

# 微生物相の把握について

微生物が産業に利用されている例は多くある

食品の製造(味噌、醤油、酒、酢など)／上・下水道における水処理／環境浄化  
堆肥の製造／農業における土作り／製薬／衛生……etc



それぞれの現場において、

存在する微生物の種類の特異性／存在する微生物の構成／微生物の消長が把握できればより効率的かつ積極的に微生物を利用する事ができ、生産性を上げる事が出来る



しかし

どのような微生物が存在するかを知るのは容易ではない  
顕微鏡で観察しても微生物の数くらいしか分からない(写真1)  
電子顕微鏡で観察しても細かい構造は分かるが微生物の特定までは出来ない(写真2)



微生物を利用する様々な現場で、どのような微生物相が形成され、その相の中に存在する微生物たちがどのように関わり合いながら現場に作用しているかを調べる努力がなされてきた



先ず微生物相を把握する必要がある



微生物の特定方法へ(次 項)

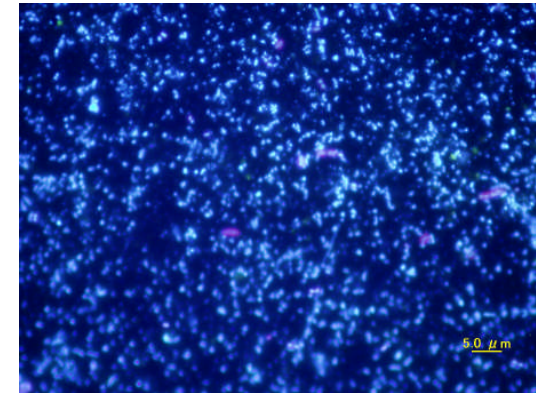


写真1 微生物を染色して顕微鏡で観察した様子

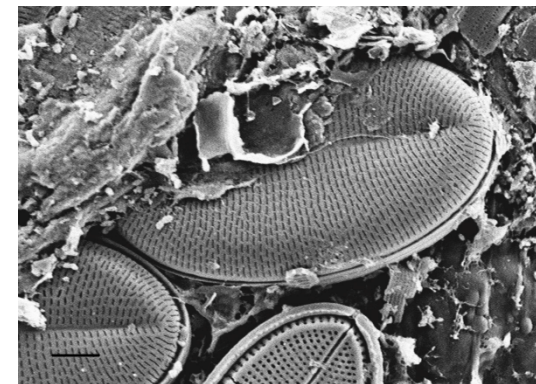


写真2 電子顕微鏡で観察した微生物

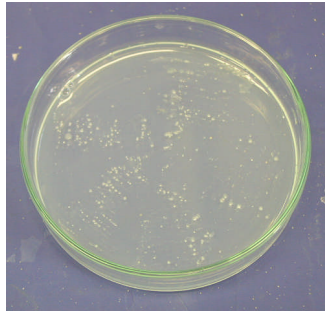
# 微生物の特定方法

## 1. 従来の微生物の特定方法

現場で採取したサンプル



寒天培地でコロニーを形成させる



シャーレ寒天培地

拡大



一つの点に見えるのがコロニーです。  
一つのコロニーは一種類の微生物に由来する

それぞれのコロニーについて

### 生理学的検査

様々な薬品などを用いて、色の変化やガスの発生の有無などを調べた結果を基に種類を特定する

### DNA解析

コロニーからDNAを抽出してその塩基配列を調べる事で種類を特定する。



問題点

1. 寒天培地に生えた微生物のみが対象となり現場の微生物相が反映されない。  
(培養可能な微生物はほんの一部で、培養できない微生物がほとんどだといわれている。  
従って、現場では優勢種である微生物が培養できないために検出されず、劣勢種である微生物が培養可能なために優勢種として検出されてきた。)
2. 生理学的試験は培養条件によって結果が異なる場合が多い。

