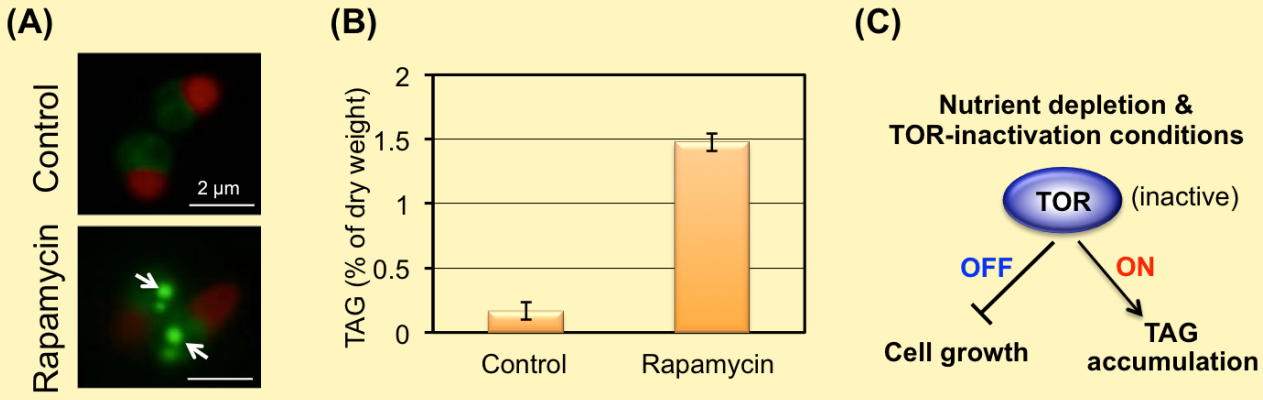
日本ゲノム微生物学会 ニュースレター

藻類オイル生合成のチェックポイント酵素TORキナーゼ

今村　壮輔、田中　寛（東京工業大学・化学生命科学研究所）



(A) ラパマイシン感受性 *C. merolae* F12 株 にTOR阻害剤ラパマイシンを添加し、中性脂質を特異的に染色する蛍光色素BODIPYで染色した画像。ラパマイシンを添加することで、細胞内に油滴（図中の矢印）の形成が誘導される。赤色は葉緑体の自家蛍光。
(B) ラパマイシン添加時の細胞内TAG量の変動。ラパマイシン添加条件では、TAG量がコントロール条件に比べて約９倍に上昇している。
(C) TOR によるTAG合成制御のモデル図。

持続可能なエネルギー生産系の一つとして、微細藻類を用いたオイル生産が注目されている。単位面積あたりのバイオマス生産性が高い、食糧と競合しない、などの利点がその理由である。微細藻類は一般に、窒素などの栄養欠乏条件下で、トリアシルグリセロール（TAG）を主とする油脂を蓄積することが知られているが、実はその制御機構の基盤的理解は進んでいない。

我々は、酵母や動物において、窒素を含む種々の栄養量の感知とその応答に中心的な働きをしているタンパク質リン酸化酵素 TOR (target of rapamycin) とTAG蓄積との関係に着目して研究を行っている。興味深いことに、TORの活性をその特異的な阻害剤ラパマイシンにより阻害した結果、栄養充足条件であるにも拘らず、TAGの細胞内蓄積の誘導が観察された（上図AとB）。このTOR不活性化条件でのTAG蓄積は、単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* でも単細胞緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* でも観察されたことから、真核藻類一般に引き起される現象であると考えられる [Imamura *et al*. (2015) Plant Mol. Biol.]。

栄養充足条件においてTORは、細胞増殖を促進する機能を担っていることが知られている。従って、TORは栄養源の有無により、細胞増殖を促進するのか、それともエネルギー貯蔵分子としてTAG生合成を誘導するのかを切り替える“チェックポイント酵素”として機能していることが考えられる（上図C） [Imamura *et al*. (2016) Plant Signal. Behav.]。

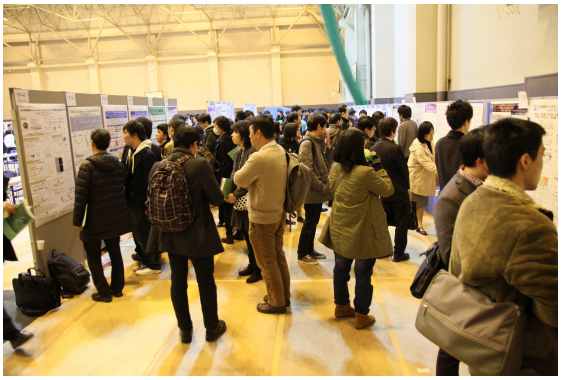
第10回日本ゲノム微生物学会年会を終えて

黒川　顕

東京工業大学・地球生命研究所

日本ゲノム微生物学会第10回年会を、2016年3月4日(金)~5日(土)の2日間、東京工業大学(東京都目黒区)にて開催致しました。事前登録者276名、当日参加者145名、合わせて421名という参加者を得て、盛況のうちに終えることが出来ました。組織委員として林哲也学会長含め本学及び関東近郊の大学、研究機関から14名の会員にお願いしましたが、組織委員の方々のご尽力のおかげで大変効率よく企画、運営を行うことが出来ました。いくつか反省材料も含めて、ここに事後報告致します。

第10回年会最終日の3月6日（日）には、本学会創立10周年記念事業として九州大学の久原哲委員を委員長とした国際シンポジウム「International Symposium on Genome Microbiology」も開催いたしました。この国際シンポジウム開催のため、通常3日間の年会プログラムを2日間に圧縮し開催する必要がありました。全国からアクセス至便の東京開催ということもあり、初日含め丸2日間9時から19時まで開催するという過密なスケジュールで開催することで、シンポジウム1件（講演数4）、一般口頭発表38件、ポスター発表171件、ショートトーク66件など、ほぼ例年通りのプログラムを編成することができました。また、ポスター発表では、面積に余裕のある体育館を利用することで、ポスターを2日間貼りっぱなしにするとともに企業展示も併催することができ、ポスターセッション時には広い会場も皆様の熱気で大変な賑わいとなりました。



シンポジウムは「微生物の新機能を探る」と題し、それぞれ新たに発見、同定された新規の遺伝子機能や代謝系などに関する4件の話題を提供して頂きました。一般口頭発表は5つのカテゴリに分類し、可能な限り申し込まれた会員の希望に沿うようプログラムを編成いたしました。残念ながら多数の申込があったカテゴリにおいては、全員のご希望を叶えることができませんでした。時間的余裕の無い年会プログラムとなったことが原因の一つであると反省するとともに、ご希望に沿うことができなかった会員の皆様にはこの場を借りて改めてお詫び申し上げます。

ランチョンセミナーでは、昨今の厳しい社会情勢の中においても、2社からご協力頂くことができました。また、16件の企業や団体の方々から出展の申込がありました。ご協力頂いた企業、先生方にはこの場を借りて厚く御礼申し上げます。

また、男女共同参画幹事からの要請で、学会からの補助を得て託児所の設置を試みました。結果的に申込は1件のみでしたが、子育て世代の若手研究者が年会への参加を躊躇することのないよう、今後の年会においても託児所の設置を検討して頂ければと思っております。

3月6日（日）に開催した国際シンポジウムでは、海外から5名、国内から5名の研究者に、最先端の微生物ゲノム科学に関してご講演頂きました。当初予定していた講演者が健康上の理由等により直前にキャンセルするなど、一時は開催を危ぶみましたが、委員の皆様の迅速な行動により、この危機を乗り切ることができました。残念なことに、国際シンポジウムの参加者数が予想を下回る結果となりました。これは、本シンポジウムが年会最終日の開催であった事、一般への広報が不十分であった事、などが主な原因であると考えております。年会運営の責任者として反省するとともに、次回開催の際の検討すべきポイントとしてここに記しておきたいと思います。

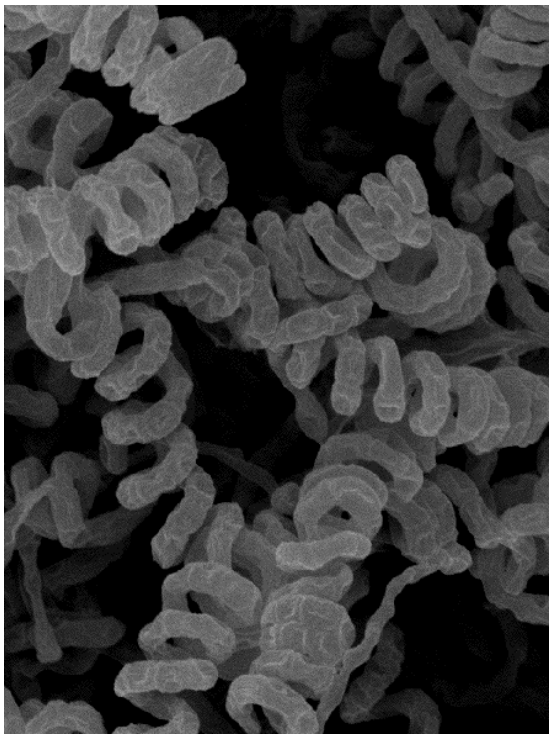
いずれにしても、大きなトラブルもなく第10回年会を終えることができました。このことは、年会準備委員の皆様、さらには参加して頂いた全ての皆様のご協力の賜であると、この場を借りて厚く御礼申し上げる次第です。次回11回年会は慶応大学湘南藤沢キャンパスでの開催となります。日本ゲノム微生物学会としては10周年の節目を超えて踏み出す新たな一歩となります。新時代の年会を皆様と一緒に迎えることを心から楽しみにしております。

ゲノム微生物学分野の研究動向

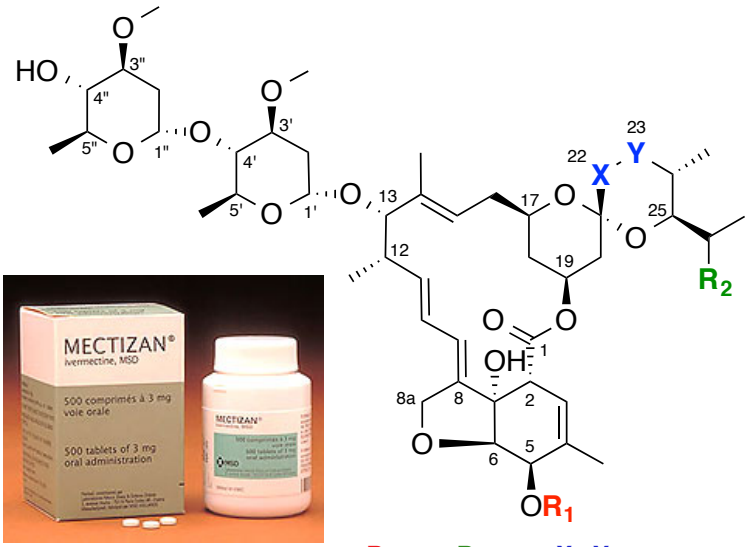
天然物医薬品を生産する *Streptomyces*属のゲノム構造

池田　治生
北里大学北里生命科学研究所、
および大学院感染制御科学府

2015年度の大村智特別栄誉教授の「寄生虫感染症に対する優れた治療薬avermectin[1](図1)の発見」によるノーベル生理学・医学賞受賞決定によって、微生物代謝産物からの天然物医薬品探索および開発の重要性・有用性が再確認されてきた。微生物が作り出す天然物医薬品、即ち抗生物質が発見され、実用に至ったことは20世紀の大発見の1つであるといっても過言ではない。英国A. Fleming博士(1945年度ノーベル生理学・医学賞受賞)が発見したpenicillinをはじめ、1944年米国S.A. Waksman博士(1952年度ノーベル生理学・医学賞受賞)によって発見された抗結核薬streptomycinは、現在も医薬品として利用されている。Waksman博士は積極的に土壌微生物である放線菌の培養液から抗生物質の探索を行い、多くの抗生物質を見出したことから、その後多くの研究者および製薬企業の開発分野で放線菌の培養液からの抗生物質探索が行われた。そして、現在までに抗菌、抗真菌、抗原虫さらには免疫抑制薬など多くの医薬品が微生物代謝産物から実用化されてきた。これまで、放線菌は多種多様な構造および生物活性を有する多くの化合物(二次代謝産物)を生産する



