

平成 22 年 4 月 1 日現在

研究種目：特定領域研究
 研究期間：2005 年度～2009 年度
 課題番号：17019058
 研究課題名（和文） 腸管出血性大腸菌を中心とした腸管感染菌の病原性ゲノム基盤の解明と臨床応用
 研究課題名（英文） Basic and applied genomics of enterohemorrhagic *Escherichia coli* and related enteropathogens

研究代表者
 林 哲也 (HAYASHI TETSUYA)
 宮崎大学・フロンティア科学実験総合センター・センター長
 研究者番号：10173014

研究成果の概要（和文）：腸管出血性大腸菌（EHEC）と関連する腸管病原菌のゲノム解析及びゲノム情報に基づいた発現・機能の解析を行った。その結果、O157 EHEC 迅速菌株識別システムの開発と 3 種の non-O157 EHEC のゲノム解読に成功したほか、これらの腸管病原菌が有する III 型分泌系を中心とした病原性発現システムの機能および多様化・進化のメカニズムに関する理解が大きく進んだ。さらに、腸内フローラの比較メタゲノム解析によって、成人と乳児の腸内フローラの違いを解明するとともに、難培養菌を含む腸内フローラ構成菌種（3 菌種・4 株）のゲノム解読に成功した。

研究成果の概要（英文）：By performing a series of genome sequencing and functional analyses of enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) and related enteropathogens, we succeeded in developing a rapid O157 EHEC strain typing system, obtaining the complete genome sequences of three major non-O157 EHECs, and improving our understanding of functions and evolution mechanisms of type III secretion mechanisms and other virulence systems of these pathogens. In addition, we succeeded in clarifying the genetic and functional differences of adult and infant gut microbiota by comparative metagenomic analysis and obtaining the complete genome sequences of 3 bacterial species (4 strains, including an unculturable bacterium) residing in intestine.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2005 年度	28,200,000	0	28,200,000
2006 年度	31,100,000	0	31,100,000
2007 年度	30,800,000	0	30,800,000
2008 年度	30,800,000	0	30,800,000
2009 年度	30,900,000	0	30,900,000
総計	151,800,000	0	151,800,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：

キーワード：病原性大腸菌、腸内常在菌、多様性、病原性

1. 研究開始当初の背景

種々の細菌感染症の中でも、腸管出血性大腸菌（EHEC）感染症は、我が国を含む

先進諸国で最も問題となっている腸管感染症である。EHEC は O157 EHEC と non-O157 EHEC に大別されるが、前者の方が分離頻度

も高く、ゲノム配列が決定されたこともあって、EHEC 研究は O157 を中心に進んできた。しかし、non-O157 EHEC の分離頻度も増加しており、これらの EHEC に対する対応も必要になっている。

2. 研究の目的

以前から進めてきた O157 堺株の全ゲノム情報に基づいた O157 の病原性とゲノム多様性の解明を更に推進するとともに、O26・O111・O103 EHEC を新たな解析対象とし、EHEC の病原性メカニズム、ゲノム多様性、病原性発現調節機構の解明に取り組む。また、他の病原性大腸菌(腸管病原性大腸菌(EPEC)など)とのゲノム比較を行い、EHEC の病原性の特性を浮き彫りにする。さらに、腸管常在細菌の解析と EHEC と常在菌の相互作用の解析を行う。後半2年間は、腸管常在細菌の解析に重点を置いて研究を進め、ヒト腸管常在細菌叢の実体を明らかにするとともに、EHEC の増殖や病原性発現に対する常在菌の作用を明らかにする。これらの研究成果を基に、EHEC の新しい診断・サーベイランス・治療・予防法の開発を目指す。なお、腸管常在細菌解析をより効率的に遂行するため、20年度より班構成を一部変更した(阪大・飯田に代わり、徳島大・桑原が加わった)。

3. 研究の方法

(1) EHECのゲノム多様性解析: O157堺株の全ゲノム情報とそれに基づく全ゲノムPCR スキャンニング(WGPS)とマイクロアレイを用いた解析系は確立できているため、これらの手法と菌株特異的なゲノム領域の配列決定により、O157堺株を基準としたO157 EHECおよびnon-O157 EHECの大規模ゲノム多様性解析を行う。また、その結果に基づいて、O157 EHECの迅速菌株識別システムを開発する。さらに、O26・O111・O103の全ゲノム解読を行う。

