

総説：メタゲノム研究

イルミナテクノロジーを使用した研究文献の概要

目次

はじめに	3
微生物群	4
16S リボソームRNA	4
ディープシーケンス	5
複雑な微生物群	6
増幅およびクローニングバイアス	6
モザイク現象	7
ゲノム内異型遺伝子性	8
閾値の欠失と種の同定	8
メタゲノムシーケンス	9
トランスクリプトーム	10
プラスミド（プラスミド解析）	11
単一細胞解析	12
ウイルス	13
DNAウイルス	13
RNAウイルス	14
ウイルスmRNA	15
ウイルスsmall RNAs	15
宿主 - 病原体相互作用	16
ウイルス性ヒト病原体	17
ウイルス性植物病原体	17
ウイルス性昆虫病原体	18
バクテリオファージ	19
共生	20
ヒトの健康	22
ヒトの消化管	22
炎症性腸疾患（IBD）とクローン病	24
1型糖尿病	25
他のヒト微生物叢	25
プロバイオティクス	26
土壌	27
バイオレメディエーション	28
海洋環境	29
バイオ燃料および生体触媒	30
用語集	32
参考文献一覧	34

はじめに

細菌は地球上のあらゆる生物学的ニッチに存在し、その範囲は昆虫の消化管から、世界中の海洋、その海底の堆積物まで至ります。メタゲノム解析では、実験室において培養することのできない微生物から得られたゲノムDNAを対象としています。現在、地球上の微生物の大半がこの範疇に入るとされています¹。次世代シーケンサーテクノロジー²は、数千種類もの生物を同時に解析することが可能で、特にメタゲノム解析に最適であることが実証されています。それゆえ、微生物ゲノムのシーケンスは、すでに日常的に容易に行われるようになりました。今では、単一細胞のシーケンスも可能となっています。

このようにしてシーケンス情報が蓄積されてきたことにより、細菌群の動的性質と、細菌群が環境およびヒトの健康に及ぼす影響に関する理解が非常に深まってきています。実際、ヒトは自身の細胞数の10倍以上に相当する数の微生物細胞を有しており、両親から受け継いだヒトゲノムと比較して100倍も多くの細菌遺伝子を有しています³。微生物はまた、再生可能なバイオ燃料およびバイオレメディエーションの鍵を握っています。抜群な解析力を有する一連のシーケンスツールを自由に利用することが可能な現在、メタゲノム解析が最も急速に成長する研究分野であることは当然のことでしょう。

レビュー：

Bik, H. M., Porazinska D. L., Creer S., Caporaso J. G., Knight R., et al. (2012) Sequencing our way towards understanding global eukaryotic biodiversity. *Trends Ecol Evol* 27: 233–243

Caporaso, J. G., Lauber C. L., Walters W. A., Berg-Lyons D., Huntley J., et al. (2012) Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. *ISME J*

Foster, J. A., Bunge J., Gilbert J. A. and Moore J. H. (2012) Measuring the microbiome: perspectives on advances in DNA-based techniques for exploring microbial life. *Brief Bioinform*

Reid, G., Younes J. A., Van der Mei H. C., Gloor G. B., Knight R., et al. (2011) Microbiota restoration: natural and supplemented recovery of human microbial communities. *Nat Rev Microbiol* 9: 27–38

¹ Hugenholtz, P., Goebel, B. M. and Pace, N. R. (1998) Impact of culture-independent studies on the emerging phylogenetic view of bacterial diversity. *J Bacteriol* 180: 4765–4774

² Next Generation Sequencing (NGS) and Massively Parallel Sequencing MPS are often used interchangeably to refer to high throughput sequencing technologies. Sequencing by Synthesis (SBS) refers specifically to Illumina sequencing technology. sequencing technologies. Sequencing by Synthesis (SBS) refers specifically to Illumina sequencing technology.

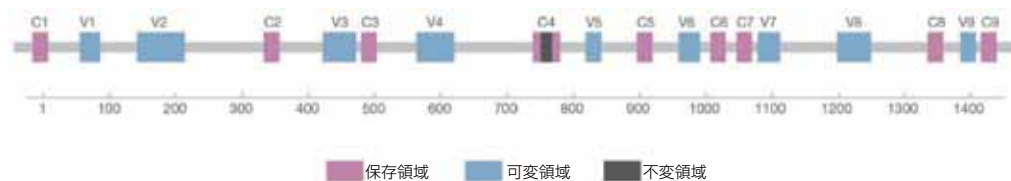
³ Barwick, B. G., Abramovitz, M., Kodani, M., Moreno, C. S., Nam, R., et al. (2010) Prostate cancer genes associated with TMPRSS2-ERG gene fusion and prognostic of biochemical recurrence in multiple cohorts. *Br J Cancer* 102: 570–576

微生物群

細菌群の研究は、便宜上、メタゲノム解析（「どのような細菌が存在するのか」）およびメタトランスクリプトミクス（「細菌が何をしているのか」）の2種類の機能的分野に分類することができます。これらの研究テーマに対する完全な解答を得るためには、遺伝子およびトランスクリプトームのシーケンスの解析を統合すると同時に、個々のゲノムをも解析することが必要です。

16S リボソームRNA

微生物分類群の系統学的マーカーとして16S rRNAを使用する研究により、メタゲノム解析の新時代が始まりました⁴。16S遺伝子は、ウイルスを例外とする、すべての生物に存在する遺伝子であり、細菌においてはこの遺伝子が全RNAの80%以上に相当します。また16S rRNA遺伝子は保存領域と可変領域が分散した構造を有しているため、PCRによる増幅およびシーケンスに非常に適しています。保存領域にハイブリダイズするようにプローブをデザインすることにより、可変領域の増幅およびシーケンスが可能で、細菌ゲノムの狭い範囲に焦点を絞ることができるため、シーケンスに必要なコストが大幅に削減されことも魅力のひとつです。この方法は、特に微生物群内における変動を観察するうえで有効であることがわかっています⁵。



16S rRNA遺伝子の模式図。基準細菌16S rRNAの可変領域（青色）および保存領域（紫色）の位置。
灰色部分は、すべての細菌において不変領域。

様々な次世代シーケンサーテクノロジーのリード長、リード深度およびシーケンスエラーの影響について詳細な研究がされています⁶。例えば、イルミナのテクノロジーでは現在250塩基対のペアドエンドシーケンスが可能で、一度の解析で500塩基を効率的に解析することが可能です。イルミナ HiSeq[®]およびMiSeq[®]システムでも非常によく似た結果が得られています⁷。

Caporaso, J. G., Lauber C. L., Walters W. A., Berg-Lyons D., Lozupone C. A., et al. (2011) Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. Proc Natl Acad Sci U S A 108 Suppl 1: 4516–4522

著者らは、25の多様な環境サンプルおよび3種類の既知の「偽コミュニティ」をサンプルあたり平均310万リードの深度でシーケンスしました。過去の文献からの多くの研究のメタ解析に基づいて以前に報告された分類学的なりカバリおよびリキャプチャーの多様性パターンにおける優れた一貫性が見いだされました。著者らは、16S遺伝子の適切に選択した領域のシーケンスで信頼性のある結論をデータから導き出すには75~100塩基で十分であると結論しています。

イルミナ技術：Genome Analyzer_{IIx}。16S rRNAのV4領域に対するプライマー。

⁴ Pace, N. R. (1997) A molecular view of microbial diversity and the biosphere. Science 276: 734-740

⁵ Caporaso, J. G., Paszkiewicz, K., Field, D., Knight, R. and Gilbert, J. A. (2011) The Western English Channel contains a persistent microbial seed bank. ISME J

⁶ Luo, C., Tsementzi, D., Kyrpides, N., Read, T. and Konstantinidis, K. T. (2012) Direct comparisons of Illumina vs. Roche 454 sequencing technologies on the same microbial community DNA sample. PLoS ONE 7: e30087

⁷ Caporaso, J. G., Lauber, C. L., Walters, W. A., Berg-Lyons, D., Huntley, J., et al. (2012) Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. ISME J

参考文献：

Degnan, P. H. and Ochman H. (2012) Illumina-based analysis of microbial community diversity. ISME J 6: 183–194

Loman, N. J., Misra R. V., Dallman T. J., Constantinidou C., Gharbia S. E., et al. (2012) Performance comparison of benchtop high-throughput sequencing platforms. Nat Biotechnol

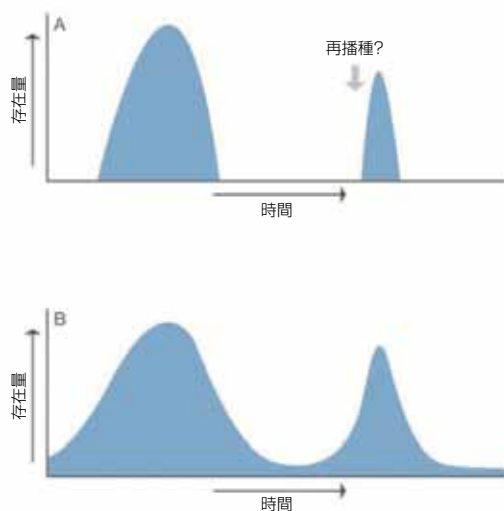
Luo, C., Tsementzi D., Kyrpides N., Read T. and Konstantinidis K. T. (2012) Direct comparisons of Illumina vs. Roche 454 sequencing technologies on the same microbial community DNA sample. PLoS ONE 7: e30087

Mende, D. R., Waller A. S., Sunagawa S., Jarvelin A. I., Chan M. M., et al. (2012) Assessment of metagenomic assembly using simulated next generation sequencing data. PLoS ONE 7: e31386

Ram, J. L., Karim A. S., Sendler E. D. and Kato I. (2011) Strategy for microbiome analysis using 16S rRNA gene sequence analysis on the Illumina sequencing platform. Syst Biol Reprod Med 57: 162–170

ディープシーケンス

次世代シーケンサーの最も重要な利点の一つとして、得られるシーケンス情報が豊富であることが挙げられます。ディープシーケンスにより、複雑な微生物群において存在量の極めて少ない微生物を検出することが可能です。これらの微生物は、環境の変化または環境ストレスを生き延びる、遺伝的に多様な生物の集合体である可能性があります。このため、こうした存在量の極めて少ない微生物群の検出は、微生物学的変化の解釈に多大な影響を与える可能性があります⁸。実際に必要とされるリード深度は、求める感度、および微生物群の複雑さによって異なります。



パネルAおよびパネルBは、2種類の異なる深度で解析した、同一の微生物群を示しています。

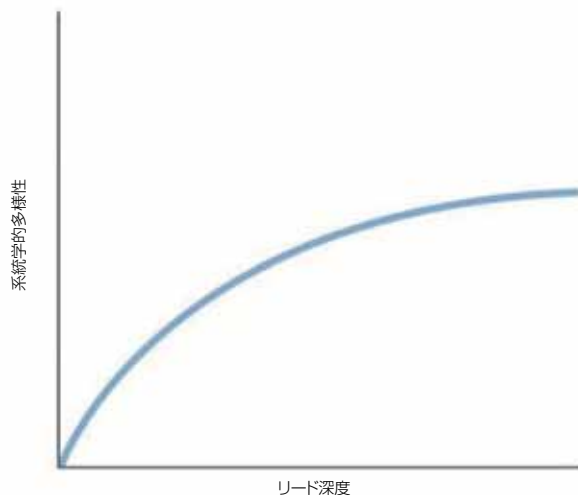
パネルAでは、微生物は、外部から再播種されたかのように観察されます。

一方、パネルBに示すディープシーケンスからは、微生物はすべての時点で存在していたが、パネルAで使用した検出レベル以下に減少していたことが明らかとなりました。

⁸ Caporaso, J. G., Paszkiewicz, K., Field, D., Knight, R. and Gilbert, J. A. (2011) The Western English Channel contains a persistent microbial seed bank. ISME J

複雑な微生物群

複雑な微生物群の網羅的解析は、技術的に極めて困難です⁹。この解析の主たる目標は、十分なシーケンス深度を達成することにより、存在量の少ない微生物群をシーケンスエラーと区別することです。低いシーケンスエラー率を達成すること、およびシーケンスエラーを排除する厳重なフィルターが重要です¹⁰。



希薄化曲線。系統学的多様性はリード深度の上昇と共に上昇します。探索アプリケーションにおける最適リード深度は、系統学的多様性が上昇しなくなるリード深度でといえます。

増幅およびクローニングバイアス

16S rRNAプロトコールには、固有のPCRバイアスおよびクローニングバイアスが存在します^{11,12}。プライマーは、保存領域にハイブリダイズするようにデザインされていますが、これらの領域は長い進化の過程で変化する可能性があり、その結果プローブとハイブリダイゼーションしなくなる場合があります。そうになると、微生物群中に存在する進化的に遠位な微生物が過小評価されることにつながります。

可変部位はサイズが異なるため、変化する速度も異なる可能性があります。例えば、V6タグでは種の豊富さを過大評価する傾向があります¹³。より大きなV4領域を対象としたイルミナシーケンサーのペアエンド法により、系統樹の構築に成功しています¹⁴。

⁹ Bartram, A. K., Lynch, M. D., Stearns, J. C., Moreno-Hagelsieb, G. and Neufeld, J. D. (2011) Generation of multimillion-sequence 16S rRNA gene libraries from complex microbial communities by assembling paired-end illumina reads. *Appl Environ Microbiol* 77: 3846–3852

¹⁰ Mende, D. R., Waller, A. S., Sunagawa, S., Jarvelin, A. I., Chan, M. M., et al. (2012) Assessment of metagenomic assembly using simulated next generation sequencing data. *PLoS ONE* 7: e31386

¹¹ Haas, B. J., Gevers, D., Earl, A. M., Feldgarden, M., Ward, D. V., et al. (2011) Chimeric 16S rRNA sequence formation and detection in Sanger and 454-pyrosequenced PCR amplicons. *Genome Res* 21: 494–504

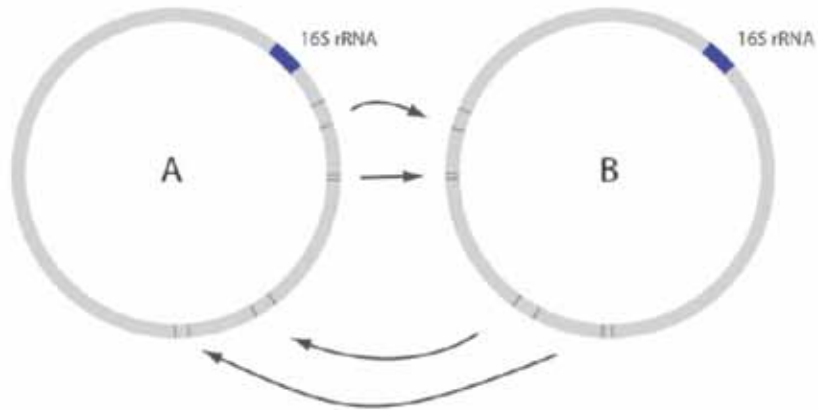
¹² Soergel, D. A., Dey, N., Knight, R. and Brenner, S. E. (2012) Selection of primers for optimal taxonomic classification of environmental 16S rRNA gene sequences. *ISME J*

¹³ Youssef, N., Sheik, C. S., Krumholz, L. R., Najjar, F. Z., Roe, B. A., et al. (2009) Comparison of species richness estimates obtained using nearly complete fragments and simulated pyrosequencing-generated fragments in 16S rRNA gene-based environmental surveys. *Appl Environ Microbiol* 75: 5227–5236

