

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 3 日現在

機関番号：17102

研究種目：新学術領域研究(研究領域提案型)

研究期間：2009～2013

課題番号：21113005

研究課題名(和文)核内ネットワークを制御する天然変性タンパク質の機能発現

研究課題名(英文)Regulatory functions of IDPs in the nuclear network of the genetic information systems

研究代表者

石野 良純 (ISHINO, YOSHIKUMI)

九州大学・(連合)農学研究科(研究院)・教授

研究者番号：30346837

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 162,400,000円、(間接経費) 48,720,000円

研究成果の概要(和文)：石野計画班はDNA複製、修復、転写を制御する因子とクロマチンとの関係に焦点を当て、そこに関わる天然変性タンパク質について、構造と機能を詳細に調べてその役割を解明するという共通の目的をもって研究を展開した。実際に解析したタンパク質は、DNA複製と協調した修復機構に関わるhuman Hefとarchaea Hef、出芽酵母の転写制御因子Ume6、テロメア結合因子TRF1、ウイルスクロマチン制御因子Nucleophsomin/B23、ヒストンシャペロンNAP1である。これらのタンパク質に存在する天然変性領域が、相互作用因子との結合制御にとって、極めて重要な役割を果たしていることを示した。

研究成果の概要(英文)：Our research has been focusing on the relationships between the chromatin structure and the protein factors involved in DNA replication, repair, and transcription. Many proteins in these pathways contains intrinsically disordered regions (IDR), which should have important functions to process the DNA metabolisms precisely. In this research project, we have characterized Hef, which is involved in the stalled replication fork repair, Ume6, which is a transcription regulation factor, TRF1, which is a telomere binding factor, Nucleophsomin/B23, which is the viral chromatin regulator, and NAP1, which is the histone chaperone. All these proteins contain IDR. We analyzed each IDR for their binding to the various partner molecules and the general conclusion is that IDR have important functions for regulation of the interaction with their partner factors by occasional and sequential folding coupled with binding.

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：生物分子科学

キーワード：天然変性蛋白質 核内現象 遺伝情報制御 DNA複製 転写 クロマチン ヒストン

1. 研究開始当初の背景

近年の構造ゲノムプロジェクト進展により、生命現象を司る個々のタンパク質の高次構造が次々と明らかにされ、生命現象の分子論的理解が進んだ。しかし、細胞内においては個々のタンパク質がばらばらに働くのではなく、互いに相互作用することによって実際の生命活動が営まれている。したがって、タンパク質の多元的な相互作用に基づく分子認識と機能発現が生命現象を明らかにする上できわめて重要となる。こうした中、単独では変性状態にあって特定の高次構造を形成していないタンパク質(天然変性タンパク質: Intrinsically Disordered Protein)が次々と明らかにされてき、分子生物学の新しい学術領域を切り開く必要があった。

2. 研究の目的

ゲノムがもつ遺伝情報を子孫に伝達するためのDNA複製過程では、多くの関連因子がレプリソームと呼ばれる超分子複合体を形成し、精密に制御されながら複製フォークを進行させる。また、遺伝情報から機能を有するタンパク質を正確な時間・場所において発現させるための転写、翻訳過程も、制御因子による機能的な複合体形成と再編により進行する。真核生物ではクロマチンが、これらの核内諸反応とネットワークの基盤構造体としての役割を果たしている。遺伝情報の維持と伝達やクロマチン構造に関連するタンパク質因子には天然変性領域が広く見られ、これらの領域が核内ネットワークのハブ形成の中心的役割を果たしていると考えられる。本研究班は遺伝情報伝達の制御に関わる核内タンパク質における天然変性領域の機能を生化学・分子生物学的に解析する役割を担った。計画代表者の石野は、DNA複製と協調した修復機構に関わるヒト由来の天然変性タンパク質として hHef/FancM(ファンコニ貧血症の原因遺伝子産物)を中心に、複製フォーク停止の修復過程で、他の因子がどのようにして結合して複合体形成が進むのか、そして複合体の形成、再編と機能との関係を生化学的に解析した。クロマチン構造と転写、複製進行との関係により力点を置いた課題として、分担者の清水が、出芽酵母の細胞型特異的遺伝子の発現制御に関わる転写因子やハブ性クロマチン関連因子について、また、奥脇が、アデノウイルスをモデルとしてクロマチン構造変換による複製促進因子の作用機構について詳細な解析を進めた。以上のように、核内の天然変性タンパク質が関与する重要なプロセスについて、三者の研究グループがその実験手法、結果の考察と次の方針など連携をとりながら研究を進めた。共通の大きな目的は天然変性タンパク質が関与する多くの核内現象のプロセス解明のための研究手法を確立することであり、これまでに三者がそれぞれに確立した独自の実験系を共有しながら、本研究を進めた。

