

— 総説 —

サンゴの遺伝子研究のこれまでの歩みとゲノム解読による新展開*

新里 宙也†

要 旨

地球規模での環境変動や環境破壊などにより、世界のサンゴ礁が危機的な状況に曝されている。それにもかかわらずサンゴの生物学的情報、特に白化現象やストレス応答、共生、病気のメカニズムの詳細はほとんど分かっていない。そのためサンゴの生物学的研究、特に遺伝子レベルでの研究推進が求められている。近年の「次世代シーケンサー」の登場により、新規ゲノムの解読が従来よりもはるかに高速かつ安価に行えるようになってきた。サンゴゲノムの解読も報告され、実験生物だけでなくサンゴ礁に生息する生物についても分子・ゲノムレベルでの研究が可能になった。本総説ではサンゴを用いた分子生物学的研究とゲノム科学的アプローチのこれまでの研究をまとめ、最近発表されたサンゴ、*コユビミドリイシ*のゲノム解読の内容も解説していく。

キーワード：サンゴ、褐虫藻、共生、遺伝子、マイクロアレイ、ゲノム

1. 「サンゴ」とは？

— 多様な生き物を育むサンゴ礁 —

サンゴ礁は地球上で最も生物多様性の豊かな場所の一つである。世界の海域のわずか1%に満たないサンゴ礁に、全海洋生物の25%の種が生息していると言われている。そのサンゴ礁を作り出しているのが、「造礁サンゴ」という動物である (Fig 1a-h)。彼らはクラゲやイソギンチャクの仲間である刺胞動物という動物門に分類

される。サンゴは他の動物同様有性生殖を行う (e.g. Ball *et al.*, 2002)。初夏の満月頃に起こるサンゴの一斉産卵は有名である (Fig 1c)。受精卵が成長して浮遊幼生であるプラヌラとなり (Fig 1d-g)、適切なシグナルを受けると海底に着底する。そして変態してイソギンチャクのようなポリプとなり、石灰化を開始する (Fig 1h)。その後ポリプが無性生殖で分裂して成長し、一つの群体を形成している。サンゴは細胞内に光合成を行う渦鞭毛藻類、褐虫藻 (*Symbiodinium*) を共生させており (Fig 1b)、栄養の大部分を褐虫藻に依存している。褐虫藻から莫大な栄養を得て水中に炭酸カルシウムからなる骨格を形成し、それが積み重なって複雑で巨大な構造物であるサンゴ礁を作り出し、多種多様な海洋生物の命を育んでいる。観光業や漁業などで世界のサンゴ礁が一年で産み出す経済価値は約300億ドルという試算もある (Cesar *et al.*, 2003)。

* 2011年12月14日受領；2012年4月18日受理

著作権：日本海洋学会，2012

† 沖縄科学技術大学院大学 マリンゲノミクスユニット

〒904-0495 沖縄県国頭郡恩納村字谷茶 1919-1

Tel: 098-966-8653 Fax: 098-966-2890

e-mail: c.shinzato@oist.jp

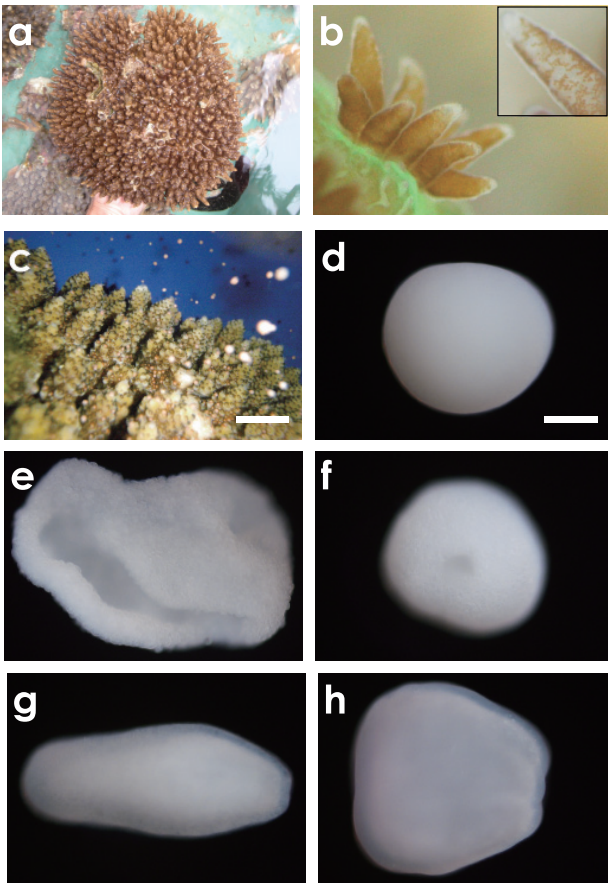


Fig. 1. A staghorn coral, *Acropora digitifera*. a, The colony the genome of which was sequenced. This colony is maintained in aquarium culture at the Sesoko Station, University of the Ryukyus. Scale bar, 10 cm. b, Polyps of the coral showing the presence of symbiotic dinoflagellates (*Symbiodinium* sp.) (inset, enlargement). c, Natural spawning of the coral. d, Fertilized egg; e, blastula at the prawn chip stage; f, gastrula; g, planula larva; and h, primary polyp. Scale bar, 200 μ m. Modified from Shinzato *et al.* (2011).

しかし近年地球温暖化や海洋酸性化、海洋汚染や乱開発などの影響によってサンゴ礁が危機に瀕している (Hoegh-Guldberg *et al.*, 2007; Hughes *et al.*, 2003)。現在世界の造礁サンゴの約三分の一の種が絶滅の危機にあるとされている (Carpenter *et al.*, 2008)。国際自然保護連合 (IUCN) の絶滅の恐れのある動物にリストアップされ、ワシントン条約でも輸出入が規制されている。

サンゴ礁はなぜ減少していくのか。それはサンゴと褐虫藻の共生関係はわずかなストレスで崩壊してしまうほど繊細であるのが一因である (Weis, 2008)。例えば夏の高水温期の1–2°Cの海水温上昇により、褐虫藻がサンゴから抜けだす「白化現象」が起こる。栄養の大部分を依存している褐虫藻が細胞内から失われるので、サンゴは栄養不足に陥り最悪の場合は死に至る。サンゴの死滅によるサンゴ礁の崩壊は、そこに生息する多種多様な生物の消滅も同時に引き起こし、豊かな生物多様性が失われる。それにもかかわらずサンゴの白化現象や病気、共生のメカニズムの詳細はほとんど分かっておらず、遺伝子レベルでの研究推進が求められている。本論評では、これまでのサンゴを用いた分子生物学的研究をまとめ、最近報告されたサンゴゲノムの内容を解説する。

