

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 12 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2011～2013

課題番号：23241061

研究課題名(和文)大腸菌ゲノム高温適応進化機構の解明

研究課題名(英文)Study on genomic evolution of thermal adaptive Escherichia coli.

研究代表者

四方 哲也(Yomo, Tetsuya)

大阪大学・情報科学研究科・教授

研究者番号：00222399

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 32,700,000円、(間接経費) 9,810,000円

研究成果の概要(和文)：大腸菌をモデルとして実験室内進化系を構築し、高温適応進化過程における大腸菌ゲノム進化に関するメカニズムを明らかにした。高温適応進化過程に固定されたゲノム変異を同定し、細胞内全遺伝子の発現パターンを解析した。45℃下での適応度との相関を評価したところ、特定のゲノム変異の固定に細胞間相互作用が重要であり、ゲノム変異による特定の遺伝子発現ネットワークが再編されたことが分かった。高温適応進化の後半に高変異率を示す中立進化過程においては、遺伝的ヒッチハイクによる変異固定が生じ、非有益変異固定に対してシャペロンGroEL変異が非有益変異を有益変異に変換することで適応度を上昇させていることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Experimental evolution with a laboratory E. coli strain was performed, and the resultant thermal adaptive E. coli strains were subjected to the further analysis at both genome and transcriptome levels. We found that during the rapid fitness-recovering phase in adaptation to the high temperature at 45°C, cell-cell interaction played an important role in the fixation of genome mutations. In addition, a number of gene networks perturbed by the genome mutations showed the significant transcriptome reorganization in comparison to those without genome mutations. In the gradual fitness-increasing phase, the E. coli cells showed a high spontaneous mutation rate and experienced the neutral evolution. We found that several non-beneficial mutations were fixed in the genome, due to genetic hitchhiking. Those non-beneficial mutations were under the buffering effect attributed to the mutated and highly induced chaperonin GroEL.

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：ゲノム科学・ゲノム生物学

キーワード：ゲノム進化 高温適応 トランスクリプトーム 分子進化 プロテオーム

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することで現在に至っている。この進化においては、ダーウィンの表現型に対する自然選択や木村の分子レベルの中立進化が広く知られているが、分子進化と表現型進化を繋ぐ統一的な実証は殆どなされていない。我々は、大腸菌の高温適応進化系を構築し、図1のように523日間培養で375日以降に変異蓄積速度(傾き)が10倍程度加速されることを示した。375日までは正の選択(非同義/同義置換数が10/1)、375日以降では、中立的な分子進化(32/12)であった。このように適応度(増殖速度)が増加しながらも中立進化が観察されたことは、有利な変異を蓄積するだけでなく、遺伝的多様性を増加させることで進化が加速する可能性を示す。このような従来の概念では予測困難な発見は、本研究が分子進化と表現型進化を実験で繋いだことに負うところが大きい。

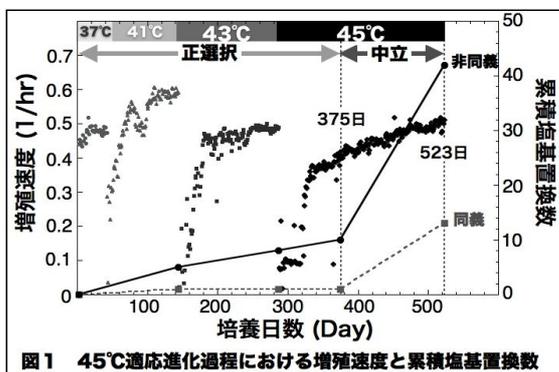


図1 45°C適応進化過程における増殖速度と累積置換数

そこで本研究では高温適応進化大腸菌を用いて、分子レベル集団レベルの解析を行い進化メカニズムを解明することを目的としているが、研究開始当初の学術背景は下記の通りであった。

- 1) 大腸菌の進化実験としては、レンスキールの4万世代に及ぶ実験がある。この大腸菌は最近ゲノムレベルでの解析がなされている(Barrick AE., et al., *Nature*, 461, 1243, 2009)が、常温での進化である。また高温適応では完全培地で生育限界温度3.0上昇の進化実験が報告されている(Rudolf B., et al., *JBC*, 285, 19029, 2010)。我々の高温適応実験は代謝経路がフル活動する最少培地で生育限界温度4.7上昇という高温適応を実現し(Kishimoto T., et al., *PLoS Genetics*, 6, e1001164, 2010)、高温適応過程を明らかにする格好の材料を与えている。
- 2) 分子進化は適応度に殆ど寄与しない中立な変異の蓄積で進むとした中立説(木村資生博士提唱、Kimura M., *Nature* 217,624,1968)が系統解析の結果から支持されている。我々の高温適応進化の培養375日以降では、適応度が上昇しているにも関わらず、固定された変異の多くは中立的であった(図1 375~523日の間)。これは、世界にさきがけた個体レ

