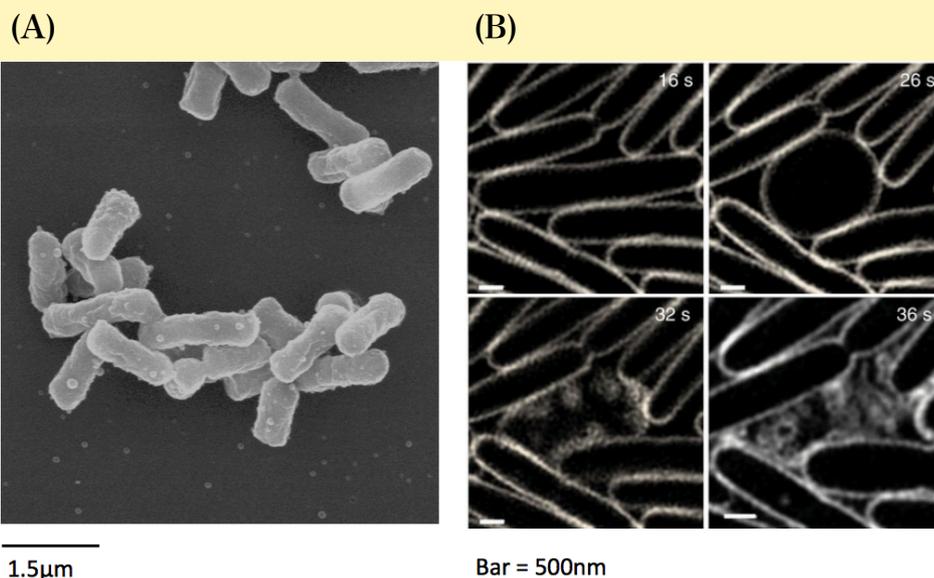


日本ゲノム微生物学会 ニュースレター

細胞死がもたらす細菌の社会性 豊福雅典、野村暢彦 (筑波大・生命環境系)

細菌は細胞膜で構成されたメンブランベシクル (MV) (図A) やDNAなど、自身の細胞の一部や内容を外に放出する。外に放出されたこれらの材料は細胞間相互作用に関与し、バイオフィーム形成においても重要な役割を果たす。しかしながら、MVやDNA放出の詳細なメカニズムは明らかでなかった。我々の研究グループ(筑波大学・チューリッヒ大学・ETH・シドニー工科大学)は、MVやDNAが集団中の一部の細胞の破裂によって放出されることを明らかにし、explosive cell lysis (ECL)と名付けた。一部の細胞で誘導されるECLの影響が集団全体に波及する様子は個と集団の階層性を連想させる。ところで、ECLによるMV形成過程の解明にあたって、一つの鍵となったのが超解像顕微鏡によるライブセルイメージングである(図B)。世界で初めてMV形成過程を捉えた成果は、MVは生細胞から出芽するような形で形成される、という通説に一石を投じた。生命の営みにおける生と死のバランスは細菌にとっても重要であるのかもしれない。



- (A) *Pseudomonas aeruginosa*が産生するメンブランベシクル(MV)のSEM画像。MVが細胞から放出されているようにも見えるが、形成されたMVが細胞に付着した様子と区別できていない。(M. Toyofuku et al. *Advances in Colloid and Interface Sciences* <http://dx.doi.org/10.1016/j.cis.2015.08.013>より一部改変)
- (B) Explosive cell lysisによる *P. aeruginosa* のMV形成。MVが細胞の破裂によって形成される様子のライブセルイメージング画像。細胞壁が分解された細胞は丸くなり、破裂する。その際、破裂した膜がMVを形成する。(L. Turnbull, M. Toyofuku* et al, *Nature Communications*, doi:10.1038/ncomms11220より一部改変)

ゲノム微生物学分野の研究動向

「ひとつの生物」の「すべての転写因子」の制御標的の同定

石浜 明

(法政大学マイクロナノテクノロジー研究センター)

20世紀半ば、大腸菌をモデル生物として利用した分子生物学が勃興し、ゲノムの分子実体、ゲノム遺伝情報の伝達・発現の分子機構が解明され、現代生命科学の新時代が始まった。20世紀後半になると、遺伝子操作の技術が、真核生物にも適用出来るようになる

と、研究の前線は、一挙にヒトを含めた多細胞真核生物に移行した。世紀転換点での、ヒトから大腸菌までのゲノム全構造の解明で、こうした趨勢は頂点に到達した。研究費を含めた、良好な研究環境を求めて、研究社会の関心の大移動が起きた。ところが、実はこの時期、学問の底流では、大腸菌を含めた原核生物研究の重要性が高まっていた。

ゲノム全構造の解明を基盤に、医療や農業分野で、遺伝子操作での技術改革が急速である。その先端では、ヒトの細菌感染症を、ひとりの患者から採取した細菌のゲノムの解析や発現遺伝子の網羅的解析などを利用したテーラーメイドの感染症治療法の開発など、進歩は急速である。また、遺伝子操作による細胞治療や、遺伝子利用による物質生産などの技術開発も急展開を示している。しかし、こうした技術開発も、ゲノム全遺伝子を見据えた全体の理解が不可欠である。ゲノム制御の全体像の解明が、ゲノム構造解明のその先の攻

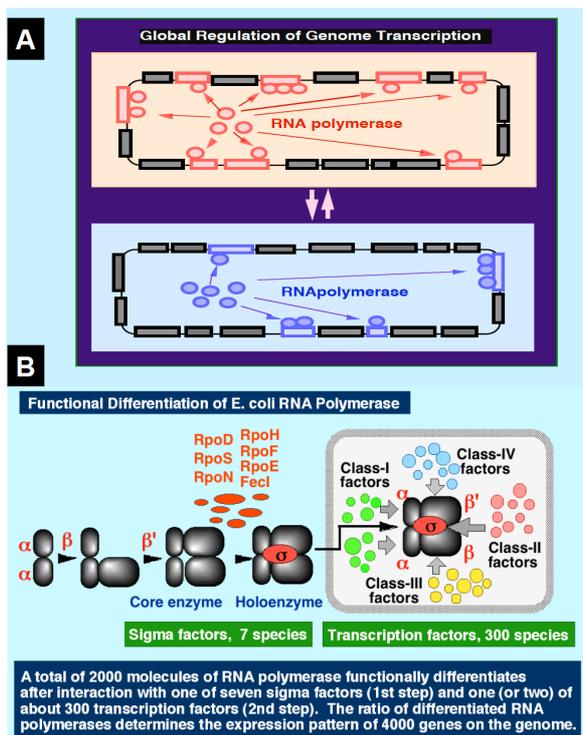


図 1. 大腸菌ゲノム転写制御様式と転写装置の機能制御モデル。[A] 大腸菌のゲノムの約4,500遺伝子の転写は、約2,000分子のRNAポリメラーゼの選択的利用で制御される。[B] RNAポリメラーゼ・コア酵素は、7種類のシグマ因子と、約300種類の転写因子との相互作用で、転写標的の選択性が制御されている。転写因子は、RNAポリメラーゼ各サブユニットとの相互作用で機能する。

