

令和 2 年 7 月 1 日現在

機関番号：18001

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2018～2019

課題番号：18H05871・19K21052

研究課題名（和文）イシサンゴの有機無機プロセスを統合する骨格形成様式の解明

研究課題名（英文）Elucidation of mode of the skeleton formation that integrates the organic-inorganic processes of hard corals

研究代表者

千徳 明日香（SENTOKU, ASUKA）

琉球大学・理学部・助教

研究者番号：00722802

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、南西諸島を中心とした水深100-400mの生息場の調査やサンプリングを行った。骨格分析に関しては、各種顕微鏡、SEM、EDXなどを用いて詳細に観察した。その結果、単体とされていたサンゴ種は、環境に応じて群体を形成する高い形態学的可塑性を有し、単体または群体が深海イシサンゴ類において頑丈な分類形質ではない可能性を示唆した。サンゴ生体は複数の時計遺伝子の存在を確認した。今後はサンゴ骨格の続成作用を踏まえた骨格微細構造解析と、同位体測定などの地球化学的分析を組み合わせた研究方法により、高解像度の古環境復元を行うことを予定している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでのイシサンゴの成長線研究は、古水温変動や時間軸を読み取るツールとして、その示相性や示準性に重きがおかれてきた。しかし、本研究は日輪といった微小スケールの成長線が、実は石灰化における造骨細胞などの日周活動と対応可能であることに注目し、微細な骨格構造から骨格形成時の細胞活動履歴を読み解く手がかりを得た。また、それを解き明かすため、褐虫藻との共生など成長線形成時の外因を可能な限り排除できる無性生殖由来の非造礁性サンゴを用いることは、従来のサンゴのバイオミネラリゼーション研究では成しえなかった新しい試みである。

研究成果の概要（英文）：In this study, samples were collected mainly in the sea around Nansei Islands at the range of 100 to 400 m. The skeletal analysis was observed in detail using various microscopes, SEM, and EDX. The results showed that coral species, which were previously considered to be solitary, possessed morphological plasticity that allowed them to form colonial in response to the environment. It is possible that solitary or colonial are not a robust taxonomic characteristic in deep-sea corals. In addition, circadian rhythmicity was detected in polyp activity, and circadian clock genes were identified. In the future, it will be possible to reconstruct temporal fluctuations in the ocean environment, based on analyses of the composition of the skeletons of deep-sea corals.

研究分野：層位古生物

キーワード：イシサンゴ 骨格形成 形態形成

1. 研究開始当初の背景

近年になり、有藻性サンゴの日輪に相当するような骨格短周期構造が、共生藻を持たない深海に生息する無藻性サンゴも形成されていることが明らかとなった。これらは、1日の環境変動が極めて小さい深海環境に生息しており、内因的な細胞生理現象が短周期の成長線形成を直接的に制御していると予想される。しかし、サンゴにおける細胞生物学的研究は、有性生殖由来の稚サンゴを用いる必要があるため、受精卵の取得が困難な深海サンゴではほとんど進展していなかった。しかし、申請者は成体の無藻性サンゴ個体に試薬を投与するとベールアウトという軟体部の骨格からの離脱現象が生じ、その軟体部から細胞学的研究にも耐えうる初期骨格が再形成されることを発見した。そこで、古生物学・鉱物結晶学的な視点だけでなく、それらと独立的に行われてきた分子生物学、時間生物学、細胞学などの方法論を取り入れた無藻性サンゴの体系的な研究によって、細胞活動の概日リズムに相当する短時間スケールの石灰化プロセスとそれらの周期構造形成様式の解明により、サンゴのバイオミネラリゼーションと古環境指標の新たな意義を提示するという着想に至った。

これまでの成長線研究は、古水温変動や時間軸を読み取るツールとして、その示相性や示準性に重きがおかれてきた。しかし、申請者は日輪といった微小スケールの成長線が、実は石灰化における造骨細胞などの日周活動と対応可能であることに注目し、微細な骨格構造から骨格形成時の細胞活動履歴を読み解く点が非常に独創的である。また、それを解き明かすため、褐虫藻との共生など成長線形成時の外因を可能な限り排除できる無性生殖由来の非造礁性サンゴを用いることは、従来のサンゴのバイオミネラリゼーション研究では成しえなかった新しい試みである。また、無性生殖に由来する試料を用いることは、一年に一度の有性生殖時期に限定的であったサンゴの発生学的研究を、必要に応じ常時行えるようになり、造礁性サンゴ研究においても非常に大きな波及効果がある。

