

平成 30 年 5 月 22 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26290065

研究課題名(和文) ゲノム科学による南西諸島全域のサンゴ個体群の全容解明

研究課題名(英文) Understanding coral population structure using genomics analyses

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) 7,200,000円

研究成果の概要(和文)：生物多様性豊かなサンゴ礁が存在する南西諸島のサンゴの遺伝的集団構造を、ゲノム科学的手法を用いて明らかにすることを目的とした。南西諸島で普通に見られ、種の多様性が高いミドリイシ属サンゴの仲間、全ゲノムが解読されている種の沖縄周辺の詳細な集団構造を、ゲノムワイドなSNP情報により明らかにした。さらにゲノム情報と次世代シーケンサーから得られる膨大なDNA情報を活用して、多様なサンゴ種の集団構造を解析可能な汎用性の高い遺伝子マーカーの開発、それを使用した天然のサンゴの集団構造や養殖サンゴの遺伝的多様性の調査を行った。この方法は、他の海洋生物の遺伝子マーカーの開発や集団構造の解析にも応用された。

研究成果の概要(英文)：In this project we performed population genomics analyses of corals in Nansei Islands, southern-western Japan, where coral reefs around the area are regarded as a marine biodiversity hotspot. Firstly we investigated population structure of a coral *Acropora digitifera* whose genome was decoded. Taking advantage of the decoded genome and using genome-wide SNP analyses, we clarified the detailed population structure around Okinawa. In addition, using the coral genome data and big DNA sequencing data produced by next-generation sequencing technology, we developed molecular markers that could be used for studying population genetics of wide range of *Acropora* coral species. We investigated population structure of natural coral reefs and genetic diversity of farmed corals using the markers. These methods were also applied for development of molecular markers and studying population genetics of other marine organisms.

研究分野：ゲノム科学・サンゴ礁生物学

キーワード：サンゴ 集団遺伝 SNP ゲノム 南西諸島

1. 研究開始当初の背景

サンゴ礁は全ての海洋生物種の 30%の命を育むとも言われる、地球上で最も生物多様性の豊かな生態系の一つである。しかし温暖化などの地球規模での環境変動によって、サンゴ礁は危機に瀕している。世界のサンゴの約三分の一の種が絶滅の危機にあり、70%のサンゴ礁が消失の危機に曝されているとされる(Carpenter et al., 2008)。

およそ 200 の島々から構成され、約 1000km の長さにも及び南西諸島は、多様な海洋生物が数多く生息する海洋生態系のホットスポットとして知られている。その生物多様性の基盤となるサンゴの種数は約 400 にも及び、全世界の造礁サンゴ種の約 60%が確認される。これは世界自然遺産として保護されるオーストラリアのグレートバリアリーフにも匹敵する。しかし南西諸島のサンゴ礁生態系も例外ではなく、白化現象や海洋汚染などにより大打撃を受けてきた。さらにサンゴの生息北限を含む高緯度域に存在するため、環境変動の影響も受けやすいとも考えられる。現在サンゴの養殖や移植による人為的なサンゴ礁の回復を行う取り組みが行われている。遺伝的多様性が損なわれると、環境変化にサンゴの個体群は柔軟に対応できない可能性がある。持続的なサンゴ礁の維持のためにも、自然状態に近い形でのサンゴ礁の復元を目指すことが重要であり、サンゴの遺伝的多様性と遺伝的攪乱に配慮しなければならない。そのためにも、南西諸島の天然のサンゴ個体群の、集団遺伝学的に正確な知見が不可欠である。

2. 研究の目的

生物多様性豊かな南西諸島のサンゴ礁保護のためには、その豊かな生態系を科学的に評価する必要がある。そのためにはサンゴの遺伝的多様性と遺伝的分化、および加入パターンを正確に把握しなければならない。その実現のために、サンゴの遺伝情報を用いた集団遺伝学的解析が有効であると考えられる。そこで我々が解読したサンゴのゲノム情報を最大限活用し、最高精度の解析を行うことで南西諸島のサンゴ個体群の全貌解明を目指す。

