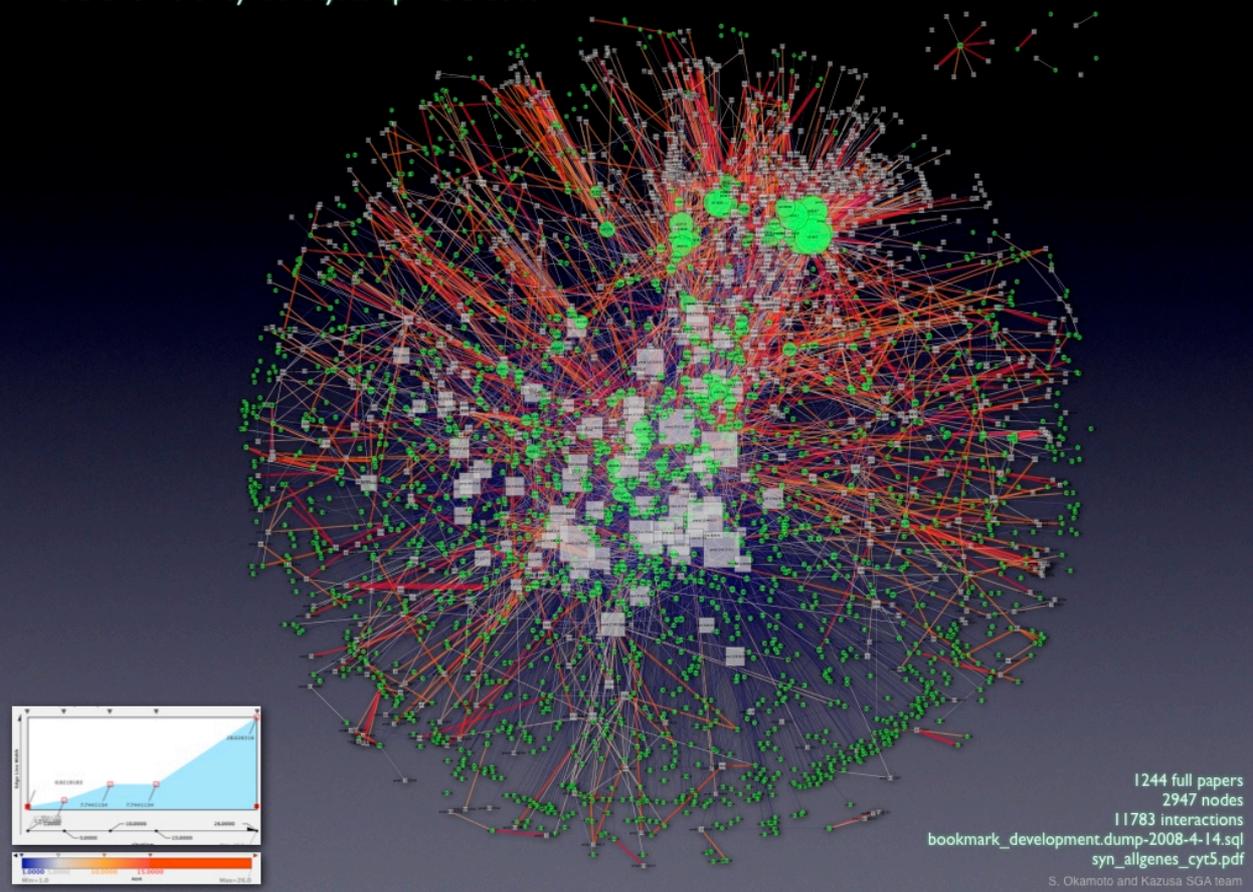


日本ゲノム微生物学会 ニュースレター

文献情報の収集とその利用

The Bibliome of *Synechocystis* sp. PCC 6803



近年、個々の遺伝子やタンパク質の解析から生命システムの包括的な理解へとシフトしてきた結果、生物学では各種の膨大な量のデータが取り扱われ、生物学者は必ずしも自分の専門ではない分野のデータを効率よく取捨選択して利用しなければならない状況になっている。その意味で、公共のデータベースで公開され、ていねいにアノテーションの付けられたゲノム情報は研究の基盤であり、専門外の分野の情報への適切な道標となるであろう。

