

日本ゲノム微生物学会 ニュースレター

位相差顕微鏡で見た大腸菌核様体



位相差顕微鏡は1953年のノーベル物理学賞に輝く画期的な発明で、無染色の細胞が見られるようになったことで微生物の細胞学も大きく影響を受けた。試料の屈折率の違いをコントラストに換えるという原理をさらにうまく利用して、よりよい細胞像を得ようと試料調製法の改良が加えられた。その一つとして、水の代わりにより屈折率の高いタンパク質溶液に細胞を懸濁して観察するという方法に行き着く。3%ゼラチンに懸濁した大腸菌では、細胞内の核様体が白く抜けて見える。1963年にMansonとPowelsonによって発見されたこの画期的な方法はやがて忘れ去られたが、今また生細胞で核様体を観察できる方法として再評価されている。

仁木宏典（国立遺伝学研究所）

お知らせとお願い

日本ゲノム微生物学会では、年次大会以外の情報交換の場として、ホームページを活用してきました。ホームページというWEBを介した会員間の情報交換システムに関しては、今後もより一層の定着を目指して参りますが、今回、新たな情報発信のツールとして、『ニュースレター』を発刊する運びとなりました。『ニュースレター』は年1～2回、会員の皆様にお届けする予定です。生まれたばかりの『ニュースレター』ですが、会員の皆様に温かく育てていただくことで、日本ゲノム微生物学会の発展の礎となっていくものと期待しております。

（日本ゲノム微生物学会・広報幹事：大西康夫）

ニュースレターの発刊にあたって

いわゆる新型シーケンサーが、生物研究に更なる展開をもたらすものとして注目されています。今までは、限られたゲノムセンター的な研究機関でのみ動いていたのですが、最近、色々な大学にも広がり始めています。ChIP-chip解析は、細胞内でのゲノムDNAとタンパク質の相互作用の全体像を明らかにできる、新しい研究手法です。タイリングアレイを作らなければできなかったChIP-chip解析が、新型シーケンサーを用いたChIP-seq解析により、ゲノム配列さえあれば可能になりました。また、ゲノム配列の変異を洗い出すことにより、自然に生じた抑制変異も迅速に同定できるようになりました。さらに、細胞内の転写プロファイルの詳細な動態や自然界における微生物の多様性の理解も大きく進むことが期待されます。

また、分子レベルでの機構の解明があまり進んでいない大きな課題として、細胞構造の構築メカニズムの解明があります。例えば、細胞分裂の分子機構は、関与する遺伝子・タンパク質の同定は進んでいますが、それらがどのように相互作用して、どのような分子装置を形成するかは不明で

す。また、GFP融合タンパク質等を利用した細胞生物学的研究から、細菌細胞はランダムなタンパク質の集合体ではなく、動的な秩序だった構造を形成していることが明らかになってきました。すなわち、ゲノムDNAは秩序だったマクロドメインを形成し、その上に、DNA複製や分配装置が装着され、細胞内の決まった位置に配置されて機能しています。また、細胞膜上には細胞分裂装置やタンパク質分泌装置が規則だって配置されています。こうした、細胞構造構築の分子機構の解明は、まずは、微生物で挑戦すべき課題であると思います。

このように微生物研究が挑戦すべき多くの重要な課題が我々の前に広がっています。ゲノム微生物学会は、こうした最先端の微生物研究の動向を共有し、日本から質の高い微生物研究の成果を発信することに貢献したいものです。このニュースレターが、その一助となるように、会員の皆様のご協力をお願いします。

日本ゲノム微生物学会・会長 小笠原直毅
(奈良先端技術大学院大学 教授)

奨励賞受賞研究-その1

光応答性に着目した微生物スクリーニング

高野英晃 (日本大学・生物資源科学部)

博士課程も終わりに近づいたある日、実験台に放置していた放線菌がいつも生産しない黄色色素(後にカロテノイド色素と判明)を作っていた。光の影響を考え、机の引き出しの中で培養してみたところ、この色素生産は観察されなかった。このようにして一般細菌の光センシングに関する研究がはじまった。これにはもうひとつ話があって、使用した放線菌の野生株は青色の抗生物質を作るため、黄色のカロテノイドはその後ろに隠れて見えない。しかし、偶然、青色色素が抑制された株を取り扱っていたため、この光応答現象に気がつくことが出来たのである。このようにして偶然に見つけた現象ではあったが、このカロテノイド生産の光誘導は一般細菌において比較的よく知られた現象であった。今、

