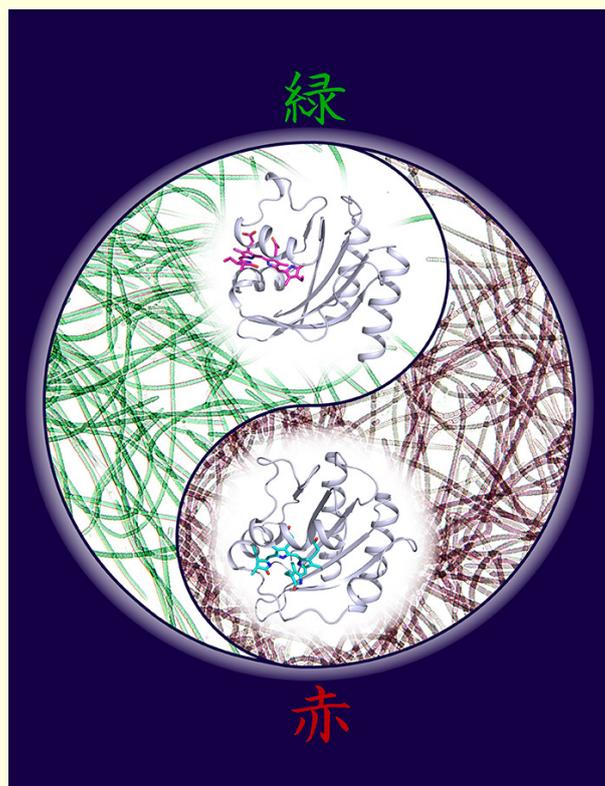


日本ゲノム微生物学会 ニュースレター

シアノバクテリアが緑と赤の光の色を感じるしくみ

広瀬 侑

豊橋技術科学大学 大学院工学研究科 応用化学・生命工学系



光スイッチタンパク質 RcaE の緑色吸収型 (上) と赤色吸収型 (下) の構造。背景は、シアノバクテリア *Fremyella diplosiphon* の細胞の顕微鏡写真。緑色光の照射によって細胞は赤色を呈するようになり (下)、逆に、赤色光の照射によって細胞は緑色を呈するようになる (下)。

光合成を行うシアノバクテリアは、異なる光に応じて最適な光合成ができるよう、光合成に使う光の色を切り替えています。たとえば、一部のシアノバクテリアは、赤い光を使う光合成から緑の光を使う光合成へ、あるいはその逆へと、切り替えることができます。この現象は1世紀以上も前から知られていましたが、どのように緑と赤の光を見分けているのか、詳しいメカニズムはわかっていませんでした。今回、緑と赤の光を見分けるためのスイッチとしてはたらくタンパク質である RcaE の緑色光吸収状態の X 線結晶構造の解明に成功しました。RcaE は光を受け取る色素である「ビリン発色団」とそれを取り囲むタンパク質からできています。以前報告した RcaE の赤色光吸収状態との構造の比較により、ビリン発色団の構造が変わるだけでなく、位置も大きくずれ、ビリンを包み込むタンパク質に「水の通り道」の出現・消失を引き起こすことが明らかとなりました。ビリン発色団の構造を NMR や量子化学計算によって詳細に調べると、緑色光吸収状態では、疎水的な環境に置かれたビリン発色団における特定の部位の水素原子（プロトン）が外れ、それによってビリン発色団の結合状態が変わり、吸収する光の波長が大きく短波長側へとシフトすることが明らかとなりました。これらの解析から、ビリン発色団を取り囲む化学的な性質を親水性と疎水性の間で切り替え、吸収する波長を制御しているという新しいメカニズムの存在を実証することができました。本研究の成果は、光合成の環境応答のメカニズムの理解への貢献や、光遺伝学などの応用研究の進展への貢献も期待されます。

Nagae T., Fujita Y., Tsuchida T., Kamo T., Seto T., Hamada M., Aoyama H., Sato-Tomita A., Fujisawa T., Eki T., Miyanoiri Y., Ito Y., Soeta T., Ukaji Y., Unno M., Mishima M., and Hirose Y. Green/red light-sensing mechanism in the chromatic acclimation photosensor. *Science Advances*, DOI : 10.1126/sciadv.adn8386 (2024)



- ◆ 表紙
[シアノバクテリアが緑と赤の光の色を感じるしくみ](#)
 広瀬 侑 (豊橋技術科学大学)
- ◆ ご挨拶
[第七期会長就任にあたって](#)
 大島 拓 (富山県立大学)
- ◆ 会員の研究動向
[微生物のシングルセルゲノム解析の最近動向](#)
 飯塚 怜 (東京大学)
- ◆ 研究奨励賞
[研究奨励賞受賞にあたって](#)
 高田 啓 (富山県立大学)
[希少放線菌 *Actinoplanes missouriensis* の形態分化に関する分子遺伝学的研究](#)
 手塚 武揚 (東京大学)
- ◆ ポスター賞
[新規 uORF による枯草菌 Mg²⁺ transporter MgtE の発現制御機構の解析](#)
 赤岡 大暉 (京都産業大学)
[一遺伝子欠損によるグローバルな発現変動とその背景にある遺伝子間の量比保存関係](#)
 千葉 元太 (東京大学)
[トノサマバッタの群生相化と腸内細菌の関係性の解析](#)
 Kim Jaeha (総合研究大学院大学)
[藍藻におけるマーカーレス変異体作製法の確立](#)
 大舘 和真 (東京農業大学)
[海洋性バクテリア *Alteromonas macreodii* の多様な翻訳アレスト因子](#)
 辻 奈緒子 (京都産業大学)
- ◆ 学会員の最新の論文紹介コーナー
- ◆ [第 18 回日本ゲノム微生物学会年会開催報告](#) 渡辺 智 (東京農業大学)
- ◆ 寄稿
[ゲノム微生物学会年会 \(2024\) への参加と期待](#) 小林 一三 (法政大学)
- ◆ 実験レシピ紹介コーナー
[フリーザー遠隔監視・警報システムを作ってみませんか？](#)
 金丸 周司 (東京工業大学)
- ◆ [第 19 回日本ゲノム微生物学会年会 開催案内](#)
 柿澤 茂行 (産業技術総合研究所)
- ◆ 閑話休題
[春の野を彩る花々](#)
 磯野 克己
- ◆ [投稿要領](#) [編集後記](#) [学会の動向](#)
 目次引用文献 George Bain, Celtic Art, the methods of construction, Constable London,
 ISBN 009461830 5, The "Tree of Life", "the Book of Kells and North England".

第七期会長就任にあたって

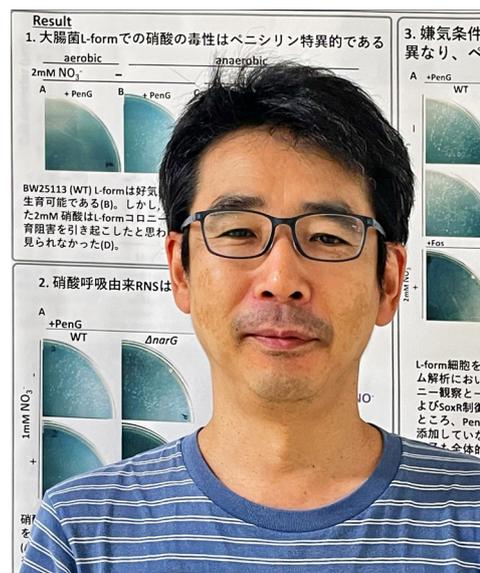
大島 拓

富山県立大学 工学部 生物工学科

すでに学会 HP でもお知らせがあり、年会でもご挨拶させていただきましたように、日本ゲノム微生物学会の第7期(2024-2026)会長に選出されました。微力ながら、幹事、評議委員、会員の皆様の協力を得ながら、本学会がより魅力的になるよう、努力したいと思っておりますので、どうぞよろしくお願いいたします。第7期では、学会幹事や評議委員の顔ぶれが大きく変わり、より若返ったメンバー構成になりました。AIが多様な分野で幅広く活用されるようになる中、ゲノム解析技術も大きく変化しつつあります。本学会も、様々な点でのリニューアルに積極的に取り組んでいきたいと思っております。

ゲノム微生物学会は、毎年、かずさアカデミアホール(今年の年会と同じ会場です)で行われていたワークショップ「微生物ゲノム研究のフロンティア」を母体として設立されました。ワークショップという名前が示す通り、微生物ゲノム研究のフロンティアは、当時、右も左もわからなかったゲノム解析を行いたい研究者(参加者全員がそうだったわけですが)にとっては、解析技術の情報交換を行う貴重な場として機能していました。分子生物学や微生物学を専門とする研究者が初めて出会う情報解析、逆に情報解析を専門とする研究者が初めて出会うシーケンス技術や微生物学、のように、自分があまり理解できない研究に対しても、お互いが意見を出し、真剣な議論、討論をし、経験も知識もほとんどない状況から、微生物ゲノム研究が進展しました。これが、多様なバックグラウンドを持つ研究者が、ゲノムをキーワードにして、様々な角度から忌憚なく意見を交換できるという本学会の下地になっていると思っております。この原点を十分に意識して、ゲノム微生物学会が、新しく、楽しい研究を進めるための重要な情報交換の場になるように努めていきたいと考えています。

情報交換は、今までどおり、学会 HP とニュースレター、若手の会、年会で行っていきます。ニュースレターは、毎月好評で、このアクティビティーを保つために、今年度も新しい編集委員の方が加われ、責任者の方が交代するなど積極的な活動が行われています。また、今年度から、学会広報の一環として SNS での発信も、積極的に行いたいと考えています。若手の会は、以前から幹事が数年ごとに入れ替わる体制で行われていて、いつもユニークで、新しい研究を始めるために役立つ研究会を行っていただけていると思っております。学生の方、若手研究者の方は、ぜひ積極的に参加していただけたらと思います。



ゲノム微生物学会の年会は、会員の手作りが特徴です。第7期では、年会開催のシステム作りを行いつつ、集会幹事を中心に、多様で充実した発表、シンポジウムに加え、本年3月の年会で行われたエクスカージョンや展示ブースでのお菓子の配布など、年会に参加された皆さんがコミュニケーションをとりやすくなるような楽しい企画を考えていきたいと思っています。

繰り返しになりますが、本学会は多様なバックグラウンドを持つ人が忌憚なく意見を言える学会でありたいと考えています。できるだけ多くの方に学会活動に参加していただくために、男女共同参画活動もしっかり考えていきたいと思っています。託児の援助だけでなく、介護援助も含め、難しい立場にある研究者の方に寄り添っていききたいと思っております。また、学生の方や若手研究者の方が、ゲノム微生物学会を通じて様々な研究者の方とじっくりお話ができるよう、年会での質問時間や、ショートトーク、ポスターでの討論方法を継続的に検討したいと思いますし、年会費や年会参加費についても、できるだけ負担にならないような学会や年会の運営方法を、今後も考えていきたいと思っております。

1990年代にゲノム配列の決定がはじまり、すでに30年以上たちますが、ゲノム研究では、今でも、いろいろな分野の研究者が集まって、これまでない解析手法を作り出し、課題を何とか解決する、という姿勢が強く残っていると思います。それこそが我々の強みだと思いますし、すぐには理解することができない研究を理解しようと努力できるのは、自分たちのアイデンティティーなのではないかと、言い過ぎかもしれませんが、思っています。自由で、新しく、楽しい研究をするためには、自分たちの知らない知識を持つ多くの仲間が必要です。ゲノム微生物学会が、その懸け橋になるためにも、会員の方々は、ゲノム微生物学会を、ぜひ楽しんでください。

微生物学分野の研究動向

微生物のシングルセルゲノム解析の最近動向

飯塚 怜

東京大学 大学院 理学系研究科 生物科学専攻

1. はじめに

本ニュースレターの読者には釈迦に説法であるが、微生物は地球上のあらゆる環境に存在し、特有の微生物叢を形成している。これまで数え切れない数の微生物が分離培養されてきたが、環境中の99%以上の微生物は従来の技術では培養が困難な微生物(難培養性微生物)とされている[1]。近年、シーケンシング技術の飛躍的な進歩と低コスト化により、培養を介さない微生物の機能解析や遺伝子資源化が容易になってきた。そのアプローチの一つとして、シングルセルゲノム解析が挙げられる。本稿では、微生物のシングルセルゲノム解析の現状を概観するとともに、筆者らの試み(微生物シングルセル解析を基軸とした酵素探索)を紹介する。

2. 微生物のシングルセルゲノム解析

微生物のシングルセルゲノム解析は、その名の通り、微生物シングルセルからゲノム情報を取得する手法である。シングルセルのみで全ゲノムを決定することは極めて困難であるが、ショットガンメタゲノム解析では困難な近縁種や株ごとのゲノム解析や希少種のゲノム取得、微生物の表現型とゲノム情報の対応付けが可能となる。ただ、この手法はコンタミネーションとの戦いである。微生物だけでなく、外来DNAの混入にも細心の注意を払う必要がある。このため、「誰でも・どこでも」実践できる手法ではなかった。しかし要素技術の革新(我が国の研究グループの貢献が大きい)により、一般の研究室でも実践可能な手法に発展してきた。最近では、国内での受託解析サービスも利用できるようになっている(<https://bitbiome.co.jp/technology/>)。

微生物のシングルセルゲノム解析は、(1) 微生物の単離、(2) ゲノムの増幅、(3) シーケンシングの3つの工程からなる。以下に、それぞれの工程の概要を解説する。

(1) 微生物の単離

まず、対象とする試料から微生物をシングルセル単位で単離する。この後のゲノム増幅反応の効率を高めるため、できる限りフレッシュな試料から、ゲノムに傷が入らないように微生物を単離することが重要となる。

単離には、蛍光活性化セルソーターが使用されてきた[2]。蛍光活性化セルソーターは真核細胞のような大きな細胞の処理に優れるが、バクテリアのような小さな細胞は試料に混在する粒子との判別が難しい。また、この装置は開放系のシステムであるため、クリーンルームのような高度に制御された環境で使用することが推奨されていた。これに対し、マイクロ流体デバイス(微細加工技術を利用してマイクロメートルサイズの流路を作製し、流れを利用して、混合・反応・分離・検出などを行うデバイス)を用いて微生物をシングルセル単位でチャンバーに閉じ込め、その場でゲノム増幅まで行う方法が提案された[3,4]。しかし、これらのデバイスは高度に特殊化されており、一般的な研究室で動作させることは難しいものであった。

筆者らは、油中に分散した微小な水滴(油中水滴、water-in-oil (W/O) ドロップレットとも呼ばれる)を用いて微生物をシングルセル単位に分離することを考えた[5]。単純な流路構造のマイクロ流体デバイス¹を用いるだけで、マイクロメートルサイズ(水滴の体積はピコリットルオーダー)の油中水滴を高速かつ均一に作製することができる[6]。微生物の封入は基本的にポアソン分布に従うため[7]、油中水滴の大きさと微生物濃度を調整すれば、シングルセル単位での単離が可能となる²。一旦封入してしまえば、油がバリアとして機能するため、微生物やDNAのコンタミネーションを防ぐことができる。また水滴の体積が微小であるため、外来の微生物やDNAが共封入される可能性も低くなる。ほぼ同時期に、早稲田大学の細川らも同様のアプローチを報告している[8,9]。

最近、無染色でシングルセル分注が可能な装置(B.SIGHT;<https://www.cytana.com/products/single-cell-dispensers/b-sight/>)が登場した。この装置はバイオクリーンベンチ内で使用できる大きさであり、バクテリアのシングルセルゲノム解析にも利用されている[10]。今後、このような装置を利用したシングルセル単離も主流になるかもしれない。

(2) ゲノムの増幅

*1 筆者らは自作のマイクロ流体デバイス・送液システムを利用しているが、On-chip Biotechnologies社などからデバイス・システムを購入することができる。

*2 油はガス透過性が良好であるため、油中水滴内に単離した微生物を好氣的に培養することも可能である。

*3 MDAの鋳型になりうるDNAが極限まで低減されている(と感じている)。それが気になるようなら、反応溶液に紫外光を照射することで、除去することができる[13]。