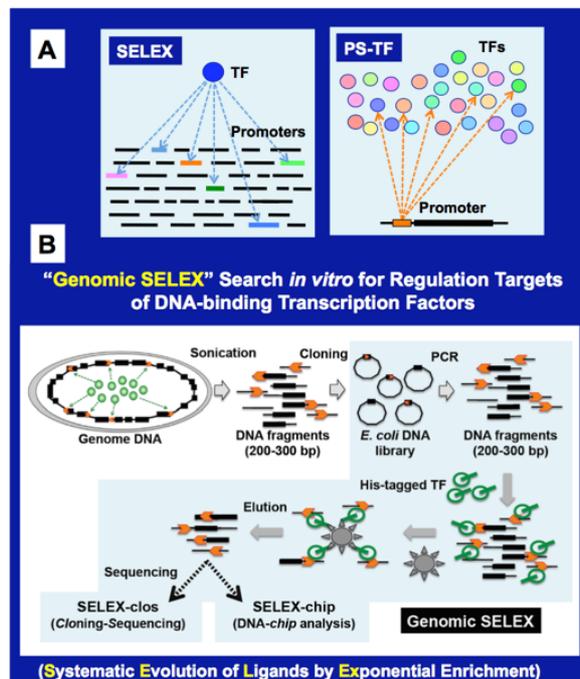


図 2. 転写因子制御標的の同定の研究戦略。[A] ひとつの転写因子が認識結合する標的プロモーターを同定するGenomic SELEX法と、ひとつのプロモーターに結合する転写因子群を同定するPS-TF法を開発し利用した。[B] Genomic SELEX実験法。大腸菌ゲノムDNAの200-300 bp鎖長断片コレクションとHis-tag付加純化転写因子を混合し、転写因子結合DNAを回収し、その配列から転写因子結合部位を推定する。

究目標であった筈であるが、そこを素っ飛ばして、現代科学の暴走が起きた。現在、細菌から動物・植物・ヒトにいたるまで、個別遺伝子の転写制御を、関与する転写因子の同定と作用機作から解析した研究が盛んである。しかし、それをゲノムの全遺伝子を対象にした転写制御の全体像の枠内で解明するには、新たな戦略戦術が必要である。しかも、ゲノム制御全体像解明のためには、遺伝子数量が多く、細胞毎の個性が多様な多細胞生物では、現在の技術水準では不可能である。『大腸菌研究の再評価』は、こうした背景で進んでいた。しかも、時恰も、地球環境悪化の危機が迫り、自然環境中での、細菌の生存状況を分子レベル・遺伝子レベルで理解する、学問的希求が意識されるようになった。大腸菌ゲノム解明と平行して、それまでは、実験室の「理想的環境」で培養した大腸菌だけを利用することで、分子生物学の基盤概念が確立されて来た研究目標から、様々な自然環境でのゲノム発現制御機構の解明へと、大腸菌研究の標的が移動した。『大腸菌研究の再評価』が起きているのは、こうした実用的要請と、本来の基盤研究推進からの要請がある。現代生命科学に共通した課題である、ゲノム発現制御の解明には、個別遺伝子の基盤情報が尤も豊富で、遺伝子の発現機構・発現装置や、発現制御機構に関する情報が尤も豊富な、大腸菌をモデルとして利用すれば、全体像

ラーゼは、多種多様な転写制御因子との相互作用で、その遺伝子選択性を変換する(1,2)。大腸菌は、遺伝子総数約4,500で、それら個別遺伝子の機能が一番良く分かっているモデル生物である。ゲノムの転写は、2,000分子のRNAポリメラーゼが、プロモーター認識機能を備えた、7種類のシグマ因子と、300種類の転写因子との、2段階の相互作用で、転写標的遺伝子が決まる(図1B)。従って、全てのシグマ因子、全ての転写因子の支配下の標的遺伝子を同定し、細胞内の全シグマ因子・全転写因子の濃度を決定すれば、ゲノムの発現遺伝子セットを予測することが可能である。現在動員できる科学技術水準でも、大腸菌なら、こうした研究が可能である。モデル生物・大腸菌が再評価されている背景でもある。転写制御に関わる2群の制御因子(シグマ因子と転写因子)の制御標的の同定と制御機能の解明研究は、*in vitro*、*in vivo*両方向から進められている。

転写制御蛋白のDNA結合部位同定のSELEX法

大腸菌蛋白の大方は、精製条件さえ設定できれば、活性を維持して精製できる。活性を維持した純化転写制御因子は、*in vitro*でもゲノムDNAの本来の制御部位を選択認識し結合する。この性質を利用し、ゲノムDNA断片コレクションと混合し、蛋白に結合したDNA断片を特定することで、制御標的を同定する Genomic SELEX法が開発された(図2)(3)。この方法を利用して、大腸菌の7種類シグマ因子及び300種類の転写因子の大腸菌ゲノム上の結合部位を同定し、支配下遺伝子を探索することで実施された。シグマ因子は、RNAポリメラーゼ・コア酵素に結合して機能するため、SELEX実験は、全てシグマ因子を除いたコア酵素と、過剰量のシグマ因子を混合して形成されたホロ酵素を利用して行われた(図2B)。一方、転写因子の多くは、代謝中間体などの低分子化合物との相互作用や、二成分制御系の転写因子がリン酸化で活性が調節されているように、蛋白に化学的修飾で活性が制御されている。従って、エフェクター存在・非存在や、修飾有無で、SELEX実験が実施された。蛋白結合DNA断片は、個別の単離し配列決定を行うか(SELEX-clos法)か、大腸菌ゲノムDNA断片を整列したtiling arrayを利用して決定された(SELEX-chip法)。

シグマ因子のゲノム結合部位

大腸菌遺伝子プロモーター領域には、多くの転写因子や、核様体形成蛋白が結合し、RNAポリメラーゼのプロモーターへの結合を促進したり妨害している。しかし、試験管内反応で、こうした多種多様なDNA結合蛋白のない条件で行うと、本来の試験転写制御因子だけの認識結合部位が特定できる。例えば、大腸菌増殖期の主要シグマ因子Sigma-70 (RpoD)は、ゲノムの2,701箇所結合するが、プロモーター領域への結合

