

平成30年度 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	大学院理工学研究部（理学）・講師	900,000 円
研究課題名	1級品真珠生産量向上のための産学連携事業 -黒変病の全国被害調査と原因細菌のゲノム解析-	
研究の概要	<p><u>装飾品として世界的に非常に高い評価を得ており、輸出品として日本の重要な産業に位置付けられている「アコヤ真珠」の 1 級品真珠生産量の増加と安定供給を最終目的とする。</u>本研究では、日本の真珠生産の約 9 割を担う長崎・愛媛・三重に拠点を置く養殖業界大手 3 社と連携し、<u>低品質真珠「ドクズ珠」の形成や母貝の斃死の原因となる‘黒変病’</u>について、被害状況の本格的な調査を初めて行う。その一方で、本疾病は新種の <i>Tenacibaculum</i> sp. Pbs-1 株が母貝に感染することで引き起こされることを特定した（平成 29 年度ほくぎん若手研究助成採択研究）。そこで、<u>次世代シーケンサーを用いて Pbs-1 株の全ゲノム配列を明らかにし、遺伝子のアノテーションを行う。</u>そして得られた結果をもとに、養殖業者が使用できる簡便で迅速な細菌検出キットの開発に繋げる。</p>	
研究の成果	<p>殻黒変病被害状況：日本の真珠生産の約 9 割を担う長崎・愛媛・三重に拠点を置く養殖業界大手 3 社と連携し、右殻と左殻のそれぞれ約 100 枚ずつの調査を行った。その結果、全ての県で左殻での発生頻度が有意に大きくなった（$p < 0.0001$）。このような結果は、現在最も汎用されている母貝 2 個体の右殻同士を抱き合わせて養殖する方法に起因し、左殻が右殻よりも外界に接している期間が長い間ため発生頻度が有意に大きくなったものと考えられた。また、各県の死貝における黒変個体の割合は、長崎県が約 60%、愛媛県が約 25%、三重県が約 30%だった。2016 年の調査では、それぞれ約 45%、約 30%、約 35%だったことから、2 年前と比べて同程度かやや増加していることが明らかになった。しかし、同一県内においても養殖地域によって殻黒変病の発生頻度に有意な差（$p < 0.0001$）があることから、今後も継続的に調査を行い、養殖環境と殻黒変病発症の関係を明らかにしていくことが必要だと考えられた。また、本症例は日本だけでなく中国やベトナムでも見られているため、世界的な調査も必要である。そのために、本研究期間中に中国海洋大学の Qingheng Wang 准教授と連携関係を結ぶことができた。</p> <p>殻黒変病の原因細菌 <i>Tenacibaculum</i> sp. Pbs-1 株の全ゲノム配列の解析：養殖業者が使用できる簡便で安価な <i>Tenacibaculum</i> sp. Pbs-1 株の感染検出キットの開発やアコヤガイに対する毒性メカニズム解明の第一歩として、次世代シーケンサー HiSeq を用いた Pbs-1 株のゲノム配列の解析を行った。その結果、Pbs-1 株の全ゲノム配列を解析することに成功し、総塩基数は 3,355,984bp、GC 含量は 31.8%だった。さらに、検出された遺伝子のアノテーションとゲノム解析ソフト Artemis を用いて環状ゲノムマップを作製した。また、近縁種の遺伝子とアライメントをすることで、菌種によって配列の変化が大きい internal spacer region に Pbs-1 株特異配列を見出し、1 組のプライマー（specific primer F: CAGCGAATCTAGCTTGCTAG と specific primer R: TATCTCTAGGCATTGCCAG）を作成した。今後、このプライマーを使用した Pbs-1 株特異検出法の開発を行う。</p>	

研究成果発表状況	<p>学術論文（○は本研究に関するものを示した。）</p> <p>1. Jiang K., Zhang J., Sakatoku A., Kambayashi S., Yamanaka T., Kanehara T., Fujikura K., Pellizari VH. Discovery and biogeochemistry of asphalt seeps in the North São Paulo Plateau, Brazilian Margin. <i>Sci Rep.</i> 22, 12619. 2018.</p> <p>○2. Sakatoku A., Fujimura T., Ito M., Takashima S., Isshiki T. Newly isolated bacterium <i>Tenacibaculum</i> sp. strain Pbs-1 from diseased pearl oysters is associated with black-spot shell disease. <i>Aquaculture.</i> 493, 61-67. 2018.</p> <p>○3. Sakatoku A., Fujimura T., Ito M., Takashima S., Isshiki T. Current progress in studies on parasitic disease of Akoya pearl oyster <i>Pinctata fucata</i> - Focusing on the disease occurrence and new putative pathogen-. <i>Applied Cell Biology Japan.</i> 30, 1-6. 2017.</p> <p>学会発表</p> <p>1. 富山湾に生息するムラサキインコガイ (<i>Septifer virgatus</i>) の Heat shock cognate70 と Metallothionein は重金属ストレス応答に関与する. 石川雅仁, 山崎甲那, 田中大祐, 中村省吾, 酒徳昭宏. 環境バイオテクノロジー学会 2018 年度大会.</p> <p>2. 新規海藻分解菌 <i>Zobellia</i> sp. TY-1 株の単離とキャラクターゼーション. 山下陽也, 田中大祐, 中村省吾, 酒徳昭宏. 環境バイオテクノロジー学会 2018 年度大会.</p> <p>○3. 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> <p>○4. 真珠形成母貝アコヤガイの殻黒変化は <i>Tenacibaculum</i> sp. の感染によって引き起こされる. 酒徳昭宏, 藤村卓也, 伊藤美智子, 高島成剛, 一色正. 平成 29 年度日本水産学会春季大会.</p> <p>5. 富山湾表層海水中の海藻分解菌の分布. 青山拓生, 田中大祐, 中村省吾, 酒徳昭宏. 第 19 回マリンバイオテクノロジー学会仙台大会.</p> <p>6. 海藻分解菌 <i>Saccharophagus</i> sp. Myt-1 株の海藻分解機構. 石川雅仁, 田中大祐, 中村省吾, 酒徳昭宏. 第 19 回マリンバイオテクノロジー学会仙台大会.</p> <p>特許（出願・登録）</p> <p>1. 藻類, 栄養剤, 栄養成分補給用組成物及び栄養成分の製造方法. 特願 2017-227125.</p> <p>受賞歴</p> <p>1. 平成 30 年度 クリタ水・環境科学研究優秀賞</p>																			
	経費の執行状況	<table border="1"> <thead> <tr> <th>区分</th> <th>執行額(円)</th> <th>備考</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>○ ゲノムドラフト解析</td> <td>572,400</td> <td></td> </tr> <tr> <td>○ 原核遺伝子予測</td> <td>162,000</td> <td></td> </tr> <tr> <td>○ 微生物ゲノム配列 フィニッシング解析</td> <td>162,000</td> <td></td> </tr> <tr> <td>○ 消耗品</td> <td>3,600</td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td>計 900,000</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	区分	執行額(円)	備考	○ ゲノムドラフト解析	572,400		○ 原核遺伝子予測	162,000		○ 微生物ゲノム配列 フィニッシング解析	162,000		○ 消耗品	3,600			計 900,000	
区分	執行額(円)	備考																		
○ ゲノムドラフト解析	572,400																			
○ 原核遺伝子予測	162,000																			
○ 微生物ゲノム配列 フィニッシング解析	162,000																			
○ 消耗品	3,600																			
	計 900,000																			