

令和6年度グラム陽性菌ゲノム機能会議

要旨集



令和6年8月23日(金)・24日(土)

長野市若里市民文化ホール

令和6年度グラム陽性菌ゲノム機能会議 プログラム



令和6年度グラム陽性菌ゲノム機能会議

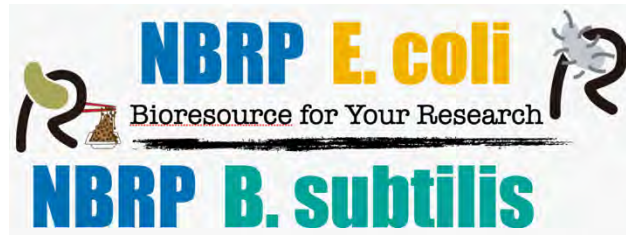
会期 令和6年8月23日(金)～8月24日(土)

会場 若里市民文化ホール



令和6年度グラム陽性菌ゲノム機能会議実行委員会
片岡正和 (信州大) 大会長
仲宗根薫 (近畿大) HP: 賞担当
深澤憲子 (信州大) 事務局担当
信州大学生命科学研所属学生 いろいろ

主催



RCAM
Renaissance Center
for Applied Microbiology

協賛



KaO

きれいを ところに 未来に



発酵バレー
NAGANO

大会概要

大会日程 2024年(令和6年)8月23日(金)・24日(土)

会場 長野市若里市民文化ホール(長野市若里 3-22-2)
ホール(口頭発表, 特別講演)
2F 会議室1~3(ポスター発表)

参加費

(講演要旨集はpdfで配布)

正会員 5,000 円

学生会員 2,000 円

懇親会 9月7日(木)17時30分~20時 信州大学工学部生協
正会員 5,000 円
学生会員 3,000 円

大会事務局 信州大学 工学部 片岡研究室内(生命科学)
〒380-8553 長野県長野市若里 4-17-
1 E-mail gpbgf2014-m1@shinshu-u.ac.jp
携帯: 09065672693 (片岡)

各種ご案内

開場 会場となる若里市民文化ホールは8時30分から入場できます。

口頭発表

8月23日（金）・24日（土）

発表時間

シンポジウム 24分(発表20分, 質疑応答4分, 交代・接続1分)

一般 15分(発表12分, 質疑応答3分, 交代・接続1分)

若手 6分(発6, 質2) or 10分(発10, 質2) or 15分(発12, 質3) 全て交代・接続1分

若手枠は24日午前中

ポスター発表

8月23日（金）13:00～14:00 ・24日（土）11:40～12:20

会場

2F 会議室1～3

パネルサイズ 幅 900 mm × 高さ 1,800 mm

掲示 23日（金）9時45分以降に展示してください。画鋏は事務局で用意します。

撤去 24日（土）ポスターセッション終了後12時40分までに撤去してください。

ポスター分類 PC:若手, PT:トライアル, PG:一般 番号は連番です

昼食

会場周辺にはレストランがいくつかあるほか、隣接した場所にショッピングモールがあり(徒歩1分)、お弁当、パン、コーヒーなどを入手できます。

ホール客席内は飲食禁止です。第4会議室は飲食討論可能です。

懇親会

会場は信州大学生協です。次頁地図参照(会場より徒歩10分以内)

喫煙

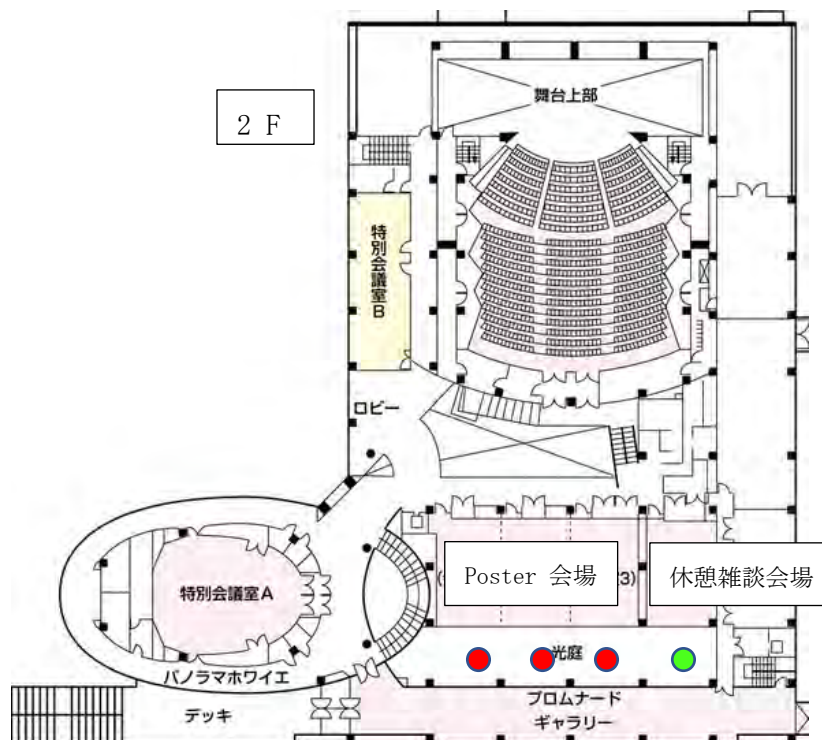
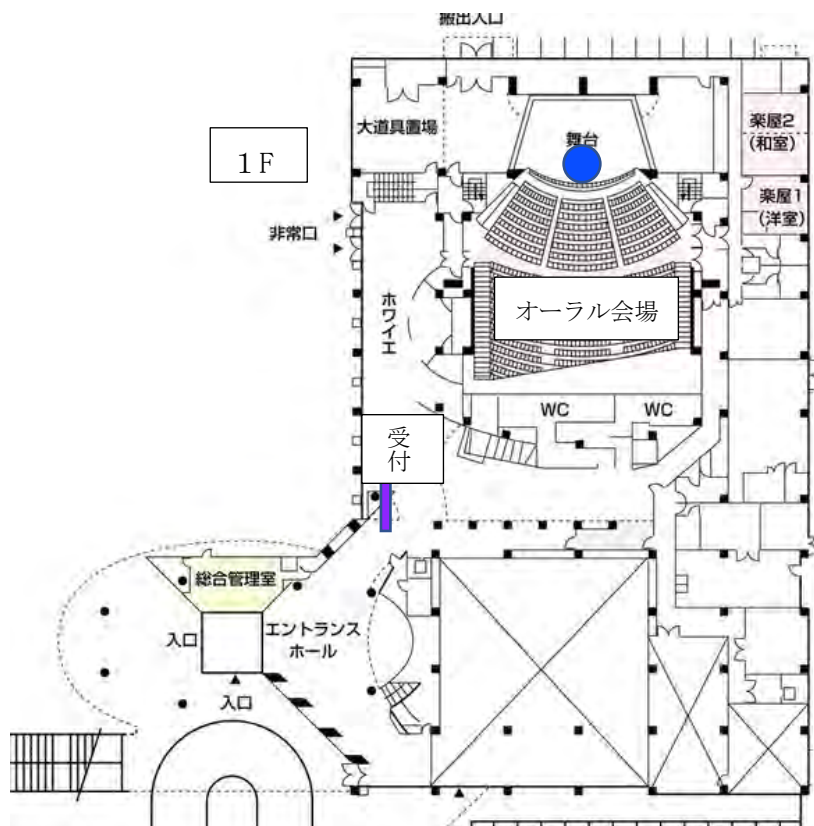
会場内は全面禁煙

