

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 30 日現在

機関番号：14603

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2011～2013

課題番号：23241062

研究課題名(和文) 種間比較による細菌細胞機能のオーガナイザーとしての核様体の構築原理の解明

研究課題名(英文) Characterization and comparison of nucleoid proteins in different bacterial species

研究代表者

小笠原 直毅 (Ogasawara, Naotake)

奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科・教授

研究者番号：10110553

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 36,400,000円、(間接経費) 10,920,000円

研究成果の概要(和文)：我々は、1bpの解像度でDNA結合タンパク質とゲノムDNAとの結合領域を網羅的に解析可能なGeF-seq法を新たに開発し、進化的に大きく異なる細菌、大腸菌と枯草菌の核様体タンパク質について解析を行った。その結果、配列非特異的な結合様式を示すHUタンパク質は、枯草菌、大腸菌で同様の結合様式を示すものの、大腸菌では、DNAが屈曲あるいはヘアピン状の構造を取りうるDNA配列に、FisおよびIHFタンパク質が結合し、DNAと構造を取ることが示唆された。これらのタンパク質は枯草菌には存在しないことから、細菌種ごとに核様体構造が大きく異なる可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：We developed a new method, GeF-seq, which enables to determine the binding regions of DNA binding proteins with 1bp resolution. We applied GeF-seq to determine the regions in which nucleoid proteins interact with genome DNA in *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*, which are evolutionally separated bacteria. The analysis revealed that, although HU protein, which are conserved across almost bacterial species, showed non-sequence-specific bindings with genome DNA in both *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*, Fis and IHF, which are unique nucleoid proteins in *Escherichia coli*, interacted with the specific sequences, resulting in formation of bend and hairpin structures in the genomic DNA. This suggested that there might be unique structures of nucleoid formed with Fis and IHF in *E. coli*.

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：ゲノム科学・ゲノム生物学

キーワード：ゲノム構築 細菌ゲノム 核様体

1. 研究開始当初の背景

(1) 生物のゲノム DNA は、自らの細胞長より大幅に長い。したがって、何らかの形で折りたたまれ、細胞内に格納されなければならない。例えば、大腸菌は、1.5mm のゲノム DNA を長さ 1 μ m、幅 0.6 μ m の細胞に格納する必要がある。一方で、ゲノム DNA は、複製や転写装置が機能する場であり、DNA の折りたたみによって、それらの機能に支障が出ることは許されない。そのため、ゲノム DNA は何らかの規則性を持って、折りたたまれると考えられている。例えば、真核生物には、ヒストンが存在し、ゲノム DNA を一定の周期で巻き取り、規則的な構造を形成する。一方、細菌にはヒストンは存在せず、ヒストン-DNA 複合体にあたる規則的な構造があるかどうかは明らかになっていない。

(2) 細菌のゲノム DNA は、細胞中でタンパク質と複合体を形成し、高度に折りたたまれ凝集した核様体と呼ばれる構造を取る。核様体には、RNA ポリメラーゼと比較的小さな塩基性タンパク質、核様体タンパク質、が豊富に含まれている。これまで行われてきた様々な生化学的な解析によって、大腸菌の核様体タンパク質は、DNA と結合する活性を持ち、DNA を折り曲げ、ループを形成し、2 つの DNA 間を架橋する活性があることがわかっていった。また、RNA ポリメラーゼにも、DNA を折りまげたり、超らせん構造の形成を促進したりする活性があることがわかっていった。これらの観察から、核様体タンパク質が、ゲノム DNA と相互作用し、もともとはフレキシブルに構造を取る DNA の形を制限し、核様体構造が形成されると推測された。しかしながら、細胞内において、核様体タンパク質が、核様体形成に、どのように関与するのは明らかになっていない。

(3) 大腸菌の複数の核様体タンパク質と DNA との結合に関する分子生物学あるいは構造生物学的な解析から、核様体タンパク質と DNA との結合には、結合部位の塩基配列のみではなく、結合する領域の DNA 構造が重要であることが示されていた。

