

令和 5 年 6 月 26 日現在

機関番号：18001
研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化）
研究期間：2017～2022
課題番号：16KK0164
研究課題名（和文）オミックス解析による深場サンゴの共生崩壊メカニズム解明（国際共同研究強化）

研究課題名（英文）Breakdown of symbioses in mesophotic corals using omics approach (Fostering Joint International Research)

研究代表者
波利井 佐紀 (Harii, Saki)

琉球大学・熱帯生物圏研究センター・准教授

研究者番号：30334535

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 11,100,000円
渡航期間： 12ヶ月

研究成果の概要（和文）：近年、海洋熱波により浅場サンゴが死滅している。一方サンゴ礁深場（水深30m以深）は水温がより低く一部のサンゴの避難地として期待されている。基課題では浅場サンゴの回復の可能性を探るため深場サンゴを浅場に移植したところ白化し死滅した。本研究ではその要因について国際共同研究により分子・細胞学的に明らかにした。浅場遮光ありvs遮光なしのサンゴよりも浅場遮光ありvs深場の方がより多くの異なるタンパク質を発現していた。一方、褐虫藻遺伝子型は水深間で顕著な差はなかった。以上より移植サンゴの白化は強光に加え水温など複合要因が影響していることが示唆された。現在、主要タンパク質の性質と白化との関連を検討している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により異なる環境下でのサンゴ白化メカニズムの一端が解明され、将来、深場の避難地から浅場へのサンゴ幼生分散や移植を検討する上で重要な基礎的知見が得られた。また、本研究では琉球大学が位置する太平洋のサンゴ礁を拠点としたフィールド現象の理解につながる国際的な共同研究の枠組みを形成することができた。さらに、本事業で得られたネットワークを活かして日本学術振興会海外事業や本センター拠点形成費により海外研究者を招へいしたり、アメリカでの予算が採択されるなど、我が国の国際研究の継続、発展に貢献した。

研究成果の概要（英文）：To understand the potential shallow reef recovery from mesophotic depth, WE previously transplanted deep corals to shallow, however they died by bleaching. In this study, we studied molecular and cellular mechanisms of the bleaching to explain why the same species could not survive at shallow reefs. We performed this work with international collaborators who are all leaders in their expertise. Much more various and different proteins from coral hosts were expressed under the conditions between shade in shallow and original mesophotic depth than non-shade and shade conditions in shallow. However, algal genotypes did not differ between depths. It suggests that not only strong light but also the multiple stressors such as higher temperature may cause the bleaching of transplanted corals. Currently we are using these results to characterize in details the nature of the proteins involved to clarify the mechanisms underlying bleaching in corals.

研究分野：海洋生物学

キーワード：深場サンゴ礁 サンゴ 褐虫藻 共生 プロテオミクス メタゲノム解析

様式 F-19-2

1. 研究開始当初の背景

近年、サンゴ礁は気候変動等により急激に衰退している。特に海洋熱波による大規模な白化（サンゴと褐虫藻とよばれる藻類の共生が崩壊し、サンゴが白く見える現象）により、世界的に浅場サンゴ類が死滅している。一方、海洋のトワイライトゾーンであるサンゴ礁深場（水深 30m 以上）は高水温の影響を受けにくく、浅場群集のレフュジア（避難地）として期待されている。これまでに、私たちの研究グループではローカルに白化で死滅したトゲサンゴ *Seriatopora hystrix* について、同じ海域水深 40m で同種を発見した。サンゴ礁回復のためには、深場からの幼生が浅場に分散・加入しその環境へ適応することが重要である。これまでに基課題「サンゴ礁回復の鍵となるトワイライトゾーン：異なる水深間のサンゴ連結性と環境適応」では、(1) サンゴ幼体の鉛直加入構造と移植による適応過程、(2) 集団遺伝解析による鉛直的連結性、(3) 深場環境評価により深場-浅場サンゴ生態系の関係性を明らかにしてきた。その一環としてサンゴの移植による適応過程を検討したところ、水深 40m のトゲサンゴの成体や幼体が浅場では移植 1 ヶ月後には白化し死滅し、急激には順応できない可能性が示唆された。

2. 研究の目的

本研究では基課題の結果を受け、浅場にも生息可能なトゲサンゴが深場から浅場に移植した際になぜ白化したのか、その共生崩壊のメカニズムについて明らかにすることを目的とした。特に共生体内でどのようなことが起こっているのかを分子/細胞レベルでのメカニズムと、共生体としての環境耐性に重要な褐虫藻遺伝的タイプとの関連性について検討した。そのため、刺胞動物門の褐虫藻共生系を分子/細胞レベルでオミックス解析を取り入れて解明しているニュージーランドおよびアメリカの研究者ら、メタバーコーディング解析を用いて褐虫藻多様性研究で成果を上げているニュージーランド研究者と国際共同研究を行った。

