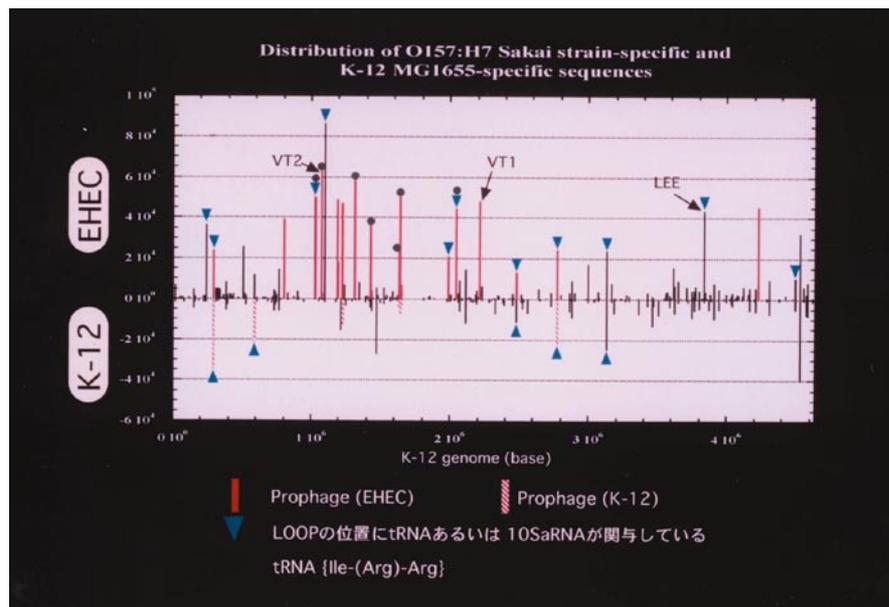


## Virulent/Valuable Genome System in Microorganism

### 微生物のゲノム配列解析による病原性と 有用遺伝子システムの解明

プロジェクトリーダー 林 英 生  
筑波大学 基礎医学系 教授



大腸菌 O157H7 と K12 との染色体の比較

赤線で上方に立ち上がっている部分は O157 に特有な遺伝子群、黒線で下方に向いているのは K12 に特有な遺伝子群。いずれもファージなどにより挿入された遺伝子群が多い。

## 1. 研究の目的

自然環境には目に見えない微生物が蔓延しています。ヒト（宿主）の体表、粘膜組織、腸管などにも多種・多様な微生物が棲息しています。ヒトと共生している微生物には、ヒトに有用なもの、病害となるものがあります。有用菌と有害菌とは何が異なるのでしょうか。微生物の有用性と病原性を、微生物の遺伝子構造から解析し、有用性と病原性の普遍的な規則性を探求し、ヒトと微生物の健全な共生関係（感染防御、感染症の治療・予防）を維持する方法を創案することが、本研究の目的です。

## 2. 研究の内容

病原細菌を対象に、その染色体とプラスミドの全塩基配列を解析します。

出血性大腸菌 O157H7 (Sakai) の解析（大阪大学・宮崎医科大学・北里大学）

出血性大腸菌 O157H7 (Sakai) の染色体の総塩基数は 5,498,454bp、2つのプラスミド、pO157 は 92,720-bp、pOSAK1 は 3,303bp、を持っています。これを非病原性大腸菌 K-12 (MG1655) と比較すると、O157H7 では染色体は 859,233bp 長く、2つの余分なプラスミドを持っています。O157H7 (Sakai) と K12 に共通している塩基配列数は 4,039,345bp (約 3,772 遺伝子) で、O157H7 (Sakai) に特有な塩基配列数は 1,49,108bp (約 1,890 遺伝子) です。O157H7 (Sakai) と K-12 (MG1655) の遺伝子構造で、共通部分と特異的部分を図 1 に示しますが、同じ大腸菌という属種でありながら、染色体の構造が異なり、異なった部分は外来性（他の菌から挿入されている）のものである可能性が高いことが示唆されます。病原大腸菌にはこの他に多様な病原因子を持っています。この研究班ではヒトと密接な関係のある大腸菌の病原性と有用性を解明します。



大腸菌 O157H7 の形態 長径 2 μ m

### 肺炎クラミジアの解析（山口大学・九州大学・北里大学）

肺炎クラミジアは肺炎を起こすとともに、動脈硬化症と関連すると言われています。クラミジアは細胞内寄生細菌で、独特な増殖環をもつものです。日本で分離された *C. pneumoniae* Strain J138 の染色体総塩基配列数は 1,226,565bp（推定 1,072 遺伝子）であり、先に報告された米国の CWL029 株とは 3,665bp 短い構造を持っています。病原遺伝子とみなされるものを図 2 に示します。本研究班ではこれらの全遺伝子の機能を解析し、病原性の本態を究明します。

