

7.4 考察

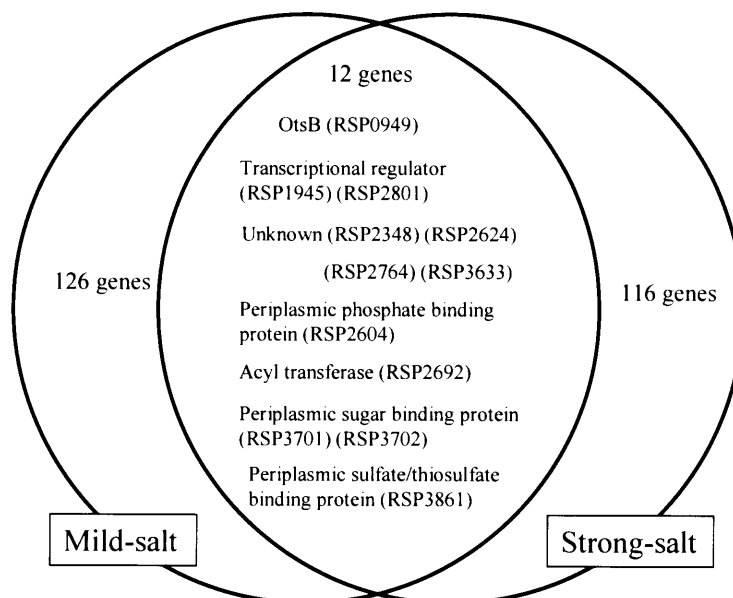
本章ではDNA マイクロアレイを用いて、*R. sphaeroides*の塩ストレスに対する遺伝子発現解析を行なった。本研究では塩ストレス強度と塩ストレス誘導時間を注意して実験条件を設定した。

このうち、塩ストレス強度に関しては、0.25% (Mild-salt) と 1.5% (Strong-salt) という異なるストレス強度を選択してそれぞれ比較解析する事にした。しかし、Strong-salt については、通常使用する $crt \geq 1.15$ かつ $Fold\ change \geq 1.5$ の条件を適応したところ、1,000以上の遺伝子 (intergenic regionsを除く) の発現量変化が認められて解析に困難が生じる結果となった。そのため、同条件に関しては $crt \geq 1.15$ 、 $Fold\ change \geq 4.0$ の条件で解析を行なった。アレイの実験・解析条件が異なるので一概には比較できないが、*E. coli*において、0.4 M (2.4%) NaClを9 min 誘導した条件 ($Fold\ change \geq 1.5$)で152遺伝子が発動し (Weber *et al.*, 2002)、*Synechocystis*において、0.5 M (2.9%) NaClを30 min 誘導した条件 ($Fold\ change \geq 2.0$)で357遺伝子が発動した結果 (Kanesaki *et al.*, 2002)と比較すると、*R. sphaeroides*はこれらの種に比べてNaClに対する遺伝子発現感受性が強い株であることが示唆された。一方、ストレスの誘導時間に関しては、7 minにおいてNaClを感知する遺伝子群を、45 minにおいてストレスに適応するための遺伝子群を捉えることを目標に時間設定を行なった。

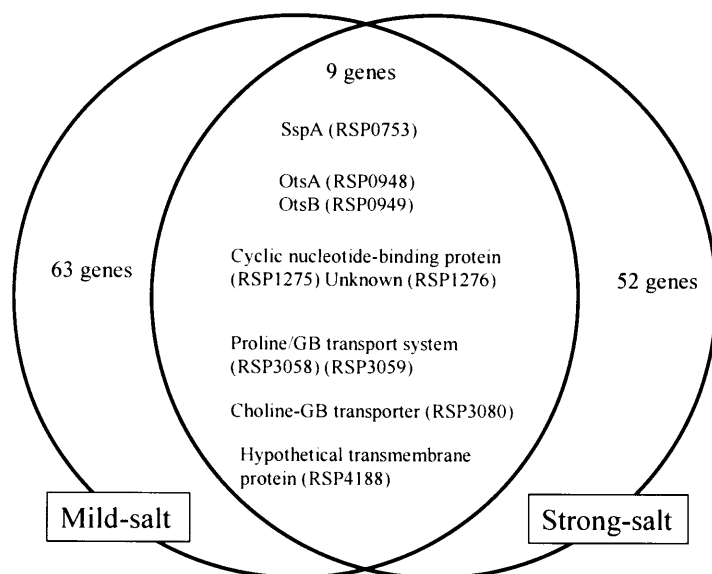
以上のストレス強度と誘導時間の2つの因子を組み合わせる解析の結果、Mild-saltとStrong-saltで共に発現量が増加している遺伝子は、7 minで12遺伝子、45 minで53遺伝子と大きく数が異なることが明らかになった。このうち、7 minにおける12遺伝子はすべて発現量が増加していた。一方、45 minにおいては、9遺伝子の発現量が増加しており、44遺伝子の発現量が減少していた (Fig. 7-5)。

また、Mild-saltでは発現量が減少しているもののStrong-saltでは上昇しているもの、逆にMild-saltでは発現量が増加しているもののStrong-saltでは減少しているもの、言い換えれば、発現のミスマッチを起こしている遺伝子は7 minにおいては24遺伝子が存在し、45 minにおいては全く存在しない事が明らかになった。以上の結果から、ストレスの信号伝達に関する遺伝子群 (7 min) は、強度により異なるものが働いているが、ストレスに適応する遺伝子群 (45 min) は強度に依らず同じものが働いている可能性が示唆された。

A Salt-stress inducible genes (7 min)



B Salt-stress inducible genes (45 min)



C Salt-stress repressible genes (45 min)