(2) EHECの病原遺伝子システムの解析: 腸管への付着と下痢発症に中心的な役割を果たすIII型分泌系(T3SS)の解明に重点を置き、T3SSによって宿主細胞に注入されるエフェクター蛋白質を、情報学的手法とプロテオーム解析等により網羅的に同定する。

(3) EHECの病原性発現調節機構の解析: T3SSの発現調節機構に重点を置く。マイクロアレイと種々の遺伝子破壊株や強制発現株を用いて、腸管内模擬環境での遺伝子発現解析を行い、腸管内環境シグナルによる病原遺伝子群の発現調節機構の解明を試みる。

(4) 腸管常在細菌の解析: 基盤ゲノム・服部研究班らと共同で、腸内細菌叢とその構成菌種のゲノム解析を行う。

(5) EPECと腸炎ビブリオの解析: T3SSの

比較解析に重点を置き、エフェクター蛋白質の網羅的な同定、生体内環境シグナルによる発現制御機構の解析等を行う。腸炎ビブリオに関しては、マイクロアレイを用いて環境および患者由来株のゲノム比較解析を行う。

4. 研究成果

【O157 EHEC の解析】

(1) ゲノム多様性解析: WGPS、マイクロアレイ、菌株特異的なゲノム領域の配列決定等により、8株の臨床分離株のO157堺株との詳細なゲノム比較解析を行い、サイズの大きな多型領域はプロファージの変化によって生じていること、またサイズの小さな多型領域(SSSP)は2種類のIS(IS629とISEc8)の転移等によるゲノム変化によって生じていることを明らかにした。SSSPの網羅的な構造解析から、「ファージなどの可動遺伝子の不動化」というゲノム進化におけるISの新しい役割を提唱するとともに、細菌では稀とされていたISのsimple excisionがO157などのEHECでは高率に生じることを見出し、この現象(IS excision)に関わる新規遺伝子を同定した。また、ゲノム多様性解析の結果に基づいて、O157 EHECの迅速菌株識別システムを開発し、特許出願を行うとともに、TOYOBO(株)と共同でキット化し、O157 IS-typing Systemとして発売を開始した。本キットは、既に全国の地方衛生研究所等で使用されている。さらに、O157堺株のゲノム上に多数存在するプロファージの網羅的な構造・機能解析から、「prophage community内でのprophage間相互作用による欠陥プロファージの活性化」という新しい概念を提唱した。

(2) 病原因子の機能解析: T3SSエフェクターの網羅的な検索を行い、新たに30種類のエフェクターを同定した。また、LEE領域以外に存在するエフェクター(non-LEEエフェクター)のほとんどはラムダ様ファージにより持ち込まれたことが明らかになった。新規エフェクターの機能解析では、EHECやEPECで高度に保存されているNleH, EspL2などの機能を明らかにした。NleHは感染細胞での炎症応答を調節する。EspL2はannexin 2に直接作用してF-アクチン凝集活性の亢進と細胞膜の形態変化を誘導し、宿主細胞上での密集した集落形成に寄与する。また、細胞表面に仮足状突起の形成を誘導して付着を促進する。一方、TccP/TccP2エフェクターの機能及びその分布の解析から、アクチン重合を誘導する新たなパスウェイを見出した。

(3) 病原性発現調節機構の解析:

①富栄養から低栄養への環境変化(小腸から大腸への移行時に細菌が遭遇)に対応してLEE遺伝子群の発現が上昇すること、この調節が細菌に広く保存されている緊縮応答に

よることを明らかにした（増殖ストレスにより誘導された ppGpp と DksA タンパク質が RNA ポリメラーゼに結合し、LEE の発現制御にかかわる転写調節因子の転写を活性化）。この結果は、外来性の病原性遺伝子群の発現調節が緊縮制御系という内在性の調節システムに組み込まれ、環境応答システムを構築していることを示す。