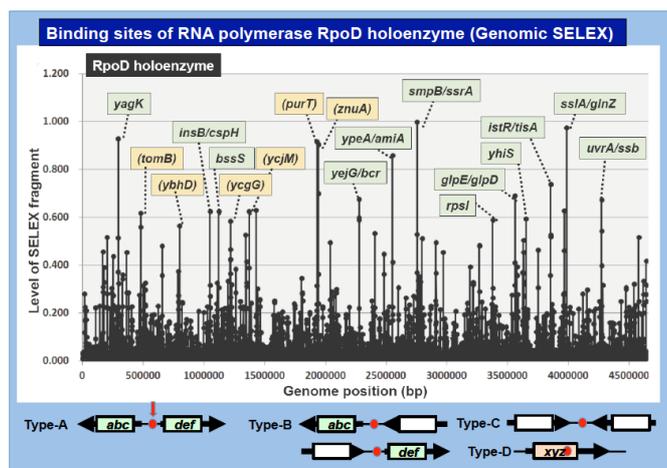


図3. 大腸菌主要シグマ因子RpoD認識結合部位。RNAポリメラーゼ・コア酵素に過剰量のRpoDシグマ因子して形成されたホロ酵素を利用して、SELEX法でRpoD結合部位を同定した。結合部位は、Type-A, B, C, Dの4種類に分類した。期待されるプロモーターを含むType-A, Type-B以外に、ORF上のType-Dが、60%もあった。

を解明し、本質に迫ることができる期待があるためである。

大腸菌ゲノム転写制御モデル

大腸菌ゲノムから転写される遺伝子群は、転写装置によって選択される(図1A)。転写酵素RNAポリメ

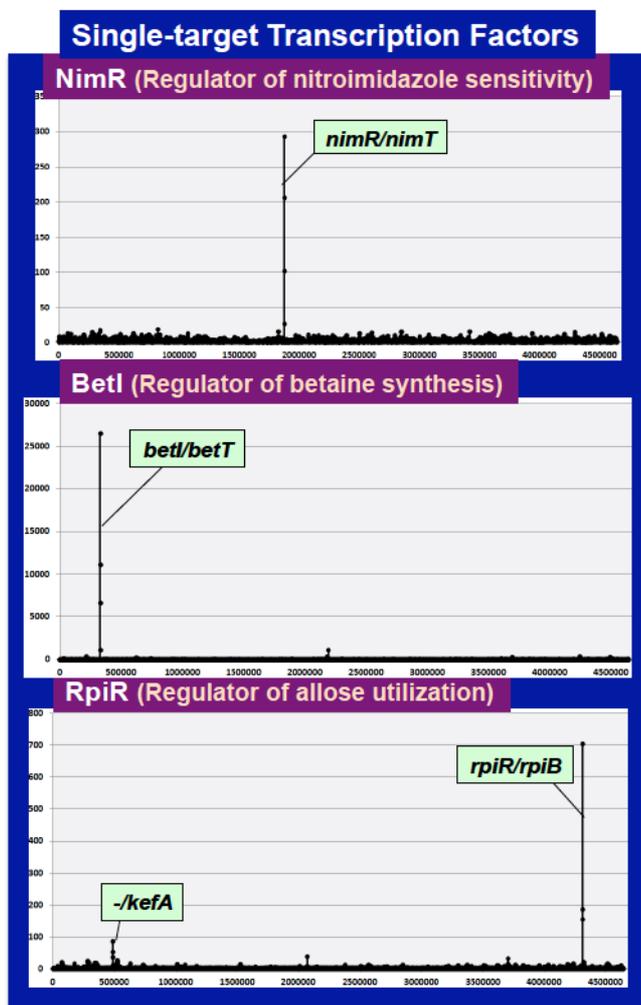


図4. 単一結合部位を示す転写因子。大腸菌約300種転写因子の内、特定オペロンのみを制御する転写因子は、約10種類にしか過ぎなかった。図は、3種典型である。大方は、多数標的を支配する転写因子であり、教科書で理解した姿と大きく異なる。

は669箇所、これらがConstitutive Promoterと同定された(図3)(4)。EcoCycやRegulonDB登録されている2,500以上の大腸菌プロモーターは、他の補助転写因子存在下で機能するものであることが判明した。更に驚く事実は、RpoDホロ酵素が結合部位の60%は、遺伝子ORF上にあった。Operon途中のInternal Promoterが、最近俄に注目されているが、この発見によって、ORF上のプロモーター様配列の制御機能の解明が、今後の大きな課題になることが予測される。

転写因子のゲノム結合部位

大腸菌転写因子300種の凡そ20%は未だ制御機能不明のY-gene 転写因子である。また、制御機能が同定されている転写因子も、実は、僅かの制御標的で機能解析がなされただけのものが多い。SELEX実験法は、

生理機能の探索に多大の実験が必要な、機能未知転写因子の制御標的を簡便に予測できる格好の手段である。事実、転写因子単独で行ったSELEX解析実験からは、多くの制御機能不明Y-gene転写因子の制御標的が判明している(表1)。また機能既知とされている転写因子に関しても、多くは、やっと同定された僅かの標的を解析し、制御機能を示唆した報告が多い。しかし、SELEX実験を行うと、遙かに多くの標的を制御している全貌が判明することが多い。SELEXデータを総合すると、転写因子が認識結合する部位数量は、転写因子

表1. SELEXによる機能未知転写因子の制御機能同定

Y-gene TF	Renamed	Regulatory function
YbaO	DecR	Regulator of detoxification of cysteine
YbiH	CecR	Regulator of cefoperazone and chloramphenicol sensitivity
YbjK	RcdA	Regulator of <i>csqD</i> (master regulator of biofilm formation)
YcdC	RutR	Regulator of pyrimidine utilization
YcjZ	PgrR	Regulator of peptide glycan recycling
YdcB	SutR	Regulator of sulfur utilization
YdhM	NemR	Regulator of <i>nemA</i> (N-ethylmaleimide reductase)
YedW	HprR	Regulator of hydrogen peroxide response
YeaM	NimR	Regulator of nitroimidazole sensitivity
YgiP	Dan	DNA-binding protein under anaerobic conditions

大腸菌転写因子は、一般に制御標的遺伝子プロモーターの周辺に結合する。SELEX実験によって、機能未知転写因子のゲノム上の結合域を推定し、その結果から、制御標的を確定することにとりわけ有効である。全てのY-gene転写因子のSELEX実験を行った。表は、推定標的を実験的に証明し論文で公表したものである。個別の記載原著を省略するが、多くは、TECデータベース(www.shigen.nig.ac.jp/ecoli/tec/)に記載した(Ishihama et al., 2016)。

ごとに多様で、単一標的を示すものから、1,000箇所にも及ぶものまで、多種多様である。しかし、単一標的の転写因子は、僅か10数種類であった(図4)。多数標的を制御する包括制御因子(Global Regulator)は、数百のオペロンを制御している様相が判明した。例えば、炭素源の代謝関連遺伝子群を制御するCRPやCra、窒素源代謝関連遺伝子群を制御するLeuOやLrpなどがその典型である(図5)(5-8)。核様体形成に関わり、転写制御にも参画するFis, H-NS、IHFなどは、ゲノム上1,000箇所に近い部位に結合する(図6)(9)。

転写因子の制御標的の同定の現状

大腸菌内での転写制御因子の制御標的を、網羅的に探索する方法が、ゲノム解析に平行して開発された。全転写産物RNAを解析する方法、全翻訳産物蛋白を網羅的に同定する、優れた方法である。シグマ因子、転写因子それぞれについて、それらをもたない欠損系統や、過剰発現株を利用して、特異的標的を探索する方法である。しかし、*in vivo*では、全ての転写制御因子が共存し、また核様体形成蛋白や、DNA複製・修復・

