2M1430

大腸菌と細胞性粘菌による実験室内共生系形成における大腸菌遺伝子ネットワークの変動

○松山 晋一^{1,5}、等々力 政彦²、卜部 格²、四方 哲也^{1,2,3,4,5}
(¹ 阪大院・情報科学・バイオ情報・生物共生、² 阪大院・工学・応用生物・進化システム、³ 阪大院・生命機能、⁴ 東大院・総合文化、⁵ 科技団・さががけ 2 1)

大腸菌と細胞性粘菌は捕食者-被食者の関係にあり、通常両者を共培養すると粘菌アメーバは大腸菌を食べ尽くし、飢餓状態になる。ところが、この二種の生物を最小培地上で2週間から1ヶ月間共培養すると、表現型のまったく異なる粘性の大腸菌コロニーが現れ、これと粘菌アメーバが長期間に渡って安定的な共生系を確立することがわかったので前回までに報告してきた。本大会では、粘菌との共存を経験していない大腸菌と、粘菌と共生した大腸菌とのあいだの遺伝子ネットワークの変化を解析するため、GeneChipを用いて大腸菌全遺伝子の発現パターンを測定した。Affymetrix 社 GeneChip E. coli genome array では大腸菌全 ORFs 4,200 種類あまりに加え、2,700 種類以上の intergenic region の遺伝子について、ひとつのチップ上で発現量を観測することが可能である。はじめに、GeneChip システムによって検出される 7,000 あまりの発現シグナルに実験操作によって生じるノイズについて検討した。そのため、total RNA 抽出段階、mRNA 濃縮段階、mRNA 標識段階の各実験操作段階において5個づつに枝分かれさせたサンプルを用意し、各々について GeneChip によって検出されたシグナルの平均分散を評価した。次に、粘菌と共生していない通常大腸菌と粘菌と安定的に共存している共生コロニーのあいだで遺伝子発現パターンを比較した。このために、通常コロニーと共生コロニーについてそれぞれ5サンプルづつ GeneChip による解析をし、通常と粘性コロニーのあいだで発現量の変化している遺伝子をt-検定によって検出した。その結果、5%の有意水準で有意差があると判断された遺伝子が2,000個あまりあることがわかった。発表ではこうして検出された発現量の変化した遺伝子について議論したい。

S. Matsuyama, M. Todoriki, I. Urabe, T. Yomo : Genome-wide analysis of E.coli gene expression pattern in symbiotic E.coli colonies with Dictyostelium cells

2M1500

異なる条件下で培養された大腸菌が示すグルタミン合成酵素遺伝子の定着率の違い

○鈴木 誉保¹、柏木 明子²、森 光太郎⁶、卜部 格¹、四方 哲也^{1,2,3,4,5}
(¹ 阪大院・工、² 阪大院・情報、³ 阪大院・生命機能、⁴ 東大院・総合文化、⁵ 科技団・さががけ、⁶ 茨城大・農)

適応変異という現象がある。細胞が増殖できないような条件下で培養された際に、より有利な突然変異が生じ、その結果、細胞が増殖できるようになる現象である。この現象には、遺伝子が定着していく過程が関わっていると考えた。ここで、遺伝子の定着とは、生じた遺伝子が菌の中でうまく発現・機能することを通じて、増殖が可能になることを表している。そこで、本研究では、突然変異率の増加の影響を取り除いた系を構築し、過去の培養による影響によって、より増殖に有利な遺伝子ほど定着率が上がるかどうかを調べることを目的とした。具体的には以下の実験を行った。グルタミン要求性株の大腸菌(YMC-21株)を、グルタミンが含まれている最少培地(MG)と、含まれていない最少培地(M)でそれぞれ培養した。こうして、培養歴の異なる大腸菌を用意した。次に、異なる増殖能を示すグルタミン合成酵素遺伝子を3種作成し、それぞれをコードしたベクター(pGAT, pGATm61, pGATm137)を構築した。これらのベクターで、先に用意した大腸菌をそれぞれ形質転換した。こうすることで、変異率の増加による影響を取り除いた系の構築を可能にした。得られた形質転換体を同一の培養条件下でそれぞれ平板培養し、コロニーを形成させた。コロニー数をもとにして、培養歴の異なる大腸菌に対するそれぞれの遺伝子の定着率を求めた。上記の実験の結果、培地MGで培養されたYMC-21株が示した定着率は、増殖能のよいベクターの順に0.98, 0.85, 0.48であった。培地Mで培養された場合は、0.80, 0.44, 0.14であった。以上より、培養歴の異なる大腸菌によってそれぞれの遺伝子の定着率が異なった。また、グルタミンが含まれていない条件下で培養された大腸菌において、増殖に有利な遺伝子ほど、より定着率が上がっていくことが示された。

T.Suzuki, A.Kashiwagi, K.Mori, I.Urabe and T.Yomo : History dependence of glutamine synthetase gene fixation in E. coli