②LEE 遺伝子群の発現は嫌気条件（腸管内の環境）でも大きく変化しないにもかかわらず、T3SS の分泌活性が低下すること、この分泌活性低下は特定の嫌気呼吸系の活性化により回復することを明らかにした。メカニズムとしては、分泌装置構成タンパク質の構造変化によるタンパク質複合体形成の制御である可能性が示唆された。

③腸内フローラの代謝産物で腸管内に豊富に存在する短鎖脂肪酸（SCFAs）の EHEC に対する影響を解析した結果、高濃度の SCFAs は EHEC の増殖を抑制し、低濃度では LEE 遺伝子群（T3SS 遺伝子群）の発現を上昇させることを見いだした。酪酸は 1.25 mM の低濃度でも顕著な効果を示した。この酪酸に対する応答は、転写調節因子 PchA を介した LEE1 オペロン（Ler 調節因子をコード）の転写活性化、およびロイシン応答性の転写因子である Lrp を介する経路によることを明らかにした。この結果は、回腸下部に到達した EHEC が酪酸濃度の上昇に応答して LEE 遺伝子群の発現を上昇させ、標的組織である大腸への効率的な付着を誘導することを示す。

④LEE 遺伝子群の発現を段階的に調節する 2 つの転写因子（Pch と Ler）に着目した transcriptome 解析と ChIP-chip 解析により、Pch と Ler が T3SS 遺伝子群などの外来性遺伝子領域に選択的に結合し、LEE 遺伝子群だけではなく、他の多くの外来性遺伝子、さらには内在性遺伝子の発現をも制御し、病原性の発現制御に中心的な役割を果たしていることを明らかにした。さらに、Pch と Ler の結合の違いにより転写制御クラスが異なることを見いだした。この結果は、T3SS 遺伝子群を中心とした病原性関連遺伝子群の発現が Pch およびそれに制御される Ler という 2 種類の制御因子により協調的な発現制御ネットワークを形成していることを示す。また、核様体結合タンパク質であり、外来性ゲノムへの特異的な結合が示されている H-NS の O157 染色体での結合部位を ChIP-chip 法により決定した結果、ほとんどの病原遺伝子近傍に H-NS の結合がみられ、Pch や Ler の結合部位と重なっていること、また病原遺伝子領域における H-NS の結合は Pch および Ler の発現により低下することを明らかにした。この結果は、Pch と Ler の協調的な結合は H-NS による核様体構造を変化させ遺伝子発現を脱抑制させることを示唆する。

【non-O157 EHEC のゲノム解析】

主要な non-O157 EHEC である O26 (8 株)、O111 (6 株)、O103 (6 株) のゲノム構造と遺伝子レパートリーを WGPS と O157 マイクロアレイを用いて解析し、病原遺伝子のレパートリーには有意な類似性が認められるものの、ゲノム構造には顕著な違いが存在することを明らかにした。また、これらの non-O157 EHEC ゲノムサイズは O157 と同じか、それ以上であり、プラスミドプロファイルも大きく異なることを明らかにした。この結果に基づき、それぞれ血清型から一株をゲノム解析株として選定し、全ゲノム配列を決定した結果、いずれも O157 と同じか、同等のゲノムサイズを有し、O26 と O111 は 4 及び 5 種類のプラスミドを有することが確認された。ゲノム配列が決定されたすべての大腸菌株で完全に保存されている 926 遺伝子を用いたゲノムワイドな進化系統解析では、これらの non-O157 EHEC は O157 とは異なる大腸菌系統に属し、それぞれ独立に進化したことが明らかとなった。一方、全遺伝子レパートリーに基づいたクラスタリング解析では、4 種類の EHEC は 1 つのクラスターを形成し、良く似た遺伝子レパートリーを有することが明らかになった。プロファージ等についてさらに詳細な解析を行った結果、いずれの non-O157 EHEC も O157 EHEC と同様に、多数のプロファージとプロファージ様 integrative element を有すること、プロファージの大部分は互いに良く似たラムダ様ファージであること、これらの遺伝因子が Stx 遺伝子などの各 non-O157 EHEC の主要な病原遺伝子の大部分をコードしていることが明らかになった。特に T3SS 関連遺伝子群に関しては、LEE、SpLE1 様 integrative element、多数のラムダ様ファージという 3 種類の遺伝因子によって運び込まれていることが明らかになった。しかし、これらの遺伝因子の染色体挿入部位やゲノム構造には著しい多様性が見られ、その進化の歴史はそれぞれ異なることが示唆された。さらに、各 EHEC が保有する病原プラスミドに関しても、各プラスミドがコードする病原因子セットは非常に良く似ているものの、プラスミドの基本骨格は大きく異なっており、異なった進化過程を経て形成されたことが示唆された。以上の結果は、各 EHEC が、ファージやプラスミドなどを介して、非常に類似した病原遺伝子セットを獲得したこと、しかしこれらの可動性遺伝因子は極めて複雑な進化過程を経て形成されたものであり、その大部分は各 EHEC が独立に獲得したものであることを示唆する。