2. サンゴの遺伝子研究の幕開け

サンゴからの遺伝子クローニングは1990年代前半から報告されている (e.g. Miller and Miles 1993)。2000年代まではミトコンドリアDNAなどを用いたサンゴの系統分類を目的とした遺伝子研究が中心であったが (e.g. van Oppen *et al.*, 2001)、2000年前後からはそれに加え、初期発生で働く動物の体作りに関わる遺伝子群、いわゆる「ツールキット (tool kit) 遺伝子」の機能をサンゴと高等動物の初期発生で比較して、動物進化の歴史を解き明かそうというEvoDevo (Evolutionary Developmental Biology) 研究の材料としても注目を浴びた。サンゴを含む刺胞動物は、外胚葉と内胚葉しか持たない二胚葉生物で最も単純な神経系 (散在神経系) を持つ動物であり、高等動物と発生メカニズムを比較するのに重要な分類群である。例えば Hayward *et al.* (2000) は三胚葉生物で広く機能が保存されている、初期発生段階において背腹軸を決定する *BMP/dpp* 遺伝子が、前後軸しか持たない放射相称であるサンゴの幼生でも、もう一つの軸 (背腹軸) にそった遺伝子発現パターンを示し、その遺伝子機能は高等動物と同様に保存されている事を報告した。これは刺胞動物と三胚葉動物の共通祖先が存在した約6億年前には、*BMP/dpp* 遺伝子の機能はすでに成立していた可能性を示唆している。

本格的な分子生物学、ゲノム科学的研究の幕開けとなっ

たのは、サンゴの一種ハイマツミドリイシ (*Acropora millepora*) の Expressed Sequence Tag (EST) プロジェクトである (Kortschak *et al.*, 2003)。これは刺胞動物門で初めての EST の報告となる。この論文はサンゴの遺伝子データベースの先駆けということにとどまらず、動物進化における重要な知見が報告されている。それまでは単純な体の構造 (二胚葉体制) をもつ刺胞動物は遺伝子の種類も少ないだろうと考えられてきたが、我々三胚葉生物である高等動物と共通する遺伝子が非常に多い、という発見である。驚くべき事にサンゴと共通する遺伝子の数は、ショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) や線虫 (*Caenorhabditis elegans*) といった無脊椎動物のモデル生物よりも、ヒトの方が多いうことが分かった。ヒトからは進化的に遠く離れているサンゴ (刺胞動物) の方が、近縁な三胚葉生物であり進化速度が速いショウジョウバエや線虫よりもヒトとの共通遺伝子を多く持つ。これは (1) 6 億年以上前に存在した二胚葉動物と三胚葉動物の共通祖先において主要な遺伝子レパートリーは揃っていた、(2) 遺伝子を獲得する事でなく失う事が動物進化に重要であった、という全く新しい動物進化の歴史のシナリオを明らかにした。

3. サンゴのゲノム科学的研究

A. millepora の EST に続いて、他のいくつかのサンゴ種の EST プロジェクトも公開されている (Schwarz *et al.*, 2008)。現在報告されている原始的な動物群の遺伝子データをまとめた Compagen (Hemrich and Bosch, 2008: <http://compagen.zoologie.uni-kiel.de/>) というウェブサイトには *A. millepora* に加え、カリブ海に生息するミドリイシ (*Acropora palmata*)、クマイシ (*Montastraea faveolata*)、ハマサンゴ (*Porites astreoides*) という 4 種類のサンゴの EST アセンブルデータが登録されている (Table 1)。これらデータを用いて cDNA マイクロアレイ技術によって、サンゴの遺伝子発現を網羅的に解析しようという試みが行われている。これまでにストレスや共生、発生段階でのサンゴの遺伝子発現の変化を網羅的に解析した研究がいくつか報告されている。Grasso *et al.* (2008) は、サンゴのいくつかの異なる発生段階と成熟個体での遺伝子発現

Table 1. Number of unique sequences in assembled EST data sets reported in Compagen database (Hemrich and Bosch, 2008).

species	number of unique sequences
<i>Acropora millepora</i>	9,117
<i>Acropora palmata</i>	14,173
<i>Montastraea faveolata</i>	13,498
<i>Porites astreoides</i>	7,245

をマイクロアレイで解析して、それぞれのステージで特異的に発現している遺伝子群を明らかにした。そして、例えば初期ポリプの石灰化が行われる部位に特異的に発現している石灰化候補遺伝子や、刺胞細胞形成や病原体認識、褐虫藻との共生に関わっている可能性のある遺伝子の発現パターンを報告している。

サンゴ生物学の大きなテーマである「共生」や「ストレス応答」において、マイクロアレイ技術の応用は盛んに試みられている。主に EST データベースが充実しているカリブ海のサンゴである *A. palmata* や *M. faveolata*、そして *A. millepora* を用いた研究が報告されている。海水温上昇がサンゴの白化現象に深く関わるとされていることから、熱ストレス時にサンゴの細胞内での遺伝子発現変化をマイクロアレイで網羅的に解析し、白化現象のメカニズムを明らかにしようという試みが行われてきた。DeSalvo *et al.* (2008) は熱ストレスを与えて白化させたサンゴと健康なサンゴの遺伝子発現をマイクロアレイで比較した結果から、熱ストレスが引き起こす酸化ストレスが、細胞内の Ca^{2+} ホメオスタシスの攪乱を引き起こしているのではないかと提案している。他には褐虫藻と共生していない幼生段階で熱ストレスを与えることで、純粋な宿主 (サンゴ) のみの遺伝子発現変化を調べている研究も報告されている (Voolstra *et al.*, 2009a; Rodriguez-Lanetty *et al.*, 2009)。

サンゴではないが、同じく褐虫藻と共生するイソギンチャク (*Anthopleura elegantissima*) を用いた共生時・非共生時での遺伝子発現の比較解析が、刺胞動物と褐虫藻の共生メカニズムをマイクロアレイにより調べた最初の研究である (Rodriguez-Lanetty *et al.*, 2006)。この

Table 2. Summary of coral cDNA microarrays reported to date.

species	number of unique sequences on chip	reference
<i>Acropora millepora</i>	8,606	Bay et al 2009
<i>Acropora palmata</i>	2,055	Voolstra et al 2009
<i>Montastraea faveolata</i>	1,314	Voolstra et al 2009
	10,930	Aranda et al 2011
<i>Fungia scutaria</i>	5,184	Schnitzler and Weis 2011