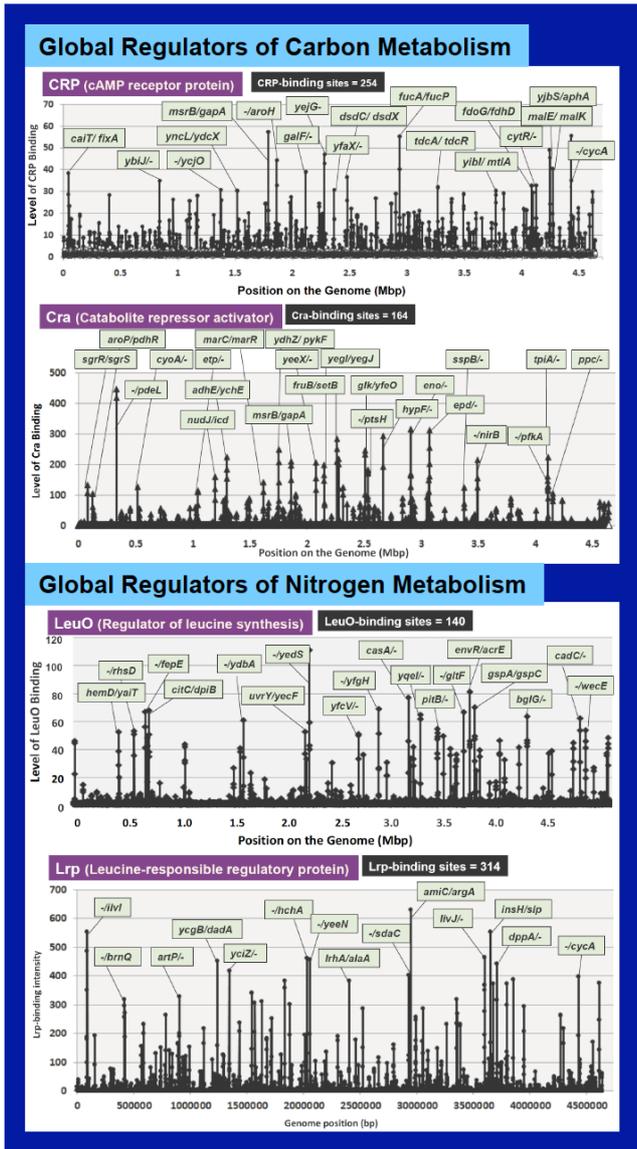


図5. 多数標的を支配する包括制御転写因子。炭素源の利用代謝系に関わる遺伝子群を包括的に制御する転写因子CRPとCraは、それぞれ254と164標的を制御していることが判明した。一方、窒素源の代謝系の遺伝子群を制御する包括制御因子LeuOとLrpは、それぞれ140と314標的の制御が同定された。

組換えや、ゲノム配置・分配に関わるDNA結合蛋白共存下の姿である。他の補助因子の支援でDNA結合を示す標的は、*in vitro* では同定されていない。一方、他のDNA結合蛋白との拮抗で結合出来ない標的は、*in vivo*では発見できない。従って、単独で認識結合するSELEXデータは、基盤情報である。

加えて、*in vivo*で行われた実験データを統合し、現在広く利用されているデータベース (EcoCycやRegulonDBなど) には、次のような、深刻な問題がある。ゲノム解析が行われた大腸菌は、恐らく数千株にも上るであろう。しかし、全てゲノム配列が異なり、大腸菌K-12標準株でも、研究室保管中に変異が累積し

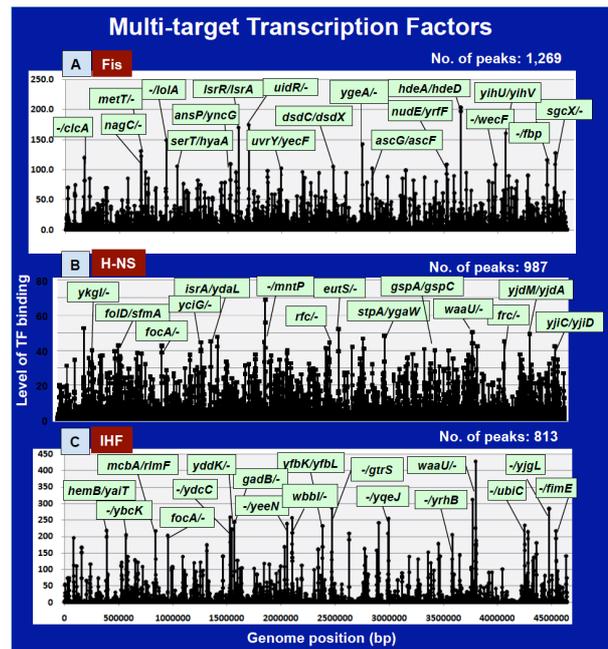


図6. 核様体形成蛋白の結合部位。核様体蛋白は、ゲノムを折り畳み、核様体の形成に関わり乍ら、結合部位周辺の遺伝子転写にも関わる。転写制御機作が良く解明されているFis, H-NS, IHFは、SELEX実験より、それぞれ、1,269、987及び813部位に結合することが判明した。

遺伝的背景が異なることが判明している。重要な転写制御因子での、実験室標準株間での違いは、我が国の大腸菌主要13研究室の同一名称のK-12 W3310株間で、定常期作動シグマ因子RpoS (Sigma-38)で解析すると、少なくとも6系統があることが判明したことが発端となった (10)。モデル生物・大腸菌の同一名称の菌株でも、転写因子の組成、個別転写因子の性状の違いがあれば、ゲノム全体の制御から見ると大きな違いがあることが予測できる。広く汎用されているデータベース (EcoCycやRegulonDBなど) は、菌株が違い、培養条件や解析方法も異なる雑多なデータのコレクションである。データベースの品質を下げている、更に大きな要因は、制御標的が、実験的に同定された僅かの制御標的に含まれる共通配列から推定したConsensus配列を指標に予測されたものが混在しているためである。有用ではあるが、これらに留意して利用することが望まれる。

TECデータベースの構築と公開

今回、大腸菌同一菌株で、同じ実験条件で、ひとつの研究グループで、実施された、全7種類のシグマ因子、300種転写因子の制御標的データコレクションは、今後、自然環境での大腸菌ゲノム転写制御を解析する際の、道標となるものである。その情報を、研究者社会で共有し、大腸菌研究を加速する目的で、国立遺伝学研究所の協力を得て、TECデータベース