【他の病原性大腸菌の解析】

EHEC と同様の T3SS を有する EPEC を中心とした解析を行った。英国の Sanger center と共同で、代表的 EPEC である E2348/69 株の

全ゲノム解析を行い、EHEC と同様にラムダ様プロファージ上に non-LEE エフェクター遺伝子が存在するものの、その数は EHEC に比べて遙かに少なく、非常にシンプルな T3SS を有することを明らかにした。T3SS の機能解析において、本株は非常に有用なモデルとなる可能性があるため、本株の有するエフェクター遺伝子を順次脱落させた一連の変異体を作製した。もう一つの EPEC 代表株である B171-1 株については、WGPS と Fosmid mapping を併用した解析を行い、本株の菌株特異領域を網羅的に同定し、その塩基配列を決定した。また、この解析の過程で取得した LEE 領域を有する Fosmid クローンを用いて、非病原性大腸菌である K-12 において機能的な T3SS を再構築することに成功した。この再構築系と E2348/69 由来の一連のエフェクター欠損株は、まだ機能が明らかになっていないエフェクターの機能解析において、極めて有用な解析プラットフォームになる。これら 2 株の EPEC 以外に、O157 EHEC と近縁で共通の祖先株から進化したと考えられる O55:H7 EPEC の部分的なゲノム解析を行い、120 Kb の大きなゲノムセグメントが入れ替わることによって O55 から O157 への抗原変換が生じたことを明らかにした。また、O55/O157 系統の大腸菌群は極めて近縁の菌群であるにもかかわらず、その溶血毒素遺伝子の分布や発現において著名なバリエーションが見られることを明らかにした。この知見は、O157 の分離同定の際に有用な情報である。さらに米国グループと共同で、新型シーケンサー等を用いた O157/O55 系統のゲノムワイドな系統解析を行い、堺株などの典型的 O157 EHEC は数百年前に非典型的な O157 EHEC から分化したことを明らかにした。

【腸炎ビブリオの解析】

患者および環境由来株の比較と本菌が有する 2 種類の T3SS の機能解析を行い、T3SS-2 をコードする Chromosome 2 上の Pathogenicity island (PI) が臨床株にのみ存在すること、またシーケンス株の T3SS-2 とは異なる PI を有する株が存在することを明らかにした。また、T3SS-1 が細胞毒性に、T3SS-2 が下痢原性に関与することを明らかにした。さらに、各 T3SS のエフェクターの同定、発現調節遺伝子の同定に成功し、2 つの T3SS が異なるエフェクターを分泌することを見出した。さらに、新規に同定したエフェクターのうち、数種類については、その機能と宿主細胞内での局在部位等を明らかにした。

【腸内常在菌及び常在菌叢の解析】

(1) 健康日本人 13 名のメタゲノム解析：基盤ゲノムの服部グループや比較ゲノムの黒川らと共同で、成人から離乳前幼児までを含む健康日本人 13 名の腸内フローラのメタ