微生物シングルセルのゲノム DNA 量は極微量（バクテリアであれば数フェムトグラム程度 [11]）であるため、ゲノム解析に先立ち、ゲノムを増幅する必要がある。ゲノム増幅には、Multiple Displacement Amplification (MDA) 法が広く用いられている [12]。キアゲン社の REPLI-g Single Cell Kit³ などを用いると、鎖置換活性を持つ Phi29 DNA ポリメラーゼとランダムプライマーを組み合わせた等温増幅反応により、シングルセル由来の DNA をマイクログラム量まで増幅することができる。このためこの工程では、外来 DNA の混入に細心の注意を払う必要がある。筆者らはクリーンベンチ内で反応液を調製しているが、卓上型クリーンルームの利用も有効である [14]。通常のスケールでの反応では、増幅バイアス（増幅されやすい領域と増幅されにくい領域が生じる）が避けられず、ゲノム全体を均一に増幅することは難しい。油中水滴のような微小区画内で反応を行うと、このバイアスが低減することが知られている [3,8]。

キアゲン社のキットに付属する溶解液（アルカリ溶液）では、グラム陽性菌は溶菌しにくいとされている。この問題を克服する方法として、細川らは Single-cell amplified genome in gel beads (SAG) 法を考案した [15]。この方法では、微生物とともにアガロースを油中水滴に封入し、冷却によりゲルドロプレット（ゲルビーズ）を生成させる。ゲルは多孔質構造を有しており、比較的小さな分子ならばビーズ内に浸入できる。このため、ゲルビーズ内外の溶液を順次置換することで、効率的な溶菌や大量並列でのゲノム増幅が可能となる。界面活性剤や酵素を含む外液に置換することで効率的な溶菌が期待できる。また、外液を MDA 反応液

に置換すれば、1本のチューブ内で 10^5 個以上のゲノムを並列的に増幅することができる（ただしゲノム解析を行うには、内部で DNA が増幅したビーズを 1 個単位で単離し、再度 MDA 反応に供する必要がある）。青木（理研、現東陽テクニカ）らは、アガロースゲルを外殻にしたアルギン酸ドロプレット（AGM と呼ばれる）を用いることで、ビーズ内での MDA 反応効率が向上することを報告している [16]。現在、AGM 作製キットは東陽テクニカより販売されている (<https://www.toyo.co.jp/agm/microorganisms>)。

(3) シーケンシング

ゲノム増幅産物が、試料に存在した微生物のシングルセルに由来するものであるかを確認する。筆者らはバクテリアを標的としているため、ゲノム増幅産物を鋳型に、ユニバーサルプライマー（27F, 1492R）を用いて 16S rRNA 遺伝子を PCR し、その増幅断片のダイレクトシーケンシングを行っている。得られた配列をもとに、以後の解析に進むかを判断している。

ゲノム増幅産物のシーケンシング解析は、常法に従いライブラリーを作製し、行う。筆者らはショートリードシーケンサーを用いているが、ロングリード（ナノポア）シーケンサーを利用することも可能である [17]⁴。多くの場合、シングルセル解析に特化したアSEMBラー SPAdes [18] を用いてアセンブルが行われる。ゲノムのカバー率は、多くの微生物で保存されているシングルコピー遺伝子がいくつかコードされてい

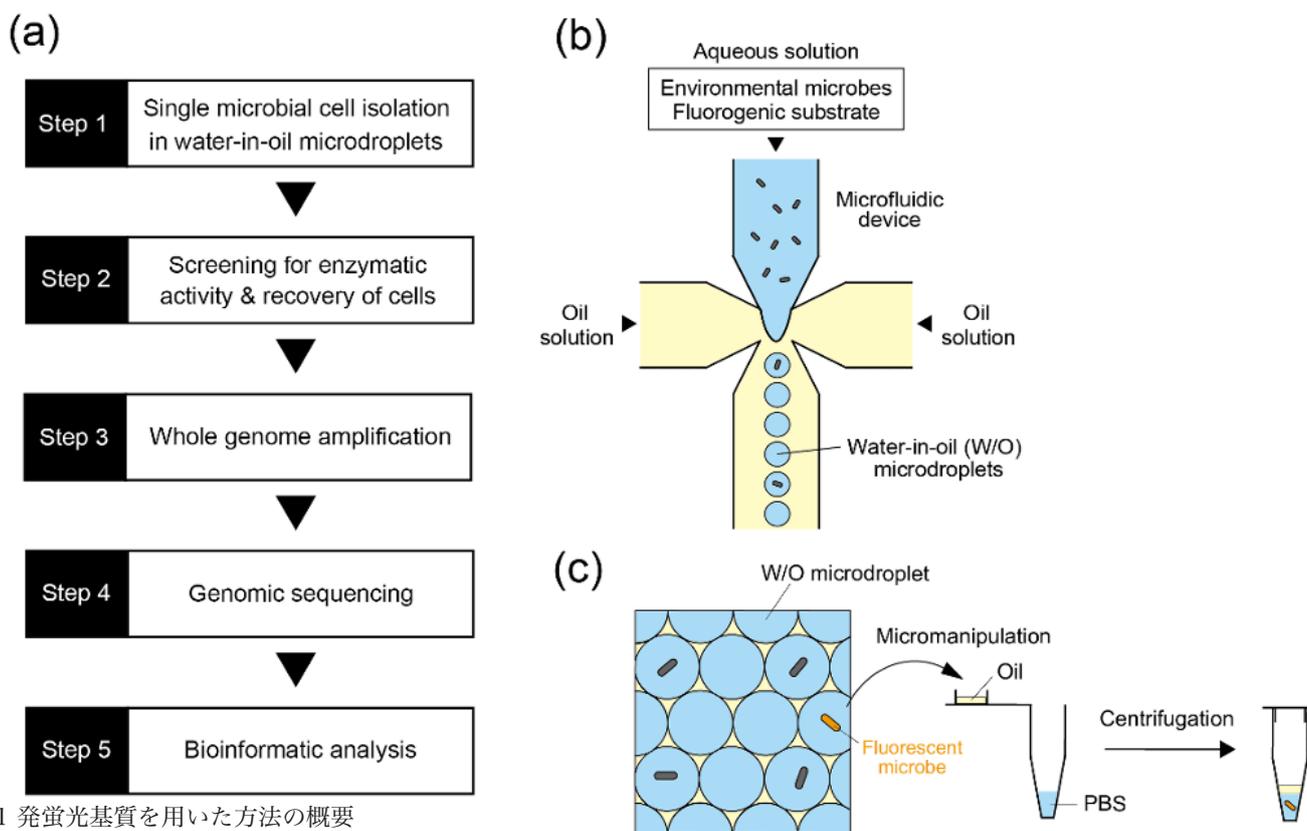


図1 発蛍光基質を用いた方法の概要

*4 ライブラリー作製のプロトコルは、Oxford Nanopore Technologies 社より提供されている (https://community.nanoporetech.com/docs/prepare/library_prep_protocols/ligation-sequencing-gdna-whole-genome-amplification-sqk-lsk114/v/wal_9192_v114_rev_d_26jul2023/overview-of-the-protocol?devices=minion)。

るかで評価される。

3. 微生物シングルセル解析を基軸とした酵素探索

最後に、筆者らの取り組みを紹介させていただく。現在産業利用されている酵素の多くは微生物由来であり、有用な酵素は新規の微生物から発見されることが多い。難培養性微生物が産生する酵素は、新たな酵素資源として非常に大きな可能性を秘めている。筆者らは、環境中に豊富に存在する酵素資源への効率的なアクセスを実現する方法として、微生物シングルセル解析を基軸とした手法により、環境微生物の酵素資源に効果的にアクセスすることを可能にしてきた [5,19]。以下に、その概要を示す。

(1) 発蛍光基質を用いた方法 [5]

この方法では、標的とする酵素に対する発蛍光性基質（それ自身は無蛍光性であるが、酵素反応の結果、蛍光を発するようになる基質）とともに、環境中の微生物をシングルセル単位で油中水滴に封入する（図 1a, step 1、図 1b）。標的酵素を発現する微生物が存在すれば、微生物が蛍光を放つようになる（図 1a, step 2）。次に、蛍光性の微生物が封入された油中水滴を回収し（図 1c）、シングルセル単位で微生物のゲノム増幅を行う（図 1a, step 3）。ゲノム増幅をシーケンシングし（図 1a, step 4）、得られたゲノム情報から標的酵素遺伝子を取得する（図 1a, step 5）。

この方法を利用して、海水中の微生物由来 β -グルコシダーゼ (BGL) 遺伝子の取得を試みた。BGL の発蛍光性基質である Fluorescein di- β -D-glucopyranoside とともに、表層および深海の海水中の微生物を油中水滴に封入した。微生物全体のうち、約 2% が液滴内で蛍光を発していた。ガラスキャピラリーを装着したマイクロマニピュレーターを用い、蛍光性の微生物シングルセルを内包する油中水滴を回収し、微生物のゲノムを増幅した。6つのゲノム増幅産物の 16S rRNA 遺伝子の系統解析を行ったところ、いずれも過去に分離培養されていない海洋性バクテリアに由来すると推定された。これらの増幅産物のシーケンス解析を行い、14種類の BGL 遺伝子を同定することに成功した。このうち 12種類は既存の BGL 配列との相同性が 75% 以下であり、本法の利用により新規性の高い遺伝子配列の取得が可能であることが示された。

(2) 油中水滴の変形能を利用した方法 [19]

水を封入した油中水滴は小さな外力でも大きく変形するのに対し、ハイドロゲルを封入した油中水滴は外力による変形を受けにくい。油中水滴内でハイドロゲルが酵素により分解されると、外力により油中水滴が変形しやすくなる。すなわち、ハイドロゲルと微生物を封入した油中水滴の中から変形能が増大した油中水滴を回収することができれば、ハイドロゲル分解微生物の単離とその分解酵素遺伝子の取得が可能となる。

変形能が増大した油中水滴の回収には、流路に 2本のレーンを配したマイクロ流体デバイスを用いた。基質となるハイドロゲルと微生物を封入した油中水滴をレーンに沿わせて

流す。あるところで幅の広いレーンが現れると、油中水滴に対し、外力（流体抗力）が働く。この時、変形しない（ハイドロゲルが分解していない）油中水滴は同じレーン上を移動する。変形する（ハイドロゲルが分解した）油中水滴は幅の広いレーンに乗り移り、移動する。このデバイスを用い、アガロース分解菌の単離と酵素遺伝子の取得に成功した。

4. おわりに

我が国の研究グループの貢献により、微生物シングルセルゲノム解析はより実用的な手法へと発展を遂げてきた。その適用範囲はウイルスにまで広がっており [20]、微生物研究分野においてシングルセルゲノム解析の果たす役割がますます重要となってくるであろう。しかし、ゲノム増幅工程にはまだ課題が残されている。今後、ゲノム全体をバイアスなく効率的に増幅できるようになれば、環境微生物の生態や生理機能に関する理解が一層深まり、その貴重な遺伝子資源を活用できるようになると期待される。本稿が、本学会員皆様の一助となり、さらなる研究の発展に寄与することができれば幸いである。

5. 謝辞

本稿で紹介した筆者の研究は、東京大学大学院薬学系研究科 生体分析化学教室、ならびに東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻 上村研究室において遂行されました。ご指導、ご鞭撻、そして自分の考えを実践できる研究環境を与えていただいた船津 高志 名誉教授、ならびに上村 想太郎 教授に厚く御礼申し上げます。また当該研究を遂行するにあたり、非常に多くの方々にご協力を賜りました。その全ての皆様に心より、感謝申し上げます。

引用文献

- [1] Amann et al., *Microbiol. Rev.* 59, 143–169 (1995)
- [2] Rinke et al., *Nat. Protoc.*, 9, 1038–1048 (2014)
- [3] Marcy et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104, 11889–11894 (2007)
- [4] Leung et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 109, 7665–7670 (2012)
- [5] Nakamura et al., *Sci. Rep.*, 6, 22259 (2016)
- [6] Shang et al., *Chem. Rev.*, 117, 7964–8040 (2017)
- [7] Köster et al., *Lab Chip*, 8, 1110–1115 (2008)
- [8] Nishikawa et al., *PLoS One*, 10, e0138733 (2015)
- [9] Hosokawa et al., *Sci. Rep.*, 7, 5199 (2017)
- [10] Wiegand et al., *Front. Microbiol.*, 12, 635506 (2021)
- [11] Blainey, *FEMS Microbiol. Rev.*, 37, 407–427 (2013)
- [12] Nelson, *Curr. Protoc. Mol. Biol.*, 105, 15.13.1–15.13.16 (2014)
- [13] Woyke et al., *PLoS One*, 6, e26161 (2011)
- [14] Takahashi et al., *BioTechniques*, 61, 42–46 (2016)
- [15] Chijiwa et al., *Microbiome*, 8, 1–14 (2020)
- [16] Aoki et al., *Sci. Rep.*, 12, 17014 (2022)
- [17] Kogawa et al., *Front. Microbiol.* 14, 1133917 (2023)
- [18] Bankevich et al., *J. Comput. Biol.* 19, 455–477 (2012)
- [19] Muta et al., *Anal. Chem.*, 95, 16107–16114 (2023)
- [20] Nishikawa et al., *bioRxiv*, 2024.04.18.589877

若手賞受賞研究

研究奨励賞受賞にあたって

高田 啓

富山県立大学 工学部 生物工学科 応用生物情報学講座

はじめに

皆様もご承知の通り、2024年現在、次世代シーケンサー(NGS)及び解析技術の飛躍的発展によって、微生物のゲノムを解読することは日常的な”当たり前”のことになってきており、ゲノム情報の蓄積によって公共のデータベースが整備され、ゲノム研究は収集から活用へと大きくシフトしています。私が学部3年生として2008年に東京農工大学の吉川博文先生の研究室に配属された当時、大学に生物資源ゲノム解析センターが設立され、次世代シーケンサー Genome Analyzer (Illumina 社) が導入されると聞いた時は、この16年弱の間に起こった時代の変化を想像もしていませんでした。改めてこの原稿を書きながら、その変化を感じています。その意味で私は、NGSを用いたゲノム解析が実験手法の一つとしてあることが当たり前と感じる”NGSネイティブ世代”と呼ぶことができるかもしれません。そんな世代の一人として学生の頃からゲノム微生物学会(2008年～)・若手の会(20011年～)に参加し、非常に多くのことを学ばせていただきました。この度は、日本ゲノム微生物学会の2024年研究奨励賞を頂戴し、誠に光栄に思っております。推薦していただいた東京農工大学・名誉教授である吉川博文先生、審査してくださった先生方、そしてこれまで共に研究をしてくださった多くの方々にご心より感謝申し上げます。

これまでの研究経歴

私の研究のスタートは東京農工大学・吉川博文先生の研究室ですが、モデル微生物・枯草菌を材料に、遺伝学・細胞生物学を用いて生命システムのネットワーク研究に従事し、生命現象を俯瞰してみることの重要性を学びました¹。NGSを用いたリシーケンス解析によって、単離した変異株の変異箇所が短期間で同定できることに非常に驚き、NGSを活用した遺伝学的解析にのめり込んでいったことを今でも覚えています^{2,3}。一方、生命現象を分子レベルで解明するためには、その担い手であるタンパク質の化学的特性を理解することも必要であると痛感し、学位取得後の進路として生化学的解析・合成生物学的解析に携わることを志しました。法政大学の山本兼由教授、故・石浜明客員教授のもと、モデル微生物・大腸菌の転写制御機構に関する研究に従事し、生化学的解析の基礎を学びました⁴⁻⁶。その後、立教大学の末次正幸教授のもと、大腸菌 DNA 複製機構の試験管内再構成を用いた合成生物学的研究に従事しました⁷。基礎研究で得られたシーズ技術の応用展開と、バイオベンチャー・株式会社 OriCiro(現・Moderna Enzymatics 社)の設立に至るま



での過程を横目で体感させていただき、ゲノムのデザイン・合成といった合成生物学による新たな産業革命の発起を目の当たりにする非常に貴重な経験となりました。このような経験を通して、自分の武器となるような研究技術を学び、独自の研究分野を開拓していきたいと強く思うようになり、スウェーデン・ウメオ大学に留学することになりました。今回の受賞タイトル“微生物翻訳装置の動態制御に関する研究”に関しては、ウメオ大学・Vasili Hauryliuk 博士の研究室、そして帰国後に在籍していた京都産業大学・千葉志信教授の研究室で実施したものになります。

