

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 20 日現在

機関番号： 32675

研究種目： 基盤研究(A)

研究期間： 2009 ~ 2011

課題番号： 21241047

研究課題名（和文） 大腸菌の全ての転写因子の調節機能とネットワーク全体像の解明

研究課題名（英文） Regulatory Roles and Networks of the Whole Set of Transcription Factors in *Escherichia coli*

研究代表者

石浜 明 (ISHIHAMA AKIRA)

法政大学・企画戦略本部・特任教授

研究者番号： 80019869

研究成果の概要（和文）： ゲノム転写パターン of 決定制御機構の理解を目指し、大腸菌 RNA ポリメラーゼの転写対象遺伝子選択能を制御する、転写因子全 300 種の制御機能の解明を目標とした先端研究を実施し、以下の研究成果を得た。

- 1) Genomic SELEX 法を開発し、転写因子 300 種のノム上の結合部位を解析し、制御支配下遺伝子群を同定した。
- 2) NIP-chip 法を開発し、菌体内での転写因子作動遺伝子領域を解析した。
- 3) 転写因子遺伝子欠損システムを利用し、転写因子支配下遺伝子群の転写制御を実証した。
- 4) 特異抗体を作製し、転写因子細胞内濃度を決定した。
- 5) 転写因子の制御ネットワーク全体像を提案した。
- 6) ひとつの生物の全転写因子の制御機能を解明した、最初の成果となった。

研究成果の概要（英文）： The genome expression is determined by controlling the distribution of a limited number of RNA polymerase within the genome through interaction with transcription factors. The aim of this research was to identify the regulatory role of all 300 transcription factors in the model prokaryote, *Escherichia coli*.

- 1) We developed the *in vitro* Genomic SELEX screening system and determined the regulation target genes for all 300 transcription factors.
- 2) We also developed the *in vivo* NIP-chip system and determined the intracellular distribution of transcription factors within the *E. coli* genome.
- 3) The regulation targets thus predicted were examined by measuring their expression in the presence and absence of transcription factors.
- 4) We determined the intracellular levels of all 300 transcription factors by using quantitative immune-blot analysis.
- 5) Taking all the results together, I have proposed: (1) the list of regulation targets for all 300 transcription factors; and (2) the interaction network of 300 transcription factors, altogether forming complex hierarchic regulation networks.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	10,400,000	3,120,000	13,520,000
2010年度	12,600,000	3,780,000	16,380,000
2011年度	11,600,000	3,480,000	15,080,000
年度			
年度			
総計	34,600,000	10,380,000	44,980,000

- [査読有]
- ③ Yamanaka, Y., Ishihama, A. and Yamamoto, K.: Induction of Yde0, a regulator for acid resistance gene, by ultraviolet irradiation in *Escherichia coli*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **76**, 120041-1-2 (2012) [査読有]
- ④ Terui, Y., Akiyama, M., Sakamoto, A., Tomitori, H., Yamamoto, K., Ishihama, A., Igarashi, K. and Kashiwagi, K.: Increase in cell viability by polyamines through stimulation of the synthesis of ppGpp regulatory protein and σ^H protein in *Escherichia coli*. *J. Biochem. Cell Biol.* **44**, 412-422 (2012) [査読有]
- ⑤ Mitobe, J., Yanagihara, I., Ohnishi, K., Ishihama, A. and Watanabe, H.: RodZ (YfgA), a bacterial cytoskeletal protein, regulates expression of type III secretion system in *Shigella sonnei* through post-transcriptional processing. *EMBO Reports* **12**, 911-916 (2011) [査読有]
- ⑥ Ogasawara, H., Yamamoto, K. and Ishihama, A.: Cross-regulation between biofilm formation and flagella synthesis: Role of biofilm master regulator CsgD. *J. Bacteriol.* **193** (10), 2587-2597 (2011) [査読有]
- ⑦ Shimada, T., Bridier, A., Briandet, R. and Ishihama, A.: Novel roles of LeuO in transcription regulation in *E. coli*: Antagonistic interplay with the universal silencer H-NS. *Mol. Microbiol.* **81**, (2011) [査読有]
- ⑧ Shimada, T., Fujita, N., Yamamoto, K. and Ishihama, A.: Novel roles of cAMP receptor protein (CRP) in regulation of transport and metabolism of carbon sources. *PLoS ONE* **6**(6): e20081 (2011) [査読有]
- ⑨ Shimada, T., Yamamoto, K. and Ishihama, A.: Novel members of the Cra regulon involved in carbon metabolism in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* **193** (3), 649-659 (2011) [査読有]
- ⑩ Yamamoto, K., Ishihama, A., Busby, S. J. W. and Brainger, D. C.: The *Escherichia coli* K-12 MntR mini-regulon includes *dps* that encodes the major stationary phase DNA-binding protein. *J. Bacteriol.* **193** (6), 1477-1480 (2011) [査読有]
- ⑪ Ishihama, A.: Prokaryotic genome regulation: Multi-factor promoters, multi-target regulators and hierarchic networks. *FEMS Microbial Reviews*, **34**, 628-645 (2010) [査読有]
- ⑫ Ogasawara, H., Yamada, K., Kori, A., Yamamoto, K. and Ishihama, A.: The *E. coli csgD* promoter: Interplay between eight transcription factors. *Microbiology* **156** (8), 2470-2483 (2010) [査読有]
- ⑬ Ogasawara, H., Yamamoto, K. and Ishihama, A.: Regulatory role of MlrA in transcription activation of *csgD*, the master regulator of biofilm formation in *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol. Lett.* **312**, 160-168 (2010) [査読有]
- ⑭ Teramoto, J., Yamanishi, Y., Magdy, E-S.H., Hasegawa, A., Kori, A., Nakajima, M., Arai, F., Fukuda, T. and Ishihama, A.: Single live-bacterial cell assay of promoter activity and regulation. *Genes Cells* **15**, 1111-1112 (2010) [査読有]
- ⑮ Teramoto, J., Yoshimura, S.H., Takeyasu, K. and Ishihama, A.: A novel nucleoid protein of *Escherichia coli* induced under anaerobic growth conditions. *Nucleic Acids Res.* **38**(11), 3605-3618 (2010) [査読有]
- ⑯ Terui, Y., Tabei, Y., Akiyama, M., Tomitori, H., Yamamoto, K., Ishihama, A., Igarashi, K. and Kashiwagi, K.: Ribosome modulation factor, an important protein for cell viability encoded by the polymodulon modulon. *J. Biol. Chem.* **285**, 28698-28707 (2010) [査読有]
- ⑰ Ishida, Y., Kori, A. and Ishihama, A.: Participation of regulator AscG

