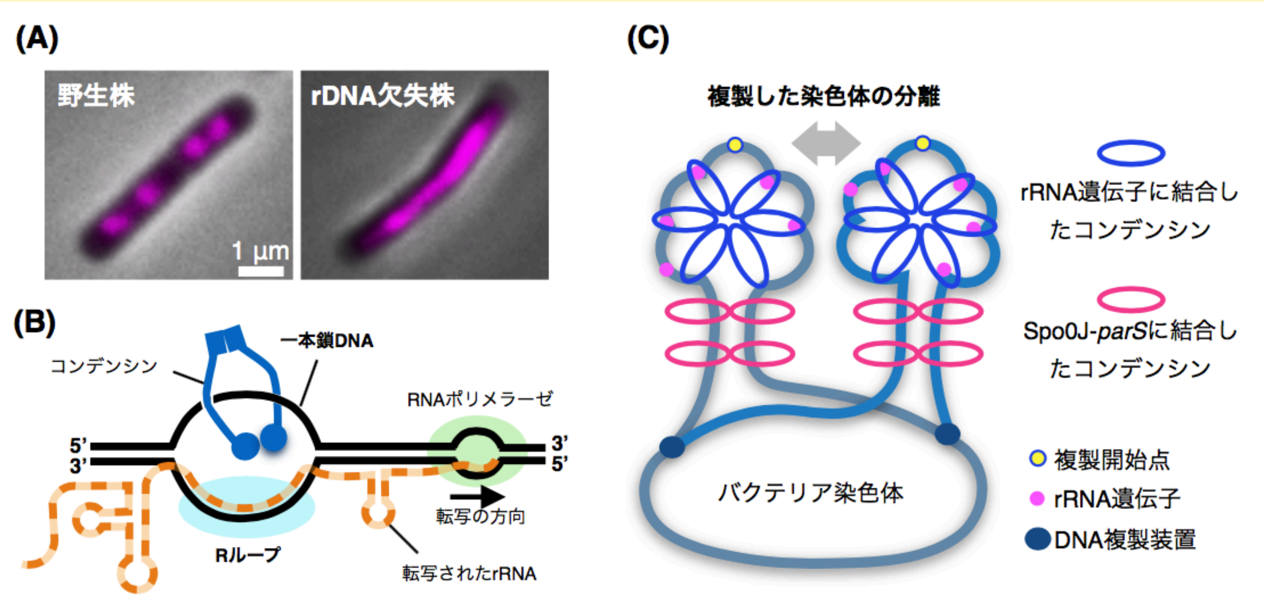
日本ゲノム微生物学会 ニュースレター

染色体凝縮の場としてのrRNA遺伝子の新たな機能

矢野晃一、仁木宏典（国立遺伝学研究所・系統生物研究センター・原核生物遺伝研究室）

染色体DNAは細胞長の1000倍以上の長さがあり、染色体として折り畳まれ、細胞内に収納されている。この折り畳みの一端を担っているのがコンデンシン複合体である。コンデンシン複合体は複製開始点付近に結合し、複製した染色体DNAを順次折り畳んでいくが、複製開始点付近のどの領域を選んで結合しているかについてはこれまで不明であった。

私たちは、枯草菌を用いて複製開始点付近に散在しているrRNA遺伝子がコンデンシンの結合の場になっていることを見出した（Yano and Niki. Cell Rep 2017）。私たちはこれまで、大腸菌のコンデンシンタンパク質が二本鎖DNAよりも一本鎖DNAに選択的に結合することを報告している（Niki and Yano. Sci Rep 2016）。rRNA遺伝子は転写の盛んな領域であり、一本鎖DNAが豊富にあると考えられる。また、大腸菌のrRNA遺伝子では転写されたrRNAとDNAが結合した、いわゆるR-ループを形成していることも報告されており、R-ループが一本鎖部分を安定に維持していると考えられる。以上のことより、複製開始点付近の複数のrRNA遺伝子で生じた一本鎖DNAにバクテリアコンデンシンが結合することにより、染色体の凝縮中心が形成されると私たちは考えている。複数のrRNA遺伝子が複製開始点付近に散在しているのは、複製に伴う遺伝子量効果によりrRNAを増産するためだとこれまで考えられてきた。しかしそれだけではなく、このrRNA遺伝子の染色体上の配置はコンデンシンによる染色体の凝縮の場を提供することにも寄与していると考えられる。



(A) 枯草菌野生株とrDNA欠失株の顕微鏡写真
枯草菌は10個のrRNA遺伝子(rDNA)を持つ。野生株では複製後速やかに染色体が分離するが、rDNA欠失株（9個を欠失）では分離できずに染色体がひとつながりになる。
(B) 転写により形成された一本鎖DNAにコンデンシンがトポロジカル結合するモデル図
転写されたrRNAが鋳型鎖とR-ループを形成することで、非鋳型鎖が一本鎖として露出する。この一本鎖DNAにコンデンシンがトポロジカルに（抱え込むように）結合する。
(C) コンデンシンにより染色体が凝縮・分離されるモデル図
複製開始点付近のrRNA遺伝子（ピンクの丸）に結合したコンデンシンが2つの姉妹染色体の凝縮・分離を助ける。また、枯草菌ではコンデンシンがSpo0J-parS経由で染色体に結合し、複製した左右のDNA鎖を対合させる。

第5期会長就任にあたって

仁木宏典

国立遺伝学研究所

生物遺伝資源センター長

メールと日本ゲノム微生物学会ホームページでもすでに報告いたしましたように、日本ゲノム微生物学会の第5期（2018-2020）会長に選出されました。微力ではありますが、幹事、評議員、そして会員のみなさんの協力を得て日本ゲノム微生物学会の運営にあって行きたいと思いますので、どうぞよろしくお願いします。このニュースレターでは今後、微生物学会の運営で取り組むべき課題について書かせていただきます。

私は日本ゲノム微生物学会の設立当時から、本学会に関わってきました。その当時は細菌のゲノムを決めることが可能となってはいたものの、まだまだ一研究室でそうそう簡単にできるものではありませんでした。しかし、今は次世代シーケンサーの普及もあり、ゲノム配列が解読済みの細菌であれば簡単に全ゲノムを決められるようになりました。特に変異遺伝子の決定などは、すでに全ゲノム配列から決めるという方法が主流となっています。また、メタゲノム解析という方法も同時に爆発的に普及し、腸内細菌に関する話題は一般にも広く関心を持たれるようになりました。また、ベンターたちが海水中のDNAを読んだというのが話題になった時に、こんなことをして何が面白いのか重要なのかはすぐには理解できませんでした。しかし、特定地域の水中のメタゲノムを知ることでそこに生息する生物種を特定することができるまでに技術は洗練され、新たに環境ゲノム研究という学問分野が生まれました。さらに、ナノポアによるDNAの解析技術はまた新しい研究分野を生み出しそうです。このようなめまぐるしいゲノム研究の変革期に合わせて本学会は生まれ、成長して来ています。

日本ゲノム微生物学会の強みは、ゲノムというキーワードの下に雑多な研究者が一堂に会することができるということです。DNAの配列情報のみしか扱わない研究者もいれば、実際に培養してプレートの上のコロニーを見ている研究者もいます。ゲノム情報を扱うとはいえ、その情報処理に長けている研究者もいれば、そうでない人もいます。このような雑多な研究者が集まり、新しい研究を創り出す場を提供するのが日本ゲノム微生物学会の役割だと思っています。ゲノムに関心のある方がだれでも参加できる学会として発展させてゆきたいと考えています。そのため、年会、学会ウェブサイトとニュースレター、若手の会の3本を中心に運営を考えています。

年会は毎年、年会長のおかげで充実した会合を持つことができています。2019年は加藤潤一年会長により首都大学東京で開催します。2020年もすでに名古屋の地で饗場浩文会員を年会長として開催することが決まっています。各地を巡って開催できるのも、小規模な学会の利点です。講演会場も一ヶ所に限定しているため講演の全てを聞くことができ、幅広い領域のゲノム研究を知る良い機会となっています。できれば、参加した研究者がより深く知り合える時間を長くもちたいと思います。今は、懇親会がその役割の一部を果たしていますが、さらに良い企画があれば是非ともご提案ください。また、第4期で刷新したウェブサイトは見やすく、使いやすくなりました。会員からの情報を即時に掲載していますので、どうぞご活用ください。学会誌を持たない本会ですが、その代わりニュースレターは充実しています。読み応えのある記事や有用な情報が満載です。ぜひ、会員のみなさんからの寄稿もお待ちしております。若手の会も継続して企画を続けてもらっています。この中から、順調に本学会を支える次世代の研究者が出現しています。シニアと異なる行動と考えで日本のゲノム研究を面白くしてくれるでしょう。