研究でいわゆる「共生遺伝子」というものは存在せず、共生の有無であまり遺伝子発現変化が見られないことが報告された。Voolstra *et al.* (2009b) は *A. palmata* と *M. faveolata* の幼生を用いて、それぞれのサンゴ種で共生関係を築ける褐虫藻を感染させると遺伝子発現変化は少ないが、共生関係を築けない褐虫藻を感染させるとより多くの遺伝子発現の変化が起こることを突き止めた。このことは、サンゴは自らに有益な共生体と認識した際にはあまり反応を示さないが、異物と認識すると遺伝子発現の変化として応答することを示している。最近のクサビライシの一種 (*Fungia scutaria*) においても同様に、褐虫藻の感染によって遺伝子発現の変化が少ないことが報告されている (Schnitzler and Weis 2011)。このように褐虫藻との共生開始には、サンゴの遺伝子発現のダイナミックな変化は見られず、免疫反応やアポトーシス、オートファジーなどの細胞反応を抑えることが重要だと考えられている (Weis 2008)。その他のマイクロアレイを用いた興味深い研究は、異なる環境に生息するサンゴの遺伝子発現を網羅的に比較したものである (Bay *et al.*, 2009)。オーストラリアの 130 km 程度離れた、環境の異なる沿岸と沖合の 2 つのサンゴ礁に生息する *A. millepora* の遺伝子発現を比較したところ、わずか 0.05% の遺伝子発現のみの違いしか確認されなかった。異なる環境条件に応答したサンゴの表現型の変化というのは、ほんのわずかな遺伝子の遺伝子発現変化によって引き起こされているのかもしれない。

しかし、EST データベースは発現している遺伝子のみしか網羅していないので、まれにしか発現しない遺伝子や低発現遺伝子、特殊条件下でのみ発現する遺伝子などをカバーするのは難しい。EST データのみに基づく

マイクロアレイの設計は、ゲノム上のサンゴの遺伝子全てを網羅する事は不可能である。現在報告されているサンゴのマイクロアレイはチップに搭載されている遺伝子数、つまり同時に解析出来る遺伝子の数が限られている (Table 2)。初期のサンゴのマイクロアレイに搭載されていた遺伝子数はわずか 1~2000 程度でしかなかった (Table 2)。サンゴの全遺伝子はおよそ 2 万以上であると予想されており (Shinzato *et al.* 2011)、現在報告されている最新のマイクロアレイでも全遺伝子の半分程度しか網羅されていないことになる (Table 2)。このように、これまでのマイクロアレイによるサンゴの網羅的遺伝子発現解は、真の意味での「ゲノムレベル」の解析というには不十分であった。

4. コユビミドリイシ・ゲノム

4.1 サンゴゲノムの解読へ

前述の通り、刺胞動物は EvoDevo 研究において重要な生物群であるため、ゲノム解読が比較的多く行われてきた動物門である。2007 年にイソギンチャクの一つであるネマトステラ (*Nematostella vectensis*) が刺胞動物で初めてゲノムが解読され (Putnam *et al.*, 2007)、2010 年には代表的な実験動物であるヒドラ (*Hydra magnipapillata*) のゲノム解読が報告された (Chapman *et al.*, 2010)。近年のいわゆる「次世代シーケンサー」の登場により DNA や RNA などの核酸情報が、従来のサンガー法に比べ短期間で安価に解析出来るようになった。それまでは実験動物に限られてきたゲノム解読が、自然界に生息する生物、サンゴにおいても

Table 3. Summary of the Roche 454 and Illumina GAIIx genome sequencing data used for assembling *Acropora digitifera* genome sequences. The data is reported in Shinzato *et al.* (2011). Each 454 raw reads were separated into “forward” and “reverse” reads.

		Used data			Assembly					
		Total	Number of	Average	Contig		Scaffold			
		sequences	reads	read length	number	N50	number	N50		
		(Gbp)	(million)	(bp)						
454	shotgun	8.7	26.6	327	53,725	10,681	4,765	191.5 kb		
	3kb paired end	2.98	9	165						
GA IIx	1kb mate-pair	1.9	55.33	35						
	3kb mate-pair	1.8	50.88	35						
	5kb mate-pair	2.1	416.4	50						
	7kb mate-pair	11.2	149	75						
	15kb mate-pair	13.1	175	75						
	20kb mate-pair	6.5	87	75						

現実的になった。サンゴの遺伝子レベルでの研究基盤構築のため、Shinzato *et al.* (2011) は沖縄に普通に生息し、1998年の世界的な大規模白化現象により特に激減したこと (Loya *et al.*, 2001) が知られるミドリイシ属サンゴの一種、コユビミドリイシ (*Acropora digitifera*) の全ゲノム解読を行った。

サンゴは褐虫藻を細胞内共生させているため、自然界に生息しているサンゴ群体からDNAを抽出すると褐虫藻のDNAも大量に混入してしまう。そこで純粋なサンゴ由来のDNAを手に入れるため、年に一度のサンゴの一斉産卵時に、沖縄県国頭郡奥周辺から採捕したコユビミドリイシ一群体から精子を採取し、そこから高純度のDNAを抽出した (Fig 1a, c)。フローサイトメーターにより精子一個あたりのDNA量を測定した結果、このサンゴのゲノムは約4億2千万塩基対 (420 mega base pair, Mbp) から構成される事が分かった。2種類の次世代シーケンサー (Roche社の454 GS-FLX, Illumina社のGenomeAnalyzer IIx) を用いたホール

ゲノムショットガン法によりゲノムDNAの塩基配列の解読を行った。Roche 454 GS-FLXで推定されるゲノムサイズの約27倍 (27-fold coverage), Illumina GenomeAnalyzer IIxでは約124-fold coverageの配列情報を得て、それらデータを元にゲノムをアセンブリー (再構築) した (Table 3)。その結果、コンティグ (解読不能な塩基配列, ギャップを含まない一続きのDNA配列) のN50サイズ (アセンブルしたゲノム総塩基の50%は、それ以上の長さのアセンブル配列に含まれるという値) が10.7kbp, スキャフォールド (ギャップを含んだ一続きのDNA配列) のN50サイズが191.5kbp (4,765配列) のアセンブリーが得られた (Table 3)。これまでゲノム解読が報告されている海綿 (Srivastava *et al.*, 2010) やヒドラ (Chapman *et al.*, 2011) などの下等動物のゲノムアセンブリーと比べても遜色の無い数値である。アセンブルされたゲノムの総塩基長は約419 Mbp, GC含量は39%で、ゲノムの12.9%がトランスポゾンであった。アセンブルされたゲノム配列から遺伝

