

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 9 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K06364

研究課題名(和文) ヒドラ属の比較ゲノミクスによる栄養獲得戦略の進化と種分化の解明

研究課題名(英文) Comparative genomics of metabolic strategies and speciation in genus Hydra.

研究代表者

濱田 麻友子 (Hamada, Mayuko)

岡山大学・自然科学学域・准教授

研究者番号：40378584

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では動物における適応と種分化のメカニズムを明らかにするため、種によって異なる栄養獲得戦略を取るヒドラを用いて、刺胞動物間および近縁種間の比較ゲノム解析を行った。ヒドラ属には、共生クロレラと栄養面で相利関係にあるグリーンヒドラと、捕食性で比較的大型のブラウンヒドラが存在し、これらのゲノムにはそれぞれ別の生存戦略が反映されていると考えられる。本研究ではグリーンヒドラとブラウンヒドラのゲノムにおけるレトロトランスポゾンの分布の差、自然免疫系遺伝子の増加・複雑化、Homeobox 遺伝子など体制に関する遺伝子の段階的縮小を示し、ゲノムから見た系統進化・種分化の実態を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒドラは飼育が簡単で、シンプルな体制や高い再生能力を持つことから発生・再生生物学の実験動物として使われているが、中でもグリーンヒドラは藻類を共生させ代謝産物を交換するユニークな性質を持つ。本研究で明らかにしたグリーンヒドラゲノムは、発生・再生生物学だけでなく、進化生物学や生体制御学などの有用な情報基盤となる。また、その動物・藻類共生系における知見はサンゴの白化現象のような環境問題への対策や、マイクロ閉鎖生態系における効率的な物質循環システムの絶好のモデルともなり得る。

研究成果の概要(英文)：To elucidate the mechanisms of adaptation and speciation in animal evolution, we performed comparative genome analyses among cnidarians and between closely related species using hydras, which have different nutritional acquisition strategies depending on the species. The genus Hydra includes green hydras, which established mutualistic relationship with the symbiotic Chlorella, and brown hydras, which are predatory and have relatively large body. Their genomes are thought to reflect different survival strategies. In this study, we show differences in the distribution of RNA transposons in the genome of green hydra compared to that of brown hydra, an increase in the number of genes and domain complexity of innate immunity genes, and a gradual loss of genes related to body plan such as homeobox genes, and clarify the phylogenetic evolution and speciation from a genomic perspective.

研究分野：進化生物学・ゲノム科学

キーワード：共生 進化 ゲノム 刺胞動物 ヒドラ クロレラ

1. 研究開始当初の背景

生物は環境に応じて、栄養をより効率的に獲得するための様々な戦略を獲得してきた。その1つが他の生物との共生である。特に藻類との共生は、多くの生物で見られる普遍的な現象であり、その究極的な姿は植物における葉緑体であろう。また、サンゴやクラゲ、イソギンチャクなど固着性もしくは浮遊性で運動能力の低い刺胞動物では特に多くの種で藻類との共生が観察され、これらの動物の生態的繁栄に寄与してきたと考えられる。このホストと共生体の関係は相利共生で、共生藻はホストに光合成産物を栄養として与える一方、ホストは共生藻に窒素源や安全な生活環境を提供していると考えられている。このような相互関係の存在下では、ホストと共生体の共進化が種分化を加速させた可能性もある。

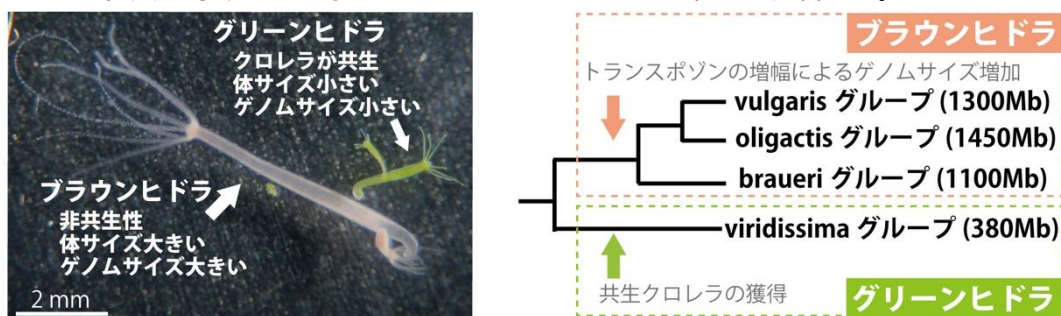
しかしながら、動物(ホスト)と藻類(共生体)がどのような相互作用を行い、どのような点で適応に利点をもたらしているのかに関する個々の現象の報告はあるが、断片的な知見にとどまっており、その普遍性は明らかではない。また、藻類との共生がいつに始まり、共生生活への適応によってどのように進化していったかの一連の過程は不明瞭である。さらに、非共生性の種においても何らかの別の戦略によって環境適応を果たしていると予想されるが、その知見は少ない。これはこれらの共生生物の多くが非モデル生物であり、分子生物学的実験が困難であることや、ゲノムの全貌が明らかになっている種が少なく、体系的な比較ゲノム解析が難しいことがひとつの原因である。