ゲノム解析を行った。その結果、成人型フローラは菌種組成の面でも機能的にも乳児型に比べて多様性が高いこと、乳児型フローラは成人型に比べて菌種組成の面ではシンプルであるが、成人型に比べて個人差が大きく不安定なフローラであると見なせること、乳児のフローラは離乳後に速やかに成人型に変化することなどが明らかになった。さらに、成人型及び乳児型フローラで共通に顕著に enrich されている遺伝子群を同定し、それぞれのフローラの機能的な特性の違いを明らかにした。成人型フローラにおいては、食物などに由来する難分解多糖の分解系、嫌気代謝系などの遺伝子の他、抗菌ペプチド抵抗性に関する遺伝子群や DNA 修復に関する遺伝子群などが enrich されているのに対して、乳児型では母乳等に含まれる低分子の取り込み系が有意に enrich されており、成人と乳児の腸管環境の違いに応じたフローラの機能の違いを明らかにすることができた。成人型において鞭毛や走化性関連遺伝子の検出頻度が非常に低いことや、いずれのフローラにおいても脂質の代謝系遺伝子群の頻度が低いことなども明らかになった。また、いずれのフローラにも接合伝達性トランスポゾンなどの遺伝子群が大量に存在することが明らかとなり、腸内フローラが接合を介した細菌間での遺伝子水平伝播のホットスポットになっていることが示唆された。

(2) 腸内常在菌の個別ゲノム解析：腸内常在大腸菌 2 株と *Rautonella* の全ゲノム解析を行った。腸内常在大腸菌に関しては、潜在的な病原性連遺伝子の種類が非常に少ない点が病原性大腸菌と大きく異なる。*Rautonella* に関しては、ヒスタミン合成系などの興味ある遺伝子群が見出された。

(3) バクテロイデスの解析：腸内フローラの最優勢菌種の 1 つであり、重要な日和見感染菌でもある *Bacteroides* については、*B. fragilis* YCH46 株の全ゲノム情報を基に、本菌の大きな特徴であるゲノムワイドな inversion システムの解析を行った。その結果、このシステムが外膜蛋白質や莢膜多糖など、菌体表層の抗原性に関わる多数の遺伝子群の発現を promoter 領域の inversion によって ON/OFF 制御し、同一菌株の中でもそれぞれ異なった表層抗原性を有する多様な集団を生み出すユニークな相変異システムを有することを明らかにした。また、これらの inversion 領域は逆位の起点となる inverted repeat 配列により 6 種類 (Class I - VI) に分類されることを明らかにしたほか、DNA invertase 遺伝子群のシステムティックな破壊実験を行い、SusC/D family の相変異に関わる Class II, V および VI 領域を制御する DNA invertase を同定した。この結果、*B. fragilis* における表層分子の相変異システムは少なくとも 3 つの globally acting DNA

invertase により担われていることが明らかになった。さらに、高分子多糖の結合と輸送に関わる SusC/D family は *Bacteroides* における最大の paralog family であり、その相変異システムは本菌の腸管内での定着に重要な役割を担っていると推察されるため、同定した DNA invertase の欠損変異株を作製し、腸管への定着能を野生株と比較した結果、SusC/D family の相変異が腸管への定着に重要な役割を果たしていることが示された。

(4) 腸内難培養菌 SFB のゲノム解析: 腸内フローラの構成菌の 30-50% は難培養菌であると考えられているが、難培養菌には純培養からゲノムを精製するという従来の手法が適応できないため、ゲノム解析には新しい手法の開発が必要である。本研究では、代表的な腸内難培養菌である segmented filamentous bacteria (SFB) のゲノム解析に挑戦した。具体的には、SFB ノトバイオームマウスを作製し、その盲腸内容物から調整した DNA を用いてマウス SFB の全ゲノム解読を行うことに成功した。本菌は極めて長い連鎖を形成するグラム陽性菌で、腸管免疫系の発達に深く関与していることが近年報告され、その生物学的性状に大きな関心が寄せられている。現在配列解析の最終段階にあるが、鞭毛や走化性関連遺伝子群の存在など、非常に興味ある知見が得られている。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 87 件)