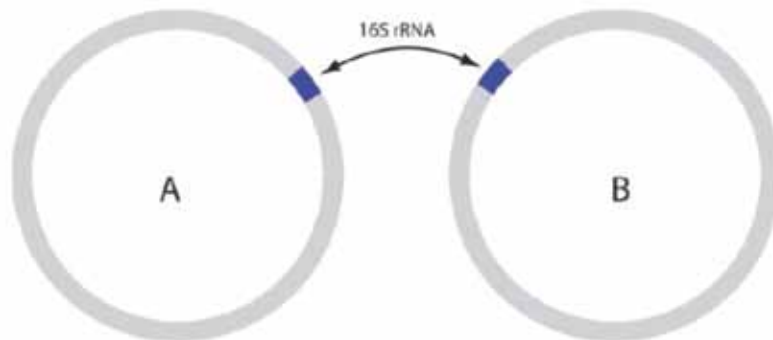
¹⁴ Werner, J. J., Zhou, D., Caporaso, J. G., Knight, R. and Angenent, L. T. (2011) Comparison of Illumina paired-end and single-direction sequencing for microbial 16S rRNA gene amplicon surveys. *ISME J*

モザイク現象

多くの細菌では、過去に遺伝子の水平伝播が起きています。機能遺伝子の水平伝播、または大きな遺伝子再配列でさえ、16S rRNA領域には反映されない可能性があります¹⁵。さらに、細菌は完全な16S遺伝子の移入にも耐容性を示します¹⁶。16S遺伝子ベースのプロープまたは16Sの部分的シーケンスの相同性ベース解析を使用した種の同定では、いずれの場合も、マーカーが遺伝子移動後の遺伝子構造を反映している可能性が存在するため、正しい同定が行われない可能性があります¹⁷。



機能遺伝子の水平伝播、または大きな遺伝子再配列でさえ、16S rRNA領域には反映されない場合があります。



細菌の中には、完全な16S遺伝子の移行にも耐容性を示すものが存在し、16S rRNAのメタゲノム解析に基づいた系統学的解釈に影響を与える可能性があります。

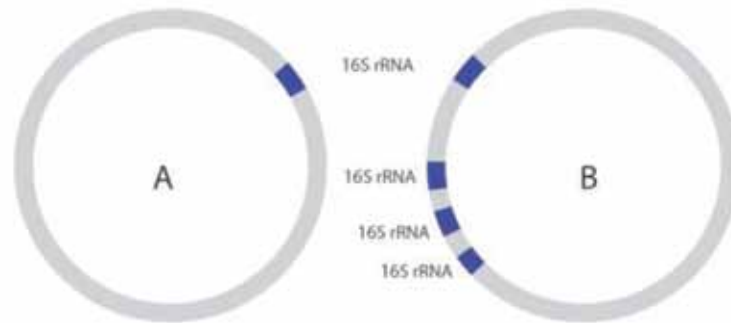
¹⁵ Altermann, E. (2012) Tracing lifestyle adaptation in prokaryotic genomes. *Front Microbiol* 3: 48

¹⁶ Asai, T., Zaporozhets, D., Squires, C. and Squires, C. L. (1999) An *Escherichia coli* strain with all chromosomal rRNA operons inactivated: complete exchange of rRNA genes between bacteria. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96: 1971–1976

¹⁷ Schouls, L. M., Schot, C. S. and Jacobs, J. A. (2003) Horizontal transfer of segments of the 16S rRNA genes between species of the *Streptococcus anginosus* group. *J Bacteriol* 185: 7241–7246

ゲノム内異型遺伝子性

細菌の1ゲノムあたりのrRNAオペロン数は、1から15と様々です¹⁸。複数コピーのrRNAシーケンスは、最高6.4%まで異なる場合もあります¹⁹。この差はrRNAに基づく存在量の推定に影響を与え、これらのシーケンスに基づいた種の系統学的分解能を制限する場合があります。



細菌の1ゲノムあたりのrRNAオペロン数は、1から15と様々であり、そのコピーのシーケンスは6.4%も異なる場合があります。

閾値の欠失と種の同定

16S rRNAの保存性と細菌ゲノムの他の領域との間には一定の関係は存在しません。例えば、*B. globisporus*と*B. psychrophilus*の標準株の16S rRNAシーケンスは99.8%同一ですが、ゲノムレベルでの関連性はわずか23~50%です²⁰。その原因としては、モザイク現象や進化ストレスの差など、多くの要因が考えられます。このため、16S rRNAシーケンスのみに基づく種の同定からは、正しい結果が得られない可能性があります²¹。



16S rRNAの保存性と細菌ゲノムの他の領域との間には一定の関係は存在しません。
その結果、16S rRNAシーケンスのみに基づく種の同定からは、正しい結果が得られない可能性があります。

¹⁸ Klappenbach, J. A., Dunbar, J. M. and Schmidt, T. M. (2000) rRNA operon copy number reflects ecological strategies of bacteria. *Appl Environ Microbiol* 66: 1328–1333

¹⁹ Wang, Y., Zhang, Z. and Ramanan, N. (1997) The actinomycete *Thermobispora bispora* contains two distinct types of transcriptionally active 16S rRNA genes. *J Bacteriol* 179: 3270–3276

²⁰ Fox, G. E., Wisotzkey, J. D. and Jurtshuk, P., Jr. (1992) How close is close: 16S rRNA sequence identity may not be sufficient to guarantee species identity. *Int J Syst Bacteriol* 42: 166–170

²¹ Rajendhran, J. and Gunasekaran, P. (2011) Microbial phylogeny and diversity: small subunit ribosomal RNA sequence analysis and beyond. *Microbiol Res* 166: 99–110

メタゲノムシーケンス

メタゲノムシーケンスは、ショットガンシーケンスとも称され、微生物群から抽出されたDNAフラグメントのシーケンスを意味します。この方法では、微生物群中のすべての生物の完全なゲノムが得られるため、モザイク現象およびバイアスによる影響はほとんど存在しません²²。この方法により得られる包括的な情報により、系統学的関係に関して正確な解析を行うことが可能です。

しかし、この方法の最も大きな利点は、細菌群中に存在する遺伝子の情報が得られることにあります。細菌群中に存在する遺伝子を、個々の細菌のゲノムを構築することなく同定することが可能です。機能遺伝子のグループ化では、細菌種の同定より情報量が多く、安定した結果が得られます。

レビュー：

Gonzalez, A. and Knight R. (2012) Advancing analytical algorithms and pipelines for billions of microbial sequences. *Curr Opin Biotechnol* 23: 64–71

Gerlach, W. and Stoye J. (2011) Taxonomic classification of metagenomic shotgun sequences with CARMA3. *Nucleic Acids Res* 39: e91

Xia, L. C., Cram J. A., Chen T., Fuhrman J. A. and Sun F. (2011) Accurate genome relative abundance estimation based on shotgun metagenomic reads. *PLoS ONE* 6: e27992

参考文献：

Harris, S.R., Clarke I. N., Seth-Smith H. M., Solomon A. W., Cutcliffe L. T., et al. (2012) Whole genome analysis of diverse *Chlamydia trachomatis* strains identifies phylogenetic relationships masked by current clinical typing. *Nat Genet* 44:413-419

この文献では、トラコーマおよび鼠径リンパ肉芽腫 (LGV) 由来の*C. trachomatis*次亜種の代表株の全ゲノムシーケンスに基づいた、系統発生論の詳細について紹介しています。クラジミア属の分類のために従来から使用されているompAを用いて系統発生論的構造を予測すると、この領域の広範な遺伝子組換えが真の関係を隠蔽してしまうために、誤解を招く恐れがあるとこの報告では指摘しています。

イルミナ技術：Genome Analyzer_{II}

²² Harris, S. R., Clarke, I. N., Seth-Smith, H. M., Solomon, A. W., Cutcliffe, L. T., et al. (2012) Whole-genome analysis of diverse *Chlamydia trachomatis* strains identifies phylogenetic relationships masked by current clinical typing. *Nat Genet* 44: 413–419

トランスクリプトーム

メタトランスクリプトームとは、細胞集団中のすべての転写産物の同一性および量を解析することを指します。メタゲノム解析が、遺伝子相補性に基づき、集団中にどのような生物が存在し、存在する生物が何をすることが可能であるかを明らかにする一方、メタトランスクリプトーム解析は、集団中に存在する生物が、解析時に何をしているかを明らかにします。PCR、ノーザンブロットリング、またはマイクロアレイのような、ハイブリダイゼーションに基づく解析とは異なり、シーケンスアライメントによりRNA-Seqのリードを遺伝子にマップします。この方法の利点は以下にまとめることができます。

特徴	適用
ゲノムシーケンスに関する予備知識の必要なし	<ul style="list-style-type: none">新規の転写物および遺伝子特性の発見（遺伝子マイニング）ゲノム中の機能ドメインのアノテーション
正確なマッピング	<ul style="list-style-type: none">アライメントを使用したマッピングは、溶液中でのハイブリダイゼーションよりも正確非特異的なクロスハイブリダイゼーションを伴わずに、極めて高い分解能と特異性で転写を解析することが可能
ダイナミックレンジ	<ul style="list-style-type: none">蛍光ベースの測定より優れたダイナミックレンジ高発現および低発現の、より優れた識別

遺伝子マイニングは、このテクノロジーのアプリケーションの中で最も急速な進展を遂げている分野です。種々の動物のルーメン、シロアリの消化管および生物消化槽中に存在する微生物群の転写解析により、生物燃料および関連産業用に膨大な量の新規生体触媒が発見されるに至っています²³。

レビュー：

Filiatrault, M. J. (2011) Progress in prokaryotic transcriptomics. *Curr Opin Microbiol* 14: 579–586

Klitgord, N. and Segre D. (2011) Ecosystems biology of microbial metabolism. *Curr Opin Biotechnol* 22: 541–546

Mader, U., Nicolas P., Richard H., Bessieres P. and Aymerich S. (2011) Comprehensive identification and quantification of microbial transcriptomes by genome-wide unbiased methods. *Curr Opin Biotechnol* 22: 32–41

Martin, F. (2011) Unearthing the truffle genome. *New Phytol* 189: 645–646

Trevors, J. T. (2011) Viable but non-culturable (VBNC) bacteria: Gene expression in planktonic and biofilm cells. *J Microbiol Methods* 86: 266–273

参考文献：

Qi, M., Wang P., O' Toole N., Barboza P. S., Ungerfeld E., et al. (2011) Snapshot of the eukaryotic gene expression in muskoxen rumen--a metatranscriptomic approach. *PLoS ONE* 6: e20521

この文献で、著者らは真核微生物の機能的多様性およびジャコウウシ (*Ovibos moschatus*) のルーメン内の植物細胞壁分解酵素を解析するために、mRNA-Seqを使用しています。グリコシド加水分解酵素、炭水化物エステラーゼおよびポリサッカライドリアーゼを含む、植物細胞壁分解酵素モジュールが同定されています。

イルミナ技術：Genome Analyzer_{II}。ポリアデニル化RNA (mRNA) のシーケンスを行い、2.8Gbのシーケンスが得られ、59,129のコンティグが構築されました。

²³ Warnecke, F. and Hess, M. (2009) A perspective: metatranscriptomics as a tool for the discovery of novel biocatalysts. *J Biotechnol* 142: 91–95

Bomar, L., Maltz M., Colston S. and Graf J. (2011) Directed culturing of microorganisms using metatranscriptomics. MBio 2: e00012–00011

著者らは、医療用ヒルの消化管マイクロビオーム由来の非培養性および培養性共生生物を詳細に調べるために、RNA-Seqを使用しました。発現データからは高度に発現している加水分解酵素およびトランスポーターが明らかとなり、それによってこれまで培養されていなかったリケネラ様共生生物用の培地をデザインするうえでの重要な手がかりが得られました。この結果は、著者らが培地リアーゼのデザインに使用した経路およびアノテーションを個別に検証することにもなりました。

イルミナ技術：Genome AnalyzerおよびmRNA-seqキット。34bpリード長。約1,500万のcDNAリードが得られました。

Tisserant, E., Da Silva C., Kohler A., Morin E., Wincker P., et al. (2011) Deep RNA sequencing improved the structural annotation of the *Tuber melanosporum* transcriptome. *New Phytol* 189: 883–891

Wang, T. Y., Chen H. L., Lu M. Y., Chen Y. C., Sung H. M., et al. (2011) Functional characterization of cellulases identified from the cow rumen fungus *Neocallimastix patriciarum* W5 by transcriptomic and secretomic analyses. *Biotechnol Biofuels* 4: 24

Zhou, M., McAllister T. A. and Guan L. L. (2011) Molecular identification of rumen methanogens: Technologies, advances and prospects. *Animal Feed Science and Technology* 166–167: 76–86

プラスミド（プラスミド解析）

プラスミドは、微生物環境における強力で重要な進化因子である、平行遺伝子伝播を媒介する場合があります²⁴。

参考文献：

Kav, A. B., Sasson G., Jami E., Doron-Faigenboim A., Benhar I., et al. (2012) Insights into the bovine rumen plasmidome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109: 5452–5457

著者らは、ルーメンのプラスミドームが門を超え得るほどの高度なモザイク性を有していると示しています。ルーメンのプラスミドームの機能的プロファイルは、ルーメンの生態学的ニッチに多く存在する機能をコードしています。これにより宿主に優位性が付与され、可動性の遺伝因子が環境への適応に重要な役割を果たしていることが示唆されています。

イルミナ技術：Genome Analyzer_{IIx} およびペアエンドリード

Ho, P. L., Lo W. U., Yeung M. K., Li Z., Chan J., et al. (2012) Dissemination of pHK01-like incompatibility group IncFII plasmids encoding CTX-M-14 in *Escherichia coli* from human and animal sources. *Vet Microbiol*

²⁴ Kav, A. B., Sasson, G., Jami, E., Doron-Faigenboim, A., Benhar, I., et al. (2012) Insights into the bovine rumen plasmidome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109: 5452–5457

単一細胞解析

個々の細胞のゲノムのシーケンス解析により、微生物群の分類能は究極に高まると期待されています。さらに、個々の細胞のRNAの解析は、細胞の活性、および微生物群における役割分担を明確にすることができると期待されます。癌研究などの分野において、単一細胞解析は非常に大きな進歩を遂げており^{25,26,27}、メタゲノム解析に進展していくことは必然であると思われます。

レビュー：

Walker, A. (2011) Genome watch: Singled out. *Nat Rev Microbiol* 9: 485

Kalisky, T., Blainey P. and Quake S. R. (2011) Genomic analysis at the single-cell level. *Annu Rev Genet* 45: 431–445

参考文献：

Chitsaz, H., Yee-Greenbaum J. L., Tesler G., Lombardo M. J., Dupont C. L., et al. (2011) Efficient de novo assembly of single-cell bacterial genomes from short-read data sets. *Nat Biotechnol* 29: 915–921

著者らは全球海洋において普遍的な細胞系である、デルタプロテオバクテリアの非培養性SAR324クレードの単一細胞からのゲノムのシーケンスについて報告しています。代謝再構築から、SAR324は好気性、運動性および走化性であることが示唆されています。この方法により、個別の非培養性細菌に関して、短いリードのみを使用してゲノムアセンブリを得ることが可能となり、メタゲノム研究では得られない細胞特異的な遺伝情報が供給されます。

イルミナ技術：Genome Analyzerによる100bpペアエンドリード解析

Yoon, H. S., Price D. C., Stepanauskas R., Rajah V. D., Sieracki M. E., et al. (2011) Single-cell genomics reveals organismal interactions in uncultivated marine protists. *Science* 332: 714–717

²⁵ Islam, S., Kjallquist, U., Moliner, A., Zajac, P., Fan, J. B., et al. (2011) Characterization of the single-cell transcriptional landscape by highly multiplex RNA-seq. *Genome Res* 21: 1160–1167