3. 研究の方法

本研究では、Hefの発見者である代表者が、ヒトHefタンパク質の天然変性領域について、他の関連因子との相互作用機構解明を目標として研究を進めた。高純度に精製したhHefをまず原子間力顕微鏡観察に供し、天然変性領域の構造形態を調べた(佐藤班と共同)。またNMR解析によって実際に天然変性であることを調べた(太田班と共同)。同時に、hHefタンパク質から、単一機能ドメインの分離と各機能ドメインの相互作用パートナーの同定を行った。それぞれの複合体の生化学的活性測定と同時に、結晶化、MD-SACS解析(佐藤班と共同)を進めた。転写因子に関しては、出芽酵母のa細胞特異的遺伝子、減数分裂初期遺伝子群の転写を制御しているクロマチン関連転写因子(2/Mcm1, Tup1-Ssn6, Rme1, Ume6)の天然変性構造と予想される領域に変異を導入した株を作成し、in vivoで遺伝子発現とクロマチン構造変換に及ぼす影響を解析し、標的タンパク質の天然変性領域の機能を明らかにした。さらに、標的タンパク質にタグを導入し、クロマチンを基盤とするタンパク質間相互作用ネットワークにおける天然変性領域の機能解析を行った。また、アデノウイルスクロマチンの構造を変換し、ゲノムDNA複製を促進する因子Template Activating Factor III(TAF-III)の主要構成因子である核小体タンパク質B23は他のヒストンシャペロンとは異なりRNAと協調的に機能することがわかったので、このRNA成分の同定を行うと共に、精製ウイルスクロマチンをアデノウイルス感染細胞より調製し、TAF-IIIがどのようにウイルスクロマチンの構造を変換し複製を促進するのかを検討した。

4. 研究成果

石野計画班はDNA複製、修復、転写を制御する因子とクロマチンとの関係に焦点を当て、そこに関わる天然変性タンパク質について、構造と機能を詳細に調べてその役割を解明するという共通の目的をもって研究を展開した。以下具体的に記載する。

1 DNA複製と協調した修復機構に関わる天然変性タンパク質の機能

human Hefとarchaea Hefの天然変性領域と相互作用するタンパク質因子を同定し、それがどこにどのように結合するのかを生化学的に解析する、その結果に基づいてhHefから単一機能ドメインの同定と各種複合体の単離を試みる、それぞれの複合体がDNAに対してどのような作用をするのかを試験管内の種々のアッセイ法によって解析する、各機能ドメインを含む複合体は構造解析に供する、という計画を立てて臨んだ。ヒトcDNAとアーキアのDNAライブラリーを用意し、酵母two-hybrid法でそれぞれの天然変性領

域をベイトにして網羅的なスクリーニングを行なった結果、両者ともに新規な結合タンパク質が検出された。これらの候補タンパク質について、本研究期間の間に順次詳細に解析を進めた。また、複製因子 GINS に存在する天然変性領域の機能や(*BMC Biol* 誌に発表)イネの組換え中間体切断酵素候補タンパク質の同定とその中の大きな天然変性領域の発見(*J. Biochem* 誌に発表)などの成果もあがった。従って、計画どおりにプロジェクトを進めることができたと言える。

2 クロマチンネットワークにおける天然変性領域の機能

出芽酵母の転写制御因子 Ume6 に関して、クロマチン関連因子 Rpd3, Isw2 との相互作用を介した転写活性化と抑制に關与する天然変性領域として4つの領域を同定し、目標の1つを達成できた。Ume6 の天然変性領域と相互作用するパートナー因子に関して、さらに詳細な構造生物学的解析が必要な状況である。一方では、クロマチンの基本単位であるヌクレオソームの形成とダイナミクスの解析を行った。天然変性タンパク質・ヒストン8量体はテロメアリピート配列から排除される性質を有することを *in vivo* で明らかにした。さらに、ヒトテロメアでのヌクレオソーム形成には、テロメア結合因子 TRF1 の天然変性領域が重要であるという結果を得た。また、湾曲した DNA 構造がヒストン8量体に高い親和性を有し、ヌクレオソームをスライドさせて転写を活性化することや5-bromodeoxyuridine がヌクレオソームポジショニングに影響を与えることを示し、ヌクレオソームポジショニングとダイナミクスを規定する因子については概ね目的を達成した。