of the β -glucoside utilization operon in regulation of the propionate catabolism operon. *J. Bacteriol.* **191**, 6136-6144 (2009) [査読有]

- ⑬ Ishii, D., Ishihama, A. and Yamamoto, K.: Two modes of autoregulation of the *murR* repressor in *Escherichia coli*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **73**, 90421-1-3 (2009)
- ⑭ Mitobe, J., Morita-Ishihara, T., Ishihama, A. and Watanabe, H.: Involvement of RNA-binding protein Hfq in the osmotic-response regulation of *invE* gene expression in *Shigella sonnei*. *BMC Microbiol.* **9**, 110 (2009) [査読有]
- ⑮ Shimada, T., Yamamoto, K. and Ishihama, A.: Involvement of leucine-reponse transcription factor Leu0 in regulation of the genes for sulfa-drug efflux. *J. Bacteriol.* **191**, 4562-4571 (2009) [査読有]
- ⑯ Terui, Y., Higashi, K., Tabei, Y., Tomitori, H., Yamamoto, K., Ishihama, A., Igarashi, K. and Kashiwagi, K.: Enhancement of the synthesis of RpoE and StpA by polyamines at the level of translation in *Escherichia coli* under heat shock conditions. *J. Bacteriol.* **191**, 5348-5357 (2009) [査読有]
- ⑰ Yamamoto, K., Matsumoto, F., Minagawa, S., Oshima, T., Fujita, N., Ogasawara, N. and Ishihama, A.: Characterization of CitA-CitB signal transduction activating genes involved in anaerobic citrate catabolism in *Escherichia coli*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **73**, 346-350 (2009) [査読有]

[学会発表] (計 120 件)

- ① Ishihama, A.: Global Regulation of Prokaryotic Genome Transcription. JN Centre for Advanced Scientific Research (JNCASR) Seminar, Bangalore, March 19, 2012
- ② 石浜 明: 「細菌ゲノム転写の包括制御機構」-ひとつの生物のすべての転写因子の制御機能の理解を目指して-。東北大学グローバル COE, Network Medicine 創生拠点、NM 高等教育セミナー、東北大

学医学部、2012 年 3 月 8 日

- ③ Lim, C. J., Lee, S. Y., Ishihama, A. and Yan, J.: Anaerobiosis-induced nucleoid associated protein Dan polymerizes along dsDNA to form rigid helical-like co-filament that is able to concatemalize. Biophys. Soc. Meet. "Dynamic DNA Packaging Across Kingdoms", Asilomar, California, USA, July 5-8, 2011
- ④ 石浜 明: 大腸菌環境応答におけるゲノム転写の包括制御。第 84 回日本生化学会大会、シンポジウム「再考 VNC: 細菌に学ぶ生存戦略」、京都・国際会議場, 2011 年 9 月 21-24 日
- ⑤ 石浜 明: 細菌細胞の個性: その分子基盤。九州大学 G-COE 「未来分子システム科学」公開セミナー、九州大学先導物質化学研究所・福岡, 2011 年 2 月 9 日
- ⑥ Ishihama, A.: Prokaryotic Genome Regulation. Japan-India Collaborative Science Program Seminar, Centre for Cellular and Molecular Biology (CCMB), Hyderabad, India, March 17, 2010
- ⑦ Shimada, T., Fujita, N., Yamamoto, K. and Ishihama, A.: Genome-wide Genomic-SELEX Search of Regulation Targets by Transcription Factors. Jacques Monod Commemorative Minisymposium: Gene Expression and Signalling in Bacteria. Institut Pasteur, Paris, France. May 31, 2010
- ⑧ Ishihama, A.: Prokaryotic Genome Regulation: Multi-factor Promoters and Multi-target Regulators. 11th Asian Conference on Transcription (ACT), Nakijin Hall, Okinawa, Japan, July 1-5, 2010
- ⑨ Ishihama, A.: Prokaryotic Genome Regulation: Multi-factor Promoters and Multi-target Regulators. 2nd Florence Conference on Phenotype Microarray, Internatl. Conf. Hall, Pisa, Italy. Sept. 13-15, 2010
- ⑩ Ishihama, A., Ogasawara, H., Shimada, T., Teramoto, T., Kori, A., Yamada, K., Kobayashi, K., Katayama,