2. 研究の目的

本研究では、異なる栄養獲得戦略を持つ近縁種間の比較が可能で、分子生物学実験と比較ゲノム解析の両方に適した動物である刺胞動物ヒドラ属をモデルとして、生存戦略の適応進化と種分化を明らかにすることを目的とする。

ヒドラ属には、藻類共生性のグリーンヒドラグループと非共生性のブラウンヒドラグループが存在する(図1)。グリーンヒドラは細胞内に特定の共生クロレラを持ち、栄養面で相利共生の関係にあることが知られている。我々はこれまでに藻類共生性の種であるグリーンヒドラ *Hydra viridissima* A99 のトランスクリプトーム解析とその共生クロレラ *Chlorella* sp. A99 のゲノム解読によって、ヒドラ-共生藻間の栄養交換の協調的な相互作用や、代謝系遺伝子の欠失や重複を明らかにしてきた⁽¹⁾。一方、ブラウンヒドラは非共生性・肉食性で、グリーンヒドラに比べて体が大型で捕食能力が高い。また、グリーンヒドラのゲノムサイズは350Mbp程度なのに対して、ブラウンヒドラは1Gbpを超えており、これはトランスポゾンの挿入と転移による増幅によるものであるとされている⁽²⁾。近縁種間においてゲノムサイズと体のサイズは正の相関があることが報告されており⁽³⁾、トランスポゾンの増加が体サイズの大型化と高い捕食能力に繋がった可能性もある。

そこで本研究では、ブラウンヒドラとグリーンヒドラや他の刺胞動物との比較ゲノム解析を行い、適応と種分化の進化を考察した。特に栄養獲得戦略に直接的に関与していると考えられる代謝系、光合成関連遺伝子や、生体防御や共生関係の維持に関与していると考えられる免疫系遺伝子における遺伝子重複、欠失、水平伝播に着目した。さらに、ブラウンヒドラグループでのゲノムサイズの拡大に寄与したと考えられるトランスポゾンの進化にも注目した。



グリーンヒドラとブラウンヒドラ

グリーンヒドラは細胞内にクロレラを共生させており、相利共生の関係にある。ブラウンヒドラは大型で捕食能力が高い。

ヒドラ属の系統関係とゲノムサイズ

グリーンヒドラ系統とブラウンヒドラ系統の分岐後、グリーンヒドラ系統では共生クロレラを獲得した。ブラウンヒドラ系統ではトランスポゾンの挿入と重複によりゲノムサイズが増大した。

図1 藻類共生性のグリーンヒドラと捕食性のブラウンヒドラ

3. 研究の方法

グリーンヒドラゲノムは、Illumina Miseq および Hiseq を用いて解読した *H. viridissima* A99 系統のゲノム (ゲノムサイズ=284Mbp, N50=1.1Mbp の Scaffold 数=2677) と遺伝子モデル(21476 遺伝子)を用いた⁽⁴⁾。また、近年様々な刺胞動物のゲノムが解読されており、ヒドラ属においては2010年にブラウンヒドラの一種である *Hydra magnipapillata* のゲノムが解読されている⁽¹⁾。

加えて、同じ水母亜門ヒドロ虫綱の *Clytia hemisphaerica*⁽⁵⁾ と、鉢虫綱ミズクラゲ *Aurelia aurita*、箱虫綱ヒクラゲ *Morbakka virulenta*⁽⁶⁾ のゲノムを、花虫亜門では *Nematostella vectensis*⁽⁷⁾ とココビミドリイシサンゴ *Acropora digitifera*⁽⁸⁾ のゲノムが解読されており、比較解析にはこれらの情報を用いた。