### ウエルシュ菌の解析（筑波大学・北里大学・九州大学・岡山大学）

ウエルシュ菌はガス壊疽や食中毒の原因細菌です。*C. perfringens* strain 13 の塩基配列が世界で初めて決定されます。総塩基配列数約 3,100,000bp（推定 2,549 遺伝子）、1 個のプラスミド pCP213（54,311bp）を持ちます。病原因子の遺伝子は多種・多様で、それらの因子は協調的に作用して病原性・組織障害性・を發揮します（図 3）。この菌では特に病原遺伝子群の発現機構・病原因子を産生するための調節機構のネットワーク・が明らかにされつつあります。本研究班ではさらに、ウエルシュ菌は毒力の強い破傷風菌やボツリヌス菌（毒素遺伝子を持つファージはシークエンスを完了）と同属であり、またすでに遺伝子解析が進んでいる枯草菌とも近縁関係にあることを念頭に置いて、これらの遺伝子システムと比較することで、病原性の本態をより明らかにします。

### 黄色ブドウ球菌（筑波大学・順天堂大学・北里大学・九州大学）、腸炎ピブリオ（大阪大学・北里大学）、オリエンチアツツガムシ（宮崎医科大学・山口大学・北里大学）などの解析とポストシークエンス研究

これまでに世界で約 40 種類の病原細菌の塩基配列が解明されています。しかし、機能の解らない遺伝子が全遺伝子数の 3 分の 1 から 4 分の 1 あります。当然、有用性と有害性の区別がつきません。さらに、各遺伝子の機能が解ったとしても、遺伝子の発現（蛋白分子への翻訳や形態形成）は総括的なネットワークで調節されます。今後は遺伝子相互間の関係をも機能解析しなければなりません。

本プロジェクトは今後、黄色ブドウ球菌（図 4）、腸炎ピブリオ、オリエンチアツツガムシなどの塩基配列解析を進め、さらに別の菌種のシークエンスを継続しながら、微生物のヒトに対する病原性と有用性を遺伝子システムとして網羅的に解明します。

## 3. 研究の体制等

病原微生物の研究は、その微生物を安全に取り扱え、その微生物の特性を熟知した研究者が担当しなければなりません。一方では、塩基配列や蛋白の解析法の高度先進化、情報解析先進化で、それぞれの専門家と共同して研究しなければなりません。本プロジェクトでは各微生物研究者が DNA 分離を行い、北里大学に塩基配列や蛋白の解析の自動化を集中し、情報解析を九州大学が担当し、病原・有用性の解析と実証を各微生物研究者が担当する、というシステムで共同研究を推進します。

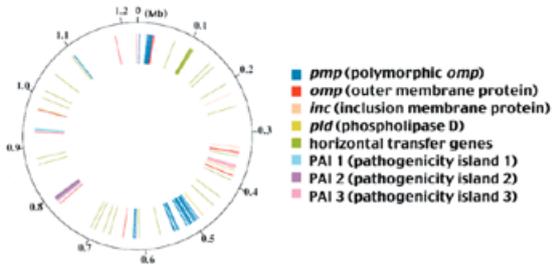
期 間：2000 年 4 月～ 2005 年 3 月

構 成：プロジェクトリーダー 1 名、コアメンバー 5 名、研究協力者 20 名（内ポスドク 3 名）

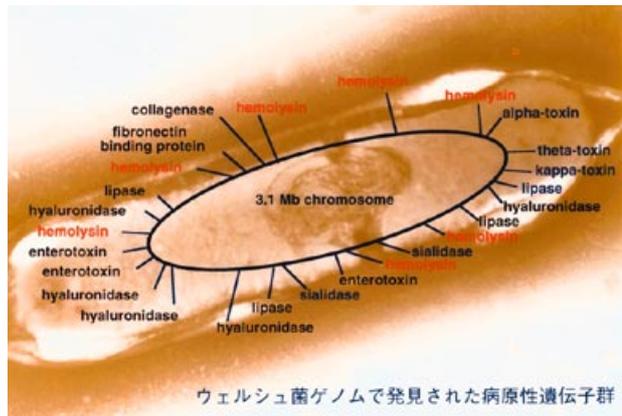
実施場所：筑波大学 基礎医学系、医療技術短期大学  
宮崎医科大学 医学部  
大阪大学 微生物病研究所  
山口大学 医学部

岡山大学 医学部  
順天堂大学 医学部  
北里大学 理学部  
奈良先端技術大学院大学

### *C. pneumoniae* ゲノムにおける病原遺伝子の分布



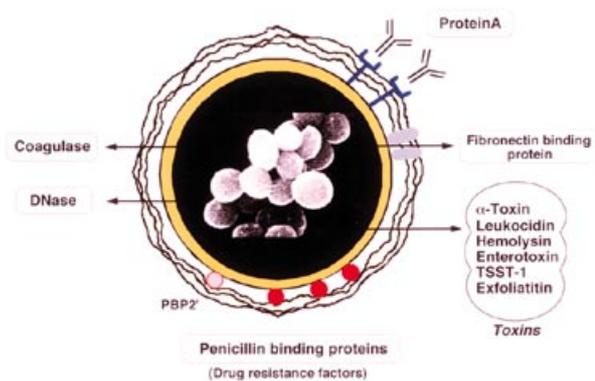
肺炎クラミジアの全塩基配列解析から判明した病原因子遺伝子座。



ウエルシュ菌ゲノムで発見された病原性遺伝子群

ウエルシュ菌の全塩基配列解析から判明した病原因子遺伝子座。

黄色ブドウ球菌は多種多様な病原因子を産生する



黄色ブドウ球菌の病原因子は多種・多様であり、現在全塩基配列解析が進行中。