

「海洋生物多様性および生態系の保全・再生に資する基盤技術の創出」  
平成24年度採択研究代表者

H27 年度  
実績報告書

竹山 春子

早稲田大学理工学術院  
教授

シングルセルゲノム情報に基づいた海洋難培養微生物メタオミックス解析  
による環境リスク数理モデルの構築

## § 1. 研究実施体制

### (1)「バイオ計測」グループ

- ① 研究代表者:竹山 春子 (早稲田大学理工学術院 教授)
- ② 研究項目
  - ・シングルセルメタゲノム解析
  - ・次世代型マリンメタオミックス解析
  - ・メタトランスクリプトーム解析
  - ・生態機能情報チップの作成と活用

### (2)「沖縄」グループ

- ① 主たる共同研究者:須田 彰一郎 (琉球大学理学部 教授)
- ② 研究項目
  - ・瀬底島周辺定点からの経時的環境データの回収
  - ・同定点からの定期採集の水質データの解析

### (3)「計算機解析」グループ

① 主たる共同研究者:藤渕 航 (京都大学 iPS 細胞研究所 教授)

#### ② 研究項目

- ・ 海洋微生物のオミックスデータベースの構築
- ・ 海洋微生物グランドゲノム解析法の構築
- ・ 海洋汚染度・生物多様性・カタストロフィー予測法の開発

## § 2. 研究実施の概要

### (1) 研究の目的と概要

近年の地球温暖化の影響による高水温に伴うサンゴの白化現象や、主に人為活動による陸域からの赤土流入などにより、サンゴの生育環境は大きく攪乱している。サンゴ礁は生物多様性が高いが、非常に脆弱な環境であり、透明度が高く貧栄養の環境が必要とされている。その詳しい成り立ちと環境の理解、保全・再生の方法はまだ確立されていない。

サンゴには褐虫藻をはじめとする多種多様な微生物が生息しているが、共生・共在細菌も重要な役割を担っている。しかしながら、それら共在微生物と、宿主であるサンゴや環境との相互関係がどのように成り立っているかはまだ理解されていない。本研究の目的は、サンゴ礁環境のより正確な理解と、その理解に基づきリスク変動予測を行うことにある。その目的のために、サンゴ共生・共在細菌等を分子生物学的手法により解析し、環境指標となる情報を取得することを目指す。また、それらを可能とするシングルセル解析手法、オミックス解析手法の開発を行う。同時に、サンゴ礁の水温や濁度などの環境データを継続的に計測し、分子生物学的データと環境データと有機的に統合することで、環境リスク予測モデルの構築に繋げていく。

### (2) H27年度の研究実施内容

サンゴ共在微生物のシングルセル解析に向け、シングルセルの分取から全ゲノム増幅までの一連の技術開発を前年度に引き続き行った。特に、H27年度は、i) 微小液滴中での微量 DNA のノンバイアス増幅技術の確立 (Nishikawa et al., *PLoS One* 10, e0138733, 2015)、ii) 標的シングルセルまたは全ゲノム増幅用試薬が封入された2種の微小液滴をマイクロ流体デバイス内で融合し、細胞の溶解から全ゲノム増幅までを当該液滴中で完了する系の構築、の i) ii) に注力した。また、サンゴ共在細菌のごく微量な mRNA の解析を達成するために、微量 mRNA の増幅技術を構築し、その有用性を大腸菌および海水を用いて実証した。

以上の各種バイオ情報の計測技術の開発とともに、実際のサンゴ共在細菌群のモニタリングを行う目的で、沖縄県瀬底島周辺のサンゴ被度が高い「瀬底南」と被度が低い「イシカワバル」の2定点において、対象種としたウスエダミドリイシとその群体周辺の海水のサンプリングを行った。今年度は、高精度の環境リスク数理モデルの構築のため、サンプリング頻度をこれまでの年4回から年12回へと大幅に増加させ、菌種組成、褐虫藻密度、海水メタトランスクリプトーム等の時系列データを蓄積した。サンゴ共在細菌群の菌種組成解析からは、季節による差異、定点間の差異、および個々の群体の特徴が明瞭に見出された。

環境の物理・化学的データについては、水温、溶存酸素等の各項目を高精度かつ継続的に測

定した。H27年度は特に定点およびその周辺海域の栄養塩分析を進めた。加えて、定点の一次生産量を水質ロガーのデータのみから算出する新規手法「三角法」を開発した。本手法により、イシカワバルでは概ね呼吸と光合成の活性が釣り合っていること、瀬底南では光合成活性が呼吸活性を上回っていることが判明した。

加えて、以上の解析から算出されるバイオデータおよび環境データの解析基盤を前年度に引き続き整備した。データベースの整備とともに、シングルセルゲノム解析パイプラインおよびサンゴ共生細菌群データ解析用ポータルサイトの開発を行った。さらに、これらデータを融合した「環境-サンゴ影響モデル」の開発を進めた。

### (3) 今後の展望

H27年度の結果を踏まえ、H28年度では、環境の違いや環境変化をよく反映するサンゴ共生細菌のシングルセルゲノムデータを蓄積する。これとともに、菌種組成、褐虫藻密度などのバイオデータと環境データを一層蓄積し、それらの融合による「環境-サンゴ影響モデル」の精度を上げていく。