

令和 3 年 5 月 26 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K07116

研究課題名（和文）腸管出血性大腸菌におけるプロファージ間相互作用と宿主菌進化へのインパクトの解明

研究課題名（英文）Analysis of inter-phage interaction and its impacts on the evolution of enterohemorrhagic E. coli

研究代表者

中村 佳司（Nakamura, Keiji）

九州大学・医学研究院・助教

研究者番号：60706216

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：多くの細菌にはバクテリオファージ（ファージ）が共感染しており、ファージ間における様々な相互作用の存在が推測されている。本研究では、O145の血清型をもつ腸管出血性大腸菌（EHEC）菌株に特定された「ファージ内ファージ」の解析により、このファージ共存が、ファージ形質の変化に影響を及ぼしうることを、様々な血清型のEHECと腸管病原性大腸菌（EPEC）に起こりうることを、宿主大腸菌の病原性進化や多様化に影響を与えることを、を明らかとした。これらの成果はEHEC/EPECやそれらが有するファージの研究分野だけではなく、細菌の進化および基礎・臨床微生物学の幅広い研究者に新たな知見を提供する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

様々な菌種において、個々のファージのゲノム構造や宿主菌の進化や多様化における役割が明らかとなっている。しかし、細菌の細胞内に複数存在するファージ間の相互作用とそれが宿主菌の進化や多様化に与えるインパクトは従来の研究ではほぼ未解明の領域であった。この点において、本研究が今後のファージ研究に与える影響は小さくない。また、腸管出血性大腸菌は感染患者に重篤な症状を引き起こしうる、公衆衛生上重要な病原細菌である。今回の解析により、本病原細菌の病原性に対する理解においても新しい情報を提供したことで、今後の高病原性大腸菌のサーベイランスなどに貢献できると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Bacteriophages (or phages) play major roles in the evolution of bacterial pathogens. Multiple phages are often integrated in a host chromosome as prophages, providing various possibilities for prophage-prophage interactions in bacterial cells. The present study investigated an inter-phage interaction between "phage in phage" newly identified in the enterohemorrhagic E. coli (EHEC) O145 strains, and revealed (i) that this coexistence of phages could affect phenotypes of the phages, (ii) that phages integrating another prophage may be occurred in strains belonging to various serotypes of EHEC and enteropathogenic E. coli (EPEC), and (iii) that this system possibly promote evolution as pathogenic bacteria and genetic diversity in host E. coli. These findings obtained here provide novel insights for not only the research communities working on EHEC/EPEC and their phages but also a wide range of researchers in basic and medical microbiology as well as bacterial evolution.

研究分野：細菌学

キーワード：腸管出血性大腸菌 志賀毒素ファージ サテライトファージ ヘルパーファージ

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

細菌の病原性進化や多様性獲得には外来性の遺伝因子(プラスミド、トランスポゾン、プロファージなど)の獲得が深く関与しており、遺伝因子にコードされた遺伝子によって宿主細菌は様々な能力を獲得する。例えば、0157を代表とする腸管出血性大腸菌(EHEC)の主要病原因子である志賀毒素(Stx)の遺伝子はファージゲノム上に存在し、Stxの2つのサブタイプ(Stx1とStx2)のうち、Stx2がEHEC感染症重篤化の危険因子とされている。近年、上記のStxファージを含め、様々な菌種においてファージの研究が進んできており、個々のファージのゲノム構造や宿主菌の進化や多様化における役割が明らかになりつつある。一方、多くの細菌には複数のファージが感染(プロファージとして溶原化)しており、共感染しているファージ間には様々な相互作用が存在すると推測される。このようなファージ間相互作用は、宿主菌の病原性進化やファージ感染によって獲得される形質の発現にも様々な影響を及ぼす可能性が高い。しかし現在のファージ研究分野においては、「どのようなファージ間相互作用が存在し、それが宿主細菌の進化や多様化においてどのような役割を果たしているか」という問いに焦点を当てた研究はほとんどない。

