

令和 3 年 5 月 31 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (特設分野研究)

研究期間：2017～2020

課題番号：17KT0027

研究課題名(和文) サンゴ“ホロビオント”成立・維持機構の構成的理解

研究課題名(英文) Understanding mechanisms of establishment and maintenance of coral holobiont

研究代表者

新里 宙也 (Shinzato, Chuya)

東京大学・大気海洋研究所・准教授

研究者番号：70524726

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 10,600,000円

研究成果の概要(和文)：サンゴは、宿主動物の造礁サンゴと共生している藻類が共生し、あたかも一つの生物、ホロビオントとして生存する。本研究では、サンゴと褐虫藻のゲノム情報を活用し、複雑なサンゴ“ホロビオント”構成原理の解明に挑んだ。サンゴ幼生への褐虫藻培養株の感染実験と網羅的遺伝子発現解析により、共生に関わるサンゴの遺伝子群を特定した。これらの機能推定や進化的背景が明らかになり、多様なサンゴの共生メカニズムの存在が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

異なる褐虫藻感染株をサンゴ幼生へ感染させて、サンゴの遺伝子発現変動を網羅的に解析・比較することで、サンゴと褐虫藻の共生に重要な、サンゴの遺伝子群を特定することができた。これらのいくつかは、特定のサンゴ分類群で遺伝子重複により独自に誕生しており、サンゴの多様な共生メカニズムの存在が示唆された。さらにサンゴから単離された褐虫藻株、褐虫藻との共生様式が異なるサンゴの全ゲノム解読を行い、サンゴと褐虫藻の共生メカニズムをゲノム科学的に多方面から解析する研究基盤を構築した。

研究成果の概要(英文)：Corals are a symbiotic combination of reef-building corals and symbiotic algae (zooxanthellae) that survive as if they were a single organism, the holobiont. In this study, we utilized the genome information of corals and zooxanthellae to elucidate the principles of complicated coral "holobiont". By infecting coral larvae with cultured strains of symbiotic algae and conducting comprehensive gene expression analysis, we identified a group of coral genes involved in symbiosis. The functional estimates and evolutionary background of these genes were clarified, suggesting the diversity of symbiotic mechanisms in corals.

研究分野：サンゴ礁生物学

キーワード：サンゴ 褐虫藻 共生 ゲノム

1. 研究開始当初の背景

サンゴ礁は、刺胞動物である造礁サンゴと、サンゴ細胞内の共生藻類（褐虫藻）が密接な相利共生関係を築くことで成立している。共生する褐虫藻が作り出す膨大な栄養（光合成産物）をサンゴは受け取り、炭酸カルシウムからなる骨格を形成し、海中に巨大な構造物であるサンゴ礁を作り出す。そこに多様な海洋生物が住み込むことで、地球上で有数の生物多様性の豊かさを誇る生態系を形成している。付着あるいは共生する微生物も含めて、あたかも一つの生物のように振る舞う様々な生命体は、まとめて「ホロビオント」という言葉で形容される。サンゴ礁生態系の豊かな生物多様性は、まさにサンゴと褐虫藻、ホロビオントの賜物である。

一方で、近年は温暖化などの地球規模の環境変動により、サンゴと褐虫藻の共生関係の崩壊、「白化現象」が頻発しており、2016年には日本を含む世界中で壊滅的な被害が報告されている(Nakamura, 2017 など)。サンゴ礁の消滅はサンゴの死にとどまらず、そこに生息する多様な生命の生息域の消滅も意味する。その一方で、サンゴと褐虫藻の共生メカニズムやその維持機構の分子メカニズムについては、未だ多くが謎のままである。