懇談散歩会

8月24日（土）15時に大会終了後、エクスカージョンを実施する予定です。若里文化ホールを出て、善光寺参拝と周辺散策をし、17:30に善光寺を出て18:00には長野駅へお送りします。皆様ふるって御参加下さい。なお、このエクスカージョンは 長野コンベンションビューロー様の助成によるものです。

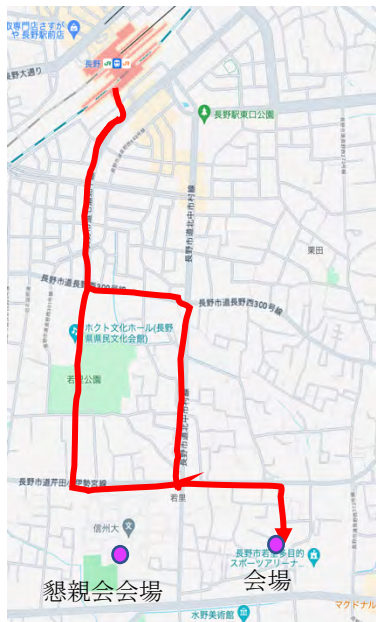
会場内見取

若里文化ホール内



会場 若里文化ホール(ビッグハットのとなり)

長野駅より 徒歩約 20～25 分程度 タクシー10 分 (混まなければ)



バス

アルピコ交通

長野駅善光寺口 (2 番のりば) ～日赤・松岡線「ビッグハット前」
下車徒歩 1 分

路線番号：21 番「松岡・サンマリーン・大塚南」

[時刻表・運賃はこちら](#)

長電バス

長野駅善光寺口 (4 番のりば)、長野駅東口 (1 番のりば) ～保科
温泉線「ビッグハット」下車徒歩 1 分

長野駅東口 (1 番のりば) ～日赤・水野美術館線「水野美術館」下
車徒歩 3 分

路線番号：14 番「保科温泉線」15 番「日赤線」

[時刻表・運賃はこちら](#)

 お車でお越しの方

- ・長野 I.C. もしくは須坂長野東 I.C. から 20 分
- ・国道 18 号線上千田交差点から西へ 500m
- ・国道 117 号線荒木交差点から東へ 1000m

駐車場は若里文化ホール前の駐車場をお使いください。駐車場入ってすぐに右側のスペースです

会場から懇親会場までは徒歩10分以内 (学生が先導します)

懇親会後の長野駅へは徒歩15～20分程度(若里公園コース) あるいはタクシー

Taxi の場合

長野タクシー 026-244-2222

中央タクシー 026-282-7777

長野観光 026-222-1234

レストランマップ

お弁当の方はポスター会場横会議室第4会議室などホール以外をご利用ください

赤字はお薦めですが、Kenzoとか阿吽は混んでるかも。



隣がスーパーなのでお弁当なども買えます。

座長表

8月23日(金)	
01A-1~01A-4	仲宗根 薫
01A-5~01A-7	金子 真也
S-1~S-3	片岡 正和
S-4~S-5	朝井 計
8月24日(土)	
02A-1C~02A-5C	手塚 武揚
02A-6C~02A-10C	小谷 真也・松岡 聡
02P-1~02P-5	古園 さおり・相馬 亜希子

座長の先生方へのお願い

タイムキーパーが一人つきます。講演間は1分間の切り換え時間を想定してありますが、質疑時間修了が迫ってる場合は、短くても終了して下さい。判断はお任せします。ベルの時間は

一鈴：発表終了二分前

二鈴：発表修了時

三鈴：質疑終了

手塚先生のところは6分発表が2名、10分発表が2名、12分発表が1名です。すこし煩雑なのでお一人の担当とさせていただきました。申し訳ありませんが宜しくお願いします。二人座長のセッションではお二人で相談して下さい。

よろしくおねがいします。

大会長

令和6年度グラム陽性菌ゲノム機能会議プログラム

8月23日(金) 9時30分：受付開始

10時00分：開会の辞

10時05分：一般講演（座長 仲宗根薫）

01A-1 枯草菌を用いたGap Repair Cloning 法

○金子真也¹、相澤康則^{1,2}

（¹東工大・生命理工、²神奈川県立産業技術総合研究所）

01A-2 細胞内ポリマー合成は、ホスト細菌にとって“ストレス”か？

～メンブレンベシクル発生現象からの考察～

○高 相昊¹、田口 精一^{1,2}

（¹神戸大院科学技術イノベーション研究科、²神戸大先端バイオ工学研究センター）

01A-3 *Streptomyces*属に高度に保存されるNAP様蛋白質遺伝子*ccr1*の解析

○浅水 俊平^{1,2}、レイ ユクン²、尾仲 宏康^{2,3}

（¹神戸大・先端バイオ、²東大院・農、³学習院大・生命科）

01A-4 ミニマルセルを用いた生命機能の解析

○柿澤茂行

（産業技術総合研究所・生物プロセス研究部門）

11時08分：休憩

11時15分：一般講演（座長 金子真也）

01A-5 A positive exploration of gram-negative biofilms

○ Martin Robert

（京都大院 薬学研究科 システム微生物学）

01A-6 非結核性抗酸菌のリファンピシン自然耐性メカニズムの解明

澤井宏太郎、望月達矢、藤山明日翔、篠原基子、○港雄介

（藤田医科大 感染症研究センター）

01A-7 「Ultra transformation system」を用いた枯草菌tRNAの研究

○相馬亜希子¹、高地司¹、河村富士夫^{1,2}、山川律穂¹、赤沼元気³、

大久保雄馬¹、中山慶人¹

（¹千葉大・園芸、²立教大・理、³城西大、理）

12時02分：昼休み

13時00分：ポスター発表～

下記時間はポスター説明にいて下さい

奇数番号 ~13:30

偶数番号 13:30~

1 4時05分：特別講演会：微生物遺伝学を次世代へ紡ぐ

(RCAM主催・一般開放) (座長 片岡正和・朝井計)