研究代表者は0145の血清型をもつEHECのゲノム解析を行う過程で、2パターンの興味深い溶原化ファージの共存を見出した。1つは2コピーの*stx2*遺伝子を保有する菌株(F株)における約40KbのStx2ファージの重複であり(図1)、片方のコピーは染色体上の別のプロファージゲノム内に組み込まれていた(Stx2-P1)。もう1つは、EHEC菌株染色体上に存在するプロファージとそのプロファージ内に組み込まれた約10Kbのファージで、10Kbファージは複製に関与する遺伝子とファージの構造遺伝子の一部のみを保有する欠損ファージ様の構造をもつ。この10Kbファージの遺伝子構成は、P2ファージをヘルパーファージとして利用するP4サテライトファージ(Lindqvist et al, Microbiol Rev, 1993)に類似し、これが新規のサテライトファージである可能性が示唆される。2つのパターンに共通するのは、ファージが別のプロファージゲノム内に溶原化していることであり、このような溶原ファージの存在は報告されていない。

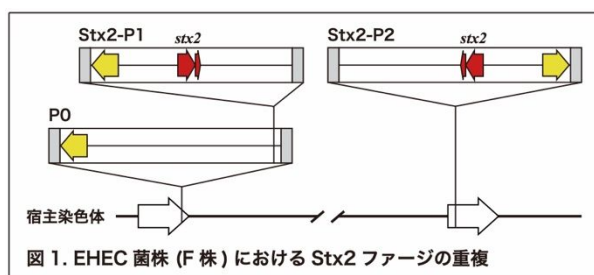


図1. EHEC菌株(F株)におけるStx2ファージの重複

### 2. 研究の目的

研究代表者が見出した「ファージ内ファージ」は、ファージ間の新たな相互作用の解明や宿主細菌の系統進化におけるその役割を探るうえでは、極めて魅力的かつ有用な研究材料であると考えられた。本研究では、この2つのファージ共存パターンの解析を行うことにより、新たなファージ間相互作用を明らかにするとともに、それによるStx産生量やファージ誘発効率などの形質への影響を解明し、新たなファージ研究分野を開拓することを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) 使用菌株

F株およびF株に類似したStx2ファージ挿入パターンを示すE株と、サテライトファージを保有するS株を使用した。ファージ粒子非産生のK-12と、サテライトファージに対するヘルパーファージ(未発表のため詳細は伏せる)が溶原化したK-12株を指示菌として使用した。

F株に挿入されたStx2ファージおよびStx2-P1が挿入されたプロファージ(P0)の脱落変異株をWanner法(Datsenko and Wanner, PNAS, 2000)により作製した。また、サテライトファージとヘルパーファージゲノム内へのクロラムフェニコール耐性遺伝子(*cat*遺伝子)とカナマイシン耐性遺伝子(*aphA1*遺伝子)の導入についてもWanner法によって行った。

#### (2) Stx2含有菌体破砕液の調製

EHEC菌株、変異株、およびStx2ファージ溶原K-12株(後述)を0.1 OD<sub>600</sub>に調製し、mid log phaseまで37で振盪培養した。マイトマイシンC(MMC)を終濃度1.0 μg/mlで添加後、6時間振盪した。超音波処理により菌体を破砕した後、遠心上清を分離し、菌体破砕液とした。

#### (3) 菌体DNAおよびファージDNAの抽出

EHEC菌株を(2)の手順で培養した。MMCを終濃度1.0 μg/mlで添加後、3時間振盪した。アルカリボイル法により、菌液からDNAを粗精製した。また、菌液を遠心後、上清をフィルター濾過した。濾過上清中のDNAとRNAをDNaseIとRNaseで分解した。DNaseIを失活後、Protease Kを添加し、DNaseI抵抗性のDNAを抽出した。環状化した*attP*配列を含む領域を、右図2に示すプライマーを用いたPCRで確認した。増幅されたPCR産物の塩基配列を、Sanger法により決定した。DNaseI抵抗性の溶液におけるファージDNAの有無についてもPCRで確認した。

