

令和元年9月19日現在

機関番号：82626

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K14241

研究課題名(和文) Toxin-antitoxin分子基盤の解明と核酸編集技術・細胞応答制御への応用

研究課題名(英文) Investigation on molecular basis of toxin-antitoxin systems and its application for genetic engineering and control of cellular responses

研究代表者

横田 亜紀子 (Yokota, Akiko)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・生命工学領域・主任研究員

研究者番号：20415764

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：Toxin-Antitoxin (TA)システムは、原核生物において、ストレス応答やプログラム細胞死を担うとされる。そのTAシステムの中で、RNAを配列特異的に切断するtoxinであるMazF(エンドリボヌクレアーゼ)に着目し、病原性微生物、難培養微生物、極限環境微生物由来のMazFを調製し、次世代シーケンサーを用いて、それらの認識・切断RNA配列の同定することに成功した。そこから得られた知見に基づき、TAシステムの分子認識機能や生理機能を考察するとともに、取得した各種MazFをベースとする核酸編集技術への応用や、細胞外致死因子の探索システムの構築などを試みた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

病原性微生物、難培養性微生物、極限環境微生物由来のToxin-Antitoxinシステムの分子認識機能や生理機能に関する研究は、分子生物学や細胞生物学において学術的に非常に興味深いものであり、その成果として得られる知見は、難培養微生物の産業応用や、世界的な喫緊の課題である多剤耐性菌問題の解決などに繋がる可能性を有している。さらに、本研究を通じて取得したToxin-Antitoxinタンパクは、遺伝子工学ツールとして利用することで、バイオテクノロジー分野での貢献も期待できる。

研究成果の概要(英文)：Toxin-antitoxin (TA) systems are prevailing in prokaryotes and considered to play an important role in programmed cell death and stress response of cells. We have focused on a sequence-specific endoribonuclease of MazF and its cognate antitoxin of MazE, which pair is a one of the TA systems. We have obtained and investigated various MazEFs from pathogenic microbes, hardly culturable microorganisms, and extremophiles, and attained identifying target RNA sequences of those MazFs through massively parallel sequencing. Based on the information acquired by these experimental data, we attempt to elucidate the molecular recognition mechanism and physiology of TA systems, and then to apply the obtained MazFs and laboratory findings to genetic engineering and establishment of screening system for extracellular death factors.

研究分野：生物機能工学

キーワード：Toxin-Antitoxinシステム 配列特異的認識機構 タンパク質-核酸相互作用 RNAシーケンス

1. 研究開始当初の背景

生物において負のフィードバックは恒常性維持に必要な不可欠なプロセスである。原核細胞においては、Toxin-antitoxin (TA) システムが、ストレス応答や、プログラム細胞死に関係することが明らかになりつつある。これは、平常時には antitoxin が toxin に結合してその毒性を抑制するが、飢餓等のストレス条件下ではその結合様式が崩壊して toxin が細胞内の標的分子を攻撃し、結果的に細胞の成長阻害(致死)を誘導する機構である。例えば、最もポピュラーな TA システムの1つである mazEF においては、MazF (toxin) がエンドリボヌクレアーゼとして機能し、RNA を配列特異的に切断して蛋白質合成を抑制し、細胞成長を阻害することで細胞制御応答を制御する。

しかし、バイオインフォマティクスによる TA 遺伝子座情報は蓄積されつつあるが、実際に蛋白質を発現し、その RNA 認識配列まで同定した研究は、そのうちのごく一部に限られる。また、大腸菌の mazEF TA システムによる細胞死を誘導する細胞外致死因子 (EDF, extracellular death factor) 活性を持つペプチドが発見され(引用文献1)、既存の薬剤とは性質の異なる次世代型抗生物質の開発が期待されたが、その後、EDF 分子に関する研究報告は、枯草菌 (*B. subtilis*) や緑膿菌 (*P. aeruginosa*) に対するペプチド(引用文献2)など、ごく僅かに留まっている。その一因として、対象が toxin 蛋白質であるため培養・調製が容易ではないこと、認識・切断配列 RNA の同定方法が煩雑で、かつ高度なシステムが要求されること、細胞外致死因子を探索する系が確立されていないこと、などが挙げられる。

