

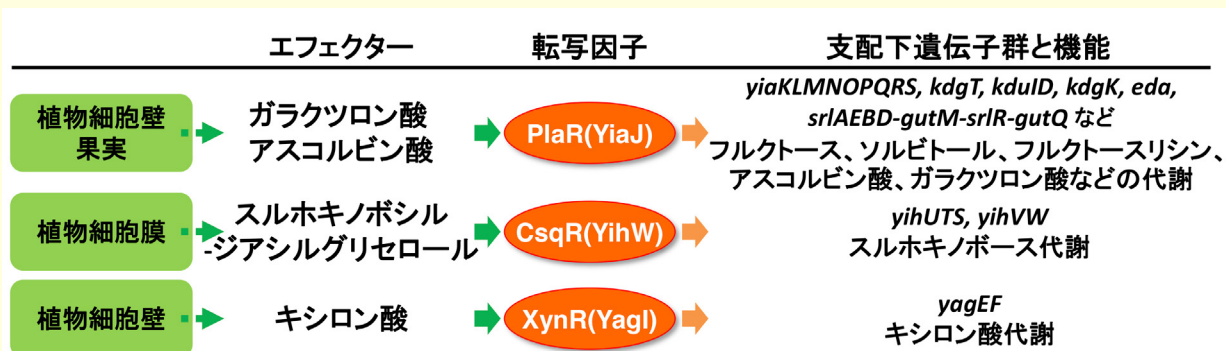
日本ゲノム微生物学会 ニュースレター

植物由来の化合物を効率的に利用するための 大腸菌グローバルレギュレーターの見見

島田 友裕 (明治大学・農学部・農芸化学科)

大腸菌の総遺伝子数は約4,500で、RNAポリメラーゼと転写制御因子の相互作用によって、環境に応じた遺伝子が選択され利用される。ゲノム制御の全体像の解明は究極目標であるが、多くの遺伝子は通常の実験室での培養条件下では利用されていない。in vivo系での機能未知転写因子の機能同定は難しく、転写因子が発現していなかったり活性化していなかったりすること、細胞内では転写制御ネットワークがヒエラルキー構造を形成していること、他の転写制御因子と拮抗阻害が生じること、などの問題点もあり、転写因子の本質的な役割の同定は難解である。これらの課題に打ち勝つために、筆者らは転写制御因子のゲノム上の結合部位を同定する Genomic SELEX 法 (gSELEX 法) を開発した (Shimada et al. Methods Mol Biol 2018)。精製した転写制御因子とゲノム DNA 断片を in vitro 系で混合し、転写制御因子と結合した DNA 断片を特定することで、制御標的遺伝子を同定する方法である。

gSELEX 法により機能未知転写因子 YiaJ を解析したところ、フルクトースやソルビトール、フルクトースリシン、アスコルビン酸、ガラクトツロン酸などの植物由来化合物を代謝するための遺伝子群をグローバルに制御することが分かった。さらに、YiaJ はアスコルビン酸およびガラクトツロン酸に応答することが分かった。そこで、植物由来の化合物を利用するための転写因子 PlaR (regulator of plant utilization) と命名することを提案した (Shimada et al. Sci Rep 2019)。また、gSELEX 法による機能未知転写因子の解析により、キシロン酸に応答してキシロン酸代謝を制御する XynR (regulator of xylostate catabolism) (Shimada et al. FEMS Microbiol Lett 2017) や、スルホキノボシルジアシルグリセロール (植物や光合成生物の膜に含まれる含硫黄脂質) に応答してスルホキノボース代謝を制御する CsqR (regulator of catabolism of sulfoquinovose) (Shimada et al. Microbiology 2019) といった、植物由来化合物の代謝を制御するための転写因子も明らかとなった。このような化合物は自然界では豊富に存在するものの、実験室の培養では使用されておらず、その制御機構は不明であった。gSELEX 法による機能未知転写因子の解析は、自然界における微生物の生存戦略を解き明かすための有効な研究戦略の1つである。



ゲノム微生物学分野の研究動向

ゲノム情報解読の40年

吉川 博文

東京農業大学 生命科学部

1. 1塩基のバトル

1979年、米国伊藤純悦先生の元で私は、当時問題になっていた直鎖状ゲノムの Protein-priming モデルの検証を行っていた。φ29の末端タンパク質の解析後、末端の塩基配列を決めることが必須と考えられ、末端の断片を4方向からシーケンスした。AAAGTAの6塩基対の Terminal Inverted Repeat(TIR)を見出し、Keystone シンポジウムでポスター発表した。隣で競争相手の Salas 研究室(スペイン)が全く同じ発表をしており、彼らの結果は AAAAGTA の7塩基であった。Maxam-Gilbert 法で標識末端の配列を読むとき、1番目と2番目のバンドの間に少し薄いバンドが見られることに気づいていた私は、制限酵素断片をシーケンスすることにより、これが artifact であることを確認していた。競合相手との相反を研究室に残っていたボスに電話で報告し、了解の元に彼らに説明すると、なるほど、と言って納得してくれた。結局、ボス同士の協議により、この結果は PNAS に並んで掲載されたが(1,2)、実質的には私の勝利であった。研究者人生のスタートから、私は1塩基の違いに大きな意義を見出した訳である。Sanger, Gilbert がノーベル賞を受賞するのは翌年のことで、シーケンシングをした日本人としては、かなり早いほうだったと思っている(図1)。当時、Sanger 法も試み、わずか数センチの幅に20塩基くらい読めていることに驚嘆したが、キットもない時代、ddNTPの混合比率を決めることに難航し、断念した。Sanger 法が一般的になるのは、酵素と基質がキット化される5年くらい後のことである。

塩基配列を決めることの魅力に取り憑かれた私は、その後半年間シーケンスに没頭し、結局 φ29 の初期領域 5708bp を決定した(3)。半年間で5kbというのは、今から思えば亀のようなスピードであるが、この初期領域には末端タンパク質の遺伝子の他、ファージのDNAポリメラーゼがコードされており、その Processibility の高さから約30年を経て近年1分子シーケンシングとして第3世代シーケンサーに使われるようになるなど、数多く引用されることになった。

2. 後輩の読み間違いに気づく

帰国後、ほどなく日本も当たり前シーケンスする時代に突入した。孢子形成機構の解析の途中、*spo0F* 遺伝子上流領域をプラスミドにクローニングすると孢子形成を阻害するという



図1. 特注のシーケンスゲル台と筆者。左のX線フィルムがTIRを証明したオートラジオグラフィー。

奇妙な現象を、研究室の後輩が見出していた。配列の確認をしていた後輩のオートラジオグラフィーを何気なく見ていた私は、不自然に広いベース間スペースと片側の濃いバンドを見つけた。数百枚に及ぶシーケンスのフィルムを見てきた経験から、そこに2塩基あることを直感した。結局、その一塩基を加えることで大きなORFが完成し、驚くべきことに *spo0A* や *spo0B* とも相同性があり、それこそが *spo0F* 遺伝子そのものであることが分かった(4)。さらにこの配列は大腸菌 *ompR* などとも相同性があり、二成分制御系の仲間であり、いわゆるフォスフォリレー伝達機構の発見に繋がった。

3. *secY* 発見の物語

枯草菌の大きな特徴として菌体外酵素の分泌があり、その機構を利用したヒト有用物質(TPA)の生産が、2度目の留学中だった米国 Roy Doi 研究室でのテーマであった。1年9ヶ月の格闘の末、菌体外フォールディング機構のない枯草菌では難しいと判断し、残りの3ヶ月でなんとか留学の成果を残すべく、まだ未同定だった枯草菌 *secY* 遺伝子の同定に挑戦した。手がかりとしたのが、大腸菌 *secY* の近縁領域にあるリボソーム遺伝子クラスターとのシンテニーである。近傍にあるリボソームタンパク質サブユニット S5 のスペクチノマイシン耐性(Spc^r)を

指標にクローニングを試みた。よく知られていたことは、このようなりボソームの耐性遺伝子は劣性（潜性）であるということである。したがって、直接クローニングはできず、 λ in vitro packaging システムを使って枯草菌ゲノムライブラリーを作り、プラークからゲノム抽出をして枯草菌に形質転換することにより、Spc^r になるコロニーが得られるかどうかを指標とし、そのライブラリープールを絞り込むという手の込んだ方法を用いた。1回目は約5千クローン x 10 pool で行い、positive pool をさらに 500 クローン x 10 pool に分けて2回目、50 クローン x 10 で3回目、10 クローン x 10 pool で4回目、そしてついに単一クローンを10個形質転換して λ ファージクローンを得たのである。この間、ほぼ2週間という短期間で達成した(5)。ポストドクとしてはようやく故郷に帰れるという心境であった。

蛇足であるが、S5 (*rpsE*) 変異を持つ枯草菌は、とても枯草菌とは思えないほど、丸く、堅く、つやのあるコロニー形態を示した。Spc^r 変異株として BGSC に保存されている株は、したがって何らかのサプレッサー変異を同時に持っているはずである。もう1点、蛇足ついでに加えると、上記 TPA のクローニングがなぜ出来ないか、という詳細な検討は行っていないが、感触として、枯草菌は分泌過程がうまく行かずに翻訳産物が膜透過装置に stack するような状況になると、上流のステップに制御がかかり、翻訳の stall が起こり、さらには転写もブロックするのではないかと考えていた。当時は、うまく行かないことの証明に熱意がなかったが、ごく最近の研究の進展を見ると、翻訳の stall が分泌過程と密接に関連しているという情報もあり、30年経って枯草菌の翻訳と分泌の新しい機構が解明されるのではないかと期待している。

