



2022年4月27日

細菌が自らの遺伝子を拡散させる新たなしくみを解明

1. 発表者：

清水 隆之（東京大学 大学院総合文化研究科 広域科学専攻 助教）

有年 統真（東京大学 大学院総合文化研究科 広域科学専攻 修士課程2年（研究当時））

Thomas J Beatty (Professor, Department of Microbiology and Immunology, University of British Columbia)

増田 建（東京大学 大学院総合文化研究科 広域科学専攻 教授）

2. 発表のポイント：

- ◆ 細菌間での遺伝子のやり取りについて、新しい制御メカニズムを発見しました。
- ◆ 酸化ストレスに応答して遺伝子拡散（注1）を起こす制御系の同定に成功しました。
- ◆ 細菌同士の遺伝子拡散による薬剤耐性細菌の出現を人為的に抑制する技術の開発に貢献することが期待されます。

3. 発表概要：

東京大学大学院総合文化研究科の清水隆之助教と増田建教授らの研究グループは、細菌同士の遺伝子のやり取りによって生じる「遺伝子拡散」について、全く新しい制御機構を発見しました。

細菌は、無性生殖で増殖するため、生殖過程での両親からの遺伝子の交換が行われません。そのため、遺伝的多様性は、細菌間での遺伝子のやり取りによって獲得されています。この遺伝子交換は、様々なしくみで行われますが、近年、GTA（Gene transfer agent、注2）と呼ばれるウイルスに似た粒子による遺伝子伝播機構が発見されました。

今回、GTAによる遺伝子伝播の制御に関わる新規因子を同定し、酸化ストレスに応答した遺伝子拡散の新しい制御経路を見出しました。本研究の成果は、環境中の遺伝子拡散の人為的な制御技術の開発への応用が期待されます。

本研究成果は、2022年4月26日にオープンアクセス誌「Microorganisms」のオンライン版に掲載されました。

4. 発表内容：

① 研究の背景・先行研究における問題点

細菌は、遺伝子の多様性が非常に高いため、様々な環境変動に順応することが可能です。この遺伝的多様性は、細菌間の遺伝子のやり取りである、形質転換（注3）、形質導入（注4）、接合（注5）の3つの主要な遺伝子伝播機構によって確保されることが知られています。

近年、これらの方法とは異なる第4の遺伝子伝播機構として、ウイルスによく似た構造を持つGTAと呼ばれるタンパク質の粒子が、細菌間での遺伝子のやり取りに利用されていることがわかってきました（図1）。GTAは、一部の海洋の優占種である細菌に広く保存されていることから、特に海洋環境中における細菌の遺伝的多様性の確保や環境適応に重要な役割を持つことが考えられます。

GTAによる遺伝子伝播は、細菌の細胞密度の上昇や栄養飢餓によって促進されることが知られています。この制御系に関連して、GTAを構成するタンパク質の遺伝子発現とGTAの細

胞外放出に関わる分子機構を直接制御する中心制御系が既に知られています(図2)。しかし、環境変動を検知して中心制御系へとシグナルを伝達する経路については、ほとんどわかっていませんでした。環境応答機構を知ることは、GTAによる遺伝的多様性の進化の道筋を知る手掛かりとなります。

② 研究内容

研究グループは、清水助教が以前同定した硫化水素応答性転写因子 SqrR (注6) の標的遺伝子の中に GTA 関連遺伝子が含まれることに着目しました。SqrR が GTA による遺伝子伝播に関与するか検証するために、*sqrR* 遺伝子の欠損株を作成し、GTA による遺伝子伝播活性を測定しました。すると予想した通り、*sqrR* 欠損株では、生育段階にかかわらず、野生株よりも高い遺伝子伝播活性を示しました(図3A)。*sqrR* の欠損によって遺伝子伝播が促進されることから、SqrR は GTA による遺伝子伝播の抑制に関与することが示唆されました。

SqrR は転写因子として様々な遺伝子の転写制御に関与します。そこで、GTA 関連遺伝子の転写物量を解析したところ、生育初期において、*sqrR* 欠損株では野生株よりも GTA 関連遺伝子の一部の転写物量が上昇していました(図3B)。これより、SqrR は、GTA 関連遺伝子の転写制御を介して、GTA による遺伝子伝播を調節することがわかりました。

