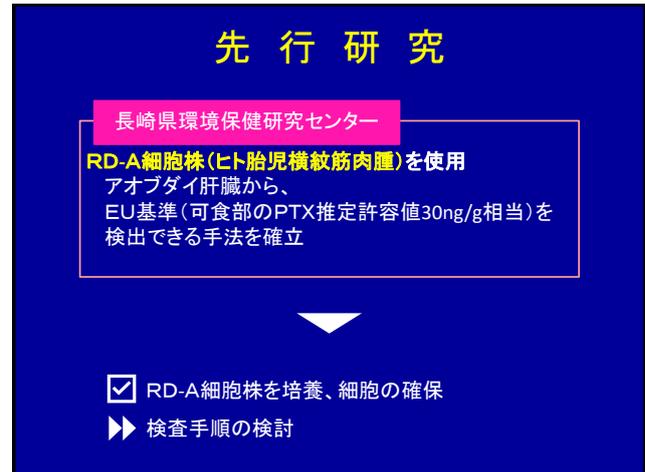
今後の方針

	採取数	検査部位	
アオブダイ	3	筋肉・肝臓	▶ 不検出
ハコフゲ	1	他の部位	▶ 今後調査
チャイロマルハタ	1		

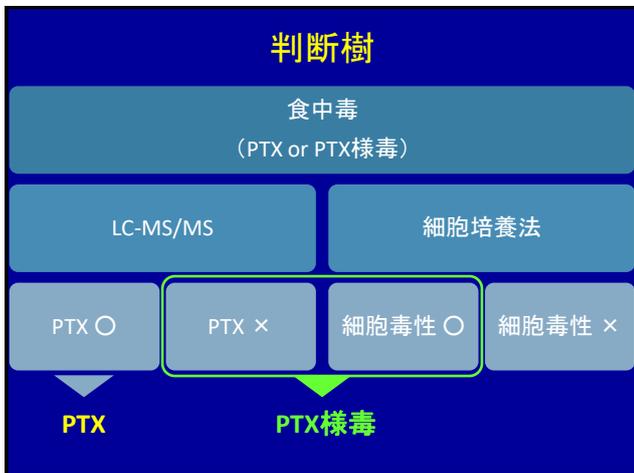
20



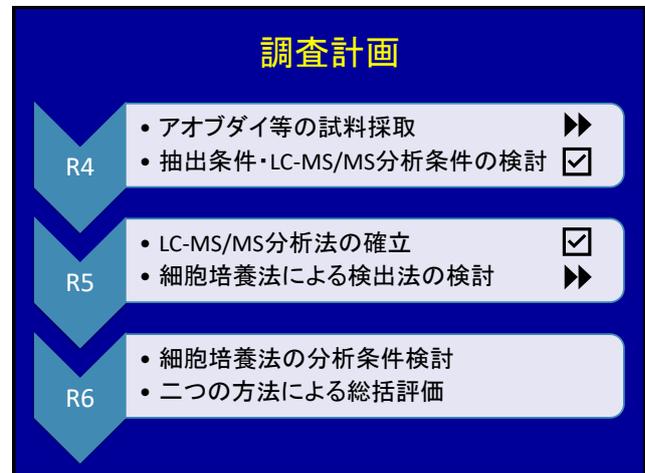
21



22



23



24