

28-A-04

普遍的種同定技術 GP (ゲノムプロファイリング) 法の
微生物生態学への応用可能性の検討

埼玉大・工 生体高分子工学講座

○幸塚麻里子 (こうづかまりこ), 西垣功一 (にしがきこういち)

目的

遺伝子型による種の同定は微生物などの表現型の乏しい生物にはとりわけ有効である。微生物生態系を調べるには多くの個体を扱う必要もある。従って、ゲノムを用い簡便に種を区別する GP (ゲノムプロファイリング) 法は微生物生態学の有力なツールとなりうる。このことを実験的に確かめる。

方法

微生物混合系の最もシンプルな例として大腸菌とファージ *fd* を様々な比率で混合したものを用意し、用いるプローブを種々変え GP することで検出される生物種を調べた。また、将来的に必要な一細胞ランダム PCR の可能性を探った。ゲノムプロファイリング (GP) 法はゲノム DNA に対してランダム PCR (アニーリング温度を低くすることにより、プライマーとテンプレートの間で形成された不安定なハイブリッド構造からのプライミング反応を許す PCR) することによって得られた DNA 断片群を温度勾配ゲル電気泳動 (TGGE) によって解析するものであり、得られたプロファイルから特徴点情報を抽出し、それらを生物間で比較し種を区別する。特徴点の抽出以降の処理は我々の研究室が開設しているインターネット上のデータベース 'On-web GP (<http://gp.fms.saitama-u.ac.jp/>)' にアクセスしてガイドに従って行う。

結果

生物種混合系に対して pfM12, pfM19 などのプライマー種類を変えることによって優先増幅するゲノム種 (*E. coli*/*fd*) を変えることが可能であった。一細胞ランダム PCR についてはまだ実現していないが、~5細胞を相手とするランダム PCR には成功した。

考察

GP 法により混合系を解析する最初の試みであったが予測どおりプライマーの変更により、混合系であっても増幅するゲノムを変え、結果的に混合状態のまま解析する事ができることが示され、微生物生態学への GP 法を応用する可能性が拓けた。一方で、可能となった少数細胞ランダム PCR と組み合わせることで複合した微生物生態学系の構成微生物種の全容を解明できるようになると考えられる。

西垣功一, 幸塚麻里子, 二上雅恵 “ゲノムプロファイリング” BIO INDUSTRY 20(8):52-64 (2003)

幸塚麻里子 (kouduka@evolve.fms.saitama-u.ac.jp), 西垣功一 (koichi@fms.saitama-u.ac.jp)