

課題番号	GS014
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成25年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	「共生ネットワークのメタゲノム解析」を基礎とする安定な森林生態系の再生
研究機関・ 部局・職名	京都大学 人間・環境学研究科 助教
氏名	東樹 宏和

1. 当該年度の研究目的

近年、大量 DNA 配列解読装置（次世代シーケンサー）の登場によって、環境サンプル（土壌など）の中から微生物の DNA を大量に解読し、その群集構造を解明することが可能となった（メタゲノミクス）。しかし、そうした研究のほとんどは、単一の分類群の生物に焦点を絞ったもので、生物間の相互作用を明らかにするものではなかった。本研究プロジェクトでは、コンピュータサイエンスや社会学で発達したネットワーク分析の解析手法を駆使して、複数の分類群の生物に関するメタゲノミクス・データを統合し、共生ネットワークの構造を解明する新手法を提案する（「共生ネットワークのメタゲノム解析」）。この手法は、地下に広がる多様な生物種間の共生関係を、森林レベルで一挙に解明するものである。その解析結果から、生態系の中核（ハブ）として様々な生物種に影響を与えている種を明らかにすることができる。この中核となる種を植林の際に利用することで、再生する生態系に「骨組み」を埋め込み、より安定な森林を作ることができると期待される。

2. 研究の実施状況

「共生ネットワークのメタゲノム解析」の技術開発の成功によって、従来の手法では想像すらできなかったスケールで、森林全体の共生ネットワークが解明できるようになった。以下の図は、京都市内の森林で 800 個ほどの根サンプルをメタゲノム解析して解明した、植物と地下真菌の共生ネットワークである。本プロジェクトで開発された一連の技術を基に、膨大な DNA 配列情報から生物の同定が可能となった。図内の丸は 33 種の植物種（赤丸）と 387 種類の真菌（赤以外の丸）の共生関係を示している。上記のプログラムにより、次世代シーケンシングで得られた DNA 配列を DNA データベース上の配列と照合し、各真菌の分類情報を自動で得ることができる（図 1、表 1）。次世代シーケンシングデータから生態学的な情報を引き出すこうした技術は、必要となるインプット情報が DNA 配列だけであるため、あらゆる生物群間の共生ネットワークに利用することが可能である。上記の手法は想定していた以上に強力で、共生ネットワークに関する膨大な生態学的情報をもたらすことがわかった。例えば、図 2 のような解析を拡張することで、森林内でどういった種類の共生真菌が植物種間で共有されているのか、その

様式19 別紙1

全体像を詳細に解き明かすことができた (図3)。こうした情報は、地下真菌を介した植物種間の間接相互作用を解明する上で、これまでになかった規模の情報を提供する。森林であれ、農地であれ、ある植物種のバイオマスが増加すると、その相利共生 (もしくは寄生) 菌が増加する。この真菌群集構造の変化がどの植物に波及効果をもたらすのか、群集全体のレベルで予測することが将来的に可能になると期待される。さらに RAD マーカーによるゲノム・スキャンを行ったところ、共生真菌相と関連する宿主植物の遺伝マーカーを発見した。以上の成果により、森林および農地における微生物群集の動態を一挙に解明することが可能となる。

図1. 本プロジェクトで開発されたプログラム Claident (Tanabe & Toju 2013 PLOS ONE)によって、次世代シーケンシングの膨大なデータを生態学のデータ行列に変換できる。

