

ここまで来た 次世代シーケンス解析技術 —現状と課題—

ポピュレーションダイナミクス研究委員会

本研究委員会は、生物学的排水処理プロセスや水環境中の微生物群集構造やその機能の解析を主な目的に活動を行っている。1990年代後半から、微生物群集構造解析技術である分子生物学的手法が急速に発達してきた。本研究会でも、過去に幾度かこれら解析技術の進展を中心としたシンポジウムを開催してきた。本年度は、最近、とくに技術革新のめざましい塩基配列（シーケンス）解析技術に焦点をあてた研究成果発表会を開催した。本年度の研究発表会のタイトルとなっている「次世代シーケンス解析技術」とは、従来のサンガーシーケンシング技術の後継技術であり、その解析能力は比較にならないほど優れており（配列決定量は1から50 Gbp）、塩基配列決定コストも格段に安くなった。発表会では、この次世代シーケンス解析技術をいち早く研究に取り入れている5名の先生にご講演いただいた。

まず、佐藤弘泰氏（東京大院）からは、次世代シーケンスから得られる膨大な塩基配列データの解析支援ツールの開発とそれをを用いた活性汚泥細菌群集構造解析に関してご講演いただいた。佐藤氏の開発された解析支援ツールの名前が“OTUMAMi”であり、ひらがな表記になおすと“おつまみ”となり、佐藤氏の命名センスの良さが聴衆の関心を釘づけにした。次世代シーケンス技術の導入により、データ解析が研究の大きな障壁になっており、いかに膨大な量のデータを抽出し、選別し、可視化するかが重要であり、その解決策の1つとして比較的操作が容易な“OTUMAMi”を提案している。このツールを用いた解析例として、活性汚泥中のリン蓄積細菌 *Candidatus Accumulibacter phosphatis* に類縁する菌のポピュレーションダイナミクスを、膨大なデータの中から抽出し樹形図にまとめて示した。活性汚泥の運転状況と詳細な微生物群集の構造変化とを関連付け、活性汚泥法のさらなる発展につながる研究である。

次に、押木 守氏（北海道大院）からは、グローバルな窒素循環に重要な役割を果たすが、その生理・生態学的機能が未だ十分に解明されていない嫌気性アンモニア酸化（アナットモクス）細菌のメタゲノム解析結果に関してご講演いただいた。アナットモクス細菌は未だ単離されておらず、押木氏もアナットモクス細菌（*Candidatus Brocadia sinica*）が90%以上を占めるバイオマスから核酸抽出を行い、次世代シーケンス、そしてゲノムの再構築を行い、*Ca. B. sinica*の全ゲノム配列（約4.0Mb）を決定した。ゲノムの完成度は98.2%であり、正確性はサンガーシーケンス法と比較した結果99.991%であると報告している。さらに、このゲノム情報を基に、アナットモクス反応経路の特定を試み、新規な亜硝酸還元経路を特定している。ゲノム解析が切り拓く未踏の研究であり、今後の研究の進展が大いに期待される。

次のご講演は、玉木秀幸氏（産総研）による廃水処理プロセス内の未知ウイルスに関するものであった。ウイ

ルスは地球上で最も数多く存在する生物学的物体であるが、廃水プロセス内に存在するウイルスの多様性とその機能に関する情報は極めて限られている。研究は、標準活性汚泥や嫌気性消化汚泥などからウイルス粒子の回収・精製、その後、全ゲノムDNAを抽出し、次世代シーケンサーを用いてウイルス由来のメタゲノム配列を取得した。さらに、海洋や湖沼などから得られたウイルスメタゲノム情報と比較解析し、廃水処理プロセス内に存在するウイルスは他の環境ウイルスとは異なること、さらに系統学のおよび機能的にも未知ウイルスであることが示された。廃水処理プロセスから排出されるウイルスの環境中における動態や人への感染リスクなど、新たな興味深い研究領域が開拓される可能性を大いに感じさせられる講演であった。

次は、須田 互氏（東京大院）による次世代シーケンサーを応用したクルマエビ養殖池の細菌群集構造解析に関するご講演であった。養殖場における多くの魚病は微生物によって引き起こされており、細菌群集構造やその動態は病害防除の観点から重要である。須田氏は、養殖場における細菌群集構造の変化を網羅的かつ定量的に評価するパイプラインを確立し、経時的に採取した多くのサンプルを解析することにより、ビブリオ病によるエビの死亡率と相関の高い複数の細菌群を同定している。これら細菌群を養殖場の健全度を示すマーカーとし、病害発生未然防止など養殖場の適切な維持管理に利用できる可能性があり、今後の研究の進展が大いに期待される。

最後に、中村昇太氏（大阪大）による次世代シーケンサーを用いたメタゲノミクスによる病原微生物の探索に関するご講演をいただいた。本研究の目的は、環境中の未知の微生物探索に用いられてきたメタゲノミクスを、臨床検体中の病原性微生物探索に応用し、未知、既知を問わず病原体の迅速な検出法を確立することである。網羅的なメタゲノミクスを用いることにより、インフルエンザウイルスの例では、H3N2とH1N1のタイピングが可能であり、かつ共感染していたと思われるポリオーマウイルスとコロナウイルスの検出も可能であることが示された。次世代シーケンサーの塩基配列決定能力が飛躍的に向上し、操作も簡便になりランニングコストも下がり、メタゲノミック診断が本格的に実用化される日も近く、今後の研究の発展が大いに期待されるご講演であった。

上記5件の招待講演から多くのこと学ぶことができ、大変満足のいくシンポジウムであった。すべてのご講演は、次世代シーケンサーを駆使し得られた膨大な配列データから必要な情報を迅速にかつ的確に抽出・整理することの重要性を示唆している。今後は、得られた情報をいかに活用し、新たな知見の創出や技術開発さらには研究領域の開拓につなげるかが今後の課題であると思われる。

（北海道大学 岡部 聡）