

様式 C-7-1

平成30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）

所属研究機関名称		奈良先端科学技術大学院大学	機関番号	14603
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

20塩基のランダム配列を分子バーコードとして導入した欠失株ライブラリーを完成した。これを利用し、長期定常状態および非致死濃度の薬剤などの化学物質を含む培地における混合培養液中の各欠失株の個体数変動をモニターする方法を確立した。一見変動がほとんど無いように思える長期定常状態培養中も、遺伝的背景の違う細胞株がダイナミックにその細胞数を増減させていると考えられている。この変動を、約3700遺伝子の全欠失株を3週間にわたり個体数変動を経時的に定量した。方法は、混合培養液から細胞を回収し、その細胞のゲノムDNAからバーコード領域のみをPCRで回収し、次世代型シーケンサーで各欠失株のバーコード頻度をカウントする。次に細胞毒性を持つ薬剤や化学物質を含む培地中での欠失株の変動解析を同様の方法で行なった。遺伝子と各種薬剤との相互作用解析の新たな手法として、細胞毒性の分子機構解明に対して非常に有効であることを実証した。一方、これまで二重欠失株による遺伝的相互作用解析を進めてきたが、必須遺伝子に関する遺伝的相互作用解析は、欠失株が存在しないので進めることができていなかったが、CRISPRiによる必須遺伝子の発現抑制株を作製し遺伝的相互作用解析を可能にした。24の必須遺伝子を選択し、CRISPRiによる必須遺伝子の発現抑制株を作製し、その株と非必須遺伝子全セットとの組合せを、接合により網羅的に組み合わせることで必須遺伝子と非必須遺伝子との遺伝的相互作用解析手法の開発とその解析を進めた。さらに代謝関連遺伝子の遺伝的相互作用解析を最小培地M9培地による相互作用解析により進めた。現在は、ゲノムレベルのモデルによるシミュレーションと実測で食い違いのある代謝関連遺伝子約150の遺伝子候補から開始し、4000遺伝子欠失株との網羅的二重欠失株の構築とその生育への影響を最小培地で解析を進めた。

7. キーワード

大腸菌 分子バーコード population dynamics 混合培養 遺伝的相互作用 CRISPRi 必須遺伝子

8. 現在までの進捗状況

区分	
理由	平成30年度が最終年度であるため、記入しない。

2 版

9. 今後の研究の推進方策

平成30年度が最終年度であるため、記入しない。

10. 研究発表（平成30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 2件 / うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Tamura, T.	4. 巻 19
2. 論文標題 Grid-based computational methods for the design of constraint-based parsimonious chemical reaction networks to simulate metabolite production: GridProd	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BMC Bioinformatics	6. 最初と最後の頁 325
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12859-018-2352-6	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 Sugimoto, R. Saito, N. Shimada, T. Tanaka, K.	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 Murata, M. Ishii, A. Fujimoto, H. Nishimura, K. Kosaka, T. Mori, H. Yamada, M.	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 Maier, L. Pruteanu, M. Kuhn, M. Zeller, G. Telzerow, A. Anderson, E. E. Brochado, A. R. Fernandez, K. C. Dose, H. Mori, H. Patil, K. R. Bork, P. Typas, A.	4. 巻 555
2. 論文標題 Extensive impact of non-antibiotic drugs on human gut bacteria	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature	6. 最初と最後の頁 623-628
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/nature25979	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 該当する

1. 著者名 Almagro, G. Viale, A. M. Montero, M. Munoz, F. J. Baroja-Fernandez, E. Mori, H. Pozueta-Romero, J.	4. 巻 8
2. 論文標題 A cAMP/CRP-controlled mechanism for the incorporation of extracellular ADP-glucose in Escherichia coli involving NupC and NupG nucleoside transporters	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 15509
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-33647-w	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 該当する

〔学会発表〕 計12件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 5件)

1. 発表者名 大田菜都子、大澤歩、高坂智之、山田守
2. 発表標題 大腸菌におけるSulA依存性溶菌に関与する遺伝子の解明、Elucidation of the genes responsible for SulA-dependent
3. 学会等名 日本農芸化学会2019年度大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森 浩禎
2. 発表標題 シンポジウム「多次元速度論からの生物の理解」
3. 学会等名 第91回日本生化学会大会 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

2 版

1. 発表者名 松野 浩嗣
2. 発表標題 大域代謝モデルのペトリネット制御シミュレーションによるジオキシー現象解析。(シンポジウム：生物医学におけるトップダウンとボトムアップアプローチの共同)
3. 学会等名 化学工学会第50回秋季大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 田村 武幸
2. 発表標題 有用物質を生産・増産する準最適な代謝流束均衡モデルのデザイン
3. 学会等名 日本生物工学大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 田村 武幸
2. 発表標題 有用化合物を生産・増産する代謝ネットワークを設計するアルゴリズム
3. 学会等名 情報処理学会バイオ情報学研究会
4. 発表年 2018年

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 川野 光興, 齊藤 峰輝
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
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 Masashi Kubota, Koumei Arima, Ayaka Sugii, Manabu Sugii, Hiroshi Matsuno
2. 発表標題 Simulation analysis of diauxic shift in Escherichia coli using a large scale metabolic network model
3. 学会等名 The 23rd International Technical Conference on Circuit/System, Computers and Communications (国際学会)
4. 発表年 2018年
1. 発表者名 Tomoyuki Kosaka
2. 発表標題 Understanding the thermotolerant mechanisms in mesophilic bacteria: essential genes for survival at critical high temperature and physiological and genetical characteristics of thermo-adapted mutants from ethanologenic bacterium
3. 学会等名 Final Joint Seminar of CCP (国際学会)
4. 発表年 2018年

2 版

1. 発表者名 Keita Kouyama, Hiroshi Matsuno, Adrien Faure
2. 発表標題 Boolean modeling of metabolic networks: application to the phosphotransferase system
3. 学会等名 The 23rd International Technical Conference on Circuit/System, Computers and Communications (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Mitsuoki Kawano
2. 発表標題 Identification and characterization of Escherichia coli small, noncoding RNAs
3. 学会等名 Seminar at University of Parma (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

1.1. 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)

1.2. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計1件

国際研究集会 annual Meeting of Systems and Synthetic Bacteriology	開催年 2018年
--	--------------

1.3. 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			
	機関名	所在地	共同研究内容	実施状況
米国	School of Engineering	University of California	-	-
デンマーク	The Novo Nordisk Foundation Center	Technical University of Denmark	-	-
ドイツ	Systems Microbiology	European Molecular Biology Laboratory	-	-
スペイン	Institute of Agrobiotechnology	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-

1 4 . 備考

GenoBase
<http://ecoli.naist.jp>