S-1 生物の潜在能力を探る——クラシック遺伝学を土台として

○越智幸三

(元 独立行政法人食品総合研究所)

S-2 放線菌 *Streptomyces* 属は線状レプリコンがお好き？

○池田 治生

(次世代天然物化学技術研究組合)

S-3 Genome研究から学び、システム生物学の展開、そして今後は？

○森 浩禎

(Guangdong Academy of Agricultural Sciences)

1 5時25分：休憩

1 5時35分

S-4 「Ultra transformation (U_Tf) system」

○河村富士夫

(千葉大・園芸、立教大)

S-5 必要は発明の母、枯草菌ゲノムでの合成、移動システムは発明だった

○板谷光泰

(信州大学)

1 6時30分：協賛会社・団体によるお知らせ (進行 片岡正和)

長瀬産業株式会社

花王株式会社

長野発酵バレー

1 7時00分：休憩・移動

1 7時30分：懇親会 於いて 信州大学工学部食堂

8月24日(土) 8時45分：受付開始

9時15分：学生・若手講演 (座長 手塚武揚)

(題目のカッコは12分以外の発表の発表時間)

02A-1C 粘液細菌 *Cystobacter ferrugineus*の生合成遺伝子を用いたランチペプチドの異宿主生産 (6)

○秋山東香, 小谷真也
(静岡大・農)

02A-2C Development of a low-cost imaging system to capture gene expression dynamics in *E. coli* biofilms (6)

○酒井隆之介, 趙一帆, Martin Robert¹
(京大 薬学研究科 システム微生物学)

02A-3C 大腸菌-枯草菌間接合伝達での*oriT*最小領域の特定及びTraKの関与 (10)

○神崎 泰輝, 猪又 俊輔, 深田 悠太, 片岡 正和
(信州大院 生命医工)

02A-4C 枯草菌細胞内pH調節関連遺伝子の網羅的探索 (10)

○倉川尊¹ 福田絃子¹ 森浩禎² 中嶋幹男³ 片岡正和¹
(¹信州大院 生命医工, ²広東省農業科学院, ³Freelance)

02A-5C 新規ランチペプチドnocardiopeptinの異宿主生産

○小林稜、齋藤慧太、小谷真也
(静岡大院 総合科学技術研究科 農学)

10時14分：休憩

10時20分 (座長 小谷真也・松岡聡)

02A-6C 希少放線菌*Actinoplanes missouriensis*におけるsortaseにより細胞壁に局在する細胞表層タンパク質に関する研究

○譚 鏗文¹、手塚 武揚^{1,2}、大西 康夫^{1,2}
(¹東大院・農生科・応生工、²東大・微生物イノベーション連携機構)

02A-7C 枯草菌SigV-Rsiv系を利用した膜パラメーターセンサーの創出

○関 貴洋¹、梅野太輔^{1,2}
(¹早稲田大 理工学術院総合研究所, ²早稲田大 先進理工学部)

02A-8C 放線菌*Streptomyces durhamensis*の生合成遺伝子を用いたランチペプチドの異宿主生産

○次本毬乃、齋藤慧太、小谷真也
(静岡大院 農)

02A-9C 希少放線菌*Actinoplanes missouriensis*の孢子囊膜形成に関わる遺伝子
*AMIS_66880-66890*の発見と機能解析

○伊藤 颯人¹、手塚 武揚^{1,2}、大西 康夫^{1,2}

(¹東大院・農生科・応生工、²東大・微生物イノベ連携機構)

02A-10C 枯草菌におけるS-アデノシルメチオニン代謝とリボソーム生合成との関連性の解析

○大坂 夏木¹、朝井 計²、田中 寛¹

(¹東工大・科学技術創成研究院、²東京農大院・バイオサイエンス専攻)

1 1時40分：ポスター発表

1 2時20分：ポスター終了 撤去

1 2時20分：昼休み

1 3時00分：全ての発表賞投票締め切り

1 3時30分：一般講演（座長 古園さおり・相馬亜希子）

02P-1 Pgsコンポーネントに着目した組換え枯草菌を用いたポリグルタミン酸（PGA）生産

○澤田和久^{1,2}、萩原浩¹、瀧村靖¹、片岡正和²

(¹花王（株）生物科学研究所、²信州大院総合医理工)

02P-2 偏性嫌気性孢子形成菌のモデル生物として*Clostridium sporogenes*のススメ

○桑名利津子¹、Bruno Dupuy²、Isabelle Martin-Verstraete²、高松宏治¹

(¹摂南大 薬学部、²Institut Pasteur)

02P-3 希少放線菌*Actinoplanes missouriensis*の孢子囊形成に関わる遺伝子*smpB*の機能解析

○手塚 武揚^{1,2}、前田 聡史¹、光山 京太¹、大西 康夫^{1,2}

(¹東大院・農生科・応生工、²東大・微生物イノベ連携機構)

02P-4 高感度プロテオーム解析とGFP融合タンパク質の蛍光顕微鏡観察を組み合わせた枯草菌孢子タンパク質の同定

桑名利津子¹、田岡万悟²、市村徹³、○高松宏治¹

(¹摂南大 薬学部、²首都大学東京院 理工学、³防衛大学校応用化学)

02P-5 枯草菌バイオセンサーで既知天然物質の抗菌作用を解析する

○朝井 計、柴山 莉奈、丸茂 美鈴

(東京農業大・バイオサイエンス)

1 4時40分：授賞式・閉会の辞 そののち遠足

ポスター発表

区分 PC:若手発表 PT:トライアル PG:一般 番号は連番

8月23日(金)13時-14時 前半奇数 後半偶数(基本的に)

