

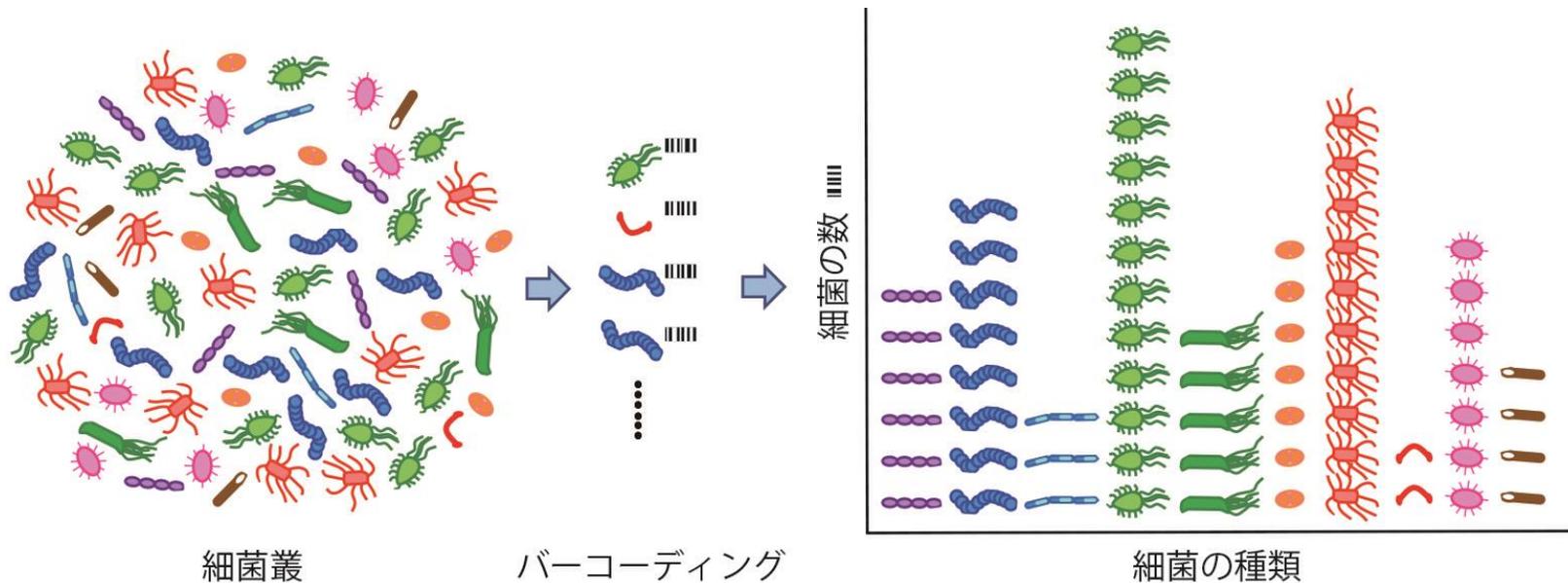
細菌一つを見分ける 細菌叢計測技術

所属 理研・生命機能科学研究センター

氏名 城口 克之

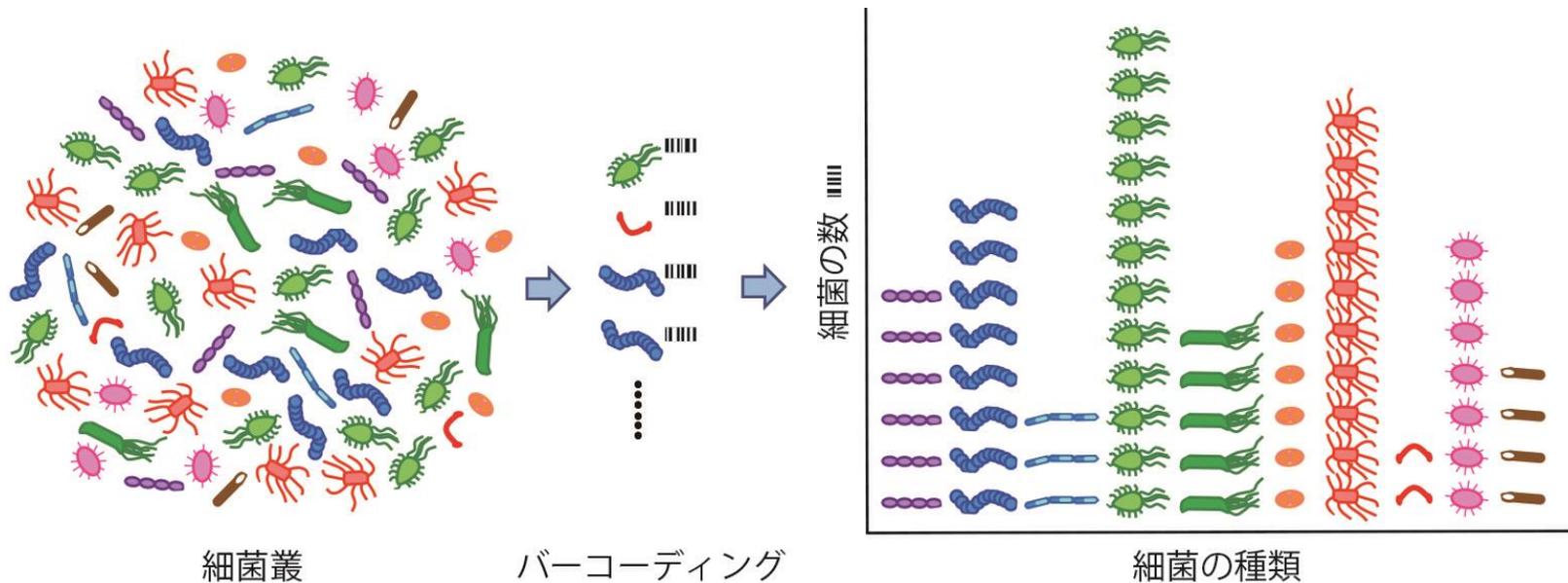
2022年6月7日

