



Title	Direct RNA Sequencing Unfolds the Complex Transcriptome of <i>Vibrio parahaemolyticus</i>
Author(s)	Al Kadi, Mohamad
Citation	大阪大学, 2022, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/87916
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	MOHAMAD AL KADI
論文題名 Title	Direct RNA Sequencing Unfolds the Complex Transcriptome of <i>Vibrio parahaemolyticus</i> (ダイレクトRNAシーケンシングによる腸炎ビブリオの複雑なトランスクリプトームの解析)
<p>論文内容の要旨</p> <p>〔目 的(Purpose)〕</p> <p><i>Vibrio parahaemolyticus</i> is a halophilic bacterium found in the marine environment. Upon ingestion by humans—often through the consumption of raw or undercooked seafood—<i>V. parahaemolyticus</i> senses the host environment and expresses numerous genes, the products of which synergize to synthesize and secrete toxins that can cause acute gastroenteritis. To understand the regulation of such adaptive response, mRNA transcripts must be mapped accurately. However, due to the limitations of common sequencing methods, not all features of bacterial transcriptomes are always reported. In this study we aim to map the full features of the transcriptome of <i>Vibrio parahaemolyticus</i> to enhance our understanding of gene regulation in this bacterium and provide a dataset for future work. Additionally, we aimed to reveals a deeper view of a complicated transcriptome landscape, demonstrating the importance of applying such methods to other bacterial models.</p> <p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p><i>Vibrio parahaemolyticus</i> was grown in LB medium with and without bile salts (0.4%). RNA was isolated and polyadenylated to be sequenced using Direct RNA sequencing kit. A total of 4,103 TSSs were identified. In comparison to short-read sequencing, full-length information provided a deeper view of TSS classification, showing that most internal and antisense TSSs were actually a result of gene overlap. Several non-coding genes were discovered. Sequencing the transcriptome of <i>V. parahaemolyticus</i> grown with bile allowed us to study the landscape of pathogenicity island Vp-PAI. Some genes in this region were reannotated, providing more accurate annotation to increase precision in their characterization. Quantitative detection of operons in <i>V. parahaemolyticus</i> showed high complexity in some operons, shedding light on a greater extent of regulation within the same operon. Our study using direct RNA sequencing provides a quantitative and high-resolution landscape of the <i>V. parahaemolyticus</i> transcriptome.</p> <p>〔総 括(Conclusion)〕</p> <p>Mapping the full features of the transcriptome of <i>V. parahaemolyticus</i> provided rich information and led to more accurate annotation. It also unraveled the complexity of some operons. Our results support the application of long-read sequencing for analyzing and annotating other bacterial models.</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) Mohamad Al kadi

	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査 教授	飯田 哲也	飯田 哲也
	副 査 教授	小林 剛	小林 剛
	副 査 教授	岩永 史朗	岩永 史朗

論文審査の結果の要旨

細菌ゲノムアノテーションにおいて遺伝子に関する情報は日々整備されているが、実際には転写されるべき非翻訳領域、smallノンコーディングRNAやオペロンに関する情報は曖昧なままであった。この10年間で、細菌におけるトランスクリプトーム研究はショートリード・RNAシーケンス (RNA-seq) 法により進歩を遂げたが、細菌ゲノムの遺伝子は非常にコンパクトなため、従来のRNA-seq法で生成されるショートリードでは、断片化や全長情報の喪失により、直接に検出することができなかった。そこで申請者はDirect RNA sequencing法と呼ばれる損失や偏りのないネイティブRNAを直接に配列解析可能な技術を用いて腸炎ビブリオ転写産物における転写開始点 (TSS)、転写終結点、オペロンマップなど、アノテーションの再定義を行った。その結果、ショートリードと比較して、全長のRNA配列を取得することで合計4,103個のTSSが同定された。TSS分類をより深く理解することが可能となり、遺伝子内およびアンチセンスTSSのほとんどが実際には遺伝子の重複の結果であることが検出できた。さらに胆汁添加後に増殖した腸炎ビブリオトランスクリプトームを行うことにより、胆汁依存的な病原性遺伝子座 (Vp-PAI領域) を新たにアノテーションすることに成功した。オペロン構造においても定量的に一部のオペロンに高い複雑性が認められ、同じオペロン内でより広範囲に制御されていることが明らかになった。

申請者は腸炎ビブリオを用いてRNAダイレクトシーケンシングを行うことでトランスクリプトームの定量的かつ高解像度なランドスケープを明らかにし、いくつかの遺伝子の再定義やより正確なアノテーションを行うことに成功した。その成果は国際誌(mSystems)に論文が受理されてることから、申請者は博士学位を授与されるに値すると考える。