

【総説】細菌の動く遺伝子

太田 敏子 (基礎医学系)

21世紀の始まりは、O-157、BSE、SARS や鳥インフルエンザなどの新興感染症の台頭であった。生命科学の分野における今世紀最大の業績は、ヒトゲノムの解読ができたことであるが、この偉業を成し遂げるのに貢献したのは、細菌細胞のシステムを借りたバイオテクノロジーである。また、多くの種類の抗生物質の発見は、病原細菌を制圧し多くの感染症からヒトを救った。このように、人類は細菌細胞をコントロールすることができたかに見えていたが、今また、我々はこの細菌を含む微生物の脅威に震撼としている。この細菌の場合の、生き残りをかけた戦略はどのような手口なのであろうか？これまでに明らかにされてきたことを概説しよう。

まず、細菌の遺伝子の大きさはどのくらいあるのか塩基対の長さで比較してみると、ヒトの染色体DNAを対照にして、細菌の染色体DNAはその1/1,000である。細菌DNAのうち、プラスミド、ファージ、トランスポゾン(Tn)、インサージョンエレメント(IS)とよばれる小さなDNAは、可動性のDNA断片で、同種または同属内の菌細胞間では移動することができ、しかも遺伝子として機能することができる。その大きさは、細菌の染色体DNAの1/100~1/1,000である。ISはもっとも小さくて1/1,000~1/10,000に相当し、ISの小さいものはウイルスDNAとほぼ同じくらいのももある。

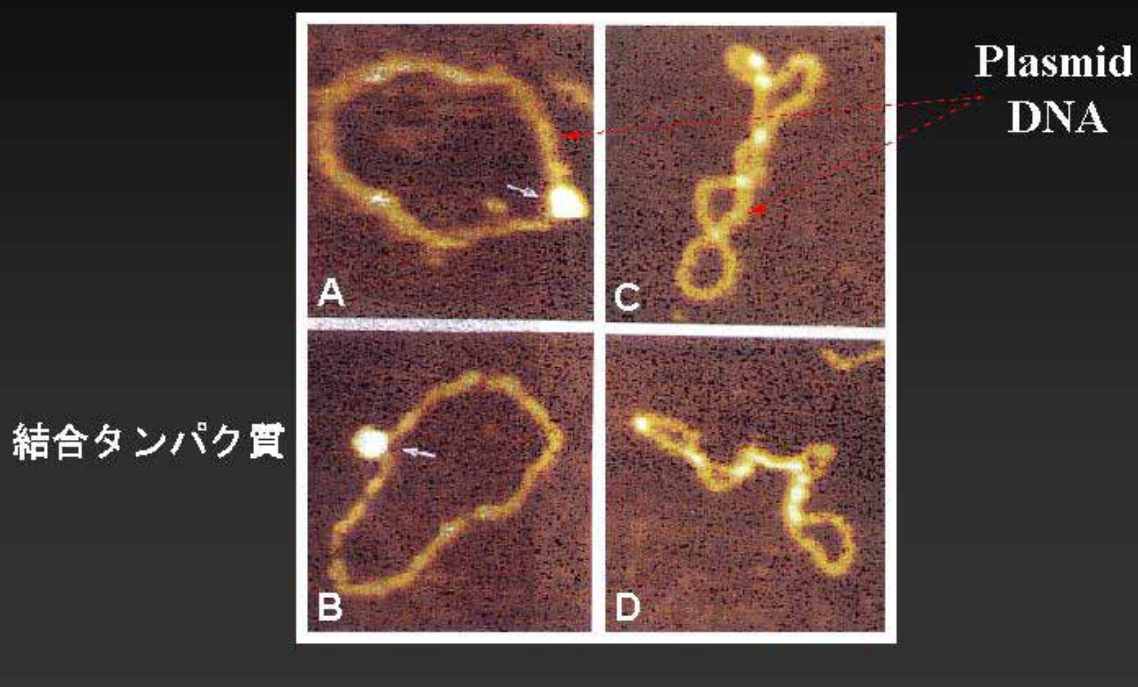
細菌の遺伝子の種類と大きさ

(塩基対)

