

平成29年 ほくぎん若手研究者助成金 研究実績報告書

氏名	所属・職名	助成金額
酒徳 昭宏	富山大学 大学院理工学研究部（理学）・講師	800,000 円
研究課題名	アコヤガイの斃死や低品質真珠ドクズ珠の形成原因となる細菌 <i>Tenacibaculum</i> sp. の特性解析	
研究の概要	<p>三重県志摩市英虞湾地域では真珠養殖産業が盛んに行われ、120年以上の伝統と歴史がある。本地域の養殖真珠は、鉱物資源や宝石の乏しい日本において、世界的に非常に評価の高い日本産の宝石として知られている。また、本地域の年間生産額は20億円に上り、経済・産業の根幹を担っている。しかし、近年、真珠養殖現場において、真珠形成母貝アコヤガイの殻黒変病が重症化して問題となっている。殻黒変病が重症な個体は斃死に至り、真珠を収穫できる個体が養殖開始時の半分に満たない年すらある。また、斃死に至らなくても黒変化した個体は、真珠を巻く力が弱く、抱いている真珠にも黒変様の「しみ」が形成され、低品質真珠（ドクズ珠）として格下げとなり、取引価格に雲泥の差が出る。そのため、母貝の黒変化に対する対策が急務とされているが、その原因すらわかっていなかった。そのような中、我々は、アコヤガイに細菌が感染することによって黒変化が引き起こされるのではないかと考え、黒変殻内の細菌について研究を行ってきた。その結果、黒変殻内に特徴的な細菌として <i>Tenacibaculum</i> sp. を検出し、単離培養することに成功した。また、本菌株を健全な貝に感染させることで、黒変化を再現することにも成功した。そこで本研究では、本菌株を Pbs-1 株と名付け、その 16S rDNA の配列決定、API 20NE と API Zym を用いた生化学性状解析、増殖可能温度や塩分濃度範囲、抗生物質感受性等の細菌学的特徴を調べることで詳細な菌種の同定を行った。</p>	
研究の成果	<p>まず、Pbs-1 株の 16S rDNA のほぼ全長を PCR で増幅させ、その塩基配列を決定後、BLAST 検索することで菌種の同定を行った。その結果、<i>Tenacibaculum</i> sp. sw0106-03(3) と 99.8% (1,471/1,474bp) の相同性を示したことから、Pbs-1 株が <i>Tenacibaculum</i> 属細菌であることが強く示唆された。さらに、最近縁種の <i>Tenacibaculum</i> sp. sw0106-03(3) は未だ詳細なキャラクターゼーションの報告がなかったことから、Pbs-1 株の生化学性状、増殖可能温度や塩分濃度、ディスク法を用いた抗生物質感受性試験など細菌学的特徴を調べ、近縁な <i>Tenacibaculum</i> 属細菌 7 種のそれらと比較した。その結果、Pbs-1 株は 5°C ~ 35°C、30~100% の海水濃度で増殖可能で、生化学性状も様々な点で近縁種とは異なった性質を示した。また、8 種類の抗生物質に対する感受性を調べた結果、バンコマイシン、テトラサイクリン、アンピシリン、ペニシリンに感受性がある一方で、カナマイシン、クロラムフェニコール、ストレプトマイシンに耐性を持っており、これらも近縁種とは異なっていた。これらの結果から、Pbs-1 株が <i>Tenacibaculum</i> 属の新種であることが強く示唆された。今後は、一分子リアルタイム DNA シークエンサー PacBio RS II を用いて Pbs-1 株の全ゲノム配列を解析し、迅速・簡便・高感度・特異的な Pbs-1 株検出法や感染対策法を開発したい。そして、1 級品真珠生産量の増加と、日本が誇る養殖真珠産業の安定とさらなる発展に貢献したい（平成 30 年度ほくぎん若手研究者助成 産学連携研究のご支援をいただき、これらに着手する予定）。</p>	

研究成果発表状況	<p>【投稿論文】</p> <p>1. Current progress in studies on parasitic disease of Akoya pearl oyster <i>Pinctata fucata</i> – Focusing on the disease occurrence and new putative pathogen-. Sakatoku A., Fujimura T., Ito M., Takashima S., Isshiki T. <i>Applied Cell Biology Japan</i>. 30, 1–6. 2017.</p> <p>2. Newly isolated bacterium <i>Tenacibaculum</i> sp. strain Pbs-1 from diseased pearl oysters is associated with black-spot shell disease. Sakatoku A., Fujimura T., Ito M., Takashima S., Isshiki T. <i>Aquaculture</i>. 投稿中.</p> <p>【学会発表】</p> <p>1. 真珠形成母貝アコヤガイの殻黒変化を引き起こす細菌 <i>Tenacibaculum</i> sp. Pbs-1 株のキャラクターゼーション. 酒徳昭宏, 藤村卓也, 伊藤美智子, 高島成剛, 一色正. 平成 29 年度日本水産学会中部支部大会.</p>		
	経費の執行状況	区分	執行額(円)
物品		689,243 円	細菌培養関連試薬, 遺伝子解析関連試薬, 生化学性状試験関連試薬
旅費		84,100 円	日本水産学会参加, 市民真珠・海洋科学談話会参加
	役務	26,657 円	英文校正