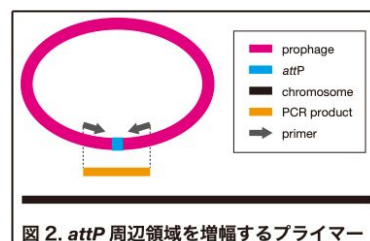


図2. attP周辺領域を増幅するプライマー

#### (4) プロファージゲノムのシーケンス

精製した菌体 DNA をテンプレートとして、宿主ゲノム、Stx2 ファージが挿入された宿主プロファージ、あるいは *stx2* 遺伝子に特異的なプライマーを用いたロングレンジ PCR (16-30 Kb) により、PCR プロダクトを得た。Nextera XT DNA Sample Preparation Kit (Illumina) を用いて、このプロダクトからシーケンスライブラリを調製した。MiSeq (Illumina) シーケンスにより取得したリードデータを用いてゲノム配列のアセンブリを行い、Stx2 ファージゲノムの配列を得た。ゲノム内にギャップが挿入されていた場合は、Sanger 法で配列を決定した。

#### (5) ファージ溶原化 K-12 株の作製

ファージ誘導を (2) と同様の手順で行い、菌液の遠心上清をフィルター濾過して、ファージ粒子を含む上清を得た。Stx2 ファージ粒子を含む上清については、20%PEG, 10%NaCl 溶液を添加し、PEG 沈殿を行った。沈殿を SM buffer で再懸濁後、10 mM CaCl<sub>2</sub> および 1.0 μg/ml MMC を含む軟寒天中で K-12 (2.0-3.0 OD<sub>600</sub>) と混合し、LB 寒天培地上に滴下した。37 °C で培養後、形成されたプラーク内に存在するファージ溶原株を単離し、単離株中の *stx2* 遺伝子の有無を PCR で確認した。遺伝子陽性株の Stx2 ファージゲノム配列を (4) と同様の手順で決定した。サテライトファージ (*cat* 遺伝子挿入ファージ) 粒子を含む上清については、10 mM CaCl<sub>2</sub> を含む LB 培地中で培養した野生型あるいはヘルパーファージ溶原化 K-12 と混合し、28 °C で 2 時間静置した。反応液をクロラムフェニコール加寒天培地へ接種し、耐性株を単離した。

#### (6) 完全長ゲノム配列決定大腸菌の血清型別と *attB* 配列探索

NCBI からダウンロードした全 767 株の大腸菌のコンプリートゲノム (2019 年 7 月 20 日時点) を解析に使用した。大腸菌株の血清型の決定および *stx* と *eae* (3 型分泌装置、T3SS をコードする LEE 領域のマーカージ遺伝子) の探索を BLASTN と、血清型および各遺伝子に対応するデータベースを用いた解析により行った。また、プロファージ上に特定した 21-bp の *attB* 配列を BLASTN (>95% 同源性、100% カバレッジ) で探索し、検出された大腸菌ゲノム上の局在を確認した。

#### (7) ヘルパー・サテライト溶原 K-12 株に由来するファージ粒子の調製

薬剤耐性遺伝子を組込んだヘルパー (*aphA1*)・サテライト (*cat*) ファージが溶原化した K-12 株を実験に使用した。ヘルパー溶原株およびヘルパー・サテライト溶原株を 0.1 OD<sub>600</sub> に調製し、37 °C で 90 分振盪培養した。MMC を終濃度 0.25 μg/ml で添加し、さらに 8 時間振盪した。各溶原株の OD<sub>600</sub> を 30 分ごとに測定した。MMC 添加 8 時間後の振盪液の遠心上清をフィルター濾過して、ファージ粒子を含む上清を得た。この上清を 10 mM CaCl<sub>2</sub> を含む LB 培地中で培養した K-12 (2.0-3.0 OD<sub>600</sub>) と混合し、28 °C で 2 時間静置した。混合液をカナマイシン、クロラムフェニコールあるいはその両方を含む LB 寒天培地に接種し、37 °C で一晚培養後、コロニーをカウントした。

