シンポジウム記録 水産育種の現状とゲノム情報利用の将来展望

II-1. 大規模遺伝子発現解析の水産育種への応用

近藤秀裕, 廣野育生, 青木 宙
東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科
ゲノム科学研究室

II-1. Application of high-throughput transcriptome analyses in aquaculture

HIDEHIRO KONDO, IKUO HIRONO
AND TAKASHI AOKI

Laboratory of Genome Science, The Graduate School of Marine Science and Technology, Tokyo University of Marine Science and Technology, Minato, Tokyo 108-8477, Japan

遺伝子の転写産物, すなわち mRNA の配列情報は, 生物において機能するタンパク質のアミノ酸配列を司ることから生命現象を分子生物学的に解析するために重要なものとして解析されてきた。生物種を超えて機能が保存されているタンパク質の場合, アミノ酸配列は生物種間で非常に似通ったものとなるため, タンパク質の機能解析の端緒として mRNA の塩基配列を決定することが重要となる場合が多い。また, 遺伝子の転写産物は, 予想される総塩基数がゲノム DNA 配列中の塩基数と比べて格段に小さいことから, 全ゲノム配列解析が一般的となる 1990 年代から網羅的な配列解析の対象とされてきた。転写産物を網羅的に解析する方法としては一般に Expressed sequence tag 解析 (EST 解析) が用いられる。EST 解析は生物の様々な臓器で発現する mRNA をもとに cDNA ライブラリーを作成し, 本ライブラリーからランダムに抽出したクローンの塩基配列の一部を決定することにより, その臓器で発現する遺伝子の部分塩基配列を網羅的に決定する方法である。

著者らの研究室では 1990 年代半ばから, ヒラメを対象に種々の臓器を用いた EST 解析を行ってきた。¹⁾ 現在では, 15,000 を超える EST 配列が公共データベース上に登録されている。これらの EST 解析の結果を利用して, これまで魚類では存在が不明なままであったいくつかのサイトカイン遺伝子や, 様々な生体防御関連遺伝子を同定してきた。¹⁾ さらに近年では, 対象生物種にクルマエビを加え解析を行っており, クルマエビについても約 3,000 の EST 配列を公共データベース上に登録してきた。²⁾

大量の転写産物配列情報が手に入ると, これらの遺伝子がいつ, どのような細胞や臓器で働いているかに興味が持たれる。遺伝子は mRNA に転写された後タンパク質に翻訳される。すなわち, ある遺伝子の細胞や臓器における転写産物量は, 細胞や臓器における遺伝子の機能と密接に関与するといえる。また転写産物量は, 環境の

変化などに伴い変化する。このような変化を網羅的に解析することは生物の細胞や臓器で起こっている現象を客観的かつ定量的に測る指標となることが期待される。マイクロアレイ法は, 数千あるいは数万の遺伝子について一度に網羅的に転写産物量を解析する方法として注目されている。

マイクロアレイ法は, スライドガラス上にスポットした DNA 断片あるいはオリゴヌクレオチド断片に対し, mRNA を鋳型として合成した蛍光標識核酸断片をハイブリダイズさせ各スポットの蛍光強度を測定することにより, 異なるサンプル間の転写産物量の違いを解析する方法である。これまでに当研究室ではヒラメを対象にマイクロアレイを構築し, これを利用して水産用ワクチンの作用機序や様々な感染症に対する生体防御機構を解析してきた。³⁾ また, クルマエビにおいてもマイクロアレイを構築し, 抗菌剤や免疫不活化剤が個体の免疫に及ぼす影響を解析してきた。²⁾

近年の塩基配列決定技術の進歩に伴い, 網羅的な転写産物の配列決定技術も格段に進歩してきた。これまでの EST 解析では, 様々な制約により数千配列を解析することも困難であり, 数万を超える解析は非常に巨大なプロジェクトであった。しかしながら, 現在の次世代シーケンサーを用いることで, 数十万あるいは数百万配列を一度に解析することが可能となる。次世代シーケンサーを用いると, これまでの EST 解析では難しかった転写産物量についての情報や一塩基多形についての情報も容易に得ることができるようになる。当研究室でも次世代シーケンサーを用い, 魚類の脂肪組織に特異的なマーカー分子を同定することに成功した。⁴⁾ さらに現在, 次世代シーケンサーにより得られた配列を元に, 一万数千遺伝子を解析可能なヒラメのマイクロアレイを構築している。次世代シーケンサーの登場により, 今後, これまで以上に多くの魚介類を対象とした大規模な遺伝子発現解析が展開されるものと考えられる。

文 献

- 1) Aoki T, Hirono I. Immune relevant genes of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Comp. Biochem. Physiol.* 2006; **1D**: 115-121.
- 2) Aoki T, Wang HC, Unajak S, Santos MD, Kondo H, Hirono I. Microarray analyses of shrimp immune responses. *Mar. Biotechnol.* 2010; **13**: 629-638.
- 3) Aoki T, Hirono I, Kondo H, Hikima J, Jung TS. Microarray technology is an effective tool for identifying genes related to the aquacultural improvement of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Comp. Biochem. Physiol.* 2011; **6D**: 39-43.
- 4) Kondo H, Suga R, Suda S, Nozaki R, Hirono I, Nagasaka R, Kaneko G, Ushio H, Watabe S. EST analysis on adipose tissue of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* and tissue distribution of adiponectin. *Gene* 2011; **485**: 40-45.