グリーンヒドラとブラウンヒドラのゲノム中のリピート配列の比較には RepeatScout と RepeatMasker を用いた。刺胞動物間の遺伝子構成の比較は BLAST および OrthoFinder による相同性検索の他、HMMER による Pfam ドメイン検索を行い、特にボディサイズやボディプランに関する転写因子、シグナル分子に注目した。

4. 研究成果

(1) グリーンヒドラ *H. viridissima* A99 とブラウンヒドラ *H. magnipapillata* のリピート配列ゲノム中のリピート配列の割合は *H. magnipapillata* が 57% を占めるのに対して、*H. viridissima* A99 は 37.5% 程度で、これは他の水母亜門の種と同程度であった (37~41%)。また、その内訳を見ると、DNA トランスポゾン (DNA/TcMar, DNA/hAT, DNA/CMC) の割合はこれら 2 種で同程度であった。一方、レトロトランスポゾンは *H. magnipapillata* のトランスポゾンの中でも大きな割合を占めるのに対し (LINE/L2: 7%, LINE/CR1: 8.4%)、*H. viridissima* A99 ではほとんど存在していないことが明らかになった (図 2)。グリーンヒドラ系統はヒドラ属の中でも初期に分岐したグループであり、ヒドラの祖先のゲノムは、*H. viridissima* ゲノムと同様のレトロトランスポゾンの少ない比較的コンパクトなゲノムであったと予想される。また、ブラウンヒドラ系統では、分岐後にレトロトランスポゾンの挿入と転移による増幅が起こり、ゲノムサイズが増大したと考えられる。

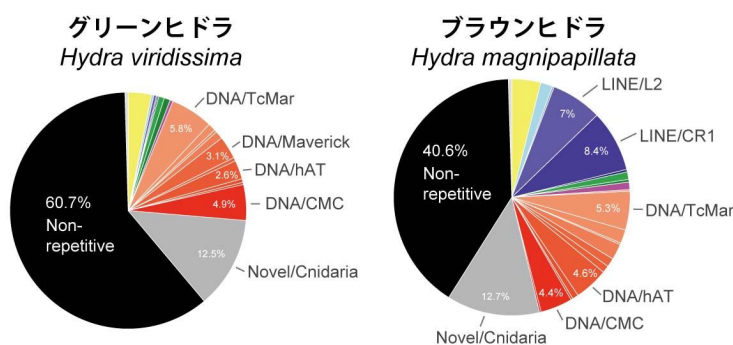


図 2 グリーンヒドラとブラウンヒドラのゲノムにおけるリピート配列。青～緑はレトロトランスポゾン、オレンジは DNA トランスポゾンを示す。グリーンヒドラゲノムにはレトロトランスポゾンがほとんど存在しない。

(2) グリーンヒドラ *H. viridissima* A99 に多く見られる遺伝子群

グリーンヒドラの遺伝子構成の特徴を明らかにするため、*H. viridissima* A99 ゲノム特異的に多く見られる遺伝子群を相同性検索およびドメイン検索で探索した。その結果、異物認識受容体として知られている Nod-like 受容体遺伝子のような自然免疫系遺伝子が特異的に多く見られ、さらにそのドメイン構造が複雑化していることがわかった。これまでに我々は、このような自然免疫系遺伝子の大規模重複と構造の複雑化はサンゴでも見られることを報告しており⁽⁹⁾、共生性になんらかの関係があると考えられる。一方、Nod-like 受容体のリガンド結合部位 (異物認識部位) であるリピート構造は、サンゴなどでは leucine-rich repeat (LRR), tetratricopeptide repeats (TPR), WD40 repeats, ankyrin repeats (Ank) の 4 種が見られるが、ヒドラでは LRR タイプしか存在しておらず、他の 3 タイプの遺伝子はヒドラの系統で消失したと考えられる。このことで Nod-like 受容体が認識する対象 (異物など) がサンゴとヒドラで異なるかどうかは今後の課題であろう。