ヒトの染色体DNA.....	3,000,000,000 bp
細菌の染色体DNA.....	2-4,000,000 bp
プラスミドDNA.....	3-100,000 bp
ファージDNA.....	3-100,000 bp
トランスポゾン(Tn).....	3-50,000 bp
インサージョンエレメント(IS).....	500-2,000 bp
ウイルスDNA.....	300 bp

これらの可動性の遺伝子 DNA の形を原子間力顕微鏡 (AFM: Atomic Force Microscopy) で観てみると、リング状のひものように捉えることができる。AFM はマイカ片 (雲母) 上に生の試料を載せて窒素ガスを吹きつけて乾燥させるため、試料の分子の形を生理状態に近い形で観察することができる。原理はカンチレバーの先に付けた極微細チップを試料に近づけると原子間に働く反発力を利用してスキャンさせ、形をイメージする顕微鏡である。電子顕微鏡は、固定した試料に電子を当てることにより通過する電子の密度で形を観察する顕微鏡であるが、AFM の像はこれと同じような像である。図の A と B はプラスミド DNA とそれに結合しているタンパク質の分子を示し、C と D はスーパーコイル状のプラスミド DNA の像を示している。

動く遺伝子を原子間力顕微鏡で見ると・・・

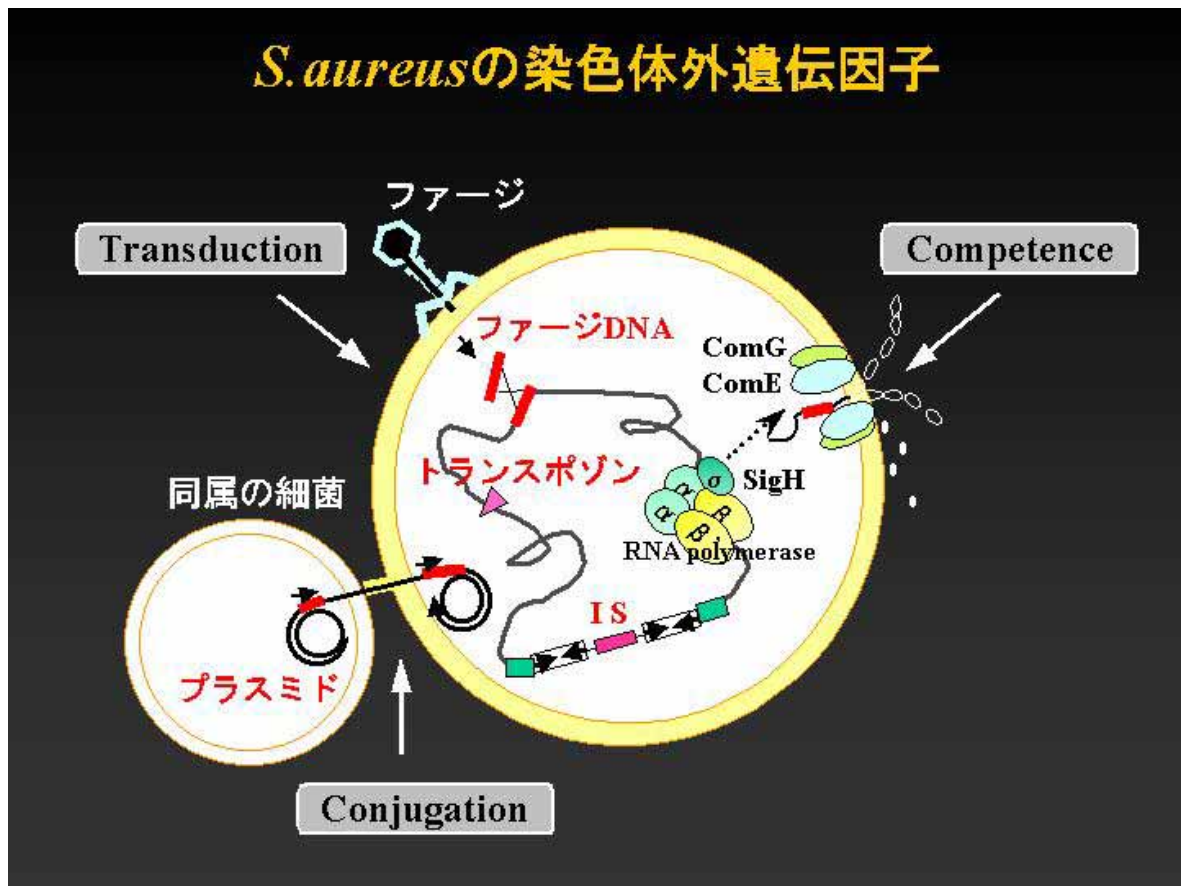


通常、DNAは2本鎖であるが、その1本の鎖は、A, T, G, Cの4種類の塩基(ヌクレオチドの側鎖)の配列により遺伝子の暗号になっている。この暗号は、3個ずつの塩基が1種類のアミノ酸をコードしている。すなわち、塩基の配列はアミノ酸の配列を示していることになる(図)。細胞内では、DNAの配列を相補的な配列としてRNAポリメラーゼによる酵素化学反応でmRNAに写し取られた後、アミノ酸配列に翻訳される。アミノ酸配列はタンパク質の構造を表している。この塩基配列からタンパク質に翻訳される過程は、生命現象の根幹であり、今では誰もが知っているドグマである。塩基配列上の遺伝子の目印は、RNAポリメラーゼの共通な認識配列であるプロモーター配列(Shine-Dalgarno配列)とリボソーム結合配列(GGAGAA)と翻訳開始メチオニン(ATG)の「セット」である。このように、細菌の染色体DNAには、約3,000個前後の遺伝子がコードされている。

