

平成 28 年度 医療研究開発推進事業費補助金
成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) ナショナルバイオリソースプロジェクト
(英語) National BioResource Project

補助事業課題名： (日本語) NIES コレクションのシアノバクテリアのゲノム情報整備
(英語) Genome sequencing of the NIES cyanobacteria collection

補助事業担当者 (日本語) 豊橋技術科学大学環境・生命工学系 助教 広瀬侑
所属 役職 氏名： (英語) Toyohashi University of Technology, Department of Environmental and
Life Sciences, Assistant Professor, Yuu Hirose

実施期間： 平成 28 年 10 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) シアノバクテリアのゲノムのアノテーション付与と公開
分担課題名： (英語) Annotation and data release of cyanobacterial genomes

補助事業分担者 (日本語) 情報・システム研究機構 国立遺伝学研究所 教授 中村保一
所属 役職 氏名： (英語) Research organization of information and systems, National institute
of genetics, Professor, Yasukazu Nakamura

分担研究 (日本語) シアノバクテリアの培養と DNA の抽出
分担課題名： (英語) Cultivation of cyanobacteria and extraction of genomic DNA

補助事業分担者 (日本語) 国立環境研究所 室長 河地正伸
所属 役職 氏名： (英語) National institute for environmental studies, Chief, Masanobu Kawachi

II. 成果の概要 (総括成果報告)

<和文>

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。

<英文>

Cyanobacteria are gram-negative bacteria that perform oxygen-evolving photosynthesis. They are utilized in many research fields such as molecular mechanism of photosynthesis, formation of algae bloom in aquatic environments, and biomass production by genetic engineering. Recent progress of the next-generation sequencing technologies enables researchers to analyze the genomes of diverse cyanobacteria strains deposited in the culture collection of each country (Shih et al 2013 *Proc. Natl. Acad. Sci.*). In Japan, culture collection of the National Institute of Environment and Studies (NIES), which is one of the core institutions of National BioResource Project (NBRP), harbors total 56 genus and 933 species of cyanobacteria strains, but genomes of

only three NIES strains have been sequenced. In this project, we performed genome sequencing of the NIES cyanobacteria strains that are capable of forming heterocysts, differentiated cells for nitrogen fixation. This project was performed by the three organizations: NIES, Toyohashi University of Technology, and National Institute of Genetics. NIES performed cultivation of strains and purification of their genomic DNA. Toyohashi University of Technology performed next generation sequencing and genome assembly. National Institute of Genetics performed genome annotation and data release. In the NCBI assembly database, quality of genome assembly is classified with four levels: complete, chromosome, scaffolds, and contigs. The complete and chromosome level assemblies are desirable for the practical use of scientists. We sequenced 31 heterocystous strains and succeeded to determine 7 genomes with complete level, 23 genomes with chromosome level and a genome with scaffold level. These genome sequences were subjected to prediction and annotation of genes using DFAST pipeline (<https://dfast.nig.ac.jp/>). Currently, genome data of about 120 cyanobacteria strains with complete or chromosome levels are available. Taken together with genomes of other 9 NIES strains, which were sequenced previously, genome data of total 40 NIES strains were released in the cyanobacteria database CyanoBase (<http://genome.microbedb.jp/cyanobase>). Our genome data of the NIES strains will be useful for many researches in both basic and applied studies. In addition, this project facilitated the collaboration of scientists who is responsible for management of culture collection, next generation sequencing facilities, bioinformatics tools and database in Japan.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 3 件）

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.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

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
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

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
なし

(4) 特許出願
なし

平成 28 年度 医療研究開発推進事業費補助金
成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) ナショナルバイオリソースプロジェクト
(英語) National Bioresource Project

補助事業課題名： (日本語) NIES コレクションのシアノバクテリアのゲノム情報整備
(英語) Genome sequencing of the NIES cyanobacteria collection

補助事業担当者 (日本語) 豊橋技術科学大学環境・生命工学系 助教 広瀬侑
所属 役職 氏名： (英語) Toyohashi University of Technology, Department of Environmental and Life Sciences, Assistant Professor, Yuu Hirose

実施期間： 平成 28 年 10 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) シアノバクテリアのゲノムのアノテーション付与と公開
分担課題名： (英語) Annotation and data release of cyanobacterial genomes

補助事業分担者 (日本語) 情報・システム研究機構 国立遺伝学研究所 教授 中村保一
所属 役職 氏名： (英語) Research Organization of Information and Systems, National Institute of Genetics, Professor, Yasukazu Nakamura

分担研究 (日本語) シアノバクテリアの培養と DNA の抽出
分担課題名： (英語) Cultivation of cyanobacteria and extraction of genomic DNA

補助事業分担者 (日本語) 国立環境研究所 室長 河地正伸
所属 役職 氏名： (英語) National institute for environmental studies, Chief, Masanobu Kawachi

II. 成果の概要 (総括成果報告)

補助事業代表者： 豊橋技術科学大学環境・生命工学系 助教 広瀬侑 総括成果報告を参照。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 0 件、国際誌 1 件)

1. 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.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

なし

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

なし

(4) 特許出願

なし

平成 28 年度 医療研究開発推進事業費補助金
成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) ナショナルバイオリソースプロジェクト
(英語) National Bioresource Project

補助事業課題名： (日本語) NIES コレクションのシアノバクテリアのゲノム情報整備
(英語) Genome sequencing of the NIES cyanobacteria collection

補助事業担当者 (日本語) 豊橋技術科学大学環境・生命工学系 助教 広瀬侑
所属 役職 氏名： (英語) Toyohashi University of Technology, Department of Environmental and Life Sciences, Assistant Professor, Yuu Hirose

実施期間： 平成 28 年 10 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) シアノバクテリアのゲノムのアノテーション付与と公開
分担課題名： (英語) Annotation and data release of cyanobacterial genomes

補助事業分担者 (日本語) 情報・システム研究機構 国立遺伝学研究所 教授 中村保一
所属 役職 氏名： (英語) Research organization of information and systems, National institute of genetics, Professor, Yasukazu Nakamura

分担研究 (日本語) シアノバクテリアの培養と DNA の抽出
分担課題名： (英語) Cultivation of cyanobacteria and extraction of genomic DNA

補助事業分担者 (日本語) 国立環境研究所 室長 河地正伸
所属 役職 氏名： (英語) National institute for environmental studies, Chief, Masanobu Kawachi

II. 成果の概要 (総括成果報告)

補助事業代表者： 国立大学法人豊橋技術科学大学 環境・生命工学系 助教 広瀬 侑 総括成果報告を参照。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 0 件、国際誌 1 件)

1. 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,

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Genome sequencing of the bloom-forming cyanobacterium *Planktothrix agardhii* NIES-204T, ポスター, **Shimura Y.**, Fujisawa T., **Hirose Y.**, Kanesaki Y., Yamaguchi H. and **Kawachi M.** 10th International Conference on Toxic Cyanobacteria, 2016/10/25 国外
2. アオコ原因シアノバクテリア *Planktothrix agardhii* NIES-204 株の完全ゲノム解読, 口頭, **志村遥平**, 藤澤貴智, **広瀬侑**, 兼崎友, **河地正伸**, 第 11 回日本ゲノム微生物学会年会, 2017/3/2, 国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

なし

(4) 特許出願

なし