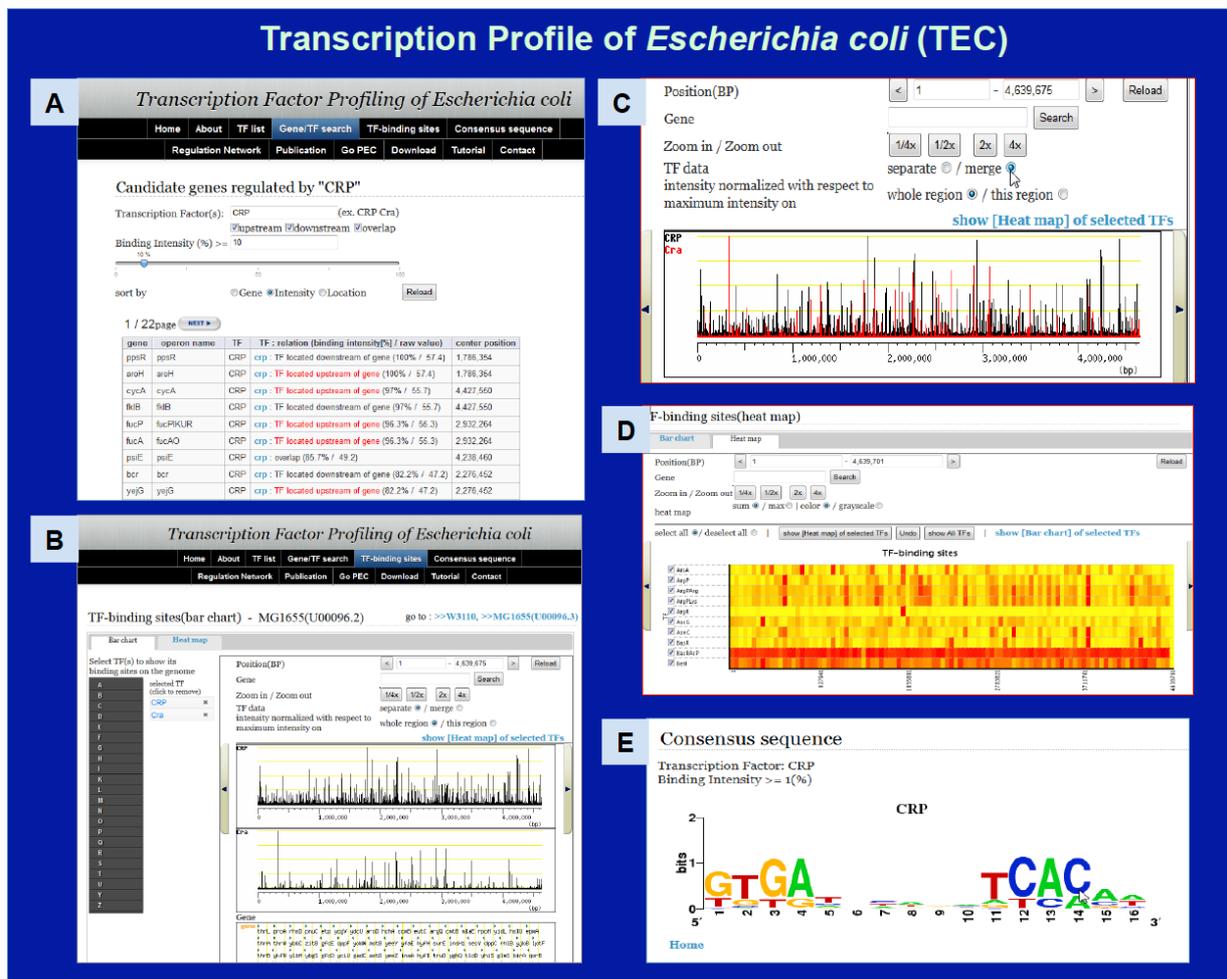


図7. TECデータベース。SELEX解析による、大腸菌シグマ因子と転写因子のゲノム上の結合部位データを収録したTEC (Transcription Profile of *Escherichia coli*)を開発した(www.shigen.nig.ac.jp/ecoli/tec/)。転写因子を指定しての制御標的探索リスト[A]、ゲノム上での指定転写因子の結合部位と結合強度を示すSELEXパターン[B]、複数の転写因子の結合部位パターンの同一画面上での表示[C]、ゲノム上の結合部位と強度を示すヒートマップ[D]、指定転写因子支配下の多数標的間の共通結合配列予測パターン[E]など、多様な検索が可能である。今後、SELEX解析データの追加、修正を継続し乍ら、PS-TF実験法による、特定プロモーターに結合する転写因子全貌、転写因子の各種培養条件での細胞内濃度についてのデータも逐次追加し、大腸菌単一系統 (*E. coli* K-12 W3110)だけに絞った、初めての網羅的転写データベースの構築を目指す計画である。

“Transcription Profile in *Escherichia coli*” を構築し、我が国発信の基盤情報として公開を始めた(www.shigen.nig.ac.jp/ecoli/tec/)。TECからは、SELEX実験データを利用した、各種の検索も行える方策も設定してある(図7)。今後、更にSELEXデータの追加、更新を重ね、加えて、SELEX実験のために準備した純化大腸菌転写因子セットを利用した、PS-TF (Promoter-Specific Transcription Factor) 探索実験(図2A)を開始した。例えば、大腸菌バイオフィーム形成を支配する中核転写因子CsgDのプロモーターは、典型的な多因子支配プロモーターである(11)。PS-TF探索を実施すると、10数種類の転写因子の参画が示唆されている。自然界での、多種多様な環境への適

応に関わる遺伝子群の発現の中核転写因子のプロモーター制御に関わる転写因子PS-TF探索のデータも、TECに加えていく予定である。

シグマ因子・転写因子の制御標的の全貌が判明すれば、それらの細胞内濃度とDNA結合強度の情報があれば、ゲノム全遺伝子の発現レベルの理論的予測が可能となる。大腸菌7種類シグマ因子については、細胞内濃度とDNA結合強度を実測出来ている(12-14)。転写因子の細胞内濃度の測定結果についても、その一部を報告した(15)。これら情報も、TECデータベースに含める予定である。

TECの構築と公開に関しては、国立遺伝学研究所系統情報研究室（山崎由紀子博士主宰）に多大の支援を得た。また、TEC構築に関しては、TEC編集委員諸君、TEC評価委員諸氏の協力を得た。記して感謝する。