3. 研究の方法

野外移植実験

野外試料は沖縄県瀬底島にて作成した。水深 40m よりトゲサンゴを数群体採取し、それぞれ 3 つに分けた。うち 2 つを浅場 3m に移植し 1 つは遮光あり、1 つは遮光なしの条件にして毎日観察を行った。残りの 1 つについては移植をしない元の水深 40m の試料とした。移植した群体については目視で遮光なしの試料が白化したことを確認した後にすべて引き上げ、白化・非白化のサンゴ試料を得た（図 1）。その後試料をエアピックにて軟体部を骨格より分離し、遠心分離にて宿主（サンゴ）と褐虫藻に分け液体窒素で急冷し、宿主試料を凍結乾燥させ -80°C にて冷凍保存した。また、深場から浅場に移植したサンゴの褐虫藻多様性が変化するかどうかを明らかにするため、移植したサンゴをエタノールにて固定しメタバーコーディング解析用の試料とした。



図 1 浅場に移植したトゲサンゴ（白化）

プロテオミクス解析

刺胞動物の共生と白化の研究を分子・細胞学的に進めている Oregon State University（アメリカ）と Victoria University of Wellington（ニュージーランド）の研究者らと議論し、宿主を中心にプロテオミクス解析を後者の大学にて行なった。はじめに、手法を確立させるため対象種を用いて予備的な解析をした。予備解析では試料作成方法、必要なサンゴの量、抽出方法、タンパク質の質や量等を検討し、十分にデータが得られるようにした。その後、上記の移植実験で得られたサンゴ試料より全タンパク質を抽出、精製した後、トリプシンを用いてペプチドに分解した。得られたペプチド断片は質量分析計（Orbitrap Fusion Lumos Tribrid mass spectrometer, Thermo Scientific）にて分析し、網羅的なデータを得た（図 2）。得られたタンパク質を公開されているトゲサンゴのゲノム情報を使用して同定、MaxQuant を使用して定量し、定量化されたタンパク質について条件間で異なるタンパク質の特定を試みた。

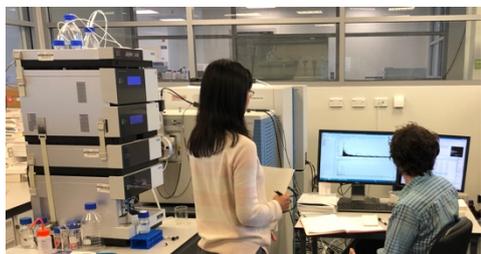


図 2 質量分析計 (Orbitrap) での解析の様子

褐虫藻メタバーコーディング解析

移植個体の褐虫藻遺伝子型を明らかにするため、次世代シーケンスを用いて褐虫藻多様性に詳しくメタバーコーディング解析を行っている Cawthron Institute（ニュージーランド）を訪問し、手法について詳細に意見交換を行った。得られた試料から DNA を抽出し ITS2 領域を増幅した後、次世代シーケンサーにより解析した。

4. 研究成果

サンゴ宿主試料から約 3000 以上のタンパク質が検出、特定された (図 3)。浅場の遮光ありと遮光なしの条件では有意に異なるタンパク質は 8 つ、浅場の遮光ありと深場 (水深 40m) では 3 つのみであった。一方、浅場の遮光ありと深場試料の比較では 50 以上のタンパク質が異なり、より多くの異なるタンパク質が発現していることが明らかとなった。一方、褐虫藻については *Cladocopium* C59 を中心に検出され、水深により顕著な差はみられなかった。これらのことから、深場から浅場への移植サンゴの白化は、強光に加えて水温などの複合要因が影響して引き起こされた可能性が示唆された。現在、継続で主要な発現タンパク質の性質と白化との関連を検討している。

今回、それぞれの専門性を活かした国際共同研究を行うことで、異なる環境下に移植したサンゴの白化メカニズムの一端が解明された。将来、深場の避難地から浅場へのサンゴ幼生分散や移植を検討する上で重要な基礎的知見が得られた。

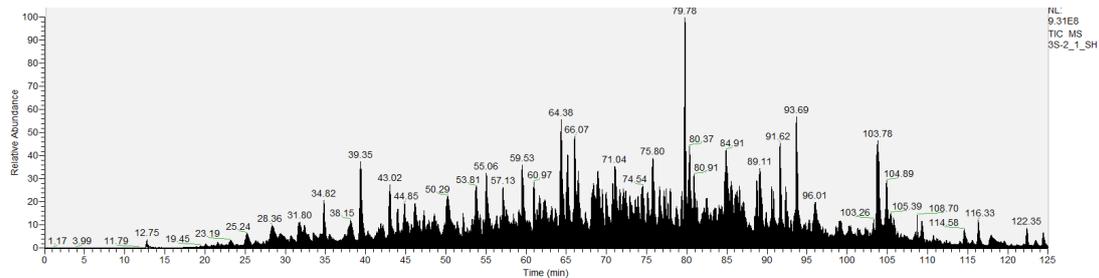


図 3 質量分析計 (Orbitrap) で得られたクロマトグラムの例

この他、Oregon State University (アメリカ) では、将来的にサンゴの白化メカニズム解明のため稚サンゴを用いた実験系についても話し合った。またサンゴ骨格の微細構造の解析を行なっている Centre Scientifique de Monaco (モナコ) を訪問し、サンゴ試料の骨格形状の差について実際に SEM 画像等を用いた解析の議論を行った。