#### (8) ファージ粒子の形態解析

野生型のヘルパーファージと *cat* 遺伝子挿入サテライトファージが溶原化した K-12 株を使用した。(7) と同様の手順で調製したファージ粒子を含む上清へ 20%PEG, 10%NaCl 溶液を添加し、PEG 沈殿を行った。SM buffer で再懸濁した溶液 (ファージ液) を、支持膜を張ったメッシュ型グリッド上に滴下した。ファージ液を除去後、2%酢酸ウラン溶液を滴下した。溶液除去後、透過型電子顕微鏡下 (70,000 倍) で観察した。

## 4. 研究成果

### (1) Stx2 を定量する HTRF (homogeneous time-resolved FRET) アッセイの構築

研究開始当初に Stx2 の産生性を評価する方法として用いていた Sandwich ELISA による測定系 (RIDASCREEN Verotoxin; R-Biopharm, Germany) が利用できなくなったため、新たに HTRF を測定原理とする Stx2 定量系を確立した。本測定法では、Stx2 を含むサンプルと、蛍光標識した 2 種類の Stx2 に対するモノクローナル抗体を混合し、18 時間室温で反応させるだけで、Stx2 特異的なシグナルを得ることができる。また、右図 3 に示すように、HTRF アッセイは 1-64 ng/ml の Stx2 の測定レンジを示した。このことから、本法は大規模な菌株セットの Stx2 産生レベルの定量解析に適していると考えられた (論文投稿中)。

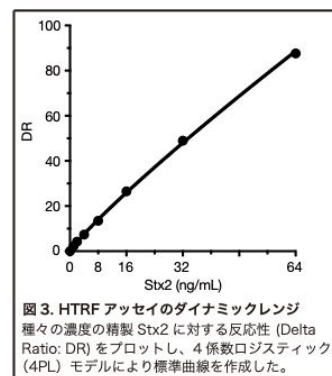


図 3. HTRF アッセイのダイナミックレンジ  
種々の濃度の精製 Stx2 に対する反応性 (Delta Ratio: DR) をプロットし、4 係数ロジスティック (4PL) モデルにより標準曲線を作成した。

### (2) プロファージ内 Stx2 ファージが宿主菌の Stx2 産生性に与える影響

Stx2 の発現はファージ誘導に密接に関連している。F 株に溶原化している 2 コピーの Stx2 ファージ (Stx2-P1 と Stx2-P2) および Stx2-P1 が挿入されているプロファージ (P0) をそれぞれ脱落させた変異株を用いて、種々の濃度の MMC でファージ誘導を行った菌体破砕液中の Stx2 産生性を比較した (表 1)。 $\Delta$ Stx2-P1 の Stx2 産生性は野生型と比較して 20-40% 程度減少し、MMC 濃度 0.025 μg/ml を除いて、 $\Delta$ Stx2-P1 は  $\Delta$ Stx2-P2 よりも低い Stx2 産生性を示した。また、MMC を 0.1 あるいは 0.2 μg/ml で処理すると、 $\Delta$ P0 は野生型よりも低い Stx2 産生性を示した。これらのことから、Stx2 ファージのプロファージ内挿入が、宿主菌の Stx2 産生性に影響を与え

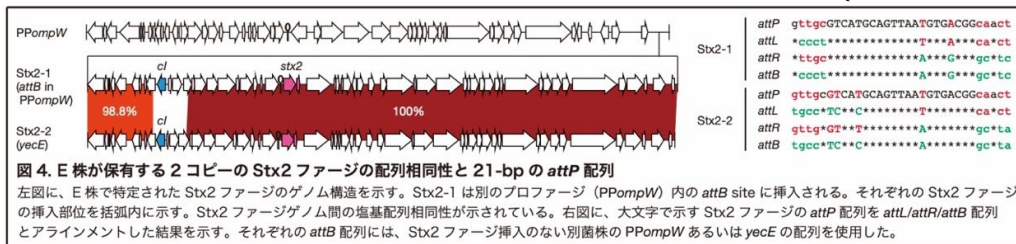
表 1. F 株由来ファージ脱落変異株の Stx2 産生量 (μg/ml)

