

研究成果

<p>サブテーマ名: 餌料用プランクトン培養・保存技術開発と品種改良 小テーマ名: ワムシの遺伝子解析</p>
<p>サブテームリーダー: 長崎大学大学院生産科学研究科、教授、萩原 篤志 研究従事者: 長崎県産業振興財団、研究員、菅 向志郎 長崎県産業振興財団、研究員、Yaowalux Ruttanapornvareesakul 長崎大学水産学部、助教授、阪倉 良孝 長崎大学大学院生産科学研究科、教授、萩原 篤志</p>
<p>研究の概要、新規性及び目標</p> <p>研究の概要 餌料用プランクトンとして用いられているワムシ類に対して、遺伝子レベルでの生活史の解析を行い、機能性遺伝子を特定する。</p> <p>研究の独自性・新規性 本研究はワムシのほぼ全ての遺伝子情報をデータベース化する為にEST (Expression Sequence Tag) を作製することを目的としている。ワムシのEST作製を行っている研究機関はなく独自性・新規性を有している。</p> <p>研究の目標(フェーズ毎に数値目標等をあげ、具体的に)</p> <p>フェーズ 1 : 1) 他生物の遺伝子の混入を防ぐ為にワムシの純粋培養法を確立する 2) 純粋培養したワムシよりmRNAを単離し、cDNAライブラリーを構築する</p> <p>フェーズ 2 : 1) cDNAライブラリーより遺伝子配列の一部を解析し、ESTを作製する(1000遺伝子程度を目標にする) 2) ワムシ生活史上で出現するタイプ別の個体(単性生殖雌、両性生殖雌、雄)を決定する遺伝子の同定を行う</p> <p>フェーズ 3 : 1) ワムシESTデータベースを構築し、他研究者へデータベースを開放する 2) ワムシの機能性遺伝子の特許化</p>
<p>研究の進め方及び進捗状況(目標と対比して)</p> <p>フェーズ 1 : 次亜塩素酸ナトリウムと抗生物質を用いたワムシの無菌培養法を確立し、この培養液より得たワムシを用いて以下のcDNAライブラリーを構築した。1、生活史に出現する全ての個体; 2、単性生殖雌ワムシ(遺伝子均一化処理済み); 3、雄ワムシ(遺伝子均一化処理済み)。目標を達成。</p> <p>フェーズ 2 : 各cDNAライブラリーより総数11,114クローンのcDNAを解析し、少なくとも4,000遺伝子を得ている。また、DD-PCRとsubtraction法により生活史制御遺伝子を特定する基盤を作成した。目標を大幅に上回る成果を上げた。</p> <p>フェーズ 3 : 512個の遺伝子はGenBankに登録済みである。EST解析において、研究開始時に特許となりうる可能性がある遺伝子としてあげたセルラーゼ遺伝子のクローニングに成功しており、現在、酵素活性等の基礎研究を行っている。既存の酵素と比較し、優れた特徴を有していた場合、特許出願予定である。よって、ほぼ目標を達成出来ている。</p> <p>その他の遺伝子解析として、ワムシのミトコンドリアDNAの全塩基配列を世界で初めて決定し、この情報を基盤としてmtDNAを用いたRFLPによるワムシ株の簡易迅速検査法を確立した。また、ワムシの遺伝子導入に関しても、ガラス針の開発、アクチン遺伝子上流塩基配列を得た。さらにこれまで詳細が分からなかった耐久卵の発生過程とふ化に必至な外的因子を明らかにした。</p>
<p>主な成果</p> <p>具体的な成果内容: ワムシの無菌培養法の確立、構築したcDNAライブラリーより11,114クローンの塩基配列を解析、ワムシ生活史制御遺伝子の解析基盤の構築、GenBankへの遺伝子登録とプライベートデータベースの構築、ワムシの全ミトコンドリアDNA配列の決定、ミトコンドリアDNAを用いた株判定法の確立、遺伝子導入針の開発、アクチン遺伝子のプロモーター配列のクローニング、耐久卵の発生過程の解明</p> <p>特許件数: 2 論文数: 1 口頭発表件数: 4</p>

研究成果に関する評価

1 国内外における水準との対比

世界で初めてとなるワムシのEST解析、ミトコンドリアDNAの塩基配列決定を行った。ワムシの遺伝子解析関連の研究において、本研究のレベルは高く、また、独自性・新規性を有している。

2 実用化に向けた波及効果

ワムシ遺伝子のデータベースを用いることで、餌料生物として重要な生物の分子レベルでの解析が可能である。また、既存のデータベースに類似性を持たないワムシ特異的な遺伝子が数多く得られており、これまでに知られていない有用遺伝子の特許化が期待出来る

残された課題と対応方針について

当初予定していた数より多くの遺伝子解析を行った為、解析するソフトウェアの能力を超えており、解析した遺伝子全ての重複や機能推定などの解析が遅れている。米国のBiocomplexity Project で米国科学財団(NSF)の研究費をリーダーの萩原教授が獲得したことから、その構成員であり、充実した遺伝子解析システムを有する米国・ウッズホール海洋研究所のD. M. Welch博士と分担して解析と遺伝子データベースの構築を進める予定である。

	JST負担分(千円)							地域負担分(千円)							合計
	H 13	H 14	H 15	H 16	H 17	H 18	小 計	H 13	H 14	H 15	H 16	H 17	H 18	小 計	
人件費	0	4,229	4,717	5,840	5,954	4,433	25,173	0	0	0	0	0	0	0	25,173
設備費	8,206	8,243	5,828	7,525	7,472	0	37,274	0	0	0	0	0	0	0	37,274
その他研究費 (消耗品費、 材料費等)	176	0	47	49	1,680	6,135	8,087	0	0	0	0	0	0	0	8,087
旅費	0	902	1,378	278	710	558	3,826	0	0	0	0	0	0	0	3,826
その他	0	481	0	11	119	80	691	0	0	0	0	0	0	0	691
小 計	8,382	13,855	11,970	13,703	15,935	11,206	75,051	0	0	0	0	0	0	0	75,051

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:高感度冷却CCDカラーカメラ、マルチアングル実体観察システム、
ジェネティックアナライザー、高速大容量冷却遠心機、リアルタイムPCRシステム、
エレクトロポレーションシステム、サーマルサイクラー

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。