

機関番号：14401

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008～2010

課題番号：20370092

研究課題名（和文）耐熱化過程におけるゲノムネットワークの解析

研究課題名（英文）Genome Network Analysis in thermo-tolerant evolution of *Escherichia coli*

研究代表者

四方 哲也 (Yomo Tetsuya)

大阪大学・大学院情報科学研究科・教授

研究者番号：00222399

研究成果の概要（和文）：

生物進化メカニズムをゲノム変異、遺伝子発現、タンパク質機能と関連させたゲノムネットワークレベルで解明するために、大腸菌耐熱進化過程を題材とし、高温環境への耐熱進化大腸菌の創出、耐熱進化過程の大腸菌のゲノム変異解析、遺伝子発現解析、発現タンパク質解析を行い、高温適応進化過程においての変異率上昇による自然選択から中立進化への変遷、遺伝子発現の揺らぎの増大と収束、タンパク質耐熱化を伴わない細胞レベルの耐熱化等が耐熱進化に寄与していることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

For elucidation of the mechanism of evolution, we have developed thermo-tolerant *E. coli* and analyzed mutation of genome DNA, gene expression (transcriptome), and protein expression and thermo-stability (proteome) of several strains of *E. coli* through thermo-tolerant evolution process. Whole-genome sequence analysis revealed the transition from positive to neutral in mutation fixation, accompanied with a considerable escalation of spontaneous substitution rate in the late fitness recovery phase. Moreover, transcriptome analysis revealed transition from increase to convergence in fluctuation of gene expression, and proteome analysis revealed that no remarkable change in thermo-stability of expressed proteins.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	8,100,000	2,430,000	10,530,000
2009年度	4,400,000	1,320,000	5,720,000
2010年度	3,400,000	1,020,000	4,420,000
年度			
年度			
総計	15,900,000	4,770,000	20,670,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・進化生物学

キーワード：トランスクリプトーム解析、プロテオーム解析、耐熱化機構、大腸菌

1. 研究開始当初の背景

生物は外部環境変化に対し連続的に適応進化し今日に至っている。バクテリアにおいては Woose の研究により (Woose *et al.*, *PNAS*, 87, 4576-4579, 1990) 全バクテリアの共通祖先である子もノートから真正細菌と古細菌が分かれ、その後古細菌からカビにという方向

で進化したと考えられるが、実際の進化要因となった細胞内部の変化内容の詳細やその変化量は不明である。このような進化要因の同定と定量解析には、実験室進化系を用いた進化の再現と各種細胞内因子の解析と変化の定量が必須である。しかしながら研究開始当初の背景は以下のようなものであった。

生命進化と分子進化の相関解析に関しては、多種類の生物ゲノム遺伝子データからの系統解析例が多数報告されているが、生物種分化の断絶をまたいだ分子進化結果解釈であり、温度1℃の耐熱化に必要とされる平均変異量といった連続的進化での分子レベルの変化量は不明である。

ストレス適応時の分子進化の解析に関しては、ゲノム中の中立な変異の出現と自然選択で進化が進むと考えられているが、ストレス適応時に機能する部分（転写領域等）の進化速度は他の部分とどう異なるか？タンパク質機能による選択によらない転写レベルで進化速度は変化するのか？等、未解析の領域が多数存在している。

遺伝子変異によるタンパク質機能変化と生命システム進化の相関に関しては、様々な遺伝子変異とタンパク質機能進化は多数報告されているが、タンパク質機能変化の集積で生命進化を説明可能か？代謝産物等を含む外部環境因子が進化後の生命機能に影響を与えているか？等のタンパク質機能以外の進化要因解析や、転写レベル、システムレベルでの進化機構解析は例がない。

実験室進化系で用いられる生物種で2-3年という研究期間で連続的に進化を観察できるものは、大腸菌以外には考えにくく、実際に大腸菌での連続進化過程の報告は Lenskiらによる 37℃での長期間継代解析 (Lenski RE., *et al.*, *PNAS*, 91, 6808-14, 1994) があるのみで、耐熱進化に関しては温度上昇に対する進化形質を比較解析したものはある (Bennett AF., *et al.*, *EXS*, 83, 135-154, 1997) が、温度等の環境ストレスに対する連続的進化過程をゲノムワイドに網羅的解析を行った例はない。研究分担者は、39, 41, 43, 45℃に連続的に適応・進化した大腸菌を創出・保有し、現在も更なる高温適応・進化を継続中であり、これら連続進化大腸菌の網羅的解析が可能な状況である。