本学会は、ゲノム研究者の交流の場として年会を開催することを大きな目標として活動してきています。そのため、任意団体として活動することで特に不便もなくこれまでやってくることができました。今後も、任意団体として活動することは可能です。しかし、これまでの学会の活動を通じて日本ゲノム微生物学会としての役割が確固たるものとなり、今後も日本のゲノム研究に必要な存在となって来たことから、より信頼性の高い組織とし、より幅広い活動が可能な団体への飛躍が期待されるようになりました。この点を考慮して、任意団体からNPO法人などへの転換を検討する事にしました。第5期を通じて検討を重ねて参りますので、会員のみなさんからもご意見をお聞かせください。

ゲノム微生物学分野の研究動向

ゲノム微生物学分野における機械学習の利用

森　宙史
国立遺伝学研究所・生命情報研究センター

はじめに

昨今のビックデータやAIブームにより、ゲノム微生物学の分野でも、様々な機械学習の手法を用いて解析を行う研究が増えている。しかしながら、機械学習の分野は広大でありかつ研究の進展が極めて速いため、生物学分野とは異なり最新の研究成果は査読付き国際会議での発表が重要視される傾向が強く、それらに出席しない分野外の研究者が最新の機械学習の研究をフォローし、自分が持つデータにそれら手法を取捨選択しつつ適用するのは困難である。私自身、広大な機械学習の分野の最新知見をフォローできているとは言い難いが、本稿では、機械学習の考え方の概要を紹介しつつ、ゲノム微生物学との関係性や我々のグループの研究について紹介したい。

機械学習とは

まず、本稿では機械学習の定義として、機械学習の学問領域の開拓者の一人であるArthur Samuelが1959年に述べた、「逐一手続きを人間がプログラミングせずとも、データからコンピュータが学習できるようにするための方法論を研究する学問領域」を用いる。通常、我々がゲノム研究等の解析においてプログラムを記述する際には、コンピュータに行わせたい処理のフローチャートをまず考え、その上でフローチャートにあうようにif文等で場合分けして処理を逐一プログラミングする。これは、研究者が事前にデータから適した解析手法を考案し、処理を記述できる場合には有効であるが、データが多サンプルかつ多変数から構成される等の理由で複雑な場合には、研究者自身もそのデータの傾向や特徴を捉えるのが難しく、有効な処理を逐一プログラミングすることが困難な場合が多い。そのような場合に、コンピュータにデータが持つ特徴を学習させ、特徴抽出や分類、予測等を行うことができるようにするのが機械学習の各種手法である。機械学習にどのような手法を含めるか、どう分類するかは、研究者間でも意見が分かれるが、大まかには機械学習の各種手法は教師あり学習と教師なし学習の2種類に大別される。正確には、他にも教師あり学習と教師なし学習を組み合わせた半教師あり学習や、強化学習等も存在するが、本稿ではそれらは扱わない。教師あり学習は、計測された変数（予測変数・独立変数・特徴等と呼ばれる）から、目的の変数（応答変数・従属変数等と呼ばれる）の値を予測することを目的とする。一方、教師なし学習は、予測したい変数は特になく、計測された変数間の関係性やパターンを記述することを目的とする。

教師あり学習について

教師あり学習の場合は、予測したい対象（生物種等）について既に別の実験等で前もって取得しておいた独立変数と従属変数の値の対を教師データとして、コンピュータに学習させる必要がある。例えば、ゲノム配列からのCDS予測の場合では、その生物のトランスクリプトームのデータから転写されることがわかっているORFの配列を取得し、教師データとして用いたりする。教師あり学習では、教師データを用いてコンピュータが、独立変数と従属変数の間の関係式を近似して予測モデルを構築し、新しい独立変数の値が入力された場合に従属変数の値を予測できるようにする。教師あり学習のうち、予測する変数が雄、雌等のカテゴリカル（質的）な変数の場合を分類と呼び、9、10等の量的な変数の場合を回帰と呼ぶ。回帰については、最小二乗法を用いた線形回帰による予測を行ったことがある方も多いのではと思う。なお、教師データはあくまで理解したい現象の一例でしかなく、母集団からランダムにサンプリングできているか否か、母集団が含むバラツキをうまく反映できているかどうか等、母集団と教師データの間の乖離（誤差）を生み出す要因はいくつも存在するため、過度に教師データを学習（過学習）して予測モデルを構築することは、理解したい現

象そのものからずれてしまう可能性があるため、避けるべきである。また、科学研究では、変数間の関係式である予測モデルこそが多くの場合研究者が解き明かしたいと考えている法則性の近似式（モデルはあくまでモデルであって法則性そのものではない）であり、それゆえに、Deep Learning等で用いられる一部のニューラルネットワークのように予測モデルを人間が理解することが困難なブラックボックス的な手法は、予測結果のみが重要である問題には役立つが、科学研究の場合はそもそも選択肢に入らない場合も多い。上記のモデルの理解可能性の問題から、独立変数が従属変数にどのような影響を与えるかについてシンプルで直感的な理解を得られることが多い、線形回帰等の線形モデルが教師あり学習としてゲノム微生物学の分野では特に広く用いられている。

教師なし学習について

これに対して教師なし学習では、データ間の距離や類似度、統計的な性質に基づいて、データをより少数の集合（クラスタ）にまとめるクラスタリングと、多数の変数からなるデータの持つ性質を人間が理解しやすいように、変数間の相関等を元に変数を削減する次元削減が目的となる。多数の変数から構成される多次元のデータの分布を、人間が理解可能な形でそのまま視覚化することは困難であるため、多数の変数からなるデータの全体的な傾向を把握する際には、教師なし学習の技術が不可欠になる。なお、教師あり学習については、教師データを学習用と確認・テスト用に小分けすることによって、学習が成功したか否かを評価し異なる手法を比較することができるが、教師なし学習の場合は、様々な手法に適用可能な直接的な評価尺度は存在しないため、一般的に手法間の比較や結果の客観的評価が難しく、得られた結果の解釈は個々の研究者の主観に大きく依存する。そのため、手持ちのデータの性質や各教師なし学習の手法的特徴を理解した上で、得られた結果からどのような解釈が可能か、入力データが多少変わったら結果がどの程度変わるのか等をよく吟味する必要がある。

機械学習の入力データの質の重要性

以上、機械学習の二種類の方法論について、概要を述べてきた。表1に、代表的な機械学習の手法と、ゲノム微生物学分野での使用例をリストした。どの手法も単独で一冊の本になるほど奥が深く、数行で手法的特徴を正確にかつわかりやすく記述することは困難であるため、本稿では名前をリストするだけに止める。どの手法にも言えることであるが、機械学習の結果の成否はある程度の量の良質なデータをいかにして用意するかにかかっている。一般的に、複数の論文やデータベースのデータを集めてきて、そのまま機械学習を行っても、まともな結果にならない場合が多い。これは、それらデータ中に異なる単位やデータ型（質的変数・量的変数・順位変数）のデータ、手法的に全く異なる解析結果のデータが混在しており、かつ多数の欠損値を含んでいたりするためである。機械学習では大量のデータを入力として要求する場合も多く、研究者はそれら大量のデータをまず自分が選択した機械学習の手法に適した形式に変換することに多大な労力を割かれる。我々は、ゲノム情報に紐づく微生物学の様々なデータを統合した微生物統合データベースMicrobeDB.jp (http://microbedb.jp)をJST-NBDCの統合化推進プログラムのプロジェクトとして構築し7年以上更新し続けているが、MicrobeDB.jpでは、全てのデータを、主語-述語-目的語の3つ組の記法で統一したRDF形式で記述しており、メタゲノムやRNA-Seq等の解析もVITCOMIC2等のツールを用いて全てのデータで手法を統一して再解析しなおしている [13]。さらに、環境名や系統名等の研究者が考える概念をMicrobeDB.jpの中でオントロジーとして統一して記述し、異なる概念を機械が区別できるようにしている。これらのデータ形式やオントロジー等の工夫は、MicrobeDB.jpのWebインターフェースを使ってキーワードを検索する際には、ユーザは意識することなく検索可能であるが、MicrobeDB.jpのデータを(https://dbarchive.biosciencedbc.jp/jp/microbedb/download.html)からダウンロードして機械学習に使用する際には、便利な特徴となっている。