Streptomyces avermitilis sp. nov., nim. Rev.
Int J. Syst Evol. Microbiol. **52**: 2011-2014 (2002)



		R_1	R_2	X - Y
Avermectin	**A1a**	CH_3	C_2H_5	CH=CH
	A1b	CH_3	CH_3	CH=CH
	A2a	CH_3	C_2H_5	CH_2-CH(OH)
	A2b	CH_3	CH_3	CH_2-CH(OH)
	B1a	H	C_2H_5	CH=CH
	B1b	H	CH_3	CH=CH
	B2a	H	C_2H_5	CH_2-CH(OH)
	B2b	H	CH_3	CH_2-CH(OH)
Ivermectin	**B1a**	H	C_2H_5	CH_2-CH_2
	B1b	H	CH_3	CH_2-CH_2

Ivermectins are synthesized by hydrogenation at C22, 23

図1. Avermectinの構造(右)とその生産菌の走査型電子顕微鏡像(左)

能力を有しているが、この現象は放線菌のみならず粘液細菌やシアノバクテリアでも二次代謝産物の生産が報告されている。しかしながら、これらの細菌では代謝産物の生産量が極めて少量であるため工業的生産には至ってない。一方、放線菌は医薬品供給のための工業的な生産に耐えうる代謝能を有しており、物質生産のための本質的な能力を有している細菌と認識できる。このように放線菌は、Waksman博士、さらには今回の大村博士の研究対象であるstreptomycinやavermectinなどの天然物医薬品の供給源として主に代謝産物単離および評価の研究が展開されてきたが、二次代謝産物の生産のみならず、生物学的にも極めて興味のある性状を有している微生物である。

放線菌、特に*Streptomyces*属の細菌のゲノム解析も比較的早くから行われており、2001年にavermectin生産菌*Streptomyces avermitilis*(図1)のドラフトゲノム解析を[2]、2003年に完全配列を報告した[3]。これ以降、現在までに19菌株の完全配列が、ドラフト配列を含め541菌株がNCBI(ftp://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/genbank/bacteria/)に登録されている。放線菌(ここでは*Streptomyces*属を中心に)は多くの二次代謝産物を生産するという産業上、極めて重要な現象が観察されるが、原核細胞生物の中では比較的複雑な形態分化が観察される珍しい菌種でもある(真正細菌の中で最も複雑な形態分化が観察されるのはグラム陰性の*Myxococcales*目の粘液細菌である)。まず胞子が発芽して栄養菌糸が伸長分岐し、次いで空中に向かって気菌糸が立ち上がる。栄養菌糸は親水性であるのに対して気菌糸は比較的疎水性である。その後、気菌糸は螺旋状を呈し、胞子形成に先立って菌糸に隔壁を生じる。胞子は熟成、分散して生活環を一巡する。気菌糸から胞子へと至る過程から*Streptomyces*属の胞子は分節型胞子(arthrospore)で

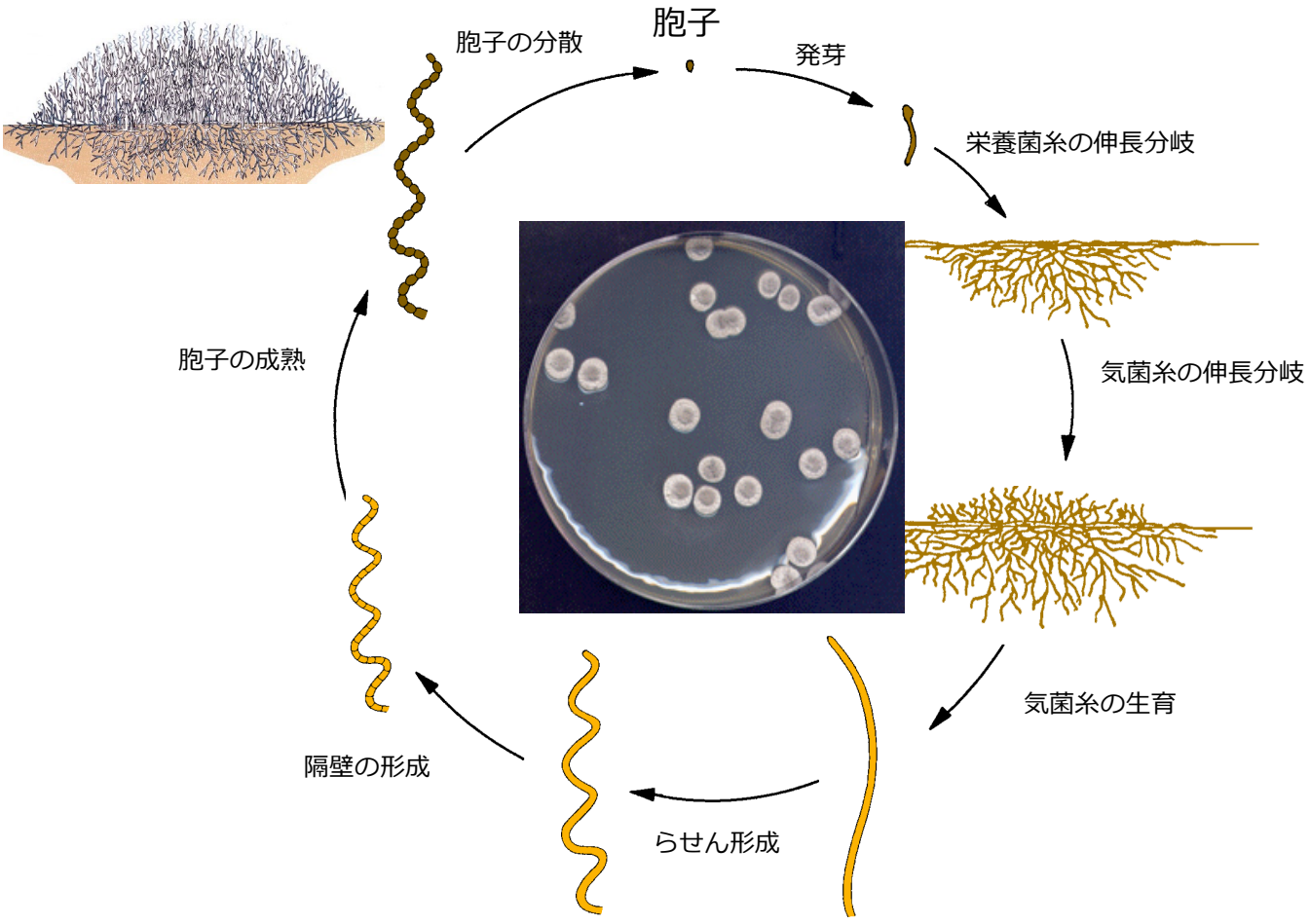


図2. *Streptomyces*属の寒天培地上での形態分化および寒天培地上でのコロニー(中央)

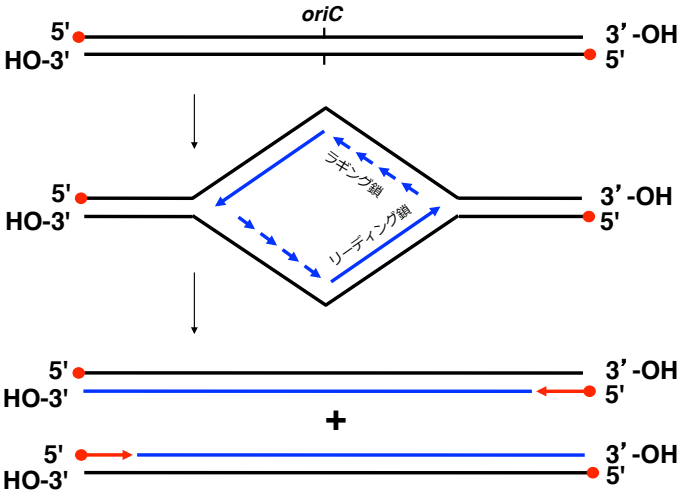


図3. 線状レプリコンの複製過程

ある(図2)。これは糸状菌における分生子に相当する。さらに数種の*Streptomyces*属の染色体の詳細な構造解析から、原核細胞生物にも関わらず、真核細胞生物と同じ線状構造の染色体を有していることが明らかとなった[4]。これまで線状構造の染色体構造を有する原核細胞生物としては、ライム病の原因菌であるスピロヘータ綱の*Borrelia burgdorferi*およびグラム陰性菌のαプロテオバクテリア綱 の*Agrobacterium tumefaciens* (環状と線状の2つの染色体を保有する)が知られている。なおこれらの菌の染色体の両末端のDNAは、一本鎖DNAにより結ばれヘアピン構造を有していることが明らかとなっている。一方、これまで報告された*Streptomyces*属の染色体の末端は上記の菌株のようなループ構造ではなく、枯草菌のファージϕ29やアデノウイルスの末端と同様に塩基性の末端結合タンパク質(Tpg)のSer残基を介して5'末端のリン酸とエステル結合している。さらに染色体末端は多くの逆向き相同配列を有するテロメア構造からなるため強固な2次構造を形成することが推察される。一方、線状染色体のほぼ中央に位置する複製開始点(*oriC*)は一般の細菌と同様で、およそ19コピーのDnaA-box様配列が見出される[5]。したがって、複製開始点から両末端に向かって両方向に複製が進んでいくが、環状染色体とは異なりラギング鎖の染色体末端部分は複製することができない。*Streptomyces*属のテロメア領域は真核細胞生物のように複製の度に短くなっていくことはない。末端部分の逆向き相同配列から形成すると思われる2次構造はこの部分のヌクレアーゼからのアタックの回避、そして末端タンパク質を介したプライミングによってラギング鎖の末端部分の正確な複製が完了するものと思われる(図3)。今のところ*Streptomyces*属の染色体はすべて線状構造であることが知られており、同様な線状構造を有する他の放線菌としては*Rhodococcus jostii* RHA1, *R. opacus* B4および*Kitasatospora setae* KM-6054が知られている。*Streptomyces*属は他の細菌と同様に、染色体以外に自律複製するレプリコン、すなわちプラスミドが存在する。他の細菌と同様な環状2本鎖DNAからなるプラスミドだけでなく、染色体と同様な線状2本鎖構造を有するプラスミドも存在する。*Streptomyces*属の染色体は、原核細胞生物の中でも大きい部類に属し、そのサイズは6.84 - 12.70 Mbp、GC含量 70 - 73 GC mol %である。タンパク質をコードする遺伝子数は、下等真核生物である出芽酵母 (6,294個) および分裂酵母(4,824個) よりも多く、5,800 - 10,000個である。近年、*Streptomyces*属と近縁属の数種の菌株のゲノム解析が完了しており、これらのゲノムは*Streptomyces*属と同等な大きさ(およそ8 M b p)および遺伝子数であった。*Streptomyces*属および近縁属染色体にコードされる遺伝子産物については、もちろん生物活性物質を含む二次代謝産物生合成遺伝子(群)はもとより、重複遺伝子が多く見出されること(およそ30%の遺伝子が同一遺伝子の重複したパラログである)である[3]。多くのパラログのうち最も多くの遺伝子が分類されるファミリーは、物質の透過に関与するABCトランスポーターをコードする遺伝子群である。その次に多く見出されるのは二成分制御系の遺伝子群などやその他制御系に関与するパラログである。*Streptomyces* 属の生活環である土壌を考慮すると、様々な環境に適応しながら生育しなければならい状況にいち早く対応するため、種々の制御系が必要になったものと思われる。