翻訳研究に魅了されて

ゲノム DNA にコードされた遺伝情報を正しく読み写し、生命機能の担い手であるタンパク質の発現を保証することは、すべての生命にとって必須なプロセスですが、特に、その最終段階である翻訳反応はその主役であるリボソームを含め多数の因子が関わり、複製された塩基配列上の遺伝情報を読み解き、アミノ酸配列へと変換する非常に複雑な反応です。そのため、そのエラー率は DNA 複製・転写反応と比べ高く、またリボソームの生合成を含め、翻訳反応の駆動は細胞内の最大のエネルギー消費過程であり、例えば、モデル微生物・大腸菌などでは倍加時間あたり約2万分子のリボソームを生合成していると考えられています。このことから、リボソームの動態は生命の生き様を写す鏡ということもできます。さらに、医療分野で用いられる抗生物質の約30%はリボソームが標的であることも特筆すべき点です。“この曖昧で大食漢、そして脆弱性を秘めた超巨大複合体・リボソームを微生物はどのようにハンドリングしているのか?ゲノム情報を活用しながら、遺伝学・生化学的解析を中心に、翻訳装置を介した栄養状態の感知機構・品質管理機構・抗生物

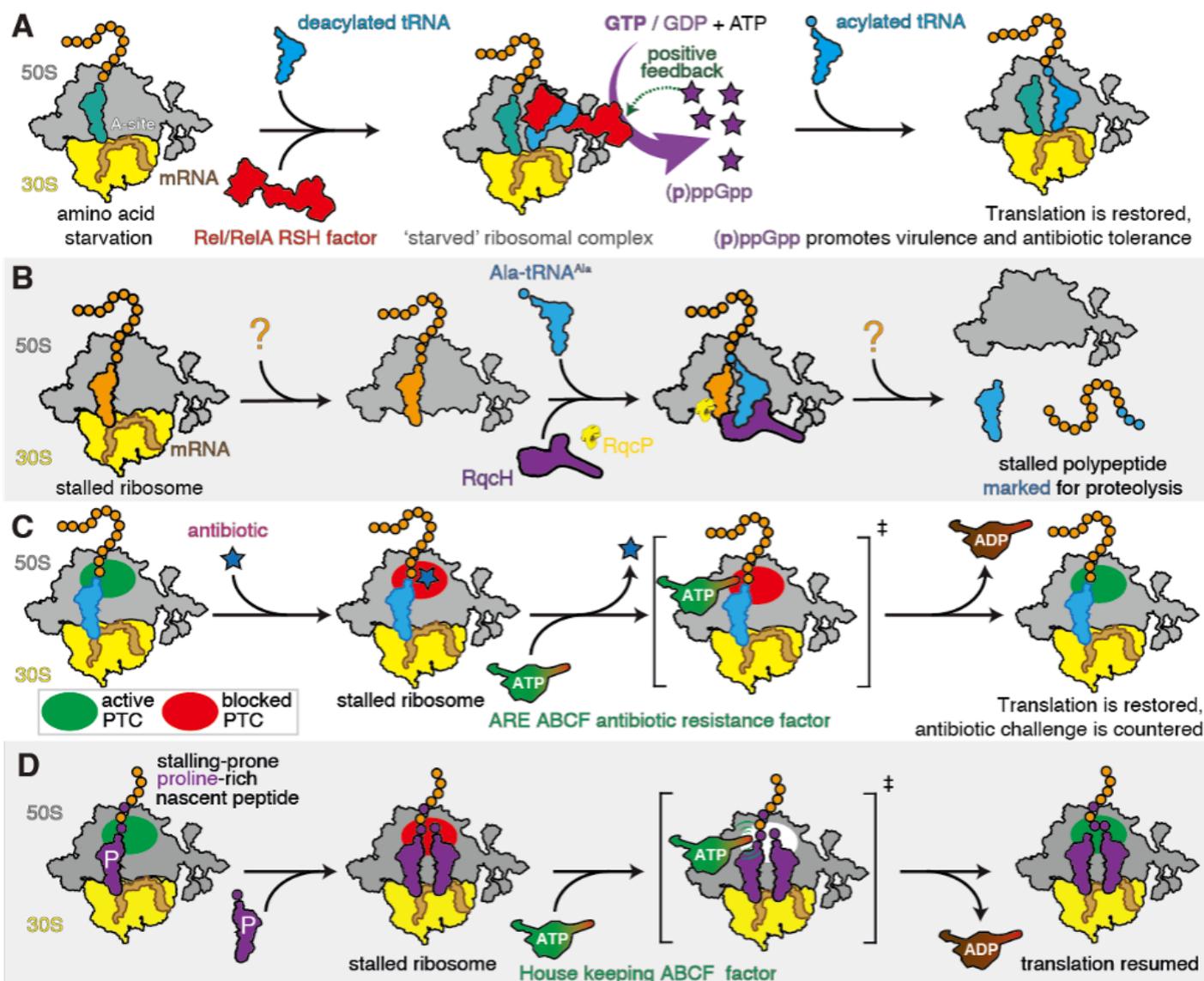


図1 これまでに取り組んだ翻訳研究に関して

質耐性機構などに関して、私がこれまでモデル微生物・枯草菌を用いて行ってきた研究を紹介したいと思います(図1A-D)。

翻訳状態を介して、栄養状態を感知する仕組み：緊縮応答機構に関して

「緊縮応答」とは微生物一般において保存されている環境適応機構の一つであり、アミノ酸欠乏などのストレスによって核酸小分子 (p)ppGpp の蓄積が誘導されると、遺伝子発現制御を介してアミノ酸合成が促進される一方で、DNA複製やリボソーム生合成などが阻害され、生体分子の無駄な消費が抑制されます⁸。緊縮応答機構の主要因子 RSH(RelA/SpoT Homologue) は、アミノ酸枯渇により翻訳伸長途中で停止状態にあるリボソームとアミノアシル化されていない tRNA(deacylated tRNA) をシグナル分子として感知し、(p)ppGpp の合成を誘導すると考えられてきました。一方で、RSH タンパク質の精製は非常に難しく生化学的な解析が困難であったため、その詳細な分子メカニズムは不明確でした。留学当初の研究として、枯草菌 RSH タンパク質である Rel およびリボソームの精製法を確立に取り組み、生化学的

手法を用いて、緊縮応答の詳細な分子メカニズムを解明しました(図1A) 9, 10。枯草菌 RSH タンパク質 Rel およびリボソームの精製法の確立は困難を極め1年弱を要しましたが、放射性ラベルされた (p)ppGpp がシンチレーションカウンターを用いて初めて検出された時のことは今でも鮮明に覚えています。一度実験系が確立してしまうと、実験が進むのが早いのが生化学的解析のいいところでした、まず、翻訳停止状態のリボソームと deacylated tRNA がトリガーとなって Rel の (p)ppGpp 合成活性が飛躍的に上昇することを試験管内再構成系によって明らかにしました。また、Rel の C 末端ドメインが翻訳停止状態のリボソーム及び deacylated tRNA を感知するセンサー機能を担っていることを明らかにし、ゲノム情報を活用した解析から重要アミノ残基の同定し、deacylated tRNA を感知する各ドメインの役割を解明することができました。さらに、(p)ppGpp によるアロステリックな活性制御機構を発見し、詳細な解析により、(p)ppGpp による RSH 活性化の分子メカニズムを明らかにしました¹¹。また、確立した試験管内再構成系を用いて、抗生物質のシーズ化合物として期待されている (p)ppGpp アナログ分

子の評価が可能となりました12。この手法は高度好熱菌由来のRSHの機能解析に転用することができ、汎用性が高いものであることも実証できました13。

翻訳の曖昧さを補完する仕組み：翻訳品質管理機構に関して

次に私が取り組んだ研究は微生物における翻訳品質管理機構についてです。遺伝情報を正確に読み写しタンパク質の発現を保証することは、生命現象の根幹ですが、翻訳反応中のエラーは翻訳伸長の停滞や異常タンパク質の凝集を引き起こすなど、生体機能に悪影響を及ぼすことが知られています。近年、このような翻訳の曖昧さを補完する翻訳品質管理機構RQC(Ribosome-associated Quality Control)が真核生物において発見され、その分子機構の解明がホットトピックとなっています14。さらに、枯草菌において真核生物の翻訳品質管理機構RQCの主要因子Rqc2と配列相同性のある因子RqcHが発見され15、以下①-③の作用モデルが提唱されていました。① RqcHは翻訳停滞に伴い解離した50Sサブユニットに結合し、Alanine-tRNAを呼び込むことで非典型的な翻訳伸長を促す。② その結果、合成途上鎖のC末端にポリアラニンが付加される。③これが分解タグとして認識され、翻訳途上の新生ペプチド鎖が分解される。一方、関連因子の有無やポリアラニン付加の分子機構など不明な点が多く残されていました。そこで、私は枯草菌細胞抽出液よりRqcH:50S複合体の単離方法を確認し、新規関連因子RqcPの同定とCryo-EM解析(データ解析は共同研究者らが実施)により、ポリアラニン付加の分子機構を明らかにすることができました(図1B)16。単離したRqcH:50S複合体をプロテオミクス解析に供することで新規関連因子RqcPを発見したわけですが、その当時は機能未知因子(YabO)としてデータベース上に登録されていました。機能解析の結果、50Sサブユニット上でP-site tRNAを安定化させることでポリアラニン付加反応を促進する因子であることがわかりました、RqcPと名付けました。また、単離した複合体をCryo-EM解析に供し、ポリアラニン付加反応中間複合体を複数活写することで、ポリアラニン付加反応の分子機構を明らかにしました。これら知見をもとにRqcH・RqcPによる50Sサブユニット上でのポリアラニン付加反応を試験内再構成することに成功し、ポリアラニン付加反応は解離した50Sサブユニット上で翻訳促進因子やmRNAなどに依存しない非典型的な翻訳反応であることを明らかにしました17。翻訳品質管理機構RQCに関する研究は帰国後も継続しておりまして、RqcPと同様に促進因子として作用する新規RQC因子YlmHの発見など18、さらなる関連因子の探索に取り組んでおります。

抗生物質の遊離を誘導する機構：ABCF因子による抗生物質耐性機構に関して

最後にご紹介したい研究は、新規の抗生物質耐性機構についてです。抗生物質は臨床の現場に限らず、農業・漁業など

第一次産業においても汎用されてきており、この恩恵を受け、人類の生活水準は飛躍的に向上してきました。一方で、乱用による耐性菌の出現など、近年ではこれら問題が顕著化してきており、抗生物質の詳細な作用機構の理解とその抗生物質から如何にしてバクテリアは生き残るのか、その生存戦略の理解が急務です。医療現場で使用される抗生物質の約30%は翻訳装置・リボソーム(特に活性中心であるPTC)を標的とする天然化合物に由来し、土壌微生物の放線菌などによって生産されます。近年、自身のリボソームを守るため放線菌が保持する自己耐性遺伝子(ARE-ABCFタンパク質、ARE: Antibiotics resistance)が、非生産菌である多くのバクテリアで保存されていることがわかってきました19。これらの因子は膜貫通ドメインをもたず、他の膜タンパク質と共役して働くことで、抗生物質の排出に寄与していると考えられてきましたが、その詳細な作用メカニズムは不明でした。私は枯草菌ABC-Fタンパク質(VmlR)による抗生物質耐性機構に着目し、VmlR:70Sリボソーム複合体の単離法を確認することで、VmlRがリボソームに直接結合し、抗生物質耐性に寄与することを明らかにしました(図1C)19,20。加えて、抗生物質依存的に*vmlR*遺伝子が発現誘導される、転写制御機構に関しても明らかにしました21。Cryo-EM解析の結果は衝撃的なものでして、VmlRがリボソーム上のtRNAの出口であるEサイトに直接結合し、2つの長い α ヘリックスからなる領域(ARD: antibiotics resistant domain)がニードルのように翻訳活性中心まで入り込むことで抗生物質に作用し、抗生物質がリボソームから遊離することが明らかになりました。そこで同様の方法を用いて、抗菌スペクトラムの異なる病原細菌性由来のABCF(Lsa, Vga, PoxA)に関しても、70Sリボソームとの複合体精製および構造解析のプロジェクトに参画し、これら病原細菌性由来のABCF因子の作用機序を明らかにしました22,23。ABC-Fが耐性を付与する抗生物質のスペクトラムは多様であり、その多様性は翻訳活性中心に直接作用するARDの長さやアミノ酸組成に起因すると考えられています。さらに、ディフィシル感染症(*Clostridioides difficile* infection: CDI)は、抗菌薬使用などによりディフィシル菌が増殖して常在腸内細菌叢が攪乱され、下痢などを発症する感染症ですが、このCDI発症において新規ARE-ABCF因子(CpIR)が重要な役割を果たしていることを筑波大・尾花望博士との共同研究によって明らかにすることができました24。一方で、抗生物質耐性には寄与しないABC-Fホモログ(Housekeeping ABCF)が微生物一般に広く保存されており(通常、生物種あたり2~4コピー存在)、リボソームへの結合活性を有すると予想されますが、翻訳機構に対する機能は不明でした。つい最近、この点に関して我々を含め、国内外のいくつかのグループによって、リボソームが合成を苦手とするアミノ酸モチーフであるプロリン・正電荷および負電荷に富んだ連続配列によって生じる翻訳停滞を解消する翻訳促進因子であることが明らか

かになってきております (図 ID)25-28。

終わりに

私ごとですが、今年度より富山県立大学工学部生物工学科・応用生物情報学講座に講師として着任いたしました。ゲノム研究はデータベース上の膨大な情報をいかに活用するか、アイデア勝負の時代となってきました。モデル微生物の大腸菌や枯草菌でさえ、未だ機能未知な遺伝子は多数あり、こういった遺伝子の機能の理解は、ひいては、我々がまだ知らない生命現象の発見・理解につながる可能性を秘めていると考えています。一方で、昨今のビックデータ時代においては、膨大なデータをもとに“一見わかった気”になるような抽象的な解を求める傾向が強くなってきている気がしています。微生物が見せてくれるコロニーの表現型のわずかな違いなどに想像力を働かせ、そこにどんな生命現象が存在しているのか、考察(時には妄想)をする時間を大切に、これからも研究をしていきたいと考えております。

引用文献

- 1) Takada H. et al., *Mol Microbiol.*, 91, 242-55. (2014)
- 2) Takada H. et al., *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 78, 898-907. (2014)
- 3) Takada H. et al., *Microbiology*, 164, 670-684. (2018)
- 4) Shimada T, et al., *Genes Cells*. 20, 915-31. (2015)
- 5) Takada H. et al., *PLoS One*, 11, e0163057. (2016)
- 6) Takada H. et al., *Int J Mol Sci.*, 24, 3696. (2023)
- 7) Su'etsugu M. et al., *Nucleic Acid Res.*, 45, 11525-11534.(2017)
- 8) Hauryliuk V et al., *Nat Rev Microbiol.*, 13, 298-309. (2015)
- 9) Takada H. et al., *Front. Microbiol.*, 11, 277. (2020)
- 10) Takada H. et al., *Nucleic Acid Res.*, 49, 444-457. (2021)
- 11) Roghanian M*, Nerom KV*, Takada H*, et al., *Mol. Cell*, 81,3310-3322. (2021)
- 12) Mori V. et al., *ACS Chem. Biol.*, 16,1680-1691. (2021)
- 13) Tamman H. et al., *Nat. Chem. Biol.*, 16, 834-840. (2020)
- 14) Inada T. *Nucleic Acid Res.*, 48, 1084-1096. (2020)
- 15) Lytvynenko I. et al., *Cell*, 178, 76-90. (2019)
- 16) Crowe-McAuliffe C*, Takada H*, *Mol. Cell*, 81, 115-126. (2021)
- 17) Takada H. et al., *Nucleic Acid Res.*, 49, 8355-8369. (2021)
- 18) Takada H. et al., *Nucleic Acid Res.*, In press.
- 19) Murina V. et al., *J. Mol. Biol.*, 431, 3568-3590. (2019)
- 20) Crowe-McAuliffe C. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 115,8978-8983. (2018)
- 21) Takada H. et al., *Nucleic Acid Res.*, 50, 6174-6189. (2022)
- 22) Crowe-McAuliffe C. et al., *Nat. comm.*, 12, 3577. (2021)
- 23) Crowe-McAuliffe C. et al., *Nat. comm.*, 13, 1860. (2022)
- 24) Obana N*, Takada H*, *Nucleic Acid Res.*, 51, 4536-4554. (2023)
- 25) Takada H. et al., *bioRxiv.*, doi: <https://doi.org/10.1101/2024.01.25.577322>
- 26) Ousalem F. et al., *bioRxiv.*, doi: <https://doi.org/10.1101/2023.10.17.562674>
- 27) Chadani Y. et al., *Nucleic Acid Res.*, Online ahead of print.
- 28) Hong HR. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*,121, e2314437121. (2024)