²⁶ Navin, N., Kendall, J., Troge, J., Andrews, P., Rodgers, L., et al. (2011) Tumour evolution inferred by single-cell sequencing. *Nature* 472: 90–94

²⁷ Moon, S., Kim, Y. G., Dong, L., Lombardi, M., Haeggstrom, E., et al. (2011) Drop-on-demand single cell isolation and total RNA analysis. *PLoS ONE* 6: e17455

ウイルス

ウイルス学において、次世代シーケンサーは、新規のウイルスをワンステップで検出、同定、定量するために使用することが可能な強力なツールとなっています²⁸。この方法は、ヒト組織への感染性が推定される物質の高感度な検出方法であることが実証されています。適度なシーケンス深度であれば、100万回に1回未満の頻度で生じるウイルスの転写も検出することができます²⁹。ディープシーケンスにおいては、ウイルスのDNAまたはRNAが偶然にシーケンスされるという嬉しい結果が得られる場合があり、いくつかの新規ウイルスの発見につながっています³⁰。

レビュー：

Mokili, J. L., Rohwer F. and Dutilh B. E. (2012) Metagenomics and future perspectives in virus discovery. *Curr Opin Virol* 2: 63–77

Li, L. and Delwart E. (2011) From orphan virus to pathogen: the path to the clinical lab. *Curr Opin Virol* 1: 282–288

Rosario, K. and Breitbart M. (2011) Exploring the viral world through metagenomics. *Curr Opin Virol* 1: 289–297

参考文献：

Flaherty, P., Natsoulis G., Muralidharan O., Winters M., Buenrostro J., et al. (2012) Ultrasensitive detection of rare mutations using next-generation targeted resequencing. *Nucleic Acids Res* 40: e2

著者らは、わずか0.1%しか存在しない変異をロバストに検出することが可能であることを示しています。この精度は、1,000の野生型アリルにおいて1個の変異を正確に検出することが可能であることを意味します。稀な変異を検出する方法では、複数のレファレンス複製からのベースラインエラー率を各位置でのサンプルエラー率と比較します。この方法の有用性を示すために著者らは9個のH1N1インフルエンザAの臨床サンプルを解析し、サンプルの0.18%において、H1N1ノイラミニダーゼ遺伝子にオセルタミビル（抗ウイルス治療薬）耐性変異を検出しました。

イルミナ技術：Genome Analyzer_{IIx}

DNAウイルス

DNAウイルスのルーチンなシーケンスにより、膨大な数のウイルスゲノムが解析され、ウイルスの顕著な多様性が明らかにされています。研究用株と臨床分離株の間には、同一ウイルスでもかなりの違いが存在することがあり、臨床分離株のルーチンなシーケンシングの必要性が強調されます³¹。

参考文献：

Conway, C., Chalkley R., High A., MacLennan K., Berri S., et al. (2012) Next-generation sequencing for simultaneous determination of human papillomavirus load, subtype, and associated genomic copy number changes in tumors. *J Mol Diagn* 14: 104–111

この研究では、FFPE試料からの44の頭部および頸部腫瘍型におけるウイルス感染を調べるために次世代シーケンサーを使用しています。著者らは従来では検出されなかったHPVサブタイプの検出に成功しています。続いて8種類の細胞株を使用し、この方法が様々な腫瘍およびウイルスに適用できることを示しています。

イルミナ技術：Genome Analyzerと76bpペアエンドリード

²⁸ Dunowska, M., Biggs, P. J., Zheng, T. and Perrott, M. R. (2012) Identification of a novel nidovirus associated with a neurological disease of the Australian brushtail possum (*Trichosurus vulpecula*). *Vet Microbiol* 156: 418–424

²⁹ Moore, R. A., Warren, R. L., Freeman, J. D., Gustavsen, J. A., Chenard, C., et al. (2011) The sensitivity of massively parallel sequencing for detecting candidate infectious agents associated with human tissue. *PLoS ONE* 6: e19838

³⁰ Li, S. C., Chan, W. C., Lai, C. H., Tsai, K. W., Hsu, C. N., et al. (2011) UMARS: Un-Mappable Reads Solution. *BMC Bioinformatics* 12 Suppl 1: S9

³¹ Szpara, M. L., Parsons, L. and Enquist, L. W. (2010) Sequence variability in clinical and laboratory isolates of herpes simplex virus 1 reveals new mutations. *J Virol* 84: 5303–5313

RNAウイルス

RNAウイルスの変異率の高さは、ポリメラーゼがエラーを起こしやすいこと、およびRNAのプルーフリーディング機能が限られていることに起因します³²。この変異率の高さが、疑似種と称されるRNAウイルス群につながります。これは、変異と淘汰の平衡状態で存在する野生型（WT）ゲノムと変異ゲノムとが混在した集合体です³³。近年の研究により、ウイルスの多様性は、その適応進化および病原性において不可欠であることが示されています³⁴。

参考文献：

Blasdell, K. R., Voysey R., Bulach D., Joubert D. A., Tesh R. B., et al. (2012) Kotonkan and Obodhiang viruses: African ephemeroviruses with large and complex genomes. *Virology* 425: 143–153

この文献では、OBOVおよびKOTVゲノムの完全なシーケンスが報告されています。遺伝的データおよび血清学的データから、KOTVおよびOBOVは *Ephemerovirus* 属の新しい種として分類されるべきであることが示唆されています。これは、シーケンスを新しいRNAウイルスの同定に使用する一例を示すものです。

イルミナ技術：Genome Analyzerと75bpペアエンドリード

Al Rwahnih, M., Dolja V. V., Daubert S., Koonin E. V. and Rowhani A. (2012) Genomic and biological analysis of Grapevine leafroll-associated virus 7 reveals a possible new genus within the family Closteroviridae. *Virus Res* 163: 302–309

Dunowska, M., Biggs P. J., Zheng T. and Perrott M. R. (2012) Identification of a novel nidovirus associated with a neurological disease of the Australian brushtail possum (*Trichosurus vulpecula*). *Vet Microbiol* 156: 418–424

Perera, O. P., Snodgrass G. L., Allen K. C., Jackson R. E., Becnel J. J., et al. (2012) The complete genome sequence of a single-stranded RNA virus from the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois). *J Invertebr Pathol* 109: 11–19

Moore, J., Jironkin A., Chandler D., Burroughs N., Evans D. J., et al. (2011) Recombinants between Deformed wing virus and *Varroa destructor* virus-1 may prevail in *Varroa destructor*-infested honeybee colonies. *J Gen Virol* 92: 156–161

³² Drake, J. W. and Holland, J. J. (1999) Mutation rates among RNA viruses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96: 13910–13913

³³ Bull, J. J., Meyers, L. A. and Lachmann, M. (2005) Quasispecies made simple. *PLoS Comput Biol* 1: e61

³⁴ Vignuzzi, M., Stone, J. K., Arnold, J. J., Cameron, C. E. and Andino, R. (2006) Quasispecies diversity determines pathogenesis through cooperative interactions in a viral population. *Nature* 439: 344–348

ウイルスmRNA

ウイルスmRNAのシーケンスでは、ウイルスの活性およびその作用機序に関して大量の情報が得られます³⁵。そして、この情報を利用して、ウイルスゲノムのシーケンスを解析することができます。次世代シーケンサーが出現する以前は、ウイルスのシーケンスは非常に困難で煩雑でした。ウイルスシーケンスに関する知識が十分でないと、微生物群の動態についても限定的にしか理解できないことになります。

参考文献：

Yang, Z., Bruno D. P., Martens C. A., Porcella S. F. and Moss B. (2011) Genome-wide analysis of the 5' and 3' ends of vaccinia virus early mRNAs delineates regulatory sequences of annotated and anomalous transcripts. J Virol 85: 5897-5909

ポックスウイルスはサイズの大きいDNAウイルスであり、複数のサブユニットからなるRNAポリメラーゼ、段階特異的な転写因子および感染した動物細胞の細胞質内のmRNAをキャップしポリアデニル化する酵素をコードしています。この文献ではワクシニアウイルス（VACV）初期mRNAの5'末端および3'末端を正確に同定し、続いて推定される転写開始位置（TSSs）およびポリアデニル化位置（PASs）のマッピングを行っています。

イルミナ技術：Genome Analyzer

ウイルスsmall RNAs

ウイルス感染における、宿主と病原体との相互作用において、small RNAは重要な役割を果たしています。マイクロRNA（miRNAs）は、小サイズのノンコーディングRNAの一種であり、植物から高等哺乳類まで、幅広い生物の転写後制御に関与します。RNAウイルスおよびDNAウイルスのいずれも、miRNAを宿主およびウイルス遺伝子の制御に利用しています。

参考文献：

Cytomegalovirus microRNA expression is tissue specific and is associated with persistence. J Virol 85: 378-389

著者らはラットのサイトメガロウイルス感染性線維芽細胞および持続感染性唾液腺におけるSmall RNAのシーケンスを報告しています。24のユニークなmiRNAが同定され、ウイルスゲノム内のヘアピン構造にマップされました。

イルミナ技術：Genome Analyzer

Yang, X., Wang Y., Guo W., Xie Y., Xie Q., et al. (2011) Characterization of small interfering RNAs derived from the geminivirus/betasatellite complex using deep sequencing. PLoS ONE 6: e16928

³⁵ Jiang, X., Jiang, H., Li, C., Wang, S., Mi, Z., et al. (2011) Sequence characteristics of T4-like bacteriophage IME08 genome termini revealed by high throughput sequencing. Virol J 8: 194

宿主 - 病原体相互作用

ウイルスは我々が想定しない方法で宿主をコントロールしていることがあります。ウイルスメタゲノム解析では、それを可能にする新たな遺伝子を解明することにより、ウイルス - 宿主間の相互作用に関する新たな知見を得ることができます。ウイルスメタゲノム解析ではウイルスが発見されることがあるため、進化生物学、病原体監視およびバイオテクノロジーなど幅広い分野の躍進に貢献する可能性があります³⁶。

レビュー：

Hann, D. R., Gimenez-Ibanez S. and Rathjen J. P. (2010) Bacterial virulence effectors and their activities. *Curr Opin Plant Biol* 13: 388–393

参考文献：

Chang, S. T., Sova P., Peng X., Weiss J., Law G. L., et al. (2011) Next-generation sequencing reveals HIV-1-mediated suppression of T cell activation and RNA processing and regulation of noncoding RNA expression in a CD4+ T cell line. *MBio* 2

著者らは感染細胞からの全mRNAのシーケンスを行い、宿主およびウイルスのmRNAにおいて発現の差を検出しました。ウイルスのリードはマップされたすべてのシーケンスリードの大部分を占め、感染の12時間後には20%、24時間後には40%に相当していました。この研究は、宿主と病原体との相互作用解析におけるシーケンス法の価値を明らかに示すものです。

イルミナ技術：Genome Analyzer_{ix} およびイルミナFastTrack受託サービス

Avrani, S., Wurtzel O., Sharon I., Sorek R. and Lindell D. (2011) Genomic island variability facilitates Prochlorococcus-virus coexistence. *Nature* 474: 604–608

この研究では、以前には想像もできなかった環境的相互作用の研究が、次世代シーケンサーテクノロジーによって可能となった経緯が示されています。この方法は汎用的であり、植物を含めたすべての生物とウイルスの相互作用にも適用することが可能です。10種類のウイルスへの耐性に基づいて選択された77の垂系のゲノム解析により、高度に変異が生じる単一のゲノムアイランドに局在する非保存性で水平伝播した遺伝子を中心に変異が見つかりました。変異はウイルスの細胞表面への接着に影響を与え、宿主の適応性を低下させています。

イルミナ技術：Genome Analyzer

³⁶ Rosario, K. and Breitbart, M. (2011) Exploring the viral world through metagenomics. *Curr Opin Virol* 1: 289–297

ウイルス性ヒト病原体

ゲノム的手法は、疾患の原因となっているウイルスの検出能を向上するだけでなく、健康なヒトにおけるウイルスの蔓延性の研究にも使用されています。例えば、*Picornaviridae*科に属する2つのグループ、ライノウイルスおよび消化管エンテロウイルスは、粘膜表面に多く存在します。「一病原体 - 一疾患」のモデルとは対照的に、より複雑なヒトのバイロームモデルでは、症状を引き起こすウイルスや症状を引き起こさないウイルスにヒトが常に曝露していることを示唆しています。このような意味合いから、バイロームは、宿主の遺伝形質と相互作用して複雑な疾患の病理に寄与する環境の重要な構成要素であると言えます³⁷。

レビュー：

Foxman, E. F. and Iwasaki A. (2011) Genome-virome interactions: examining the role of common viral infections in complex disease. *Nat Rev Microbiol* 9: 254–264

Oliere, S., Douville R., Sze A., Belgnaoui S. M. and Hiscott J. (2011) Modulation of innate immune responses during human T-cell leukemia virus (HTLV-1) pathogenesis. *Cytokine Growth Factor Rev* 22: 197–210

参考文献：

Nasu, A., Marusawa H., Ueda Y., Nishijima N., Takahashi K., et al. (2011) Genetic heterogeneity of hepatitis C virus in association with antiviral therapy determined by ultra-deep sequencing. *PLoS ONE* 6: e24907

この研究において著者らは、ペグインターフェロン（IFN）a2bとリバビリン（RBV）の投与を受けている患者における遺伝子型1b HCVの疑似種ウイルスの存在を超ディープシーケンスにより決定しています。HCVに対する直接作用性の抗ウイルス薬であるウイルス性プロテアーゼおよびポリメラーゼ阻害剤に対して耐性を示すクローンが、27人の初回治療患者のすべてにおいて様々な量で存在していることが示されています。この観察から、これらの薬剤に対する耐性が生じるリスクが示唆されます。

イルミナ技術：Genome Analyzer_{II}

Murray, C. L., Oh T. S. and Rice C. M. (2011) Keeping Track of Viruses. *Microbial Forensics (Second Edition)* 137–153

Yongfeng, H., Fan Y., Jie D., Jian Y., Ting Z., et al. (2011) Direct pathogen detection from swab samples using a new high-throughput sequencing technology. *Clin Microbiol Infect* 17: 241–244

ウイルス性植物病原体

植物には、ウイルス転写物などの侵襲性核酸に対する明確な防御機構が備わっています。高等真核生物においては、サイレンシング経路は極めて複雑ですが、エフェクター複合体の各ステップや性質は、異種間のみならず、同種間においても大きく異なっています³⁸。

³⁷ Foxman, E. F. and Iwasaki, A. (2011) Genome-virome interactions: examining the role of common viral infections in complex disease. *Nat Rev Microbiol* 9: 254–264

³⁸ Alvarado, V. and Scholthof, H. B. (2009) Plant responses against invasive nucleic acids: RNA silencing and its suppression by plant viral pathogens. *Semin Cell Dev Biol* 20: 1032–1040

参考文献：

Wylie, S. J. and Jones M. G. (2011) The complete genome sequence of a Passion fruit woodiness virus isolate from Australia determined using deep sequencing, and its relationship to other potyviruses. Arch Virol 156: 479-482

この文献では、パッションフルーツウッドィネスウイルス分離株であるMU-2の完全ゲノムシーケンス（9,858ヌクレオチド）のイルミナシーケンサーによる決定が報告されています。この分離株は典型的なポティウイルスの一種です。

イルミナ技術：Genome Analyzer_{IIx}、76bp、3100万リード

Luan, J. B., Li J. M., Varela N., Wang Y. L., Li F. F., et al. (2011) Global analysis of the transcriptional response of whitefly to tomato yellow leaf curl China virus reveals the relationship of coevolved adaptations. J Virol 85: 3330-3340

