

環境とバイオテクノロジー
2021 年度採択研究者

2021 年度 年次報告書

小祝 敬一郎

東京海洋大学 学術研究院
助教

エビ体液中免疫細胞と細菌叢の相互作用解析と養殖産業への活用

§ 1. 研究成果の概要

本課題は、病原体感染時のクルマエビ宿主の免疫細胞および血リンパ中細菌叢の変動および相互作用を解析することで、エビがどのようにして病原菌に打ち勝つかを明らかにすることを目標としている。本課題は、新規免疫賦活剤のスクリーニング手法確立につながり、抗生物質を使わない環境にやさしい養殖技術に貢献できる。本年度は、ウイルスに感染したクルマエビ宿主免疫細胞のシングルセルトランスクリプトーム解析および血リンパからの細菌由来核酸抽出手法の選定に注力した。

宿主免疫細胞のシングルセルトランスクリプトーム解析には Drop-seq 法を使用した。従来の Drop-seq 法では多検体を扱うことが難しかったが、メタノールにより固定した細胞をテンプレートに用いても生細胞と遜色ないシングルセルトランスクリプトーム解析用のライブラリーが構築できることが明らかとなった。そこで、人為的にウイルスを感染させた個体から免疫細胞をサンプリングしメタノール固定後、Drop-seq に供することで次世代シーケンサー用のライブラリーを調製した。来年度は、調製したライブラリーのシーケンシングを実施し、ウイルス感染が宿主の免疫細胞にどのような変動をもたらすのか 1 細胞レベルで明らかにする。

血リンパ中細菌叢の変動を解析するためには、血リンパ中の細菌から効率的に核酸を抽出する必要がある。クルマエビ 1 個体から採血可能な血リンパは液量が少なく、また、菌数も少ないことが予測されたため、フィルターによる拿捕および市販のキットを用いての核酸抽出を試みた。その結果、網羅的細菌叢解析に必要な 16S rDNA の断片を増幅可能な核酸抽出法および PCR 条件を明らかにできた。来年度は増幅された 16S rDNA を用いて血リンパ中の細菌叢解析を実施し、細菌が生体に与える影響を調査する。