2. 研究の目的

我々は、世界で初めてサンゴの全ゲノム解読(Shinzato et al., 2011)、そして褐虫藻の全ゲノム解読(Shoguchi et al., 2013)を報告し、サンゴと褐虫藻両方のゲノム解析の研究基盤を整えた。そこで本課題では、サンゴと褐虫藻のゲノム情報を活用した解析や、新規のサンゴや褐虫藻のゲノム解読、サンゴと褐虫藻の共生を実験的に再現することで、サンゴと褐虫藻の共生、つまり「サンゴ・ホロビオント」がどのように成立・構成されているのか、その複雑な仕組みをゲノム科学的に解析し、サンゴ-褐虫藻共生系の分子メカニズムを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 褐虫藻と共生する前のサンゴ幼生を用いた、褐虫藻培養株の感染実験

褐虫藻との共生に関わっているサンゴの遺伝子群を特定するため、褐虫藻と共生する前のウスエダミドリイシ (*Acropora tenuis*) のプラヌラ幼生に、ミドリイシサンゴから単離された培養株を含む 3 つの異なる褐虫藻培養株を感染させ、6, 10, 14 日齢のプラヌラ幼生から RNA を抽出した (図 1A)。RNA 情報を次世代シーケンサーで解読し、ウスエダミドリイシの全ての遺伝子の発現変動を網羅的に解析して、培養株感染群間で比較した。

(2) サンゴから単離した褐虫藻培養株のゲノム解読 (A)

上の感染実験でも使用した、ミドリイシサンゴから単離された褐虫藻培養株、AJIS2-C2 (type A1; *Symbiodinium microadriaticum*) のゲノム DNA を次世代シーケンサーで解読し、ゲノム情報の再構築を行った。再構築したゲノム情報から、遺伝子領域の予測を行った。解読した褐虫藻ゲノムの代謝系酵素遺伝子のレパートリーについて、宿主であるミドリイシ属サンゴのゲノムと比較し、ホストと共生体で代謝経路の補完が見られるのか確認した。

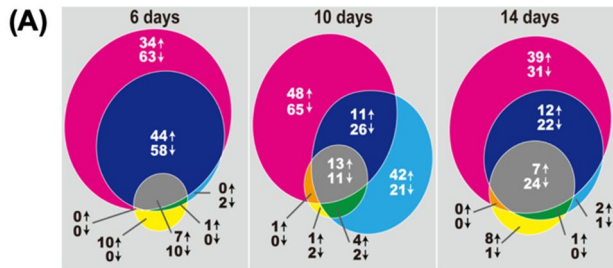


図1 異なる褐虫藻に対する、ウスエダミドリイシの遺伝子発現変動。(A) 3つの褐虫藻株感染に応答した、ウスエダミドリイシの遺伝子数。プラヌラ幼生の日齢ごとの結果を示す。桃色の円が、ミドリイシサンゴから単離した褐虫藻培養株 (A1) 感染時に発現変動した遺伝子。ベン図の円の面積は、遺伝子数と対応する。(B) ウスエダミドリイシのゲノム上の糖輸送体とアミノ酸輸送体のクラスター。各遺伝子を矢印で示し、A1培養株の感染のみで発現変動した遺伝子は桃色で名前を記載。

(3) 褐虫藻との共生様式が異なるサンゴのゲノム解読を含む、比較ゲノム解析の基盤構築

これまでに我々は、世代ごとに環境中から新しく褐虫藻を獲得するミドリイシ属、ココビミドリイシ (*Acropora digitifera*) のゲノムを解読した(Shinzato et al., 2011)。ココビミドリイシに加え、さらに 14 種のミドリイシ属のゲノムを解読した。ミドリイシ属と同じくミドリイシ科に属するが、ミドリイシ属と対比的に、卵を通じて親の褐虫藻を受け継ぐコモンスンゴ属のゲノム、そしてミドリイシ科の中で系統的に祖先的なアナサンゴ属のゲノムを解読することで、比較ゲノム解析による共生遺伝子探索のための基盤を整えた。