一方で南西諸島には 400 種以上の造礁サンゴが生息しているとされる。南西諸島のサンゴ礁の全容を把握するためにも、様々な種の集団構造の情報の収集も行う。

3. 研究の方法

(1) 高精度のサンゴの集団ゲノム解析

全ゲノムが解読されているサンゴ、コユビミドリイシ(*Acropora digitifera*)を主な対象種として、一個体から膨大な量の DNA 上の塩基多型、SNP(Single Nucleotide Polymorphism)情報を取得する。沖縄県周辺の様々な地点(沖縄本島、慶良間諸島、八重山諸島)に生息するコユビミドリイシ

(*Acropora digitifera*)、計 155 個体を採捕してゲノム DNA を抽出し、それぞれの全ゲノムを、膨大な DNA 情報を得ることができる、いわゆる次世代シーケンサーと呼ばれる DNA 解析装置を用いて塩基配列を解読した。得られた塩基配列データを、解読されているゲノム情報と比較することで、それぞれのサンゴ個体からゲノムワイドに SNP を特定し、集団解析を行った。

(2) 様々な種のサンゴの集団遺伝解析

ミドリイシ属サンゴは、インド洋から太平洋にかけて最も一般的で多様性が高い造礁サンゴであり、現在までに 130 種以上報告されている。ミドリイシ属サンゴの様々な種の集団解析に広く使用可能な遺伝子マーカー(マイクロサテライトマーカー)を設計するため、ミドリイシ属の中で系統的に最も遠縁のグループに属する二種のサンゴ(コユビミドリイシとウスエダミドリイシ)のゲノムを、次世代シーケンサーを用いて比較し、系統的に離れている両方のサンゴで完全に保存されている DNA 領域に、マイクロサテライト領域を増幅する PCR プライマーを設計した。他にも様々なサンゴを含む海洋生物の DNA を次世代シーケンサーで解読し、その膨大なデータの中からマイクロサテライト領域を特定し、マイクロサテライトマーカーの開発を行った。

4. 研究成果

(1) コユビミドリイシの集団ゲノム解析

それぞれのコユビミドリイシ個体からゲノムワイドに SNP を特定し、質の高い約 90 万ヶ所の SNP を選抜して、沖縄周辺のコユビミドリイシの高解像度な集団解析を行った(雑誌論文 5)。その結果、地域ごと・島ごとの 4 つのグループ(沖縄本島、慶良間諸島、八重山南・北)に分けることができた(図 1)。わずか 30km ほどしか離れていない慶良間諸島と沖縄本島、そして八重山諸島でも南北に別れた。このことから、コユビミドリイシの分散範囲は狭く、生息範囲の拡大は遅い可能性が示唆された。もしくは広い海域にコユビミドリイシの幼生が分散していたとしても、特定の地域の環境に適応できた個体のみが生き残り、結果的に地域ごとに DNA に差が出たのではないかと、つまり多様な環境に広く適応することは難しい、という可能性もある。これらのことから、沖縄周辺では一度失われたサンゴ礁が復活するのは、従来考えられているより時間がかかる可能性があると考えられる。それぞれの地域のサンゴ礁を保護することが、南西諸島周辺のサンゴ礁保護には重要だと考えられる。

(2) 多様なサンゴに使用可能な遺伝子マーカーの開発

南西諸島はじめ太平洋で普通に見られ、種が多様なミドリイシ属サンゴ種に幅広く使用可能なマイクロサテライトマーカーの開

発を行った。最も遠縁のグループに属する二種のミドリイシサンゴの両方で、ハーディー・ワインベルグ平衡から有意に逸脱しない14個のマーカークの開発に成功した(雑誌論文8)。このマーカークのミドリイシ属サンゴにおける汎用性を確認するため、実際に入手することができた25種のミドリイシ属サンゴのDNAを用いて、これらマーカークのPCRの増幅を確認した。実験で試した全ての種において、これらマーカークのPCRの増幅と、それらを用いた個体識別が可能なが確認できたことから、このマーカークはミドリイシ属サンゴに幅広く使用することができると思われる。