ベルの適応度上昇と分子レベルの中立進化をつなぐ結果であり、今後のメカニズムの解明が待たれる。

- 3) 図1培養375日目の45適応株にはシャペロニン GroEL の構造遺伝子とそのプロモーター領域の両方に変異が見いだされた。シャペロニンはタンパク質フォールディングを触媒する酵素としてよく知られており(Thirumalai SL., et al., *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, 30, 245, 2001)、GroELの変異は45という高温環境でフォールディングが困難になったタンパク質に作用し、その機能を還元させている可能性がある。また、シャペロニンは有害な変異を中和する緩衝作用が提案されている(Rutherford SL., *Nat. Rev. Genet.*, 4, 263, 2004)。タンパク質フォールディングを困難にする突然変異をシャペロニンが無害化することによって、中立変異として集団に蓄積、遺伝的多様性を保ち、将来の環境変化に対応できると議論されている(Tokuriki N. & Tawfik DS., *Nature*, 459, 668, 2009)。我々の高温適応進化系では、GroELの変異後、集団により多くの中立変異が固定され始め、シャペロニンの有害変異緩衝効果を検証可能にしている。我々の高温進化系とGroEL変異の相関を解析することで、議論の域を出ていないシャペロニンの高温適応進化に及ぼす効果(タンパク質変性凝集抑制、ゲノムでの中立変異蓄積等)の解明が可能となる。

2. 研究の目的

平成23年終了の科学研究費補助金(基盤研究(B)「耐熱化過程におけるゲノムネットワークの解析」において、大腸菌長期培養による高温適応進化過程で、1)シャペロニン GroEL に変異がおり、2)分子進化が加速され、3)集団中への変異の固定化機構が正の淘汰から中立へ遷移することを明らかとした(Kishimoto T., et al., *PLoS Genetics*, 6, e1001164, 2010)。本研究では、この45適応大腸菌を研究材料とし、ゲノム、トランスクリプトーム、プロテオーム解析による分子レベル、および細胞・集団レベルでの解析を用い、以下の進化学上の命題に答え、新たな進化モデルの構築を目指す。

1) 変異の適応度への貢献の検証による高温適応機構を解明する

2) GroEL 変異によるシャペロニンの有害変異緩衝作用と分子進化速度の相関を検証する

3) 分子進化加速型大腸菌の更なる高温適応による分子進化と表現型進化の相関を検証する

これらを達成するための具体的研究目標として、下記の3点に設定し実施することとした。

1. 適応の速い時期(図:375日目まで)に生

じた変異の高温適応への貢献メカニズム解明

2. GroEL 変異による有害変異緩衝効果の検証 (新しい中立進化促進メカニズムの検証)
3. 45 以上の高温適応進化実験を行い、加速された分子進化が細胞・集団レベルでの進化加速に繋がるか (分子進化と表現型進化の関連性) の検証

3. 研究の方法

研究目標を達成するために、図2のように、「高温適応進化実験」による高温適応大腸菌の創出、「細胞・集団レベル解析」による変異の出現・固定解析、「分子レベル解析」による大腸菌内部環境変化や変異速度解析、を組み合わせて推進する。

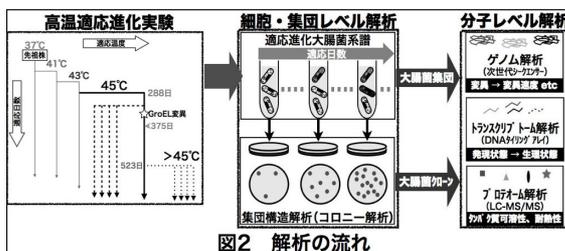


図2 解析の流れ

「高温適応進化実験」による高温適応大腸菌の創出 *DH1 leuB::(gfpuv5-km')* を元株 (Anc 株) として 45 まで適応進化した大腸菌株を使用し、2 mM leucine (WAKO), 25 µg/ml Kanamycin sulfate (Sigma) を添加した mM63 培地にて培養を行った。培養は、24 時間後に $OD_{600}=0.05\sim 0.2$ となるように希釈継代することで対数増殖を維持した培養を行った。高温適応進化培養において培養温度は、44.8 からはじめ増殖速度が 0.4 を二日連続して超えた時点で 0.2 上昇させた。増殖速度 μ (1/時間) は、 $\mu = \ln\{(\text{当日の } OD_{600}) / (\text{前日の } OD_{600}) * (\text{前日の希釈倍率})\} / \text{培養時間}$ で求めた。