細菌一つをバーコードで区別して 細菌の数を計数できます



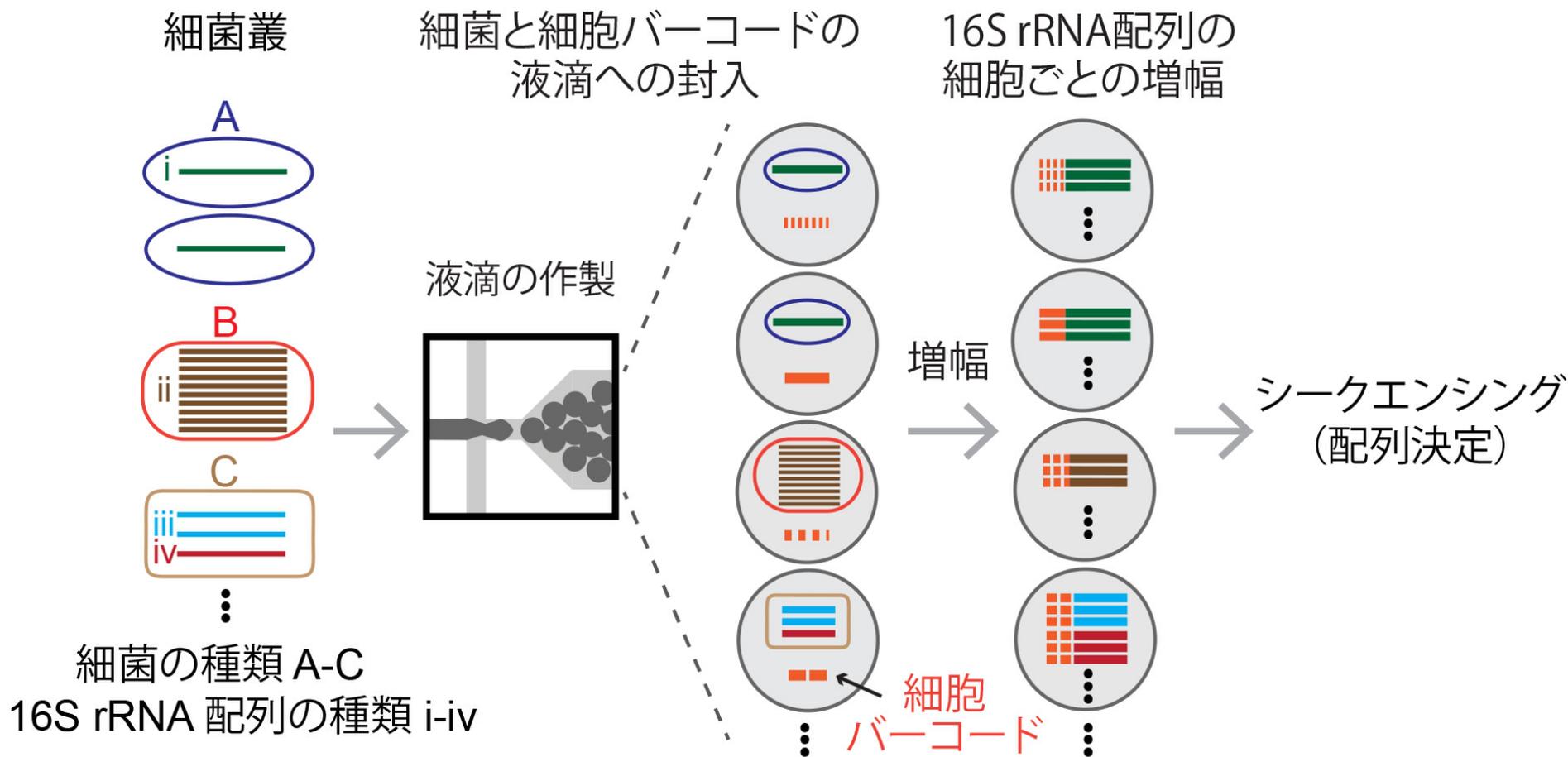
多種・多数の細菌で構成される細菌叢中の個々の細菌を区別して、極めて正確に細菌の種類と数を計測できる技術です。応用例として、ビタミンA欠乏によるマウス腸内細菌叢の微少な変化を捉えることに成功しています。