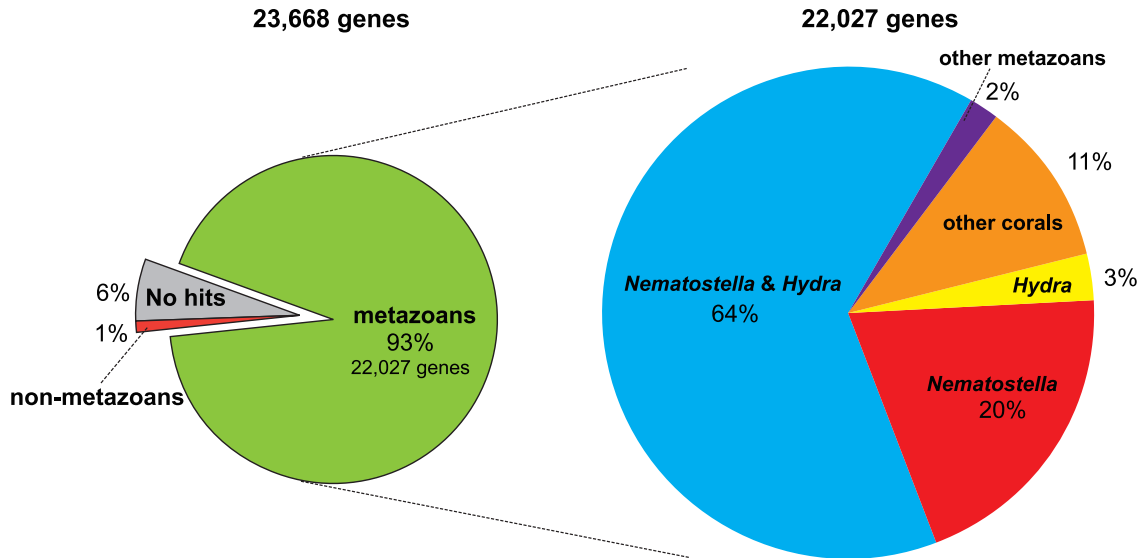


Fig. 2. The proportion of similarity of *Acropora digitifera* gene models to those of other metazoans. The 93% (22,027) of the 23,668 gene models have similarity to other metazoans, while 1% of them for non-metazoans and 6% show no similarity to proteins deposited in NCBI database (NR). Of the 22,027 metazoan-similarity genes, 64% had counterparts in both *Nematostella* and *Hydra* genomes, 20% of them for *Nematostella* but not in *Hydra*, 3% for *Hydra* but not in *Nematostella*, and 2% for other metazoans but not in *Nematostella* and *Hydra*. 11% of them have corresponding ESTs of corals reported in NCBI. Modified from Shinzato *et al.* (2011).

子予測を行った結果、23,668 箇所のタンパク質をコードする遺伝子領域が見出された。約 93% の遺伝子は NCBI 遺伝子データベースに登録されている他の動物の遺伝子と類似性を示し、そのうちの 11% (全体の約 9%) は他のサンゴ種の EST データベースのみと相同性が確認され、他の動物には類似配列が存在しないサンゴ特有の遺伝子であった (Fig 2)。この事はサンゴ独自の遺伝子が多数ゲノム内に存在することを示している。

4.2 サンゴゲノムから見たこと

4.2.1 サンゴの起源

六放サンゴ亜綱 (Hexacorallia) である現世サンゴとその近縁のイソギンチャクがいつ分岐したのかは未だ明らかでない。化石記録から現世六放サンゴの仲間は約 2 億 4 千万年前に地球上に現れたと報告されている

(Stanley and Fautin, 2001)。しかし化石で出てくる現世サンゴは既に多様化していることから、起源はさらに古い事が示唆されている。そこで同じ刺胞動物であるヒドラやネマトステラなど、これまでにゲノム解読されている生物とゲノムレベルでの系統解析を行った。それぞれの生物全てに存在するオーソログ遺伝子 422 個 (94000 アミノ酸) を用いた最尤法による系統解析の結果、サンゴとイソギンチャクとの分岐は、化石による最も古い現世サンゴの出現記録よりもはるか昔、原始的な脊索動物の誕生 (5 億 2 千万年前) と脊椎動物系統の分岐 (4 億 9 千万年前) の間に起こった事が推測された (Fig 3)。このことはサンゴの分岐が考えられていたよりもかなり古く、サンゴの祖先から現世のサンゴへと進化するまで、かなり長い時間がかかった事を示唆する。