「細胞・集団レベル解析」による変異の出現・固定解析 高温適応進化大腸菌のゲノム配列解析は、次世代シーケンサー (SOLiD, Applied Biosystems) を用いて解析した。変異部位の集団レベル解析では、高温適応進化大腸菌の各培養日の集団から変異部位を PCR にて増幅し、サンガー法にて変異部位解析を行った。集団における野生型細胞と変異型細胞の比率は変異部位での野生型、変異型塩基のピーク比率から算出した。細胞レベル解析のために、進化大腸菌集団を 0.1 細胞/ウェルになるように希釈し、96 ウェルマルチプレートにて培養し、得られた細胞を単独細胞として使用した。変異部位をサンガー法で解析し遺伝子型を確定した。

「分子レベル解析」による大腸菌内部環境変化や変異速度解析 大腸菌内部環境変化の解析として、トランスクリプトーム解析では、独自に開発したタイリングアレイを用いて全遺伝子発現を解析した (Ono, N. et al.,

PLoS ONE, 8, e54571, 2013)。細胞内タンパク質の解析は、菌体濃度を揃えた大腸菌を Tokuriki らの方法 (Tokuriki N. & Tawfik DS., *Nature*, 459, 668, 2009) に従い凍結融解法にて破碎し、超遠心分離にて可溶性分画・不溶性分画に分けて SDS-PAGE にて解析を行った。

4. 研究成果

1) 変異の適応度への貢献の検証による高温適応機構の解明

高温適応実験 375 日目までの適応度上昇の速い 45 適応過程大腸菌を用い、45 適応で生じた変異の出現時期の解析を行った。その結果、375 日目までの全変異の導入 固定の挙動が明らかとなった。45 培養後の極初期から *fre*, *oxyR*, *rnr* 変異 *lon*, *groS/groL* promoter 変異 *groL* 変異 *flu* 変異 の順で変異が固定されていることが判明した (表 1)。

表 1 高温適応進化初期に確認された変異

遺伝子名	Gene type	機能
<i>fre</i>	non-essential	フラビン還元酵素
<i>oxyR</i>	non-essential	DNA結合転写性デュアルレギュレーター
<i>rnr</i>	non-essential	Rnase Rをコード
<i>groL</i>	promoter	分子シャペロンGroELの必須遺伝子 ヒートショックタンパク質
	ORF	
<i>flu</i>	non-essential	<i>oxyR</i> 結合領域をもちAg43をコード
<i>lon</i>	non-essential	DNA結合、ATP依存性プロテアーゼLa

そこで、45 適応初期の大腸菌株より 1 細胞培養により各変異を保持した細胞株の分離を行った。その結果、上述の各段階の変異を保持する株の取得に成功すると共に、*fre*, *oxyR*, *rnr*, *lon*, *rpoH* 変異を保持する株が得られ、45 培養 19 日付近では、*fre*, *oxyR*, *rnr*, *lon*, *groS/groL* promoter 変異株と競合関係にあることが判明した。これら変異株の環境適応度となる増殖速度を測定したところ、変異蓄積毎に増殖速度が増大し、45 初期においては、自然選択でより適応度の高い変異が固定されていったと考えられた。これは、これまでの結果を裏付けるものであった (Kishimoto et al., *PLoS Genetics*, 2010)。

