

16S rRNA 遺伝子を標的とした口腔内細菌叢における微量細菌群の解析

○神谷 保吉<sup>1</sup>, 藤高 由貴<sup>1</sup>, 富田 純子<sup>1</sup>, 森田 雄二<sup>1</sup>, 河村 好章<sup>1</sup>(<sup>1</sup>愛知学院大  
院薬・微生物)

【目的】人の口腔内には 700 種以上の細菌が存在するとされ、微生物群集解析には 16S rRNA 遺伝子の多様性に基づいた様々な手法が用いられている。従来の 16S rRNA 遺伝子増幅の手法では、多量に存在する主要菌種が優位的な増幅をする為、未知の菌種を含む微量に存在する菌種の増幅が阻害されている可能性がある。そこで、PCR 法において口腔内における優勢菌種の反応を抑制し、微量菌群の反応を促進させ、口腔内細菌叢の未検出な構成菌種を検出する手法について検討した。

【方法】健康人の唾液サンプルから菌体を回収後、物理破碎によって DNA を抽出した。その 16S rRNA 遺伝子を PCR 法により増幅し、主要菌種の DNA を deduction 処理により除いた。処理前後のサンプルを DGGE 法とメタゲノム解析によって解析し、検出菌種の変化を評価した。

【結果】Deduction 処理前後のサンプルにおいて、DGGE 法により処理前には見られなかったバンドが処理後では検出されるなどのバンドパターンの変化が確認された。また、メタゲノム解析では、リード数上位 10 菌種の検出頻度の減少が見られ、処理前には見られなかった *Bradyrhizobium japonicum* や *Helicobacter cnaedi* などの菌種のシークエンスが確認された。シークエンスの相同性が 97%以下のものも各サンプルについて 5%程度見られ、それらについて解析を行った結果 *Prophyromonas* 属や *Veillonella* 属の新菌種と思われるものを回収することができた。

【考察】本手法を用いることによって、優勢菌種の検出頻度が減少し、さらに微量菌種の増加が見られたため、従来の手法では検出が困難であった微量細菌種が検出できると考えられた。また、微量細菌種の中には未知の菌種も含まれている可能性があり、それらについても回収・同定ができるのではないかと考えられる。