

ゲノミクス解析技術開発

代表研究者

小笠原 直毅（奈良先端科学技術大学院大学・情報科学研究科・教授）

共同研究企業

奈良先端科学技術大学院大学、財団法人地球環境産業技術研究機構、奈良県保健環境研究センター、株式会社萩原農場生産研究所、株式会社ミレニウムゲートテクノロジー

研究課題（奈良先端等の生物リソースとゲノムミックス解析技術の融合）

1. 野生スイカ cDNA 解析による有用遺伝子取得と作物育種への応用
2. 環境微生物のゲノム解析による有用遺伝子取得と植物育種への応用
3. 迅速なウイルス同定システムの開発
4. 質量分析計を用いたプロテオミックス解析技術の高度化
5. トランスクリプトーム解析と比較ゲノム解析のための情報処理技術の高度化
6. ATAC-PCRによる高精度発現解析技術の応用
7. 次世代チップ技術の開発

乾燥耐性の野生スイカ



野生スイカ

アフリカ・カラハリ砂漠に自生
C3型光合成を営む
気孔閉鎖後に光傷害を受け難い

新規な適合溶質シトルリンが高蓄積

アルギニン生合成経路の中間体
活性酸素の消去能に優れる
蓄積メカニズムは不明

目的1

野生植物の持つ有用遺伝子を探索・取得し、その高度利用を図る



- (1) 乾燥耐性の野生スイカにおいて発現する遺伝子群をESTとして網羅的に取得し、カタログ化する。
- (2) 単離した遺伝子からDNAチップを作製し、乾燥ストレスに応答した遺伝子発現を解明する。

目的2

ウリ科の栽培植物(スイカ・メロン・キュウリ等)の病害診断システムを開発し、生産効率及び収量の向上を図る。



- (1) 罹病の初期過程において特異的に発現する遺伝子群をESTとして取得し、カタログ化する。
- (2) DNAチップ解析により、ウリ科植物の栽培過程における罹病マーカー遺伝子の発現をモニターし、感染の早期発見・生産性の向上に利用する。

耐塩性細菌 *Halomonas elongata*

1) 21% (3.6 M) のNaCl 存在下
で生育可能 (上限)

2) 0.3% 程度のNaClが存在すれ
ば生育可能 (下限)

高濃度NaCl要求性の細菌と
は異なり、生育環境の塩濃度の
変化に適応する仕組みを有する



- 3) 細胞が耐塩性を獲得するためには、**高浸透圧ストレス耐性**
および **Na⁺毒性耐性**が必要
H. elongata は**エクトイン (適合溶質)**を蓄積することによって、
細胞内の浸透圧を調節

Halomonas elongata のゲノム解析

研究目的とプロジェクト概要

- 全ゲノム (5 Mb: 推定) の塩基配列を決定する
- 大腸菌等のゲノム情報を元に遺伝子 (ORF) を推定
- *H. elongata* の耐塩性に関与する遺伝子群の推定

近縁種 (耐塩性細菌) との比較ゲノム学

例: *Vibrio costicola* (好塩性細菌) はゲノム配列決定済

イオン輸送体遺伝子の探索 (Na^+ 流入、排出の制御系)

期待される成果

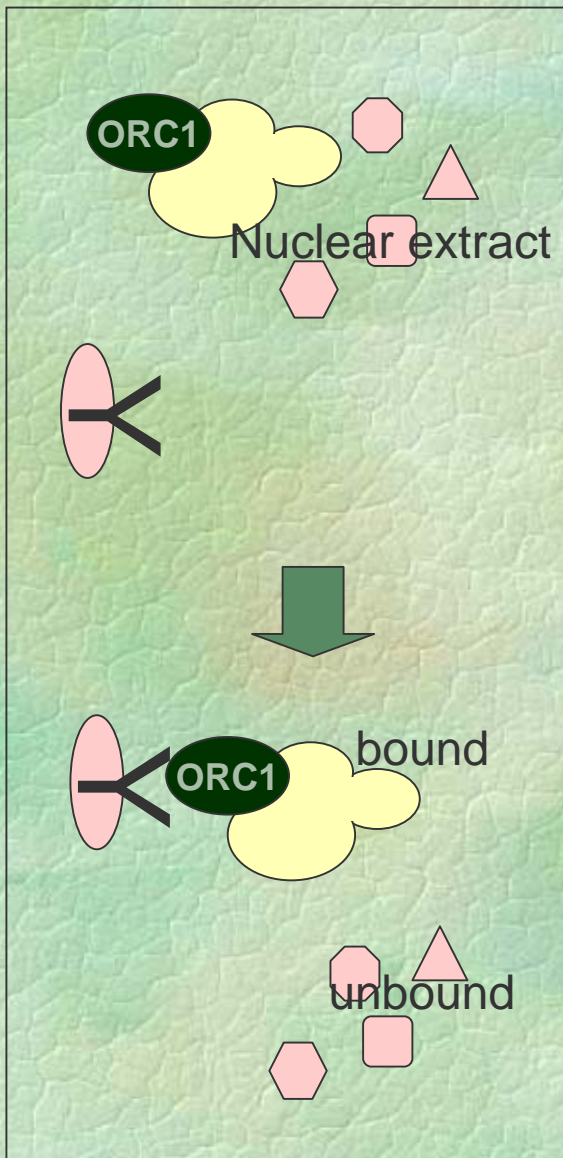
- 細菌における耐塩性の分子機構を解明する
- 耐塩性細菌の遺伝子資源を耐塩性植物の分子育種に利用