参考文献

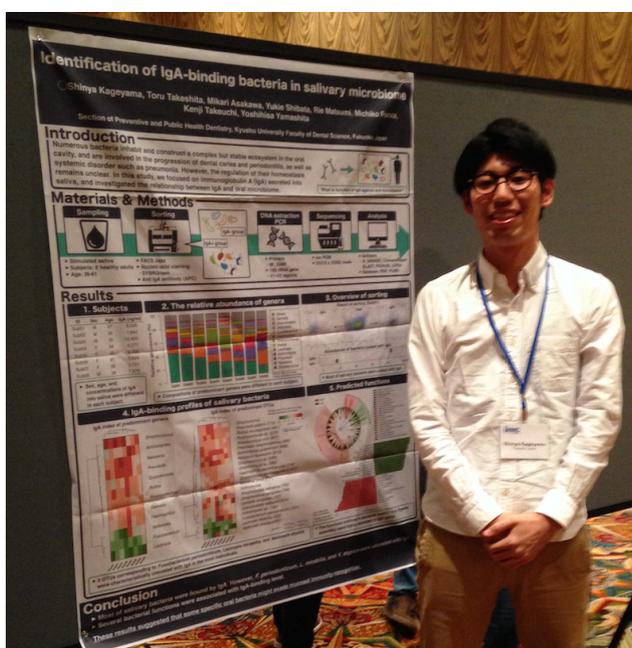
- Ishihama, A.: Prokaryotic genome regulation: A revolutionary paradigm. *Proc. Jpn. Acad., Ser. B, Phys. Biol. Sci.*, 88, 485-508 (2012)
- Ishihama, A.: Prokaryotic genome regulation: Multi-factor promoters, multi-target regulators and hierarchic networks. *FEMS Microbial Reviews*, 34, 628-645 (2010)
- Shimada, T., Fujita, N., Maeda, M. and Ishihama, A.: Systematic search for the Cra-binding promoters using genomic SELEX. *Genes Cells*, 10, 907-918 (2005)
- Shimada, T., Yamazaki, Y., Tanaka, K. and Ishihama, A.: The whole set of constitutive promoters recognized by RNA polymerase RpoD holoenzyme in *Escherichia coli*. *PLoS ONE* 9: e90447 (2014)
- Shimada, T., Fujita, N., Yamamoto, K. and Ishihama, A.: Novel roles of cAMP receptor protein (CRP) in regulation of transport and metabolism of carbon sources. *PLoS ONE* 6: e20081 (2011)
- Shimada, T., Yamamoto, K. and Ishihama, A.: Novel members of the Cra regulon involved in carbon metabolism in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 193, 649-659 (2011)
- Shimada, T., Bridier, A., Briandet, R. and Ishihama, A.: Novel roles of LeuO in transcription regulation in *E. coli*: Antagonistic interplay with the universal silencer H-NS. *Mol. Microbiol.* 82, 376-397 (2011)
- Shimada, T., Saito, N., Maeda, M., Tanaka, K. and Ishihama, A.: Expanded roles of Lrp in transcription regulation of the *Escherichia coli* genome: Genomic SELEX screening of the regulation targets. *Microbial. Genomics* 1: doi: 10.1099/mgen.0.000001 (2015)
- Ishihama, A., Shimada, T. and Yamazaki, Y.: Transcription profile of *Escherichia coli*: Genomic SELEX search for regulatory targets of transcription factors. *Nucleic Acids Res.* 44, 2058-2074 (2016)
- Jishage, M. and Ishihama, A.: Variation in RNA polymerase sigma subunit composition within different stocks of *Escherichia coli* W3110. *J. Bacteriol.* 179, 959-963 (1997)
- Ogasawara, H., Yamada, K., Kori, A., Yamamoto, K. and Ishihama, A.: Regulation of the *Escherichia coli* *csgD* promoter: interplay between five transcription factors. *Microbiology* 156, 2470-2483 (2010)
- Jishage, M. and Ishihama, A.: Regulation of RNA polymerase sigma subunit synthesis in *Escherichia coli*: Intracellular levels of σ^{70} and σ^{38} . *J. Bacteriol.* 177, 6832-6835 (1995)
- Jishage, M., Iwata, A., Ueda, S. and Ishihama, A.: Regulation of RNA polymerase sigma subunit synthesis in *Escherichia coli*: Intracellular levels of four species of sigma subunit under various growth conditions. *J. Bacteriol.* 178, 5447-5451 (1996)
- Maeda, H., Fujita, N. and Ishihama, A.: Sigma competition: Comparison of binding affinity to the core RNA polymerase among seven *E. coli* sigma subunits. *Nucleic Acids Res.* 28, 3497-3503 (2000)
- Ishihama, A., Kori, A., Koshio, E., Yamada, K., Maeda, H., Shimada, T., Makinoshima, H., Iwata, A. and Fujita, N.: Intracellular concentrations of 65 species of transcription factors with known regulatory functions in *Escherichia coli*: *J. Bacteriol.* 196, 2718-2727 (2014)

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

影山伸哉

(九州大学大学院歯学府 口腔保健推進学講座 口腔予防医学分野)



私は現在、歯学部の予防歯科という教室に所属しています。私はその中で、NGSを用いた口腔細菌の網羅的解析を中心とした研究に携わっています。口腔に生息する膨大な数の細菌を包括的に捉え、う蝕や歯周病のみならず、高齢者における誤嚥性肺炎など、口腔細菌と疾患、あるいは健康との関連の解明を目指し、日々研究を行っています。

歯学部に所属しているということもあり、私は日頃歯科系の学会に参加しています。口腔の二大疾患であるう蝕（虫歯）と歯周病は細菌感染症であり、口腔細菌については昔から盛んに研究が行われていますが、NGSを用いた研究についてはまだまだ多くありませ

ん。そのため、どの学会に参加しても自分と同様の研究発表はほとんどなく、自分の研究に直結した意見交換やディスカッションを行う場がありませんでした。

そんな中、ゲノム微生物学会若手の会話を聞きました。普段とは違う分野の学会の若手の会ということで不安はありましたが、意を決して今年の9月に八王子にて開催された若手の会研究会に参加し、口頭発表を行いました。実際に若手の会に参加してみて、参加するまでの心配は杞憂であったと感じました。参加者の多くが自分に近い年代ということもあり、疑問に思ったことをすぐに質問したり、また自分の研究についても質問やアドバイスを気軽にもらえたりと、和やかな雰囲気でありながら、自分の研究の進展につながる有意義なディスカッションを行うことができました。また、懇親会ではお酒を交えながら、より熱いディスカッションを夜遅くまで行いました。特に、今回発表したセルソーターとNGSを用いた解析については、自分でもまだまだ手探りの部分が多いのですが、実際にセルソーターを使用している参加者にアドバイスをいただくことができ、非常に参考になりました。また、若手の会で得た情報をふまえた実験結果は、早速ですが11月にアメリカのヒューストンで開催されたヒトマイクロバイオームの国際学会（IHMC）で発表することができました。次回の若手の会でもいい報告ができるよう、今後も研究に励んでいきたいと思えます。



酒井 博之
 (創価大学大学院・工学研究科・
 博士後期課程1年)



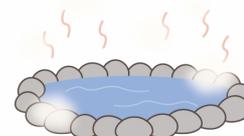
2016年11月、長崎県雲仙温泉にて

2016年9月23～24日、東京都八王子市の八王子セミナーハウスで行われた第10回日本ゲノム微生物学会・若手の会に参加し、口頭発表をさせて頂きました。今回は2度目の参加でしたが、私自身の研究内容について発表したのは初めてでした。