細菌一つをバーコードで区別して 細菌の数を計数できます



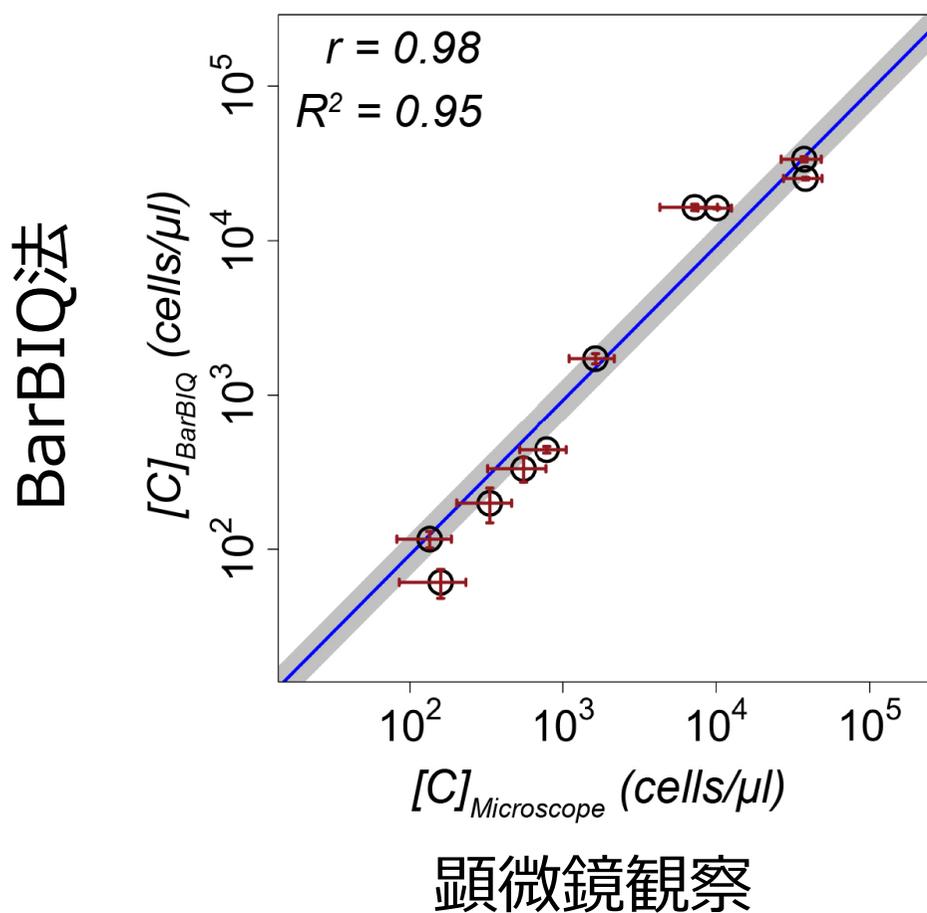
- 10^5 以上の細菌を一度のシーケンシングで計測する
- 16S rRNA配列内の1塩基の違いで細菌を区別する
- 細菌の数を定量する

