

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 30 日現在

機関番号：38005

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2012～2014

課題番号：24241071

研究課題名(和文) サンゴと褐虫藻の共生関係のゲノム科学的解析

研究課題名(英文) Genome Scientific Studies of Coral-Symbiont Endosymbiosis

## 研究代表者

佐藤 矩行 (Sato, Noriyuki)

沖縄科学技術大学院大学・その他の研究科・教授

研究者番号：30025481

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 23,500,000円

研究成果の概要(和文)：最近の地球規模での環境悪化により生物多様性の宝庫であるサンゴ礁が消滅しつつある。サンゴの生物学的理解は急務である。サンゴはカッチュウソウと共生関係を維持し生活している。これからのサンゴ礁生物学を進めるには両者のゲノム情報が必須であると考え、2011年にコユビミドリイシ(*Acropora digitifera*)のゲノムを、また2013年に共生カッチュウソウ(*Symbiodinium minutum*)のゲノムを世界に先駆けて解読した。現在、これらのゲノム情報を駆使して共生の成立と崩壊(カッチュウソウの離脱による白化)のメカニズムを、また沖縄島嶼におけるサンゴ礁の成り立ちについての解析を進めている。

研究成果の概要(英文)：Far more intimate knowledge of scleractinian coral biology is essential in order to understand how diverse coral-symbiont endosymbioses have been established, especially the establishment and maintenance of obligate symbiosis. Genomic data undergird studies of all symbiotic processes. We decoded genomes of the coral *Acropora digitifera* in 2011 and then, during the period of this research, characterized detail gene loss in amino acid metabolism, genes involved in calcification, innate immunity, apoptosis, UV resistance and others. Then, we decoded the *Symbiodinium minutum* genome in 2013 and characterized expansion of certain gene families, molecular basis for permanently-condensed chromatin, and others. The *Symbiodinium* plastid and mitochondrial genomes are also decoded. Since many questions regarding the coral-*Symbiodinium* symbiosis remain, we are now studying the questions one-by-one with the decoded genome information.

研究分野：ゲノム科学

キーワード：サンゴ カッチュウソウ 共生の成立と崩壊 ゲノム システイン 自然免疫系 環境保全 集団遺伝学

### 1. 研究開始当初の背景

1998年、エルニーニョ現象による海水温の上昇によって、沖縄本島沿岸ではサンゴの白化現象(サンゴと *Symbiodinium* の共生関係が壊れサンゴが死滅する現象)が起こり多くのサンゴが死滅した。サンゴ礁は生物多様性の最も豊かな場所であり、これからのサンゴ礁の保全を進める上でも、サンゴと *Symbiodinium* の共生関係の成立と崩壊の分子生物学的・細胞生物学的メカニズムを明らかにすることは重要である。

我々はこの問題にゲノム科学的にアプローチしたいと考えた。そして、上述の白化現象で最も被害の大きかったコユビミドリイシ(*Acropora digitifera*)を選び、2011年にそのゲノムを解読した(Shinzato et al., 2011, *Nature* 476:320-323)。しかしこの共生関係を理解するためには、サンゴのみならず *Symbiodinium* のゲノムを解読する必要がある。そして、両者のゲノム情報を得た上で、これらの情報を最大限に活用し、また共生関係を探る新たな実験系を確立しつつ、サンゴと共生褐虫藻 *Symbiodinium* の共生の成立・維持・崩壊に関わる分子生物学的メカニズムおよび細胞生物学的メカニズムを徹底的に解析したいと考えた。

### 2. 研究の目的

上述の研究背景をもとに、本研究ではまずサンゴ共生褐虫藻(*Symbiodinium*)のゲノムの解読をめざす。*Symbiodinium* は現在 A-I の9つのグループ(クレード)に大別されており、その中でも A-D がサンゴに共生するとされている。*Symbiodinium* の核ゲノムについてはそのゲノムサイズが 2~50Gbp と非常に大きく、ゲノム解読が困難とされてきた。しかし、様々な工夫を重ねることで何とか解読を目指す。

