

令和元年8月30日現在

機関番号：82603

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K21554

研究課題名(和文)1塩基単位の組換え率推定に基づく病原細菌13種のゲノムの組換えのホット領域の解析

研究課題名(英文) Analysis of recombination hot regions based on inference of intensity of recombination at nucleotide level in pathogenic bacterial species

研究代表者

矢原 耕史 (Yahara, Koji)

国立感染症研究所・薬剤耐性研究センター・主任研究官

研究者番号：70542356

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：組換え率のゲノム内の分布(ランドスケープ)を公衆衛生に重要な病原細菌種11種で明らかにし、その意義に関して、(A)病原性遺伝子で組換え率は高いか、(B)アミノ酸置換率の高い領域で組換え率も高いか、(C)種間で共通して組換え率が高い(低い)遺伝子は存在するか、(D)種間の遺伝子水平伝達が組換えのホット領域に関係しているか、を全て検証することが出来た。さらに、解析手法を別の観点から改良し、ヒロリ菌を対象に、新たな分集団構造と、適応進化に重要な役割を果たしたと思われるアミノ酸置換を明らかにするという、発展的な研究成果も得られた。これらの成果は全て国際誌に出版され、国内外の複数の学会で発表された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

1塩基単位の高分解像度での組換えのランドスケープとホット領域を、組換え率の最も高い種から低い種まで11種にわたって明らかにしたのは、これが全生物で初めてであった。また、生物学の長年の関心事であるアミノ酸置換率と組換え率の関係について、微生物ゲノムの中から初めて定量的なエビデンスを示すことができた。いずれも、生物学一般にとって意義深い成果だと言える。公衆衛生に重要な病原細菌種を対象とした点で、医学的にも意義深い。

研究成果の概要(英文)：This project elucidated landscape of realized homologous recombination and recombination “hot” region with elevated rates relative to the genome average in 11 human pathogens of major public health importance. It gave answers to the following questions: (A) Do virulence genes show elevated rates of recombination? (B) Do genomic regions carrying recurrent amino acid changes under diversifying selection show elevated rates of recombination? (C) Are there shared recombination “hot” or “cold” genes that show consistently high or low recombination rate among the species? (D) Is horizontal gene transfer between species related to the recombination “hot” region? Furthermore, another methodological improvement and its application to *Helicobacter pylori* enabled elucidation of novel population structure and amino acid changes that were important during its evolution.

研究分野：微生物集団ゲノム科学、進化学、バイオインフォマティクス、生物統計学

キーワード：組換え 進化 細菌 ゲノム 自然選択 病原性 集団遺伝 情報

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

突然変異と組換えは、ゲノムに多様性を生み出す、生物の適応進化の源である。突然変異率はゲノム内の特定の領域で高いことが知られ、その疾患との関係が注目されている (Michaelson, 2012, Cell)。一方、組換えは、突然変異よりも検出が難しい。実験によってゲノム上の特定の領域に生じる組換えの回数を測定することは可能だが、自然界での組換えの痕跡の検出は別問題であり、その回数をゲノムに沿って推定すること自体が未解決の難問である。今世紀になって、種内多数の全ゲノム配列を比較するというアプローチが可能になり、それによってゲノム全域について、組換え率とホット領域 (組換えが繰り返し生じた結果、個体間を高頻度で移動したように見え、生物の環境適応に重要な役割を果たしていると思われる領域) を推定することが、重要な課題になっている。

2. 研究の目的

公衆衛生に重要な 13 種で組換え率のゲノム内の分布 (ランドスケープ) を明らかにする。そして、その意義に関して、(A)病原性遺伝子で組換え率は高いか、(B)アミノ酸置換率の高い領域で組換え率も高いか、(C)種間で共通して組換え率が高い (低い) 遺伝子は存在するか、(D) 種間の遺伝子水平伝達が組換えのホット領域に関係しているか、を検証する。

3. 研究の方法

研究代表者は、組換えの痕跡 (ある個体の DNA 断片が別個体のゲノムに入り込んだモザイク構造) をゲノム全域に渡って推定するためのインシリコ染色体ペインティング法 (Lawson 2012, PLoS Genetics) をベースに、細菌の種内の多数ゲノムデータから 1 塩基単位で組換え率を推定し、組換え率の高い特定の領域 (ホット領域) を検出する方法を開発した (Yahara 2014, Mol. Biol. Evol)。本研究ではこの解析手法を、オックスフォード大学の有する病原細菌種全般を対象としたゲノム塩基配列データベースに適用する。

4. 研究成果

組換え率のゲノム内の分布 (ランドスケープ) とホット領域の全貌を、相互比較の可能な 10 種で明らかにした。細胞表面や膜のタンパク質がしばしば組み換えのホット領域に存在する一方、病原性に関する遺伝子が一貫して組み換えのホット領域に存在するのは大腸菌のみであることを明らかにした。例えば、ヒトの免疫系と相互作用し、組換えを繰り返し選択的に起こしていると報告されてきた髄膜炎菌の膜タンパク質の遺伝子 (*tbp*) が、やはりホット領域に存在し、かつ淋菌との間で、種の壁を越えた組み換えを起こしていることも明らかになった。さらに、10 種に最も共通の特徴として、リボソーム遺伝子で組換えの強度が低下していることも明らかになった。

