

## ヒト腸内細菌のゲノム情報に基づく機能解析と生体影響

## —第1報—

*Functional analysis and in vivo effects on genomics of human intestinal flora — No. 1 —*

村上 賢<sup>1</sup>, 森田英利<sup>1</sup>, 加藤行男<sup>1</sup>, 久松 伸<sup>1</sup>, 服部正平<sup>2</sup>,  
藤 英博<sup>3</sup>, 高見英人<sup>4</sup>, 五十君静信<sup>5</sup>, 桑原知巳<sup>6</sup>, 高木邦明<sup>7</sup>

<sup>1</sup>麻布大学獣医学部, <sup>2</sup>東京大学大学院, <sup>3</sup>理研 GSC, <sup>4</sup>海洋研究開発機構,  
<sup>5</sup>国立医薬品食品研究所, <sup>6</sup>徳島大学, <sup>7</sup>静岡県立大学

Masaru Murakami<sup>1</sup>, Hidetoshi Morita<sup>1</sup>, Yukio Kato<sup>1</sup>, Shin Hisamatsu<sup>1</sup>, Masahira Hattori<sup>2</sup>,  
Hidehiro Toh<sup>3</sup>, Hideto Takami<sup>4</sup>, Shizunobu Igimi<sup>5</sup>, Tomomi Kuwahara<sup>6</sup>, and Kuniaki Takagi<sup>7</sup>

<sup>1</sup> Azabu University, 1-17-71 Fuchinobe, Sagamihara, Kanagawa,

<sup>2</sup> The University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo,

<sup>3</sup> RIKEN Genomic Sciences Center, 1-7-22 Suehiro-cho, Tsurumi-ku, Yokohama, Kanagawa,

<sup>4</sup> Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology, 2-15 Natsushima, Yokosuka, Kanagawa,

<sup>5</sup> National Institute of Health Sciences, Kamiyoga 1-18-1, Setagaya, Tokyo,

<sup>6</sup> The University of Tokushima Graduate School, 3-18-5 Kuramotocho, Tokushima,

<sup>7</sup> University of Shizuoka School of Pharmaceutical Science, 52-1 Tanida, Suruga, Shizuoka, Japan

**Abstract:** We have sequenced seven species (including new species nov.) of bifidobacteria and the related three species. Their genomic size were the range of 2.0 to 3.2 Mb. We checked the location of the homologous genes in the chromosomes of ten species to compare the genomic structure of the species. According to the synteny of all the species chromosomes, the *Bifidobacterium breve* and *B. catenulatum* genes that showed high homologies to those of *B. longum* and *B. adolescentis* were picked up and aligned in the chromosomes of both bacteria, respectively. It was similar to show the phylogenetic relationships between the genomes of sequenced ten species, inferred from 16S ribosomal RNA gene sequences. The majority of the homologous genes in the other species of bifidobacteria appear to be located inversely in the related species of bifidobacteria. It is speculated that the genome backbones of the species are related to some extent but are still distinct.

## 1. 目的

腸内フローラは、ヒトをはじめとする哺乳動物の健康と病気に密接に関係している。約1,000種のヒト腸内フローラを構成する細菌の中には、よく知られたものから、まだ培養できていないものも存在する。本プロジェクトでは、ヒト糞便（その他の哺乳動物も含む）から、未分離の細菌も含め種々の細菌を分離する。由来の明確な細菌も含めて、種々の細菌

の全ゲノム解析を行い、遺伝情報からの機能性や代謝系の知見を得る。そして、生体に対する影響や重要性を検討する。

現在、国際コンソーシアムとしてヒト腸内フローラメタゲノム解析（外部プロジェクト）が行われている<sup>1)</sup>。そのバイオインフォマティクス解析には、腸内フローラを構成する個別菌の全ゲノム配列と機能情報が不可欠である<sup>2)</sup>。本プロジェクトの研究成果は、細菌学としての個別細菌のゲノム研究の進展