1. Ogura Y., Ooka T., (他10名), Tobe T., Hattori M., Hayashi T.: Comparative genomics reveal the mechanism of the parallel evolution of O157 and non-O157 enterohemorrhagic *Escherichia coli*, Proc Natl Acad Sci USA, 106, 17939-44 (2009).
2. Ooka T., Ogura Y., (他5名), Hayashi T.: Inference of the impact of insertion sequence (IS) elements on bacterial genome diversification through analysis of small-size structural polymorphisms in *Escherichia coli* O157 genomes, Genome Res, 19, 1809-16 (2009).
3. Ooka T., (他4名), Ogura Y., (他6名), Hayashi T.: Development of a multiplex PCR-based rapid typing method for enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 strains. J Clin Microbiol, 47, 2888-94 (2009).
4. Asagulghani Md, Ogura Y., Ooka T., (他4名), Hayashi T.: The defective prophage pool of *Escherichia coli* O157: prophage-prophage interactions potentiate horizontal transfer of virulence determinants. PLoS Pathog, 5, e1000408 (2009).
5. Iguchi A., Thomson N.R., Ogura Y., Saunders D., Ooka T., (他9名), Hayashi T., (他2名): Complete genome sequence and comparative genome analysis of enteropathogenic *Escherichia coli* O127:H6 strain E2348/69, J. Bacteriol, 191(1), 347-54 (2009).
6. Leopold S.R., (他5名), Ogura Y., Iguchi A., Hayashi T., (他6名): A precise reconstruction of the emergence and constrained radiations of *Escherichia coli* O157 portrayed by backbone concatenomic analysis, Proc Natl Acad Sci USA, 106, 8713-18 (2009).
7. Miyahara, A., Nakanishi, N., Ooka, T., Hayashi, T., Sugimoto, N., Tobe, T.: Enterohemorrhagic *Escherichia coli* effector EspL2 induces actin microfilament aggregation through annexin 2 activation, Cell Microbiol, 11, 337-50 (2009).
8. Nakayama-Imaohji, H., (他4名), Hayashi, T., Kuwahara, T.: Identification of the site-specific DNA invertase responsible for the phase variation of SusC/SusD family outer membrane proteins in *Bacteroides fragilis*, J Bacteriol, 191, 6003-11 (2009).
9. Nakanishi, N., (他2名), Hayashi, T., Sugimoto N., Tobe T.: Regulation of virulence by butyrate sensing in enterohaemorrhagic *Escherichia coli*, Microbiology, 155, 521-30 (2009).
10. Ogura Y., (他5名), Ooka T., (他3名), Tobe T., Hayashi T.: Systematic identification and sequence analysis of the genomic islands of the enteropathogenic *Escherichia coli* strain B171-8 by the combined use of Whole Genome PCR Scanning and fosmid mapping, J. Bacteriol, 190, 6948-60 (2008).
11. Oshima, K., Toh, H., Ogura, Y., (他3名), Ooka, T., (他2名), Hayashi, T., (他2名): Complete genome sequence and comparative analysis of the wild-type commensal *Escherichia coli* strain SE11 isolated from a healthy adult, DNA Res, 15, 375-86 (2008)
12. Abe, H., (他3名), Ogura, Y., (他2名), Hayashi, T., Tobe, T.: Global regulation by horizontally transferred regulators establishes the pathogenicity of *Escherichia coli*, DNA Res, 15, 25-38 (2008).
13. Izutsu, K., (他3名), Hayashi, T., (他1名), Iida T.: Comparative genomic analysis using microarray demonstrates a strong correlation between the presence of the 80-kilobase pathogenicity island and pathogenicity in Kanagawa phenomenon-positive *Vibrio parahaemolyticus* strains, Infect Immun, 76, 1016-23 (2008).
14. Ogura, Y., Ooka, T., (他4名), Tobe, T., (他4名), Hayashi, T.: Extensive genomic diversity and selective conservation of virulence-determinants in enterohaemorrhagic

