

令和 4 年 6 月 3 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06627

研究課題名(和文) 強力な直接遺伝学を駆使して微生物走性システムの全貌を見る

研究課題名(英文) Investigation of microbial systems using NGS driven powerful forward genetics.

研究代表者

井原 邦夫 (Ihara, Kunio)

名古屋大学・遺伝子実験施設・准教授

研究者番号：90223297

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：目的達成のため、十分な変異数を持つランダム変異ライブラリーの構築を試みた。その過程において、これまで効率的に変異を導入できると考えられていたUV処理やEMS変異などの変異原処理が、生存率を極めて低くする処理条件においてもそれほど多数の変異が導入されるわけではないことを、大量ゲノム解析を行うことで確認した(UV変異導入の場合に最大で平均0.5/ゲノム程度)。この低い変異導入率のままでも、なんらかのストレスをかけて選択することで、導入される変異数が増加することがわかった。また、1種類の微生物の1000株を超える大量ゲノム解析から、凍結保存株に潜在的なゲノム多様性が存在することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

学術的には、これまで遺伝子変異導入に使われてきたUV変異による突然変異導入効率を、1000株程度のゲノム解析を行うことで決定し、高度好塩性好アルカリ性古細菌では、最大でも平均0.5個/ゲノム程度であることを決めたことと、凍結保存した株においてもかなりのゲノム多様性が存在することを明らかにしたことが、今後の知見として重要であると考えられる。社会的には、UVなどの変異原に対する生物の処理方法(完全に修復するか、さもなければ死ぬ)と修復能力の高さが強調でき、同時に、直接沢山の生物のゲノム解析を行うことでゲノム変異の種類や程度を調べることができる時代になったことが伝えられる点で意義深いと考えている。

研究成果の概要(英文)：To achieve our purpose, we have attempted to construct a random mutation library with a sufficient number of mutations. In the process, we confirmed through mass genome analysis that mutagenic treatments such as UV irradiation or EMS mutagen treatment, which had been thought to efficiently introduce mutations, did not introduce so many mutations even under low survival rate conditions (up to an average of 0.5 mutations/genome in the case of UV mutagenesis). Even with this low mutation rate, it was found that selection under some stress condition like phosphate deficiency increased the number of mutations introduced in the genome. In addition, mass genome analysis of more than 1,000 strains of one type of microorganism revealed the existence of potential genomic diversity in cryopreserved strains.

研究分野：システム微生物学

キーワード：ゲノム 古細菌 システム解析 遺伝子 ハイスループット 変異 表現型 選択圧

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

2010年代に入って、NGS(次世代シーケンサー)が普及することにより、様々な生物のゲノムが大量に読まれる時代が到来した。ゲノム情報が増えれば増えるほど、機能が分かっていない遺伝子数が増え、ゲノム情報を通して生命を理解する際の大きな課題の1つとして認識されていた(それは、今でも変わっていない)。遺伝子機能に注釈をつけるアノテーションは、既存のデータベースに対する相同性に基づき、相同性が見つからない場合は、機能未知とされる。さらに、相同性検索で見つかる場合でも、上位にヒットした遺伝子の名称をそのまま使用するため、別の生物での機能表記としては不十分であったり、誤解を招くような表記である場合も多い。これらの遺伝子機能を個別に知る目的で、逆遺伝学的手法を使った実験が様々なモデル生物を使って行われた。逆遺伝学は、遺伝子を個別に破壊した株や、過剰発現させた株を作成して、様々な環境での表現型を観察し、得られた表現型から機能を推定する実験である。しかし、個別の遺伝子破壊だけでは、特別な表現型を示さない、もしくは表現型が微妙である場合には、他の類似遺伝子を同時に破壊する複数遺伝子破壊を試みるなど、多大な時間と労力が必要であるが、大腸菌や酵母などで1遺伝子破壊のライブラリー作成(Baba T. et al. 2006, Mol. System. Biol. 2:20060008)やGFP融合遺伝子の発現ライブラリー作成(D Q Ding et al., 2000, Gene Cells 5, 169)などが行われ、多くの研究者が利用できる状況にもなっている。また、遺伝子を効率的に破壊し、網羅的に解析するトランスポゾンシーケンス(Tn-Seq)という手法も登場(MN Price, et al., 2018, Nature 557, 503)し、モデル生物でなくても遺伝子導入できる株なら、選択する表現型に対して何らかの相関を持つ遺伝子が選別できるような状況となった。

