

課題番号	GS023
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成 24 年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	複合汚染に対する微生物遺伝子応答の網羅解析による新規毒性影響評価技術の開発
研究機関・ 部局・職名	愛媛大学・沿岸環境科学研究センター・特命准教授
氏名	濱村奈津子

1. 当該年度の研究目的

本研究では、複合汚染の短期暴露に対する迅速な応答反応の検出から遺伝子レベルでの長期的な毒性影響を予測する新規評価手法の開発を目指している。H24年度は、1) 複合汚染環境試料における微生物群集のメタトランスクリプトームによる遺伝子応答網羅的解析、および 2) マイクロコズムを用いた特定汚染物質暴露に反応する発現遺伝子群の検出により、汚染物質の検出や毒性の指標マーカーとして有用となる遺伝子群を特定し、3) 環境試料における指標マーカー遺伝子群の発現定量解析法を確立する。さらに、汚染物質の複合暴露による DNA 付加体形成をアダクトミクス法で検出し、遺伝子毒性の指標マーカーとなり得る付加体群の検出および特定を目的とした。

2. 研究の実施状況

複合汚染環境として、リサイクル処理施設や鉱山周辺など高濃度の無機化合物の複合汚染（ヒ素・鉛・重金属等）とともに、有機化合物及び有害元素類を混合した複合汚染暴露のマイクロコズム及び環境サンプルより抽出した RNA を用いて、メタトランスクリプトーム解析による遺伝子発現応答の網羅的検出を行った。

これらの複合汚染環境サンプルおよびマイクロコズム系における微生物群集の遺伝子発現応答プロファイルの比較解析により、個々の汚染物質に特異的な応答や複合曝露において共通な応答を示す、指標マーカーとして有用な機能遺伝子群が明らかになってきた。また、これら指標マーカーを含む遺伝子発現の網羅的検出を定量的に解析する手法を確立した。暴露実験におけるメタトランスクリプトーム解析の結果では、汚染物質暴露後に遺伝子発現プロファイルが経時的に推移することが示されており、時間的変動も考慮した指標マーカーとなる機能群を特定する必要性が示唆された。

さらに、モデル実験系を用いた無機及び有機系の遺伝毒性汚染物質への暴露により引き起こされる遺伝子損傷のアダクトミクス解析結果においても、汚染物質や複合曝露に対して特異的な応答を示している DNA 付加体群が同定されてきている。今後、汚染環境サンプルへのアダクトミクス法の応用に際しては、環境中の微生物濃度が低いためサンプルから抽出できる DNA 濃度が限られていることが課題となってくるが、これら指標となる DNA 付加体群に着目し、アダクトミクスで検出する付加体の範囲を限定することで、分析に必要なサンプル DNA 量を低減することが可能である。今後はさらに指標マーカー付加体群のデータベース化を進め、汚染環境サンプルのアダクトミクス解析の分析を試みる。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 6 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 0 件 (掲載済み一査読無し) 計 0 件 (未掲載一査読有り) 計 6 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. <u>Hamamura N.</u>, Meneghin, J., Reyesnbach, A-L. (2013): Comparative community gene expression analysis of Aquificales-dominated geothermal springs. <i>Environmental Microbiology</i>, 15(4), 1226-1237. DOI: 10.1111/1462-2920.12061. ISSN:1462-2920. 2. <u>Hamamura, N.</u>, Ward, D. M., Inskip, W.P. (2013): Effects of hydrocarbon mixture types on alkane degradation and hydrocarbon-degrading microbial populations in different soil environments. <i>FEMS Microbiology Ecology</i>, DOI: 10.1111/1574-6941.12108. ISSN: 1574-6941 3. Inskip, W.P., Jay, Z.J., Tringe, S.G., Herrgard, M., Russh, D.B., YNP Metagenome Project Steering Committee and <u>Working Group Members*</u>. (2013): The YNP metagenome project: environmental parameters responsible for microbial distribution in the Yellowstone geothermal ecosystem. <i>Frontier in Microbial Physiology and Metabolism</i>, doi:10.3389/fmicb.2013.00067. ISSN: 1664-302X. *Listed as a working group member. 4. T. Takacs-Vesbach, W. P. Inskip, Z. J. Jay, D. B. Rusch, S. G. Tringe, M. Herrgard, M. A. Kozubal, <u>N. Hamamura</u>, R. E. Macur, et al. (8 other authors) (2013): The diversity and function of Aquificales in Yellowstone National Park: Analysis of metagenome sequence across geochemically diverse habitats reveals specialization of major lineages. <i>Frontier in Microbial Physiology and Metabolism</i>, doi:10.3389/fmicb.2013.00084. ISSN: 1664-302X. 5. <u>Hamamura, N.</u>, Fukushima, K., Itai, T. (2013): Identification of arsenite- and antimonite-oxidizing bacteria associated with antimony mine tailings. <i>Microbes and Environment</i>, ISSN: 1342-6311. In press. 6. Kanaly, R.A., <u>Hamamura, N.</u> (2013): 9,10-phenanthrene-dione biodegradation by a soil bacterium and identification of transformation product by LC/ESI-MS/MS. <i>Chemosphere</i>, ISSN: 0045-6535. In press.
<p>会議発表 計 12 件</p>	<p>専門家向け 計 11 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Huang, H., <u>Hamamura, N.</u> (2012): Development of practical tools for the analyses of metagenome and metatranscriptome datasets. NGS 現場の会 第2回研究会, 大阪, 5月23-25. 2. <u>Hamamura, N.</u>, Itai, T. (2012): Microbial arsenic and antimony oxidation associated with soil from antimony mine tailings. American Society for Microbiology 112th General Meeting, San Francisco, USA, June16-19. 3. Kanaly, R.A., <u>Hamamura, N.</u> (2012): Investigation of a microbial community exposed to potentially genotoxic pollutants during growth on a defined hydrocarbon NAPL. American Society for Microbiology 112th General Meeting, San Francisco, USA, June16-19. 4. <u>Hamamura, N.</u>, Huang, H., Okuda, S., Damdinsuren, N. (2012): Meta-transcriptomic analysis of microbial community associated with a soda lake in Khovsgol, Mongolia. 14th International Symposium on Microbial Ecology, Copenhagen, Denmark, August19-24. 5. <u>Hamamura, N.</u>, Huang, H., Fukushima, K. (2012): Cellular to community level function and response of microbial populations associated with arsenic-contaminated environments. シンポジウム'金属元素の地球微生物学'企画開催, コンビーナ: <u>濱村奈津子</u>・天知誠吾, 日本微生物生態学会第28回大会, 豊橋市, 9月19-22日. 6. Fukushima, K., <u>Hamamura, N.</u> (2012): Proteomic analysis of a novel autotrophic arsenite-oxidizing bacterium <i>Sinorhizobium</i> sp. IK-A2. 日本微生物生態学会第28回大会, 豊橋市, 9月19-22日. 7. Kataoka, T., <u>Hamamura, N.</u> (2012): Enrichment of arsenic and antimony metabolizing bacteria using solid phase microcosms. 日本微生物生態学会第28回大会, 豊橋市, 9月19-22日. 8. Huang, H., <u>Hamamura, N.</u> (2012): Comparative metatranscriptomic analysis of microbial communities associated with an extreme environment. Joint conference on informatics in Biology, Medicine and