MicrobeDB.jpデータの機械学習での利用例

例えば、我々が開発した機械学習を用いた微生物群集構造解析Webアプリケーション、Latent Environment Allocation (LEA)では、MicrobeDB.jpから取得した数万サンプルのメタ16S解析サンプルの環境データと系統組成データの対応関係を、教師なし学習の一種であるトピックモデルを用いて学習してクラスタリングしている [14]。その結果として推定された数十のトピック（クラスタ）と、クラスタリングさ

手法名	教師あり/なし	回帰・分類・クラスタリング・次元圧縮	ゲノム微生物学分野での使用例
線形回帰	教師あり	回帰	リアルタイムPCRにおける検量線等、極めて多岐。変数選択を行うLasso回帰やPLS等の応用的手法の利用も盛ん
ロジスティック回帰	教師あり	分類	ある遺伝子がprophage由来か否か等、配列の2クラス or 多クラス分類等 [1]
サポートベクターマシーン (SVM)	教師あり	分類	タンパク質配列から細胞内局在予測を行うPSORTbやDNAマイクロアレイ/RNA-Seqデータからの細胞の状態分類等 [2]
k近傍法 (k-NN)	教師あり	分類	メタゲノム解析における配列分類等 [3]
判別分析	教師あり	分類	メタ16S・メタゲノム解析において線形判別分析 (LDA) を行い各クラスのマーカーを見つけるLEfSe等 [4]
分類木	教師あり	分類	CDS予測プログラムGlimmer等 [5]
回帰木	教師あり	回帰	分類木とあわせて決定木と呼ばれ、どちらにも使えるCART法等の学習法があるためあまり区別されずに使われている
ランダムフォレスト	教師あり	回帰・分類	メタゲノム解析データにおいて群間を分ける分類器の作成や、作成した分類器で重要な変数のリスト化等 [6]
勾配ブースティング木	教師あり	回帰・分類	機械学習の分野では広く使われているが、ゲノム微生物学分野での使用例は、まだメタゲノム解析の数例ほど [7]
ニューラルネットワーク (CNN, RNNを含む)	教師あり	回帰・分類	CDS予測やシグナルペプチド予測、ナノポアリードのbase calling等 [8]
ナイーブベイズ	教師あり	分類	メタ16S解析における系統推定プログラムRDP Classifier等 [9]
階層的クラスタリング	教師なし	クラスタリング	3サンプル以上の組成データの関係性を把握するための視覚化手法として広範囲で使用
k-means法 (k-medoids法を含む)	教師なし	クラスタリング	適したクラスタ数を推定する各種手法と共にメタゲノム解析のサンプル分類等に使用
トピックモデル (LDA等)	教師なし	クラスタリング	メタ16S・メタゲノム解析におけるサンプルのクラスタリング等 [10]
主成分分析 (PCA)	教師なし	次元圧縮	相関のある変数をまとめて次元を圧縮する手法として広範囲で使用
多次元尺度構成法 (MDS)	教師なし	次元圧縮	距離行列を入力として次元圧縮する手法として使用。メタ16S解析ではMDSの一種の主座標分析 (PCoA)の利用が盛ん
t-SNE	教師なし	次元圧縮	多数の細胞のsingle cell RNA-Seqの結果から細胞間の発現パターンの全体的な傾向を視覚化する際等に使用 [11]
自己組織化マップ (SOM)	教師なし	次元圧縮・クラスタリング	ゲノムやメタゲノムの配列の連続塩基使用頻度等の違いをもとにした可視化・クラスタリング等 [12]

表1 代表的な機械学習の手法とゲノム微生物学分野での使用例

れる前のサンプル間の類似性を、教師なし学習の一種であるt-SNEを用いて次元削減し、視覚化している（図1）。このマップは、もちろん、プライマーの違いによるPCRバイアスやDNA抽出法の違い等の実験的バ

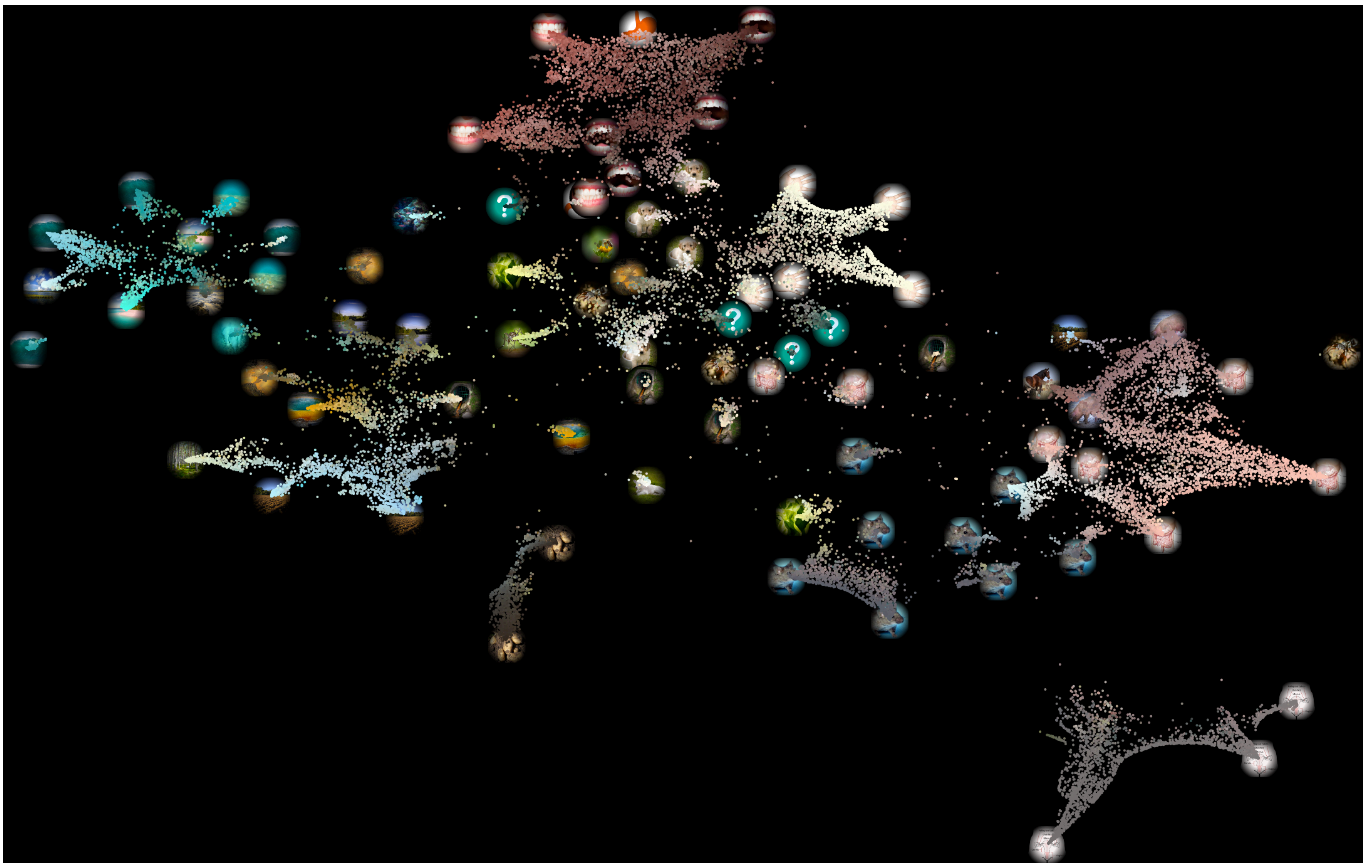


図1. LEAのトピックと各サンプルのt-SNEでの視覚化の様子。点がメタ16S解析サンプル、丸い写真がトピックを表す。

イアスにも影響されるが、基本的には、地球上の微生物群集の全体的な構造を表現していると言える。LEAで用いているトピックモデルは、クラスタリングを主目的とする教師なし学習ではあるが、学習の過程でモデル推定を行いその結果を保存できるため、k-means法や階層的クラスタリング等の他のクラスタリング手法とは異なり、ユーザが持つメタ16Sデータも、MicrobeDB.jpと同様の解析手法 (VITCOMIC2)で属組成を計算することで、全データをクラスタリングし直すことなくLEAのマップ上に容易にユーザのサンプルをプロットすることが可能である。

