

平成 2 6 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 特別研究員奨励費 4. 研究期間 平成 2 5 年度 ~ 平成 2 6 年度

5. 課題番号

2	5	・	0	2	8	1	1
---	---	---	---	---	---	---	---

6. 研究課題名 バクテリア細胞における環境状態感知システムによる細胞内ネットワーク解析

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
9 0 1 8 2 2 0 3	モリ ヒロタダ 森 浩禎	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
	ボウデン スティーブン BOWDEN Steven	奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科	外国人特別研究員

9. 研究実績の概要

バクテリアにおける細胞内ネットワーク解明をバーコードを導入した2種類のトランスポゾンを利用した超高効率網羅的2重欠失株解析法の確立を目的とした。すでに単一欠失株を遺伝子単位で、接合により組合せる方法を開発し解析を進めている。しかし、環境条件の違いによる細胞内ネットワーク構造の動的変化や、網羅的リソースが完備されていない非モデル生物においても適用可能な普遍性の高い方法論の開発は非常に重要である。

1次元目のトランスポゾンをTn5で、2次元目をMarinerを利用した。Tn5はトランスポゼースが市販されるなど、一般的な利用が普及しているトランスポゾンであり、誰でもが利用しやすい環境を整える為に重要である。2次元目のMarinerトランスポゾンは、バクテリア由来ではなくAT配列を認識し挿入されるなどのバイアスも存在するが、すでにShewanellaなどのバクテリアでの実績があり、特性解析も進んでおり利用した。

Tn5の断片の中に、loxあるいはFRTで挟まれたMarinerの断片を挿入する。Mariner断片には20塩基程度の分子バーコードとしてランダム配列を断片増幅時に導入を行う。一次元目のランダム挿入変異の位置の確定には、III型制限酵素認識部位を挿入したTn5末端挿入位置より25塩基までのゲノム配列と導入したバーコード領域を含む断片を調整し、シーケンサーで読み取る。その後、CreあるいはFLPにより、Mariner断片の切り出しと、トランスポゼースの誘導により、2次元目の転移を活性化させる。これらを変異株プールとして様々な条件で培養を行い、生育への適合をシーケンサーにより変異位置同定頻度の違いで評価を行う。現在は、2種類のトランスポゾンを持つ上述の断片の作製を終了した。現在は、1および2次元目の転移活性化の効率の上昇を目指した条件検討を進めている。

10. キーワード

- | | | | |
|---------------|----------------|-------------|------------------------|
| (1) 遺伝的相互作用解析 | (2) バクテリア | (3) トランスポゾン | (4) 2重欠失株 |
| (5) バーコード | (6) ディープシーケンサー | (7) Tn5 | (8) Mariner transposon |

11. 現在までの達成度

(区分)
(理由) 26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) 26年度が最終年度であるため、記入しない。

13.研究発表(平成26年度の研究成果)

(雑誌論文) 計(0)件 うち査読付論文 計(0)件

著者名		論文標題			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					

(学会発表) 計(0)件 うち招待講演 計(0)件

発表者名		発表標題	
学会等名	発表年月日	発表場所	

(図書) 計(0)件

著者名		出版社	
書名		発行年	総ページ数

14.研究成果による産業財産権の出願・取得状況

(出願) 計(0)件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別

(取得) 計(0)件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別
				出願年月日	

15.備考

--