

受入大学名	三重大学		
Host University	Mie University		
外国人研究者	ディエン アリスタ アンゴロワティ		
Foreign Researcher	DIEN ARISTA ANGGOROWATI		
受入研究者	岡崎 文美	職名	准教授
Research Advisor	OKAZAKI Fumiyoshi	Position	Associate Professor
受入学部/研究科	生物資源学研究科		
Faculty/Department	Graduate school of bioresources		

<外国人研究者プロフィール/Profile>

国籍	インドネシア
Nationality	Indonesia
所属機関	国立研究革新庁(BRIN)
Affiliation	National Research and Innovation Agency (BRIN)
現在の職名	研究員
Position	Researcher
研究期間	2022年 10月 10日 ~2023年 1月 7日 (90日間)
Period of Stay	90 days ( Oct. 10, 2022 - Jan. 7, 2023)
専攻分野	水圏生命科学
Major Field	Aquatic Bioscience



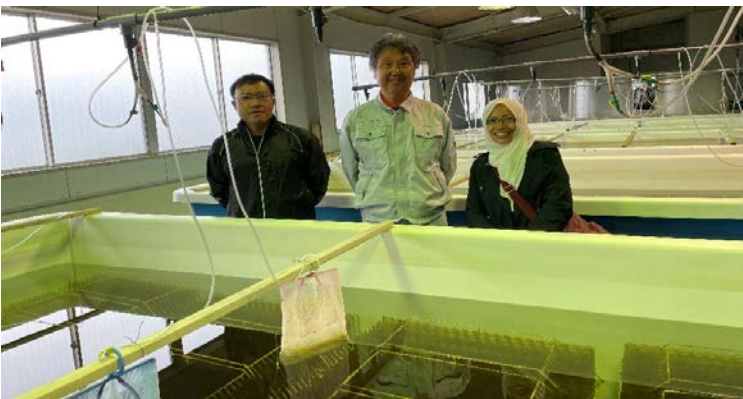
実験室内にて / In the laboratory

<外国人研究者からの報告/Foreign Researcher Report>

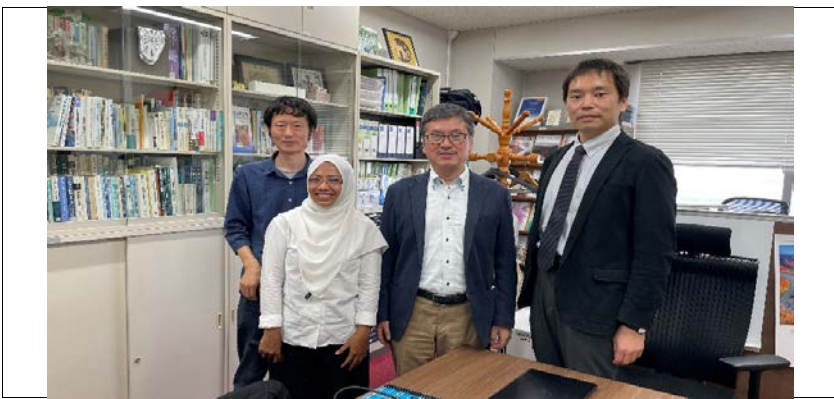
<b>①研究課題 / Theme of Research</b>
Abalone is one of the most important marine resources, however, due to changes in the marine environment, natural abalone resources have been declining worldwide, which has led to a rapid increase in aquaculture production in recent years. High-density rearing is necessary to increase production, but it also increases the risk of disease outbreaks. Therefore, the development of disease control technologies that do not rely on antibiotics and other substances is expected to be developed. We have previously shown that repeated fasting is effective in managing abalone rearing and reducing disease outbreaks. In the current study, we aimed to elucidate the effect of fasting and subsequent refeeding on the transcriptional profiles of disk abalone, <i>Haliotis discus discus</i> .
<b>②研究概要 / Outline of Research</b>
The abalone was supplied by the Nansei aquaculture seed production centre of Minami-Ise Town, Mie Prefecture, Japan. After acclimatisation, the initial weight and shell length were determined and the abalone were randomly distributed into three distinctive treatments with three replicates per treatment group: continuous feeding (CF), a repetitive cycle of 3-day fasting and 4-day re-feeding (PF), and no feeding (NF). We analysed growth rate and immune response parameters across groups and then we prepared total RNA from each treatment groups and used these samples for RNA-seq analysis using a next-generation sequencer.
<b>③研究成果 / Results of Research</b>
The hemolymph of abalone was withdrawn using a syringe of 1 mL from groups I (CF), II (PF), and III (NF). Total RNA extraction and isolation were conducted using TRIzol reagent, chloroform, and purification using a RNeasy mini kit (Qiagen). RNA quantification and qualification were analyzed using micro-cuvette spectrophotometer, Qubit 4, and gel agarose electrophoresis. RNA-seq analysis was carried out according to the manufacturer's protocol. In addition, I visited Nagoya University and the University of Shizuoka to give presentations at research exchange meetings attended by professors and students from Mie University, Nagasaki University and the University of Shizuoka.
<b>④今後の計画 / Further Research Plan</b>
I intend to conduct research in the abalone research development industry using probiotics bacteria and short-term fasting and refeeding treatment to prevent pathogenic bacteria. Additionally, I am interested to research the effect of microplastic on abalone quality products and how to reduce the amount of microplastic in the aquaculture ecosystem using microorganisms. Furthermore, as a BRIN representative, I initiate to make international research collaborations with Mie University, Nagoya University, the University of Shizuoka, and Nagasaki University in the future.