これらのパラログ遺伝子には極めて興味深い遺伝子の存在がいくつか見出される。大腸菌や枯草菌と同様に*Streptomyces*属のDNA依存RNA合成酵素はαサブユニット2分子と1分子ずつのβ、β'のコア酵素複合体からなり、これにσ因子が結合して転写が開始される。*Streptomyces*属では60種を越えるσ因子の遺伝子が存在しており、これらは5つパラログファミリーに分類され、大部分はECF-σ (Extracytoplasmic Function-σ)に分類される[2]。このことはこれらの多数のσ因子がそ

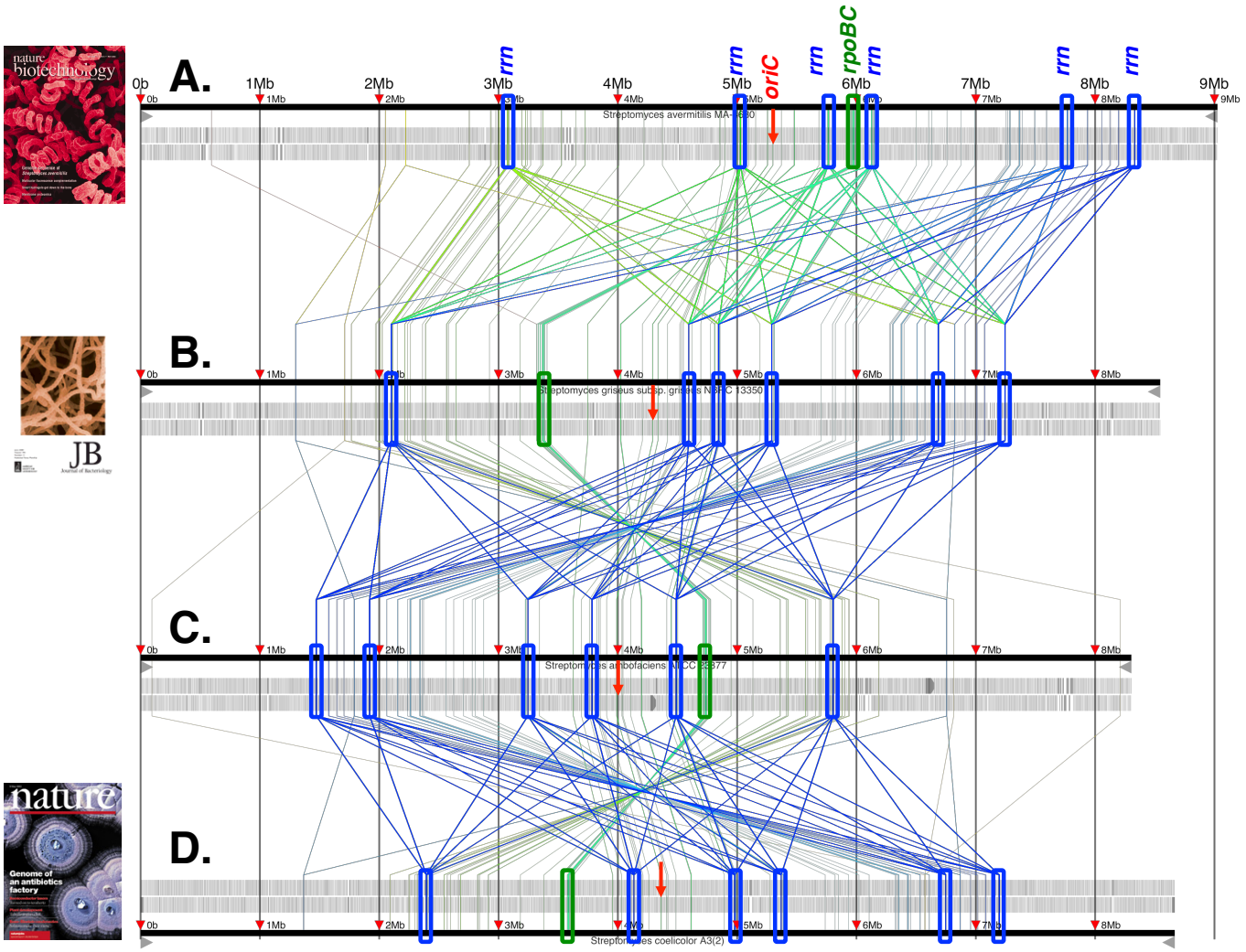


図4. *Streptomyces*属の線状染色体の比較解析. A. avermectin生産菌*S. avermitilis* MA-4680, B. streptomycin生産菌*S. griseus* IFO 13350, C. spiramycin生産菌*S. ambofaciens* ATCC 23378, D. *S. coelicolor* A3(2). 略語 *rrn*; リボソームRNAオペロン、*oriC*: 複製開始点、*rpoAB*: DNA依存RNA合成酵素βおよびβ'サブユニットの遺伝子

れぞれのプロモーター配列を認識し、極めて多様な遺伝子発現制御を可能にしていることが推察される。真核細胞生物でのシグナル伝達にはタンパク質のリン酸化および脱リン酸化によって制御される系が存在する。原核細胞生物ではSer/Thrタンパク質リン酸化のシグナル伝達系は極めて少ないが、*Streptomyces*属では30種以上のSer/Thrタンパク質リン酸化酵素の遺伝子が見出される(リン酸化タンパク質の脱リン酸化酵素の遺伝子も2種程度見出される)。*Streptomyces*属でのSer/Thrタンパク質リン酸化・脱リン酸化による制御に関してはほとんど解明されてはいないが、真核細胞生物のprotein kinase Cの阻害剤staurosporineやK-252aは*Streptomyces*属の形態分化を阻害することが観察されている。その他、*Streptomyces*属では分子状の酸素を基質として酸素添加反応を触媒するシトクロムP450の遺伝子はゲノム当たり20 – 30個程度見出すことができるとともに、同酵素の反応の電子供与体であるフェレドキシンおよびその還元酵素の遺伝子も多数見出すことができる[6]。

これまで完全配列の解析が完了した、代表的な*Streptomyces*属4菌株*S. avermitilis* MA-4680 (avermectin生産菌)[3]、*S. griseus* IFO13350 (streptomycin生産菌)[7]、*S. ambofaciens* ATCC 23378 (spiramycin生産菌)および*S. coelicolor* A3(2)[8]染色体を比較した結果を図4に示す。*Streptomyces*属は6つのリボソームRNAオペロン(*rrn*; 16S-23S-5S)を保有しており、種間でもその配列の相同性は高い。また、DNA依存RNA合成酵素遺伝子のうち、*rpoB-rpoC*は種間でも高い相同性を示す。上記の3菌種の線状染色体のほぼ中央に複製開始点(*oriC*)が存在するが、*S. avermitilis*では中央から右側へ775 kb程度のところに位置している。一方、菌種間で比較的高

い相同性のある遺伝子ならびに生育に必須な遺伝子は染色体中央部分を含む6〜6.5 Mbp程度のコア領域に配置している。この領域は種間で逆位や転座している領域を多数見出すことができる。例えば、*S. avermitilis*と*S. griseus*間では逆位はあまり見られないが*S. griseus*と*S. ambofaciens*間では*oriC*から500 kbp上流および下流それぞれから約2 Mbの領域が逆位となっている。同様なことは*S. coelicolor* A3(2)と*S. ambofaciens*でも観察されることから、これら4菌株のうち、*S. ambofaciens*のみが上記の大きな領域に逆位を生じたものと理解できる。一方、染色体両末端から1 Mbpの領域(*S. avermitilis*では左側2 Mbおよび右側0.5 Mbp)は種間で相同性の高い遺伝子は極めて少なく、菌株特異的な遺伝子が多く配置している。また、この領域には生育に必須な遺伝子は存在しない。*S. avermitilis*ではavermectinを含む二次代謝産物生合成遺伝子群の半数程度がこの染色体末端領域付近に配置している。なお、*S. griseus*および*S. ambofaciens*のstreptomycinおよびspiramycinの生合成遺伝子群は、それぞれ菌株のコア領域の右端に配置している。また、この両端領域には転位因子やトランスポゼースの遺伝子が多数見出すことができることから、この領域には遺伝子の水平伝播が多数行われてきたものと思われる。

*Streptomyces*属では染色体が環状ではなく真核細胞生物と同じ線状構造を有している。このことによって他の細菌と異なる点を見出すことができる。環状染色体の複製終了時には染色体は2量体(コンカテマー)を形成する。この生じたコンカテマー分子をそれぞれの環状染色体に分離するため、特異な組換え酵素resolvase（XerC、XerD）がそれぞれの染色体へと分離する。*Streptomyces*属は線状染色体であるためこのようなコンカテマーを生じない。したがってこれらXerCおよびXerDの機能を必要としない。さらにこれらの遺伝子*xerC*および*xerD*を進化の過程で失っている。*Rhodococcus*属では*R. jostii* RHA1と*R. opacus* B4の染色体が線状構造を有しているが他の*Rhodococcus*属菌株は一般の細菌と同様に環状構造からなる。*R. jostii*では*xerC*および*xerD*遺伝子を保有していることから、

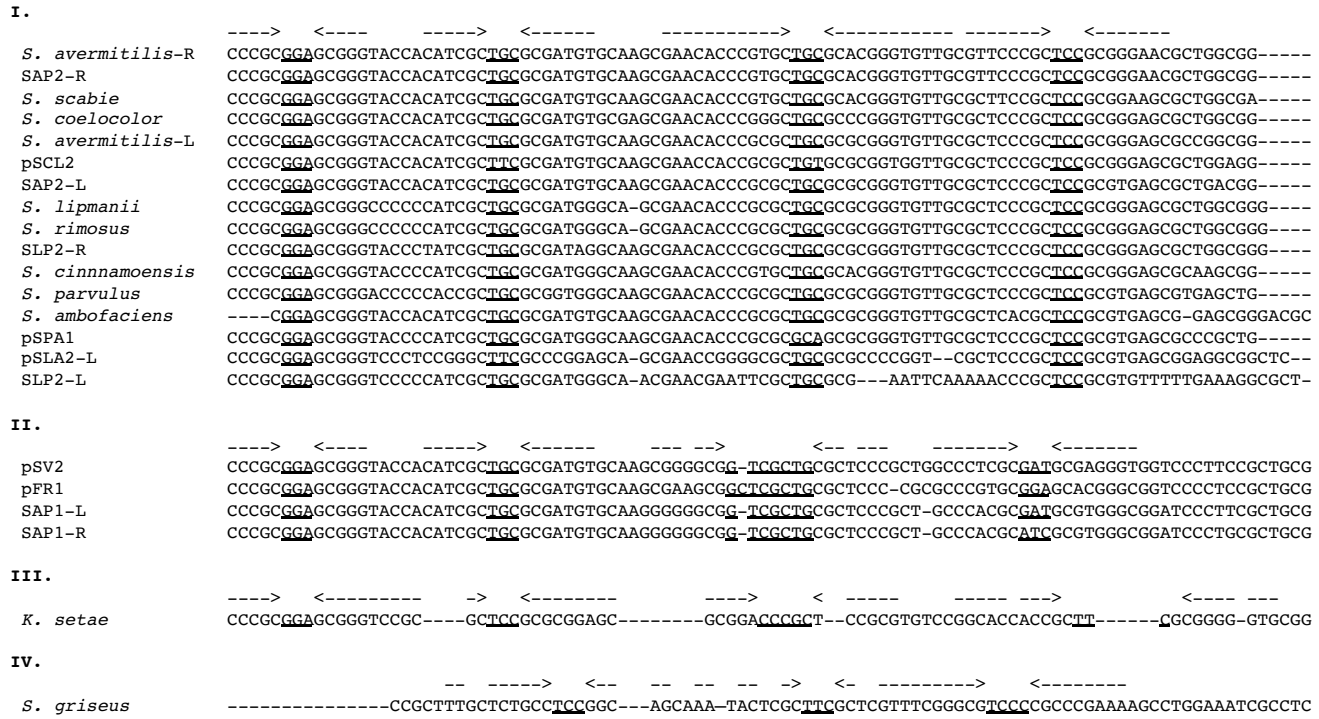


図5. 線状染色体およびプラスミドの末端配列のアラインメント. –Rおよび-Lはそれぞれの線状レプリコンの右および左末端配列を示す. 両末端の配列が全く同じ場合は-R. –Lを付与していない。アラインメントから4つのグループに分類できるが、多くの末端配列はグループIに属する。破線部分は逆向き相同配列部分で2次構造中のステム部分。下線部分はループ部分を示す。

