

ナショナルバイオリソースプロジェクト  
「カタユウレイボヤ等リソース拠点形成」  
第5回運営委員会 議事録

1. 日時 平成23年12月13日(火) 13:00-16:00
2. 場所 筑波大学文京キャンパス436号室
3. 参加者 野中 勝(運営委員長:東大)、西駕秀俊(運営委員:首都大)、佐藤矩行(運営委員:OIST)、長濱嘉孝(運営委員:愛媛大)、星 元紀(運営委員:放送大)、山崎由紀子(運営委員:遺伝研)、稲葉一男(筑波大)、赤坂甲治(東京大)、佐藤ゆたか(京都大)、笹倉靖徳(筑波大)、森脇和郎(NBRP推進委員:理研BRC)、佐藤 清(NBRP 事務局長)
4. 議題 2010年度の成果報告、2011年度の経過報告、東日本大震災の影響について、第3期のNBRP応募について、野生型ホヤの由来について、野生型ホヤのMTA締結について、その他必要事項
5. 議事
  - 1) 筑波大学の2010年度の業務成果報告があった。系統の収集は目標値の20系統に達したこと、保存系統数は目標値の110件に対して101件であったこと、ホヤの病気が室内飼育系で発生し、寄生虫グレガリナの感染が原因の可能性が高いこと、のべ提供数が目標値の10件を超え111件であったこと、MTA締結が86件であったこと、論文発表数が5報であったこと、データベースに22件の系統情報を追加したこと、純系についてY系統が途絶えたこと、T系統は自家交配第11世代目が得られていること、が報告された。
  - 2) 筑波大学の2011年度の経過報告があった。系統の収集は目標値の20件に対して14系統を終了し、7系統の候補があること、保存系統数の目標値を、病気を理由に100件に減らしたこと、それに対して113系統を維持していること、提供数が目標値の10件に対して20件であること、MTA締結は7件であること、論文発表数が3報であること、提供先が2010年とほぼ同じであること、純系についてT系統が自家交配第13世代が得られていること、が報告された。
  - 3) ホヤ病気への予防策として系統の維持水槽数を倍にしバックアップを採ること、系統に保存すべき優先順位をつけること、病気のホヤの早期発見と除去、

水替えの頻度を週 3 回に増加させたこと、ストレプトマイシンで死亡率を減らせる可能性があることが報告された。またホヤの病気のために 14 系統が喪失し、6 系統が凍結精子のみの保存になったこと、グルタミン酸作動性神経のマーカースystemについては代替の系統がなく新規に作製をして NBRP に寄託することが報告された。

4) ホヤの病気について、グレガリナが野生のホヤには感染していないのかが質問され、女川の野生のホヤからは発見されなかった事例があること、舞鶴産の養殖ホヤは似た症状で死亡した例があること、東大の飼育ホヤからもグレガリナが発見されたと回答された。

ユーザーの飼育ホヤでの感染例はあるかが質問され、似た症状で死亡したことがあるとの回答があった。

ストレプトマイシンでグレガリナが死亡するのかが質問され、死亡することはないこと、細菌などの 2 次感染が防がれるので結果として死亡率が下がるのではないかと推定しているとの回答があった。

ヒトデで精巣を食い荒らす繊毛虫が大発生した際には、飼育水をヒーターで煮沸することで感染率が下がったことが説明された。海水の濾過について質問があり、純系はフィルターを通した海水で飼育しているが感染を防げないとの回答があった。ミリポア単位のフィルターを通すか、海水の煮沸を検討してはどうかとの提案があったが、飼育に必要な海水量がトン単位であり難しいので、現状のように対応していくとの回答があった。

5) 系統を利用した論文の収集について、ユーザーからの連絡があったのかとの質問があり、筑波大学の拠点メンバーが共著で入っているため自動的に情報収集できている旨の回答があった。マウスでは論文収集が労力が掛かっていることが説明され、野生型ホヤではどうかとの質問に対しては、ユーザーからは催促すれば大体連絡が来ることが回答された。年度末に向けて、再度催促を代表者名でユーザーにメール連絡することが提案された。

