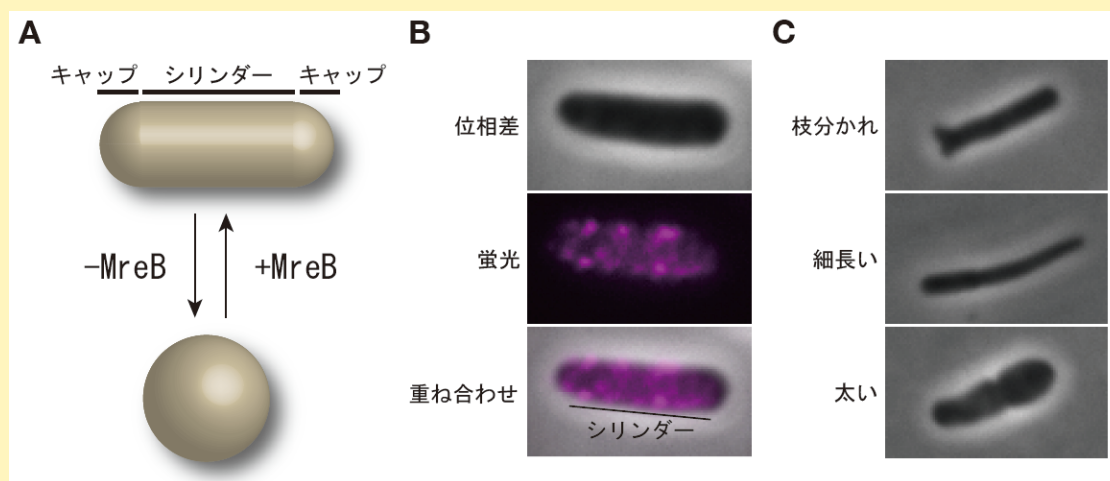


日本ゲノム微生物学会 ニュースレター

バクテリアアクチンによる細胞形態形成制御 塩見 大輔（立教大・理・生命理学科）

微生物には黄色ブドウ球菌のような球菌、大腸菌や枯草菌のような桿菌、さらに桿菌がらせん状になっただけの菌も存在する。これらの形態が正しく形成されることがそれぞれの微生物の生育や様々な細胞機能に重要である。我々は桿菌である大腸菌をモデルに微生物の形態形成制御機構を研究している。大腸菌や枯草菌などの桿菌のなかには、そのゲノム中に1つまたは複数のバクテリアアクチン*mreB*をコードしているものがある。大腸菌のMreBは細胞極性、細胞長、細胞幅の制御に関わる形態形成制御に必須の因子であり、MreBの機能が欠損すると球菌になる（図A）。MreBはほとんどがシリンドラ部分に局在する（図B）。このようなMreBの非対称な細胞内局在が、細胞に極性を作り出し、一定方向に伸長すると考えられるが、その分子機構は不明である。我々は、MreBの一アミノ酸置換により、様々な形態異常になる変異株を取得している（図C）。これらの解析を通して、バクテリアアクチンがどのようにして形態形成を制御しているかを明らかにしたい。一方、大腸菌と同じ桿菌であるコリネ型細菌のゲノムには*mreB*は存在しない。MreBに依存しない桿菌形成がどのように制御されているかも興味深い。様々な微生物が、未だ知られていない機構でその形を作っているのだろう。



(A)大腸菌の模式図とMreBの機能 桿菌である大腸菌は、中央のシリンドラと両極のキャップから成る。MreBアクチンの機能が低下すると、大腸菌は球菌に形態変化する。MreBの機能が回復すると、細胞極性を回復し桿菌に戻る。

(B)MreB-mCherryの細胞内局在 MreB-mCherryを発現する株の位相差像、蛍光像および重ね合わせ画像 MreBはクラスターを形成し、シリンドラ部分に局在する。このクラスターはRodZなどのMreB制御因子や、PBP2などのペプチドグリカン合成酵素も含まれる超分子複合体である。

(C)異なるMreB変異による形態変化 極性が異常になった枝分かれ細胞、細長い細胞、太い細胞MreBなどが観察される。MreBが形態形成を制御する様々なパラメーターに重要な役割を果たしていることが分かる。

第4期会長就任にあたって



林 哲也

(九州大学 医学研究院 細菌学分野)

日本ゲノム微生物学会の第4期(2015-2017)の会長に選出された林哲也です。下記の役員の皆様(敬称略)とともに第4期の学会運営にあたらせて頂きますので、ご協力を宜しくお願いします。なお、3月の年会開催時には、私は宮崎大学フロンティア科学実験総合センターの所属でしたが、4月より九州大学医学研究院に異動しましたので、この場を借りて報告させていただきます。

庶務・会計担当幹事：黒川 顕、仁木 宏典

集会・男女共同参画担当幹事：板谷 光泰

集会担当幹事：大島 拓

広報・男女共同参画担当幹事：佐々木 裕子

広報・ニュースレター担当幹事：中村 保一、佐藤 勉、大坪 嘉行、相馬 亜希子

本学会発足の経緯やその変遷等については、学会HPの第4期会長挨拶に記しましたので、本稿では本学会の年会の在り方について考えてみたいと思います。上記の挨拶でも触れましたが、本学会が面白くて活きの良い学会(魅力的な学会)であるための鍵となるのは、

学会が「新鮮で、面白く、わくわくするような発表が聞けて、議論の中から新しい情報や知識を得ることができ、さらに新たな共同研究などの芽が生まれるような場になりうるか」ということではないかと思います。学会HPやニュースレターもそういった役割の一部を担いますが、その中心はやはり年会であり、最終的には、学会の魅力は「年会がどれだけ面白いか」に掛かっているのではないのでしょうか。そういった観点から、ここでは、年会の開催時期、年会での発表様式、年会運営、ワークショップの4点について、その現状や問題点、今後の方針などに関して少し所見を述べてみることにします。

(1) 開催時期について

現在の年会は毎年3月の初めに開催されています。これは本会の前身である「微生物ゲノム研究のフロンティア」からの流れですが、個人的には、この時期は入試・卒業関係の業務で忙しいため、もう少し余裕のある8月末から9月頃に開催したらどうかと考えていました。このことは3月の評議会でも議論して頂き、総会の挨拶でも触れたかと思います。その後、様々な関連学会の開催時期について改めて調査した結果、8月末から10月という時期は現在最も多くの関連学会が開催されている時期であり、3月初めは一種の学会空白期間になっていることがわかってきました。この結果を受けて、改めて役員の皆さんと議論した結果、8月末から9月頃への学会開催時期の移行案は取り下げることにしました。農芸化学・細菌学・薬学・藻類学会等は3月に開催されていますので、これらの学会に関係している会員の皆様には、3月初めの開催は、引き続き余分な負担を強いることとなります。実際、これらの学会とオーバーラップする領域からの参加者や発表が少ない(増えてこない)ように感じます。この点については、ワークショップ等のテーマに、これらの分野のトピックスを積極的に取り上げるなどの工夫も必要ではないかと考えています。

(2) 年会の運営体制

現在は、1人の会員の方に世話人(年会長)をお願いし、年会組織委員会(年会運営委員会)を組織して頂いて、そのサポートのもとで3日間の年会の企画と運営を行って頂いています。このスタイルを変更する

ことは難しいと思いますが、学会からの開催補助金については、年会長に経済面で過度の負担がかからないように増額等を検討する必要があるのではないかと考えています。将来的には、現在の学会費（一般会員が5,000円、学生会員が1,000円、機関・賛助会員が一口30,000円）を値上げすることも考える必要も出てくるかもしれませんが、この金額はできる限り維持したいと考えています。