おわりに

表1の様々な機械学習手法のゲノム微生物学分野での使用例を見ると、メタ16S・メタゲノム解析における使用例が顕著に多いことがわかる。もちろん、これは筆者がメタ16S・メタゲノム解析の情報解析を主として取り組んでいる研究者であるために列挙した使用例にバイアスがかかっている可能性も大いにあるが、メタ16S・メタゲノム解析の解析対象が、微生物群集という、シーケンシング技術が飛躍的に進歩した現在でも未だその全体像を網羅することが出来ず、かつ多数の環境変数や系統間の相互作用も考慮する必要がある困難な研究対象であることが主な理由であると考えられる。このため、様々な機械学習の手法がゲノム微生物学分野の中でもいち早く取り入れられ、分類・回帰・クラスタリング・次元削減等の様々な用途で用いられているのであろう。ここ数年で出版された、百サンプルを超えるようなメタ16S・メタゲノム解析の研究では、群集の全体像を比較して議論する場合には例えばPCAやMDS、階層的クラスタリング等、機械学習の手法を適用することはほぼ必須になりつつあり、機械学習を用いていない大規模メタ16S・メタゲノム解析の論文を見つける方が難しい。ここまで機械学習がメタ16S・メタゲノム解析で普及した技術的な背景として、QIIME2やmothur等の広く使われている解析パイプラインでいくつかの機械学習手法を手軽に使えるようになったことや [15, 16]、PythonやR等のプログラミング言語で、scikit-learn等の非常に使いやすい機械学習のライブラリが開発され普及したことで [17]、

機械学習を手軽に自分のデータで試すことができるようになった点が挙げられる。

しかしながら、各機械学習の手法は仮定しているモデルやデータ形式などに制約がある場合がほとんどであり、間違った使い方をすると、容易に生物学的には意味の無い、または解釈困難な結果になる。機械学習を実際に研究に使おうと考えている方々は、一度腰を落ち着けて、自分が今使おうとしている機械学習の手法がどのようなステップで学習を行うのかを勉強してみることを強くお勧めする。表1にリストした各手法の詳細な解説については、良質な日本語の教科書が多数出版されており [18, 19]、またWeb上での解説ページも多数存在する [20, 21]。加えて、Coursera等無料で受講できかつ非常に質の高い機械学習のオンライン講義があるため [22]、独学でも機械学習を学ぶことは十分可能である。また、実際の機械学習の実行環境としては、様々な機械学習のアルゴリズムが関数ライブラリとして簡単に利用できる、PythonやR等をお勧めする。統計学や機械学習の手法は、各人の予備知識に依存してわかりやすいと感じる説明が異なるため、それら手法について勉強する際には、手法を理解している方々がそれぞれ別の角度で書いた複数の文章を読むことをお勧めする。

今後、オミックス解析等による大量のデータを背景にしてますます機械学習の手法のゲノム微生物学分野への応用が進むと考えられる。自分で機械学習を使わない方も、それらの手法で得られた結果を適切に理解し、自分の研究に利用できるリテラシーが求められるだろう。本稿が、その際の一助になれば幸いである。

参考文献

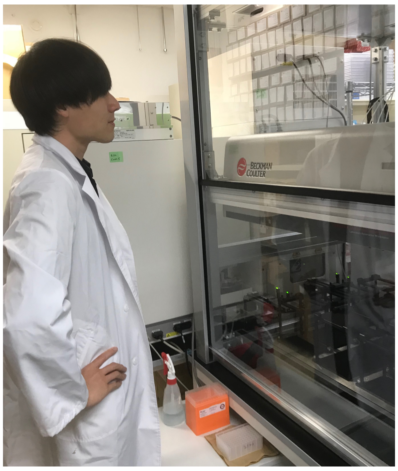
1. Noguchi H. Taniguchi T. Itoh T. DNA Res. 15: 387–396 (2008)
2. Nancy Y. Yu James R. et al. Bioinformatics 26: 1608–1615 (2010)
3. Diaz NN. Krause L. et al. BMC Bioinformatics 10: 56 (2009)
4. Segata N. Izard J. et al. Genome Biol. 12: R60 (2011)
5. Delcher AL. Harmon D. et al. Nucleic Acids Res. 27: 4636–4641 (1999)
6. Karlsson FH. Tremaroli V. et al. Nature 498: 99–103 (2013)
7. Rothschild D. Weissbrod O. et al. Nature 555: 210–215 (2018)
8. Teng H. Cao MD. et al. GigaScience 7: giy037 (2018)
9. Wang Q. Garrity GM. et al. Appl. Environ. Microbiol. 73: 5261–5267 (2007)
10. Chen X. Hu X. et al. IEEE/ACM TCBB 9: 980–991 (2012)
11. Amir DE. Davis KL. et al. Nature Biotech. 31: 545–552 (2013)
12. Abe T. Sugawara H. et al. Polar Biosci. 20: 103–112 (2006)
13. Mori H. Maruyama T. et al. BMC Syst Biol. 12: 30 (2018)
14. Higashi K. Suzuki S. et al. PLoS Comput Biol. accepted
15. https://qiime2.org/
16. https://www.mothur.org/
17. Pedregosa F. Varoquaux G. et al. J Machine Learning Res. 12: 2825–2830 (2011)
18. 平井 有三 "はじめてのパターン認識" 森北出版 (2012)
19. Hastie T. Tibshirani R. et al. 杉山将 他訳 "統計的学習の基礎 ―データマイニング・推論・予測" 共立出版 (2014)
20. https://www1.doshisha.ac.jp/~mjin/R/
21. https://datachemeng.com/summarydataanalysis/
22. https://www.coursera.org/learn/machine-learning/

2018年受賞研究

若手賞

酵母の種分化機構における
フェロモン / 受容体の共進化

清家泰介
国立遺伝学研究所 系統生物研究センター
(現　理化学研究所 生命機能科学研究センター)



この度は、名誉ある日本ゲノム微生物学会の若手賞をいただき、審査員の先生方をはじめ、関係者の皆さまに深くお礼申し上げます。私は学生時代から現在まで、酵母を用いてフェロモン系が生殖隔離を引き起こすメカニズムについて、研究してきました。

昆虫や両生類、酵母といった微生物まで、多くの生物は体外に性フェロモンと呼ばれる物質を分泌して異性と交配しています。通常、フェロモンとその受容体間の認識特異性は、厳密に保たれておりますが、フェロモンの構造が変化すると受容体とは上手く結合できずに、異性との交配が妨げられる結果になります。そのため、フェロモンおよびその受容体が遺伝的に変化することが、生殖隔離の原因になると考えられてきました。しかし、昆虫をはじめとした高等生物では、フェロモン系のシステムが複雑で、さらに遺伝学的解析も難しいことから、これまでこの仮説の実験的な証明には至っていませんでした。

そこで私は博士課程中に、大阪市立大学の下田親名誉教授の指導の下で、この仮説の証明を試みました。研究対象にしたモデル微生物の分裂酵母*Schizosaccharomyces pombe*は、動物と同じように2つの性 (=交配型: <u>P</u>lus型と<u>M</u>inus型)があり、異なる交配型間で性フェロモンペプチドを相互にやり取りして交配します。この交配には、フェロモンと7回膜貫通型受容体 (GPCR: G-protein coupled receptor)間の認識特異性が極めて重要です。分裂酵母は、フェロモンおよび受容体の遺伝子も全て同定されており、遺伝学的解析も容易です。そこで、私はこの分裂酵母でフェロモンとその受容体の認識特異性を人為的に変えることに挑戦しました。まず、M型細胞から分泌されるフェロモンペプチドを網羅的に改変し、従来の受容体に認識されないフェロモンを多数取得しました (Seike et al., Genetics, 2012)。次いで、受容体を大規模にランダムに改変し、変異フェロモンを認識できるようになった受容体を複数発見しました。得られた変異受容体の中には、もはや、従来のフェロモンを認識できないように変化していたものがありました (ニュースレターNo.5もご覧ください)。そこで、この人為的に作製した新しい生殖群 (変異フェロモンを作るM型細胞および変異受容体を発現しているP型細胞)と元の野生型生殖群(通常のM型細胞およびP型細胞)に、それぞれ異なる薬剤耐性遺伝子を付与し、同じフラスコ内で混合させました。すると、それぞれの生殖群の間では交配により遺伝子の混合が頻繁に起こったのに対し、別々の生殖群の間では1,000万分の1以下の頻度でしか、遺伝子の交換が起こらなかったのです (Seike et al., PNAS, 2015)。こうして、私は分裂酵母を使って、フェロモンと受容体の遺伝的な変化が生殖隔離を引き起こすことを、世界に先駆けて、実験的に証明することに成功しました。