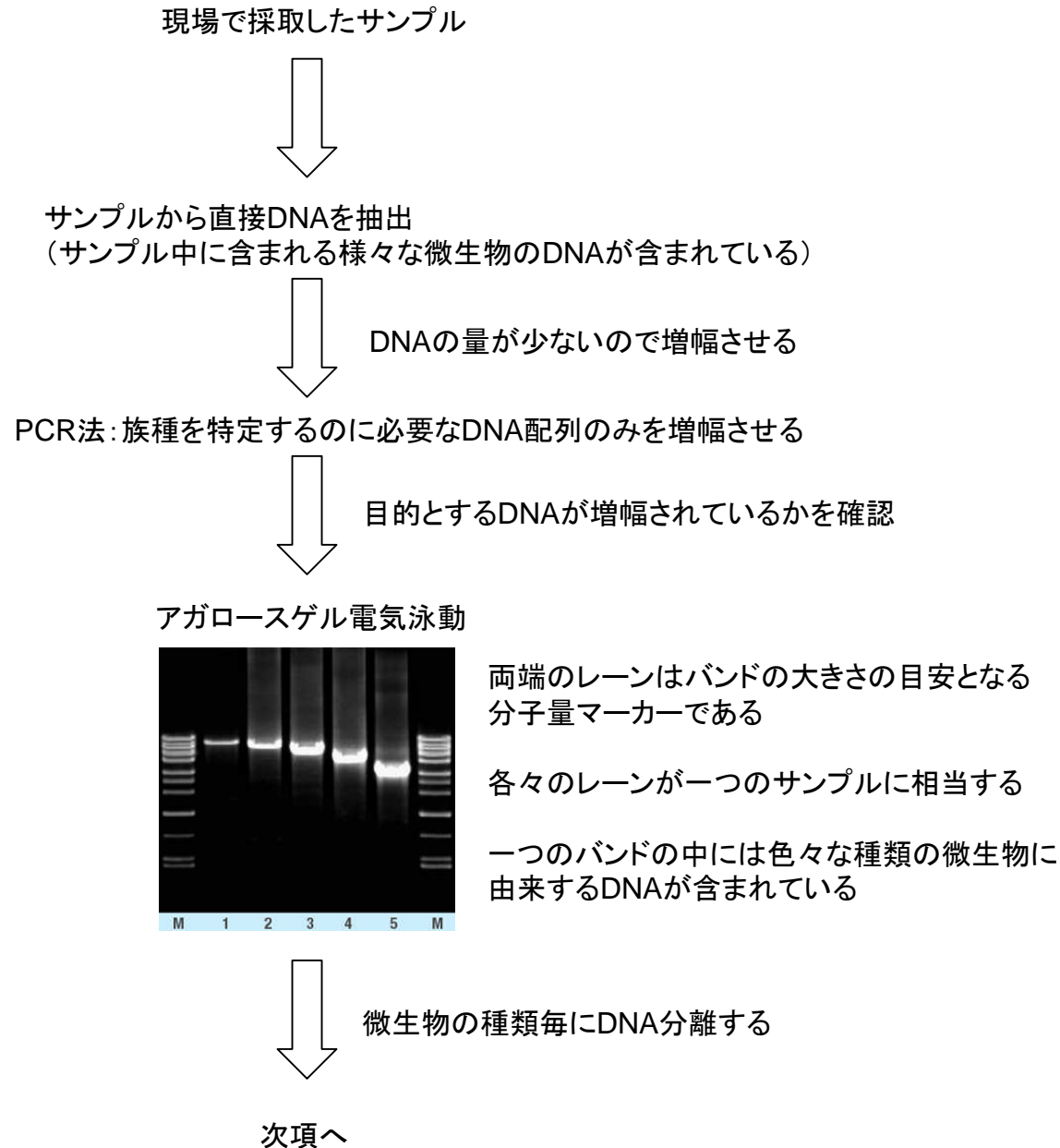


現場の微生物相を把握するのが困難であった



PCR-DGGE法の登場  
(現場の微生物相が反映できる分析方法)