振り返ってみると、この「よく知られた」を「普遍的な」というように前向きに解釈し、積極的に研究を進めたことが、今日のような展開に至った一つの要因ではないかと考えている。その後、多くのバクテリアのゲノム解読がなされるという幸運も重なり、放線菌から見つかった光応答性制御因子LitRは、さまざまなバクテリアに広く分布することが明らかになった。その中でも、放線菌と高度好熱菌が示すカロテノイド生産の光誘導において、LitRが共通した中心的な制御因子であったことには非常に驚かされた。さらに、いくつものゲノム解読株を対象に解析を進めるにつれて、カロテノイド以外の光誘導遺伝子も見つかり始め、ゲノム情報の拡大が一般細菌における光生命科学という新しい領域を切り開こうとしている。

数年前、このようなゲノム情報に基づいた研究だけを行うことに強い違和感を覚え始めた時期があった。その思いを行動に移し、光応答を示す微生物スクリーニングを進めてきた。それは土壌・水圏など

様々な自然環境から、多様なバクテリア（主に非光合成バクテリアを対象に）の分離を実施し、光にตอบสนองした新しい形質を探索する試みである。個性豊かな学生らの努力によって、光にตอบสนองした顕著なカロテノイド生産を示すにも関わらず、既知の光受容体をそのゲノムに見つけることの出来ないバクテリアの存在が認められた。これは、採取したバクテリアに類縁性を示すゲノム解読株に着目し、その光応答性と既知の光受容体をコードする遺伝子の有無を確認したことによってはじめて判明した。この研究の進展は、全く新しい光受容体の存在を明らかにすると期待される。それと同時に、この研究は生物の表現型に着目した微生物スクリーニングにおいてもゲノム情報が有用であることを示す良い例と言える。

偶然に見つかった現象から走り出した研究は、「ゲノム情報の活用」と「微生物スクリーニング」という全く異なる性質を持った2つの手法を組み合わせることで、極めてユニークな研究に発展しつつある。今後も、強い信念をもって、個々のバクテリアにおける光応答の分子メカニズムから、微生物生態系において光が果たす役割まで、グローバルな研究を展開していきたい。

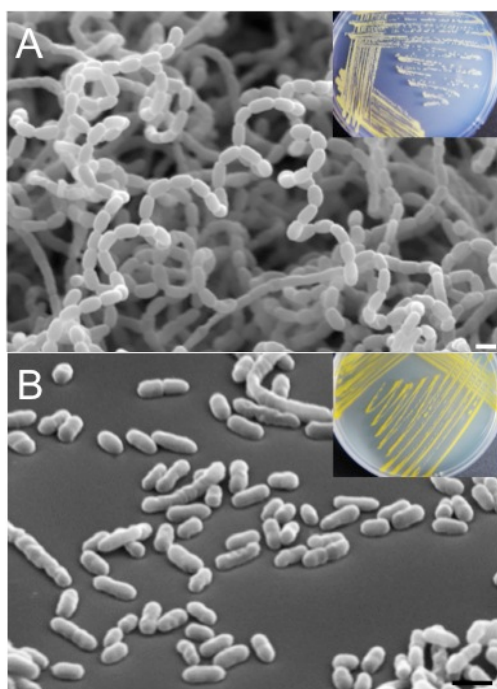


図 光依存的なカロテノイド生産を示す放線菌と高度好熱菌（電子顕微鏡写真及び平板培養の様子）

これら2種の細菌は、異なる細胞形態・生理的な性質を示すが、共に光にตอบสนองして、抗酸化活性を示すカロテノイド（黄色色素）を生産する。A. 放線菌 *Streptomyces coelicolor* A3(2) が形成するらせん状に連鎖した胞子。B. *Thermus thermophilus* 高度好熱菌 HB27 の栄養細胞。Bar: 1.0 μm

奨励賞受賞研究-その2

Single-cell genomicsへの展望

本郷裕一（東京工業大学・生命理工学研究科）

私は、培養不能細菌種の少数細胞からのゲノム全長取得による機能解明に取り組んでいます。研究奨励賞受賞理由にもなった発表論文では数百細胞を用いていますが、究極的には単一細胞からの“single-cell genomics (SCG)”の確立を目指しています。