(4) 細菌のゲノム DNA 配列は、種間で大きく変化している。したがって、ゲノム DNA と相互作用する核様体タンパク質にも多様性があることが想像された。その一方で、核様体構造が、細菌に保存された複製や転写等の分子メカニズムを維持するために重要な役割を担っているのであれば、核様体構造には、種を超えた共通性があると想像された。したがって、核様体タンパク質とゲノム DNA との相互作用に関する、細菌種を超えた共通性や、細菌種ごとの特異性を明らかにすることで、核様体構造の構築原理に関する知見が得られると考えられた。しかしながら、核様体タンパク質とゲノム DNA との相互作用に関する細菌の種を超えた比較解析は、ほとんど行われていなかった。

(5) 核様体はマクロドメインと呼ばれる、サ

ブドメインから構成されることが提唱されている。サブドメインは、複製起点(Ori ドメイン)、複製終結点(Ter ドメイン)、複製終結点の前後(left および Right ドメイン)の 4 領域である。これまで解析から、特定のサブドメインにのみ結合する核様体タンパク質の存在が報告されていた。

(6) 核様体タンパク質とゲノム DNA との相互作用は、ChIP-chip あるいは ChIP-seq と呼ばれる方法で解析されていた。しかしながら、それらの方法では、解析対象となるタンパク質が結合するゲノム DNA 上の領域を、100bp 以下の解像度では決定することができない。一方、DNA 結合タンパク質が、直接相互作用する領域の広さは、数十 bp であり、核様体タンパク質の結合配列を特定し、その結合様式を細菌種間で比較するためには、より精度の高い解析手法が必要とされていた。

2. 研究の目的

異なる細菌種における、核様体タンパク質とゲノム DNA との相互作用をゲノムワイド、かつ詳細に決定、比較し、核様体構造がどのように形成され、機能するかを考察する。そのため、以下の項目を目標とした。

核様体タンパク質とゲノム DNA が相互作用する領域を、1bp の解像度で決定可能な方法を開発する。

開発した方法を用い、異なる細菌種の様々な核様体タンパク質とゲノム DNA との精密な相互作用マップを作成する。

相互作用マップをもとに、それぞれの核様体タンパク質とゲノム DNA との相互作用が、どのような原理で制御されているかを解析する。

得られたデータをもとに、異なる細菌種間の核様体タンパク質とゲノム DNA との相互作用について比較する。

核様体構造が、転写等の細胞内反応において、どのような役割を果たしているかを明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 我々は、DNA 結合タンパク質とゲノム DNA との結合領域を決定する方法として ChAP-seq 法を開発していた。ChAP-seq 法は以下のような手順で行う。

解析対象となるタンパク質を、ヒスチジンタグを付加した形で発現する枯草菌あるいは大腸菌を培養する。

培養した細菌細胞をホルマリン処理し、解析対象タンパク質とゲノム DNA との結合を固定する。

細菌細胞を遠心分離により回収し、超音波処理することで、細胞を破壊すると同時に、ゲノム DNA を短く分解する。

ホルマリン処理により、ゲノム DNA 断片はヒスチジンタグを付加した解析対象タンパク質と結合した形で、細胞抽出液中に存在している。そこから、ニッケルレジンを用い

て、タンパク質-DNA 複合体を精製する。解析対象タンパク質と共精製された DNA 断片を回収し、回収された DNA 断片の塩基配列を、次世代シーケンサーにより決定する。得られた塩基配列をゲノム DNA 上にマップする。この手法により、数百 bp の解像度で核様体タンパク質のゲノム DNA 上の結合領域を決定することができる。本研究では、ChAP-seq 法のステップ の DNA の断片化を、超音波による断片化から、DNaseI による酵素的な分解に変更し、精製される DNA 断片の大きさを、数百 bp から十 bp に小さくすることで、解像度を大幅に上昇させる。