ウイルス性昆虫病原体

Small RNAゲノムを有し、形態学的に脊椎動物ピコルナウイルスと類似している昆虫ウイルスが多数同定されています。これらのウイルスには、宿主にあまり大きな有害作用を及ぼすことなく不顕性の感染のみを引き起こすウイルスと、宿主に衰弱性の致死感染を引き起こすウイルスが存在します³⁹。

参考文献：

Perera, O. P., Snodgrass G. L., Allen K. C., Jackson R. E., Becnel J. J., et al. (2012) The complete genome sequence of a single-stranded RNA virus from the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois). J Invertebr Pathol 109: 11-19

著者らは感染昆虫から調製したcDNAのシーケンスにより一本鎖RNAウイルスの完全なゲノムシーケンスを作成しました。ミツバチ腐疽病ウイルス（SBV）ゲノムとの高度な類似性および *Iflaviridae* 科のウイルスとのゲノム構成およびアミノ酸配列の類似性から、LyLV-1はこの科に属する新たなメンバーであることが示唆されています。

イルミナ技術：Genome Analyzer_{II}による36bpリード解析

Moore, J., Jironkin A., Chandler D., Burroughs N., Evans D. J., et al. (2011) Recombinants between Deformed wing virus and Varroa destructor virus-1 may prevail in Varroa destructor-infested honeybee colonies. J Gen Virol 92: 156-161

著者らはdeformed wingウイルス（DWW）とミツバチヘギイタダニウイルス-1（VDV-1）の間の新しい組換え体を同定しました。この組換え体は、親であるDWWよりも、ミツバチヘギイタダニとミツバチの間の伝播に対する適応性に優れています。

イルミナ技術：Genome Analyzer_{II}による72bpペアエンドラン

Zioni, N., Soroker V. and Chejanovsky N. (2011) Replication of Varroa destructor virus 1 (VDV-1) and a Varroa destructor virus 1-deformed wing virus recombinant (VDV-1-DWW) in the head of the honey bee. Virology 417: 106-112

³⁹ Perera, O. P., Snodgrass, G. L., Allen, K. C., Jackson, R. E., Becnel, J. J., et al. (2012) The complete genome sequence of a single-stranded RNA virus from the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois). J Invertebr Pathol 109: 11-19

バクテリオファージ

バクテリオファージは、生物圏において絶対多数を占める存在です。バクテリオファージ群は遺伝子多様性が非常に高く、数十億年間、活発に進化し続けていると考えられます。頻繁な水平遺伝子交換の結果、その構造にはモザイク現象が頻繁に観察されます。

バクテリオファージは、細菌群の変動に重要な役割を果たしています。次世代シーケンサーの出現により、今後のファージゲノム解析で極めて多くのことが明らかになると期待されています⁴⁰。

レビュー：

Hatfull, G. F. and Hendrix R. W. (2011) Bacteriophages and their Genomes. *Curr Opin Virol* 1: 298–303

参考文献：

Seed, K. D., Bodi K. L., Kropinski A. M., Ackermann H. W., Calderwood S. B., et al. (2011) Evidence of a dominant lineage of *Vibrio cholerae*-specific lytic bacteriophages shed by cholera patients over a 10-year period in Dhaka, Bangladesh. *MBio* 2: e00334-00

環境においてコレラ菌に影響を与える因子は、コレラ流行の発生に影響を与えることが可能です。これらの因子の一つは細菌性ウイルスあるいはバクテリオファージの存在であると考えられています。恐らくヒトを含め環境中に存在するコレラ菌に感染するバクテリオファージの遺伝的特性に関しては詳細な検討は行われていません。この文献において著者らは、これらの流行が定期的に発生している地域であるバングラデシュのダッカにおいて10年間にわたりコレラ患者の便サンプル由来のバクテリオファージのゲノムを単離し、シーケンスを行いました。

イルミナ技術：Genome Analyzerとバーコード付きペアエンドライブラリー

Sabehi, G., Shaulov L., Silver D. H., Yanai I., Harel A., et al. (2012) A novel lineage of myoviruses infecting cyanobacteria is widespread in the oceans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109: 2037–2042

Jiang, X., Jiang H., Li C., Wang S., Mi Z., et al. (2011) Sequence characteristics of T4-like bacteriophage IME08 genome termini revealed by high throughput sequencing. *Virol J* 8: 194

Kent, B. N., Salichos L., Gibbons J. G., Rokas A., Newton I. L., et al. (2011) Complete bacteriophage transfer in a bacterial endosymbiont (*Wolbachia*) determined by targeted genome capture. *Genome Biol Evol* 3: 209–218

Santos, T. M. and Bicalho R. C. (2011) Complete genome sequence of vB_EcoM_ECO1230-10: a coliphage with therapeutic potential for bovine metritis. *Vet Microbiol* 148: 267–275

⁴⁰ Hatfull, G. F. and Hendrix, R. W. (2011) Bacteriophages and their Genomes. *Curr Opin Virol* 1: 298–303

密接共生の進化には、各パートナーのゲノム間においてゲノム成分および遺伝子発現の協調が必要です。この協調により、各生物の機能が、単一の統合した代謝に融合されます。

レビュー：

Keeney, K. M. and Finlay B. B. (2011) Enteric pathogen exploitation of the microbiota-generated nutrient environment of the gut. *Curr Opin Microbiol* 14: 92–98

Leggat, W., Yellowlees D. and Medina M. (2011) Recent progress in Symbiodinium transcriptomics. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 408: 120–125

Veneault-Fourrey, C. and Martin F. (2011) Mutualistic interactions on a knife-edge between saprotrophy and pathogenesis. *Current opinion in plant biology* 14: 444–450

参考文献：

Rosenthal, A. Z., Matson E. G., Eldar A. and Leadbetter J. R. (2011) RNA-seq reveals cooperative metabolic interactions between two termite-gut spirochete species in co-culture. *ISME J* 5: 1133-1142

この文献において著者らは、近親関係にある2種類のトレポネーマ・スピロヘータのシロアリの消化管における相互作用について報告しています。この2種類のスピロヘータは相補的なH₂生理機能を有し、一方が水素を生産し、もう一方がその水素を消費します。*In vitro*において、この2種類のスピロヘータはお互いの成長を著しく向上させます。このため両者を同時に培養すると全体的な遺伝子発現に包括的な変化を生じます。それぞれの種において、100以上の遺伝子では発現量が2倍以上変化し、12以上の遺伝子では発現量が10倍以上変化します。宿主にとって有益な変化のいくつかは、コンソーシアルな成長の過程において優先的に発現します。この結果は、シロアリ消化管の微生物叢におけるリグノセルロース分解を駆動する、代謝と遺伝子相互作用の複雑なネットワークを指摘するものです。

Hansen, A. K. and Moran N. A. (2011) Aphid genome expression reveals host-symbiont cooperation in the production of amino acids. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108: 2849–2854

アブラムシの師部樹液食餌中には10種類の必須アミノ酸が欠乏しており、これらは菌細胞と呼ばれる特別な細胞の内部に生息する絶対細菌性内部共生体（Bunchnera）により供給されています。Bunchneraのゲノムは必須アミノ酸合成遺伝子の大部分をコードしていますが、必須アミノ酸経路のいくつかの遺伝子および可欠アミノ酸合成遺伝子の大部分は欠損しています。著者らは、菌細胞と他の体細胞のエンドウマメアブラムシ遺伝子発現を比較し、アミノ酸の生合成に関連する26の遺伝子が菌細胞において上方制御されていることを見い出しています。

イルミナ技術：Genome Analyzer、RNA-Seq 74bpリード

Burke, G. R. and Moran N. A. (2011) Massive Genomic Decay in *Serratia symbiotica*, a Recently Evolved Symbiont of Aphids. *Genome Biol Evol* 3: 195–208

Diguistini, S., Wang Y., Liao N. Y., Taylor G., Tanguay P., et al. (2011) Genome and transcriptome analyses of the mountain pine beetle-fungal symbiont *Grosmannia clavigera*, a lodgepole pine pathogen. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108: 2504–2509

Kent, B. N., Salichos L., Gibbons J. G., Rokas A., Newton I. L., et al. (2011) Complete Bacteriophage Transfer in a Bacterial Endosymbiont (*Wolbachia*) Determined by Targeted Genome Capture. *Genome Biol Evol* 3: 209–218

Nowack, E. C., Vogel H., Groth M., Grossman A. R., Melkonian M., et al. (2011) Endosymbiotic gene transfer and transcriptional regulation of transferred genes in *Paulinella chromatophora*. *Mol Biol Evol* 28: 407–422

Shinzato, C., Shoguchi E., Kawashima T., Hamada M., Hisata K., et al. (2011) Using the *Acropora digitifera* genome to understand coral responses to environmental change. *Nature* 476: 320–323

Wang, Z., Kadouri D. E. and Wu M. (2011) Genomic insights into an obligate epibiotic bacterial predator: *Micavibrio aeruginosavorus* ARL-13. *BMC Genomics* 12: 453

ヒトの健康

ヒトは自身の細胞数の10倍以上に相当する数の微生物細胞を有しており、両親から受け継いだヒトゲノムと比較して100倍も多くの細菌遺伝子を有しています⁴¹。これら微生物がヒトの健康に及ぼす影響は非常に大きく、このためヒトの有する微生物群を、単数または複数の追加器官と考えることも可能です。宿主遺伝子と微生物との相互作用は、多機能慢性疾患の発症に関する主要な決定因子となっています⁴²。

レビュー：

- Kuczynski, J., Lauber C. L., Walters W. A., Parfrey L. W., Clemente J. C., et al. (2012) Experimental and analytical tools for studying the human microbiome. *Nat Rev Genet* 13: 47–58
- Bruls, T. and Weissenbach J. (2011) The human metagenome: our other genome? *Hum Mol Genet* 20: R142–148
- Laing, C. R., Zhang Y., Thomas J. E. and Gannon V. P. (2011) Everything at once: comparative analysis of the genomes of bacterial pathogens. *Vet Microbiol* 153: 13–26
- Virgin, H. W. and Todd J. A. (2011) Metagenomics and personalized medicine. *Cell* 147: 44–56

ヒトの消化管

小腸の表面積は、広げると、それだけでほぼテニスコートの大きさ、または皮膚表面積の100倍に相当します⁴³。ヒトの消化管には約100兆の細菌が寄生しており、古細菌、真菌類、ウイルス等が消化管微生物群中の少数派として存在しています。消化管の微生物叢における微生物分布の攪乱が、肥満⁴⁴、糖尿病^{45, 46}および炎症性腸疾患⁴⁷に関与していることが示されています。

参考文献：

- Gisselsson, D., Lindgren D., Mengelbier L. H., Ora I. and Yeger H. (2010) Genetic bottlenecks and the hazardous game of population reduction in cell line based research. *Exp Cell Res* 316: 3379–3386

⁴¹ Barwick, B. G., Abramovitz, M., Kodani, M., Moreno, C. S., Nam, R., et al. (2010) Prostate cancer genes associated with TMPRSS2-ERG gene fusion and prognostic of biochemical recurrence in multiple cohorts. *Br J Cancer* 102: 570–576

⁴² Vaarala, O., Atkinson, M. A. and Neu, J. (2008) The “perfect storm” for type 1 diabetes: the complex interplay between intestinal microbiota, gut permeability, and mucosal immunity. *Diabetes* 57: 2555–2562

⁴³ Hooper, L. V. and Macpherson, A. J. (2010) Immune adaptations that maintain homeostasis with the intestinal microbiota. *Nat Rev Immunol* 10: 159–169

⁴⁴ Turnbaugh, P. J., Ley, R. E., Mahowald, M. A., Magrini, V., Mardis, E. R., et al. (2006) An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 444: 1027–1031

⁴⁵ Wen, L., Ley, R. E., Volchkov, P. Y., Stranges, P. B., Avanesyan, L., et al. (2008) Innate immunity and intestinal microbiota in the development of Type 1 diabetes. *Nature* 455: 1109–1113

⁴⁶ Vaarala, O., Atkinson, M. A. and Neu, J. (2008) The “perfect storm” for type 1 diabetes: the complex interplay between intestinal microbiota, gut permeability, and mucosal immunity. *Diabetes* 57: 2555–2562

⁴⁷ Ott, S. J., Musfeldt, M., Wenderoth, D. F., Hampe, J., Brant, O., et al. (2004) Reduction in diversity of the colonic mucosa associated bacterial microflora in patients with active inflammatory bowel disease. *Gut* 53: 685–693

ヒト消化管微生物叢の遺伝子一覧表⁴⁸

研究されている遺伝子の数	3,300,000
20%未満のヒトに共通した遺伝子の数	2,376,000
コア遺伝子（少なくとも50%のヒトに共通した遺伝子）	294,000
個人が所有する遺伝子の平均数	536,000
共通な遺伝子の数（少なくとも他の1人と共通した遺伝子）	204,000
細菌	99.1%
古細菌	0.8%
真核生物起源またはウイルス起源	0.1%
各個人が有する種の数	160

レビュー：

Gonzalez, A., Clemente J. C., Shade A., Metcalf J. L., Song S., et al. (2011) Our microbial selves: what ecology can teach us. *EMBO Rep* 12: 775–784

Karlsson, F. H., Nookaew I., Petranovic D. and Nielsen J. (2011) Prospects for systems biology and modeling of the gut microbiome. *Trends Biotechnol* 29: 251–258

Walter, J., Britton R. A. and Roos S. (2011) Host-microbial symbiosis in the vertebrate gastrointestinal tract and the *Lactobacillus reuteri* paradigm. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108 Suppl 1: 4645–4652

Williams, I. R. (2011) Deep impact: deciphering mucosal microbiomes using next-generation sequencing approaches. *Mucosal Immunology* 4: 586–587

参考文献：

Castellarin, M., Warren R. L., Freeman J. D., Dreolini L., Krzywinski M., et al. (2012) *Fusobacterium nucleatum* infection is prevalent in human colorectal carcinoma. *Genome Res* 22: 299–306

著者らは11の直腸結腸腫瘍サンプルおよび11の対応する対照サンプルの全RNA-Seqを行いました。腫瘍サンプルにおいては*Fusobacterium nucleatum* subsp. *nucleatum*のゲノムシーケンスがリッチに存在していました。*Fusobacterium nucleatum*は、正常な消化管にはほとんど存在しませんが、一般的に歯垢および歯周炎に伴って確認されます。結果は、合計99例 ($p = 2.5 \times 10^{-6}$) の定量PCR解析により検証されています。著者らは株を培養してシーケンスを行い、PCRスクリーンも開発しました。

イルミナ技術：Genome Analyzer_{IIx}によるRNA-Seq、およびHiSeqによるバクテリアシーケンス

Kuwahara, T., Ogura Y., Oshima K., Kurokawa K., Ooka T., et al. (2011) The lifestyle of the segmented filamentous bacterium: a non-culturable gut-associated immunostimulating microbe inferred by whole-genome sequencing. *DNA Res* 18: 291–303

Segmented糸状細菌（SFB）は、培養不可能なクロストリジウム関連グラム陽性細菌であり、独特な形態を有し、小腸上皮細胞に堅固に接着しています。著者らはマウスSFBの完全なゲノムシーケンスを報告しています。ゲノムには、ほとんどすべてのアミノ酸、ビタミン・補助因子およびヌクレオチドの生合成のための遺伝子が欠失していますが、芽胞形成や発芽のための遺伝子、および走化性や鞭毛性運動のための遺伝子はすべて揃っています。これらの結果は2種類の植物性（遊泳および近細胞性寄生）相および1種類の休止（芽胞）相からなる、SFBの三相性生活様式を示唆しています。これはゲノムシーケンスにより得られる豊富な生物学的情報の一例を示すものです。

イルミナ技術：Genome Analyzer、MetaHITプロジェクト⁴⁹で得られたシーケンス

⁴⁸ Qin, J., Li, R., Raes, J., Arumugam, M., Burgdorf, K. S., et al. (2010) A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* 464: 59–65