われわれは、光合成細菌、マメ科植物根粒菌、マメ科植物に関連する約5,600報の論文の全文から手動で遺伝子情報の抽出を試み、Gene Indexing (GI) と名付けたゲノム情報アノテーションを行なっている。GIは、論文全文中に記述された遺伝子名やタンパク質名の記述箇所をセクション単位で抽出し、ゲノム上の遺伝子と関連づけるアノテーションであり、いわば文献の遺伝子索引を作成する作業であって、今後より高度な利用が期待される。

岡本 忍 (かずさDNA研究所) 【図は、シアノバクテリア *Synechocystis* sp. PCC 6803に関する1,200報あまりの論文と、報告された遺伝子をGIによって関連付けたネットワーク】

奨励賞受賞研究-その1

光合成微生物における
環境変化に応じた転写
制御に関する研究今村 壮輔 (中央大学・理
工学部・生命科学科)

私は、学生時代より転写装置や転写因子の機能解析を中心とした「転写制御」についての研究を一貫して行っています。実験材料としては、シアノバクテリア・単細胞紅藻・単細胞緑藻と様々ですが、それらは「光合成微生物」という共通点をもっています。

学生時代は、シアノバクテリアを用いて、RNAポリメラーゼのシグマ (σ) 因子の機能解析を行いました。学位取得後は、植物の核内転写調節に興味を持ち、研究を開始したのですが、そこには前述の σ 因子が大きく関係しています。植物の葉緑体は、原始真核細胞に共生したシアノバクテリアが起源と考えられているオルガネラです。そのシアノバクテリア由来遺伝子の多くは、進化の過程で核ゲノムに移行しており、 σ 因子遺伝子も核にコードされ、転写・翻訳のステップを経て、タンパク質として葉緑体に送り込まれます。この機構を考えた時、植物の σ 因子の機能を理解するには、まず核内における σ 因子遺伝子の発現調節を明らかにすることが重要と考えました。このようにして、植物の核内における転写制御について興味を持つに至ったのですが、文献を調べれば調べる程、植物の核内転写調節機構についての研究が、酵母や哺乳類の培養細胞を用いた研究に大きく水をあけられていることに愕然としました。

そんな折出会った植物が、単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* (通称シゾン) です。植物を理解する策として、シロイヌナズナなどモデル高等植物を用いるアプローチがありますが、何故シゾンなのか？その一番大きな理由は、その“単純さ”にあります。高等植物の遺伝子の機能解析をする上で障害になることのひとつが、「高い遺伝子の重複性」ですが、一方、シゾンの遺伝子の重複性は非常に低いことが明らかになっています [Matsuzaki et al., Nature (2004)] (表1)。しかしながら、言うまでもなく、単細胞であるシゾンも立派な植物であり、その根本的な振る舞いは、高等植物と変わりはありません。

したがって、植物一般に通じる新しい「基本原理」を、シゾンから解明出来るのではないかと考えたのです。

では、酵母や哺乳類を用いた研究では決して真似が出来ない、ユニークな知見を“植物”から発信するにはどうしたらいいのでしょうか？その答えとなるひとつの研究テーマの戦略は、実にシンプルなアイデアから生まれました。それは、『植物特異的に保存された転写因子の解析』です。シゾンゲノム配列情報より、1個の基本転写因子が該当しますが、それが、植物に特異的に見出されるTFIIBのホモログpBrpです。TFIIBは、RNAポリメラーゼII (Pol II) に必須な基本転写因子であり、Pol IIのプロモーターへの誘導など、非常に重要な機能を発揮します。真核生物には、TFIIBのパラログであるBRFが存在し、Pol IIIの基本転写因子として機能しています。

当初は、pBrpはTFIIB同様に、Pol II に対して機能する基本転写因子であることを実験仮説としました。その理由は以下2つの事実：(i) Pol II プロモーターへの特異的な結合が試験管内実験で観察されていたこと、ならびに、(ii) 「Pol Iに対応するTFIIB型の基本転写因子は真核生物には存在しない」という教科書的な常識、に因ります。しかし、解析結果はその常識を覆すものであり、pBrp は、rRNA 合成に欠かすことの出来ないPol I の基本転写因子であることを突き止めました。更に、シロイヌナズナにおいても同様の実験を行い、pBrp が植物一般にrRNA合成に関わると結論づけました。つまり、今まで存在しないと考えられていた、Pol I に対して機能する TFIIB 型の基本転写因子が植物には存在していたのです [Imamura et al., EMBO J