(2) 次世代シーケンスの情報解析技術は、現在も急速に発展している途上である。新たに構築した解析手法に適した、情報処理技術を開発する。

(3) 解析対象となる大腸菌の核様体タンパク質、HU-A, HU-B, IHF-A, IHF-B, H-NS, Fis, SlmA、枯草菌の核様体タンパク質 Hbsu(HU の相同タンパク質)、Noc, Spo0J, DnaA について、ヒスチジンタグを C 末端に付加した形で発現する株を作成する。作成した株と新たに構築した高解像度の解析手法を用いて大腸菌および枯草菌のゲノム DNA と核様体タンパク質との詳細な結合地図を作成する。

(4) 枯草菌、大腸菌の核様体の構成要素を直接比較するため、それぞれの核様体を精製し、そこに含まれるタンパク質を同定、比較する。

(5) 枯草菌、大腸菌の核様体タンパク質の機能の違いについて、様々な欠損変異株を作成し、その表現型を指標にして検討する。

(6) 枯草菌、大腸菌の核様体構造について、得られた結果をもとに比較する。

(7) 枯草菌と大腸菌、両者の核様体タンパク質を併せ持つと推定される緑膿菌についても解析を行う。

4. 研究成果

(1) GeF-seq の開発

上記、研究開発当初の背景にも述べたとおり、通常の ChIP-seq 解析では、百 bp 以下の解像度で、DNA 結合タンパク質の結合領域を決定することはできない。これは、超音波破碎により DNA を断片化しているためである。一方、DNA 結合タンパク質が、ゲノム DNA に直接結合する領域は数十 bp であり、この領域を正確に決定するためには、より解像度の高い方法を構築する必要があった。DNA 結合タンパク質が、DNA 上の、どの領域に直接結合するかを、1bp の解像度で決定するための生化学的方法の一つに、試験管内フットプリント法がある。これは、DNA 分解酵素である DNaseI が、タンパク質が結合している DNA を分解することはできないが、タンパク質と結合していない DNA は、分解することができる、という性質を利用している。この方法を応用し、核様体を DNaseI で処理すれば、核様体に含まれるゲノム DNA のうち、転写因子や核様体タンパク質が結合

しているところは分解されず、結合していない領域のみ分解されると想定された。したがって、DNaseI 処理後、分解されなかったゲノム DNA 断片を、核様体タンパク質と共精製し、次世代シーケンシングにより解析できれば、試験管内フットプリント法に匹敵する解像度で、核様体タンパク質のゲノム DNA 上の結合領域を決定することができはざである。そこで、標的となる核様体タンパク質を、ヒスチジンタグを付加した形で発現させた枯草菌、大腸菌を LB 培地で対数増殖期まで培養し、リゾチーム処理によりスフェロプラスト化した後、DNaseI を加え、細胞内のゲノム DNA を、平均して約 50bp 程度の長さになるように分解した。細胞を破碎後、ニックルレジンを用いて、核様体タンパク質-DNA 複合体を精製し、そこから、DNA 断片を分離、精製し、次世代シーケンスを行った。この解析手法を用いることで、ChIP-seq に比べ大幅な解像度の向上を得た。そこで、この手法を、GeF-seq (Genome Footprinting with highthroughput sequencing) と名付けた。

GeF-seq の解像度は 1~数 bp であり、解像度の低い、既存の ChIP-seq 用の解析プログラムを用い、GeF-seq の解析を行うことは難しかった。我々は、これまでも、次世代シーケンスの基盤技術の開発を行ってきており、mpsmmap という次世代シーケンスデータのマッピングプログラムを開発していた。このプログラムを利用し、GeF-seq のデータから DNA 結合タンパク質の結合部位を決定する新たなプログラム pmapsr を開発した。新たに開発したプログラムは、次世代シーケンサーにより出力される DNA 配列の 5'あるいは 3'末端の配列情報を用い、ゲノム DNA 上のどこから、どこまでが、核様体タンパク質と直接結合しているか、その強さはどれくらいかを解析可能なプログラムである。このプログラムを用いて解析したところ、多くの核様体タンパク質について、数十 bp の解像度で結合領域を決定できるようになった。(図 1A 参照)。本解析手法の開発に付随して、次世代シーケンスに関する様々な情報解析技術も同時に開発することができた。例えば、転写開始点の網羅解析、RNA の変異解析等である。多くは、シーケンスされた DNA 断片末端の位置情報を利用するものであり、次世代シーケンス技術の高度利用技術の開発にも貢献することができた。