3 クロマチン制御因子の構造と機能

ウイルスクロマチン制御因子として同定した Nucleophsomin/B23 の RNA との相互作用の機能的意義と、RNA 結合における天然変性領域の役割の解明を目指した。期間内に B23 の RNA 結合は B23 のクロマチン制御機能に重要であることを明らかにした。また、B23 の天然変性領域の分子間および分子内相互作用が、その RNA 結合活性の制御に重要であることを明らかにした。B23 機能に関してはおおむね目的を達成できた。また、構造生物学グループの西村先生とともに、ヒストンシャペロン NAP1 のヒストン結合の特異性を明らかにすべく研究を進めた。NAP1 の酸性アミノ酸が連なった天然変性領域が、ヒストン H2A-H2B に特異的に結合することを生化学、構造生物学的に明らかにした。NAP1 の酸性領域と H2A-H2B の相互作用の機能的重要性に関しては、さらに解析が必要な状況である。

本研究は新学術領域のグループ研究であ

り、領域内の共同研究により多くの成果が得られた。石野班 (A02) は、分子生物学的手法で機能解析を中心に活動を行なったが、構造解析班 (A01) 情報解析班 (A03) と極めて密接な協力体制をとり、全研究期間を通じて活発な共同研究を行なった。計画代表者の石野はヒトおよびアーキアの FANCM/Hef タンパク質の天然変性領域の研究において、また、分担者の清水はヒトおよび酵母のヌクレオソーム動態、転写因子について、さらに、分担者の奥脇はヒトの複数のヒストンシャペロンタンパク質について、以下の連携をとって共同研究を進めた。

- ・ A03 太田計画班 (太田、福地) と配列解析
- ・ A01 佐藤計画班 (佐藤、小田) 並口公募班と MD-SAXC 及び結晶構造解析
- ・ A01 佐藤計画班 (安藤、古寺) と高速 AFM 解析
- ・ A03 太田計画班 (廣明) と NMR 解析
- ・ A01 明石計画班 (明石、西村) と質量分析、NMR 解析

< 共同研究の成果 > 配列からコンピュータ予想をした FANCM/Hef タンパク質の天然変性領域が、本当に天然変性状態であることを高速 AFM 解析と NMR で実験的に示すことに成功し、また、MD-SAXC 法で構造変化を追跡することが出来た。これらから、このタンパク質が天然変性タンパク質研究のよいモデルとなりうることが示された。この機能解析については石野計画班で精力的に進め、天然変性領域に結合するタンパク質を網羅的にスクリーニングした結果、多くの結合タンパク質を発見した。天然変性領域が異なるフォールディングに変換することによって、複数のタンパク質と相互作用する分子機構を解明するための基盤を築くことができた。これらの成果は、蛋白質科学会、分子生物学会などで発表済みであり、一部 *J. Biol. Chem* 誌に投稿して改訂中である。

テロメアにおけるヌクレオソームの動態に関する連携研究を行い、ヒトおよび出芽酵母のテロメアリピート配列が *in vivo* でヌクレオソームを排除する性質を有することを明らかにして *Nucleic Acids Res* 誌に発表した。さらに、テロメア結合因子 TRF1 はテロメアリピート上でヌクレオソーム形成を誘起するという成果が得られ、TRF1 の天然変性領域がテロメアクロマチンのダイナミズムに機能するモデルを提唱する (投稿準備中)。さらに、クロマチン関連因子との相互作用を介した Ume6 による転写活性化と転写抑制に必須の領域として、Ume6 分子内に4つの天然変性領域を同定した (投稿準備中)。

3 種類のヒストンシャペロン NPM1、NPM2、NPM3 のそれぞれが、ホモあるいはヘテロ多量体を形成すること、多量体形成が機能制御に

重要であることを明らかにして、Nucleic Acid Res 誌に発表した。また、ヒストンシャペロン NAP1 とヒストン H2A-H2B 複合体構造解析の結果、NAP1 の酸性アミノ酸領域が H2A-H2B に特異的に結合するのに重要であることを明らかにした（投稿準備中）。