研究技術面では、ゲノムワイドな解析を網羅的に多検体で行うには DNA チップ等の High Through Put な系が必要であるが、ゲノム配列解析と発現解析を共に可能とする DNA チップの開発・進化解析への応用例はない。また、高温適応進化した大腸菌の発現解析、ゲノム解析はそれぞれ特定の細胞株で行われている (Riehle MM., *et al.*, *PNAS*, 98, 525-530, 2001 & *Physiol. Genomics*, 14, 47-58, 2003, Cooper TF., *et al.*, *PNAS*, 100, 1072-77, 2003) が、連続進化系を用いたゲノム解析とトランスクリプトーム解析の複合解析例はない。近年申請者は、大腸菌のゲノム点変異と遺伝子発現解析の両方を一塩基レベルで詳細に解析可能な新たなタイリングアレイと解析プロトコルを開発しており、研究分担者の連続進化大腸菌との組み合わせでこれまでに例のない連続

進化の網羅的解析系の構築が可能な状況である。

以上のような背景より本研究が採択されを開始した。

2. 研究の目的

まず一次情報として以下のことを明らかにする。

- ・未知の 45℃以上に適応した大腸菌の創出。
- ・高温適応進化過程における大腸菌の増殖速度、細胞形状、細胞構造、細胞あたりのタンパク質発現等の生理学的情報を 1 細胞レベルで取得し、細胞集団としての統計解析により平均値としての集団特性と分散から得られる集団特性の揺らぎ情報を取得する。

- ・現在保有の全高温適応大腸菌 (39, 41, 43, 45℃) を用い、

- (1) 全ゲノム配列解析、トランスクリプトーム解析を行い、全変異情報、発現遺伝子情報、進化速度、GC 含量等の網羅的情報
- (2) 各温度適応大腸菌において特徴的に発現するタンパク質、温度安定性の向上したタンパク質のプロテオーム解析情報 等をデータベース化する。

- ・各温度適応株をより高温状態におきストレス条件下においた時の大腸菌を用い

- (1) ゲノム変異情報、発現遺伝子のトランスクリプトーム解析情報
- (2) 耐熱化タンパク質の高温ストレス耐性のプロテオーム解析情報等を取得する。

以上の結果より二時情報として、

- ・ストレス受容期から進化後の安定増殖期における発現遺伝子変化とゲノム変異の相関
- ・ゲノム変異と遺伝子発現量、パターンの相関
- ・ストレス受容期、安定増殖期等の様々な大腸菌における進化速度
- ・遺伝子変異とタンパク質機能相関 等を明らかにし、**温度1℃あたりの進化に必要な変異量等の進化における定量的情報を明らかにする。**

また総合検討として、「ストレス受容期～耐熱進化までの遺伝子発現、タンパク質発現の質的・量的変化がゲノム変異（進化）と質的・量的にどのように相関し、細胞機能進化、生理状態変化にどのように関わるかを解析することで分子進化とシステム進化の動的相関を明らかにし、実際のバクテリアの進化で生じたことが説明できるかを検証する。」

3. 研究の方法

- (1) 耐熱進化大腸菌の構築
進化の出発大腸菌として *DHI*

$\Delta leuB::(gfpuv5-km^r)$ を用いた。培養の培地は、modified M63 medium (62 mM K₂HPO₄, 39 mM KH₂PO₄, 15 mM ammonium sulfate, 1.8 mM FeSO₄·7H₂O, 15 mM thiamine hydrochloride, 0.2 mM MgSO₄·7H₂O, and 22 mM glucose) に 2 mM leucine (Wako), 25 mg/mL of kanamycin sulphate (Sigma) を加えたものを使用した。培養は、各温度で 24 時間後の OD600 が 0.1~0.2 となるよう対数増殖を維持しながら毎日継代培養を行った。24 時間で 0.1 を超えない場合は、更に 24 時間培養を行った。43°C 以上で 2 日以上増殖がみられない場合は、24 時間 37°C に戻して培養し、菌数が増えた後、適応温度での培養を再開した。増殖速度は、 μ (1/h) = ln(OD600 at 24 h) / OD600 at 0h / culture time (h) にて算出した。