(2) GeF-seq を用いた大腸菌核様体タンパク質結合領域の高精度マッピング

大腸菌の核様体タンパク質 SlmA はゲノム DNA と結合し、細胞分裂時に多量体を形成し機能する FtsZ タンパク質の多量体形成を阻害することが知られている。SlmA の GeF-seq 解析を行ったところ、約 30 カ所の結合領域が見いだされ、その結合領域は Ter サブドメインには存在していないことが示された。30 カ所の結合領域すべてで、コンセン

サス配列(図 1B)が見いだされた。この配列は、ChIP-seq や生化学的な解析結果をもとに報告されているものと一致し、GeF-seq の正確性が示された。興味深いことに、SImA の GeF-seq 解析からは 30-50bp の結合領域に単一の狭いピークが検出された(図 1A)。この結合様式は、後述する、枯草菌で同じ機能を持つ核様体タンパク質 Noc とは大きく異なっていた。

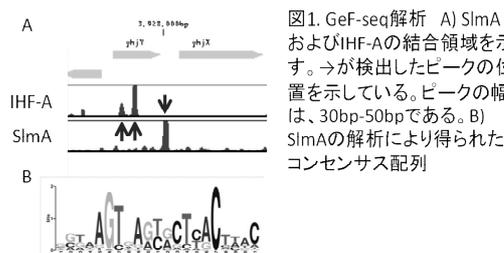


図1. GeF-seq解析 A) SImA およびIHF-Aの結合領域を示す。→が検出したピークの位置を示している。ピークの幅は、30bp-50bpである。B) SImAの解析により得られたコンセンサス配列

Fis は、対数増殖期の*E. coli*に大量に存在する(~15000 分子)核様体タンパク質で、これまでの ChIP-chip 解析から*E. coli*ゲノム上には、数百カ所の結合領域が存在することが示唆されていた。GeF-seq による解析の結果、Fis 結合領域に存在するコンセンサス配列が決定され(図 2)、生化学的な解析や、ChIP-chip 解析により見いだされた解析と、よく一致した。我々の解析では、*E. coli*ゲノム全体で、1500 カ所に及ぶ Fis 結合領域が検出され、結合領域には、13bp の間隔でグアニン(G)とシトシン(C)残基が存在する。興味深いことに、その GC 間に存在するチミン(アデニン)残基の連続する配列が、結合シグナルが弱くなるにつれて観察されなくなった。チミン(アデニン)残基の連続した配列は、DNA を屈曲させる性質を有しており、Fis はゲノム DNA を屈曲した形で固定する因子として細胞内で機能していることが示された。

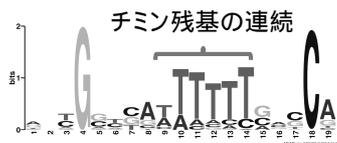


図2. Fisのコンセンサス配列

*E. coli*には、2種類の IHF タンパク質、IHF-A および IHF-B が存在する。この2種の IHF タンパク質について、GeF-seq 解析を行った。その結果、すでに発表されている ChIP-seq で得られたコンセンサス配列とは、やや異なるコンセンサス配列が検出された(図 3A, B)。検出されたコンセンサス配列は、結晶構造解析で解析に用いられた DNA 配列とよく一致しており、ヘアピン状の強い折れ曲がり構造を取り IHF と結合する配列であった。本研究では、ゲノム上に約 2000 カ所の、IHF の結合領域が検出されており、それらの領域では*E. coli*ゲノム DNA が強く折れ曲がっていることが示唆された。同時に、IHF-A

