

「アパタイト表面形状のマイクロ／ナノレベルでの加工技術確立、アパタイト表面形状と細胞誘導・増殖の関係把握」のうち、培養足場については、フェーズⅠで開発したアパタイトシートの大量生産技術、透明でフレキシブルという特徴を活かし、新規生体材料、細胞シート、細胞分化観察用足場としての応用を検討することとした。

バイオセンサについては、アパタイトを適用する効果・優位性が顕著でなかったため、 μ -TAS 型センサは研究を終了した。また、QCM 型及び表面プラズモン型は、統合してインプラント（主に人工歯根）における生体擬似 Ap インプラント開発時の歯、骨等で生じる生理現象のシミュレータとしての活用に特化した。インピーダンス型は、アパタイトの優れた生体関連物質の吸着性を利用し、センサ検出部の酵素や抗体、RNA 等の固定化膜として用いることによる高性能化の見通しが立った。よって、この開発に焦点を絞り安価な新型センサの実現を目指して、実用化のための適用分野の調査（例えば、生活習慣病検査、プロテインチップ、味覚センサ、DNA チップ等）を継続することとした。

その他の小テーマについては、フェーズⅠに引き続いて研究を継続した。

(3) 研究成果

サブテーマ①は、ゲノム情報が確立した農業資源と確立が不十分な農業資源を対象とし、その有用経済形質を科学的に解析して、従来になかった新しい選抜育種の指標の確立を目的に進められた研究である。農業資源に特化した意欲的な研究開発は、農業資源の豊かな和歌山県の地域性を背景に展開してきた。特に、ゲノム情報が確立した農業資源としてイネをモデル生物にする一方、ゲノム情報の確立が不十分な農業資源として主要県産品のウメ、海藻、アコヤガイ、ウシに焦点をあて、アグリリソースの時間・空間的に発現する遺伝子・タンパク質の膨大な情報の集積（データベース化）とデータマイニングなどの情報解析技術を駆使した高度活用（バイオマーカー同定など）を具体的目標に設定して、アグリリソースの生物情報学のトランスレーショナル研究開発が実施された。

その成果として、ウメにおける乾燥・塩ストレス耐性、海藻における高温ストレス耐性、二枚貝における貝殻形成、そしてウシにおける枝肉重量や脂肪交雑にそれぞれ関係するバイオマーカータンパク質を同定した。これらは特許化を進めるなど、今後の事業化を目指している。

全体的な評価として、プロテオーム情報の経済形質を制御する遺伝子・タンパク質情報に基づくシミュレーションを行い、優良形質の発現機構を明らかにするとともに、有用アグリリソース個体の特定改良・選抜手法の開発を目標としたサブテーマ①の研究進捗は到達目標にほぼ達している。

次に、サブテーマ②は、サブテーマ①で取り組む網羅的プロテオーム解析の結果を活かして形質識別した優良個体や予め固定された個体をターゲットにして、クローン化による大量生産技術を開発し、産業化に繋げることを目的として進めた。また、農業資源由来の有用タンパク質を高度活用する技術開発にも取り組み、以下のような成果を得た。

小テーマ②-1 では、ウメにおいて乾燥及び塩害を想定した条件下で特異的に発現する遺伝子とプロテオームを同時に解析し、ストレス耐性個体を選抜するためのバイオマーカーを作成すること、並びに遺伝子組換えによる環境ストレス耐性の付与技術の確立を目的とした。その結果、ウメ品種「二青」は乾燥ストレス耐性が強く、台木候補として有望であり、プロテオーム解析と遺伝子解析から耐乾燥、耐塩ストレスに関与するタンパク質 ASR (Abscisic stress ripening like protein) を同定し、耐環境ストレス品種にのみ存在する ASR のアイソフォームを検出する DNA マーカーを開発した。また、遺伝子組換え台木の研究では、S6PDH 遺伝子を導入したカキ台木に非形質転換樹を接ぎ木し、苗木の葉で導入遺伝子の存在を PCR 法で調査した結果、接ぎ木した苗木の葉には導入遺伝子が存在せず、