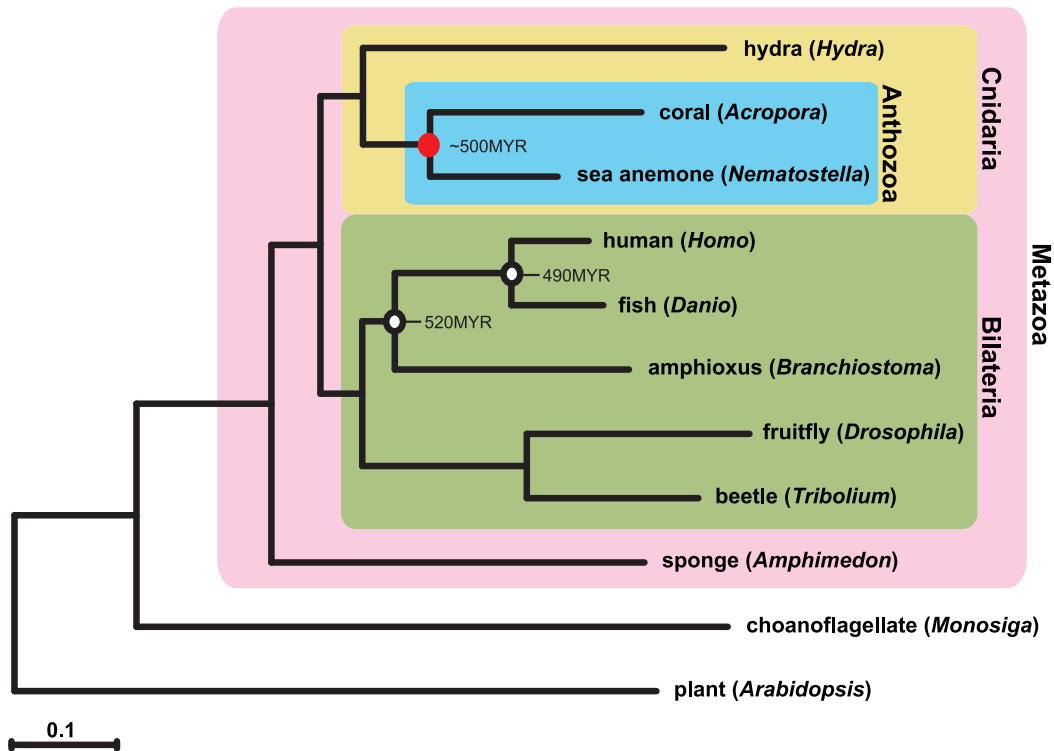


Fig. 3. Molecular phylogeny of corals. 94,200 aligned amino acid positions of proteins encoded by 422 genes were obtained from the sponge *Amphimedon queenslandica*, from the cnidarians *A. digitifera*, *Nematostella vectensis* and *Hydra magnipapillata*, and from the triploblasts *Tribolium castaneum*, *Drosophila melanogaster*, *Branchiostoma floridae*, *Danio rerio* and *Homo sapiens*. The sequences were analysed using maximum likelihood methods, with the plant *Arabidopsis thaliana* and the choanoflagellate *Monosiga brevicollis* serving as outgroups. The scale bar represents 0.1 expected substitutions per site in the aligned regions. The topology was supported by 100% bootstrap value. Approximate divergent times of the occurrence of basal chordates and divergence of vertebrates lineages are shown. This analysis indicates a deeper divergence of *Acropora* and *Nematostella*, approximately 500 million years (Myr) ago. Modified from Shinzato *et al.* (2011).

4.2.2 ミドリイシ属サンゴはアミノ酸の一つ、システインを生合成出来ない

数億年前から六放サンゴは褐虫藻と密接な共生関係を築いていることが化石から明らかになっている (Stanley, 2006)。サンゴのゲノムに褐虫藻からの遺伝子の水平伝播はあるのだろうか。现阶段で褐虫藻の遺伝子データベースが限られているなどの制約があるが、褐虫藻からの明らかな遺伝子水平伝播は見つかっていない。

次に生命維持のための代謝系に関わる遺伝子を、褐虫藻と共生しているコビミドリイシと共生していないネ

マトステラとで網羅的に比較した。その結果、動物の非必須アミノ酸の一つであるシステインを生合成するための必須酵素、シスタチオンβシンターゼをコードする遺伝子をコビミドリイシはゲノムから失っているという面白い発見に至った。PCRによる解析で、他2種のミドリイシ属サンゴ (*Acropora*) にも同様遺伝子の存在は確認出来なかった。一方でミドリイシ属以外の様々な種のサンゴのゲノムにはこの遺伝子の存在が確認された。このことはサンゴ全般でシステイン生合成能力を失っているのではなく、ミドリイシ属が失っている事を示している。ミドリイシ属サンゴがエネルギーだけでなく非

必須アミノ酸の合成をも褐虫藻に依存し、他のサンゴ種よりも褐虫藻への依存度が高い可能性を示唆している。このことは褐虫藻が体から抜け出す白化現象などのストレスに、ミドリイシ属サンゴが特に弱い一因なのかもしれない。

4.2.3 サンゴ自身が UV 吸収物質を合成出来る

共生する褐虫藻が光合成を行うため、サンゴは透明度の高い浅瀬に多く生息する。そこは同時に有害な紫外線に非常に強く曝される場所である。なぜこのような環境にサンゴは生息出来るのかという事は興味深い。これまでにマイコスポリン様アミノ酸 (mycosporine amino acids: MAAs) と呼ばれる UV 吸収物質が、サンゴには含まれていることが報告されている (Shick and Dunlap, 2002)。サンゴに含まれているこの物質がどこで合成されているのかは明らかでなく、MAAs は藻類にも含まれることが知られていることから、共生している褐虫藻に由来するのではと考えられてきた。最近になってシアノバクテリアでは MAAs の一種であるシノリンを合成するのに 4 つの遺伝子があれば十分である事が報告された (Balskus and Walsh, 2010)。これら遺伝子を解析した結果、コユビミドリイシさらにはネマトステラではシノリン合成に必要な 4 つの遺伝子である *DHQS-like*, *O-MT*, *ATP-grasp*, *NRPS-like* を全てゲノムに持つことが分かった。興味深い事に、サンゴとネマトステラでは *DHQS-like* と *O-MT* が融合していた。5 億年前に存在したサンゴとイソギンチャクの共通祖先で、この遺伝子が既に融合して存在していた可能性を示唆する。サンゴとイソギンチャク (花虫綱・六放サンゴ亜綱) は UV 吸収物質を自ら合成する能力を持ち、サンゴに含まれる MAAs は褐虫藻依存ではない可能性が初めて示された。

4.2.4 複雑な自然免疫系の遺伝子を持つ

サンゴは細胞内に別の生命体である褐虫藻を共生させている。そのため褐虫藻と病原体を細胞内で区別する自然免疫メカニズムは、サンゴと褐虫藻の共生を理解する上で重要である。そこで自然免疫に関わる遺伝子を調べ

たところ、褐虫藻と共生せず単体性の刺胞動物であるネマトステラやヒドラよりも、サンゴは複雑な遺伝子レパートリーを持つ事が分かった。例えば病原体を感知して自然免疫を作動させる Toll 様受容体について、サンゴは少なくとも 4 つ持っているが、ネマトステラは 1 個、ヒドラのゲノムからは見つからなかった。さらに NACHT ドメイン遺伝子などの細胞内異物認識レセプターも、これまで報告されている他の動物ゲノムよりも数多く見られた。これら複雑な自然免疫系の遺伝子が、褐虫藻との共生や群体形成などのサンゴの特徴に重要な役割を果たしているのかもしれない。

4.2.5 石灰化に関わる遺伝子

大気中の二酸化炭素濃度上昇による海洋酸性化によって、炭酸カルシウムからなるサンゴの骨格は悪影響を受ける可能性がある (諏訪ら, 2010; Kleypas *et al.*, 2006)。そのため石灰化の分子メカニズムを明らかにする事は重要である。そこで石灰化に関わる可能性のある遺伝子をサンゴゲノムから探索した。脊椎動物や他の動物はそれぞれ独自の石灰化遺伝子を持っているが、それらの相同遺伝子はサンゴのゲノムから見つからなかった。それぞれの生物種は独自の石灰化メカニズムを持っていることが報告されており (Jackson *et al.*, 2010), サンゴの石灰化も独自の分子メカニズムで行われている可能性が高い。