⁴⁹ Qin, J., Li, R., Raes, J., Arumugam, M., Burgdorf, K. S., et al. (2010) A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* 464: 59–65

Minot, S., Grunberg S., Wu G. D., Lewis J. D. and Bushman F. D. (2012) Hypervariable loci in the human gut virome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109: 3962–3966

Gong, J. and Yang C. Advances in the methods for studying gut microbiota and their relevance to the research of dietary fiber functions. *Food Research International*

Arumugam, M., Raes J., Pelletier E., Le Paslier D., Yamada T., et al. (2011) Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* 473: 174–180

炎症性腸疾患（IBD）とクローン病

クローン病および潰瘍性大腸炎は、炎症性腸疾患（IBD）の代表例です。クローン病が消化管（GI管）のすべての部分に起こり得る慢性的炎症を特徴としている一方、潰瘍性大腸炎の症状発現部位は結腸に限られています。症状としては、腹痛、下痢、体重減少およびGI管の潰瘍が含まれます。宿主の遺伝子型⁵⁰および免疫系⁵¹によっては、消化管微生物叢がIBDの進行に関与していることが示唆されています。

レビュー：

Man, S. M., Kaakoush N. O. and Mitchell H. M. (2011) The role of bacteria and pattern-recognition receptors in Crohn's disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 8: 152–168

Ohnmacht, C., Marques R., Presley L., Sawa S., Lochner M., et al. (2011) Intestinal microbiota, evolution of the immune system and the bad reputation of pro-inflammatory immunity. *Cell Microbiol* 13: 653–659

参考文献：

Deshpande, N. P., Kaakoush N. O., Mitchell H., Janitz K., Raftery M. J., et al. (2011) Sequencing and validation of the genome of a *Campylobacter concisus* reveals intra-species diversity. *PLoS ONE* 6: e22170

この文献では、クローン病小児患者由来の*C. concisus* (UNSWCD) のゲノムが報告されています。著者らはUNSWCDとレファレンス株 (BAA-1457) の間に大きな機能的差異を観察しています。UNSWCDおよびBAA-1457には1593の遺伝子が共に保存されていますが、UNSWCD由来の138の遺伝子およびBAA-1457由来の281の遺伝子は、それぞれに特有なものです。観察された差の多くは、UNSWCDが宿主細胞とのより広範囲な表面相互作用に適応している事実と一致しています。

イルミナ技術：Genome Analyzer_{ix}、ペアエンド102bp、2~2,500x カバレッジ

Biswas, A., Petnicki-Ocwieja T. and Kobayashi K. S. (2012) Nod2: a key regulator linking microbiota to intestinal mucosal immunity. *J Mol Med (Berl)* 90: 15–24

⁵⁰ Festen, E. A., Goyette, P., Green, T., Boucher, G., Beauchamp, C., et al. (2011) A meta-analysis of genome-wide association scans identifies IL18RAP, PTPN2, TAGAP, and PUS10 as shared risk loci for Crohn's disease and celiac disease. *PLoS Genet* 7: e1001283

⁵¹ Karlsson, F. H., Nookaew, I., Petranovic, D. and Nielsen, J. (2011) Prospects for systems biology and modeling of the gut microbiome. *Trends Biotechnol* 29: 251–258

1型糖尿病

最近の研究から、複雑で多因子性の自己免疫疾患である1型糖尿病（T1D）の発症に、細菌が関与している可能性が示されています⁵²。

レビュー：

Virgin, H. W. and Todd J. A. (2011) Metagenomics and personalized medicine. *Cell* 147: 44–56

参考文献：

Brown, C. T., Davis-Richardson A. G., Giongo A., Gano K. A., Crabb D. B., et al. (2011) Gut microbiome metagenomics analysis suggests a functional model for the development of autoimmunity for type 1 diabetes. *PLoS ONE* 6: e25792

著者らは、4組のT1D患者と対照者から、T1D関連自己免疫疾患の発現時に採取した便サンプルを解析しました。結果は、自己免疫疾患患者における接着および鞭毛合成の増加がT1D関連自己免疫反応の引き金となっている可能性を示唆しています。代謝能の大きな差は自己免疫疾患患者が機能的に異常な微生物叢を有していることを示しています。

Keene, K. L., Quinlan A. R., Hou X., Hall I. M., Mychaleckyj J. C., et al. (2012) Evidence for two independent associations with type 1 diabetes at the 12q13 locus. *Genes Immun* 13: 66–70

Bradfield, J. P., Qu H. Q., Wang K., Zhang H., Sleiman P. M., et al. (2011) A genome-wide meta-analysis of six type 1 diabetes cohorts identifies multiple associated loci. *PLoS Genet* 7: e1002293

Cotsapas, C., Voight B. F., Rossin E., Lage K., Neale B. M., et al. (2011) Pervasive sharing of genetic effects in autoimmune disease. *PLoS Genet* 7: e1002254

他のヒト微生物叢

消化管の微生物叢が大きな注目を集めていますが、腔微生物叢および皮膚微生物叢など、その他の部位のヒト微生物叢に関する研究の数も増加してきています。大規模なHuman Microbiome Project⁵³では、人体の複数の異なる部位として、鼻腔、口腔、皮膚、消化管および尿生殖路などからサンプルを採取しています。このプロジェクトにより、ヒトの健康におけるメタゲノムの複雑性および重要性に対する認識が高まっています。

レビュー：

Kong, H. H. (2011) Skin microbiome: genomics-based insights into the diversity and role of skin microbes. *Trends Mol Med* 17: 320–328

Proctor, L. M. (2011) The Human Microbiome Project in 2011 and beyond. *Cell Host Microbe* 10: 287–291

Reid, G., Younes J. A., Van der Mei H. C., Gloor G. B., Knight R., et al. (2011) Microbiota restoration: natural and supplemented recovery of human microbial communities. *Nat Rev Microbiol* 9: 27–38

⁵² Virgin, H. W. and Todd, J. A. (2011) Metagenomics and personalized medicine. *Cell* 147: 44–56

⁵³ <http://commonfund.nih.gov/hmp/>

参考文献：

Mackelprang, R., Waldrop M. P., DeAngelis K. M., David M. M., Chavarria K. L., et al. (2011) Metagenomic analysis of a permafrost microbial community reveals a rapid response to thaw. *Nature* 480: 368–371

著者らはショットガンメタゲノムシーケンスを使用して、解凍が微生物の系統発生および機能性遺伝子に与える影響を同定し、これらのデータをメタン放出の測定値に関連付けています。

イルミナ技術：Genome Analyzer_{II} および113bpペアエンドシーケンス

Pride, D. T., Sun C. L., Salzman J., Rao N., Loomer P., et al. (2011) Analysis of streptococcal CRISPRs from human saliva reveals substantial sequence diversity within and between subjects over time. *Genome Res* 21: 126–136

プロバイオティクス

プロバイオティクスは、宿主の健康に有益な効果をもたらす、生きた微生物です。近年の次世代シーケンサーの発展により、プロバイオティクスの機能、およびプロバイオティクスと宿主であるヒトとの特定な相互作用に関する理解が深まっています。すべてのプロバイオティクスが同じ機構で宿主に有益な効果をもたらしているのではありませんが、ゲノム研究により、いくつか特定の作用機序が明らかにされてきています⁵⁴。この結果が今後、より確実な情報に基づいてデザインされたプレバイオティクス化粧品、プロバイオティクス化粧品や、生物学的活性を有する医薬品の開発につながると考えられています⁵⁵。

レビュー：

Baughner, J. L. and Klaenhammer T. R. (2011) Invited review: Application of omics tools to understanding probiotic functionality. *J Dairy Sci* 94: 4753–4765

Reid, G., Younes J. A., Van der Mei H. C., Gloor G. B., Knight R., et al. (2011) Microbiota restoration: natural and supplemented recovery of human microbial communities. *Nat Rev Microbiol* 9: 27–38

参考文献：

Chen, C., Ai L., Zhou F., Wang L., Zhang H., et al. (2011) Complete genome sequence of the probiotic bacterium *Lactobacillus casei* LC2W. *J Bacteriol* 193: 3419–3420

Macklaim, J. M., Gloor G. B., Anukam K. C., Cribby S. and Reid G. (2011) At the crossroads of vaginal health and disease, the genome sequence of *Lactobacillus iners* AB-1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108 Suppl 1: 4688–4695

Saulnier, D. M., Santos F., Roos S., Mistretta T. A., Spinler J. K., et al. (2011) Exploring metabolic pathway reconstruction and genome-wide expression profiling in *Lactobacillus reuteri* to define functional probiotic features. *PLoS ONE* 6: e18783

Wang, Y., Chen C., Ai L., Zhou F., Zhou Z., et al. (2011) Complete genome sequence of the probiotic *Lactobacillus plantarum* ST-III. *J Bacteriol* 193: 313–314

Wang, Y., Chen Y., Shen Q. and Yin X. (2011) Molecular cloning and identification of the laspartomycin biosynthetic gene cluster from *Streptomyces viridochromogenes*. *Gene* 483: 11–21

⁵⁴ Baughner, J. L. and Klaenhammer, T. R. (2011) Invited review: Application of omics tools to understanding probiotic functionality. *J Dairy Sci* 94: 4753–4765

⁵⁵ Gonzalez, A., Clemente, J. C., Shade, A., Metcalf, J. L., Song, S., et al. (2011) Our microbial selves: what ecology can teach us. *EMBO Rep* 12: 775–784

1グラムの土壌中には、10万から100万の異なる微生物種が存在していると推定されていますが⁵⁶、そのうち実験室で培養することが可能な微生物の割合は、極めてわずかです。

レビュー：

Maron, P. A., Mougél C. and Ranjard L. (2011) Soil microbial diversity: Methodological strategy, spatial overview and functional interest. *C R Biol* 334: 403–411

参考文献：

Macklaim, J. M., Gloor G. B., Anukam K. C., Cribby S. and Reid G. (2011) At the crossroads of vaginal health and disease, the genome sequence of *Lactobacillus iners* AB-1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108 Suppl 1: 4688–4695

*Lactobacillus iners*は、BV感染を起こし抗生物質治療を受けた直後の、健康と見なされる患者の膣に存在します。様々な条件下において生息することができる、この優れた能力は、*L. iners*が異常な細菌叢ではなく、宿主にとって重要な防御要員であることを示唆しています。この役割において、*L. iners*は正常な細菌叢の再構築および維持に関与する常在性相利共生乳酸桿菌として作用している可能性があります。

イルミナ技術：Genome Analyzer、35bpペアエンド、1200万リードで構築を補足

Bartram, A. K., Lynch M. D., Stearns J. C., Moreno-Hagelsieb G. and Neufeld J. D. (2011) Generation of multimillion-sequence 16S rRNA gene libraries from complex microbial communities by assembling paired-end illumina reads. *Appl Environ Microbiol* 77: 3846–3852

Ma, M., Wang C., Ding Y., Li L., Shen D., et al. (2011) Complete genome sequence of *Paenibacillus polymyxa* SC2, a strain of plant growth-promoting Rhizobacterium with broad-spectrum antimicrobial activity. *J Bacteriol* 193: 311–312

Veneault-Fourrey, C. and Martin F. (2011) Mutualistic interactions on a knife-edge between saprotrophy and pathogenesis. *Curr Opin Plant Biol* 14: 444–450

⁵⁶ Curtis, T. P. and Sloan, W. T. (2005) Microbiology. Exploring microbial diversity--a vast below. *Science* 309: 1331–1333

バイオレメディエーション

バイオレメディエーションは、汚染された環境から生体異物を排除するための手法であり、環境への負担が少なく、費用競争力も高いです。次世代シーケンサーでは、環境汚染物質のバイオレメディエーションに関与する分子のおよび生物学的機構についての重要な知見が得られます。これらの知見は、微生物バイオレメディエーション手法を向上させ、その進展を評価し、成功を左右します⁵⁷。

参考文献：

Zhan, Y., Yan Y., Zhang W., Chen M., Lu W., et al. (2012) Comparative analysis of the complete genome of an *Acinetobacter calcoaceticus* strain adapted to a phenol-polluted environment. *Res Microbiol* 163: 36–43

著者らは、中国の製油所の工業排水から以前に単離された非病原性のフェノール分解細菌である、*Acinetobacter calcoaceticus* PHEA-2の完全ゲノムシーケンスを報告しています。環境適応に関与している遺伝子の多くが、8kbのフェノール分解遺伝子群を含む、遺伝子の水平伝播によって獲得されたものであると結論付けられています。

イルミナ技術：Genome Analyzer

Li, K., Wang S., Shi Y., Qu J., Zhai Y., et al. (2011) Genome sequence of *Paracoccus* sp. Strain TRP, a Chlorpyrifos Biodegrader. *J Bacteriol* 193: 1786–1787, Zhang, T., Zhang X. X. and Ye L. (2011) Plasmid metagenome reveals high levels of antibiotic resistance genes and mobile genetic elements in activated sludge. *PLoS ONE* 6: e26041

この文献では*Paracoccus* sp. strain TRPのドラフトゲノムが示されています。この細菌は、活性汚泥から単離され、クロルピリホスおよび3,5,6-トリクロロ-2-ピリジノールといった農薬を完全に生物分解することが可能です。ドラフトゲノムシーケンスを使用して、生体異物の生物分解および代謝に関与する遺伝子を予想することが可能です。

イルミナ技術：Genome Analyzer

Albertsen, M., Hansen L. B., Saunders A. M., Nielsen P. H. and Nielsen K. L. (2011) A metagenome of a full-scale microbial community carrying out enhanced biological phosphorus removal. *ISME J*

Li, S. G., Tang Y. Q., Nie Y., Cai M. and Wu X. L. (2011) Complete genome sequence of *Polymorphum gilvum* SL003B-26A1T, a crude oil-degrading bacterium from oil-polluted saline soil. *J Bacteriol* 193: 2894–2895

⁵⁷ Desai, C., Pathak, H. and Madamwar, D. (2010) Advances in molecular and “-omics” technologies to gauge microbial communities and bioremediation at xenobiotic/anthropogen contaminated sites. *Bioresour Technol* 101: 1558–1569

水面下を含む海洋環境には、合計約 3.67×10^{30} の微生物が含まれるものと考えられています⁵⁸。地球表面の約71%は海洋であり、この環境中に地球上の全生命の80%が存在しており、微生物多様性および利用可能なバイオテクノロジーの巨大な貯蔵庫です⁵⁹。

レビュー：

Kennedy, J., O' Leary N. D., Kiran G. S., Morrissey J. P., O' Gara F., et al. (2011) Functional metagenomic strategies for the discovery of novel enzymes and biosurfactants with biotechnological applications from marine ecosystems. *J Appl Microbiol* 111: 787–799

Leggat, W., Yellowlees D. and Medina M. (2011) Recent progress in Symbiodinium transcriptomics. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 408: 120–125

参考文献：

Avrani, S., Wurtzel O., Sharon I., Sorek R. and Lindell D. (2011) Genomic island variability facilitates *Prochlorococcus*-virus coexistence. *Nature* 474: 604–608

Collins, A. J. and Nyholm S. V. (2011) Draft genome of *Phaeobacter gallaeciensis* ANG1, a dominant member of the accessory nidamental gland of *Euprymna scolopes*. *J Bacteriol* 193: 3397–3398

Fan, L., Bo S., Chen H., Ye W., Kleinschmidt K., et al. (2011) Genome sequence of *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* gtP20b, isolated from the Indian ocean. *J Bacteriol* 193: 1276–1277

