

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
 - ・海洋微生物グラント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

サンゴ礁域が生物多様性の高い地域であることは良く知られている。一方、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、おも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が、その詳しい成り立ちと環境の理解、保全・再生の方法は確立していない。

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おこなうことにある。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、分子生物学的数据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) H28 年度の研究実施内容

本研究プロジェクトの基盤情報となる現場での経時的環境情報の計測と定期採水、サンゴの定期採取を引き続き実施した。加えて、自然状態ではサンゴの生育が認められないものの、人為的にサンゴを植え付けて生育を維持している恩納村漁港地先および陸上のサンゴ水槽で生育が良く、その地先に植え付けを行っている読谷村サンゴ畑およびその地先からサンゴ、海水などを採集し、比較研究を行った。H27,28 年度の解析から海水中の細菌叢とは全く異なる「サンゴ共在細菌叢」が形成されること、群体ごとに特徴があること、さらには、サンゴ等海産無脊椎動物の共生細菌として知られる *Endozoicomonas* 属に近縁な OUT の存在比とその多様性に差があることが見出された。

H28 年度の夏には世界的なサンゴの白化が観測された。今回、対象としているサイトでは、白化現象が観測されたが、死亡に至る群体はごく僅かであった。その中で、読谷村では陸上養殖されたウスエダミドリイシ始めミドリイシ科サンゴに目立った白化とその死亡被害は認められなかったものの、養殖池の前面礁原に移植されたウスエダミドリイシでは、形質の違いによって、白化現象の有無、死亡と回復にも差が生じた。このことから、白化現象耐性のある種苗の作出に向けた育種学的なアプローチの可能性が示唆され、今後さらに検討を加えて行くこととした。

共在細菌のシングルセル解析のためのマイクロドロップレットを用いたプラットフォームを完成させ、ゲノム解析に伴うキメラ、コンタミ除去の情報解析ツールも開発した。これらを用いることにより、95%以上のゲノムカバー率を達成できることが示された (Maruyama et al. BMC Bioinformatics 2017)。次に、サンゴ Holobiont のマルチオミックス解析では、サンゴ-褐虫藻の共発現遺伝子ネットワーク解析により、サンゴ-共生藻間で行われる相互作用が示唆された。今後、細菌の情報追加により、より詳細な Holobiont の相互関係が推測できるようになった。

上記の生物学的、化学的、物理的因子を総合したサンゴ礁海域の環境予測を統合サポートベクター回帰予測によって行った。現時点で可能な 24 データをもとに多重非線形カーネル直線回帰

で解析したところ、相転移の様相を示した。そこで、現在解析中のデータの算入と、ロジスティック回帰などの解析手法も取り入れてより精度の高い予測を検討することとした。

(3) 今後の展望

H29年度は、最終年度でもあり、今まで蓄積してきた情報の解析を総合的に進める。また、昨年度から始めた恩納村、読谷村でのサンプル取得と解析を継続することによって、より詳細なサンゴと共生細菌の関係を紐解くこととした。これらのデータの総合解析により、「海洋汚染度・生物多様性・カタストロフィー予測」を具現化していく。

<主要論文>

Toru Maruyama, Tetsushi Mori, Keisuke Yamagishi and Haruko Takeyama. SAG-QC: quality control of single amplified genome information by subtracting non-target sequences based on sequence compositions. BMC bioinformatics.18, 152, 2017.