と IHF-B の結合領域は完全には一致せず(図 3)、IHF-B ホモダイマーのみ、IHF-A ホモダイマーのみ、IHF-A/B ヘテロダイマーあるいは IHF-A, B ホモダイマーの双方と結合する領域があると考えられた。IHF のホモダイマーに関する解析は、これまで、ほとんど行われておらず、DNA との結合様式を解析する必要がある。現在、ホモ、およびヘテロダイマーの結合様式を詳細に解析するため、IHF-A 欠失株中の IHF-B、および IHF-B 欠失株中の IHF-A の結合領域について、GeF-seq による解析を行っている。

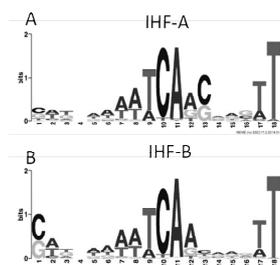


図3. IHF-A, Bのコンセンサス配列 A)IHF-Aのコンセンサス配列には、IHF-Bのコンセンサス配列には保存されていないシトシン(グアニン)が13番目の残基に存在する。B)IHF-Bのコンセンサス配列には、1番目の残基がシトシン(グアニン)である傾向が強い。

*E. coli*の HU タンパク質には HU-A および HU-B の2種の相同タンパク質が存在する。また、IHF とも相同性を示す。HU-A および B の GeF-seq の結果、HU-A と HU-B の間で結合プロファイルの違いはなく、IHF と異なり、ゲノム全体にわたって、低い強度で結合していることが明らかとなった。この結合パターンは、枯草菌に存在する HU 相同タンパク質と同様であり、枯草菌と*E. coli*の間で HU の機能は維持されているものと考えられた(後述)。

H-NS は、配列特異的に強く結合する領域を中心に、その上流および下流に、数百~数千 bp にわたって、多量体を作って結合していると考えられている。我々は、すでに ChAP-seq により H-NS の結合領域に関する解析を行っているが、解像度が十分でないために、強い結合領域の同定には至っていなかった。そこで、GeF-seq による解析を試みた。GeF-seq 解析により、強い結合領域が検出されることが期待されたが、残念ながら検出できなかった。*B. subtilis*の核様体タンパク質に関する GeF-seq 解析から、Noc および Spo0J が、強い結合領域と、その周辺に広がる弱い結合領域という、H-NS がとらわれている結合様式を示すことが明らかにされており(後述)、さらに方法論を改良し、H-NS の細胞内における結合様式を決定したい。

(3) GeF-seq を用いた枯草菌核様体タンパク質結合領域の高精度マッピング

*B. subtilis*の核様体タンパク質である Noc は、Spo0J の相同タンパク質であり、*E. coli*の SImA と機能的に同じ役割を果たす。しかしながら、GeF-seq による解析の結果、SImA の結合様式とは異なり、Noc は、コンセンサス

配列に強く結合し、そこから数千 bp にわたり、多量体を形成して弱く結合していることが示された。この結合様式は、Spo0J でも検出され、コンセンサ配列を含む数十 bp の領域のみと直接結合する SImA とは完全に異なっていた。実際に、それぞれのタンパク質のアミノ酸配列は大きく異なっており、SImA と Noc は、異なる祖先タンパク質から進化した可能性が高い。同時に、枯草菌の Noc、大腸菌の SImA の結合するコンセンサ配列は、配列自体は異なるものの、どちらも Ter サブドメインには存在しない。このことは、サブドメイン構造は、大腸菌および枯草菌に共通して存在することを示している。加えて、祖先細菌には、すでにサブドメインが存在し、その上で、特定のサブドメインにのみ偏って存在する配列に結合することができる DNA 結合タンパク質が選択され、機能するという進化の過程が枯草菌、大腸菌にあったことを示している。

我々は、ChIP-chip 解析により、枯草菌の DnaA タンパク質が、ゲノム DNA の 7カ所に存在する DnaA Box と呼ばれる DNA 配列が連続する領域に結合することを提唱していた。GeF-seq により、DnaA が DnaA Box の連続する領域に直接結合することが確かめられた。