一般的に無脊椎動物の骨格に含まれる有機基質タンパクは、 Ca^{2+} と結合しやすい酸性アミノ酸 (グルタミン酸とアスパラギン酸) を多く含んだリピート構造を持つことが知られている (Sarashina and Endo, 2006)。実際にサンゴ骨格に含まれるタンパク質には高濃度の酸性アミノ酸、特にアスパラギン酸が多く含まれる事が報告されている (Cuif *et al.*, 1999)。我々はサンゴゲノムから、酸性アミノ酸の含有量が多くリピート構造を持つ、他の生物とは相同性を示さないタンパク質をコードする遺伝子をいくつか発見することが出来た。これらのいくつかは他のサンゴ種の EST でもその発現が確認されたことから、サンゴに共通の石灰化遺伝子の可能性がある。さらに、これまでにサンゴの骨格に含まれる Ca^{2+} と結合する事が明らかになっている唯一の遺伝子、*Galaxin*

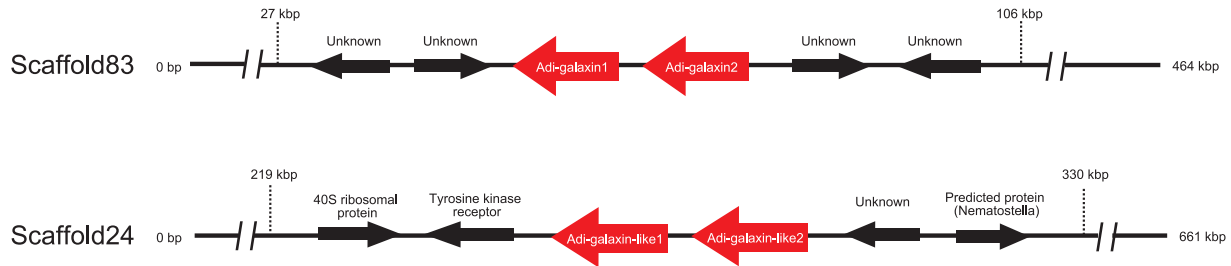


Fig. 4. Schematic representation of genome arrangements of the *Galaxin*-related genes (red arrows). Neighbor genes are shown in black arrows. The gene annotations are shown above the arrow. Sizes and location of the arrows do not reflect the exact positions of the scaffolds. Modified from Shinzato *et al.* (2011).

(Fukuda *et al.*, 2003) に相同性がある遺伝子が4つゲノムに存在していた。これらは二つずつ隣同士隣接してゲノム上に存在している (Fig 4)。このようにサンゴゲノムにはサンゴ特有の石灰化遺伝子が存在している。

5. サンゴをとりまくゲノム科学の現状と今後の展望

最近では次世代シーケンサーをサンゴ研究へ応用する動きが世界中で活発化している。次世代シーケンサーを用いたサンゴの遺伝子発現解析についても報告されており (Meyer *et al.*, 2011), さらにグレートバリアリーフがあるオーストラリアで, *A. millepora* のゲノム配列決定が最近発表された (<http://coralbase.org/>)。今後もいくつかのサンゴゲノム解読が報告されると考えられる。

サンゴと密接に関係する生物のゲノム科学研究も進んでいる。複数の褐虫藻のEST データベースも公開されている (Leggat *et al.*, 2007; Voolstra *et al.*, 2009c)。さらに次世代シーケンサーを用いたメタゲノミクスのアプローチも行われており, ストレスを受けているサンゴや (Vega Thurber *et al.*, 2009) 異なるサンゴ種によって (Sunagawa *et al.*, 2010), サンゴに付着しているバクテリア・ウィルスの組成がどのように変化するかといった解析が報告されている。今後ますますゲノム科学的手法を用いたサンゴ生物学が活発化していく事が期待される。

サンゴは骨格を持つことやサンプルが手に入りにくい

ことなどから, これまで遺伝子の研究を行う事が困難であった。しかし次世代シーケンサーの登場で, サンゴ礁に生息する生き物についてもゲノム研究の幕が本格的に開けた。今回サンゴの全ゲノムが解読された事により, 遺伝子レベルでの詳細な研究を行う基盤が構築されたので, サンゴを用いた様々な分野での研究が飛躍的に発展する事が期待される。サンゴはどのように褐虫藻と共生しているのか, 海水温上昇や海洋酸性化など今後起こりえる環境変動にサンゴ-褐虫藻共生体はどのように応答するのか, そのメカニズムが詳細に明らかになる事が期待される。

サンゴのゲノム情報だけで全て理解出来るのだろうか。サンゴのストレス耐性には, むしろ褐虫藻が大きく影響するという説もあり (Baker *et al.*, 2004; Sampayo *et al.*, 2008), 褐虫藻の遺伝情報は不可欠である。サンゴ研究分野では「holobiont」という言葉が最近よく聞かれる。これは刺胞動物のサンゴ, 細胞内共生している褐虫藻, その他バクテリアなどを含めたサンゴを構成する生物全ての総称・共同体として使われる言葉で, holobiont 単位でサンゴを考えようという動きが主流になりつつある。サンゴゲノムと共に, サンゴと密接な共生関係を築いている褐虫藻のゲノム情報があれば, 真の意味でサンゴ holobiont のゲノム研究が可能になる。今後の褐虫藻のゲノム解読が待たれる。

謝 辞

本総説の成果の一部は科研費 (21710199, 21121505)