SqrR は硫化水素に応答して転写調節を行うため、硫化水素の影響を検証しました。しかし、野生株を硫化水素で処理しても、GTA 関連遺伝子の転写物量に変化は見られませんでした。SqrR は、硫化水素由来の硫黄代謝物によってシステイン残基の酸化還元状態が変化することで、その活性を変化させます。この分子機構は酸化ストレスへの応答機構とも類似しています。そこで、野生株に酸化ストレスを与えたところ、*sqrR* 欠損株によって変化した GTA 関連遺伝子と同じ遺伝子の転写物量が上昇しました(図3C)。また、この変化は *sqrR* 欠損株では観察されませんでした。以上より、SqrR は酸化ストレスに応答して GTA による遺伝子伝播を調節することがわかりました。

SqrR による GTA 関連遺伝子の制御機構をさらに調べるために、SqrR の標的遺伝子を精査したところ、セカンドメッセンジャーの一種である cyclic di-GMP (注7) の代謝酵素が SqrR の制御を受けることがわかりました。cyclic di-GMP は GTA 関連遺伝子を抑制的に制御することが知られています。そこで、細胞内 cyclic di-GMP 量を測定したところ、*sqrR* 欠損株では野生株よりも低いレベルにあることがわかりました(図3D)。これより、SqrR は cyclic di-GMP 量の調節を介して、GTA 関連遺伝子の転写制御に関わることもわかりました。

以上より、SqrR は酸化ストレスに応答して、cyclic di-GMP 代謝を調節することで、GTA 関連遺伝子の転写制御に関わることで、GTA による遺伝子伝播の制御に寄与することが明らかになりました(図4)。

③ 社会的意義・今後の予定

本研究成果は、人間活動によって生じる環境中での遺伝子拡散を人為的にコントロールする技術の開発への応用が期待されます。

人間活動による環境汚染の影響で特に重大な問題の1つが、薬剤耐性菌の蔓延です。抗生物質は、人間への医療目的だけでなく、畜産・水産においても大量に使用されています。実際、抗生物質使用頻度の高い環境では、薬剤耐性菌が、通常的环境に比べて数百倍から数千倍も多く存在するという報告があります。抗生物質を使用しないことは現状では難しく、動植物とは異なり、目的の細菌だけ環境中から除くことも不可能です。この問題を解決する現実的な手段

の1つは、遺伝子の拡散を人為的にコントロールすることであり、本研究成果はその技術開発において有用であると期待されます。

本研究は、科研費 学術変革領域研究 (A) 「硫黄生物学」 (課題番号: JP21H05271)、若手研究 (課題番号: JP21K15038)、基盤研究 (C) (課題番号: JP20K06681)、基盤研究 (A) (課題番号: JP18H03941)、基盤研究 (B) (課題番号: JP19H03241) の支援により実施されました。

5. 発表雑誌:

雑誌名: Microorganisms (オンライン版: 4月26日)

論文タイトル: Persulfide-responsive transcription factor SqrR regulates gene transfer and biofilm formation via metabolic modulation of cyclic di-GMP in *Rhodobacter capsulatus*

著者: Takayuki Shimizu*, Toma Aritoshi, Thomas J Beatty, Tatsuru Masuda

DOI 番号: [10.3390/microorganisms10050908](https://doi.org/10.3390/microorganisms10050908)

6. 問い合わせ先:

東京大学 大学院総合文化研究科 広域科学専攻 広域システム科学系
助教 清水 隆之 (しみず たかゆき)

Email: ctshimizu (末尾に"@g.ecc.u-tokyo.ac.jp"をつけてください)

7. 用語解説:

(注1) 遺伝子拡散

細菌や微生物が持つ遺伝子の一部が、同種あるいは別種の細菌・微生物に伝播され、伝播先の生物が本来持たない遺伝子が生物集団内に拡散されること。社会的には、抗生物質抵抗性遺伝子などの拡散による薬剤耐性菌の出現が問題になっている。

(注2) GTA

Gene Transfer Agent の略で、ウイルスによく似た構造をしている。DNA を封入するタンパク質の殻と、感染先の細胞に結合するための足から構成される。起源はウイルスだと考えられているが、ウイルスとは封入する DNA の特異性や長さの点で明確に異なる。

(注3) 形質転換

細菌や微生物から外環境中に放出された DNA 断片やプラスミドが直接細胞内に取り込まれ、細菌が持つ自然形質転換能によって相同組換えが行われることで新たな形質が獲得される。

(注4) 形質導入

細菌に感染するバクテリオファージによって、ファージ由来の DNA に加えて宿主細菌のゲノム DNA の一部も同時に感染先の細菌に注入されることで遺伝子の交換が行われる。