BarBIQ法の概要

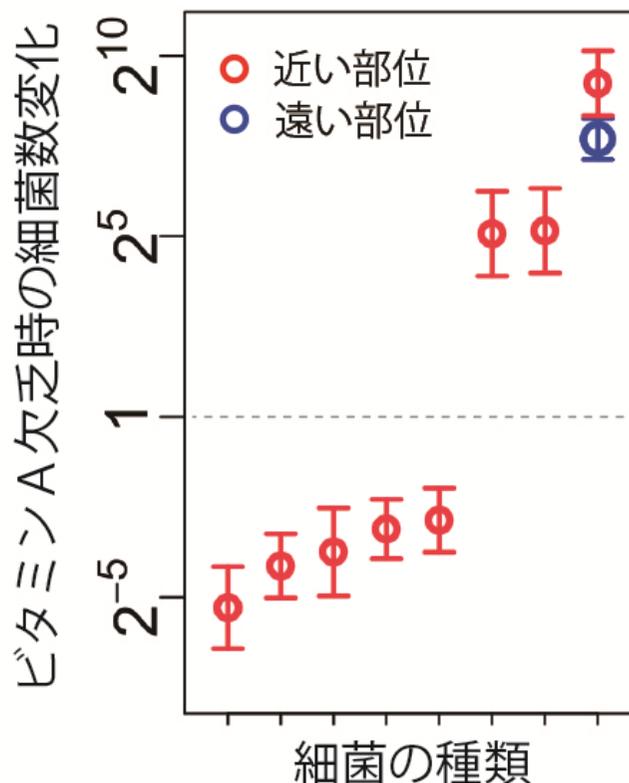
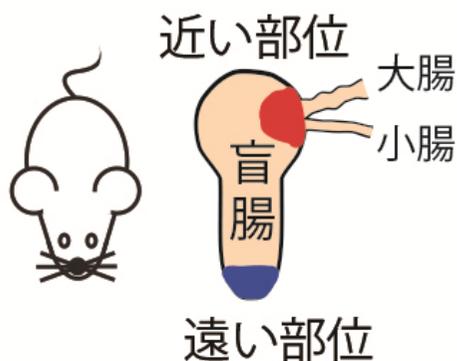