年会の開催場所に関しては、東京周辺とその他の地域で1年おきに開催するという方針で進めてきました。実際には、この方針に合わせて、各地域の会員に年会長をお願いしてきました。基本的には、この方針を踏襲すべきと考えていますが、会員数・会場・参加者数（東京周辺の方が多くなる）などの問題があり、この原則を維持していくのは、案外難しい状況にあります。そのため、時には東京周辺で連続して開催するなど、これまでよりはもう少しフレキシブルな形が必要であろうと考えています。

（3）年会での発表様式

本学会は1会場で全ての口頭発表を行うというスタイルを維持してきました。これは本学会の大きな特徴であり、現在の会員数（約500名）が今後ある程度増加したとしても、可能な限り堅持していくべきと考えています。時間的な制約がありますので、これまでもポスター発表のショートトークなど、色々な工夫をしてきましたが、一般の口頭発表に関しても若干の工夫が必要かと思います。例えば、現状では希望者のほぼ全員が口頭発表を行っていますが、できるだけ面白い発表に時間を割くという意味でも、何らかのセクションを行うというのも1案かもしれません。前身の「微生物ゲノム研究のフロンティア」では、運営委員会の推薦者のみが口頭発表を行っていましたが、そのこともあって、気の抜けない発表が多かったように思います。セクション作業が年会組織委員会にとっては新たな負担となってしまいますが、より魅力的な年会にするための方策の1つとしても検討する価値があると考えています。

（4）ワークショップ

年会を魅力的なものとするためには、いうまでもなく、ワークショップの充実も重要です。これまで、各

世話人・年会実行委員会には、毎回、エキサイティングなワークショップを企画して頂きました。本学会の特徴は、基礎から応用まで、理学・医学・工学・農学・環境学・バイオインフォマティクス等の幅広い分野をカバーしていること、方法論的にも様々な研究手法を得意とする研究者が参加していること、若い研究者が多いことであり、さらに、次世代シーケンサーとその周辺技術も急速な進歩を続けています。こういった本学会の特性を最大限に活かして、従来の研究領域・学会の枠を超えたエキサイティングなワークショップを企画・実行していくことが、日本ゲノム微生物学会年会の大きなセールスポイントの一つであると確信しています。引き続き、魅力的なテーマ・演者でのワークショップを企画して頂けるように、執行部の実行委員会への積極的な参加など、学会としても支援していきたいと考えています。また、海外の研究者との交流・情報交換の場としてもワークショップは重要であり、常に海外の研究者の招聘も念頭に置いて企画を考えていく必要があると思います。来年の10周年記念国際シンポジウムのような例外的な企画は別として、継続的な海外の研究者との交流も大切であり、年会長・実行委員会の方々に様々な工夫をお願いすると同時に、この面からも年会開催補助費の増額等を検討したいと考えています。

以上、本学会の年会に関するいくつかの事項について若干の所見等を述べましたが、年会関連以外にも、男女共同参画関連の事項や若手の会に係わる事項等々、もう一工夫ができるところも多いかと思います。これらの点を含め、これからの2年余の期間、会員の皆様の幅広いご意見を伺いながら議論を進め、フレキシブルな学会運営に取り組んでいきたいと考えておりますので、多くのご意見をお寄せ頂ければ幸いです。特に、年会での議論のように若手研究者の皆様からの様々なコメント・アイデアを期待しています。私の年会等での態度が悪いのか（多分そうです）、時々怖がられてしまうこともあります。話せば、そんなに変なことはありません（と思います）ので、どうか気楽にお声かけをお願いします。

ゲノム微生物学分野の研究動向

リボソームRNAの変異体作成技術

北原 圭

(北大 理学研究院)

リボソームはあらゆる生物の細胞内に存在するタンパク質の合成工場である。原核生物のリボソームは、16S rRNAに21種類前後のリボソームタンパク質が結合してできる小(30S)サブユニットと、23S rRNA及び5S rRNAに35種類前後のリボソームタンパク質が結合してできる大(50S)サブユニットの2つの異なるサブユニットから構築されている。翻訳反応の際には、両サブユニットはmRNA上で会合し、70Sリボソームとして機能する。小サブユニットの役割は、mRNAのコドンとtRNAのアンチコドンが解読するのを正確にモニターすること、大サブユニットの役割はtRNAの3'(CCA)末端に結合したL-アミノ酸を順次重合させる反応(ペプチド転移反応)を触媒することである。翻訳反応は言うまでもなく生物にとって必要不可欠な反応であるため、リボソームの生物学的意義は明確である。その中でも、リボソームの主要構成分子であるrRNA(16S, 23S, 5S)の各遺伝子は全生物の共通祖先の誕生(あるいはそれ以前)から現在に至るまで全ての生物に必ず保持され続けてきた、最も高度に保存された遺伝子群である。ノーベル化学賞受賞者のSteitzらは、rRNAの起源はリボソームタンパク質の起源よりも古く、太古のリボソームはrRNAのみから構築されていたという大胆な仮説を提唱している[1]。

リボソームの機能を探る

リボソームの大小サブユニットの原子レベルでの結晶構造は、2000年前後に相次いで解明された。当初の結晶構造は高熱性細菌*Thermus thermophilus*や古細菌*Haloarcula marismortui*由来のものなどであったが、最近では大腸菌の70Sリボソームの高分解能の結晶構造も報告されている[2]。これらの構造生物学的知見は、それまでに蓄積された豊富な生化学的データと合わせ

て、翻訳反応の素過程におけるリボソームの機能を解明することに大きく貢献した。一方で、特に16S rRNA遺伝子の塩基配列は、原核生物の系統関係を推定する目的で多用される分子であるため、非常に多くの配列がデータベース上に登録されている。しかし、構造生物学的知見と生化学研究、およびrRNA遺伝子配列の多読により、リボソームの全貌が明らかになったとは到底いい難いと著者は考えている。例えば、rRNAのある部位の塩基が違う塩基に変異したらそのリボソームは機能や構造を維持できるのか、といったような基本的な問題ですら現状では推測することが(多くの場合)困難だからである。もちろん、より翻訳活性の高いrRNAを合理的に設計したりするようなことは現状では夢物語である。これは、rRNAの変異体研究が十分に進んでいないために起こる問題である。著者らはこれまでに、大腸菌をモデル生物として、rRNAの変異体作成によるリボソームの機能解析を行ってきた。このような研究により、rRNA遺伝子が配列を変異させ、リボソームの機能を保ちながら進化するメカニズム(進化能=evolvabilityと呼ぶ)を解明していきたいと考えている。そこで、以下に大腸菌をモデル生物としたrRNAの部位特異的変異株の構築法を紹介する。

rRNA遺伝子の部位特異的変異株作成方法

通常のバクテリアゲノムには複数コピーのrrnオペロンが存在するため、細胞内での変異rRNAの機能(フェノタイプ)を解析するためにはひと工夫必要である(意外と難しい)。また、rRNA遺伝子は生存に必須な遺伝子であることにも留意する必要がある。大腸菌rRNA遺伝子の変異株作成にあたっては、以下に挙げた手法(1)-(3)から各自の実験目的に最も合致するものを選ぶ必要がある。

(1) over-expression法(古典的な方法)[3, 4]

rRNAオペロン(rrnオペロン)をクローニングしたマルチコピーベクター(pKK3535など)を用いる。16S rRNA遺伝子に変異導入をする場合は、スペクチノマイシン耐性変異(C1192T)も同時に導入しておく。変