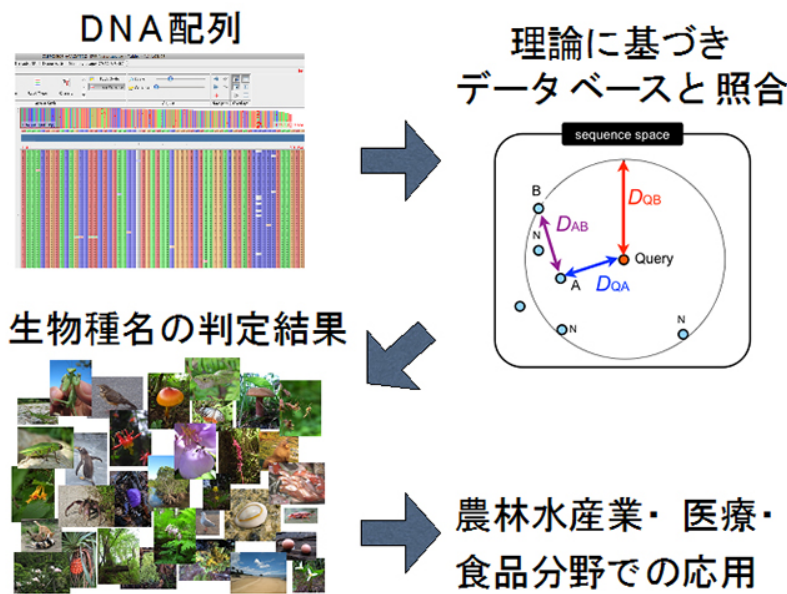


表1. Claident で DNA 配列から生物を自動同定できる。1 回の次世代シーケンシングで数千種類の真菌が得られる (以下はその抜粋)。

mOTU	superkingdom	kingdom	phylum	class	order	family	genus	N
contig_855	Eukaryota	Fungi	Ascomycota					86
contig_267	Eukaryota	Fungi	Ascomycota	Eurotiomycetes	Cheatothyiales	Herpotrichiellaceae		56
contig_859	Eukaryota	Fungi	Ascomycota					38
contig_175	Eukaryota	Fungi	Basidiomycota	Agaricomycetes	Russulales	Russulaceae	Russula	31
contig_791	Eukaryota	Fungi	Ascomycota	Leotiomycetes				31
contig_27	Eukaryota	Fungi	Basidiomycota	Agaricomycetes	Russulales	Russulaceae	Lactarius	26
contig_19	Eukaryota	Fungi	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Dermataceae		19
contig_829	Eukaryota	Fungi	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Helotiaceae	Meliiniomyces	12
contig_171	Eukaryota	Fungi	Ascomycota					11
contig_253	Eukaryota	Fungi	Ascomycota					10
contig_29	Eukaryota	Fungi	Ascomycota	Eurotiomycetes	Cheatothyiales	Herpotrichiellaceae	Capronia	10
contig_947	Eukaryota	Fungi	Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	Tricholomataceae	Myoena	9
contig_221	Eukaryota	Fungi	Basidiomycota	Agaricomycetes	Russulales	Russulaceae	Lactarius	8
contig_125	Eukaryota	Fungi	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Dermataceae	Cryptosporiopsis	8
contig_141	Eukaryota	Fungi	Ascomycota					7
contig_273	Eukaryota	Fungi	Ascomycota					7
contig_187	Eukaryota	Fungi	Basidiomycota	Agaricomycetes	Russulales	Russulaceae	Russula	6
contig_251	Eukaryota	Fungi	Basidiomycota	Agaricomycetes	Thelephorales	Thelephoraceae		6
contig_129	Eukaryota	Fungi						6
contig_15	Eukaryota	Fungi	Ascomycota	Leotiomycetes		Myxotrichaceae	Oidiodendron	6
contig_161	Eukaryota	Fungi	Ascomycota					6
contig_227	Eukaryota	Fungi						6
contig_249	Eukaryota	Fungi	Ascomycota					6
contig_853	Eukaryota	Fungi	Ascomycota					6
contig_223	Eukaryota	Fungi	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Hypocreaceae	Hypocrea	6
contig_183	Eukaryota	Fungi	Glomeromycota	Glomeromycetes	Glomerales	Glomeraceae		5
contig_357	Eukaryota	Fungi	Basidiomycota	Agaricomycetes	Cantharellales	Clavulinaceae	Clavulina	5
contig_875	Eukaryota	Fungi	Basidiomycota	Agaricomycetes	Thelephorales	Thelephoraceae	Tomentella	5
contig_173	Eukaryota	Fungi	Ascomycota					5
contig_189	Eukaryota	Fungi						5
contig_1	Eukaryota	Fungi	Glomeromycota	Glomeromycetes	Glomerales	Glomeraceae		4
contig_193	Eukaryota	Fungi	Basidiomycota	Agaricomycetes	Russulales	Russulaceae	Russula	4
contig_263	Eukaryota	Fungi	Ascomycota	Dothideomycetes			Cenococcium	4
contig_275	Eukaryota	Fungi	Basidiomycota	Agaricomycetes	Thelephorales	Thelephoraceae	Tomentella	4
contig_207	Eukaryota	Fungi	Ascomycota					4
contig_265	Eukaryota	Fungi	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Dermataceae	Cryptosporiopsis	4
contig_277	Eukaryota	Fungi						4
contig_31	Eukaryota	Fungi	Ascomycota					4

図2. 京都市の森林の共生ネットワーク。赤は植物種 (33 種)、黄色は外生菌根菌、緑色はアーバスキュラー菌根菌、青色はまだ生態情報が蓄積されていない真菌類である。