4. 二匹目のドジョウ？

secY で味をしめた私は二匹目のドジョウを狙って *secE* のクローニングを目指した。やはり大腸菌では近傍にチオストレプトン耐性 (Tsp^r) を与える L11 サブユニットの *rplK* があり、枯草菌でも同様の変異株が知られていたためである。クローニングに成功し、得られた断片の *rplK* 領域のシーケンスをしたところ、

驚くべきことに、*secE* とと思われる領域の途中からシンテニーが失われており、全く異なる未知配列が続いていた(図2)。*secE* 領域は大腸菌の3分の1ほどしかなく、3つあるはずの膜貫通領域は1つしかなかった。これではこれが *secE* オルソログであるとはとても言えないため、検証実験を行った。OmpA のプロセッシングを指標に検証したところ、大腸菌 *secE* の変異株を上記枯草菌断片が相補することを確認し、枯草菌における *secE* 相当遺伝子であることを証明した(6)。

5. ゲノムプロジェクト ~偽 long PCR で背伸び~

その後参加した枯草菌ゲノムプロジェクトは苦難の時代であった。3人の修士学生と1人の技官に手伝ってもらいながら、コンソーシアムとしては最終ランナーになってしまった。ゲノムライブラリーを作らずに始めたことが、結果的には苦勞する要因であったが、種々の要因から当時としては最適と判断したのでやむを得なかったと思っている。ゲノムが解読されていないということは、残りの空白領域がどのくらいのサイズなのか分からない。数 kb なのか数十 kb なのか、はたまた数百 kb なのか？ 当たり前のことだが、ゲノムが分かっていることの恩恵の第1は、全体が見えているということであり、そこが琵琶湖か太平洋か知っていることが、どれほど安心感を与えることか、身を持って体験したわけである。さて、一縷の望みを託して当時出始めた long PCR の技術を用い、空白領域の両端で PCR を行ったところ、約 15kb の断片が増幅した。当時の心境としては、やっと先が見えたという安堵感であったが、配列を決めていくにつれて再び奈落の底に突き落とされることになった。片側が繋がらないのである。PCR のプライマーがやや似た配列にアニールして得られた 15kb だったことが判明した。延びた配列を利用して、もう一度祈る気持ちで long PCR を行ったところ、再度 15kb の断片が増幅し、これこそが枯草菌ゲノムの最終ギャップであった。要するに空白領域は当初 30kb あり、その半分ほどが、偽 PCR によって増えてくれたおかげで完成させることが出来たわけである(7)。

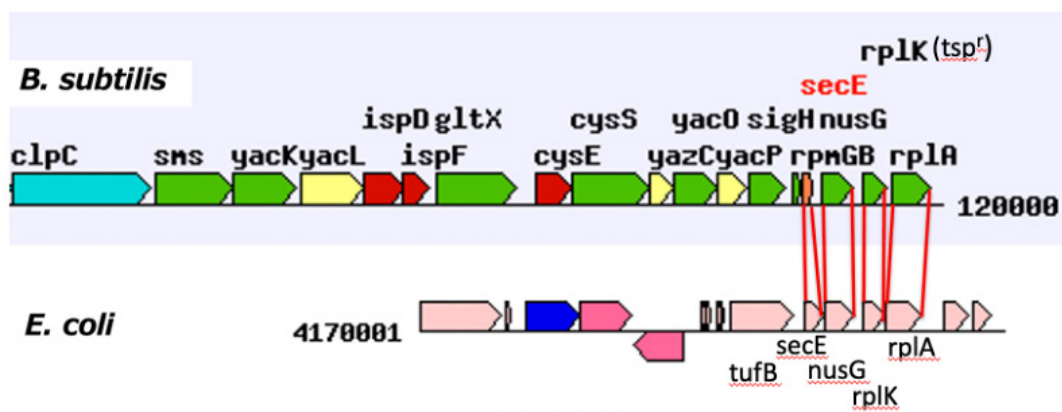


図2. 枯草菌と大腸菌の *secE* 領域

クローニングの指標とした *rplK* を含む領域は保存されているが、*secE* の途中から上流は全く保存されていない。

6. 次世代シーケンサーに出会って

ポストゲノムプロジェクトも一段落した頃、いわゆる次世代シーケンサーに出会うことになった。ゲノム解読に携わってきた私に、私学助成の応募を勧めてきたのは学科の同僚である。そういう道があったのかと、ほぼ1ヶ月で書き上げた申請書が通り、私の研究者人生の最後は一変することになった。代表的3社(当時)のプレゼンを聴き、まだ数少なかったユーザーの意見を聞き、本学の使用見通し状況等を考慮してイルミナ社製を選択した。思い出深いのは、そのシーケンス原理を聞いたときのことである。リード深度が鋳型の濃度に依存するとのことなので、対数増殖期のゲノムを用いれば、*ori*領域が*ter*領域の倍以上になるはずで、複製起点の同定法として使えるのではないかと考えた訳である。実際、枯草菌を用いて検証すると*ori*領域のピークが得られることが分かった(8)(図3)。この発想を*ori*の分からないシアノバクテリアに適用し、紆余曲折を経たが、進化的考察を含めてシアノバクテリアゲノムの複製におけるDnaA依存性について報告することができた(9)。

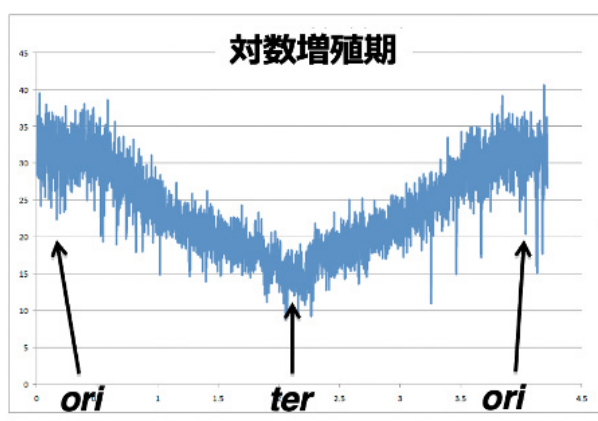


図3. 対数増殖期の枯草菌ゲノムのリード深度プロット

7. 新規熱ショック応答機構の発見

再び1塩基に注目する機会は、分子シャペロンの発現機構を解析しているときに訪れた。枯草菌独特の熱ショック応答機構としてCIRCE配列が研究仲間のWolfgang Schumann博士から発表され、我々も増殖相特異的な転写装置の働きに興味を持っていたことから、シャペロン遺伝子のプロモーターにレポーターを付けて時期特異的な発現制御機構を探っていた。コントロールのつもりでCIRCE配列を除去した*groE*遺伝子プロモーターのレポーターアッセイを行ったところ、レベルは下がるが十分熱ショックに対して応答することが分かった。はたしてその要素はどこにあるのだろうか?プロモーターはごく普通のシグマAであり、何か特徴的な配列は見出せない。熱ショック応答が知られていない*rpoB*遺伝子と比較してみると、確かに応答は起こらない。領域を狭めてレポーターアッセイを繰り返すうち、その要因が転写開始点の1塩基であることに辿り着いた。in vitro 実験等による検証の結果、Pre-initiationの段階(開鎖複合体を形成するまで)に高温にいることにより、開鎖複合体の量が増えることが熱ショック応答のメカニズムであり、転写開

始点ヌクレオチドの取り込み効率の違いにより、最も効率の良いGのときに転写産物が最も増え、Aがそれに続き、TやCではほとんど応答しないという新規機構を示唆することが出来た(図4)。

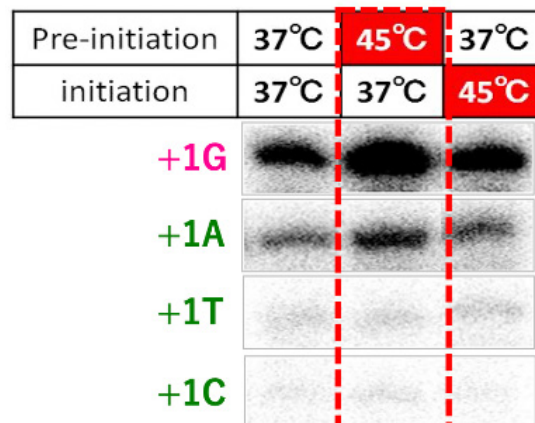


図4. in vitro 転写実験による熱ショック応答の検証
Pre-initiation 段階に高温におくと、転写産物が増え、そのレベルはG>A>>T>Cの順であった。