異ベクターを通常の(野生型*rrn*オペロンを有する)大腸菌株に導入し、変異16S rRNAを大量に発現させる。このとき、ゲノム由来の野生型16S rRNAも一緒に発現してしまうが、培地にスペクチノマイシンを添加すると野生型16S rRNAは機能しなくなるため、変異型16S rRNAの機能が大腸菌のフェノタイプに反映する。23S rRNA遺伝子に変異導入を行いたい場合は、チオストレプトン耐性変異(A1067T)あるいはマクロライド耐性変異(A2088G)を導入し、培地にチオストレプトンあるいはエリスロマイシンを添加することにより、野生型23S rRNAを機能できなくする。Moineらは、C1192T変異を導入した16S rRNA遺伝子を鋳型として、16S rRNAのリボソームタンパク質S8の結合部位3塩基にランダム変異を導入する実験を行った[3]。スペクチノマイシン含有プレートで生育したコロニー(すなわち、大腸菌細胞内で機能可能な配列を有する変異体)を選択したところ、野生型配列、大腸菌以外の生物が保有する配列に加え、天然の生物には見られない配列も取得された。興味深いことに、いくつかの非天然型配列は、野生型配列に引けを取らない翻訳活性を

有していたことを報告している。なお、生化学的な解析のために変異リボソームのみを大腸菌から精製することも可能である。プラスミドから発現させる変異rRNAの一部にストレプトアビジン結合アプタマーやMS2ステムループ配列を挿入しておき、変異リボソームのみをアフィニティー精製する手法が開発されている[5, 6]。

(2) O-リボソーム法

O-リボソームのOはOrthogonal(直行性)の頭文字をとったものである。合成生物学の研究者に近年人気上昇中のin vivo翻訳システムである(図1)。一般的に、mRNAの開始コドンの10塩基ほど上流にはAGGAGGのようなプリン塩基に富むシャインダールガルノ(SD)配列が存在する。一方、16S rRNAの3'末端にはSD配列と相補的なアンチSD配列(CCTCCT)が存在する。SD-アンチSDが特異的に塩基対を形成すると、mRNAの翻訳開始部位にリボソーム小サブユニットが配置される。mRNAのSD配列を変異させると、そのmRNAはほとんど翻訳されなくなることが知られている。しかし、16S rRNAのアンチSD配列を変異SD配

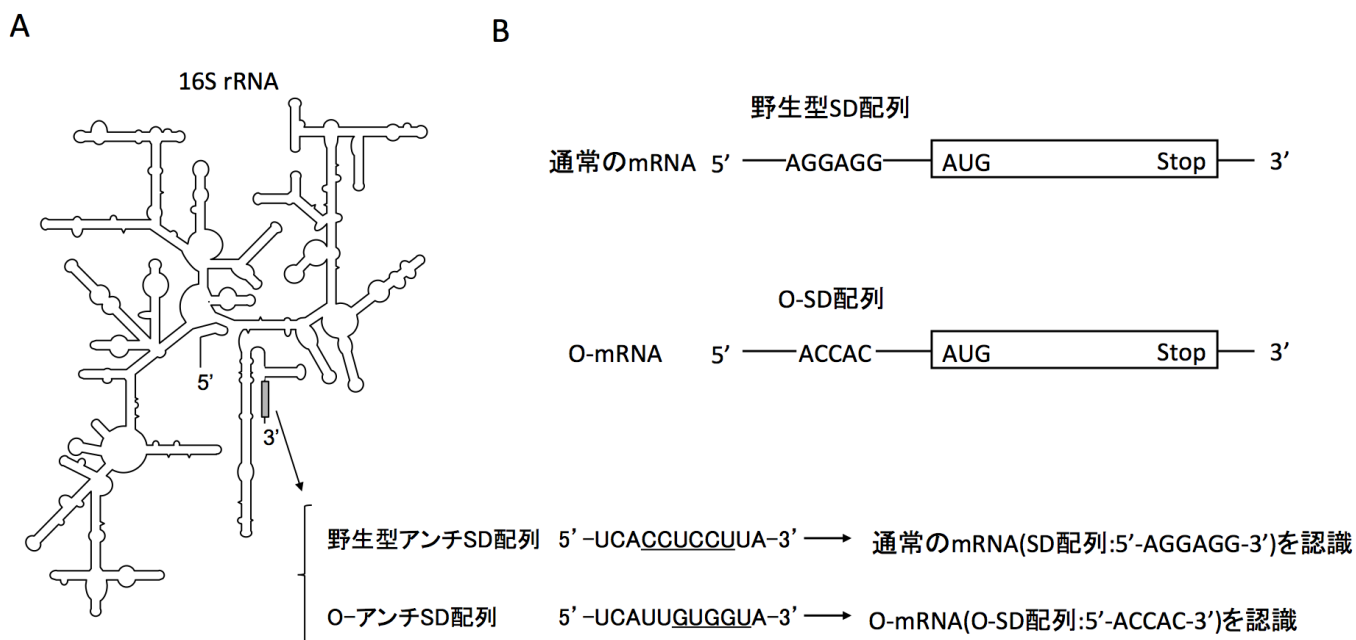


図1 O-リボソーム法 A) 16S rRNAの2次構造。通常16S rRNAの3'末端にはアンチSD配列(CCUCCU)が存在する。O-16S rRNAは、アンチSD配列をO-アンチSD配列(GUGGU)に変異させたものである。B) O-mRNAのコンストラクト。通常のmRNAには開始コドン上流にSD配列(AGGAGG)が存在する。O-mRNAには、O-16S rRNA中のO-アンチSD配列と相補的なO-SD配列(ACCAC)を導入している。O-mRNAは野生型16S rRNAを含有する30Sサブユニットにより翻訳されることはなく、O-16S rRNAを含有する30Sサブユニットのみに翻訳される。O-16S rRNAとO-mRNAは専用の発現ベクターが開発されている[7, 8]。

列と相補的になるよう変異させると、そのmRNAは特異的に翻訳されるようになる[7, 8]。なお、変異型SD配列のことをO-SD配列、O-SD配列を有するmRNAのことをO-mRNA、変異型SD配列のことをO-アンチSD配列、O-アンチSD配列を有する16S rRNAのことをO-16S rRNAと呼ぶ。すなわち、1つの大腸菌細胞内で通常のSDとアンチSDに支配される翻訳反応と、O-SDとO-アンチSDに支配される翻訳反応を独立して行わせることができる。これら2つの翻訳システムは、互いに混じり合うことがない直行(orthogonal)なシステムである。O-16S rRNAから構築された小サブユニットは大腸菌ゲノム由来のmRNAの翻訳は行わないため、いかなる変異を導入しても大腸菌の増殖に悪影響を与えることはない。これはすばらしいメリットである。例えば、Chinらは、O-16S rRNAに終結因子RF1と相互作用しにくくなる変異を導入することにより、アンバーコドンに割り当てた非天然アミノ酸を高効率で導入可能なりボソームを開発することに成功した[9]。Cunninghamらはクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼをレポーター遺伝子とした同様のシステムを用いて、16S rRNAの一部の配列(9塩基)を完全にランダム化し、クロラムフェニコールプレート上で機能配列のみを選択することに成功している[8]。しかし、このシステムの欠点は、O-SD配列と直接リンクした16S rRNA遺伝子にしか変異を導入できないという点であった。しかし最近、16S rRNA遺伝子の内部に23S rRNAの円順列変異体(注)を挿入することにより、16S rRNAと23S rRNAを1つの連続した分子として融合させることが可能であることが相次いで報告された[10, 11](図2)。融合型rRNA分子を有するリボソームは、カスタンネットが紐でつながれているように、大小サブユニットがRNAリンカーで連結される。すなわち、融合型rRNAの16S rRNA部位のSD配列をO-SDにすれば、23S rRNA部位も含めて完全にO-mRNAの翻訳専用のリボソームが作出可能である。この実験系を用いれば、これまで困難であったペプチド転移反応活性中心への変異導入が可能となるため、天然のリボソームではペプチド鎖への導入効率の低い非天然アミノ酸を効率よく重合可能なりボソームを開発することに寄与することが期待されている。