そこで、それらの課題をクリアし、MazF (toxin, エンドリボヌクレアーゼ) の標的に対する認識・切断機構、Toxin-Antitoxin 複合体形成の作用機序、細胞外致死因子との相互作用の詳細を明らかにすることは、分子生物学や細胞生物学に対して学術的に貢献するのみならず、喫緊の課題となっている多剤耐性菌問題の解決の一助となりうるのでは、と考えた。

また、興味深いことに、難培養微生物や病原菌微生物においては、そのゲノムサイズに比して、保存されている TA システムの遺伝子座の数が多傾向があることが報告されている。もし、それら微生物の難培養性や病原性と、TA システムの関連性を明らかにし、細胞応答制御への応用ができれば、難培養微生物の増殖促進や病原性微生物の増殖抑制などにも繋がるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

本研究は、原核生物においてストレス応答やプログラム細胞死を担う Toxin-Antitoxin (TA) システムのうち、RNA を標的とし、RNA を配列特異的に切断する MazF トキシン(エ

ンドリボヌクレアーゼ)と、その標的 RNA ならびにアンチトキシン MazE に焦点を当て、タンパク質の発現・調製ノウハウと、RNA 解析技術と、各種活性評価系を駆使し、多角的かつ詳細にそれらの相互作用について検証する。得られたデータに基づき、TA システムの分子認識機構に関して深く考察するとともに、細胞増殖ならびに成長阻害を制御する因子に関する知見を蓄積し、核酸編集・細胞応答制御に繋がるような基盤技術を整備することを目的とする。さらに、多種多様な toxin を取得し、必要に応じてタンパク質工学を用いた酵素の機能改変なども行いながら、RNA 切断レパートリーの拡大と充実化を図り、エンドリボヌクレアーゼ(RNA 版制限酵素)ライブラリーを構築することで、遺伝子工学ツールの提供の実現化も目指す。

3. 研究の方法

(1) Toxin (エンドリボヌクレアーゼ) と Antitoxin タンパク質分子の選定と調製

Toxin-antitoxin database (TADB; <http://202.120.12.135/TADB2/index.php>) を利用し、各種生物種由来の TA 遺伝子座のうち、toxin がエンドリボヌクレアーゼ機能を有する Toxin-antitoxin タンパク質ペアを選定する。選定した TA 遺伝子をインサートとして pET 系ベクターに組み込んで発現ベクターを構築し、大腸菌を形質転換する。形質転換した大腸菌を大量培養し、菌体を超音波破碎した後、固定化金属イオンアフィニティークロマトグラフィー等を用いて目的タンパク質(各種 toxin と antitoxin) を精製する。

(2) Toxin (エンドリボヌクレアーゼ) の標的 RNA 配列の推定

上記(1)において取得した toxin (エンドリボヌクレアーゼ) で基質となる配列既知の人工長鎖 RNA を切断し、切断化された RNA の 5' 末端にタグ配列を付加し、それら断片の配列データを次世代シーケンサー (MiSeq, Illumina 社製) で読み取る。その後、CLC Genomics Workbench を用いてタグ配列を含むリードを基質 RNA 配列上にマッピングし、切断部位を解析し、toxin の認識配列を推定する。

(3) Toxin (エンドリボヌクレアーゼ) の認識・切断配列の特異性の検証と TA システムの分子認識機構の考察

上記(2)で推定した配列特異性を確実にするため、蛍光共鳴エネルギー移動を利用した一本鎖 RNA 切断活性の評価システムで検証する。両末端を蛍光色素で標識し、内部を任意の(特異的な)配列とした一本鎖 RNA 蛍光プローブを基質として用い、リアルタイム PCR (LightCycler 480, Roche 製) で切断活性の進行を計測する。さらに、推定される配列の類似配列を基質として用いた場合についても活性を評価する。また、上述の蛍光消光

アッセイもしくは Urea-PAGE などを用いて、toxin と antitoxin をプレインキュベーションしてから基質 RNA と反応させ、antitoxin 存在下において、toxin の活性が阻害されるかどうかの確認も行う。これらの実験を通して、1塩基の差異による活性の違いや、toxin、antitoxin、基質 RNA の三者間での相互作用について詳細に検証し、TA システムの分子認識能を厳密に評価する。

