

P-070

PacBio RS IIによる完全長 16S rDNA 配列を用いた高解像度微生物群集構造解析

○佐藤 万仁¹, 下地 真紀子¹, 城間 安紀乃¹, 照屋 邦子¹, 安次嶺 典子¹, 南 茉緯子¹, 中野 和真¹, 大木 駿¹, 中西 哲大¹, 新里 美寿々¹, 保 日奈子¹, 養王田 正文², 池上 健太郎², 會田 悠人², 平野 隆¹

¹沖繩綜研・研究開発, ²農工大・工

E-mail: kazuhito.satou@oias.or.jp

微生物群集構造を俯瞰するための方法として、次世代シーケンサーによる 16S rDNA 配列を用いた解析が広く普及している。次世代シーケンサーは、それが産出する膨大な配列データを背景とした網羅的な解析を提供するが、一方で、2つの潜在的な問題が存在していることに留意する必要がある。1つは、シーケンシング工程に含まれる PCR 増幅のバイアスに起因する菌種・菌数の偏りの問題であり、もう1つは、連続して読み取れるリード長が短いために 16S rDNA 配列のさらに一部の領域のみを利用せざるを得ないことに起因する分類・同定の解像度の問題である。16S rDNA 配列の全長は高々約 1,600 b であるが、これに対し次世代シーケンサーのリード長は数 100 b ほどである。また、次世代シーケンサーでは、リード長の短さをデータ量で補填するために内部的な PCR 増幅が必須となっている。PacBio RS II は、1 分子リアルタイムテクロロジーを実装した第 3 世代の DNA シーケンサーである。平均で >20 kb、最大で >60 kb という極めて長いリードを産出し、かつ 99.9% @ 10 x から 99.999% @ 30 x という非常に高いコンセンサス精度を有する。また、PCR 増幅を必要としないことから GC バイアスに無縁である。このため、PacBio RS II では、どのような生物種に由来する 16S rDNA 配列であっても偏りなくその全長を 99.9% 以上の精度で解読可能であり、本来の微生物群集構造を正しく反映した高解像度な解析を実現することが出来る。本大会では、同一の微生物群集を対象として、PacBio RS II による完全長 16S rDNA 配列を用いた解析と、一般に行われている MiSeq による 16S rDNA 配列 V3-V4 領域を用いた解析との比較を行い、それぞれの特徴などについて考察し発表する。