(注) rRNAは環状の2次構造を有するため、円順列変異(転写順序の変異)に対する柔軟性が極めて高い

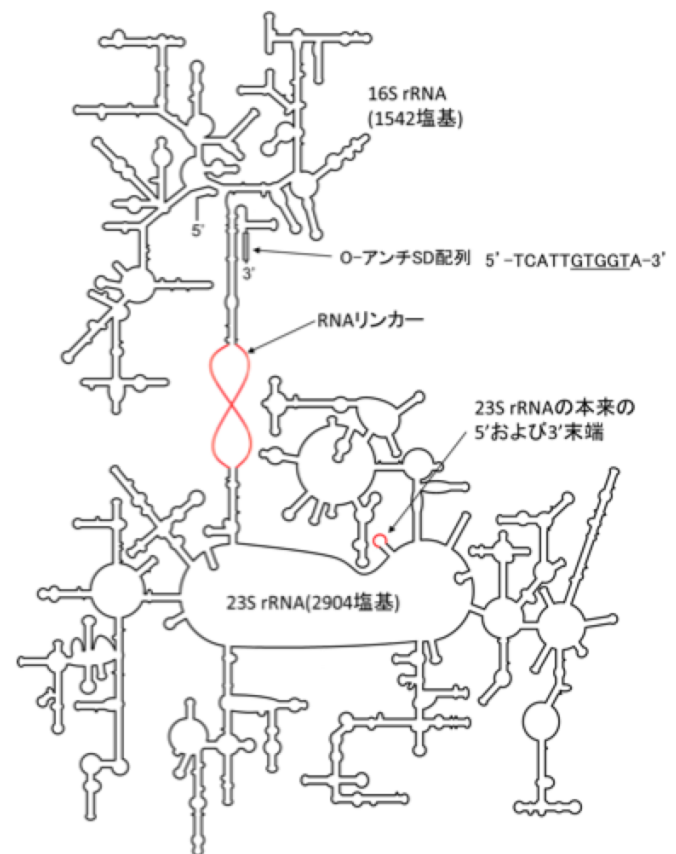


図2 融合型rRNA分子 16S rRNAの内部に23S rRNAの円順列変異体を挿入したもの。16S rRNAと23S rRNAは赤線で示したRNAリンカーにより連結している。23S rRNAの本来の5'末端と3'末端は短いリンカーにより連結している。この融合型rRNA分子のアンチSD配列をO-アンチSD配列に置換すると、出来上がった70Sリボソームは図1Bに示したO-mRNA(O-SD:ACCAC)を翻訳可能になる。融合型rRNA分子の発現ベクターは、2つのグループにより最近開発された[10, 11]。

分子である。大腸菌の16Sおよび23S rRNAに人工的に円順列変異を導入しても、リボソームのアッセンブリー(分子集合)効率はほとんど悪化しないことが示されている[12]。興味深いことに、繊毛虫テトラヒメナのミトコンドリアでは、大サブユニットrRNAは280塩基の α 鎖と2315塩基の β 鎖の2本から構成されており、それぞれは大腸菌23S rRNAの5'側と3'側に相同である。しかしそれらの遺伝子は、 β 鎖が上流に存在し、その下流に α 鎖がコードされている[13]。これは、rRNA遺伝子の円順列変異が天然の生物でも見ら

れることを示す例である。なお、 β 鎖と α 鎖は一続きに転写された後にRNaseでプロセスされ、リボソームに取り込まれるようである。

(3) 大腸菌 $\Delta 7$ *prn*株を用いた変異株作成法

rRNAの変異株作成のためには、古細菌 *Halobacterium halobium* のように *rrn* オペロンを1コピーしか保有しない微生物が用いられることがある[4]。このような生物を用いることにより、rRNA遺伝子の点突然変異による抗生物質耐性変異体が多数発見されてきた。しかし、非モデル生物では培養に時間がかかる上に、人工的な遺伝子操作が難しいという問題があった。 $\Delta 7$ *prn*株とはモデル生物である大腸菌のゲノムに存在する7つの *rrn* オペロンを全てノックアウトした株の総称であり、Squiresらが開発したもの(TA647[14])とQuanらが開発したもの(SQ171[15])などが存在する(注：枯草菌[16]や酵母[17]でも同様の株が作成されている。)。 $\Delta 7$ *prn*株では、ゲノム上の *rrn* オペロンが欠失しているものの、野生型 *rrn* オペロンをクローニングした相補ベクターを保有しているので生育が可能である。rRNA遺伝子を変異させるときは、相補ベクターとは薬剤耐性が異なる *rrn* 発現ベクターに変異を導入(例えばQuick Change mutagenesisを用い

る)し、それを相補ベクターと入れ替えることにより、変異 *rrn* のみを有する大腸菌株を構築できる。本実験系のメリットは、野生型rRNAを完全に排除し、変異型rRNAのみを有する大腸菌株を作成可能であるところである。また、相補ベクターにカウンターセクション用のマーカー(例：ショ糖存在下で致死となる *sacB*)をあらかじめ導入しておけば、機能を持たない配列を有する大腸菌を死滅させることが可能である。例えば、KT101株(図3)は、SQ171をベースに *rrnB* オペロン、*sacB*、アンピシリン耐性遺伝子をコードした相補ベクター(pRB101)を導入している[12]。KT101株では、ショ糖プレート上での大腸菌の生死により変異rRNAの機能の有無を判断できるほか、増殖速度の大小から機能性変異体の翻訳活性を効率的に推定できるようになった。なお、変異型rRNAの翻訳活性が野生型のものと比較して9.7-22.0%以上であれば、 $\Delta 7$ *prn*株の増殖は相補可能であることが経験的に示されている(Kitahara et al., 投稿準備中)。

rRNA遺伝子の水平伝播能の実験的検証

著者らは、(3)で記載したKT101株の実験系を利用して、バクテリアの16S rRNA遺伝子が異なる綱(class)間における水平伝播能(和合性)を有していることを実験的に証明した[18]。16S rRNA遺伝子の塩基配列を用いた分子系統樹は全生物の系統関係と強く相関すると考えられている。16S rRNAは20種類以上のリボソームタンパク質等と複雑に相互作用しており、それらの相互作用は特異的に共進化する関係にあると考えられていた。すなわち、あるバクテリア由来の16S rRNA遺伝子が異種のバクテリアに水平伝播しても、リボソームタンパク質との相互作用がうまくいかないために、リボソームとして機能することは極めて起こりにくいと考えられていたのである。しかしながら、16S rRNA遺伝子断片の水平伝播は少なくとも異なる