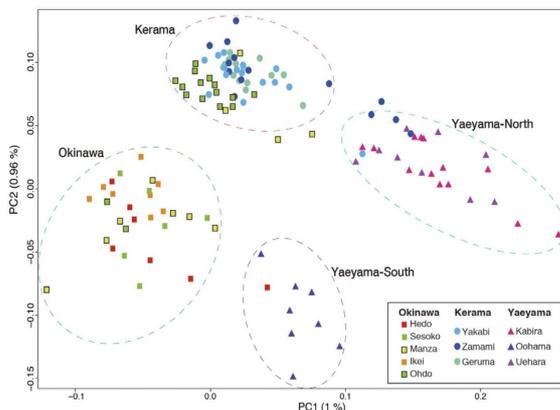


図1 沖縄周辺のコユビミドリイシの全ゲノム SNP データの主成分分析

(3) 様々なサンゴ種の集団遺伝・遺伝的多様性解析

南西諸島に普通に見られ、サンゴの養殖にも広く使われているミドリイシ属サンゴ、ウスエダミドリイシを対象に、南西諸島全域の集団遺伝学的解析を行った。上で述べた、我々が開発したミドリイシ属サンゴのマイクロサテライトマーカークを用いて、南西諸島全域から15地点、298のサンゴ群体を調査した(雑誌論文2)。その結果、自然界では主に有性生殖によってこのサンゴは繁殖していること、そして地理的な境界は存在しないにもかかわらず、南西諸島には少なくとも二つの遺伝的由来の異なる集団が存在することが分かった。その境界は曖昧で、グラデーションのような構造を取っており、従来考えられているよりも複雑な集団構造を取っている可能性が示唆された(図2)。ミドリイシ属サンゴ以外にも、アザミサンゴ(*Galaxea fascicularis*)において次世代シーケンサーを用いてマイクロサテライトマーカークを開発し、南西諸島周辺の集団解析を行った(雑誌論文6,7)。この方法は、他の海洋生物のマイクロサテライトマーカークの開発にも応用することができた。

そして沖縄県で養殖されているウスエダミドリイシの遺伝的多様性を、開発したマイクロサテライトマーカークを用いて調べた。2つの養殖場で飼育されているウスエダミド

リイシを解析したが、我々が調べた南西諸島の天然の集団と比較して、遜色ないレベルの遺伝的多様性を保っており、近隣の天然の集団と同じ遺伝的集団に属することを明らかにした(雑誌論文1)。さらに養殖場で飼育しているサンゴの、大規模一斉産卵についても報告した(雑誌論文3)。

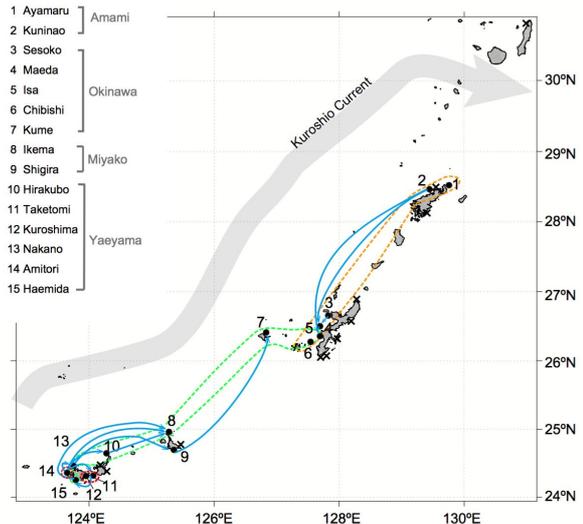


図2 開発した遺伝子マーカークを用いて明らかにした、南西諸島周辺のウスエダミドリイシの遺伝子流動

<引用文献>

Carpenter, K. E. et al. One-third of reef-building corals face elevated extinction risk from climate change and local impacts. *Science* 321, 560-563 (2008).