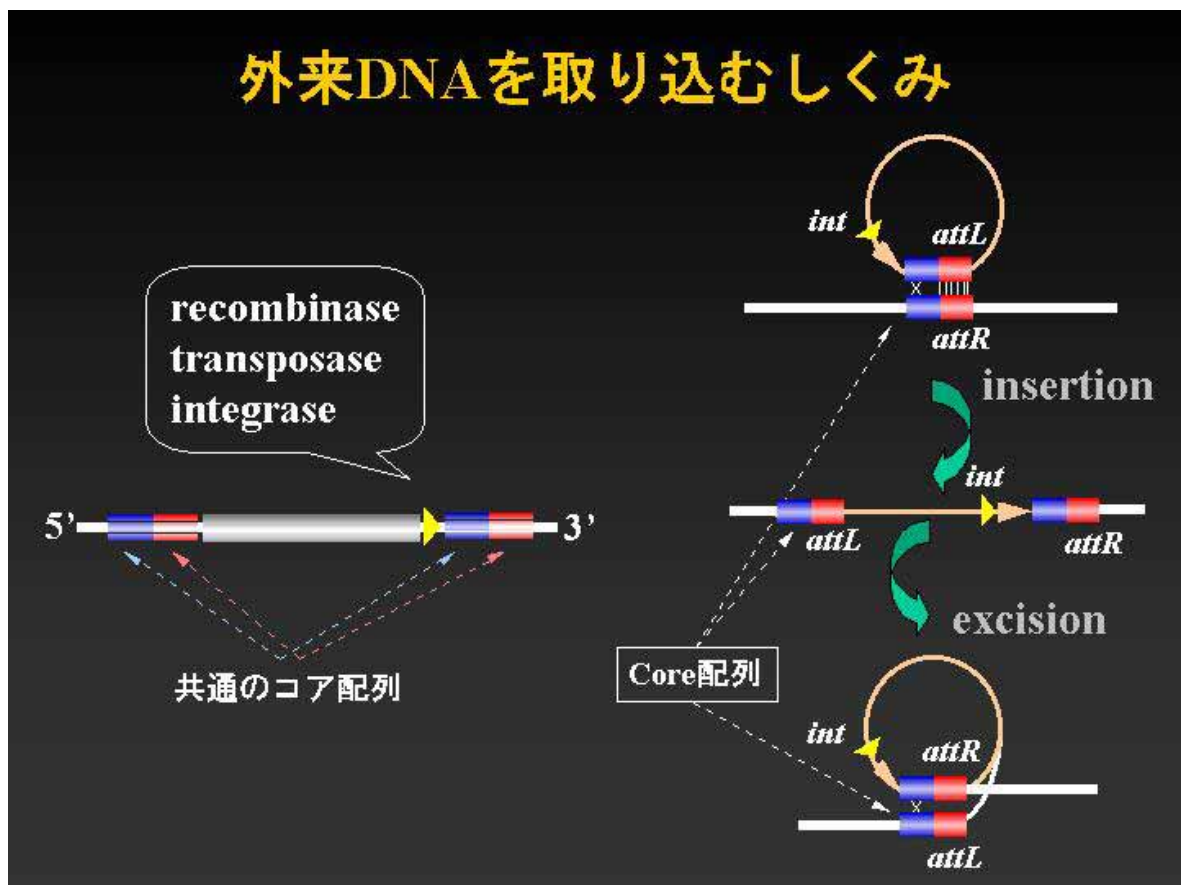
短い可動性のDNAの場合でも、プラスミドDNA、ファージDNA、Tnはどれもこのセットを備えている。したがって、これらが細胞に入ると、このDNAの情報により新規タンパク質が産生される。しかもプラスミド上には染色体DNAと同様な複製開始シグナル(*oriC*)をもち、プラスミド単独でも複製することができる。また、これらのうちISだけは遺伝子をコードしておらず、繰り返し配列(反復配列)のみである。



では、染色体外 DNA はどのように細胞内に取り込まれるのだろうか。その取込みのイメージを図に示した。外来 DNA の取込みには3つの機構がある。その第1は種間の接合 (conjugation) によるプラスミド DNA の細胞内への移動である。2つ目はファージによる細胞内への導入 (transduction)、3つ目は外来 DNA 挿入システム (コンピテンスシステム) による DNA 断片の細胞内への直接的な取り込みである。これらにより細胞内へ入った DNA は組換え (recombination) により染色体 DNA に組み込まれる。このしくみの詳細は後で述べる。プラスミドやファージは細菌の種類に特異的であり、大腸菌ファージは、 λ 、T7、SP6、M13 など、黄色ブドウ球菌ファージには、 ϕ 13、 ϕ 80、 ϕ 42 などが知られている。