熱ショックに応答するかしないか、という大きな細胞機能がたった1塩基で制御されているものかと思惑を感じたが、全ゲノムレベルで転写開始点(TSS)を同定するTSS-Seq解析を行ったところ、4つの塩基とも一様に転写開始点として使われており、高温時にはAとGからの割合が増える様相が示された。一方、逆に熱ショック応答を顕著に示す(RPKM ratio ≥ 2)遺伝子のみを抽出して見ると、90%以上がAとGであった(図5)。これらの結果から、熱ショックタンパク質として従来から知られていたGroESLなどは、熱ショックによって確かに顕著に増大するが、その他にも数多くの遺伝子が、レベルは低くとも熱ショックに応じて誘導されていることを示している。熱ショック応答機構は、これまで4種類ほど報告されているが、その制御下の遺伝子は数十に留まっており、数百ともいわれる熱ショック遺伝子の大部分は、その機構が未知であった。我々が見出した転写開始点のヌクレオチドによる応答機構は、この大部分の熱ショック応答機構を説明していると考えている。

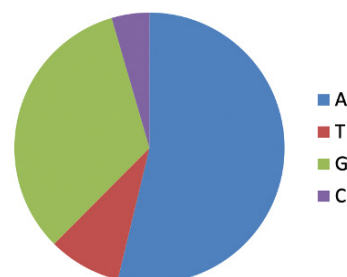


図5. 熱ショック応答を示す遺伝子の転写開始点
TSS-Seq解析データより49°Cで検出された転写開始点のうち、その下流遺伝子のRPKM値が49°C/37°Cで2以上のものの塩基割合。

8. 進化の方程式 ～中立説への挑戦?～

1塩基の変化、すなわち点変異が起きる傾向、あるいはSNPsの分布に関して、その進化的背景を探ることは、研究者人生の最後の興味である。弟子の就職が縁となって不均衡進化論の古澤満博士(ちとせ研究所創業者)と出会ったことは、実験進化を遂行していた私にとって、変異が起きる要因を論理的に解き明かすことができるかもしれない、楽しい夢物語が見られる機会になった。尤も、興味はあれど進化の方程式を作る才覚などまるで持ち合わせていない私は、共同研究者で数学者の合田徳夫博士に実験データを提供して、解析を楽しみに待っているだけの存在ではある。既存のデータベースを用いてSNPsの分布を調べたところ、“べき乗則”に従うという興味深い結果になった(10)。このことは、一言で言えば突然変異はランダムに起こるのではなく、以前起きた変異の近傍に次の変異が起きやすいということを示している。このことを実験生物学的に証明できれば、進化のプロセスを考察する新規の理論が構築できると考え、時系列に変異点を収集して同様の結果になるか検証したところ、確かに新たに起こる変異がべき乗則に従うことを示す結果を得た(図6)。この法則がどのような生物学的な意味を持つのかは現時点では明らかでないが、進化の過程で獲得した生物機能の何かがこのような特徴をもたらしているわけで、後世の研究がこの不思議な性質の要因と意義を解明してくれることを望む次第である。

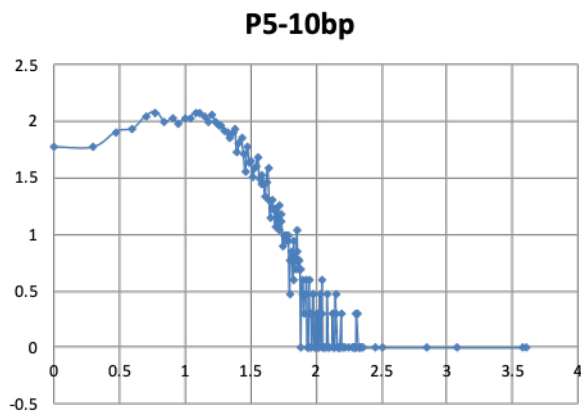


図6. 酵母継代培養によって得られた変異の確率分布
ラギング鎖の校正機能を低下させた酵母の継代培養を行い、新たに蓄積した変異間の距離と頻度の相関を10bp毎のbox-plotで表示した(両軸対数)。直線部分がべき乗則を示す。

9. レジリエンス ～結びに代えて～

以上、私の研究経歴の中からゲノム解読に関連した部分を紹介したが、ゲノム配列には単なる生命の設計図という以上に、生命そのものというべき躍動感と神秘性が感じられる。最後に紹介した進化のプロセスに見られるように、ゲノムには果たして分子機構で語るができるのだろうか、と思わせる領域が存在している。生命の定義には複製、代謝、細胞の3つに加え

て進化のメカニズムが必要と考えられて来ている。進化のメカニズムは、長期的スパンでは環境の変化に対する適応という視点で捉えられるが、短中期のスパンではレジリエンス、すなわち回復力として捉えられるのではないだろうか。象徴的な例として、トランスポゾンが宿主を積極的に守るという報告があった(11)。これは導入したエンドヌクレアーゼをトランスポゾンがいち早く破壊することによって宿主ゲノムの切断を防ぐという機構だが、このような現象は、進化に対してさまざまな影響が議論されてきた転移因子の宿主に対する正の効果を顕しており、ゲノムの進化はレジリエンスであることを裏付けているのではないだろうか。もちろん、転移因子が乗り物としての宿主を守る利己的な作用という見方もできるが、溶原性ファージ同様、長期的には共存していくメカニズムであると考えられる。

遺伝子レベルでレジリエンスを持っている我々も、個体としてのレジリエンスを発揮して困難な時代でも乗り切っていくはずである。

引用文献

- 1) Yoshikawa et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 78(3):1336-1340 (1981)
- 2) Escarmis and Salas. Proc Natl Acad Sci U S A. 78(3):1446-1450 (1981)
- 3) Yoshikawa and Ito Gene. 17(3):323-335 (1982)
- 4) Yoshikawa et al. Nucleic Acids Res. 14(2):1063-1072 (1986)
- 5) Yoshikawa and Doi. Nucleic Acids Res. 18(6):1647 (1990)
- 6) Jeong et al. Mol Microbiol. 10(1):133-142 (1993)
- 7) Kunst et al. Nature 390(6657):249-256 (1997)
- 8) Shiwa et al. Biosci Biotechnol Biochem. 77(10):2073-2076 (2013)
- 9) Ohbayashi et al. ISME J. 10(5):1113-1121 (2016)
- 10) Gouda et al. Genes Cells. 21(5):396-407 (2016)
- 11) Fan et al. ACS Synth Biol. 8(9):2141-2151 (2019)

ゲノム微生物学分野の研究動向

細菌のゲノム編集について

柿澤 茂行

産業技術総合研究所・生物プロセス研究部門

クレイグベンター研究所・合成生物学グループ

2020年のノーベル化学賞に「ゲノム編集 (CRISPR/Cas9 システム)」が選ばれたこともあり、本稿では細菌のゲノム編集についての概要と筆者の研究内容を紹介したい。筆者自身は後述のように、ゲノム編集の改変法である CRISPR interference (CRISPRi) を細菌に導入したり (1)、酵母内にクローニングした細菌ゲノムの編集を行っているが、細菌のゲノム編集自体は行っていないので、情報に偏りがあるかもしれないがご容赦いただけますと幸いです。

1. ゲノム編集の概略

まずゲノム編集について簡単にまとめたい。ゲノム編集は大きく分けて、ZFN (Zinc finger nuclease)、TALEN (Transcription activator-like effector nuclease)、CRISPR/Cas9 の3つの方法がある。3つの方法それぞれの特徴は割愛するが、2020年のノーベル賞は CRISPR/Cas9 の研究にのみ授与された。その理由は、CRISPR/Cas9 の利便性が極めて高く、爆発的に利用が広がったためと言える。CRISPR/Cas9 は、guide-RNA と呼ばれる RNA がターゲット配列 (ゲノム) に結合し、ヌクレアーゼである Cas9 が guide-RNA と共に結合することで、ターゲット配列の切断を引き起こす方法である。この際の実験系の構築 (ターゲット配列に結合する guide-RNA の設計) がとても容易であり、その簡便性のため多くの研究者に利用されており、ヒト細胞の各遺伝子をノックアウトしたライブラリもすでに作られている (2, 3)。しかし ZFN や TALEN も有用であり、これらを使ったゲノム編集動物や植物も実用化されつつある。たとえば米国では TALEN を使った高オレイン酸大豆 (オリーブオイルと同様に食用油の約 80% がオレイン酸で酸化しにくい) が 2019 年より市販されており、ゲノム編集食品の第一号となっている (4)。

ゲノム編集の大きな利点は遺伝子ノックアウトが容易にできることである。植物などは相同組換え能が低いため、特定の遺伝子がノックアウトされた個体を得るには、ランダム突然変異と多量の個体のスクリーニングを行う必要があるため、モデル生物であっても多大な労力と時間を要し、世代時間の長い植物では現実的ではなかった。ゲノム編集はこのステップを大幅に簡略化させ、研究開発期間が大きく短縮される。次世代シーケ

ンス技術の発達と相まって、非モデル生物でも遺伝子機能の解析やノックアウト個体の作出が容易になってきた。

2. 細菌におけるゲノム編集の特徴と事例

大腸菌などの多くの細菌は相同組換え能を持つため、PCR 断片やプラスミドを導入するだけでゲノムの改変ができ、ゲノム編集のためにわざわざ CRISPR/Cas9 などのシステムを導入する必要性は少ない。しかし細菌においてもいくつかのメリットがあり、例えばゲノムに痕跡を残さず編集できる点 (scar-less)、相同組換え能が低い細菌にも適用できる点などが挙げられる。それらの利点から、これまで多くの研究で用いられてきた。