8月24日(土)11時40分-12時20分 発表番号指定無し ご自由に討論下さい

- PC-1 *Corynebacterium glutamicum*におけるGDHとGOGATの機能的相互作用
○山本純子¹, 塩入真優¹, 古園さおり^{1,2,3}, 西山真^{1,2}
(¹東大院・農生科, ²東京大学CRIIM, ³理研CSRS)
- PC-2 *Sporichthya*属放線菌のユニークな増殖様式に関する研究
○郭 心哲¹, 竹下 典男², 加藤 遼³, 手塚 武揚^{1,4}, 大西 康夫^{1,4}
(¹東大院・農生科・応生工, ²筑波大・生命環境系・MiCS, ³阪大院・基礎工学
研究科, ⁴東大・微生物イノベ連携機構)
- PC-3 *Clostridioides difficile*由来メンブレンベシクルを用いた宿主免疫調節
○勇陽太郎¹, 奥田真由¹, 尾花望^{2,3}, 野村暢彦^{3,4}
(¹筑波大院 生命地球科学 生物資源科学, ²筑波大 TMRC,
³筑波大 MiCS, ⁴筑波大 生命環境)
- PC-4 米ぬか摂取マウスからの大腸炎抑制性腸内芽胞菌の単離
○沖 梨咲子¹, 田中一己²⁻⁴, 野村暢彦^{5,7}, 尾花 望^{6,7}, 福田真嗣^{2-4,6-8}
(¹筑波大 生命環境 生物資源科学, ²慶應義塾 先端生命研, ³神奈川県立産業技
術総合研究所, ⁴順天堂大院 医学研究科, ⁵筑波大学生命環境系, ⁶筑波大
TMRC, ⁷筑波大 MiCS, ⁸株式会社メタジェン)
- PC-5 腸内環境で発現が上昇する*Ruminococcus gnavus*の遺伝子機能解析
○芦名 琉¹, 野村 暢彦^{2,3}, 尾花 望^{3,4}, 福田 真嗣³⁻⁸
(¹筑波大 生命環境 生物資源科学類, ²筑波大 生命環境, ³筑波大 MiCS, ⁴筑波
大 TMRC, ⁵慶應義塾 先端生命研, ⁶神奈川県立産業技術総合研究所 ⁷順天堂大
院 医学研究科, ⁸株式会社メタジェン)
- PC-6 枯草菌集団中における細胞壁を失った細胞の解析
伊神光恵¹, 永久保利紀^{2,3}, 野村暢彦^{2,3,4}, 豊福雅典^{2,3}
(¹筑波大・生物資源、²筑波大・生命環境、³筑波大・MiCS、⁴筑波大・
TARA)
- PC-7 クロストリジウム綱から見つかった翻訳アレスト因子Climの解明
○吉田真悠¹, 藤原圭吾², 高田啓³, 千葉志信¹
(¹京都産業大学・生命科学研究科、²遺伝研、³富山県立大)
- PC-8 *Brevibacillus*属由来のアレストペプチドの機能解析
○小笠原優大¹, 藤原圭吾², 高田啓³, 千葉志信¹
(¹京産大・生命科学研究科, ²遺伝研, ³富山県立大学)

- PC-9 枯草菌翻訳アレスト因子YwcIの機能解析
○佐野 桃加¹、藤原 圭吾²、千葉 志信¹
(¹京産大・生命科学、²遺伝研)
- PC-10 枯草菌におけるヘリオバクテリア光合成遺伝子クラスターの導入と異種発現
○天野 克海¹、浅井 智広²、河合繁³、高橋 裕貴¹、荷村 かおり¹、
塚谷祐介⁴、板谷 光泰³、朝井 計¹、渡辺 智¹
(¹東農大生命、²中央大理工、³豊橋技科大、⁴JAMSTEC、⁵信州大工)
- PC-11 枯草菌孢子形成細胞を利用したタンパク質発現系
○岩田晴伍²、今村大輔¹、佐藤 勉^{1,2}
(法政大学・生命科学部、理工学研究科)
- PC-12 放線菌培養中における酸添加による二次代謝産物への影響
○小林美潤 土屋悠平 片岡正和
(信州大院 生命医工)
- PC-13 放線菌 *Streptomyces* 属細菌間における染色体移行効率の向上
○小林祐作 溝脇朱音 片岡正和
(信州大院 生命医工)
- PC-14 好アルカリ性細菌 *Bacillus halodurans* C-125への遺伝子導入法の開発
○村田禎浩 山本純子 片岡正和
(信州大院 生命医工)
- PC-15 セルロース繊維が枯草菌の繊維状化細胞に与える影響
○東元勇斉、吉田健一、Chumsakul Onuma、石川周
(神戸大院・科学技術イノベーション研究科・微生物機能化学研究室)
- PC-16 アセチルCoAセンサーを用いた増殖阻害を回復するフィードバック制御法の開発
○清水俊佑、大橋咲予¹、吉田健一¹、石川周¹
(¹神戸大院・科学技術イノベーション)
- PC-17 枯草菌孢子表層での耐熱性セルロソームの構築
○宮崎智也、吉田健一、石川周
(神戸大院・科学技術イノベーション研究科・微生物機能化学研究室)
- PC-18 *Klebsiella pneumoniae* 9-3B フィターゼのpH特性の改変
○山本 真輔、吉田健一、石川周
(神戸大院 科学技術イノベーション研究科)
- PT-19 形質転換の遺伝子的基盤を特定する
～枯草菌と納豆菌である中間株（納枯株）のマルチプロファイリング～
○松本美亜^{1,2}、竹川瑠華^{2,3}、河野暢明^{1,2,4}
(¹慶應義塾 環境情報 ²慶應義塾 先端生命研 ³慶應義塾 総合政策 ⁴慶應義

塾大院 政策・メディア)

