

食用藍藻スピルリナの完全長ゲノム塩基配列

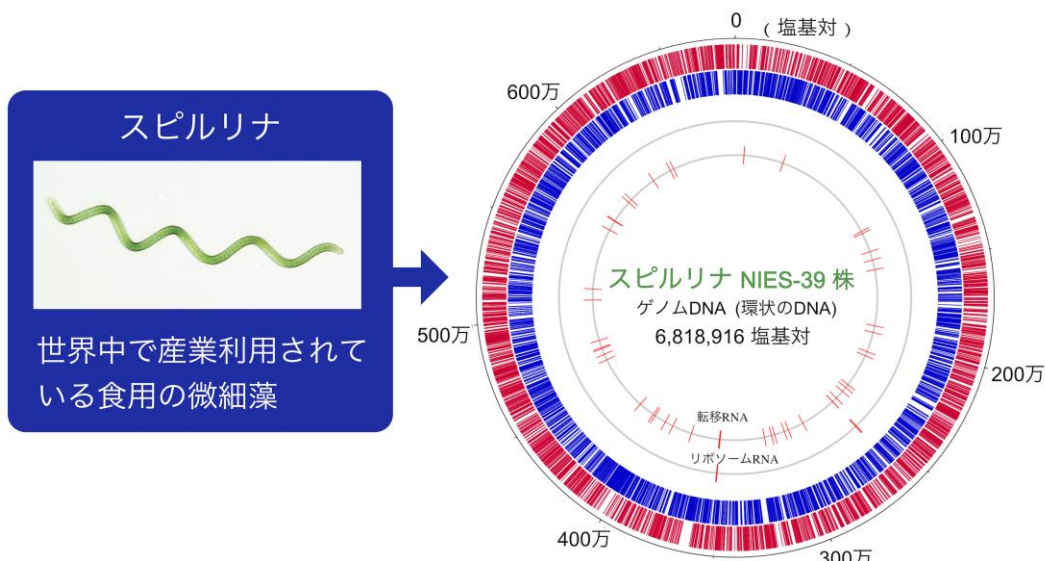
— 光合成による有用物質生産の基盤 —

概要

京都大学大学院生命科学研究科 白石英秋 准教授、西田晴香 修士課程学生らの研究グループは、食用の微細藻スピルリナの純系品種 (NIES-39 株) について、完全なゲノム塩基配列を解読しました。スピルリナは産業的に有用なため、以前からゲノムの塩基配列の解読が試みられてきました。特に、スピルリナ NIES-39 株は 10 年以上前にゲノムの塩基配列の概要が明らかにされ、この生物のモデル株として利用されています。しかし、これまでにわかっていたゲノム塩基配列は、解読できていない領域が塩基配列中に散在している不完全なものでした。今回、高品質なゲノム DNA を単離して、長大な塩基配列の読み取りに適した塩基配列解読装置で塩基配列を読み取ることにより、完全な塩基配列を解読することに成功しました。このゲノム塩基配列の情報は、この有用な微細藻の品種改良を行う際の基盤となるものです。今後、誰もがこの完全なゲノム塩基配列の情報を活用できるようになったので、この微細藻を利用した研究開発が加速されるものと期待されます。

この研究成果は、2022 年 12 月 20 日に、アメリカ微生物学会が発行する学術誌「*Microbiology Resource Announcements*」にオンライン掲載されました。

完全長ゲノム塩基配列の解読



赤と青の線はタンパク質をつくる遺伝子の場所 (約 6000 遺伝子)
赤は時計回り、青は反時計回りに遺伝子の情報が読み取られる。

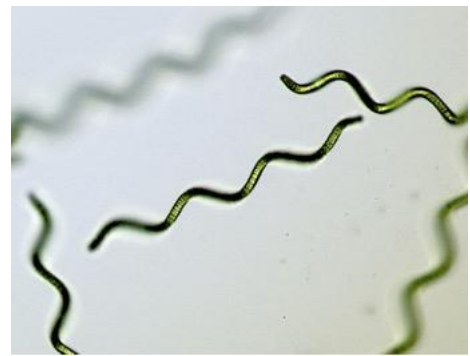
1. 背景

スピルリナ (学名 *Arthrospira platensis*) は光合成で増殖する植物性プランクトンの一種です。生物としては、シアノバクテリア (藍藻) と呼ばれるグループに属しています。主な原産地はアフリカのチャド湖で、この湖の沿岸に住む人々が昔からスピルリナを食用にしてきました。また、中米のアステカ文明の人々もスピルリナを湖から採って食用にしていたことが、16世紀の初めにアステカを征服したスペイン人によって記録されています。