表1. シゾン、シロイヌナズナ、出芽酵母における核内で機能する転写調節因子の比較

Type	<i>C. merolae</i> (16.5 Mb)	<i>A. thaliana</i> (115.4 Mb)	<i>S. cerevisiae</i> (12.5 Mb)
MYB	17	258	10
Zinc finger	27	322	118
bZIP	2	81	21
bHLH	0	139	8
CCAAT	4	36	5
MADS	1	82	4
Homeobox	6	89	9
E2F	2	8	0
Others	28	800	22
Total	87 (5.2 /Mb)	1600 (13.9 /Mb)	197 (15.8 /Mb)

シゾンの転写因子数は他の真核生物に比べて極端に少なく、機能の低重複性や単純な転写調節系が想定される。

(2008)]. また、シゾンを用いた研究により、植物で長らく不明であった、窒素同化を制御するMYB型転写因子CmMYB1を初めて同定することにも成功しました。他の植物においても同様に、MYB型転写因子の関与が示唆されています [Imamura et al., PNAS (2009)].

上述したシゾンを用いた解析では、まず今までの知見・概念を元にして仮説をたてましたが、それが裏目に出ました (CmMYB1については論文を参照して下さい)。勿論、過去の研究の積み重ねから次段階の発見に繋げるのが基本的な方法論かも知れませんが、画一的な考え方に縛られずに、常に違う角度からの客観的視点を持つことの重要性を再認識させられました。

今後の研究においても、今までの経験を生かし、植物一般に通ずる基本原理や新しい概念を“微生物”から明らかにして行きたいと考えています。

奨励賞受賞研究-その2

オルガネラ化する昆虫 共生細菌たち

中鉢 淳 (独立行政法人
理化学研究所・基幹研究
所・宮城島独立主幹研究
ユニット)



「たったの160kb!？」半翅目昆虫キジラミの共生細菌、*Carsonella ruddii* (図、 γ -Proteobacteria、以下「カルソネラ」と略) の全ゲノム塩基配列が決定された際、私を含め、解析計画に携わったメンバー全員が驚きました。それは常識はずれの小ささだったからです。カルソネラのゲノムを解析対象とした動機のひとつに、そのサイズの大幅な縮小を示唆する予備データの存在があったわけですが、当事者の誰もが「ここまで」とは想像していなかったのです。

昆虫のなかには、「菌細胞 (bacteriocyte)」とよばれる特殊な細胞をもち、この細胞質中に共生細菌を収納している例があります。これら共生細菌は、数千万年から数億年前にそれぞれの昆虫グループの祖先種で独立に獲得され、垂直感染のみにより受け継がれており、菌細胞の外で増殖することはできません。一方で宿主昆虫は、餌に不足している栄養分の供給などをこれら共生細菌に依存しており、共生細菌なしでは繁殖できません。

こうした菌細胞内共生細菌は、自由生活性細菌と比べて小型のゲノムを持つことが知られていました。後者のゲノムは多くの場合、2~6Mb程度の大きさで、数千の遺伝子を持ちますが、前者のゲノムはいずれも1Mb以下のサイズしかなく、遺伝子も数百しかコードしていません。このゲノムの縮小化は、菌細胞内共生細菌ばかりでなく、宿主細胞に高度に依存する共生、寄生細菌で共通して見られる現象です。しかし、さまざまな系統の真正細菌、古細菌のゲノム解析が進んだにもかかわらず、いずれも400~500kb程度が最小値であり、生物のゲノムはこれ以上小さくすることができないと考えられていました。ミトコンドリアや葉緑体といった、細胞内共生細菌に由来するオルガネラのゲノムはこれよりもさらに縮小しているのですが、それはあくまでもオルガネラの進化過程のみで起きた例外的な事象であり、オルガネラと細菌の間には乗り越えがたい壁が存在すると信じられていたのです。この常識を覆し、両者の間の壁を取り払ったのが、冒頭で述べたカルソネラだったというわけです。