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

(雑誌論文)(計11件)

- ・ Zayasu Y, Satoh N, Shinzato C. Genetic diversity of farmed and wild populations of the reef-building coral, *Acropora tenuis*. (2018) *Restoration Ecology*. (査読有) doi: <https://doi.org/10.1111/rec.12687>
- ・ Zayasu Y, Nakajima Y, Sakai K, Suzuki G, Satoh N, Shinzato C. Unexpectedly complex gradation of coral population structure in the Nansei Islands, Japan. (2016) *Ecology and Evolution*. 6: 5491-5505. (査読有) doi: 10.1002/ece3.2296
- ・ Zayasu Y, Shinzato C. Hope for coral reef rehabilitation: massive synchronous spawning by outplanted corals in Okinawa, Japan. (2016) *Coral Reefs*. 35: 1295-1295. (査読有) doi: 10.1007/s00338-016-1463-7
- ・ Nakajima Y, Shinzato C, Khalturina M,

- Nakamura M, Watanabe H, Satoh N, Mitarai S. The mitochondrial genome sequence of a deep-sea, hydrothermal vent limpet, *Lepetodrilus nux*, presents a novel vetigastropod gene arrangement. *Marine Genomics*. 16: 30030-30037. (査読有) doi: 10.1016/j.margen.2016.04.005
- Shinzato C, Mungpakdee S, Arakaki N, Satoh N. Genome-wide SNP analysis explains coral diversity and recovery in the Ryukyu Archipelago. (2015) *Scientific Reports*. 5:18211. (査読有) doi: 10.1038/srep18211
- Nakajima Y, Zayasu Y, Shinzato C, Satoh N, Mitarai S. Genetic differentiation and connectivity of morphological types of the broadcast-spawning coral *Galaxea fascicularis* in the Nansei Islands, Japan. (2015) *Ecology and Evolution*. 6: 1457-1469. (査読有) doi: 10.1002/ece3.1981
- Nakajima Y, Shinzato C, Satoh N, Mitarai S. Novel Polymorphic Microsatellite Markers Reveal Genetic Differentiation between Two Sympatric Types of *Galaxea fascicularis*. (2015) *PLoS ONE*. e0130176. (査読有) doi: http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0130176
- Shinzato C, Yasuoka Y, Mungpakdee S, Arakaki N, Fujie M, Nakajima Y, Satoh N. Development of novel, cross-species microsatellite markers for *Acropora* corals using next-generation sequencing technology. (2014) *Frontiers in Marine Science*. 1:14. (査読有) doi: 10.3389/fmars.2014.00011

〔学会発表〕(計5件)

- 新里宙也・Mungpakdee Sutada・新垣奈々・佐藤矩行 ゲノムデータを用いた沖縄のコピミドリイシサンゴの集団解析 日本水産学会春季大会 2016年
- 新里宙也・Mungpakdee Sutada・新垣奈々・佐藤矩行全ゲノム SNP データを用いた沖縄のサンゴの集団ゲノム学解析 日本進化学会 2015年
- 新里宙也, 安岡由貴, Sutada Mungpakdee, 座安佑奈, 新垣奈々, 藤江学, 中島祐一, 佐藤矩行 次世代シーケンサーを用いたミドリイシ属サンゴに広く使用できるマイクロサテライトマーカーの開発 日本動物学会 2014年
- 新里宙也, 安岡由貴, Sutada Mungpakdee, 座安佑奈, 新垣奈々, 藤江学, 中島祐一,

佐藤矩行 次世代シーケンサーを用いたミドリイシ属サンゴに広く使用できるマイクロサテライトマーカーの開発 日本サンゴ礁学会 2014年

〔図書〕(計2件)

- 新里宙也 サンゴ礁の保全・再生へ、ゲノム科学からの新しい取り組み 「学術の動向」日本学術協力財団 3:92-95 日本学術協力財団 2017年
- 新里宙也 サンゴ礁の保全・再生へ、遺伝子解析からのアプローチ 「ていくおふ」ANA ホールディングス 146:12-19 2017年

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)
取得状況(計 0件)

〔その他〕

無し

6. 研究組織

(1) 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

(2) 研究分担者

酒井 一彦 (SAKAI, Kazuhiko)
琉球大学・熱帯生物圏研究センター・教授
研究者番号: 50153838

中島 祐一 (NAKAJIMA, Yuichi)

沖縄科学技術大学院大学・海洋生態物理学
ユニット・研究員
研究者番号: 50581708

(3) 連携研究者

無し

(4) 研究協力者

座安 佑奈 (ZAYASU, Yuna)
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
研究者番号: 50746691