	MMC concentration (μg/ml)				
	0.025	0.05	0.1	0.2	0.4
Wild type	7.5	11	21	39	51
$\Delta$ P0	7.0	12	15	33	54
$\Delta$ Stx2-P1	6.1	6.4	13	28	41
$\Delta$ Stx2-P2	5.6	9.7	15	35	46

ている可能性が示唆された。いずれの Stx2 ファージの脱落変異株も、野生型に対して 60-80%の Stx2 産生性を示したことから、Stx2 ファージ重複によって、宿主菌の Stx2 産生レベルは上昇するが、その増加は加算的ではないと推察された。

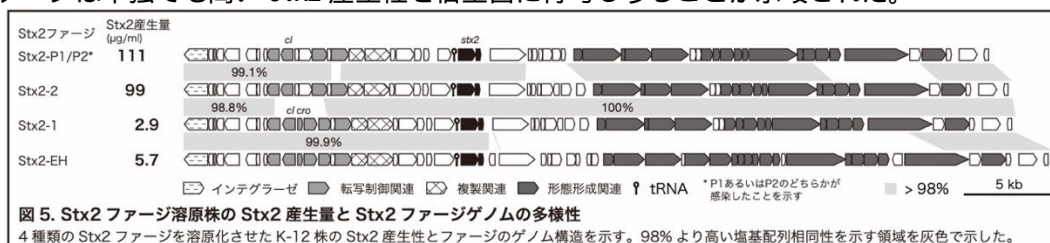
### (3) ファージ内ファージの attP 配列

F 株の Stx2-P1 と Stx2-P2 のゲノムは同一で、区別できないため、Stx2-P1 の P0 への挿入を実験的に確認できない。そこで、F 株と類似した Stx2 ファージの挿入パターンを示す E 株を解析に使用した。E 株が保有する 2 コピーの Stx2 ファージゲノム (Stx2-1 と Stx2-2) の間には、一部の領域の塩基配列が異なっていた (図 4)。その領域にプライマーを設計し、環状化した Stx2 ファージゲノムの attP 配列を決定した。Stx2-1 と Stx2-2 の 21-bp の attP 配列は一致していたことから、Stx2-1 はプロファージ上に存在する attB 配列 (attB in PPompW) を利用してプロファージ内に組み込まれていることが示された。また、E 株の 2 つの Stx2 ファージゲノムが粒子内にパッケージされることを、ファージ DNA を用いた PCR により確認した (Data not shown)。



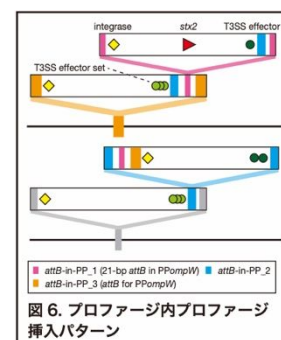
### (4) Stx2 高産生性に関するファージ領域

F 株の Stx2 ファージ (Stx2-P1/P2)、E 株の Stx2 ファージ (Stx2-1 と Stx2-2) および別の O145 菌株が保有する Stx2 ファージ (Stx2-EH) を感染させた K-12 溶原株を作製し、Stx2 産生量を比較した。Stx2-2 溶原株は Stx2-1 溶原株の 30 倍以上高い Stx2 産生性を示した (図 5)。Stx2-1 と Stx2-2 の間で配列の異なる領域には転写制御遺伝子群がコードされている。また、Stx2-P1/P2 と Stx2-EH の溶原株はそれぞれ、Stx2-2 と Stx2-1 の溶原株と類似した Stx2 産生性を示し、これらのファージの間で、stx2 遺伝子上流の領域は高度に保存されていた。以上のことから、cI 遺伝子を含む転写制御遺伝子群が宿主菌の Stx2 産生性に関与していることが明らかとなった。また、Stx2-P1/P2 と Stx2-2 の溶原株は高い Stx2 産生性を示したことから、これらの Stx2 ファージは単独でも高い Stx2 産生性を宿主菌に付与しうることが示唆された。