希少放線菌 *Actinoplanes missouriensis* の形態分化

に関する分子遺伝学的研究

手塚 武揚

東京大学 大学院農学生命科学研究科

放線菌はグラム陽性、高GC含量の細菌群であり、細胞分裂ではなく菌糸の伸張と分岐により栄養増殖を行うものが含まれる。環境中から分離される放線菌のうち大部分を *Streptomyces* 属が占めるため、菌糸伸張により増殖し、*Streptomyces* 属とは異なる属に分類される放線菌を便宜的に希少放線菌と呼んでいる。希少放線菌 *Actinoplanes missouriensis* の生活環を図1に示す。

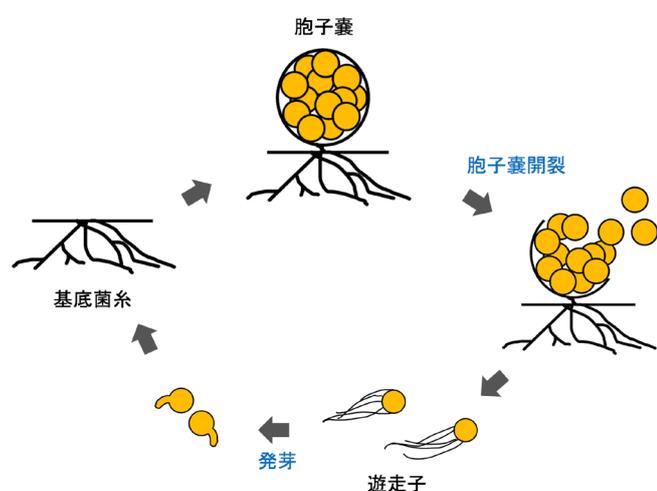


図1. *A. missouriensis* の生活環
分岐した基底菌糸の伸張による栄養増殖の後、栄養飢餓の乾燥した条件において孢子嚢を形成して休眠する。孢子嚢は水中で開裂して孢子を放出する。孢子は水中を運動する遊走子となり、増殖可能な環境に至ると発芽して菌糸生長を開始する。

本菌は分岐した菌糸の伸張による栄養増殖の後、貧栄養かつ乾燥した条件において多数の孢子嚢を形成する (図2A)。孢子嚢は数百の孢子が孢子嚢膜で包まれた球状の構造体であり、孢子嚢孢子は本菌の休眠耐久細胞である (図2B)。孢子嚢の形成には乾燥した条件が必要である一方、成熟した孢子嚢を水に懸濁して30分ほどおくと、孢子嚢膜が破れ、孢子が水中に放出される (図2C)。

放出された孢子は、しばらくすると、べん毛を使って水中を高速で移動し始める。この運動細胞を遊走子と呼んでいる (図3)。遊走子の懸濁液に栄養豊富な液体培地を加えると遊走子は運動を停止し、数時間ほど振盪すると発芽して菌糸伸張を開始する。

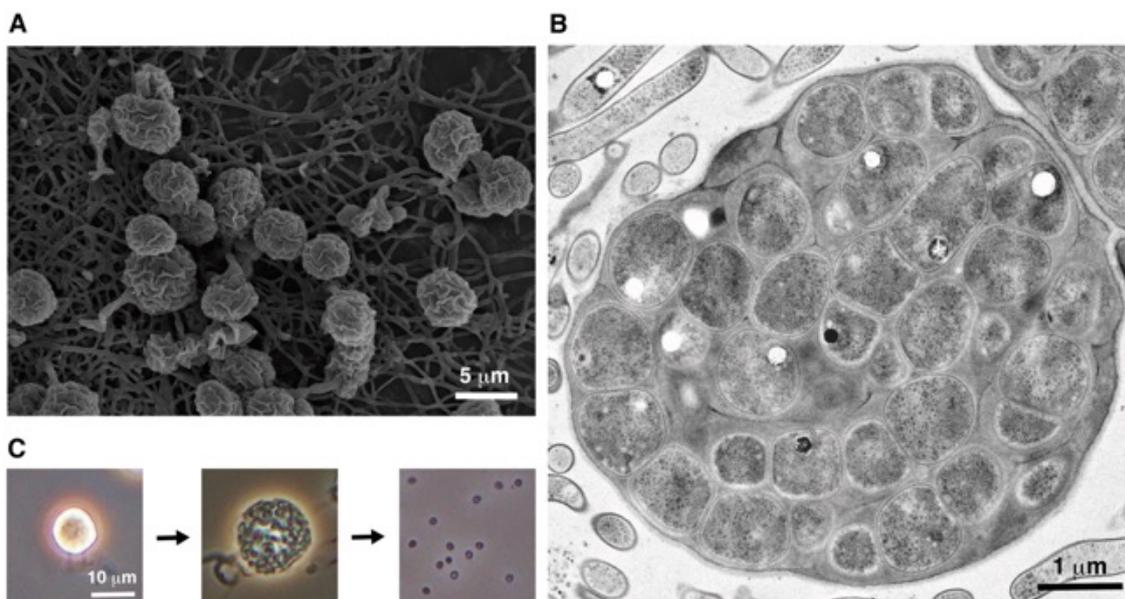


図2. 孢子嚢の電子顕微鏡観察像と孢子嚢開裂の過程

(A) 固体培地上に形成された孢子嚢の走査型電子顕微鏡観察像。(B) 孢子嚢超薄切片の透過型電子顕微鏡観察像。(C) 孢子嚢開裂過程の位相差顕微鏡観察像。写真は左から、孢子嚢を25 mM ヒスチジン水溶液に懸濁して0分後、15分後、30分後の観察像。

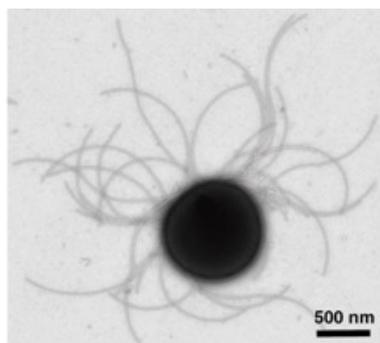


図3. 遊走子のネガティブ染色法による透過型電子顕微鏡観察像

このように、*A. missouriensis* の生活環では細胞形態に大きな変化が見られるが、これまで *A. missouriensis* を含め希少放線菌の形態分化を解析した研究は少なく、分子機構に関する知見は限定的であった。

筆者らは、*A. missouriensis* が行う形態分化について研究を進めてきた。*A. missouriensis* の生活環の中でも、特に孢子嚢の形成と開裂に注目し、これらの現象に関わる遺伝子の特定と発現制御機構の解明、および遺伝子産物の機能解析を行ってきた。孢子嚢の形成と開裂に関わる転写制御因子として、筆者が研究を始めた時点で BldD と TcrA が既に研究室で特定されていた。BldD は *Streptomyces* 属放線菌で先行して研究されており、形態分化に関わる遺伝子の転写制御カスケードの最上流で機能し、栄養増殖中に気中菌糸の形成を抑制するマスタースイッチとして知られている (1)。*A. missouriensis*

では、遊走子と栄養培地中で発芽させた細胞を比較したプロテオーム解析において、発芽細胞での生産量が顕著に増加するタンパク質の1つとして同定され、*bldD* 破壊株で無秩序な孢子嚢形成が観察されたことから、*A. missouriensis* においても BldD は形態分化の開始を抑制していると考えられる。ChIP-Seq 解析と RT-qPCR 解析の結果、BldD はゲノム全体に広く結合し、標的遺伝子の転写を主に抑制していることが判明した (2)。その後の研究により、*tcrA*、*bldC*、*ssgB* 等の孢子嚢形成、べん毛合成に重要な遺伝子が BldD の制御下にあることが判明している (図4)。

TcrA は二成分制御系の応答制御因子であり、走化性遺伝子クラスター (*che* cluster-1) およびべん毛遺伝子クラスターに隣接する遺伝子座にコードされることから、当初は遊走子のべん毛合成や走化性の制御因子と予想されていた。しかし、*tcrA* 破壊株では孢子嚢が正常に形成されず、孢子嚢開裂も進行しなかったことから、より広範な遺伝子の転写を制御していると推測された。そこで、mRNA-Seq 解析を用いて野生株と *tcrA* 破壊株のトランスクリプトームを比較したところ、200 を超える遺伝子の転写産物量が変動しており、TcrA が主に転写活性化因子として機能していることが判明した。さらに、組換えタンパク質を用いた結合試験により、TcrA が直接転写を制御する 34 の転写単位を特定した。これら TcrA レギュロンには当初予想されたべん毛遺伝子、走化性遺伝子に加え、孢子嚢内部における孢子の分離に関わる細胞壁分解酵素 GsmA や孢子嚢開裂時に孢子嚢マトリクス (孢子嚢内部で孢子と孢子の間隙を埋める未知物質) を分解するグリコシダーゼをコードする遺伝子が

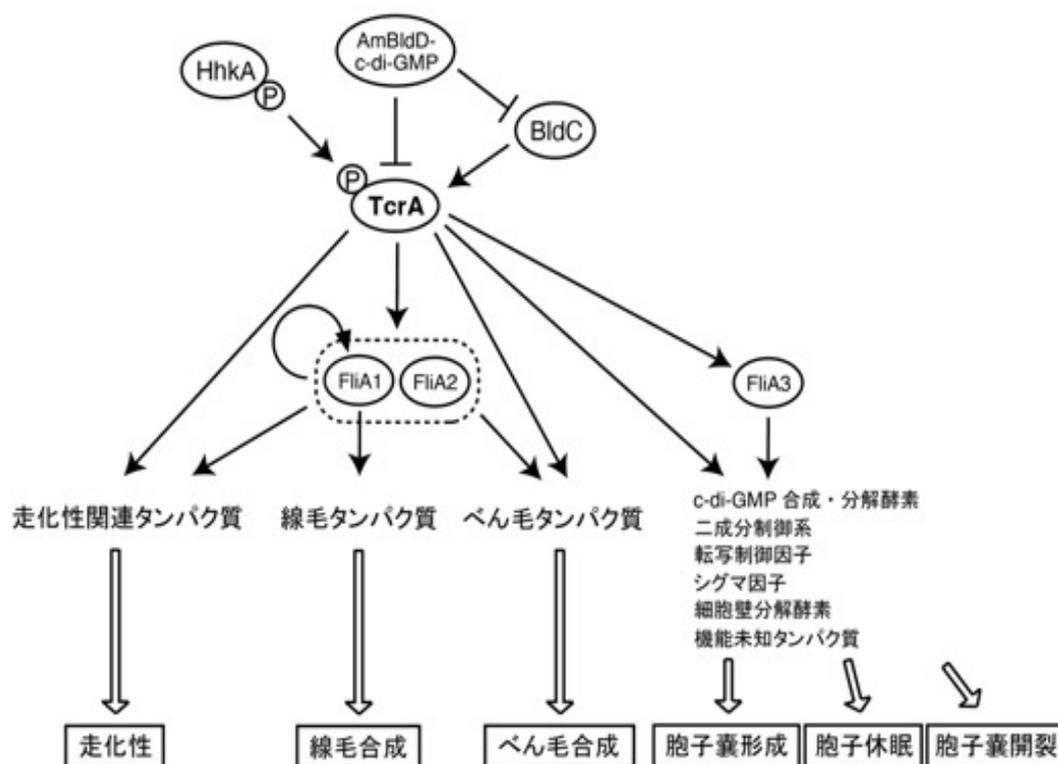


図4. *A. missouriensis* の形態分化に関わる遺伝子の転写制御モデル

含まれており、TcrA がべん毛合成や走化性を含む広範な遺伝子の転写を制御する因子であることが示された (3)。また、TcrA の制御下には FliA ファミリーの置換型シグマ因子をコードする3つの遺伝子があり、このうち *fliA1* と *fliA2* がコードするシグマ因子は多くの共通したプロモーターを認識し、胞子嚢の形成やべん毛の合成に必須の制御因子であった (4)。一方、TcrA の制御下に IV 型線毛の合成遺伝子が見出されたことから、さらに解析を行ったところ、遊走子はべん毛に加えて線毛を有し、これが疎水性の固体表面に付着するために必要であることを示した (5)。

TcrA はオーファンな応答制御因子であるが、52番目の Asp 残基がリン酸化されると *in silico* 解析で予想されたため、これを Asn 残基に置換した変異型遺伝子を *tcrA* 破壊株に導入したところ、*tcrA* 破壊株の表現型の変化が回復せず、この D52N 変異型 TcrA は機能を消失していた。したがって、TcrA の 52番目の Asp 残基をリン酸化するヒスチジンキナーゼが存在すると予想された。上述の遊走子と発芽細胞を比較したプロテオーム解析で、遊走子における生産量が顕著に多いタンパク質の1つとしてハイブリッド型ヒスチジンキナーゼ HhkA が同定されていた。そこで、*hhkA* 破壊株を作製して解析したところ、*tcrA* 破壊株と同じく正常な胞子嚢が形成されず、胞子嚢開裂も進行しなかった。また、mRNA-Seq 解析で野生株、*tcrA* 破壊株、*hhkA* 破壊株のトランスクリプトームを比較した結果、野生株と比較して *tcrA* 破壊株と *hhkA* 破壊株で転写産物量が変動する遺伝子の大部分が重複していた。大腸菌で生産させた組換え HhkA タンパク質を用いた *in vitro* 実験では、HhkA の自己リン酸化活性が検出されなかったため、HhkA-TcrA 間のリン酸リレーを直接検出することはできていないが、HhkA と TcrA は二成分制御系を構成していると考えている (6)。

一方で、BldD や TcrA による転写制御カスケードとは独立した転写制御系も発見されている。SipA- σ^{SsdA} は胞子嚢開裂や胞子の酸化ストレス耐性を制御するシグマ-アンチシグマ制御系を構成している。*sipA* は胞子嚢開裂が進行しない変異株 (M-12 株) をスクリーニングで取得し、ゲノム配列の resequencing 解析を行うことで特定された遺伝子であるが、当初、SipA の機能は未知であった。M-12 株のサブレッサー変異株を別のスクリーニングで取得し、ゲノム配列の resequencing 解析を行うことで、シグマ因子 σ^{SsdA} が特定され、SipA が σ^{SsdA} に結合したことから、SipA が σ^{SsdA} のアンチシグマ因子であることが判明した。 σ^{SsdA} の制御下には、胞子嚢開裂を抑制する二成分制御系 RsdK-RsdR、および酸化ストレス耐性を担うカタラーゼやグルタチオン合成酵素をコードする遺伝子があり、実際、*rsdK-rsdR* 破壊株では胞子嚢開裂が顕著に促進される一方、 σ^{SsdA} をコードする *ssdA* の破壊株では、遊走子の酸化ストレス耐性が顕著に

低下する (図 5)。したがって、*A. missouriensis* は σ^{SsdA} を介して胞子嚢開裂を抑制する一方、胞子のストレス耐性を向上させることで長期の生存を維持していると考えられる (7)。これが事実であれば、胞子は一部の遺伝子の発現を継続していることになり、*A. missouriensis* の胞子は休眠状態の細胞とは異なる生理状態にあると考えられる点で非常に興味深い。

また、転写制御機構の解析と並行して、*A. missouriensis* の形態分化に関わる遺伝子の機能解析を進めてきた。*Streptomyces* 属放線菌では、SsgA-like protein (SALP) と呼ばれるタンパク質が気中菌糸から胞子鎖が形成される過程に必須であることが知られている。*Streptomyces* 属では1つの菌種で5-7個の SALPs がゲノム上にコードされており、特に SsgB の保存性が最も高い。SsgB は胞子が形成される際の細胞分裂面に FtsZ をリクルートすると考えられている (8)。一方、*A. missouriensis* のゲノム上には SALP が SsgB ホモログただ1つのみコードされている。*A. missouriensis* の *ssgB* は BldD レギュロン中の1つとして見出され、胞子嚢形成の初期に顕著に転写誘導される遺伝子であったため、遺伝子破壊株を作製して機能解析を行った。当初、*Streptomyces* 属における先行研究から、*A. missouriensis* の *ssgB* 破壊株では胞子嚢内部における胞子の分離が抑制されるものと想定したが、実際には、胞子嚢形成の初期段階で胞子嚢の膨張が見られず、胞子嚢内部での菌糸伸張やマトリクス生産が正常に進行しなかった。このような表現型の変化は SsgB による FtsZ のリクルートでは説明できず、*A. missouriensis* の SsgB は *Streptomyces* 属の SsgB とは異なる機能を有していると考えられた。一方で、予想外なことに、この *A. missouriensis* の *ssgB* 破壊株における表現型の変化は、*Streptomyces coelicolor* A3(2) 由来の *ssgB* 遺伝子を導入することである程度回復した (9)。したがって、*A. missouriensis* と *S. coelicolor* A3(2) の SsgB ホモログは共通の機能を保持しており、それは形態分化に特化した細胞における胞子形成の誘導能であると考えている。形態

