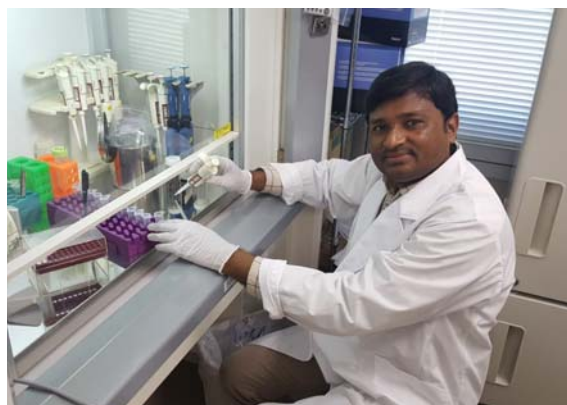


受入大学名	東京大学		
Host University	The University of Tokyo		
外国人研究者	エムディ ヌルール ハイダー		
Foreign Researcher	MD NURUL HAIDER		
受入研究者	濱崎 恒二	職名	教授
Research Advisor	KOJI HAMASAKI	Positiior	Professor
受入学部/研究科	大気海洋研究所 海洋生態系動態部門 微生物分野		
Faculty/Department	Atmosphere and Ocean Research Institute Department of Marine Ecosystem Dynamics Marine Microbiology		

<外国人研究者プロフィール/Profile>

国籍	バングラデシュ
Nationality	Bangladesh
所属機関	バングラデシュ農科大学
Affiliation	Bangladesh Agricultural University
現在の職名	教授
Position	Professor
研究期間	2020年12月17日 ~ 2021年03月16日 (90日間)
Period of Stay	90 days (Dec 17, 2020 - March 16, 2021)
専攻分野	水圏微生物学
Major Field	Aquatic Microbiology



In the laboratory, extracting microbial DNA for sequencing by Illumina MiSeq Sequencer

<外国人研究者からの報告/Foreign Researcher Report>

①研究課題 / Theme of Research

The purpose of this study was to verify the dynamics of bacterial communities associating with water used during live transportation of fish using the high-throughput sequencing approach. Microbes associating with the fish, the so-called fish microbiome, are the primary sources of microbes in transporting water, even if groundwater is used. Further increase in microbial number is due to their regrowth by utilization excretory organic matters. However, this microbiome in water is believed to have deteriorative actions on fish. Rapid progress in sequencing techniques enables us a comprehensive study of microbiomes associated with fish and surrounding water, which is important to understand microbial activities and dynamics as well as fish biology and ecology.

②研究概要 / Outline of Research

To evaluate the dynamics of bacterial communities associating with water used during live transportation of fish, subsamples of water were collected during live transportation of two selected fishes, Pangasius catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*), and Climbing perch (*Anabas testudineus*) in different supply channels of Bangladesh. Subsamples were collected at 2 hours intervals and filtered through sterivex-GP pressure filter units (0.22 μm pore size). From the filters, DNA was extracted by using MagAttract PowerWater DNA/RNA kit (QIAGEN) and amplified targeting V4-V5 region of 16S rDNA using 515FB (forward) and 926R (reverse) primers set. The amplicons were then sequenced by using Illumina, MiSeq Sequencer (AORI, The University of Tokyo, Kashiwa, Chiba).

③研究成果 / Results of Research

From 6 supply channels, 28 subsamples were collected and sequenced. The sequence data is primarily analyzed using QIIME 2-2020.2 (<https://qiime2.org/>). After filtering, a minimum of 198,246 and a maximum of 328,372 sequences were obtained for different samples. The primary assessment showed community structural variations between the fish species, and between the time intervals. For example, samples from *Pangasius catfish* generally contained more γ-proteobacteria (Proteobacteria) and Firmicutes, and less Flavobacteriia (Bacteroidetes) compared to those of Climbing perch. It is also found that the relative abundance of the Flavobacteriia decreased and γ-proteobacteria increased for both the species with time. Further analyses are going on.

④今後の計画 / Further Research Plan

After completion of the analyses, minimum of two articles will be written for publication. During this program, I have attended discussion meetings with Dr. Yoshitaka Sakakura, a specialist in fish ecology and physiology, Faculty of Fisheries, Nagasaki University, and Dr. Hideto Takami, a specialist in microbial genomics (recently released GENOMAPLE system, a metagenome analysis pipeline). These discussions created some scopes and inspired me to work more on microbiomes of fish and their aquatic environments; and clarification of their roles, activities, and dynamics using metagenomic approaches. We are also hopeful to do some collaborative research works in the future.