2. 研究の目的

本研究ではサンゴの生体と骨格を用いた学際的研究により詳細な「骨格形成様式」の解明が期待されるが、その中でも次の点が特筆される。(1) サンゴ骨格中に、概日リズム、概日時計遺伝子、石灰化過程によって裏付けられた、1日刻みの目盛りを設定でき、超高精度の古環境指標を提供できる。(2) ミクロ-マクロ形態と短期-長期時間軸を含めた骨格形成様式の解明により、骨格構造と各時間リズムとの正確な対応関係や、極微小領域でのアラゴナイト結晶構造の仕組み、化学組成の不均質性、石灰化の分子機構、有機基質の役割を考慮した生体鉱化作用の解明にもつながる。その原理や方法論は、サンゴ以外での石灰化プロセスにも適用可能であり、関連分野の進展が大きく見込まれる。さらに、群体生物の構造的・発生学的な知見は、サンゴで代表される群体生物の形づくりの仕組みの解明に直結している。本研究が遂行されれば、地質学と生物学が有機的に融合した学際的分野の飛躍的な発展につながると考えられる。

3. 研究の方法

(1) サンプル採集(ドレッジ調査) 南西諸島を中心とした水深 100~400mの生息場の調査やサンプリング行い、採集した試料は無性生殖の実験と遺伝子解析用に使用した。

(2) 時間生物学的方法(生体リズム解析)・古生物学的方法(マーカー添加)

濾過海水を一定温度(13°C)、暗黒(赤外線照射)の恒常条件下でサンゴを飼育した。そして、「ポリプの膨縮」を、高感度 CCD カメラを用い長期間にわたって撮影、記録した。飼育に際し、1ヶ月~1年ごとに標識用 Sr を注入し、骨格の成長率を正確に測定した。

ポリプの状態を 30 分毎に「いくつかの段階に分類」して数値データ化し、周期性解析を行った。一定温度、明暗のサイクルを与えて、ポリプの状態を記録し、周期性の同調に光が関与するかどうかを調べた。

「概日リズムにおける自由継続周期」や「環境に同調した日周性」といった、ポリプの膨縮における「時間的な要素」を解析した。

(3) 古生物学的方法(骨格構造解析)

「骨格垂直要素」である壁と隔壁に注目し、その外部表面と内部構造を電子顕微鏡で精査し、「成長線のパターン解析(本数・強弱)」を行い(mm~ μ m スケール) さらにウェーブレット解析等を用いて、成長線形成の日・月・年周期を解析した。

骨格微細構造を電子顕微鏡で析し、骨格基本要素である「粒状結晶と繊維状結晶の存在様式(大きさや分布パターン)」を調べた(μ m スケール)。をとりわけ「成長先端部(石灰化の中心)」と「繊維状結晶」については、「原子間力顕微鏡(AFM)」を用い(Cuif et al., 2005)、「nm スケールでの構造解析」(=「粒状構造の把握」)を行った。さらにラマン分光分析により、骨格内有機物の分布パターンと、骨格微細構造の関係性を把握した。

(4) 分子生物学的手法 (遺伝子解析)

骨格形成に關与する遺伝子として、「炭酸脱水素酵素」,サンゴ骨格中に存在が確認されている「ガラクシン」に着目し,骨格形成に關与する「遺伝子のクローニング」を行った。

「概日時計遺伝子 (cry1,2 など)のクローニング」を行った。また,一斉放卵に關与すると考えられる光受容分子「クリプトクロム」(Levy et al., 2007: Science)にも着目している。

「造骨細胞を含む組織片を数時間おきに採集」し, RNA を抽出した(一定温度・明暗サイクル下/一定温度・暗黒条件下)。

「リアルタイム PCR 装置」を用いて上記「各遺伝子の発現パターン」を解析し,これらの分子が周期的に発現しているかどうかを検討した。

「遺伝子発現」と「骨格形成」ならびに「リズム解析」との対応関係の解明を目指す。

4. 研究成果

本研究では,南西諸島を中心とした水深 100~400mの生息場の調査やサンプリング(ドレッジ,採泥調査)を行うため,産業技術総合研究所,広島大学,三重大学の航海調査に参加し,数多くの無藻性イシサンゴの生体および骨格標本を採集した。採集した生体サンゴの一部を DNA, RNA 採取用に固定し,残りは水槽において継続して飼育している。

