

様 式 C - 7 - 1

平成 26 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 新学術領域研究（研究領域提案型） 4. 研究期間 平成 25 年度～平成 26 年度
5. 課題番号

2	5	1	0	8	7	1	6
---	---	---	---	---	---	---	---
6. 研究課題名 大腸菌バーコード欠失株による化合物-遺伝子相互作用Multiplex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 浩慎	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

9. 研究実績の概要

barcodeライブラリの完成、欠失を相補する接合可動型低コピー発現プラスミドライブラリーの構築、そして欠失株相補ライブラリーのリソース群の完成を目指した。その後構築したライブラリーによる高効率生理活性物質探索システムの構築を行うことを目的とした開発を目指した。barcodeによる混合培養液を用いて、長期定常期での各欠失株のpopulation変動を定量的にモニターすることが可能かどうかの評価を行った結果、少なくともbarcodeの量的変動をdeep sequencingで定量的に解析可能であることを確認することができた。その原理を用いて、化学物質の細胞内相互作用分子探索、作用機序解明を目的に、multi well プレートでの欠失株混合培養による競合培養とdeep sequencingを用いた相互作用解析法の構築を行った。パイロットテストとして、細胞に対して毒性を示す溶媒など24種類の化合物を含む培地で欠失株混合液を生育させ、一定時間培養後に各wellの培養液より染色体DNAを抽出し、barcode領域をPCR増幅後、deep sequencingにより各欠失株のpopulation変動を解析した。頻度解析を行い、その結果をクラスター解析を行うことで、化合物と各遺伝子との相互作用解析を行った。さらに新たな接合可動型プラスミドクローン発現ライブラリーとbarcode 欠失株を組合せ、発現誘導剤添加によるターゲット遺伝子の発現誘導増産による相互作用解析法の確立も進めた。薬剤による増産によるpopulation変動への影響は次年度に持ち越したが、ライブラリー構築は完成した。

10. キーワード

- | | | | |
|-----------------|-------------------------|---------------------|----------|
| (1) 分子バーコード欠失株 | (2) population dynamics | (3) deep sequencing | (4) 接合移動 |
| (5) 低コピー発現プラスミド | (6) ケミカルジェノミクス | (7) | (8) |

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(2)件 うち査読付論文 計(2)件

著者名		論文標題					
Takeuchi, R. Tamura, T. Nakayashiki, T. Tanaka, Y. Muto, A. Wanner, B. L. Mori, H.		Colony-live -a high-throughput method for measuring microbial colony growth kinetics- reveals diverse growth effects of gene knockouts in Escherichia coli					
雑誌名	査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁		
BMC Microbiol	有	14	2	0	1	4	171-182
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)							
10.1186/1471-2180-14-171							

著者名		論文標題					
Otsuka, Y., Muto, A., Takeuchi, R., Okada, C., Ishikawa, M., Nakamura, K., Yamamoto, N., Dose, H., Nakahigashi, K., Tanishima, S., Suharnan, S., Nomura, W., Nakayashiki, T., Aref, W. G., Bochner, B. R., Conway, T., Gribskov, M., Kihara, D., Rudd, K. E., Tohsato, Y., Wanner, B. L., Mori, H.		GenoBase: comprehensive resource database of Escherichia coli K-12					
雑誌名	査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁		
Nucleic Acids Res	有	43	2	0	1	5	606-617
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)							
10.1093/nar/gku1164							

(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(1)件

著者名	出版社		
Hirotda Mori Katsushi Yokoyama Rikiya Takeuchi Kazuichi Makishi Wataru Nomura Yuta Otsuka Hitomi Dose Barry L. Wanner	Springer		
書名	発行年	総ページ数	
Identification of Essential Genes and Synthetic Lethal Gene Combinations in Escherichia coli K-12	2 0 1 4	21	

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

GenoBase http://ecoli.naist.jp/GB
