

課題番号	GS009
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成 25 年度)**

本様式の内容は一般に公表されません

研究課題名	シングルセル・ゲノミクスの確立による環境微生物の遺伝子資源化と生態系解明
研究機関・ 部局・職名	東京工業大学・大学院生命理工学研究科・准教授
氏名	本郷 裕一

1. 当該年度の研究目的

蛍光自動細胞分取装置(FACS)を用いた培養不能細菌種のシングルセル・ゲノミクスの最適化を進めるとともに、環境サンプル(シロアリ腸内微生物群集)で実践する。また、マイクロマニピュレーターを用いたナノスケールでのシングルセル・ゲノミクスの最適化を進める。さらに、セルロース分解性原生生物のシングルセル・ゲノミクスとシングルセル転写産物解析、ならびに同原生生物の細胞共生細菌のシングルセル・ゲノミクス技術を用いた解析を進める。取得済みのゲノム配列については情報解析を、その手法の最適化も含めて、より詳細に行っていく。

2. 研究の実施状況

FACSによりシロアリ腸内細菌を単離してシングルセル・ゲノミクスを行った。夾雑物が多い環境サンプルから細菌細胞のみを回収するのは困難だが、前処理法の最適化により、約3割の確率(100細胞中約30個の意味)で単一細胞由来のゲノムDNA増幅サンプルを調製できるようになった。その中で新規性が特に高い、あるいは優占種の単離細胞サンプルについて、H25年度に購入した高速DNA配列解析装置で配列を取得し、H24年度に購入した高速サーバーで情報解析した。その結果、これまで機能未知であった培養不能細菌の複数種について、ドラフト(未完成)・ゲノムの解読に成功し、多数の植物バイオマス分解酵素や水素吸収・産生酵素を持つ事を初めて明らかにした(学会発表済み、論文準備中)。そのうちの1種は原生生物細胞内共生細菌で、マイクロマニピュレーションによる(核を除去した)宿主1細胞の共生細菌群の網羅的ゲノム解析(メタゲノミクス)を、FACSによるシングルセル・ゲノミクスで補完することにより、完全長のゲノム配列取得に成功した。これはメタゲノミクスとシングルセル・ゲノミクスを組み合わせることにより、培養不能細菌の完全長配列を取得できるという実例である(日本ゲノム微生物学会優秀発表賞)。