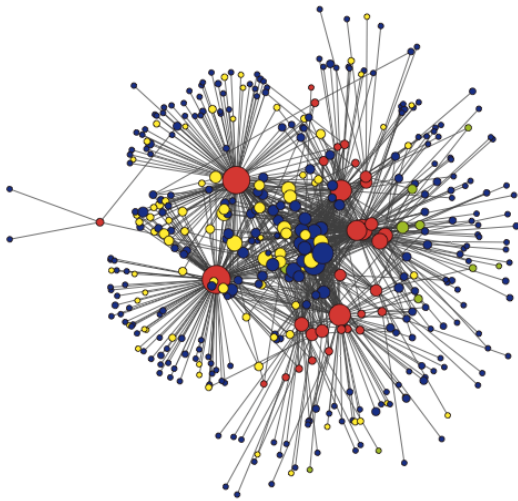
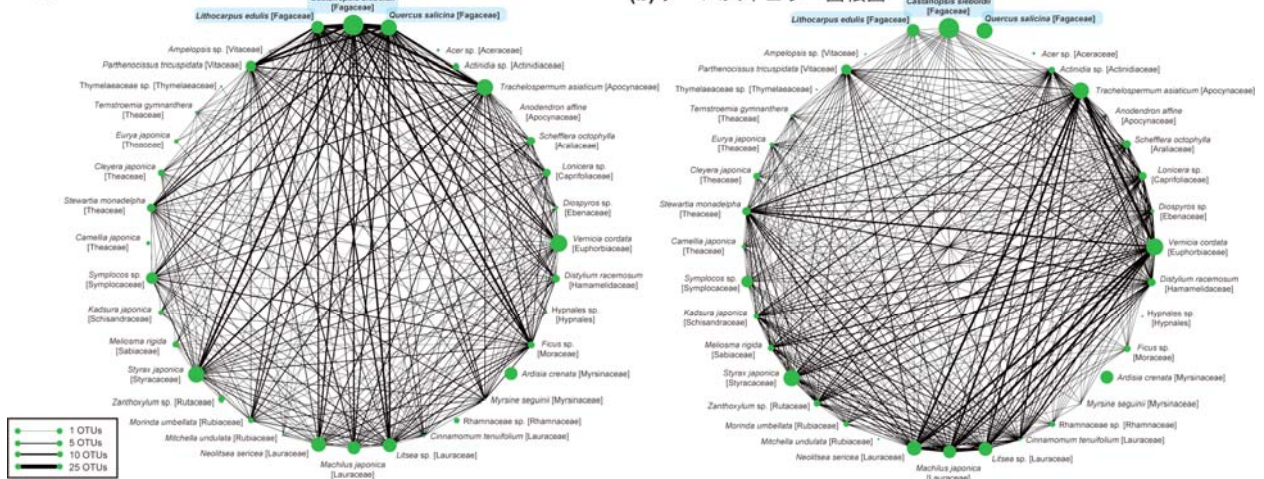


図3. 植物種間で共有される外生菌根菌とアーバスキュラー菌根菌の種類数 (屋久島の森林)。この植物群集では、外生菌根性の樹種 (水色の網掛け) とアーバスキュラー菌根性の樹種 (水色以外) が共存している。アーバスキュラー菌根菌は、主にアーバスキュラー菌根性の植物種間で共有されていたが、外生菌根菌は群集内の多様な植物種間で共有されていた。この結果は従来の菌根共生の概念に新たな視点を与える。