(注5) 接合

性繊毛を介して細胞間でプラスミドやトランスポゾンなどの DNA が直接やり取りされる。

(注6) SqrR

硫化水素由来の硫黄代謝物に応答して転写制御を行う転写因子。システイン残基を2つ持ち、硫黄代謝物によって、2つのシステイン残基の間で架橋構造が形成されることで、転写調節活性が制御される。

8. 添付資料：

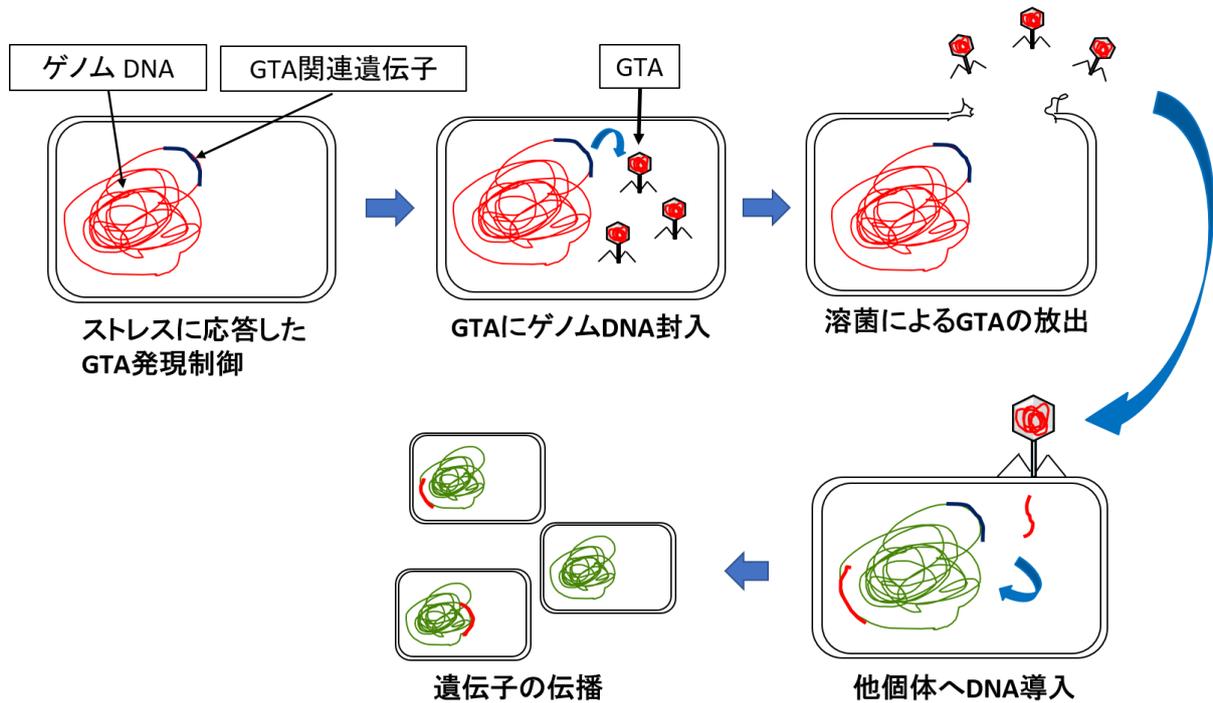


図1 GTA による遺伝子拡散機構

細菌のゲノム DNA にコードされている GTA 関連遺伝子は、様々な環境ストレスに回答して発現する。発現した GTA は、タンパク質の殻の中に自身の DNA の一部を切り取って封入する。その後、細胞が溶菌することで細胞外に GTA が放出され、他個体へ GTA が結合し、殻の中に封入されていた DNA 断片を導入する。導入された DNA 断片は、細菌の持つ相同組換え機構によってゲノム DNA へと組み込まれることで、遺伝子が伝播される。

