

未培養口腔細菌ゲノムから獲得したファージ由来の *Streptococcus* 属細菌特異的認識分子

○岩井直哉¹・竹山春子^{1,2,3,4}・細川正人^{1,2,3,4} (¹ 早大院・先進理工、² 早大・ナノライフ創新研、³ 産総研・早大 CBB-D-OIL、⁴ 早大・生命動態研)

Phage-derived *Streptococcus* sp. specific recognition molecules acquired from uncultured oral bacterial genomes (Graduate School of Advanced Science and Engineering, Waseda University¹, Research organization for Nano and Life Innovation, Waseda University², CBB-D-OIL, AIST-Waseda University³, Institute for Advanced Research of Biosystem Dynamics, Waseda Research Institute for Science and Engineering, Waseda University⁴)
IWAI, Naoya¹; TAKEYAMA, Haruko^{1,2,3,4}; HOSOKAWA, Masahito^{1,2,3,4}

当研究室では、環境中に存在する多種多様な未培養細菌の理解に向けて、1細胞ゲノム解析技術 SAG-gel 法¹⁾を開発してきた(Fig. 1)。本手法により取得された1細胞ゲノムからは、細菌に感染するウイルスであるファージの配列(プロファージ)も検出でき、ファージと宿主細菌の相互関係を網羅的に明らかにできる。ファージ由来の細菌認識分子は、ファージが自然界に由来存在し、宿主特異的に結合する性質を活かして工学的な応用が可能である。本研究では、ヒト唾液より獲得した未培養の口腔内細菌由来ゲノムからファージ配列を取得し、ファージ由来溶菌酵素の宿主選択性に関わる分子である細胞壁接着ドメイン(CBD)を人工的に合成することで、細菌種特異的な標識ツールとして応用することを目指した。

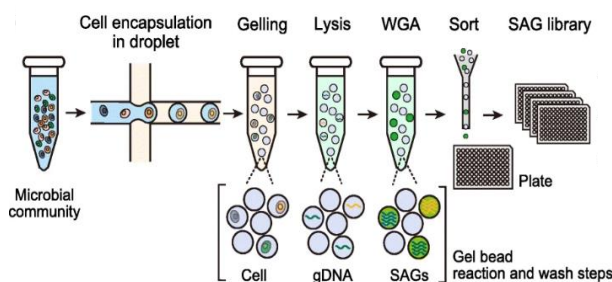


Fig 1. Workflow for SAG-gel-based single-cell genome sequencing.¹⁾

SAG-gel 法を用いて、ヒト口腔内細菌の 450 個

超の 1 細胞ゲノム配列情報を獲得した。そのうち、*Streptococcus* 属細菌を対象とし、ゲノム配列からファージ由来の CBD を *in silico* で探索し、大腸菌を用いた組換え発現により蛍光タンパク質と CBD を融合させた標識ツールを複数種作製した。*Streptococcus* 属細菌標識ツールを大腸菌懸濁液に添加し顕微鏡観察を行った結果、菌体から蛍光は確認されなかった。一方、*Streptococcus* 属細菌数種に標識ツールを添加した結果、菌体輪郭に沿って蛍光タンパク質由来の蛍光が確認された(Fig. 2)。本標識ツールを介した磁気分離とフローサイトメトリーの結果、CBD は細菌の生存性を維持したまま、ヒトの唾液から *Streptococcus* 属細菌を検出・濃縮できることを確認した²⁾。

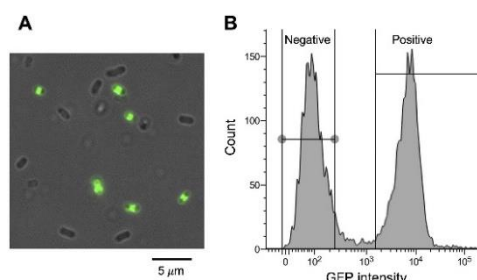


Fig 2. (A) Fluorescence image and (B) histogram of flow cytometric analysis for a mixture of *E. coli* and *S. oralis* after incubation with sfGFP-CBD.²⁾

本研究で開発したファージ由来の細菌標識ツール

は、特異的な細菌種の標識と細菌集団からの分離に有効と考えられる。未培養細菌の 1 細胞ゲノム情報からファージ分子を探索することで、様々な細菌特異的制御ツールを生み出すことができる。本手法は、多様な細菌集団からの有用菌や病原菌の *in situ* 検出や分離解析などへの応用が期待される。

1) Chijiwa, R. *et al.*, *Microbiome* (2020).

2) Hosokawa, M. *et al.*, *J. Biosci. Bioeng.* (2023).