160kbという数字は、カルソネラと近縁な細菌である大腸菌のゲノム (4.6Mb) の30分の1、それまで生物界最小ゲノムと考えられてきた他の共生細菌ゲノム (450kb) の1/3であり、葉緑体のゲノム (120 kb~220kb) と同程度のサイズです。ゲノム上には遺伝子が200個程度しかなく、細胞膜の合成、細胞分裂、核酸代謝、脂質代謝といった重要なプロ

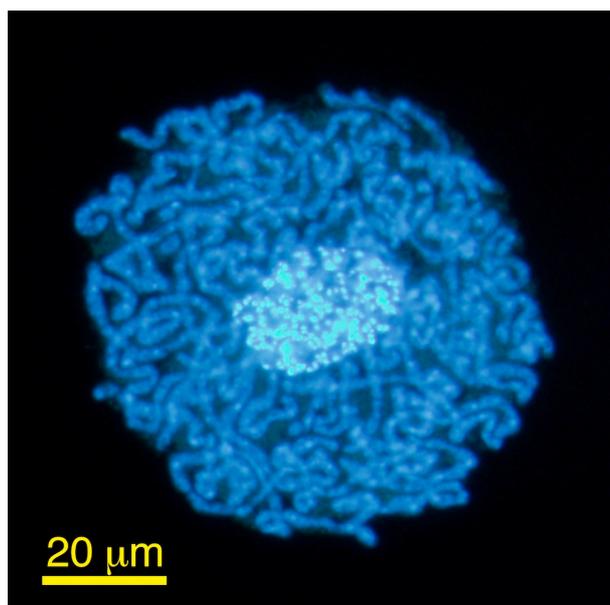


写真 キジラミより取り出した「菌細胞」

DAPI染色像。中央は宿主菌細胞の核で、その周りの細胞質を埋め尽くしているひも状の細胞がカルソネラ。

セスに関わる遺伝子群が存在しないなど、生命維持に必須と思われる遺伝子の多くが欠落していました。そこで想起されるのが、オルガネラの進化過程で起きたのと同様の、宿主核ゲノムへの遺伝子水平転移の可能性です。

この水平転移については、キジラミとは別の半翅目昆虫、アブラムシの系ですすでに詳しく調べる機会に恵まれました。私は大学院生時代、東京大学の石川統先生に薫陶を受け、その後長らくアブラムシとその菌細胞内共生細菌*Buchnera aphidicola* (γ -Proteobacteria、以下「ブフネラ」と略)との関係について研究を重ねてきたのですが、数年前からはエンドウヒゲナガアブラムシ*Acyrtosiphon pisum*のゲノム解析にも携わり、最近になってドラフト配列を得ることができたのです。これを用いて細菌由来DNA配列のスクリーニングを行ったところ、1)ブフネラからのDNAの水平転移は確かに起こったこと、2)ただしそれらは遺伝子として機能していないこと、3)ブフネラ以外の共生細菌(現生のアブラムシには存在しない)から機能遺伝子の水平転移が起こり、それらがブフネラを収納する菌細胞で特異的に高発現していること、などが明らかになりました。エンドウヒゲナガアブラムシに共生するブフネラのゲノムサイズは約640kb、遺伝子数は600程度で、カルソネラほど極端に遺伝子を失っているわけでは

ありませんから、ブフネラから宿主ゲノムへの機能遺伝子の転移が起きていなくても不思議ではありません。むしろ第3者からアブラムシゲノムに転移した遺伝子がブフネラの生存に深く関与しているらしいことが興味深いのですが、一方で、体細胞である菌細胞に隔離された共生細菌からも宿主生殖系列へのDNA転移が起こりうることを示されたわけで、オルガネラ並みの極小ゲノムを持つカルソネラの系での、機能遺伝子の水平転移に対する期待が膨らみます。

今後も研究を継続する機会を得られれば、キジラミやアブラムシの系に加え、すでに予備的な研究を進めているさまざまな共生系について広く研究を展開し、多細胞真核生物である動物と細菌という、系統的にかけ離れた複数の生物が融合する過程について考察を深めていきたいと考えています。

