日本学術振興会に紙媒体で提出する必要はありません。

1版

様　式　Ｃ－７－１

平成２９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）

機関番号	１４６０３

所属研究機関名称		奈良先端科学技術大学院大学
研究代表者	部局	データ駆動型サイエンス創造センター
	職	教授
	氏名	森　浩禎

１．研究種目名　基盤研究(A)(一般)　　２．課題番号　16H02485

３．研究課題名　細胞の生存　-　自然界における大腸菌の場合

４．研究期間　平成２８年度～平成３０年度　　５．領域番号・区分　－

６．研究実績の概要

自然環境下での生命は、化学的、物理的環境変動の中を、周辺に共存する生物種と競合、協調など絶えず相互作用を繰り返し生存する。大腸菌は、その名の由来の様に本来の生存の場は哺乳動物の腸内と考えられるが、実際には、土壌、湖沼等広く分布し、動物体内との間を循環している。その間、宿主生物との相互作用のみならず、周辺のファージや微生物種との相互作用を繰り返し、環境を生き抜く。自然環境下の生命の生存戦略を考える上で、対数増殖期は非常に短く、分裂をしない期間が続くことは、全ての生命に当てはまる。「細胞とは」という基本問題は、全ての細胞増殖期における他生物種との相互作用による生理機能ネットワーク変動の解析である。これまでの機能ネットワーク解明の取組み及び解析技術の格段の進展により、細胞分裂開始から対数増殖期、定常期、死滅期、長期定常期を経て分裂再開する細胞の定量的な解析が可能になった。開発済み網羅的リソースを活用し、種内及び種間の相互作用を、大腸菌遺伝的背景の違いによる相互作用の定量解析手法の確立を行い、細胞の普遍的生存戦略解明を進めた。2017年度においては、分子バーコード欠失株ライブラリーによる長期定常期における各遺伝子欠失株の非致死濃度の抗生物質を含んだ培地及び細胞毒性を持つ化学物質を含む培地でのpopulation変動の解析手法の確立と解析を行った。その結果、1000を超える化学物質と大腸菌遺伝子との高効率な相互作用解析能を示すことができた。さらに、細胞毒性の分子機構が未解明の物質に対して、その分子機構解明にも大きな力を発揮することを示すことができた。

７．キーワード

分子バーコード欠失株　大腸菌　population　deep sequencing　chemical genomics

８．現在までの進捗状況

区分　（1）当初の計画以上に進展している。

理由

研究リソース開発は、必須遺伝子を除く大腸菌全遺伝子の90%以上をカバーする分子バーコード欠失株ライブラリーの構築と確認を終えている。構築したリソースを活用した、全ての欠失株の混合培養液を用いた、分子バーコード解析手法の確立を行なった。DNA修復関連の遺伝子欠失株を除く全ての欠失株を等量ずつ混和した欠失株プールを作製し、共同研究グループと共有を行い、栄養培地中での長期定常状態での培養、抗生物質及び毒性化合物を含む培地での培養を行い、バーコード解析のための解析材料の調整を進めた。調整されたバーコードを含むDNA溶液をdeep sequencerで読み取り、2億readを超える配列データを取得し、各実験でのpopulation情報を得た。長期定常期でのpopulation変動解析から、これまでの長期定常期で優位性を示す遺伝子などの既知情報は矛盾なく取得することができ、さらに多くの遺伝的背景の違う株の変動を捉えることに成功している。また、薬剤あるいは毒性を示す化合物を含む培養液中での各遺伝子欠失株の変動も、同様に定量的モニターを可能にした。DNAに結合することで毒性を示すと考えられる化合物を含む培地中での遺伝子欠失の影響は、クラスター解析の結果、組換え関連の遺伝子欠失が同一のクラスターに存在するなど、既知情報との矛盾なく良好な結果を得ている。

さらに、今後のマウス腸内環境を想定したバーコード解析を行うにあたり、マウス腸内環境を無菌状態にするために　Streptomycinの利用が必要となる。そのため、解析を行う大腸菌にはSm耐性を付与しておく必要がある。そこで、Sm耐性を持つ分子バーコード欠失株ライブラリーの構築を開始した。これまでの蓄積を活かし、接合を用いてrpsL変異を構築した欠失株ライブラリーに移動させる方法を確立し、本年度中の完成の目処をつけることができた。

９．今後の研究の推進方策

リソース開発、Population変動解析、共に非常に順調に進んでいる。長期定常期、非致死的濃度の抗生物質・細胞毒性を示す1000以上の化学物質を含む培地中でのpopulation変動解析も良好な結果を得ており、解析を進めている。
これらはすべて共同研究グループの連携のもとに進めており、非常に順調に進んでいる。今後は情報解析と実験解析との連携がますます重要になってきており、さらに密な連携を進めていく。

１０．研究発表（平成２９年度の研究成果）

〔雑誌論文〕　計5件（うち査読付論文　5件／うち国際共著論文　0件／うちオープンアクセス　5件）

１．著者名 R. Sugimoto, N. Saito, T. Shimada and K. Tanaka	４．巻 63
２．論文標題 Identification of YbhA as the pyridoxal 5'-phosphate (PLP) phosphatase in Escherichia coli: Importance of PLP homeostasis on the bacterial growth	５．発行年 2018年
３．雑誌名 J Gen Appl Microbiol	６．最初と最後の頁 362-368
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2323/jgam.2017.02.008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 －

１．著者名 M. Murata, A. Ishii, H. Fujimoto, K. Nishimura, T. Kosaka, H. Mori and M. Yamada	４．巻 13
２．論文標題 Update of thermotolerant genes essential for survival at a critical high temperature in Escherichia coli	５．発行年 2018年
３．雑誌名 PLoS One	６．最初と最後の頁 e0189487
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0189487	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 －