< 受入研究者からの報告/Research Advisor Report >

①研究課題 / Theme of Research
<p>「アワビ養殖技術開発－反復絶食下におけるクロアワビの遺伝子発現解析 (Effect of fasting and subsequent refeeding on the transcriptional profiles of disk abalone, <i>Haliotis discus discus</i>)」</p> <p>アワビ類は重要な水産資源の一つであるが、気候変動による海洋環境の変化により世界的にアワビ天然資源量が減少しており、その養殖生産量が急速に増大している。生産量を高めるには高密度飼育が必要となるが、同時に病害の発生リスクが高まる。これまでにDien A. Anggorowati研究員は、反復絶食（間欠給餌）がクロアワビの飼育管理および病害発生軽減に有効であることを明らかにした。本研究では、反復絶食の効果を遺伝子レベルで明らかにすることを目的とし、RNA-Seq解析を行った。</p>
②研究指導概要 / Outline of Research
<p>反復絶食（間欠給餌）によるクロアワビの遺伝子発現変動を解析するため、閉鎖循環式水槽を立上げ、絶食3日間および給餌4日間のサイクルを繰り返す反復絶食試験区（PF）、飽食給餌試験区（CF）および完全絶食試験区（NF）での飼育管理法を指導した。次いで、アワビ検体からのRNA抽出および定量法、品質解析法、RNA-seqにおけるデータ解析法について指導した。さらに魚介類共生細菌について16S rRNA遺伝子を指標とする次世代シーケンサによる細菌叢解析法の指導を行った。研究進捗は所属研究室で実施している毎週の研究報告会で報告し、教員および学生、研究員と議論するとともに、他の研究課題に対する見識を深めた。必要に応じて研究方法の修正指示および追加の技術指導を行った。実験と並行して留学時の研究成果に本研究成果を加えた学術論文原稿の作成を進め、随時、論文指導を行った。</p>
③研究指導成果 / Results of Research
<p>目的としたクロアワビの反復絶食条件における飼育を行い、各試験区のアワビ検体からRNA-seq解析に必要な量と品質のTotal RNAを抽出し、ライブラリ調製およびシーケンス解析を分析会社に依頼した。シーケンスデータの解析についてはde novo RNA-Seq解析の手法を体得した。さらに次世代シーケンサによる細菌叢解析法に関する指導を受けるなど、これまでの生化学的解析法に加え、新たに先端の遺伝子解析に必要な知識と技術を得た。今後、得られたシーケンスデータを解析する。これにより反復絶食の効果を遺伝子レベルで明らかにし、国際共著論文として発表する。インドネシアは海洋国家であり水産養殖は基幹産業である。そのため、本制度により修得した先端の遺伝子解析技術を活用し、インドネシアの養殖技術開発の発展に貢献することが期待できる。</p>
④留学生交流事業の活動状況 / Activities of International Student Exchange Program
<p>これまでに名古屋大学工学研究科および静岡県立大学、南伊勢町南勢種苗センター、静岡県のマリンオープンイノベーション機構（MaOI）等の機関を訪問した。研究に使用したクロアワビ検体は南伊勢町南勢種苗センターから分譲頂き、訪問時に施設見学を行った。さらにアワビ類の種苗生産技術の現状と課題について議論するなど技術交流を行った。留学時に共同研究を行っていた名古屋大学工学研究科においては、水産養殖に関する微生物解析および代謝物解析に関する技術指導を受けた。静岡県立大学においては、三重大学および長崎大学を加えた三研究室による合同セミナーに参加した。各訪問先機関においては、インドネシアにおける水産養殖の現状と課題、所属研究機関であるBRINの研究開発の取り組みに関する講演を行った。プレゼンテーションと議論を行うことにより、相互理解や国際的視野の広がりが得られた。</p>
⑤今後の計画 / Further Research Plan
<p>本研究で得られたシーケンスデータの解析をさらに進めるため、ネットワークを活用した指導を継続する。解析に必要な計算機リソースへはVPN接続し、同時にオンラインミーティングによりリアルタイムな研究指導を行う。さらに、本研究で得られたデータに基づく国際共著論文の指導を継続する。現在、Dien A. Anggorowati研究員が所属するBRINと共同研究を行っていることから、訪問した際に現地でのフォローアップを行うことを計画している。さらに、養殖技術開発に関する新たな共同研究の提案に向けた議論を開始した。</p>



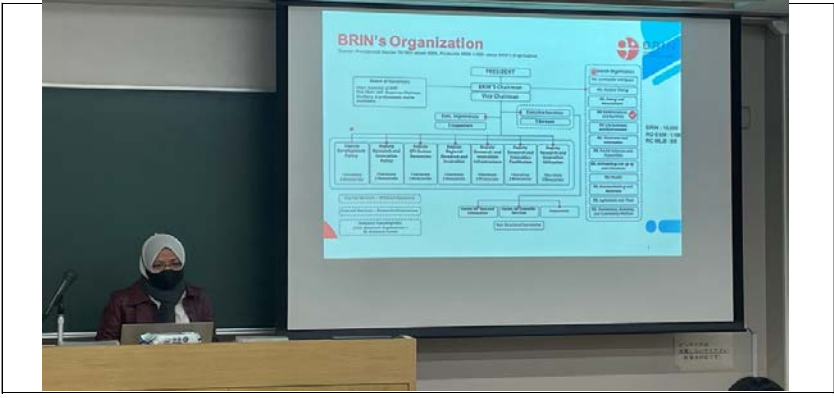
南勢町南勢種苗センターにて / In the Nansei aquaculture



名古屋大学 工学研究科 堀研究室にて / In the Prof. Hori Lab.,



静岡県立大学にて(ポスター発表)  
/ In the University of Shizuoka (Poster presentation)



静岡県立大学にて(口頭発表)  
/ In the University of Shizuoka (Oral presentation)