- PT-20 **実験室進化における*Bacillus subtilis*のrrn回復配置規則性：遺伝子量効果が遺伝子配置に与える影響力とは**
○竹川瑠華^{1,2}、藤本悠人^{2,3}、大坂夏木⁵、河野暢明^{2,3,4}
(¹慶應義塾 総合政策 ²慶應義塾 先端生命研³ 慶應義塾 環境情報 ⁴慶應義塾大院 政策・メディア)
- PT-21 **枯草菌プロファージSPβの溶菌・溶原化選択の可視化**
○山下高輝 佐藤勉 今村大輔
(法政大 生命科学 生命機能)
- PT-22 **枯草菌糖脂質欠損株の膜透過性異常に関係する遺伝子の解析**
○長沼柚希¹、岡戸智明²、松岡聡²
(¹埼玉大 理 分子生物、²埼玉大院 理工学)
- PT-23 **納豆菌の線虫寿命延長効果の確認～宮城野株と高橋株の違いについて～**
○小野智行、朝井計
(東京農大 バイオサイエンス 細胞ゲノム生物学)
- PT-24 **in vivoにおける、SFBによる宿主の免疫機能活性メカニズムの解明**
○清水 佑名¹、田中 滉起¹、小椋 義俊²、桑原 知巳³、朝井 計¹
(¹東京農大 バイオサイエンス、²久留米大 医、³香川大 医)
- PT-25 **細菌種間におけるDNA複製開始機構の保存性の解析**
○小山瞳子、大串航世、渡辺智、朝井計
(東京農大 バイオサイエンス 細胞ゲノム生物学)
- PT-26 **納豆菌のゲノム編集によるナットウキナーゼの耐熱化と遺伝育種**
○大塚陸、須田和奏、朝井計
(東京農大 バイオサイエンス 細胞ゲノム生物学)
- PT-27 **枯草菌とSFBの孢子形成関連遺伝子の置換による機能比較解析**
○遠藤悠月¹、荻野竜司¹、田中滉起¹、小椋 義俊²、桑原 知巳³、朝井 計¹
(¹東京農大 バイオサイエンス、²久留米大 医、³香川大 医)
- PT-28 **枯草菌IMPDPH(GuaB)の新規制御機構・機能の解析**
○豊田結衣、湯木就久、田邊彩葵、朝井計
(東京農大 バイオサイエンス 細胞ゲノム生物学)
- PT-29 **酸性条件下での大腸菌細胞内pH調節遺伝子の探索**
○寺中朔美¹ 小林美潤² 片岡正和²
(¹信州大 工 物質、²信州大院総理工)
- PT-30 **枯草菌細胞内pH調節関連遺伝子の選定の試み**
○内垣諄哉¹ 倉川尊² 森浩禎³ 中嶋幹男⁴ 片岡正和²
(¹信州大 工 物質、²信州大院総理工、³広東省農業科学院、⁴Freelance)

- PT-31 線状プラスミドSAP1の接合伝達機構解析
○藤生晴紀 加藤拓海 片岡正和
(信州大 工 物質 生命科学)
- P-32 LB培地による大腸菌発現システムへの影響
○中村美紀子
(信州大 基盤研究支援センター)
- P-33 細菌由来ferredoxin-NADP⁺酸化還元酵素と芳香族Xenobioticsとの反応機構の解析
○瀬尾悌介¹、Mindaugas Lesanavičius², Narimantas Čėnas²
(¹金沢大 理工研究域物質化学、²Department of Xenobiotics Biochemistry, Institute of Biochemistry of Vilnius University, Lithuania)
- P-34 酢酸菌におけるセルロース生合成に関する蛋白質の機能解析
○水野正浩, 天野良彦
(信州大 工)

ABSTRACT

特別講演

生物の潜在能力を探る——クラシック遺伝学を土台として

○越智幸三

(元) 独立行政法人食品総合研究所

現在では、遺伝学といえば遺伝子工学を想起するほどに遺伝子工学は隆盛を極めている。反面、従来の遺伝学すなわち突然変異、形質導入、形質転換、プロトプラスト融合などはクラシック遺伝と呼ばれるようになってきた。語感からすると、いかにも古臭い役立たずの学問のように見えてくるが、果たしてそうであろうか？ 私の経験からすると、遺伝子工学は複雑な工程をマニュアルに沿って正確に遂行していかねばならないが、クラシック遺伝は操作における複雑さはないものの、勘の良さと何より想像力 (imaginative mind) が要求される。30代以下の研究者は、大学でクラシック遺伝の講義を受けることもなく、仕事でクラシック遺伝を扱う機会もほとんどなかったのではなかろうか。周りを見渡してみると、クラシック遺伝を扱える人あるいはそれに興味を持つ人の数は年とともに減少しているように感じる。そこでこの度は、クラシック遺伝がいかに有用で役に立つものであるかを、私のささやかな研究経験から以下に示した4つのテーマを例としてお話してみたいと思う。現在、クラシック遺伝が消えつつあるということは、逆に考えればその技術と理論に精通することによって、他人がなしえないアプローチを可能にするものであり、結果として研究で最も重要とされる自身の研究の「独自性」を高めることにもなる。若手研究者にはぜひそのような挑戦をしてほしいものである。

テーマ1：アミノ酸要求変異——緊縮制御研究への利用

テーマ2：ストレプトマイシン耐性変異、抗生物質耐性変異——リボゾーム工学と休眠遺伝子覚醒への利用

テーマ3：自然界から学ぶ変異：天然の変異型 RNA ポリメラーゼの発見と利用

テーマ4：希土類元素耐性変異：希土類元素利用技術の構築に向けて

(注1) 緊縮制御 (stringent control) は1950年ころに米国の研究者によって見出された不思議な現象で、その後シドニー ブレナー と マイク キャッシュルによって本格的に研究されてきた。古くて新しい研究の代表例である。アミノ酸が欠乏するとそれとは一見関係なさそうな RNA 合成がほぼ瞬間的に停止する事象を指す。

(注2) リボゾーム工学とは、リボゾーム蛋白質の特定部位に変異を導入することにより、細胞内の生理を一変させる技術のことである。例えば、微生物が保有する休眠遺伝子さえも強力に覚醒させることができる。

(注3) 真核生物とは異なり、バクテリアにはただ1種類の RNA ポリメラーゼが存在すると信じられてきたが、ごく最近に至って、野生型と変異型の2種類を保有するものが土壌

中にはありふれていることが分かってきた。その生理的意義は、環境対応を円滑ならしめることにあるようだ。

(注4) 希土類元素とはスカンジウムからルテチウムまでの17元素を指すもので、工業的には極めて重要ながら生物とは関係のないものとされてきた。最近に至ってこの希土類元素は休眠遺伝子を覚醒させるなど、生物と密接に関わっていることが分かってきた。希土類生物学の構築も夢ではないかもしれない。

