

研究成果

サブテーマ名：① 有用アグリリソースのタンパク質発現解析と制御技術の開発 小テーマ名：①-2 プロテオーム情報を利用したアグリリソースの網羅的キャラクタライズ化技術の開発
サブテーマリーダー：(共) 教授 中川 優 ⁶ 研究従事者：(雇) 准教授 森本康一 ^{1,2} (小テーマリーダー) <①-3 兼務> (雇) 教授 松本和也 ^{1,2} (サブテーマ副リーダー) <①-3 兼務> (雇) 准教授 家戸敬太郎 ^{1,3} (小テーマ副リーダー) <①-3 兼務> (雇) 助教 天野朋子 ² (雇) 永井宏平 ¹ <②-2 兼務> (雇) 秋山真一 ¹ (雇) 中谷 肇 ¹ (共) 助教 石丸克也 ³ (共) 准教授 田丸 浩 ⁸ (共) 助教 四ツ倉典滋 ⁹ (共) 講師 田口善智 ² (共) 准教授 加野浩一郎 ¹⁰ (共) 主任専門研究員 小林直彦 ^{2,2} (共) 主任研究員 松橋珠子 ^{2,2} (共) 佐藤真治 ^{2,4} (技) 池上春香 ¹ (技) 加藤弘美 ¹ (技) 上中崇裕 ¹ (技) 園 陽平 ¹
研究の概要、新規性及び目標
①研究の概要 本研究は、ゲノムデータ情報の確立が不十分な(全ゲノム解析がまだ行われていない)アグリリソースを対象として、その有用経済形質を科学的に解析し、従来になく選抜育種の礎とするものである。これらのアグリリソースにおいて、形質の発現に伴う遺伝子・タンパク質発現の変化を網羅的かつ統合的に解析する技術を開発する。また、モデル生物が利用可能な生物種においても同様の解析を行い、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)と高度活用技術(プロテオーム解析など)を確立する。小テーマ①-3で開発されるプロテオーム情報のデータマイニングなどの情報解析技術を駆使して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、有用経済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・選抜手法を開発する。
②研究の独自性・新規性 本研究で指向しているアグリリソースのプロテオーム解析技術の開発及びタンパク質発現情報のデータベース化に関する研究は、極めて先駆的で今後の農学分野の分子生物学研究に大きな波及効果が期待できる。現在、このような研究は医療分野に限って集中的に行われているに過ぎず、アグリリソースを対象とした網羅的・統合的研究は皆無に等しい。
③研究の目標 <フェーズⅠ> 1)アグリリソースの経済形質を制御する遺伝子・タンパク質の網羅的発現プロファイル構築化技術の開発 果樹、海藻、アコヤガイ(小テーマ②-1、2、3と共同研究)：その組織1g程度の試料から全タンパク質を抽出し、二次元電気泳動解析ができる方法の確立 ウシ：脂肪組織の全タンパク質抽出技術の確立とレファレンスゲルの作成 2)トランスクリプトーム及びプロテオーム解析により収集された情報の整理 ウシ：脂肪組織の生物情報データベースとプロテオーム情報データベースの運用・検証 <フェーズⅡ> 1)網羅的プロファイル情報に基づくデータマイニングによる経済形質を規定する遺伝子・タンパク質の探索技術の確立 果樹：「南高」と「二青」に同一の乾燥及び塩ストレスをかけてタンパク質を探索 海藻：高温ストレスで発現誘導されるタンパク質の探索・同定 アコヤガイ：外套膜のプロテオーム解析と貝殻形成に関与する新規のタンパク質の同定 ウシ：飛驒牛個体で共通するレファレンス・ゲルマップを作成し、比較解析 2)経済形質制御タンパク質による優良形質発現メカニズムの解明と網羅的プロファイル情報に基づくシミュレーションの理論的実証 ウシ：飛驒牛の個体生物情報データベースと二次元電気泳動ゲルマップのデータベースを両方向でデータマイニング解析する手法とその結果の検証 <フェーズⅢ> 1)網羅的プロファイル情報に基づく有用経済形質を持つアグリリソースの改良・選抜・固定方法の策定と実施 ・環境ストレス耐性など多機能性果樹台木の増殖と生産 ・マダイの脊椎骨異常を排除した養殖用種苗の量産 ・海域環境に適した優良大型コンブ目品種の選別と藻場造成実証 ・高品質真珠産生アコヤガイ品種の開発

