
学会からのお知らせ

情報収集の進むプライマイクロ・データベース (PriMicro Database)

佐藤豊三^{1)*}, 伴 さやか²⁾, 埋橋志穂美³⁾

¹⁾ 独立行政法人農業生物資源研究所遺伝資源センター 〒305-8602 茨城県つくば市観音台 2-1-2

²⁾ 独立行政法人製品評価技術基盤機構バイオテクノロジーセンター 〒292-0818 千葉県木更津市かずさ鎌足 2-5-8

³⁾ 独立行政法人理化学研究所バイオリソースセンター微生物材料開発室 〒305-0074 茨城県つくば市高野台 3-1-1

Collecting Primer Information of the PriMicro Database

Toyozo Sato^{1)*}, Sayaka Ban²⁾, Shihomi Uzuhashi³⁾

¹⁾ Genetic Resources Center, National Institute of Agrobiological Sciences
2-1-2 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8602, Japan

²⁾ Biological Resource Center, National Institute of Technology and Evaluation
2-5-8 Kazusakamatari, Kisarazu-shi, Chiba 292-0818, Japan

³⁾ Japan Collection of Microorganisms, RIKEN BioResource Center
3-1-1 Koyadai, Tsukuba, Ibaraki 305-0074, Japan

はじめに

本誌前号では、微生物の分類同定・分子系統解析に有用なプライマー情報を集めた「プライマイクロ・データベース (PriMicro Database)」の構築の契機と構想が紹介された (佐藤, 2013)。以来約半年間、具体的な情報が集められ、それに基づいた収集作業の改善も進められてきた。本稿では進捗状況を報告し、今後の計画について説明したい。

進捗状況

収集情報の再検討: 原核生物から真核生物までを含む多種多様な微生物のプライマー情報を網羅的に集めることは容易ではなく、まして少人数で取り組むには限界がある。バクテリアに比べると多くの菌類は分子系統解析が発展途上にあり、全く手つかずの菌群もあるが、一部ではかなり研究が進んできた。そこで、まず筆者らの研究対象である植物病原菌類を中心に情報を集め、たたき台とすることにした。研究が進んだ分類群から裾野を広げていけば、手つかずの菌群も補完できると考えたからである。

本データベースの用途としては、未知の分離株の同定および保存機関における菌株の再同定や検査が想定される。前者では、胞子など形態形成の見られない菌株の分類学的所属を予測するため、適切なプライマーを利用した分子系統解析が必要となるが、通常2段階で絞り込み作業を行う。第1段階では、比較的幅広い菌群でも増幅できる rRNA gene D1/D2 領域のシーケンシングにより塩基配列を決定し BLAST 検索により属レベルの見当を付ける (図1)。次に、種同定の作業に移るが、形態により属が判明している場合や保存機関の同定済み菌株の再同定では、ここから始める場合が多い。すなわち第2段階では、各属で有効とされる追加領域を用いて、信頼における塩基配列のデータセットとともに系統解析を行い、種を判別する (図1)。このとき欠かせないのがその塩基配列のデータセットであり、プライマー情報とともに容易にアクセスできることが理想的である。モノグラフ的系統解析の文献には、必ず供試した配列データのアクセシオンナンバーが載っているため、最低限そのような論文の書誌情報が不可欠となる (図1)。

経過: 2013年11月、日本植物病名データベース (http://www.gene.affrc.go.jp/databases-micro_pl_diseases.php) より抽出した植物病原菌、web 検索な