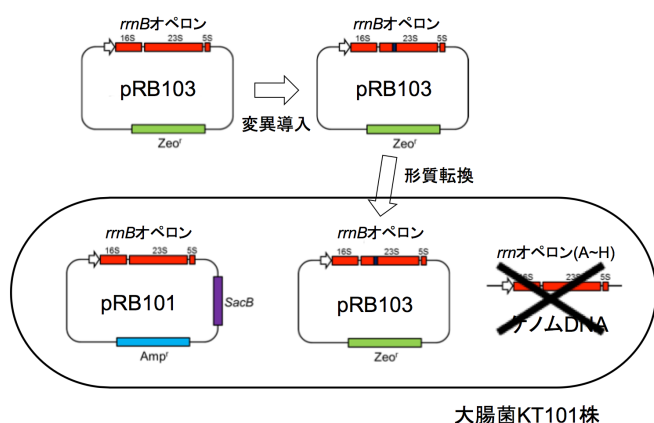


図3 大腸菌KT101株を用いたrRNAの変異株作成法 KT101はゲノム上に7コピー存在する *rrnA-H* オペロンを全て欠失させた大腸菌株であり、*rrnB* オペロン(16S rRNA, 23S rRNA, 5S rRNAの各遺伝子を含む)全長を有する pRB101ベクター(AmpR, *sacB*, pSC101 ori)により生育が相補されている。同じく *rrnB* 全長を有する pRB103ベクター(ゼオシンR, pSC101 ori)に任意の変異を導入したものを作成し、KT101株に導入する。まず、LB+ゼオシンプレートで増殖したコロニーを少量の液体培地に懸濁し、それをLB+ゼオシン+ショ糖プレートに5 μ lほどスポットする。pRB103に導入した変異が機能可能であれば、*sacB*を有するpRB101が大腸菌から排除され、変異 *rrnB* オペロンのみを有する大腸菌が増殖する。なお、*sacB*はカウンターセクションマーカーであり、ショ糖存在下で大腸菌は致死となる。

種間では時々発生しており、その結果キメラ16S rRNA遺伝子が創出されることが知られている。著者らの研究では、海水、土壌、発酵食品等のメタゲノム由来16S rRNA遺伝子ライブラリーを作成し、その中から大腸菌で機能可能な配列を、KT101株を用いて選択した(図4)。その結果、大腸菌16S rRNAは、大腸菌とは異なる綱に属するベータプロテオバクテリア由来の配列とも置換可能であることが明らかとなった。興味深いことに、大腸菌の配列と置換可能な配列(33クローン)を比較すると、1542塩基中628(40.7%)もの塩基に変異が存在可能であることが判明した。その内133塩基はリボソームタンパク質との結合部位を構成する塩基であった[18]。この結果は、rRNAとリボソームタンパク質との相互作用は、rRNA遺伝子が綱レベルで異なるバクテリア間で水平伝播するのを妨げるほどの特異性はないことを意味している。すなわち、我々の研究からは、16S rRNA遺伝子は少なくとも綱レベルで異なるバクテリア間を水平伝播することが理論的に可能であることを示唆している。それではrRNA遺伝子の進化の過程で水平伝播はどの程度の頻度で生じていたのだろうか？この件に関しては未だ系統的な研究がなされていない。今後の研究の進展により、進化の過程において原核生物の16S rRNA遺伝子がどのよう

に進化してきたのか、水平伝播の存在も考慮した全体像の解明が期待される。

おわりに

rRNAあるいはリボソームの変異体解析は、既に多くの研究がなされている分野であると根拠なく思い込んでいる専門家も多い。しかし、本稿で紹介したように、rRNAの変異株作成には一筋縄ではいかない技術が必要であるため、研究はほぼ手つかずといっても過言ではないかもしれない。試験管内で変異rRNAを転写合成して、リボソームタンパク質と混合することによりリボソームサブユニットを再構成する手法も存在するが、この手法ではRNAの転写後修飾が不可能であったり、出来上がったリボソームの活性が著しく低かったりするなどの技術的課題が多い。大腸菌を用いた変異株作成技術は、rRNAの機能や進化能を解明するためのみならず、高活性なりボソームをデザインにより作出するための研究にも今後ますます需要が高まるものと思われる。著者らは、上述した16S rRNAの水平伝播実験の際に、16S rRNAはリボヌクレアーゼIの特異的インヒビターであるという予想外の知見を得ることができた[19]。バクテリアは乾燥重量の25%を占め

16S rRNA遺伝子配列

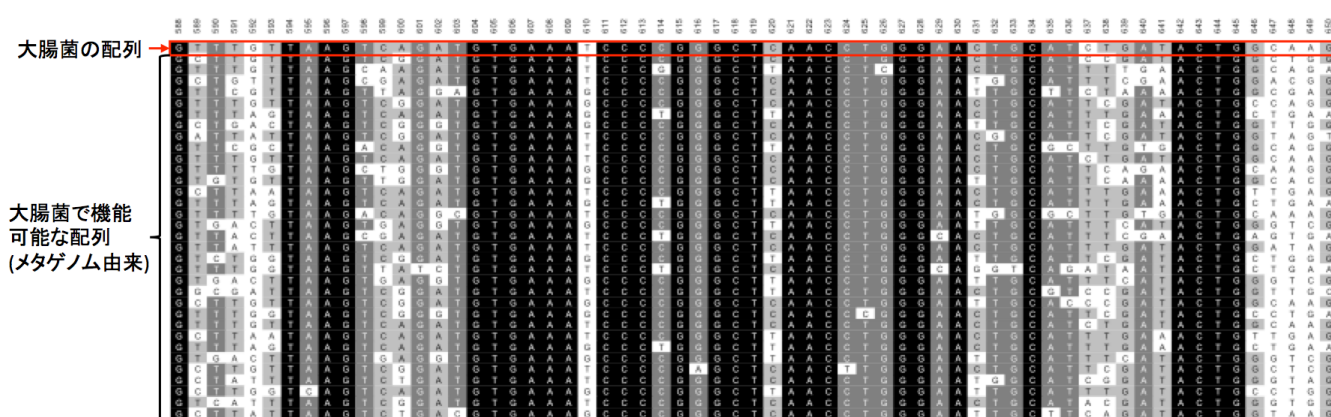


図4 16S rRNA遺伝子の水平伝播能 様々な環境由来の微生物メタゲノムから16S rRNA遺伝子のほぼ全長を増幅し、pRB103の相同部位と置換することにより、大腸菌KT101株(図3参照)で機能可能な配列を選択した [18]。ここでは、リボソームタンパク質S8と相互作用することが知られているヘリックス21領域(G588-G650)のマルチプルアライメントを示した。リボソームタンパク質との相互作用部位であるにもかかわらず、メタゲノム由来の配列は多様性を示した。

るリボソームの生合成のために膨大なエネルギーを消費している。rRNAにはリボソームの部品としての機能のみでなく、翻訳外の様々な機能も持ち合わせているとしても何ら不思議ではない。rRNAの翻訳外機能の解明という新しい観点からも、さらなる研究が進むことが期待される。

参考文献

1. Moore, P.B. and Steitz, T.A. *Nature*, 418, 229-235 (2002).
2. Noeske, J. et al. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 22, 336-341 (2015).
3. Moine, H. et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 97, 605-610 (2000).
4. Green, R. and Noller, H.F. *Annu. Rev. Biochem.*, 66, 679-716 (1997).
5. Terasaka, N. et al. *Nat. Chem. Biol.*, 10, 555-557 (2014).
6. Golovina, A.Y. et al. *Biochimie*, 92, 914-917 (2010).
7. Rackham, O. and Chin, J.W. *Nat. Chem. Biol.*, 1, 159-166 (2005).
8. Lee, K. et al. *RNA*, 2, 1270-1285 (1996).
9. Wang, K. et al. *Nat. Biotechnol.*, 25, 770-777 (2007).
10. Orelle, C. et al. *Nature*, 524, 119-124 (2015).
11. Fried, S.D. et al. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 54, 12791-12794 (2015).
12. Kitahara, K. and Suzuki, T. *Mol. Cell*, 34, 760-766 (2009).
13. Heinonen, T.Y. et al. *J. Biol. Chem.*, 262, 2879-2887 (1987).
14. Asai, T. et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 96, 1971-1976 (1999).
15. Cruz-Vera, L.R. et al. *Mol. Cell*, 19, 333-343 (2005).
16. Yano, K. et al. *Microbiology* (2015).
17. Oakes, M. et al. *J. Cell. Biol.*, 143, 23-34 (1998).
18. Kitahara, K. et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 109, 19220-19225 (2012).
19. Kitahara, K. and Miyazaki, K. *Nat. Commun.*, 2, 549 (2011).

