

## 9つのバイオームにおける機能遺伝子のメタゲノムプロファイル

*Nature* 452, 629-632 (2008)

微生物はゲノムの可塑性により、近縁種間においても保有する遺伝子の種類に多様性が生じる。このため、代表株のゲノムや、16S rRNA 等の指標となる遺伝子のみに基づいた群集全体の代謝機能予測は信頼性に欠けるものとなる。メタジェノミクス研究では、環境中の遺伝子を網羅的に回収し分析することで、各遺伝子の相対的な存在量や、微生物群集全体の代謝機能予測を行うことが出来る。

本研究では、9つの異なった環境(地中、塩田、海洋、淡水、サンゴ、マイクロバイアライト、養殖魚、陸上動物、蚊、Fig. S1)から得られた微生物・ウイルス遺伝子配列(14,585,213個)を用いて、それぞれの環境における微生物群集の代謝機能予測を行った。

得られた配列を SEED データベース(2007年時)上の機能遺伝子と比較し、既知代謝経路との関連付けを行っている。

## ラン藻の光合成による CO<sub>2</sub> のイソブチルアルデヒドへの再利用

*Nat. Biotechnol.* 27, 1177-1180 (2009).

近年、セルロース由来のバイオエタノールや藻類のバイオディーゼルが CO<sub>2</sub> を捕捉して変換する有効な方法であると注目を浴びている。中でも藻類からのバイオディーゼル生成は、最も効率的なバイオ燃料生成法であると考えられているが、CO<sub>2</sub> を有益な燃料や化学物質に変換するにはいくつかの中間段階を経るため、生産コストが高くなるという問題がある。間接的に CO<sub>2</sub> を再利用する方法として、多くの藻類が有する水素生成能を利用する方法があるが、報告されている水素生成量はいまだ低い。もう一つのアプローチが、CO<sub>2</sub> を燃料や化学物質に直接変換する方法である。すでに光合成微生物を利用して CO<sub>2</sub> から直接エタノールを生成させた例があるが、低濃度のエタノールを分離するコストが大きな問題となっている。

生成された産物の回収効率は生産コストの重要な決定要因となる。そこで著者らは、イソブチルアルデヒドをターゲットとした。イソブチルアルデヒドは、沸点が低く蒸気圧が高いため培養液から容易に取り出すことができ、また現存する化学触媒作用で石油由来の様々な炭化水素に容易に変換することができる(Fig. 1)。特に、ガソリンの代替品として使用できるイソブタノールに変換することができるため、イソブチルアルデヒドは有益な供給原料であると言える。

本研究では *Synechococcus elongatus* PCC7942 に *Lactococcus lactis* 由来のケト酸脱炭酸酵素遺伝子を組み込みラン藻を用いたイソブチルアルデヒド生産を試みた。

***Staphylococcus aureus* の主要シグマ因子に結合および転写を阻害する  
ファージ G1 由来のポリペプチド  
*J. Bacteriol.* 191,3763-3771(2009)**

バクテリアでは、RNA ポリメラーゼ (RNAP) のコア酵素が  $\sigma$  因子と結合して RNAP ホロ酵素となり、この複合体がプロモーターに結合して転写が開始される。複数種の  $\sigma$  因子の中で、主要  $\sigma$  因子は、増殖に関係する遺伝子およびハウスキーピング遺伝子など、主だった多くの遺伝子の転写を担っている。転写における重要性ゆえに、 $\sigma$  因子は転写制御のターゲットとなることも多く、その制御手段の一つが anti- $\sigma$  因子による  $\sigma$  因子への結合を介した転写抑制である。本研究では、*Staphylococcus aureus* の主要  $\sigma$  因子  $\sigma^{SA}$  に作用して転写を抑制する、G1 ファージ由来のタンパク質 G1ORF67 の作用機構を調べている。

**微生物は環境変化を適応的に予測する  
*Nature* 460, 220-224 (2009)**

微生物は常に環境からの刺激に直面しており、周囲の刺激に対する個々の細胞の対応はいくつかのモデル生物で集中的に行われてきた。一般に生物は予測可能な環境では、先行する刺激を基にして環境変化を予測するような制御体制を取りうる。予測可能な環境とは、生物が“事象の関連”を掴むことができるような環境である。事象の関連を掴む能力の研究は“パブロフの犬”で知られるように多細胞性の真核生物で行われてきた。