Jang, Y., Oh H. M., Kang I., Lee K., Yang S. J., et al. (2011) Genome sequence of strain IMCC3088, a proteorhodopsin-containing marine bacterium belonging to the OM60/NOR5 clade. *J Bacteriol* 193: 3415–3416

Lecroq, B., Lejzerowicz F., Bachar D., Christen R., Esling P., et al. (2011) Ultra-deep sequencing of foraminiferal microbarcodes unveils hidden richness of early monothalamous lineages in deep-sea sediments. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108: 13177–13182

Oh, H. M., Lee K., Jang Y., Kang I., Kim H. J., et al. (2011) Genome sequence of strain IMCC9480, a xanthorhodopsin-bearing betaproteobacterium isolated from the Arctic Ocean. *J Bacteriol* 193: 3421

Petersen, J. M., Zielinski F. U., Pape T., Seifert R., Moraru C., et al. (2011) Hydrogen is an energy source for hydrothermal vent symbioses. *Nature* 476: 176–180

Roh, H., Uguru G. C., Ko H. J., Kim S., Kim B. Y., et al. (2011) Genome sequence of the abyssomicin- and proximycin-producing marine actinomycete *Verrucosipora maris* AB-18-032. *J Bacteriol* 193: 3391–3392

Trevors, J. T. (2011) Viable but non-culturable (VBNC) bacteria: Gene expression in planktonic and biofilm cells. *J Microbiol Methods* 86: 266–273

Yoon, H. S., Price D. C., Stepanauskas R., Rajah V. D., Sieracki M. E., et al. (2011) Single-cell genomics reveals organismal interactions in uncultivated marine protists. *Science* 332: 714–717

⁵⁸ Whitman, W. B., Coleman, D. C. and Wiebe, W. J. (1998) Prokaryotes: the unseen majority. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95: 6578–6583

⁵⁹ Kennedy, J., Marchesi, J. R. and Dobson, A. D. (2008) Marine metagenomics: strategies for the discovery of novel enzymes with biotechnological applications from marine environments. *Microb Cell Fact* 7: 27

微生物酵素には、生体触媒としての、多くの既知の適用法が存在します。しかし、メタゲノムシーケンスデータベースには1,900億塩基以上の注釈付きコレクションが存在するにもかかわらず、現在利用されている生体触媒はごくわずかです⁶⁰。リグノセルロース系植物原料は、極めて豊富に存在し安価であるため、バイオ燃料分野においては、リグノセルロース系植物原料の分解に主な焦点が当てられています。

レビュー：

Xing, M. N., Zhang X. Z. and Huang H. (2012) Application of metagenomic techniques in mining enzymes from microbial communities for biofuel synthesis. *Biotechnol Adv*

Kennedy, J., O'Leary N. D., Kiran G. S., Morrissey J. P., O'Gara F., et al. (2011) Functional metagenomic strategies for the discovery of novel enzymes and biosurfactants with biotechnological applications from marine ecosystems. *J Appl Microbiol* 111: 787–799

Langridge, G. (2011) Plant power: converting a kingdom. *Nat Rev Microbiol* 9: 316

Stephenson, P. G., Moore C. M., Terry M. J., Zubkov M. V. and Bibby T. S. (2011) Improving photosynthesis for algal biofuels: toward a green revolution. *Trends Biotechnol* 29: 615–623

参考文献：

Qi, M., Wang P., O' Toole N., Barboza P. S., Ungerfeld E., et al. (2011) Snapshot of the eukaryotic gene expression in muskoxen rumen--a metatranscriptomic approach. *PLoS ONE* 6: e20521

この文献では、メタトランスクリプトームを使用してジャコウウシ (*Ovibos moschatus*) のルーメン内に存在する真核微生物の機能的多様性を、植物細胞壁の分解酵素に焦点を当てて検討しています。著者らはグリコシド加水分解酵素、炭水化物エステラーゼおよびポリサッカライドリアーゼを含む、植物細胞壁分解酵素モジュールを同定しています。これには、いくつかのグリコシド加水分解酵素ファミリー6 (GH6)、GH48およびswolleninモジュールが含まれています。これらは過去の消化管代謝研究ではほとんど報告されていません。

イルミナ技術：Genome Analyzer_{II}

Rosenthal, A. Z., Matson E. G., Eldar A. and Leadbetter J. R. (2011) RNA-seq reveals cooperative metabolic interactions between two termite-gut spirochete species in co-culture. *ISME J* 5: 1133–1142

この文献において著者らは、近親関係にある2種類のトレボネマ・スピロヘータのシロアリの消化管における相互作用について報告しています。この2種類のスピロヘータは相補的なH₂生理機能を有し、一方が水素を生産し、もう一方がその水素を消費します。*In vitro*において、この2種類のスピロヘータはお互いの成長を著しく向上させます。このため両者を同時に培養すると全体的な遺伝子発現に包括的な変化を生じます。それぞれの種において、100以上の遺伝子では発現量が2倍以上変化し、12以上の遺伝子では発現量が10倍以上変化します。宿主にとって有益な変化のいくつかは、コンソーシアルな成長の過程において優先的に発現します。この結果は、シロアリ消化管の微生物叢におけるリグノセルロース分解を駆動する、代謝と遺伝子相互作用の複雑なネットワークを指摘するものです。

イルミナ技術：Genome AnalyzerによるRNA-Seqサンプル調製プロトコール

⁶⁰ Fernandez-Arrojo, L., Guazzaroni, M. E., Lopez-Cortes, N., Beloqui, A. and Ferrer, M. (2010) Metagenomic era for biocatalyst identification. *Curr Opin Biotechnol* 21: 725–733

Hess, M., Sczyrba A., Egan R., Kim T. W., Chokhawala H., et al. (2011) Metagenomic discovery of biomass-degrading genes and genomes from cow rumen. *Science* 331: 463–467

この研究において著者らは、27,755の推定炭水化物活性遺伝子を同定し、90の候補タンパク質を発現させましたが、このうち57%はセルロース系基質に対して酵素的に活性を示しました。著者らはさらに15の非培養微生物ゲノムを構築し、単一細胞ゲノムシーケンスを含む相補的方法により結果を検証しました。この研究によって同定された炭水化物活性の候補遺伝子の数は多く、以前のすべての研究から得られた炭水化物活性の候補遺伝子の数の合計の5倍に相当していました。

イルミナ技術：Genome Analyzer_{IIx}。200および300bpのインサートサイズのライブラリ0を用いた125bpペアエンド、およびHiSeq 2000による100bpペアエンドシーケンス。ゲノム構築を容易にするため、それぞれ3kbおよび5kbのサイズを挿入して2つのライブラリをさらに構築しました。これら2つの「ジャンピング」ライブラリに関して、Genome Analyzer_{IIx}を使用して75bpペアエンドシーケンスを行いました。

Wang, T. Y., Chen H. L., Lu M. Y., Chen Y. C., Sung H. M., et al. (2011) Functional characterization of cellulases identified from the cow rumen fungus *Neocallimastix patriciarum* W5 by transcriptomic and secretomic analyses. *Biotechnol Biofuels* 4: 24

Li, F., Jiang P., Zheng H., Wang S., Zhao G., et al. (2011) Draft genome sequence of the marine bacterium *Streptomyces griseoaurantiacus* M045, which produces novel manumycin-type antibiotics with a pABA core component. *J Bacteriol* 193: 3417–3418

Zhou, M., McAllister T. A. and Guan L. L. (2011) Molecular identification of rumen methanogens: Technologies, advances and prospects. *Animal Feed Science and Technology* 166–167: 76–86

Roh, H., Uguru G. C., Ko H. J., Kim S., Kim B. Y., et al. (2011) Genome sequence of the abyssomicin- and proximycin-producing marine actinomycete *Verrucosipora maris* AB-18-032. *J Bacteriol* 193: 3391–3392

Xiong, X. H., Zhi J. J., Yang L., Wang J. H., Zhao Y., et al. (2011) Complete genome sequence of the bacterium *Methylovorus* sp. strain MP688, a high-level producer of pyrroloquinolone quinone. *J Bacteriol* 193: 1012–1013

用語集

allochthonous 他生性	他の生物を起源とし、消化管に一過的に存在する種。
archaea 古細菌	細胞内に、細胞核または他の細胞膜で区切られた細胞器官を持たない単細胞性微生物。古細菌は特に海洋中に多く存在し、プランクトン中の古細菌は、地球上で最も豊富に存在する生物群である可能性がある。
autochthonous 土着性	消化管中に、多数がコロニーを形成して恒久的に存在する種。
axenic 無菌	他の生物が存在しない状態。
Bacteroidetes バクテロイデス門	<i>Bacteroides</i> 属、 <i>Porphyromonas</i> 属および <i>Prevotella</i> 属を含む、グラム陰性細菌門。
bacteriocytes 菌細胞	内共生細菌を含む、特殊な細胞。
binning ビンニング	シーケンスの、ヌクレオチド組成またはレファレンスデータベースとの類似性に基づくグループ分け。
contig コンティグ	重複連続したDNAの集合体。
dysbiosis 腸内毒素症	微生物と宿主の間の恒常的で有益な正常関係の障害。微生物群の構造および機能の障害を含む。
enterotype エンテロタイプ	ヒトの消化管マイクロビオームにおける、微生物学的生態系に基づく生物分類。
ESS 環境ショットガンシーケンシング	環境ショットガンシーケンス (Environmental Shotgun Sequencing)。
familial clustering 家族性クラスター形成	家族の一員が、1型糖尿病、潰瘍性大腸炎またはクローン病などの疾患と診断された場合、他の第一度近親者が同疾患を罹患するリスクは、一般大衆から無作為に選択された者が同疾患を罹患するリスクと比較してはるかに高い（ある種の多因性疾患の場合にはおそらく50倍にも及ぶ）。
firmicutes ファーミキューテス門	<i>Clostridium</i> 属、 <i>Eubacterium</i> 属、 <i>Faecalibacterium</i> 属、 <i>Roseburia</i> 属および <i>Ruminococcus</i> 属を含む、グラム陽性細菌門。
metadata メタデータ	他のデータに関する情報の供給または他のデータの文書化のための、定義データ。
metagenetics メタジェネティクス	宿主遺伝子または個々の微生物に特定な性質（例：病原性または片利共生）を付与する遺伝子を個別に考察するのとは対照的に、メタゲノム中のすべての遺伝子を考察する遺伝子研究およびゲノム研究。
metagenome メタゲノム	培養されていない微生物から得られるDNA。
metabonomics メタゲノム解析	培養されていない微生物から得られたゲノムDNAに関する研究。
metaproteomics メタプロテオミクス	環境サンプルから得られたタンパク質分子データに関する研究。
metatranscriptomics メタトランスクリプトミクス	環境サンプルから得られた転写シーケンスデータに関する研究。
microbiome マイクロビオーム	微生物叢中に存在するすべての遺伝子。
microbiota 微生物叢	宿主に寄生している微生物群。
ontology 概念体系	概念のセットと概念同士の関係を指す形式的表現。概念体系は、同意され、統制された明確な語彙を提供するために使用される。
OTU 操作的分類単位	微生物学において、種を区別するための操作的分類単位。一般に、同等および異なる操作分類単位内の微生物を分類するためには、rDNAおよび類似率閾値が使用される。
prebiotics プレバイオティクス	特定の細菌の活性および成長を促進することにより、宿主の健康に有益な効果を与える食物成分（例：イヌリンおよびトランスガラクトオリゴサッカライド）。一般に、 <i>Bifidobacteria</i> 属および <i>Lactobacillus</i> 属は、選択的な増殖ターゲットとなっている。
probiotics プロバイオティクス	生きた微生物の培養物で、十分な用量を補給すると、宿主の健康に有益な効果を与えるもの（例： <i>L. plantarum</i> および <i>Bif. longum</i> ）。
quasispecies 疑似種	変異と淘汰の平衡状態で存在する野生型（WT）ゲノムおよび変異ゲノムとが混在した集合体。

rarefaction curve 希薄化曲線	発見された種の数の変化を採取した個体の関数として表した曲線。
ribotype リボタイプ	rDNAシーケンスに基づく、門レベルでの分類。
scaffold 骨格	順番的には正しいが、必ずしも一つのコンティグ内でつながっていない、一連のコンティグ。
shadow ORF シャドウORF	真のORFのコーディング領域と重複する、不正確に同定されたORF。
virome バイローム	宿主の組織内に生息する、またはマイクロビオーム中の生物に感染するすべてのウイルスの集計。これらのウイルスは、さらに生命の3つのドメイン（例：細菌バイローム、細菌性ファージまたは真核性バイローム）の各メンバーに感染するウイルスに分類することが可能である。
xenobiotic 生体異物	薬剤、農薬または発癌性物質など、生物にとって異物である化合物。

- Al Rwahnih, M., Dolja, V. V., Daubert, S., Koonin, E. V. and Rowhani, A. (2012) Genomic and biological analysis of Grapevine leafroll-associated virus 7 reveals a possible new genus within the family Closteroviridae. *Virus Res* 163: 302–309
- Albertsen, M., Hansen, L. B., Saunders, A. M., Nielsen, P. H. and Nielsen, K. L. (2011) A metagenome of a full-scale microbial community carrying out enhanced biological phosphorus removal. *ISME J*
- Altermann, E. (2012) Tracing lifestyle adaptation in prokaryotic genomes. *Front Microbiol* 3: 48
- Alvarado, V. and Scholthof, H. B. (2009) Plant responses against invasive nucleic acids: RNA silencing and its suppression by plant viral pathogens. *Semin Cell Dev Biol* 20: 1032–1040
- Arumugam, M., Raes, J., Pelletier, E., Le Paslier, D., Yamada, T., et al. (2011) Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* 473: 174–180
- Asai, T., Zaporozjets, D., Squires, C. and Squires, C. L. (1999) An *Escherichia coli* strain with all chromosomal rRNA operons inactivated: complete exchange of rRNA genes between bacteria. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96: 1971–1976
- Avrani, S., Wurtzel, O., Sharon, I., Sorek, R. and Lindell, D. (2011) Genomic island variability facilitates *Prochlorococcus*-virus coexistence. *Nature* 474: 604–608
- Bartram, A. K., Lynch, M. D., Stearns, J. C., Moreno-Hagelsieb, G. and Neufeld, J. D. (2011) Generation of multimillion-sequence 16S rRNA gene libraries from complex microbial communities by assembling paired-end illumina reads. *Appl Environ Microbiol* 77: 3846–3852
- Barwick, B. G., Abramovitz, M., Kodani, M., Moreno, C. S., Nam, R., et al. (2010) Prostate cancer genes associated with TMPRSS2-ERG gene fusion and prognostic of biochemical recurrence in multiple cohorts. *Br J Cancer* 102: 570–576
- Baugher, J. L. and Klaenhammer, T. R. (2011) Invited review: Application of omics tools to understanding probiotic functionality. *J Dairy Sci* 94: 4753–4765
- Bik, H. M., Porazinska, D. L., Creer, S., Caporaso, J. G., Knight, R., et al. (2012) Sequencing our way towards understanding global eukaryotic biodiversity. *Trends Ecol Evol* 27: 233–243
- Biswas, A., Petnicki-Ocwieja, T. and Kobayashi, K. S. (2012) Nod2: a key regulator linking microbiota to intestinal mucosal immunity. *J Mol Med (Berl)* 90: 15–24
- Blasdell, K. R., Voysey, R., Bulach, D., Joubert, D. A., Tesh, R. B., et al. (2012) Kotonkan and Obodhiang viruses: African ephemeroviruses with large and complex genomes. *Virology* 425: 143–153
- Bomar, L., Maltz, M., Colston, S. and Graf, J. (2011) Directed culturing of microorganisms using metatranscriptomics. *MBio* 2: e00012-00011
- Bradfield, J. P., Qu, H. Q., Wang, K., Zhang, H., Sleiman, P. M., et al. (2011) A genome-wide meta-analysis of six type 1 diabetes cohorts identifies multiple associated loci. *PLoS Genet* 7: e1002293
- Brown, C. T., Davis-Richardson, A. G., Giongo, A., Gano, K. A., Crabb, D. B., et al. (2011) Gut microbiome metagenomics analysis suggests a functional model for the development of autoimmunity for type 1 diabetes. *PLoS ONE* 6: e25792
- Bruls, T. and Weissenbach, J. (2011) The human metagenome: our other genome? *Hum Mol Genet* 20: R142–148
- Bull, J. J., Meyers, L. A. and Lachmann, M. (2005) Quasispecies made simple. *PLoS Comput Biol* 1: e61
- Caporaso, J. G., Lauber, C. L., Walters, W. A., Berg-Lyons, D., Lozupone, C. A., et al. (2011) Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108 Suppl 1: 4516–4522
- Caporaso, J. G., Paszkiewicz, K., Field, D., Knight, R. and Gilbert, J. A. (2011) The Western English Channel contains a persistent microbial seed bank. *ISME J* 6: 1089–1093
- Caporaso, J. G., Lauber, C. L., Walters, W. A., Berg-Lyons, D., Huntley, J., et al. (2012) Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. *ISME J* 6: 1621–1624
- Castellarin, M., Warren, R. L., Freeman, J. D., Dreolini, L., Krzywinski, M., et al. (2012) *Fusobacterium nucleatum* infection is prevalent in human colorectal carcinoma. *Genome Res* 22: 299–306
- Chang, S. T., Sova, P., Peng, X., Weiss, J., Law, G. L., et al. (2011) Next-generation sequencing reveals HIV-1-mediated suppression of T cell activation and RNA processing and regulation of noncoding RNA expression in a CD4+ T cell line. *MBio* 2: E00134-11
- Chen, C., Ai, L., Zhou, F., Wang, L., Zhang, H., et al. (2011) Complete genome sequence of the probiotic bacterium *Lactobacillus casei* LC2W. *J Bacteriol* 193: 3419–3420
- Chitsaz, H., Yee-Greenbaum, J. L., Tesler, G., Lombardo, M. J., Dupont, C. L., et al. (2011) Efficient de novo assembly of single-cell bacterial genomes from short-read data sets.