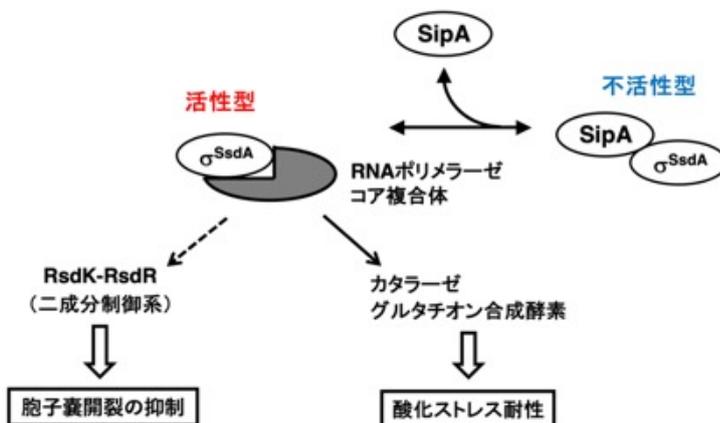


図 5. SipA- σ^{SsdA} 制御系による制御モデル

SipA は σ^{SsdA} に結合することで σ^{SsdA} の活性を抑制する。点線の矢印は間接的な転写活性化を示す。

分化に特化した細胞とは、*Streptomyces* 属では気中菌糸、*A. missouriensis* では孢子嚢形成の初期に菌糸の分岐部に形成される孢子嚢の芽のような構造 (presporangium) であるが、*A. missouriensis* において SsgB がどのような分子機構で presporangium の膨張を誘導しているかは未知であり、今後の課題である。

以上のように、筆者らは希少放線菌 *A. missouriensis* の形態分化に焦点をあて、孢子嚢の形成と開裂、遊走子の運動制御に関わる遺伝子を特定し、その機能解析を行ってきた。また、これら遺伝子が時期特異的に発現する転写制御メカニズムを明らかにしてきた。これらの研究を進める過程では、mRNA-Seq 解析や ChIP-Seq 解析、genome resequencing 解析等のゲノム微生物学の実験手法が不可欠であった。一方で、形質転換法の改良や変異株のスクリーニング手法の考案が研究の進展に貢献した。筆者が研究を始めた時点で、大腸菌との接合伝達法を利用した *A. missouriensis* の形質転換や遺伝子破壊は既に可能であったものの、その効率は（今から考えると）非常に低く、特に遺伝子破壊株の取得は多大な労力を要するものであった。接合伝達に用いる細胞の調製手順や培地、ベクタープラスミド等を検討したところ、形質転換の効率が大幅に向上した。これは、その後の遺伝子の機能解析を進める際に非常に役立った。*A. missouriensis* のような非モデル生物を対象とする研究では、このような基本的な実験手法の地道な検討が、非常に重要であることを実感している。今後は、新たな因子の特定と機能解析をさらに進め、*A. missouriensis* を含む希少放線菌が示す複雑な形態分化と精巧な生存戦略の全容に迫りたいと考えている。

今回、栄誉ある研究奨励賞をいただき、大変嬉しく思います。最後になりますが、日本ゲノム微生物学会の関係者、選考委員の先生方に厚く御礼申し上げます。また、本研究の成果は大西康夫先生、勝山陽平先生をはじめとする諸先生方、共同研究者の皆様のご支援とご指導、共に実験を行った研究室員の皆様の努力の賜物です。心より感謝申し上げます。

引用文献

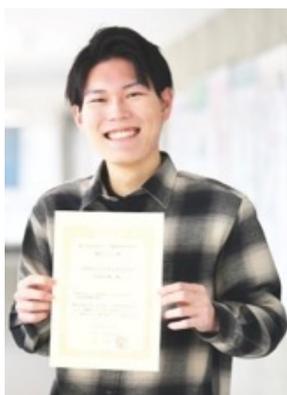
1. Tschowri N. et al., *Cell* 158(5):1136-1147 (2014)
2. Mouri Y. et al., *J. Bacteriol.* 199(12):e00840-16 (2017)
3. Mouri Y. et al., *Mol. Microbiol.* 107(6):718-733 (2018)
4. Hashiguchi Y. et al., *Mol. Microbiol.* 113(6):1170-1188 (2020)
5. Kimura T. et al., *J. Bacteriol.* 201(14):e00746-18 (2019)
6. Hashiguchi Y. et al., *J. Bacteriol.* 202(21):e00228-20 (2020)
7. Tezuka T. et al., *Nat. Commun.* 14(1):8483 (2023)
8. Willemse J. et al., *Genes Dev.* 25(1):89-99 (2011)
9. Akutsu T. et al., *J. Bacteriol.* 206(3):e00428-23 (2024)



ポスター賞受賞研究

新規 uORF による枯草菌 Mg^{2+} transporter MgtE の発現制御機構の解析

赤岡 大暉

京都産業大学 大学院 生命科学研究科
生命科学専攻

Mg^{2+} イオンの枯渇時に細胞外から Mg^{2+} イオンを取り込むトランスポーター遺伝子の発現調節は細胞内 Mg^{2+} イオンの恒常性の維持に必須である。枯草菌は、細胞内 Mg^{2+} イオンが枯渇すると、その取り込みを担うトランスポーター MgtE の発現量を増加させる。*mgtE* の発現は、その上流に存在する M-box と呼ばれる Mg^{2+} イオン応答性のリボスイッチによって、転写レベルで調節されており、M-box に Mg^{2+} イオンが結合すると、*mgtE* の転写が抑制される (1)。

今回我々は、M-box を欠失した枯草菌株が、 Mg^{2+} イオン濃度の枯渇に呼応して *mgtE* の発現を上昇させることを見出した。このことは、枯草菌が、M-box とは独立の、第 2 の *mgtE* 発現制御機構を有していることを示している。さらに、我々は、M-box と *mgtE* に挟まれた領域に存在す

る小さな uORF が、*mgtE* の発現を翻訳レベルで cis に制御していることを見出した。

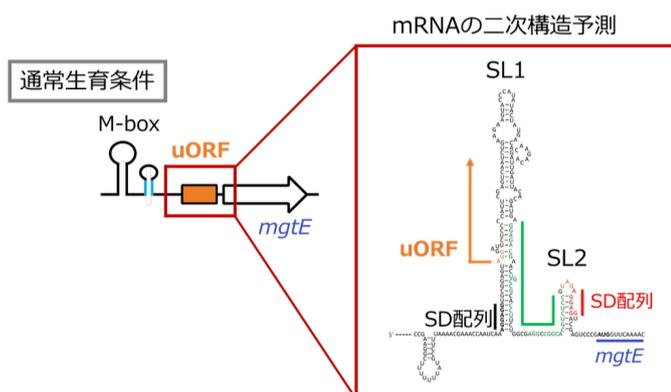
mRNA の二次構造予測から uORF-*mgtE* 遺伝子領域間に 2 つの主要なステムループが存在することが示唆された (図 1 左)。また、遺伝学的な解析から、細胞内 Mg^{2+} イオンの枯渇に伴い、uORF を翻訳するリボソームが mRNA 上で翻訳伸長のスローダウンもしくは停滞を引き起こした結果、2 つのステムループの掛け替えを促し、*mgtE* の SD 配列の露出を引き起こすことが示唆された (図 1 右)。

このように、*mgtE* の発現は uORF を翻訳するリボソームの翻訳動態の変化を介して細胞内 Mg^{2+} イオンの枯渇にตอบสนองする形で制御されていることが示唆された。さらに、我々は翻訳に影響を与えるある種の抗生物質や、リボソームの大小サブユニット間相互作用を不安定化する変異も、*mgtE* の発現を誘導することを見出した。 Mg^{2+} イオンは、リボソームの安定化に貢献することが知られているため、このメカニズムは、細胞内 Mg^{2+} イオンの恒常性だけでなく、リボソームの不安定化を誘発するような様々な事態に対する枯草菌なりの備えなのかもしれない。

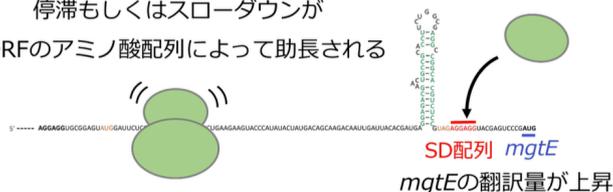
この度はこのような素晴らしい賞をいただき、大変うれしく思っております。学会関係者の皆様に心から感謝申し上げます。最後に、本研究を進めるにあたってご指導いただきました千葉志信教授、ならびに研究室の方々に深く感謝申し上げます。また、貴重なご助言をいただきました富山県立大学の高田啓博士、国立遺伝学研究所の藤原圭吾博士に御礼申し上げます。

引用文献

1) Dann C. E. 3rd. et al., *Cell*, 130(5),878-892(2007)

Mg²⁺イオンの枯渇

停滞もしくはスローダウンが
uORFのアミノ酸配列によって助長される



- 1 リボソームの翻訳動態を介して、 Mg^{2+} イオンの枯渇を感知
- 2 ステムループの掛け替えが起こり、*mgtE*のSD配列が露出する

図 1. 新規 uORF の翻訳を介した MgtE の発現制御機構

一遺伝子欠損によるグローバルな発現変動とその背景にある遺伝子間の量比保存関係

千葉 元太

東京大学 大学院 総合文化研究科

この度は、栄誉ある賞を頂きまして誠にありがとうございます。ゲノム微生物学会は今回が初めての参加になりますが、ポスターセッションでは多くの方が発表を聞いてくださり、実りある議論とフィードバックをいただけて大変感謝しております。また、口頭発表ではゲノム微生物学に関する幅広い講演を聞くことができ、多大な刺激を受けました。発表を聞きに来てくださった皆様、そして大会を運営して下さった諸先生方に深く感謝を申し上げます。



本研究は、遺伝的な摂動が細胞状態にどの程度影響を及ぼすか、そしてその背景にはどのような動作原理が存在するか、ということについて実験的に明らかにすることを目指したものです。メンデルの法則で知られるメンデルに端を発する現代の遺伝学ですが、核酸という遺伝的基盤の発見、分子生物学と次世代シーケンサー技術の発展などにより、当初からは考えられないほど詳細に生物のゲノムを操作することができるようになりました。本研究で用いた一遺伝子欠損もその一つです。遺伝子欠損株は、その表現型変化から欠損した遺伝子の機能をアノテーションする逆遺伝学的な解析に広く用いられてきました。遺伝子機能をなくなった表現型に結びつけることにより、細胞機能を実現する実体である遺伝子に対する深い理解が得られています。しかしながら、細胞内では、複数階層における多数の分子がミクロスケールの混雑空間内でお互いに相互作用しています。このような空間のなかで、遺伝的摂動による表現型変化の原因として、摂動を与えた遺伝子の機能だけでなく、摂動による間接的な効果が大きく寄与することは想像に難くありません(1)。こういった側面は細胞をシステムとして理解する上でも重要な疑問ではありますが、遺伝学が「うまくいっている」こともあってか問題意識としてはありつつも深く議論されてきませんでした。

わずか一つの遺伝子に対する遺伝的摂動は遺伝子発現状態にグローバルに及び得るでしょうか？及ぶとして、その変化を説明するシステムレベルの原理は何でしょうか？この問いに答えるためには、多くの遺伝子の機能や制御関係がよく理解されているモデル細胞系に統一的かつ網羅的な摂動を与え、そこに現れる細胞内分子発現プロファイルや

表現型の応答を計測する必要があるでしょう。そこで我々は、大腸菌一遺伝子欠損株ライブラリ KEIO collection(2)(3) から選んだ株を対象に、遺伝的摂動が細胞の遺伝子発現状態に与える影響を研究しました。具体的には、遺伝的摂動として遺伝子欠損、表現型変化として増殖曲線の変化を計測し、その背景で細胞内分子プロファイルがどの程度変動するかを、RNA-seq によるトランスクリプトーム、ラマン分光スペクトルを用いて様々な観点から検討しました。

その結果、わずか一遺伝子の欠損でもあるにもかかわらず、数百もの遺伝子が発現変動を示す株が存在しました。この発現変動遺伝子は制御関係、染色体上の位置、機能など様々な観点からグローバルに影響が及んでいました。また、この株では増殖率・最高到達濁度の極端な低下やラマンスペクトルの大きな変化が観察され、増殖表現型の大きな変化の背景には、分子発現プロファイルの大きな変動があることが明らかになりました。さらに遺伝子発現プロファイルを詳細に解析すると、翻訳やアミノ酸合成・代謝などに関する遺伝子の発現量が有意に低下していることがわかりました。これらの遺伝子の発現量低下が増殖の極端な低下に寄与していると考えられますが、興味深いことに、これらの遺伝子は欠損させた遺伝子と直接関連のある遺伝子ではなかったのです。つまり、遺伝子欠損により翻訳、アミノ酸合成・代謝に関する遺伝子に間接的に影響が及び、最終的に増殖低下をもたらしたということです。

では、この「間接的」な影響の背景にはどういった動作原理があるのでしょうか？我々は、「発現量比保存関係」(4) という異なる条件下でお互いの発現量比がどれほど保たれるかという遺伝子間の関係性に着目しました。その結果、増殖の極端な低下を示した株では、欠損遺伝子とともに発現量比を保ち合っていた遺伝子が有意に発現低下することを見出しました。欠損する遺伝子と発現量比を保ち合う遺伝子は、欠損（つまり発現量を0にする向き）に引きずられて発現量を下げるという描像が示唆されます。実際、リボソームタンパク質のいくつかが増殖低下を示した株で欠損させた遺伝子とよく発現量比を保ち合っていたことが観察されています。

今回の結果は、細胞に対する遺伝的摂動とその応答の間を繋ぐ背景原理として期待されます。一方で、本研究ではあくまで相関関係を明らかにしたに過ぎず、具体的に何が原因となって大規模な発現変動が引き起こされたかまでは答えられていません。所属研究室で開発された、遺伝子欠損直後の細胞リアルタイム計測技術(5)を用いることで、ある程度この問題にアプローチできるのではないかと考えています。

最後に、本研究の RNA-seq は東京大学・太田邦史教授、小田有沙助教との共同研究で行いました。また、本研究を行うにあたって、指導教員である若本祐一教授、亀井健一郎研究員には、丁寧なアドバイスと実りある議論をしていただきました。この場を借りて厚くお礼申し上げます。

引用文献

- 1) Fuhrer T. et al., *Mol. Syst. Biol.*, 13:907 (2017)

2) Baba T. and Salas M., *Mol. Syst. Biol.*, 2:2006.2008 (2006)

3) Yamamoto N. *Mol. Syst. Biol.*, 5:335 (2009)

4) Kamei K. F. et al., *bioRxiv*, (2023)

5) Koganezawa Y. et al., *eLife*, (2022)

トノサマバツタの群生相化と腸内細菌の関係性の解析

Kim Jaeha

総合研究大学院大学 国立遺伝学研究所

ゲノム多様性研究室

この度、第18回日本ゲノム微生物学会年会で優秀ポスター賞に選んでいただき、誠にありがとうございます。興味深い特徴を持つ微生物の遺伝子機能解析についての研究やメタゲノム解析技術を活用した多様な環境での微生物の解析やツール開発研究等、ゲノム微生物学研究的の最前線の内容が発表された学会の



中で「トノサマバツタ」という特殊な対象を扱った研究ポスターを訪ねてくださった多くの皆様にも感謝申し上げます。そして、本年会を企画・運営していただいた組織委員の皆様にも感謝申し上げます。様々な方面から多くの刺激をうけ、研究に対する熱意を高める素晴らしい機会になりました。