ここで *fre*, *rnr*, *oxyR* がまとまって固定されたのは、45 の前の 43 適応の段階で大腸菌集団に *fre*, *rnr*, *oxyR* 変異を持つ大腸菌が含まれていたため 45 環境に変化したことにより、より適応度の高い細胞として *fre*, *rnr*, *oxyR* 変異が集団に固定した可能性が考えられる。しかし、次の *lon*, *groS/groL* promoter 変異に関しては、*lon*, *rpoH* 変異と競合することからも、*lon* 変異が固定し次に *groS/groL* promoter 変異もしくは *rpoH* 変異が生じたと考えるのがもっともらしいが、*lon* 変異だけを持つ細胞は単離できなかった。この理由を知るべく、scarless 法によるゲノム変異組換えで *fre*, *oxyR*, *rnr*, *lon* 変異を有する大腸菌を作製し、その増殖速度を測定した。その結果、*fre*, *oxyR*, *rnr* 変異大腸菌の μ =約 0.3 から *lon* 変異までを有する大腸菌では μ =約 0~0.1 へと劇的に低下した。特に高菌密度 (2×10^7 cell/ml) では $\mu=0.1$ と増殖可能であったが、低菌密度 (2×10^6 cell/ml) では、 $\mu=0$ と増殖不可能であった。このよ

うに、lon 変異細胞は増殖速度が極端に低下するため、集団中に広がるができず変異細胞取得ができなかった可能性が考えられた。通常、自然選択による進化過程を考えると適応度が低下する変異は固定されないため、本当に lon 変異が存在できるのかを確認するため、fre, rnr, oxyR 変異大腸菌と fre, oxyR, rnr, lon 変異大腸菌を 9:1, 1:9 で混合させ 45 度で高菌密度(2×10^7 cell/ml)、低菌密度(2×10^6 cell/ml)で継代培養する競合培養実験を行った。その結果、興味深いことに高菌密度では菌の混合比率にかかわらず培養 4 日目にはほぼ検出限界以下まで fre, oxyR, rnr, lon 変異大腸菌が減少するが、7 日目には約 20% の比率で維持されるようになった。しかし低菌密度では、fre, oxyR, rnr, lon 変異大腸菌は、完全に駆逐された。この結果より、fre, oxyR, rnr, lon 変異大腸菌は、高菌密度で頻度依存的に集団に共存できる相互作用依存的な存在様式を示すことが明らかとなった。実際の 45 度適応進化初期では、高菌密度で継代をしており、fre, oxyR, rnr, lon 変異大腸菌が存在している環境であった。

次に lon, groS/groL promoter 変異大腸菌に lon, rpoH 変異大腸菌と競合することについてもこれらの菌を 9:1, 1:9 で混合させ 45 度で高菌密度(2×10^7 cell/ml)、低菌密度(2×10^6 cell/ml)で継代培養する競合培養実験を行った。その結果、高菌密度では rpoH 変異大腸菌が、低菌密度では groS/groL promoter 変異大腸菌が優性となり集団に固定された。実際の 45 度進化培養では、groS/groL promoter 変異大腸菌が固定される時期には、継代培養の菌密度が 2×10^6 cell/ml 以下になっていることから、進化継代時の菌密度により相互作用環境が変化し groS/groL promoter 変異大腸菌が固定されたと考えられた。以上のように大腸菌株よりクローン化され変異が同定された株について、同時に固定されている変異についてゲノム変異の復帰細胞を構築し、各変異の効果を解析し、45 度適応初期には相互作用による変異選択が重要であることを確認した。

45 度適応初期の大腸菌株のトランスクリプトーム解析では、一塩基タイリングアレイを用い、各過程の大腸菌集団の全遺伝子の mRNA を定量的に解析した。この解析により、45 度進化過程において、遺伝子の変異しやすさとその遺伝子の発現レベルとの関連性を見出した。また、変異の影響下に、高温適応における細胞内遺伝子発現ネットワークの変動を観測し、有意に変化した遺伝子群を同定した。

特定の変異が起こる前後の大腸菌クローンに対してトランスクリプトーム解析とゲノム変異解析を行った。複数クローンに対してゲノム情報、発現パターンおよび集団適応度(増殖速度)の相関関係を評価した。これらの解析によりゲノム変異による発現パターンの変化が見られ高温適応における分子シャペロン群の発現の切り替えが観測された。機能未知の遺伝子群など有意に変化した遺伝子群を同定した。