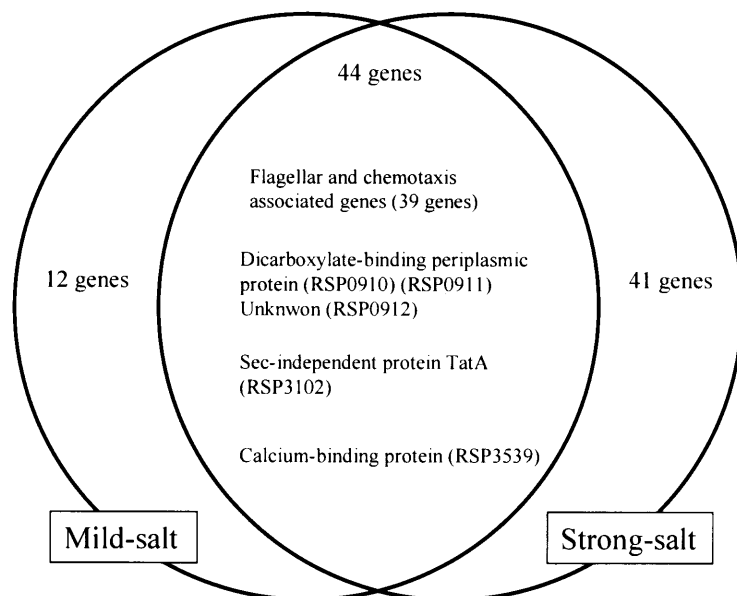


Fig. 7-5 Categorization of salt-stress regulated genes. Each of the two overlapping circles in A, B and C includes genes whose expression was altered by Mild-salt stress or Strong-salt stress. The overlapping regions of the circles include those genes whose expression was affected by both Mild-salt stress and Strong-salt stress. (A) Salt-stress inducible genes (7 min). (B) Salt-stress inducible genes (45 min). (C) Salt-stress repressible genes (7 min). No genes were identified whose expression was repressed by both Mild-salt stress 7 min and Strong-salt stress 7 min.

第一に、信号伝達に関与すると考えられる遺伝子群について考察する。塩ストレスのセンサー遺伝子として、6章でも探索を行なった Histidine kinases (Hiks) や Response regulator (RR) が候補として挙げられるが、Strong-salt 7 min において計 23 種の発現量変化が認められ、どの因子が塩ストレスに対してセンサーの機能を有しているのかを同定することはできなかった。一方、Mild-salt において解析条件を満たしていたのは、RSP2171 と RSP3511 の 2 種のみであった。ただし、その発現量は他の変動遺伝子に比べると大きく増加しておらず、周辺の遺伝子や相同性からも機能が類推できなかった。今後はこれらの破壊株を作製することによって、NaCl に対する感受性を観察することにより、塩ストレスのセンサーとして機能しているかどうかを解析することが可能であると考えられる。また、6章で破壊株を作製した 2 種の遺伝子 RSP_{hik1} (RSP3219)、RSP_{hik2} (RSP3240) はほとんど発現量が変化していなかった。そのため、それらが実際には塩ストレス条件下で発現していない可能性や、それ以前に塩ストレス特異的に発現する Hiks や RR の発現量変化自体を捉えるのが難しい可能性も示唆され、今後別のアプローチから解析することもあわせて検討することにより、より明確に解明していくことが可能になると考えられる。

第二に、ストレス適応に関与すると考えられる遺伝子群について考察する。今回の解析結果から、これまでに塩ストレスとの関連が知られている遺伝子との関連で興味深い知見が多数得られたので、それらを含めて議論を進めたい。1章で述べたように、細菌の塩ストレスに対する最初の応答は、細胞内への K^+ の蓄積とそれに対応するグルタミン酸の蓄積である (Csonka and Epstein, 1996)。今回の結果において、 K^+ 輸送系 (RSP1265-1269) やグルタミン合成酵素 (RSP0189, RSP2603, RSP1146, RSP1148) に関する遺伝子は発現量が変化していないか、あるいは減少していることが明らかになった (Table 7-7)。同様の知見は *E. coli* のアレイ解析 (2.4% NaCl stress/8 min) においても報告されている (Weber *et al.*, 2002)。 K^+ の蓄積やグルタミン酸生合成はストレスを感受して数秒以内に起こることが知られており、塩ストレスを誘導したと同時にこれらの発現上昇が起こり、アレイやノーザンで解析するときには既に発現が抑制されている可能性も充分考えられる。そのため、塩ストレスを誘導後 7 min 後の時点で蓄積されているタンパク質や酵素活性、 K^+ やグルタミン酸の濃度について生化学的な解析を進めることによってこの仮説を検証し、メカニズムの解明に結びつけることが考えられる。

これ以降は、マイクロアレイによる解析においても塩ストレスに応答して発現量が増加していた既知の塩ストレス応答遺伝子に関する解析結果についてそれぞれ詳細に考察する。

適合溶質トランスポーターの中で最も顕著に発現量が増加していた遺伝子群は Proline/Glycine betaine ABC-type transport system (RSP3057-3059) であった。また、この遺伝子群は Strong-salt 7 min/45 min では全遺伝子の中で最も発現量が増加して