細菌におけるゲノム編集を図 1 にまとめた。1つ目の利用法は、カウンターセクションとして使う方法である。外来性の組換え酵素を導入する方法 (図 1 A) と、内在性の相同組換え能 (RecA 依存的な組換えなど) を利用する方法 (図 1 B) があり、組換わっていないゲノムを CRISPR/Cas9 システムで切断することで非組換え個体を死滅させるため、マーカー遺伝子を導入する必要がなくなり、両者とも scar-less となる。

外来性の組換え酵素はファージ由来のリコンビナーゼ等が使われ、 λ -Red システムや RecT などが代表的である。この系は、相同組換え能がない細菌にも適用できる点が優れており、例えば、相同組換え能がなく遺伝子改変が困難であると言われていたマイコプラズマに GP53 (枯草菌のファージ由来のリコンビナーゼ) を導入した例 (5) などが挙げられ、これ以外にも多数の報告例がある。内在性の相同組換え能を使う系は、大腸菌のほか、*Bacillus*、*Clostridium*、*Lactobacillus*、*Pseudomonas*、*Streptomyces*、*Staphylococcus* などで成功例があるが (6)、成功しないケースも多く、外来性の組換え酵素を導入したほうが良い場合が多い。

2つ目の利用法は、CRISPR/Cas9 でゲノムを切断したのち、NHEJ (non-homologous end-joining) によってゲノムが修復される過程を利用し、塩基の挿入や欠失 (indel) を起こす方法 (図 1 C) であり、これは高等生物でよく行われているゲノム編集と同様の戦略である。細菌の NHEJ には、Ku と LigD という 2 つのタンパク質 (Ku と LigD) が必要であり、Ku は切断された

ゲノムの末端に結合し、LigDはライゲーションを行う。この2つのタンパク質が発現していない細菌ではゲノム切断によって致死となる。したがって、前述のカウンターセクションとして利用する場合もそうでない場合も、この2タンパク質の有無を事前に調べることは重要であり、Kuは細菌のうち約25%程度に保存されているとの報告もある(7)。KuとLigDをプラスミド等で発現させたのちゲノム編集を行った例もいくつか報告されているが(8-10)、KuとLigDの高発現はtoxicとなる場合もある(8)。

以上の方法は、「CRISPR/Cas9を発現した細胞の、ほぼすべてでゲノム切断が起こる」という「効率の高さ」に依存した系と言える。すなわち、Cas9などを導入する実験にはマーカー遺伝子が必要だが、ターゲット配列の切断の確認にはマーカーが不要のため、scar-lessなゲノム編集が可能となっている。後述のCRISPRiなども、この「効率の高さ」により利用価値が格段

に高まっていると言える。

3. CRISPRi

CRISPR/Cas9から派生した方法としてCRISPRiやCRISPRaなどがあり(11, 12)、これらは細菌においても有用である。CRISPRiは遺伝子のノックダウン(転写抑制)、CRISPRaは遺伝子の高発現(転写の活性化)を行う方法である。CRISPRiは、ヌクレアーゼであるCas9に変異が入ったdefective Cas9(dCas9)を用い、guide-RNAとdCas9がゲノム上のターゲット領域に結合するが切断しないため、その下流の遺伝子発現(転写)が抑制されるという方法である(図2)。ヒトなどの真核生物と細菌の両方で利用可能である。これと誘導プロモーターとを組み合わせることで、必須遺伝子であってもノックダウンすることが可能となる。CRISPRaは、dCas9に転写活性化ドメインを融合させたシステムであり、遺伝子特異的に転写をオンにする方法である。

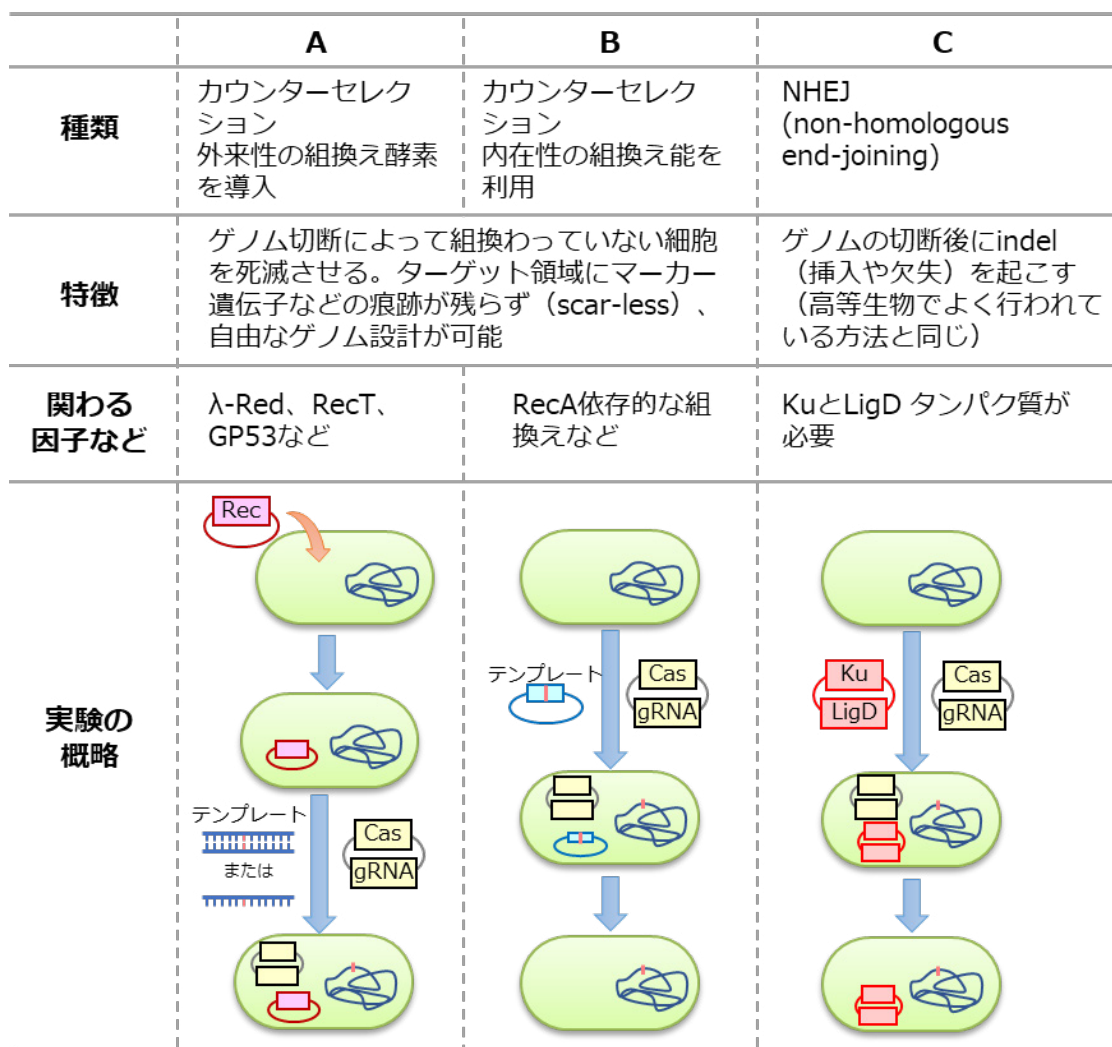


図1. 細菌におけるゲノム編集の特徴と概略

A: 外来性の組換え酵素を導入する系。組換えテンプレートとして1本鎖や2本鎖の直鎖状DNAを導入することが多い。B: 内在性の組換え能を利用する系。プラスミドに組換えテンプレートを乗せることが多い。AとBともに、CRISPR/Cas9により組換えが起こらなかったゲノムを切断し細胞を死滅させるため、テンプレート導入後にゲノム編集が働くよう工夫がしてある例が多い。C: NHEJ (non-homologous end-joining) により変異を導入する系。すべての系において、最後にプラスミドの除去(キュアリング)を行うことも多い。Rec: recombinase、gRNA: guide-RNA。

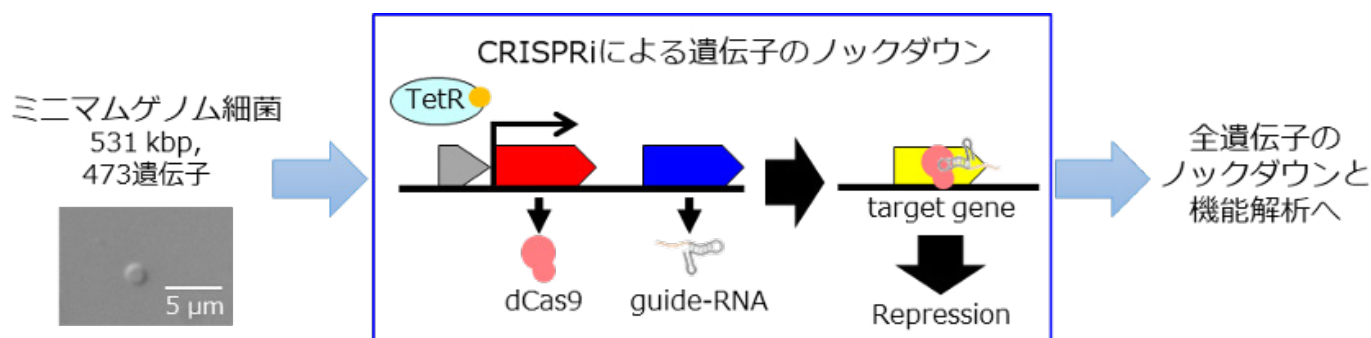


図2. ミニマムゲノム細菌へのCRISPRiの導入

テトラサイクリン誘導系と組み合わせることで、テトラサイクリンを加えたときのみターゲット遺伝子の発現を抑制でき、必須遺伝子の発現抑制とその後の細胞の解析が可能となった(1)。Guide-RNAの設計は容易であるため、全遺伝子への拡張も可能である。