2) GroEL 変異によるシャペロニンの有害変異緩衝作用と分子進化速度の相関検証

GroEL 変異(groS/groL promoter 変異および groL 変異)に伴う大腸菌集団中の遺伝的多様性の変化を解析するため、375-523 日目までのゆっくりとした適応度上昇を示す時期の大腸菌集団を、時系列に沿って 20 日ごとに 1 細胞培養によりクローン化し、有害変異緩衝効果のみならず分子進化速度解析に必要な大腸菌クローンプールを作製した。このクローン大腸菌を用い GroEL 変異に伴う大腸菌集団中の遺伝的多様性の変化を GroEL の野生型への復帰細胞を創出し解析することで検討した。まず高変異率進化をしている培養 523 日(45 度 236 日)の大腸菌株からゲノム解析で同定された変異を全て有するクローン(45L8A)を単離した。また、高変異率化の原因となる mutH 変異が入る直前の fre, oxyR, rnr, lon, groS/groL promoter, groL, flu 変異大腸菌をクローン化(45d7B)した。クローン化した 45L8A, 45d7B 株の groS/groL promoter 変異および groL 変異を scarless 法により野生型に戻した大腸菌を構築した。得られた株について 45 度での増殖速度を測定した。その結果、GroEL をコードする groL の二カ所の変異は、45L8A 株で野生型に戻した場合(45L8aPwOw: 図3赤左)、45d7B 株で野生型に戻した株(45d7BPwOw: 図3青左)より増殖速度が低下し、高変異率下で蓄積される変異は GroEL 変異がない場合、有害変異であることが示された。45L8A, 45d7B 株でそれぞれ groS/groL promoter 変異だけを有する大腸菌(図3PmOw)では、45d7B 大腸菌では、ほぼ適応度は回復しているが、45L8A 株では、45d7BPmOw 株の適応度にも満たなかった。しかし groL 変異が入り変異型 GroEL となった 45L8A 株は 45d7B 株より大幅に増殖速度が速い適応度が高い状態となった。以上のことから GroEL の 2 カ所の変異により高変異率で蓄積された変異の有害効果が干渉され適応度を上昇させて行く機能を示すことが確認された。

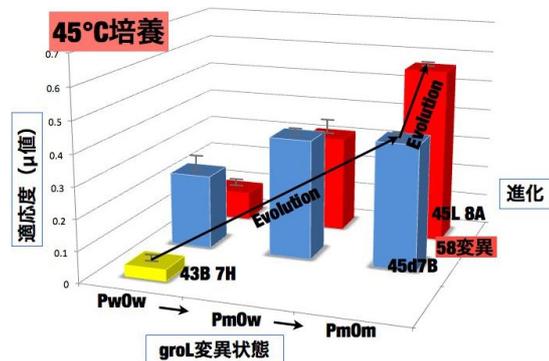


図3 高変異率で蓄積した変異の適応度貢獻に与える groL 変異の影響

また 375-523 日目までのゆっくりとした適応度上昇を示し高変異率進化である時期の

変異固定様式として、高速かつ高頻度に生じている中立変異固定について遺伝的ヒッチハイクによる変異固定の可能性を検証した。先述の通り 375-523 日目まで大腸菌集団を、時系列に沿って 20 日ごとに 1 細胞培養によりクローン化し変異部位を解析した結果、複数の同義置換を含む変異が集団で同時に固定される遺伝的ヒッチハイクが起こっていることを確認した。このヒッチハイクによる変異固定により集団で固定される非同義置換がどのような形式で固定され変異集団を形成していくかを、scarless 法で変異を野生型に戻し、また変異を導入しその適応度を測定し検証した。その結果、ヒッチハイク変異集団を形成する際に、非同義置換の導入順序でそれぞれの非同義置換の持つ適応度への貢献度が異なり、導入時期により有益にも有害にもなる変異が存在することが確認された。

3) 分子進化加速型大腸菌の更なる高温適応による分子進化と表現型進化の相関検証

分子進化が加速されていた大腸菌株(培養 523 日株)を用いて更に高温適応させることで、加速された分子進化が適応度等の表現型進化にどのように関連するか、速い分子進化が高温適応進化を加速させるか、を検証するため、523 日目株を用いて更なる高温適応大腸菌の創出を行った。その結果、更なる高温への進化が可能であり、46.6 °C での安定増殖大腸菌の構築に成功した(図 4)。