一方、組換え率が突出して高く、別途解析を行うことにしたピロリ菌について、アミノ酸置換率の高い、多様化選択を受けている領域を初めてゲノムワイドに同定した上で、組換え率のゲノム内の分布との関係を探った。その結果、塩基多様度の効果で調整しても、多様化選択を受けている領域で組換え強度が有意に高いことを示し、組換えが適応進化に果たす役割に関する、ゲノムデータに基づく新たなエビデンスを示した。

さらに、上記のインシリコ染色体ペインティング法を、集団間の交雑・組換えを探るという観点から改良し、従来はヨーロッパ型だと考えられていたアメリカ大陸のピロリ菌に注目して解析することで、その膜タンパク質のアミノ酸置換を明らかにするという、発展的な研究成果も得られた。

以上の成果 (およびその他の関連研究の成果) が評価され、日本ゲノム微生物学会研究奨励賞を受賞した。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 3 件)

1. Yahara K, Didelot X, Jolley KA, Kobayashi I, Maiden MC, et al. (2016) The Landscape of Realized Homologous Recombination in Pathogenic Bacteria. Mol Biol Evol 33: 456-471.
2. Yahara K, Furuta Y, Morimoto S, Kikutake C, Komukai S, et al. (2016) Genome-wide survey of codons under diversifying selection in a highly recombining bacterial species, *Helicobacter pylori*. DNA Res 23: 135-143.
3. Thorell K, Yahara K, Berthenet E, Lawson DJ, Mikhail J, et al. (2017) Rapid evolution of distinct *Helicobacter pylori* subpopulations in the Americas. PLoS Genet 13: e1006546.

〔学会発表〕(計 10 件)

- 1 Koji Yahara. Population genomic studies of microbial recombination, phylogeny, and population structure. ゲノム微生物学会 研究奨励賞受賞講演 首都大学東京 2019 年 3 月 7 日
- 2 Koji Yahara. Elucidation of recombination hot regions under selection in bacteria
"Recent Advances in Biological Sciences", Puerto Rico, 2017 年 11 月
- 3 矢原耕史. 病原細菌の遺伝情報の水平移動 -集団ゲノミクスのアプローチ-
国立遺伝学研究所研究集会「生物種間における遺伝情報の水平移動」、三島、2017 年 8 月
- 4 Koji Yahara*, Kaisa Thorell*, Elvire Berthenet, Daniel J Lawson, Jane Mikhail, Ikuko Kato, Alfonso Tenorio Mendez, Cosmeri Rizzato, Maria Mercedes Bravo, Rumiko Suzuki, Yoshio Yamaoka, Javier Torres, Samuel K Sheppard, and Daniel Falush.
Rapid evolution of distinct *Helicobacter pylori* subpopulations in the Americas.
Applied Bioinformatics & Public Health Microbiology, Hinxton, UK, May 2017
- 5 Koji Yahara. Methods for studying recombination hot regions and population structure in bacteria
The 1st SMBE Satellite Workshop on Genome Evolution in Pathogen Transmission and Disease, Shiga Lake Hotel, 2016 年 2 月 23 日
- 6 矢原耕史. 病原細菌の遺伝情報の水平伝達.
第 39 回日本分子生物学会年会、横浜、2016 年 12 月
- 7 矢原耕史, Xavier Didelot, Keith A Jolley, 小林一三, Martin C. J. Maiden, Samuel K. Sheppard and Daniel Falush. The landscape of realized homologous recombination in pathogenic bacteria. 第 18 回日本進化学会大会、東京、2016 年 8 月
- 8 Koji Yahara. Elucidation of recombination hot regions and population structure in bacteria. Invited to International Symposium on Genome Microbiology. International Symposium on Genome Microbiology, Tokyo Institute of Technology, 2016 年 3 月
- 9 Koji Yahara, Xavier Didelot, M. Azim Ansari, Samuel K. Sheppard and Daniel Falush.
A novel method for efficient inference of recombination hot regions in bacterial genomes and its application to 200 *C. jejuni* genomes. The 18th International workshop on Campylobacter, Helicobacter and related organisms, Energy Events Centre in Rotorua, 2015 年 11 月 3 日
- 10 Koji Yahara, Xavier Didelot, M. Azim Ansari, Samuel K. Sheppard and Daniel Falush.
Efficient inference of recombination hot regions in bacterial genomes. Conference to celebrate the opening of our new MRC CLIMB centre "What can we learn from hundreds of bacterial genomes?", Swansea University, 2015 年 10 月 22 日

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕
出願状況（計 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況（計 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(2)研究協力者

Daniel Falush (Max Planck Institute, 現 University of bath)
Xavier Didelot (Imperial College London, 現 University of Warwick)
Martin Maiden (University of Oxford)
Samuel Sheppard (Swansea University, 現 University of Bath)
小林一三 (東京大学) ローマ字氏名: Ichizo Kobayashi

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。