スピルリナは栄養価が高く、簡単に大量培養できることから、1970年代から産業的な生産が行われるようになりました。現在では世界各地の温暖地域で人為的な生産が行われており、食品や食品添加物の原料として利用されています。スピルリナを利用した製品の中で特に身近なものとしては、青色をつけたアイスが挙げられます。スピルリナは細胞内に鮮やかな青色色素を持っており、その色素を簡単に抽出できるため、それがアイスなどで青色の天然着色料として利用されています。また、最近では、植物由来のタンパク質から製造した代替肉にスピルリナから抽出したヘム (タンパク質の一種) を加えると、食味が著しく改善されて本物の肉のような味になることがわかって、その点でも注目されています。

スピルリナは産業的に有用な微細藻であることから、以前からゲノムの塩基配列の解読が試みられてきました。特に、スピルリナの NIES-39 株は 10 年以上前にゲノムの塩基配列の概要が明らかにされ、この藻類のモデル株として利用されています。しかし、これまでにわかっていた塩基配列は全長のものではなく、解読できていない領域のある不完全なものでした。

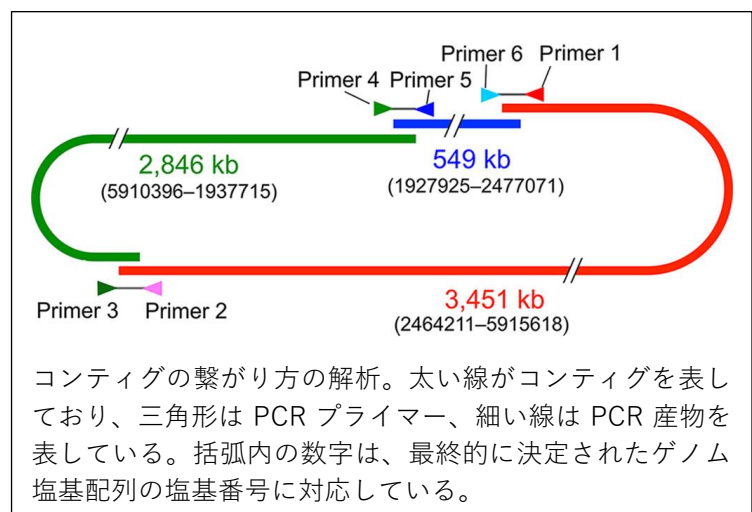
これまで私たちは、野生型とは遺伝的に性質が変化したスピルリナの品種をこの株から分離してきました。そして、性質が変わった原因をつきとめるために、どのような遺伝子に変化が起きているかを調べようとしてきました。しかし、そのような研究がうまくいかない場合があります。その原因のひとつとして考えられたのは、野生型の塩基配列の解読が不完全であることでした。そこで、野生型の株の完全な塩基配列の解読を行うことにしました。



スピルリナ (*Arthrospira platensis*)
NIES-39 株 (撮影: 白石英秋)

2. 研究手法・成果

スピルリナ (*Arthrospira platensis* NIES-39 株) から、不純物の混入が無い、長い良質な DNA を分離して、長大な塩基配列の読み取りに適した塩基配列解読装置 (PacBio Sequel IIe システム) でゲノムの塩基配列を解読しました。読み取った塩基配列をアセンブルした結果、3つのコンティグが得られました。それぞれのコンティグの末端には長さ 10 kb 以上の長い反復配列があったため、末端に近い特異的な塩基配列 (ゲノム中に 1箇所しか出てこない塩基配列) の場所に結合する PCR プライマーを作成して、ゲノム内におけるコン



ティグ間の繋がりを PCR で解析しました。PCR 産物を制限酵素で解析した結果、3つのコンティグの末端は、隣のコンティグの末端と、反復配列を共有する形で繋がっていることがわかりました。その情報を考慮に入れて、コンティグ・ジャンクション領域の塩基配列を含む HiFi リード をアセンブリーし直した結果、コンティグ・ジャンクションの領域の塩基配列も決定することができました。その結果、ゲノムの全長の、完全な塩基配列の解読に成功しました。この生物のゲノムは 682 万塩基対（正確には 6,818,916 塩基対）の長さでした。そのゲノムの中には、互いによく似た塩基配列を持つ領域が何か所もありました。そのような領域の DNA はこの生物の生存にとっては特に意味の無い DNA と考えられますが、そのような領域がゲノムの中にたくさん散在している上に、それぞれの長さが 1 万塩基対以上あって長いことが、これまでゲノム塩基配列の全体像の解明を難しくしていた原因と

