

第205回松本歯科大学大学院セミナー

日 時: 2009年10月2日(金) 17時00分~18時30分

場 所: 実習館2階 総合歯科医学研究所セミナールーム

演 者: 中野 善夫 氏 (日本大学歯学部化学教室・准教授)

タイトル: **T-RFLP法を用いた口腔内細菌叢解析システム**

環境中に存在する細菌は、現在ではまだ培養できない種が大半を占めるといわれており、培養不能菌を含めた菌叢を網羅的に、且つ継時的に把握していく研究が注目されている。口腔内細菌は多種多数の細菌が複雑な相互作用に基づく生態系を構築しており、その種類は700を超え、半分以上が未だ培養できていないともいわれている。口腔内のさまざまな疾患、特に歯周病は単一種の細菌が引き起こすのではなく、複雑な構成の細菌叢と宿主との相互作用から生じるという認識があるにもかかわらず、本格的に口腔内細菌叢を網羅的に捕らえる方法が確立されていない。

そこで、すでにさまざまな細菌叢の解析に利用されている制限酵素末端断片長解析法(Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism; T-RFLP)に着目し、口腔内細菌の検出と同定の確立をめざした。一つのPCR断片由来の異なる蛍光で標識された二つの切断断片は統計的に同じ挙動を示すという考えに基づき、サンプルの0.5%以上のピーク面積の割合のある断片のアラインメントを行なった後、すべてのピークの組合せの相関行列を得た。そのうち異なる蛍光標識の組合せから相関係数の高い対を選び、ピークの推定分子量を16S rRNA断片分子量データベースと照合することで、細菌グループが候補として挙げられるようになった。それぞれの菌の推定含有率は、多数の分析結果を同時に扱うことで、一般逆行列による誤差を最小にする最小二乗法の考え方で容易に最適解を求められるようになった。

この解析システムを用い、T-RFLP分析結果をサポート・ベクター・マシンやニューラルネットワークを利用して口臭の原因物質であるメチルメルカプタンの濃度を予想できるかどうかを検討した応用例などを紹介したい。

担当: 硬組織疾患制御再建学講座 平岡行博