2M1445

大腸菌と細胞性粘菌による実験室内共生系の形成過程における大腸菌細胞サイズ分布の経時変化

○山田 成人¹、松山 晋一^{1,5}、等々力 政彦²、卜部 格²、四方 哲也^{1,2,3,4,5}
(¹ 阪大院・情報科学・バイオ情報・生物共生、² 阪大院・工学・応用生物・進化システム、³ 阪大院・生命機能、⁴ 東大院・総合文化、⁵ 科技団・さががけ 2 1)

大腸菌と細胞性粘菌は捕食者-被食者の関係にあり、通常両者を共培養すると粘菌アメーバは大腸菌を食べ尽くして飢餓状態になることが知られている。ところが、この二種の生物を最小培地上で長期間共培養すると、表現型のまったく異なる大腸菌コロニーが現れ、これと粘菌アメーバが長期間に渡って安定的に共存する共生系を形成することがわかったので前回までに報告してきた。本大会では、上記粘菌との共生関係の形成過程における、大腸菌細胞サイズの分布の変化を粒度分布計によって測定したので報告する。共培養開始直後の大腸菌細胞サイズは直径1 μ m 辺りに単一ピークを示す比較的幅の狭い分布が観測された。大腸菌は、3-6日後には半透明状の盛り上がったコロニーとなり、粘菌もコロニー内で増殖しているのが観察された。この間の大腸菌細胞サイズの分布はピークが徐々にサイズの小さい方へ移行し、6日後には測定限界の直径0.8 μ m 辺りにまでシフトした。8-10日後には大腸菌細胞のサイズ分布はピークが再び0.9-1.0 μ m へとシフトするが、それ以前の分布と比較して分布幅が広いことがわかった。14日後以降には透明度の高い新たなコロニーが出現した。このコロニーはその後も持続的にコロニーサイズの拡大がみられ、しかもコロニー内には粘菌細胞が観察された。共培養開始後19日目にこの透明コロニーの細胞サイズ分布を測定したところ、ピークが1 μ m 辺りにある幅の狭い分布を示した。なお、以上の過程における粘菌の細胞数の経時変化に関しても発表を予定している。このように、大腸菌は粘菌との共存にともなって細胞のサイズの分布が様々に変化していることがわかった。今後は粘菌との安定的な共生系の形成と大腸菌のサイズ分化の関係を明らかにしてゆくことを計画している。

A. Yamada, S. Mtsuyama, M. Todoriki, I. Urabe, T. Yomo : Population dynamics of E.coli cell-size during the formation of symbiotic relation with Dictyostelium cell

2M1515

GC-NSF(a) 原始遺伝子仮説に基づいたアミノ酸代謝の進化順序

○池原 健二¹、長谷川 雄子²、片山 布美子¹
(¹ 奈良女大・理・化、² 奈良女大院・人間文化・化)

我々は細菌の遺伝子やタンパク質を解析することによって、遺伝子の起源に関するGC-NSF(a)仮説や遺伝暗号の起源に関するGNC-SNS仮説を提唱している。1) それによれば、アミノ酸はGNCがコードするGly, Ala, Asp, Valの4種、引き続きGlnやCNSがコードするPro, Leu, Gln, His, Argなどの順で使用されたこと、そしてその後、ANSがコードするアミノ酸やUNSがコードするアミノ酸が使用されたと推定される。今回は、アミノ酸合成を担う酵素群の出現時期が、我々の想定する原始遺伝暗号仮説と矛盾しないかどうかを確かめるため、GC-NSF(a)原始遺伝子仮説に基づいてアミノ酸合成に関与するタンパク質の進化順序を推定した。我々の提唱しているGC-NSF(a)原始遺伝子仮説によれば、相同なタンパク質間で保存された領域中にSNSがコードするアミノ酸(SNS-AA)含量が高いほどタンパク質の形成された時期が古いと想定される。このことを主な根拠として、現在使用されているアミノ酸合成に関与する酵素群の出現順序を推定した。その結果、AspやValの合成に関与する酵素群、ProやHisを合成するための酵素群、UNSがコードするPhe, Tyr, Trpなどを合成するための酵素群の順で酵素群が形成されたであろうことが推定できた。このことはアミノ酸代謝に関する酵素群の出現順序も我々の推定するGNC-SNS原始遺伝暗号仮説と矛盾しないことを示している。また、それ以外のアミノ酸を合成するための酵素群の解析結果についても合わせて報告する。1)「遺伝子、遺伝暗号、蛋白質および生命の起原」(GNC-SNS原始遺伝暗号仮説から見た生命の基本システム)、池原健二、Viva Origino, Vol. 29, 66-85 (2001)。

K.Ikehara, Y.Hasegawa and F.Katayama : A Possible Evolutionary Order of Amino Acid Metabolism based on GC-NSF(a) Hypothesis on the Origin of Genes