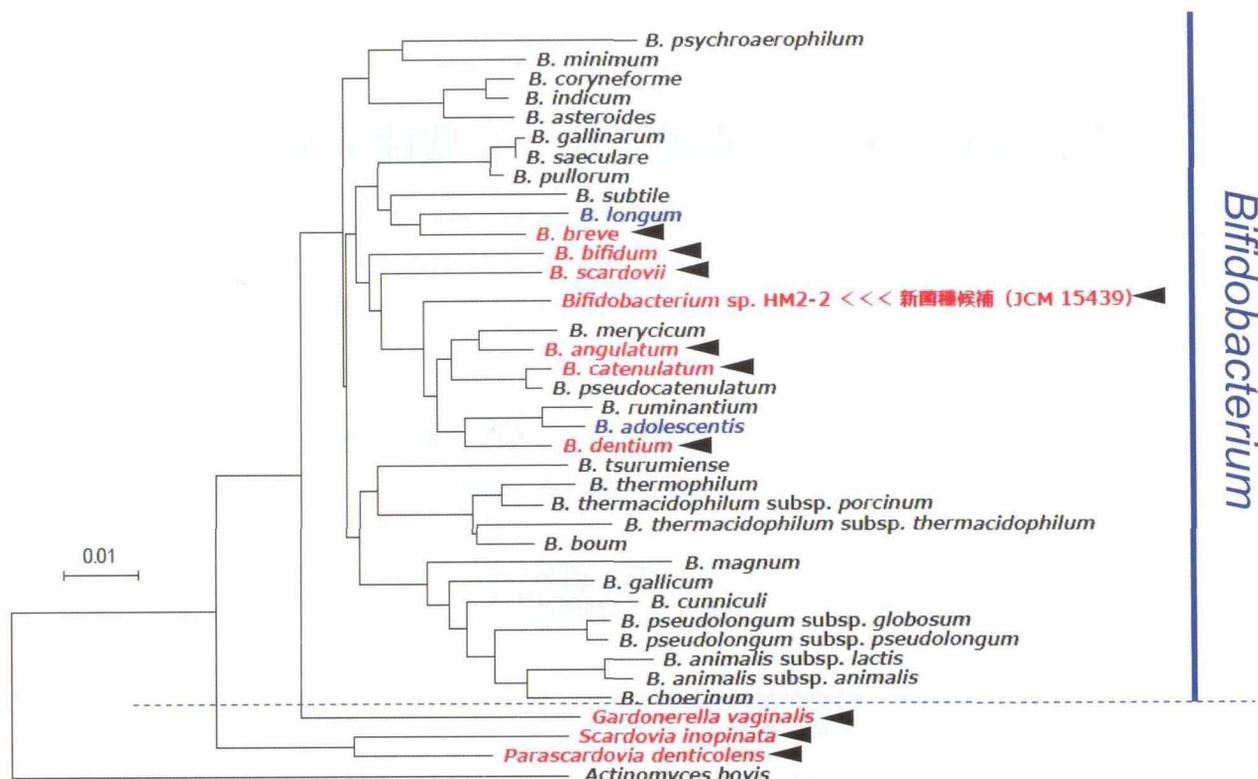


Fig. 1 Phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequence analysis, depicting the phylogenetic relationship among species of the genus *Bifidobacterium* and the related species. The tree is representative of different trees obtained with distance matrix and maximum likelihood analysis. Bar indicates number of nucleotide substitution per site.

のみならず、生命システムを解明するヒト腸内フローラのメタゲノム解析に貢献するものである。

## 2. 方法

ビフィズス菌は *Bifidobacterium* 属細菌の総称であり、Fig. 1の系統樹に記載の菌種に分類されている。*Bifidobacterium* 属は、乳酸菌と比べてGC含量が高く、*Actinobacteria* 門として、乳酸菌が属する *Firmicutes* 門とは進化系統樹的に離れた位置にある。