次に、サンゴおよび共生褐虫藻のゲノム情報を最大限に生かした研究を進める。コユビミドリイシを材料にして温度ストレスおよび光ストレスによる共生関係の崩壊のメカニズムを理解するために、主として崩壊過程での遺伝子発現の変化を詳細に追う。またこのサンゴでの褐虫藻の取り込みは幼生期に起こるので、共生関係の成立の分子メカニズムを、幼生期に人為的に共生を引き起こさせる実験系でおこなう。得られたデータを解析し、サンゴと褐虫藻の共生関係の分子生物学的メカニズムおよび細胞生物学的メカニズムをゲノムワイドに解析する。

また、温度ストレスなどの生成とも関連して、サンゴの集団遺伝学的解析を行い、沖縄本島のサンゴ礁の成立のメカニズムを解明する。

### 3. 研究の方法

(1) *Symbiodinium* のゲノム解読: ゲノム解読に最も適した *Symbiodinium* を選び、次世代シーケンサーを駆使してその塩基配列を得る。

得られた配列の最適に情報処理して、ドラフトアセンブルを得る。そしてゲノム情報から *Symbiodinium* の生物学的特徴を洗い出す。

(2) 共生関係の成立と崩壊の分子メカニズム: 実験系を工夫しつつ、温度ストレスおよび光ストレスなどによる共生関係の崩壊のメカニズムを理解する。

(3) サンゴの集団遺伝学的解析: ゲノムを解読したコユビミドリイシを研究材料として、そのゲノム情報を駆使して、1塩基多型をもとに集団遺伝学的な解析を進める。

### 4. 研究成果

(1) *Symbiodinium* のゲノム解読: ゲノムが比較的小さくしかも培養が可能なものとして *Symbiodinium minutum* (クレード B) をアメリカ・バフアロー大学のコフロス教授から提供してもらい、約2年かけてこのゲノム解読に取組み、2013年によろやく解読にこぎ着けた。*S. minutum* のゲノムサイズは約1500Mbpと見積もられているが、実際にアンプルされたものは616Mbpにしか至らなかった。しかし、同時に行った RNA-seq 解析により得られた転写産物の情報のほぼ全てがここに含まれており、我々はこの616Mbpを真正クロマチン領域の配列と判断した。

*S. minutum* のゲノム内には約42,000個のたんぱく質をコードする遺伝子が存在する。遺伝子数が他の渦鞭毛藻類のものよりかなり多いのは、彼らの生活様式に適合するような、ある特定のたんぱく質ファミリー遺伝子が増えているためである。

*S. minutum* のゲノムは他の渦鞭毛藻類に比較して幾つの特徴をもつことが分かった。まず、通常の生物のゲノムでは遺伝子が2本鎖のそれぞれにランダムに並んでいるのに対して、*S. minutum* のゲノム内で遺伝子が1方向に並んでいる。こうした例はこれまでにトリパノゾーマでのみ知られていたため、これが2番目の例である。また、イントロンの切り出しがこれまで原則とされてきた GT-AG ルールに従わず、GC-AG、GA-AG によっても頻繁に切り出されることが分かった。さらに、*Symbiodinium* ではクロマチンが常時凝集していることで知られているが、このクロマチン凝集に関わる RCC1 遺伝子群を調べたところ、その半数が原核生物に由来する遺伝子であることなどが分かった。

今後はこうした *Symbiodinium* のゲノム科学的特徴が、サンゴとの共生などのこの生物の持つ特徴にどう結びついていくのかの解析が急務である。

(2) 共生関係の成立と崩壊の分子メカニズム: これについては現在、主としてコユビミドリイシを用いて、温度ストレスおよび光ストレスなどの条件下で、サンゴおよび *Symbiodinium* の遺伝子発現にどのような変化が起こるかを、様々な実験系を構築して検討しているが、まだ明確な結果に至っていない。鋭意検討中である。