の助成を受けたものである。

References

- Aranda M, Banaszak AT, Bayer T, Luyten JR, Medina M, Voolstra CR. (2011): Differential sensitivity of coral larvae to natural levels of ultraviolet radiation during the onset of larval competence. *Mol Ecol.*, **20** : 2955–72.
- Baker, A.C., Starger, C.J., McClanahan, T.R. & Glynn, P.W. (2004): Coral reefs: corals' adaptive response to climate change. *Nature*, **430**, 741.
- Ball EE, Hayward DC, Reece-Hoyes JS, Hislop NR, Samuel G, Saint R, Harrison PL, Miller DJ. (2002): Coral development: from classical embryology to molecular control. *Int J Dev Biol.*, **46** : 671–8.
- Balskus, E. P. & Walsh, C. T. (2010): The genetic and molecular basis for sunscreen biosynthesis in cyanobacteria. *Science*, **329**, 1653–1656.
- Bay LK, Ulstrup KE, Nielsen HB, Jarmer H, Goffard N, Willis BL, Miller DJ, Van Oppen MJ. (2009): Microarray analysis reveals transcriptional plasticity in the reef building coral *Acropora millepora*. *Mol Ecol.*, **18** : 3062–75.
- Carpenter KE, Abrar M, Aegy B, Aronson RB, Banks S, Bruckner A, Chiriboga A, Cortés J, Delbeek JC, Devantier L, Edgar GJ, Edwards AJ, Fenner D, Guzmán HM, Hoeksema BW, Hodgson G, Johan O, Licuanan WY, Livingstone SR, Lovell ER, Moore JA, Obura DO, Ochavillo D, Polidoro BA, Precht WF, Quibilan MC, Reboton C, Richards ZT, Rogers AD, Sanciangco J, Sheppard A, Sheppard C, Smith J, Stuart S, Turak E, Veron JE, Wallace C, Weil E, Wood E. (2008): One-third of reef-building corals face elevated extinction risk from climate change and local impacts. *Science*, **321**, 560–563.
- Cesar, H.J.S., Burke, L., and Pet-Soede, L. (2003): The Economics of Worldwide Coral Reef Degradation. Cesar Environmental Economics Consulting, Arnhem, and WWF-Netherlands, Zeist, The Netherlands. 23 pp..
- Chapman JA, Kirkness EF, Simakov O, Hampson SE, Mitros T, Weinmaier T, Rattei T, Balasubramanian PG, Borman J, Busam D, Disbennett K, Pfannkoch C, Sumin N, Sutton GG, Viswanathan LD, Walenz B, Goodstein DM, Hellsten U, Kawashima T, Prochnik SE, Putnam NH, Shu S, Blumberg B, Dana CE, Gee L, Kibler DF, Law L, Lindgens D, Martinez DE, Peng J, Wigge PA, Bertulat B, Guder C, Nakamura Y, Ozbek S, Watanabe H, Khalturin K, Hemmrich G, Franke A, Augustin R, Fraune S, Hayakawa E, Hayakawa S, Hirose M, Hwang JS, Ikee K, Nishimiya-Fujisawa C, Ogura A, Takahashi T, Steinmetz PR, Zhang X, Aufschnaiter R, Eder MK, Gorny AK, Salvenmoser W, Heimberg AM, Wheeler BM, Peterson KJ, Böttger A, Tischler P, Wolf A, Gojobori T, Remington KA, Strausberg RL, Venter JC, Technau U, Hobmayer B, Bosch TC, Holstein TW, Fujisawa T, Bode HR, David CN, Rokhsar DS, Steele RE. (2010): The dynamic genome of *Hydra*. *Nature*, **464**, 592–596.
- Cuif J P, Dauphin Y, Gautret P. (1999): Compositional diversity of soluble mineralizing matrices in some recent coral skeletons compared to fine-scale growth structures of fibres: discussion of consequences form biomineralization and diagenesis. *Int. J. Earth Sci.*, **88**, 582–592.
- DeSalvo MK, Voolstra CR, Sunagawa S, Schwarz JA, Stillman JH, Coffroth MA, Szmant AM. (2008): Medina M. Differential gene expression during thermal stress and bleaching in the Caribbean coral *Montastraea faveolata*. Differential gene expression during thermal stress and bleaching in the Caribbean coral *Montastraea faveolata*. *Mol Ecol.*, **17** : 3952–71.
- Fukuda I, Ooki S, Fujita T, Murayama E, Nagasawa H, Isa Y, Watanabe T. (2003): Molecular cloning of a cDNA encoding a soluble protein in the coral exoskeleton. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **304**, 11–17.
- Grasso LC, Maindonald J, Rudd S, Hayward DC, Saint R, Miller DJ, Ball EE. (2008): Microarray analysis identifies candidate genes for key roles in coral development. *BMC Genomics.*, **9** : 540.
- Hayward DC, Samuel G, Pontynen PC, Catmull J, Saint R, Miller DJ, Ball EE. (2002): Localized expression of a dpp/BMP2/4 ortholog in a coral embryo. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, **99** : 8106–11.
- Hemmrich, G. & Bosch, T.C. (2008): Compagen, a comparative genomics platform for early branching metazoan animals, reveals early origins of genes regulating stem cell differentiation. *BioEssays*, **30**, 1010–1018.
- Hoegh-Guldberg O, Mumby PJ, Hooten AJ, Steneck RS, Greenfield P, Gomez E, Harvell CD, Sale PF, Edwards AJ, Caldeira K, Knowlton N, Eakin CM, Iglesias-Prieto R, Muthiga N, Bradbury RH, Dubi A, Hatzioioli ME. (2007): Coral reefs under rapid climate change and ocean acidification. *Science*, **318**, 1737–1742.
- Hughes TP, Baird AH, Bellwood DR, Card M, Connolly SR, Folke C, Grosberg R, Hoegh-Guldberg O, Jackson JB, Kleypas J, Lough JM, Marshall P, Nyström M, Palumbi SR, Pandolfi JM, Rosen B, Roughgarden J. (2003): Climate change, human impacts, and the resilience of coral reefs. *Science*, **301**, 929–933.
- Kleypas, J.A., Feely, R.A., Fabry, V.J., Langdon, C., Sabine, C.L. & Robbins, L.L. (2006): Impacts of Ocean Acidification on Coral Reefs and Other Marine Calcifiers: a Guide for Future Research. Report of a workshop held on 18–20 April 2005, St. Petersburg, FL, sponsored by NSF, NOAA, and the U.S. Geological Survey.
- Jackson DJ, McDougall C, Woodcroft B, Moase P, Rose RA, Kube M, Reinhardt R, Rokhsar DS, Montagnani C, Joubert C, Piquemal D, Degnan BM. (2010): Parallel evolution of nacre building gene sets in molluscs. *Mol Biol Evol.*, **27** : 591–608.
- Kortschak RD, Samuel G, Saint R, Miller DJ. (2003): EST analysis of the cnidarian *Acropora millepora* reveals extensive gene loss and rapid sequence divergence in the model invertebrates. *Curr Biol.*, **13** : 2190–5.
- Leggat W, Hoegh-Guldberg, O, Dove S. and Yellowlees D. (2007): Analysis of an EST library from the dinoflagellate (*Symbiodinium* sp.) symbiont of reef-building corals. *J. Phycol.*, **43**, 1010–1021.
- Loya Y, Sakai K, Yamazato K, Nakano Y, Sambali H, Van Woesik R. (2001): Coral bleaching: the winners and the losers. *Ecol. Lett.*, **4**, 122–131.
- Meyer E, Aglyamova GV, Matz MV. (2011): Profiling gene expression responses of coral larvae (*Acropora millepora*) to elevated temperature and settlement inducers using a novel RNA-Seq procedure. *Mol Ecol.*, doi: 10.1111/j.1365–294X.2011.05205.x.
- Miller DJ and Miles A. (1993): Homeobox genes and the zootype.