最後になりましたが、日本ゲノム微生物学会の関係者の皆様、賞の選考に際して貴重なお時間をいただきました選考委員の先生方に厚く御礼申し上げます。また今回の受賞は、服部正平先生をはじめとする諸先生方、共同研究者の皆様のご指導、ご支援の賜物です。心より感謝申し上げますとともに、私を共生系の研究に導いて下さりながら、5年前に若くして他界された石川統先生に、この賞を捧げたいと思います。

大学院生として学会に参加して

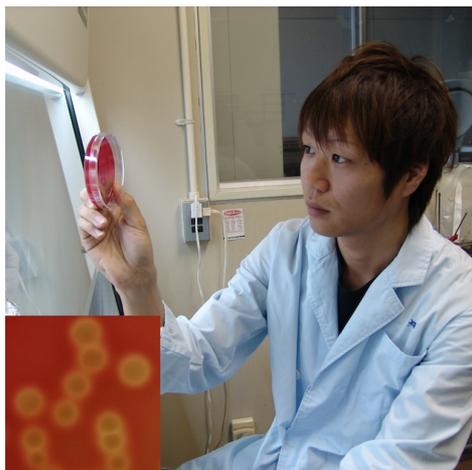
大学院で学ぶ研究者としての第一歩

村瀬 一典

(宮崎大学大学院医学系研究科・博士課程3年)

私は学部時代を看護学科で過ごしたため、微生物についてそれほど深く学ぶ機会はありませんでした。しかし、少ない講義の中で垣間見た複雑かつ巧妙にできている微生物の世界はとても興味深く感じました。そのため、微生物についてもっと深く学び、できればその研究に携わりたいと考え、医学部の修士課程へ進学しました。そして、修士課程修了後も、さらに高いレベルで継続して研究を行うために博士課程へ進み、今に至っています。

大学院に入ってしばらくの間は、研究に必要な実験方法やその技能の習得に追われ、実験の合間をぬっては基本的な知識をひたすら勉強する日々が続きました。また、ひとつの実験が終わると、そこから得られた結果をもとに、次の方向性を示してもらいながら、次の実験に取り組むことの繰り返しで、目の前の作業をこなすだけで精一杯の毎日でした。しかし、ある時、実験に用いていた大腸菌株が特殊な血液寒天培地上で溶血活性を示すことに気がつき、解析の結果、この溶血活性がヘモリジンE (HlyE) によるものであることを明らかにすることができました。HlyEをコードする遺伝子は、ほとんどの大腸菌に存在することが知られています。しかし、その溶血活性の検出は困難とされており、H-NS等の欠失変異株でのみ



日頃の研究室での実験風景

左下の写真は、野生型の大腸菌株が特殊な血液寒天培地上でHlyE由来の溶血活性（コロニー周辺の不透明な溶血環）を示している様子。

観察されていたもので、野生株におけるHlyE由来の溶血活性の検出は初めてのものでした。

こうして徐々に研究結果が出始めてくると、これまで漠然としか見えていなかった自分の研究テーマが、パズルのピースが1つ1つ揃い始めるように、次第に1つのストーリーを形作っていききました。また、少しずつ効率的に実験が行えるようになってくると、徐々に時間的な余裕も生まれ、得られた結果の解釈や、次に何をすべきか、そのためにはどんな情報が必要か、他にどのような可能性が考えられるか等、自分自身で研究を色々な側面から考える事ができるようになりました。一方で、ゲノム微生物学会をはじめとする学会への参加を通して、自身が対象とする病原細菌だけでなく、様々な微生物のゲノム情報や最新の研究動向を学んだり、他の研究室の大学院生と話す機会が得られることも良い刺激になっています。また、昨年初めて参加した国際学会で、様々な国の研究者と交流できたことは、大学院生の私にとって貴重な経験であり、これからの研究生活への大きな励みになりました。

今後は、これらの経験をふまえて、個々の遺伝子や現象の解析にとどまらず、より幅広い視点で微生物の生命現象や環境との相互作用による進化のプロセスとその多様性を捉えるために、ゲノム科学的手法を取り入れた研究に挑戦したいと考えています。