つぎに、細菌に備わっている、外来 DNA を染色体に挿入するための驚くべき巧妙なしくみについて述べる。早くから進んでいたファージに関する研究から、染色体 DNA 上のファージ配列をよく見るとファージ DNA の両端に短い共通のコア配列があることが明らかになっていた。単独のファージ粒子から得た DNA にもまったく同じコア配列が見い出される。しかもそのコア配列の近くに組換え酵素遺伝子が必ず見つかる。プラスミド、ファージ、Tn の動く遺伝子は、どれもこの組換え酵素遺伝子とコア配列のセットを持っており、これら組換え酵素遺伝子はそれぞれ、*recombinase*、*integrase*、*transposase* とよばれている(図の左パネル)。これらの酵素は配列は異なるが、どれも DNA 断片を組み換える機能をもっている。ファージ DNA の場合を例にとると、まず、ファージ DNA にあるコア配列 (*attL*)は染色体にある相同なコア配列 (*attR*)を探して相補的に結合しようとする。そのとき、コア部分の近くに位置する組換え酵素により組み換えが起こり、複製の時にファージ DNA に乗り換えて複製が行われるため、染色体に組み込まれていく(右のパネル、相同組換え)。染色体上には2つのコア配列ができることになり、今度はこの2ヶ所で挿入が起こる。また、挿入されているファージ DNA は、両端にコア配列をもっているため、なげ縄式に相同になりやすく隣接する組換え酵素により相同組み換えが起こり切り出されていく。このように、プラスミドや Tn も同じしくみでコア配列を礎にして DNA が出たり入ったりすることができる。多くの場合、薬剤耐性遺伝子や毒素遺伝子はこの可動性 DNA から獲得される。薬剤耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)や病原性大腸菌 O-157 はそのよい例である。



