

令和 5 年 8 月 8 日現在

機関番号：18001

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K16189

研究課題名（和文）イシサンゴが産卵時期を決定する仕組みの生理学的解析

研究課題名（英文）Physiological mechanism underlying annual and lunar spawning of *Acropora tenuis*

研究代表者

武方 宏樹 (Hiroki, Takekata)

琉球大学・戦略的研究プロジェクトセンター・特命助教

研究者番号：60814192

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：造礁サンゴの一種であるウスエダミドリイシが初夏の満月に一斉に産卵する仕組みについて調べた。産卵に関連する遺伝子の探索を目的とした網羅的遺伝子発現解析では、生殖腺発達やアポトーシスに関連する遺伝子の発現が産卵前後に変動することが明らかになった。また、採集した群体の中に産卵をしなかった群体が含まれおり、偶発的に産卵した群体としなかった群体との間での比較解析を行うことができた。その結果から、産卵しなかったサンゴは5月の段階で既に産卵しないことを決定していたことが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

網羅的遺伝子発現解析の結果、生殖腺発達に関連する遺伝子の発現が産卵前に、アポトーシスに関連する遺伝子の発現が産卵後に、それぞれ上昇することが明らかになった。この成果は今後のサンゴの産卵や生殖についての研究において、重要な知見となる。また、網羅的遺伝子発現解析では、偶発的にはあるが、産卵をしなかった群体のトランスクリプトーム解析と組織観察を行うことができた。この結果は、サンゴの成長と生殖のトレードオフについての議論における、非常に貴重な事例であるといえる。

研究成果の概要（英文）：Synchronous spawning is a striking feature of corals, and its physiological mechanism is still largely unknown. In this study, RNA sequencing (RNA-Seq) analysis for assessing the transcriptome before and after spawning were performed in the scleractinian coral *Acropora tenuis*. The Results showed that genes related to gametogenesis and those related to apoptosis were upregulated before and after spawning, respectively. In addition, our samples occasionally included a non-spawning colony. Its results suggested that non-spawning was already decided on May and the physiological condition was already switched from reproduction to growth one-month earlier than spawning colonies.

研究分野：動物生理学

キーワード：ウスエダミドリイシ 一斉産卵 網羅的遺伝子発現解析 季節性 サンゴ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

沖縄のサンゴ礁を形成する造礁サンゴの一種であるウスエダミドリイシ *Acropora tenuis* は、初夏の満月に一斉に産卵するという、季節と月相に対応した生物リズムを示す。産卵時期を決定するために、ウスエダミドリイシは外環境から季節と月相の情報を読み取り、体内の生理状態を環境と同期させていると考えられるが、その生理学的背景に関しては依然として不明な点が多い。

2. 研究の目的

本研究では、産卵と関連して発現が変動する遺伝子の探索を目的とする、次世代シーケンサーを用いた網羅的遺伝子発現解析を行った。

3. 研究の方法

本研究には、2017年に採集したサンプルを用いた。沖縄県瀬底島周辺の浅海域に生息するウスエダミドリイシ3群体(C1-C3)対象に、産卵の1か月前の5月、産卵月の6月、産卵の1か月後の7月の、計3回サンプリングを行った。採集したサンゴ組織の一部から組織切片を作成し、生殖腺の様子を観察することで、産卵の有無を確認した。残りの組織は、分子実験用にRNAを抽出し、次世代シーケンサーを用いた網羅的遺伝子発現解析(RNA-Seq: RNA sequencing)を行った。

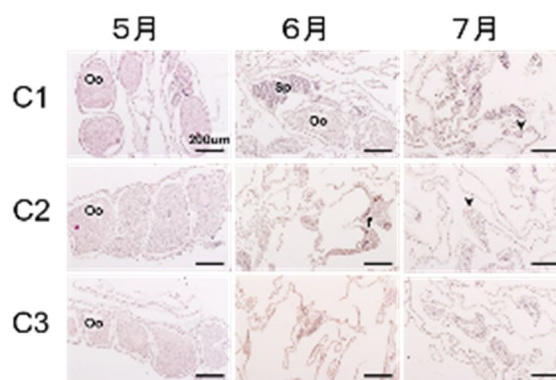


図1. サンゴ生殖腺の組織切片. 5月は全ての群体で成熟卵(Oo)が確認されたのに対し、6月はC1においてのみ卵と精子(Sp)が観察された。7月には未成熟卵(Oo)が観察された。

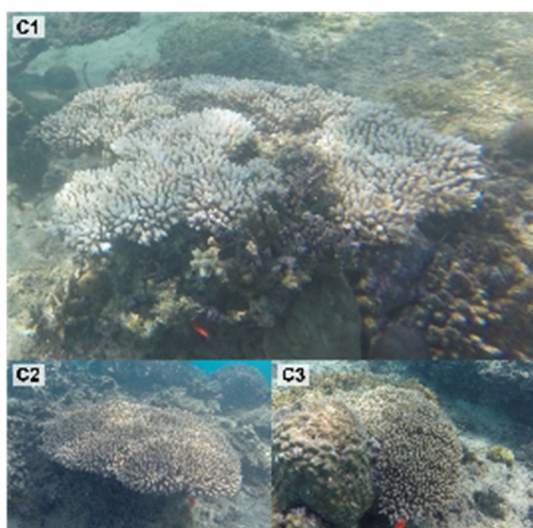


図2. 枝片を採集したサンゴの2016年10月の様子。C1では共生藻がいなくなり枝が白くなる白化がみられたが、C2とC3では観察されなかった。

4. 研究成果

生殖腺の観察

サンゴ生殖腺の組織切片を観察したところ、5月は全ての群体において成熟した卵が観察された(図1)。6月のサンプルでは、C1では成熟卵が観察されたが、C2とC3では卵が観察されなかった。このことから、C1のみ産卵していないことが明らかになった。C1は2016年の秋に体内の共生藻が失われる白化が起こっていたことが確認されており(図2)、その影響で産卵しなかったものと推測された。7月のサンプルで