*Rhodococcus*属での染色体の線状化は*Streptomyces*属と比べて比較的新しく起こったものと思われる。なお、*Streptomyces*属の線状染色体の両末端には特異な塩基性タンパク質Tpgが結合しており、このタンパク質はこれら*Streptomyces*属(*Kitasatospora*属も同様なTpgを保有)でのみ見出される。Tpgを末端に結合させると推定されているTapタンパク質の遺伝子*tap*は末端タンパク質の遺伝子*tpg*とオペロンを形成して染色体末端付近に配置している。他の環状染色体を有する細菌のゲノムにはこれらのオルソログを見出すことはできない。なお*S. lividans* 1326の染色体両末端を相同的な組み換えによって強制的に環状化させることが可能である[9]。得られた組み換え体は生育が若干遅くなるが、生育することが可能であった。*xerC*および*xerD*遺伝子は存在しないが、いかなる機構でコンカテマー分子の分離を行うことができるかは不明である。

一般に細菌ではＤＮＡ損傷に伴う修復に相同的組み換え機構が備わっており、いくつかの組み換え機構が存在する。大腸菌では*recB-recC-recD*系の組み換えが主たる役割を果たしているが、*Streptomyces*属では*recB*と*recC*を欠いている[10](*recD*に相当するオルソログは存在する)。放線菌(*Actinomycetales*目)の中では*Kribbela*属、*Mycobacterium*属、*Nakamurella*属、*Nocardia*属、*Nocardioodes*属、*Rhodococcus*属のゲノムから*recB*, *recC*, および*recD*のオルソログが見出される。このことは多くの放線菌ではDNA損傷に伴う修復に*recB-recC-recD*系ではなく*recF*遺伝子産物による組み換え修復が主たる経路である推察される。

以上のように*Streptomyces*属の細菌は、抗生物質などの生物活性を有する二次代謝産物を生成するといった現象の他に、生物として極めて興味ある現象が観察される細菌である。特に*Streptomyces*の先祖の染色体は環状であったのか？また、線状化したのであれば、それは進化の過程のどの時代にどのような機構で達成されたのか？は非常に興味の持たれるものである。線状プラスミドと染色体ゲノムの構造は極めて似ている。これらの関係はいかなるものであるのか？末端配列は極めてよく保存されており、末端から180 bpまでの領域は2次構造など含め極めて共通性の高い配列である(図5)。*S. lividans*の線状プラスミドSLP2 (50,410 bp)の右末端15.4 kbpと*S. avermitilis*のSAP2 (250,435 bp) の右末端の70.7 kbpはそれぞれの宿主の染色体の右末端の同じ領域と同一の配列である。また、*S. avermitilis*のもう一つの線状プラスミドSAP1の*tpg*および*tap*遺伝子はプラスミド上から欠失させても複製には影響しない。恐らく染色体上の*tpg/tap*がSAP1上のそれらを相補していると考えられる。環状染色体に線状プラスミドが1回交叉の組み換えを生じてレプリコンの融合が起これば線状染色体の形成は可能である[10]。このようなイベントがいつ生じたかは不明であるが、線状化よって今までにないメリットを受けたため現在のような線状構造の染色体を維持するようになったのかも知れない。*Streptomyces*属の細菌は、天然物医薬品の生産のみならず、生物学的にも大変興味のある現象が観察される。今後の展開が楽しみな細菌の一つでもある。

参考文献

1. R.W. Burg, B.M. Miller, E.E. Baker, J. Birmbaum, S.A. Currie, R. Hartman, Y.L. Kong, R.L. Monaghan, G. Olson, I. Putter, J.B. Tunac, H. Wallick, E.O. Stapley, R. Oiwa & S. Omura: *Antimicrob. Agents Chemother.* 15: 361-367 (1979).
2. S. Omura, H. Ikeda, J. Ishikawa, A. Hanamoto, C. Takahashi, M. Shinose, Y. Takahashi, H. Horikawa, T. Osonoe, H. Kikuchi, T. Shiba, Y. Sakaki & M. Hattori: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 98, 12215 (2001).
3. H. Ikeda, J. Ishikawa, A. Hanamoto, M. Shinose, H. Kikuchi, T. Shiba, Y. Sakaki, M. Hattori & S. Omura: *Nat. Biotechnol.* 21, 536 (2003).
4. C.H. Huang, Y.S. Lin, Y.L. Yang, S.W. Huang & C.W. Chen: *Mol. Microbiol.* 28, 905-916 (1998).
5. D. Jakimowicz, J. Majka, W. Messer, C. Speck, M. Fernandez, M.C. Martin, J. Sanchez, F. Schauwecker, U. Keller, H. Schrempf, & J. Zakrzewska-Czerwińska: *Microbiology* 144, 1281-1290 (1998).
6. D.C. Lamb, H. Ikeda, D.R. Nelson, J. Ishikawa, T. Skaug, C. Jackson, S. Omura, M.R. Waterman & S.L. Kelly: *Biochem. Biophys Res. Commun.* 307, 610-619 (2003).
7. Y. Ohnishi, J. Ishikawa, H. Hara, H. Suzuki, M. Ikenoya, H. Ikeda, A. Yamashita, M. Hattori & S. Horinouchi: *J. Bacteriol.* 190, 4050-4060 (2008).
8. S.D. Bentley, K.F. Chater, A.-M. Cerdeño-Tárraga, G.L. Challis, N.R. Thomson, K.D. James, D.E. Harris, M.A. Quail, H. Kieser, D. Harper, A. Bateman, S. Brown, G. Chandra, C.W. Chen, M. Collins, A. Cronin, A. Fraser, A. Goble, J. Hidalgo, T. Momsby, S. Hawarth, C.H. Huang, T. Kieser, L. Larke, L. Murphy, K. Oliver, S. O'Neil, E. Rabbinowitsch, M.A. Rajandream. K. Rutherford, S. Rutter, K. Seeger, D. Saunders, S. Sharp, R. Squares, K. Taylor, T. Warren, A. Weitzorrek, J. Woodward, B.G. Barrell, J. Parkhill & D.A. Hopwood: *Nature* 417, 141 (2002).
9. H.H. Lee, C.C. Hsu, Y.L. Lin & C.W. Chen: *Microbiology* 157, 2556-2568 (2011).
10. C.W. Chen, C.H. Huang, H.H. Lee, H.H. Tsai & R. Kirby: *Trends Genet.* 18, 522-529 (2002).

2016年受賞研究

研究奨励賞

海洋・地殻内環境における分子微生物生態学研究

布浦　拓郎

海洋研究開発機構

海洋生命理工学研究開発センター

これまで、海洋及び地殻内の多様な環境における物質循環に関わる学際研究において、主に分子生物学を用いた微生物生態学の分野で貢献してきた。研究対象とした生態系は、超深海・海溝生命圏、海底表層の堆積物、海底下生命圏、深海底熱水噴出地帯・冷湧水域、地下鉱山熱水生態系、と多岐にわたる。いずれのプロジェクトにおいても物質循環研究における微生物生態学に期待される役割の一つは、従来の観測研究ではブラックボックスとされてきた微生物作用を可視化することである。そしてもう一つの役割が、従来、化学・物理研究の視点から見落とされてきた事象の存在を明らかにすることである。例えば、標準的な技術では、見かけ上存在しない物質や僅かな測定数値の変動について、化学計測のみから有効な情報を得ることは困難である。しかし、そのような物質についても、その生産・消費に関わる微生物の存在を示すことにより可視化することが可能となる。本稿では、海洋水塊における未知の生態系の存在を示すことに成功した研究例を紹介する。

海洋表層で光合成により生産された有機物は、沈降しつつ微生物により分解され、その過程でアンモニウムが生産される。しかし、アンモニウムが化学的に検出される水塊は海洋亜表層等に極めて限られており、殆どの海洋水塊においてアンモニウムの生産と消費はほぼ拮抗していると考えられる。一方、培養実験及び海洋における観測研究により、アンモニウムの主要な消費者であるアンモニア酸化菌は、個々の系統群がそれぞれの生理生態に適合する入手可能なアンモニア量（アンモニアフラックス）によってkineticに棲み分けることが知られている[1,2]。従って、この微生物分布を規定する仕組みを利用することで、定性的ながらも個々の環境における物質循環の変動を観察することが可能になる。

筆者らは、このアンモニア酸化菌群の棲み分けを検出することにより、物理・化学観測からは予測され得

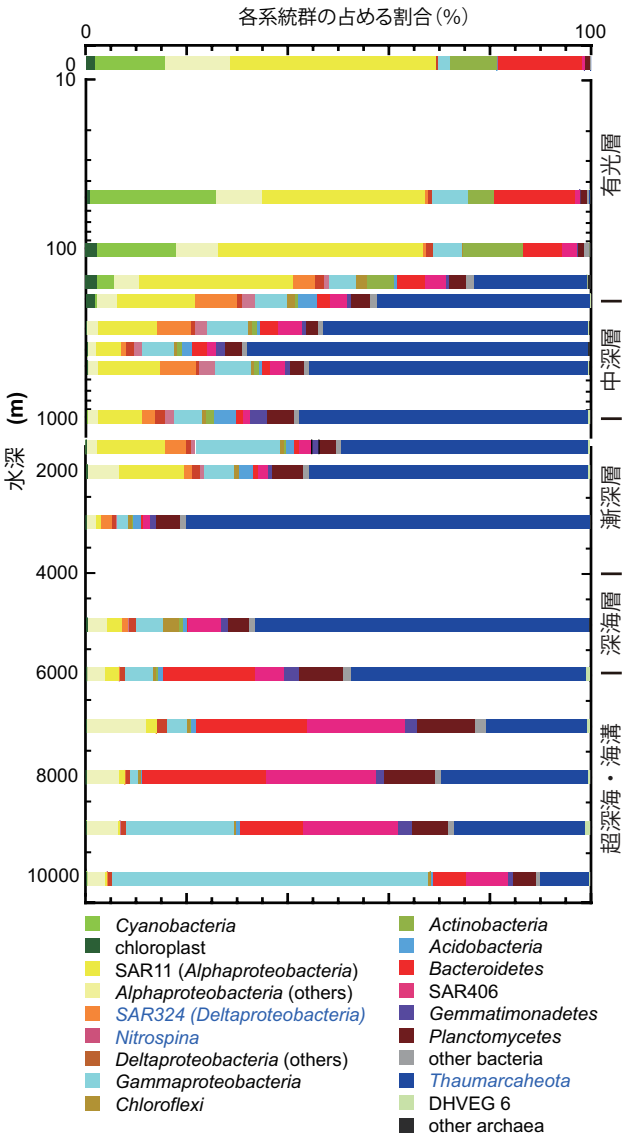


図1．SSU rRNA遺伝子タグ解析が示すマリアナ海溝チャレンジャー海淵の海洋表層から海溝底までの水塊中の微生物群集構造。水深6000 m以深の海溝水塊において代表的な従属栄養系統群である*Bacteroidetes*や*Marinimicrobia*(SAR406)の占める割合が増加し、逆に炭酸固定能を有するSAR324やアンモニア酸化アーキア(*Thaumarchaeota*)の占める割合が減少する。

