

プロジェクト名(タイトル):

Metagenomics Analysis

利用者氏名:

○Naveen Kumar (1), 緒方 勇亮 (1), 増岡 弘晃 (1), 黒川 李奈 (1), 柿原 知 (1), 木口 悠也 (1), 須田 亙 (1)

理研における所属研究室名:

(1) 理化学研究所 生命医科学研究センター マイクロバイオーム研究チーム

1. 本プロジェクトの研究の背景、目的、関係するプロジェクトとの関係

近年、ヒトの身体の様々な部位に生息・共生する微生物集団であるマイクロバイオームがヒトの生理機能に強く影響することが明らかになりつつあり、その重要性はますます高まっている。マイクロバイオームには多様な細菌が含まれており、非常に複雑な構造をしている。マイクロバイオームの包括的な理解のためには、糞便サンプル中に含まれる全遺伝子を網羅的に解読することができるメタゲノム解析が最も有効な手段であるが、詳細な解析を求める程、多量の計算リソースが要求される。本プロジェクトでは、膨大な計算リソースを誇る HOKUSAI を用いることで、通常規模のサーバーでは難しい詳細なメタゲノム解析を行うことを目的とした。

2. 具体的な利用内容、計算方法

本プロジェクトでは、①ロングリード NGS 由来のメタゲノムデータから構築した微生物ゲノムデータの解析、②ショートリード NGS 由来の公開メタゲノムデータの解析、の2つの用途で HOKUSAI を用いた。①; 40 万以上の微生物ゲノムを genomad で層別後、それぞれの微生物種ごと(細菌染色体、バクテリオファージ、プラスミド)のクラスタリングを dRep にて行った。また、異菌種間の水平遺伝子伝播由来配列と想定される領域を細菌染色体中から特定し、dRep によって重複配列を取り除いた。②; ショートリードメタゲノムデータから構築した微生物ドラフトゲノム (MAG: Metagenome Assembled-Genomes) のクオリティを checkM によって評価した。クオリティの高い MAG のみを選択し、dRep によって重複した MAG の除去を行った。また、gene calling によって得られた遺伝子配列およびアミノ酸配列から得られた大量の配列データに対し、eggnog-mapper v2 を用いて機能アノテーションを行った。

3. 結果

40 万以上の微生物ゲノムから、約 2,000 の完全性の高い

染色体ゲノム、約 600 のプラスミド、1500 以上のバクテリオファージを層別化することができた。また、約 30,000 の水平遺伝子伝播領域が推定され、異なる門の間でも 200 以上の水平遺伝子伝播が生じている可能性を示唆するデータが得られた。また、ショートリード NGS からは重複のない約 10,000 個の MAG および 9,000 万以上の遺伝子・アミノ酸配列を構築することができた。

4. まとめ

HOKUSAI を利用することで、通常規模のサーバー環境では数ヶ月～数年かかると予測される、ヒトマイクロバイオームの大規模かつ詳細なメタゲノム解析を迅速に実施することができた。

5. 今後の計画・展望

本プロジェクトでは、完全性の高い細菌染色体ゲノムやバクテリオファージ・プラスミドといった染色体外微生物移動因子の層別化を非常に高精度かつ多量に行うことができた。一方で、大半のゲノム画分がどの微生物種に該当するかについての証拠がない unclassified なゲノムにせざるを得なかった。これは層別化のためのツールの多くがデータベースに依存したものであり、データベースに含まれない配列についての判定精度が低いことが一因であると考えられる。このため、de novo に層別化できるツールの開発も視野に入れ、より多くのゲノムの層別化を目指す。また、borg のような新しいカテゴリーに属すると考えられる微生物や rRNA を染色体ゲノム内に持たない特殊な細菌も発見されてきており、こうした既存の常識に囚われない視点からの解析にも取り組みたいと考えている。

6. 利用がなかった場合の理由

該当なし

2023 年度 利用研究成果リスト

【雑誌に受理された論文】

該当なし

【会議の予稿集】

該当なし

【口頭発表】

1. Hiroaki Masuoka, “Alterations of symbiotic gut microbes by urbanization”, The 36th JSME & the 13th ASME, November 2023, Hamamatsu, Shizuoka.

【ポスター発表】

1. 増岡 弘晃, 「都市化が生んだ"missing / emerging" microbial genes が疾患リスクにもたらす影響」, 第 46 回日本分子生物学会年会, 2023 年 12 月, 兵庫県神戸市.

【その他(著書、プレスリリースなど)】

該当なし