

平成 29 年 6 月 14 日現在

機関番号：12102
研究種目：基盤研究(C) (一般)
研究期間：2014～2016
課題番号：26506003
研究課題名(和文) 極限貧栄養環境下で増殖する細胞の創出

研究課題名(英文) E. coli cells growing under starvation

研究代表者

イン ベイウエン (YING, BEIWEN)

筑波大学・生命環境系・准教授

研究者番号：90422401

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：実験室内進化により、環境中の微量資源成分に対し、最大利用効率を示す細胞を創出した。複数系列の実験室内進化の結果、祖先型大腸菌は培地中の栄養源が高濃度でないと、細胞増殖が観測されないのに対して、進化型大腸菌は nMオーダー以下の低濃度栄養源条件下でも増えるようになった。ゲノム変異解析の結果、膜輸送に関連する制御因子やタンパク質合成に関わる遺伝子に変異が見られた。これらの変異による栄養源の取り込み効率と使用効率が変化すると示唆された。以上により、増殖能を落として、外部資源の効率的利用を実現する戦略が自然界の極限環境微生物の生態を示唆する発見である。

研究成果の概要(英文)：Experimental evolution with the E. coli cells in a repeated starvation and resuscitation manner was performed. As a common evolutionary consequence in multiple lines, the evolved cells showed a significant decrease in growth fitness under rich conditions but an improved competence with enhanced affinity to resource under poor conditions. This evolutionary change was accompanied by the fixation of repressed translation and improved transport, owing to the genetic disturbance in regulator and ribosome. Our study provides an experimental evidence of an evolutionary transition in growth economics from time-saving to resource-saving strategies, in adaptation to the slowly and irregularly oscillated environments. It indicated that the resource-saving nature of the evolved cells compensated the deficiency in growth fitness.

研究分野：ゲノム微生物

キーワード：増殖 実験進化 適応 栄養枯渇 大腸菌

1. 研究開始当初の背景

地球生命の長老である微生物のほとんどは厳しい自然環境下で生息している。希少資源を有効利用し、生き続ける仕組みが不明である。自然界から単離された菌種、特に、極限環境微生物を実験室で解析しても、増殖しないことから、機構解明が困難である。そこで、研究発想を逆転し、実験進化により、富栄養条件下のみで増える既知細胞から極少栄養環境下でも増殖する細胞の創出を試みる。速い増殖から資源の効率的利用への機能変化のプロセス(適応進化)を解析することにより、僅かな栄養資源を巧みに使う極限環境微生物の生存機構の解明に繋ぐ。

2. 研究の目的

細胞は環境資源を利用して生きるが、その資源濃度が極限まで下がると、資源利用ができなくなり、生存不可となる。それは、細胞が増殖速度と資源利用のバランス(反比例関係)を取っているためだと言われている(Molenaar et al, 2009, Mol Syst Biol)。増殖と資源利用のトレードオフ(Velicer et al, 1999, Ecology)のバランス点をずらせば、少ない資源成分に対し、効率的利用能力をもつ細胞の誕生が可能である。そこで、資源濃度が極めて低くても、その資源の利用ができ、増殖する細胞の創出を目的とする(図1)。これにより、極限環境微生物の生態の解明や宇宙環境下での生物進化の理解に寄与する。

3. 研究の方法

実験室内進化により、環境中の極少栄養成分に対し、最大利用効率を示す細胞を創出する。具体的には、(1)進化培養実験系を確立し、増殖速度を問わない実験進化系を構築する。増殖速度と資源の最大利用効率が逆相関することが考えられるため、実験系の最適化により、目的細胞への選択効率が上がる。