・嗜好性の高い脂肪交雑を持つウシの選抜と量産

研究の進め方及び進捗状況

コア研究室を中心として、様々な生物種のタンパク質抽出や二次元電気泳動に関する技術開発を行い、小テーマ①-3と連携して参加研究機関の研究情報の共有環境の整備を進め、有機的な研究連携基盤を構築した。また、最新のMALDI-TOF/TOFを整備した結果、ゲノムが未解読な農業資源のバイオマーカー探索で威力を発揮した。

ウメ：葉から乾燥ストレス時に特異的に発現するタンパク質を同定した。

マダイ：マダイ胚cDNAデータベースとcDNAマイクロアレイの作成を完了し、滑走細菌症ワクチンの開発を進めた。モデル生物であるゼブラフィッシュを用いてターゲティングプロテオームとして糖鎖修飾及び脂肪酸修飾などについて検討した。

アコヤガイ：カキの外套膜で発現する遺伝子の網羅的解析を行い、アコヤガイの外套膜を用いて得られた情報との比較により、効率的に遺伝子同定を行った。

コンブ：粘質多糖に富むコンブ類のタンパク質抽出法の確立、ゲノム情報が乏しいコンブ類のタンパク質同定法を確立した。

ウシ：飛騨牛約250個体分の脂肪組織をプロテオーム解析し、レファレンスゲル・マップを作成し、肉質に関連するタンパク質スポットを探索した。

主な成果 具体的な成果内容：

ウメ：タンパク質ASRのELISA法を用いて乾燥ストレス耐性台木の選抜が可能となった。

マダイ：胚cDNAデータベース及びマイクロアレイを作成した。

アコヤガイ：アコヤガイ貝殻中で同定した新規グリシンリッチタンパク質tyrosinase様因子、石灰化阻害因子N19は優良な真珠母貝選抜のバイオマーカーとしての可能性が考えられた。

ウシ：脂肪細胞分化は、インテグリン α 5から α 6への変化によることが明らかとなった。肉質に関連するタンパク質バイオマーカー候補を見出した。枝肉重量や脂肪交雑など肉質に関するバイオマーカー探索システムを構築し、その候補タンパク質のリスト化が完了した。

特許件数：国内3件 論文数：39件 口頭発表件数：225件

研究成果に関する評価

①国内外における水準との対比

本研究で得られたアグリリソースの生物情報データベースとプロテオーム情報データベースを多次的に蓄積し、解析する手法を開発したことは他に例がない。今後の日本の農業研究において、アグリバイオインフォマティクスの研究拠点として十分に機能する基礎ができた。

②実用化に向けた波及効果

現在、各アグリリソースで見出したバイオマーカーの検証段階である。本研究で確立したプロテオーム解析技術は広く他の生物種にも応用可能で、今後の有用経済形質生産物の分子生物学的情報を蓄積することができる。

残された課題と対応方針について

プロテオーム解析で未同定のタンパク質スポットの同定が必要である。選抜育種バイオマーカー測定法の開発、優良形質関連タンパク質の特許を申請する。農業資源に特化したバイオマーカーの確立とそれを利用した選抜手法の確立による地域経済の活性化に向け、次期競争的資金を獲得して新産業の創生に努める。

	JST負担分(千円)							地域負担分(千円)							合計
	15年度	16年度	17年度	18年度	19年度	20年度	小計	15年度	16年度	17年度	18年度	19年度	20年度	小計	
人件費	0	12,763	15,619	18,170	18,153	11,852	76,530	5,495	22,384	19,200	14,000	13,000	7,010	81,089	157,619
設備費	9,229	25,489	33,456	34,935	30,291	20,245	153,645	0	0	0	0	0	0	0	153,645
その他研究費	10,854	34,932	27,346	29,963	24,054	5,637	132,786	3,150	4,800	7,050	3,500	2,800	3,300	24,600	157,386
旅費	133	1,871	1,916	1,409	1,882	877	8,089	0	0	0	0	0	0	0	8,089
その他	0	706	967	1,071	1,391	1,288	5,423	0	0	0	0	0	0	0	5,423
小計	20,217	75,761	79,304	85,548	75,771	39,872	376,473	8,645	27,184	26,250	17,500	15,800	10,310	105,689	482,162

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：アグリプロテオーム質量分析システム、アグリリソース分離精製システム

地域負担による設備：

※研究員氏名中の(雇)は雇用研究員、(共)は共同研究員、(技)は雇用技術員を示す。また、数字は、所属を示す。別表を参照。

※表中、その他研究費は、消耗品費、材料費等。