6) 京都大学の 2010 年度の成果報告がなされ、目標提供数の 20000 匹を達成したこと（具体的には 21499 匹を提供した）、22 年度は実費徴収システムを導入したこと、これに伴って輸送に掛かる消耗品を毎回新品にする必要があり対応が必要であったこと、が報告された。

7) 京都大学の 2011 年度の経過報告がなされ、12 月現在で 15885 匹であり、目標値の 20000 匹は達成できる見通しであること、震災を受けて系統のバックア

ップを京都で引き受ける事業が採択されたこと、純系 T 系統は既に受け入れが終了して、現在自家交配第 14 世代目が育っていること、トランスジェニック系統のバックアップについては遺伝子組換え系統の受け入れ承認が 12/12 に下りたため受け入れ可能になったこと、が報告された。

8) 純系を今後実験に利用するののかの質問があり、1 匹の卵保持数が少なく数 10 であり室内飼育系では難しいこと、そのため海で T 系統を養殖して、そこで大きく育てて実験に使う計画であること、提供も海で養殖して大量培養して提供することが説明された。海での大量培養の種は室内飼育の親からであり、1 匹の親の卵保持数が少ないことが問題になりそうであることが説明された。筑波大学の飼育系では、1 匹の T 系統が数 100 の卵を保持できることが説明された。

9) 京都大と筑波大で純系系統を分けていくののかの質問があり、理論的には十分に純度が進んでおり同一系統と見なせるであろう事、純度についてはゲノム配列の解読から判明するであろうことが報告された。

10) T 系統の自家受精率がどの程度かの質問があり、自家受精率が高いこと、Themis loci はホモになっており、Themis 以外の自家不和合性システムが破壊されている可能性が高いとの回答があった。

11) 提供中の野生型の closed colony についてその維持方法について質問があり、現在の closed colony は一年前に宮城県女川の野生集団から新規に取られた集団であることとの回答があった。Closed colony についてもどのような population なのかについて、ゲノム情報を整備する必要があるのではとの意見が出され、ゲノム解読を予定している旨の説明があった。

12) 野生型とトランスジェニック系統の提供先について、提供先が増加しているかとの質問があり、開始当時よりは増えてきているが、この 1 年は横ばいであることが回答された。野生型は教育目的の高校などからのリクエストがあることが説明され、今後も積極的に受け入れていく方針が確認された。外国への提供があるかとの質問があり、野生型は送付が困難で受け入れがないこと、トランスジェニック系統は実績があるとの回答があった。

13) 東京大のホヤとニッポンウミシダ業務の 2010 年度の実績報告がなされた。2010 年度はホヤの提供数が目標の 6000 個体に対して 7050 匹を達成したこと、ニッポンウミシダ生体は目標の 300 個体に対して 157 匹であり、固定胚は目標

の 900 に対して 822 個体、cDNA は 2 つを提供したことが報告された。

1 4) 東京大のホヤとニッポンウミシダ業務の 2011 年度の経過報告がなされた。津波により飼育個体が喪失して大打撃を受けたこと、野生型ホヤが 12 月 7 日現在で 1965 匹を提供したこと、ニッポンウミシダ生体が 49 個体、固定胚が 2150 個体、cDNA が 16 であることが報告された。またニッポンウミシダを利用した論文が 3 報、東京大のホヤ野生型を使った論文が 1 報発表されたことが報告された。ウミシダ論文の内容について質問があり、新奇 Lectin の記載であることが説明された。

1 5) ニッポンウミシダゲノムが解読中であり、10x coverage、8G 程度が解読されていること、transcriptome の解析も進行中であることが報告された。遺伝子のクローニングが容易になり、WISH 法で発現を調べる研究が加速していることが説明された。

1 6) 海外にニッポンウミシダが生息するかとの質問があり、生息しないとの回答があった。

1 7) WISH のサンプリングについて質問があり、WISH 法は確立しており、その手法に乗っ取った固定法の胚を提供しているとの説明があった。

1 8) 数ヶ月の世代時間のウミシダがいることが説明された。まずはニッポンウミシダ業務を確立することが肝要である旨のアドバイスが site visit であったことが説明された。このウミシダはニッポンウミシダと別種なのかの質問があり、別種であるとの回答があった。

