

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 6月 20日現在

機関番号：38005

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2012

課題番号：23780209

研究課題名（和文）アコヤガイ幼生の貝殻形成関連遺伝子の探索

研究課題名（英文）Investigation of novel genes responsible for larval shell formation in the pearl oyster *Pinctada fucata*

研究代表者

竹内 猛 (TAKEUCHI TAKESHI)

沖縄科学技術大学院大学 マリンゲノミクスユニット 研究員

研究者番号：60599231

研究成果の概要（和文）：アコヤガイ幼生の貝殻形成の仕組みを解明するために、貝殻形成に関わるタンパク質および遺伝子を同定した。タンパク質の分析や遺伝子発現の情報から、アコヤガイの幼生と成体の貝殻は、全く異なる仕組みで形成されていることが明らかになった。

研究成果の概要（英文）：I have identified several shell matrix proteins which are responsible for the shell formation in the early developmental stage of the Japanese pearl oyster, *Pinctada fucata*. The results of protein identification and gene expression analysis indicate that the larval shell formation process is different from the adult.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：水産学・水産学一般

キーワード：形態・バイオミネラル化

1. 研究開始当初の背景

バイオミネラル化は、脊椎動物の骨や軟体動物の貝殻など動物のもつ大きな特徴の一つであり、そのメカニズムの解明は骨の再生医療や真珠産業において重要な意味を持つ。アコヤガイ (*Pinctada fucata* 二枚貝綱) は日本国内及び東アジアを中心とした地域で真珠養殖に利用されており、水産資源としての重要性から、バイオミネラル化の研究が盛んに行われている生物である。しかしながら、過去の研究のほとんどは成体の貝殻形成に関する研究であり、幼生期

の貝殻形成に関わる基質タンパク質の報告は皆無である。

2. 研究の目的

本研究ではバイオミネラル化研究の一つのモデルとして、アコヤガイ(二枚貝綱)の初期発生において幼生の貝殻形成にかかわる遺伝子を特定することを目的とする。幼生の貝殻基質タンパク質はこれまで報告がなく、本研究で初めて発見できれば、軟体動物門における貝殻形成のマスタープラン解明の重要な手掛かりとなりうる。

3. 研究の方法

(1) アコヤガイのゲノム情報と、トランスクリプトームの遺伝子発現解析情報から、幼生貝殻形成期に特異的に発現する遺伝子を同定

(2) 過去の知見を参考に、成体において貝殻形成に関与するとされるタンパク質が幼生貝殻にも存在するかどうかを調べる

(3) マイクロアレイを設計し、各発生段階におけるより詳細な遺伝子発現解析を行う

(4) 幼生の貝殻からタンパク質を抽出し、貝殻基質タンパク質を同定する

4. 研究成果

(1) 研究対象生物であるアコヤガイの全ゲノム解読を行った。具体的には、次世代シーケンサーを用いたゲノム配列・トランスクリプトーム配列のシーケンシング、アセンブル、遺伝子モデルの作成等に携わった。これによりアコヤガイのゲノムワイドな遺伝子情報を得る事ができたので、本研究課題の最終目的である新規貝殻形成遺伝子の探索にも大いに役立てる事ができた。ゲノム解読の結果は、論文として報告を行った(論文 1 及びホームページ参照)。

(2) トランスクリプトームデータ及びマイクロアレイのデータを用い、貝殻形成を開始する発生段階(D型幼生)に特異的に発現する遺伝子を探索した。

成体の貝殻形成に関与することが知られている 17 の貝殻基質タンパク質の遺伝子発現を、成体の外套膜及びD型幼生と比較したところ、いずれの遺伝子も幼生では発現していないことが明らかになった(図1)。

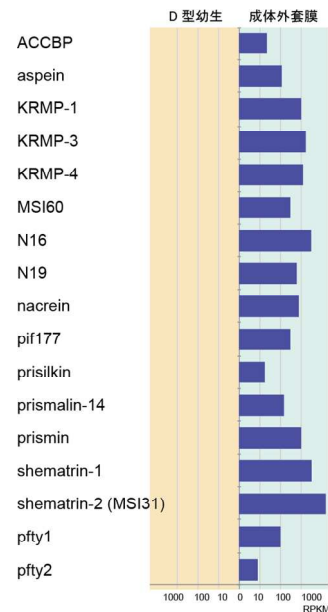


図1 RNA-seqによる成体貝殻形成貝殻遺伝子の発現定量

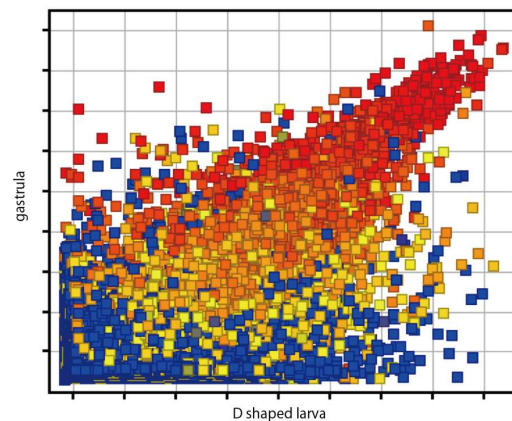


図2 マイクロアレイによる原腸胚期-D型幼生期の遺伝子発現の比較

また、アコヤガイの全遺伝子モデルをもとにマイクロアレイのクローブ設計を行い、これを用いて発生初期の様々なステージの遺伝子発現解析を行った。図2は、縦軸に原腸胚期、横軸にD型幼生期の各プローブのシグナル強度を示したものである。D型幼生では、全体の約6.5%に相当するプローブで10倍以上の発現上昇が確認された。このことは、D型幼生に移行する際の、貝殻形成を含めた形態の劇的な変化に対応していると推測される。