おり、Mild-salt でも同様に高い発現量の増加を示していた。この遺伝子群は同じくグラム陰性細菌である *E. coli* や *Salmonella typhimurium* (*S. typhimurium*) の ProU (ProVWX) と極めて高い相同性を有しているが明らかになった。*E. coli* のアレイ解析においても ProU は発現量が増加している知見が報告されている (Weber *et al.*, 2002)。ProU は、ABC (ATP-binding cassette) タイプの構造からなる、基質特異性の広い適合溶質トランスポーターである。また、低浸透圧培地で培養した細胞において、浸透圧上昇によって活性化されることが報告されている。*E. coli* においては、低浸透圧時にのみプロリン等の物質輸送をしている PutP、プロリンやグリシンベタイン、さらにはエクトインなど多様な基質輸送を仲介している ProP、グリシンベタインやプロリンベタインに対する親和性が非常に高い ProU、コリンに対する親和性が高い BetT (一部の *E. coli* 株は BetT を持たない) の 4 種の適合溶質トランスポーターが存在する (1 章参照)。このうち、ProP、ProU が浸透圧上昇に伴い発現誘導されることが報告されており (Csonka and Epstein, 1996)、外界からの適合溶質輸送の中枢を担っていることが明らかになっている。一方、*R. sphaeroides* には ProP と相同性の高い遺伝子がゲノム配列中に見出されず、その代わり ProU と高い相同性のある配列が 2 種類 (RSP3057-3059, RSP2179-2181) 見出された。このうち、RSP3057-3059 は塩ストレスによって発現量が増加したものの、RSP2179-2181 の発現量はほとんど変化していなかった。そのため、*R. sphaeroides* は *E. coli* とは異なる適合溶質輸送システムを有している可能性が考えられる。また、*R. sphaeroides* のゲノム配列中には BetT と相同性の高い遺伝子 (RSP3080) も見出され、ProU 同様に発現量が増加していることが見出された。なお、*E. coli* においては、ProU を破壊しても ProP や BetT が相補して輸送システムとして働くため、ProU 単独の破壊では glycine betaine をはじめ外界からの適合溶質輸送能が停止することはないことが報告されている (Lucht *et al.*, 1994; Culham *et al.*, 2001)。しかし、ProP と ProU の両方を破壊すると適合溶質の蓄積が減少し、高浸透圧環境下で生育が大きく低下することが知られている (Haardt *et al.*, 1995)。現在、当研究室において RSP3058-3059 や RSP3080 の遺伝子破壊株の作製を進めているが、これらの遺伝子をシングルで破壊しても塩ストレスに対して感受性を示さないことも予測される。そのため、それぞれのトランスポーターに対して、各適合溶質に対する親和性の評価や複数遺伝子破壊株の作製を組み合わせることで、本菌における外界由来の適合溶質輸送機構を解明することが可能になるのではないかと考えられる。

一方、*R. sphaeroides* が適合溶質として蓄積することが知られているトレハロース (Xu *et al.*, 1998) の生合成に関与する遺伝子 (*otsA-otsB*, *treY-treZ*, *treS*) としては、*otsA*, *otsB* の発現量が最も増加していることが明らかになった。*OtsA-OtsB* 経路を破壊した株は、塩ストレス環境下の生育、菌体内トレハロース蓄積量も大きく減少することから (Makihara *et al.*, submitted)、これらの遺伝子が実際に発現していることも今回の実験で明らかになった。*E. coli* も外界に適合溶質が存在しない条件でトレハロース

を生合成することが報告されているが、*R. sphaeroides* のように、3 経路を有しておらず、OtsA-OtsB 経路のみを使ってトレハロースを生合成している (Kassen *et al.*, 1992)。また、*E. coli* のアレイ解析においても *otsA*、*otsB* の発現量は塩ストレスにより増加しており (Weber *et al.*, 2002)、トレハロース生合成が塩ストレスに対して重要な役割を果たしていることが示唆される。一方、*R. sphaeroides* において第二のトレハロース合成経路として働いている可能性のある *treY*、*treZ* 遺伝子は今回の条件では発現量が変化していなかった。また、トレハロース分解経路とも推測されている *treS* 遺伝子の発現量は Strong-salt 45 min において増加していたが、他の条件ではほとんど変化していなかった。しかし、*otsA*、*otsB* 遺伝子以外のデータの crt が低いため、あくまで参考として、今後はノーザン等で各破壊株の発現量変化を通して、各経路の相関を解析していく必要があると考える。

本研究の中心である *spsA* は、今回行なったいずれ条件においても発現量が増加していることが明らかになった (Fig. 7-6)。また、*otsA*、*otsB* と同様に、7 min よりも 45 min においてさらに発現量が増加していた。このことから、*spsA* は塩ストレスを感知する遺伝子ではなく、ストレスに適応する段階で発現する遺伝子であると考えられる。また、Mild-salt 45 min では全遺伝子中 15 番目、Strong-salt 45 min では全遺伝子中 8 番目に発現量が上昇していることから、全遺伝子の中でも発現量上昇が大きい遺伝子の一つであることが見出された。以上の結果から、*spsA* が全遺伝子の発現量と比較しても塩ストレス応答において重要な役割を果たしている可能性が強く示唆された。一方、遺伝子座における周辺遺伝子は、Mild-salt、Strong-salt のいずれの条件においても大きな発現量増加は見られなかった (Fig. 7-6)。

同じ局在を示す外膜関連遺伝子に関しては、リポ多糖 (LPS) のコアであるリポド A を生合成する遺伝子である UDP-3-O-acyl-N-acetylglucosamine deacetylase (*lpxA*) の発現量上昇が Mild-salt 7 min で顕著に観察された以外は目立ったものは見出されなかった。そのため、*spsA* は他の遺伝子と共発現して機能したり、他の外膜タンパク質と共に塩ストレス条件下で機能している可能性が低いことが今回の結果から考察された。

