

1S1-PM3 *Lactobacillus casei* シロタ株と *Bifidobacterium breve* ヤクルト株のゲノム解析

○佐藤 隆, 白沢 幸生, 木脇 真祐美, 佐藤 澄江
(ヤクルト中研)

Lactobacillus casei シロタ株と *Bifidobacterium breve* ヤクルト株のゲノム解析を行った。ゲノムサイズは *Lactobacillus casei* シロタ株が 3.1Mb、*Bifidobacterium breve* ヤクルト株が 2.4Mb と推定されているので、whole genome shotgun 法で前者は約 60000 本 (冗長度 9)、後者は 35000 本 (冗長度 7) のシーケンシングを行った。得られた塩基配列データのアセンブリは Phred/Phrap, GenomeGambler を用いて行われ、*Lactobacillus casei* シロタ株で 120 の contig と *Bifidobacterium breve* ヤクルト株で 160 の contig を得た。contig 間の空白域および contig 内の不確実領域の塩基配列は、PCR、連結クローンにより決定したが、両菌の GC 含量の違い、挿入配列の多寡の違いを反映して、問題点は異なるものとなった。また、最終的に挿入配列やリボソーム RNA、プロテアーゼなどの反復配列は改めてシーケンシングを行うことにより、*Lactobacillus casei* シロタ株では 3,035,753 塩基対、*Bifidobacterium breve* ヤクルト株で 2,354,268 塩基対の塩基配列を確定した。遺伝子数は前者で 2760、後者で 1964 と推定され、輸送、エネルギー代謝に分類される遺伝子が多い。これら遺伝子のグループ分けでは両菌にあまり違いは見られないが、例えば、輸送関係の遺伝子の内訳を見ると両菌の違いが歴然とする。塩基配列から、DNA 複製の起点、tRNA、挿入配列等が明らかとなり、これらの点から両菌の特徴について概観する。

Genome analyses of *Lactobacillus casei* strain Shirota and *Bifidobacterium breve* strain Yakult

○ Takashi Sato, Yukio Shirasawa, Mayumi Kiwaki, Sumie Sato
(Yakult Cntrl. Inst.)

Key words genome analysis, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium breve*, sequencing, contig, annotation

1S1-PM4 *Bifidobacterium adolescentis* のゲノム解析

○鈴木 徹, 永野 さおり, 井上 貴道, 平井 さやか,
田中 香お里, 渡邊 邦友
(岐阜大・生命科学実験七)

ビフィズス菌は、ヒトの大腸において善玉菌と働いていることは良く知られている。ヒト以外の様々な動物の腸管からも見いだされること、数十種類の菌株があり成長加齢に伴い菌叢が変化し大腸菌等の悪玉菌におされ、絶対数も徐々に低下していく。これを補うため、最近では、本菌を食事と共に積極的に取り込むプロバイオティクスが提唱されヨーグルト等に添加されるようになってきた。しかし、その効用には個人差があり、ビフィズス菌の添加効果がほとんど体感できない場合や顕著な整腸作用が体感できる場合などがあり、ホストの腸管壁の個体差を識別する特異的相互作用が想定される。

このようにヒトの健康に重要な役割を持つと考えられるビフィズス菌についてゲノム配列情報が解明されれば、様々な食品や医薬品開発のためのシーズとなることが期待される。しかしながら現在までに様々な有用菌株についてゲノム配列の決定が行われてきているにもかかわらず、全ゲノム配列が完了または進行しているビフィズス菌株は *B. longum* NCC2705 の一菌株と、*B. breve* 3 株だけである。これらは全て、*infantis* サブグループに属している。ビフィズス菌属をゲノム生物学的に深く理解するためには、これら菌種の情報だけでは不十分でないと考えられる。我々は、こういった視点から他のサブグループに属すビフィズス菌についても広範囲なゲノム情報を取得することを目指し研究を行っている。その手始めに、*catenulatum* サブグループに属する *B. adolescentis* ATCC15703 株について、ショットガンライブラリを作成し、全ゲノムの塩基配列の決定を試みた。

Lysozyme/CTAB 法で調整したゲノム DNA を、ハイドロシヤーにより平均長 2kb に剪断、末端平滑化、リン酸化した。ショットガンベクター (pUCRV, 理研林崎ら) を *EcoRV* 切断、脱リン酸化し、ゲノム断片を T4DNA リガーゼで連結させ、*E. coli* DH-10B を形質転換した。得られたコロニーからプラスミド抽出は行わず、コロニーダイレクト PCR、PEG 沈による鑄型の精製、ABI BigDye v.3.1 を用いたシーケンス反応を行い、ABI3100 キャピラリーシーケンサで配列を取得している。コロニーピッキングからシーケンサまでの一連の操作を、全て 384well プレート 1 枚で行うよう実験系を最適化した。現在までに約 3 ヶクローンの塩基配列を解析し、予想ゲノム長の約 5 倍のデータを取得した。現在、Phred/Phrap を用いてアセンブルした後、GenomeGambler1.5.1 を用いて、アノテーション作業とフィニッシングを行っている。

現在までに、得られたデータから、*B. adolescentis* は、ゲノム上の広い範囲で *B. longum* と 70% 以上の同一性を示したが、全く同一性を示さない領域が島状に存在していた。こういった、遺伝子群がどのような役割を担っているかは、大変興味深い。

現在、数種のビフィズス菌について、ゲノム解析と共にプロテオームの解析を行っているが、これについても合わせて紹介する。我々は、現在これらのポストゲノム的手法を駆使し、ホスト (ヒト) 腸管と、ビフィズス菌の相互作用を総合的に評価し、ビフィズス菌を中心にオーダーメイド (テーラーメイド)・プロバイオティクスといった概念が作れないかを模索している。

Genomics of *Bifidobacterium*

○ Tohru Suzuki, Saori Nagano, Takamichi Inoue, Sayaka Hirai, Kaori Tanaka, Kunitomo Watanabe
(Life Science Research Center, Gifu Univ.)

Key words Genome, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve*, Proteome, tailor-made probiotics