### 2. 研究の目的

本研究は、ランダムに変異導入した株のゲノムを大量に解析することで、変異体ライブラリーを構築し、それを何らかの表現型で選別することで、その表現型に関係する遺伝子を推定することを目的とする。わかりやすい、一つの表現型として微生物の行動(走性)に着目し、走性に関わるすべてのORFを抽出することを最初の目的とした。また、ランダム変異導入株のなかで、特定の機能変異株の占める割合からどのくらいの遺伝子とその特定の機能システムに関係するのかが推定できないかも目的の一つとした。順方向遺伝学で、確率的に抽出されにくい遺伝子を十分にカバーするには、変異体を大量に解析することが必要不可欠である。そのために、ライブラリー作成 NGS シーケンス解析 データ解析のプロセスを、ハイスループットで行うと同時に安価に処理できるワークフローを構築することも目的の一つとした。

当初に設定した目的を達成するために”ランダムに変異導入”した株を、UV照射実験によって作成することを試みたが、想像以上に”変異導入”が難しいことがわかってきた。そこで、前段階として、変異導入の方法を変えてみることに、あるいは、何らかの表現型で変異導入した株を選択することで、変異導入効率がどの程度あがるかについても調べることにした。

### 3. 研究の方法

主な生物材料として、高度好塩性好アルカリ性古細菌 *Natronomonas pharaonis* JCM8858<sup>T</sup> 株 (*N. pharaonis*)を使用し、真核微生物として分裂酵母 *Schizosaccharomyces pombe* (*S. pombe*)、真正細菌として糸状性藍藻 *Leptolybbya boryana* (*L. boryana*)、海洋性細菌 *Vibrio* sp. 138-2(V. 138-2)を用いた。

ランダム変異を導入するためUVc照射実験、変異原EMS(またはMMS)の処理実験、過酸化試薬H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>による処理実験を行った。生存したコロニーを96穴のディープウェルプレートで培養し、一部は冷凍保存すると同時にゲノムDNAを抽出してタグメンテーション法によりゲノムライブラリーを構築した。各サンプルは24X24種類のインデックスで区別し、300-400サンプル単位で混合して外注(1回で100Gb程度)し、150bpのペアエンドシーケンスデータを確保した。シーケンスデータの解析は自作計算機サーバー(CPU: Intel(R) Xeon(R) CPU E5-2650 v3 @ 2.30 GHz x2、コア数:10x2、スレッド数:20x2、メモリ:125GiB)で行った。解析は、bashを用いた自作スクリプトやnextflow(Di Tommaso P et al. 2017)で並列化ワークフローを作成し、効率的に解析した。

### 4. 研究成果

( 1 ) UVC 照射による変異導入

*N. pharaonis* に対して UVC 光を照射強度を変化させて、その生存菌体の割合をプロットすると、生存率が 1/10 になる線量が ( 10 ) が 1.72mJ/cm<sup>2</sup> となる指数関数の形で減少した ( 図 1 )。この数値は、先行研究 ( R. Moeller et al., 2010 ) で報告されている値 5.23 mJ/cm<sup>2</sup> の 1/3 程度であったが、実験条件の違いを考えれば大きな差はないと判断した。また、UVC 照射後に 1 時間の可視光照射を行うことで、生存曲線は大きく変化し、20 mJ/cm<sup>2</sup> までは緩やかに減少した後、10 が 9.08 mJ/cm<sup>2</sup> となる指数関数で減少した ( 図 1 )。これは、同じ生存率であっても、光回復プロセスにおける DNA 修復において変異が入る割合が大きくなることを期待して行った実験である。