マイクロマニピュレーションによるナノスケールでのシングルセル・ゲノミクスは、数百以上の細菌細胞を使用した場合には完全長ゲノム配列の取得に成功したが、単一細胞の場合、コンタミネーションに阻害され、技術的に未完成である。今後、細菌シングルセル・ゲノミクス用のマイクロデバイスの開発とともに、さらに研究を進めていきたい。培養不能原生生物の1核からのゲノミクスと1細胞からのシングルセル転写産物解析により、ドラフト・ゲノム配列と転写産物配列を取得した。これらは現在、情報解析中である。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計12件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計8件(当研究室所属メンバーに下線)</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Hattori S., <u>Hongoh Y.</u>, Itoh T., Deevong P., Trakulnaleamsai S., Noparatnaraporn N., Kudo T., Ohkuma M. (2013) <i>Sporomusa intestinalis</i> sp. nov., a homoacetogenic bacterium isolated from the gut of a higher termite, <i>Termes comis</i> (Termitinae). <i>Journal of General and Applied Microbiology</i> 59: 321-324 (原著) https://www.jstage.jst.go.jp/article/jgam/59/4/59_321/article 2. Zheng H., <u>Bodington D.</u>, Zhang C., Miyanaga K., Tanji Y., <u>Hongoh Y.</u>, Xing X.-H. (2013) Comprehensive phylogenetic diversity of [FeFe]-hydrogenase genes in termite gut microbiota. <i>Microbes and Environments</i> 28: 491-494 (原著) https://www.jstage.jst.go.jp/article/jsme2/advpub/0/advpub_ME13082/article 3. Guichard P., Hachet V., Majubu N., Neves A., Demurtas D., Olieric N., Fluckiger I., <u>Yamada A.</u>, <u>Kihara K.</u>, Nishida Y., Moriya S., Steinmentz M.O., <u>Hongoh Y.</u>, Gönczy P. (2013) Native architecture of the centriole proximal region reveals novel features underlying their 9-fold radial symmetry. <i>Current Biology</i> 23: 1620-1628 (原著) http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960982213007860 4. <u>Nakabachi A.</u>, Ueoka R., Oshima K., Teta R., Mangoni A., Gurgui M., Oldham N.J., van Echten-Deckert G., Okamura K., Yamamoto K., Inoue H., Ohkuma M., <u>Hongoh Y.</u>, Miyagishima S., Hattori M., Piel J., Fukatsu T. (2013) Defensive bacteriome symbiont with a drastically reduced genome. <i>Current Biology</i> 23: 1478-1484 (原著) http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960982213007525 5. <u>Nakabachi A.</u>, Nikoh N., Oshima K., Inoue H., Ohkuma M., <u>Hongoh Y.</u>, Miyagishima S., Hattori M., Fukatsu T. (2013) Horizontal gene acquisition of <i>Liberibacter</i> plant pathogens from a bacteriome-confined endosymbiont of their psyllid vector. <i>PLoS One</i> 8: e82612 (原著) http://www.plosone.org/article/info:doi/10.1371/journal.pone.0082612 6. Kawafune K., <u>Hongoh Y.</u>, Nozaki H. (2014) A rickettsial endosymbiont inhabiting the cytoplasm of <i>Volvox carteri</i> (Volvocales, Chlorophyceae). <i>Phycologia</i> 53: 95-99 (原著) http://www.phycologia.org/doi/abs/10.2216/13-193.1 7. Yamaguchi H., Nakayama T., <u>Hongoh Y.</u>, Kawachi M., Inoue I. (2014) Molecular diversity of endosymbiotic <i>Nephroselmis</i> (Nephroselmidophyceae) in <i>Hatena arenicola</i> (Katablepharidophycota). <i>Journal of Plant Research</i> 127: 241-247 (原著) http://link.springer.com/article/10.1007/s10265-013-0591-1 8. Sato T., <u>Kuwahara H.</u>, <u>Fujita K.</u>, Noda S., <u>Kihara K.</u>, <u>Yamada A.</u>, Ohkuma M., <u>Hongoh Y.</u> (2014) Intranuclear verrucomicrobial symbionts and evidence of lateral gene transfer to the host protist in the termite gut. <i>The ISME Journal</i> 8: 1008-1019 (原著) http://www.nature.com/ismej/journal/v8/n5/full/ismej2013222a.html <p>(掲載済み一査読無し) 計4件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. <u>本郷裕一</u> (2013) 「難培養微生物種のゲノム解析による機能解明と遺伝子資源化」 <i>Japanese Journal of Lactic Acid Bacteria</i> (日本乳酸菌学会誌) 24: 167-173 (総説) 2. <u>本郷裕一</u> (2014) 「シングルセル・ゲノミクスによる未培養腸内細菌研究の可能性」 <i>GI.Research</i> (先端医学社) 22: 93-98 (総説) 3. <u>本郷裕一</u> (2014) 「シングルセル・ゲノミクスの現状と展望」 <i>バイオサイエンスとインダストリー (B&I)</i> 72: 161-165 (総説)
----------------------	--