(3) 転写因子・シグナル分子

刺胞動物においても転写因子・シグナル分子がボディプランの形成に重要な役割を果たしており、例えば Wnt 遺伝子は口側反口側の軸形成に重要な役割があることが知られている。また、体サイズのコントロールには、Wnt, Insulin, TGF-beta シグナル伝達経路の関与が知られており、これらの機能障害によって体サイズが変わることが報告されている⁽¹⁰⁾。本研究では、グリーンヒドラとブラウンヒドラの体サイズの違いや、刺胞動物におけるヒドラの体制に関する遺伝子の特徴を明らかにするため、転写因子・シグナル分子遺伝子に着目し、特にボディプランに深く関わっていることが知られる Homeobox・Para-Hox 遺伝子に関しては特に詳細に解析を行った。

まず、Pfam ドメインサーチを利用してホメオドメイン、ジンクフィンガー、ヘリックス・ループ・ヘリックス、ロイシンジッパー、HMG ボックスなど転写因子に含まれるモチーフや、FGF, TGF-beta, STAT, Wnt など主要なシグナル分子を探索したところ、主要な遺伝子はほぼ存在していたが、転写因子に関しては AT_hook, Hairly-orange が、シグナル因子に関しては Interleukin 3 ファミリーがヒドラでは欠失していた。

Homeobox・Para-Hox 遺伝子に関しては ANTP (HOXL と NKL), PRD, LIM, POU, PROS, SINE, TALE, CERS, ZF に属する個々の遺伝子を双方向相同性検索で探索した。刺胞動物の綱間で比較すると、そのレパートリーは花虫亜門>水母亜門・鉢虫綱、箱虫綱>水母亜門・ヒドロ虫綱の順で少なくなっていた。HOXL, NKL グループの遺伝子は花虫亜門と比べて水母亜門で少なく、特に NKL グループの遺伝子はヒドラ属で少なく、染色体上のクラスター構造も見られない。以上のことから、これら Homeobox 遺伝子は水母亜門の系統で段階的にゲノムから失われていったと考えられ

る。HOXL, NKL グループの遺伝子のいくつかは花虫亜門 *Nematostella vectensis* では咽頭や腸間膜の一部に発現していることが報告されている。ヒドラにはこれらの構造は存在しないことから、これらの遺伝子の欠失は、体構造の単純化を反映したものであると考えられる。

以上のように、本研究ではグリーンヒドラゲノムの他の刺胞動物との比較ゲノム解析によって、グリーンヒドラではブラウンヒドラと違いレトロトランスポゾン挿入・転移による増幅は見られず、刺胞動物の基盤的な状態を保持していること、自然免疫系遺伝子の増加とドメイン構造の複雑化が見られ、これはサンゴにも見られる藻類共生性刺胞動物の共通点であること、Homeobox 遺伝子など体制に関する遺伝子の水母亜門～ヒドラ属で段階的に縮小しており、これは体制の単純化の過程を反映していると考えられること等(図3) ゲノム進化から見た系統進化・種分化の実態を示した。一方、*H. viridissima* A99 と *H. magnipapillata* では体サイズが大きく異なるにも関わらず、ボディプランに関わることが知られている転写因子やシグナル分子の遺伝子レパ

ートリーはほぼ同一で、これらの遺伝子構成が体サイズの違いの原因ではないという結論に至った。今後はブラウンヒドラとグリーンヒドラ間の調節領域やメチル化状態など、遺伝子発現調節メカニズムの違いを比較する必要があるだろう。