しかし、自然界ではフェロモンと受容体の新しい組み合わせはどのようにして生じるのでしょうか? それに興味を持ち、私は学位取得後、国立遺伝学研究所に移り、仁木宏典教授と共同して、世界中に棲む分裂酵母のフェロモンと受容体の多様性の解析を始めました。まず、私は多くの酵母研究者の力を借りて、実験室株とは起源の異なる150の野生株を集めました (図1)。そして、これらの株において、フェロモンおよび受容

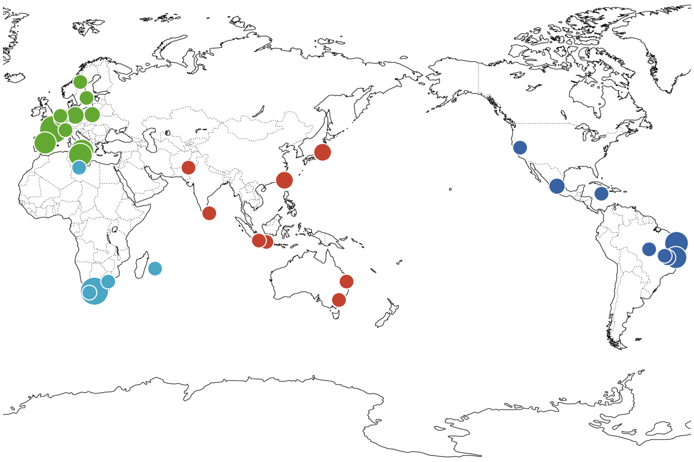


図1: 分裂酵母の150の野生株
S. pombeは世界中から単離されている。野生株は、National BioResource Project (NBRP), Kohli先生 (ベルン大学), Sipiczki先生 (デブレツェン大学), Smith先生 (フレッド・ハッチンソン癌研究センター), Levin先生 (アメリカ国立衛生研究所), Rhind先生 (マサチューセッツ・メディカル・スクール大学), Klar先生 (アメリカ国立がん研究所; 故人), 印南先生 (総合研究大学院大学)から提供いただいた。

体遺伝子の全てのシークエンス解析を行い、実験室株の一次配列と比較しました。

その結果、フェロモンの遺伝子には多くの突然変異が入っており、自然界では非常に様々な塩基配列パターンが見つかりました。しかし、面白いことに、M型フェロモンおよびその受容体遺伝子のアミノ酸配列は、実験室株と完全に同じで保存されていました。それに対して、P型フェロモンおよびその受容体遺伝子のアミノ酸配列は大きく変化し、多様化していました (Seike et al., in preparation)。M型フェロモンは1種類のペプチド配列しか見つかりませんでしたが、P型フェロモンには6種類ものペプチド配列が見つかり、さらに遺伝子内のコード領域のコピー数も大きく変動していることが分かりました。不思議なことに、分裂酵母の2つの性フェロモンは、自然界では非対称に多様化していたのです。

私はさらに*S. pombe*の近縁種である*S. octosporus*でも、同じようにフェロモンの非対称性が見られることを発見しました。*S. octosporus*のM型フェロモンは1種類のペプチド配列を持つのに対し、P型フェロモンは同時に4種類も作られていました。なぜこのような非対称性が見られるのでしょうか? また、種内でP型フェロモンの認識特異性は保たれているのでしょうか？そこで、次にフェロモンの種間解析を行うことにしました。*S. octosporus*はこれまで研究にはほとんど使用されておらず、遺伝子ツールも限られていたため、まず私はこの種で遺伝学的解析を行えるようにしました (Seike and Niki, FEMS Yeast Res, 2017)。これを用いてフェロモンは別種にも作用しうるかを調べたところ、M型フェロモンは種特異的に作用するのに対し、驚くべきことに、P型フェロモンは全てのペプチドが種を超えて作用することが分かりました (Seike et al., in preparation)。これらの結果は、酵母の2つのフェロモン受容体 (GPCR)の認識特異性が明確に異なることを示唆しています。私は現在、こうしたM型フェロモンの「厳密性」とP型フェロモンの「柔軟性」が、酵母にとって同種間の特異性を維持しながらも、フェロモン/受容体の新しい組み合わせを生み出す上で、重要であると考えています (図2)。今後、酵母のフェロモンがこのように非対称に多様化する意義を、さらに追求していきたいと思います。

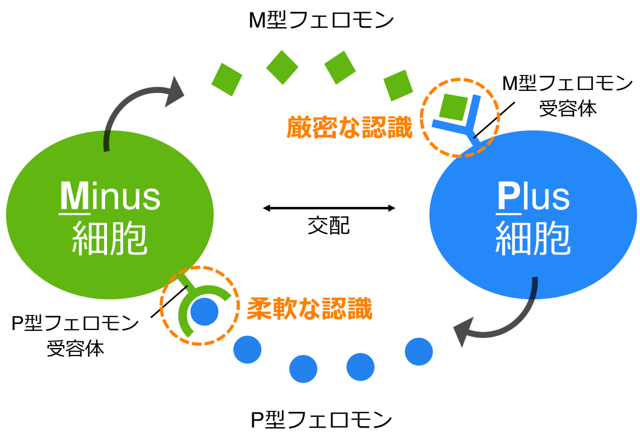


図2: 酵母の2つのフェロモン認識機構
種を維持する厳密な機構と、多様性の創出を可能にする柔軟な機構を持つ。

私はこの4月から理化学研究所の多階層生命動態研究チームに異動しました。理研では、古澤力グループリーダーと共同して、酵母を使った進化実験を行う予定です。フェロモンとその受容体の組み合わせが変化して新しい生殖群が生じた場合に、どのように元の集団とは生殖隔離され、独自の生殖群として振る舞うのかを実験的に検証したいと考えています。目標は、酵母を試験管内で種分化させる！ことです。本学会で面白い成果を発表できるよう頑張ります。

最後になりましたが、この度は若手賞に選んでいただき、これまでの研究成果が評価され非常に嬉しく思います。本研究を行うにあたって、特に大阪市立大学の下田親先生、国立遺伝学研究所の仁木宏典先生には、多大なご指導を賜りました。この場を借りて、お礼申し上げます。

第１２回年会におけるポスター賞

最優秀ポスター賞

名倉　有一

東京工業大学大学院生命理工学院

生命理工学系生命理工コース

シロアリは、木造建築物の害虫として知られる一方、自然界では枯死植物体の重要な分解者である。シロアリの持つ木質分解能の大半は、腸内に特異的に共生する多数のセルロース分解性原生生物（単細胞真核生物）が担っている。そして、シロアリ腸内原生生物の細胞内外には多数の原核生物が共生しており、シロアリ-原生生物-原核生物間でマトリョーシカのような複雑な共生関係が築かれている（図１）。この多重共生系において、原生生物の核内にはVerrucomicrobia門に属する真正細菌が日和見的に共生することが明らかとされていたが（Sato et al. 2014）、その多様性や機能などの詳細は不明であった。本研究では、同共生細菌の多様性や核内での生態の解明を目指した。

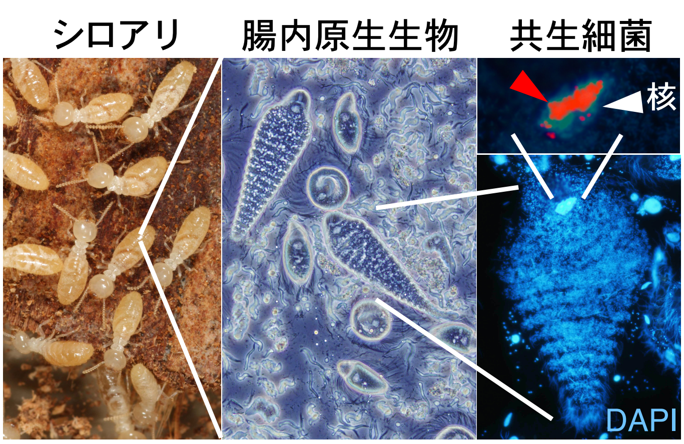


図1　シロアリ腸内に築かれる多重共生関係

まず、シロアリの腸内に共生するVerrucomicrobia門細菌の系統的多様性及び系統と局在との関係を解析した。複数の科にまたがる様々なシロアリ種を対象に、腸内原生生物各種に共生する同門細菌の16S rRNA遺伝子配列を取得した。先行研究で得られた配列も含め分子系統解析を行うとともに、各系統に特異的なプローブを作成し、FISH（fluorescence *in situ* hybridization）解析により細菌の局在を特定した。分子系統解析の結果、原生生物から取得した配列は、Verrucomicrobia門の中でもOpitutae綱Puniceicoccales目に全て属した。そしてFISHにより30系統以上の局在を特定した結果、シロアリ腸内における同門細菌の局在は、多様な原生生物種の核内及び細胞質内、さらにはシロアリの腸上皮表面（腸壁）にまで渡っており、これら局在パターンと宿主となる原生生物種は、細菌系統によってほぼ決まっていた。また、同門細菌の系統群は、核内、細胞質内、腸壁といった共生局在の違いによって明確に分かれ、核内共生クレードの姉妹群または祖先系統群に細胞質内共生体が位置し、これら細胞内共生クレードの祖先系統群に腸壁共生体（自由生活型）が位置した。この結果より、自由生活型であった祖先系統群が、原生生物の細胞内、さらには核内へとニッチを広げて進化した可能性が示唆された。