	<p>4. <u>Hongoh Y.</u> (2014) Who digests the lignocellulose? <i>Environmental Microbiology</i> published online DOI: 10.1111/1462-2920.12449 (解説)</p> <p>(未掲載) 計0件</p>
<p>会議発表 計27件</p>	<p>専門家向け 計25件 (優秀発表賞5件、招待講演4件含む; 当研究室所属メンバーに下線)</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 須田好, 丸山茂徳, 上野雄一郎, 吉崎もと子, 黒川顕, 西山依里, 吉野弘二, 本郷裕一, 河内賢一, 大森聡一「CH4-H2-H2O系の水素同位体システムティックスから推定する蛇紋岩熱水メタンの起源—強アルカリ性白馬八方温泉の解析—」日本地球惑星科学連合 2013 年大会 (幕張メッセ)(2013.5.20) 2. (ベストポスター賞受賞) 菅谷快斗, 山田明徳, 河内雅人, 本郷裕一「害虫種シロアリには特徴的な腸内細菌相が見られるのか?」第 29 回日本木材保存協会年次大会 (メルパルク東京)(2013.5.28) 3. (優秀ポスター賞受賞) 山田明徳, 樋口真士, Warin Boonriam, 木原久美子, 本郷裕一「シロアリによる木材劣化の時空間パターン ~熱帯林における倒木の分解とシロアリ相との関係から~」第 29 回日本木材保存協会年次大会 (メルパルク東京)(2013.5.28) 4. 木原久美子, 山田明徳, 池原研, 藤田一磨, 木村信博, 五十嵐敬幸, 守屋繁春, 本郷裕一「シロアリが丸太材へ侵入・定着する過程の CT スキャンを用いた非破壊的観察」第 29 回日本木材保存協会年次大会 (メルパルク東京)(2013.5.28) 5. 川船かおる, 本郷裕一, 浜地貴志, 野崎久義「微細緑藻ボルボックスから発見されたりケッチア "MIDORIKO" の共生と痕跡」日本微生物資源学会第 20 回大会 (つくば)(2013.6.27) 6. 木原久美子, 山田明徳, 本郷裕一, 守屋繁春「シロアリ腸内共生生物 <i>Trichonympha agillis</i> のシングルセルトランスクリプトーム解析の速報」第 2 回マトリョーシカ型生物学研究会 (京都ガーデンパレス)(2013.7.24) 7. <u>Ajeng K. Pramono</u>, <u>Akinori Yamada</u>, <u>Hirokazu Kuwahara</u>, <u>Takako Mabuchi</u>, Osamu Kitade, Nathan Lo, Atsushi Toyoda, Takehiko Itoh, Moriya Ohkuma, <u>Yuichi Hongoh</u> "Comparative genome analysis of nitrogen-fixing endosymbionts of the protists <i>Pseudotriconympha</i> in the termite gut" 第 2 回マトリョーシカ型生物学研究会 (京都ガーデンパレス)(2013.7.24) 8. 雪真弘, 桑原宏和, 新谷政己, 本郷裕一, 井上潤一, 大熊盛也「シロアリ腸内細菌の 1 細胞からのゲノム解析」第 2 回マトリョーシカ型生物学研究会 (京都ガーデンパレス)(2013.7.24) 9. (招待講演) <u>Yuichi Hongoh</u> "Evolution and functions of multilayered symbiosis in termite guts" 国際シンポジウム Matryoshka-type Evolution of Eukaryotic Cells (京都ガーデンパレス)(2013.7.25) 10. Kaoru Kawafune, <u>Yuichi Hongoh</u>, Takashi Hamaji, Tomoaki Sakamoto, Tetsuya Kurata, Shunsuke Hirooka, Shin-ya Miyagishima, Hisayoshi Nozaki "Different rickettsial bacteria invading <i>Volvox carteri</i> by endosymbiosis and horizontal gene transfer" 2nd International Volvox Conference (Fredericton, Canada)(2013.8.1) 11. Takumi Murakami, Takahiro Segawa, Akinori Yamada, Dylan Bodington, Nozomu Takeuchi, Koji Fujita, Pedro Labarca, Gonzalo Barcaza Sepulveda, Shiro Kohshima, <u>Yuichi Hongoh</u> "Census of bacteria associated with glacier invertebrates" The 5th International Conference on Polar & Alpine Microbiology 2013 (Montana, USA)(2013.9.10) 12. (Best Poster Award) <u>Ajeng K. Pramono</u>, <u>Akinori Yamada</u>, <u>Hirokazu Kuwahara</u>, <u>Yuji Mochizuki</u>, <u>Takako Mabuchi</u>, Osamu Kitade, Nathan Lo, Shigeharu Moriya, Atsushi Toyoda, Takehiko Itoh, Moriya Ohkuma, <u>Yuichi Hongoh</u> "Comparative genomics of the nitrogen-fixing endosymbionts of the cellulolytic protists <i>Pseudotriconympha</i> spp. in the gut of termites" 18th International Congress on Nitrogen Fixation (ICNF18) (宮崎)(2013.10.18) 13. (招待講演) <u>Yuichi Hongoh</u> "Nitrogen fixing symbionts of cellulolytic protists in termite guts" 18th International Congress on Nitrogen Fixation (ICNF18) (宮崎)(2013.10.16) 14. 木原久美子, 中西裕美子, Nathan Lo, 本郷裕一, 福田真嗣, 守屋繁春「環境微生物の代謝産物をシングルセルで観察できるか~ムカシシロアリの腸内原生生物ミクソトリカを例に~」第 29 回日本微生物生態学会 (鹿児島大)(2013.11.23) 15. 雪真弘, 桑原宏和, 新谷政己, 本郷裕一, 大熊盛也「シロアリ腸内細菌の 1 細胞ゲノム解析」第 29 回日本微生物生態学会大会 (鹿児島大)(2013.11.23) 16. 井上潤一, 本郷裕一, 坂本光央, 大島健志朗, 服部正平, 大熊盛也「<i>Bacteroides reticulotermitis</i> の窒素固定に関する諸解析」第 29 回日本微生物生態学会大会 (鹿児島大)(2013.11.23)