本研究は、細胞核内の遺伝情報の維持と伝達に関する詳細な理解を目指して行なわれたものである。その中で天然変性領域を有する重要な分子が多く存在することが分かってきて、その存在意義を正しく理解しないかぎり、生命現象の理解は不可能であることが証明された。本研究は、新たな分子生物学領域としてフロンティア的役割を果たしたものである。

FANCM/Hef タンパク質は DNA 複製フォークの進行停止を修復する分子機構の中でキーになる分子として、世界の DNA 修復研究の中でも注目を集めている。この分子について、天然変性タンパク質としてのアプローチをしているのは我々のグループのみであり、本領域研究によって、天然変性領域と相互作用する多くのタンパク質因子が同定された事から、この修復経路を理解するための新たな糸口を切り開いた。ファンコニ貧血のようなゲノム不安定性に起因する遺伝性疾患の理解と治療の道を開くことに繋がる。

クロマチン関連因子 Rpd3, Isw2 を介した転写制御における Ume6 の天然変性領域を同定し、ヒトテロメア領域におけるヌクレオソーム形成と排除における天然変性領域が重要な役割を有することを示した。これらの知見は、細胞核内のクロマチンネットワークの分子基盤を考えるうえで、重要な情報を提供している。また、テロメアはがん化、細胞老化に関与することが示唆されており、テロメアを標的とする創薬研究に有用な知見を提供するものと考えられる。

核小体タンパク質 B23 が多量体を形成して機能すること、天然変性領域を有すること、この領域が B23 の RNA 結合活性に重要であることを明らかにした。B23 は大腸がん、乳がん、前立腺がんなどの多くの固形がんにおいて発現が上昇していることが知られており、細胞増殖あるいはがんの悪性度の診断マーカーとしても有用な可能性が指摘されている。本研究から得られた成果より、B23 の多量体形成の阻害剤、あるいは天然変性領域を標的としたペプチド医薬の開発など、医学研究に有用な情報を提供することができた。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕(計 11 件)

Hisaoka M, Nagata K, *Okuwaki M. (2014) Intrinsically disordered regions of nucleophosmin/B23 regulate its RNA binding activity through their inter- and intra-molecular association. Nucl. Acids Res. 査読有 42 (2), 1180-1195

Ichikawa Y, Morohashi N, Nishimura Y Kurumizaka H, and *Shimizu M. (2014) Telomeric Repeats Act as Nucleosome-disfavouring Sequences *In Vivo*, *Nucleic Acids Research*, 査読有, 42, 2014, 1541-1552

Yang Y, Ishino S, Yamagami T, Kumamaru T, Satoh H, and *Ishino Y. (2012) The OsGEN-L protein from *Oryza sativa* possesses Holliday junction resolvase activity as well as 5'-flap endonuclease activity. *J. Biochem.* 査読有 151, 317-327.

*Okuwaki M., Sumi A, Hisaoka M, Saotome-Nakamura A, Akashi S., Nishimura Y., Nagata K. (2012) Function of homo- and hetero-oligomers of human nucleoplamin/nucleophosmin family proteins NPM1, NPM2 and NPM3 during sperm chromatin remodeling. Nucl. Acids Res. 査読有 40(11), 4861-78

Oyama, T, Ishino, S, Fujino, S, Ogino, H, Shirai, T, Mayanagi, K, Saito, M, Nagasawa, N, Ishino, Y and Y, Morikawa, K. (2011) Architectures of archaeal GINS complexes, essential DNA replication initiation factors. *BMC Biol.* 査読有 9:28.

Mayanagi K, Kiyonari S, Nishida H, Saito M, Kohda D, Ishino Y. Shirai T, and Morikawa K. (2011) Architecture of the DNA polymerase B-proliferating cell nuclear antigen (PCNA)-DNA ternary complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 査読有 108, 1845-1849.