現在私が研究を行っている対象は「腸内微生物が宿主に与える影響」についてです。近年ではシーケンシングのコスト減と共にモデル生物以外を対象とした腸内微生物研究も活発に行われるようになっております。それに伴って腸内微生物研究も行動変化や脳機能への影響のような様々な分野に拡大しています。ミツバチのように腸内微生物の組成が極めて単純な生物に対する研究が行われ、記憶と学習に腸内微生物が関係していることが明らかになった事例が代表的です(1)。ただし、腸内微生物に関しては宿主に作用する明確なメカニズムが解明されていない場合が多く、因果関係について様々な議論が行われています。特に腸内微生物が宿主の集団行動と社会性に影響を与えるかに関しては、既存のモデル生物では研究が難しいためほぼ研究されておられません。

私たちは集団行動様式(群生相)と単独行動様式(孤立相)の両方の行動様式を持つトノサマバツタを活用して、腸内微生物と集団行動の関係性及び宿主に対する影響を研究してい

ます。トノサマバツタは日本や中国、韓国等に生息するバツタ科の昆虫であり、高い個体密度で幼虫期を過ごす特徴を持って集団移動を始める特徴を持ちます。この現象は「密度効果」として広く知られており、原因を探るため同じく密度効果の存在が知られているアフリカに主に生息するサバクトビバツタを対象とした研究が行われております。その結果、セロトニンのような神経伝達物質の濃度変化との関係が明らかになってきました(2)。しかし、神経伝達物質の濃度変化の原因は未だ明確ではありません。私たちはバツタの群生相化と関係している物質が腸内微生物によって影響を受けやすい神経伝達物質であることに着目し、バツタの群生相化に腸内微生物が影響を与えていると仮説を立て研究を行っております。

今回のポスター発表では研究室で継代飼育した群生相と孤立相トノサマバツタの腸内細菌組成比較を中心に発表しました。私たちは飼育室を立ち上げて個体密度を調節しながら数世代の間トノサマバツタを飼育し、群生相と孤立相トノサマバツタ個体を確保しました。確保した孤立相及び群生相個体の糞便サンプルからDNAを抽出し、16S rRNA 遺伝子の amplicon 解析で個体別の腸内細菌組成を確認しました。その結果、孤立相個体では *Klebsiella* 属及び *Pseudomonas* 属のような野生個体でも確認できた属が高い割合で存在していたことに比べ、群生相個体では *Serratia* 属が8割以上を占めました。さらに、孵化直後から成虫になるまで1週間隔で腸内細菌の組成変化を解析した結果、群生相集団では *Serratia* 属が持続的に高い割合を占めていることがわかりました。

さらに、私たちはメタゲノム解析を用いて群生相と孤立相トノサマバツタの腸内細菌群集の遺伝子機能組成を解析すると共に、群生相個体で確認した *Serratia* 属の MAG (Metagenome-Assembled Genome) 配列を構築してゲノム解析を行った結果をあわせてポスター発表しました。

今私はトノサマバツタ由来の *Serratia* 属が持つ遺伝子の機能や系統について、詳細に解析した結果を含めた論文を執筆しています。群生相化と腸内細菌との関係について、博士後期課程中に明らかにすることが目標です。私の研究活動が日本ゲノム微生物学会の優秀ポスター賞の名に恥じないように、今後も勉学と研究に努めます。最後に、私の指導教員である国立遺伝学研究所の森宙史先生とシーケンシングを行なってくださった国立遺伝学研究所の豊田敦先生、様々な助言をくださった東京工業大学の村上匠先生に感謝申し上げます。

引用文献

1) Zhang Z. et al., *Nat. Commun.*, 13(1):2037 (2022)

2) Anstey M.L., et al., *Science*, 323(5914):627-630 (2009)

藍藻におけるマーカーレス 変異体作製法の確立

大館 和真

東京農業大学 生命科学研究科

藍藻（シアノバクテリア）は酸素発生型光合成により独立栄養的に増殖するため、物質生産のホストとしての利用が盛んに試みられている。しかし、大腸菌や酵母と比べると利用可能な選択マーカーが限られている点。そして、藍藻は細胞あたり複数コピーの染色体を持っているため全ての染



色体が組換えコンストラクトに置き換わった形質転換体を取得するのに一か月ほどの時間を要する点が、藍藻の産業利用を阻む一因となっている。これらの問題点を解消するため、薬剤耐性遺伝子に依らない遺伝子組換え法（マーカーレス変異体作製法）の構築を本研究の目的とした。

本研究では増殖速度と組換え効率が優れた、モデル藍藻 *Synechococcus elongatus* PCC 7942（以降 *S.* 7942）を使用した。遊離 mRNA を分解するエンドリボヌクレアーゼをコードする *mazF* をカウンターセレクションマーカーとして用いた。*S.* 7942 に IPTG 依存的に遺伝子発現量をコントロールできる *spac* プロモーター（*Pspac*）の下流に *mazF* を配置し、これをスペクチノマイシン耐性遺伝子と共に組み込んだ。このフラグメントの上下に組み込みたいニュートラルサイト（NS3）の上流 1 kbp（NS3 us）、下流 1 kbp（NS3 ds）の PCR 産物をリコンビナント PCR につなげた。このフラグメントを *S.* 7942 に形質転換することで部位特異的にカウンターセレクションマーカーを組換えることができる。使用した *mazF* は大腸菌由来で、枯草菌でカウンターセレクションマーカーとして利用された実績があり (1)、*S.* 7942 の形質転換体でも IPTG 添加時に致死性を示すことを確認した。この組換え体を今後の形質転換の親株（*mazF* 株）とした。*mazF* 株をクロラムフェニコール（Cm）耐性遺伝子（*cat*）で形質転換し、Cm と IPTG のそれぞれでセレクションし、組換え効率を評価した。ポジティブセレクション（*cat* をマーカーにした選択）で得られた株のうち、全ての染色体が *cat* に置き換わった（セグリゲーションした）株は 14% であったのに対し、カウンターセレクション（*mazF* をマーカーにした選択）では 92% と高い割合でセグリゲーションした株を得られた。

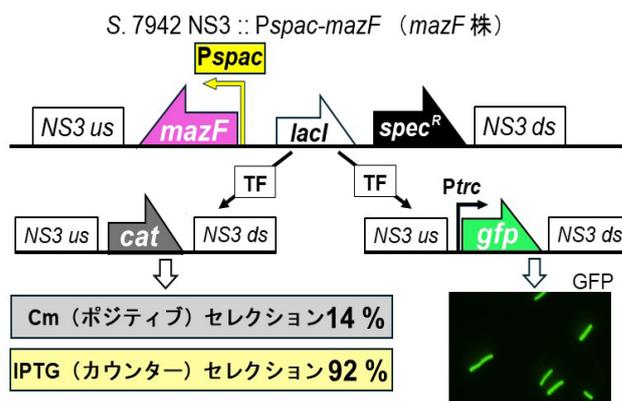


図1 本研究の概要（*MazF* 使用）

また、*mazF* 株に対し、薬剤マーカーを持たない *gfp* 遺伝子だけの DNA 断片で形質転換し、カウンターセレクションを行った。得られたコロニーのうち 64% がセグリゲーションしていることが確認でき、顕微鏡とフローサイトメーターを用いた解析から GFP の蛍光を確認した。これらより、薬剤マーカーを持たない GFP 恒常発現株を作製することができた。

また、異なるカウンターセレクションマーカーとして、*p*-Cl-Phe 存在下で正常なタンパク質合成が行えず致死性を示す *PheS* 変異体を用いた。放線菌において *PheS* に 2 か所のアミノ酸変異を導入することでリバタントの出現を低頻度に抑えられることが分かっている (2)。そこで *S.* 7942 の *pheS* の配列を放線菌 *pheS* と比較し、報告された変異と同一の T259A、A301G 変異を導入した *pheS^{mut2}* を作製し、*S.* 7942 の NS1 に組み込んだ *pheS^{mut2}* 株を作製した。*p*-Cl-Phe 感受性を示したことを確認した後、*cat* で形質転換し、*p*-Cl-Phe を用いたカウンターセレクションを行ったところ一度の薬剤選択にも関わらず、複数あるゲノム全てが組換わった株を 93.8% の頻度で得ることができた。

本研究によりゲノム倍数体である *S.* 7942 にて 2 種類の致死遺伝子をマーカーに利用し、高確率でセグリゲーションした株を得ることができ、また薬剤マーカーフリーの変異体を作製する事に成功した。

最後に、この度はこのような素晴らしい賞をいただき、年会長のかずさ DNA 研究所 田畑哲之所長、組織委員会の先生方、学会員の皆様から感謝申し上げます。また、ご指導をいただきました渡辺智先生、本研究のきっかけとなった池田治生先生にも深く感謝申し上げます。今後ともポスター賞の名に恥じないよう、真摯に研究と向き合っていきます。

引用文献

- 1) Morimoto et al., *Genes Genet Syst.* 2009
- 2) Sota et al., *J Ind Microbiol Biotechnol.* 2019

海洋性バクテリア *Alteromonas macreodii* の 多様な翻訳アレスト因子 辻奈緒子

京都産業大学 大学院 生命科学研究科

この度は、第18回日本ゲノム微生物学会年会ポスター発表賞を受賞することができ、とても嬉しく思っています。京都産業大学千葉研究室から参加した3人も受賞することができました(図1)。研究奨励賞の高田さんと、発表賞をいただいた同期の赤岡くんとは、一緒に挑む最後の学会でしたので、より一層、思い出に残る学会となりました。

私は新規翻訳アレスト因子の探索について発表しました。翻訳アレスト因子はリボソームと直接相互作用することで、翻訳の一時停止を起こします(図2)。多くの翻訳アレスト因子は翻訳アレストを利用して細胞内環境の変化を感知する機能を持っています。例えば枯草菌のMifMは、細胞のタンパク質局在化能をモニタリングしてタンパク質局在装置YidC2の発現量をフィードバック制御します。その他にも、抗生物質や代謝産物の有無を感知して、関連遺伝子の発現量を制御する翻訳アレスト因子が見つっています(1)。多くの翻訳アレスト因子がセンサーとして機能することから、新規の翻訳アレスト因子を見つけることは新規の環境センサーの発見につながる事が期待されます。ところが、最近まで、戦略的に翻訳アレスト因子を探索することは困難でした。翻訳アレスト配列が種特異的で、また、配列的特徴の共通性が見出せていなかったためです。

最近、当研究室では、独自のアプローチを用いて、様々なバクテリア種由来の翻訳アレスト因子を同定しました(2)。その結果、様々なバクテリアから、共通のモチーフを持つアレスト因子が見出されました。私は、その共通配列と同じ配列を持つタンパク質をいくつかのバクテリアから探索し、それらの候補タンパク質が翻訳アレストを起こすかどうかを実験的に検証しました。その結果、放線菌 *Streptomyces lividans* から8つと、海洋性バクテリア *Alteromonas macleodii* から5つの翻訳アレスト因子を新たに見出すことができました。翻訳アレスト活性の検証には、Hybrid PURE system を用いました。Hybrid PURE system は、異種バクテリアからリボソームのみを精製し、それを大腸菌の翻訳因子と組み合わせた *in vitro* の翻訳系です。以前、千葉先生が枯草菌リボソームを用いて構築した系から着想を得ました(3)。この系を用いて解析することで、形質転換手法を介さずに、各生物種のリボソームによる翻訳反応を検証できます。

また、探索で見つかった新規因子のうち海洋性バクテリア *Alteromonas macleodii* の持つ5つの因子が全て、既知の翻訳アレスト因子と共通の特徴(ORFのサイズが150aa程度と短く、C末端付近にアレスト配列を持ち、遺伝子の下流近傍に同方向の遺伝子を持つ)を有することに着目し、大腸菌 *in vivo* での機能解析を行いました。既知の翻訳アレ

スト因子は、翻訳アレストを介して下流遺伝子の発現量を制御します。そこで、新規因子も同様に、翻訳アレスト依存的に下流遺伝子の発現量を制御するかどうかを、レポーター遺伝子を用いた酵素アッセイで検証しました。すると、5つの因子全てにおいて、翻訳アレスト依存的に、下流遺伝子の発現量を2倍以上上昇させる結果が得られました。今回見つかった翻訳アレスト因子の下流に存在する遺伝子の種類はさまざまであったため、翻訳アレストが下流遺伝子の必要な環境を、多様な仕組みで感知するセンサー機能の実体が浮かび上がってきました。そこで、今後はこれらの因子が持っていることが予想される環境センサー機能を明らかにしていきたいと考えています。

最後になりますが、指導教官である千葉志信先生、研究員である高田啓博士(現・富山県立大)と藤原圭吾博士(現・遺伝研)には大変お世話になりました。この場を借りて深く感謝申し上げます。

引用文献

- [1] Ito, K. and Chiba, S. *Annu Rev Biochem.* 82:171-202 (2013)
- [2] Fujiwara, K. et al., *Nat Commun* 15:2711 (2024).
- [3] Chiba, S. et al., *Proc. Natl Acad. Sci. USA.*, 108: 6073–6078 (2011).



図1 左から千葉先生、辻、赤岡くん、高田さん

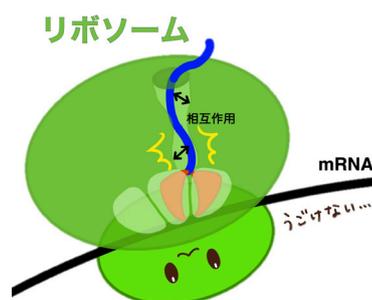


図2 翻訳アレスト因子はリボソーム内部と直接相互作用する

学会員の最新の論文紹介コーナー

Resistome in freshwater bioaerosols and their impact on drinking and recreational water safety: A perspective

Salametu Saibu^a, Ishara Uhanie Perera^b, Satoru Suzuki^c, Xavier Rodo^d, So Fujiyoshi^b and Fumito Maruyama^b

^aDepartment of Microbiology, Lagos State University of Ojo, Lagos, Nigeria

^bSection of Microbial Genomics and Ecology, Planetary Health and Innovation Science center (PHIS), The IDEC institute, Hiroshima University, Japan

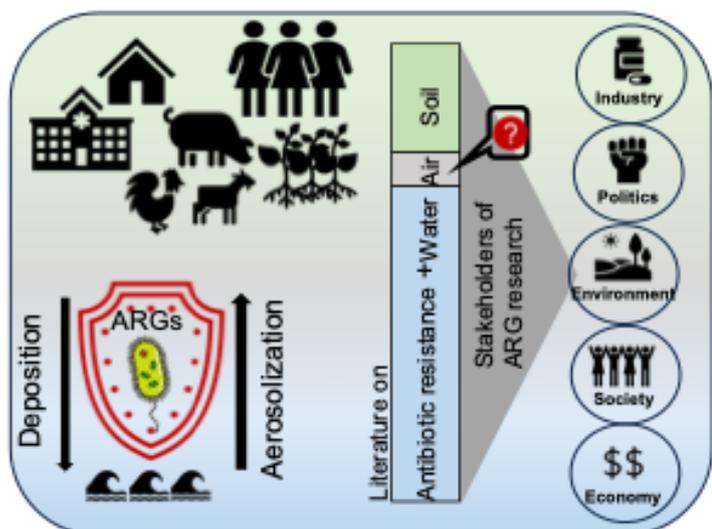
^cGraduate School of Science and Engineering, Ehime University, Japan

^dICREA and CLIMA Program, Barcelona Institute for Global Health- ISGlobal, Barcelona, Spain

Environ Int. 2023 Dec 9;183:108377.

doi: 10.1016/j.envint.2023.108377.

