

様 式 F - 7 - 1

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）実施状況報告書（研究実施状況報告書）（平成27年度）

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(C)（一般） 4. 補助事業期間 平成27年度～平成29年度

5. 課題番号

1	5	K	0	7	3	5	9
---	---	---	---	---	---	---	---

6. 研究課題名 枯草菌における細胞の繊維状化システムの解明

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
3 0 3 5 9 8 7 2	イシカワ シユウ 石川 周	バイオサイエンス研究科	助教

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

窒素源依存的な繊維状化システムを探るため、枯草菌をグルタミン酸を含む、あるいは、含まない最少培地において培養し、転写プロファイルをトランスクリプトーム解析により比較することにした。しかし、通常のフラスコ培養ではグルコースを単一炭素源とした場合、培地の酸性化が問題となった。そこで、ジャーファーマンターで培養液のpHを中性にコントロールした条件で培養を行った。転写プロファイルを比較した結果、グルタミン酸を含む培養では細胞分化に関わる遺伝子群（AbrBレギュロン、Spo0Aレギュロン、SigHレギュロン等）、および、おおくの細胞壁溶解酵素の転写に違いが見られた。

そこで、lytF/lytE/cwlSの3重欠損株に、細胞分化を抑制する変異、あるいは、上記3つの細胞壁溶解酵素とオーバーラップする活性を持つ可能性が指摘されている細胞壁溶解酵素の遺伝子破壊をさらに導入した。両方の変異株において、最少培地での培養で増殖阻害が観察された。増殖阻害を抑制する変異株をそれぞれ取得したところ、前者では最少培地においても繊維状化がみられたが、一方、後者では繊維状化しないが増殖が回復するという違いが見られた。抑制変異を次世代シーケンサーで同定したところ、増殖に必要な細胞壁溶解酵素Cwl0とLytE（同時に破壊した場合のみ致死）を制御する二成分制御系WalRKのセンサーであるWalK、あるいは、WalRKの活性を制御すると考えられているWallに、それぞれ変異が見られた。このことから、最少培地においても繊維状化するためには、WalRKの活性のコントロールが鍵である可能性が考えられた。

10. キーワード

(1) 細胞壁溶解酵素	(2) 細胞の繊維状化	(3) 細胞分化	(4) 枯草菌
(5)	(6)	(7)	(8)

11. 現在までの進捗状況

(区分) (2) おおむね順調に進展している。

(理由)

今年度の計画のうち「トランスクリプトーム解析：窒素源依存的な転写制御を行う転写因子の抽出」と、「窒素源依存的な繊維状化の鍵となる転写因子の特定」に関しては、WaiRKの活性制御が最少培地における（窒素源依存的な）繊維状化の鍵であることを突き止めたので目的を達成している。一方、「GeF-seq解析：窒素源依存的な繊維状化の鍵となる転写因子の全ゲノム上の結合部位を決定」に関しては、WaiRKシステムの転写因子であるWaiRのGeF-seqを進めているが、結合部位の決定には至っていない。しかし、最少培地でも繊維状化することができる抑制変異株を取得できたので、「おおむね順調」と判断した。

12. 今後の研究の推進方策 等

(今後の推進方策)

WaiRKシステムの転写因子であるWaiRのGeF-seqを行い、直接制御している遺伝子群を特定する。その上で、全ての遺伝子欠損、もしくは、過剰発現変異をlytF/lytE/cwISの3重欠損株に導入し、繊維状化するかを検証し、繊維状化に直接関わる遺伝子を特定する。この情報をもとに、細胞の繊維状化を自在にコントロールできる細胞の構築する予定である。

(次年度使用額が生じた理由と使用計画)

(理由)

今年度は、次世代シーケンサを使用し高い実施費用が予測されたGeF-seqを実施しておらず、また、当初予定していた研究成果発表を行っていない。そのために、次年度使用額が生じた。

(使用計画)

当初の目的に加え、さらにGeF-seqと成果発表を行うことにより、使用する。

(課題番号： 15K07359)

(注) ・印刷に当たっては、A4判(縦長)・両面印刷すること。

13. 研究発表(平成27年度の研究成果)

(雑誌論文) 計(0)件/うち査読付論文 計(0)件/うち国際共著 計(0)件/うちオープンアクセス 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	国際共著	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)						
オープンアクセス						

(学会発表) 計(0)件/うち招待講演 計(0)件/うち国際学会 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

(課題番号: 15K07359)

(注)・印刷に当たっては、A4判(縦長)・両面印刷すること。

(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: -

17. 備考

--