### (5) 21-bp attB 配列を保有する大腸菌

大腸菌 767 株のコンプリートゲノムを用いて、21-bp の attB シーケンスを持つ大腸菌とその局在を調べた。attB 配列は 150 菌株のプロファージ上に特定された。PPompW に attB が見つかる菌株に加え、別のプロファージに attB が検出される菌株も存在した。150 菌株は例外なく eae 遺伝子を保有していたことから、attB をコードするプロファージは腸管病原性大腸菌 (EPEC) あるいは LEE 陽性の EHEC に幅広く分布していることが明らかとなった。また、attB 配列を有するプロファージの解析により、21-bp attB とは別のプロファージ内 attB とその attB へのファージ挿入、プロファージ内プロファージに例外なくコードされる nleC/nleG T3SS エフェクターファミリーを明らかとした (図 6)。以上のことから、ファージ内ファージによって EPEC/EHEC 菌株に T3SS エフェクターが蓄積され、Stx2 ファージ獲得の機会が増えることで、EPEC では EHEC への転換が、EHEC では Stx2 重複がそれぞれ促進される可能性が示唆された (Nakamura, et al., PLoS Pathog, 2021)。



### (6) サテライトファージ溶原株の効率的検出系を用いたヘルパー・サテライト溶原株の単離

F 株のゲノムから切り出され、環状化したサテライトファージの *attP* 配列 (15-bp) を決定した。また、サテライトファージゲノムが F 株由来のファージ DNA に含まれていることを確認した。サテライトファージゲノム内は形態形成に関する遺伝子を保有していない (図 7) ことから、F 株内にサテライトに対応するヘルパーファージが存在することが明らかとなった。

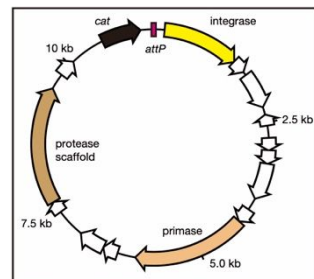


図 7. *cat* 遺伝子保有サテライトファージ 全長 11,465 bp の環状ゲノムマップを示す。

F 株が保有するサテライトファージゲノム内に *cat* 遺伝子を組込んだ変異株を作製した。F 変異株由来のファージを K-12 に感染させることで、クロラムフェニコール耐性のクローンを得ることに成功した。このことから、サテライトファージが水平伝播することが明らかとなった。

ヘルパーファージ同定のため、この検出系を用いて、F 株のヘルパーファージとサテライトファージが同時に感染した K-12 株の作製を試みたが、ヘルパーファージ溶原株を単離することができなかった。そこで、あるファージ溶原株にヘルパーファージを感染させた。サテライトファージ粒子がファージ・サテライトファージ二重溶原株からが産生されたことから、予め溶原化していたファージがヘルパーファージとなることが明らかとなった。

### (7) ヘルパーファージとサテライトファージの形態解析

ヘルパー溶原株あるいはヘルパー・サテライト溶原株からファージを誘導し、電子顕微鏡下で形態を観察した。ヘルパーファージのみ溶原化した株から、正六面体の頭部と 100 nm 程度の尾部を有するファージが観察された (図 8)。ヘルパーファージとサテライトファージが溶原化した株においても類似したファージが観察できた。P4 ファージはゲノム上の *sid* 遺伝子がコードするタンパク質により、P2 ファージが形成する頭部のサイズを小さくすることで、自身のゲノムを収納するに適したファージ粒子を形成することができる (P4 head, 45 nm; P2 head, 62 nm)。ヘルパー・サテライトファージ溶原株由来のファージの頭部粒子径を測定し、ヘルパーファージ溶原株由来のファージと比較した。サテライトファージを含むファージの粒子径は、ヘルパーファージのみと比べて僅かに小さい傾向を示したが、その分布において P2/P4 のような二峰性のピークを確認できなかった。今後詳細な解析を行う必要があるが、今回特定したサテライトファージゲノムの粒子内へのパッケージングに関するメカニズムは P4 とは異なる可能性が示唆された。