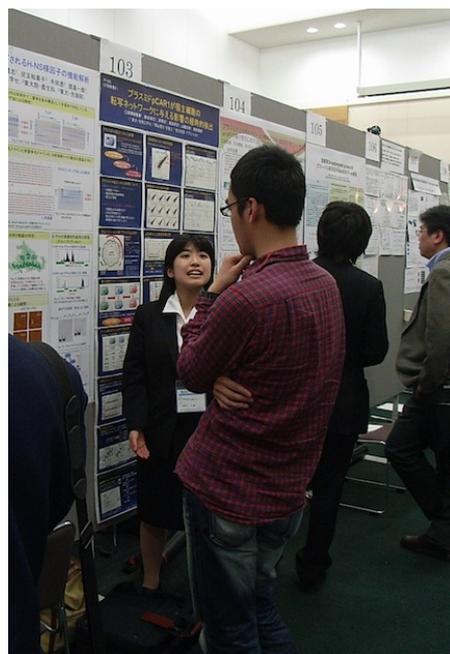
第4回年会に参加して

鈴木 千穂

(東京大学大学院農学生命科学研究科・修士2年)

これまでゲノム微生物学会では、卒論生の時にポスター発表を、修士一年生の時に口頭発表をさせていただきましたが、特に今年3月に福岡で開催された第4回年会は非常に思い出深いものになりました。私が現在究対象としているのはプラスミドにコードされる核様体タンパク質で、プラスミドが宿主染色体に入った時、宿主染色体由来の核様体タンパク質とプラスミド由来の核様体タンパク質の間に何が起こり、どのように菌体の転写制御ネットワークが変化するのかに興味をもって研究を進めています。第4回年会で発表したのもこの内容で、私にとっては初めての口頭発表ということもあり、自分の研究内容を上手に伝えられるかどうか不安に思っていたのですが、発表時間内の質疑応答だけでなく、発表終了後にも数名の方にご質問をいただき、大変嬉しく思いました。

私は研究自体も好きなのですが、研究を通じて多くの方と交流できることをいつも楽しみにしています。今回の年会ではポスター発表、口頭発表を通じて多くの方々と交流することができ、本当に有意義なものになりました。また私自身は口頭



2010年3月に九州大学で開かれた年会のポスター会場で説明する筆者。

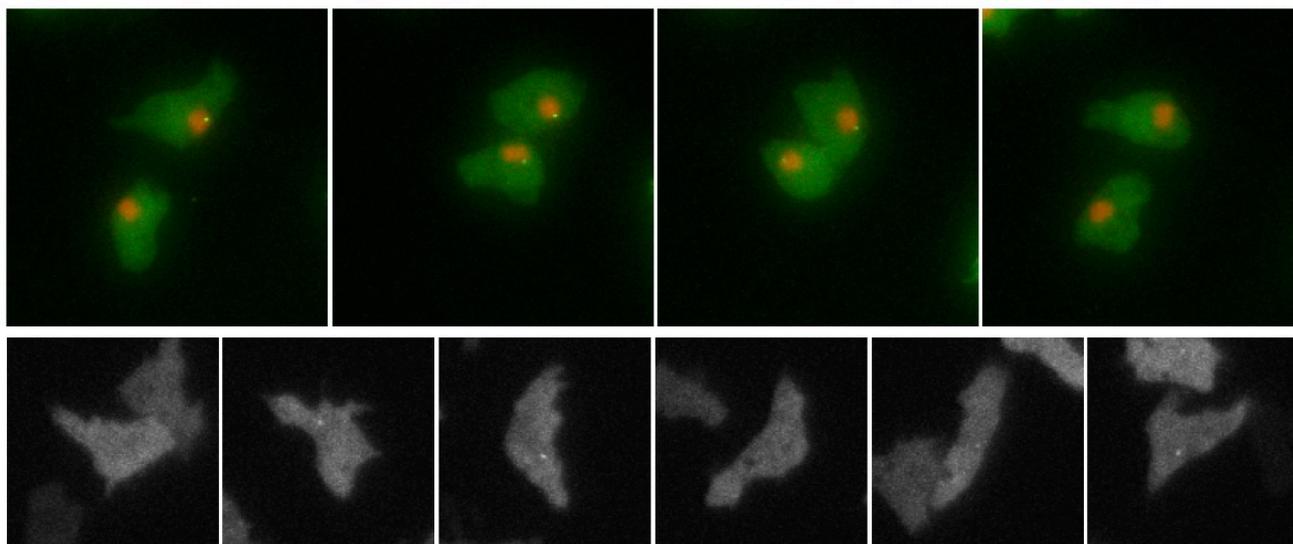
発表に当たっていたため経験していませんが、今回の年会で新しい試みとして導入された「大学院生の3分間口頭発表」は、個人的にはとても良い試みだったと思っています。大学院生にとって口頭発表を経験できる場は数少なく、短時間であっても自分の研究内容を学会参加者全員の前で発表できる機会は貴重なものです。今後もこのような機会を設けていただけたら嬉しく思います。