(3)D 型幼生の貝殻に含まれるタンパク質を抽出し、質量分析装置にて分析を行った。ネガティブコントロールとして、D 型幼生期の軟体部から抽出したプロテオームの解析も同時に行った。ペプチド鎖探索のデータベースとして、全ゲノム情報から得られた遺伝子モデルとトランスクリプトームの配列を用いた。D 型幼生からは、図 1 に示した成体殻に含まれるタンパク質は検出されなかった。これは遺伝子発現の結果と一致する。また、D 型幼生殻から、18 個の新規 D 型幼生殻基質タンパク質を同定した。成体殻のプロテオーム解析の結果と比較したところ、D 型幼生基質タンパク質の多くは成体殻に含まれていないことがわかった。つまり、幼生と成体では貝殻形成に用いられるタンパク質のセットが全く異なることが明らかになった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

(1) Hiroshi Miyamoto, Takeshi Takeuchi et al. (共著者 28 名うち 17 番目、50 音順) The diversity of shell matrix proteins: genome-wide investigation of the pearl oyster *Pinctada fucata*. Zoological Science 2013, in press. 査読有
<http://www.bioone.org/loi/jzoo>

(2) Takeshi Takeuchi, Takeshi Kawashima, Ryo Koyanagi, Tetsuji Masaoka, Nori Satoh, Genome-wide survey of genetic markers in the Japanese pearl oyster, *Pinctada fucata*, DNA 鑑定 4, 2012, pp. 81-85, 査読無(執筆依頼有)

(3) Takeshi Takeuchi, Takeshi Kawashima, Ryo Koyanagi et al. (共著者 26 名うち 1 番目) Draft Genome of the Pearl Oyster *Pinctada fucata*: A Platform for Understanding Bivalve Biology, DNA research 19, 2012, pp.117-130, 査読有
DOI: 10.1093

[学会発表] (計 12 件)

(1) 竹内 猛・遠藤 一佳

「バイオミネラルリゼーション解明へのゲノムの貢献」

マリンバイオテクノロジー学会,
沖縄県市町村自治会館,
2013 年 6 月 1 日

(2) 竹内 猛

「トランスクリプトームによるアコヤガイ幼生貝殻形成関連遺伝子の探索」

バイオミネラルリゼーションワークショップ,
東京大学,
2012 年 12 月 1 日

(3) Takeshi Takeuchi

“Pearl oyster genome provides insight into biomineralization”

6th Retreat Meeting of the IMSUT & RCAST
Global COE,
OIST,
6th November, 2012

(4) 竹内 猛・川島 武士・小柳 亮・佐藤 矩行

「軟体動物のゲノム解読：アコヤガイゲノムを例に」

日本動物学会,
大阪大学豊中キャンパス,
2012 年 9 月 14 日

(5) 竹内 猛, 川島 武士, 小柳 亮, 佐藤 矩行

「アコヤガイのドラフトゲノム解読」

アクアゲノム研究集会,

東京海洋大学

2012年3月26日

(6) 竹内 猛, 小柳 亮, 川島 武士, 佐藤 矩行

「アコヤガイのドラフトゲノム解読」

大気海洋研究所共同利用研究集会,

東京大学大気海洋研究所,

2011年11月18日

(7) Takeshi Takeuchi, Ryo Koyanagi,

Takeshi Kawashima and Nori Satoh

The genome of the Japanese pearl oyster,
Pinctada fucata

The University of Tokyo

4th October, 2011

(8) 竹内 猛ほか

「アコヤガイ・ドラフトゲノム解読」,

日本水産学会秋季大会,

長崎大学,

2011年9月29日

〔図書〕 (計1件)

Takeshi Takeuchi, Ryo Koyanagi, Takeshi

Kawashima and Nori Satoh

The genome of the Japanese pearl oyster,
Pinctada fucata

In “Recent Advances in Pearl
Research” Eds. Shugo Watabe, Kaoru Maeyama,
Hiromichi Nagasawa

TERRAPUB

pp. 37-51

〔その他〕

(1) メディア報道(新聞・インターネットニュースサイト・テレビ)

① 「アコヤガイのゲノム初解読」 2012年2月9日, 日経新聞

② 「アコヤガイのゲノム解読」 2012年2月9日, 沖縄タイムス

③ 「アコヤガイのゲノム解読」 2012年2月9日, 琉球新報

④ 「アコヤガイのゲノム解読」 2012年2月9日, 伊勢新聞

⑤ 「アコヤガイゲノム解読」 2012年2月9日, 中日新聞

⑥ 「アコヤガイのゲノム解読 真珠作りの仕組み解明へ」 2012年2月9日, nikkei.com

⑦ 「日本の研究チーム、真珠を作り出す「アコヤガイ」の遺伝子情報の解読に成功」 2012年2月9日, Yahoo!Japan ニュース

⑧ 「アコヤガイのゲノム解読＝国産保護、真珠の品質向上も－沖縄科技大・ミキモトなど」 2012年2月9日, goo ニュース

⑨ 「日本の研究チーム、真珠を作り出す「アコヤガイ」の遺伝子情報の解読に成功」 2012年2月9日, FNN

(2) ホームページ等

<http://marinegenomics.oist.jp/genomes/gallery>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

竹内 猛 (TAKEUCHI TAKESHI)

沖縄科学技術大学院大学・マリンゲノミクスユニット・研究員

研究者番号：60599231

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：