１．著者名 M. Yumura, N. Yamamoto, K. Yokoyama, H. Mori, T. Yomo and N. Ichihashi	４．巻 12
２．論文標題 Combinatorial selection for replicable RNA by Qbeta replicase while maintaining encoded gene function	５．発行年 2017年
３．雑誌名 PLoS One	６．最初と最後の頁 e0174130
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0174130	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 －

日本学術振興会に紙媒体で提出する必要はありません。

1．著者名 T. Tamura, W. Lu, J. Song and T. Akutsu	4．巻 na
2．論文標題 Computing Minimum Reaction Modifications in a Boolean Metabolic Network	5．発行年 2017年
3．雑誌名 IEEE/ACM Transactions on Computational Biology and Bioinformatics	6．最初と最後の頁 1
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1109/TCBB.2017.2777456	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 －

1．著者名 E. H. Morales, C. A. Pinto, R. Luraschi, C. M. Munoz-Villagran, F. A. Cornejo, S. W. Simpkins, J. Nelson, F. A. Arenas, J. S. Piotrowski, C. L. Myers, H. Mori and C. C. Vasquez	4．巻 8
2．論文標題 Accumulation of heme biosynthetic intermediates contributes to the antibacterial action of the metalloid tellurite	5．発行年 2017年
3．雑誌名 Nat Commun	6．最初と最後の頁 15320
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/ncomms15320	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 －

〔学会発表〕　計14件（うち招待講演　1件／うち国際学会　2件）

1．発表者名 川野 光興，齊藤 峰輝
2．発表標題 トキシン-アンチトキシン遺伝子を活用した多剤耐性菌の生育抑制法の開発
3．学会等名 第91回日本細菌学会総会
4．発表年 2018年

1．発表者名 斎藤 菜摘，佐々木 伸啓
2．発表標題 物質生産と農業利用に向けた環境微生物の機能解析.
3．学会等名 第27回日本MRS年次大会
4．発表年 2017年

日本学術振興会に紙媒体で提出する必要はありません。

1版

1．発表者名 川野 光興，齊藤 峰輝
2．発表標題 アンチセンスRNAを用いたファージ療法の基盤技術開発
3．学会等名 第32回中国四国ウイルス研究会
4．発表年 2017年

1．発表者名 川野 光興，齊藤 峰輝
2．発表標題 遺伝子組換えファージミドを用いたファージ療法に向けた基盤技術の開発
3．学会等名 第70回日本細菌学会中国四国支部総会
4．発表年 2017年

1．発表者名 佐々木 伸啓，斎藤 菜摘
2．発表標題 Evaluation for plant growth promoting activities of actinobacteria from Dadacha soybean rhizosphere
3．学会等名 日本農芸化学会
4．発表年 2017年

1．発表者名 久保田 将，有馬 孔明，杉井 彩香，杉井 学，松野 浩嗣
2．発表標題 大域的代謝モデルを用いた大腸菌ジオキシー現象のシミュレーション解析
3．学会等名 電子情報通信学会システム数理と応用研究会
4．発表年 2018年

日本学術振興会に紙媒体で提出する必要はありません。

1．発表者名 Saya Hasumi Nurhezreen Md Iqbal, Ai Muto, Hirotada Mori
2．発表標題 Population dynamics of Escherichia coli under antibiotic stress by Barcode analysis
3．学会等名 Northeastern University
4．発表年 2017年

1．発表者名 Hirotada Mori
2．発表標題 Population dynamics of Escherichia coli under antibiotic stress by Barcode analysis
3．学会等名 Northeastern University（招待講演）
4．発表年 2017年

1．発表者名 近藤 恒平、合田 祐貴、森 浩禎
2．発表標題 T4 ファージと大腸菌間の網羅的な相互作用解析
3．学会等名 ゲノム微生物学会年会
4．発表年 2018年

1．発表者名 齊藤 峰輝 川野 光興
2．発表標題 大腸菌の複数の遺伝子発現を同時に制御できるアンチセンスRNA
3．学会等名 第12回日本ゲノム微生物学会年会
4．発表年 2018年

日本学術振興会に紙媒体で提出する必要はありません。

1版

1．発表者名 牧 泰史
2．発表標題 大腸菌の栄養環境変化と遺伝子の発現応答
3．学会等名 第12回日本ゲノム微生物学会年会
4．発表年 2018年

1．発表者名 牧 泰史
2．発表標題 大腸菌における栄養環境の変化と遺伝子発現応答
3．学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4．発表年 2017年

1．発表者名 牧 泰史
2．発表標題 rRNA degradation in Escherichia coli under the starvation stress
3．学会等名 RNA2017 - The 22nd Annual Meeting of the RNA Society（国際学会）
4．発表年 2017年

1．発表者名 Saya Hasumi Nurhezreen Md Iqbal, Ai Muto, Hirotada Mori
2．発表標題 Global outlook on survival of Escherichia coli mutants during long-term stationary phase
3．学会等名 Microbe 2017（国際学会）
4．発表年 2017年

日本学術振興会に紙媒体で提出する必要はありません。

〔図書〕　計1件

１．著者名 T. Kosaka, M. Murata and M. Yamada	４．発行年 2017年
２．出版社 IntechOpen	５．総ページ数 21
３．書名 Escherichia coli - Recent Advances on Physiology, Pathogenesis and Biotechnological Applications	

１１．研究成果による産業財産権の出願・取得状況

計0件（うち出願0件／うち取得0件）

１２．科研費を使用して開催した国際研究集会

計0件

１３．本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
USA	Dept. Computer Science and Engineering	University of Minnesota	－	－
－	－	－	－	－
－	－	－	－	－
－	－	－	－	－
－	－	－	－	－
－				

１４．備考

－