(4) 由来生物種のゲノム中における、toxin の認識・切断配列の出現頻度の解析

上記(2)(3)で認識配列を同定した TA システムについて、由来生物種のゲノム配列を NCBI (National Center for Biotechnology Information) などのデータベースから入手する。そして、ゲノム配列中における toxin の認識配列の出現頻度を計算する。その出現頻度を toxin 発現時において各遺伝子が受ける翻訳阻害度の指標とみなし、由来微生物における toxin-antitoxin の生理機能を考察する。

(5) 新規エンドリボヌクレアーゼの設計

上記(1)~(4)で取得・解析した Toxin タンパク質分子をベースとして、既報の TA システムと標的 RNA に関する情報も取り入れながら変異導入などを行い、認識・切断 RNA 配列の特性変換など、新しい機能を有するエンドリボヌクレアーゼの設計を試みる。

(6) TA システムを利用した細胞外致死因子の探索

上記(1)~(4)で取得・解析した TA タンパク質分子のうち、病原菌由来の TA ペアを対象として、toxin に対する antitoxin の結合(無毒化)を阻害し、toxin の毒性活性、細胞死を促進させる細胞外致死因子(EDF)の探索を行う。これまでに報告されている MazEF システムにおける細胞外致死因子はいずれもオリゴペプチドであることから、ペプチドファージライブラリーを用いて、toxin もしくは antitoxin に対して結合するペプチドのスクリーニングを試みた。

4. 研究成果

(1) 各種 Toxin (RNA interferase)、Antitoxin 分子の取得

TADB を用いて、以下の視点・目的で TA ペアの選定を行った。

A) 病原菌由来 TA システム; エンドリボヌクレアーゼの活性化(毒性発現)を誘起する細胞外致死因子(抗菌剤)の探索。

B) 難培養微生物由来 TA システム; 毒性(成長阻害)抑制因子探索のための基盤整備(有用微生物の増殖促進)。

C) その他、特徴的な生物種(極限環境微生物など)由来 TA システムあるいは特徴的な配列をコードする TA システム; RNA エンドリボヌクレアーゼライブラリーの拡充(多様化)。

そして、選定した Toxin と Antitoxin について、タンパク質の発現ベクターを作製し、大腸菌発現システムを用いて調製を試みた。特に toxin 蛋白質は宿主細胞に対する毒性を有するため、一般的に発現効率が悪く、発現誘導のタイミング等の慎重な検討が必要である。そこで、mRNA の安定化や翻訳効率に影響する因子(コドン使用頻度、GC 含量等)を複合的に最適化するなどの工夫を施して発現ベクターを設計した。また、宿主大腸菌株の種類についても、基本的には大腸菌 BL21(DE3)株を用い、発現が確認できなかった MazEF に関しては、その他の株を使用するなど、試行錯誤した。さらに、発現誘導をかけるタイミングや培地の組成など、各種条件についても検討した。培養後の菌体破碎や精製についても、菌体破碎液上清からの回収が少ないタンパク質については、破碎液の沈殿物を変性剤で可溶化し、それを精製した後にリフォールディング操作を行う、などの工夫をした。

これらの一連の実験・解析により、複数の難培養微生物由来の TA、極限環境微生物由来の TA、病原性微生物由来の TA を精製し、取得することに成功した。このうち、*Nitrosomonas europaea* (硝化細菌)と *Deinococcus radiodurans* (放射線耐性生物)の toxin (MazF) と antitoxin (MazE) の結果について、以下に詳細を述べる。

(2) 硝化細菌 *Nitrosomonas europaea* の TA システムの解析

硝化細菌 *Nitrosomonas europaea* は、アンモニアを亜硝酸に酸化することで生育に必要なエネルギーと還元剤を獲得する独立栄養細菌であり、水中や土壌に生息する。アンモニアの酸化という窒素循環生態学的にも、環境工学的にも重要な役割を果たす微生物であるが、増殖速度が遅く、難培養という側面を持つ。また、温度やアンモニア濃度、pH や無機物や有機化合物などの環境中の変化に敏感に反応・応答するという性質も持つ。ゲノム解析より、*N. europaea* が極めて多数の TA システムを持つことが分かり、*N. europaea* の増殖速度の遅さや環境適応力と、TA システムの多さに何らかの関連性があるのではないかと、それを明らかにすることで、有用な難培養微生物の産業応用に繋がる知見が得られるのではないかと考え、*N. europaea* の染色体上に存在する TA システムのうちの 1 つである、遺伝子座(NE1181)がコードする toxin タンパク質 MazF_{NE1181} と、その antitoxin タンパク質 MazE_{NE1182} について詳細な解析を行った。