様式19 別紙1

	<p>17. 菅谷快斗, 山田明德, 河内雅人, 松島慶, 井上潤一, 雪真弘, 守屋繁春, 大熊盛也, 本郷裕一「シロアリ腸内細菌群集の多様性と進化」第29回日本微生物生態学会大会(鹿児島大)(2013.11.23)</p> <p>18. 伊澤和輝, 桑原宏和, 三浦大樹, 伊藤武彦, 本郷裕一「TG1 門細菌を用いた細胞内共生に伴うゲノム縮小過程の解析に向けた分子系統解析」第29回日本微生物生態学会(鹿児島大)(2013.11.23)</p> <p>19. 村上匠, 瀬川高弘, Dylan Bodington, 竹内望, Pedro Labarca, Gonzalo Barcarz Sepulveda, 幸島司郎, 本郷裕一「氷河特異的無脊椎動物における共生細菌群集構造解析」第29回日本微生物生態学会(鹿児島大)(2013.11.23)</p> <p>20. (優秀ポスター賞受賞)藤田一磨, 佐藤朋之, 桑原宏和, 野田悟子, 大熊盛也, 本郷裕一「シロアリ腸内原生生物核内共生細菌の同定と宿主への遺伝子水平伝播」第29回日本微生物生態学会大会(鹿児島大)(2013.11.23)</p> <p>21. (優秀発表賞)桑原宏和, 雪真弘, 伊藤武彦, 大熊盛也, 本郷裕一「シロアリ腸内原生生物に細胞内共生する <i>Desulfovibrio</i> 属細菌のゲノム解析」第8回日本ゲノム微生物学会年会(東京農大)(2014.3.7)</p> <p>22. (依頼講演)Yuichi Hongoh "Genomics to decipher the multi-layered symbiotic system in the termite gut" 東工大 第2回生命理工国際シンポジウム"The Nucleic Acid World -Interfaces between Biology and Chemistry-" (2014.1.29)</p> <p>23. (招待講演)本郷裕一「シングルセル・ゲノミクスを用いた環境微生物の遺伝子資源化と生態系解明」農業環境技術研究所30周年記念セミナー「核酸からみえてきた農業に関わる微生物の生態と機能」(秋葉原コンベンションセンター)(2014.3.7)</p> <p>24. 雪真弘, 桑原宏和, 新谷政己, 本郷裕一, 大熊盛也「1細胞ゲノム解析で明らかにするシロアリ腸内原生生物細胞表面共生菌 Rs-N74 の機能」日本農芸化学会2014年度大会(明大、生田)(2014.3.29)</p> <p>25. (招待講演)本郷裕一「シングルセル・ゲノミクスによるシロアリ腸内共生系解明に向けて」日本農芸化学会2014年度大会シンポジウム「先端技術が未解明環境微生物の『生き様』を解き明かす」(明大、生田)(2014.3.30)</p> <p>一般向け 計2件</p> <p>1. 本郷裕一, 清水窪小学校生徒の研究室訪問とシロアリ観察(東工大・本郷研究室)(2013.7.3)</p> <p>2. 本郷裕一「シロアリはなぜ木だけを食べて生きられるのか」高校生向け公開講演会(東工大、大岡山)(2013.8.2)</p>
<p>図書 計1件</p>	<p>1. 本郷裕一(2014)「環境と微生物の事典」(朝倉書店、微生物生態学会編)の「環境ゲノミクス」「メタゲノム」「一細胞ゲノミクス」の項目の執筆を担当(印刷中)</p>
<p>産業財産権 出願・取得状況 計0件</p>	<p>(取得済み) 計0件 (出願中) 計0件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>本郷研ホームページ: http://www.hongoh.bio.titech.ac.jp/</p>
<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>・「シロアリはエネルギー問題の救世主! ? -腸内細菌のゲノム解析から知る巧みな共生関係-」 2013年8月2日 東京工業大学大岡山キャンパス(西9号館2階デジタル多目的ホール) 高校生向け公開講演会 参加者 54名</p> <p>・清水窪小学校生徒と教員の研究室訪問とシロアリ観察 2013年7月3日 東京工業大学大岡山キャンパス(西3号館学生実習室/本郷研究室) 小学3年生 参加者 30名 (2013.4.1にNHKニュース「おはよう日本」で「理科離れを防ぐ取り組み」として紹介)</p>