ところで、学会における発表の内容やディスカッションが勉強になるのは当然のことですが、夜、お酒の席でのディスカッションもまた貴重な勉強の機会です。そこでは研究内容についての話だけではなく、今は研究者として、あるいは教員として活躍されている方々から、学生時代に経験

した失敗談や、留学中の話、さらには「研究者としてどのように生きていくか」という人生観まで様々な話を率直に聞くことができます。この貴重なチャンスを逃すまいと学会期間中は毎日朝から夜中まで全力で過ごすため、学会が終わって帰る頃にはまさに疲労困憊の状態なのですが、翌日からの研究へのやる気は倍増します。様々な方との交流を通じて、自分ももっと頑張らなきゃいけないと思うことが実は一番の収穫なのかもしれません。今も毎日実験に励みつつ、時には研究室のメンバーとお酒を囲みながら楽しい日々を過ごしています。次の年会に参加する頃には、研究内容が大きく進展しているように今から頑張りたいと思います。

細胞性粘菌における転写のリアルタイムな可視化

漆原 秀子 (筑波大学大学院生命環境科学科)



近年の遺伝子操作とイメージング技術の発展によって、大量の細胞から調製したmRNAの解析からは知ることができない個々の細胞における遺伝子発現の動態を知ることが可能となった。図はMS2ファージのコートタンパク質とRNAの特異的結合を利用して、インタクトな細胞性粘菌で遺伝子発現を検出したものである。MS2-GFP融合タンパク質を発現する細胞にMS2リピートを組み込んだ対象遺伝子を導入しており、当該遺伝子が転写されると新たに産生されたMS2-RNAがMS2-GFP融合タンパクと結合し、明るいスポットとして検出される。上の例ではヒストンH2B-RFP融合タンパクを共発現させることによって転写活性部位が核周辺に位置することが示されている。下の写真は2.5分のタイムラプス撮影で、転写スポット「発火」の頻度から転写活性を知ることができる。細胞性粘菌は遺伝子操作が容易で、このような解析が自在に行える優れた実験系である。

写真提供は細胞性粘菌のMS2システムを開発した Jonathan Chub 研究室 (University of Dundee) の村本哲哉博士。

第5回日本ゲノム微生物学会年会のお知らせ

第5回日本ゲノム微生物学会年会を2011年3月14日～16日の3日間、東北学院大学土樋キャンパスで開催することになりました。会場 (<http://www.tohoku-gakuin.ac.jp/page/nb002.shtml>) へのアクセスは、JR仙台駅からバスで仙台市立病院前まで行きそこから徒歩で5分、あるいは、JR仙台駅から地下鉄南北線に乗り五橋（いつつばし）駅から徒歩で5分です。JR仙台駅から直接歩いても南へ約1.5キロほどの距離です。

まだ年会の詳細は未定ですが、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し、ホームページならびに次号のニューズレター（11月に発行予定）に掲載しますのでお待ち下さい。

なお、前回の九州での年会で好評だった「大学院生の一人3分の口頭発表」（あるいはそれに準ずる企画）を次回も開催する予定であることを申し添えます。

※ 微生物を対象としてゲノムを基盤に研究に携わっている、あるいは関心をお持ちの多数の皆様に参加をお待ちしています。【第5回日本ゲノム微生物学会年会長 津田 雅孝（東北大学大学院生命科学研究科）】



学会の現況

学会役員（敬称略）

会長：小笠原直毅

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

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

会計監査：饗場浩文、倉光成紀

会員の動向

全会員数 435名（平成22年4月 15日現在）

正会員 332名；学生会員 103名

賛助会員 31 団体；機関会員 2 団体