

課題名(タイトル):

Metagenomic analysis for human symbiotic microbiome

利用者氏名:

○Naveen Kumar (1), 増岡 弘晃 (1), 黒川 李奈 (1), 柿原 知 (1), 木口 悠也 (1), 関家 紗愛 (1), 濱口 翔 (1)

理研における所属研究室名:

(1) 生命医科学研究センター 共生微生物叢研究チーム

1. 本課題の研究の背景、目的、関係する課題との関係
ヒトの身体の様々な部位にはマイクロバイオーームと呼ばれる微生物群が生息・共生している。マイクロバイオーームはヒトの生理機能と関連することが明らかになっており、その重要性はますます高まっている。特に腸内のマイクロバイオーーム中には多種多様な微生物種が含まれており、それぞれが多彩な機能遺伝子を保有する。メタゲノム解析はマイクロバイオーームに含まれる微生物のゲノム配列を網羅的に決定する最も有効な手段であるが、様々なツールを組み合わせる解析の関係上、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現実的でな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

本年度は、NovaSeq を始めとしたショートリード NGS によって得られた ヒト糞便由来の公開メタゲノムデータおよびマウス糞便由来のメタゲノムデータ解析のため、HOKUSAI を用いた。コンティグ Binning ツールである MetaBAT2 と SemiBin2 を用いて、ショートリードメタゲノムデータから微生物ドラフトゲノム (MAG: Metagenome - Assembled Genomes) を構築した。MAGScoT というツールを用いて Refinement の後に、MAG のクオリティを CheckM2 および GUNC 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、KofamScan を用いて機能アノテーションを行った。系統アノテーションについては、GTDB-Tk というツールを用いて行った。さらに、geNomad というツールを用いて、MAG 中に含まれる可動遺伝因子 (MGE: Mobile Genetic Elements) の一種である Provirus と推定される領域の検出も行った。

3. 結果

公開されたヒト糞便由来のショートリードメタゲノムデータから 4,000 個以上の、マウス糞便由来のショートリードデータからは 750 個以上の MAG を構築することができた。さらに、それぞれの MAG の系統および保有する機能遺伝子、さらに Provirus と推定される領域の検出を行った。

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以上かかると予測される、マイクロバイオー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

本年度は、高精度かつ多量の MAG の構築を行うことができた。さらに、未解明な点の多い MGE についても各 MAG における保有状況を推定することもできた。また、GTDB-Tk で系統が分類できない MAG も数多く存在していた。こうした MAG はデータベースに依存した解析では気付くことすらできないが、MAG として構築できることを考慮するとある程度以上の depth で腸内マイクロバイオーーム中に存在するということが推測される。こうした未知の微生物が宿主に対して重要な影響をもたらす可能性もあるため、我々のチームでは引き続き *de novo* 解析にも取り組んでいきたいと考えている。

6. 利用がなかった場合の理由

該当なし

2024 年度 利用研究成果リスト

【ポスター発表】

1. Hiroaki Masuoka, “ECONOMIC DEVELOPMENT ASSOCIATED SHIFTS IN GUT MICROBIOME AND THEIR IMPLICATIONS FOR DISEASE RISK”, 10th International Human Microbiome Consortium Congress, June 2024, Rome, Italy.