発表者自己略歴

経歴：北海道大学農学部農芸化学科博士課程修了 抗生物質の生合成に関する研究

米国 NIH 6年 枯草菌の孢子形成メカニズムの研究

藤沢薬品工業（現アステラス製薬） 9年 工業微生物の育種に従事

農水省食総研 18年 リボゾーム工学、休眠遺伝子覚醒技術などの潜在能力発現に関する研究

広島工業大学 7年 構築された技術の育種、探索への応用研究

放線菌 *Streptomyces* 属は線状レプリコンがお好き？

○池田 治生

所属 次世代天然物化学技術研究組合

放線菌とは分類学的には *Actinobacteria* 網に属するグラム陽性の細菌群ではあるがこの一群には結核菌をはじめとする各種の抗酸菌やジフテリア菌などの病原菌群も見出される。一方、グルタミン酸やリジンなどのアミノ酸発酵で利用されている *Corynebacterium* も存在する。また工業的には抗生物質の生産菌として *Streptomyces* 属の菌群が 20 世紀から本邦の医薬品産業を大きく支えてきた工業微生物の一つでもある。一般には *Streptomyces* 属放線菌は工業微生物という側面がクローズアップされるが生物学的は原核細胞生物ながら大変興味ある現象や機構が見出される菌群でもある。また複雑な形態分化はグラム陰性菌の *Myxobacteria* には及ばないが興味ある形態分化も観察されるめずらしい菌群でもある。

Streptomyces 属放線菌が他の細菌と極めて異なる点はその染色体の形状である。教科書的には原核細胞生物と真核細胞生物の染色体の違いは前者が環状構造で後者が線状構造であると記載されている。生物には必ず例外的なものが存在するが *Streptomyces* 属の染色体は正に真核細胞生物のそれと非常によく似ており、染色体末端の 5'側には得意なタンパク質 Tpg の N 末端側から 114 番目の Thr 残基の水酸基を介して 5'末端のリン酸とエステル結合を形成している。原核細胞生物の中でも土壤に生息するグラム陰性菌の *Agrobacterium* やライム病の原因菌 *Borrelia* の染色体も線状ではあるが 5'末端は loop 構造を形成している。また、細菌には染色体とは別個に複製するレプリコンである plasmid が存在するが多くは宿主の染色体と同様に環状構造である。*Streptomyces* 属でも環状の plasmid は見出されるが、宿主染色体と同様に 5'末端に Tpg が結合した線状構造の plasmid も多く報告されている。線状染色体ではあるが複製は環状染色体を有する細菌で見出される DnaA-box 様の配列(*oriC*)が染色体のほぼ真ん中に配置している。また、真核細胞生物の末端(テロメア)は分裂ごとに短くなっていくが *Streptomyces* 属のレプリコンでは分裂ごとの末端配列の欠失は無い。おそらく複製過程における lagging 鎖の最後の合成は特異なタンパク質-priming 機構によって達成されるものと推察されているが詳細は未だ不明である。*oriC* もしくは線状 plasmid の *rep* (あるいは iteron 様配列)はレプリコンのほぼ中央に位置していることはそれぞれの leading 鎖、lagging 鎖が均等に進んでいくためかと思われるが、線状 plasmid の場合 *rep* が左末端付近に配置しているものが見出される。また数々の育種を経て工業生産に利用された菌株では野生株ではほぼ中央に位置している *oriC* が左末端付近に移動している変異株が見出されている。環状染色体を有する細菌の染色体は *oriC* のほぼ反対側のところに複製終結の *ter* が位置しているが *oriC* と *ter* が極めて偏って配置しているものはほとんどない。環状レプリコンでは複製の集結段階でカテナン分子の解離が必須である。*Streptomyces* 属の線状ゲノムではカテナン分子が形成されないためかカテナン分子の解離に関与する *xerC* および *xerD* 遺伝子が消失している。

一方、伝達性の plasmid も一般細菌で見出される様な機構とはかなり異なっている。通

常、接合伝達には T4SS 様なシステム(*tra operon*)によって 1 本鎖 DNA が受容菌に移動するモデルが提唱されている。*tra operon* には多数の遺伝子が関与していることから伝達性の plasmid は分子量が比較的大きい。一方、*Streptomyces* 属の plasmid では *tra operon* は関与せず、また受容菌への移動も 2 本鎖 DNA で達成される。*Streptomyces* の環状 plasmid の接合伝達には少なくとも *traA*, *traB* と *cit* 配列(*cis*-acting locus of transfer)が配置していれば接合伝達が達成される。一方、線状 plasmid の場合は *traA*, *traB* と *ttrA* (DNA helicase)の 3 遺伝子が配置していれば接合伝達が達成される。接合伝達は同種の場合は環状あるいは線状 plasmid でそれほどの差は無いが、異種同士の接合伝達では明らかに線状 plasmid の方が効率が良い。先にも述べたように線状 plasmid の *rep* は必ずレプリコンの中央に配置することは必須ではない。この機能を活用して線状 plasmid に BAC クローンの様な 100 kbp を越す plasmid を線状 plasmid に組み込み、異種 *Streptomyces* へ接合伝達で移動安定に複製させることが可能である。また *Streptomyces* の伝達性の plasmid (環状も線状も)は接合伝達に伴って染色体遺伝子の移動(組換え)も観察される。通常、大腸菌では F 因子が染色体に組み込まれた Hfr 株で染色体遺伝子の移動が観察されるが、*Streptomyces* では伝達性 plasmid の移動に伴って染色体遺伝子が移動するという珍しい現象が見出される。通常、 10^{-6} 程度の頻度で染色体遺伝子の移動(組換え)が観察されるが pIJ101 という 8.8 kbp の伝達性の環状 plasmid を用いた接合では 10^{-3} の頻度で染色体遺伝子の組換えが観察される。*Streptomyces* 属のゲノムの中で *S. avermitilis* (エバーメクチン生産菌)の染色体は染色体の右末端付近の telomere には *traA*, *traB* とともに *ttrA* 遺伝子が配置している。したがって接合伝達に必要な 3 要素は揃っている。Plasmid を保有しない *S. avermitilis* 同士の混合培養では染色体の組換え頻度は 10^{-6} から 10^{-7} 程度である。これらの供与菌および受容菌の *ttrA* 遺伝子を欠失させた組み合わせでは組換え頻度は $< 10^{-8}$ に減少する。このことは *S. avermitilis* の染色体自身が接合伝達可能なレプリコンであることを示すものである。