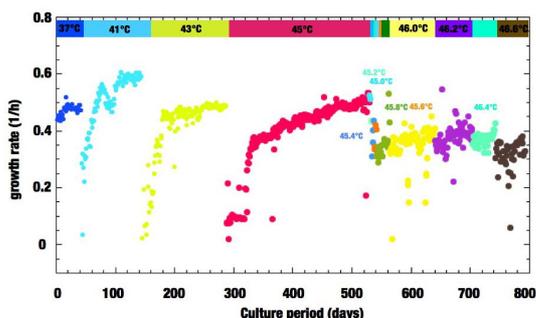


図 4 高温適応進化大腸菌の創出

得られた進化大腸菌を用いて 46.0 °C 適応進化大腸菌までのゲノム解析を 0.2 °C 適応ごとの株を用いて行った結果、45 培養で見られた遺伝的ヒッチハイクによる変異固定が継続して生じていること、変異蓄積速度はほぼ一定になっていることが確認された。この結果は、高変異率細胞はその進化様式を変更せずにより高温まで適応進化が可能であることを示すと考えられた。また得られた高温適応進化大腸菌は、更なる高温適応進化メカニズムの良い材料となることが期待される。

分子進化加速大腸菌株(培養 523 日株)を用いて更に高温適応させることは、高速な遺伝子変異蓄積による進化が生じることとなる。

その結果、進化過程で大腸菌の形態に予期せぬ変化が生じ、大腸菌の同定が困難となる可能性が高いと考えられる。そこで加速された分子進化が適応度等の表現型進化にどのように関連するか速い分子進化が高温適応進化を加速させるかを検証することが容易な大腸菌株の構築を検討した。523 日目株を改変し高温適応進化過程の大腸菌解析が容易な大腸菌株の構築することとし改変対象となる遺伝子を選定した。これまで進化に用いてきた *DH1 leuB::(gfpuv5-kan)* 株は、マーカーである GFP が単独遺伝子として発現しており、大腸菌の機能に関与していないため進化に対して中立な遺伝子である。このため、進化過程で脱落しても問題が無く、加速型分子進化を起こしている大腸菌ではマーカーとしての機能が十分ではないと考えられた。そこで、大腸菌の栄養要求性等のマーカーとなりうる遺伝子と GFP を融合させて発現できれば GFP 発現が継続的にマーカーとして試用できると考えた。そこで、DH1 株 4483 遺伝子からマーカー候補の要求性遺伝子 380 を選別し、さらに 45 °C で高発現している遺伝子、ASKA クローンで GFP 融合遺伝子が発現可能出ること、遺伝子操作株が進化で使用する最少培地で増殖可能である、を指標として選択したところ *thrA*, *B*, *C*, *serC* が候補になった。Anc 株を用いこれらの遺伝子破壊株を構築しそれぞれの GFP 融合遺伝子プラスミドを導入することにより最小培地での増殖がレスキューできるかを確認したところ、*thrB* が最もマーカーに適していた。そこで実際に 45L8A 大腸菌株の *theB* 遺伝子に GFP をゲノム上で融合しようとしたが、組換え不可能であったため、45L8A 株の *thrB* 破壊株に *thrB*-GFP 融合遺伝子を持つ pCA24N プラスミドでレスキューした細胞を用いた進化培養系を検討した。これまでに 44 °C での培養をまで行ったが、増殖の安定性が悪く、その理由として、プラスミドを使用することによるコピー数の不安定さ等が考えられた。現在ゲノム上での融合遺伝子化が必要ではないかと考え検討を実施中である。

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 5 件)

1. Matsumoto, Y., Murakami, Y., Tsuru, S., Ying, B., Yomo, T., Growth rate-coordinated transcriptome reorganization in bacteria., BMC Genomics 2013, 査読有, 14, 2013, 1-10, DOI: 10.1186/1471-2164-14-808
2. Ono, N., Suzuki, S., Furusawa, C., Shimizu, H., Yomo, T., Development of a Physical Model-Based Algorithm for the Detection of Single-Nucleotide Substitutions by Using Tiling

Microarrays., PLoS ONE, 査読有,
8, 2013, e54571,
DOI: 10.1371/journal.pone.0054571

3. Ying, B., Seno, S., Kaneko, F.,
Matsuda, H., Yomo, T., Multilevel
comparative analysis of the
contributions of genome reduction and
heat shock to the Escherichia coli
transcriptome., BMC Genomics 2013,
査読有, 14, 2013, 1-13,
DOI: 10.1186/1471-2164-14-25

〔学会発表〕(計 39 件)