1 9) 東日本大震災の影響について話し合われた。下田（筑波大）は大きな被害が無かったこと、三崎（東大）は飼育していたホヤとウミシダが喪失したことが説明された。現在はニッポンウミシダが 3200 個体と持ち直していること、ホヤについてはこれまで提供してきた女川産が無くなりそうであり、福島産のホヤを飼育していることが説明された。

2 0) これまで提供してきた女川のホヤについて、野生型のホヤについては復活の兆しがあること、ただしこれまでのように臨海実験所を利用するの安定確保は困難であり、closed colony の入れ替えが難しくなる可能性が指摘された。これを受けて福島産（水族館近くの野生集団）のホヤについても提供していくか

どうか話し合われた。以下にその内容を記す。

- ・ 遺伝的バックグラウンドができるだけ均質の集団を提供することは、MO を用いた実験などの再現性を高めるので好ましい。
- ・ 日本のホヤのハプロタイプ間の塩基配列の違いは 1.1%程度である。また日本産とアメリカ産の違いは 1.3%程度。
- ・ これまでの経験では、女川産のホヤだと安定して MO の結果が得られている。
- ・ MO が効かない際に結合配列に多型が含まれていることが実際にある。
- ・ 福島産と女川産で見た目での違いは特になさそう。地理的にも近い。
- ・ 女川産はこれまで 3 個体分についてゲノム情報が出されている。また純系 T 系統も女川産。一方福島産のゲノム情報は全くなく、女川産とどれだけ近いのか、または遠いのかは不明。
- ・ 過去に日本各地のカタユウレイボヤの地理的変異を調べた論文があり、それによれば女川産は女川産で 1 つの clade をなす。
- ・ 女川産の population は他と isolate されている訳ではないだろう。
- ・ 東大に舞鶴で養殖されたホヤを提供して飼育するとなぜか成長しない。
- ・ ユーザーに何も知らせずに福島産を提供するのは問題があるだろう。現在の提供システムでは提供先（京大からか東大からか）をユーザーが選択できないが、福島産を混ぜるとなるとその点を改善する必要がある。これは可能である。
- ・ 既に福島産でも OK と回答があったユーザーには福島産を提供している。
- ・ NBRP としては由来をしっかりとさせたリソースを提供することが肝要である。日本各地の野生集団についても主要なところのゲノム特徴はいずれ記載した方がよいだろう。

結論として、NBRP としては由来をはっきりさせ、福島産と女川産を混合しないように飼育維持すること、ユーザーには福島産であることを明記して、それでもよいという回答が得られた場合には福島産を提供していく方針が確認された。

2 1) 系統リソースのバックアップを整備する事業が採択されたことが報告された。現在純系とトランスジェニック系統の凍結精子は下田と三崎で保存されているが、地理的に近く災害で同時に失われる可能性があるため、純系 1 系統とトランスジェニック系統の 50 系統分を目標として京都大にバックアップを置く事業。

本事業に際して、現在の凍結精子保存状況が説明された。保有系統 113 系統のうち、89 系統の保存があること、70 系統程度については凍結後受精能を

保持していること、筑波大と東京大の両方で凍結精子が保存されており、東京大のみが7系統、筑波大のみが68系統、筑波大と東大の両方で保存されているものが14系統分あること、65系統分が京大へと輸送可能になっていること、12月中旬から送付を開始すること、輸送にはドライシッパーが利用されることが説明された。また、東京大の精子は基本的には動かさずに、筑波大で保存されている凍結精子の一部を京都大へと輸送することが説明された。

2 2) 京都大へと凍結精子が輸送された場合の、各拠点の凍結精子保存状況について質問があり、現有の資料では正確には答えられないものの、3拠点で保存する系統、2拠点で保存する系統の2種類に分かれることが説明された。

2 3) 凍結精子がどの程度保存されるのかの質問があり、これまでの実績から10年程度は持つこと、それ以上の保存期間になると経験が無く不明であり、野生型の凍結精子があるのでそれを元に今後検証していくことが説明された。