抗生物質耐性遺伝子 (ARGs) は、環境汚染物質として人間の健康に重大な脅威をもたらしている。これらの遺伝子は土壌、水、空気、廃棄物に広く存在し、全球的な拡散経路が過去に研究されてきた。しかし、大気粒子を介した空気輸送に関する研究は限られている。本総説は、過去 30 年に公開されたバイオエアロゾルに関する ARG の研究を、特に気相・液相の相互作用に着目して包括的に探索・取りまとめた。バイオエアロゾル中の ARG を効率的に分離する方法はまだ確立されておらず、従来手法では捕集にバイアスがある。また、淡水環境のバイオエアロゾルに含まれる抗生物質耐性菌に関するサーベランスや、飲料水やレクリエーション活動に使用される淡水源への影響評価は、バイオマスの多い埋立地、廃水処理施設、農場の研究と比べると見過ごされている。水の安全な使用、衛生、公衆衛生の確保、そして現在の水危機の影響を軽減するためには、淡水環境のエアロバイオームに関する更なる研究が必要である。淡水エアロバイオームに存在する抗生物質耐性遺伝子・耐性菌の種類や、飲料水およびその源泉における水質への影響について概説することで、大気微生物群集に関する新たな研究を促進することになればと考えている。



環境中の抗生物質耐性遺伝子 (ARGs) の動態。積み上げ棒グラフは、抗生物質耐性に関する Pubmed (2023 年 5 月現在) 内の文献数を示している: 水 (11,232 件)、空気 (1,212 件)、土壌 (3,893 件)。空気中の ARGs は、全球的に拡散されることからその影響範囲は広いと考えられる。

Clamping-mediated incorporation of single-stranded DNA with concomitant DNA synthesis by Taq polymerase involves nick-translation

Yoshiyuki Ohtsubo, Syoutaro Kawahara, and Yuji Nagata

Department of Molecular and Chemical Life Sciences, Graduate School of Life Sciences, Tohoku University, Japan
Scientific Reports. 2024 Jan 23; 14: 2030

doi: 10.1038/s41598-024-52095-3

Taq polymerase が図 1 に示した反応を触媒するという論文です。反応では、二本鎖 DNA の 3' に突出させた 4 塩基ほどの突出 G 末端に、末端が C の連続である一本鎖 DNA が、合成反応を伴って取り込まれます。

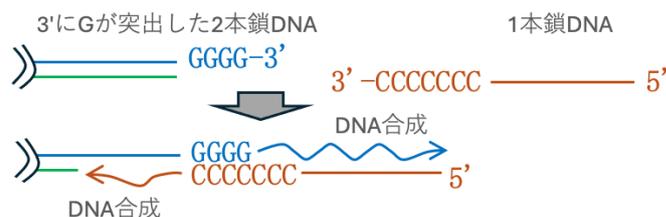


図1 発見した反応

G 突出を作るには、逆転写酵素 (マウス白血病ウイルス由来) が使えます。逆転写酵素は二本鎖 DNA の 3' 端への強い塩基付加活性を持っているのですが (Sci. Rep. 2017;7:41769)、逆転写酵素と二本鎖 DNA と dGTP を Mn^{2+} とデオキシシチジン存在下で反応させると、効率良く G 突出を形成します (Sci. Rep. 2017;7:6520)。図 1 の反応は、二本鎖 DNA の末端に、ユニークな識別タグ + NGS アダプターを連結する上で有用です (図 2)。



図2 この様な 1 本鎖 DNA を取り込ませることができる

この反応を、物理的に断片化した末端に対して効率良く行うには、末端を平滑化する必要があります。従来、物理的に断片化した DNA の末端の 3' は主に水酸基であると考えられてきましたが、これは正しくなく、3' にはリン酸基があったり、未知の構造があるようなので、修復には工夫が必要です (Commun. Biol. 2019;2:409)。合成を伴う一本鎖 DNA の取り込み反応は逆転写酵素も触媒できるのですが (DNA Res. 2018;25:477-487)、産物が異なります (図 3)。



図3 反応産物の違い

これらの解析には、変性ポリアクリルアミドゲル電気泳動の代わりに、キャピラリーシーケンサーを使用し、自作アプリ TraceViewer で解析を行いました。アプリをご利用したい方は、AppStore から入手ください (ブラウザ版を現在、公開準備中です。早く使いたい人いたらご連絡ください。利用例などは [こちら](#) から)。

第18回日本ゲノム微生物学会年会 開催報告

渡辺 智

東京農業大学 生命科学部 バイオサイエンス学科

日本ゲノム微生物学会第18回年会は、前年に開催された第17回年会同様にかずさアカデミアホール（千葉県木更津市）を会場として、2024年3月12日（火）～14日（木）の3日間開催されました。シンポジウム4題、口頭発表27題、ポスター発表67題に加えて、研究奨励賞と若手賞の受賞講演が行われ、その多くがオンラインで同時配信されました。現地参加者は学生59名を含む189名、オンライン参加者は37名でした。

口頭発表、ポスター発表では活発な議論が展開されました。特にポスター会場では展示企業ブースで配布されたコーヒーや菓子をきっかけとして、会員と展示企業の交流がありました。今回は、全体懇親会は行いませんでしたが、セッション終了後は、バスで木更津駅付近に移動した後、小規模な親睦会が多数開催されました。最終日は年会では初めての試みとして、エクスカッションが企画されました。豊かな自然に囲まれた農場クルックフィールズでは、現地スタッフの農場説明の後、ジビエや農場で作られた乳製品を食べながら会員同士の交流が図られました。その後、参加者はかずさDNA研究所およびNITEへ移動し、2つの研究施設を見学しました。シーケンサーや微生物の凍結保存施設を実際に見学することができ良い機会でした。かずさDNA研究所およびNITEにてエクスカッションを担当くださった皆様にはこの場をお借りして御礼いたします。

今回の年会は「原点に戻って、研究を楽しもう」をメインテーマとして開催されました。日本ゲノム微生物学会の原点であるかずさアカデミアホールでの懐かしい顔ぶれとの再会、コロナ禍前の「原点」に戻って今後の研究の新たな方向性の模索など、緑に囲まれた穏やかな環境の中で、参加者それぞれの「原点」そして「研究」を楽しまれたことと思います。

年会の開催にあたっては、組織委員である市川夏子先生、應蓓文先生、得平茂樹先生、大坪 嘉行先生、黒川颯先生、黒川真臣先生、高橋弘喜先生、谷澤靖洋先生、東光一先生、平川英樹先生、前田海成先生、森宙史先生、渡辺智先生に準備作業に全面的にご協力いただきました。心より御礼申し上げます。二日目の総会の最後に、来年（2025年）の年会も今年に引き続いてかずさアカデミアホールで開催されることが承認されました。来年再び皆さんにお会いできることを楽しみにしております。



寄稿

ゲノム微生物学会年会
(2024) への参加と期待

小林 一三

法政大学: 基礎生物学研究所

...と言っても、今回は自分も身内も発表なしで聞いただけと言う気楽な立場でした。昨年は、オンライン配信が無いことに直前に気づいて、車で駆けつけました。今年も、東京西部の自宅から車で向かい、1時間10分がかずさアカデミアパークの会場まで辿りつきました。僕には秋葉原より早い、東京湾を渡る快適な旅です。木更津港そばのホテルからは、ベイブリッジの向こうに東京横浜のビル群、その向こうに富士山が見えます(図1)。思えば、この学会が始まった頃、この会場での1種1ゲノムの時代から、今や1種数千ゲノムの時代になっています。



図1. 木更津のホテルから望む木更津港、ベイブリッジ、東京川崎横浜、富士山。

発表について

いつもの様に、オーラル、ショートトーク、ポスターと言う構成でした (<https://sgmj.nig.ac.jp/>)。感じたのは、伝統的な(僕にはわかりやすい)分子生物学と、最先端インフォのミックスです。

実験では、板谷先生のライフワーク「枯草菌での光合成」は、引き継いで進める方がいらっしゃる様でひと安心です。僕は、発現できないのは翻訳装置どうしの不和合のためでは無いかと推測しています。この学会で過去僕が最も驚いたのは、リボソームRNA 遺伝子を染色体に持たずプラスミドに持つ細菌がいるという発見でした(鞍田先生)。Toxin/anti-toxin 系で見ると、あるいはウイルス感染で見ると、翻訳装置の脆さもこの辺に関係しているかもしれません。研究奨励賞も翻訳の方でした(高田先生)。

アトピー性皮膚炎という複雑な病態を黄色ブドウ球菌のゲノムと結びつける試みも、数百ゲノム数千ゲノムで

なんとか行けそうな気がしてきました(久恒先生)。臨床現場では実用に至らなかった細菌ラマンから、遺伝子発現総体の情報が見られるという発表も驚きでした(若本先生)。

タンパク立体構造予測のアルファフォールドの登場以来、これまでの遺伝子アノテーションがひっくり返って、見えなかった世界が見えてきました。今回も多数の発表がありました。僕もある細菌に新しいフォールドのタンパクを発見したと喜んでいたら、最近 UniProt に「神経系にある特殊なトランスポーター」と予想もつかないアノテーションがついており、その根拠を探したら、一言だけ、"automatic annotation"とありました。モデルを PyMOL でいじってみると、実際そう見えるのが悔しいところです。ChatGPT には、毎日色々用をいいつけていますし、時には遊んでいますが、実は遊ばれる立場になってしまっているのかもしれない。このアノテーションを巡る迷路の中では、岩崎さんのグループの「対偶遺伝子ペア」は面白い試みです。

ショットガンメタゲノムについては、僕の群集生態学への無知によるのでしょうか、これまでそれほど結果に驚きを感じていませんでした。今回驚いたのは、バクテリアの相変異が腸内細菌の違いと関連するというものでした(Kim先生)。病原細菌の相変異と言われたものには、メチロームの違いによるものがわかっています。遺伝学に馴染まず、生態学の方々に相(phase)と言われてきたものが、宝の山かもしれません。よくよくわかっているつもりで単純な環境で、メタエピゲノム(メタメチローム)がディープに読める様になれば、もっと色々驚きが出てくるでしょうか。そういえばこのバクテリアの腸にいる *Serratia* は遺伝子発現で一部の人たちに注目されていました。

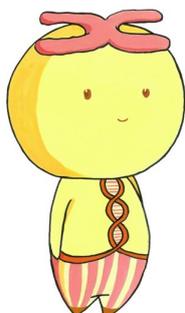
エクスカージョン

なぜか懇親会というものがありませんでした。これは会員の参加費がゼロという事とカップルしているのかもしれませんが、交流の機会を無くしたことになって残念です。どうせ木更津行きのバスを夕方に出して頂けるなら、会場での懇親会をお願い致します(飲みすぎて絡む人はもうあまりいないでしょう)。木更津では連日一桁規模の懇親会でしたが。

最終日の午後は、ツアーでした。まずは、クルックフィールドという近くの農業コミュニティー (<https://kurkkufields.jp/>) です。有機農業と太陽光発電の一つの大きな窪地に、草間弥生さんのオブジェ、ジビエのレ

ストラン、地中図書館もあります。弥生時代にこの列島に来たご先祖たち（とその共生細菌）を思いました。フランスで見学した似た感じの農業コミュニティーでは、「牛糞の匂いにイスラエルのキブツを思い出す」という方がいました。キブツでも、日本の満州開拓村でも、武装という要素がありましたが、ここでは電線の弱い電流だけで済んでいるそうです。「核戦争で東京が壊滅したら、僕を受け入れてくれる」というご返事を頂きました。付近で採れたイノシシのハンバーガーが昼食でした。

次のかずさ DNA 研究所では、平川先生、長谷川先生にご案内を頂きました。分子生物学の最先端数十 bp を解読した高浪先生が、初代理事長（たぶん）でした。マスコットキャラクター（図2）は、どう見ても現理事長の大石先生に似ていますね。最近はいちごなど植物ゲノムで有名ですが、微生物も頑張っているそうです。開業すぐに来た時には、止まるのを防ぐためにコンピュータの後ろに「香取神宮」のお札が貼ってありました。1.5



Copyright (C) 2007 All rights reserved
Kazusa DNA Research Institute

図2. かずさ DNA 研究所のマスコットキャラクター「ダーナ」ちゃん

億円で買った Pacbio の Revio には Izanami という女神の名前がついていました(図3)。順調に動いていて、今や一本数万円で細菌メチロームが読めるそうです。初代の Pacbio マシンが基生研に入った時は、窒素ガス送り込みの振動でよく止まって、カリフォルニアから飛んできてもらっていました。本邦初演の細菌メチロームでした。

そこから徒歩で行ける NITE バイオテクノロジーセン



図3. かずさ DNA 研究所の Pacbio 社製 Revio 機

ターでは、まずは吉本のお笑いコンビ・アインシュタインをよんでの宣伝ビデオを見せられて、金銭感覚の違いに驚きました。9万株の保存施設は圧巻でした。発送ロボットには名前がまだないそうです(図4)。最近 NEDO で始まった CO2 固定細菌プロジェクトについて市川先生にご説明を頂きました。こういう未来への問題は大きな生物を今からいじっても無理でしょうから、微生物の出番になるでしょう。

ゲノム微生物学会への期待

この学会がスタートして以来、生物学の革命を担った分子生物学会の様な役割を期待してきました。そもそも遺伝学は初めから「A とか a とかいう記号をつけられる存在が生命を根本的に規定する」という過激な記号学情報学思想で、その流れに今のゲノム科学もあります。

コロナのパンデミックは、微生物と僕たちとの深い関わりを明らかにしただけでなく、学会と学術集会の制度も大きく変えました。例えば、癌学会など医学系の学会では、現地参加で「オンライン配信」、1ヶ月くらい「オンデマンド配信」が当たり前になっています。これまで自分の専門分野だけしか見聞きできなかったのが、裏番組も全て見られるようになり、会員相互の理解が進んでいます。旅費の都合で参加できるのが一研究室から少数だけだったのが、全員が学会発表を共有できるようになっています。オンデマンド配信の教育講演多数が、その分野の共通知識になっています。これまでより遥かに強く広く研究を統合し推進して拡大しています。



図4. NITE バイオテクノロジーセンターで菌株を発送してくれるロボット。名前はまだ無いそうです。

残念なことに分子生物学会は巨大化した上にかつての野心を失って、諸分野内仲良し会の集合体ようになってしまい、この学会の革命のトレンドにも乗り遅れ、年会の形式でも迷走しています。この間に医学ではマイクロバイオームのブームが続いていますが、微生物研究とほとんど繋がっていません。上にあつたようにバイオテクノロジーの分野でも、微生物利用への関心が社会で高まっています。ゲノム微生物学会が、この需給ギャップを埋めて、生命科学の最先端を担うことを期待しています。特に、臨床医を含めて医学関係へのアピール、企業を含めてバイオテクノロジー関係へのアピールが大事でしょう。

ゲノムなどのインフォマティクスの方々が牽引役になって。内容としては、学術発表に加えて、ゲノムインフォマティクス関係の講習も有効だろうと思います。オンハンドは大変ですが、遺伝研基礎生物学研での講習は評価が高いので、そのビデオでも使わせて貰えば良いでしょう。ライフサイエンス統合データベースセンターの出し物も。現在の参加者の3倍くらいが適当なサイズではないでしょうか。

研究力低迷問題

会期中に大坪嘉行「日本の研究力低迷問題の原因と解決方法」を頂きました(図5; お願いして、著者のサインも)。2024年3月28日現在、amazonでe-book版がただで手に入ります。生命科学を牽引するこの学会として重要な問題で、学術集会などの機会でも議論が深まり対策が打たれることを期待しています。

そこへの補足です。主な相手は、森永卓郎の言う「ザイム真理教」、つまり緊縮財政の考え方です。国家財政110

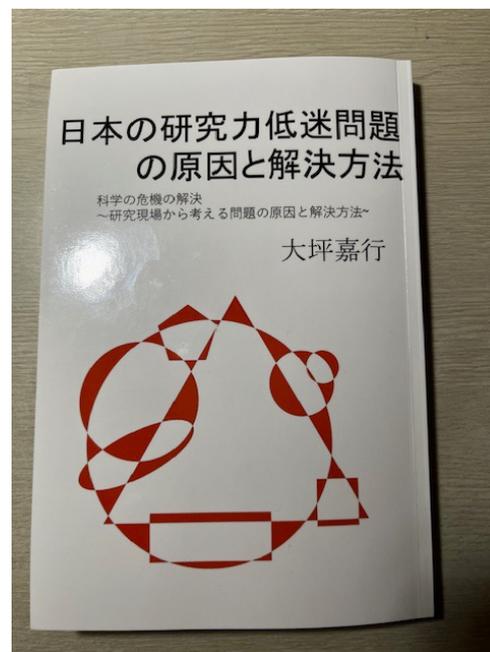


図5. 会場で配られていました。著者にサインを頂きました。

兆円に対して、コロナパンデミックの80兆円の支出で、国民経済は破綻しませんでした。科学技術への出費は年に20兆円です。これをとりあえず倍にしましょう。その程度、日本国が借金をしても、日本国家財政が破綻することはありません。借金をして科学技術に投資して国民経済が成長すれば良いだけの話です。「選択と集中」でなく、基盤的科研費と大学院生支援と期限なしポジション作りで。

今の経済学は分子生物学以前の生物学のような段階です。「一杯目ほど二杯目はありがたくない。モノの価値は、作った費用で決まるのではなく、心理的なもの。」という発見から1世紀半も、間違ったモデルが支配的でした。今やっと人間行動研究(=心理学)と経済現象が結びつこうという段階です。

スペースがあるので関連情報を...