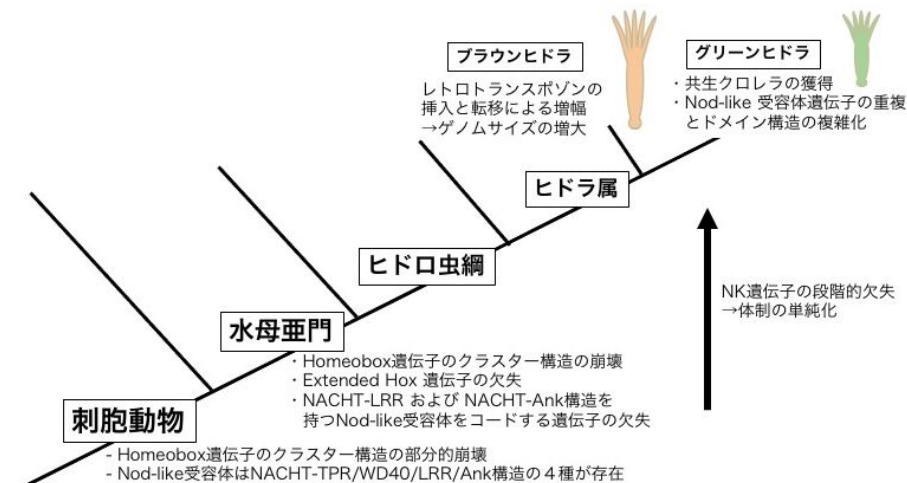


図3 刺胞動物ヒドラ系統の進化の過程

以上の結果の一部は Hamada et al. A Reference Genome from the Symbiotic Hydrozoan, *Hydra viridissima*. G3 (Genes/Genomes/Genetics) 10, 3883-3895 (2020) に掲載された。また、*H. viridissima* A99 ゲノム配列、遺伝子モデルは DDBJ/ENA/GenBank (BioSample ID: SAMN09635813, BioProject ID: PRJNA480404) と OIST Marine Genomics Unit Genome Project のウェブサイト (https://marinegenomics.oist.jp/hydraviridissima_A99) に登録し、利用可能である。

< 参考文献 >

(1) Hamada et al. eLife 7, e35122, 2018. (2) Chapman et al. Nature 25,592-596, 2010. (3) Gregory et al. Heredity 84, 201-208, 2000. (4) Hamada et al. G3 (Genes/Genomes/Genetics) 10, 3883-3895, 2020. (5) Leclère et al. Nat Ecol Evol 3, 801-810, 2019. (6) Khalturin et al. Nat Ecol Evol 3, 811-822, 2019. (7) Putnam et al. Science 317, 86-94, 2007. (8) Shinzato et al. Nature 476, 320-323, 2011. (9) Hamada et al. Mol Biol Evol 30, 167-176, 2013. (10) Mortzfeld et al., Nat Commun 22, 3257, 2019.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Hamada Mayuko, Satoh Noriyuki, Khalturin Konstantin	4. 巻 10
2. 論文標題 A Reference Genome from the Symbiotic Hydrozoan, Hydra viridissima	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 G3 Genes Genomes Genetics	6. 最初と最後の頁 3883 ~ 3895
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1534/g3.120.401411	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 御代川 涼、小早川 義尚、濱田 麻友子、楠見 淳子	4. 巻 13
2. 論文標題 緑藻はどのようにヒドラと共生してきたか	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 植物科学の最前線	6. 最初と最後の頁 13 ~ 30
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.24480/bsj-review.13a3.00221	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6件（うち招待講演 5件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 濱田麻友子
2. 発表標題 刺胞動物グリーンヒドラとクロレラの共生をゲノムから探る
3. 学会等名 日本共生生物学会 第4回大会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 HAMADA, M., KHALTURIN, K., SHINZATO, C., SCHROEDER, K., BOSCH, T. C. G., AND SATOH, N.
2. 発表標題 GREEN HYDRA GENOME: CHARACTERISTICS AND EVOLUTION OF BASAL AND SYMBIOTIC HYDRA
3. 学会等名 Hydra Meeting 2019, At the roots of bilaterian complexity: Insights from early emerging metazoans (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 濱田麻友子
2. 発表標題 淡水性刺胞動物ヒドラとクロレラの共生：ゲノムから共生関係とその進化を考える
3. 学会等名 共生起源研究会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 濱田麻友子
2. 発表標題 原始後生動物の生存戦略を探る：刺胞動物と藻類の共生ゲノム進化
3. 学会等名 日本比較内分泌学会 第43回大会 若手企画シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 濱田麻友子
2. 発表標題 刺胞動物と藻類の共生ゲノム解析：ヒドラとクロレラの深い関係を探る
3. 学会等名 日本動物学会 第89回大会 シンポジウム（北海道胆振東部地震のため紙面開催のみ）（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Mayuko Hamada
2. 発表標題 Genome analysis reveals interactions and evolution in Hydra-Chlorella symbiosis
3. 学会等名 The 4th Asian Congress of Protistology（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

〔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
研究協力者	ボッシュ トマス (Bosch Thomas CG)	キール大学・動物学教室・教授	

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			
ドイツ	キール大学			