Nat Biotechnol 29: 915–921

Coelho, A. C., Boisvert, S., Mukherjee, A., Leprohon, P., Corbeil, J., et al. (2012) Multiple mutations in heterogeneous miltefosine-resistant *Leishmania* major population as determined by whole genome sequencing. *PLoS Negl Trop Dis* 6: e1512

Collins, A. J. and Nyholm, S. V. (2011) Draft genome of *Phaeobacter gallaeciensis* ANG1, a dominant member of the accessory nidamental gland of *Euprymna scolopes*. *J Bacteriol* 193: 3397–3398

Conway, C., Chalkley, R., High, A., MacLennan, K., Berri, S., et al. (2012) Next-generation sequencing for simultaneous determination of human papillomavirus load, subtype, and associated genomic copy number changes in tumors. *J Mol Diagn* 14: 104–111

Cotsapas, C., Voight, B. F., Rossin, E., Lage, K., Neale, B. M., et al. (2011) Pervasive sharing of genetic effects in autoimmune disease. *PLoS Genet* 7: e1002254

Curtis, T. P. and Sloan, W. T. (2005) *Microbiology. Exploring microbial diversity--a vast below.* *Science* 309: 1331–1333

Degnan, P. H. and Ochman, H. (2012) Illumina-based analysis of microbial community diversity. *ISME J* 6: 183–194

Desai, C., Pathak, H. and Madamwar, D. (2010) Advances in molecular and “-omics” technologies to gauge microbial communities and bioremediation at xenobiotic/anthropogen contaminated sites. *Bioresour Technol* 101: 1558–1569

Deshpande, N. P., Kaakoush, N. O., Mitchell, H., Janitz, K., Raftery, M. J., et al. (2011) Sequencing and validation of the genome of a *Campylobacter concisus* reveals intra-species diversity. *PLoS ONE* 6: e22170

Drake, J. W. and Holland, J. J. (1999)

Mutation rates among RNA viruses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96: 13910–13913

Dunowska, M., Biggs, P. J., Zheng, T. and Perrott, M. R. (2012) Identification of a novel nidovirus associated with a neurological disease of the Australian brushtail possum (*Trichosurus vulpecula*). *Vet Microbiol* 156: 418–424

Fan, L., Bo, S., Chen, H., Ye, W., Kleinschmidt, K., et al. (2011) Genome sequence of *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* gtP20b, isolated from the Indian ocean. *J Bacteriol* 193: 1276–1277

Fernandez-Arrojo, L., Guazzaroni, M. E., Lopez-Cortes, N., Beloqui, A. and Ferrer, M. (2010) Metagenomic era for biocatalyst identification. *Curr Opin Biotechnol* 21: 725–733

Festen, E. A., Goyette, P., Green, T., Boucher, G., Beauchamp, C., et al. (2011) A meta-analysis of genome-wide association scans identifies IL18RAP, PTPN2, TAGAP, and PUS10 as shared risk loci for Crohn’s disease and celiac disease. *PLoS Genet* 7: e1001283

Filiatrault, M. J. (2011) Progress in prokaryotic transcriptomics. *Curr Opin Microbiol* 14: 579–586

Flaherty, P., Natsoulis, G., Muralidharan, O., Winters, M., Buenrostro, J., et al. (2012) Ultrasensitive detection of rare mutations using next-generation targeted resequencing. *Nucleic Acids Res* 40: e2

Foster, J. A., Bunge, J., Gilbert, J. A. and Moore, J. H. (2012) Measuring the microbiome: perspectives on advances in DNA-based techniques for exploring microbial life. *Brief Bioinform*

Fox, G. E., Wisotzkey, J. D. and Jurtshuk, P., Jr. (1992) How close is close: 16S rRNA sequence identity may not be sufficient to guarantee species identity. *Int J Syst Bacteriol* 42: 166–170

Foxman, E. F. and Iwasaki, A. (2011) Genome-virome interactions: examining the role of common viral infections in complex disease. *Nat Rev Microbiol* 9: 254–264

Gerlach, W. and Stoye, J. (2011) Taxonomic classification of metagenomic shotgun sequences with CARMA3. *Nucleic Acids Res* 39: e91

Gong, J. and Yang, C. (2012) Advances in the methods for studying gut microbiota and their relevance to the research of dietary fiber functions. *Food Research International*

Gonzalez, A., Clemente, J. C., Shade, A., Metcalf, J. L., Song, S., et al. (2011) Our microbial selves: what ecology can teach us. *EMBO Rep* 12: 775–784

Gonzalez, A. and Knight, R. (2012) Advancing analytical algorithms and pipelines for billions of microbial sequences. *Curr Opin Biotechnol* 23: 64–71

Haas, B. J., Gevers, D., Earl, A. M., Feldgarden, M., Ward, D. V., et al. (2011) Chimeric 16S rRNA sequence formation and detection in Sanger and 454-pyrosequenced PCR amplicons. *Genome Res* 21: 494–504

Hann, D. R., Gimenez-Ibanez, S. and Rathjen, J. P. (2010) Bacterial virulence effectors and their activities. *Curr Opin Plant Biol* 13: 388–393

Harris, S. R., Clarke, I. N., Seth-Smith, H. M., Solomon, A. W., Cutcliffe, L. T., et al. (2012) Whole-genome analysis of diverse *Chlamydia trachomatis* strains identifies phylogenetic relationships masked by current clinical typing. *Nat Genet* 44: 413–419

Hatfull, G. F. and Hendrix, R. W. (2011) Bacteriophages and their Genomes. *Curr Opin Virol* 1: 298–303

Hess, M., Sczyrba, A., Egan, R., Kim, T. W., Chokhawala, H., et al. (2011) Metagenomic discovery of biomass-degrading genes and genomes from

- cow rumen. *Science* 331: 463–467
- Ho, P. L., Lo, W. U., Yeung, M. K., Li, Z., Chan, J., et al. (2012) Dissemination of pHK01-like incompatibility group IncFII plasmids encoding CTX-M-14 in *Escherichia coli* from human and animal sources. *Vet Microbiol*
- Hooper, L. V. and Macpherson, A. J. (2010) Immune adaptations that maintain homeostasis with the intestinal microbiota. *Nat Rev Immunol* 10: 159–169
- Hugenholtz, P., Goebel, B. M. and Pace, N. R. (1998) Impact of culture-independent studies on the emerging phylogenetic view of bacterial diversity. *J Bacteriol* 180: 4765–4774
- Islam, S., Kjallquist, U., Moliner, A., Zajac, P., Fan, J. B., et al. (2011) Characterization of the single-cell transcriptional landscape by highly multiplex RNA-seq. *Genome Res* 21: 1160–1167
- Jang, Y., Oh, H. M., Kang, I., Lee, K., Yang, S. J., et al. (2011) Genome sequence of strain IMCC3088, a proteorhodopsin-containing marine bacterium belonging to the OM60/NOR5 clade. *J Bacteriol* 193: 3415–3416
- Jiang, X., Jiang, H., Li, C., Wang, S., Mi, Z., et al. (2011) Sequence characteristics of T4-like bacteriophage IME08 genome termini revealed by high throughput sequencing. *Virology* 438: 194
- Kalisky, T., Blainey, P. and Quake, S. R. (2011) Genomic analysis at the single-cell level. *Annu Rev Genet* 45: 431–445
- Karlsson, F. H., Nookaew, I., Petranovic, D. and Nielsen, J. (2011) Prospects for systems biology and modeling of the gut microbiome. *Trends Biotechnol* 29: 251–258
- Kav, A. B., Sasson, G., Jami, E., Doron-Faigenboim, A., Benhar, I., et al. (2012) Insights into the bovine rumen plasmidome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109: 5452–5457
- Keene, K. L., Quinlan, A. R., Hou, X., Hall, I. M., Mychaleckyj, J. C., et al. (2012) Evidence for two independent associations with type 1 diabetes at the 12q13 locus. *Genes Immun* 13: 66–70
- Kennedy, J., Marchesi, J. R. and Dobson, A. D. (2008) Marine metagenomics: strategies for the discovery of novel enzymes with biotechnological applications from marine environments. *Microb Cell Fact* 7: 27
- Kennedy, J., O' Leary, N. D., Kiran, G. S., Morrissey, J. P., O' Gara, F., et al. (2011) Functional metagenomic strategies for the discovery of novel enzymes and biosurfactants with biotechnological applications from marine ecosystems. *J Appl Microbiol* 111: 787–799
- Kent, B. N., Salichos, L., Gibbons, J. G., Rokas, A., Newton, I. L., et al. (2011) Complete bacteriophage transfer in a bacterial endosymbiont (*Wolbachia*) determined by targeted genome capture. *Genome Biol Evol* 3: 209–218
- Klappenbach, J. A., Dunbar, J. M. and Schmidt, T. M. (2000) rRNA operon copy number reflects ecological strategies of bacteria. *Appl Environ Microbiol* 66: 1328–1333
- Klitgord, N. and Segre, D. (2011) Ecosystems biology of microbial metabolism. *Curr Opin Biotechnol* 22: 541–546
- Kong, H. H. (2011) Skin microbiome: genomics-based insights into the diversity and role of skin microbes. *Trends Mol Med* 17: 320–328
- Kuczynski, J., Lauber, C. L., Walters, W. A., Parfrey, L. W., Clemente, J. C., et al. (2012) Experimental and analytical tools for studying the human microbiome. *Nat Rev Genet* 13: 47–58
- Kuwahara, T., Ogura, Y., Oshima, K., Kurokawa, K., Ooka, T., et al. (2011) The lifestyle of the segmented filamentous bacterium: a non-culturable gut-associated immunostimulating microbe inferred by whole-genome sequencing. *DNA Res* 18: 291–303
- Laing, C. R., Zhang, Y., Thomas, J. E. and Gannon, V. P. (2011) Everything at once: comparative analysis of the genomes of bacterial pathogens. *Vet Microbiol* 153: 13–26
- Langridge, G. (2011) Plant power: converting a kingdom. *Nat Rev Microbiol* 9: 316
- Lecroq, B., Lejzerowicz, F., Bachar, D., Christen, R., Esling, P., et al. (2011) Ultra-deep sequencing of foraminiferal microbarcodes unveils hidden richness of early monothalamous lineages in deep-sea sediments. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108: 13177–13182
- Leggat, W., Yellowlees, D. and Medina, M. (2011) Recent progress in *Symbiodinium* transcriptomics. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 408: 120–125
- Li, F., Jiang, P., Zheng, H., Wang, S., Zhao, G., et al. (2011) Draft genome sequence of the marine bacterium *Streptomyces griseoaurantiacus* M045, which produces novel manumycin-type antibiotics with a pABA core component. *J Bacteriol* 193: 3417–3418
- Li, K., Wang, S., Shi, Y., Qu, J., Zhai, Y., et al. (2011) Genome sequence of *Paracoccus* sp. Strain TRP, a Chlorpyrifos Biodegrader. *J Bacteriol* 193: 1786–1787
- Li, L. and Delwart, E. (2011) From orphan virus to pathogen: the path to the clinical lab. *Curr Opin Virol* 1: 282–288
- Li, S. C., Chan, W. C., Lai, C. H., Tsai, K. W., Hsu, C. N., et al. (2011) UMARS: Un-Mappable Reads Solution. *BMC Bioinformatics* 12 Suppl 1: S9
- Li, S. G., Tang, Y. Q., Nie, Y., Cai, M. and Wu, X. L. (2011) Complete genome sequence of *Polymorphum gilvum* SL003B-26A1T, a crude oil-degrading bacterium from oil-polluted saline soil. *J Bacteriol* 193: 2894–2895