(a) 外生菌根菌

(b) アーバスキュラー菌根菌



3. 研究発表等

様式19 別紙1

<p>雑誌論文</p> <p>計 7 件</p>	<p>(掲載済み－査読有り) 計 7 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Yamamoto S, Sato H, Tanabe AS, Hidaka A, Kadowaki, K, and Toju H. (2014) Spatial segregation and aggregation of ectomycorrhizal and root-endophytic fungi in the seedlings of two <i>Quercus</i> species. PLOS ONE 9:e96363. 2. Toju H, Sato H, and Tanabe AS. (2014) Diversity and spatial structure of belowground plant-fungal symbiosis in a mixed subtropical forest of ectomycorrhizal and arbuscular mycorrhizal plants. PLoS ONE 9: e86566. 3. Kadowaki K, Sato H, Yamamoto S, Tanabe AS, Hidaka A and Toju H. (2014) Detection of the horizontal spatial structure of soil fungal communities in a natural forest. Population Ecology 56:301-310. 4. Toju H, Yamamoto S, Sato H, and Tanabe AS. (2013) Sharing of diverse mycorrhizal and root-endophytic fungi among plant species in an oak-dominated cool-temperate forest. PLoS ONE 8: e78248. 5. Tanabe AS and Toju H. (2013) Two new computational methods for universal DNA barcoding: A benchmark using barcode sequences of bacteria, archaea, animals, fungi, and land plants. PLoS ONE 8: e76910. 6. Toju H, Sato H, Yamamoto S, Kadowaki K, Tanabe AS, Yazawa S, Nishimura O, and Agata K. (2013) How are plant and fungal communities linked to each other in below-ground ecosystems? A massively-parallel pyrosequencing analysis of the association specificity of root-associated fungi and their host plants. Ecology and Evolution 3: 3112-3124. 7. Toju H, Yamamoto S, Sato H, Tanabe AS, Gilbert GS, and Kadowaki K. (2013) Community composition of root-associated fungi in a <i>Quercus</i>-dominated temperate forest: “co-dominance” of mycorrhizal and root-endophytic fungi. Ecology and Evolution 3: 1281-1293. <p>(掲載済み－査読無し) 計 0 件</p> <p>(未掲載) 計 0 件</p>
<p>会議発表</p> <p>計 7 件</p>	<p>専門家向け 計 6 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 東樹宏和. 「次世代シーケンシングで生物種間の共生ネットワークを読みとく」.(企画:岩崎渉・古田芳一). 第三回 NGS 現場の会. 2013 年 9 月 4 日. 神戸国際会議場. 2. 東樹宏和. 「植物と真菌の共生関係を森林全体レベルで解明する 外生菌根菌・アーバスキュラー菌根菌・内生菌が形作る複雑な地下群集」.(企画:小八重善裕)「菌根共生からみる植物栄養の新時代」. 2013 年土壤肥料学会. 2013 年 9 月 12 日. 名古屋大学. 3. Toju H. “Does massively-parallel pyrosequencing revolutionize empirical studies of ecological networks?” Organized by Toshiyuki Namba, “Network Structure and Dynamics of Ecological Communities”, Plenary symposium of the 29th Annual Meeting of the Society of Population Ecology. October 12, 2013. Osaka Prefecture University. 4. 東樹宏和. “Below-ground networks of plants and fungi”. Hakubi Camp Seminar. 2013 年 4 月 19 日. 関西セミナーハウス. 5. Toju H. “How are plant and fungal communities linked to each other in below-ground ecosystems? A community-wide analysis of the partner preference of root-associated fungi and their host plants”. INTECOL2013. August 22, 2013. ExCel London. 6. 東樹宏和(企画責任). 日本生態学会企画集会「群集生態学の理論と実証をつなぎ直す:「空間」への視点で群集理解を革新する」. 第 61 回日本生態学会大会. 2014 年 3 月 15 日. 広島国際会議場. <p>一般向け 計 1 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 「DNA 情報で生態系を読み解く」(こたつを囲んで膝詰め対話). 京都大学アカデミックデイ2013. 2013 年 12 月 21 日. 京都大学 [一般対象: 529 名]
<p>図書</p> <p>計 1 件</p>	<p>東樹宏和. (2013) 「軍拡競走」・「適応地形」・「適応放散」. In 上田恵介編. 「行動生物学辞典」. 東京化学同人.</p>

様式19 別紙1

産業財産権 出願・取得状 況 計 0 件	(取得済み) 計 0 件 (出願中) 計 0 件
Webページ (URL)	東樹宏和 HP https://sites.google.com/site/toju/Home/japanese-nihongo
国民との科 学・技術対話 の実施状況	「DNA 情報で生態系を読み解く」(こたつを囲んで膝詰め対話). 京都大学アカデミックデイ2013. 2013 年 12 月 21 日. 京都大学 [一般対象; 529 名] 来場者とコタツを囲んで研究成果を説明しつつ、双方向のコミュニケーションを行った。
新聞・一般雑 誌等掲載 計 3 件	「あらゆる生物の名前を DNA に基づいて特定する「DNA バーコーディング」の理論的枠組みを確立」 朝日新聞(10 月 21 日夕刊 10 面)、京都新聞(10 月 23 日 23 面)および日刊工業新聞(10 月 21 日 16 面)
その他	

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成25年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されません

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の累計)	③当該年度受領額	④(=①-②-③)未受領額	既返還額(前年度迄の累計)
直接経費	130,000,000	93,820,000	36,180,000	0	0
間接経費	39,000,000	28,146,000	10,854,000	0	0
合計	169,000,000	121,966,000	47,034,000	0	0

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執行額	②当該年度受領額	③当該年度受取利息等額 (未収利息を除く)	④(=①+②+③)当該年度合計収入	⑤当該年度執行額	⑥(=④-⑤)当該年度未執行額	当該年度返還額
直接経費	785,140	36,180,000	0	36,965,140	36,965,140	0	0
間接経費	22,353,000	10,854,000	0	33,207,000	33,207,000	0	0
合計	23,138,140	47,034,000	0	70,172,140	70,172,140	0	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	21,542,843	実験試薬、Miseqシステムほか
旅費	1,898,785	日本生態学会参加ほか
謝金・人件費等	10,940,517	博士研究員人件費ほか
その他	2,582,995	論文掲載料ほか
直接経費計	36,965,140	
間接経費計	33,207,000	
合計	70,172,140	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関名
Miseqシステム	イルミナ	1	11,970,000	11,970,000	2013/6/24	京都大学
				0		
				0		