

ナノポアシーケンサー MinION を用いたメタゲノム解析の性能評価

菌叢解析および薬剤耐性遺伝子解析

©中村 彰宏¹⁾、小松 方¹⁾
学校法人 天理よろづ相談所学園 天理医療大学¹⁾

【目的】メタゲノム解析は、細菌 16S rRNA のみをターゲットとする 16S メタ解析 (16S) と全ゲノムシーケンスをターゲットとするメタゲノム解析 (WG) の 2 種類があるが、PCR 不要でよりナチュラルな状態を反映する WG の重要性が注目されている。また、WG は薬剤耐性遺伝子も同時検出可能であり、その臨床への有用性が期待されている。本研究は、ナノポアシーケンサー MinION (Oxford Nanopore Technologies 社) を用いた 16S と WG の性能評価を目的とし、MiSeq (Illumina 社) を用いた 16S の結果と比較検証した。また、WG による薬剤耐性遺伝子解析の性能も評価した。

【対象と方法】対象は DNA スタンダードとして市販 Microbial Community DNA Standard (ZYMO RESEARCH 社)、自家調整による 15 菌種混合模擬検体を使用し、MiSeq による 16S および MinION による 16S と WG の菌叢解析結果を比較した。また、薬剤耐性遺伝子解析は、*bla*_{CTX-M-27} 保有 *Escherichia coli* ST131、*bla*_{OXA-48} 保有 *Klebsiella pneumoniae* および *mec-A* 保有 *Staphylococcus aureus* を含む

17 菌株混合模擬検体を使用し、MinION による WG から各種薬剤耐性遺伝子の検出を試みた。

【結果と考察】MiSeq による 16S は科レベルにおいてのみ正確な菌叢解析が可能であった。一方、MinION による WG は 16S より優れ、種レベルでの正確な菌叢解析が可能であったが、*Bacillus subtilis* group、*Cryptococcus neoformans*、*Shigella sonnei* および *Campylobacter jejuni* などが過小評価となる傾向がみられた ($p < 0.001$)。MinION による WG は測定時間 5 分程度で菌叢解析が可能であった。WG による薬剤耐性遺伝子解析は菌種の少ない模擬検体では測定時間 30 分以上で解析可能であった。一方、多菌種を含む糞便検体では 10^7 CFU/mL 以上の菌量で薬剤耐性遺伝子が検出できたが、その再現性は不良であり、その点が MinION を用いた WG による薬剤耐性遺伝子解析のリミテーションであった。

連絡先 天理医療大学 中村彰宏 (0743-63-7811)