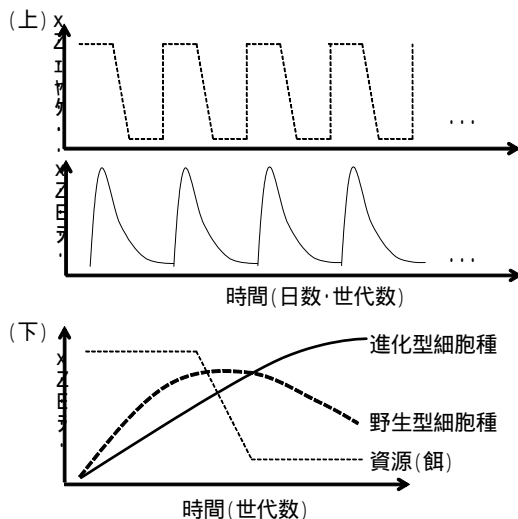


図1 資源最大限利用の細胞周の創出
 (上) 進化実験の模式図;
 (下) 進化前後の細胞の特徴。

(2) 大腸菌に対する実験室内進化を行い、栄養源最大利用能を示す大腸菌細胞を獲得する(図2)。(3) 極少栄養源の環境下において、進化型細胞が祖先型細胞や他種細胞に勝つことを検証する。(4) 進化前後の細胞内状態を調べ、少ない資源下での生存機構(資源の最大限利用法則)を提案する。

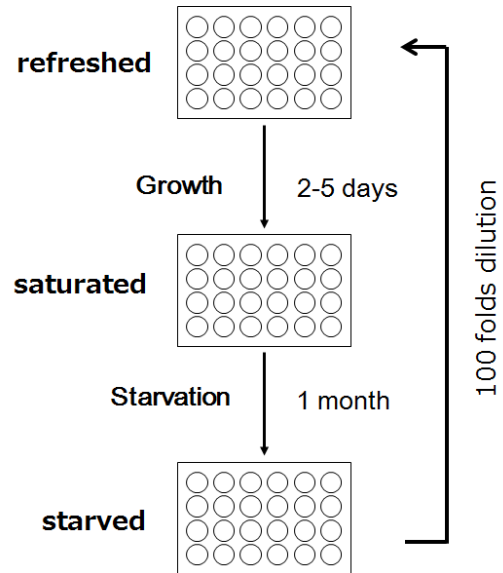


図2 網羅的実験進化

4. 研究成果

極貧栄養環境下で生きる多様な大腸菌の創出に成功した。複数系列の実験室内進化の結果、祖先型大腸菌は培地中の栄養源が高濃度でないと、細胞増殖が観測されないのに対して、進化型大腸菌は nM オーダー以下の低濃度栄養源条件下でも増えるようになった。つまり、従来の約 100 倍低い濃度下でも大腸菌が資源として利用することができた。ゲノム変異解析の結果、進化型大腸菌のリボソームに変異があり、翻訳活性が大幅に下がった(図3)。また、全系列に共通に見られる変異があった。それは膜輸送関連遺伝子を制御する regulator である(未公表)。多階層生化学的、数理的解析の結果、この変異による栄養源の取り込み効率が変わるようになった。つまり、大腸菌は、増殖能を落として、外部資源の効率的利用を実現し、極めて低い濃度の栄養環境下でも生存できるようになった。この仕組みは複数進化系列に共通的に見られており、自然界の極限環境微生物の生態を示唆する発見である。

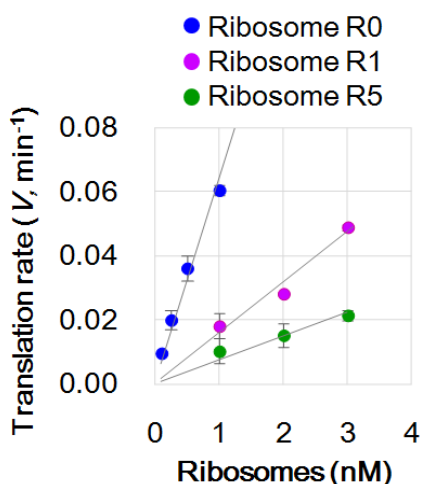
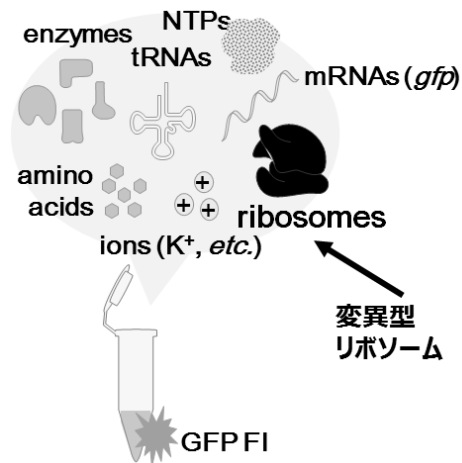


図3 リボソームの翻訳特性の評価

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 8 件)