多くの液滴が細菌 1 つ、DNAバーコード 1 つを含む条件により、細菌ごとに異なるDNA配列を付与します

一度にたくさんの細菌の数を 計数できます

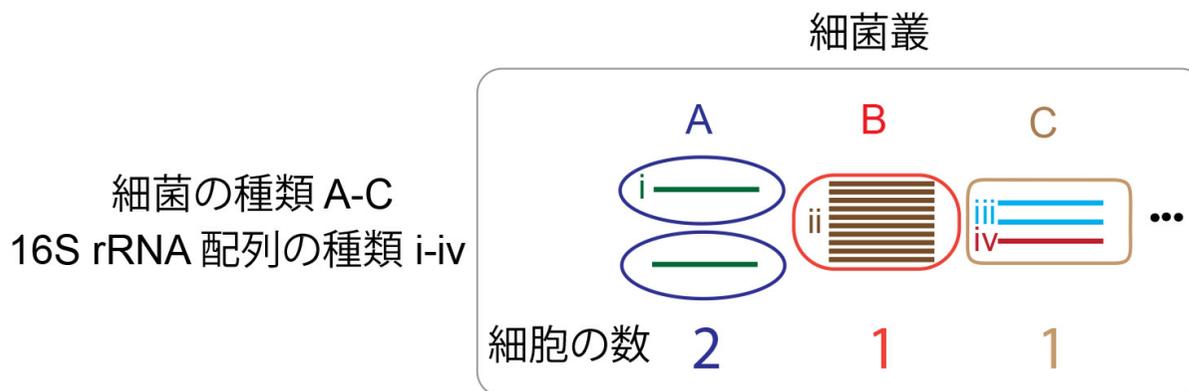


腸内の1種類の細菌数の変化を捉えました



腸内(青い部分)に存在する200種類以上の細菌を同定し、そのうちの一種が、ビタミンA不足の時に約200倍増えることが分かりました

BarBIQ法と従来技術の比較①



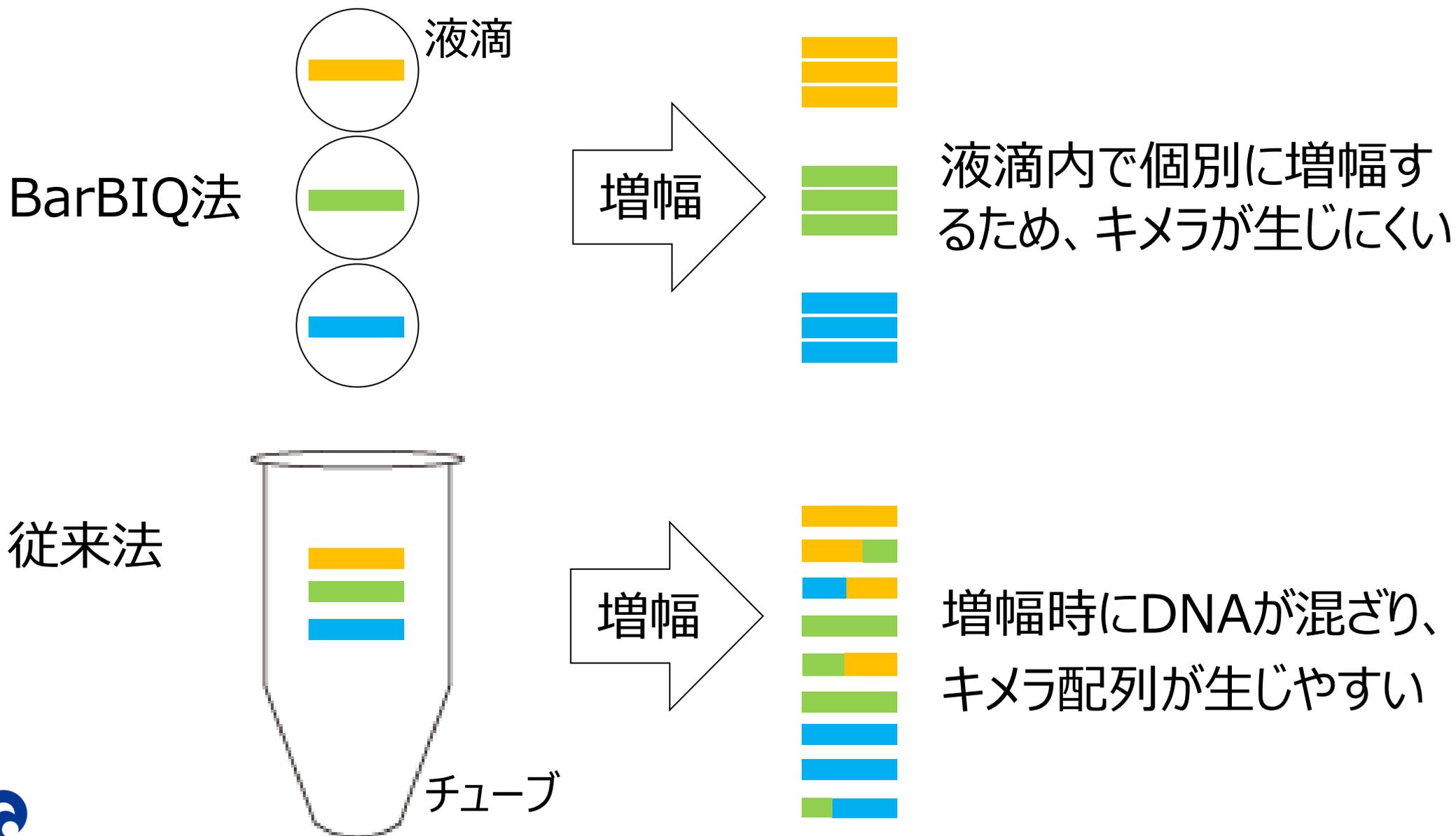
計測 ↓

	BarBIQ法	従来法
種類の同定	<p>細菌の種類</p> <p>1塩基の違いで区別</p>	<p>配列の種類</p> <p>エラーがある</p>
定量値	<p>細胞の数を計測</p> <p>2 1 1</p>	<p>分子の数を計測</p> <p>2 10 2 1</p>