Fujikane R, Ishino S, *Ishino Y. and Forterre P. (2010) Genetic analysis of DNA repair in the hyperthermophilic archaeon, *Thermococcus kodakaraensis*. *Genes Genet. Syst.* 査読有 85, 243-257.(GGS Prize 2011 受賞論文)

Miki K, Shimizu M. Fujii M, Takayama S, Nazir Hossain M, and Ayusawa D. (2010) 5-Bromodeoxyuridine Induces Transcription of Repressed Genes with Disruption of

Nucleosome Positioning, *FEBS Journal*, 査読有, 277, 4539-4548

Tanase J, Morohashi N, Fujita M, Nishikawa J, Shimizu M, and Ohyama T. (2010) Highly Efficient Chromatin Transcription Induced by Superhelically Curved DNA Segments: The Underlying Mechanism Revealed by a Yeast System, *Biochemistry*, 査読有, 49, 2351-2358

Hisaoka M, Ueshima S, Murano K, Nagata K, *Okuwaki M. (2010) Regulation of nucleolar chromatin by B23/nucleophosmin jointly depends upon its RNA binding activity and transcription factor UBF. *Mol. Cell Biol.* 査読有 30(20), 4952-64

*Okuwaki M, Kato K, and Nagata K. (2010) Functional characterization of human Nucleosome Assembly Protein 1-like proteins in human cells. *Genes Cells* 査読有 15(1), 13-27

〔学会発表〕(計 21 件 他多数)

石野良純 DNA 複製因子に存在する天然変性領域の機能 「天然変性蛋白質の分子認識機構と機能発現」第 3 回公開シンポジウム 2014. 2.27-28. 九州大学医学部百年講堂, 福岡

清水 光弘 転写調節とクロマチン構造制御に関する天然変性タンパク質 「天然変性蛋白質の分子認識機構と機能発現」第 3 回公開シンポジウム 2014. 2.27-28. 九州大学医学部百年講堂, 福岡

Yoshizumi Ishino. Structural and functional analyses of the archaeal Hef protein involved in stalled replication fork repair. *Thermophiles 2013* Sept. 8-13 Regensburg, Germany (招待講演)

Hiromi Ogino, Sonoko Ishino, Kouta Mayanagi, Takuji Oyama, Tsuyoshi Shirai, Kosuke Morikawa, Gyri Teien Haugland, Nils-Kåre Birkeland, and Yoshizumi Ishino Activation mechanism of the replicative helicase in the thermophilic archaeon, *Thermoplasma acidophilum*. *Thermophiles 2013* Sept. 8-13 Regensburg, Germany

Yoshizumi Ishino. Gordon Research Conference on Archaea: Ecology, Metabolism & Molecular Biology 2013 Jul.28-Aug.2, Barga, Italy (招待講演)

山上 健、石野園子、石野良純 ファンコニ貧血原因タンパク質の FANCM に存在する長鎖天然変性領域の機能解析 ~ MDC1-BRCT ドメインの調製法の検討 ~ 第 36 回日本分子生物学会年会 2013. 12. 3-6. 神戸ポートアイランド、神戸

Yoshizumi Ishino. The long ID region in Hef (FANCM) is important for interaction with several DNA repair-related proteins. The 2nd International Symposium on Intrinsically Disordered Proteins 新学術領域研究「天然変性タンパク質の分子認識機構と機能発現」第 2 回国際シンポジウム 2013.1.23-24. RIKEN Yokohama Institute, Yokohama (招待講演)

Takeshi Yamagami, Keigo Yamanaka, Sonoko Ishino, Yoshizumi Ishino. Exhaustive search for the proteins interacting with intrinsically disordered region in human FANCM. 第 35 回日本分子生物学会年会 2012. 12. 11-14. 福岡国際会議場、福岡

Hiromi Ogino, Sonoko Ishino, Kouta Mayanagi, Takuji Oyama, Tsuyoshi Shirai, Kosuke Morikawa, Gyri Teien Haugland, Nils-Kåre Birkeland, and Yoshizumi Ishino. The synergistic stimulation of the MCM activity by Cdc6/Orc1 and GINS homotetramer from the archaeon, *Thermoplasma acidophilum*. 第 35 回日本分子生物学会年会 2012. 12. 11-14. 福岡国際会議場、福岡

山中啓吾、山上健、石野園子、石野良純 DNA 複製修復タンパク質 FANCM の天然変性領域と相互作用する複製関連タンパク質の発見 平成 24 年度日本農芸化学会西日本支部および日本栄養・食糧学会九州・沖縄支部合同大会 2012. 9.28-29. 鹿児島大学 鹿児島

石野良純 DNA 複製フォーク進行停止の修復関連タンパク質に存在する天然変性領域について 日本農芸化学会 2012 年度大会 シンポジウム 4SY23 「天然変性領域を介した相互作用に基づくタンパク質応用化学の新展開」(オーガナイザー 石野良純、木岡紀幸) 2012.3.22-25 京都女子大学, 京都