難培養微生物群集の解析法としてはメタゲノム解析が普及していますが、極めて複雑な環境微生物群集においては、数ギガの塩基を解析したとしても、群集を構成する個々の微生物種の機能はほとんど未知のままです。

私は去る5月に開催された米国微生物学会年会のSCGのセッションに招待されて講演を行いました。その後、Venter研のLasken博士やBigelow研のStepanauskas博士、Stanford大のQuakeラボの面々と情報交換をしたのですが、SCG技術の進歩に強い焦りを感じました。個々の難培養微生物種の全ゲノム解読はほとんどの微生物生態学者が渴望するものであり、米国各グループはJoint Genome Instituteと連携しながら意欲的に研究に取り組んでいます。

SCGのためには、phi29 DNA polymeraseによる等温全ゲノム増幅が不可欠です。解決すべき大きな問題は、ゲノム領域間での増幅バイアス、キメラ配列形成、非特異的増幅等です。さらに、如何にして複雑な環境微生物群集から標的とする細菌種の生細胞を回収し、DNAのコンタミネーションの影響を極小化するかも極めて重要です。

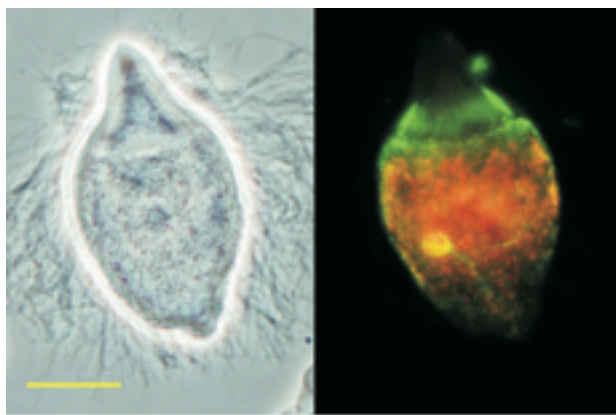
現状では、微細流路・反応炉と顕微鏡、セルソーター、光ピンセットなどを組み合わせたSCG専用デバイスを開発しているQuake博士のグループがリードしており、様々な環境中の単一細菌細胞からの全ゲノム解析を試行中です。nlスケールで反応させることによってDNAコンタミ、非特異的増幅、バイアスを減少させています。Stepanauskas博士らは蛍光セルソーター（FACS）で生細胞を96穴プレートにハイスループットに回収して μl スケールで増幅、Lasken博士らも同様あるいはマイクロマニピュレーターを用いた回収を行っています。いずれのグループも2-3年以内には、実際のサンプルでの成果を発表することでしょう。

一方、日本ではSCGに携わる研究者はほとんどなく、上記米国グループの独壇場となっています。汎

用性の高い技術を確立できれば、サンプルは無限に近いほどあり、未培養微生物各種ごとの遺伝子セットを「遺伝子資源」として確保できます。私自身の興味の中心は生態解明で、解読しやすい好材料（ゲノムサイズが小さく、数十細胞以上回収可能な細菌種）を選んで結果を出しながら SCG の技術開発を進め、彼らのレベルに追いつこうとしています。

SCGの発展には、微生物生態学だけではなく、ゲノム増幅反応を最適化する酵素学、微細流路設計などをするナノバイオ工学、増幅断片のbinning精度向上のための情報解析学などの各分野の研究者の協力が不可欠です。今後、同分野に興味を持つ方々と協力して、日本において、米国グループに対抗できるようなプロジェクトを組織していければ、と強く望んでおります。

(連絡先: yhongo@bio.titech.ac.jp)



シロアリ腸内共生原生生物 *Trichonympha agilis* (左) と共生する細菌 Rs-D17 (右、FISH、橙色部分)。Rs-D17は、*T. agilis* 細胞内のみ生息する培養不能細菌種 (TG1門) であり、単一の宿主細胞より数百細胞回収し、全ゲノム増幅によってゲノム解読に成功した (Hongoh *et al.* 2008 PNAS 105: 5555-60)。バーは20 μ m。緑色は同時に共生する未培養細菌。

堀之内君を送る

身近に年下の人の死を見送るのは耐え難いことだ。堀之内教授というより私にとっての堀之内君は、最も長い共同研究者であったと同時に、亡くなる直前まで最も良き相談相手であった。7月12日深夜に彼が逝去してから日が経った今になっても、私はまだこのつらい真実を十分受け入れることが出来ていない。