細菌のゲノムサイズは表に示すように2～4 Mbp(メガ塩基対)の幅があり、菌種によって異なっている。同じ菌種のなかでも標準株と臨床分離株を比べてみると、臨床分離株は大きいもので500kbp(キロ塩基対)もの長さのDNAが付加されている。

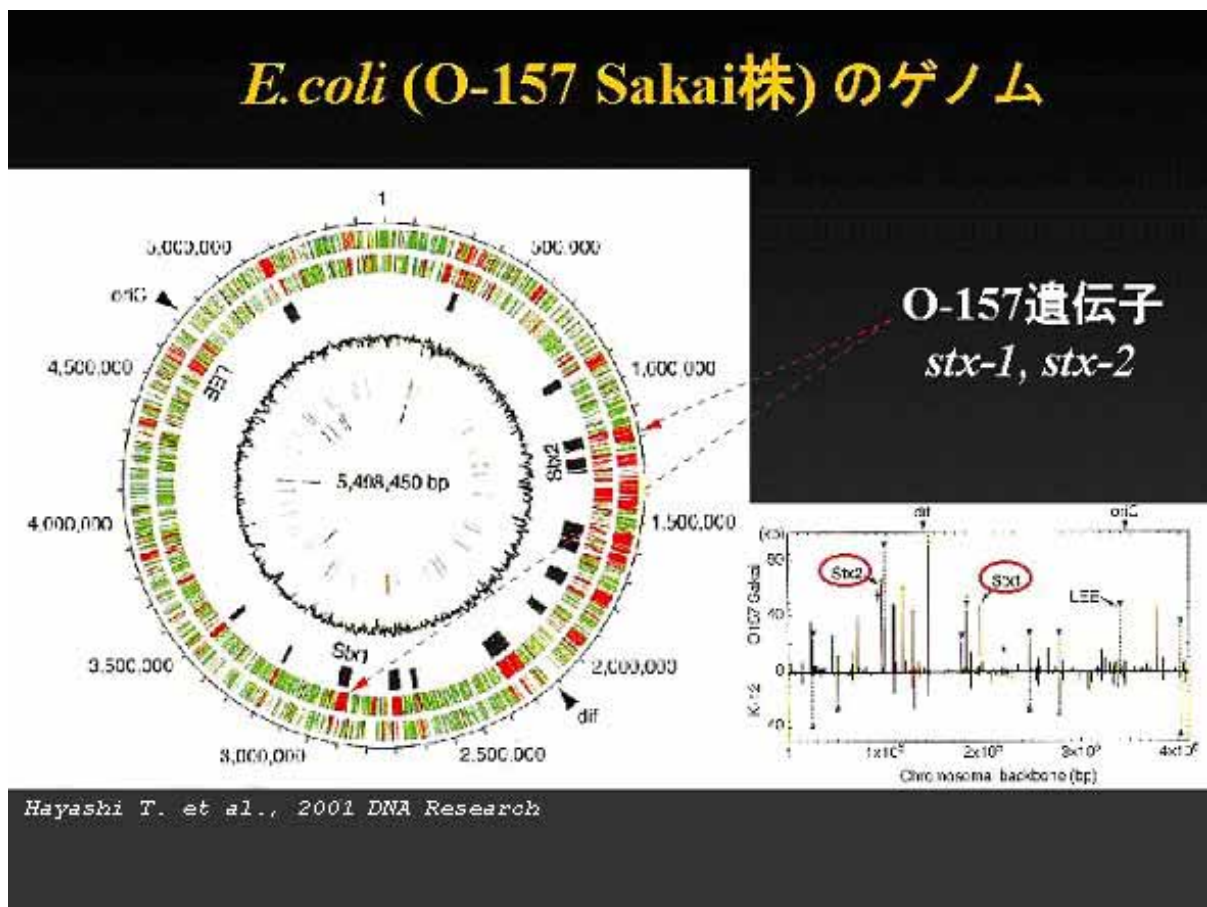
これは臨床分離株が治療のために使われる薬剤や人体の組織細胞の生命現象による環境変化のハードルを越えるために付加されてきたのである。このような環境では、本来その菌がもっていなかった生き残り因子(薬剤耐性因子や毒素因子、接着因子など)を獲得した細胞のみが生き残るチャンスを与えられる。細菌の場合、たった1個の細胞がそのチャンスをつかめば、1晩で 10^9 (100億)個以上に増えることができる。このようにして、新型細菌は創られて、ばらまかれていくのである。病原細菌の中で、話題になっている代表的グラム陰性菌の大腸菌(*E.coli*)と代表的グラム陽性菌の黄色ブドウ球菌(*S.aureus*)を具体例として説明しよう。