筆者らは、ゲノムを限りなく小さくした「ミニマムゲノム細菌」に対してCRISPRiを適用し、必須遺伝子のノックダウンを行った(1)。ミニマムゲノム細菌は、マイコプラズマという細菌をベースに作られたもので、生存に必須な遺伝子セットのみを持った細菌である(13)。しかし驚くべきことに、この全遺伝子の約3割は機能未知であり、人類は小さな細菌ですらどうやって生きているのか理解できていないという事実を突きつけた。これらの遺伝子機能の解析のため、現在はCRISPRiのターゲットをミニマムゲノム細菌の全遺伝子へと拡張し、全生物に共通するであろう「生命の根幹」に迫るべく研究を進めている。

4. まとめ

以上のように、ゲノム編集はヒトや植物などでの利用価値が極めて高いために爆発的に利用が広がったが、細菌の研究においても有用であり、特に変異株リソース等が整っていない非モデル細菌における利用価値は高く、今後さらなる改変法や応用技術の開発が期待される。

別の視点として、CRISPR/Cas9もTALENも「細菌の研究から生み出された技術」であり、細菌学の重要性を再認識させる好例と言えそうだ。CRISPR/Cas9は、細菌ゲノム上のリピート配列の解析とファージ耐性の研究から派生したものであり、「細菌における獲得免疫の発見」とも言え、まさに細菌ゲノム学から派生した技術である。TALENも、植物病原細菌が持つType IIIエフェクター(べん毛を介した分泌系によって、細菌から植物細胞へと注入されるタンパク質)の同定と機能解析から生じた技術であるため、その根底には細菌のゲノム解読とシグナル配列の推定などの技術があり、細菌ゲノム学の貢献は大きい。細菌は極めてシンプルな生命であり、数百～数千の遺伝子しか持たないにも関わらず、まだまだ未知の機能も多く、人類はその深淵に迫っているとは言い難い。今後の細菌ゲノム学の発展とともに、CRISPR/Cas9やTALENのような、生物学全般に波及効果を持つような優れた応用技術の開発が期待される。

参考文献

- 1) Mariscal et al. ACS Synth. Biol. 7:1538-1552 (2018)
- 2) Wang et al. Science. 343:80-84 (2014)
- 3) Shalem et al. Science. 343:84-87 (2014)
- 4) 江面 浩. ゲノム編集食品の動向と高GABAトマトの開発・実用化について 34-40 (2020)
- 5) Piñero-Lambea et al. ACS Synth. Biol. 9:1693-1704 (2020)
- 6) Vento et al. J. Ind. Microbiol. Biot. 46:1327-1341 (2019)
- 7) McGovern et al. Nucleic Acids Res. 44:4785-4806 (2016)
- 8) Li et al. Appl. Env. Microbiol. 84:e00827-00818 (2018)
- 9) Sun et al. Biotech. J. 13:e1700588 (2018)
- 10) Tong et al. ACS Synth. Biol. 4:1020-1029 (2015)
- 11) Gilbert et al. Cell. 159:647-661 (2014)
- 12) Qi et al. Cell. 152:1173-1183 (2013)
- 13) Hutchison. Science. 351:aad6253 (2016)

若手の会開催報告

日本ゲノム微生物学会若手の会 2020年度活動経過報告

河野 暢明 慶應義塾大学
森 宙史 国立遺伝学研究所

開催概要

2020年度の日本ゲノム微生物学会若手の会では昨年度に引き続き河野（慶應義塾大学）が務め、世話人として広瀬侑さん（豊橋技術科学大学）、大林龍胆さん（東京工業大学）、梅谷実樹さん（東京大学）、森宙史さん（国立遺伝学研究所）、そして黒川真臣さん（筑波大学）で運営しております。2020年度はコロナ禍の影響で多くの学会が中止または延期となり、開催もオンラインが主流となりました。過去13回に渡って続けられてきた日本ゲノム微生物学会若手の会も昨今の状況を踏まえてオンラインでの開催は中止いたしました。我々が実施してきた若手の会は成果発表会に終始するのではなく、様々な事案に対して多くの活発な議論をする機会の提供を目指し、なるべく長いディスカッション時間と交流を可能にする空間作りを目指して参りました。そのため参加者全員が同じ宿に泊まり、夜通し合宿形式で議論を交わすことこそ若手の会の本質があるといえるため、単純なオンライン開催への移行はやめました。しかし、だからこそこれを機会に従来の年会には囚われないスタイルにチャレンジできます。その結果本年度は年会を開催せず、話題提供を目的とした不定期のセミナーを数回に分けてオンラインで実施し、その後 ゆっくりと議論をする形式で実施することにしました。年に一回しか集まらないからこそ密で濃厚な議論

が求められてましたが、年に数回集まれるのであればテーマごとに意見を交換でき、多方面に開けた止場の場を提供できる可能性があります。第一回はウイルス学若手ネットワーク・生命情報科学若手の会らと共催で【Big data virology: 「データ駆動」ウイルス学の未来を若手が考える】と称し、2020年12月3日に日本分子生物学会フォーラムとして開催しました（図1）。この会では河野がファシリテーターとなり、伊東潤平さん（東京大学）、尾崎遼さん（筑波大学）、松井求さん（東京大学）、そして森宙史さん（国立遺伝学研究所）にご登壇いただきました。フォーラムには114名（年会事務局より）に参加していただき、SpatialChatを利用した”Meet the Speakers”という会後の交流会にも数十名の方々にお越しいただき、遅い時間まで議論を交わすことができました。第二回以降は年明けに開催を予定しており、テーマや講演者の選定を現在行っている段階です。こうした従来の枠に囚われない交流の場こそが、我々の目指す新たな分野創造の礎になればと考えております（河野）。

ウイルス学と創造する新分野の未来

フォーラムでは、森からは「Metagenome informatics for viruses」というタイトルでメタゲノム解析技術が今後ウイルス学の研究分野にどのようなインパクトを与えるか、およびそのためには何が現状不足しているかについて話題提供しました。バクテリアと比べてウイルスはゲノム解読済みの系統数が少ないため、メタゲノム解析におけるリファレンスゲノムの重要性をバクテリアにおけるメタゲノム解析の発展の歴史を振り返りつつ主張しました。フォーラムの総合討論やSpatialChatでは、ウイルスゲノム解析やシングルセル解析、系統推定、配列からのタンパク質の立体構造予測との連携等について、他の演者およびウイルス学の若手や生命情報科学の若手の方々と活発に議論しました（森）。

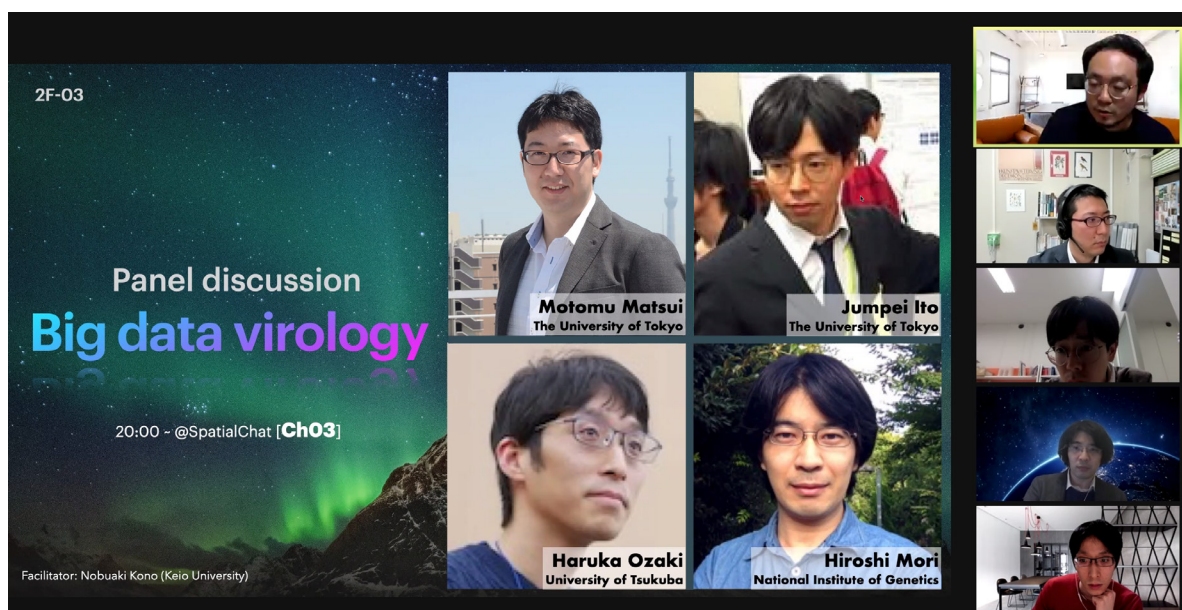


図1. オンライン開催されたフォーラムの様子

学会員の最新の論文紹介コーナー

Suitcase Lab: New, portable and deployable equipment for rapid detection of specific harmful algae in Chilean coastal waters