産業技術総合研究所が調査船第一開洋丸を用いて2018年7月に実施したGK18-1航海では,木下式グラブ採泥器を使用し,概ね等間隔で採集した宮古島・石垣島周辺海域103地点の底質試料を使用した。採集した試料は生物遺骸のみを地点ごとに分離・抽出し,ソーティングを行った。このうちイシサンゴ目においては属・種レベルまでの同定を行い,その構成種や分布と堆積環境の関係を考察した。その結果,イシサンゴは全103地点中63地点で採集され,採集水深の幅は63-1,488 mであった。採集されたサンゴ体の総個体数は約2400個であり,有藻性種は少なくとも7科11属,無藻性種は11科27属が認められた。

広島大学生物生産学部附属練習船の豊潮丸の航海実習A3航海は,2018年5月に薩南諸島海域の5地点からドレッジ,ソリネットを用いて海底堆積物を採集した。その結果,少なくとも脊椎動物門,軟体動物門,苔虫動物門,腕足動物門,節足動物門,海綿動物門,棘皮動物門,刺胞動物門の生物が確認された。刺胞動物門イシサンゴ目は,5地点すべてから採集され,6科19属24種の無藻性イシサンゴ類が確認され,採集された総個体数は3057個体,水深幅は41-255 mであった。

骨格分析に關しては深海サンゴ礁に生息する深海性イシサンゴを用い,サンゴの骨格形成様式,特に成長形態の変異の研究を進めた。これまで当該サンゴは単体として扱われてきたが,そのためひとつの個体から出芽が起こっている場合は一斉出芽などの不規則な出芽が起こった「偽群体」とされた。しかし,同一地点から得られた450個体以上の標本観察を行った結果,少なくとも76%は骨格に出芽痕が残されており,2-4世代の群体形成がなされている。実際に出芽部位の検証を行うと特定の原因と呼ばれる12か所からの顕著な出芽が認められた。このような出芽部位の限定は科の異なるキサンゴ科やピワガラシ科の複数のサンゴ種においても知られており,遺伝的な制約を示唆する。

出芽部位の観察では適した部位で断面や薄片を作成し,実体顕微鏡,偏光顕微鏡,SEM,EDXなどを用いて詳細に観察した。その結果,骨格表面にはマンガンなどの鉱物が被覆し黒く骨格が変色している。しかし,初生個体(原隔壁)と親個体間の微細構造の関係を観察すると,粒状結晶と繊維状結晶の存在様式が同じであり,両間に他の物質による明瞭な境界がないことが認められた。これらの結果は,当該サンゴは二次的に幼生が付着した偽群体ではなく,環境に応じて群体を形成する高い形態学的可塑性を有し,corallum型すなわち,単体または群体が深海イシサンゴ類において頑丈な分類形質ではない可能性を示唆している。

サンゴの生体と骨格を用いた学際的研究により詳細な「骨格形成様式」の解明を進めるため,遺伝子解析(時計遺伝子の確認)と無性生殖における骨格形成様式の解明に力点を置いた。