次に、シロアリ腸内原生生物核内共生Verrucomicrobia門細菌のゲノムを解読し、これまで未知であった核内における同共生細菌の機能を解析した。研究対象として、コウシュンシロアリ腸内原生生物*Devescovina* spp.の核内に特異的に共生するNkDv-04n系統を用いた。腸内微生物群集から、同細菌系統が核内に充満した*Devescovina* sp.を探し、マイクロマニピュレーターとマイクロメスを用いて核内共生細菌細胞のみを分取した。全ゲノム増幅法を用いてサンプルを調製し、配列を解析した。その結果、ほぼ完全長に近いNkDv-04n系統のゲノムを取得した。ゲノムサイズは0.9 Mbと小さく、予測されたCDSの数は、完全長ゲノムが既知であるVerrucomicrobia門細菌の中で最小であった。同系統の代謝経路を推定した結果、TCA回路やアミノ酸、補酵素、さらにはヌクレオチドの生合成

に関わる系路までもが欠損していた。他のVerrucomicrobia門細菌種と比べて、同系統のみが有する生合成経路はほとんど見つからず、栄養源のほぼ全てを宿主原生生物に依存する生態が明らかとなった。これらの特徴から、同系統が宿主原生生物に対して片利共生または寄生的な生態を有することが予想された。NkDv-04n系統が多くの遺伝子を欠失していた一方で、ATP/ADP translocaseやグリセロール3リン酸トランスポーターといった、Verrucomicrobia門の中でも同系統に近縁な細菌種のみが持つ、寄生性細菌に特徴的なエネルギー源の輸送体遺伝子を発見した。この結果は、Verrucomicrobia門細菌の中で、Puniceicoccales目に属すシロアリ腸内原生生物の細胞質内および核内共生体の祖先系統群のみが、他の細菌群からこれら特定の遺伝子を水平伝播により獲得し、原生生物の細胞質内および核内共生体として適応した可能性を示唆するものである。

多様な細菌が原生生物細胞に共生するシロアリ腸内においては、原生生物の細胞質内であっても競争相手が多い場所であると考えられる。このような環境下で生きてきたVerrucomicrobia門細菌が、より安全で競争相手のいない核内へとニッチを拡大する進化を遂げたのかもしれない。

最後に、本研究を進めるにあたり東京工業大学大学院生命理工学院の本郷裕一教授、桑原宏和助教を始め研究室の皆様には日頃より熱意あるご指導を賜り、大変お世話になりました。塩基配列解析は、理化学研究所の大熊盛也室長、雪真弘博士、遺伝学研究所の豊田敦特任教授にご協力頂きました。また、学会では多くの方々と議論を交わすことができたこと、そして最優秀ポスター賞に選んで頂けたことを大変嬉しく思います。関係者の皆様に深く感謝致します。

優秀ポスター賞

寺嵜　桃香
富山県立大学工学部
生物工学科応用生物情報学講座

2013年に「和食」がユネスコ無形文化遺産に登録され、それに伴って日本酒も世界的に注目されている。現在の日本酒造りでは、杜氏の「経験」と「勘」が頼りとされている。私は、日本の伝統産業であり、重要な文化でもある日本酒造りを維持継承するためには、この杜氏の経験と勘の工程を科学的に解明することが重要と考え、本研究を行っている。

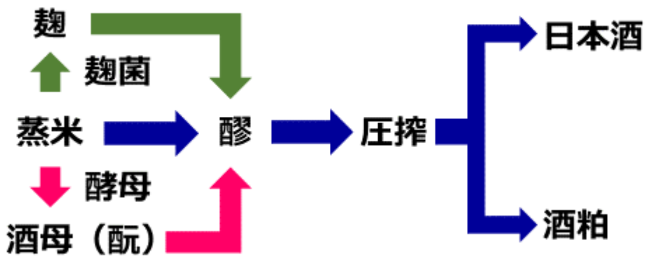


図1　日本酒造りの過程と微生物の役割

日本酒造りの工程の概要を図１に示す。日本酒造りの特徴は、麹菌によるデンプンの糖化と、酵母による糖のアルコール化を並行して行う（並式複発酵）という点である。蒸米（麹米）に麹菌*Aspergillus oryzae*を付着させ麹を造る。蒸米（酒母米）に清酒酵母*Sachharomyces cerevisiae*を加えて、日本酒の発酵スターターである酛(もと)（酒母）を造る。酒母の種類には、環境由来の乳酸菌を増殖させて雑菌の生育を抑制する生酛(きもと)（山廃酛(やまはいもと)）と、乳酸菌の増殖を待たずに直接乳酸を添加し雑菌を低減させる速醸酛(そくじょうもと)がある。麹、酛、蒸米（掛米）、仕込み水を混合したも

のが醪であり、これを数週間発酵させた後に、圧搾することで日本酒ができる。日本酒には酒米、麹菌、酵母が含まれるが、日本酒造りは無菌下でなく、オープンな環境で行われているため、他の微生物が混入することが一般的である。例えば、乳酸菌*Lactobacillus fructivorans*は火落ち菌とも呼ばれ、その混入は腐造（日本酒の腐敗）を引き起こし、味と品質の劣化をもたらす。また、同じ原料、同じ製法で造った日本酒であっても、異なる酒蔵で造ったものは、異なる味となることが知られている。これは、酒蔵ごとに異なる微生物が生息し、日本酒の味や風味に何かしらの影響を与えている可能性を示している。酒蔵が古い建物を維持している理由は、改修に伴って混入微生物相が変わり、日本酒の品質が変わることを防ぐためかもしれない。

このような環境中の細菌が日本酒造りに与える影響を解明するため、我々は製造中及び製品化後の日本酒に含まれる16SリボソームRNA配列の違いに基づく菌叢解析を行った。製造中の日本酒は、成政酒造株式会社にてサンプリングさせて頂いた。結果、製造中の日本酒は多様な菌叢を示すことが明らかとなり、環境由来の細菌のDNAが頻繁に検出された。また、山廃酛でのみ乳酸菌が検出された。さらに、速醸酛を用いた日本酒造りにおいて、醪から圧搾後までの菌叢変遷を経時的に調べたところ、菌叢はほぼ変化が無かった。今回解析したサンプルでは、全てのサンプリングポイントで*Roseomonas*属と*Sphingomonas*属のDNA配列が合わせて95%以上であった。一方、同じ酒蔵で使用されている仕込み水の菌叢を同様に解析したところ、これらの2つの属の細菌は検出限界されず、別の*Pseudomonas*属のDNA配列が80%以上で検出された。これらの結果から、醪において高頻度に検出された*Roseomonas*属と*Sphinomonas*属の細菌は、仕込み水由来でなく製造中に混入したことを示している。また、仕込み水で高い割合を占めた*Pseudomonas*属も、醪における存在率は0.3%以下であった。よって、仕込み水の*Pseudomonas*が混入していても、それは製造中に増殖しなかったと考えられる。

同じ酒蔵においても日本酒の菌叢は複雑な様相を見せたことから、異なる酒蔵、さらに異なる地域の日本酒では、どれほどの菌叢の多様性があるのかを調べた。東海、北陸、東北地方に所在する12の酒造会社で造られた23種類の日本酒製品の菌叢解析を行った。検出された菌の種数は10から40まで多様な値を示した。また、得られた菌叢の階層的クラスタリング解析において、酒造会社の所在する地域、酒米の種類、精米歩合のいずれの要素においてもクラスターは形成されなかった（図2）。このことは、製品化後の日本酒に含まれる菌叢が、地域、酒米種類、精米歩合によって特徴づけられるものでは無いことを示している。つまり、酒蔵に生息する細菌の一部が無作為に混入し、増殖できた細菌が検出されたと考えられる。以上の結果から、日本酒造りにおいて細菌の混入と増殖は一般的に見られるが、その種類は決まっていないということが明らかとなった。