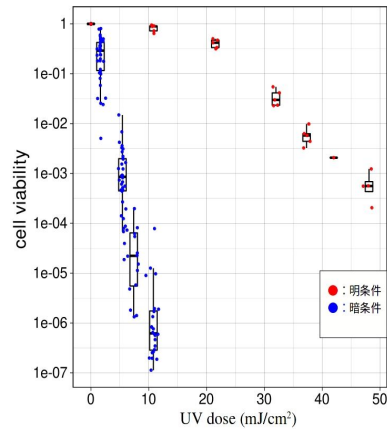


図 1 UV 光照射線量に対する生存率

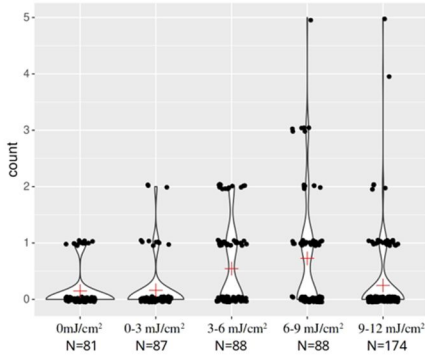


図 2 UV 光照射線量に対する変異数変化

UVC の照射線量を 0 mJ/cm<sup>2</sup>, 0-3 mJ/cm<sup>2</sup>, 3-6 mJ/cm<sup>2</sup>, 6-9 mJ/cm<sup>2</sup>, 9-12 mJ/cm<sup>2</sup> の 5 段階に分けて、それぞれ 100~200 株程度

サンプリングし、全ゲノム解析を行って変異箇所を特定した ( 図 2 )。ここでは、研究室株として使用した株に予め存在していたと推定される変異 ( 次項参照 ) をすべて差し引いた値を使用して解析した。UVC 線量の増加に伴って、導入される変異は増加する傾向にあったが、最も変異が多かった 6-9 mJ/cm<sup>2</sup> の線量でも、0.73 個/ゲノムであった。ここで、UVC 未照射群においても 0.15 個/ゲノムの変異が観察されたため、UVC 照射による正味の変異導入は、約 0.58 個/ゲノムと見積もられ、UVC 照射法による変異導入は効率が極めて悪いことがわかった。また、光回復条件においても 0 mJ/cm<sup>2</sup>, 10-11 mJ/cm<sup>2</sup>, 21-22 mJ/cm<sup>2</sup>, 31-33 mJ/cm<sup>2</sup>, 36-38 mJ/cm<sup>2</sup>, 47-49 mJ/cm<sup>2</sup> の 6 段階に分けて、ゲノム変異導入数を調べたが、光回復を行わなかった場合と比較してさらに少なく、最も多くの変異が導入された 31-33 mJ/cm<sup>2</sup> の線量領域においても、平均 0.1 個/ゲノムであった。これらの結果は、好塩性古細菌ゲノムの修復がかなり高精度に行われていることを示していて、それは光回復条件で更に精度が上がっていた。酵母や *Vibrio* を使用した実験でも、UV 生存曲線に差は出たが、ゲノムシーケンスの結果は、UVC 照射で多くの変異を導入することが期待できないことを示していた。

( 2 ) 凍結保存株に予め存在するゲノム多様性

*N. pharaonis* を用いた UVC 照射実験による 908 サンプルの解析から、215 の塩基置換 ( SNVs ), 13 の欠失 ( del ), 6 のトランスポゾン挿入 ( Tn ) 変異が見つかった。これらの変異のうち 34 SNVs, 7 del, 3 Tn は複数サンプルに共通していた。Tn 挿入はターゲットサイトを選択して生じるので、独立して起こったイベントが同じサイトになるケースはよくあるが、UVC により生じるランダム変異が複数株で全く同じ位置に生じる可能性はほとんど 0 と考えられる。ここから、複数株で共通する 34 SNVs, 6 del が研究室株中に予め存在した変異と考え、これらの変異を指標にすることで、保存株を 32 のクラスターに分けることができた ( 図 3 )。32 のクラスターは全部で 538 株からなり、2 つのクラスター ( クラスター 1 と 16 ) で全体の 60% を占めていた。10 株以下 ( 2% 以下 ) のクラスターは、21 もあり、凍結保存した微生物