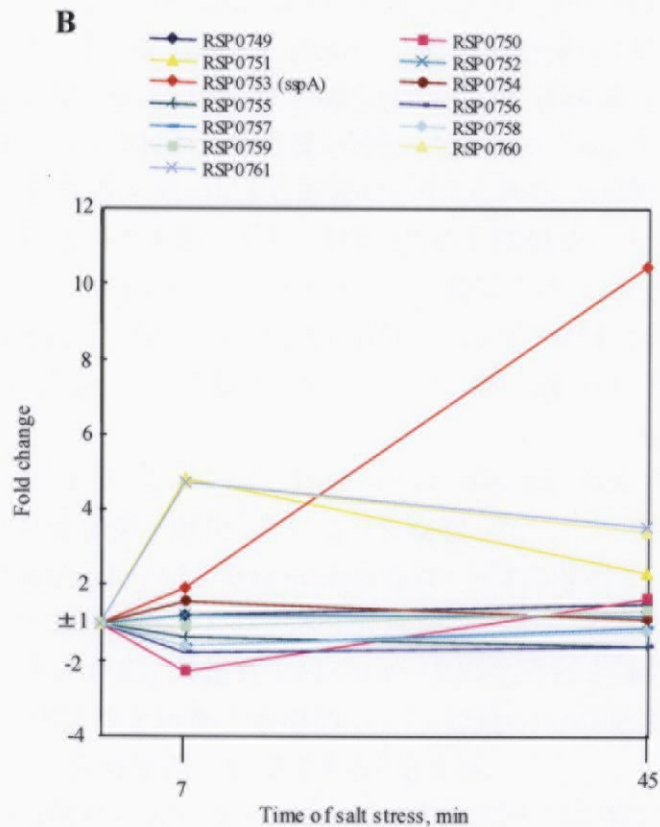
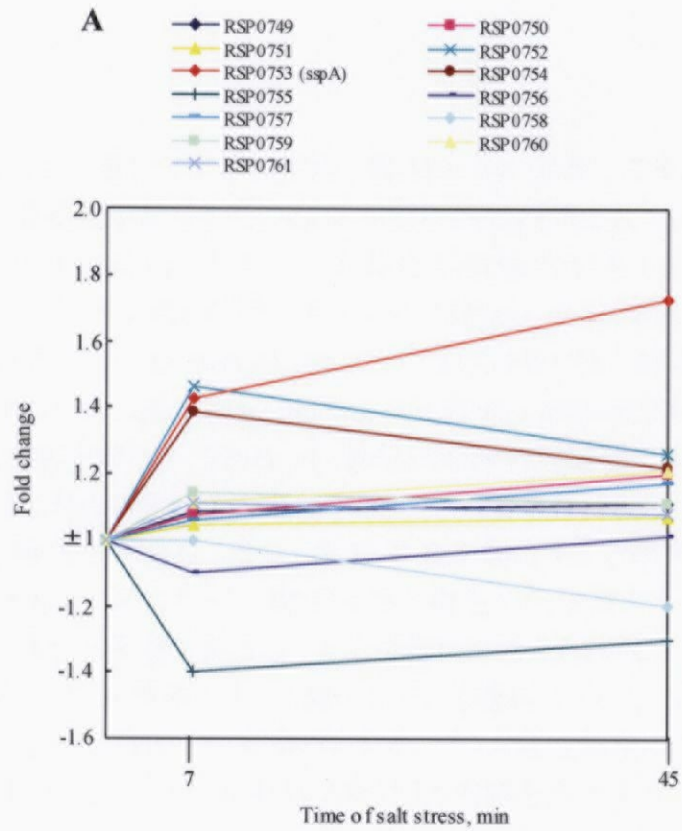


Fig. 7-6 Expression patterns of *sspA* and its neighboring genes in response to Mild-salt stress (A) and Strong-salt stress (B).

発現量が減少している遺伝子に関しては、塩ストレスに応答して多数の鞭毛/化学遊走関連遺伝子の発現量が減少していることが明らかになった。*E. coli* において、高塩濃度環境は鞭毛の生合成を阻害することが報告がなされている (Li *et al.*, 1993)。また、*S. meliloti* においても同様の報告されている (Rüberg *et al.*, 2003)。

Stong-salt 45 min および Mild-salt 45 min のいずれにおいても、特徴的に発現量の減少が見出されたのが、Dicarboxylate-binding periplasmic protein (RSP0910)、およびその制御因子 (RSP0911-0912) である。*R. sphaeroides* の近縁種である *Rhodobacter capsulatus* においてこれらの遺伝子を破壊すると、好気暗条件においてリンゴ酸、コハク酸、フマル酸の輸送ができなくなり、生育不良を起こすことが報告されている (Hamblin *et al.*, 1993)。このことから、塩ストレスが鞭毛や化学遊走といった空間移動のみならず、基礎代謝にも影響を及ぼしている可能性が考えられる。

上記の遺伝子以外で、発現量が大きく減少している遺伝子として Sec-independent protein translocase *tatA* (RSP3102) が挙げられる。グラム陰性細菌のペリプラズムタンパク質の大部分は N 末端のシグナル配列切断により内膜を透過する Sec-system により輸送されることが知られている (Pugsley, 1993)。しかし、一部のタンパク質はこの経路ではなく Tat (twin-arginine translocation)-system という特別な経路を使って内膜を透過することが報告されている (Berks, 1996)。この経路を使って輸送されるものとして、*E. coli* の formate dehydrogenase-O が知られているが (Benoit *et al.*, 1988)、この遺伝子と相同性の高い RSP0513 の発現量が特に Mild-salt 7 min で減少していることから、これは TatA の発現量の減少による影響だと考えられる。*tat* 遺伝子の破壊により一部のタンパク質の輸送が不可能になり、外膜を含めた膜構造に大きな影響が生じるとの報告もなされている (Stanley *et al.*, 2001)。この遺伝子は Strong-salt ではそれほど発現量が減少しておらず、塩ストレス応答に関与している知見もこれまでに報告されていない。そのため、今後さらなる解析を行なうことにより、塩ストレスとの関連性が期待される。