枯草菌が持つ HU の相同タンパク質は、Hbsu と呼ばれている。Hbsu の GeF-seq 解析を行ったところ、Hbsu は大腸菌の HU と同様、ゲノム全体に、塩基配列非特異的に結合していた。興味深い点は、HU は強い転写活性を持つ遺伝子の特に強く結合する傾向を示したことである。HU は、転写制御と関連する可能性がある。同時に、種を超えて、ゲノム全体に結合する活性を示すことから、細菌のゲノム DNA に結合し、核様体構造の基盤を形成するのは HU である可能性が高い。一方、大腸菌の IHF-A, IHF-B も HU の相同タンパク質であるが、枯草菌の Hbsu は、IHF-A, IHF-B が示すような、特定の配列特異的に、強い結合活性を示すことはなかった。枯草菌には IHF にあたる HU の相同タンパク質が見いだされず、加えて、IHF は大腸菌を含む一部の細菌のみにしか存在しないため、IHF は HU が変化し、特別な DNA 構造（ヘアピン構造）を取るために進化した核様体タンパク質であることが示唆される。一方で、枯草菌において、IHF の機能を果たすタンパク質が他に存在するのか、ヘアピン構造を取るための他のメカニズムが存在するのか、あるいはゲノム DNA がヘアピン構造を取らないのかは、今後、証明すべき課題である。

(4) プロテオーム解析による枯草菌、大腸菌の核様体タンパク質の検出

大腸菌の核様体タンパク質に関しては、こ

れまでも多くの解析が行われている。一方、研究開始時には、枯草菌の核様体に含まれるたんぱく質の解析は、ほとんど報告されていなかった。我々は、枯草菌の核様体を精製し、そこに含まれるたんぱく質を決定した。その結果、既に ChAp-seq 法で結合領域を詳細に明らかにした AbrB と本研究で解析した HU が、核様体にもっとも豊富に存在する DNA 結合タンパク質であることが明らかとなった。他のグループからも同様の解析結果が報告され、枯草菌の主要な核様体タンパク質は、HU および AbrB であり、大腸菌の IHF や Fis にあたる核様体タンパク質は、いまだに見つかっていない。また、興味深いことに、精製された核様体には、多くの膜たんぱく質が含まれていた。これは、核様体の一部が、細胞膜と相互作用していることを、示唆しているのかもしれない。

(5) 核様体構造の機能の解析

大腸菌には、核様体タンパク質 H-NS の相同タンパク質である Hha, YdgT が存在する。興味深いことに、Hha および YdgT は DNA 結合ドメインを持たない。Hha および YdgT と、H-NS との関係を調べたところ、Hha および YdgT は、H-NS を介してゲノム DNA と相互作用することが明らかとなった。H-NS は、外来遺伝子に結合し、その発現を抑制することが知られているが、Hha と YdgT を欠失した株では、H-NS により発現が抑制されている一部の遺伝子の発現が、上昇することが明らかになっている。この点を考慮すると、H-NS/Hha/YdgT 複合体が、転写抑制活性を担っていることが示唆される。

H-NS と同時に HU に関しても、遺伝学的な解析を行った。枯草菌の HU 相同タンパク質 Hbsu は枯草菌が生育するために必須である。一方、大腸菌では、HU を欠失した株は、低温感受性を示す。大腸菌の HU 相同タンパク質の機能を調べるために、HU と IHF あるいは HU と Fis の 2 重欠失株を作成したところ、どちらも高温感受性を示した。このことから、大腸菌でも、HU は生育するために必要であるが、IHF および Fis が、HU の一部の機能を相補しているために、HU 欠失株が生育できることが示唆された。現在、IHF が、HU の機能をどのように代替するのかを確認するため、HU 欠失株における、IHF-A, IHF-B の結合領域について、GeF-seq による解析を進めている。

(6) 研究計画では、進化的に、枯草菌と大腸菌の間に位置する緑膿菌の解析も行い、枯草菌、大腸菌と比較する予定であったが、遺伝学的な手法の確立が不十分であり、現在までのところ、IHF および Spo0J 欠失株のみしか