4. 研究成果

(1) 褐虫藻と共生する前のサンゴの幼生を用いた、褐虫藻培養株の感染実験

自由生活型や、ミドリイシサンゴから単離された褐虫藻培養株に対するサンゴの遺伝子発現変動を比較した結果、これまでの先行研究の報告とは異なり、サンゴから単離された褐虫藻(type A1)、つまり本来の共生褐虫藻を感染させると、より多くの数のサンゴの遺伝子の発現変動が確認された(図1A)。本来の共生褐虫藻を感染させたときのみ発現変動したサンゴの遺伝子群を調べたところ、アミノ酸、糖、脂質の代謝を低下させている一方、これらを輸送する輸送体の遺伝子の発現が上昇していることが明らかになった。このことから、本来の褐虫藻が感染してきた時にだけ、サンゴは代謝を下げ、光合成産物の取り込みを含め、積極的に褐虫藻を利用していることが明らかになった。

さらに本来の共生褐虫藻が感染してきたときのみ発現が上昇した、共生に関わる可能性が高い遺伝子群、特に糖・アミノ酸輸送体やプロサポシン様、ノッチリガンド様遺伝子は、サンゴのゲノム上で遺伝子重複により誕生したことが明らかになった。興味深いことに、遺伝子重複でゲノム上でクラスターとして存在する遺伝子群の一部だけが、サンゴから単離された褐虫藻(type A1)感染時のみに発現変動しており、これらが実際に、褐虫藻との共生に関わっていると考えられる(図1B、図2)。例えば、ウスエダミドリイシのゲノム上に3つ並んで存在するノッチリガンド様遺伝子の2つ(g9, g10)は、本来の共生褐虫藻の感染時にのみ、褐虫藻との共生開始からの経過時間とともに遺伝子発現量が増加していた(図2)。これらのことから、サンゴのゲノム上での遺伝子重複によって生まれた遺伝子が、サンゴと褐虫藻の共生関係の遺伝子メカニズムに重要な役割を果たしていることが明らかになった。いくつかの遺伝子については、ミドリイシ属サンゴでのみ遺伝子重複が起こっていることから、サンゴの系統ごとに多様な、褐虫藻との共生の分子メカニズムが存在する可能性も示唆された。

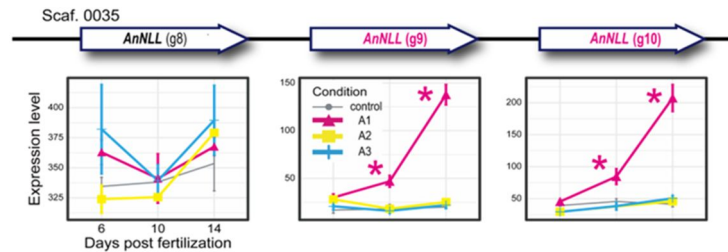


図2 異なる褐虫藻培養株に対する、ウスエダミドリイシのノッチリガンド様遺伝子の遺伝子発現変動。ウスエダミドリイシのゲノム上に3つの遺伝子(矢印)が隣接して存在することを上に示している。矢印内の遺伝子名が桃色の2遺伝子(g9, g10)は、サンゴから単離された褐虫藻培養株(A1)感染でのみ遺伝子発現が増加した。下に遺伝子発現量の変化を折れ線グラフで示す。*は他の褐虫藻株感染時と比較して、有意に遺伝子発現量が高いことを示す。

例えば、ウスエダミドリイシのゲノム上に3つ並んで存在するノッチリガンド様遺伝子の2つ(g9, g10)は、本来の共生褐虫藻の感染時にのみ、褐虫藻との共生開始からの経過時間とともに遺伝子発現量が増加していた(図2)。これらのことから、サンゴのゲノム上での遺伝子重複によって生まれた遺伝子が、サンゴと褐虫藻の共生関係の遺伝子メカニズムに重要な役割を果たしていることが明らかになった。いくつかの遺伝子については、ミドリイシ属サンゴでのみ遺伝子重複が起こっていることから、サンゴの系統ごとに多様な、褐虫藻との共生の分子メカニズムが存在する可能性も示唆された。