(2) 耐熱進化大腸菌のゲノム解析

高密度 DNA タイリングアレイによるゲノムリサーチを行った。タイリングアレイの設計としては、野生型大腸菌 W3110 のゲノム配列情報を参考に、1塩基ずつずらした 21塩基長さの PMプローブと 11番目が異なった塩基を持つ MMプローブの合計 18.6 million 個プローブを 3枚ジーンチップに載せた。進化過程の各大腸菌株のゲノムを抽出して、3枚のジーンチップにかけた。実験手順は Affymetrix 社のプロトコルに従って実行した。変異検出のアルゴリズムに関しては、maximum likelihood estimation で評価した。詳細は別論文でまとめた。検出されたゲノム変異の中では、RNA が含まれていない。

(3) 発現解析

3枚ジーンチップのうち1枚を使って、細胞内全遺伝子の転写レベルを定量した。指数増殖期にいる大腸菌を回収し、total RNA を抽出した。逆転写反応から cDNA を取得し、断片化した。Biotin ラベル、hybridization などは Affymetrix 社のプロトコルに従って実行した。シグナルデータから mRNA 濃度までの変換は、F Hモデルを利用した。各実験条件を3回ずつ行って、それらの平均値を使って評価した。

(4) タンパク質解析

タンパク質解析は、各対象となる菌株ストックを適応温度で2オーバーナイト継代培養した後、適応温度で100ml 培養 (mM63 培地を使用) し、24時間後集菌した。

回収した菌体は、菌体量の20倍の溶解バッファーに懸濁し、氷上で超音波破碎した。破碎液を 30000rpm 4°C 1時間 (Beckman 50.2Ti roter) で遠心分離し、不溶性分画と可溶性分画に分けた。それぞれを BCA Protein Assay にてタンパク量を定量した。可溶性分画は、40, 50, 60°C にて30分間~2時間熱処理した後、SDS-PAGE にてタンパク質組成を分析した。発現量の変動が大きいタンパク質に関しては、トリプシン処理後 Magic 200-LCQ

Deca (ThermoFisher Scientific) の質量分析システムを用いてタンパク質同定を行った。

4. 研究成果

(1) 大腸菌耐熱進化株の連続的創出と細胞レベル解析

① 研究開始当初、45°C 適応大腸菌の創出に成功していたため、45°C 適応大腸菌を出発細胞として更なる大腸菌耐熱進化株の作製を試みた。大腸菌耐熱進化株の連続的創出に関しては、45°C 適応大腸菌に +0.2 もしくは +1.0°C 上昇による高温適応進化を実施し、46.6~47.0°C に適応した3株の大腸菌の構築に成功した (図1)。

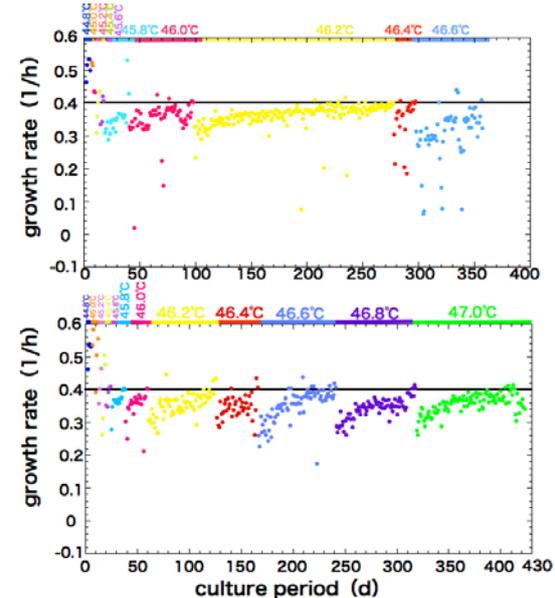


図1 +0.2°C 進化系による大腸菌耐熱進化株の構築

上図: +0.2°C 進化株-1

下図: +0.2°C 進化株-2

② 進化系譜における大腸菌をフローサイトメーター (FACS) により解析した結果、適応温度の上昇と共に細胞サイズ (Forward scatter: FSC) と細胞の複雑性 (Side scatter: SSC) が増加するが、細胞の大きさあたりの複雑性は減少する傾向が見られた。このことは、高温適応進化により細胞の増大と内部環境変化が一定の方向性で生じている可能性が示唆された。