1. 山和馬, 松本悠希, 應ベイウエン, 四方哲也, 高温適応進化過程における 2 つの
生き残り戦略, 第 36 回日本分子生物学
学会年会, 2013 年 12 月 5 日, 神戸ポートア
일랜드
2. 花神彩香, 赤神慶子, 岸本利彦, 四方哲也, 高温適応進化における groL 変異の
機能解析 2 高変異率下の GroEL mutation
buffering effect 解析, 第 36 回日本分子
生物学学会年会, 2013 年 12 月 5 日, 神戸
ポートアイランド
3. 松浦梨恵, 鶴切真友美, 花神彩香, イン
ベイウエン, 岸本利彦, 四方哲也, 高温
適応進化における groL 変異の機能解析 1
~ 高温適応初期における groL 変異の機
能解析 ~, 第 36 回日本分子生物学学会年
会, 2013 年 12 月 5 日, 神戸ポートアイラ
ンド
4. 染谷有紀, 山中優輝, 成澤大, 小林日沙
香, 花神彩香, 岸本利彦, 四方哲也, 大
腸菌高温適応進化過程で見られる高変異
率下でのヒッチハイクによる変異固定メ
カニズムの解析, 第 36 回日本分子生物
学会年会, 2013 年 12 月 5 日, 神戸ポート
アイランド
5. 花神彩香, 赤神慶子, 岸本利彦, 四方哲也, 高温適応進化大腸菌における groL
変異の機能解析, 日本進化学会第 15 回
大会, 2013 年 8 月 30 日, 筑波大学
6. 岸本利彦, 染谷有紀, 花神彩香, 小林日
沙香, 四方哲也, 高温適応進化でみられ
る高変異率下での変異蓄積メカニズムの
解析, 日本進化学会第 15 回大会, 2013 年
8 月 30 日, 筑波大学
7. 花神彩香, 橋本智美, 小宅綾菜, 中屋敷
徹, 森浩禎, 岸本利彦, 四方哲也, 高温
適応進化大腸菌における groL 変異の機
能解析, 第 35 回日本分子生物学学会年会,
2012 年 12 月 11 日, 福岡国際会議場
8. 山和馬, 應ベイウエン, 四方哲也, 高温
適応過程における大腸菌集団内ヘテロ性
の推移, 第 35 回日本分子生物学学会年会,
2012 年 12 月 11 日, 福岡国際会議場
9. 花神彩香, 橋本智美, 小宅綾菜, 中屋敷
徹, 森浩禎, 岸本利彦, 四方哲也, 高温
適応進化大腸菌における groL 変異の機
能解析, 日本進化学会第 14 回東京大会,
2012 年 8 月 21-23 日, 首都大学東京南大

沢キャンパス

10. 應蓓文, 瀬尾茂人, 四方哲也, Genomic
and environmental contributions to
bacterial transcriptome., 第 6 回日本
ゲノム微生物学会年会, 2012 年 3 月 10
日, 立教大学 池袋キャンパス
11. 四方哲也, 生命システムの頑強性, 大阪
大学 80 周年記念国際シンポジウム, 2012
年 2 月 1 日, 大阪大学銀杏会館
12. Iijima, L., Tsuru, S., Ying, B., Yomo,
T., Genomic diversity in an evolved
thermal adaptive Escherichia coli
population., 第 34 回日本分子生物学会
年会, 2011 年 12 月 14 日, パシフィコ横
浜
13. Yomo, T., Acceleration of genomic
evolutionary rate through adaptation.,
第 34 回日本分子生物学学会年会, 2011 年
12 月 14 日, パシフィコ横浜
14. 橋本智美, 岸本利彦, 四方哲也, 大腸菌
の耐熱進化における groL 変異の機能解
析, 第 34 回日本分子生物学学会年会, 2011
年 12 月 14 日, パシフィコ横浜
15. 小宅綾菜, 山内長承, 岸本利彦, 四方哲也, 大腸菌の耐熱進化時に見られる相互
作用の解析, 第 34 回日本分子生物学会
年会, 2011 年 12 月 14 日, パシフィコ横
浜
16. 花神彩香, 小林日沙香, 伊藤明日香, 山
内長承, 岸本利彦, 四方哲也, 大腸菌耐
熱進化における中立変異固定メカニズム
の解析, 第 34 回日本分子生物学学会年会,
2011 年 12 月 14 日, パシフィコ横浜

〔図書〕(計 2 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

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

イン ベイウエン (Ying, Bei-Wen)

筑波大学・生命環境科学研究科(系)・准
教授

研究者番号: 90422401