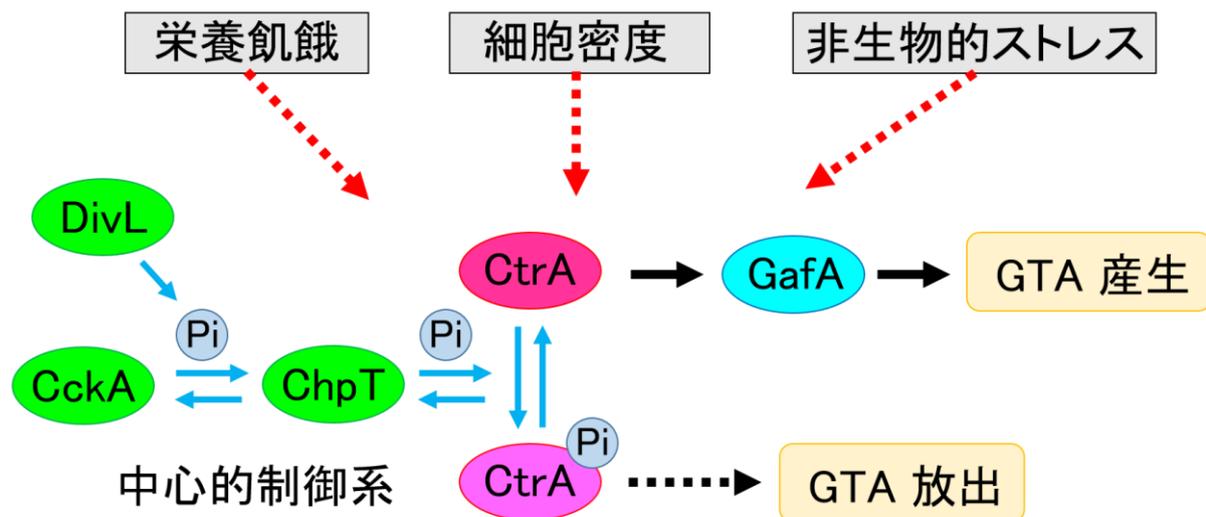


図2 環境ストレスに応答したGTAの制御機構

GTAによる遺伝子伝播の制御機構では、GTAの産生を制御する系と細胞外への放出を制御する系で構成されている。この制御系では、CtrAと呼ばれる制御因子による制御機構が、中心的な制御系として知られている。様々なストレスに応答して、CtrAのリン酸化状態(図中のPiはリン酸を示す)が変化することで、GTAの産生と放出を制御している。しかし、CtrAのリン酸化制御の制御系に情報伝達を行うシグナル伝達系はほとんど明らかでなかった。

