

様式3

愛媛大学沿岸環境科学研究センター  
共同利用・共同研究拠点「化学汚染・沿岸環境研究拠点」  
共同研究報告書

平成30年2月25日

化学汚染・沿岸環境研究拠点 拠点長 殿

申請者（研究代表者）

所属機関 九州工業大学情報工学部

職 博士研究員

氏名 飯田 緑

下記の共同研究について、別紙の通り報告します。

1 研究課題

抗生物質によるマダイ幼魚の腸内細菌叢と肝臓プロテオームへの影響評価

2 研究組織

氏名	所属	職	分担研究課題
代表者 飯田 緑	九州工業大学情報工学部	博士研究員	抗生物質によるマダイ幼魚の腸内細菌叢と肝臓プロテオームへの影響評価
分担者 前田 和勲	九州工業大学情報工学部	テニユアトラック助教	
拠点対応教員 岩田 久人	愛媛大学沿岸環境科学研究センター	教授	

### 3 研究内容 (別紙)

本年度はマダイ幼魚への OTC 投与試験を行った。また、腸内細菌叢の組成解析を行う際に必要なアンプリコン解析ソフトウェア (CRICAR) の開発を行った。

#### 【方法】

##### 1. 供試生物

海産魚類であるマダイ (*Pagrus major*) は熊本県の養殖施設から孵化後 8 ヶ月 (全長約 15 cm) の幼魚を 213 個体を入手した。このうち、90 個体を試験に供試した。

##### 2. 試験区

試験区は以下の様に設定した。

高 OTC 区 (500mg/kg/day) ・ 低 OTC 区 (50mg/kg/day) ・ 対象区

##### 3. 飼育と曝露方法

試料は 9 日間の馴化後、7 日間の OTC 投与を行い、その後 3 日間 OTC の投与なしで飼育した。曝露は、ペレット試料に OTC をまとうせ、これを給餌することで行った。

##### 4. アンプリコン解析ソフトウェア CRICAR の開発

CRICAR の開発は統計解析ソフト R (<https://cran.r-project.org>) (ver 3.3.2) を用いて行い、R shiny (<https://shiny.rstudio.com>) を用いて web アプリケーションを実装した。

#### 【結果】

##### 1. 曝露試験

曝露群間の餌の摂取量に変化はみられなかった。また、OTC 投与による成長 (体重・体長) ・ 外見の変化への影響は見られなかった。

##### 2. アンプリコン解析ソフトウェア CRICAR の開発

CRICAR のベータ版は <https://clickar.shinyapps.io/clickarbeta/> に公開しており、現在稼働中である。

#### 【Future Plan】

次年度では、本年度得られたマダイ試料から腸内容物を取り出し、次世代シーケンサーによってシーケンスし、腸内細菌組成と抗生物質投与による変化を明らかにする予定である。また、肝臓試料からはタンパク質を抽出して、MALDI-TOF MASS により肝臓内タンパク質を同定する。

#### 【研究成果】

本研究から得られた成果は下記の様に発表した。

**飯田 緑**、鈴木 美有紀、藤井 聡、山本 卓、鈴木 賢一：R ベースのゲノム編集解析アプリケーション:CLiCKAR, 第二回ゲノム編集学会, 大阪, 2017 年 6 月