pET ベクターに mazF_{NE1181} と mazE_{NE1182} 遺伝子を組み込んで作製した発現ベクターで形質転換した大腸菌 BL21(DE3)株を培養し、菌体破碎後の上清を、His タグを利用したアフィニティークロマトグラフィーにて精製し、高純度の MazF_{NE1181} と MazE_{NE1182} タンパクを

得ることに成功した。

精製した MazF_{NE1181} と基質人工合成 RNA (500-2, GenBank accession number: AB610940) を反応させ、Urea-PAGE で確認したところ、基質 RNA が断片化されている様子が観察された。そして、MazE_{NE1182} とブレインキュベートしてから MazF_{NE1181} を基質と反応させると、基質 RNA は切断されないことが観察された。これらの実験より、MazF_{NE1181} がエンドリボヌクレアーゼ活性を有すること、そして MazE_{NE1182} が MazF_{NE1181} の活性を阻害することが確認できたので、次に MazF_{NE1181} と 5 種類の基質人工合成 RNA (1000-1 (GenBank accession number: AB610944)、1000-2 (同 AB610945)、1000-3 (同 AB610946)、1000-4 (同 AB610947)、1000-5 (同 AB610948)) を反応させ、RNA を切断した。その断片化配列を次世代シーケンサーで読み取り、5 種類の各基質 RNA 配列を参照配列としてマッピングを行ない、各塩基 (ポジション) における coverage 数と coverage の増加率 (Relative coverage increase; RCI) を調べた。基質 1000-1 をリファレンスとして用いた場合のグラフを図 1(A) に示した。また、coverage が急上昇する塩基を 0 位として、その周辺配列の保存度を、Weblogo を用いて可視化した結果を図 1(B) に示した。

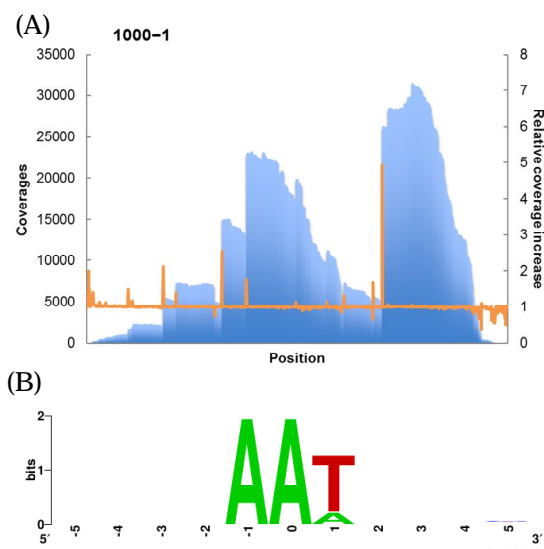


図 1 MazF_{NE1181} の切断配列の解析

(A) 基質 RNA 1000-1 を参照配列として切断配列をマッピングして得られた coverage (青棒) と coverage 増加率 (橙線) のグラフ
(B) 顕著な coverage 増加を示した塩基周辺に保存された配列

これらより、切断箇所において、AAU 配列が高く保存され、MazF_{NE1181} は優先的に AAU 配列を認識していること、さらに coverage が顕著に増加する塩基 (ポジション) が切断箇所に対応することから、トリプレットの 1 番目の A と 2 番目の A の間で RNA を開裂させること、が示唆された。

