

様 式 C - 7 - 1

平成 27 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) (一般) 4. 研究期間 平成 25 年度～平成 27 年度
5. 課題番号

2	5	2	5	0	0	2	8
---	---	---	---	---	---	---	---
6. 研究課題名 長期定常期から分裂再開までの細胞の生存戦略

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
0 0 4 3 7 2 6 1	タムラ タケユキ 田村 武幸	京都大学・化学研究所	助教
1 0 1 8 1 7 4 4	マツノ ヒロシ 松野 浩嗣	山口大学・理工学研究科	教授
3 0 1 7 4 7 4 1	ヤマダ マモル 山田 守	山口大学・医学(系)研究科(研究院)	教授
6 0 4 0 1 7 3 3	マキ ヤスシ 牧 泰史	大阪医科大学・医学部	講師
9 0 3 3 2 6 7 6	カタオカ マサカズ 片岡 正和	信州大学・工学部	准教授

9. 研究実績の概要

大腸菌K-12株 BW38029株に20塩基の分子バーコードを導入した一遺伝子欠失株ライブラリーの構築を行い、その株を用いて、1)すべての欠失株を混合した培養液を用いた、長期定常期中のpopulation変動の定量的解析、2)混合培養液を用いて、薬剤を含んだ培地中の各欠失株のpopulation変動解析を行った。そして、3)宿主であるBW38029株のゲノム配列を決定し、遺伝的背景を確認した。1)の長期定常期における解析では、培地中より回収される染色体DNAの量とコロニー形成能を持つ細胞数が、培養時間とともに差が大きくなることが判明した。おそらくゲノムDNAが細胞の形態が保たれていてDNA分解酵素などから保護される状態にありながら、次の世代として再び細胞分裂を開始することができない、あるいは非常に遅れて生育を開始する集団の増大の可能性が考えられた。そこで、同じ実験の再現性も確認することを目的に、全く同じ実験を行い、サンプリングした培養液の半量からDNAの回収、残る半量を、培地をフレッシュなものに入れ換え、生育を再開させた後、一定時間後に再び培地中より染色体DNAを回収し、バーコード解析を行った。イルミナ社のHiSeqによるデータ取得を終え、現在解析中である。2)の薬剤との相互作用解析においては、昨年度は24種類の薬剤を含んだ培地中でのバーコード欠失株のpopulation変動の解析を行い、欠失による薬剤への感受性の違いを解析し、良好な結果を得ていたが、本年度はその数を124と増やすことができ、現在解析を終え、論文文化を進めている。GOを利用した解析からは、薬剤の作用機序から感受性が増すと予想される遺伝子群の欠失株のpopulation中での減少も確認され、信頼性は高いと考えられる結果を得ている。さらに定常期環境状態の酸素消費量とpHの変動を解析可能とすることができた。

10. キーワード

- | | | | |
|-------------|-----------------------|-----------|----------------|
| (1) バーコード解析 | (2) 大腸菌population変動解析 | (3) 長期定常期 | (4) ケミカルバイオロジー |
| _____ | _____ | _____ | _____ |
| (5) | (6) | (7) | (8) |
| _____ | _____ | _____ | _____ |

11. 現在までの進捗状況

(区分)

(理由)

27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)

27年度が最終年度であるため、記入しない。

13. 研究発表(平成27年度の研究成果)

(雑誌論文) 計(2)件/うち査読付論文 計(2)件/うち国際共著論文 計(1)件/うちオープンアクセス 計(2)件

著者名		論文標題				
Tamura, T. Lu, W. Akutsu, T.		Computational Methods for Modification of Metabolic Networks				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著	
Comput Struct Biotechnol J	有	13	2015	376-381	-	
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)						
10.1016/j.csbj.2015.05.004						
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)						