藤吉 奏、丸山 史人

Environmental Science and Pollution Research (2020)

<https://doi.org/10.1007/s11356-020-11567-5>

採取現場からラボに運ぶまでの試料の変質や、輸送方法に頭を悩ませている研究者に朗報。本論文では、野外フィールドでオンサイト分析を可能とする、ポータブル実験機器一式を納めた「スーツケースラボ」を開発、有用性を報告した。

日本・チリの各地でオンサイト分析を実施し、スーツケース (W: 47cm, D: 39cm, H: 90 cm, 15 kg) 一つに収められた全43のツールで、採水・ろ過・DNA抽出・特定の微生物(本論文ではチリで問題となっている赤潮藻類 *Alexandrium catenella*) をLAMP法にて検出した。現在は、DNA抽出から細菌群集構造解析までできる「スーツケースラボ v2」の開発を進めており、機器の選定まで完了している。今後、「スーツケースラボ v2」を用いて多地点・高頻度な環境微生物解析を行うことで、自然および生活環境場における微生物の「健康な状態」(ベースライン)を把握し、そのデータベースを構築することで従来よりも格段に信頼度の高い「異常検知」を可能にしたいと考えている。5Gの導入により、Pokémon GOならぬ Microbe Goが達成できる未来が近づいている。



図。(左) チリに供与した最新バージョンでは、よりスリム化されている (W: 38cm, D: 24cm, H: 88.5 cm, 12 kg)。(右) チリの海岸にて海水サンプリングフィルターろ過中

Continuation and replacement of *Vibrio cholerae* non-O1 clonal genomic groups isolated from *Plecoglossus altivelis* fish in freshwaters.

河合 幹彦, 大田 篤, 竹村 太地郎, 中井 敏博, 丸山 史人

Environmental Microbiology 22(10): 4473-4484 (2020)

<https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/1462-2920.15199>

アユへのコレラ菌 *Vibrio cholerae* non-O1 株の感染は、毎年放流される稚魚を通じて日本の各地に広がったと示唆されてきた。本研究では、日本の淡水域のアユから分離された17株のゲノム比較解析を行い、クローン群の置き換わり現象を明らかにした。2つのほぼ同一のクローン群 Ayu-1 と Ayu-2 は、それぞれ1977-79年、1987-90年の2~3年にわたって出現し続けたが、Ayu-1は1977年と1987年に起きた2回のアユの大量死の間の10年間に Ayu-2 に置き換わっていた。Ayu-1 と Ayu-2 は、ゲノム塩基配列の同一性が99.9%以上で相同なゲノム部分の比率は97%以上と類似性が高いにもかかわらず、遺伝子レパートリーに違いが見られ、表現型が異なる可能性が示唆された。二群間の一塩基多型の数をヒトのコレラのパンデミック株間の一塩基多型の数と比較し、滋賀県で最初の大量死が起きた1977年に現れた Ayu-1 系統そのものがその後日本各地に広まったのではない、と結論した。本研究は、クローン群の「繁栄と消失」パターンという微生物群集の遷移パターンを明らかにし、ゲノムベースの研究が微生物群集の年単位の長期的な動態を理解する上で効果的であることを示した。

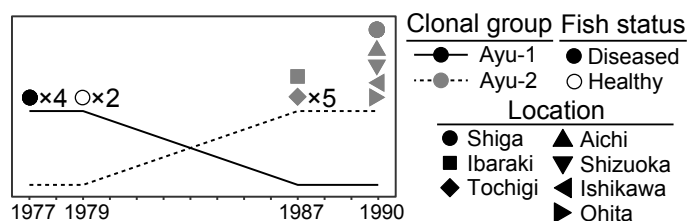


図. 17株それぞれがどちらのクローン群か(Ayu-1かAyu-2か)を、単離された年と場所(県)とともに示す。

Single-cell genomics of novel Actinobacteria with the Wood-Ljungdahl pathway discovered in a serpentinizing system

Nancy Merino, Mikihiko Kawai, Eric S. Boyd, Daniel R.

Colman, Shawn E. McGlynn, Kenneth H. Nealson,

Ken Kurokawa and Yuichi Hongoh

Frontiers in Microbiology 11(1031):1-21 (2020)

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2020.01031/full>

Serpentinite-hosted systems represent modern-day analogs of early Earth environments. In these systems, water-rock interactions generate highly alkaline and reducing fluids that can contain hydrogen, methane, and low-molecular-weight hydrocarbons-potent reductants capable of fueling microbial metabolism. In this study, we investigated the microbiota of Hakuba Hoppo hot springs (~50°C; pH=10.5-11), located in Nagano (Japan), which are impacted by the serpentinization process. We obtained ten single-cell genomes that belong to the uncultivated actinobacterial class-level clade RBG-16-

-55-12/UBA1414 within the group “OPB41” (average pairwise nucleotide identity: 0.98–1.00; estimated completeness: 33–93%; estimated genome size: ~2.3 Mb). Based on metabolic pathway predictions, these actinobacteria are anaerobes, capable of glycolysis, dissimilatory nitrate reduction and, notably, CO₂ fixation *via* the Wood–Ljungdahl (WL) pathway. Further analysis of the single-cell genome assemblies identified two intraspecies-level phylotypes of the Hakuba actinobacterium. This is the first detailed genome analysis of a bacterium within the *Actinobacteria* phylum capable of utilizing the WL pathway. We propose to name this bacterium ‘*Candidatus* Hakubanella thermoalkaliphilus.’

Novel (p)ppGpp0 suppressor mutations reveal an unexpected link between methionine catabolism and GTP synthesis in *Bacillus subtilis*

大坂 夏木、兼崎 友、渡邊 愛美、渡辺 智、千葉櫻 拓、高田 啓、吉川 博文、朝井 計

Molecular Microbiology 113(6):1153-1169 (2020)

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/mmi.14484>

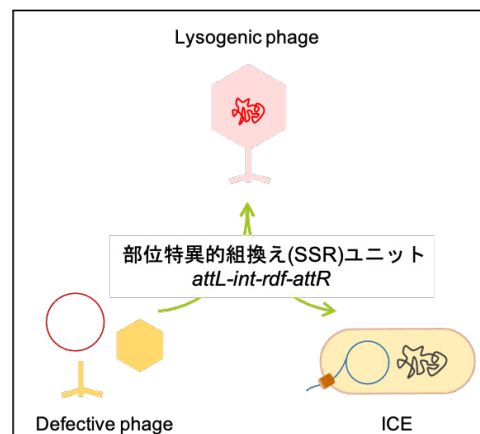
(p)ppGpp は環境変化への適応に必須なアラームンとして、細菌、及び植物の葉緑体に保存されている。枯草菌を始めとするグラム陽性細菌では、アミノ酸飢餓条件に適応する上で、(p)ppGpp が GTP 生合成を抑制することが必須とされている。枯草菌において (p)ppGpp 合成能を欠失させた株 [(p)ppGpp0 株] は、アミノ酸飢餓培地において GTP 生合成を抑制できず、生育阻害を示す。この生育阻害は、GTP 生合成経路に直接関与する遺伝子の変異によって、相補されることが明らかとなっている (Kriel et al., *Mol. Cell*, 2012)。

本論文で我々は、これらの遺伝子の抑圧変異の他に、プリンヌクレオチド生合成経路関連遺伝子 (*prs*, *purF*)、及び RNA ポリメラーゼコア酵素をコードする遺伝子 (*rpoB*, *rpoC*) に抑圧変異を新たに同定した。さらに、新規抑圧変異を持つ株を用いた解析から、メチオニン代謝が GTP 生合成の活性化に関与することを示した。本論文における新規抑圧変異が、過去の報告では同定されなかった要因は、スクリーニング条件で添加されたメチオニンにあることを我々は見出した。その後続く解析で、(p)ppGpp0 株では、メチオニンは細胞内 GTP 量を上昇させ、生育阻害を引き起こすことを見出した。このメカニズムとして、メチオニンの代謝産物が、GTP 生合成の律速酵素 GuaB を活性化させることを示唆した。メチオニン代謝は、タンパク質合成、生体分子のメチル化などに関与している。本論文は、こうした生命に必須な生体反応を支える代謝系が、GTP 生合成を直接制御していることを初めて示したものである。

Compatibility of site-specific recombination units between mobile genetic elements

鈴木 祥太、吉川 実季、今村 大輔、安部公 博、Patrick Eichenberger、佐藤 勉
iScience 23 (1):10085 (2020)