一方、Mild-salt 45 min において、Periplasmic binding ABC-type transporter protein (RSP2663) の発現量が減少しているのが観察された。この遺伝子は *Brucella melitensis* の Trehalose/maltose binding protein をコードする遺伝子と 23% の相同性が見出された。同条件において、トレハロース合成遺伝子である *otsA*、*otsB* の発現量が大きく増加している。そのため、細胞質でトレハロースの生合成が進行しているのを踏まえて、外界からの取り込みを制御する機構としてこの遺伝子の発現が抑制されている可能性も推測され、大変興味深い知見であると言える。

以上、本章における解析により、*R. sphaeroides* の塩ストレス応答に関する知見を多数得ることに成功した。このうち、全遺伝子の中での *sspA* の発現量、発現時間も含まれた位置付けを決定できたのは最も大きな成果であると言える。今回の解析は嫌気光合成条件のみで解析を行なったが、*sspA* 遺伝子破壊株がいくつかの表現型を示した好

気条件でも解析を行なうことにより、酸素の有無も含めた *sspA* の発現量変動や機能に関する情報が得られることが期待される。さらに、塩ストレス条件下で野生株と *sspA* 遺伝子破壊株の遺伝子レベルでの発現解析を行なうことにより、5 章で解析したタンパク質レベルでの発現変動情報と比較解析を行なうことが可能である。これにより、SspA の生体内機能の解明に結びつけることができるのではないかと考えられる。

Supplementary Table 1 Genes affected by Mild-salt stress for 7 min, passed under fold change ≥ 1.5 and $\text{crt} \geq 1.15$ cut off (156 genes)

Gene ID ^a	Function ^b	Mild-salt 7 min		Mild-salt 45min		Strong-salt 7 min		Strong-salt 45 min	
		Fold	crt	Fold	crt	Fold	crt	Fold	crt
RSP0029	Acetyl-CoA hydrolase/transferase	2.0	1.3	1.3	0.9	-1.5	1.0	-2.0	1.4
RSP0038	Hypothetical protein	-1.9	1.3	-2.7	1.9	-3.0	2.2	-32.4	22.6
RSP0040	Flagellar protein FljS	1.6	1.2	-1.6	1.2	2.3	2.1	-1.8	1.5
RSP0054	Flagellar motor switch protein FljG	-1.8	1.2	-1.9	1.3	-3.2	2.1	-6.0	4.4
RSP0085	Sensory transduction histidine kinases	-1.5	1.2	-1.2	0.9	-1.9	1.4	-2.5	1.8
RSP0092	Probable sorbitol/mannitol transport protein	1.6	1.2	1.1	0.9	1.1	0.8	-2.4	1.8
RSP0093	Probable sorbitol/mannitol transport protein	1.6	1.3	1.1	0.9	-1.3	1.1	-1.8	1.5
RSP0094	ABC-type sugar transport system	1.6	1.3	-1.0	0.8	-1.8	1.4	-3.2	2.6
RSP0095	Probable sorbitol dehydrogenase	1.9	1.5	1.1	0.8	-1.8	1.3	-3.4	2.5
RSP0096	Mannitol dehydrogenase	1.9	1.5	1.0	0.9	-1.3	1.0	-2.0	1.5
RSP0161	Spermidine/putrescine-binding periplasmic protein	1.6	1.4	1.3	1.2	1.4	1.0	-1.0	0.9
RSP0179	Putative taurine-binding periplasmic protein	1.5	1.2	1.1	0.9	1.4	1.0	1.1	0.8
RSP0199	Hypothetical protein	-1.8	1.2	-1.6	1.0	-1.7	1.1	-1.4	0.9
RSP0279	bchG; geranylgeranyl-bacteriochlorophyll synthetase	1.6	1.2	1.5	1.2	1.4	1.0	2.2	1.6
RSP0284	bchF; 2-vinyl bacteriochlorophyllide hydratase	1.6	1.2	1.6	1.2	1.5	1.2	2.2	1.5
RSP0319	Hypothetical protein	1.8	1.6	1.8	1.6	2.8	2.3	2.8	2.3
RSP0379	Adenosylmethionine-8-amino-7-oxononanoate aminotransferase	1.6	1.3	1.4	1.2	3.0	2.5	2.6	2.1
RSP0423	Predicted oxidoreductases (related to aryl-alcohol dehydrogenase)	1.6	1.3	1.7	1.4	1.3	1.0	2.9	2.3
RSP0432	Hypothetical protein	1.6	1.2	1.6	1.1	-1.6	1.2	1.5	1.0
RSP0467	VdcC family protein	1.5	1.3	1.3	1.1	-1.6	1.2	1.6	1.3
RSP0513	Putative O-glycosyl hydrolase	-1.6	1.4	-1.3	1.2	-3.8	3.2	-6.8	5.4
RSP0576	Na ⁺ /solute symporter	1.8	1.4	-1.2	0.9	1.6	1.1	-7.7	5.8
RSP0635	Predicted ATP-independent periplasmic transporter	2.5	1.9	1.3	1.1	-1.0	0.9	17.1	13.6
RSP0636	Dicarboxylate-binding periplasmic protein	1.7	1.5	1.1	1.0	1.1	1.0	10.5	7.8
RSP0694	Cbb3	1.5	1.3	1.2	1.0	-1.5	0.9	1.0	0.6
RSP0697	Universal stress protein UspA and related nucleotide-binding prote	1.8	1.6	1.5	1.3	2.2	1.6	2.6	2.3
RSP0769	Glutathione-S-transferases	1.6	1.2	1.5	1.2	3.4	2.3	2.4	1.5
RSP0806	Dipeptide/oligopeptide/nickel permeases	1.6	1.2	1.5	1.2	-1.5	1.1	1.3	0.9
RSP0809	Nitroreductase family protein	1.7	1.3	1.6	1.3	-1.8	1.2	-1.4	1.0
RSP0820	Hypothetical protein	1.5	1.2	1.2	1.0	1.5	1.2	1.7	1.4
RSP0871	PLP-dependent aminotransferases	1.6	1.3	1.6	1.2	1.4	1.1	1.9	1.5
RSP0948	Trehalose-6-phosphate synthase (OtsA)	1.7	1.3	1.9	1.4	2.3	1.5	11.0	8.1
RSP0949	Trehalose-6-phosphatase (OtsB)	1.8	1.3	2.0	1.4	6.6	4.5	8.6	6.3