小林先生、拙著をご紹介いただきありがとうございます。ご紹介に感謝して、拙著の電子版の**無料キャンペーンを令和6年6月24日16時より5日間実施**いたします。この際、お見逃しないう、また、ご同僚、ご友人、先輩、後輩などにお勧めいただけますようお願いいたします。行政は「願望や陳情を並べたウィッシュリスト」を元に、状況を改善しようとしているように見えます。本書は、研究現場で研究力が落ちるメカニズムを分析し、それに基づいて解決方法を提案している点で、ユニークな本であると思います。問題発生メカニズムへの理解が社会的に進めば、問題がちゃんと解決できるようになるはず、というのが著者の願いです。

また近日(7月1日)、研究力向上と並んで重要な「教育力向上」を目指して「大学で学べる科学的素養」を上梓予定です([こちらからどうぞ](#))。こちらは、「権威を判断基準に持ち込まない」(偉い先生が正しいと言っていたから正しい、というような権威に基づいた判断をしない)といった科学的素養とでも呼ぶべきものを、7項目に整理し、明文化したものです。科学的素養は様々な能力の基盤であり、人材の生産性を高めます。大学・大学院での教育にぜひとも取り入れるべきです。本書では科学的素養の修得状況を学位審査項目に含めることなど、教育力を向上させるためのさまざまな提案をしています。ご所属の大学で議論を起しやすいう、**提案書の雛形**付きです。本書の序章を先行公開中です([こちら](#))。関連情報はX(ツイッター)などで発信しますので、X(旧ツイッター)の **GenomeMatcher アカウントのフォロー**をお願いいたします。宣伝用のチラシは[こちら](#)から(周知していただけるとありがたいです)。

それと、**出席確認システム「QR出席くん」**を公開しています(無料)。授業中に教員がQRコードを掲示し、学生がスマホで読み取って出席+授業コメントを登録する仕組みです。自動集計されますので集計の手間がありません。複数教員による授業にも対応しています。研究時間の捻出にぜひご活用ください。(大坪嘉行)



実験レシピ紹介コーナー

「フリーザー遠隔監視・警報システムを作ってみませんか？」

金丸 周司

東京工業大学 生命理工学院

皆さんは「老朽化した超低温冷凍庫が心配である」「長期休暇中に温度上昇に気付かなかつたらどうしよう」と不安になったことはありませんか？筆者はコロナ禍在宅勤務中に古くなった超低温冷凍庫が心配になり、温度遠隔監視システムを探しました。多くのメーカーが販売しておりましたが¹、冷凍庫の温度監視に数万円～十数万円出すのは躊躇われました。

一方で、最近では「IoT (Internet of Things, モノのインターネット)」と呼ばれる技術で家中の家電がネットにつながり外出先でスマホからエアコンを操作したり、ペットを見守ったり出来るようになり、その技術基盤やインフラも整備され安価で容易にIoT機器を自作できるようになってきております。

今回紹介するのは図1に示すように、冷凍庫内の温度をK型熱電対で計測、その信号をアンプモジュールで増幅し、Espressif Systems社の開発した無線機能を持ったマイコンESP32を内蔵したM5Stack社のAtom Lite²というユニットを使って、ThingSpeakというIoTサーバー³にWiFi経由で温度データを送信します。送信されたデータはThingSpeakサーバー内に蓄積され、PCやスマホで随時確認できるだけでなく、Thingspeak内

で設定した閾値を超えた場合や毎日定時にLINEに連絡が送れるシステムの構築です。参考までに表1には、本システムに必要な部品リストと標準価格を示しましたが、約¥6,500で作成可能です。

部品がそろったら、いざ製作です。製作手順の詳細はelchikaという電子工作の作品例紹介ウェブサイト(<https://elchika.com/article/a0ad358e-fc2c-45ee-9cb6-a4efa364ae3a/>)に記載しておりますが、大まかに部品のアセンブル、マイコンへのファームウェア(制御プログラム)の書込み、IoTサーバーの設定となります。

【アセンブル】熱電対とMAX31855アンプモジュールとATOMICプロトキットの基板を繋ぎます。リード線5本(合計10ヶ所)はんだ付けしますが、トランジスタ

部品名	購入先例(6,7)	参考価格
K型熱電対	秋月電子通商	¥400
アンプモジュール(MAX31855)	秋月電子通商	¥3,450
ATOM Lite(またはAtomS3 Lite)	スイッチサイエンス	¥1,573
ATOMICプロトキット	スイッチサイエンス	¥605
モバイル充電器	ダイソー	¥330
USBケーブル	ダイソー	¥110
合計		¥6,468

表1 部品リスト

(注) 別途はんだ・はんだごて等工具が必要です



図1 フリーザー温度監視システムの概略図

や抵抗のような電子部品ではありませんので、中学時代の技術の授業を思い出して短絡に気を付ければ難しくありません。

【プログラム書込】 Atom Lite の ESP32 マイコンは MicroPython (Python 言語), Arduino IDE⁴ (C/C++ 風言語), UI-Flow (Scratch 風 GUI 言語) などの開発環境がありますが、今回は Arduino IDE を用いています。Arduino IDE はもともと Arduino という初心者向けのマイコンボード用のプログラム製作・コンパイル・転送のためのオープンソース統合開発環境ソフトウェアですが、ライブラリが豊富で Arduino 公式のボード以外にも対応しているため、ネット上に非常に多くの作品例 (プログラム例) が紹介されており、使い勝手の良い開発環境です (Windows, macOS, Linux 版があります)。今回はすでに上記サイトに筆者の書いたプログラムがありますので、一部 (WiFi の設定と IoT サーバーの設定部分) を書き換えてマイコンと PC を USB ケーブルで繋ぎ書き込むだけで OK です。

【IoT サーバーの設定】 ThingSpeak は MATLAB や SIMLINK の製品を提供している MathWorks 社の IoT データ収集・解析サービスで、4 デバイス、年間 300 万データまでなら無料で利用できます。利用には MathWorks のアカウント登録が必要ですが、研究で MATLAB を利用するためにすでに取得済みでしたら、そのアカウントを利用できます。ThingSpeak 内には幾つかのアプリが使える、今回

は其中で「TimeControl」「React」「ThingHTTP」を組み合わせて、LINE に通知するための設定を行います。

【LINE Notify の設定】 LINE Notify⁵ は Web サービスからの通知を LINE で受け取る仕組みです。具体的には ThingSpeak で設定した HTTP API で POST した情報を LINE Notify で GET し、LINE の個人アカウント (またはグループ) に通知します。

以上で簡単ではありますが、自作のフリーザー遠隔監視・警報システムを紹介いたしました。筆者の超低温冷凍庫の温度モニタリング状況は (<https://thingspeak.com/channels/1030845>) で公開しています。機器を自作すると故障しても自分で修理できる、欲しい機能を追加できる、何よりも愛着がわくという利点があります。皆さんも、ペットマンをはんだごてに持ち替え安価なマイコンを使って、研究に便利な自作装置を作ってみませんか？

<参考 URL >

1. オシカンナビ, <https://www.oshikan-navi.com/>
2. Atom Lite, <https://shop.m5stack.com/products/atom-lite-esp32-development-kit>
3. ThingSpeak, <https://thingspeak.com/>
4. Arduino IDE, <https://www.arduino.cc/en/software>
5. LINE Notify, <https://notify-bot.line.me/ja/>
6. 秋月電子通商, <https://akizukidenshi.com/>
7. スイッチサイエンス, <https://www.switch-science.com/>

第 19 回日本ゲノム微生物学会年会 開催案内

柿澤 茂行

産業技術総合研究所

日本ゲノム微生物学会 第 19 回年会を、昨年同様、かずさアカデミアホール (千葉県木更津市) にて開催します。日程は、2025 年 3 月 17 日 (月) ~ 19 日 (水) です。大学入試や農芸化学会などと重ならない日程としました。

シンポジウム、口頭発表、ショートトーク付きポスター発表等を検討しています。また懇親会を企画中で、さらに、ポスター会場に飲み物 (アルコール類を含む) と軽食を出せないかと検討しており、参加者の皆様の「交流の場」を増やしたいと考えています。昨年同様、会員の参加費をゼロ円とし、木更津駅からの往復バス代もできればゼロ円にすべく検討中です。どこまで実現できるか不透明ですが、運営委員の皆様と共に誠意検討中です。

年会のウェブサイトを開示しました (<https://sgmj.nig.ac.jp/>)。順次情報を更新していく予定です。

日本ゲノム微生物学会は、ゲノムと微生物をキーワードとした多彩な研究者が一堂に集まった、とてもアクティブな学会と思います。年会は、「参加してよかった」と皆様に感じてもらえる会にすべく、運営委員で知恵を絞って計画しています。「ここに来れば、おもしろい研究に出会え、新しい知識や知見が得られ、誰とでも分け隔てなく話ができて、自分の研究へのフィードバックが得られ、多くの意識を共有でき、研究がもっと楽しくなり、やる気が沸く」と思える自由な交流の場としたい、という理想を描いています。もし何かアイデアやアドバイス等がありましたら、お気軽に運営委員に声をかけてください。

2025 年の春も、かずさアカデミアホールでお目にかかりましょう！多くの皆様に、参加や発表をご検討いただけますとありがたいです。皆様にお会いできることを楽しみにしています。



前回の年会の様子 (第 18 回、2024 年 3 月)

閑話休題 -その18-

春の野を彩る花々

神戸に住むようになって40年になりますが、今年初めて須磨海岸に数種の海浜植物が自生していることを知りました。またそれとは別に、港町であるせいかどうかはわかりませんが、神戸ではいろいろな外来植物に出会います。ここに掲載したもののうち、2番目のハマエンドウ以外は定着の時期は大きく異なるものの、すべて外来植物です。(磯野克己)



ロウバイ (ロウバイ科) : *Chimonanthus praecox* Link var. *praecox*, 2024.2.4 神戸市



ハマエンドウ (マメ科) : *Lathyrus japonicus* Willd., 2024.4.10 神戸市・須磨海岸



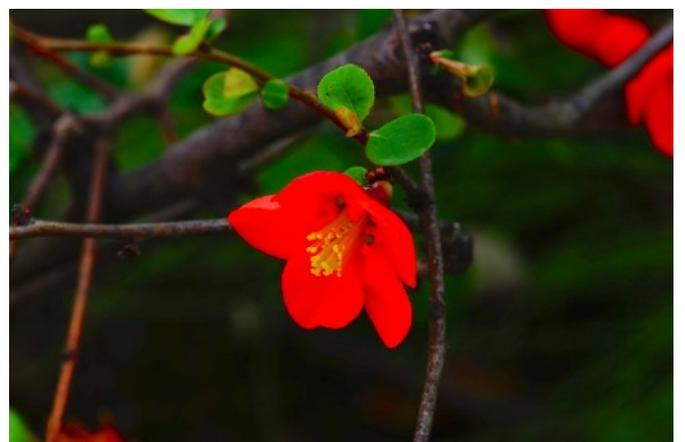
【左】ヒメヒレアザミ (キク科) : *Carduus pycnocephalus* L., 2024.4.22 神戸市・須磨海岸



【右】ヒナキキョウソウ (キキョウ科) : *Triodanis biflora* Greene, 2023.5.3 神戸市



オオキバナカタバミ (カタバミ科) : *Oxalis pes-caprae* L., 2024.3.30 神戸市



ボケ (バラ科) : *Chaenomeles speciosa* Nakai, 2024.3.30 神戸市

投稿要領

【掲載費】

・本ニュースレター誌への掲載費は無料です。

【投稿方法】

・会員の方は、編集委員宛に電子メールにて投稿をお願いいたします。

【原稿依頼】

・編集委員は、会員に対して原稿の投稿を依頼することがあります。

【原稿の扱い】

・原稿は、ゲノム微生物学研究分野で十分な研究歴を有する編集委員によって、掲載可否が判断されます。

・掲載可否の判断において、著者にコメントあるいは質問がなされることがあります。

・原稿は、編集委員によって字句修正が施された後、著者による確認が行われます。

【原稿の形式など】

・原稿は、レイアウト調整をしない形式で投稿してください。つまり、パラグラフの先頭にスペースを入れたり、パラグラフ間に改行を入れたり、図表やキャプションをワードファイルの本文に入れ込んだり、空白文字を使ってレイアウトを整えたり、タイトルを中央揃えしたり、しないでください。レイアウトを開始するに当たって、著者が行ったレイアウトを一つ一つ全部解除しなくてはならず、かなりの作業になります。

・図表の作成においては、ハーフカラムサイズか、ダブルカラムサイズか、意識していただけると助かります。

・原稿の分量については、過去の記事を参考にしてください。

【実験レシピ紹介コーナー】

会員の皆様からの寄稿を受け付けています。特に新規性などは問いませんので、便利な技術やノウハウなどを願います。

編集後記

みなさま、長らくお待たせいたしました。すっかりページ数が増え、全部で28ページとなったニュースレター29号をお届けいたします。

さて、日本の研究力低迷が言われていますが、一体何が原因でしょうか？そして研究力低迷から抜け出す上で学会としてできることがあるとしたらなんでしょうか？もし仮にゲノム微生物学会が何か研究力を向上させる活動を始めたとして、そのときに気をつけるべきことは何でしょうか？

個人的に思うのは、何が問題であるか原因を分析するフェーズと、実際の解決方法を考えるフェーズを分けて行うことが重要だということです。我々研究者は、実験が失敗したら考えられる原因を洗いざらい出して、それらしい原因に辿り着き、その原因が取り除かれるようにして次の

実験をすると思います。つまり、原因を考えるフェーズと、次に何かを実行するフェーズを明確に分離しています。

ひるがえって、研究力低迷問題のような問題を解決しようとして皆が集まって議論するとどうなるのでしょうか？ここでは議論参加者の頭に利害がよぎるからでしょうか、原因を深く議論・考察することよりも、どのような対策を行政に要望するか議論されることになってしまうようです（つまり、原因を考えるフェーズがおろそか）。議論の結果生まれるのが、原因に対する洞察ではなく、願望・陳情リストであるような会合を、これまで多くみてきたと思います（ウィッシュリスト会合と呼んではどうでしょうか？）。

まずは、問題を徹底的に分析するフェーズと解決策を考えるフェーズを明瞭に分けることで、各人の利害を脇に置き、原因を洗い出すフェーズに注力すること。これが研究をしてきた我々に適した、良い解決策の提案に至る道だろうと思います。

過日のJSTシンポジウムの主題は「今、我々はどうすべきか」でした。まずは、原因分析が不十分なままに、どうすべきかを考えることの危うさを共有することが、我々が今すべきことと思います。

もし身近なところで、「研究力低迷問題をどうするか？」という問いに出会ったら、「原因を分析するフェーズと解決策を考えるフェーズを明確に2つに分ける」ことを思い出していただければと思います。

さてはて、行政への要望案を作る会ではなく、上記のような原因分析が不十分である問題を含め、「日本の研究力のあり方を総合的に理解することを目的とする会」つまりは研究力研究会のようなものがあったとしても良いのではないかと思っています。

さらには教育力研究会も（大坪嘉行）。

学会の動向

2024年度日本ゲノム微生物学会役員

会長：大島 拓

庶務幹事：渡辺 智

会計幹事：尾崎 省吾

集会幹事：柿澤 茂行、石川 周、布浦 拓郎、森 宙史

広報幹事：宮腰 昌利、森 宙史

ニュースレター幹事：

佐藤 勉、相馬 亜希子、大坪 嘉行、佐々木 裕子、広瀬 侑、藤吉 奏

男女共同参画幹事：相馬 亜希子、森田 鉄兵

評議員（会長推薦を含む）：朝井 計、市川 夏子、岩崎 涉、梅谷 実樹、大西 康夫、小椋 義俊、黒川 顕、河野 暢明、塩見 大輔、末次 正幸、永田 裕二、成川 礼、野尻 秀昭、本郷 裕一、松尾 芳隆、水口 千穂、吉田 健一

会計監査：阿部 貴志、馬場 知哉

会員の動向

一般会員 323 名、学生会員 144 名、名誉会員 3 名

賛助会員 8 名、機関会員 1 名（計 479 名）