

## メタゲノム分別

河合 幹彦

我々は何かの氏素性を調べるとき、それを取り出して調べる。ゲノムを調べたい場合、「十分多量のゲノムDNA分子を」分け取ること、という制約が加わる(ある程度の量のゲノムDNAが必要なため)。

「(十分多量に)分け取る」ステップをどう達成するかという視点でこの問題を捉えると、通常の分離培養とは「生物自身に分かれてもらい、かつ、増えてもらう(ように培養環境を整える)」こと、といえる。これに対して、本稿で紹介するメタゲノム分別 (metagenome binning) というバイオインフォマティクスの手法は、「混合系そのままゲノム塩基配列を取得 (=メタゲノム) し、ゲノム塩基配列断片の混合物の段階で情報学的に仕分けよう (=分別)」という戦略である。この手法により、混合系に存在する個々の微生物分類群の生理生態を、分離培養を経ることなく探ることができる。

メタゲノム分別法ではまず、(1) ショートリード塩基配列決定装置でメタゲノム塩基配列を取得し、(2) 個別ゲノムの場合と同様に短い塩基配列 (リード) を長い塩基配列 (コンティグ) にするアセンブルを行う。次に、(3) コンティグごとのオリゴ塩基頻度 [ゲノム中における数塩基長の各塩基配列 (5塩基長なら最大  $4^5 = 1024$  通り) の出現頻度] とカバレッジの値 (各塩基が平均何回読まれたかを示す値; 試料中の細菌分類群の相対存在頻度が反映される) を使って系統群ごとのゲノム断片集合「分別ゲノム」(bin) に仕分ける (図1)。この手法を使うことで、分類群ごとの大まかな素性 (遺伝子構成) を得ることができる。また本手法は既知の参照ゲノムを必要とせず、(塩基配列決定量にもよるが) 存在比率が1%程度の希少分類群のゲノムも再構成することができる<sup>1)</sup>。

メタゲノム分別には以下に示す異なる3分野の知見が統合されている。

1. ゲノムには「方言」とも例えられる「くせ」があり、オリゴ塩基頻度はある生物のゲノムではどの場所でもだいたい似通っている (ゲノム科学の知見)。
2. 環境中の細菌叢を構成する分類群の頻度は、分類群の間で大きく異なることが多く、さらに環境が変わ

ればそれらの相対頻度も変わる (微生物生態学の知見)。

3. 現在の塩基配列決定装置 (シーケンサー) の定量性は高く、インプットのDNA量をよく反映した塩基配列を生成する (シーケンサーの技術革新)。

上記知見1がオリゴ塩基頻度を、2および3がカバレッジ情報を、それぞれメタゲノム分別に利用できる根拠である。特に、カバレッジ情報の導入により分別精度が大きく向上し、これにより、メタゲノム分別法が広く普及することとなった。さらに、「条件を変えた試料」から得られたカバレッジ情報を複数使うと、より精度よい分別ができることが示されている<sup>1)</sup>。たとえば、同一サンプルに由来する異なる手法で抽出されたゲノムDNAを用いるだけでも分別精度が向上する。これは、細菌群によって抽出効率が変わり、抽出サンプル中における特定分類群のゲノムDNAの相対頻度が変わるためである。

環境試料に本手法を適用した研究では、海洋表層水試料から未培養の真正細菌や古細菌のゲノムが分別され、2種の未培養古細菌から光エネルギーを利用する新規ロドプシタンパク質が見いだされた<sup>2)</sup>。分離培養に至らない集積培養に対して本手法を適用した例に、硝化反応の2段階の反応 (アンモニア酸化・亜硝酸酸化) を両方行える生物の存在を証明した報告がある<sup>3,4)</sup>。再構築された分別ゲノムに両反応の鍵遺伝子が見つかり、それら遺伝子にコードされた酵素タンパク質の活性、発現と局在が確かめられた。

このように、自然環境試料にとどまらず、分離培養に至らない集積培養に対して本手法を適用し、得られた知見をフィードバックして実験を進めるというアプローチは、今後実験研究の選択肢の一つにあげられるようになるだろう。情報処理に不可欠な解析サーバへの投資を除けば、数十万~百万円程度の分析費用で得られる塩基配列量で、前述のとおり、存在比率で1%程度の分類群に迫ることが可能になる。培養条件に縛られずに比較できるので、未培養菌を培養できるようにする培養条件は? 非増殖細菌の増殖不能状態を解除して増殖させるには? といった疑問に対しても、ゲノム情報を基に条件を絞り込むことが可能になる。微生物を用いた環境操作技術への応用が見込まれよう。

- 1) Albertsen, M. *et al.*: *Nat. Biotechnol.*, **31**, 533 (2013).
- 2) Iverson, V. *et al.*: *Science*, **335**, 587 (2012).
- 3) van Kessel, M. A. *et al.*: *Nature*, **528**, 555 (2015).
- 4) Daims, H. *et al.*: *Nature*, **528**, 504 (2015).

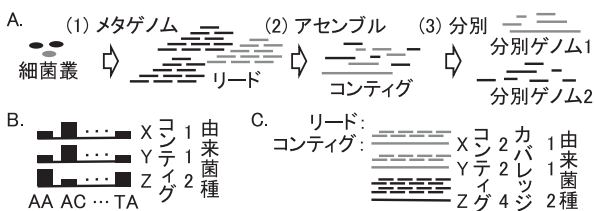


図1. A. メタゲノム分別, B. オリゴ塩基頻度, C. カバレッジ