- [1] M Kurokawa & BW Ying (2017) Precise, high-throughput analysis of bacterial growth. JoVE: in press 査読あり
- [2] BW Ying, S Seno, H Matsuda & T Yomo (2017) A simple comparison of the extrinsic noise in gene expression between native and foreign regulations in Escherichia coli. Biochem Biophys Res Comm 486:852-857. 査読あり doi: 10.1016/j.bbrc.2017.03.148.
- [3] M Kurokawa, S Seno, H Matsuda & BW Ying (2016) Correlation between genome reduction and bacterial

growth. DNA Res 23: 517-525. 査読あり

DOI: 10.1093/dnares/dsw035

- [4] BW Ying, K Yama, K Kitahara & T Yomo (2016) The Escherichia coli transcriptome linked to growth fitness. Genomics Data 7:1-3. 査読あり doi: 10.1016/j.gdata.2015.11.011.
- [5] BW Ying, T Honda, S Tsuru, S Seno, H Matsuda, Y Kazuta & T Yomo (2015) Evolutionary consequence of a trade-off between growth and maintenance along with ribosomal damages. PLOS ONE 10: 0135639. 査読あり doi: 10.1371/journal.pone.0135639.
- [6] BW Ying, Y Matsumoto, K Kitahara, S Suzuki, N Ono, C Furusawa, T Kishimoto & T Yomo (2015) Bacterial transcriptome reorganization in thermal adaptive evolution. BMC Genomics 16: 802. 査読あり doi: 10.1186/s12864-015-1999-x.
- [7] T Kishimoto, BW Ying, S Tsuru, L Iijima, S Suzuki, T Hashimoto, A Oyake, H Kobayashi, Y Someya, D Narisawa & T Yomo (2015) Molecular clock of neutral mutations in a fitness-increasing evolutionary process. PLOS Genet 11: 1005392. 査読あり doi: 10.1371/journal.pgen.1005392.
- [8] Y Ishizawa, BW Ying, S Tsuru & T Yomo (2015) Nutrient-dependent growth defects and mutability of mutators in Escherichia coli. Genes Cells 20: 68-76. 査読あり doi: 10.1111/gtc.12199.

[学会発表](計 6 件)

- [1] 日原奨希、瀬尾茂人、松田秀樹、小椋義俊、林哲也、イン ベイウエン：ヒスチジン枯渇を長期間経験したヒスチジン要求性大腸菌株に対する解析、日本ゲノム微生物学会第11回大会・2017-03・慶應義塾大学(神奈川県藤沢市)
- [2] 西村一成、黒川真臣、イン ベイウエン：大腸菌ゲノム縮小における増殖速度と変異率の相関、日本ゲノム微生物学会第11回大会・2017-03・慶應義塾大学(神奈川県藤沢市)
- [3] 黒川真臣、瀬尾茂人、松田秀樹、イン ベイウエン：大腸菌ゲノム縮小株の増殖に対する研究、日本ゲノム微生物学会第11回大会・2017-03・慶應義塾大学(神奈川県藤沢市)
- [4] イン ベイウエン：An evolutionary trade-off between growth and

sustainability accompanied by ribosomal damages、日本ゲノム微生物学会第 10 回大会・2016-03・東京工業大学（東京都目黒区）

- [5] イン ベイウエン: 実験室内極限生物の創出、日本宇宙生物科学会第 28 回大会・2014-09・帝京大学（東京都板橋区）
- [6] イン ベイウエン: Long-term repeated starvation-resuscitation triggers an evolutionary trade-off between growth rate and resource utilization, 日本進化学会第 16 回大会・2014-08・宝塚現代劇場（兵庫県宝塚市）

〔その他〕

招待講演（計 2 件）

- [1] Bei-Wen Ying, Connecting bacterial growth with genome and transcriptome. International workshop on "Integration of Synthetic Biology and Systems Biology of Microbes"・2016-03・奈良先端技術大学院大学（奈良県生駒市）
- [2] イン ベイウエン, 実験室内進化から見た大腸菌の生き残り戦略, 日本バイオインフォマティクス学会・平成 27 年度生命システム理論研究会・2015-11・東京歯科医科大学（東京都文京区）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

イン ベイウエン (YING, Beiwen)
筑波大学・生命環境系・准教授
研究者番号：90422401