Hiromi Ogino, Sonoko Ishino, Kouta Mayanagi, Takuji Oyama, Tsuyoshi Shirai, Kosuke Morikawa, Gyri Teien Haugland, Nils-Kåre Birkeland, and Yoshizumi Ishino. Divergently evolved replicative helicase from the archaeon, *Thermoplasma acidophilum* The 8th 3R symposium, 25-28, Nov, 2012, Awaji Yumebutai International Conference Center, Japan

奥脇 暢 分子間・分子内相互作用による核小体ヒストンシャペロン NPM1 の RNA 結合活性の制御 「天然変性蛋白質の分子認識機構と機能発現」第 2 回公開シンポジウム 2012. 1.24-25. 千里ライフサイエンスセンター, 大阪

清水光弘 クロマチン関連転写因子 Ume6 における天然変性領域の機能解析 「天然変性

蛋白質の分子認識機構と機能発現」第2回公開シンポジウム 2012. 1.24-25. 千里ライフサイエンスセンター, 大阪

山中啓吾、山上健、石野園子、石野良純 ヒト FancM タンパク質の天然変性領域と相互作用するタンパク質の探索 「天然変性蛋白質の分子認識機構と機能発現」第2回公開シンポジウム 2012. 1.24-25. 千里ライフサイエンスセンター, 大阪

石野良純 第34回日本分子生物学会年会ワークショップオーガナイザー WS5p1 Functions of the Intrinsically disordered regions found in various proteins 2011.12.13-16. パシフィコ横浜、横浜

亀丸美里、山上健、石野園子、石野良純 *Thermococcus kodakarensis* の DNA ポリメラーゼ D に含まれる天然変性領域に注目した構造・機能解析 第12回極限環境生物学会年会 2011.11.27-28 長崎大学良順会館 長崎

北村真、山上健、石野園子、石野良純 超好熱性アーキア *Thermococcus kodakarensis* 由来 DNA 修復因子 Hef の天然変性領域と相互作用するタンパク質の探索 第12回極限環境生物学会年会 2011.11.27-28 長崎大学良順会館 長崎

Yoshizumi Ishino Structural and functional analyses of a DNA repair protein Hef containing a ID region between the helicase and endonuclease domains. The 1st International Symposium on Intrinsically disordered proteins. 2011. 1.27-28. Hamagin Hall "VIA MARE", Yokohama (招待講演)

石野良純 アーキアにおける DNA 複製フォーク進行複合体の構造と機能 第84回日本生化学会大会シンポジウム 3S4a 「アーキア研究の最前線」(オーガナイザー 石野良純、跡見晴幸) 2011. 9. 23 京都国際会議場、京都

Yoshizumi Ishino DNA replication in Thermococcales -from initiation to elongation- Gordon Research Conference on Archaea: Ecology, Metabolism & Molecular Biology Jul. 31-Aug. 5, 2011 Waterville Valley, NH, USA (招待講演)

〔図書〕(計 3 件)

Ishino, Y., Ishino, S. (2013) DNA Replication in Archaea, the Third Domain of Life. In *The Mechanisms of DNA Replication* D. Stuart (Ed), pp. 91-126, InTech d.o.o., Rijeka, Croatia

Ishino, S. and Ishino, Y. (2013) DNA polymerases and DNA ligases. In *Thermophilic*

microbes in environmental and industrial biotechnology Litterchild J., Satyanarayana, T., Kawarabayasi, Y. (Eds) pp. 429-457, Springer Science+Business Media.

Ishino, S and Ishino, Y. (2012) Application of environmental DNA resources to create useful DNA polymerases with different properties. In *Microorganisms in Sustainable Agriculture and Biotechnology*. Satyanarayana, T. et al (Eds.), pp. 663-678, Springer Science+Business Media.

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等
<http://www.agr.kyushu-u.ac.jp/lab/pce-web/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石野 良純 (ISHINO Yoshizumi)
九州大学・大学院農学研究院・教授
研究者番号：30346837

(2) 研究分担者

清水 光弘 (SHIMIZU Mitsuhiro)
明星大学・理工学部・教授
研究者番号：80231364

奥脇 暢 (OKUWAKI Mitsuru)

筑波大学・人間総合科学研究科・准教授
研究者番号：50322699

(3) 連携研究者

なし