(2) 耐熱進化株のゲノム、トランスクリプトーム解析

45°C 適応過程の大腸菌に関してゲノム解析および増殖度解析を行い以下の結果を得た。解析に使用した株は、進化前の先祖株 (Anc), 37°C で長期培養した株 (37L), 41°C 適応し 43°C に培養温度を変化させる直前の分岐点株 (41B), 43°C 適応し 45°C に培養温度を変化させる直前の分岐点株 (43B), 45°C で 88 日培養し 45°C にかなり適応した株 (45A), 45°C に完

全に適応した最終適応株(45L)を使用した。これらの株の系譜を図2に示す。

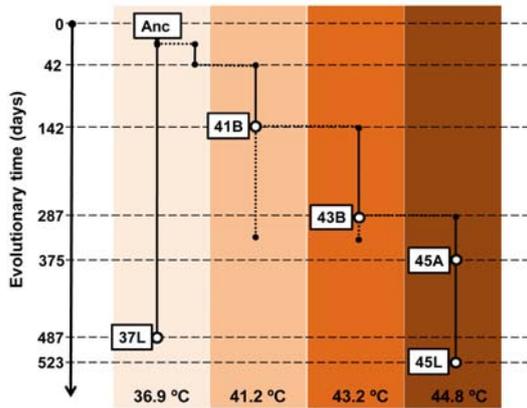


図2 解析に使用した耐熱進化と解析対象株

これらの株の耐熱進化過程における増殖速度の変遷を図3に示す。全ての過程で、培養温度変化後初期の早い増殖速度の回復過程とそれに続くゆっくりとした増殖速度の増加を示す過程が存在することが確認された。

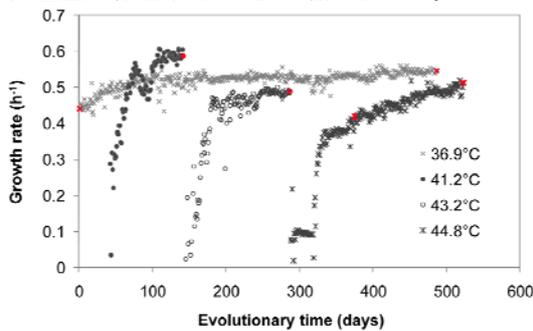


図3 大腸菌高温適応進化過程での増殖速度の変遷
赤の印はそれぞれ解析に使用した株を示す。

これらの株の培養温度による増殖特性を解析した結果、45°C適応45L株では45.9°Cまでの増殖を確認し、進化前の先祖株Ancに対し4.7°Cの耐熱性を獲得していることを確認した(図4)。

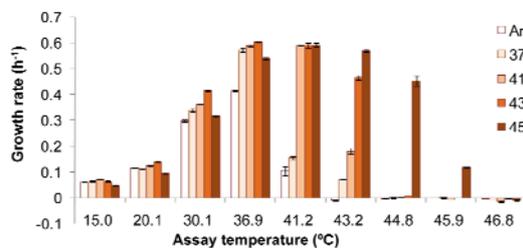


図4 解析使用株の培養温度依存的増殖特性

以上の株を用いてゲノム解析を行いその辺胃部位を特定し、進化的考察を行った。

- ① タイリングアレイの変異解析結果を生データレベルで統計的再解析し、サンガー

法も用いて全変異に対してシーケンスを行って、ゲノム変異を確定した。1塩基置換以外に、挿入と欠損配列も同定した。

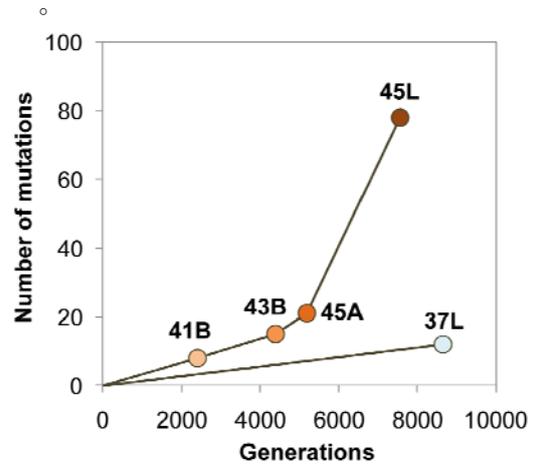


図5 進化過程の世代数と変異数の相関

その結果、耐熱進化過程では37°Cでの長期培養に比べ変異の数が増加しているが、45Aから45Lの過程において非常に変異が増加していることが明らかとなった。これをまとめたものが Table 1 である。

Table 1. Mutations occurring in the various evolution periods.