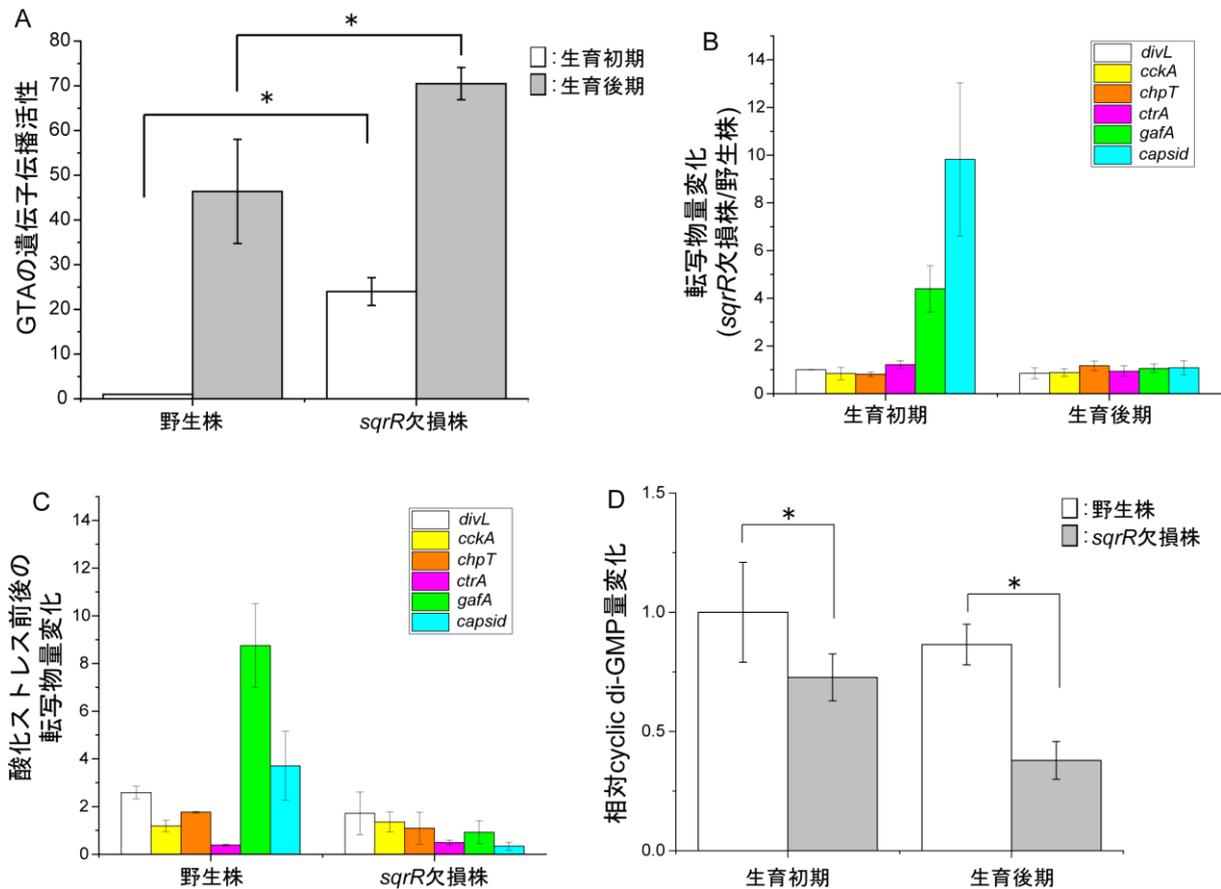


図3 GTAによる遺伝子伝播の制御機構に対するSqrRの影響

(A) 野生株と *sqrR* 欠損株における、生育初期 (白色) と生育後期 (灰色) での GTA による遺伝子伝播活性。遺伝子伝播活性は、野生株と *sqrR* 欠損株が保持している抗生物質抵抗性遺伝子を指標に測定した。各株の培養液中に含まれる GTA を回収し、抗生物質感受性株と混ぜて GTA による遺伝子伝播を起こしたのち、抗生物質抵抗性を獲得した細菌数を活性とした。

(B) 野生株と比較した際の、*sqrR* 欠損株の転写物量。*divL*、*cckA*、*chpT*、*ctrA* は GTA の中心的制御系の制御因子。*gafA* は GTA 産生を直接促進する制御因子。*capsid* は GTA 本体の DNA を封入するタンパク質の殻を構成するタンパク質。

(C) 野生株と *sqrR* 欠損株における、酸化ストレスを与える前を比較した際の、ストレス後の転写物量。

(D) 野生株 (白色) と *sqrR* 欠損株 (灰色) における、生育初期と生育後期での細胞内 cyclic di-GMP の相対変化。

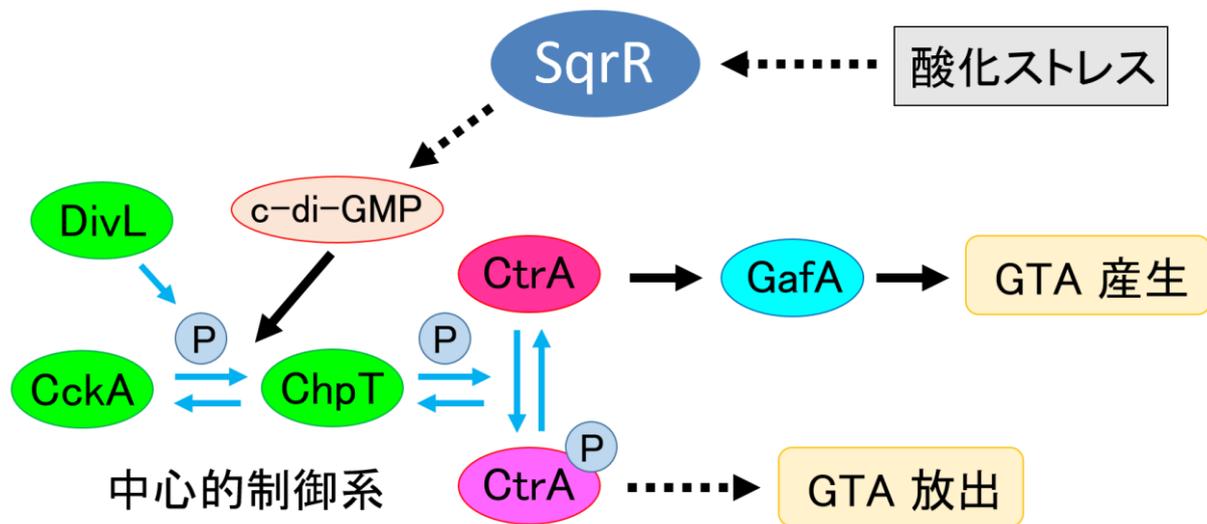


図4 酸化ストレスに応答した SqrR による GTA を介した遺伝子伝播の制御機構モデル

SqrR は酸化ストレスに応答して cyclic di-GMP (c-di-GMP) 代謝系を調節することで、細胞内 cyclic di-GMP 量を変化させる。cyclic di-GMP は GTA の中心的制御系のリン酸化リレーの調節に関わることで、CtrA のリン酸化状態を変化させることで、GTA の産生と放出を調節する。