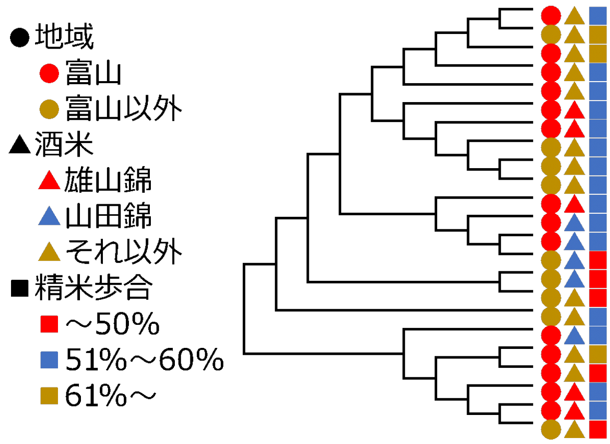


図2　菌叢解析結果に基づいた階層的クラスタリングによる系統樹

本研究では、製造中及び製品の日本酒に含まれる菌叢の詳細を明らかにした。しかし、菌叢解析で得られる情報はDNA配列の組成だけであり、生きた細菌そのものの性質を調査しているわけではない。また、日本酒造りでは細菌だけでなく、古細菌や真核微生物の関与も予想される。現在私は、日本酒造りに関わる微生物の単離とその機能の解析に取り組んでいる。

おわりに、この度はポスター賞を頂きまして、非常に嬉しく思います。本研究を行うにあたって、西田洋巳教授を始めとする富山県大応用生物情報学講座の皆様には貴重なご指導、ご助言を頂きました。深謝申し上げます。学会中は口頭発表、ポスター発表共に多くの方々からご意見、ご質問を頂き、非常に楽しい時間を過ごすことができました。心より感謝申し上げます。

優秀ポスター賞
PacBio Sequel を用いた琵琶湖水圏微生物のメタゲノム・メタエピゲノム解析

平岡 聡史

海洋研究開発機構 海洋生命理工学研究開発センター 深海バイオ・オープンイノベーションプラットフォーム

近年、ゲノム中の塩基のメチル基修飾（DNAメチル化）に代表される、いわゆるエピジェネティクスが注目を集めている。エピジェネティクスはヒトを始めとする真核生物において、遺伝子の発現制御や獲得形質の遺伝などに深く関わっていることが知られている。一方で細菌や古細菌においても、ファージ感染に対する防衛機構（制限修飾系）や遺伝子転写制御、DNA修復等の生理生態学的に重要な役割を担っている事が知られている(図1)。近年の研究から、細菌・古細菌のほぼ全ての系統においてDNAメチル化が普遍的に起きていると考えられている (Blow et al. PloS Biol. 2016)。しかしながら、未培養系統群においては勿論、培養可能な系統群であっても単離培養されていない微生物に対しては、実験的な制約の為にDNAメチル化の観測が困難であり、自然環境中の細菌群集におけるDNAメチル化の普遍性や多様性は検証されて来なかった。

環境細菌叢の群集構造や生理生態を解明する上で、16S rRNAアンプリコン解析やショットガンメタゲノム解析は非常に有効な手段である(Hiraoka et al. Microbe. Environ. 2016)。筆者は今までの研究で、津波による環境撹乱を受けた土壌細菌叢の単離株ゲノム解析・メタゲノム解析(Hiraoka et al. BMC Genomics. 2016）や、雨水中に含まれる細菌叢の季節性変動解析(Hiraoka et al. Front. Microbiol. 2017)に取り組んできた。特にメタゲノム解析は培養を経ずに環境微生物を系統網羅的に解析できる手法であり、近年広がりを見せているが、イルミナ社等の既存シーケンシング技術では塩基のメチル化修飾を計測できず、今日までのメタゲノム解析研究では塩基配列の情報しか利用されて来なかった。一方で、PacBioに代表される1分子シーケンシング技術の登場と発展により、DNAメチル化の検出が容易になりつつある。しかしながらこの技術は培養可能な微生物株にしか主に適用されておらず、環境細菌叢の系統網羅的な解析には活用されていなかった。そこで筆者は、メタゲノム解析とメチル化観測技術を組み合わせ、難培養性微生物が優占する環境細菌叢のDNAメチル化を包括的に観測する、「メタエピゲノム解析」を行ってきた。

本研究では、微生物生態学的な面白さや実験的な制約を考慮し、日本最大の湖である琵琶湖の水圏微生物を対象に、Circular Consensus Sequencing (CCS)の手法を用いたショットガンシーケンスを行い、環境細菌叢のDNAメチル化を検証した。表層5 mと深層65 mの水サンプルを採取し、シーケンスリードをアセンブリした結果、難培養性細菌種のドラフトゲノムを19株分得られ、それらの由来菌種を推定したところ、その大半は難培養性で琵琶湖に優占している細菌種に由来していた。これらのゲノム中におけるDNAメチル化の検出とメチル化モチーフ予測を行ったところ、新規のものを含む複数のメチル化モチーフの検出に成功した。さらに各モチーフに対応するメチル化酵素遺伝子を推定し、新規の関係性を持つと予測された4組について大腸菌を用いた検証実験を行い、対応関係を実証することができた。一方で、メチル化不検出であったゲノム中からはプロファージが多く検出され、制限修飾系がファージ感染の防衛に寄与していることが示唆された。本研究は、難培養性微生物が優占する環境微生物のDNAメチル化を世界に先駆けて検証した研究である。

本研究では、僅か2試料の解析から、培養株ベースの既存研究からは想像もつかないほど多様で新規なDNAメチル化モチーフの存在を明らかにした。しかしながら、今回用いた試料の数や環境的多様性、及び試料中の微生物の系統的多様性は限定的なものにとどまっている。そのため、環境ごとにDNAメチル化の分布

に違いがあるのか、といったより「メタ」的な解析や、菌叢構造やファージとの相互作用の中におけるDNAメチル化の使い分け、といった微生物生態学的な視点からの解析は今後の課題である。また、DNAメチルというシステムの起源や、なぜほぼ全ての細菌・古細菌系統で保存されてきたのか、という進化学上の疑問に関しても、解明はその端緒についたばかりと言える。筆者は今年度から研究の場を東京大学から海洋研究開発機構に移し、現在は海洋や深海環境の細菌叢を対象としたゲノム解析研究に取り組んでいる。今後、このメタエピゲノム解析を様々な海洋細菌叢に適用することで、細菌・古細菌のエピジェネティクスをより深く明らかにしていきたいと考えている。

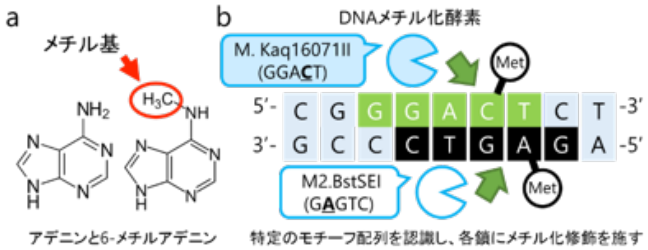
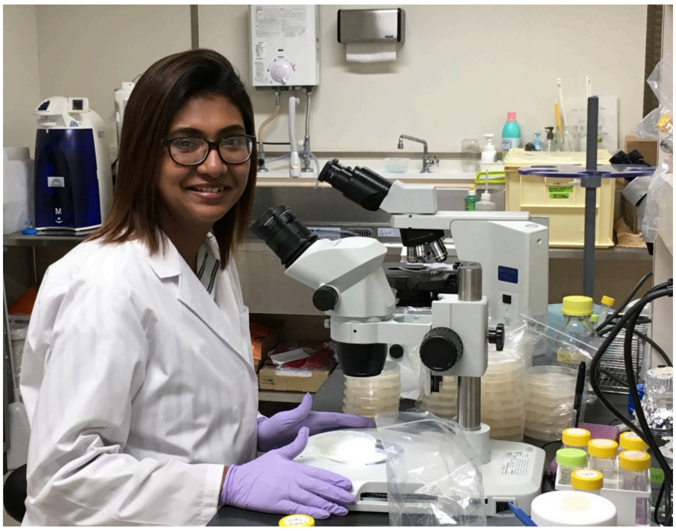


図1. 細菌・古細菌におけるDNAメチル化の例

留学生として学会に参加して

Tanzila Afrin

3rd year Ph.D student
Division of Parasitology
Department of Infectious Diseases
School of Medicine and Veterinary Medicine
University of Miyazaki



Being a public health graduate, infectious diseases have always been fascinating to me to study, because pathogens are continually evolving and emerging often unexpectedly. My curiosity for research on infection diseases started when I was working on for my undergraduate thesis; my focus at that time was on therapy of pneumonia by antibiotic treatment in a children's hospital. From this work on, my interests grew and for my master's degree I decided to focus on public health and basic strategies for the prevention of communicable diseases. Through both of my undergraduate and graduate studies, I became more and more interested in the molecular basis of infectious diseases.