Evolutionary period	Number of SNPs	Number of InDels
Anc→37L	7	5
Anc→41B	6	2
11B→43B	3	1
43B→45A	2	4
45A→45L	46	11

The numbers of the single-nucleotide substitution (SNPs) and the small insertion and/or deletion (InDels) occurring in the various evolution periods were summarized. No large InDel was detected.
doi:10.1371/journal.pgen.1001164.t001

- ② 突然変異率上昇に関しては、ゲノム変異解析だけではなく、遺伝学的に薬耐性のプレート実験により突然変異率が2桁上昇したことを検証した。そのため、45°Cに耐熱進化した大腸菌株がmutatorであることが証明された。
- ③ 耐熱進化過程では、37°Cから43°Cまでの進化過程では、 Ka/Ks 値(分子進化の指標)が1より大きいため、正の選択がかかっていることに対し、45°Cでの適応進化の過程では、 Ka/Ks 値がほぼ1であるため、中立的であることが分かった。これは、初めての実験的な証拠であると考えられる (Table 2)。

Table 3. Synonymous substitution rate.

Evolutionary period	Generation	Number of single nucleotide substitutions				Synonymous substitution rate (10 ⁻⁷)		
		Noncoding region	Synonymous (S)	Non-synonymous (N)	K _a /10 ⁻⁷	K _s /10 ⁻⁷	K _a /K _s	K _a /K _s
43°C→45°C	2000	0	1	6	1.5	1.0	1.5	1.5
41°C→43°C	7425	0	1	5	1.6	1.0	1.5	4.3
41°C→45°C	1540	0	5	1	0.6	0.0	Infinite	0.0
43°C→45°C	750	0	2	2	0.6	0.0	Infinite	0.0
41°C→45°C	1500	2	14	14	10.0	1.0	0.0	10

We did not measure the frequency of non-synonymous (N) and synonymous (S) substitutions, respectively, with the rest of our variables, and some estimates according to the following equation: $K_a = \frac{\text{Number of non-synonymous substitutions}}{\text{Number of amino acid positions}}$ and $K_s = \frac{\text{Number of synonymous substitutions}}{\text{Number of amino acid positions}}$.

Number of the total synonymous substitutions
 $K_s = \frac{\text{Number of synonymous substitutions}}{\text{Number of amino acid positions}}$

The probability of synonymous and non-synonymous substitutions was 2/30 and 6/30, respectively, based on the length of the 3' UTR region of the *groEL* gene. The number of synonymous and non-synonymous substitutions was 2/30 and 6/30 for the probability of the total amino acid positions. The number of synonymous substitutions from the 3' UTR to the 5' UTR was approximately twice from the number of non-synonymous substitutions from the 3' UTR to the 5' UTR. The number of synonymous substitutions from the 5' UTR to the 3' UTR was approximately twice from the number of non-synonymous substitutions from the 5' UTR to the 3' UTR.

④ 中立的進化過程にもかかわらず、適応度の指標である増殖速度が持続的に増加していることが初めての発見である (Table 3)。

Table 4. Contribution of non-synonymous substitutions to fitness increase.

Period	Non-synonymous (N)	Initial growth (h ⁻¹)	Final growth (h ⁻¹)	Relative fitness	Fitness increase (2)
41°C→43°C	5	0.27	0.39	1.43	0.32
41°C→45°C	2	0.02	0.40	48.00	1.00
43°C→45°C	7	0.06	0.45	7.50	1.74
41°C→45°C	10		49.07	6.75	

Initial growth and final growth are measured in the same condition and the divergence period of fitness increase, respectively, as indicated in Table 2. Relative fitness is the ratio of the final and initial growth rates. Fitness increase (2) represents the average fitness increase measured by growth measurements.