(3) サンゴの集団遺伝学的解析: これについては、ゲノムを解読したココビミドリイシを研究材料として、そのゲノム情報を駆使して、1塩基多型をもとに集団遺伝学的な解析を進めた。すでに述べたように、1998年のエルニーニョ現象による海水温の上昇によって沖縄本島沿岸ではココビミドリイシがほぼ死滅した。しかしそれから約15年を経た現在、本島沿岸のココビミドリイシは徐々に回復している。その理由として、本島の南西に位置する慶良間諸島から幼生の流入によるとする意見が大勢を占めていた。しかし、1塩基多型による解析を進めてみると、本島南部の大渡などごく限られた地域で慶良間諸島サンゴとの交流は認められたものの、本島野多くの地域では慶良間諸島は独立した集団遺伝学的構成を示すことが分かった。すなわち、本島集団は独自に回復したものと推論された。今後、八重山諸島でのサンプルを解析することによって、より詳細はサンゴの集団遺伝学的解析を進める予定である。

#### 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 5件)

Shinzato, C., Mungpakdee, S., Satoh, N. and Shoguchi, E. A genomic approach to coral-dinoflagellate symbiosis: Studies of *Acropora digitifera* and *Symbiodinium minutum*. *Frontiers in Microbiology* 5. (2014) 査読有  
DOI: 10.3389/fmicb.2014.00336

Shinzato, C., Yasuoka, Y., Mungpakdee, S., Arakaki, N., Fujie, M., Nakajima, Y. and Satoh, N. Development of novel, cross-species microsatellite markers for *Acropora* corals using next-generation sequencing technology. *Frontiers in Marine Science* 1. (2014) 査読有  
DOI: 10.3389/fmars.2014.00011

Shoguchi, E., Shinzato, C., Kawashima, T., Gyoja, F., Mungpakdee, S., Koyanagi, R., Takeuchi, T., Hisata, K., Tanaka, M., Fujiwara, M., Hamada, M., Azadeh, S., Fujie, M., Usami, T., Goto, H., Yamasaki, S., Arakaki, N., Suzuki, Y., Sugano, S., Toyoda, A., Kuroki, Y., Fujiyama, A., Medina, M., Coffroth, M. A., Bhattacharya, D. and Satoh, N. Draft assembly of the *Symbiodinium minutum* nuclear genome reveals dinoflagellate gene structure. *Current Biology* 23, 1399-1408 (2013) 査読有  
DOI: 10.1016/j.cub.2013.05.062

Shoguchi, E., Tanaka, M., Shinzato, C., Kawashima, T. and Satoh, N. A

genome-wide survey of photoreceptor and circadian genes in the coral, *Acropora digitifera*. *Gene* 515, 426-431 (2013). 査読有

DOI: 10.1016/j.gene.2012.12.038

Hamada, M., Shoguchi, E., Shinzato, C., Kawashima, T., Miller, D.J. and Satoh, N. The complex NOD-like receptor repertoire of the coral *Acropora digitifera* includes novel domain combinations. *Molecular Biology and Evolution* 30, 167-176 (2013) 査読有

DOI: 10.1093/molbev/mss213

[学会発表](計 2件)

Satoh, N. Genome decoding project of marine invertebrates at OIST, in 22<sup>nd</sup> Annual Meeting of the Society for Molecular Biology & Evolution, San Juan, Puerto Rico (2014.6.9).

Satoh, N. Cross talk of coral and Symbiodinium genes during environmental changes, in Gordon Research Conference "Marine Molecular Ecology", Hong Kong, China (2013.8.13).

[図書](計 0件)

[産業財産権]  
出願状況(計 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

取得状況(計 1件)

発明者: 新里宙也、Sutada Mungpakdee、中島祐一  
権利者: 学校法人 沖縄科学技術大学院大学 学園  
種類: 出願特許  
番号: PCT/JP2015/061770  
出願年月日: 2015年4月10日(優先日 2014年4月10日)  
取得年月日: N/A  
国内外の別: 外国

[その他]  
ホームページ等  
<http://marinegenomics.oist.jp>

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐藤 矩行 (SATO, Noriyuki)  
沖縄科学技術大学院大学・マリンゲノミック  
ユニット・教授  
研究者番号：30025481

(2)研究分担者  
( )

研究者番号：

(3)連携研究者  
將口 栄一 (SHOGUCHI, Eiichi)  
沖縄科学技術大学院大学・マリンゲノミック  
ユニット・グループリーダー

新里 宙也 (SHINZATO, Chuya)  
沖縄科学技術大学院大学・マリンゲノミック  
ユニット・グループリーダー