本研究で著者らは微生物が連続する事象（刺激）の間に関連を見出しうるか検証した。著者らは連続する 2 つの刺激を S1 と S2 においてそれぞれに対応する反応を R1 および R2 とし S1 は R1 と R2 を活性化するが、S2 は R2 しか活性化しないような制御機構を持つ生物は適応的に環境変化を予測しうる、つまり、刺激（事象）の関連を掴むことができるという仮説の下で実験を行った。

嫌気性 CO 資化性菌 *Carboxythermus hydrogenoformans* 由来  
2つの膜関連 NiFeS-Carbon Monoxide Dehydrogenases に関する研究

*J. Bacteriol.* 183: 5134 (2001)

*Carboxythermus hydrogenoformans* は CO を唯一の炭素源として利用可能であり、気相を CO で培養した場合 H<sub>2</sub> を生産する好熱性 Carboxydophilic hydrogenogen である。この生物の代謝はほぼ CO のみに依存したものと推測されているが、現在のところその CO 代謝経路は不明な点が多い。CO 代謝における鍵酵素は Carbon monoxide dehydrogenase (CODH) と考えられているが、CODH の詳細な機能や代謝における役割については未知な部分が多い。そこで、著者らは *C. hydrogenoformans* における CO 代謝の全容を解明するため、CODH に注目し、その性状や局在を調べて CODH の機能を推定している。

熱水噴出孔から分離された古細菌による 92°C での窒素固定

*Science* 314, 1783-1786 (2006)

中央海嶺深海底熱水噴出物中の硝酸およびアンモニア濃度が低いこと、固定窒素が海底下に生息する微生物群集の制限要因である可能性が示唆されている。熱水噴出物に溶存窒素は豊富に含まれ、その周辺の低栄養段階動物の <sup>15</sup>N/<sup>14</sup>N 比が固定窒素の <sup>15</sup>N/<sup>14</sup>N 比よりも低いことから、深海底熱水孔において生物による窒素固定が行われていることが提唱されていた上、窒素固定の鍵酵素ジニトロゲナーゼレダクターゼをコードする *nifH* が熱水噴出物から検出されていた。しかしながら、深海底熱水噴出物から分離された微生物で窒素固定を行う例は未だ報告されていない。そこで著者らは、深海底熱水噴出物から N<sub>2</sub> を唯一の窒素源として増殖可能なジアゾトロフメタン菌を分離した。本菌は 92°C において窒素固定を行い、生物による窒素固定のこれまでの上限温度を 28°C 引き上げた。

比較プロテオミクスによって明らかになった  
海洋細菌 *Roseobacter denitrificans* OCh114 のファージ耐性

*Curr Microbiol* 61:141-147 (2010)

海洋環境において、ウイルスは最も量が多く多様性に富んだ生物であり、そのほとんどが細菌に感染するファージであると考えられている。ファージは細菌への感染を通じて微生物ループや生物地球科学的循環、微生物集団の構造に影響を与えるため、ファージと細菌間の相互関係を理解することは重要である。一方、いくつかの細菌でファージの吸着阻害、DNA 侵入阻害、制限修飾、不稔感染、CRISPR などによるファージ耐性の獲得が観察されており、このようなファージ感染と宿主の防御が繰り返されることにより共進化が促進されてきた。

著者らは、海洋沿岸域の優占系統であり酸素非発生型の光合成を行う *Roseobacter denitrificans* OCh114 とそのファージ RDJLΦ1 の相互関係についての知見を得るため、RDJLΦ1 に対して耐性となった変異株 M1 を分離し、野生株 OCh114 と耐性変異株 M1 の比較プロテオミクスにより耐性獲得メカニズムについて研究している。

*Bacillus subtilis* における transition state regulator AbrB とそのホモログ  
Abh のゲノムへの結合プロファイリングから見る転写制御時の相互作用的役割

*Nucleic Acids Res* 39: 414-428 (2011)

生物は自己の増殖に不利な環境や定常期に際して、その環境に適応し生き残るためにオルタナティブな代謝経路を立ち上げる。この代謝経路に関わる遺伝子の誘導を行うのは transition state regulators と呼ばれる転写因子である。多くのバクテリアのゲノム解析の結果、実に 30 以上もの AbrB (Antibiotic Resistance protein B) クラスとよばれる transition state regulators がバクテリア、アーキアに広く存在していることが明らかとなってきた。中でも *Bacillus subtilis* の AbrB の機能は研究が進んでおり、60 以上の遺伝子の抑制・誘導に関与するとされている。