ない水深6000 m以深の超深海・海溝内水塊における独自の生態系をマリアナ海溝チャレンジャー海淵より発見した[3]。マリアナ海溝チャレンジャー海淵は水深約6000 mから深く沈み込み、水深10000 mを超える地球上で最も深い海として知られる。その一方、海淵内の水塊については、その上層の水深6000 m以浅の深海水塊には、物理・化学分析からは明瞭な違いは検出されない。また、微生物数においても明瞭な違いは見られず、研究開始当初における“環境情報”からは超深海・海溝内に独自の生態系・物質循環が存在することは窺えなかった。しかし、SSU rRNA遺伝子タグ解析では、水深6000 m以深の超深海水塊において従属栄養系統群の占める割合が、上層の深層水塊より明瞭に増加し、超深海水塊において上層水塊とは異なる現象の生じている可能性が初めて示唆された(図1)。そこで、定性的なタグ解析に加え、kineticな棲み分けを行うアンモニア酸化菌について定量PCRによる解析を実施し、超深海・海溝内水塊において、高いアンモニアフラックスを好む系統群が優占することを示した(図2)。定性的なタグ解析の結果と併せ、超深海・海溝内水塊において、上層水塊より有機物分解量が多いこと、即ち上層水塊とは異なる有機物が供給されていることを示す。そして、この有機物の源として、地震による地滑り等による断続的な斜面からの供給が最も可能性が高いと結論付けた。即ち、地球のテクトニックな活動が海洋水塊の物質循環・微生物生態系に影響を及ぼす可能性を見出したのである。

現在、筆者らは、この超深海・海溝生態系を支える仕組みや物質循環が、他の超深海環境においても成立する普遍的な現象であるのか否か検証を進めている。また、アンモニア酸化菌群のkineticな棲み分けを支える分子生物学的背景を明らかにするべく、環境ゲノム解析を実施すると共に、分子生態解析によって示された現象が、本当に化学解析に現れていないのかどうか比較検討を行っている。詳細は割愛するが、微生物分子生態解析と整合的な変動が僅かながら確認される化学分析項目もあるが、測定誤差との識別が極めて困難であり、微生物データの存在がなければ見過ごされる程度の変動に留まることが確認されつつある。

ここに紹介した研究は勿論、これまでに携わってきました研究は全て海洋研究開発機構の同僚、多くの大学の先生方、学生さんとの共同研究として、多大なご支援を受けて実施されました。この場を借りて御礼申し上げます。

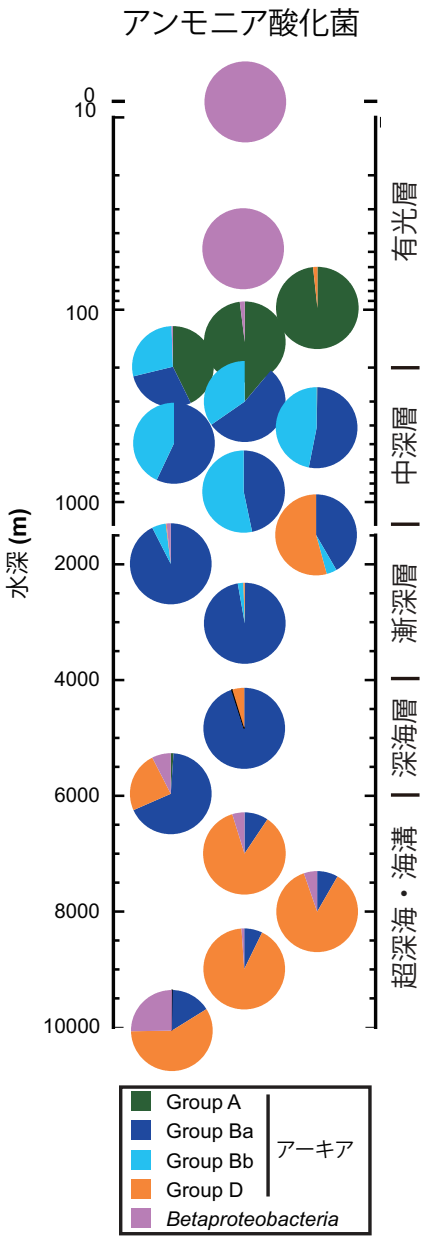


図２．アンモニア酸化菌の指標となる*amoA*遺伝子(ammonia monooxygenase large subunit遺伝子)による定量PCRによって明らかにされたアンモニア酸化菌群の棲み分け。超深海水塊ではアーキア*amoA* Group D及び*Betaproteobacteria*由来*amoA*の占める割合が増加する。

参考文献

1. Martens-Habbena W. et al., Nature 2009, 461(7266): 976-979.
2. Sintes E. et al., Environ Microbiol 2013, 15(5): 1647-1658.
3. Nunoura T et al., Proc Natl Acad Sci USA 2015, 112(11): E1230-E1236.

若手賞
細菌群集が内在的に持つ安定な群集を維持する機構の解明

森　宙史

東京工業大学・生命理工学院

環境中の細菌群集は様々な環境刺激にさらされつつも長期的には安定な群集を形成・維持しております。この性質によって、野外の生態系は、多少の環境変動にも頑健に対応できているのだと考えられます。しかしながら、この頑健性が、どのような機構によってもたらされているのかについてはよくわかっておりませんでした。元々動物の進化生態学を学部の卒業研究のテーマにしていた私は、細菌群集が安定な群集を維持する機構に興味を持ち、それを解明することを大きな目的として、修士課程から奈良先端大及び東工大の黒川顕先生のご指導のもと、この分野の研究を行ってきました。ただ、細菌の多くは培養困難ですので、培養に依存した手法でその全体像を記述し詳細を明らかにすることは困難でした。幸運にも、研究を始めた2006–8年当時出始めたばかりの、メタゲノム解析のデータ及び新型シークエンサーのデータをいくつか解析させていただく機会に恵まれましたので、細菌を培養することなく、系統マーカー遺伝子である16S rRNA遺伝子を用いて細菌群集の系統組成を明らかに出来るメタ16S解析法と、系統および遺伝子機能組成の両方を明らかに出来るメタゲノム解析法の二つを主な解析手法として選びました。それらの解析手法には当時まだ標準となる手法が存在しなかったため、実験と情報解析の両面から適した手法を開発しつつ、研究を行いました（図1）。

新型シークエンサーが使われる以前のメタ16S解析の結果は、系統間の進化的な類縁性の情報と各系統の相対存在量の情報をあわせて視覚化することで群集構造が理解しやすくなったため、referenceとなる既知の系統の配列とその群集由来の全ての配列を用いて一つの系統樹で表すことが一般的でした。一方、新型シークエンサーを使って得られる1サンプル数万本を超える配列の場合は、全ての配列を用いて精度良く系統樹を推定するには計算量的に困難であり、かつ得られた系統樹も巨大で理解し難いという問題点がありました。そこで私は、ゲノム解読済みの株の16S rRNA遺伝子配列に対してメタ16S・メタゲノム配列を相同性検索し、個々の16S rRNA遺伝子配列断片の系統推定を行い配列相同性と共に集計することで、細菌群集の系統組成を推定すると共に系統間の進化的な類縁性も同時に視覚化し、サンプル間で比較解析可能なWebアプリケーションVITCOMICを開発しました [Mori et al 2010 BMC Bioinformatics]。

次に、400から500 bpほどの配列長の新型シークエンサーを用いて、土壌に代表される真核微生物も含む多様な微生物が存在する環境の細菌群集をバイアスが少なくかつ効率的にメタ16S解析できるように、真核生物由来のrRNA遺伝子は出来るだけ増幅せず、かつ古細菌を含む幅広い系統の細菌を出来るだけバイアスが無く増幅可能な効率的なUniversal primerの設計を行いました。具体的には、ゲノム解読済みの細菌の16S rRNA遺伝子配列を比較解析してUniversal primer候補を抽出し、それらの候補配列を難培養の細菌と真核生物も含んだ既存のrRNA遺伝子配列データベースを用いて配列の保存性を評価し、342F–806Rという新規なUniversal primer pairを設計しました。設計したprimer pairを用いて土壌の微生物群集のメタ16S解析を行い、同じサンプルをメタゲノム解析して系統組成を推定した結果を比較対象として、設計したprimer pairは真核生物由来のrRNA遺伝子を増やしにくく、かつ細菌については古細菌を含む幅広い系統をバイアスが少なく増幅可能であることを確認しました [Mori et al 2014 DNA Research]。

上記の研究で開発したメタ16Sおよびメタゲノム解析の実験・情報解析手法を用いて、当初の目的である、細菌群集が内在的に持つ安定な群集を維持する機構を解明することを目的として、東北大学の津田先生の研究室が主体として行っておられた研究に参加させていただき、野外とは隔離した閉鎖系の土壌に環境刺激として分解が比較的容易であるメタノールのみを加えた場合（コントロール区）と、4種類の芳香族化合物をメタノールに溶かして加えた場合（汚染区）の二つの処理について、1、3、6、12、24週目の土壌サンプル

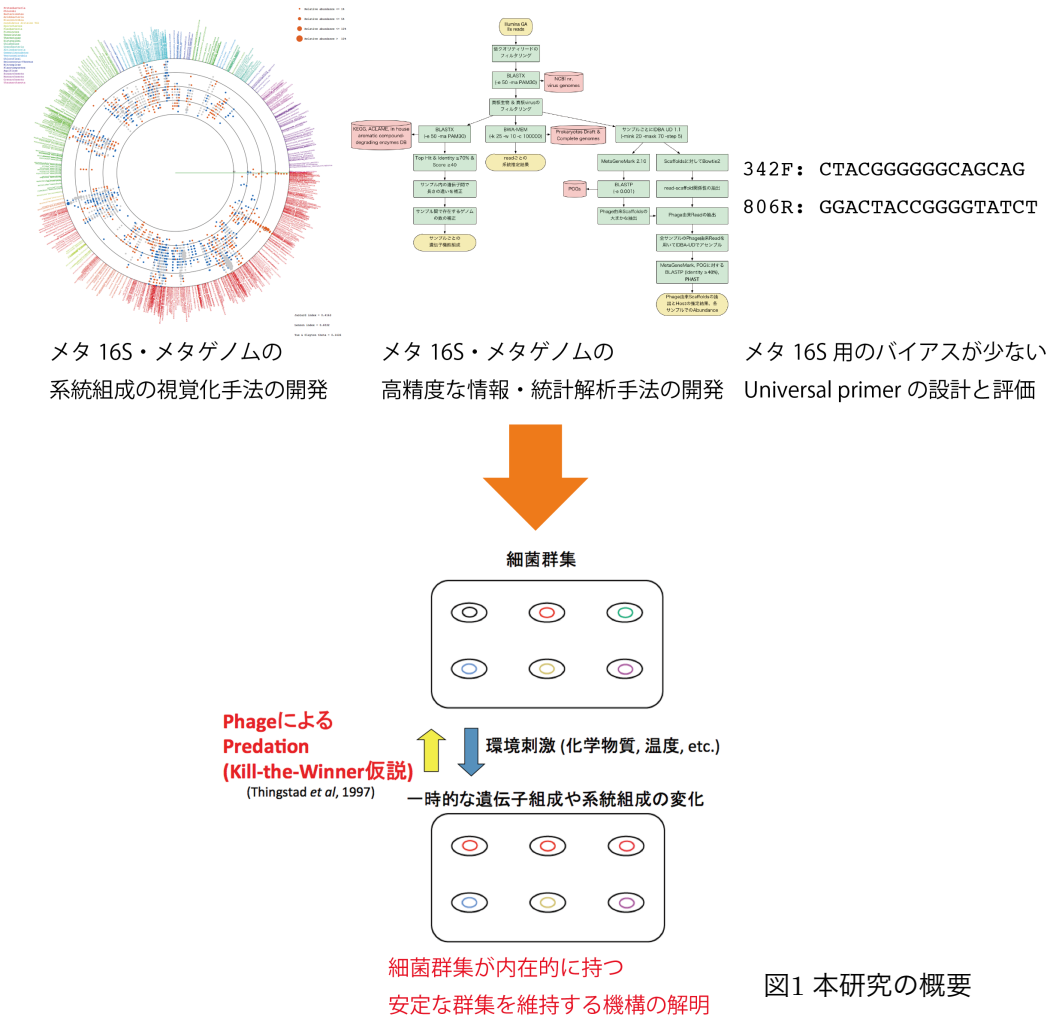


図1 本研究の概要

と化合物を加える前の0週目の土壌サンプルの計11サンプルをメタ16S・メタゲノム解析し、各サンプルの系統および遺伝子機能組成を時系列で比較解析しました。その結果として、コントロール区では速やかに細菌群集が元の組成に戻るのに対して、与えた刺激が大きい汚染区では24週間経っても細菌群集の組成は未だ完全には元に戻っていないことが明らかになりました。また、加えた芳香族化合物を分解可能な細菌の系統が汚染区で増えた後、既にその細菌は絶対量として減りつつあるタイミングで、その細菌の系統に感染すると推定される複数のPhageのゲノム配列が増加していることがわかり、それらのPhageの少なくともいくつかは、遊離した完全なPhageであることを実験的に確かめていただきました。本研究の結果から、刺激に応答し群集組成が変化した際に群集組成を元に戻す機構として、元々は水系の環境で提唱されていたKill the winner仮説、つまりは増えた系統の細菌がPhageに感染して死ぬことで数が減る、が存在することを実際の土壌細菌群集を用いて示すことが出来ました [Kato, Mori et al 2015 DNA Research]。これが自然界の細菌群集においてどの程度普遍的な現象であるかは今後明らかにしていく必要があります。本研究は、個人的には微生物の基礎的研究として行いましたが、得られた知見は微生物を用いて環境を制御する応用的研究の基盤としても今後重要になってくるのではと期待しております。