様式19 別紙1

新聞・一般雑 誌等掲載 計0件	
その他	

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成25年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	133,000,000	104,300,000	28,700,000	0	0
間接経費	39,900,000	31,290,000	8,610,000	0	0
合計	172,900,000	135,590,000	37,310,000	0	0

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を 除く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	43,809,869	28,700,000	0	72,509,869	72,509,869	0	0
間接経費	0	8,610,000	0	8,610,000	8,610,000	0	0
合計	43,809,869	37,310,000	0	81,119,869	81,119,869	0	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	57,224,386	細胞分離装置、DNAシーケンサー、消耗品等
旅費	903,410	国内・国際学会、サンプリング、会合
謝金・人件費等	13,017,509	博士研究員の雇用
その他	1,364,564	機器の保守、試料郵送、サンプリング用レンタカ
直接経費計	72,509,869	
間接経費計	8,610,000	
合計	81,119,869	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
自動細胞解析分離 装置1式	BD社 FACSJazz 1レーザー4カラー	1	17,493,000	17,493,000	2013/4/4	東京工業大学
シグマ光機(株)製 光ピンセット装置一 式(据付・調整含 む)	シグマ光機・LMS- M1064-2000/1S	1	3,720,066	3,720,066	2013/6/7	東京工業大学
Takeru Large- memory Server Strage HDD追加	(株)ナベインターナシ ョナル社・Strage: 24TB (2TB 3.5" 7200rpm × 12)+予備1本	1	518,595	518,595	2013/6/4	東京工業大学
共焦点レーザー走 査型顕微鏡1式(据 付・調整・トレーニ ング含む)	オリンパス(株)製 FV1000-D(IX81フィ ルタセット)	1	3,727,500	3,727,500	2013/9/4	東京工業大学
バイオアナライザ 電気泳動ノートス テムリミテッド	アジレント・ Agilent2100	1	2,980,950	2,980,950	2013/10/29	東京工業大学
GelDocEZ PCシ ステム (PC,StainFreeトレ イビデオプリンター)	BIO-RAD・170- 8270CAM3	1	990,000	990,000	2013/12/20	東京工業大学
ゲノム配列解析装 置一式(搬入・据 付・調整含む)	イルミナ社製・ T7-MS-J-001	1	13,865,250	13,865,250	2014/1/10	東京工業大学