(2) 褐虫藻との共生様式が異なるサンゴのゲノム解読

ミドリイシサンゴから単離された褐虫藻培養株のゲノムを解読し、692 Mbpのゲノム配列(N50 size: 151 kbp)、そこから約4万2千個の遺伝子を特定した。これらの遺伝子から、代謝系酵素遺伝子のレパートリーを特定し、宿主であるミドリイシ属サンゴのゲノムと比較した。サンゴのゲノムには存在しない代謝経路に関わる様々な酵素の遺伝子を、褐虫藻はゲノムに持ち、サンゴと褐虫藻の栄養成分を補い合う相補的な関係性が、ゲノム解読からも垣間見ることができた。

(3) ミドリイシ科のゲノム解読

ミドリイシ属15種と、コモンサンゴ属2種、アナサンゴ属1種の、計18種のミドリイシ科のサンゴのゲノムを解読した。ほとんどのサンゴ種において、良好な精度のゲノムの再構築を行うことができた(N50 size: 1 Mbp超)。最初にゲノムを解読したコクビミドリイシについても、より精度の高いゲノム情報を得ることができた。18種のサンゴ、それぞれから約2万2千~2万5千個の遺伝子を予測し、サンゴと褐虫藻の共生メカニズムをゲノム科学的に多方面から解析する研究基盤を構築することができた。

ミドリイシ属の中で進化速度の速い遺伝子は、それぞれの種で多様な環境への適応に関わっている可能性がある。ミドリイシ属から、35個の進化速度の速い遺伝子候補を特定した。そのうちの2つの遺伝子は、上の(1)で行ったサンゴ単離褐虫藻A1の感染でのみ遺伝子発現が変動しており、実際に共生に関わっていることが考えられる。このことから、ミドリイシ属内でも多様な褐虫藻との共生の分子メカニズムが存在する可能性が示唆された。

< 引用文献 >

- Nakamura, T. (2017). *Journal of the Japanese Coral Reef Society*, 19 (1), 29-40.
 Shinzato, C., et al. (2011). *Nature*, 476 (7360), 320-323.
 Shoguchi, E., et al. (2013). *Curr Biol*, 23 (15), 1399-1408.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件 / うち国際共著 4件 / うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 Shinzato Chuya, Khalturin Konstantin, Inoue Jun, Zayasu Yuna, Kanda Miyuki, Kawamitsu Mayumi, Yoshioka Yuki, Yamashita Hiroshi, Suzuki Go, Satoh Noriyuki	4. 巻 38
2. 論文標題 Eighteen Coral Genomes Reveal the Evolutionary Origin of Acropora Strategies to Accommodate Environmental Changes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Biology and Evolution	6. 最初と最後の頁 16 ~ 30
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/molbev/msaa216	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yoshioka Yuki, Yamashita Hiroshi, Suzuki Go, Zayasu Yuna, Tada Ipputa, Kanda Miyuki, Satoh Noriyuki, Shoguchi Eiichi, Shinzato Chuya	4. 巻 13
2. 論文標題 Whole-Genome Transcriptome Analyses of Native Symbionts Reveal Host Coral Genomic Novelty for Establishing Coral-Algae Symbioses	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Genome Biology and Evolution	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/gbe/evaa240	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計12件（うち招待講演 7件 / うち国際学会 5件）

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	山下 洋 (Yamashita Hiroshi) (00583147)	国立研究開発法人水産研究・教育機構・水研機構(長崎)・主任研究員 (82708)	
研究分担者	將口 栄一 (Shoguchi Eiichi) (90378563)	沖縄科学技術大学院大学・マリンゲノミクスユニット・研究員 (38005)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	安岡 有理 (Yasuoka Yuuri) (70724954)	国立研究開発法人理化学研究所・生命医科学研究センター・研究員 (82401)	
研究分担者	鈴木 豪 (Suzuki Go) (30533319)	国立研究開発法人水産研究・教育機構・水研機構(長崎)・主任研究員 (82708)	
研究分担者	座安 佑奈 (Zayasu Yuna) (50746691)	沖縄科学技術大学院大学・マリングレノミックスユニット・研究員 (38005)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関