考えられます。今回、そのような DNA 領域も含めて、ゲノムの完全な塩基配列を解明することができました。新たに解読された DNA 領域の中には、これまでこの株で見つかっていなかったヘム合成系遺伝子 *hemC* やガス小胞関連の遺伝子群が発見されました。

3. 波及効果

スピルリナは、大規模な培養や収穫が簡単にできることから、世界中で産業的に利用されています。将来は、細胞内でバイオプラスチックの原料やタンパク質医薬品などを作らせ、それら有用物質の生産に利用することも期待されています。ゲノムの塩基配列の情報は、そのような研究開発を行う際の基礎となるものです。今後は、この微細藻を利用した研究開発の際に、誰もがこの完全なゲノム塩基配列の情報を利用できるようになります。これによって研究開発が促進されることが期待されます。

4. 研究グループ

京都大学 大学院生命科学研究科 遺伝子動態学分野
准教授 白石英秋、大学院生 西田晴香

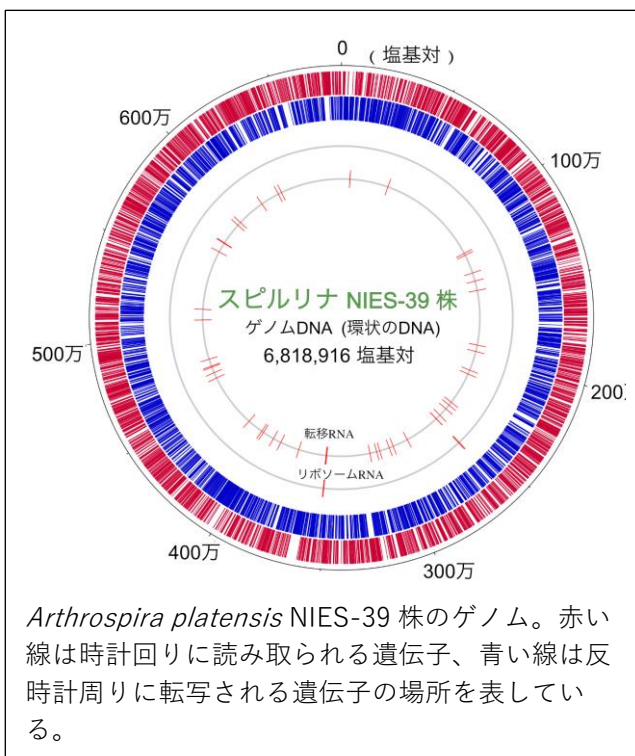
<用語解説>

シアノバクテリア：酸素発生型の光合成を行なって増殖するバクテリア。藍藻とも呼ばれている。

株：遺伝学の用語で、遺伝的に均一な純系の系統のこと。

コンティグ：ゲノムの塩基配列を解読する際にまず構築される、ギャップを含まない連続した塩基配列のこと。

HiFi リード：Pac Biosciences 社の長鎖型塩基配列解析装置では、数千塩基対の個々の DNA 分子の塩基配列を何度も読み取り、読み取った塩基配列を比較してコンセンサス配列を決定する。そのようにして決定された 99.9%以上の高い読み取り精度の塩基配列は HiFi リードと呼ばれている。



<研究者のコメント>

スピルリナは食用の微細藻で、培養や収穫が簡単にできることから食品や食品添加物の原料として世界中で利用されています。また、空気中の二酸化炭素を利用して有用な物質を生産するための基盤となりうる微生物としても注目されています。この生物の研究を進めることは、将来必ず人類の役に立ちます。それに貢献したいと考えて、研究を進めています。(白石)

<論文タイトルと著者>

タイトル Complete genome sequence of the edible filamentous cyanobacterium *Arthrospira platensis* NIES-39, based on long-read sequencing (長鎖塩基配列の決定に基づいた食用繊維状シアノバクテリア *Arthrospira platensis* NIES-39 の完全長ゲノム塩基配列)

著者 Hideaki Shiraishi, Haruka Nishida

掲載誌 *Microbiology Resource Announcements*

DOI 10.1128/mra.01139-22