Streptomyces 属の菌株は工業的な抗生物質生産菌という我々の社会生活には非常に有用ではあるけれども生物学的には極めて興味あることが多々存在する。しかしながら研究者人口が極めて少なく、かつ線状レプリコンを扱える研究者がほとんどいなくなっているのが現状である。近年、病原性グラム陽性菌にも線状 plasmid の発見が相次いで報告されてきた。原核細胞生物における線状レプリコンの意義はこれから解明されていくものと期待している。

発表者自己紹介

一般的に日本に存在する単なる前期高齢者の一人で孫 3 人。東京都出身なので田舎生活は唯一、英国に留学していた時の Norwich という田舎町だけ。出身は薬学であるけれど英国留学で放線菌遺伝学を Prof. Sir D. A. Hopwood から叩き込まれてからこの領域に。*Streptomyces* ゲノム解析では留学先のボスだった Hopwood とガチで競合したけれどこっちが先に論文出して憎まれたがその後和解して現在に至っている。大学院および大学の助手になった時のボス(2015 年にノーベル医学生理学賞受賞)からたまに電話がかかってくると直立不動になってしまう自分が情けない。



Genome 研究から学び、システム生物学の展開、そして今後は？

森 浩禎

1. Laboratory of Systems & Synthetic Microbiology, Institute of Animal Sciences, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangdong, China, Professor
2. 信州大学、特任教授, 3. 山口大学・中高温微生物センター、客員教授, 4. National Cheng-Kong University、客員教授, 5. 奈良先端科学技術大学院大学、名誉教授

1989年に日本で始まった大腸菌ゲノムプロジェクトは、私のにとっては、一つの大きな転機でした。1987年 Kohara らによる大腸菌全ゲノムをカバーするファージクローンライブラリーが構築されました[1]。このライブラリーを活用する形で、1989年より京都大学・由良をリーダーとする大型研究プロジェクトとして開始されました。系統的にゲノム配列決定および解析を進めるといふプロジェクトとしては世界で最初のプロジェクトです。当時、すでに DNA 配列決定技術は研究者に浸透し、大腸菌においても多くの遺伝子配列が公開されています。一方、ゲノムレベルの配列解析技術としては、まだまだ未熟であり、一人が1日で決定可能な標準的な長さは1kb程度という時代で、4Mbを超える大腸菌ゲノム決定の完成にはどれほど時間が必要になるのか、推定すること自体が難しい時代です。最終的に、ゲノムプロジェクトによる技術革新もあったのですが、その後8年もかかることになりました。最も大きな壁は研究者自身の配列決定に対する考え方だったと思います。

1996年末に、配列決定を完成することができました。アメリカで MG1655 株の大腸菌のゲノム配列決定を進めていた Wisconsin 大の Blattner のグループを含め、大腸菌ゲノム解析に携わる日米欧の研究者らとアノテーション会議を続け、データベース構築を終えます[2]。

その情報を元にして、まずは、全てのタンパク質をコードする遺伝子のプラスミドクローンライブラリー構築に着手しました[3]。目的は、同じ遺伝子を解析するグループからの結果が食い違いを「遺伝的背景の違い」ということで説明されることに終止符を打つことです。すなわち、共通のプラットフォームで全ての解析を行うことを目的としたのです。もう一つの大きなのは、全体を一度に見る、いわゆる OMICS 研究手法の開発です。すでにいくつかの生物種において開発が始められていたマイクロアレイ作製、His タグによる全てのタンパク質相互作用解析、そして GFP 融合株によるタンパク質局在性解析など、OMICS 解析を可能にするベクター開発と全遺伝子のクローン化を進めました。一年で完成させ、順次マイクロアレイ開発と解析を進め出し、日本での OMICS 解析立ち上げを進めてきました。

遺伝子欠失株構築は非常に重要な開発対象だったのですが、当時はまだ大腸菌は相同組換えが最も難しい生物の一つとされてた時代です。しかし、2000年に Wanner らのグループが 1 RED 法を発表し[4]、すぐに彼らとの共同研究による一遺伝子欠失株ライブラリー構築にも着手しました。

2000年より、慶應大学が、山形県・鶴岡市に先端生命科学研究所を設置し、情報科学、工学、微生物学の専門家6名によりスタートしました。その成果として、2007年に大腸菌細胞の遺伝

的攪乱による細胞内変動の網羅的かつ定量的解析結果を公開しました[5]。その結果から学んだことは、一遺伝程度の欠失に対して、たとえそれが中心代謝経路等の重要な酵素遺伝子であっても、細胞内の代謝物質濃度は、多くの場合、安定に保たれるという事実でした。この意味するところは、細胞とは、非常に頑強であるということです。以降、その分子機構解明に向けた開発・解析を進めています。

細胞は、細胞内のあらゆるネットワーク構造をうまく活用し、細胞内を安定に保っているものと考えられます。相互作用ネットワーク構造と一言で表せますが、実際の相互作用とは、転写調節因子と調節される遺伝子群との相互関係、タンパク質間の物理的な相互作用、酵素タンパク質と代謝産物の代謝ネットワークなど、さまざまな性質の相互作用が存在します。例えば、代謝ネットワークは解糖系や TCA 回路など、決まったルートを通るように考えられてきたと思います。しかし、現在は、街中の道路が通行不能になった際に、誰もが代替経路を探し、目的地に到達するのと同じように、細胞内の経路も、動的に変動して利用されていることが明らかになってきています。細胞内ネットワークルート自体が変化しているのです。細胞内のルート全体像と動的変動のルール解明が、細胞（生命）の完全理解につながるものと考え、現在は、中国・広州で研究を続けています。

ところで、「科学と技術」、「科学への科学者としての貢献」など、少し考えてみませんか。科学に対するモチベーション、科学への貢献、等々少し自分自身に問い直すきっかけにできれば、と考えています。何にでも言えることと思いますが、近道などありません。「酵母」および「枯草菌」ゲノム解析への国際的なコミュニティ形成によるゲノム解析、データベース構築、網羅的実験リソース構築と共有、そしてシステム生物学の立ち上げがなされ、「競争」ではなく「共同」学ばせてもらいました。大腸菌においても、全遺伝子を網羅したリソース創りを考えていた頃、世界中に呼びかけました。皆総論賛成、しかし現実の参加は難しい、と。それでも、私自身が今構築を進めないと今後の研究は難しいと考え、作製を開始したのが、もう今から 25 年以上前の話です。一旦構築を終え、世界中に公開したところ、現在においても、毎週どこからか分譲要求が来ます。結局近道などないのです。誰かが行わないといけない。でもそれは自分ではない、という考えを少し考えなおしてみたいと思います。「成せばなる,...」という言葉思い出します。