質量分析器を用いた微量蛋白質の同定

	シーケンサー	質量分析器
感度	低い(10 pmol程度)	高い(100 fmol 以下)
速度	遅い(8時間 / 10残基)	早い(30-60分 / 試料)
混合試料	対応できない	何種類でも同定可能
コスト	高い(10000円 / 10残基)	安い(500円以下 / 試料)
初期投資	3000万円程度	4500万円以上

ORC1

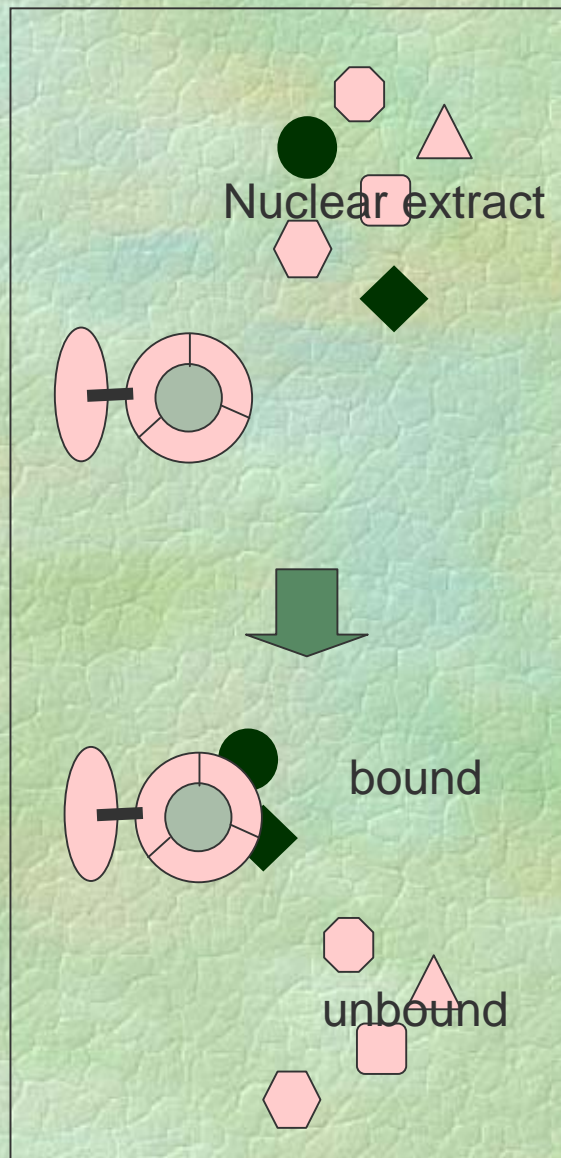
核抽出液 + 抗体



Tight な複合体の構成因子

PCNA

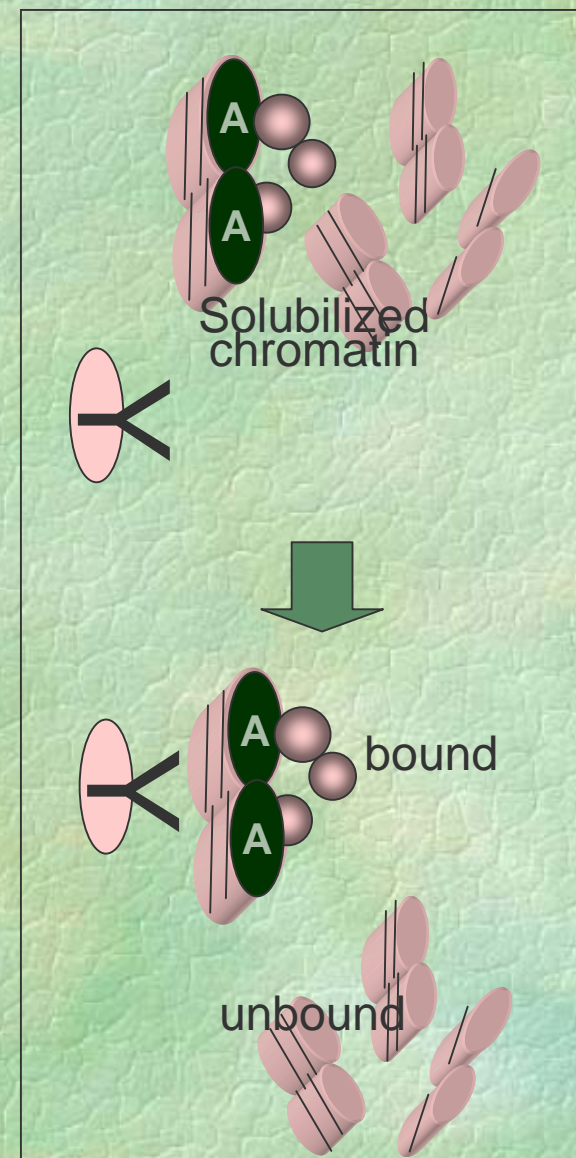