ニュースレター編集委員より

会員が書いた原著論文を紹介するためのコーナーを、ニュースレター内に設けることといたします。

- (1) ニュースレター編集委員に宛てて、概ね2年以内に国際誌に掲載された論文の紹介記事をお送りください。
- (2) 紹介記事は全角200字程度をお願いします。掲載論文のタイトル、ジャーナル、年、巻、号、ページと併せてお送りください。
- (3) 編集委員により掲載記事を選ばせていただきます。掲載に至らない場合もあるかもしれませんがあらかじめご了承ください。
- (4) 紹介記事の中から、詳細記事をお願いする場合がありますのでご了承ください。

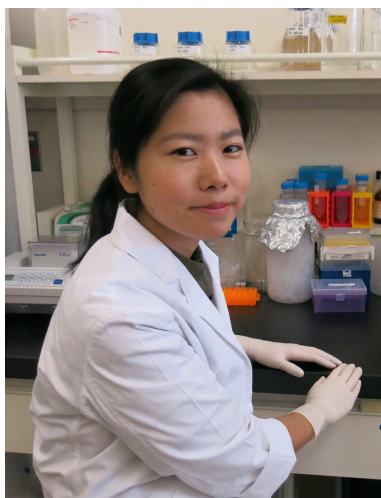
大学院生として学会に参加して

日本ゲノム微生物学会若手の会 に参加して

大盛佐和子

(筑波大院・生命環境科学研究科 M1)

私は筑波大学の連携大学院の学生であり、産業技術総合研究所の研究室に所属し研究を行っています。研究テーマは『マイコプラズマの全ゲノムクローニング』です。微生物はゲノム中に散在する多数の遺伝子が連動して発現する機能を持っています。その



機能は、従来の小さなDNA断片をクローニングして発現させる手法では解析ができません。そこで私は、微生物のゲノムをまるごとクローニングし、他の微生物に移植し発現させることでその機能を解析する手法の開発を行っています。

私は微生物生態学会から届いた日本ゲノム微生物学会若手の会の案内メールにより、この会を知りました。私は微生物のゲノムに関わる研究を行っているの、この会に興味を持ち、指導教員である柿澤茂行さんにこの会のことを知っているか聞きました。すると、過去に参加したことがあるそうで、参加を勧められました。一人で参加するのは心細いので、同じ研究室のD2の方を誘いましたが日程が合わず、結局一人で行くこととなりました。

私の所属する産業技術総合研究所の研究室にはNGS解析を行なっている人が何人かいますが、私自身はNGSを使った経験はなかったため詳しい知識をもっていないのでした。しかし、今回の若手の会ではNGS解析についての理論や解析の流れ、用いる機器の特徴

など、様々なことを学ぶことができました。そのおかげで今後NGSの発表を聞く時や実際に自分でNGS解析を行う際に、今回得られた知識が役立つと思われます。

また、企業の方々にはPacBioの利点や活用方法、アセンブリに用いるソフトウェアの利用方法、NGS解析の活用方法や受託サービスについてご講演いただきました。基本的なことから丁寧に解説をしてくださったおかげで、他の発表をより深く理解することができました。

招待講演では植物のNGS解析についてお話しいただき、微生物のゲノム解析とは異なる視点の話を聞くことができました。また、もう一つの招待講演では極限環境微生物についてお話しいただきました。双方ともに、研究手法について勉強になっただけでなく、知的好奇心をくすぐるような研究で、大変興味深かったです。

私はショートトークで自分の研究内容を紹介させていただきました。その話を聞き、興味を持った他の大学の学生さんが休憩時間に話しかけてくれました。その中でも、立教大学の方々は人工環状ゲノムや無細胞クローニングの研究を行っており、ゲノムのクローニングについて語り合うことができ嬉しかったです。

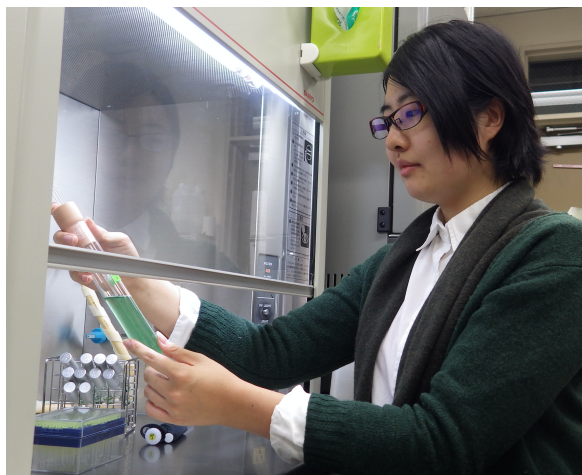
懇親会では、発表しなかった学生や先生方の自己紹介を聞いたり、休憩時間の話の続きをしたり、先生方と研究やその他のことについて話したりしていたら、あっという間に時間は過ぎ、日付が変わっていました。

この若手の会は、参加人数が多すぎず宿泊もしたので、参加者皆と話すことができ親密になりました。また、普段中々お話しすることができない先生方とも気を張らずにお話しすることができました。研究所の所属という立場上、同世代との交流が少ないので、この会で知り合ったり話したりすることができて良かったです。皆、面白い研究を行っていたので刺激をうけ、私も研究を頑張り良い結果を出したいと思いました。その暁にはゲノム微生物学会本会で発表させていただきたいと思います。

日本ゲノム微生物学会若手の会 に参加して

片山 瑳紀

(首都大学東京 学部4年)



ご縁があり2015年9月28、29日の2日間に行われた第12回日本ゲノム微生物学会・若手の会研究会に参加させていただきました。私はショートトークの発表を行いましたが、はじめての学外での発表ということもかなり緊張しており、2分間の短い発表ではありましたがとても長い時間に感じました。しかし発表が終わると、残りの発表や懇談会の時間は興味深く聴いているとあっという間で、いつの間にか2日間が過ぎていました。

私は4月に研究室に入ったばかりで、現在はシアノバクテリアの分化細胞の空間的パターン形成についての研究を行っています。今回の若手の会にシアノバクテリアを扱っている方が参加しているかどうか定かではなかったので、果たして自分の発表に興味を持ってくれる方がいらっしゃるだろうか、そもそも2分間にきちんと研究内容を伝えられるだろうか...と、今振り返ると考えすぎだろうと思うほど不安になっていました。

しかし、夜の懇談会になると、他大の先生方やマスター・ドクターの先輩方が次々とお話を聞きに来て下さり、こんなに自分の研究の話を人にしたのは初めて

なのでは？と思うほど沢山の方と交流が出来ました。また、シアノバクテリアを扱っている方からは具体的な実験のアドバイスも頂き、今後の研究の上で非常に有用なお話を聞くことが出来ました。

そして、今回の若手の会で自分が期待していたこととして、他大学の同年代の方がどんな研究を行っているのかを聞きたい、ということがありました。幸い今回の会には学部4年生が思った以上に参加していました。実際の研究の内容はもちろん、研究室に入りたてで苦労したこと、自分で実験を始めていくにつれて気づいたことなど、話は尽きずとても楽しい時間を過ごすことができました。

