

平成19年度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 若手研究 (B) 4. 研究期間 平成18年度～平成19年度
5. 課題番号 1 8 7 1 0 1 7 4
6. 研究課題名 大腸菌の網羅的単一遺伝子発現調節株を用いた有効物質の超並列スクリーニング法の確立

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
0 0 3 7 9 5 7 0	クリタ, ナツコ 栗田, 奈津子	バイオサイエンス研究科	研究員

8. 研究分担者(所属研究機関名については、研究代表者の所属研究機関と異なる場合のみ記入すること。)

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名
	フリガナ		
	フリガナ		
	フリガナ		
	フリガナ		
	フリガナ		

9. 研究実績の概要(国立情報学研究所でデータベース化するため、600字～800字で記入。図、グラフ等は記載しないこと。)

下欄には、当該年度に実施した研究の成果について、その具体的内容、意義、重要性等を、交付申請書に記載した「研究の目的」、「研究実施計画」に照らし、600字～800字で、できるだけ分かりやすく記述すること。また、国立情報学研究所でデータベース化するため、図、グラフ等は記載しないこと。

必須遺伝子の発現調節株の作製については、シングルコピープラスミドベクターへのクローニングをほぼ終了し、約300のプラスミドクローンを作製した。このクローンによる遺伝子産物の供給下で、染色体上の遺伝子を欠失して約130遺伝子分の発現調節株を作製した。残りの遺伝子は、約50は現在欠失構造の確認中であり、約75はプラスミドクローンの存在下でも染色体から遺伝子を欠失することができなかった。これらの遺伝子は、オペロン単位での操作等、本研究の方法とはべつの欠失手法が必要と考えられる。非必須遺伝子の発現調節株については、すでに作製されている単一遺伝子欠失株コレクション(Keio collection)に、欠失されている遺伝子のプラスミドクローンを導入して作製することを計画した。約100遺伝子のクローン化を前述のベクターで行ったが、最終的には約4,000遺伝子を標的とするため、接合によってプラスミドを導入するなどの効率のよいベクターが必要と考え、接合による移動能を備えたベクターを現在作製している。マイクロアレイによる発現調節株の並列的な検出系の開発は、前述の必須遺伝子の発現調節株セットを用いて行った。マイクロアレイスライドは当研究室ですでに準備されていた全ORFのN末端数十塩基分の合成オリゴをスポットしたものを使用した。昨年度に実施したプラスミドクローンDNAを個別に抽出してから混合し、マイクロアレイで検出する場合には、各プラスミドクローンの濃度をよく反映していたが、株を混合して生育させ、ここからプラスミドを抽出した場合には、個別の生育度から推定されるのとは異なったパターンの株濃度の検出が見られた。個別に生育させた場合と、混合培養での競争的生育の場合とでは、生育度合いが異なるのかもしれないが、検出系のアーティファクトとの区別ができないため、現在薬剤等の感受性が既知の株セットを作製して検出系の精度を検証することを試みている。

※ 成果の公表を見合わせる必要がある場合は、その理由及び差し控え期間等を記入した調書(A4判縦長横書1枚)を添付すること。

10. キーワード

- | | | |
|-------------|-------------|---------|
| (1) 大腸菌 | (2) 必須遺伝子 | (3) 並列 |
| (4) スクリーニング | (5) マイクロアレイ | (6) |
| (7) | (8) | (裏面に続く) |

11.研究発表（平成19年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 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
			■ ■ ■	

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
			■ ■ ■	

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
			■ ■ ■	

〔学会発表〕 計（ 1 ）件

発 表 者 名	発 表 標 題		
栗田 奈津子	大腸菌の必須遺伝子解析		
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所	
第17回システムバイオロジー研究会	2007年11月28日	奈良	

〔図 書〕 計（ 0 ）件

著 者 名	出 版 社		
書 名			総ページ数
			■ ■ ■

12. 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

13. 備考

※ 研究者又は所属研究機関が作成した研究内容又は研究成果に関するwebページがある場合は、URLを記載すること。

--