In 2015, I became a PhD student at the Division of Parasitology of University of Miyazaki, which is well known for nematode parasite research. By joining the parasitology lab, a new world of parasites and their roles in infectious diseases was opened up to me. My background taught me to learn the impact of parasites on human health, but I did not know how parasites would interact with the host to establish and maintain their niche there. Most of the nematode parasites live in our intestine and interact with the gut microbiota at least at one stage during their life cycle. Composition of the microbial communities nematodes interact with and their dynamic changes have been found to play their roles in different diseases such as autoimmune diseases known as inflammatory bowel disorders. In my current research I investigate changes in the gut and faecal microbiota during infection of mouse by the parasite *Strongyloides venezuelensis*, a nematode parasitic in rodents and a well-established model for the human parasitic nematode, *Strongyloides stercorails*. Through my investigation I found a characteristic changing pattern of microbiota upon *S. venezuelensis* infection. More interestingly, the change was likely to predispose the conditions for inflammatory bowel diseases.

Meanwhile, while performing the current research I was inspired to participate in scientific meetings of different societies such as SGMJ. By attending the SGMJ meeting of 2018, I gathered information about the bacteria of environmental and clinical importance as well as other interesting topics about viruses, bacterial genomics, new methods, bioinformatic pipelines and the latest research trends of microbiology in some famous laboratories. The meeting also provided me with precious chances to talk with other researchers with various backgrounds. Indeed, it was a great opportunity for my future career as a researcher.

Lastly, I would like to thank the organizers of the SGMJ meeting of 2018 for providing me with the childcare assistance to my four year old son, so that I was able to join the meeting smoothly.

I look forward to participating in the next SGMJ meeting. Thank you all.

実験技術紹介コーナー

MiniOn いろは はじめてみよう編

Q.私のパソコンでMinIONは動きますか?
A.CPUはi7またはXeonで4コア以上、RAMは16GB以上が望ましいです。装置の接続にはUSB3.0、データ書き込みには容量とスピードがあるSSDが必要です。Oxford Nanopore Technologies社サイトのIT RequirementsのCompatibility Checkerを用いると、パソコンのスペックが十分かどうかを調べてくれます。

Q.SSDが1TBないのですが、動きますか?
A.1TB以上が推奨ですが、1TBなくても動きます。できれば、0.5TB以上が望ましいです。

Q.MacのBootCamp上のWindowsで稼働しますか?
A.稼働します。使用するMac本体にあわせてWindows 10または8をインストールします。英語版があればより良いです。

Q.パソコンの他に用意するものはありますか?
A.1回のRunで数100MB程度の生データ（fast5ファイル）が出力されます。大容量の外付けHDDを用意し、Run毎にデータをコピーしておくのが良いです。

Q. シークエンスを始めてから帰宅後したところ、朝来たら全てが止まっていました。どうしてですか?
A. Windows updateによるパソコンの再起動によってシークエンスは止まってしまいます。ラン前に「Windows updateはインストールしてもよいが再起動しない」設定にし、スクリーンセーバーもOffにしておきましょう。再起動してしまっても、止まったままの状態でランを開始すればデータを得られます。

Q. MinIONのシークエンスの成功、失敗は、Run中にわかりますか?
A. MinKnowソフトのPhysical layoutのタブを表示してみましょう。黄緑色のStrandという表示が、DNA分子が通過しているポアを表しています。この数が極端に少ない場合は、得られるデータ量が小さくなってしまいますので、ランを停止して、ライブラリの再調整や実験手順の見直すと良いでしょう。
また、PC内フォルダに保存されているfast5ファイル（または変換後のfastqファイル）の容量を見ると、その時点までで得られたデータ量がわかり成功か失敗かのおおよその予想がつきます。シークエンスデータはfast5形式でほぼリアルタイムで保存され、その後でfastq形式の配列に変換されます。fastqファイルはfast5ファイルの約1/10の容量です。

Q.シークエンスは終了したのですが、配列変換スクリプトがまだ動いていることに気づかず、MinKNOWを閉じ、MinION接続を抜いてしまいました。エラーがでています。
A.慌てずとも、シークエンス生データはfast5ファイルで保管されています。MinKNOWの自動操作ではできませんが、AlbacoreソフトやEPI2MEを使用して、fast5ファイルからfastqファイルを作成します(Nanopore CommunityのWhat are my basecalling options? 21st Maruch 2017など)。

Q. MinKNOWがホワイトアウトしてしまい、操作を受け付けません、どうしたらよいでしょう?
A. MinKNOWを再起動する。シークエンスと配列変換スクリプトは動き続けているので大丈夫です。

閑 話 休 題 -その５-

早春から初夏に咲く花々

今年の春はいろいろな事情であまり花の撮影に出かけることができませんでした。しかたがありませんので、今回の閑話休題には、昨年あるいは一昨年の早春から初夏にかけて撮影したものを掲載することにします。どこでも見られるものから、それなりに苦労して出かけて撮ってきたものまで様々ですが、お楽しみいただければ幸いです。（磯野克己）

シロバナマンテマ（ナデシコ科）：*Silene gallica* L. var. *gallica* 2017.5.27 神戸市

エイザンスミレ（スミレ科）：*Viola eizanensis* (Makino) Makino, 2016.4.19 青梅市

キケマン（ケシ科）：*Corydalis heterocarpa* Sieb. et Zucc. var. *japonica* 2016.4.16 館山市

テリハノイバラ（バラ科）：*Rosa luciae* Franch. et Rochebr. ex Crèp 2016.5.28 清澄山

ハマヒルガオ（ヒルガオ科）：*Calystegia soldanella* (L.) R.Br. 2016.4.16 館山市

キヌガサソウ（ユリ科）：*Kinugasa japonica* Tatew. et C.Suto　2017.6.24 大町市

第13回ゲノム微生物学会のお知らせ 。

第13回日本ゲノム微生物学会年会を2019年3月6日(水)~8日(金)の3日間、首都大学東京 南大沢キャンパスで開催することになりました。南大沢キャンパスは1991年、首都大学東京の前身である東京都立大学の移転に伴って開設されました。東京の郊外八王子市にあり、新宿から京王相模原線（特急）で約40分、新横浜からJR横浜線と京王相模原線で約１時間、羽田からリムジンバスで１時間半〜２時間弱のところです。

年会の形式につきましては、今後大会実行委員会で詳細を検討していきますが、新しい試みをいくつか実施してみたいと思っています。微生物関係のいろいろな分野の興味深い研究に触れられ、多くの若い人達にも参加してもらえるような年会にしたいと考えていて、詳細が決まり次第、ホームページならびに秋号のニュースレターに掲載する予定です。多くの方々にご参加いただけますよう、どうぞよろしくお願いいたします (加藤潤一)。

学会の現況

学会役員（敬称略）

会長：仁木宏典
庶務・会計幹事： 黒川顕、相馬亜希子　**集会幹事**：大島拓、永田裕二　**広報幹事**：黒川顕、大西康夫
ニュースレター幹事：佐藤勉、相馬亜希子、大坪嘉行、広瀬侑、佐々木裕子　**男女共同参画幹事**：佐々木裕子、矢原耕史
評議員（会長推薦を含む）：饗場浩文（評議会議長）、跡見晴幸、有田正規、板谷光泰、小椋義俊、加藤潤一、高見英人、中村保一、丸山史人、森浩禎、吉田健一、渡辺智、片山勉、北川正成、應蓓文、得平茂樹
会計監査：塩見大輔、田中寛

会員の動向

会員数 516 名（平成29年6月現在）
名誉会員 3名；一般会員 367名；学生会員 124名
賛助会員 13 団体； 機関会員 1 団体