

研究成果

サブテーマ名: 海洋環境モニタリング 小テーマ名: 赤潮消長予測
サブテームリーダー(所属、役職、氏名) 長崎大学環東シナ海海洋環境資源研究センター、教授、松岡數充 研究従事者(所属、役職、氏名) 三菱重工業(株)長崎研究所 化学研究室 室長 沢田明宏 財団法人長崎県産業振興財団 雇用研究員 Edward A. Barlaan 三菱重工業(株)長崎研究所 化学研究室 主任 竹内和久 三菱重工業(株)長崎研究所 化学研究室 主任 古川誠治 三菱重工業(株)長崎研究所 化学研究室 杉森美帆 田崎真珠(株) 合田昌一
研究の概要、新規性及び目標 研究の概要 本研究では、環境の状態を把握するため、存在するバクテリアに関する情報を迅速且つ大量に収集するツールとして、DNAチップの開発を行う。本テーマにおける位置づけとしては、他のサブグループが担当している項目と関連して、赤潮の挙動を把握するためのツールとする。最終的には赤潮消長予測が可能なDNAチップとして、水産試験場等で養殖場管理指針に用いられるものとする。 研究の独自性・新規性 赤潮の研究は従来から多くされていたが、現在でもその消長予測は困難とされている。本研究ではバクテリア群集が環境に伴って変化することに着目し、バクテリアを環境指標として赤潮消長予測を目指す。さらに、DNAチップを用いて検出することで、データを迅速且つ大量に収集可能であるため、それらのデータを比較することで環境のモニタリングをより精度良く実施することが可能となる。 研究の目標(フェーズ毎に数値目標等をあげ、具体的に) フェーズ : 魚病細菌8種同時検出用DNAチップの構築, 赤潮指標バクテリア10種同定 フェーズ : 赤潮指標バクテリア検出用DNAチップの構築 フェーズ : 赤潮消長予測
研究の進め方及び進捗状況(目標と対比して) 赤潮消長予測用DNAチップを開発するためには、赤潮の消長と共に変化するバクテリアを見出すことが必要である。本研究では赤潮特異的なバクテリアを選定するために環境中のバクテリア群集を効率よく解析する手法をしてDHPLC(Denaturing High-Performance Liquid Chromatography)の環境サンプルへの応用を検討し、その手法を確立した。その手法を用い目標とする赤潮指標バクテリア選抜のため、実際の海水サンプルを収集し、上記の手法により有害藻類ブルーム前後でのバクテリア群集構造解析を実施した。解析から特徴的なバンドを切り出しシーケンスを実施し、その情報に基づき、 <i>Chatonella spp.</i> , <i>Heterocapsa circularisquama</i> , <i>Heterosigma akashiwo</i> , <i>Fibrocapsa japonica</i> , <i>Prorocentrum sp.</i> , <i>Chaetoceros sp.</i> および <i>Gymnodinium mikimotoi</i> に関連したバクテリアを検出するためのプローブを開発し、DNAチップを作成した。並行してDNAチップによる検出方法の最適化を実施した。作成したDNAチップを用い、環境サンプルからバクテリアを検出できることの確認を行った。
主な成果 具体的な成果内容: バクテリア群集を迅速且つ簡便に解析可能な手法を確立した(特許出願)。赤潮環境のサンプルから赤潮に関連するバクテリアを70種以上選抜し、そのバクテリアを検出するためのプローブを50種以上、設計しDNAチップを作成した。DNAチップによる検出方法に関し、当初蛍光ラベルしたリポーターにての検出では、200と350bpの増幅産物のみ分析可能であったが、蛍光ラベルしたプライマーを用いる方法を新たに開発し533bpの増幅産物も検出できる方法を開発した(特許出願準備中)。本DNAチップを用いた方

法により、有害藻類ブルームが発生する前後で増減するバクテリアを検出することが可能となった。実海域およびマイクロコスムでのサンプルを分析した結果、有害藻類ブルーム時に増加するバクテリア、減少するバクテリアあるいは藻類種に特異的なバクテリア等の動態が明らかとなった。

特許 2件出願中, 1件出願申請中

特許件数: 3

論文数: 4

口頭発表件数: 6

研究成果に関する評価

1 国内外における水準との対比

これまで、DHPLCによるバクテリア群集解析法は国内外文献にも例が無く、且つ従来の手法と比較して再現性、簡便性、迅速性に優れたもので、高い水準にある。赤潮関連微生物用DNAチップに関しては、実用化に向けた成果が出ているものはなく、それらと比較して本研究成果は高い水準にあると言える。

2 実用化に向けた波及効果

DHPLCによるバクテリア群集解析法に関して特許を出願した。赤潮関連微生物のプローブを作成し、DNAチップでの検出が可能であることを確認できていることから、簡便にデータを取得できるようになった。赤潮消長予測用DNAチップを現場で活用可能なツールとするため、長崎県総合水産試験場等の県内機関と連携が必要である。これら機関の他のパラメータと総合的に判断することにより、赤潮消長予測の精度を高めることができる。

残された課題と対応方針について

有害藻類ブルーム、赤潮消長予測のためには、プローブの拡充と実海域データとの相関関係の把握が必要であり、県内の機関との連携でデータの蓄積をはかる。また、海水淡水化装置や発電プラント等の運転管理のための分析ツールとして、今回の微生物群集解析手法の適用を検討する。

	JST負担分(千円)							地域負担分(千円)							合計
	H13	H14	H15	H16	H17	H18	小計	H13	H14	H15	H16	H17	H18	小計	
人件費	0	4,871	6,372	6,773	7,023	4,618	29,657	0	9,000	16,000	16,000	8,000	4,800	53,800	83,457
設備費	41,100	1,081	54	211	0	0	42,446	0	0	0	0	0	0	0	42,446
その他研究費 (消耗品費、 材料費等)	0	4,024	5,233	6,930	7,486	5,353	29,026	0	0	3,100	1,100	2,100	2,100	8,400	37,426
旅費	0	681	6	361	497	249	1,794	0	0	0	0	0	0	0	1,794
その他	0	0	0	274	112	23	409	0	0	0	0	0	0	0	409
小計	41,100	10,657	11,665	14,549	15,118	10,243	103,332	0	9,000	19,100	17,100	10,100	6,900	62,200	165,532

代表的な設備名と仕様[既存(事業開始前)の設備含む]

JST負担による設備: 核酸フラグメント解析システム、DNAチップシステム、DNA分析用分光光度計

地域負担による設備:

複数の研究課題に共通した経費については按分する。