最後になりましたが、この度若手賞に選んで下さった審査員の先生方および学会役員の皆様に、この場をお借りして厚く御礼申し上げます。本研究を行うにあたって、黒川顕先生（現・遺伝学研究所）、津田雅孝先生・加藤広海先生（東北大学）、丸山史人先生（現・京都大学）、藤山秋佐夫先生・豊田敦先生（遺伝学研究所）、服部正平先生（現・早稲田大学）をはじめ、多くの方々にご指導・ご支援を賜りました。心より感謝申し上げます。

若手賞

シアノバクテリアにおけるDNA複製制御機構とその多様性に関する研究

大林　龍胆

東京農業大学 応用生物科学部 バイオサイエンス学科
（現　国立遺伝学研究所　細胞遺伝研究系　共生細胞進化部門　特任研究員）

この度はゲノム微生物学会若手賞を頂き大変光栄に思います。また審査員の先生方をはじめゲノム微生物学会関係者の皆様には、この場をお借りし厚く御礼申し上げます。

シアノバクテリアは酸素発生型の光合成を行う原核生物であり、葉緑体の祖先生物と考えられています。また、葉緑体のモデル生物として、光合成など様々な研究に用いられてきました。その中でも私はたまたまモデル生物であるSynechococcus elongatus PCC 7942、*Synechocystis* sp. PCC 6803と*Anabaena* sp. PCC 7120という代表的な3種のシアノバクテリアを用いてDNA複製の研究を行ってきました。幸運にもこの3種は、DNA複製の多様性やシアノバクテリアの進化を考える上で非常に良いモデル生物であると今まさに実感しています。本稿では、これまでに明らかとなったシアノバクテリア種間におけるDNA複製機構の多様性と、進化的背景、また今後の展望を紹介します。

DNA複製は真核、原核細胞問わず、生物にとって普遍的な生命現象の一つです。原核生物におけるDNA複製機構は大腸菌、枯草菌をモデルに、古くから研究が行われてきました。DNA複製は特に開始段階が厳密に制御されており、DnaAという因子が重要な役割を担っていることが通説となっています。DNA複製は、DnaAが複製開始点（*oriC*）に結合し二本鎖を解離することが第一段階であり、その後、他の複製因子が*oriC*へリクルートされることで開始します。また*dnaA*遺伝子はゲノム解読されているほぼ全ての原核生物（共生原核生物を除く）に保存されていることから、このDnaAによる*oriC*からの複製開始機構は普遍的に存在するシステムであると考えられています。また、複製バイアスによって生じると考えられているGC skew（C-G/C+G）のシフトポイントは複製開始点と終結点であることが知られており、多くの生物はGC skewから容易に複製開始点（*oriC*）が予測できます（図1）。このような背景のもとDnaA依存的機構の普遍性が支持されてきました。一方で、近年ゲノム解読が進むにつれ、GC skewから複製開始点が予測できない原核生物（一部のシアノバクテリアやデイノコッカス-サーマスなど）の存在も明らかになってきました。しかし、これら原核生物においても*dnaA*遺伝子は広く保存されていることから、DnaA依存的DNA複製機構の定説が覆ることはありませんでした。

そのような状況の中、シアノバクテリアのDNA複製に関する研究は、吉川研究室にて私が修士1年の際に、渡辺智博士と共に開始しました。はじめに、GC skewの規則性が弱いながらも、複製開始点が予測できる*Synechococcus*において、実験的に複製開始点（予測通り*oriC*領域）を同定しました（Watanabe et al., 2012, Mol Microbiol）。さらに他のバクテリア同様、DnaAは複製開始点に結合し、生育にも必須であることが分かりました（Ohbayashi et al., 2016, ISME J）。

続いて私はGC skewから複製開始点が予測できない*Synechocystis*と*Anabaena*を用いて、DNA複製に対するDnaAの依存性を検証しました。その結果、驚いたことに両者とも*dnaA*を欠損しても、生育及びDNA複製活性に全く影響がありませんでした。以上の結果より、

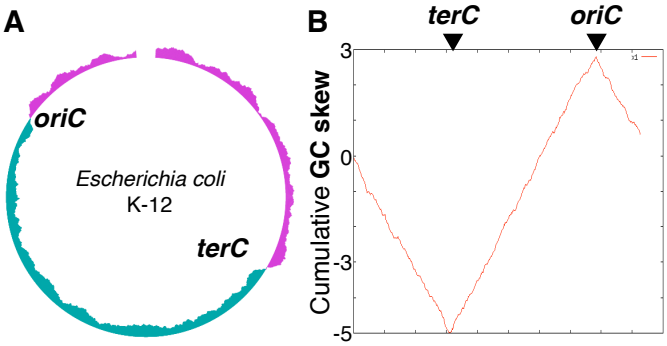


図1 大腸菌ゲノムのGC skewと複製開始点(*oriC*)
A)大腸菌ゲノムのGC skewを示す(1 kb毎の値)。
B)Aのskew値を累積GC skewグラフで示す。Gが多ければ負の値、Cが多ければ正の値になり、この値をゲノムから累計したグラフ。縦軸がGC skewの累計、横軸がゲノムポジションである。

これら2種においてDnaAの機能あるいは生理的意義が著しく低下していることが明らかとなりました。そこで次に、これら2種のシアノバクテリアはどのような機構でDnaA非依存的に複製開始しているのかを明らかにすべく、複製開始点の同定を試みました。*Synechococcus*と同様の方法（図2左）を用いたのですが、予測された*oriC*どころか、他のどのゲノム領域にも複製開始のシグナルは検出されませんでした（図2右）。他の生物においては複製開始点が一つまたは複数の場合でもそれらが同調していれば検出できることが示されています。この点を考慮し本結果を解釈すると、*Synechocystis*や*Anabaena*においては複製開始点が複数あること、さらにそれらが非同調的に複製されていることが示唆されます。このように初めてDnaAに依存しない生物を実験的に証明し、これまで知られている原核生物とは明らかに違うDNA複製機構を持つ生物であることが明らかとなりました（Ohbayashi et al., 2016, ISME J）。さらにDNA複製制御における光の依存性においても、暗所での代謝活性の違いにより種間で多様性があるということも徐々に分かってきています（Ohbayashi et al., 2013, FEMS Microbiol Lett. Ohbayashi et al., 2016, submitted）。

このように、シアノバクテリアのDNA複製におけるDnaAまたは光の依存性には多様性があり、系統分類の結果から考察すると、これら性質はシアノバクテリアの進化において早い段階で分岐したことが考えられます。さらに葉緑体を持つすべての生物には*dnaA*遺伝子が保存されていません。このことから、おそらく共生以前にDnaA非依存的DNA複製機構を獲得したシアノバクテリアが誕生し、このシアノバクテリアが共生し、そして葉緑体へと進化した可能性を提唱しました。

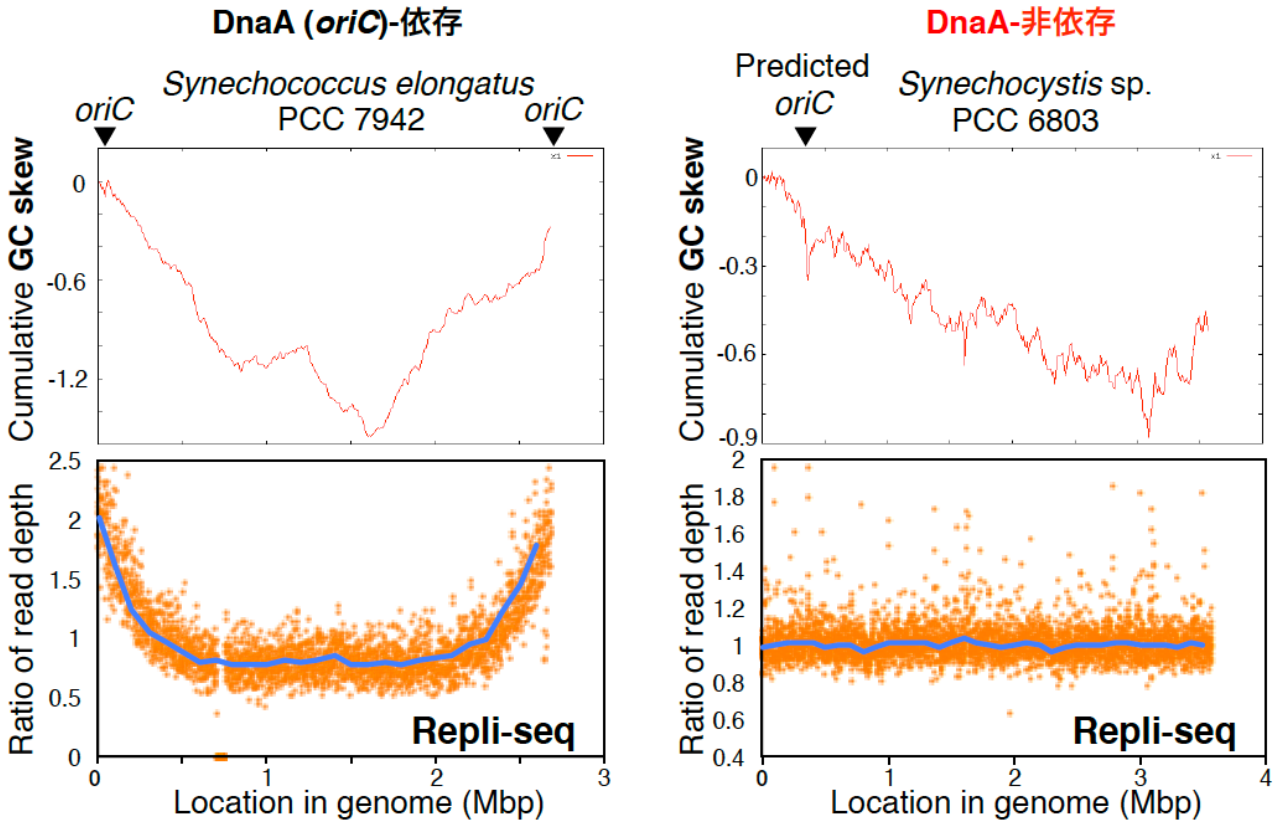


図2 ラン藻のGC skewとRepli-seq解析の結果

Synechococcus elongatus(左図)と*Synechocystis*(右図)におけるGC skew(上図)とRepli-seqの結果(下図)。*dnaA*-boxを含む予測された*oriC*領域を矢印で示す。Repli-seq法はBrdU(チミジンアナログ)で新規合成されたDNAを標識し、標識されたDNAのみを免疫沈降で回収し、次世代シーケンサーで解析する手法である。縦軸はリード量の相対値であり、各100kb毎のリード(点)のアベレージを実線で示す。