筆者らは *Bacillus* において AbrB とそのホモログである Abh の DNA 結合領域がオーバーラップすることから、これらのタンパク質が協調して転写因子として機能している可能性を検証している。

## 古細菌由来 type III RuBisCO は AMP 代謝に関与する

*Science* 315, 1003 (2007)

Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase oxygenase (RuBisCO)はカルビンベンソンサイクル (CBB サイクル)において CO<sub>2</sub> 固定反応を担う、本経路の鍵酵素であり、植物、藻類、独立栄養性の細菌、Archaea まで幅広く分布が確認されている。RuBisCO は現在、type I-IV に分類されており、type I と II は CBB サイクルに関与する典型的な RuBisCO、対して type IV は RuBisCO like protein と呼ばれており、構造は I, II と類似しているものの、I, II とは活性中心の残基が異なっており、CBB サイクルではなくメチオニンサルベージ経路(Fig. S1)等に関与すると考えられている。Type III は Archaea においてのみ確認されており、type I, II と構造が類似していることに加え、ribulose-1,5-bisphosphate (RuBp) carboxylase-oxygenase 反応 (RuBisCO の担う反応)を触媒するのに必要な残基を全て有している。その機能に関して、現在のところ Archaea において機能を有する CBB サイクルは確認されていない、特に、RuBisCO に基質である RuBp を提供する、CBB サイクルのもう 1 つの鍵酵素 phosphoribulokinase ホモログが Archaea のゲノムにおいて検出されておらず、Archaea における RuBisCO の機能は不明である。そこで著者らは先行研究において type III RuBisCO の生化学的研究が行われた *Thermococcus kodakaraensis* を用いて、type III RuBisCO の機能推定を行っている。

## 微生物群集におけるウイルス个体群のダイナミクスと ウイルス抵抗性の獲得

*Science* 320, 1047-50(2008)

著者らはこれまでに、鉄鉱山の排水から採集した好酸性バイオフィルムについて、ショットガンシーケンス法によるメタゲノム解析を行い、優占種である *Leptospirillum* Group II および Group III、ならびに *Thermoplasmatales* に属する I-, E-, G-, A-plasma についてほぼ完全なゲノムをアセンブルしている。本研究では以下に示す方法 (Fig. S1) で、メタゲノムデータからウイルス个体群のゲノム (完全長もしくは断片) を回収・再構成し、その進化について解析を行っている。

## 海洋窒素循環において重要な単細胞性窒素固定型ラン藻である

### *Cyanothece* 51142 のゲノム解析

*Proc. Natl. Acad. Sci.* 105:15094-9 (2008)

海洋環境において、窒素固定は、大気中から窒素を生態系中に取り込む重要な代謝過程である。窒素固定を触媒するニトロゲナーゼは酸素への暴露により失活するが、一部のシアノバクテリアは酸素発生型の光合成と窒素固定を同一細胞内で行うことができる。*Cyanothece* 属のシアノバクテリアはこの一見相反した代謝過程を、昼夜で代謝過程を切り替えることで可能としている。本研究では、*Cyanothece* ATCC 51142 株の全ゲノム配列を決定し、遺伝学的な側面からこの単細胞性窒素固定シアノバクテリアの生化学的・生理学的適応の解明を試みた。

## 遺伝子組み換えラン藻による脂肪酸の生成

*Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 108, 6899-6904 (2011)

クリーンで持続可能なバイオ燃料を開発することは、地球の気候変化やエネルギー不足、そして化石燃料の枯渇のため、急務となっている。そこで光合成微細藻が、太陽エネルギーの変換や CO<sub>2</sub> のリサイクルによって効率的に燃料を生成し、しかも食料生産と競合しないため注目を集めている。近年では、顕著にトリアシルグリセロール(TAG)を生産するオイル生産性の藻類がバイオ燃料生成の主流となっているが、微細藻による TAG の生産には環境ストレスが必要であり、そのことが系の複雑かつ費用のかかる原因となっている。

これまでの藻類やラン藻による燃料生成においては、藻体量そのものがバイオ燃料生産力の判断基準のひとつであった。また細胞から脂質を得るには抽出の過程が必要で、本過程で全体の 70~80%の費用がかかる。このステップを省略するために、著者らは持続的に遊離脂肪酸(FFA)を培養液中に分泌する組換えラン藻の作出を試みた(Fig. 1)。