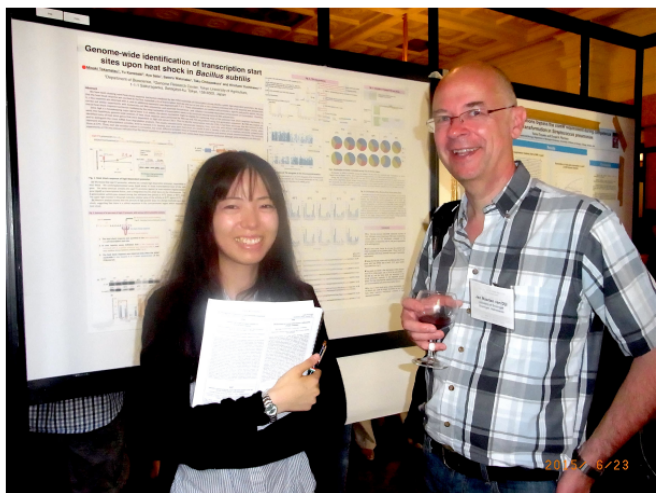
若手の会に参加する以前は、まだ研究室に所属して期間も浅く、院生の方々に比べて知識も足りない学部4年生の自分が、いきなり学会に参加してなにか得られるものがあるのだろうか？という思いがありました。しかし今回の学会参加を通して、新たな知見を得るにも、また自分の研究のモチベーションを高めるためにも、普段接することのない外部の方々と交流することは非常に重要であると感じました。この経験を自分の研究にも活かし、皆さんに面白い！と思ってもらえるような成果を出せるよう日々精進していこうと思います。また、次回の若手の会はもちろん、色んな学会に積極的に参加していこうと思いました。

初めての海外発表を経験して

高松 美沙樹

(東京農業大学大学院・農学研究科 M1)

私は今年の6月にイタリアで開催された第8回 International Conference on Gram-Positive Microorganismsに参加し、ポスター発表をさせていただきました。今まで海外に行ったことがなく、さらに学会発表の経験自体が2度目だったので緊張の連続でした。今回の学会では病原菌を含め多くのグラム陽性菌



発表のポスターの前でJan Maarten van Dijk博士と共に。
貴重な助言と励ましの言葉を頂きました。

種を用いた研究発表を聞くことができました。日本の学会ではグラム陽性菌といってもここまでいろいろな菌種が扱われていなかったもので、様々な国の大学や研究機関からたくさんの人が参加していることが実感出来ました。私は枯草菌を用いた研究をしているのですが、同じ枯草菌でも知っているものとは全く異なった手法で行われている研究が多く、国際学会に参加して初めて「こんなやり方もあるのか」と参考になりました。

私は今回枯草菌の熱ショック応答と転写開始点の塩基の関係を解析した結果を発表しました。既に所属研究室において、SigA依存プロモーターを用いた実験により、転写開始点の塩基によって熱ショック応答のレベルが異なり、プリン塩基であるアデニンとグアニンの時に強く応答することが見出されていました。そこで転写開始点の塩基と熱ショック応答の関係をゲノムワイドに検証するためにTSS (Transcription start site)-seq法を枯草菌に初めて適用してみました。TSS-seqは、細胞からRNAを抽出し、その5'末端がトリリン酸以外のRNAを分解してからアダプターを付加することでRNAの末端の位置を同定するという手法です。枯草菌ゲノムの転写開始点の塩基はアデニンとグアニンが多いことは以前から知られていました。今回TSS-seqにより熱ショック時の転写開始点を網羅的に解析することにより、熱ショック応答を示す遺伝子の転写開始点においてはプリン塩基の割合がより多く、80%以上であることが分かりました。枯草菌の熱ショック

応答遺伝子は、その多くの遺伝子の応答機構が謎に包まれていましたが、今回の研究でSigA依存プロモーターに内在する「転写開始点のプリン塩基に応じた熱ショック応答機構」によって、その大部分を説明できるのではないかと考えています。さらに今回得られた枯草菌の転写開始点から開始コドンまでの距離の分布を調べたところ、26-50 bpと301-500 bpにピークを持つ2つの山が検出されました。前者はその間隔が狭いため栄養増殖期に働く、転写因子に依存しない強い遺伝子のプロモーターを反映しており、間隔の広い後者は転写制御因子が結合する等、調節領域を含むプロモーターと考えられました。

発表前はどのように話せば良いのかとドキドキしていましたが、いざ始めると多くの方がポスターを見に来て下さり、海外の方からいろいろと質問してもらったり、細かい解析に対する意見を頂いたり、さらには「頑張っ」などと激励して下さいました。多くの方が私たちの網羅的な解析結果に対して好意的に評価してくれました。私は今まで機能のメカニズムにばかり目が向いていました。しかし、熱ショックによって転写量が劇的に上昇するプロモーターを工業的に利用出来ないかといった応用面からのコメントも頂き、自分にはない視点からの意見だったので新鮮に感じました。しかしながら、もっと英語が上手く話せればなどともどかしい部分も多々ありました。ポスターを見に来て下さった方々に、実験操作の詳細や苦労した点をもっと明確に伝えたいと強く感じました。一方、他の発表者のポスターについては、これまでの研究経験から、その図表等は理解することができました。また、私の行った研究と近い内容のポスター発表もあり、着目点を同じくする研究者が世界にはいるということに忘れてはいけないと実感しました。海外での発表ということで国内の学会とはまったく違った刺激があり、とても貴重な経験になりました。



ゲノム微生物学会若手の会報告

阿部 貴志

(新潟大院・自然科学)

本年度の日本ゲノム微生物学会若手の会は、2015年9月29日～30日の2日間にわたり、東京都八王子市の「八王子セミナーハウス」にて開催されました。本研究会は、微生物研究の次世代を担う若手研究者の交流と情報交換の場を提供し、関連研究の普及と発展に貢献することを目的に設立されました。「ゲノム」と「微生物」をキーワードに、実験系・情報系を問わず、様々な研究者が集まり、お互いの研究の背景、基盤技術、研究データを紹介し、活発に議論を行うことで、各自の実験手法や知識の向上や新たな研究者ネットワークの構築を目指しています。



八王子セミナーハウスでの公演風景

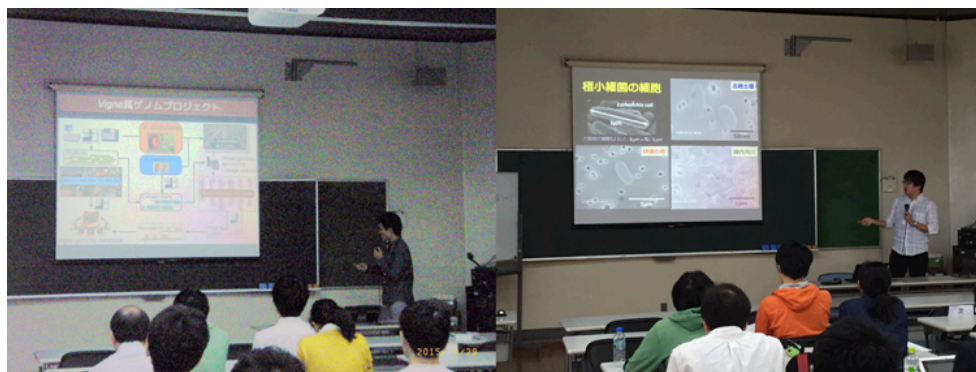
毎年9月に開催されている本研究会は、今年で9回目を迎えるまでになっております。本年度は、阿部（新潟大）を代表として、鈴木治夫さん（慶応義塾大）、