- Escherichia coli* strains of O157 and non-O157 serotypes, *Genome Biol*, 8, R138, (2007).
15. Kurokawa, K., Itoh, T., Kuwahara, T., (他 10 名), Ogura, Y., (他 4 名), Hayashi, T., Hattori, M.: Comparative metagenomics revealed commonly enriched gene sets in human gut microbiomes, *DNA Res*, 14, 169-81 (2007).
 16. Ogura, Y., Kurokawa K., Ooka, T., Tashiro, K., Tobe, T., (他6名), Hayashi, T.: Complexity of the Genomic Diversity in Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157 Revealed by the Combinational Use of the O157 Sakai OligoDNA Microarray and the Whole Genome PCR scanning, *DNA Res*, 13, 3-14 (2006).
 17. Nakanishi, N., Abe, H., Ogura, Y., Hayashi, T., (他3名), Tobe, T.: ppGpp with DksA controls gene expression in the locus of enterocyte effacement (LEE) pathogenicity island of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* through activation of two virulence regulatory genes, *Mol Microbiol*, 61, 194-205 (2006).
 18. Tobe, T., (他9名), Hayashi, T., Pallen, M.J.: An extensive repertoire of type III secretion effectors in *Escherichia coli* O157 and the role of lambdoid phages in their dissemination, *Proc Natl Acad Sci USA*, 103, 14941-46 (2006).
 19. Tobe, T., (他4名), Hayashi, T., (他2名): Dual regulatory pathways integrating the RcsC-RcsD-RcsB signaling system control enterohaemorrhagic *Escherichia coli* pathogenicity, *Mol Microbiol*, 59, 320-33 (2005).

[学会発表] (計 93 件)

1. Hayashi T. (invited speaker): Genomic view on the diversification and evolution of enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC). The third China-Japan Science Forum, Diseases Prevention and Control. March 14-16, 2010, Wuhan, China.
2. Hayashi T. (invited speaker): Genomic view on the parallel evolution of enterohemorrhagic *Escherichia coli* strains. The 4th Nagasaki Symposium on Tropical and Emerging Infectious Diseases, Nov. 26, 2009. Nagasaki.
3. Hayashi T. (invited speaker): Whole genome sequencing analysis of O26, O111, and O103 EHEC. VTEC2009 (7th International Symposium on Shiga Toxin (Verocytotoxin)-Producing *Escherichia coli* Infections), May 12, 2009, Buenos Aires.

[図書] (計 9 件)

1. Tobe, T.: The Roles of Two-Component Regulatory Systems in Virulence of Pathogenic

- Escherichia coli* and *Shigella* spp. in *Bacterial Signal Transduction: network and drug targets* (Landes Bioscience, Georgetown, TX), 2008.
2. Hayashi, T., Ooka, T., Ogura, Y., Asadulghani, Md: Genomic view on the evolution of enterohemorrhagic *Escherichia coli* (Chapter 34, pp.407-419), *Evolutionary Biology of Bacterial and Fungal Pathogens*. Edited by Baquero, F. et al., ASM Press. Washington, D.C., (2007).

[産業財産権]

○ 出願状況 (計 1 件)

名称: 微生物の識別方法、及び該方法に使用するプライマー並びに識別キット

発明者: 大岡唯祐、林哲也

権利者: 大岡唯祐、林哲也

種類: 特許

番号: 特願 2006-155279

出願年月日: 2006 年 6 月 2 日

国内外の別: 国内

[その他]

1. 商品化された製品: O157 IS-printing System (発売元: TOYOBO)

2. データベース/ソフトウェア:

Escherichia coli O157:H7 Sakai genome database

<http://genome.naist.jp/bacteria/o157/>

6. 研究組織

- (1) 研究代表者

林 哲也 (HAYASHI TETSUYA)

宮崎大学・フロンティア科学実験総合センター・センター長

研究者番号: 1 0 1 7 3 0 1 4

- (2) 研究分担者

小椋 義俊 (OGURA YOSHITOSHI)

宮崎大学・フロンティア科学実験総合センター・助教

研究者番号: 4 0 3 6 3 5 8 5

大岡 唯祐 (OOKA TADASUKE)

宮崎大学・医学部・助教

研究者番号: 5 0 3 6 3 5 9 4

戸邊 亨 (TOBE TORU)

大阪大学・医学系研究科・准教授

研究者番号: 7 0 2 0 7 5 9 6

飯田 哲也 (IIDA TETSUYA)

大阪大学・微生物病研究所・教授

研究者番号: 9 0 2 2 1 7 4 6

(平成 17~19 年度)

桑原 知巳 (KUWAHARA TOMOMI)

徳島大学・ヘルスバイオサイエンス研究部・准教授

研究者番号: 6 0 2 6 3 8 1 0

(平成 20~21 年度)