

課題名	NIES コレクションのシアノバクテリアのゲノム情報整備
課題管理者	広瀬 侑 豊橋技術科学大学
実施期間	2016 年度
概要・実施体制	<p>藻類とは、水圏で酸素発生型光合成を行う生物の総称であり、原核生物であるシアノバクテリアと、一次共生および二次共生によって葉緑体を獲得した真核藻類という異なる生物群を含む。シアノバクテリアのゲノム情報は、光合成生物として初めてゲノム情報が整備された <i>Synechocystis</i> sp.PCC 6803 等を中心に、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など、幅広い研究の進展に貢献している (Kaneko et al 1996 <i>Plant Cell Physiol.</i>)。1990-2000 年代は特定のシアノバクテリアをモデルとして用いた研究が主流であったが、2010 年代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形質を持つシアノバクテリアの研究も重要になってきている (Shih et al 2013 <i>Proc. Natl. Acad. Sci.</i>)。本プログラムでは、ヘテロシストと呼ばれる窒素固定を行う分化細胞を形成するシアノバクテリアの一群に着目した。これらの株は、他のシアノバクテリア種が持たない多様な二次代謝遺伝子や環境応答遺伝子を保持する事が期待されるが、ゲノムサイズが 6-12Mbp と大きく、高精度なゲノム情報の整備が大きく遅れている。本プログラムでは、NBRP 中核機関である国立環境研究所 (NIES) のカルチャーコレクションの中から、ヘテロシスト形成能を持つ 20 株のシアノバクテリアを選別し、次世代シーケンサーを用いたゲノム解析を豊橋技術科学大学にて行い、高精度なアノテーション情報を付与したゲノム情報を、国立遺伝学研究所のデータベース CyanoBase (http://genome.microbedb.jp/cyanobase/) を通じて公開する (図 1)。これらの取り組みにより、我が国独自のシアノバクテリアのゲノムリソースが整備され、シアノバクテリアを用いた基礎や応用研究の発展に貢献できる。</p> <div data-bbox="319 940 1436 1377" data-label="Diagram"> <p>The diagram illustrates the research workflow in three stages:</p> <ul style="list-style-type: none"> 国立環境研究所 (NIES): 多様な NIES コレクション株からヘテロシスト形成株を選別 (Selecting heterocyst-forming strains from diverse NIES collection strains). 豊橋技術科学大学: 次世代シーケンサーを用いたゲノム解析 (Genome analysis using next-generation sequencing). 国立遺伝学研究所: アノテーションの付与とデータベース公開 (Annotation and database publication). <p>The final product is the CyanoBase database.</p> </div>
成果	<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 5 6 属 9 3 3 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 <i>Proc. Natl. Acad. Sci.</i>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 3 1 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、短いサイズに分断された 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</p>

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 (<https://dfast.nig.ac.jp/>)。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 (<http://genome.microbedb.jp/cyanobase>)。平成28年度3月時点で、Chromosomeレベル以上に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)