また、果実でも、導入遺伝子産物であるソルビトールが検出されなかった。そして、果実の糖含量や品質などは、非形質転換樹と比べて有意な差が見られず、食品分析の結果も同様であったので、形質転換体を台木としても導入遺伝子産物が非形質転換穂木へ転移されないことを確認した。

なお、果樹の環境ストレス耐性に直接関与している遺伝子の同定例はなく、実際に利用可能な耐環境ストレス個体選抜に利用可能な DNA マーカーの開発は世界的に初めてである。さらに、核果類の安定した形質転換系開発の報告は世界的に本研究が初めてであり、今後、様々なバラ科果樹への応用が期待できる。

小テーマ②-2では、磯焼け海域での藻場造成による累年海藻生育システムの開発を目的とした。その結果、カジメ・クロメ胞子体の形態的・遺伝的特徴を明らかにし、配偶体カルチャーコレクションを用いて地域間交配・交雑試験を行い、既存の株より高水温でも良好に生育する高温耐性株の作出に成功した。また、磯焼け海域に投入する藻礁の基質は、鋳物製が最も優れていることも明らかにした。さらに、本研究で得られたフリー配偶体培養技術を他の海藻類にも応用し、食用海藻ヒロメの種苗生産を可能にするなど、海藻養殖技術の高度化を図り、和歌山県の新たな特産品として事業化に繋げた。

小テーマ②-3では、アコヤガイの真珠層に存在するタンパク質と真珠層成分を分泌する外套膜で発現する遺伝子の網羅的解析を行うことにより、真珠形成の分子機構を明らかにし、良質真珠生産に適したアコヤガイ品種を確立することを目的とした。また、病害や環境変化に強い外国産アコヤガイの種苗生産法を検討した。その結果、アコヤガイの貝殻に存在するタンパク質 shematrin を同定し、真珠や貝殻の構造に関与するものとして機能していることを示した。また、貝殻や真珠の色素沈着を制御する tyrosinase 様タンパク質を同定し、軟体動物全般のバイオミネラルにおける色素沈着を制御することを示唆した。さらに実用研究として、日本産と中国産の交雑アコヤガイの生産法を確立し、平成 18 年度から全国に出荷を伸ばし、平成 20 年度には、2,900 万個体を出荷することができた。

小テーマ②-4では、当初ウシ体細胞核移植技術とウシ体細胞の遺伝子改変技術を開発し、技術あるいは遺伝子改変ウシ（凍結胚）の世界市場への販売を目的としたが、中間評価での指摘を受けて研究計画を生産現場での利用可能性が高い、クローン技術を利用した新規種雄牛造成システムの開発に転換した。具体的には、妊娠胎子の細胞を使ったクローンを作成し、それらを用いた肉用種雄牛のクローン検定を目指した。その結果、妊娠胎子の細胞を用いたクローン検定システムについては、主要な要素技術の全てが完成し、妊娠羊水中からの胎子由来細胞の単離技術、さらにそれら細胞由来の受胎性の高いクローン胚の作出技術、超低温保存技術を確立した。また、これらクローン技術の開発過程で、DNA 抗メチル化剤トリコスタチン A により胚のエピジェネティックな変化を制御することでウシクローン胚作製効率を改善した。さらに、哺乳動物では困難とされる単一胚の体外培養に適した培養装置の開発にも成功した。

小テーマ②-5では、パルスレーザーデポジション (PLD) 法によるハイドロキシアパタイト (HAp) 薄膜を人工歯根、血管狭窄用ステント、バイオセンサなどに使用する新規な高機能デバイス開発を目的とした。その結果、細胞培養足場、シート、センサ、血管狭窄治療器具、成膜装置に関しては実用化を睨んだ共同研究を産学官連携で行うことも進めており、目標に対してほぼ計画どおりに研究を進めることができた。しかし、真珠タンパクと HAp 膜の複合化に関しては、実験に必要な量の真珠タンパクを十分に得るためには、膨大な数の貝殻を粉砕する必要があり、現実的に困難であると判断して研究を中断した。また、人工歯根のような体内留置型の治療器具に関しては、前臨床、治験が避けられないため、これを含めて市場開拓が可能な医薬品企業との共同研究を立ち上げる必要がある。