ビフィズス菌は、ヒト腸内細菌フローラにおいて乳酸菌（10%未満）より優勢な菌種で、年齢や個人差にもよるが、ヒト腸内細菌フローラの20～40%を占める。整腸作用、免疫賦活効果、アレルギー低減効果など、有効なプロバイオティクスとして注目されている。ビフィズス菌のtype strainの分離源は、動物の消化管や口腔内、腔に由来する。type strainがヒトの各部位から分離されたものも多い。また、ヒト糞便から *Bifidobacterium* 属に位置する新菌種候補株を分離し、理化学研究所にJCM 15439株として寄託を完了している。

*B. longum* と *B. adolescentis* は、ゲノム情報が公開されている。Fig. 1の矢印で示した新菌種候補も含めた7菌種については、ホールゲノムショットガン法<sup>3)</sup>により、本プロジェクトで全ゲノム解析を完了した。さらに、ビフィズス菌近縁の *Gardonerella vaginalis*, *Scardovia inopinata*, *Parascardovia denticolens* についても、全ゲノム解析を完了しており、ビフィズス菌との比較ゲノム解析を行っている。その結果、分類学上のビフィズス菌（属）のクライテリアを明らかにし、ビフィズス菌のプロバイオティクス効果などについて検討する。

## 3. 結果と考察

ビフィズス菌とその近縁種のゲノムサイズは2.0～3.2 Mbの範囲で、全体としては約2 Mbであった。これは、*Lactobacillus* 属など乳酸菌のゲノムサイズと類似していた。

シンテニーの比較では、16S rRNA 遺伝子配列による系統樹の近縁関係をよく反映していた。すなわち、近縁種である *B. breve* と *B. longum* の組み合わせ、

*B. catenulatum* と *B. adolescentis* の組み合わせの2株間においては、*ter* 付近の領域で短い配列が反転しているが、シンテニーはほぼ同じであった。それ以外の *Bifidobacterium* 属間では、近縁種のゲノム比較でよく見られる X (エックス) の形になっており、*ori-ter* 軸を対称にした組み換えが複数回あったと考えられる。属が異なってくると、シンテニーの保存があまり見られなかった。各菌株の機能性については、今後、検討していきたい。

#### 4. 要約

ビフィズス菌 (新菌種候補を含む) とその近縁種の10菌種の全ゲノム解析を完了し、ゲノムサイズは2.0~3.2 Mbの範囲であった。各菌種のシンテニーの比較では、16S rRNA 遺伝子配列による系統樹の近縁関係のとおり、*B. breve* と *B. longum* および *B. catenulatum* と *B. adolescentis* の組み合わせでシンテニーはほぼ同じであった。それ以外の *Bifidobacterium* 属間では、近縁種のゲノム比較でよく見られる X (エックス) の形になっており、*ori-ter* 軸

を対称にした組み換えが複数回あったと考えられる。

#### 文献

- 1) Xu, J., Chiang, H.C., Bjursell, M.K., Gordon, J.I., Message from a human gut symbiont: sensitivity is a prerequisite for sharing, *Trends Microbiol.*, 12, 21-28 (2004).
- 2) Kurokawa, K., Itoh, T., Kuwahara, T., Oshima, K., Toh, H., Toyoda, A., Takami, H., Morita, H., Sharma, V.K., Srivastava, T.P., Taylor, T.D., Noguchi, H., Mori, H., Ogura, Y., Ehrlich, D.S., Itoh, K., Takagi, T., Sakaki, Y., Hayashi, T., Hattori, M., Comparative metagenomics revealed commonly enriched gene sets in human gut microbiomes, *DNA Res.*, 14: 169-181 (2007).
- 3) Morita, H., Toh, H., Fukuda, S., Horikawa, H., Oshima, K., Suzuki, T., Murakami, M., Hisamatsu, S., Kato, Y., Takizawa, T., Fukuoka, H., Yoshimura, T., Itoh, K., O'Sullivan, D.J., McKay, L.L., Ohno, H., Kikuchi, J., Masaoka, T., Hattori, M., Comparative genome analysis of *Lactobacillus reuteri* and *Lactobacillus fermentum* reveal a genomic island for reuterin and cobalamin production, *DNA Res.*, 15: 151-161 (2008).