2 4) 凍結精子の作製方法について質問があり、海水+DMSOで保存していること、これまでは時間をかけて凍結する方がよいとされてきたが、急速凍結で保存できるためそちらに移行していること、解凍する際にも急速解凍がよいことが説明された。

2 5) ゲノム情報等整備プログラムに採択されたことが説明された。筑波大、京都大、OIST、北海道大の連携プロジェクトであること、純系T系統のゲノムを解読し、新規アセンブリおよび純度の検定、既存ゲノムとの比較、プロジェクト終了後1年以内に他拠点およびNBRP情報センターでのデータベース登録・アノテーション情報公開を進めることが説明された。

2 6) シークエンシングの現状が説明され、T系統4個体分についてゲノム単離が終了したこと、2個体分について454シーケンサーでの解読が終了し、約4x coverageがあること、illuminaを用いての解読が進行中で再来週辺りに結果が出そうなことが報告された。

2 7) ホヤのゲノム事業について説明があった。ヨーロッパ産のカタユウレイボヤBタイプのゲノム解読がilluminaのシステムを用いて進められていること、日本のpopulationについても5カ所程度であれば解読可能であろう事、Halocynthia 2種(マボヤとアカボヤ)、Phallusia 2種についても別プロジェクトで進行中であることが報告された。

28) 野生型ホヤとニッポンウミシダについてはこれまで MTA 締結を進めてこなかったが、MTA を締結するべきとのアドバイスが文部科学省の方からあったことが説明された。野生型ホヤは提供件数が多く、また何度も同じユーザーへと提供することがほとんどであり、毎回 MTA を締結するのは難しいのではないかと説明された。一度 MTA を正式に締結した後は別紙を追加する形で進める可能性、E-MTA のように web 上で内容を確認して同意を得る方法、が提案された。手間が掛かることは締結しない理由にはなりにくいこと、毎回ではなくとも一度は正式に締結する方がよいのではないかという意見が出された。また、第 3 期にむけて MTA を整備することが、例えばリソースを使った際に生じた問題に対して拠点は責任を負わないことを明確にしておくなどの理由から必要であるとの考えがあるのではないかと、その考えに協力することも大切であるとの意見がだされた。カイコではリソース送付後の MTA 締結があることが説明された。

これらの意見を受け、京都大と東京大で MTA の内容をすりあわせつつ書面を準備し、締結を行っていく方向で調整することが確認された。

29) 使用したリソースの論文を収集する労力が他のリソースではかかっているが本リソース事業ではどうかとの質問が出された。研究者のモラルの問題ではあるが多忙などの理由があるのだろうということ、ユーザーに対して催促のメールを出してはどうかという意見が出された。ホヤ・ウミシダリソースは第 2 期から開始されたリソースとしては論文本数が多い方であることが報告された。

30) ニッポンウミシダの凍結精子の状況について質問があり、解凍後に精子は運動能を有するものの受精には至っていないことが説明された。

31) トランスジェニック系統の維持について質問があり、野生型との掛け合わせによるヘテロ体で維持していることが説明された。

32) 第 3 期の応募について、申請書の準備が 12 月中にも開始されるだろうことが説明され、準備が必要である旨が説明された。事後評価の内容の説明があり、高評価を得ていることが説明された。純系の提供体制の整備が第 3 期の内容に必要と考えられること、実現可能なレベルでの目標値を設定する必要があること、具体的な達成目標を掲げる必要があること、純系やトランスジェニック系統を保有する質の高いリソースであること、またそれらを利用しなくては達成できない研究があることを強調すべきことが意見として出された。リソースは使われてこそその存在価値があるため、よい研究成果が出されるように持つ

て行くべきとの意見が出された。メダカでは国際ネットワークの構築を目標として提示しておりその達成に向けて動いていることが報告された。

ニッポンウミシダについては、生体と固定胚を引き続き提供していくこと、ゲノム情報公開が付加価値をつけるだろうこと、ゲノムサイズが巨大でゲノム配列のアセンブリが困難であることが説明された。

(文責：野中 勝)