

研究 成 果 報 告 書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		巨大ウイルスのホストクロレラへの全ゲノム挿入と宿主進化プロセスへの影響			
研究テーマ (欧文) AZ		Whole genome integration of giant virus to its host, and its impact on evolutionary process			
研究氏 代 表 名 者	カカナ CC	姓) オグラ	名) アツシ	研究期間 B	2017 ~ 2018 年
	漢字 CB	小倉	淳	報告年度 YR	2018 年
	ローマ字 CZ	OGURA	ATSUSHI	研究機関名	長浜バイオ大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		長浜バイオ大学・バイオサイエンス学部・准教授			
概要 EA (600 字～800 字程度にまとめてください。) ミドリゾウリムシに細胞内共生をするクロレラ (<i>Chlorella variabilis</i>) は、共生により巨大ウイルス (PBCV) から保護されているが、外界に放出されると巨大ウイルス (PBCV) に感染し死滅してしまう。一方、共生クロレラの近縁種だがミドリゾウリムシに共生しない自由生活クロレラ (<i>Chlorella vulgaris</i>) は、巨大ウイルスの全ゲノムを自身のゲノムの中に獲得していて、ウイルス抵抗性を示すことを申請者らは発見した。巨大ウイルスとは一部翻訳システムや適応免疫システムを持つより自立性の高いウイルスで、巨大ウイルスが他生物に全ゲノム挿入されていることは世界初の発見である。そこで我々は、過去において共通祖先クロレラは自由生活をしていたが、巨大ウイルス感染による死滅の危機に瀕し、自由生活から細胞内共生に向かった共生クロレラと、ウイルスゲノムの挿入を通してウイルス抵抗性を獲得し自由生活様式を維持した自由生活クロレラに、種分化したのではないかという仮説を立てた。 本研究では、まず、ウイルスゲノムの挿入を立証するために、ゲノム構造を正確に決定するパイプラインを MinION シーケンサーを用いて構築した。実際にクロレラのシーケンシングをおこない、得られたリードデータを用いて様々な条件でアセンブリをおこない、コンティグ数や N50 などの指標を用いることによって、コンティグ同士をうまくつなぐことができるか (Assembly Quality) により評価するだけでなく、サンガーシーケンサーにより決定されたクロレラの高品質なゲノムを Reference として比較をおこない、最適な解析パイプラインを構築した。次に、得られたクロレラで見つかったウイルスの挿入部位である Virus Integration Site (VIS) の配列全ゲノム挿入によるものであることの確認と、VIS が挿入される以前のクロレラゲノムと VIS の境界領域の同定を行なった。また VIS 内の遺伝子の予測と、VIS 内の Nucleo-Cytoplasmic Virus Orthologous Genes (NCVOGs) を利用して系統樹を作成し、VIS の系統上の位置を確かめた。加えて、Viral Translation System に着目し、挿入されたと予想される <i>Paramecium burusaria</i> <i>Chlorella</i> virus (PBCV) の祖先が持っていたであろう機能を探った。その結果、VIS が巨大ウイルス PBCV の全ゲノム挿入の痕跡であることの確認ができた。また、近縁のクロレラとの比較により VIS が <i>Chlorella vulgaris</i> (Cvu) に特異的な配列であることが示唆された。また、遺伝子の断片を多数持っていること、既知遺伝子の約半数は巨大ウイルスの遺伝子と相関性があり、挿入されたウイルスは PBCV の祖先であることが考えられた。さらに、VIS には現存する PBCV-1 が持たないアミノアシル tRNA 合成酵素が 8 種類存在することから、翻訳システム関連遺伝子に関して PBCV-1 とは異なる構成であったと考えられた。本研究をさらに進展させれば、ウイルスのクロレラに対する全ゲノム挿入により、クロレラがどの様にミドリゾウリムシとの共生を進展させていったかについて解明させることが可能だと考えられる。					
キーワード FA	共生	ウイルス	進化	ゲノム	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}	de novo assembly pipeline of middle-size genome for comparative genome analysis using MinION and Illumina sequences							
	著者名 ^{GA}	Minei R., Hoshina R., *Ogura A.	雑誌名 ^{GC}	BMC Genomics					
	ページ ^{GF}	700 ~	発行年 ^{GE}	2	0	1	8	巻号 ^{GD}	19 (1)
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要^{EZ}

BACKGROUND:

The plastid acquisition by secondary endosymbiosis is a driving force for the algal evolution, and the comparative genomics was required to examine the genomic change of symbiont. Therefore, we established a pipeline of a de novo assembly of middle-sized genomes at a low cost and with high quality using long and short reads.

RESULTS:

We sequenced symbiotic algae *Chlorella variabilis* using Oxford Nanopore MinION as the long-read sequencer and Illumina HiSeq 4000 as the short-read sequencer and then assembled the genomes under various conditions. Subsequently, we evaluated these assemblies by the gene model quality and RNA-seq mapping rate. We found that long-read only assembly could not be suitable for the comparative genomics studies, but with short reads, we could obtain the acceptable assembly. On the basis of this result, we established the pipeline of de novo assembly for middle-sized algal genome using MinION.

CONCLUSIONS:

The genomic change during the early stages of plastid acquisition can now be revealed by sequencing and comparing many algal genomes. Moreover, this pipeline offers a solution for the assembly of various middle-sized eukaryotic genomes with high-quality and ease.