*Corresponding author

E-mail: s1043@affrc.go.jp

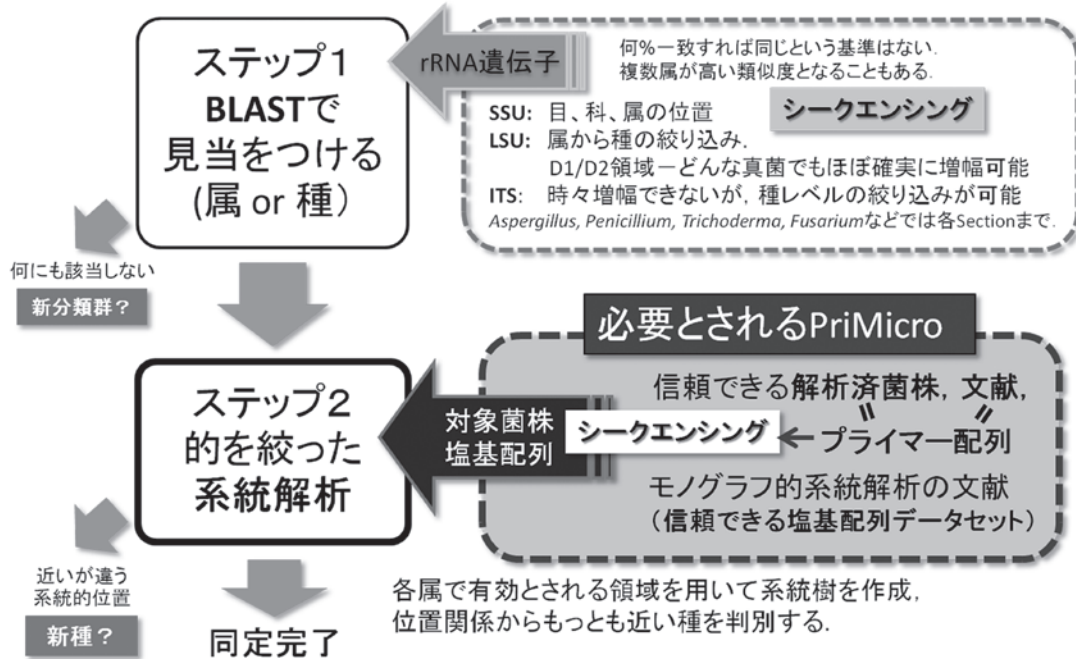


図1 情報集約型 PriMicro Database の概念

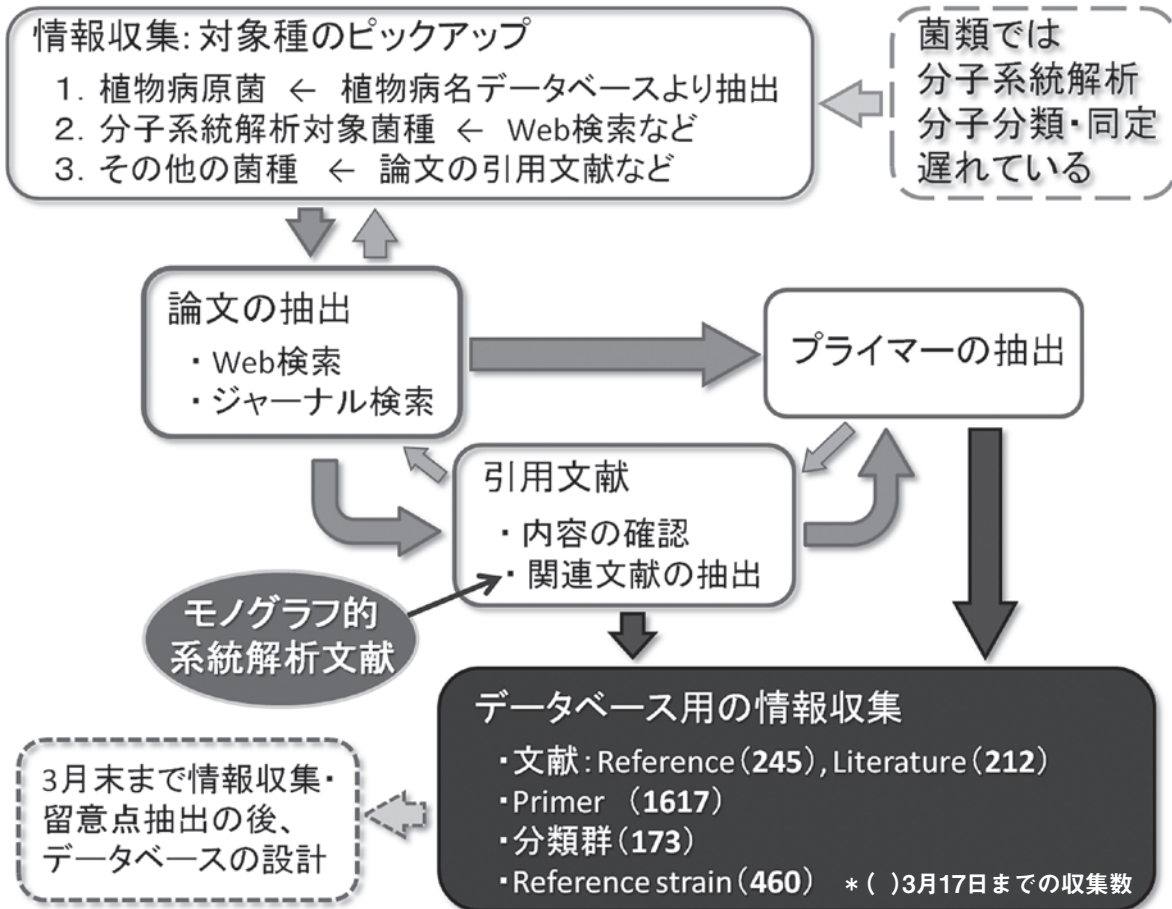


図2 PriMicro Database 構築の進捗と今後の予定

表 1 収集されたプライマイクログ・データベースのデータセットの例

Target organism				Reference organism				Reference strain URL			
Pri ID	Category	Kingdom	Genus etc.	Paired primer (Pri ID)	Genus Ref etc. strain ID	Ref Lit ID	memo				
1361	specific primer	Verrucariaceae		18S rRNA SSU vNS7 gene	GGCTCAAGCC AATGGAAGTA F	50051	Primer to replace NS7 for member of the Verrucariaceae (intron often occurring in the primer sequence of NS7)				
1362	specific primer	Verrucariaceae		18S rRNA SSU vNS6 gene	GCCTCGTACTTCCATTGGCTT R	50051	Primer to replace NS6 for member of the Verrucariaceae (intron often occurring in the primer sequence of NS6)				
Sheet: "Reference-Literaturer"											
Ref ID	Lit ID	Authors	year	title	journal	Journal Abbrev.	issue pages	DOI	kingdom	taxonomic group 1	higher group 2
10182	50186	Rouxel M, Mestre P, Comont G, Lehman BL, Schilder A, Delmotte F	2013	Phylogenetic and experimental evidence for host-specialized cryptic species in a biotrophic oomycete	New Phytologist		197 263	10.1111/nph.12016	fungi		Plasmodium viticola
Sheet: "Ref strain URL"											
Rif ID	Lit ID	Genus	Species	acronym number	strain 1 URL	strain 2 URL	acronym number	URL			
50017		Kalmusia	scabrispora	JCM 12851	http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_number?JCM=12851	http://www.gene.afrc.go.jp/databases-micro_search_detail.php?maf=239517	MAFF 239517	http://www.gene.afrc.go.jp/databases-micro_search_detail.php?maf=239517			
50136		Capnobotryella	renispora	IAM 13014		http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_number?JCM=6932	= JCM 6932	http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_number?JCM=6932			
10138	50142	Cercospora	apii	MAFF 238072	http://www.gene.afrc.go.jp/databases-micro_search_detail.php?maf=238072						