海洋性シアノファージと多様な宿主および  
環境由来の T4 様ファージとのゲノム比較解析  
*Environmental Microbiology* 12(11), 3035–3056(2010)

海洋環境に遍在している T4 様ミオウイルスの中で、*Prochlorococcus* や *Synechococcus* などの海洋性シアノバクテリアに感染する T4 様シアノファージが数多く報告されている。これらのシアノファージのゲノム上には宿主に由来する遺伝子が存在しており、一部は感染時に宿主内で発現していることがわかっている。これらの宿主由来の遺伝子は、シアノファージが宿主や環境に適応し、進化するために必要であったと考えられているが、その多くは機能が謎のままである。そこで、本研究では、26 種の T4 様ファージ[16 種の海産シアノファージと 10 種のシアノバクテリア以外に感染するバクテリオファージ(以下、非シアノファージ)のゲノムを比較解析し、T4 様ファージにおけるシアノファージの特徴付けを行うことで、シアノファージの生態や進化の解明を試みた。

まず著者らは 16 種のシアノファージゲノムのアノテーション情報を詳細に示した(Fig. 1)。2 種の例外を除き、シアノファージのゲノムサイズは 174~196 kb だった。しかし、ファージのゲノムサイズの相違とそのファージの宿主との間に関連性は見られなかった。一方、26 種の T4 様ファージゲノム上には、共通して存在する 38 個のコア遺伝子が存在し、それらの遺伝子のシンテニーはかなり保存されていた(Fig. 2、Fig. S2)。

近縁な細菌と古細菌のゲノム比較によって明らかになった原核生物の進化傾向  
*J. Bacteriol.* 191: 65-73(2009)

小進化とは種内で起こる進化現象で、異なるゲノム配列に対して異なる選択効果が働くという進化メカニズムを理解するために(議論の余地はあるものの)間違いなく中心となる現象である。これまでの小進化の研究には、複数の近縁ゲノムが明らかである *Escherichia coli* などが用いられてきた。しかしながら近年解読された細菌と古細菌の全ゲノム配列数は急速に増加し、多数の近縁種のゲノム比較をすることで小進化についてより詳細にアプローチできる可能性がある。そこで著者らは、近縁種のゲノムからなる **Alignable Tight Genome Clusters (ATGCs, TABLE 1)**を構築し小進化の傾向を調査した。

誘導適合と熱安定性の構造基盤を示す *Thermus thermophilus* HB8  
由来 ATP 依存型ホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼの構造  
*Acta Crystallographica. D61*, 1500-1507 (2005)

Phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK) は、既存の生物群の殆どに広く分布する酵素である。PEPCK は ATP 若しくは GTP を用いて、オキサロ酢酸の可逆的な脱炭酸とリン酸化を触媒し、phosphoenolpyruvate (PEP) と CO<sub>2</sub> を生成する。哺乳類において、PEPCK は糖新生において中心的な役割を果たす。

ATP 依存型 PEPCK に関して、これまでに中温性の *Escherichia coli* と *Trypanosoma cruzi* 由来の結晶構造解析が報告されている。GTP 依存型を含めても、中温生物由来の立体構造のみが決定されており、好熱生物由来 PEPCK の構造については報告が無い。好熱生物由来 PEPCK と既報の中温生物由来 PEPCK の構造を比較することにより、蛋白質安定化の機構についての情報が得られると考えられる。

蛋白質の耐熱性に関しては、これまでに多数の結晶構造に基づき、幾つかの因子が提唱されており、それらには密な折り畳みや中心部の疎水性、水素結合、そしてイオン対や塩橋などが含まれる。それらの報告は特定の蛋白質の熱安定化因子を解明するためには、それぞれの三次元構造をそのオルソログと比較することが必要であることを示している。

この論文において筆者らは、*Thermus thermophilus* HB8 由来 PEPCK (*Tt*PEPCK) の立体構造を好熱生物由来のものとして初めて決定し、*Tt*PEPCK を中温性の *E. coli* 由来 PEPCK (*Ec*PEPCK) や *T. cruzi* 由来 PEPCK (*Tc*PEPCK) と比較することにより、PEPCK の熱安定性機構に対する考察を行っている。