これらの結果から、中立進化と適応進化の渡し橋が見つかることが期待される。以上の結果は、PLoS Genetics vol. 6 e1001164に掲載された。

ジーンチップを用いて、耐熱進化株のトランスクリプトーム解析を行った。耐熱進化過程の各大腸菌株をそれぞれの適温条件下での遺伝子発現を調べたところ、シグマ70因子による転写制御が変わっていることが分かった。各大腸菌のゲノム配列を解析した結果、高温適応に際して僅かなゲノム変異数で達成されていることが分かった。特にプロモーター領域の変異がトランスクリプトーム解析の遺伝子発現と正の相関がみられた。また各耐熱大腸菌のゲノムGC含量を計測し、耐熱進化に伴いGC含量が変わっていないことが明らかとなった。耐熱化に伴う正の選択から中立進化への変化も観察された。

(3) 高温ストレス条件下の大腸菌のゲノム、トランスクリプトーム解析

進化分岐点の大腸菌を含む37, 39, 41, 43, 45°C適応株をそれぞれ瞬間的な高温に暴露した時、ヒートショックストレス応答がどんな株でも観察された。瞬間応答の仕組みは耐熱進化に影響されていないことが分かった。発現遺伝子領域の発現レベル変動とゲノム変異が正の相関がみられた。発現量の高い遺伝子がより有意に変異が入ったことが分かった。

(4) 耐熱大腸菌特異的タンパク質、耐熱性獲得タンパク質等のプロテオーム解析

41°C、43°C、45°Cと徐々に高温適応した大腸菌株について、その進化過程の途中の株の可溶性細胞抽出液のタンパク質組成を電気泳動にて分析し、45°Cで発現の上昇や消失が見られるタンパク質および 60°C 2時間処理

に耐性を有するタンパク質を数種類見いだし、質量分析によるタンパク質同定を行った。その結果、分子シャペロン (GroEL) や細胞内酸化ストレスに関与するタンパク質、解糖系酵素を同定した。しかしながら、高温処理への耐性に優れた耐熱化されたタンパク質は検出されず、大腸菌の耐熱化は、個々の構成タンパク質の耐熱化によるものではなく、細胞内部のネットワーク全体として高温環境へ適応した結果と考えるのが妥当であると考えられた。

先の検討より、高温環境適応株では、分子シャペロン GroEL の高発現が見られることが確認された。しかもゲノム解析により、45°C適応過程において GroEL への変異導入が確認された。そこで 45°C適応過程で GroEL 変異前後の適応過程の大腸菌株に関して、変異率と大腸菌内の可溶性・不溶性タンパク質の解析を行い、GroEL 変異前後では大きな変異率の変動は無く 45°C変更直前の 43°C適応株と 45°C完全適応株の中間の変異率を示すこと、その期間中の可溶性・不溶性タンパク質の組成に大きな変動が無いことを確認した。

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18件)

- ① Toshihiko Kishimoto, Leo Iijima, Makoto Tatsumi, Naoaki Ono, Ayana Oyake, Tomomi Hashimoto, Moe Matsuo, Masato Okubo, Shingo Suzuki, Kotaro Mori, Akiko Kashiwagi, Chikara Furusawa, Bei-Wen Ying, Tetsuya Yomo. (2010) Transition from positive to neutral in mutation fixation along with continuing rising fitness in thermal adaptive evolution. PLoS Genetics, 6 巻 10, e1001164, 査読有
- ② Takaaki Horinouchi, Kuniyasu Tamaoka, Chikara Furusawa, Naoaki Ono, Shingo Suzuki, Takashi Hirasawa, Tetsuya Yomo, Hiroshi Shimizu. (2010) Transcriptome analysis of parallel-evolved Escherichia coli strains under ethanol stress. BMC Genomics, 11 巻 579, e579, 査読有
- ③ Matsuura, T., Kazuta, Y., Aita, T., Adachi, J., Yomo, T. (2009) Quantifying epistatic interactions among the components constituting the protein translation system. Molecular Systems Biology, 5 巻 297, 査読有
- ④ Ito, Y., Toyota, H., Kaneko, K., Yomo, T. (2009) How selection affects phenotypic fluctuation. Molecular Systems Biology, 5 巻 264, 査読有

[学会発表] (計55件)

- ① Bei-Wen Ying, Kazuki Kitahara, Leo Iijima, Naoaki Ono, Shingo Suzuki, Chikara

Furusawa, Tetsuya Yomo, Genome-wide mutation and transcriptional reorganization in the thermal adaptive Escherichia coli from laboratory evolution, BMB2010 (第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会 合同大会), 神戸ポートアイランド, 2010年12月7日

② Toshihiko Kishimoto, Saeko Shimada, Ayana Oyake, Tomomi Hashimoto, Tetsuya Yomo, Construction of high temperature genetic engineering system for thermo-tolerant E. coli, BMB2010 (第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会 合同大会), 神戸ポートアイランド, 2010年12月7日