核抽出液 + そのものをリガンドとして



Transientな結合因子

CENP A

可溶化した染色体 + 抗体



大きな機能複合体

マイクロアレー解析の原理と情報処理

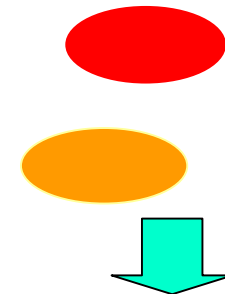
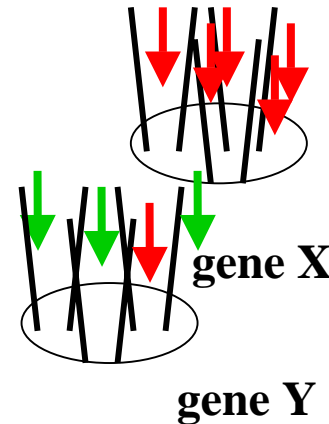
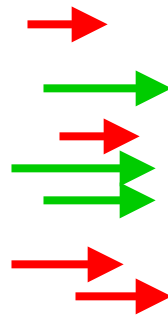
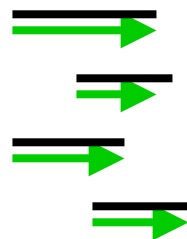
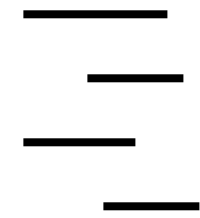
cDNA microarray Experiment