- Loman, N. J., Misra, R. V., Dallman, T. J., Constantinidou, C., Gharbia, S. E., et al. (2012) Performance comparison of benchtop high-throughput sequencing platforms. *Nat Biotechnol* 30: 562
- Luan, J. B., Li, J. M., Varela, N., Wang, Y. L., Li, F. F., et al. (2011) Global analysis of the transcriptional response of whitefly to tomato yellow leaf curl China virus reveals the relationship of coevolved adaptations. *J Virol* 85: 3330–3340
- Luo, C., Tsementzi, D., Kyrpides, N., Read, T. and Konstantinidis, K. T. (2012) Direct comparisons of Illumina vs. Roche 454 sequencing technologies on the same microbial community DNA sample. *PLoS ONE* 7: e30087
- Ma, M., Wang, C., Ding, Y., Li, L., Shen, D., et al. (2011) Complete genome sequence of *Paenibacillus polymyxa* SC2, a strain of plant growth-promoting *Rhizobacterium* with broad-spectrum antimicrobial activity. *J Bacteriol* 193: 311–312
- Mackelprang, R., Waldrop, M. P., DeAngelis, K. M., David, M. M., Chavarria, K. L., et al. (2011) Metagenomic analysis of a permafrost microbial community reveals a rapid response to thaw. *Nature* 480: 368–371
- Macklaim, J. M., Gloor, G. B., Anukam, K. C., Cribby, S. and Reid, G. (2011) At the crossroads of vaginal health and disease, the genome sequence of *Lactobacillus iners* AB-1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108 Suppl 1: 4688–4695
- Mader, U., Nicolas, P., Richard, H., Bessieres, P. and Aymerich, S. (2011) Comprehensive identification and quantification of microbial transcriptomes by genome-wide unbiased methods. *Curr Opin Biotechnol* 22: 32–41
- Man, S. M., Kaakoush, N. O. and Mitchell, H. M. (2011) The role of bacteria and pattern-recognition receptors in Crohn's disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 8: 152–168
- Maron, P. A., Mougel, C. and Ranjard, L. (2011) Soil microbial diversity: Methodological strategy, spatial overview and functional interest. *C R Biol* 334: 403–411
- Martin, F. (2011) Unearthing the truffle genome. *New Phytol* 189: 645–646
- Mende, D. R., Waller, A. S., Sunagawa, S., Jarvelin, A. I., Chan, M. M., et al. (2012) Assessment of metagenomic assembly using simulated next generation sequencing data. *PLoS ONE* 7: e31386
- Meyer, C., Grey, F., Kreklywich, C. N., Andoh, T. F., Tirabassi, R. S., et al. (2011) Cytomegalovirus microRNA expression is tissue specific and is associated with persistence. *J Virol* 85: 378–389
- Minot, S., Grunberg, S., Wu, G. D., Lewis, J. D. and Bushman, F. D. (2012) Hypervariable loci in the human gut virome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109: 3962–3966
- Mokili, J. L., Rohwer, F. and Dutilh, B. E. (2012) Metagenomics and future perspectives in virus discovery. *Curr Opin Virol* 2: 63–77
- Moon, S., Kim, Y. G., Dong, L., Lombardi, M., Haeggstrom, E., et al. (2011) Drop-on-demand single cell isolation and total RNA analysis. *PLoS ONE* 6: e17455
- Moore, J., Jironkin, A., Chandler, D., Burroughs, N., Evans, D. J., et al. (2011) Recombinants between Deformed wing virus and *Varroa destructor* virus-1 may prevail in *Varroa destructor*-infested honeybee colonies. *J Gen Virol* 92: 156–161
- Moore, R. A., Warren, R. L., Freeman, J. D., Gustavsen, J. A., Chenard, C., et al. (2011) The sensitivity of massively parallel sequencing for detecting candidate infectious agents associated with human tissue. *PLoS ONE* 6: e19838
- Murray, C. L., Oh, T. S. and Rice, C. M. (2011) Keeping Track of Viruses. *Microbial Forensics* (Second Edition) 137–153
- Nasu, A., Marusawa, H., Ueda, Y., Nishijima, N., Takahashi, K., et al. (2011) Genetic heterogeneity of hepatitis C virus in association with antiviral therapy determined by ultra-deep sequencing. *PLoS ONE* 6: e24907
- Navin, N., Kendall, J., Troge, J., Andrews, P., Rodgers, L., et al. (2011) Tumour evolution inferred by single-cell sequencing. *Nature* 472: 90–94
- Oh, H. M., Lee, K., Jang, Y., Kang, I., Kim, H. J., et al. (2011) Genome sequence of strain IMCC9480, a xanthorhodopsin-bearing betaproteobacterium isolated from the Arctic Ocean. *J Bacteriol* 193: 3421
- Ohnmacht, C., Marques, R., Presley, L., Sawa, S., Lochner, M., et al. (2011) Intestinal microbiota, evolution of the immune system and the bad reputation of pro-inflammatory immunity. *Cell Microbiol* 13: 653–659
- Oliere, S., Douville, R., Sze, A., Belgnaoui, S. M. and Hiscott, J. (2011) Modulation of innate immune responses during human T-cell leukemia virus (HTLV-1) pathogenesis. *Cytokine Growth Factor Rev* 22: 197–210
- Ott, S. J., Musfeldt, M., Wenderoth, D. F., Hampe, J., Brant, O., et al. (2004) Reduction in diversity of the colonic mucosa associated bacterial microflora in patients with active inflammatory bowel disease. *Gut* 53: 685–693
- Pace, N. R. (1997) A molecular view of microbial diversity and the biosphere. *Science* 276: 734–740
- Perera, O. P., Snodgrass, G. L., Allen, K. C., Jackson, R. E., Becnel, J. J., et al. (2012) The complete genome sequence of a single-stranded RNA virus from the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois). *J Invertebr Pathol* 109: 11–19

- Petersen, J. M., Zielinski, F. U., Pape, T., Seifert, R., Moraru, C., et al. (2011) Hydrogen is an energy source for hydrothermal vent symbioses. *Nature* 476: 176–180
- Pride, D. T., Sun, C. L., Salzman, J., Rao, N., Loomer, P., et al. (2011) Analysis of streptococcal CRISPRs from human saliva reveals substantial sequence diversity within and between subjects over time. *Genome Res* 21: 126–136
- Proctor, L. M. (2011) The Human Microbiome Project in 2011 and beyond. *Cell Host Microbe* 10: 287–291
- Qi, M., Wang, P., O' Toole, N., Barboza, P. S., Ungerfeld, E., et al. (2011) Snapshot of the eukaryotic gene expression in muskoxen rumen—a metatranscriptomic approach. *PLoS ONE* 6: e20521
- Qin, J., Li, R., Raes, J., Arumugam, M., Burgdorf, K. S., et al. (2010) A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* 464: 59–65
- Rajendhran, J. and Gunasekaran, P. (2011) Microbial phylogeny and diversity: small subunit ribosomal RNA sequence analysis and beyond. *Microbiol Res* 166: 99–110
- Ram, J. L., Karim, A. S., Sendler, E. D. and Kato, I. (2011) Strategy for microbiome analysis using 16S rRNA gene sequence analysis on the Illumina sequencing platform. *Syst Biol Reprod Med* 57: 162–170
- Reid, G., Younes, J. A., Van der Mei, H. C., Gloor, G. B., Knight, R., et al. (2011) Microbiota restoration: natural and supplemented recovery of human microbial communities. *Nat Rev Microbiol* 9: 27–38
- Roh, H., Uguru, G. C., Ko, H. J., Kim, S., Kim, B. Y., et al. (2011) Genome sequence of the abyssomicin- and proximycin-producing marine actinomycete *Verrucospora maris* AB-18-032. *J Bacteriol* 193: 3391–3392
- Rosario, K. and Breitbart, M. (2011) Exploring the viral world through metagenomics. *Curr Opin Virol* 1: 289–297
- Rosenthal, A. Z., Matson, E. G., Eldar, A. and Leadbetter, J. R. (2011) RNA-seq reveals cooperative metabolic interactions between two termite-gut spirochete species in co-culture. *ISME J* 5: 1133–1142
- Sabehi, G., Shaulov, L., Silver, D. H., Yanai, I., Harel, A., et al. (2012) A novel lineage of myoviruses infecting cyanobacteria is widespread in the oceans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109: 2037–2042
- Santos, T. M. and Bicalho, R. C. (2011) Complete genome sequence of vB_EcoM_ECO1230-10: a coliphage with therapeutic potential for bovine metritis. *Vet Microbiol* 148: 267–275
- Saulnier, D. M., Santos, F., Roos, S., Mistretta, T. A., Spinler, J. K., et al. (2011) Exploring metabolic pathway reconstruction and genome-wide expression profiling in *Lactobacillus reuteri* to define functional probiotic features. *PLoS ONE* 6: e18783
- Schouls, L. M., Schot, C. S. and Jacobs, J. A. (2003) Horizontal transfer of segments of the 16S rRNA genes between species of the *Streptococcus anginosus* group. *J Bacteriol* 185: 7241–7246
- Seed, K. D., Bodi, K. L., Kropinski, A. M., Ackermann, H. W., Calderwood, S. B., et al. (2011) Evidence of a dominant lineage of *Vibrio cholerae*-specific lytic bacteriophages shed by cholera patients over a 10-year period in Dhaka, Bangladesh. *MBio* 2: e00334–00310
- Soergel, D. A., Dey, N., Knight, R. and Brenner, S. E. (2012) Selection of primers for optimal taxonomic classification of environmental 16S rRNA gene sequences. *ISME J* 1440–1444
- Stephenson, P. G., Moore, C. M., Terry, M. J., Zubkov, M. V. and Bibby, T. S. (2011) Improving photosynthesis for algal biofuels: toward a green revolution. *Trends Biotechnol* 29: 615–623
- Szpara, M. L., Parsons, L. and Enquist, L. W. (2010) Sequence variability in clinical and laboratory isolates of herpes simplex virus 1 reveals new mutations. *J Virol* 84: 5303–5313
- Tisserant, E., Da Silva, C., Kohler, A., Morin, E., Wincker, P., et al. (2011) Deep RNA sequencing improved the structural annotation of the *Tuber melanosporum* transcriptome. *New Phytol* 189: 883–891
- Trevors, J. T. (2011) Viable but non-culturable (VBNC) bacteria: Gene expression in planktonic and biofilm cells. *J Microbiol Methods* 86: 266–273
- Turnbaugh, P. J., Ley, R. E., Mahowald, M. A., Magrini, V., Mardis, E. R., et al. (2006) An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 444: 1027–1031
- Vaarala, O., Atkinson, M. A. and Neu, J. (2008) The “perfect storm” for type 1 diabetes: the complex interplay between intestinal microbiota, gut permeability, and mucosal immunity. *Diabetes* 57: 2555–2562
- Veneault-Fourrey, C. and Martin, F. (2011) Mutualistic interactions on a knife-edge between saprotrophy and pathogenesis. *Curr Opin Plant Biol* 14: 444–450
- Vignuzzi, M., Stone, J. K., Arnold, J. J., Cameron, C. E. and Andino, R. (2006) Quasispecies diversity determines pathogenesis through cooperative interactions in a viral population. *Nature* 439: 344–348
- Virgin, H. W. and Todd, J. A. (2011) Metagenomics and personalized medicine. *Cell* 147: 44–56
- Walker, A. (2011) Genome watch: Singled out. *Nat Rev Microbiol* 9: 485
- Walter, J., Britton, R. A. and Roos, S. (2011) Host-microbial symbiosis in the vertebrate gastrointestinal tract and

- the *Lactobacillus reuteri* paradigm. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108 Suppl 1: 4645–4652
- Wang, T. Y., Chen, H. L., Lu, M. Y., Chen, Y. C., Sung, H. M., et al. (2011) Functional characterization of cellulases identified from the cow rumen fungus *Neocallimastix patriciarum* W5 by transcriptomic and secretomic analyses. *Biotechnol Biofuels* 4: 24
- Wang, Y., Zhang, Z. and Ramanan, N. (1997) The actinomycete *Thermobispora bispora* contains two distinct types of transcriptionally active 16S rRNA genes. *J Bacteriol* 179: 3270–3276
- Wang, Y., Chen, C., Ai, L., Zhou, F., Zhou, Z., et al. (2011) Complete genome sequence of the probiotic *Lactobacillus plantarum* ST-III. *J Bacteriol* 193: 313–314
- Wang, Y., Chen, Y., Shen, Q. and Yin, X. (2011) Molecular cloning and identification of the laspartomycin biosynthetic gene cluster from *Streptomyces viridochromogenes*. *Gene* 483: 11–21
- Warnecke, F. and Hess, M. (2009) A perspective: metatranscriptomics as a tool for the discovery of novel biocatalysts. *J Biotechnol* 142: 91–95
- Wen, L., Ley, R. E., Volchkov, P. Y., Stranges, P. B., Avanesyan, L., et al. (2008) Innate immunity and intestinal microbiota in the development of Type 1 diabetes. *Nature* 455: 1109–1113
- Werner, J. J., Zhou, D., Caporaso, J. G., Knight, R. and Angenent, L. T. (2011) Comparison of Illumina paired-end and single-direction sequencing for microbial 16S rRNA gene amplicon surveys. *ISME J* 6: 1273–1276
- Whitman, W. B., Coleman, D. C. and Wiebe, W. J. (1998) Prokaryotes: the unseen majority. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95: 6578–6583
- Williams, I. R. (2011) Deep impact: deciphering mucosal microbiomes using next-generation sequencing approaches. *Mucosal Immunology* 4: 586–587
- Wylie, S. J. and Jones, M. G. (2011) The complete genome sequence of a Passion fruit woodiness virus isolate from Australia determined using deep sequencing, and its relationship to other potyviruses. *Arch Virol* 156: 479–482
- Xia, L. C., Cram, J. A., Chen, T., Fuhrman, J. A. and Sun, F. (2011) Accurate genome relative abundance estimation based on shotgun metagenomic reads. *PLoS ONE* 6: e27992
- Xing, M. N., Zhang, X. Z. and Huang, H. (2012) Application of metagenomic techniques in mining enzymes from microbial communities for biofuel synthesis. *Biotechnol Adv* 30: 920–929
- Xiong, X. H., Zhi, J. J., Yang, L., Wang, J. H., Zhao, Y., et al. (2011) Complete genome sequence of the bacterium *Methylovorus* sp. strain MP688, a high-level producer of pyrroloquinolone quinone. *J Bacteriol* 193: 1012–1013
- Yang, X., Wang, Y., Guo, W., Xie, Y., Xie, Q., et al. (2011) Characterization of small interfering RNAs derived from the geminivirus/betasatellite complex using deep sequencing. *PLoS ONE* 6: e16928
- Yang, Z., Bruno, D. P., Martens, C. A., Porcella, S. F. and Moss, B. (2011) Genome-wide analysis of the 5' and 3' ends of vaccinia virus early mRNAs delineates regulatory sequences of annotated and anomalous transcripts. *J Virol* 85: 5897–5909
- Yongfeng, H., Fan, Y., Jie, D., Jian, Y., Ting, Z., et al. (2011) Direct pathogen detection from swab samples using a new high-throughput sequencing technology. *Clin Microbiol Infect* 17: 241–244
- Yoon, H. S., Price, D. C., Stepanauskas, R., Rajah, V. D., Sieracki, M. E., et al. (2011) Single-cell genomics reveals organismal interactions in uncultivated marine protists. *Science* 332: 714–717
- Youssef, N., Sheik, C. S., Krumholz, L. R., Najjar, F. Z., Roe, B. A., et al. (2009) Comparison of species richness estimates obtained using nearly complete fragments and simulated pyrosequencing-generated fragments in 16S rRNA gene-based environmental surveys. *Appl Environ Microbiol* 75: 5227–5236
- Zhan, Y., Yan, Y., Zhang, W., Chen, M., Lu, W., et al. (2012) Comparative analysis of the complete genome of an *Acinetobacter calcoaceticus* strain adapted to a phenol-polluted environment. *Res Microbiol* 163: 36–43
- Zhang, T., Zhang, X. X. and Ye, L. (2011) Plasmid metagenome reveals high levels of antibiotic resistance genes and mobile genetic elements in activated sludge. *PLoS ONE* 6: e26041
- Zhou, M., McAllister, T. A. and Guan, L. L. (2011) Molecular identification of rumen methanogens: Technologies, advances and prospects. *Animal Feed Science and Technology* 166–167: 76–86
- Zioni, N., Soroker, V. and Chejanovsky, N. (2011) Replication of *Varroa destructor* virus 1 (VDV-1) and a *Varroa destructor* virus 1-deformed wing virus recombinant (VDV-1-DWV) in the head of the honey bee. *Virology* 417: 106–112

イルミナ株式会社

www.illumina.co.jp

本製品の使用目的は研究に限定されます。

© 2013 Illumina, Inc. All rights reserved.

Illumina, illumina*Dx*, BaseSpace, BeadArray, BeadXpress, cBot, CSPRO, DASL, DesignStudio, Eco, G*AI*lx, Genetic Energy, Genome Analyzer, GenomeStudio, GoldenGate, HiScan, HiSeq, Infinium, iSelect, MiSeq, Nextera, NuPCR, SeqMonitor, Solexa, TruSeq, TruSight, VeraCode, the pumpkin orange color, the Genetic Energy streaming bases design は Illumina, Inc の商標または登録商標です。その他の会社名や商品名は、各社の商標または登録商標です。予告なしに仕様を変更する場合があります。

Pub. No. publication_metagenome-j 24JUN2013

illumina[®]