Supplementary Table 1 -----Continued 1

Gene ID ^a	Function ^b	Mild-salt 7 min		Mild-salt 45min		Strong-salt 7 min		Strong-salt 45 min	
		Fold	crt	Fold	crt	Fold	crt	Fold	crt
RSP0951	Hypothetical protein	-1.7	1.4	-1.5	1.2	-1.5	1.2	1.2	1.0
RSP0975	Succinate dehydrogenase hydrophobic membrane anchor protein	1.5	1.3	1.4	1.1	-2.5	1.8	1.5	1.2
RSP0983	Hypothetical protein	-1.9	1.4	-1.7	1.3	-3.4	2.5	-2.6	1.9
RSP1049	Putative chorismate mutase	-1.5	1.2	-1.1	0.9	-1.9	1.4	-3.2	2.5
RSP1053	Signal recognition particle protein	-1.6	1.4	-1.2	1.1	-2.2	1.7	-2.1	2.0
RSP1081	Putative formate dehydrogenase	2.2	1.8	-1.1	1.0	1.3	1.0	-1.2	1.1
RSP1082	Putative NAD-dependent formate dehydrogenase	1.6	1.3	-1.1	1.0	1.1	1.0	-1.3	1.2
RSP1109	Pyridoxal-phosphate dependent enzyme	1.7	1.6	-1.0	0.8	-1.6	1.3	-2.9	2.3
RSP1125	Hypothetical protein	1.6	1.3	1.3	1.1	2.2	1.8	1.6	1.2
RSP1176	Xylose isomerase	1.7	1.5	-1.3	1.1	-1.1	0.8	-1.7	1.4
RSP1254	Putative acetate kinase (acetokinase) protein	1.7	1.3	1.3	1.1	-1.0	0.7	2.5	1.7
RSP1255	Phosphate acetyl/butaryl transferase	1.9	1.6	1.5	1.3	1.0	0.9	3.0	2.3
RSP1256	Enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase (NADH)	1.8	1.5	1.5	1.3	1.6	1.3	2.7	1.8
RSP1257	Poly-beta-hydroxyalkanoate (PHB) synthetases	1.7	1.4	1.4	1.2	2.8	2.2	2.6	1.8
RSP1284	Phosphoribulokinase / Uridine kinase	1.6	1.4	1.3	1.2	-2.5	1.8	1.5	1.2
RSP1379	Cytosol aminopeptidase	1.8	1.5	1.5	1.3	-1.5	1.0	-1.0	0.7
RSP1430	Hypothetical protein	1.6	1.3	1.4	1.3	6.7	5.7	2.8	2.6
RSP1593	NAD-dependent malic enzyme	1.6	1.4	-1.1	1.0	-1.2	1.0	-1.3	1.0
RSP1614	Integral membrane protein	1.7	1.5	-1.1	1.0	-1.2	1.1	-2.1	2.0
RSP1615	Hypothetical protein	1.6	1.3	-1.2	1.0	1.3	0.9	-1.6	1.2
RSP1617	Hypothetical protein	1.5	1.3	-1.1	0.8	1.8	1.3	-1.7	1.1
RSP1680	Phosphoenolpyruvate carboxykinase	1.6	1.3	1.1	0.9	1.3	1.0	-1.3	0.7
RSP1747	ABC glutamate/glutamine/aspartate/asparagine transporter	1.5	1.4	1.3	1.2	1.7	1.4	1.4	1.0
RSP1812	Hypothetical protein	1.6	1.4	1.5	1.3	2.5	2.2	1.7	1.3
RSP1819	FeoA protein, probably involved in Fe ²⁺ transport	1.6	1.5	1.4	1.2	1.2	0.9	1.5	1.1
RSP1870	Hydrolase haloacid dehalogenase-like hydrolase	1.7	1.4	1.6	1.3	1.4	1.1	1.6	1.1
RSP1883	ABC polyamine/opine transporter	1.6	1.3	1.2	1.0	1.4	1.0	-1.2	1.0
RSP1884	ABC polyamine/opine transporter	1.6	1.4	1.2	1.0	-1.5	1.3	-1.4	1.2
RSP1886	ABC polyamine/opine transporter	1.7	1.4	1.2	1.0	-2.5	2.2	-1.8	1.5
RSP1887	Ribosomal protein L33	-3.2	1.9	-2.4	1.3	-1.9	1.1	-1.5	0.9
RSP1940	Hypothetical protein	2.2	1.5	1.1	0.8	-2.7	1.9	-3.6	2.6
RSP1941	3'-phosphoadenosine 5'-phosphosulfate sulfotransferase	2.5	2.0	1.1	0.9	-3.0	1.6	-2.9	1.5
RSP1942	Sulfite reductase hemoprotein	2.7	2.2	1.1	0.9	-2.9	1.7	-3.0	1.8

