

目に見えない細菌を見分ける

京井 大輔

細菌（本稿では真正細菌を指す）の大きさは、基本的には数 μm 程度であり、ヒトの眼では見つけることができず、ましてや見分けることも不可能である。細菌にもさまざまな種類が存在することは、van Leeuwenhoek (1632–1723) が、初めてそれを発見した時にはすでに知られており、以降、多くの細菌学者が、この目に見えない生物を見分けることに挑戦してきた。そして、細菌の識別は、形態的特徴および生理的機能に基づいたものから始まり、DNAが遺伝物質であることが発見されてからは遺伝的な特徴に基づいた識別が進められてきた。本稿では、この遺伝的特徴に基づく細菌の識別について、「これまで」と「これから」を紹介したいと思う。

これまでの細菌の識別を考えるうえで、16SリボソームRNA (16S rRNA) 遺伝子のDNA配列を利用した分類を避けることはできない。本遺伝子は、すべての細菌のゲノム上に存在し、かつ、そのDNA配列に多様性がある。この特徴は、細菌を分類するうえで都合が良く、現在、細菌の種を特定するもっとも一般的な手法の一つとなっている。Woese (1928–2012) らが始めた16S rRNA 遺伝子のカタログは、データベース化され、代表的な配列のみを集めたデータベースにおいても約19,000種類ものDNA配列が登録されている (NCBI; RefSeq, 2017年6月現在)¹⁾。しかしながら、しばしば16S rRNA 遺伝子のDNA配列と生理的機能が一致しない場合があり、たとえば、形態学的・生理学的に分類された2種が16S rRNA解析では識別することができないということが起きる。そこで、このような2種や同種の別個体（細菌では“株”という単位を用いる）を識別するには別の手法が必要となる。

細菌をより精密に識別する手法として、DNAを制限酵素で切断し、その切断パターンを解析する方法 (DNAフィンガープリンティング) やDNAの相補鎖の形成を利用する方法 (DNAマイクロアレイなど) など、多様なアプローチが開発されてきた。中でも、DNA配列を読み取って解析するDNAシーケンシングは、①他の解析手法の根源となるDNA配列を直接に解析対象とするために、手法間での整合性が得やすいこと、②たった4種類の文字 (DNAの塩基の種類) の配列で表すことができ、データの比較が容易である、といった利点がある。16S rRNA解析に基づいた分類も、広義のDNAシーケ

ンシングによる識別と言えるが、詳細な株レベルの識別が困難であることは、前述した通りである。そこで、ゲノム上の複数の領域のDNA配列を解析し、精度を向上させることが試みられた。multi locus sequence typing (MLST法) を代表とする、これらの手法は、種のみならず株レベルでの細菌の識別を可能とし、医学や衛生学などの分野で、特に高病原性株を同定するための有効なツールとなった。現在、主要な細菌に関しては、各細菌種に対応したデータベースが公開されており、自身が分離した株と他の研究者の株を比較することも可能である²⁾。

次に、これからの細菌の識別を考えてみよう。16S rRNA解析からMLST法への識別精度の上昇は、ゲノム上の解析対象領域を増やせば、より詳細に識別できるということを示唆している。近年、急速に普及が進んでいる次世代シーケンサーは、細菌のゲノム全体のDNA配列を解析することを容易とした。すでに、いくつかの種においてはMLST法の全ゲノム版とも言える解析がなされ、系統学的な解析や疫学調査に関する論文が公表されている³⁾。

この新たなアプローチは、一方で、ある課題を提示している。その一つがゲノム上の挿入・欠失領域の扱いについてである。16S rRNA解析およびMLST法などのDNAシーケンシングに依存する解析において、解析対象となる領域は、株間で共有しているゲノム上の領域である。つまり、これらの解析は、ある程度の相同性がありながらも多様性の生じる領域が解析対象となっており、まったく相同性がない領域に関しては、考慮されていない。厄介なことに多くの細菌が頻繁に遺伝子の水平伝播を起こしており、真の意味で全ゲノムレベルでの菌株識別を行ううえでは、ゲノム上の挿入・欠失領域を含めて包括的に考えなければならない。現状では、この課題の解決には未だ至っていないが、近い将来には理想的な理論が完成されるだろう。そして、それは、この目に見えない小さな生物を見分けることの一つの到達点になると予想される。

- 1) NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq/> (2017/06/06)
- 2) Jolley, K. A. *et al.*: *BMC Bioinformatics*, **11**, 595 (2010).
- 3) Cao, G. *et al.*: *PLoS ONE*, **8**, 2 (2013).