これだけ多様化している原核生物において、ほぼすべてに*dnaA*遺伝子と*oriC*様配列が保存されていることから、おそらく原核生物が多様化する以前（原核生物の共通祖先）にDnaAによる複製開始機構を獲得したことが想像できます。このことより、一部のシアノバクテリアはDnaA“依存”から“非依存”へと進化したのでしょう。現在の私の興味は、なぜ*dnaA*非依存へと進化したのかということです。興味深いことに、近年のゲノム解読技術の発展に伴い、*dnaA*遺伝子を持たない原核生物が報告され、さらに驚いたことにそのすべてが細胞内共生している原核生物であることが明らかになりました。この事実だけでは想像の域を超えませんが、共生するためにはDnaA非依存へと進化することが重要であり、共生成立理由の一端がそこにはあるかもしれないと考えています。今後はこのような仮説を検証すべく、まずはシアノバクテリア、葉緑体のゲノムDNA複製機構解明に取り組み、そこから進化的背景も含め共生を読み解いていきたいと思っています。

最後になりましたが、今年の4月から8年間お世話になった吉川研究室を卒業し、国立遺伝学研究所へと移る節目にこのような賞を頂くことができ、自分の研究を振り返る良い機会になりました。また、本研究は東京農業大学、吉川研究室にて行われた結果であり、吉川博文先生、千葉櫻拓先生、河村富士夫先生、門多真理子先生、渡辺智先生の多大なご指導、支援によって遂行することができました。この場をお借りし、厚く御礼申し上げます。

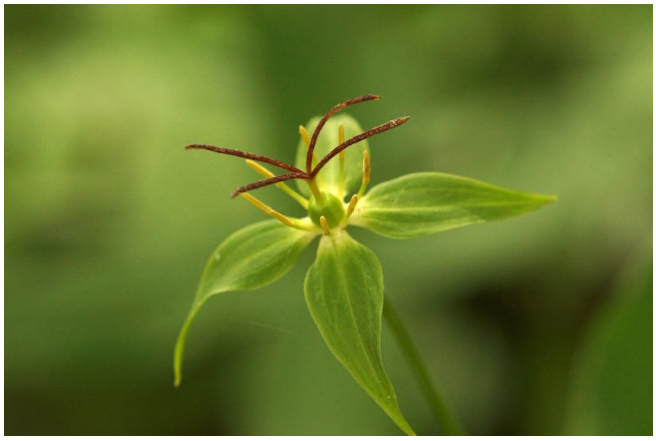
閑話休題

— その１ —

春から初夏に咲く花々

ニュースレター編集委員諸氏からの要請で、今号以降のニュースレターに、私がこれまでに撮り貯めてきた山野に自生する花々の写真の中から、季節に応じて適宜選択したものを皆様の気分転換になればと掲載することになりました。よろしくお付き合の程をお願いします。（磯野克己）

イワウチワ（イワウメ科）：*Shortia uniflora* Maxim. var. *kantoensis* T.Yamaz.　2015.4.02 青梅市



ツクバネソウ（ユリ科）：*Paris tetraphylla* A.Gray 2015.6.10 青梅市

ウリノキ（ウリノキ科）：*Alangium platanifolium* Harms var. *trilobatum* Ohwi　2015.6.10 青梅市

ハマゴウ（クマツヅラ科）：*Vitex rotoundifolia* L.f. 2015.6.29 南房総市

第10回年会におけるポスター賞

ポスター最優秀発表賞
細菌の細胞の大きさはどのようにして制御されるか

加藤　節

Yale University, Department of Molecular, Cellular and Developmental Biology

培養した細菌を顕微鏡で観察すると、どの細胞も同じような大きさであることに気がつく。これは細胞の大きさを一定の範囲に保つ機構（恒常性）の存在を意味している。それでは細胞はどのようにして、自身の大きさを制御しているのだろうか。ここでは桿菌に注目し、細胞の長さを大きさの指標として考える。細胞の長さはその伸長速度と分裂のタイミングに依存するため、これら二つの要素が協調的に制御されることが細胞長の恒常性の維持には必要となる。これまで「細胞はある長さ（大きさ）に達すると分裂する」という閾値モデルが長い間支持されてきたが、そのモデルを決定づける実験的な証拠は得られていなかった。

そこで我々は細胞長制御機構を1細胞レベルで検証するため、非対称分裂を行う*Caulobacter crescentus*と対称分裂を行う大腸菌を研究対象として次のような解析を行った。細胞が伸長し分裂する様子を経時的に観察し、数百から千におよぶ数の細胞についてそれぞれ、細胞が生まれたときの細胞長、また細胞が分裂する直前の細胞長データを取得し閾値モデルと比較した。データ解析を行う際には我々の研究グループが開発した1細胞解析ツールOufti（Paintdakhi and Parry *et al.*, *Mol. Microbiol.*, 2016）を用いた。このソフトは無償でダウンロードできるので、興味のある方はぜひホームページ（http://www.oufti.org/）を参考にしていただきたい。解析の結果、細胞が分裂する直前の細胞長は一定ではなく、閾値モデルはこれらの細菌に当てはまらないことがわかった。そのかわり、細胞が誕生してから分裂するまでに伸長する長さは、細胞が誕生したときの長さにかかわらず平均して一定であることを我々は発見した。つまり、これらの細菌は「一定の長さだけ伸長したのちに分裂する」というメカニズムによって細胞長の恒常性を維持していた（図、Campos, Surovtsev, and Kato *et al.*, *Cell*, 2014）。このとき、細胞の誕生から分裂までに伸長する長さというものは厳密に一定である必要はない。ノイズ（伸長する長さのばらつき）があっても細胞長の恒常性を維持することは可能であり、それゆえにこのメカニズムはとてもロバストであるといえる。実際に我々の実験データにはノイズが見られ、このノイズは細胞集団の細胞長が収束する分布の幅を決定する要因の一つとなっている。

図：定量伸長による細胞長制御機構の概略
細胞は誕生してから決まった長さだけ伸長したのちに分裂する（この例では2μm伸長した後に対称分裂を行うとする）。このとき、2μmの長さで生まれた細胞は分裂を何度繰り返しても同じ長さである。2μmよりも短い／長い細胞は細胞分裂を繰り返すことでその長さが2μmに収束していく。

今回我々が発見したものは現象論的なメカニズムであり、その詳細な分子機構はまだ明らかでない。しかしながら、この発見の意義の一つは、細胞は自身の全体長を感知することなく細胞長の恒常性を維持できることを示した点にある（閾値モデルにおいては自身の全体長を感知することが必須の条件であった）。今後「細胞の大きさを制御するために細胞は何を感知するのか」を研究する際に、その考え方、アプローチのとり方が大きく変わりうる点で意義のある発見であったといえる。

おわりに：このたびは我々の研究をポスター賞に選んでいただき、とても光栄に思います。また、本年会中は口頭発表、ポスター発表を通して多くの方々からたくさんの御質問、御意見をいただき、大変有意義な討論を行うことができました。皆様に心より感謝申し上げます。

ポスター優秀発表賞
共生における非適応形質の進化: 細胞内共生細菌ゲノムにおける不正確な遺伝子発現の適応的意義

金城　幸宏

東京工業大学　生命理工学研究科 / 理化学研究所　微生物材料開発室

内部共生において、細菌が共生体として特殊化していく過程でそのゲノムに大きな変化が生じる。具体的には、極端なゲノムサイズの縮小、ATに偏った塩基組成、コドンバイアスの減少、および転写エラーの生じやすい配列(Homopolymeric tract: HPT)の増加などといった一見非適応的と考えられる特徴が多く報告されている。このような一見非適応的なゲノム特性の進化の説明として、感染の際に生じるボトルネック効果によって選択圧が低下するためであるとする仮説が広く受け入れられている (Moran et al., 1996)。

しかし、このような仮説は進化の主体を共生体に置いたものであり、共生体はあくまで宿主と共に進化するという前提を軽視している。特に、宿主への依存度が強い偏性相利共生細菌などは宿主の進化に大きく影響を受けるはずである。その観点からすれば、上記のような一見非適応的なゲノム特性であっても宿主に有利なものとして適応的に進化する可能性がある。そこで本研究では、偏性相利共生細菌のゲノム特性の進化が宿主の適応進化によって駆動される可能性について検証した。

まず初めに、偏性寄生、偏性相利共生、自由生活型、およびそれらの中間型の生態を持つ全55株の細菌ゲノムを比較することで、上記のゲノム特性の中から、偏性相利共生と関連性が高い特徴の抽出を試みた。その結果、ゲノムサイズの縮小やATバイアスといったゲノム特性は寄生・相利共生問わず偏性的に内部共生に特殊化したゲノムに共通していた。一方で、HPT頻度の増加については偏性相利共生に特有の傾向であることが明らかになった。次に、このゲノム特性が選択圧の低下によってどのくらい説明されるのかについて検証するため、選択圧の指標として用いられる非同義置換率/同義置換率(dN/dS)とHPT頻度との相関を調べた。その結果、ゲノム間およびゲノム内のいずれの比較においても、選択圧とHPT頻度との間にはほとんど相関がないことが明らかとなった。これらの結果は、HPT頻度の増加は、選択圧が低下したことによるものではなく、偏性相利共生の進化の過程で生じたゲノム特性であることを示している。これはすなはち、HPTに偏性相利共生という生態における何かしらの機能的役割があることを示唆している。

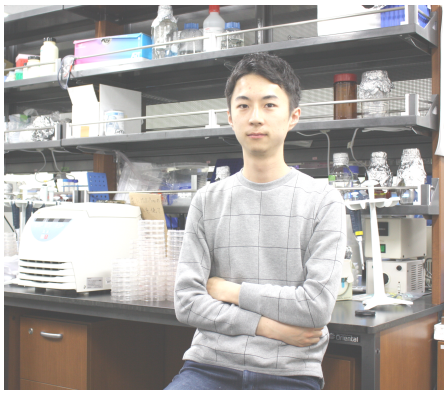
そこで、偏性相利共生細菌ゲノムにおけるHPTの機能分布を調べたところ、細胞増殖に関連する機能カテゴリで頻度が高く、逆に宿主に供給する栄養生産を担う機能カテゴリでは低くなっているとことが明らかになった。これはつまり、HPT上で生じる転写エラーにより共生体の遺伝子発現に機能バイアスが生じることを意味している。さらに、転写エラーの発生頻度について解析したところ、宿主の生育段階間で有意な差が認められた。これらのことから、HPT上で生じる転写エラーにより生育段階に応じた共生細菌の機能発現の偏りが生じることが示唆された。

以上をまとめると、偏性相利共生細菌ゲノム中に高頻度に存在するHPTは、宿主の生育段階に応じた自身の機能発現の偏りを形成する機構として、宿主の適応進化により駆動され得る側面を持っているということになる。これはつまり、“間違いやすさ”という通常では非適応的な性質であっても、共生系のように進化単位が階層構造を持つ場合には適応進化の対象となることを示唆している。しかしながら、現状では本研究はあくまで仮説の提唱に留まっており、さらなる実態の解明のためには今後のより実証的な検証が必要である。

謝辞：本研究を遂行するにあたり、大熊盛也室長（理研JCM）、本郷裕一教授（東工大　生命理工）、徳田岳教授（琉球大　熱生研）には日頃から多くのご指導を賜り、大変お世話になりました。また、学会中は多くの方々にご指摘、ご助言を賜り、大変勉強になりました。心から感謝申し上げます。本研究は理研の大学院生リサーチ・アソシエイト制度の支援を受けて遂行されました。