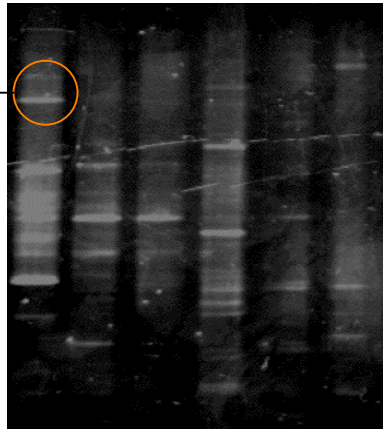
## 2. PCR-DGGE法





DGGE法

1 2 3 4 5 6



バンド

精製するため  
最大5回程度繰り返す

各々のレーンが一つのサンプルに相当する  
一つのバンドが一種類の微生物に相当する  
各レーンを比較して同じ位置に存在するバンド  
は同じ微生物に由来するバンドです

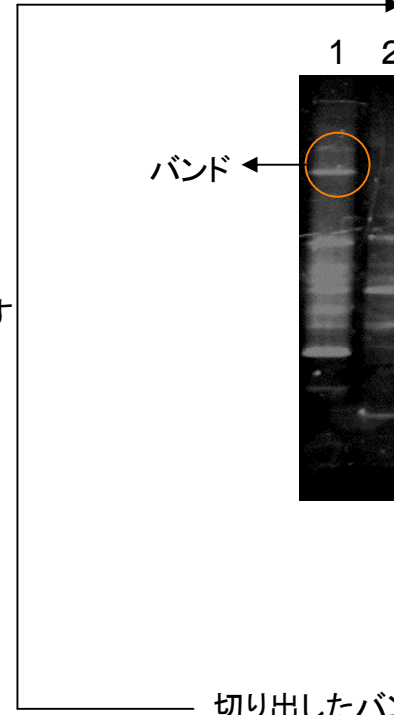
バンドを1つずつ切り出す

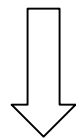
切り出したバンドに含まれるDNAをPCR法で増幅させる

シーケンシング  
一つ一つ切り出したバンドについてDNAの塩基配列を調べる

種類の決定

次項へ



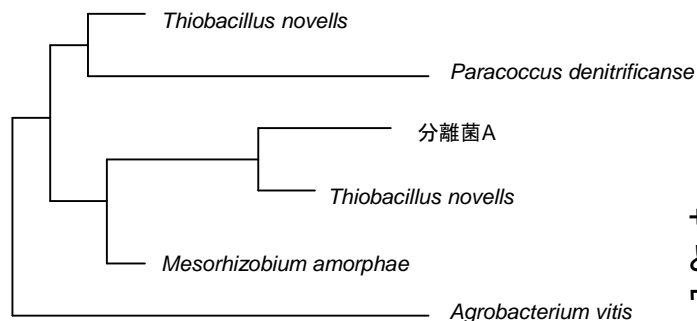


BLASTサーチ  
DNA配列結果をデータベースと照合して微生物の族種を特定する

番号	最類似菌株	グループ	類似度
1	<i>Actinobacterium</i>	Actinobacteria	99.8%
2	Uncultured beta proteobacterium	-Proteobacteria	93.6%
3	Beta proteobacterium	-Proteobacteria	97.5%
4	Plastid ( <i>Cryptomonas pyrenoidifera</i> )		98.2%

シーケンシングの結果判明したDNAの塩基配列とデータベースに登録してある微生物の塩基配列との適合率が調べられる

系統解析  
サンプル中に含まれていた微生物がどのようなグループに属するかを調べる



サンプル中に含まれていた微生物がそれぞれどのようなグループに属する微生物であるかを  
ヴィジュアル的に表示する方法

系統樹のイメージ図