著者名		論文標題				
Kenji Nakahigashi Yuki Takai Michiko Kimura Nozomi Abe Toru Nakayashiki Yuh Shiwa Hirofumi Yoshikawa Barry L. Wanner Yasushi Ishihama Hirotsada Mori		Comprehensive identification of translation start sites by Tetracycline-inhibited Ribosome Profiling (TetRP)				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著	
DNA Res	有	Mar 23	2016	1-8	該当する	
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)						
10.1093/dnares/dsw008						
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)						

(学会発表) 計(9)件/うち招待講演 計(0)件/うち国際学会 計(3)件

発表者名		発表標題	
Makishi Kazuichi Mori Hirotsada Wanner L Barry		New tools for quantitating colony color on agar plates	
学会等名	発表年月日	発表場所	
ASM General Meeting 2015 (国際学会)	2015年05月30日 ~ 2015年06月02日	New Orleans, Louisiana	

(課題番号: 25250028)

(注)・印刷に当たっては、A4判(縦長)・両面印刷すること。

(3/7)

発表者名	発表標題	
Masakazu Kataoka, Tetsu Miyatake, Mai Kobe	Functional analysis of DNA channel protein, TraB, for Streptomyces conjugation	
学会等名	発表年月日	発表場所
ASM General Meeting 2015(国際学会)	2015年05月30日 ~ 2015年06月02日	New Orleans, Louisiana

発表者名	発表標題	
Yokoi, Takahiro Itaya, Mitsuhiro Mori, Hitrotada Kataoka, Msakazu	Optimization of Gene Transfer by the RK2 between Cross-species	
学会等名	発表年月日	発表場所
ASM General Meeting 2015(国際学会)	2015年05月30日 ~ 2015年06月02日	New Orleans, Louisiana

発表者名	発表標題	
Yokoi Takahiro Itaya Mitsuhiro Mori Hitrotada Kataoka Msakazu	Optimization of Gene Transfer by the RK2 between Cross-species	
学会等名	発表年月日	発表場所
ACT 2015 (The 14th Asian Conference on Transcription)	2015年12月03日 ~ 2015年12月04日	National University of Singapore, Singapore

発表者名	発表標題	
増田 知美 長光 博史 村田 正之 山田 守	長期定常期における大腸菌の増殖の可視化	
学会等名	発表年月日	発表場所
日本農芸化学会中四国支部第44回講演会(例会)	2016年01月23日	岡山県総社市、岡山県立大学

発表者名	発表標題	
加藤 薫平 石井 あやな 村田 正之 高坂 智之 山田 守	大腸菌が耐熱性向上のために獲得した変異の解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
日本農芸化学会中四国支部第44回講演会(例会)	2016年01月23日	東京工業大学, 東京

発表者名	発表標題	
横井 崇紘 板谷光泰 森 浩禎 片岡 正和	接合伝達を用いた枯草菌への遺伝子導入法の最適化	
学会等名	発表年月日	発表場所
ゲノム微生物学会年会	2016年03月04日 ~ 2016年03月05日	東京工業大学, 東京

発表者名	発表標題	
矢野 嵩紘 宮武 徹 片岡 正和	放線菌プラスミド; pSN22 の接合伝達における必須タンパク質 TraB の膜局在及び ATPase 活性に関する解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
ゲノム微生物学会年会	2016年03月04日 ~ 2016年03月05日	東京工業大学, 東京

発表者名	発表標題	
小林 美貴 淡路 健雄 片岡 正和	リアルタイム細胞内pHセンサーによる大腸菌長期定常期の解明	
学会等名	発表年月日	発表場所
日本農芸化学会年会	2016年03月27日 ~ 2016年03月30日	北海道札幌市

(図書) 計(1)件

著者名	出版社		
Hirotsada 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	
Gene Essentiality: Methods and Protocols	2 0 1 6	245	

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. 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(0)件

国際研究集会名	開催年月日	開催場所

16.本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

(1)国際共同研究: 国際共同研究である

共同研究相手国	相手方研究機関			
USA	Harvard Medical School	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-
-	/	/	/	/

17.備考

GenoBase
ecoli.naist.jp/GB