References

1. Y. Kohara, et al., *Cell* **50**, 495-508 (1987) Pubmed: 3038334
2. M. Riley, et al., *Nucleic Acids Res* **34**, 1-9 (2006) Pubmed: 16397293
3. M. Kitagawa, et al., *DNA Res* **12**, 291-299 (2005) Pubmed: 16769691
4. K. A. Datsenko & B. L. Wanner, , *Proc Natl Acad Sci U S A* **97**, 6640-6645 (2000) Pubmed: 10829079
5. N. Ishii, et al., *Science* **316**, 593-597 (2007) Pubmed: 17379776

「Ultra transformation (UTf) system」

河村富士夫 千葉大・園芸、立教大

通常、枯草菌 168 株では最少培地にカザミノ酸を添加した培地で培養することにより、対数増殖期の終わりから定常期の初めに自然形質転換能が誘導されるが、LB のような栄養豊富な培地では形質転換活性が見られない。しかしながら、168 株でも LB 培地に二価イオンを添加し、Donor DNA として染色体 DNA ではなく PCRDNA を用いることにより定常期の初めに形質転換活性を確認することができた。溶原性プロファージ SPβ や欠陥ファージ PBSX を除去した株では形質転換頻度がさらに上昇した。両ファージを除去した株を親株としてドイツのグループ(1)により作成された *PmtlAcomKS* カセットを *leuB* 遺伝子内に導入して超高形質転換株 SAK8 を得た。マンニトールを添加して ComKComS の発現を誘導することにより約 20 倍形質転換頻度が上昇した。10⁸/ml 以上の Trp+形質転換体数を得ることができ、その形質転換頻度は、常に 20%前後であった。

この”Ultra transformation(UTf) system”を用いてどのようなことができるかについて紹介したいと思います。

- (1) 抗生物質耐性遺伝子を使用しない遺伝子組換えや遺伝子欠失が可能である。
- (2) 三重、四重の同時形質転換が可能である。
- (3) 数十キロ bp の付加(Addition)や欠失(Deletion)の組換えが可能である。
- (4) 必須遺伝子欠失とそのサプレッサー変異株について

(1) Rahmer R, Heravi K. M. and Altenbuchner J. (2015) Construction of a super-competent *Bacillus subtilis* 168 using the *PmtlA-comKS* inducible cassette. *Frontiers in Microbiology*, 6: 1-11. Doi:10.3389/fmicb.2015.01431

発表者自己紹介

立教大学を定年退職後、東京農業大学の吉川博文先生の研究室で 6 年、その後千葉大学の相馬亜希子先生の研究室でお世話になり 5 年目になります。ずっと、楽しく形質転換の実験をやらせてもらい幸せな日々を過ごさせていただいたことに感謝しています。



必要は発明の母、枯草菌ゲノムでの合成、移動システムは発明だった。

板谷光泰
信州大学工学部

枯草菌でゲノムを合成して、接合伝達で別の細胞システムに移動させる研究に、40年近く携わった。始まりは、大腸菌でプラスミドを利用する遺伝子クローニングシステムをほぼマスターした頃、ゲノムが見えるパルスフィールド電気泳動法との出会いであった。

この出会いは、その後の研究方向に大きく影響して、ゲノム構造解析、枯草菌を利用するゲノム合成（ゲノムクローニング）システムの構築に結実した。ゲノム合成の成果はTable 1 にリストした。今後の研究の方向は、合成ゲノムを接合伝達で他の細胞システムに移動させることで、この課題は入り口まで到達していると考えている。

これらの研究は、実施した過去の時点では、基礎研究に携わっている気持ちでやって、最終的には学術論文にまとめる目的で行ったが、実はベクター化した枯草菌ゲノムは発明としての開発だったのではないかと思い始めた。

ある程度先が見えるレベルになったいきさつを、実は基礎科学研究ではなく発明のための研究だったかも、の気持ちで話してみたい。

Itaya, M. *Bacillus subtilis* 168 as a unique platform enabling synthesis and dissemination of genomes. *J. Gen. Appl. Microbiol.* **68**, 45-53 (2022).

このレビューの Table 1 を以下に抜粋

Table 1. Products by BGM system

Target genomes	genomesize,	G+C contents,	plasmids	references,
----------------	-------------	---------------	----------	-------------

Achieved

Mouse mitochondria genome	(16.3 kb, 36.7%)			Itaya, et al., (2008)
Lambda phage genome	(48.5 kb, 45 %)			Itaya (1995)
Rice chloroplast genome	(135 kb, 39 %)			Itaya, et al., (2008)
Mega plasmid pTT27	(233 kb, 70 %)			Ohtani, et al., (2012)
Mouse genome gene	(355 kb, 40 %)			Kaneko, et al. (2009)
<i>Synechocystis</i> PCC6803	(3,58 Mbp, 34%, 7)			Itaya, et al., (2005)

In progress

<i>Synechococcus elongatus</i> PCC7942	(2,76 Mbp, 55 %, 1)			To be announced
----------------------------------------	---------------------	--	--	-----------------

Attempted/suspended

<i>Buchnera sp.</i> APS	(0.65 Mbp, 28%, 0)			No product by BGM
<i>Thermus thermophiles</i> HB8	(1.86 Mbp, 70%, 1)		< 0.4 Mbp	
<i>Pyrococcus furiosus</i>	(1.91 Mbp, 43%, 0)		0.05 Mbp	
<i>Thermoplasma acidophilum</i>	(1.56 Mb, 45%, 0)		~ 0.43 Mbp	
<i>Thermococcus kodakarensis</i> KOD1	(2,09 Mbp, 52.0%, 0)		~ 0.11 Mbp	

Host platform for genome synthesis as BGM system

<i>Bacillus subtilis</i> 168	(4.2 Mbp, 43 %, 0)			
------------------------------	--------------------	--	--	--