様式19 別紙1

	<p>Pharmacology, Tokyo, Japan, October 14-17.</p> <p>9. Hamamura, N. (2013): Biotransformation of Toxic Elements Associated with Contaminated Environments: Cellular to community level function and responses. . 広島大学サステナブル科学セミナー, 広島, 1月21日(招待講演)</p> <p>10. 福島江・黄鶴・広瀬侑・濱村奈津子 (2013): プロテオーム手法によるヒ素及びアンチモン酸化細菌の細胞応答解析. 第7回日本ゲノム微生物学会年会, 長浜, 3月8-10.</p> <p>11. 濱村奈津子・黄鶴 (2013): 環境錯乱に対する微生物群集の機能応答解明へのオミックスアプローチ. 第7回日本ゲノム微生物学会年会, 長浜, 3月8-10.</p> <p>一般向け 計1件</p> <p>12. Hamamura, N. (2012): Biotransformation of toxic elements associated with contaminated environments. International Conference "Effects of climate change and land use on biodiversity and ecosystems", Ulaanbaatar, Mongolia, October 1-3. (Invited speaker)</p>
<p>図書</p> <p>計0件</p>	
<p>産業財産権 出願・取得状 況</p> <p>計0件</p>	<p>(取得済み) 計0件</p> <p>(出願中) 計0件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<ul style="list-style-type: none"> 愛媛大学 沿岸環境科学研究センター 生態系解析部門 濱村グループホームページ: hamamuralab.com/jpn/
<p>国民との科 学・技術対話 の実施状況</p>	<p>1. 愛媛大学・女性未来育成センター主催「輝く! 愛大理系ウーマン展」に参加。研究内容や女性研究者としての経歴紹介等を行った。実施日:8月16-23日, 2012. 場所:愛媛大学博物館 愛大ミュージズ(愛媛県松山市)、中高生や一般対象。女子中高生や保護者、親子連れなど639名が来場。愛媛CATVやNHKで地域のニュースとして取り上げられた。</p> <p>2. 愛媛大学主催「愛大博2012」に参加。‘汚染環境中の微生物資源を利用した最先端技術の開発’と題して研究紹介を行った。実施日:11月10-12日, 2012. 場所:愛媛大学博物館 愛大ミュージズ(愛媛県松山市)、中高生や一般対象。一般の方々、家族連れなど1000名強が来場。</p>
<p>新聞・一般雑 誌等掲載</p> <p>計0件</p>	
<p>その他</p>	

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成24年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されず

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	100,000,000	45,440,000	25,000,000	29,560,000	0
間接経費	30,000,000	13,632,000	7,500,000	8,868,000	0
合計	130,000,000	59,072,000	32,500,000	38,428,000	0

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	15,394,746	25,000,000	7,011	40,401,757	34,967,561	5,434,196	0
間接経費	1,389,450	7,500,000	0	8,889,450	7,903,844	985,606	0
合計	16,784,196	32,500,000	7,011	49,291,207	42,871,405	6,419,802	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	9,448,089	リアルタイムPCR、実験試薬、窒素・アルゴンガス
旅費	2,421,120	サンプリング、学会参加、研究打合せ等
謝金・人件費等	20,826,995	研究員・研究補助員人件費、人材派遣費
その他	2,271,357	次世代シーケンス解析費、学会参加費
直接経費計	34,967,561	
間接経費計	7,903,844	
合計	42,871,405	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
リアルタイムPCR	185-5201J1	1	2,850,000	2,850,000	2012/11/8	愛媛大学
小型恒温振とう培 養機	BR-23FP-MR	2	584,000	1,168,000	2013/3/12	愛媛大学
				0		