10118	50119	Cladosporium	cladosporioides	IFM 41447	https://daphne.pf.chiba-u.jp/distribution/catalog?action=Key=strainDetail&strainType=5568&ifmNo=41447	http://www.nbrc.nite.go.jp/NBRCCatalogueDetailServlet?ID=NBRC&CAT=00006368	IFO 6368	http://www.nbrc.nite.go.jp/NBRCCatalogueDetailServlet?ID=NBRC&CAT=00006368			
50020		Phaeosphaeria	brevispora	NBRC 106240	http://www.nbrc.nite.go.jp/NBRCCatalogueDetailServlet?ID=NBRC&CAT=00106240						
10116		Protomyces	macrosporus	IMI 102384	http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_number?JCM=22191						
Sheet: "Taxonomic group"											
Ref ID	Lit ID	target organisms 1	target organisms 2	taxonomic level	utility	region 1	region 2	abbrev.	Primer F	Primer R	
50169		Mycosphaerella anamorphs of Mycosphaerella		genus	PCR	mitochondrial ribosomal DNA	a part of the small subunit mitochondrial ribosomal DNA	mtSSU	2136	2137	

どでヒットした分子系統解析対象菌種および論文の引用文献などで扱われているその他の菌種を対象として、佐藤（2013）のデータセット案と上記の検討結果に従い情報収集を開始した（図2）。情報源の論文は学名などをキーワードとしてweb検索やジャーナル検索により検索し、記述されているプライマーを抽出・記録した。それらの論文に引用されている関連論文もチェックして、見付かった他のプライマーも集積し、これを芋づる式に繰り返した。さらに集めたプライマー情報を基にフィードバック検索・検索も行いその結果も追加した。3月17日現在、173の分類群に適用されたプライマーが1,617件、それらが掲載されている文献（reference）が245編、モノグラフ的系統解析の論文を含む関連文献（literature）が212編、そして当該プライマーが適用された供試菌株（reference strain）460株の情報（カタログ掲載ページのURL）が集まった。これらは“Primer”, “Reference-Literature”, “Ref strain URL”, および“Taxonomic group”の表（ワークシート）に分けられ、それぞれコード（ID）が付されて互いに関連付けられ、エクセルファ

イルとして保存されている（表1）。

今後の計画：3月末まで収集した情報や検索上の留意点を基に、データの入れ物であるデータベース本体と使いやすさを左右する検索システムの設計を情報技術の専門家と共同で開始する準備を進めている。なお、佐藤（2013）の概要5にも述べてあるように、本データベースの質的向上と有用性維持のため、情報の収集・更新は4月以降も継続していく予定である。菌類以外の微生物についても、データベースや検索システムが固まる前に表1に示した具体的情報、あるいはご意見ご要望などを下記eメールアドレスまでお寄せ頂ければ幸甚である（連絡先：s1043@affrc.go.jp, 農業生物資源研究所 佐藤豊三）。

文 献

佐藤豊三 2013. プライマイクログ・データベース（PriMicro Database）の構築—微生物の分類同定・分子系統解析に有用なプライマー情報の収集—. 日本微生物資源学会誌 **29**: 129-131.