Signal Assessment

Interpretation

Control: **Cy3**

Target: **Cy5**



mRNA

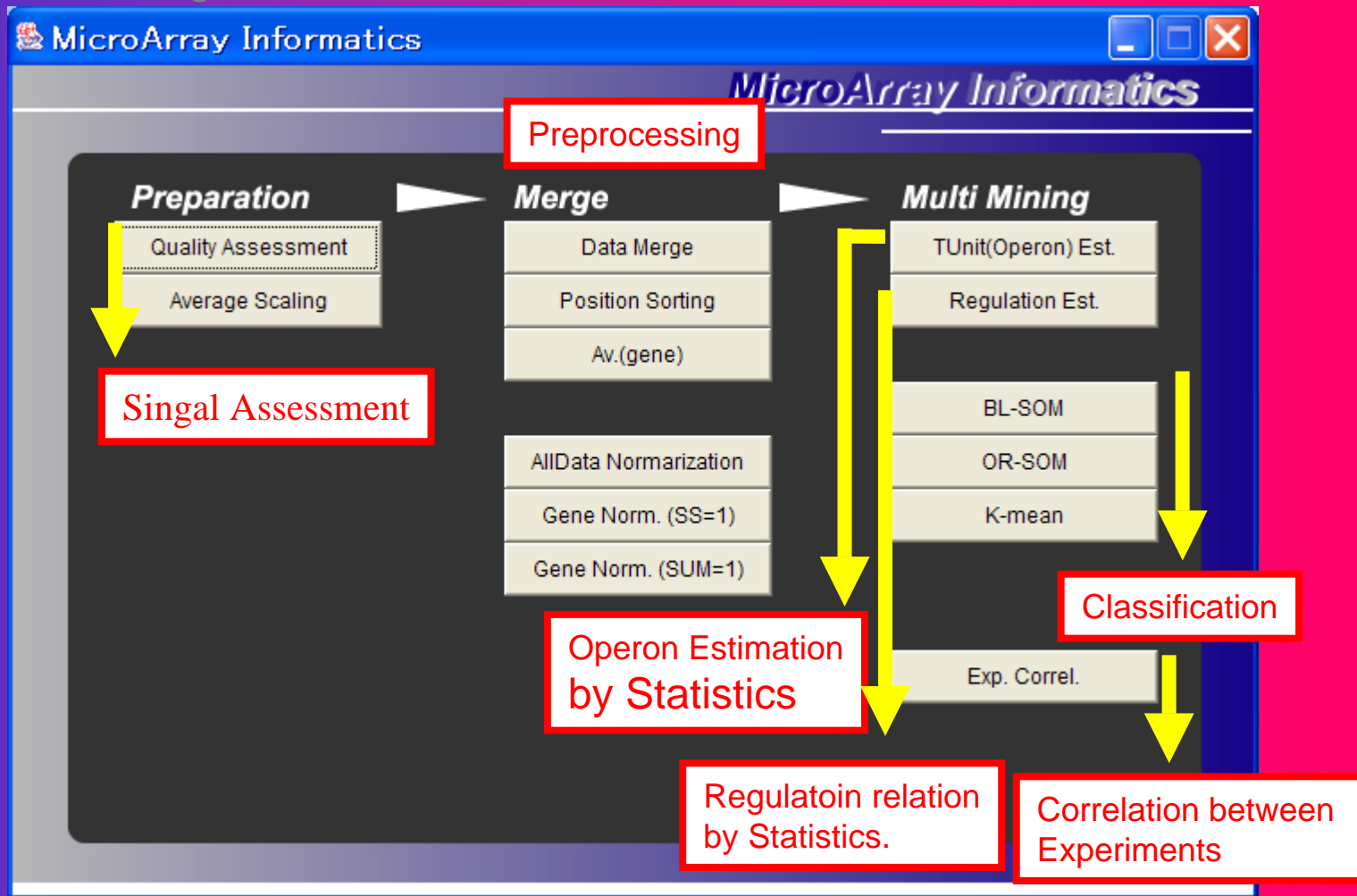
cDNA

Signal Assessment

Data Scaling

Data Mining

MicroArray Informatics



新たな情報処理システムの開発

ATAC-PCRの特徴

(ATAC-PCR, adaptor-tagged competitive PCR, アダプター付加競合PCR)

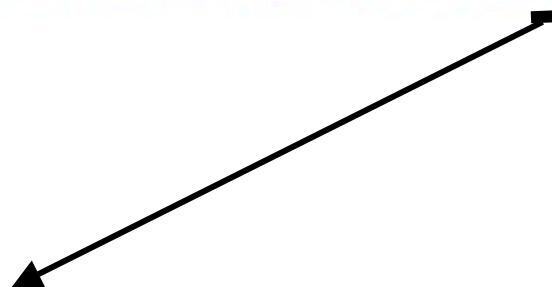
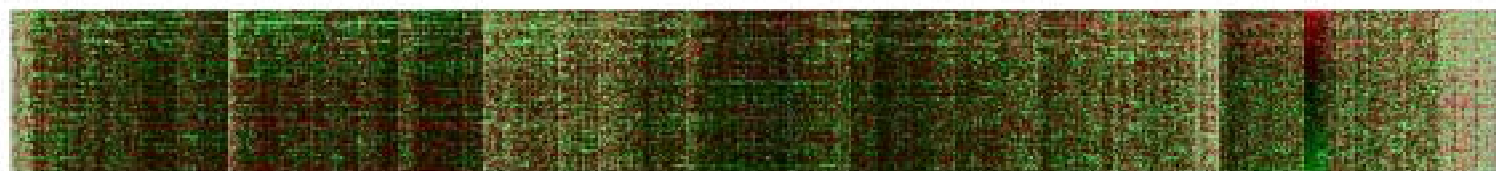
- 1) 高精度 (リアルタイムPCRよりよい)
- 2) 1反応で1遺伝子の測定が可能
1度に7サンプルまで測定できる
- 3) 1 ng RNA / 反応
- 4) 低品質のRNAでも使用可能

ATAC-PCRによる遺伝子発現プロファイル解析 ヒト大腸癌(1536遺伝子x111検体)

1536 遺伝子



111
検体



予後診断遺伝子

フィールドユース次世代DNAマイクロアレー 模式図