病原細菌のゲノムサイズ

菌種	サイズ (bp)
<i>Escherichia coli</i>	4,639,221
<i>Shigella dysenteriae</i>	4,590,000
<i>Salmonella typhi</i>	4,780,000
<i>Vibrio cholerae</i>	2,961,146
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6,264,403
<i>Helicobacter pylori</i>	1,667,000
<i>Staphylococcus aureus</i>	2,813,641
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1,852,422
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2,038,615
<i>Clostridium perfringens</i>	3,031,430
<i>Clostridium tetani</i>	2,799,250
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	4,400,000
<i>Treponema pallidum</i>	1,080,000
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	1,226,565

大腸菌は哺乳類や鳥類などの腸管の常在菌であり、特定の菌株のみがヒトに病原性をもつ。1996年に大阪・堺市で発生した集団感染から分離されたのが、腸管出血性大腸菌 O-157 である。本菌は高い感染性と極めて少ない菌数で感染が成立するため、全ゲノムの解析を行なって非病原性菌株との比較により病原性因子が追跡された。

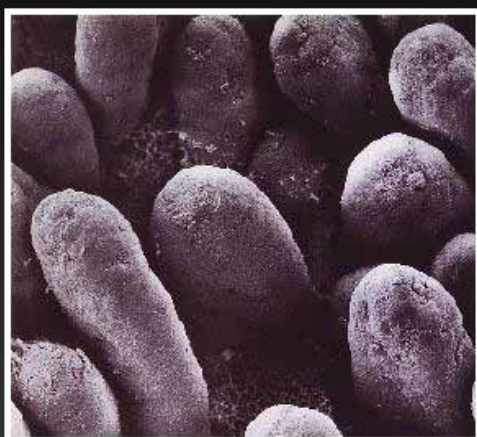
図の左パネルにその全遺伝子構造を示すが、赤の部分が O-157 に特異的な遺伝子である。5,361 個の遺伝子のうち、約 1,700 個がこれに相当する。これらはほとんど外来性であり、この中に 2 種類の志賀毒素遺伝子 (*stx-1*, *stx-2*, 赤の矢印の位置) が同定された。右のパネルでは、非病原大腸菌のゲノム (横軸) に対して O-157 特異的部分を赤のバーで示してある (赤丸は *stx-1*, *stx-2*)。これらを見ると、赤の部分は集まって存在し、ほとんどがファージによる領域であった。これらのゲノム上には、さまざまな病原遺伝子が存在しており「病原遺伝子アイランド」と呼ばれている。