- T. and Yamamoto, K.: Multi-scale molecular genetics of prokaryotic genome regulation. 21st Internatl. Symp. Micro-NanoMechatronics Human Sci., Symp., Nagoya Univ., Nagoya, Japan, Nov. 7-10, 2010
- ⑪ 石浜 明: 細菌ゲノム制御全体像解明のための戦略戦術。日本大学学術研究高度化推進事業公開シンポジウム「病原体抑制遺伝子の解明と感染症の制御」、日大・オープンリサーチセンター、2010年2月26日
- ⑫ 石浜 明: 大腸菌ゲノム転写制御の新发展。第9回微生物研究会、法政大学小金井キャンパス、2010年6月26日
- ⑬ Ishihama, A.: Genomic SELEX search for regulation targets by 100 species of uncharacterized transcription factors from *E. coli*. 12th Transcription Assembly, Chandigarh, India, March 2-5, 2009
- ⑭ Ishihama, A., Ogasawara, H., Shimada, T., Teramoto, J., Kori, A., Yamada, K., and Yamamoto, K.: Growth phase-dependent regulation of *csgD*, the master regulator of biofilm formation. 3rd Internatl. Conf. Environmental, Industrial and Applied Microbiology, BioMicroWorld, Lisbon, Portugal. Dec. 2-4, 2009
- ⑮ Ishihama, A., Teramoto, J., Ogasawara, H., Shimada, T. and Yamamoto, K.: Regulatory roles of nucleoid-associated proteins in *Escherichia coli*. 32nd Ann. Meet. Mol. Biol. Soc. Jpn, Pacifico Yokohama, Yokohama, Japan. Dec. 9-12, 2009
- ⑯ 石浜 明: 大腸菌ゲノム転写の包括制御。2008年度「べん毛研究交流会」、秋保グランドホテル、宮城、2009年3月9-11日
- ⑰ 石浜 明, 小笠原 寛、島田友祐、寺本潤: 細菌の環境金属応答のゲノム制御。メタロチオネインおよびメタルバイオサイエンス研究会2009、東京大学・山上会館、2009年10月16-17日
- ⑱ 石浜 明: 大腸菌における環境金属応答のゲノム転写制御。メタルバイオサイエンス研究会2009、東京大学、東京、2009年10月16-17日
- ⑲ 石浜 明: 細菌の生存戦略としてのバイオフィルム形成: 遺伝子制御ネットワークと転写因子群。日本生化学会 第82回大会シンポジウム“細菌の生存戦略をめぐる新たな展開”、神戸ポートアイランド、神戸、2009年10月21-24日
- [図書] (計10件)
- ① Ishihama, A.: Detection of bacterial bahits: Single planktonic cells and assembled biofilm. In: *Nanomedicine in Diagnostics* (N. Rozlosnik, Ed.), Science Publishes, CRC Press, 2012, pp. 191-216.
- ② Ishihama, A.: Transcription factors and transcriptional apparatus in bacteria. In: *Encyclopedia of Systems Biology* (W. Dubitzky, O. Wolkenhauer, K-H. Cho and H. Yokota, Eds), Springer, 2012, In press
- ③ Ishihama, A.: Prokaryotic genome regulation: Multi-factor promoters, multi-target regulators and hierarchic networks. *FEMS Microbial Reviews*, **34**, 628-645 (2010)
- ④ Ishihama, A.: Chapter 2.6, The Nucleoid: an Overview. In: *EcoSal-*Escherichia coli* and *Salmonella*: cellular and molecular biology*. (A. Běák, R. Curtiss III, J. B. Kaper, P. D. Karp, F. C. Neidhardt, T. Nyström, J. M. Slauch, C. L. Squires, and D. Ussery, eds.), ASM Press, Washington, DC., 2010. <http://www.ecosal.org>, 「インターネット出版」
- ⑤ 石浜 明: 原核生物 RNA ポリメラーゼ。「生化学事典」、花岡文雄、塩見晴彦 (編)、朝倉書店・東京、2010年、788

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石浜 明 (ISHIHAMA AKIRA)
法政大学・企画戦略本部・特任教授
研究者番号: 80019869