2007年5月に彼自身を会長として尾道で開かれた日本放線菌学会の総会終了後に突然の吐血で倒れて以来、本人はもとより、見付かった癌の容易ならざる所見を知らされたものにとっても息詰まる思いの闘病は二年余に及んだ。その間、胃切除に引き続く普通の人ならとても耐えられない強力な抗がん剤の連続投与を持ち前の体力でびくともせずにより切りながら、セミナーでの厳しい研究指導、海外も含む活発な講演活動などをそれまで通りの快活なやり方でこなして行く彼の姿を見ると、気が付いて心配してくれる方々にこのまま完治するに違いないと言うのが決して嘘とは思えなくなるのだった。しかし、そのようにして亡くなる1週間前まで担当の医師も信じられないと驚くほど高い水準で続いた活動は、極限まで発揮された彼の強い精神力とそれを陰で支えた夫人の

真に献身的な看護の結果であって、最後までそれを貫徹した殆ど超人的な意志の力と愛情に心からの尊敬と深い黙祷を捧げたい。

堀之内君が大学院修士学生として東京大学農芸化学科発酵学研究室で研究の道に入ったのは1974年であった。それは丁度1973年のCohen, Boyerの論文をきっかけに遺伝子組換え技術の幕が開かれた直後に当たり、我々はその技術を何とか自前で確立しようと、*EcoRI*やpBR322などすべてを手作りで揃えながら苦闘している最中だった。鹿児島生まれの一徹さとピッチャーとして第一級の力を備えた学生は、たちまち優れた実験者としての頭角を現していくつもの重要な技術的貢献をしたが、その中に放線菌の薬剤抵抗性遺伝子が大腸菌では発現しないことに気付いて、遺伝子発現に関する種の障壁の存在を極めて早く指摘する論文を発表した。今振り返るとさきやかに見えるこの論文は、その後の彼自身による放線菌ゲノム研究の大きな流れを予告するものとなった。

彼は1979年に学位を取得すると直ちにウイスコンシン大学のBernard Weisblumの研究室に博士研究員として参加した。わずか2年間の短い滞在期間に彼が仕上げたエリスロマイシン耐性遺伝子の翻訳レベルでの発現調節機構についての論文は、mRNAの二次構造がリボソームとの結合に

及ばず影響を多くの塩基置換による変異の緻密な解析から明らかにしたもので、有名な分子生物学の教科書にも引用されて広く知られた。この在米中の仕事は、そのユニークさをなかば冷やかしかし気味に*in silico*スタイルと言われたりしていたBernyとの極めて幸せな出会いから生まれたもので、その楽しく充実した経験は後の堀之内君自身の研究生活の基盤になったと思われる。

ストレプトマイシンの発酵工場で生産菌*Streptomyces griseus*に抗生物質と胞子の同時欠損株が高頻度で出現して困っているという現場の話に端を発して、明治製菓から我々の研究室に派遣された原修君が予想もしなかったA-ファクターの再発見にたどり着いたのは彼が不在中の1980年の初めだったと思う。細菌ではそれまで全く知られていないホルモン性の制御に間違いのないと思われるその機構を解明するのに、丁度その頃David Hopwood達によって開発された放線菌の宿主ベクター系が強力な武器になるのは明らかだった。それらの発見の連鎖に突き動かされるようにして、私はDavidと連絡を取る一方でMadisonの堀之内君を訪ねて助手として戻るように頼み、私にとって最も幸せな彼との二度目の研究上の出会いが実現することになった。

そうして我々の研究室に復帰した堀之内君は、A-ファクター生合成遺伝子をクローン化したのを皮切りに、多くの若者と共同しながらこの特異な細菌ホルモンの本質を解明する重要な成果を次々に上げていった。私が東大を離れた1994年以後に彼の研究はますます加速・深化して、特異的レセプター蛋白が同定されてホモログの立体構造が解明される一方、その信号に対応して形態分化と二次代謝に関わる数十の遺伝子を直接制御する転写制御蛋白AdpAを中心とした壮大な制御ネットワークの全体像が明らかにされて行った。今ではA-ファクターを始めとする一群のγ-ブチロラクトンが、広く放線菌の特に二次代謝の制御に重要な役割を果たしていることが認められるようになった。応用の現場から出発した堀之内・大西グループの研究は、細菌の進化系統樹の中で重要な位置を占める放線菌について新しいパラダイムを生み出したものとして世界的に高く評価されている。