Supplementary Table 1-----Continued 2

Gene ID ^a	Function ^b	Mild-salt 7 min		Mild-salt 45min		Strong-salt 7 min		Strong-salt 45 min	
		Fold	crt	Fold	crt	Fold	crt	Fold	crt
RSP1943	Hypothetical protein	2.5	2.0	1.2	0.9	-5.1	2.9	-3.7	2.5
RSP1944	Uroporphyrinogen-III methylase	2.3	1.7	1.0	0.8	-2.8	1.5	-2.8	1.6
RSP1945	Transcriptional Regulator	2.1	1.6	1.3	1.1	10.8	9.0	5.3	3.8
RSP1991	Putative Ornithine decarboxylase	-1.7	1.3	-1.4	1.1	-2.0	1.3	-2.9	1.9
RSP2085	Hypothetical protein	1.6	1.2	1.5	1.2	1.4	1.1	3.1	2.5
RSP2106	Bacterial cell division membrane protein	1.5	1.2	1.5	1.2	1.7	1.3	1.1	0.9
RSP2115	UDP-3-O-acetyl-N-acetylglucosamine deacetylase	3.1	2.1	1.2	0.9	2.8	2.2	2.8	1.9
RSP2116	UDP-3-O-acetyl-N-acetylglucosamine deacetylase	3.2	2.5	1.2	1.0	1.8	1.4	3.4	2.5
RSP2163	Membrane-bound lytic murein transglycosylase	1.5	1.3	1.3	1.1	-2.3	1.7	-1.4	1.2
RSP2171	Transcriptional regulators	1.6	1.3	1.5	1.4	3.7	3.4	2.3	2.0
RSP2237	Multidrug resistance efflux pump	1.7	1.4	1.3	1.1	1.5	1.1	2.7	2.0
RSP2238	Efflux pump protein FarB	1.8	1.5	1.3	1.1	1.7	1.3	3.0	2.0
RSP2247	Translation elongation and release factors (GTPases)	1.7	1.2	1.4	1.0	1.3	1.0	1.7	0.9
RSP2274	Strong-affinity branched amino acid transport system	1.7	1.4	-1.0	0.9	1.1	0.9	-1.3	1.2
RSP2275	Hypothetical protein	2.6	2.1	-1.2	1.0	2.5	1.3	-1.7	1.3
RSP2276	Branched-chain amino acid ABC-type transport system	1.6	1.3	-1.1	1.0	1.2	0.8	-1.2	1.0
RSP2278	Strong-affinity branched amino acid transport system	1.6	1.3	-1.2	1.0	1.2	0.9	-1.4	1.1
RSP2320	Dicarboxylate-binding periplasmic protein	1.6	1.4	1.3	1.1	1.7	1.2	3.7	2.6
RSP2334	Fructose-1-phosphate kinase and related fructose-6-phosphate kin	1.6	1.3	1.5	1.2	2.4	2.0	2.2	1.7
RSP2348	Hypothetical protein	1.7	1.2	1.3	1.1	4.3	3.2	3.7	2.3
RSP2367	Ribose/xylose/arabinose/galactoside ABC-type transport systems	1.7	1.4	-1.1	1.0	1.1	0.9	-1.2	1.0
RSP2369	Ribose/xylose/arabinose/galactoside ABC-type transport systems	1.9	1.7	-1.2	1.0	1.3	1.0	-1.4	1.2
RSP2370	Putative sugar kinase	1.9	1.6	-1.1	1.0	1.0	0.9	-1.4	1.2
RSP2371	Probable short-chain dehydrogenase	1.6	1.5	-1.1	1.0	-1.0	0.8	-1.3	1.0
RSP2397	Spermidine/putrescine-binding periplasmic protein	1.7	1.5	1.2	1.1	1.0	0.8	-1.0	0.8
RSP2405	ABC-type iron (III) transport system	-1.5	1.3	-1.3	1.1	-1.1	0.9	-1.7	1.5
RSP2502	Glucosamine-fructose-6-phosphate aminotransferase	1.6	1.4	1.1	1.0	-1.1	0.9	-1.1	1.0
RSP2503	N-acetylglucosamine-1-phosphate uridylyltransferase	2.1	1.7	1.4	1.2	-1.2	0.9	1.3	0.9
RSP2510	Isopropylmalate/homocitrate/citramalate synthases	2.0	1.3	-1.0	0.6	1.0	0.8	5.2	3.3
RSP2511	Enoyl-CoA hydratase/carnithine racemase	2.5	2.0	-1.1	0.7	1.2	0.9	4.5	3.2
RSP2586	ABC-type multidrug transport system	1.5	1.2	-1.1	1.0	1.5	1.0	-1.5	1.3
RSP2601	ABC-type phosphate transport system	1.6	1.4	1.2	1.0	-1.7	1.3	2.1	1.7
RSP2602	Probable phosphate transport system	1.7	1.4	1.4	1.1	-1.4	0.9	2.0	1.4
RSP2604	Periplasmic phosphate-binding protein	1.6	1.2	1.3	1.0	4.2	2.9	3.5	2.3