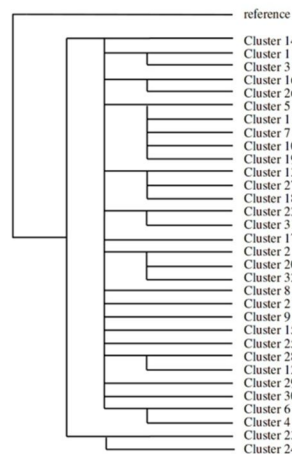


図 3 凍結保存株におけるゲノム多様

図 3 凍結保存株におけるゲノム多様

試料にはかなりのゲノム多様性が存在することが、500 株以上のゲノム解析を行うことで明らかになった。

### (3) 走性変異スクリーニング

当初の目的である、表現型選択は、ゲノム変異の多様性構築（当初は 0.1%程度の変異導入を想定していた）が実現できなかったことから、システムのサイズを見積る実験を本格的に実現することはできなかった。本研究を開始した当初に、まだ変異導入効率がわからなかった段階で、UV 照射して生存してきた好塩性古細菌に対して、ソフトアガー法による走性実験を試したところ、ほぼ半分程度の株が走性を失っていることがわかった（図4）。これは、その後の全ゲノム解析から、特定のトランスポゾンが CheA 遺伝子に挿入しているイベントと完全に一致することが明らかになった。この CheA 遺伝子ノックアウトによる走性の喪失は、別の好塩性古細菌で報告されており（J Rudolph and D. Oesterhelt 1996, J Mol Biol 258, 548）、今回の結果は、同様の結果を好塩性好アルカリ性古細菌で確認したことになる。同じゲノム背景のまま、何らかのゲノムの変異を起こさずに可逆的に多様性を獲得する方法として、このようなトランスポゾン移動による変化があり、これが働くシステムでは、そのサイズを見積もる際にはトランスポゾンを働かなくする（あるいはトランスポゾンを持たない株を選択する）工夫が必要になるであろう。

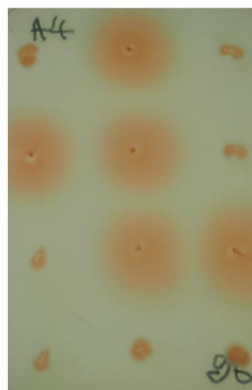


図4 ソフトアガー法によるスワームの様子

### (4) 他の変異原使用と何らかの選択圧によるゲノム選別の必要性

UVC 照射以外の変異導入方法として、MMS（あるいは EMS）処理、 $H_2O_2$  による処理などの変異導入実験を行い、100 株程度のゲノム解析から変異導入効率を調べたが、MMS 処理で 1.0 個/ゲノム、 $H_2O_2$  処理で 0.5 個/ゲノム と UVC 処理と似通った数値になった（分散もほぼ同程度なので、ポアソン分布と考えられた）。0.1%の変異を実現しようとするなら、3Mbp のゲノムを持つ生物では、3000 個/ゲノムの値が必要となり、全く新規の変異株作成方法を考案しなければいけない。そこで、これまで知られている手法でランダム変異導入ライブラリーを作成し、表現型スクリーニングするという手順をあきらめて、何らかの表現型で絞り込むことで現在の少ない変異導入方法でも変異株が濃縮できる可能性を検討した。

選択圧として、完全合成培地中でリン酸濃度だけ減らして、3ヶ月ほど継代培養することで、生存し続けた株を選択し、2種類のリン酸濃度（0.5 mM と 0.25 mM）に関して3系統、各6サンプルで合計 36 株のゲノム解析を行った。面白いことに、0.5mM のリン酸制限では TAXI family TRAP transporter solute-binding subunit 遺伝子に、0.25mM のリン酸制限では、acetyl-CoA carboxylase biotin carboxylase subunit 遺伝子に、変異が濃縮されてきた。これらは、それぞれ異なる3系統で同じ遺伝子の異なる位置に変異が生じているため、それぞれの濃度のリン酸制限選択圧によって積極的に濃縮された結果と推定された。これらの共通した遺伝子にみられる変異以外にも、平均 3 個/ゲノム程度の変異が見つかり、変異原処理で導入される平均変異数より大きな値であった。本研究では、表現型による選択圧実験をこれ以上は行っていないが、ゲノム変異ライブラリーを効率よく構築する方法として各種ストレスをかけ、様々なベクトルの変異を濃縮する方法は効果的かもしれない。