最近の堀之内君は、自ら発見した放線菌の新しいType III-ポリケチド生合成酵素群を手がかりに各種の生物から関連遺伝子を組み込んで非天然

型フラボノイドを設計図通りに作り出そうとする代謝工学的研究や、蛋白工学による転写制御因子の機能改変など新しい領域の仕事を強力に進め始めていた。ゲノムだけでなく有機化学から構造生物学にいたるさまざまな手法を統合したこれらの研究は、モノ作りに向けた新しい「発酵学」を目指そうとする彼の非常な決意の表れだったに違いない。その志の半ばに57才という若さで倒れた無念さを思うと同時に、若い人たちによってそれが改めて発展されることを切に望みたい。

堀之内君は強い信念を持った意志の人だった。一旦言い出したら容易に変えない頑固な一面とともに、友情に厚く人の面倒をよく見る義の人でもあった。また酒を愛し、カラオケでマイクを握るとあつという間に場をさらう天性の愛嬌を備えていた。彼とともに外国からの来客を迎える度に、私は「ここにはあなた以外にもう一人（鹿児島県人という）外国人がいる」というたちの悪いジョークを繰り返して、その都度彼が半ば本気になって食ってかかったのも今は懐かしい思い出になってしまった。それら全てをひっくるめた彼の温かい人間性が鋭く厳密な科学者としての姿勢と表裏一体になって、ゲノム微生物学を始めとするさまざまな分野で活躍する多数の優れた研究者を育てたのである。

堀之内君が身心を込めて成し遂げたこれらの業績と貢献に心からの敬意と感謝を捧げて、ご冥福をお祈りしたい。合掌

別府 輝彦（日本大学大学院生命科学専攻）



1991年、住木・梅澤記念賞（財団法人 日本抗生物質学術協議会）受賞の折りの故堀之内会員（左）と筆者

第4回日本ゲノム微生物学会年会のお知らせ

第4回日本ゲノム微生物学会年会を2010年3月7日～9日の3日間、九州大学医学部キャンパス百年講堂にて開催することになりました。会場へのアクセスは、九州の玄関口である福岡空港から車で約20分、博多駅から地下鉄利用して約20分 (<http://www.med.kyushu-u.ac.jp/100ko-do/> でご確認ください)です。

主な研究トピックスは以下の通りです。

- ・ 新規微生物ゲノム配列の決定と解析
- ・ 微生物ゲノム・遺伝子システムの機能解析
- ・ 微生物ゲノムと細胞の動態の研究
- ・ ゲノムを基盤とした病原性の研究
- ・ ゲノムを基盤とした微生物の有用活用の研究
- ・ メタゲノム研究、環境微生物研究
- ・ 微生物ゲノムの機能・進化の情報学的研究

第4回年会では、跡見晴幸氏（京都大学大学院工学研究科・教授）、中山浩次氏（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・教授）、伊藤武彦氏（東京工業大学大学院生命理工学研究科・教授）による招待講演が行われます。また、若手研究者育成の一環として、ポスター発表を行う大学院生を対象に口頭発表の機会を設け、プレゼンテーションを行っていただきます。

※ 微生物を対象としてゲノムを基盤に研究に携わっている、あるいは関心をお持ちの多数の皆様に参加をお待ちしています。【第4回日本ゲノム微生物学会年会長 久原 哲（九州大学大学院農学研究科）】



学会の現況

学会役員（敬称略）

会長：小笠原直毅

庶務・会計幹事：林哲也、吉田健一 集会幹事：有田正規、大西康夫 広報幹事：有田正規、黒川顕、大西康夫 男女共同参画：有田正規

評議員（会長推薦を含む）：穴澤秀治、飯田哲也、池内昌彦、石浜明、磯野克己、板谷光泰、大森正之、久原哲、小林一三、五味勝也、高見英人、田畑哲之、津田雅孝、服部正平、藤田信之、別府輝彦、吉川寛、跡見晴幸、漆原秀子、北川正成、佐々木裕子

会計監査：饗場浩文、倉光成紀

会員の動向（平成21年11月9日現在）

全会員数 423名

正会員 322名；学生会員 101名

賛助会員 32 団体；機関会員 2 団体