BarBIQ法：細胞の数を計測している

従来法：16S rRNA配列のコピー数を計測している

BarBIQ法と従来技術の比較②



新技術の特徴

- 細菌叢中の細胞の数を計数できる
 - 細胞の数に変化があった細菌が分かる
- 細菌の種類を正確に同定できる
 - (1塩基の違いで細菌・細胞を区別できる)
- 新しい種類の細菌（未登録の16SrRNAの配列）を同定できる
 - (実際に300以上の新しい配列をすでに決定している)
- 少量のサンプルから正確に計測できる
 - (例: 1mg以下の腸内サンプル)

想定される用途

研究、診断、創薬分野などでの利用

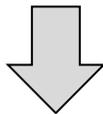
- 共生細菌叢内の細菌種の同定と微少な細菌数変化の検出
- 薬などに応答する細菌種の同定と微少な細菌数変化の検出
- 原因細菌の特定
- 16S rRNAデータベースの拡充

発展

- 土壌、海洋、植物、食品、大気などに存在・関連する細菌種の同定と細菌数変化の高精度計測
- 特徴的な細菌を取り出しての解析や培養
- 真菌解析、ウイルス解析への展開

実用化に向けた課題

極めて正確に多種・多数の細菌の種類と数を計測できる技術



細菌叢解析の世界標準法

BarBIQ2の開発

- 実験プロトコルを簡略化
- 解析パイプラインの簡略化
- 他のサンプル（海洋、土壌など）での計測の実施

企業への期待

<技術>

- BarBIQ2開発（すでにスタートしている）の資金サポート
- 効率的な液滴作製、PCR増幅など
- キット化、受託計測など

<応用>

- どの細菌がどれくらい増えているかを知りたい、などの需要の共有
→ 新しいサンプルの計測へ

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : 細胞集団の処理方法および細胞集団に含まれる遺伝子の分析方法
- 出願番号 : 特願2020-094141, PCT/JP2021/020338
- 出願人 : 理化学研究所
- 発明者 : 城口克之、ジン ジャンシ、山本れいこ

- 発明の名称 : 核酸をシーケンシングする方法および解析する方法
- 出願番号 : 特願2019-525702
- 出願人 : 理化学研究所
- 発明者 : 城口克之

本技術に関する論文とプレスリリース

細菌一つを見分ける細菌叢計測法の開発

－木（個々の細菌）と森（細菌叢）を同時に見る革新的手法－

https://www.riken.jp/press/2022/20220222_1/

Jin J., Yamamoto R., Takeuchi T., Cui G., Miyauchi E., Hojo N., Ikuta K., Ohno H., Shiroguchi K.
“High-throughput identification and quantification of single bacterial cells in the microbiota”
Nat. Commun. 13, 863 (2022).

DOI: 10.1038/s41467-022-28426-1

DNA分子バーコード法の新機能

－核酸分子 1 万個以上のデジタル計数を実現し、試料混在も解決－

https://www.riken.jp/press/2017/20171019_2/

[§]Ogawa T., [§]Kryukov K., Imanishi T., Shiroguchi K. ([§]equally contributed)
“The efficacy and further functional advantages of random-base molecular barcodes for absolute and digital quantification of nucleic acid molecules”

Sci.Rep. 7, 13576 (2017).

DOI: 10.1038/s41598-017-13529-3

国内外で紹介されました

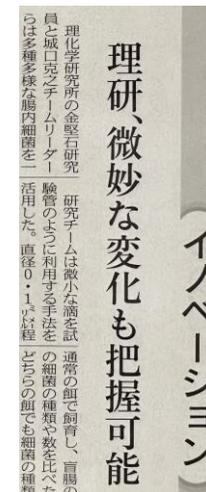
日経産業新聞

(2022.3.16)

日本経済新電子版

(2022.3.18)

腸内細菌の数・種類を精密計測
理研、微妙な変化も把握



SCIWORTHY

(2022.3.10)

New lab technique improves
how we study the microbiome

Ministry of Science and Technology of
the People's Republic of China

(2022.3.31)

日本科学研究创新信息平台

客観日本、新浪科技、搜狐、湖州中科工业生物技术中心、など

お問い合わせ先



株式会社理研鼎業

新技術説明会事務局

E-mail: senryaku@innovation-riken.jp