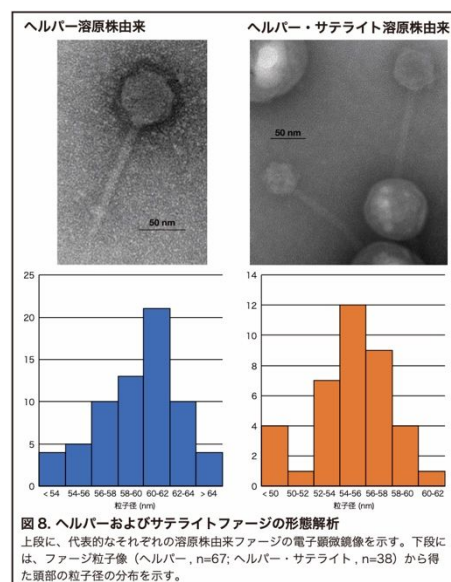


図 8. ヘルパーおよびサテライトファージの形態解析  
 上段に、代表的なそれぞれの溶原株由来ファージの電子顕微鏡像を示す。下段には、ファージ粒子径 (ヘルパー、 $n=67$ ; ヘルパー・サテライト、 $n=38$ ) から得た頭部の粒子径の分布を示す。

### (8) ヘルパーファージの誘導とファージ形成に対するサテライトファージの影響

ヘルパー・サテライト溶原株の MMC に対する反応性をヘルパー溶原株と比較した。ヘルパー・サテライト溶原株はヘルパー溶原株よりも急速な溶菌反応を示した (図 9)。さらに、MMC 添加によって溶原株から放出されたファージ粒子を、K-12 へ感染させることで得られる溶原株の数を比較した (予めヘルパーファージゲノムに *aphA1* 遺伝子を挿入し、カナマイシン耐性によって溶原株を単離できるようにしている)。

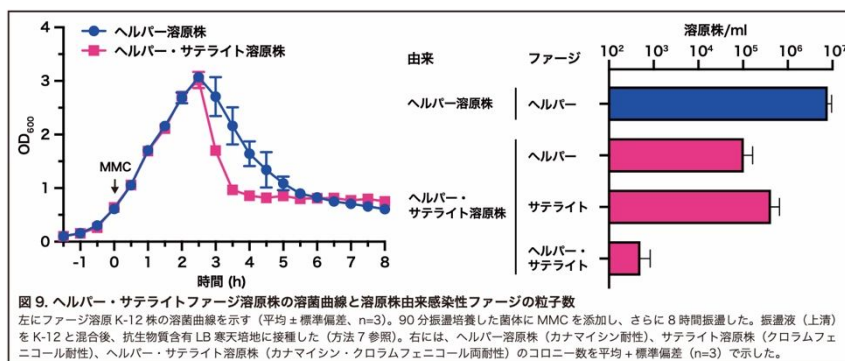


図 9. ヘルパー・サテライトファージ溶原株の溶菌曲線と溶原株由来感染性ファージの粒子数  
 左にファージ溶原 K-12 株の溶菌曲線を示す (平均 ± 標準偏差、 $n=3$ )。90 分振盪培養した菌体に MMC を添加し、さらに 8 時間振盪した。振盪液 (上清) を K-12 と混合後、抗生物質含有 LB 寒天培地に接種した (方法 7 参照)。右には、ヘルパー溶原株 (カナマイシン耐性)、サテライト溶原株 (クロラムフェニコール耐性)、ヘルパー・サテライト溶原株 (カナマイシン・クロラムフェニコール両耐性) のコロニー数を平均 ± 標準偏差 ( $n=3$ ) で示した。