無藻性単体イシサンゴの軟体部の膨張・収縮を様々な組合せた明暗の外的光条件への呼応をモニタリングし,2乗ピリオドグラム法によって周期性を解析した結果,当該サンゴは,明確に光に応答していることが判明した。全暗条件下でも周期性を示すことから,時計遺伝子の存在が示唆される。リアルタイムPCR装置を用い,遺伝子解析を行った結果,複数の時計遺伝子(cycle, cryptochrome)の存在を確認した。確認された時計遺伝子を用い「各遺伝子の発現パターン」の解析を進めている。無性生殖における骨格形成様式に關しては,深海性単体サンゴ骨格の実体顕微鏡,偏光顕微鏡,SEM,EDXなどを用いて詳細に観察した。その結果,骨格表面にはマンガンなどの鉱物の被覆が認められ,これらを用いた骨格形成の成長速度の解析を行っている。今後はWebb教授の協力により,サンゴ骨格の続成作用を踏まえた骨格微細構造解析と,同位体測定などの地球化学的分析を組み合わせた研究手法により,高解像度の古環境復元を行うことを予定している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 兼子 尚知, 板木 拓也, 片山 肇, 味岡 拓, 徳田 悠希, 千徳 明日香	4. 巻 77
2. 論文標題 宮古島及び石垣島周辺海域からGK18-1航海で採取されたコケムシ類	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 地質調査総合センター速報	6. 最初と最後の頁 126-128
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 徳田悠希, 千徳明日香, 同前万由子, 板木拓也, 片山肇, 味岡 拓, 杉崎彩子, 鈴木淳	4. 巻 77
2. 論文標題 宮古島・石垣島周辺海域からGK18 - 1航海により採集されたサンゴ類	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 地質調査総合センター速報	6. 最初と最後の頁 129-131
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Sentoku, A., Tokuda, Y., Ezaki, Y., and Webb, G. E.	4. 巻 51 (2)
2. 論文標題 Modes of regeneration and adaptation to soft-bottom substrates of the free-living solitary scleractinian <i>Deltocyathoides orientalis</i>	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Lethaia	6. 最初と最後の頁 102-111
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1111/let.12228	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Okanishi, M., Sentoku, A., Martynov, A., Fujita, T.	4. 巻 274
2. 論文標題 A new cryptic species of <i>Asteronyx</i> Muller and Troschel, 1842 (Echinodermata: Ophiuroidea), based on molecular phylogeny and morphology, from off Pacific Coast of Japan	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Zoologischer Anzeiger	6. 最初と最後の頁 14-33
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1016/j.jcz.2018.03.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Dozen, M., Y. Tokuda, Y. Ezaki, A. Sentoku, A. Suzuki, K. Ikehara, H. Katayama, T. Itaki
2. 発表標題 Holocene distribution of azooxanthellate scleractinian corals off San' in district, Japan Sea.
3. 学会等名 13th International Symposium on Fossil Cnidaria and Porifera 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 千徳明日香, 徳田悠希
2. 発表標題 深海性イシサンゴ <i>Desmophyllum dianthus</i> の無性生殖様式と微細構造観察
3. 学会等名 日本動物学会第90回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大野 理恵, 千徳 明日香, 升本 眞二, 江崎 洋一
2. 発表標題 サンゴ科群体サンゴの群体形成過程のシミュレーション
3. 学会等名 日本サンゴ礁学会 第22回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 徳田悠希, 石黒泰弘, 江崎洋一, 千徳明日香
2. 発表標題 <i>Truncatoflabellum gardineri</i> 骨格に認められる破損・修復痕を用いた沖合軟底質上でのイシサンゴの捕食圧の解明
3. 学会等名 日本古生物学会2018年年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 千徳明日香, 徳田悠希, Gregory E. Webb
2. 発表標題 深海性イシサンゴの無性生殖様式と微細構造観察
3. 学会等名 日本地質学会第125年学術学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 千徳明日香, G. E. Webb, 徳田悠希
2. 発表標題 深海性イシサンゴ <i>Desmophyllum dianthus</i> の無性生殖による増殖様式
3. 学会等名 日本動物学会 第89回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 千徳明日香
2. 発表標題 南西諸島周辺の表層～中深層における無藻性イシサンゴの分布と多様性の解明
3. 学会等名 平成30年度公益信託「エスベック地球環境研究・技術基金」授与式(招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 同前 万由子, 徳田 悠希, 江崎 洋一, 千徳 明日香, 鈴木 淳, 池原 研, 片山 肇, 板木 拓也
2. 発表標題 山陰沖の日本海における無藻性イシサンゴの構成と分布
3. 学会等名 日本サンゴ礁学会 第21回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 千徳明日香, 徳田悠希, Gregory E Webb
2. 発表標題 タスマニア海山の深海性イシサンゴにおける骨格形態形成様式
3. 学会等名 東京大学大気海洋研究所研究シンポジウム「バイオミネラリゼーションと石灰化」, 第9回バイオミネラリゼーションワークショップ(招待講演)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 千徳明日香, 徳田悠希 (分担執筆)	4. 発行年 2018年
2. 出版社 国立科学博物館 自然と科学の情報誌milsiil (ミルシル) Vol.11 (1), 15-16	5. 総ページ数 35
3. 書名 海底に潜るイシサンゴ	

1. 著者名 朝倉彰 (監修) 河村真理子 (編集・執筆) 千徳明日香ほか10名 (分担執筆)	4. 発行年 2018年
2. 出版社 京都大学瀬戸臨海実験所・白浜水族館	5. 総ページ数 94
3. 書名 白浜海岸生物観察ガイド	

〔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
---------	---------------------------	-----------------------	----