<https://doi.org/10.1016/j.isci.2019.100805>



溶原性ファージやゲノム挿入型接合伝達因子 (ICE) などの可動性遺伝子 (MGE) は、Integrase (組換え酵素) /RDF (切り出し因子) により宿主ゲノム上の特定の配列 (*attB*) を認識し、挿入・欠失を行う部位特異的組換え (SSR) 機構を有している。

本研究において、1) 溶原性ファージと ICE の SSR unit はお互いに交換可能であること、2) 欠損プロファージの SSR unit は溶原性ファージの SSR unit として十分に機能すること、3) 類縁のファージが異なる配列を認識する SSR unit を持ち、それぞれ異なる遺伝子の再編成を行うことを明らかにした。

従って、可動性遺伝子 (MGE) が持つ SSR unit は、それぞれに固有のものではなく、他の MGE の SSR unit としても機能可能な順応性のあるユニットであることが示された。

メールでご案内いただきましたが、本 22 号より多くの学会員の研究内容を紹介するために「論文紹介コーナー」を新設いたしました。早速に 5 件の原稿をいただきありがとうございます。各紹介文には URL をリンクしております。詳細はリンク先をご覧ください。なお、次号 23 号からは、研究内容を表す 1 枚のイラストと簡単な説明という形に形式を統一したいと思います。サンプルを本コーナー (鈴木ら) に記載いたしましたので、ご参考にされてください。また、23 号での掲載ご希望の場合は 2021 年 3 月末までに下記の編集担当までお送りください (迷惑メール対策のため [at] を @ に変換してください)。みなさまからのたくさんの原稿をお待ちしております。

大坪嘉行 yohtsubo[at]ige.tohoku.ac.jp
佐々木裕子 yuko[at]nih.go.jp
佐藤 勉 t-sato[at]hosei.ac.jp
広瀬 侑 hirose[at]chem.tut.ac.jp
相馬亜希子 soma[at]chiba-u.jp

実験レシピ紹介コーナー第2回

ロングリードシーケンサー
のためのDNA調製法

広瀬 侑

豊橋技術科学大学

ロングリードシーケンサーである Oxford Nanopore 社の MinION や Pacific Bioscience 社の Sequel を使われている方が増えてきました。これらのシーケンサーは、リードあたり数十 kbp から数百 kbp という長い配列を出力するため、特に新規の微生物ゲノム解析においては強力なツールです。ところが、これらのシーケンサーを利用するためには「長鎖」で「不純物を含まない」DNA を μg オーダーで調整する必要があります。私の MinION における経験ですと、断片化した短鎖 DNA が含まれると、分子数が多いために優先的にシーケンスされ、長いリードの割合が少なくなってしまいます。また、不純物が含まれていると、有効なポアの数が増えシーケンス中に急激に減少してしまいます。アダプターの結合率も、定量 PCR での確認ができないため、シーケンスしてみないとわかりません。

ここでは、長鎖 DNA を大量に調製するための私の秘伝の(?) レシピをご紹介します。使用するのは QIAGEN 社の Genomic-tip 20/G というオープンカラム方式の陰イオン交換カラムです。メーカーによれば、平均 50 から 100 kb、最大 150 kb の長鎖 DNA を精製可能ということです (QIAGEN Genomic DNA Handbook. 2015)。Qiagen 社のキットはバッファー組成の多くが公開されているため、自作や改変がしやすく、各ステップの反応機構を推定できるメリットがあります。ただし、Qiagen 社のマニュアルによれば、Genomic-tip 20/G は 20 μg の DNA が結合可能ですが、投入できる細胞量が制限されているのが欠点です。例えば、「*E. coli* であれば、OD600 が 2.0 程度の培養液 1.2 mL 分を上限とする」という、心もとない記載があります。この程度の細胞量を出発としますと、どんなに破碎効率の良い細胞からでも μg オーダーの DNA は取れません。スケールアップということで、沢山のカラムや大容量のキットを購入する方もいらっしゃるようです。しかし、上述の通り Genomic-tip 20/G の DNA 結合容量は十分ですから、どうすれば大量の細胞を 1 本の Genome-tip カラムに投入できるのか? この課題をクリアすれば良いわけです。そこで私は、DNA のフェノール抽出とエタノール沈殿精製のステップを入れることにしました。また、酵素処理が効きにくい細胞にも対処するため、酵素反応時間も大幅に伸ばしています。具体的な手順を右に示します。この方法は、通常の方法では DNA が取れないシアノバクテリアや藻類では有効でしたが、より高等な生物種や、DNase 活性が高い細胞種では試したことがないので、もし試された方いらっしゃいましたら、結果を教えてくださいと嬉しいです。

プロトコル

QIAGEN Genomic DNA Handbook. 2015 の細菌用プロトコルを改変

使用するキット

陰イオン交換オープンカラム Genome-tip 20/G (Qiagen)

Genomic buffer set (Qiagen, 以下のバッファーのセット、自作可能)

Buffer B1: 50 mM Tris-HCl pH 8.0, 50 mM EDTA pH 8.0,
0.5% (v/v) Tween 20, 0.5% (v/v) Triton-X100.

Buffer B2: 3 M guanidine hydrochloride, 20% Tween 20.

Buffer QBT: 750mM NaCl, 50 mM MOPS, pH 7.0, 15% (v/v) isopropanol,
0.15% (v/v) Triton X-100

Buffer QC: 1.0 M NaCl, 50 mM MOPS, pH 7.0, 15% (v/v) isopropanol

Buffer QF: 1.25 M NaCl, 50 mM Tris-Cl, pH 8.5, 15% (v/v) isopropanol

試薬

Tis-HCl pH 8.0 平衡化フェノール、クロロホルム:イソアミルアルコール (24:1 v/v) 混合液、エタノール、イソプロパノール、3M 酢酸ナトリウム、RNase A (100 mg/mL)、Lysozyme (100 mg/mL)、Proteinase K (20 mg/mL)、酵素類は -20°Cにて保存

手順

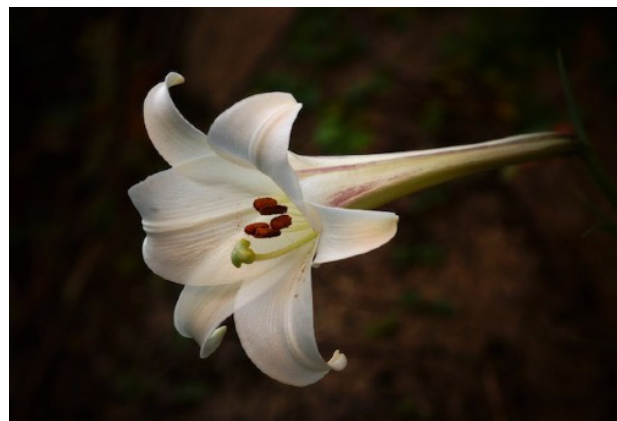
- 1, 細胞を培養し、50 mL チューブに遠心して回収する。細胞量は適当 (最大で数 g 程度投入も可能)。懸濁できないような塊状の細胞は、液体窒素下で乳鉢ですりつぶして粉末状にするとよい。
 - 2, 11 mL の Buffer B1 を加えて細胞を懸濁し、22 μL の RNase A 溶液、300 μL の Lysozyme 溶液、500 μL の Proteinase K 溶液を加えて、37°C で一晩静置培養。
 - 3, 4 mL の Buffer B2 を加え、50°C で 6 時間程度培養
 - 4, 15 mL の中性フェノールを加え、穏やかに振盪
 - 5, 最大遠心加速度で 15 min 遠心
 - 6, 上清を別の 50 mL チューブに移し、15 mL のクロロホルム:イソアミルアルコール混合液を加え、穏やかに振盪
 - 7, 最大遠心加速度で 15 min 遠心
 - 8, 上清を別の 50 mL チューブに移し、液量を測定。1/10 量の 3M 酢酸ナトリウムと 2.5 倍量の 99.5% エタノールを加えて穏やかに懸濁
 - 9, 最大遠心加速度で 15 min 遠心
 - 10, ペレットを 15 mL の 70% エタノールで洗浄、乾燥
 - 11, ペレットを Buffer QBT 2-3 mL に穏やかに懸濁
 - 12, Genome-tip 20/G を 1 mL QBT で平衡化し、上述のサンプルをロード。カラムが詰まった場合は、シリンジでゆっくりと下から吸引
 - 13, 1 mL の Buffer QC で洗浄 (合計 3 回)
 - 14, 1 mL の Buffer QF で溶出 (合計 2 回)
 - 15, 0.7 倍量のイソプロパノールを加え、よく混ぜ、4°C で最大遠心加速度で 15 min 遠心、上清を除く。
 - 16, 1 mL の 70% エタノールを加えて、遠心 10min、上清を除く。乾燥しすぎないように注意
 - 17, 100 μL の 10 mM Tris-HCl, pH 8.5 を加え、55°C で 1h 加温
 - 18, 精製した DNA は以下の 3 つの方法で純度の測定
 - A, 分光法 (Nano drop など) による定量 (ng/ μL)
 - B, 蛍光法 (Qubit BR assay kit など) による定量 (ng/ μL)
 - C, アガロースゲル電気泳動法
- A/B の値が 1-2 程度であれば、不純物が少ないと判断する。さらに C において、低分子の領域にバンドが見えなければ、分解のない長鎖の DNA が精製できたと判断する。