ヘルパー・サテライト溶原株に由来する感染性のヘルパーファージの粒子数はヘルパー溶原株に比べ約 100 倍減少し、サテライトファージの粒子数を下回った。また、僅かではあるが、ヘルパーとサテライトが同時感染した株も存在することが分かった。以上のことから、サテライトファージは何らかのメカニズムでヘルパーファージ上の溶菌・形態形成遺伝子群の発現に対して促進的に作用する一方で、形成されたヘルパーファージ粒子をハイジャックすることで自身のゲノムを他の宿主菌へ伝播させることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Nakamura K., Murase K., Sato MP., Toyoda A., Itoh T., Mainil JG., Pierard D., Yoshino S., Kimata K., Isobe J., Seto K., Etoh Y., Narimatsu H., Saito S., Yatsuyanagi J., Lee K., Iyoda S., Ohnishi M., Ooka T., Gotoh Y., Ogura Y., Hayashi T.	4. 巻 6
2. 論文標題 Differential dynamics and impacts of prophages and plasmids on the pangenome and virulence factor repertoires of Shiga toxin-producing Escherichia coli O145:H28	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Microbial Genomics	6. 最初と最後の頁 e000323
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1099/mgen.0.000323	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 該当する

1. 著者名 Nakamura Keiji, Ogura Yoshitoshi, Gotoh Yasuhiro, Hayashi Tetsuya	4. 巻 17
2. 論文標題 Prophages integrating into prophages: A mechanism to accumulate type III secretion effector genes and duplicate Shiga toxin-encoding prophages in Escherichia coli	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS Pathogens	6. 最初と最後の頁 e1009073
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.ppat.1009073	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 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 中村佳司、村瀬一典、佐藤光彦、後藤恭宏、小椋義俊、林哲也
2. 発表標題 志賀毒素産生性大腸菌O145:H28におけるプロファージとプラスミドのダイナミクス
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 Keiji Nakamura, Kazunori Murase, Atsushi Toyoda, Takehiko Itoh, Jacques Georges Mainil, Shuji Yoshino, Keiko Kimata, Junko Isobe, Kazuko Seto, Yoshiki Etoh, Hiroshi Narimatsu, Shioko Saito, Jun Yatsuyanagi, Sunao Iyoda, Makoto Ohnishi, Tadasuke Ooka, Yasuhiro Gotoh, Yoshitoshi Ogura, Tetsuya Hayashi
2. 発表標題 Genome diversity of EHEC O145:H28 and genome-wide search of high Stx2 producibility-associated genes
3. 学会等名 10th International symposium on Shiga Toxin producing Escherichia coli Infections (VTEC2018) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 金宗鉉、中村佳司、後藤恭宏、小椋義俊、林哲也
2. 発表標題 0157堺株Stx2ファージの形態形成に必須な遺伝子の同定
3. 学会等名 第22回腸管出血性大腸菌大腸菌感染症研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中村佳司、小椋義俊、後藤恭弘、林哲也
2. 発表標題 プロファージ内プロファージによる大腸菌への3型分泌エフェクターと志賀毒素遺伝子の蓄積メカニズム
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 中村佳司、小椋義俊、後藤恭弘、林哲也
2. 発表標題 プロファージ内プロファージによる大腸菌への3型分泌エフェクターと志賀毒素遺伝子の蓄積メカニズム
3. 学会等名 第94回日本細菌学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 矢野文悟、中村佳司、谷口愛樹、後藤恭弘、小椋義俊、林哲也
2. 発表標題 腸管出血性大腸菌O26:H11におけるStxファージのゲノム多様性とダイナミクス
3. 学会等名 第94回日本細菌学会総会
4. 発表年 2021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 分担者	澤口 朗  (sawaguchi akira)  (30336292)	宮崎大学・医学部・教授    (17601)	

	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
連携 研究者	小椋 義俊  (ogura yoshi toshi)  (40363585)	久留米大学・医学部・教授    (37104)	

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
---------	---------