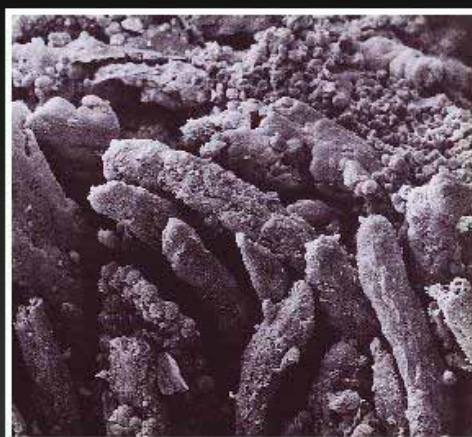
O-157 は血性の下痢と激しい腹痛を主症状とした出血性大腸炎を起こす。前にも述べたように、本菌はわずか 50～100 個の菌数で感染が成立し、溶血性尿毒症 (HUS) や脳症をひき起こして重篤になることが問題となった。このことは、如何に志賀毒素の毒性が強いかを物語っている。

写真は O-157 に感染した小腸と正常なものの内壁を示している。これを見ると、感染後の小腸内壁の絨毛は崩れてしまっていることが判る。

大腸菌O-157の志賀毒素による病態



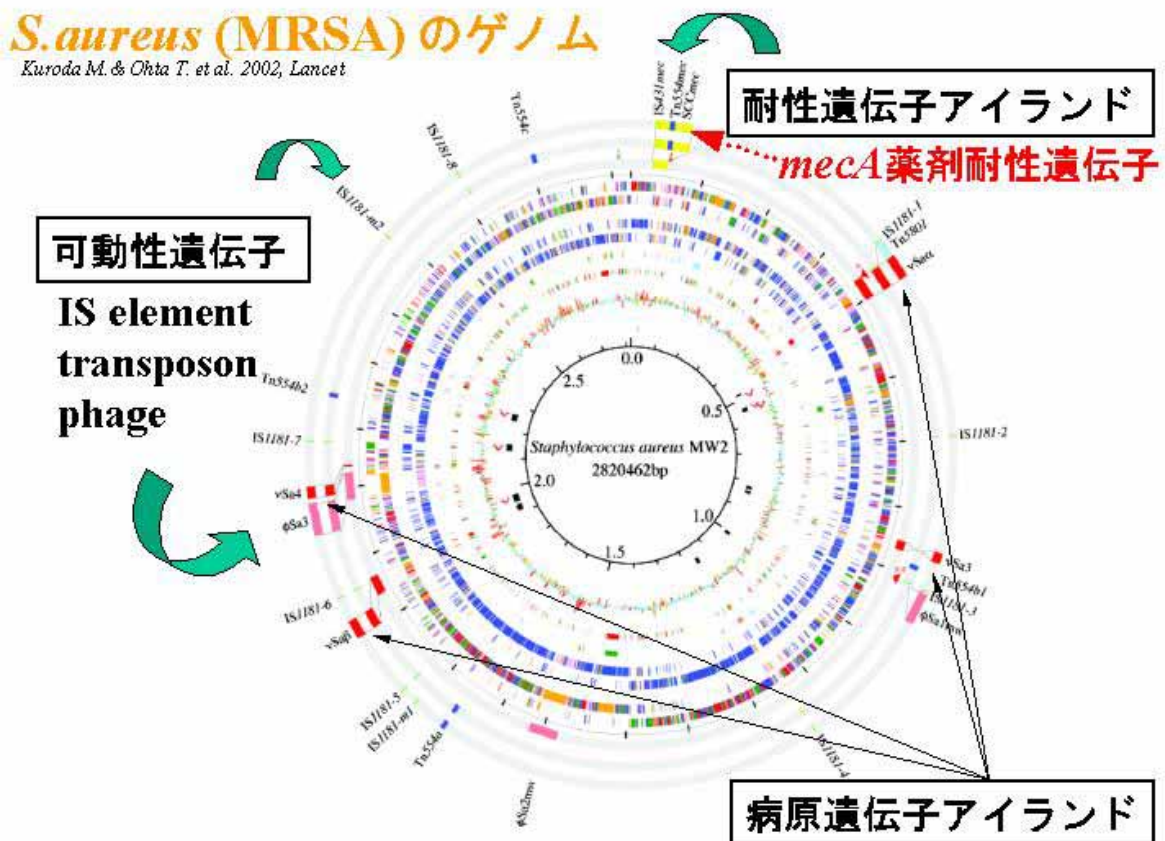
正常な小腸内壁



O-157感染の小腸内壁

黄色ブドウ球菌はヒトや哺乳動物の鼻腔や表皮粘膜に常在する菌であるが、ひとたび環境が変化すると、多種多様な病原因子を産生して感染症を惹起する。本菌の問題点は、薬剤に対して耐性を獲得しやすく多剤耐性菌 (MRSA: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) として院内感染の起炎菌となることである。

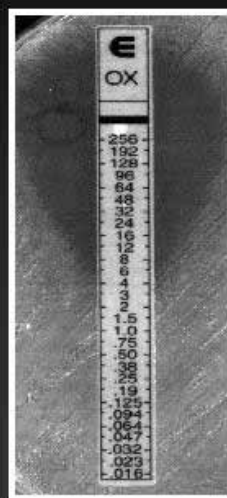
MRSA の変幻自在な病原性を理解し、これを制圧するために全ゲノム解読に関連病原遺伝子が調べられた。そのゲノム構造は、基本構造に獲得外来遺伝子が随所に挿入されて集合体になっていることが判った(図)。おおまかにいうと3~4つの広いファージ領域が挿入されており、そこには合わせて約100種類の病原因子が集まっている(病原遺伝子アイランド)。