構築できていない。そのため、本研究では、緑膿菌に関する解析が十分に進まなかった。しかしながら、細菌の進化の過程で、核様体構造あるいは核様体タンパク質に関して、多様な進化が起こっていることを示唆するデータが得られたことから、核様体の構築原理のさらなる解明のためには、細菌の核様体タンパク質が、細菌の進化に伴い、どのように変化していったかという考察が、非常に重要だと考えられた。そのため、緑膿菌を用いた核様体タンパク質の解析は、今後の重要な課題の一つである。

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5件)

1. Transcription elongation: Heterogeneous tracking of RNA polymerase and its biological implications. Imashimizu M, Shimamoto N, Oshima T, Kashlev M, (2014) *Transcription* 5:e28285 (査読有)
2. 細菌の発現制御機構をゲノムワイドに解析する(次世代シーケンサーを用いた高精度な網羅的解析の可能性) 大島 拓, 石川 周 (2013) 51:670-678 (査読有)
3. Direct assessment of transcription fidelity by high-resolution RNA sequencing. Imashimizu M., Oshima T., Lubkowska L., Kashlev M. (2013) *Nucleic Acids Res.* 41: 9090-9104. (査読有)
4. Functions of the Hha and YdgT Proteins in Transcriptional Silencing by the Nucleoid Proteins, H-NS and StpA, in *Escherichia coli*. Takeshi Ueda, Hiroki Takahashi, Ebru Uyar, Ishikawa S, Ogasawara N, Oshima T. (2013) *DNA Res.* 20:263-271. (査読有)
5. Regulation of chromosomal replication initiation by oriC-proximal DnaA-box clusters in *Bacillus subtilis*. Okumura H, Yoshimura M, Ueki M, Oshima T, Ogasawara N, Shu Ishikawa. (2012) *Nucleic Acids Res.* 40: 220-234. (査読有)

[学会発表](計5件)

1. 大島 拓, 細菌における外来遺伝子発現抑制機構, 日本農芸化学会, シンポジウム「微生物ゲノム設計の時代に塩基組成の機能と進化を再考する」, 2014年3月30日, 川崎
2. 大島 拓, ゲノムワイドな解析手法により明らかになった核様体タンパク質の機能, 日本遺伝学会第85回大会 シンポジウム「核酸の機能制御における細菌の分子生物学からの新たな挑戦」, 2013年9月19日, 横浜

3. 上田 剛士, 高橋 弘喜, 石川 周, 小笠原直毅, 大島 拓, 大腸菌 Hha, YdgT タンパク質による外来性遺伝子の転写抑制, 第7回日本ゲノム微生物学会年会, 2013年03月08日, 長浜

4. 大島 拓, バクテリアのサイレンシングの多様性と共通性, 第35回日本分子生物学会年会, ワークショップ「遺伝子サイレンシング: その進化的普遍性と多様性」, 2012年12月14日, 福岡

5. 大島 拓, 次世代シーケンサーを用いた網羅解析の可能性, 第6回日本ゲノム微生物学会 シンポジウム「我が国の微生物ゲノムと新型シーケンサー」, 2012年3月12日, 東京

6. 研究組織

(1)研究代表者

小笠原直毅 (OGASAWARA NAOTAKE)

奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科・教授

研究者番号: 10110553

(2)連携研究者 研究分担者

大島 拓 (OSHIMA TAKU)

奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科・助教

研究者番号: 50346318

(3)連携研究者 研究分担者

石川 周 (ISHIKAWA SHU)

奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科・助教

研究者番号: 30359872

(4)研究分担者

戸邊 亨 (TOBE TORU)

大阪大学大学院医学系研究科・教授

研究者番号: 70207596

(5)連携研究者

高橋 弘喜 (TAKAHASHI HIROKI)

千葉大学・真菌医学研究センター・准教授

研究者番号: 60548460

(6)連携研究者

皆川 周 (MINAGAWA SHU)

京都薬科大学・薬学部・助教

研究者番号: 50445962