

様 式 C - 7 - 1

平成 2 5 年度科学研究費助成事業（科学研究費補助金）実績報告書（研究実績報告書）

1. 機関番号

1	4	6	0	3
---	---	---	---	---

 2. 研究機関名 奈良先端科学技術大学院大学
3. 研究種目名 基盤研究(A) 4. 研究期間 平成 2 3 年度 ~ 平成 2 5 年度
5. 課題番号

2	3	2	4	1	0	6	2
---	---	---	---	---	---	---	---
6. 研究課題名 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

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
1 0 1 1 0 5 5 3	オガサワラ ナオタケ 小笠原 直毅	バイオサイエンス研究科	教授

8. 研究分担者

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名
7 0 2 0 7 5 9 6	トベ トオル 戸邊 亨	大阪大学・医学（系）研究科（研究院）	教授
5 0 3 4 6 3 1 8	オオシマ タク 大島 拓	バイオサイエンス研究科	助教
3 0 3 5 9 8 7 2	イシカワ シユウ 石川 周	バイオサイエンス研究科	助教

9. 研究実績の概要

1) 次世代シーケンスを用いた新たな解析システムの構築：我々が独自に開発した高解像度ChIP-seq手法であるGeF-seqは、ゲノムDNA上のDNA結合タンパク質結合領域を高解像度で決定することが可能な解析手法である。本手法を用いて、大腸菌および枯草菌ゲノムDNA上の様々な核様体タンパク質の結合領域を高精度かつシステムティックに決定するための、新たなマッピングプログラムを構築した。また、次世代シーケンサーを利用した新たな解析手法の開発も継続して行った。2) 核様体タンパク質とゲノムDNAの結合プロファイルのシステムティックな解析：枯草菌の核様体タンパク質HU, DnaA, Noc, Spo0J、大腸菌の核様体タンパク質HU, IHF, Fis, H-NS, SlmAの結合プロファイルを、GeF-seqを用いてシステムティックに決定し、その結果を基にして、枯草菌・大腸菌の核様体タンパク質の認識配列をゲノムワイドかつ高精度に決定した。この結果を用いて、枯草菌と大腸菌の核様体タンパク質の結合様式と機能の比較を試みた。3) シュードモナスの核様体タンパク質の欠失株の構築：核様体タンパク質欠失株のシステムティックな構築を試みたが、Spo0JおよびIHF欠失株しか構築できていない。大腸菌、枯草菌の解析から、HUあるいはH-NSの欠失株については、生育が不可能（あるいは非常に生育が遅い）な可能性がある。4) 大腸菌・枯草菌の核様体に含まれるタンパク質の同定：核様体に含まれるタンパク質をホルマリン処理により核様体に固定した後、変性条件下で核様体を精製し、そこに含まれるたんぱく質を質量分析により検討した。核様体タンパク質とともに、大腸菌・枯草菌ともに多くの膜たんぱく質が分離され、細菌種を超えて、核様体が細胞膜と相互作用していることが強く示唆された。

10. キーワード

(1) 核様体

(2) 枯草菌

(3) 大腸菌

(4) シュードモナス

(5) GeF-seq

(6)

(7)

(8)

11. 現在までの達成度

(区分)

(理由)

25年度が最終年度であるため、記入しない。

12. 今後の研究の推進方策

(今後の推進方策)

25年度が最終年度であるため、記入しない。

13.研究発表(平成25年度の研究成果)

(雑誌論文) 計(3)件 うち査読付論文 計(3)件

著者名		論文標題			
Masahiko Imashimizu, Taku Oshima, Lucyna Lubkowska, Mikhail Kashlev		Direct assessment of transcription fidelity by high-resolution RNA sequencing.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
Nucleic Acids Res.	有	41	2 0 1 3	9090-9104	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
10.1093/nar/gkt698					

著者名		論文標題			
大島 拓、石川 周		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)			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
生物と科学	有	51	2 0 1 3	670-678	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
なし					

著者名		論文標題【掲載確定】			
Masahiko Imashimizu, Nobuo Shimamoto, Taku Oshima, Mikhail Kashlev		Transcription elongation: Heterogeneous tracking of RNA polymerase and its biological implications.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
Transcription	有	印刷中	2 0 1 4	印刷中	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
10.4161/trns.28285					

〔学会発表〕計(4)件 うち招待講演 計(3)件

発表者名		発表標題	
大島 拓		次世代シーケンサーによる細菌の発現制御機構に関する網羅解析の高精度化	
学会等名		発表年月日	発表場所
NGS現場の会第三回研究会(招待講演)		2013年09月04日～2013年09月05日	神戸国際会議場(兵庫県神戸市)

発表者名		発表標題	
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	
学会等名		発表年月日	発表場所
日本遺伝学会第85回大会(招待講演)		2013年09月19日～2013年09月21日	慶應義塾大学 日吉キャンパス 第4校舎独立館(神奈川県横浜市)

発表者名		発表標題	
大島 拓		細菌における外来遺伝子発現抑制機構	
学会等名		発表年月日	発表場所
日本農芸化学会(招待講演)		2014年03月27日～2014年03月30日	明治大学 生田キャンパス(神奈川県川崎市)

発表者名		発表標題	
高尾美有紀、顔宏哲、戸邊亨		LeuOによる腸管出血性大腸菌の病原性発現制御	
学会等名		発表年月日	発表場所
第8回日本ゲノム微生物学会年会		2014年03月07日～2014年03月09日	東京農業大学 世田谷キャンパス(東京都世田谷区)