広瀬侑さん（豊橋技大）、得平茂樹さん（首都大）、相馬亜希子さん（千葉大）の5名の世話人で担当させて頂きました。今年の参加者は64名にのぼり、若手の会らしく、参加の半数以上が学生でした。今回からの新たな試みとして多くの方に発表機会を設けるために、一般発表は口頭発表に加え、ショートトークも設けました。一般発表演題数として27題（口頭発表15題、ショートトーク12題）が採択され、いずれも制限時間いっぱいまで質疑応答が行われました。学生の参加者にも積極的に発表して頂くことで、若手の会ならではの打ち解けた雰囲気の中で、より深い議論が行われるとともに、実験系研究者と情報解析研究者が一同に会する本研究会の利点でもある異なる知識や技術を持つ研究者同士の忌憚のない意見交換によって各自の研究の発展や質の向上は勿論のこと、新規なアイデアの創出にも生み出す場にもなったことと思います。

今年は、招待講演として、農業生物資源研究所の坂井寛章博士による「Vigna属ゲノムプロジェクト：アズキとそのなかまたちは世界を救えるか!？」と、国立遺伝学研究所の中井亮佑博士による「辺境微生物ゲノムからみえてきたもの」の講演が行われました。坂井博士には、塩や酸性、アルカリ性、乾燥など、様々なストレス環境に適応した野生種が数多く存在するVigna属に着目し、そのゲノム情報を活用した研究基盤の確立に向けたゲノムプロジェクトの道のりとそのゲノム情報を活用した研究事例について、大規模ゲノムプロジェクトにおける苦労話も交えてご講演頂きました。中井博士には、サハラ砂漠を初めとする様々な辺境環境で収集したサンプルから単離された極小細菌の謎の解明に向けた研究に加え、2014年12月から2015年2月まで参加された南極観測隊での苦労話も交えてご講演頂きました。共に、普段、聞く機会の少ない研究への取り組み方やその

苦労話をご講演頂き、学生のみならず、参加者全員にとって興味深い講演になったと思います。

また、世話人企画として、「ここにつまずく！NGS！～wetからdryまで～」と銘打ち、ゲノム解析センターにて次世代シーケンサの運用・解析



招待講演者の公演風景(右: 坂井博士、左: 中井博士)

に携われ、多くの微生物ゲノム解析プロジェクトに参加されている東京農大の兼崎友博士、慶応義塾大学の須田瓦博士、豊橋技大の広瀬侑博士に、通常での学会発表ではなかなか聞けないNGS解析での実験や解析での注意点や苦労話などを含めて、ご講演頂きました。これまでの多大な経験に裏付けられたご講演は、これから次世代シーケンサを用いた研究を行う可能性の高い若手研究者をはじめ多くの参加者にとって、有益な講演になったと思います。

協賛企業によるセミナーとして、トミーデジタルバイオロジー株式会社より「PacBio RSII 超超ロングリードシーケンサーを使ってあなたの夢を実現しよう!」、株式会社キアゲンより「CLC Genome Finishing Module による高速PacBioアセンブリとフィニッシング」と「CLC Microbial Genomics Moduleを使ったメタゲノム解析とタイピング」、および、株式会社ジナリスオミックスより「微生物ゲノム研究における次世代シーケンサーの有効活用」というタイトルでご講演頂き、日進月歩で性能・機能向上する次世代シーケンサについての最新の技術動向や解析について様々な観点からご紹介頂きました。講師の方々には交流会にもご参加頂き、活発な意見交換がなされ、有意義なセミナーであったと思います。

一日目の夜には恒例の交流会が催され、各々の立場や専門分野にとらわれず、気さくで楽しい雰囲気の中、情報交換や今後の研究や進路について、深夜まで活発な議論が重ねられていました。今年は、参加者同士での自己紹介やショートトークで発表された方々に対する質問タイムなどを設けることで、交流会でも多くの人的ネットワークが構築されたのではないかと思います。

若手の会研究会の開催にあたっては、日本ゲノム微生物学会から後援を頂いております。この場をおかりして、会員の皆様に御礼申し上げます。また、世話人独自で協賛企業を募り、12社の企業から協賛を頂きました。これらのご支援により、参加経費（会費、宿泊費、食費交流会費含む）を社会人10,000円、学生4,000円と破格の金額に抑えることができました。さらに、発表学生には、参加経費の半額の補助も行うことができ、費用面でも若手研究者が参加しやすい会にすることができました。

今年も皆様のご指導・ご協力により有意義な会になりました。来年は、10回目を迎え、これまで以上に、若手の会の使命を鋭意検討し、ゲノム微生物学会若手の会だからこそできることの実現に向けた様々な改革を、世話人はじめ、多くの方にご助言をいただきながら、議論・実現していきたいと考えています。今後とも、会員の皆様のご支援・ご指導を頂きますよう、何卒よろしくお願い申し上げます。来年度は、慶応義塾大の鈴木さんを代表とし、これまでの3名の世話人（広瀬さん（豊橋技大）、得平さん（首都大）、阿部）に加え、新たに、門屋亨介さん（北海道大学）、高田啓さん（立教大学）の2名を迎えた6名で世話人を努めさせていただきます。来年度も同様の時期に、東京近郊での開催を検討しておりますので、皆様と第10回若手の会にて、活発な議論を行えることを楽しみにしております。

日本ゲノム微生物学会若手の会HP

<http://bioinfo.ie.niigata-u.ac.jp/MicroWakate/>



第9回若手の会参加者による記念撮影

第10回日本ゲノム微生物学会年会

第10回日本ゲノム微生物学会年会および10周年記念国際シンポジウムを以下の要領で開催いたします。
会員の皆様、どちらも奮ってご参加下さい。

【第10回日本ゲノム微生物学会年会】

開催期間：平成28年3月4日（金）～6日（日）

開催場所：東京工業大学大岡山キャンパス（東京都目黒区大岡山2-12-1）

【日本ゲノム微生物学会10周年記念国際シンポジウム】

開催日：平成28年3月6日（日）

開催場所：東京工業大学70周年記念講堂（大岡山キャンパス）

主な招待講演者：

Stefan Bentley博士（Sanger Centre）

Ethan Lan博士（National Chiao Tung Univ.）

James M. Tiedje博士（Michigan State Univ.）

Cisca Wijmenga博士（Univ. Groningen）

Kelly Wrighton博士（Ohio State Univ.）

第10回の節目の年会および国際シンポジウム、世話人一同皆様のお越しを心からお待ちしております。
年会の詳細につきましては、専用のホームページ(<http://www.aeplan.co.jp/sgmj2016/>)をご覧ください。

第10回日本ゲノム微生物学会・年会長 黒川 顕（東京工業大学）
日本ゲノム微生物学会10周年記念国際シンポジウム・大会長 久原 哲（九州大学）

学会の現況

学会役員（敬称略）

会長：林哲也

庶務・会計幹事：黒川顕、仁木宏典 集会幹事：板谷光泰、大島拓 広報幹事：中村保一、佐々木裕子

ニュースレター幹事：佐藤勉、相馬亜希子、大坪嘉行、中村保一 男女共同参画幹事：板谷光泰、佐々木裕子

評議員（会長推薦を含む）：饗場浩文、朝井計、飯田哲也、池内昌彦、大西康夫、小椋義俊、加藤潤一、久原哲、小林一三、田中寛、津田雅孝、南澤究、吉川博文（評議会議長）、吉田健一、和地正明、内藤真理子、應蓓文、桑原知己、石川周

会計監査：有田正規、野尻秀昭

会員の動向

会員数 481 名（平成27年5月28日現在）

一般会員 349名；学生会員 113名