発表順が初日の午前中であった事、発表内容がゲノム微生物学とは少し離れた話であった事、所属する大学からの参加者は私一人であった事などが重なり、発表の際はこれまでにないほどとても緊張しました。声が震え、足も若干ガクガクしていた事をよく覚えています。しかし発表が終わると、研究に関心を持ってくださった何人かの方から、質問や貴重なアドバイスを頂く事ができました。それらはすでに日々の私の研究に生かされており、参加して本当に良かったと感じています。発表終了後は、本会の良い意味でまったく堅苦しくない雰囲気に緊張が解け、非常にリラックスして楽しく過ごす事ができました。

私は現在、「好酸性好熱性アーキアの分類学的解析」をメインテーマとして研究を行っています。具体的には、新規の好酸性好熱性アーキアを酸性温泉から分離し、それらの形態学・生理学・化学分類学・進化系統学的特徴を明らかにして新種として記載するための研究を行っています。これまで、箱根、霧島、草津、雲仙、インドネシアなどの様々な酸性温泉から新規の好酸性好熱性アーキアの分離培養を試みてきました。その結果、科または属レベルで新規のアーキアを1種、新種のアーキアを2種、分離する事に成功しています。現在、これらの新規なアーキアを正式記載する為の解析を順次進めています。1990年、ウーズにより3ドメイン説が提唱されて以降、アーキアの存在は広く知られるようになりました。しかし、正式に記載されているアーキアは2013年時点でわずか451種のみです(バクテリアは1万種以上、真核生物は100万種以上)。このアーキアが自然環境中で優占する数少ない場所のひとつが陸上の酸性温泉です。私は、このような環境から新規のアーキアをひとつでも多く分離・解析することによって、アーキアの生理生態に関する知見をひとつずつ積み上げていきたいと考えています。

今後の研究では、ゲノム微生物学的手法を取り入れ、酸性温泉中の微生物多様性のメタゲノム的手法による調査や、新規アーキアのゲノム解析などを行いたいと考えています。自分自身も含め、私の周りにはゲノム解析ツールを使いこなせる人がまだいませんが、何とかして所属研究室でゲノム微生物学的な研究を確立したいと考えています。本会に参加させて頂いた事で、その気持ちが更に強くなりました。近い将来、本会で「ゲノム微生物学的」な研究成果を発表する事をひとつの目標として、日々の研究に真剣に取り組んで行こうと思います。



閑話休題

— その2 —

🌻 秋に咲く花々 🌻

前号に載せた花々の写真はいかがでしたでしょうか？お気に召していただけたら幸いです。下に掲げた植物のうち、シモバシラにつきましては、12月半ばの朝早く花を見た場所に再度赴き、名前の起こりである「霜柱」が出来ていることを確かめました。この現象についてはかねてより知ってはいたのですが、実際に見たのは初めてです。（磯野克己）



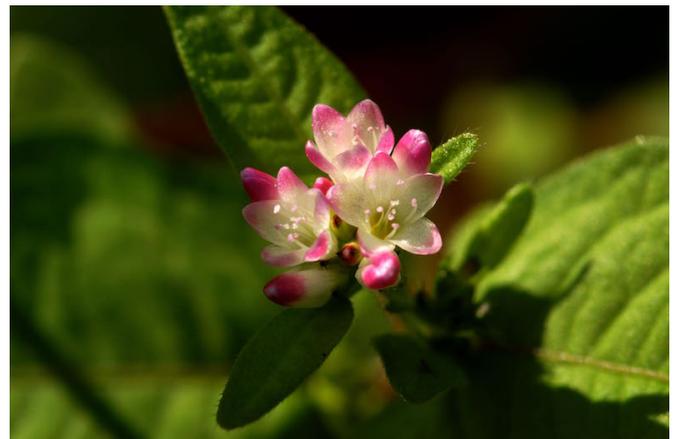
ハグロソウ（キツネノマゴ科）：*Peristrophe japonica* (Thunb.) Bremek. 2014.9.5 高尾山



ヤマトリカブト（キンポウゲ科）：*Aconitum japonicum* Thunb. subsp. *japonicum* 2014.10.17 南房総市



シモバシラ（シソ科）：*Keiskea japonica* Miq. 2014.9.16 高尾山【右下はこの植物の冬枯れの茎にできた氷の結晶】



ミゾソバ（タデ科）：*Persicaria thunbergii* (Sieb. et Zucc.) H. Gross 2014.10.24 君津市



カリガネソウ（クマツヅラ科）：*Tripora divaricata* (Maxim.) P.D.Cantino. 2016.9.26 君津市

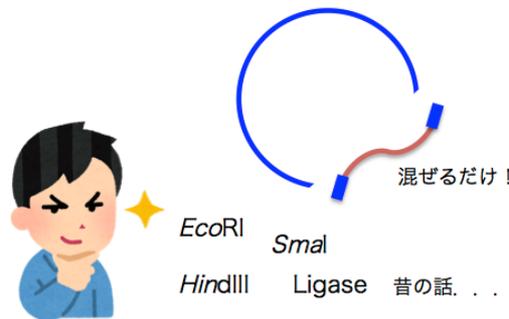


タマガワホトトギス（ユリ科）：*Tricyrtis lantifolia* Maxim. 2015.9.12 青梅市

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「クローニングの新しい方法」と「オートクレーブ後につかう器具乾燥機の整理法」を編集委員より紹介します。

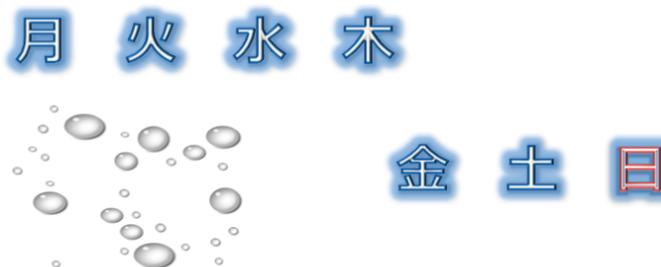
大腸菌プラスミドへのクローニングですが、制限酵素とリガーゼを使うのが常識でした。しかし、最近は制限酵素を使わないGibson assemblyやSLiCE (seamless Ligation Cloning Extract) を導入されている方が多いようです。特に、SLiCEは、大腸菌の細胞破碎抽出液を用いるため、酵素購入の必要がないのでコスト削減に貢献する素晴らしい方法ですね。さらに、最近ナショナルバイオリソースプロジェクト(NBRP)から iVEC2 (ME9783株) が提供されています。これはPCR産物とベクターを混ぜてそのままTFするだけでクローニングができるそうです。クローニングもずいぶん簡単になりましたね(佐藤)。



オートクレーブ処理した器具を乾燥させるための乾燥機をお使いのことと思いますが、十分乾燥したものとそうで無いものが入り混じって乱雑に詰め込まれてしまっており、乾いたものを見つけ出すのが困難になっているのでは無いでしょうか？これを解決するには以下のようにします。

- (1) 乾燥機を7箇所に区分けして、(月)から(日)のラベルをつける。
- (2) 乾燥機に、乾燥させたい器具を入れるときは、その日の曜日のラベルのある区画に入れる。
- (3) 入れようとした区画がすでに一杯であるときは、その次の曜日の区画に入れる。
- (4) 当番を決めるなどして、乾いたものを定期的に取り出す。