< 受入研究者からの報告/Research Advisor Report >

①研究課題 / Theme of Research

この研究では、ハイスループットシーケンシングを利用し、活魚の輸送中に使用される水に混入している細菌群集の動態を明らかにすることを目的とした。輸送水には地下水が使用されているため、これらの細菌の主要な供給源は、魚に共生もしくは付着している微生物叢になる。これらの微生物は、魚から排泄される有機物を利用して輸送中に再増殖し、場合によっては魚に悪影響を与えらる。最新のシーケンシング技術を利用することにより、活魚の輸送に関連する微生物群集の全体像を把握することが可能になり、こうした情報は、微生物の活動やダイナミクスが、魚類の生理や生態に及ぼす影響を理解する上で重要と考えられる。

②研究指導概要 / Outline of Research

活魚の輸送中に使用される水に混入している細菌群集の動態を評価するために、バングラデシュの異なる2つの供給ルートで輸送されている魚、Pangasius catfish (Pangasianodon hypophthalmus) と Climbing perch (Anabas testudineus) の輸送水からサブサンプルを2時間間隔で採取したものを当研究室で分析した。採取した海水のフィルターサンプルから、MagAttract PowerWater DNA / RNAキット (QIAGEN) を使用してDNAを抽出し、515FB-926Rプライマーセットを使用して16SrDNAのV4-V5領域をターゲットに増幅した。次に、イルミナ、MiSeq Sequencerを使用してPCRアンプリコンのシーケンスを行った。

③研究指導成果 / Results of Research

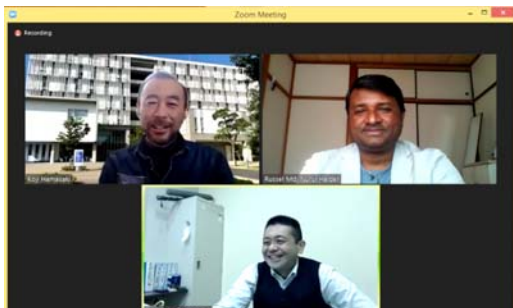
6つの供給ルートから、28のサブサンプルのシーケンスをこ行った。シーケンスデータは、主にQIIME 2-2020.2 (<https://qiime2.org/>) を使用して分析した。フィルタリング後、さまざまなサンプルで最小198,246シーケンスと最大328,372シーケンスが取得された。一次評価では、魚種間および時間間隔間のコミュニティ構造の違いが示された。たとえば、バガシウスナマズのサンプルには、一般に、クライミングパーチのサンプルと比較して、 γ -プロテオバクテリア (プロテオバクテリア) とフィルミクテスが多く含まれ、フラボバクテリア (バクテロイデス門) は少なくなっていた。また、フラボバクテリアの相対的な存在量が減少し、 γ -プロテオバクテリアが両方の種で時間とともに増加したこともわかった。指導の結果、これら一連の解析ができるようになった。

④留学生交流事業の活動状況 / Activities of International Student Exchange Program

研究室内で毎週行うセミナーに参加して、学生や博士研究員と様々なテーマについて議論した。また、長崎大学水産学部の魚類生態学の専門家である阪倉良孝博士を訪問する予定だったが、コロナ感染症対策のためオンラインで議論を行った。今後の魚類微生物叢研究の展望について有益な助言を得ることができた。さらに、微生物ゲノミクスの専門家である高見英人博士 (東京大学) とは対面での議論を行い、彼がリリースしたメタゲノム解析ツールGENOMAPLEシステムについて学ぶと共に、魚類微生物叢研究へのメタゲノムアプローチについて有益な助言を得ることができた。将来的には共同研究に発展することを期待したい。

⑤今後の計画 / Further Research Plan

今回の分析結果を用いて少なくとも2つの論文を作成したい。また、今回の研究成果をベースとして、JSPSの外国人特別研究員プログラムに応募する。



Discussion meetings with Prof. Koji Hamasaki and Dr. Yoshitaka Sakakura on ZOOM



Introducing GENOMAPLE system by Dr. Hideto Takami and discussion on it's possible use in microbiomes of fisheries and aquaculture