③ 四方哲也, 複雑システムとしての生物の進化, 理研ASI細胞システムコロキウムシリーズI「理論生物学」, 鈴木梅太郎記念ホール(理化学研究所和光キャンパス), 2010年12月3日

④ 四方哲也, 細胞の個性と環境応答, JSME26(第26回日本微生物生態学大会), 筑波大学, 2010年11月26日

⑤ 應蓓文、北原和樹、飯島玲生、小野直亮、古澤力、鈴木真吾、岸本利彦、四方哲也, 長期実験室内進化からみた大腸菌の変異と発現の変遷, 第12回日本進化学会大会, 東京工業大学大岡山キャンパス, 2010年8月3日

⑥ Bei-Wen Ying, Saburo Tsuru, Yuki Matsumoto, Yoshihiro Shimizu, Yoichiro Ito, Tetsuya Yomo, Biological Noise Induced Gene Production in Bacteria—a Universal Principle in the Adaptive Response to Starvation, ibio2010, Dalian Municipal Party Committee Hotel, China, 2010 July.25

⑦ Yomo, T., Constructive approach to proto-cellular life., UK-Japan Workshop on Synthetic Biology, British Embassy, Tokyo, 2010 Jan.21

⑧ インベイウエン、北原和樹、飯島玲王、小野直亮、鈴木真吾、岸本利彦、古澤力、四方哲也, Genome-wide analysis of thermal adaptive Escherichia coli from laboratory evolution., 第32回日本分子生物学会年会, パシフィコ横浜, 2009年12月10日

⑨ 小宅綾菜、橋本智美、青柳美穂、岸本利彦、四方哲也, 大腸菌高温適応進化過程における細胞間相互作用の増殖速度への影響, 第32回日本分子生物学会年会, パシフィコ横浜, 2009年12月12日

⑩ Bei -Wen Ying, Yoichiro Ito, Yoshihiro Shimizu, Yuki Matsumoto, Junya Ichinose, Saburo Tsuru, Tetsuya Yomo, Phenotypic fluctuation induced biological adaptation., 第47回日本生物物理学会年会,

徳島文理大学, 2009年10月30日

⑪ 四方哲也, 大腸菌ゲノムの高温適応進化, 「細胞を創る」研究会2.0, 東京大学鉄門記念講堂, 2009年10月3日

⑫ Yomo, T., Phenotypic fluctuation in experimental evolution., International Symposium on Complex System Biology, The University of Tokyo, Japan, 2009 Sep. 30

⑬ Yomo, T., How Darwinian selection affects phenotypic fluctuation., 13th Evolutionary Biology Meeting at Marseilles, Marseilles, France, 2009 Sep. 25

⑭ 四方哲也, 遺伝子発現揺らぎを用いた適応応答, 日本遺伝学会第81回大会, 信州大学, 2009年9月17日

⑮ 應蓓文、北原和樹、飯島玲生、小野直亮、鈴木真吾、岸本利彦、古澤力、四方哲也, 実験室内進化させた高温適応大腸菌のゲノムワイド解析, 第11回日本進化学会大会, 北海道大学, 2009年9月4日

⑯ Yomo, T., Constructive approach to proto-cellular life., Workshop OQOL'09: Open Questions on the Origins of Life 2009, San Sebastian, Spain, 2009 May.21

⑰ 飯島玲生、小野直亮、鈴木真吾、岸本利彦、辰巳誠、森光太郎、インベイウエン、古澤力、四方哲也, 耐熱性を進化させた大腸菌のゲノム変異の解析, 第81回日本分子生物学会年会, 神戸ポートアイランド, 2008年12月10日

⑱ Yomo, T., Tsuru, S., Ichinose, J., Kaneko, K., Ying, B.W., Cellular fluctuation in protein concentration and its role on adaptive response, The 9th International Conference on Systems Biology., Goteborg, Sweden, 2008 Aug. 25

⑲ 岸本利彦、四方哲也, 大腸菌を使った耐熱化実験進化系の中で出現した相互作用を中心とした現象の解析, 第10回日本進化学会大会, 東京大学駒場キャンパス, 2008年8月23日

〔図書〕(計6件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計2件)

6. 研究組織

(1)研究代表者
四方 哲也 (Yomo Tetsuya)
大阪大学・大学院情報科学研究科・教授
研究者番号: 00222399

(2)研究分担者
岸本 利彦 (Kishimoto Toshihiko)
東邦大学・理学部・准教授
研究者番号: 90339200