### (4) 色素欠損株出現から判断するシステムサイズ

高度好塩性好アルカリ性古細菌 *N. pharaonis* は、細胞膜上にバクテリオルベリン(Brub)を持つため特徴的な赤色をしている。この色素の多寡によってこの古細菌コロニーの色合いが微妙に変化するが、Brub 合成系に異常が生じると完全な白色コロニーを生じる。UV 照射実験全体（照射していないものを含む）を通して、およそ5万コロニー程度をスクリーニングして、4つの白色変異株を単離した。これらは、全てバクテリオルベリン合成経路の直前にあるフィトエン

合成系にある1つの遺伝子(*crtB*)に異なる変異があった。遺伝子サイズは900bp程度であり、さらにその中で遺伝子機能を変える割合を1/3として、およそ3Mbpのゲノムの1/10000を占める。ここで、ゲノムあたりの平均変異数を0.5と仮定すると、これが*crtB*に1つおちるために必要な株は、20000である。5万コロニーでは、2.5個の期待値になるので4つはほぼ期待された数字と言える。バクテリオルベリン合成系には*crtB*以外の遺伝子も多数存在するが、*crtB*遺伝子にしか落ちなかったのは、他の遺伝子には重複経路が存在することや致死になる遺伝子が含まれていることが原因と考えられた。”色”という表現型を予め選択することで効率的にゲノム変異が決めることができたが、平均変異数1個/ゲノム程度のランダムライブラリー(分散も1程度のポアソン分布を示す)から白色の表現系を得るためには、最低10000のゲノム解析を行う必要がある。これは、その多数が変異を持たない株であることを考慮すると、別の表現型のスクリーニングには使えない非常に効率が悪いライブラリーであり、前項で述べた通り、最初から何らかの表現型を選択することで変異ゲノムを濃縮しておくことが重要であることを示している。

#### (5)まとめ

十分な変異数を持つランダム変異ライブラリーを構築するために様々な手法を試した。その過程において、これまで変異を効率的に導入できると考えられていたUV処理やEMS変異などの変異原処理が、生存率が極めて低くなる処理条件においてもそれほど多数の変異が導入されるわけではないことを、大量ゲノム解析を行うことで確認した(UV変異導入の場合に最大で平均0.5/ゲノム程度)。現時点の変異導入率の状況のまま遺伝子の機能推定を行う場合には、なんらかの表現型選択圧をかけることで、変異が導入された株を効果的に選別できることを示した。また、大量ゲノム解析を行うことで、凍結保存株に存在する潜在的なゲノム多様性も明らかになった。並列化処理(培養からシーケンスまで)のハイスループット化の工夫を凝らす段階も含めて、高度好塩性好アルカリ性古細菌 *N. pharaponis* 約1000株、分裂酵母 *S. pombe* 164株、糸状性藍藻128株、のゲノム解析を行った。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 14件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Shunji Nakano, Muneki Ikeda, Yuki Tsukada, Xianfeng Fei, Takamasa Suzuki, Yusuke Niino, Rhea Ahluwalia, Ayana Sano, Rumi Kondo, Kunio Ihara, Atsushi Miyawaki, Koichi Hashimoto, Tetsuya Higashiyama, Ikue Mori	4. 巻 117
2. 論文標題 Presynaptic MAST kinase controls opposing postsynaptic responses to convey stimulus valence in <i>Caenorhabditis elegans</i> .	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America	6. 最初と最後の頁 1638-1647
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1909240117	査読の有無 有
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)	国際共著 -
1. 著者名 Mizukami T, Furuzawa S, Itoh SG, Segawa S, Ikura T, Ihara K, Okumura H, Roder H, Maki K	4. 巻 117
2. 論文標題 Energetics and kinetics of substrate analog-coupled staphylococcal nuclease folding revealed by a statistical mechanical approach.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America	6. 最初と最後の頁 19953-19962
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1914349117	査読の有無 有
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)	国際共著 -
1. 著者名 Matsuo Takuya, Iida Takahiro, Ohmura Ayumi, Gururaj Malavika, Kato Daisaku, Mutoh Risa, Ihara Kunio, Ishiura Masahiro	4. 巻 16
2. 論文標題 The role of ROC75 as a daytime component of the circadian oscillator in <i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS GENETICS	6. 最初と最後の頁 e1008814
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pgen.1008814	査読の有無 有
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)	国際共著 -
1. 著者名 Enomoto Shigeaki, Shimane Yasuhiro, Ihara Kunio, Kamekura Masahiro, Itoh Takashi, Ohkuma Moriya, Takahashi--Ando Naoko, Fukushima Yasumasa, Yoshida Yasuhiko, Usami Ron, Takai Ken, Minegishi Hiroaki	4. 巻 70
2. 論文標題 <i>Haloarcula mannaniilytica</i> sp. nov., a galactomannan-degrading haloarchaeon isolated from commercial salt	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 INTERNATIONAL JOURNAL OF SYSTEMATIC AND EVOLUTIONARY MICROBIOLOGY	6. 最初と最後の頁 6331-6337
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1099/ijsem.0.004535	査読の有無 有
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)	国際共著 -