は、全ての群体において成熟卵は観察されなかったが、未成熟の小さな卵細胞が観察された。

網羅的遺伝子発現解析

RNA-seq法を用いて各サンプルの遺伝子発現解析を行った。まず初めに、各サンプルの遺伝子の発現パターンの親近性を多次元尺度法（MDS: multi-dimensional scaling）によ

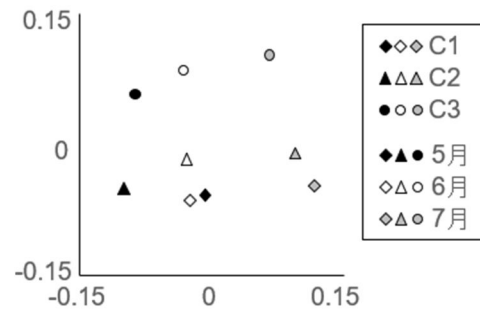


図3 .各サンプルの遺伝子発現パターンの親近性を示した MDS-plot。縦軸が各群体、横軸が採集月を反映する結果が得られた。

つて確認した。その結果、群体と採集月の関連性が発現パターンの親近性に反映されていることが明らかになった（図 3）。また、産卵しなかった C1 は、5 月と 6 月のサンプルの親近性が高いことが明らかになった。このことから、C1 は 5 月の段階で産卵しない生理状態だったと推測される。

次に、各群体間で発現量が有意に変化している遺伝子と、採集月で発現が変化している遺伝子を探索した。その結果、群体間では 2099 個の遺伝子が、採集月間では生殖腺発達やアポトーシスに関連するものを含む 1017 個の遺伝子が見つかった。それぞれの遺伝子群の発現パターンをヒートマップで確認したところ、群体間では各群体で発現が高くなる遺伝子が大きな偏りがなく存在していたのに対し、採集月間では産卵前と後のいずれかに発現が高くなる遺伝子が顕著に多かった（図 4）。この結果から、産卵前後でサンゴの生理状態が劇的に変化していることが明らかになった。一方、MDS の結果から産卵しなかった C1 の 5 月のサンプルが 6 月のサンプルと親近性が高いことが示されており、全群体を用いた解析では 5 月と 6 月の間の差が過小評価されている恐れがあった。そこで、産卵した群体のみを用いた月間比較を行った。その結果、1149 個の遺伝子の発現に有意差がみられ、そのうち 787 個の遺伝子は全群体での解析結果と共通していた。また、その発現パターンに関して産卵前後で発現が変動する遺伝子が多いことが再確認された。サンプル間のクラスタリングの結果、産卵した C2 と C3 のサンプルは産卵月に関連した 3 つのクラスターを形成していた。また、産卵しなかった C1 では、5 月のサンプルが 6 月のサンプルと同じクラスターに入っていた。この結果から、産卵しなかった C1 の生理状態は、5 月の段階で 6 月の生理状態に進んでいたと推察された。

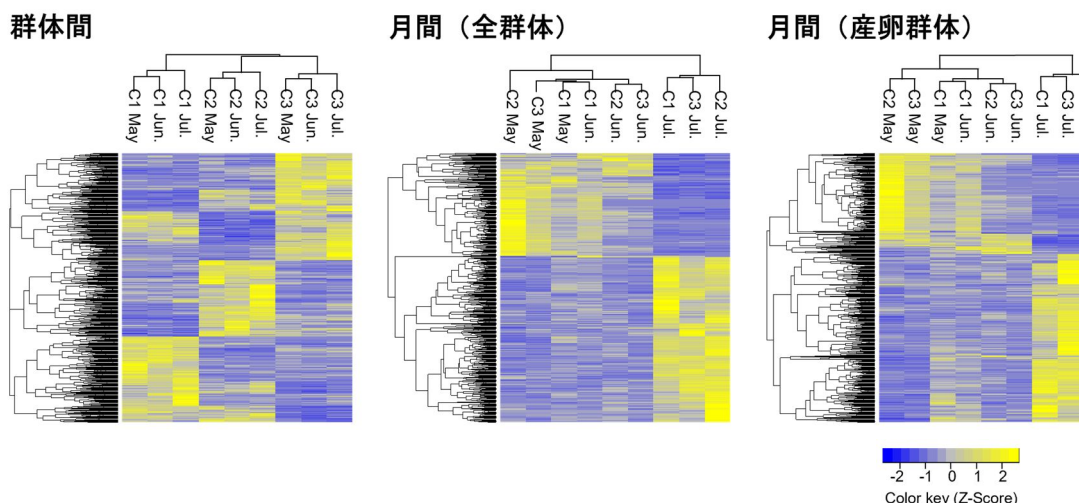


図4 .全個体における各群体間と採集月間、及び産卵群体における採集月間で発現が変動していた遺伝子の発現パターン。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Tan Ee Suan, Hamazato Hirono, Ishii Takahiro, Taira Kenshiro, Takeuchi Yuki, Takekata Hiroki, Isomura Naoko, Takemura Akihiro	4. 巻 255
2. 論文標題 Does estrogen regulate vitellogenin synthesis in corals?	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology	6. 最初と最後の頁 110910 ~ 110910
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.cbpa.2021.110910	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 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 武方宏樹
2. 発表標題 ウスエダミドリイシにおける産卵前後のトランスクリプトーム解析
3. 学会等名 第27回日本時間生物学会学術大会
4. 発表年 2020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
---------------------------	-----------------------	----

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