

<b>Focus</b>	Genome sequencing project of heterocystous cyanobacteria in the NIES collection
<b>PI</b>	Toyoashi University of Technology (Yuu Hirose)
<b>Period</b>	FY2016
<b>Overview</b>	<p>Cyanobacteria are photosynthetic bacteria that perform oxygen-evolving photosynthesis. In 1990s, the complete genome sequence of <i>Synechocystis sp.</i> PCC 6803 was reported as the first genome of photosynthetic organism (Kaneko et al 1996 <i>Plant Cell Physiol.</i>). Since then, genomes of several cyanobacterial strains have been sequenced, and researchers utilize them as model organisms. However, the spread of the next-generation sequencers in 2010s enables us to study much more diverse cyanobacterial strains deposited in the culture collections (Shih et al 2013.).</p> <p>We focused on the filamentous cyanobacteria that are capable of forming heterocysts. Heterocysts are differentiated cells to fix nitrogen during nitrogen starvation. The genome sizes of heterocystous cyanobacteria are 6-12 Mbp, which are much larger than other non-heterocystous cyanobacteria. In this program, we selected 20 strains of heterocystous cyanobacteria of the National Institute of Environmental Science (NIES) culture collection in Japan (Fig. 1). Their genomes are sequenced and assembled in Toyoashi University of Technology. Annotation and data release are performed in National Institute of Genetics. This program will facilitate both basic and applied studies using cyanobacteria.</p>  <p>The diagram illustrates the workflow: 1. National Institute of Environmental Sciences (NIES) - Selection of heterocystous strains (represented by a grid of cyanobacteria images). 2. Toyoashi University of Technology - Genome sequencing (represented by a computer workstation). 3. National Institute of Genetics - Gene annotation and data release (represented by a computer monitor showing a website). 4. CyanoBase (represented by a screenshot of the database interface).</p>
<b>Progress</b>	<p>(written in Japanese)</p> <p>【概要】</p> <p>シアノバクテリアは光合成を行う原核生物の一群であり、植物の光合成機能の解明、アオコの発生機構の解明、遺伝子改変によるバイオマス生産等、基礎から応用までの幅広い研究の材料として利用されている。我が国においてシアノバクテリアは、ナショナルバイオリソースプロジェクトの中核機関である国立環境研究所（NIES）の藻類コレクションにて56属933株が管理され、国内外の幅広い研究者に利用されている。近年の次世代シーケンサーの普及に伴い、各国のカルチャーコレクションに集積された多様なシアノバクテリアのゲノムを網羅的に解析する取り組みが行われているが（Shih et al 2013 Proc. Natl. Acad. Sci.等）、NIESコレクションのゲノム解析株は、本事業以前は5株にとどまっていた。そこで本事業では、NIESコレクションに集積されたシアノバクテリアのゲノム情報整備に取り組んだ。本年度は、ゲノムサイズが大きく、高精度なゲノム情報の整備が世界的に遅れているヘテロシスト形成グループの31株のゲノム解析を行った。シアノバクテリアの培養とゲノムDNAの抽出は国立環境研究所、次世代シーケンサーを用いたゲノム解析は豊橋技術科学大学、遺伝子のアノテーションとデータ公開を国立遺伝学研究所が担当した。次世代シーケンサーによって構築できるゲノムの塩基配列の完成度は、短いサイズに断片されたContig（コンティグ）、コンティグ間の位置関係を明らかにした Scaffold（スキヤッフールド）、スキヤッフールド間の位置関係を明らかにして染色体が1つにつながった Chromosome（染色体）、染色体の全てのギャップの配列を決定した Complete（完全）の4つのレベルに大別され、後半のレベルほど高精度なゲノム情報である。本事業では、ゲノム解析を行った31株のうち、Completeレベルのゲノムを7株、Chromosomeレベルのゲノムを23株、Scaffoldレベルのゲノムを1株決定した。これらの株のゲノムの塩基配列について、遺伝子予測と高精度アノテーション付与を、DFASTパイプラインを用いて実施した（<a href="https://dfast.nig.ac.jp/">https://dfast.nig.ac.jp/</a>）。これまでに事業担当者が解析してきた9株のNIES株も合わせ、合計40株のゲノム情報をデータベース CyanoBaseにて公開した（<a href="http://genome.microbedb.jp/cyanobase">http://genome.microbedb.jp/cyanobase</a>）。平成28年度3月時点で、Chromosomeレベル以上に</p>

アセンブルされた高精度なシアノバクテリアのゲノムの塩基配列は約160株が公開され、本事業の取り組みによってその約1/4が NIES コレクション由来となり、当該分野における我が国のプレゼンスは大きく向上した。また、我が国独自のリソースである NIES コレクションのシアノバクテリアの新たなユーザーの獲得が期待できる。加えて、本事業により、多様なシアノバクテリア株の維持や管理を専門とする研究者、次世代シーケンス解析を専門とする研究者、データ公開を専門とする研究者の間の連携が促進され、国内のゲノム研究の底上げにも貢献した。

【学会誌・雑誌等における論文一覧】

1. Hirose Y., Misawa N., Yonekawa C., Nagao N., Watanabe M., Ikeuchi M. and Eki T. Characterization of the Genuine Type 2 Chromatic Acclimation in the Two *Geminocystis Cyanobacteria*. DNA Res. 2017. in press.
2. Shimura Y., Hirose Y., Misawa N., Wakazuki S., Fujisawa T., Nakamura Y. Kanesaki Y., Yamaguchi H. and Kawachi M. Complete genome sequence of a coastal cyanobacterium, *Synechococcus* sp. NIES-970. Genome Announc., 2017. in press.
3. Hirose Y., Ikeuchi M. and Eki T. Diverse molecular processes of chromatic acclimation in the cyanobacteria phylum. Plant Morphol. 2017. in press

【学会・シンポジウム等における口頭・ポスター】

1. *Leptolyngbya* 属シアノバクテリアの光合成装置の光色応答の解析, 口頭, 広瀬侑, 長尾信義, 米川千夏, 渡辺麻衣, 池内昌彦, 浴俊彦, 第11回日本ゲノム微生物学会年会, 2017/3/2, 国内(口頭)
2. *Leptolyngbya* 属シアノバクテリアにおけるフィコエリスロシアニン調節型の補色順化の解析, 口頭, 広瀬侑, 長尾信義, 米川千夏, 渡辺麻衣, 池内昌彦, 浴俊彦, 第58回日本植物生理学会年会, 2017/3/18, 国内(口頭)