最後に、今回琉球大学が位置する太平洋のサンゴ礁を拠点としたフィールド現象の理解につながる国際的な共同研究の枠組みを形成できたことは、本研究の非常に重要な成果の一つである。それぞれの訪問先では滞在期間中にセミナー等を行い、共同研究者をはじめポスドク研究員、大学院生、関連研究者等と本課題のみならず関連の共同研究やそれぞれの国の研究環境について日々議論や情報交換を行った。その成果として、Oregon State University の研究者とは本学瀬底研究施設を利用するサンゴ共生に関する研究プロジェクトを立ち上げ、私が共同研究者として参画する形でアメリカ NSF の研究費に応募して採択された。また、本事業で得られたネットワークを活かして日本学術振興会外国人招へい事業や本学熱帯生物圏研究センター共同利用・共同研究拠点の公募に応募し、Oregon State University および Victoria University of Wallington より研究員や大学院生を招へいし、サンゴと褐虫藻共生に関する共同研究を継続、発展させている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3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 Sinniger Frederic, Akamatsu Tomonari, Harii Saki	4. 巻 24
2. 論文標題 Deepest observation of the butterflyfish <i>Coradion altivelis</i> (Perciformes: Chaetodontidae) in Japan	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Galaxea, Journal of Coral Reef Studies	6. 最初と最後の頁 39 ~ 40
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3755/galaxea.G2021_S8PG	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 Sinniger Frederic, Albelda Ritzelle L, Prasetia Rian, Rouze Heloise, Sitorus Erlangga D., Harii Saki	4. 巻 24
2. 論文標題 Overview of the mesophotic coral ecosystems around Sesoko Island, Okinawa, Japan	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Galaxea, Journal of Coral Reef Studies	6. 最初と最後の頁 69 ~ 76
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3755/galaxea.G2021_S11N	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 Tavakoli-Kolour P, Sinniger F, Morita M, Harii S	4. 巻 188
2. 論文標題 Acclimation potential of <i>Acropora</i> to mesophotic environment	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Marine Pollution Bulletin	6. 最初と最後の頁 114698
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.marpolbul.2023.114698	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 -
1. 著者名 Prasetia R, Sinniger F, Nakamura T, Harii S	4. 巻 12
2. 論文標題 Limited acclimation of early life stages of the coral <i>Seriatopora hystrix</i> from mesophotic depth to shallow reefs	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 12836
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-16024-6	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 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 Sinniger F., M. Pichon, H. Rouze, B. Thornton, J. Walker, S. Harii
2. 発表標題 MCEs in Okinawa: unique ecosystems, lifeboats for coral reefs or both?
3. 学会等名 14th International Coral Reef Symposium (virtual) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Sitorus E.D.S. , F. Sinniger, S. Harii
2. 発表標題 Coral recruits across depths and implications to coral reef resilience.
3. 学会等名 14th International Coral Reef Symposium (virtual) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Lin T.-H., T. Akamatsu, F. Sinniger, E. D. S. Sitorus, S. Harii
2. 発表標題 Acoustic diversity and divergence among shallow water and upper mesophotic coral reefs
3. 学会等名 14th International Coral Reef Symposium (virtual) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tavacoli-Kolour P, Sinniger F, Harii S
2. 発表標題 Impact of depths on early life stage of shallow corals
3. 学会等名 日本サンゴ礁学会大23回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Harii S
2. 発表標題 Reproductive ecology of mesophotic corals in Okinawa and implication for shallow reef recovery
3. 学会等名 Gordon Research Conference- Mesophotic Coral Reef Ecosystems (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 Sinniger F, Harii S, Humblet M, Nakamura S, Ohba H, Prasetya R	4. 発行年 2019年
2. 出版社 Springer-Nature	5. 総ページ数 1003
3. 書名 Ryukyu Islands, Japan. In Mesophotic Coral Ecosystems.	

1. 著者名 Sinniger F, Harii S	4. 発行年 2018年
2. 出版社 Springer Nature Singapore	5. 総ページ数 179
3. 書名 Studies on mesophotic coral ecosystems in Japan. In A Iguchi, C Hongo (eds). Coral Reef Studies of Japan, Coral Reefs of the World Vol. 13, Springer Nature Singapore	

〔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
主たる渡航先の主たる海外共同研究者	デイビー サイモン (Davy Simon)	ヴィクトリア大学ウェリントン・School of Biological Sciences・教授	
主たる渡航先の主たる海外共同研究者	ワイス バー吉ニア (Weis Virginia)	オレゴン州立大学・Department of Integrative Biology・教授	
主たる渡航先の主たる海外共同研究者	ポーション ザビエ (Pochon Xavier)	コースロン研究所・・・研究員	

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
---------	---------

ニュージーランド	Victoria University of Wellington			
米国	オレゴン州立大学			
ニュージーランド	Cawthron Institute			
モナコ	The Scientific Centre of Monaco			