さらに外来の広い染色体カセットが挿入されており、MRSA の特徴を決めている *mecA* 薬剤耐性遺伝子(図の黄色部分)のセットが組み込まれている。その他にも、Tn や IS の可動性因子が随所に点在している。つまり、MRSA ゲノムには「外来遺伝子挿入装置」が散りばめられていて、耐性遺伝子などをたやすく獲得できる構造になっていた。



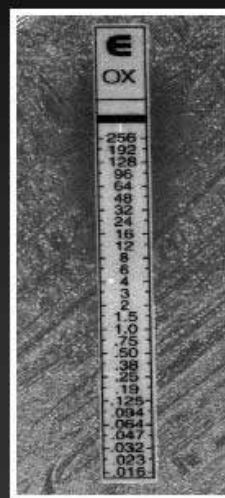
実際に、*mecA* 薬剤耐性遺伝子を獲得した株と元の株の薬剤に対する感受性を比較してみよう。細胞壁合成阻害剤の β ラクタム剤(メチシリン)を濃度勾配をつけてしみ込ませたろ紙を使用して菌の生育を調べる、E-テストというのがある。図の写真で示すように、MRSA 株は、薬剤の濃度が濃くなっても菌が生育する。対照的に標準株は、薬剤の濃度が濃くなると大きな発育阻止円ができる。臨床の現場では、この発育阻止濃度はどんどん高くなり、高度耐性化した株が分離されることが知られるが、このしくみも今後解決していかなければならない。

β ラクタム剤 (methicillin)に対する感受性の違い

E-test



標準株



MRSA株

以上に述べたように、細菌は過酷な環境にさらされると、新規の毒素や薬剤耐性の遺伝子などの外来遺伝子をゲノムに取り込んで、その環境に適応できるものだけが選択的に生き残っていく。いわば、細菌細胞にとって動く遺伝子は、生き残るための重要な武器なのである。したがって、この細菌の戦略こそ病原細菌を制圧するための標的になるかも知れない。

動く遺伝子は細菌の武器である



細菌は**新規の毒素**や**薬剤耐性**の遺伝子をもっている
外来遺伝子をゲノムに取り込んで生き残ろうとする