

微生物から取得した塩基配列の相同性検索

1. はじめに

分離取得した有用微生物は安全性担保のために種を明確にすることが求められます。例えば、酵母の場合は *Saccharomyces cerevisiae*、乳酸菌の場合は *Tetragenococcus halophilus* であれば、食品を分離源とし、食経験のあるものと種が一致していることにより、製造者にも消費者にも安心感をもたらします。また、微生物による変敗が生じた際にも種が分かると、既報の調査により再発防止対策を取りやすい等役立ちます。過去のニュース¹⁾のとおり、DNA解析を用いた微生物の同定試験は、①微生物試料からのDNA抽出、②rDNAによるPCR増幅、③DNAシーケンスによる塩基配列データの取得、④データベースでの相同性検索による種の特定、から成ります。④について、前回報告から年数が経ちデータベースの状況が異なっていますので、本稿では、取得した塩基配列の相同性検索およびデータベースの現状について解説します。

2. 取得した塩基配列の相同性検索方法

相同性検索プログラム BLAST(Basic Local Alignment Search Tool)には複数種類の検索方法がありますが、取得した塩基配列をDNAデータベースと比較する場合には blastn を選択します。取得した塩基配列(ATGCの並び)をクエリ配列(Query Sequence)の欄に入力し blastn で実行することで、データベースに登録された塩基配列との相同性(Identities)が閲覧できます。相同性が高いものが得られれば、入力した塩基配列を有する試料がその学名の微生物であると推定できます。図1は、得られた塩基配列を検索した結果の一部ですが、相同性が508/509(99%)とあり、509塩基の入力した塩基配列の内508塩基がデータベ

Tetragenococcus halophilus NBRC 12172 DNA, complete genome
Sequence ID: [AP012046.1](#) Length: 2562720 Number of Matches: 5

Range 1: 2213586 to 2214094 [GenBank](#) [Graphics](#) [Next Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
914 bits(1013)	0.0	508/509(99%)	0/509(0%)	Plus/Minus
Query 1		GTTTGATCCTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGCGCTGCCTAATACATGCAAGTCGAACGCT	60	
Sbjct 2214094		GTTTGATCCTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGCGCTGCCTAATACATGCAAGTCGAACGCT	2214035	

図1 相同性検索結果(一部)

ースに登録されている *T.halophilus* の塩基配列と一致したことを示しています。配列の上側がクエリ配列として入力した配列、配列の下側がデータベースに登録されている配列で、上下の配列間で一致しているところにバーが表示されます。

3. 塩基配列データベースの現状

NCBI(National Center for Biotechnology Information、米国立バイオテクノロジー情報センター)は塩基配列検索に最もよく使用されているデータベースです。登録データ数が世界最大であるため、相同性の高いものが得られやすいですが、種名を明らかにした登録配列との一致が90%未満であった事例があり、他のデータベースの使用を検討しました。

日本の生命情報・DDBJセンター(BI-DDBJ)は、2021年からBLASTのサービスは一旦休止となっていますが、国際塩基配列データベース連携(INSDC)の一員であるため、DDBJに登録されたデータは、公開時にNCBIとEBI(European Bioinformatics Institute、欧州バイオインフォマティクス研究所)に送られています。そのため、NCBIの使用により共にDDBJのデータベース照合もできていると考えられます。

NBRC(NITE Biological Resource Center、製品評価技術基盤機構バイオテクノロジーセンター)が2019年から運営している生物資源データプラットフォームDBRP(Data and Biological Resource Platform)にもBLASTがありましたので使用したところ、種名を明らかにした登録配列と98%を超える相同性で一致し、種の推定に有用であることが分かりました。

4. おわりに

食品工業技術センターでは、食品に関する微生物の情報収集や分析解析技術の普及に日々努めております。お気軽にご相談ください。

参考文献

- 1) 小野奈津子: DNA解析を用いた微生物の同定試験について、(あいち産業科学技術総合センターニュース 2013年11月号)

食品工業技術センター 発酵バイオ技術室 小野奈津子 (052-325-8092)

研究テーマ: 溜醤油醸造用乳酸菌スターターの拡充

担当分野: 味噌、醤油、溜、食酢、遺伝子解析