- Nature*, **365**, 215–216.
- Putnam NH, Srivastava M, Hellsten U, Dirks B, Chapman J, Salamov A, Terry A, Shapiro H, Lindquist E, Kapitonov VV, Jurka J, Genikhovich G, Grigoriev IV, Lucas SM, Steele RE, Finnerty JR, Technau U, Martindale MQ, Rokhsar DS. (2007): Sea anemone genome reveals ancestral eumetazoan gene repertoire and genomic organization. *Science*, **317**, 86–94.
- Rodriguez-Lanetty M, Harii S, Hoegh-Guldberg O. (2009): Early molecular responses of coral larvae to hyperthermal stress. *Mol Ecol.*, **18** : 5101–14.
- Rodriguez-Lanetty M, Phillips WS, Weis VM. (2006): Transcriptome analysis of a cnidarian-dinoflagellate mutualism reveals complex modulation of host gene expression. *BMC Genomics.*, **7** : 23.
- Sampayo EM, Ridgway T, Bongaerts P, Hoegh-Guldberg O. (2008): Bleaching susceptibility and mortality of corals are determined by fine-scale differences in symbiont type. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, **105** : 10444–9.
- Sarashina I. & Endo K. (2006): Skeletal matrix proteins of invertebrate animals: Comparative analysis of their amino acid sequences. *Paleontol. Res.*, **10**, 311–336.
- Schwarz JA, Brokstein PB, Voolstra C, Terry AY, Manohar CF, Miller DJ, Szmant AM, Coffroth MA, Medina M. (2008): Coral life history and symbiosis: functional genomic resources for two reef building Caribbean corals, *Acropora palmata* and *Montastraea faveolata*. *BMC Genomics.*, **9** : 97.
- Schnitzler CE, Weis VM. (2010): Coral larvae exhibit few measurable transcriptional changes during the onset of coral-dinoflagellate endosymbiosis. *Mar Genomics.*, **3** : 107–16.
- Shick, J.M. & Dunlap, W. C. (2002): Mycosporine-like amino acids and related Gadusols: biosynthesis, accumulation, and UV-protective functions in aquatic organisms. *Annu. Rev. Physiol.*, **64**, 223–262.
- Shinzato C, Shoguchi E, Kawashima T, Hamada M, Hisata K, Tanaka M, Fujie M, Fujiwara M, Koyanagi R, Ikuta T, Fujiyama A, Miller DJ, Satoh N. (2011): Using the *Acropora digitifera* genome to understand coral responses to environmental change. *Nature*, **476** : 320–323.
- Srivastava M, Simakov O, Chapman J, Fahey B, Gauthier ME, Mitros T, Richards GS, Conaco C, Dacre M, Hellsten U, Larroux C, Putnam NH, Stanke M, Adamska M, Darling A, Degnan SM, Oakley TH, Plachetzki DC, Zhai Y, Adamski M, Calcino A, Cummins SF, Goodstein DM, Harris C, Jackson DJ, Leys SP, Shu S, Woodcroft BJ, Vervoort M, Kosik KS, Manning G, Degnan BM, Rokhsar DS. (2010): The Amphimedon queenslandica genome and the evolution of animal complexity. *Nature*, **466**, 720–6.
- Stanley, G. D. Jr & Fautin, D. G. (2011): Paleontology and evolution. The origins of modern corals. *Science*, **291**, 1913–1914.
- Stanley GD Jr. (2006): Photosymbiosis and the evolution of modern coral reefs. *Science*, **312** : 857–8.
- Sunagawa S, Woodley CM, Medina M. (2010): Threatened corals provide underexplored microbial habitats. *PLoS One*, **5** (3) : e9554.
- 諏訪僚太・中村崇・井口亮・中村雅子・守田昌哉・加藤亜記・藤田和彦・井上麻夕里・酒井一彦・鈴木淳・小池勲夫・白山義久・野尻幸宏 (2010): 海洋酸性化がサンゴ礁域の石灰化生物に及ぼす影響. 海の研究 **19** : 21–40.
- van Oppen MJ, McDonald BJ, Willis B, Miller DJ. (2001): The evolutionary history of the coral genus *Acropora* (Scleractinia, Cnidaria) based on a mitochondrial and a nuclear marker: reticulation, incomplete lineage sorting, or morphological convergence? *Mol Biol Evol.*, **18** : 1315–29.
- Vega Thurber RL, Barott KL, Hall D, Liu H *et al.* (2008): Metagenomic analysis indicates that stressors induce production of herpes-like viruses in the coral *Porites compressa*. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, **105** (47) : 18413–8.
- Voolstra CR, Schnetzer J, Peshkin L, Randall CJ, Szmant AM, Medina M. (2009): Effects of temperature on gene expression in embryos of the coral *Montastraea faveolata*. *BMC Genomics*, **10** : 627.
- Voolstra CR, Schwarz JA, Schnetzer J, Sunagawa S, Desalvo MK, Szmant AM, Coffroth MA, Medina M. (2009): The host transcriptome remains unaltered during the establishment of coral-algal symbioses. *Mol Ecol.*, **18** : 1823–3.
- Voolstra CR, Sunagawa S, Schwarz JA, Coffroth MA, Yellowlees D, Leggat W, Medina M. (2009): Evolutionary analysis of orthologous cDNA sequences from cultured and symbiotic dinoflagellate symbionts of reef-building corals (Dinophyceae: Symbiodinium). *Comp Biochem Physiol Part D Genomics Proteomics.*, Jun; **4** (2) : 67–74
- Weis, V. M. (2008): Cellular mechanisms of cnidarian bleaching: stress causes the collapse of symbiosis. *J. Exp. Biol.*, **211**, 3059–3066.

A review of coral molecular biology and genomics

Chuya Shinzato †

Abstract

Despite the enormous ecological and economic importance of coral reefs, the keystone organisms in their establishment, the scleractinian corals, increasingly face a range of anthropogenic challenges including coastal development, ocean acidification and seawater temperature rise. The molecular mechanisms underlying much of coral biology-including stress responses, symbiosis and disease-remain unclear, due to lack of molecular data for scleractinian corals. The advent of ultra-high-throughput sequencing (or next-generation sequencing) technology has been dramatically reducing the cost of DNA sequencing and enable to perform de novo whole genome sequencing of, not only model animals but also organisms living in coral reefs. Recently the genome sequence of a scleractinian coral, *Acropora digitifera*, was reported for the first time. The coral genome could provide a platform for understanding the molecular basis of symbiosis and responses to environmental changes. In this review, I summarize the progress of coral molecular biology and genomics to date and explain the contents of the first decoded coral genome.

Key words: coral, zooxanthella, symbiosis, gene, microarray, genome

(Corresponding author's e-mail address: c.shinzato@oist.jp)

(Received 14 December 2011; accepted 18 April 2012)

(Copyright by the Oceanographic Society of Japan, 2012)

† Marine Genomics Unit, Okinawa Institute of Science and Technology Graduate University, Onna, Okinawa, 904-0495, Japan