Supplementary Table 1 -----Continued 3

Gene ID ^a	Function ^b	Mild-salt 7 min		Mild-salt 45min		Strong-salt 7 min		Strong-salt 45 min	
		Fold	crt	Fold	crt	Fold	crt	Fold	crt
RSP2624	Hypothetical protein	1.9	1.6	1.7	1.1	18.6	13.3	7.2	4.9
RSP2633	Cytochrome c biogenesis factors	1.6	1.3	1.4	1.2	1.4	1.1	-1.1	0.9
RSP2636	Acetolactate synthase	-1.6	1.2	-1.3	0.9	1.3	0.9	-1.2	0.8
RSP2692	Predicted acyltransferases	1.9	1.5	1.9	1.4	4.6	3.6	2.6	1.8
RSP2764	Hypothetical protein	1.7	1.2	1.6	1.2	10.0	7.1	8.1	5.7
RSP2801	Transcriptional regulators	1.6	1.3	1.4	1.2	16.9	13.8	4.0	3.2
RSP2835	Putative enzyme of deoxyxylulose pathway (terpenoid biosynthesis)	1.6	1.4	1.6	1.4	-1.4	1.2	1.8	1.3
RSP3047	Hypothetical protein	-1.5	1.3	-1.4	1.2	-1.2	0.9	-1.0	0.8
RSP3058	Proline/glycine betaine ABC-type transport systems	2.0	1.4	2.4	1.7	3.9	2.6	45.3	31.1
RSP3080	Choline-glycine betaine transporter	1.8	1.3	2.0	1.5	1.1	0.7	4.0	2.9
RSP3102	Sec-independent protein secretion pathway TatA	-3.3	2.6	-3.4	2.7	-3.2	2.4	-4.4	3.3
RSP3113	D-amino acid dehydrogenase	1.7	1.5	-1.0	0.8	2.5	2.0	4.6	3.6
RSP3248	Dipeptide/oligopeptide/nickel ABC-type transport systems	1.7	1.3	1.3	1.1	-1.1	0.9	-1.5	1.1
RSP3264	Cytochrome_c	1.8	1.3	1.6	1.0	-1.3	1.0	1.3	0.7
RSP3270	cbbA; fructose biphosphate aldolases	-1.5	1.4	1.1	0.9	-1.7	1.6	-1.1	1.0
RSP3345	Hypothetical protein	1.6	1.2	1.6	1.3	-1.5	1.1	1.0	0.8
RSP3432	Methyl-accepting chemotaxis protein	-1.8	1.3	-1.6	1.2	-1.7	1.2	-3.6	2.5
RSP3511	Response regulators	1.5	1.2	1.6	1.4	2.5	2.0	1.7	1.6
RSP3621	Cold shock proteins	-1.8	1.4	-1.4	1.1	3.8	2.1	3.7	2.4
RSP3633	Hypothetical protein	1.7	1.5	1.7	1.4	16.2	12.4	8.1	6.2
RSP3696	ABC-type sulfate/molybdenum transport system	2.2	2.1	1.2	1.1	-3.0	2.1	-1.8	1.3
RSP3697	Periplasmic sulfate/thiosulfate binding proteins	2.3	1.9	1.3	1.1	-2.5	1.8	-2.2	1.6
RSP3698	ABC-type cysteine/molybdate transport systems	2.2	1.6	1.2	0.9	-2.1	1.3	-1.9	1.1
RSP3699	ABC-type cysteine/molybdate transport systems	2.0	1.2	1.3	0.9	-1.6	1.0	-1.6	0.8
RSP3701	Periplasmic sugar-binding proteins	2.6	2.2	-1.3	0.8	11.8	9.3	-2.2	1.6
RSP3702	ABC-type sugar (aldose) transport system	1.8	1.2	-1.4	1.0	4.6	3.2	-1.5	1.1
RSP3703	Ribose/xylose/arabinose/galactoside ABC-type transport systems	1.8	1.5	-1.1	1.0	1.5	1.0	-1.0	0.9
RSP3704	Ribitol 2-dehydrogenase	3.0	2.4	-1.1	0.9	1.2	1.0	-1.0	0.8
RSP3705	Ribulose kinase	2.4	2.1	-1.1	0.8	-1.1	0.8	1.1	0.9
RSP3737	Hypothetical protein	1.5	1.3	-1.3	1.2	-1.0	1.0	-1.6	1.4
RSP3738	Sugar kinase	1.9	1.7	-1.3	1.1	1.1	0.9	-1.5	1.3
RSP3859	ABC-type cysteine/molybdate transport systems	1.5	1.3	1.1	0.9	1.4	1.1	1.1	0.9
RSP3860	ABC-type cysteine/molybdate transport systems	1.7	1.2	1.3	0.9	3.3	2.3	1.4	0.9
RSP3861	Periplasmic sulfate/thiosulfate binding proteins	2.0	1.4	1.3	1.0	4.4	3.5	1.2	0.9

Supplementary Table 1-----Continued 4

Gene ID ^a	Function ^b	Mild-salt 7 min		Mild-salt 45min		Strong-salt 7 min		Strong-salt 45 min	
		Fold	crt	Fold	crt	Fold	crt	Fold	crt
RSP3917	Predicted integral membrane protein	1.6	1.2	1.5	1.2	-1.5	0.9	1.2	0.8
RSP3981	Hypothetical protein	1.6	1.3	1.4	1.0	1.8	1.2	2.4	1.9
RSP4024	Hypothetical protein	1.5	1.3	1.6	1.4	-1.8	1.4	2.8	2.4
RSP4047	Thiamine pyrophosphate-dependent dehydrogenases	1.8	1.6	1.1	0.9	2.5	2.2	2.6	2.0
RSP4049	Thiamine pyrophosphate-dependent dehydrogenases	1.9	1.5	1.1	0.8	1.5	1.2	2.7	2.0
RSP4050	Dihydrolipoamide acyltransferases	1.6	1.2	1.1	0.8	-1.4	1.1	3.1	2.4
RSP4139	Possible partition parA like-protein	1.7	1.4	1.4	1.2	10.8	9.0	3.3	2.5
RSP4202	Hypothetical protein	1.7	1.2	1.6	1.1	3.6	2.2	4.1	2.9
RSP4203	Thiol-disulfide isomerase and thioredoxins	1.9	1.6	1.8	1.6	1.7	1.5	2.9	2.1
RSP4204	Putative rhodanase/sulfotransferase/phosphatase	1.9	1.4	1.8	1.3	1.1	0.8	2.6	1.7
RSP4210	Protein-tyrosine-phosphatase	1.6	1.4	1.6	1.3	3.8	3.0	2.8	2.2
RSP4242	Calcium-binding protein	1.6	1.3	1.1	0.9	-1.5	1.0	-1.6	1.0
RSP4247	Hypothetical protein	1.6	1.3	1.6	1.2	1.1	0.7	2.5	1.5
RSP4248	Hypothetical protein	1.6	1.3	1.5	1.2	1.0	0.7	2.3	1.5

^a Sorted according to the *Rhodobacter* genome database. ^b Derived from Oak ridge National Laboratory genome annotations.