例えば金曜日には、月曜日の区画のものは確実に4日以上経過していることとなり、(乾燥機などにもよりますが)ほぼ乾いていることが確実であり、乾き具合を確認せずとも取り出せます。お試しください(大坪)。



ゲノム微生物学会若手の会報告

鈴木 治夫

(慶應義塾大学 大学院政策・メディア研究科
先端生命科学研究所)

日本ゲノム微生物学会若手の会は、日本ゲノム微生物学会の支援の基に、微生物学研究の次世代を担う若手研究者の交流と情報交換を通し、「ゲノム」と「微生物」に関わる基礎・応用研究をより活発なものにすることを目的としています。年1回開催している研究会では、ゲノム研究に限らず様々な分野の微生物学研究者が集まり、お互いに研究の背景、基盤技術、研究データ等を紹介し、活発に議論し合うことで、知識の

シオン形式のミニポスターとワールドカフェを企画しました。口頭発表とショートトークに加え、形式自由のミニポスターを用意していただき、自分がこれから行う研究内容、興味をもっている研究などを簡単にご紹介頂き、議論して頂きました。(写真2)

今年は、招待講演として田代洋平博士(理化学研究所)による「バイオ生産に向けた大腸菌における2-ケト酸経路の代謝工学」と、特別講演として小寺正明博士(東京工業大学)による「統計と聞けば疑ってかかれ」の講演が行われました(写真3)。田代博士には、ご自身の研究を通じて代謝工学分野を紹介して頂くと共に、過去の研究から見えてきた課題と今後進むべき方針についても議論を深めて頂きました。小寺博士には、統計解析の結果を解釈する上で注意すべきポイントに



写真1：第10回若手の会参加者による記念撮影

向上や新たな研究者ネットワークの構築を行っています。本年度の研究会は、2016年9月23日(金)～9月24日(土)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。

毎年9月に開催されている本研究会は、今年で10回目を迎えました。本年度は、鈴木(慶應義塾大学)を代表として、広瀬 侑さん(豊橋技術科学大学)、得平 茂樹さん(首都大学東京)、高田 啓さん(立教大学)、門屋 亨介さん(北海道大学)、阿部 貴志さん(新潟大学)の6名の世話人で担当させて頂きました。今年の参加者は、学部2年生から大学院生、博士研究員、若手教員まで約50名にのびりました(写真1)。一般発表として口頭発表とショートトークが実施され、活発な質疑応答が行われました。今回は人的交流をさらに促進するための新たな試みとして、テーブル・ディスカッ



写真2：ミニポスターを用いたテーブル・ディスカッションの風景



写真3：講演風景(上：田代博士、下：小寺博士)

ついて、新聞やテレビのニュース報道など一般的な事例を交えて、わかりやすくご紹介頂きました。また、バイオインフォマティクスの技術セミナーとして、日本国内のPitagora Galaxy Project (http://wiki.pitagora-galaxy.org/wiki/index.php/Main_Page) に参加する鈴木(慶應義塾大学)による「データ解析環境Galaxyとは」と、山中遼太博士(日本オラクル)による「今すぐ使えるGalaxy VMの配布」の講演が行われ、公開Galaxyサーバーを用いた微生物データ解析、解析ワークフローの構築と共有、解析結果の再現性について議論されました。さらに、協賛企業によるセミナーとして、イルミナ株式会社より「メタからシングルまで NGSを用いた微生物学研究の広がり」というタイトルでご講演頂き、各種次世代シーケンサーの特徴と次世代シーケンサーの性能を生かした幅広い用途と可能性について、様々な微生物研究の事例を交えて、ご紹介頂きました。

一日目の夜には恒例の交流会が催され、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、参加者から提案された様々なトピック(写真4)に関して議論する機会を設けることにより、人的交流が促進されたのではないかと考えています。

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。また、世話人独自で協賛企業を募り、11社の企業(イルミナ株式

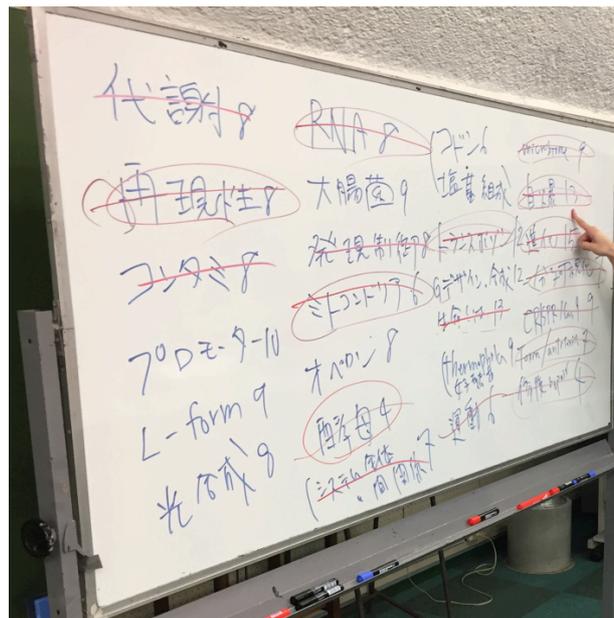


写真4：交流会で議論されたトピック

社、日本ジェネティクス株式会社、日立工機株式会社、株式会社高長、株式会社カーク、ソニー株式会社、タイテック株式会社、株式会社チヨダサイエンス、株式会社トミー精工、尾崎理化株式会社、理化学株式会社)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、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。この場をおかりして、皆様のご支援に御礼申し上げます。

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。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議論が行われるとともに、実験科学系研究者と情報科学系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意見交換によって、各自の研究の発展や質の向上、新規なアイデアを生み出す場になったことと思います。来年は、11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11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ウェブサイト
<http://bioinfo.ie.niigata-u.ac.jp/MicroWakate/>

第11回日本ゲノム微生物学会年会

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にて開催いたします。慶應義塾大学湘南藤沢キャンパス（SFC）は1990年に設立され、湘南台駅（小田急、相鉄、地下鉄）またはJR辻堂駅からバスでのアクセスになり、首都圏からのアクセスは便利です。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らしてください。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

<http://www.sfc.keio.ac.jp/>
<http://www.sfc.keio.ac.jp/maps.html>



本学会が発足して10年以上経過し、昨年度は国際シンポジウムも含め到達点を意識できる記念となる年会でした。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となります。第11回年会開催を担当するに際して、伝統活動を重視することに加えて、今現在の視点から今後の10年を見据えて意識できることはないかと考え開催の準備を進めており、年会HPにアップしてゆきますので参照ください。

<http://www.aeplan.co.jp/sgmj2017/index.html>
 第11回日本ゲノム微生物学会・年会長 板谷光泰（慶應義塾大学先端生命研）

学会の現況

学会役員（敬称略）

会長：林哲也

庶務・会計幹事：黒川颯、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 516 名（平成28年11月20日現在）

一般会員 363名；学生会員 136名

賛助会員 16 団体；施設会員 1 団体