1. 著者名 Sugawara Keita, Toyoda Hayato, Kimura Mami, Hayasaka Shunsuke, Saito Hiromi, Kobayashi Hiroshi, Ihara Kunio, Ida Tomoaki, Akaike Takaaki, Ando Eiji, Hyodo Mamoru, Hayakawa Yoshihiro, Hamamoto Shin, Uozumi Nobuyuki	4. 巻 478
2. 論文標題 Loss of cell wall integrity genes cpxA and mrcB causes flocculation in Escherichia coli	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BIOCHEMICAL JOURNAL	6. 最初と最後の頁 41-59
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1042/BCJ20200723	査読の有無 有
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)	国際共著 -
1. 著者名 Amemiya S, Toyoda H, Kimura M, Saito H, Kobayashi H, Ihara K, Kamagata K, Kawabata R, Kato S, Nakashimada Y, Furuta T, Hamamoto S, Uozumi N.	4. 巻 294
2. 論文標題 The mechanosensitive channel YbdG from <i>Escherichia coli</i> has a role in adaptation to osmotic up-shock.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Biol Chem.	6. 最初と最後の頁 12281-12292
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA118.007340	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Uemura M, Hayashi F, Ishioka K, Ihara K, Yasuda K, Okazaki K, Omata J, Suzutani T, Hirakawa Y, Chiang C, Aoyama A, Ohira T.	4. 巻 58
2. 論文標題 Obesity and mental health improvement following nutritional education focusing on gut microbiota	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Eur J Nutr.	6. 最初と最後の頁 3291-3302
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00394-018-1873-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Shimmura T, Tamura M, Ohashi S, Sasaki A, Yamanaka T, Nakao N, Ihara K, Okamura S, Yoshimura T.	4. 巻 9
2. 論文標題 Cholecystokinin induces crowing in chickens.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 3978
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-40746-9	査読の有無 有
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)	国際共著 -

1. 著者名 Imai Y, Shimasaki T, Enokimura C, Ohtsuka H, Tsubouchi S, Ihara K, Aiba H.	4. 巻 84
2. 論文標題 <i>gas1</i> mutation extends chronological lifespan via Pmk1 and Sty1 MAPKs in <i>Schizosaccharomyces pombe</i>.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biosci Biotechnol Biochem.	6. 最初と最後の頁 330-337
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09168451.2019.1676695	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kouyama Tsutomu, Ihara Kunio	4. 巻 1864
2. 論文標題 Two substates in the O intermediate of the light-driven proton pump archaerhodopsin-2	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes	6. 最初と最後の頁 183919 ~ 183919
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbamem.2022.183919	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Terashima Hiroyuki, Hori Kiyoshiro, Ihara Kunio, Homma Michio, Kojima Seiji	4. 巻 12
2. 論文標題 Mutations in the stator protein PomA affect switching of rotational direction in bacterial flagellar motor	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 2979-29XX
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-06947-5	査読の有無 有
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)	国際共著 -

1. 著者名 Matsui Kotaro, Okamoto Keisuke, Hasegawa Tomoka, Ohtsuka Hokuto, Shimasaki Takafumi, Ihara Kunio, Goto Yuhei, Aoki Kazuhiro, Aiba Hirofumi	4. 巻 26
2. 論文標題 Identification of <i>ksg1</i> mutation showing long lived phenotype in fission yeast	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 967 ~ 978
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12897	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -



1. 著者名 Takekawa Norihiro, Nishikino Tatsuro, Yamashita Toshiki, Hori Kiyoshiro, Onoue Yasuhiro, Ihara Kuno, Kojima Seiji, Homma Michio, Imada Katsumi	4. 巻 170
2. 論文標題 A slight bending of an <i>-helix</i> in FlIM creates a counterclockwise-locked structure of the flagellar motor in <i>Vibrio</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Biochemistry	6. 最初と最後の頁 531 ~ 538
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvab074	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kurauchi Tatsuhiro, Matsui Kotaro, Shimasaki Takafumi, Ohtsuka Hokuto, Tsubouchi Satoshi, Ihara Kuno, Tani Motohiro, Aiba Hirofumi	4. 巻 368
2. 論文標題 Identification of <i>sur2</i> mutation affecting the lifespan of fission yeast	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 FEMS Microbiology Letters	6. 最初と最後の頁 1-7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/femsle/fnab070	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 上坂一馬, 井原邦夫
2. 発表標題 ゲノムから見直す微生物分類の再考 --- <i>Vibrio alginolyticus</i> の場合 ---
3. 学会等名 第15回 日本ゲノム微生物学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 井原邦夫, 上坂一馬
2. 発表標題 微生物ゲノムライブラリーを手軽で格安に作る - 1 コインゲノム解析を目指して
3. 学会等名 第14回 日本ゲノム微生物学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 井原邦夫、上坂一馬、松尾佳祐
2. 発表標題 UV c 照射によるゲノム変異導入は効果的な方法か？
3. 学会等名 第 59 回 日本生物物理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 神山勉、井原邦夫
2. 発表標題 バクテリオロドプシンの光反応サイクルにおける 2 種類の0中間体の存在
3. 学会等名 第 59 回 日本生物物理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松尾佳祐、井原邦夫、上坂一馬
2. 発表標題 高度好塩性好アルカリ性古細菌 <i>Natronomonas pharaonis</i> を用いた大量変異導入と全ゲノムシーケンス解析の実験系の開発
3. 学会等名 第33回 日本Archaea研究会 講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 藤島 百花、上坂 一馬、平田 香織、藤田 祐一、井原 邦夫、寺内 一姫
2. 発表標題 嫌気環境で生育不良を示すシアノバクテリア <i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803 変異株の網羅的遺伝子発現解析
3. 学会等名 第15回 日本ゲノム微生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 上坂一馬、井原邦夫
2. 発表標題 近縁微生物ゲノムが存在する場合の簡易ゲノムフィニッシング手法
3. 学会等名 第14回 日本ゲノム微生物学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松井 滉太郎、岡本 啓佑、長谷川 朋香、島崎 高史、大塚 北斗、井原 邦夫、中村 彰伸、後藤 祐平、青木 一洋、饗場 浩文
2. 発表標題 経時寿命が延長する分裂酵母変異株のスクリーニングと新規寿命関連因子の同定
3. 学会等名 第14回 日本ゲノム微生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 馬場真理、上坂一馬、戸松千映、山本治樹、井原邦夫、藤田祐一
2. 発表標題 シアノバクテリア <i>Leptolyngbya boryana</i> の光合成依存的な窒素固定生育に関わる遺伝子群の探索
3. 学会等名 第16回 日本ゲノム微生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松尾佳祐、井原邦夫、上坂一馬
2. 発表標題 大量ゲノム解析に基づいた UVC 照射法による変異導入効率の評価
3. 学会等名 第16回 日本ゲノム微生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 上坂一馬、馬場真理、藤田祐一、井原邦夫
2. 発表標題 Tn挿入ライブラリからゲノム変異を網羅的に検出するワークフローの開発
3. 学会等名 第16回 日本ゲノム微生物学会年会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	藤田 祐一  (Fujita Yuichi)	生命農学研究科・教授  (13901)	
研究協力者	饗場 浩文  (Aiba hirofumu)	創薬科学研究科・教授  (13901)	

7. 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

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------