閑話休題 - その10 - 夏から秋にかけて咲く花々

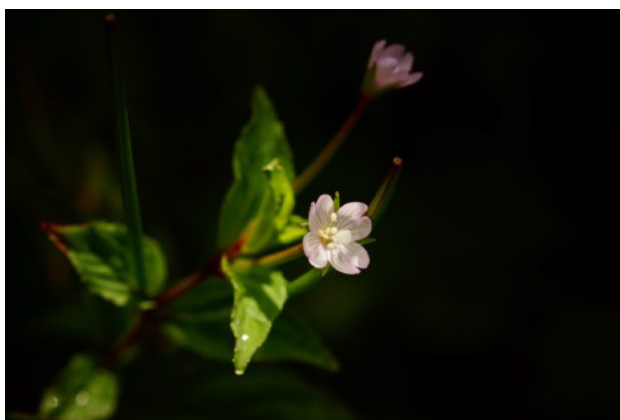
前号でも書きましたように、今年は新型コロナのため、8月末に伊吹山に出かけた他は神戸市内のあちこちで撮影しただけに終わりました。伊吹山ではオトギリソウ科で最も大きな花を咲かせるトモエソウを初めて見る事ができました。タカサゴユリは台湾からの帰化植物で、最近方々で大きな群落を作って咲いているのが観察されています。コウヤボウキは昔高野山でこの木の枝（コウヤボウキは小さな木です）を使って箒を作ったことに由来するのだということです。（磯野 克己）



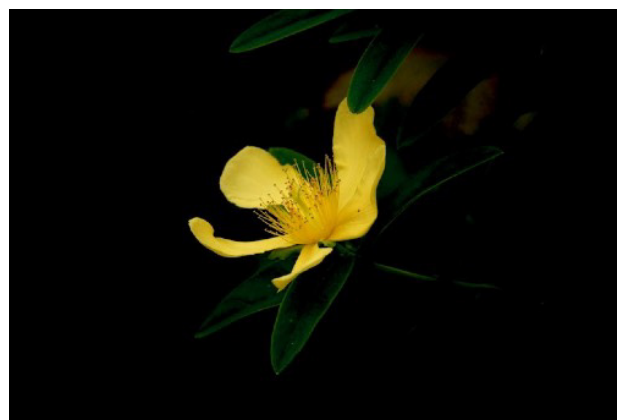
ヤブカンゾウ (ユリ科)
Hemerocallis fulva L. var. *kwanso* Regel
2020.7.19 神戸市



タカサゴユリ (ユリ科)
Lilium formosanum Wallace
2020.8.10 神戸市



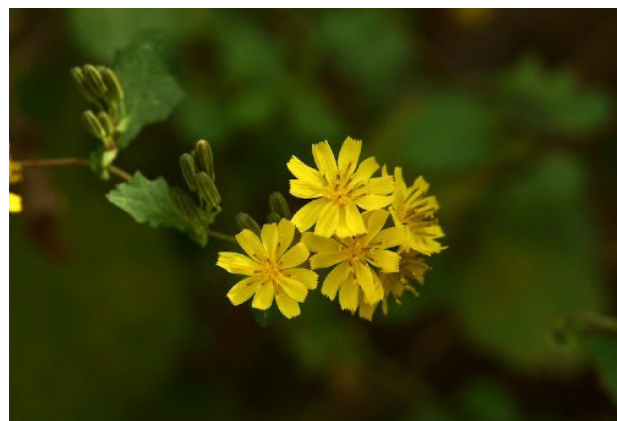
アカバナ (アカバナ科)
Epilobium pyrricholophum Franch. et Sav.
2020.8.31 伊吹山



トモエソウ (オトギリソウ科)
Hypericum ascyron L.
2020.8.31 伊吹山



コウヤボウキ (キク科)
Pertya scandens Sch. Bip.
2020.10.21 神戸市



ヤクシソウ (キク科)
Youngia denticulata Kitam.
2020.10.27 神戸市

学会の動向

第15回日本ゲノム微生物学会年会
「完全オンライン開催」のお知らせ

片山 勉

九州大学薬学研究院

第15回日本ゲノム微生物学会年会を2021年3月4日(木)~6日(土)の3日間、「完全オンライン」にて開催いたします。ハイブリッド開催についても可能性を残しておきましたが、新型コロナウイルスの感染が一定以上収まらないため、今回は完全オンライン開催といたします。感染状況は11月以降、却って拡大しつつあります。そのため今後いろんな社会状況が生じることも考え、できるだけ柔軟な参加形式となるようにしたいと思っております。

発表形式としては、従来の年会どおり、口頭発表とポスター発表を行います。口頭発表ではZoomを用いた「ライブ発表」となります。ポスター発表ではLINC BizとZoomを併用して「ライブ発表」を含めるようにし、いずれでも、「双方向同時コミュニケーション」ができるようにいたします。また特にポスター発表については「柔軟な発表形式」を取れるようにいたします。懇親会を行わない代わりに、夜の時間を活用したウェビナーの募集も行う予定です。発表演題登録(要旨等)も前回までと同じ形式になります。そのほか詳細につきましては、年会ホームページ(<https://bunsei.phar.kyushu-u.ac.jp/sgmj2021/>)にてお知らせして参ります。

今回は感染状況が動きつつあるなかでの難しい検討や本学会では初めてとなるオンライン開催のため、組織委員の皆様、オンライン開催検討委員会の皆様には、一方ならぬご尽力をいただいております。年会長として、この場を借りて心から御礼を申し上げます。また会員の皆様にも特別のご理解、ご協力をいただきましたら大変幸いです。そして開催の折には、できるだけ多くの方々に参加いただき有意義な時間を過ごしていただけますよう心から願っております。

第15回日本ゲノム微生物学会年会運営委員

(五十音順、敬称略)

年会長：片山 勉

組織委員：小椋 義俊、尾崎 省吾、川上 広宣、林 哲也

オンライン開催検討委員会：黒川 顕 (委員長)、小椋 義俊、河野 暢明、藤澤 貴智、吉田 健一

学会役員

会長：仁木 宏典

庶務・会計幹事：黒川 顕、相馬 亜希子

集会幹事：大島 拓、永田 裕二

広報幹事：黒川 顕、大西 康夫

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
男女共同参画幹事：佐々木 裕子、矢原 耕史評議員(会長推薦を含む)：饗場 浩文(評議会議長)、
跡見 晴幸、有田 正規、板谷 光泰、小椋 義俊、加藤 潤一、
高見 英人、中村 保一、丸山 史人、森 浩禎、吉田 健一、
渡辺 智、片山 勉、北川 正成、應 蓓文、得平 茂樹

会計監査：塩見 大輔、田中 寛

会員の動向

一般会員 331名、学生会員 130名、名誉会員 3名

賛助会員 10名、機関会員 1名

編集後記

編集委員の大坪です。ニュースレターをお読みいただき、ありがとうございます。先日、新作アプリ「SeqView」をApp Storeより無料公開しました(<https://apps.apple.com/jp/app/seqview/id1540402572?mt=12&ign-mpt=uo%3D4>)。DNA配列が2つ以上ある時に、お互いにどこどこが同じなのか、詳しく調べたい時があるのではないかと思います。SeqViewではDNA配列を二次元Viewの上で動かしたり、BLASTで比較したり、配列を検索して色を付けたり、ちょっとした情報(メモ程度)をつけたりできます。例えばイルミナシーケンシングのTruSeq Libraryの構成を描くことができます(図1)。お互いの関係が分かりやすいのではないかと思います。またPacBioでアセンブルした配列に、イルミナリードでアセンブルしたコンティグを貼付けることもできます。よろしければお試しください(大坪)。

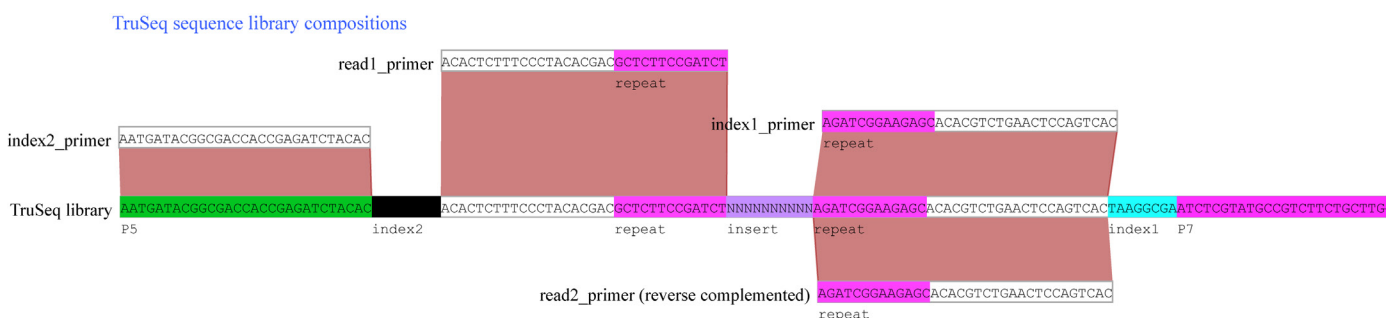


図1. SeqViewにて表示したTruSeqライブラリーの構成