ポスター審査委員会特別賞
資源がなくても生きていける理由

–粗視化から見えてきた大腸菌集団の飢餓生存戦略–



高野　壮太朗

大阪大学　情報科学研究科　博士後期課程3年

「生物は栄養を与えずともどれだけ生存可能か？」、私が現在の研究テーマを始めるきっかけとなった最初の問いでした。修士課程で、シアノバクテリアの暗期での休眠応答（大規模な転写抑制）メカニズムを研究していたこともあり[1]、生物が栄養枯渇をどのように乗り切るかを、実験的にさらに掘り下げて考えることが博士課程初期のモチベーションでした。

私が、興味を惹かれた現象は、大腸菌細胞集団で見られる長期飢餓耐性です。大腸菌集団では栄養枯渇後も、数カ月から数年、一部の個体は安定して生存可能であることが知られており、低エネルギー環境での生物の生存戦略を解明するためのモデルシステムとして扱われてきました[2]。先行研究から、長期飢餓での安定した生細胞数の維持は、細胞が死に、その死んだ細胞由来の栄養をリサイクルし増殖する活動のバランスで成り立っていることを示唆する結果が得られていました。私は、細胞内活動の抑制が低栄養条件を乗り切る鍵だろうと漠然と考えていたため、低栄養条件でも生物が個体間相互作用を通して活動的な状態を維持できるというアイデアは、非常に新鮮で、強く興味を惹くものでした。

しかしながら、直感的には死細胞のリサイクルにより大腸菌集団が安定して生存できると考えられるものの、どのようにして死滅と増殖のバランスを保ち、長期間見かけ上細胞数を一定に保つことが出来るのかは、しっかりと検証されてはいませんでした。それまでの研究の多くは、長期飢餓で生存していた変異体の解析から、そこでの生存に重要となる機能を推定するアプローチが主であり、長期飢餓での安定的な生存を、増殖、死滅速度の観点から議論することはあまり為されていなかったのです。そのため、まず私が取りかかったことは、定量的に長期飢餓での増殖、死滅速度を測定し、それらの実験結果を基に、リサイクル活動による安定した生存を説明可能とする数理モデルを作成することでした。

数理モデルの作成にあたっては、イギリスのエクセター大学で微生物集団の個体群変動のモデル化を専門に行っているラボに赴き、数カ月間、数学的解析方法について学びました。その時に心がけたことが、現象を実験事実に無矛盾な範囲で粗視化することでした。細胞内部では様々な生命活動が生じているわけですが、それら全てを考慮し、定量することは必ずしも現象をクリアにはしません。私のケースでは、モデル化を行うにあたって、生細胞・死細胞・基質の3要素に絞り、必要最小限のパラメータでモデル化を行うことにしました（図）。その甲斐もあって、必要な実験や、リサイクル活動の鍵となるパラメータが明瞭になり、「長期飢餓環境では細胞集団は、栄養濃度だけでなく自身の細胞濃度に応じて増殖制御を行う」という性質の発見につながったと思っています。

今回の学会では、長期飢餓時のリサイクル活動のメカニズムと重要性について、定量的解析と数理モデルから明らかになったことを発表させて頂きました。発表した内容は、従来の分子遺伝学的解析から得られた知見をより詳細に明らかにするよりも、むしろ概観を再度記述し直すものでした。見方によっては、現象の

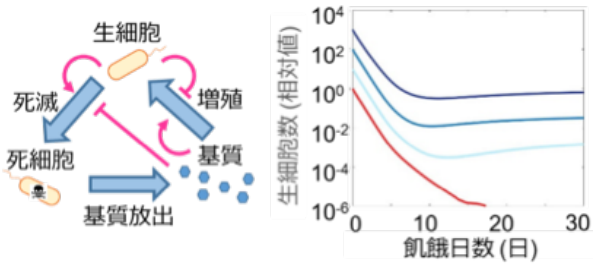


図 細胞濃度依存的なリサイクル活動を組み込んだモデル(左)と数値シミュレーションによる飢餓時の生存個体数推移の再現(右)

解明に逆行しているとも考えられますが、従来の研究から明らかになっていることを一歩引いて俯瞰してみると、検証されるべき事柄が多く手つかずのままになっていることに気付きました。それは、飢餓環境で起きていることを網羅的に測定するのではなく、むしろ現象を可能な限り粗視化し、重要であると考えられる部分を実験的に検証し直したことで可能になったと考えています。細胞内部、集団内部で起きている様々な生命活動についても目を向けながら、それと矛盾しない形で現象をシンプルに記述することを今後も心がけていきたいと考えています。

おわりに

本研究を行うにあたって、津留三良先生、四方哲也先生を初めとする大阪大学共生ネットワークデザイン学講座の方々、エクセター大学のBogna Pawlowskaさん、Ivana Gudelj先生、Robert Beardmore先生に多大な協力や御指導を賜りました。心より感謝申し上げます。また、今回の学会で、ディスカッションやポスター賞の選考に時間を割いて頂いたたくさんの方々にも厚く御礼申し上げます。

参考文献

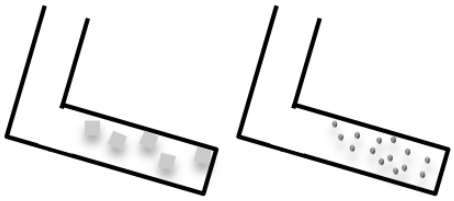
1 Takano S, Tomita J, Sonoike K, Iwasaki H. *BMC Biol.* 13 (2015)
2 Finkel SE, *Nat Rev Microbiol*, 4: 113-120 (2006)

実験技術紹介コーナー

お手持ちのちょっとした実験技術をお寄せください。自分で考えたものでも、受け売りでもOKです。今号では「汚れがこびりついてしまったL字管の洗い方」を編集委員より紹介します。

微生物の培養に使うL字管ですが、内壁に汚れがこびりついてどうしても取れないときがあります。超音波洗浄でもだめ、ブラシは届かない、洗剤と一緒にオートクレーブしてもだめ、そんなときは…

メラミンスポンジ(商品名: 激落ちくんなど)を小さく(小指の先大)ちぎってたものを幾つかと、水を入れて激しく振ると汚れが落ちます(大坪)。
鉛玉を入れて振ってもよいですよ(佐藤)。
鉛玉は釣り用の小さいヤツでしょうか..?(大坪)
散弾の玉を使っていましたが、最近はアルミナボール（HD-2）も使っています(佐藤)。



次号では、オートクレーブ後につかう器具乾燥機の整理法を紹介しようと思います。お楽しみに！

原著論文紹介コーナーは、応募がありませんでしたのでお休みします。原著論文紹介コーナーに付きましてはニュースレター12号を参照してください。

企業研究者からのメッセージ

微生物学的安全性とゲノム微生物学

矢野剛久

花王株式会社安全性科学研究所３室

一般企業の研究開発部門への就職を考えている学生の皆様。就職後はどのようなお仕事を志望されているのでしょうか。ゲノム配列が未知の微生物におけるゲノム配列を明らかにしたり、そのゲノムを大規模に編集したりすることで物質生産に有用な微生物を育種するお仕事。医療分野において、ある病気に係る遺伝子マーカーを見つけたり、その遺伝子マーカーを使った診断キットを提案したりするお仕事等。きっと本稿をお読みの皆様であれば、他にも次代を担う多種多様な研究を夢に描いていることと思います。それでは、現在私が担当している、製品の微生物学的安全性の確保、という研究分野はいかがでしょうか。少々自虐的ではありますが、あまり希望されている方がいない、もしくは、そもそもご存じない方も多いのではないかと推察しております。

ここで用いた微生物学的安全性の確保という言葉は十分な防腐防黴性の確保等と表現されることもありますが、平易に言いますと「使用中に製品が腐らないようにする」ということです。ものが腐るとは、食品に限った現象ではありません。様々な意味で無限の可能性を持つ微生物は、油断すると何処でも増殖して製品の機能劣化を引き起こす可能性があります。例えば、それはお使いの化粧水かもしれません。お使いの化粧水で微生物が増殖して異臭がしたり、変色したりしたらどうでしょう。どんなに素晴らしい機能が謳われていても、それらの現象に気付いた3秒後にはその製品の廃棄を決断されていることでしょう。それどころか、その製品を販売した会社そのものに対する不信感に溢れ、二度とその会社の製品を買っていただけないかと思います。「安全性」が企業活動の根幹に関わる重要な分野であることはご想像の通りかと思いますが、微生物学的安全性の破綻もまた、企業の存続を脅かす存在でもある訳です。そして、そのようなことがないように、適切な防腐剤等の化合物や物性を製品に付与する研究が必要となってくる訳です。

ここまで述べますと、こうした分野でのゲノム微生物学の重要性も想像できるかもしれません。例えば化粧水に混入し得る微生物はおそらく皮膚常在菌でしょう。工場の生産ラインで混入する微生物かもしれません。微量な唾液の混入に起因するかもしれません。そこで、例えば防腐剤等で増殖を抑制すべき菌種を把握することを目的として、混入した微生物群のメタゲノム解析を行うアプローチが考えられます。次の課題は、その混入菌をどのように制御するかです。菌種によって防腐剤の効き方は異なります。メタゲノム解析で明らかになった菌種の中でどのような菌種に防腐剤が効き難いのか、防腐剤が効き難い菌種はどのような機構で抵抗性を発現しているのか、その菌種の弱点は何か。今度は、対象となる菌種のゲノム配列から理解するアプローチが有効になるかもしれません。

もちろん、そのような研究を避け、防腐剤やその他の微生物の増殖を抑える成分を増量してしまうアプローチも考えられます。しかし、こうした成分の過剰な添加は皮膚刺激性といった副作用を招きかねません。従いまして、防腐剤等の成分を出来る限り減らすことでヒトに対してより安全な製品を志向することは、高度な安全・安心を求める時代の要請でもあると思います。一方でそうした様々な制限の中であっても微生物学的安全性を確実に担保していく為、混入する微生物とその増殖リスクを正確に捉えることは今後ますます重要になってくるでしょう。例えばある一つの微生物のある一つの性質だけに捉われてしまい、製品で増殖し得る重要な微生物を見逃してしまうようなことは絶対にあってはなりません。ゲノム微生物学の視点を組み込んだアプローチは、こうした重要な現象を見過ごす危険性を回避し、製品を取り巻く場面をより客観的に、多面的に捉える為に今後さらに重要になってくると思われます。

微生物ゲノムに関する膨大なデータから重要な情報を見出し、検証する研究に取り組まれている皆様。そのアプローチを社会に還元する場の一つとして、微生物学的安全性の確保、というフィールドにも興味を持っていただけたら幸いです。

第11回ゲノム微生物学会のお知らせ

第11回日本ゲノム微生物学会年会を2017年3月2日(木)～4日（土）の3日間、慶應義塾大学湘南藤沢キャンパス（Shonan Fujisawa Campus:略称SFC）で開催することになりました。SFCは1990年に設立され、湘南台駅（小田急、相鉄、地下鉄）から学バスでのアクセスになります。首都圏からのアクセスは便利です。
http://www.sfc.keio.ac.jp/

10年を一区切りと考えると、ゲノム微生物学会も新たな10年が湘南から始まることになります。詳細はこれから詰めていきますが、これまでの年会に準じた形式で開催する予定です。今後実行委員会で詳細を検討して決定次第、ホームページならびに秋号のニュースレター（11月に発行予定）に掲載しますのでお待ち下さい。SFCキャンパスは大規模な学会が開催されることが稀な会場です。是非この機会に湘南方面に足を延ばす予定をカレンダーにいれてください。そして非会員の知人にも是非紹介していただき、学会と年会の盛り上げに協力をお願いします(板谷光泰)。

写真）慶應義塾大学湘南藤沢キャンパス

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、應蓉文、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 517 名（平成28年5月31日現在）
一般会員 362名；学生会員 137名