次に、MazF_{NE1181} の認識・切断配列の特異性を検証するため、AAU 配列 (RNA) を内部に含み、その両端に任意の DNA 配列を付加し、さらに 5' 末端に 6-carboxyfluorescein を、3' 末端に Black Hole Quencher を付加した蛍光標識 RNA/DNA キメラ短鎖オリゴヌクレオチドを作製し、MazF_{NE1181} と反応させたところ、速やかな蛍光強度の増加が観察された。この AAU 配列を AAA、GAU、AAC などの類似配列に置き換えて同様の測定を行うと、AAA では緩やかで弱い蛍光強度の増加が認められたものの、GAU と AAC においては、蛍光強度が全く上昇しなかった。この FRET assay から、MazF_{NE1181} は、AAU 配列を優先的に強く切断すること、AAA 配列も付加的に切断すること、そしてその配列特異性は極めて高いことが示された。

以上より、MazF_{NE1181} の主要な標的配列が AAU であることが明らかになったが、この事実から、AAU 配列を持たない転写物は、MazF_{NE1181} のエンドリボヌクレアーゼ活性に対して耐性を有すると考えられる。そこで、*N. europaea* のゲノム配列を調べたところ、タンパク質をコードする全 2562 配列のうち、Table に示した 8 つの配列のみが AAU 配列を全く持たないことが判明した (表 1)。興味深いことに、その 8 遺伝子のうちの 3 つの遺伝子は水銀耐性に関与するタンパク質をコードしていた。これらの解析結果から、ストレス環境下において、MazF_{NE1181} が転写後制御因子として機能し、これらの転写物を相対的に増加させ、重金属に対する耐性を向上させている可能性が示唆された。

表 1 *N. europaea* ゲノムにおいて、AAU 配列が存在しないタンパク質コード配列

Locus	Gene symbol	Length (bp)	Annotation
NE0390	<i>rpmH</i>	135	LSU Ribosomal protein L34
NE2575	<i>merE</i>	240	mercury resistance protein
NE0841	<i>merP</i>	276	mercury scavenger protein
NE0842	<i>merT</i>	351	mercuric transport protein
NE1224	-	264	hypothetical protein
NE1344	-	279	hypothetical protein
NE2523	-	231	hypothetical protein
NE2538	-	912	hypothetical protein

今後も *Nitrosomonas europaea* を初めとする難培養微生物の TA システムについて検証を重ね、有用な難培養微生物の産業応用の一助となるような毒性活性の抑制 (TA システムの制御) に関する知見を蓄積していきたいと考える。

(3) 放射線耐性生物 *Deinococcus radiodurans* の TA システムの解析

Deinococcus radiodurans 由来トキシン (MazF-DR) と、そのアンチトキシン MazE-DR に着目し、上記と同様に解析を進めた。*D. radiodurans* は世界で最も放射線に強い細菌とされ、さらに乾燥、高温・低温、酸化スト

レス等に対する耐性も有する究極の極限環境微生物である。したがって、その MazEF の分子レベルでの詳細な解析は、極限環境下での生存戦略を解明する一助となることが期待される。MazF-DR が RNA 配列 UACA を特異的に切断すること、その切断活性が MazE-DR により阻害されること、また、UACC、UACU、AACAA など弱く認識して切断すること、しかしその他の類似配列 (CACA、UAUA、ACA、AAA、UCUCG 等)などは切断せず、非常に厳密に配列を認識して切断すること、そして一般的に MazF の標的とされる mRNA のみならず tRNA も切断し、複数の異なるメカニズムを介して細胞内翻訳制御を行う可能性があること、などを明らかにすることができた。

(4) Toxin (エンドリボヌクレアーゼ) のライブラリーの構築

(2)(3) で、*Nitrosomonas europaea* と *Deinococcus radiodurans* の MazEF システムについて詳細を記載したが、1)において精製した、その他の Toxin タンパク質についても同様に、基質 RNA と作用させ、その切断された断片の配列を次世代シーケンサーで読み取り、認識配列を推定した。(2)(3)でも利用した、所属研究グループで開発した超並行シーケンス解析手法(引用文献3)を用いることで、精製に成功し、プレ実験において RNA 切断活性が確認されたタンパク質については、ほぼ全て、切断配列を高精度で同定することが出来た。現在、FRET を用いた認識・切断配列の特異性の検証や、MazE による活性阻害の確認を実施しているところである。これらの Toxin (MazF、エンドリボヌクレアーゼ)はいずれも認識・切断配列が異なり、多様性に富む MazF ライブラリーが構築されつつある。さらに、一部の MazF については知財化も進め、遺伝子工学ツールの提供の実現化に向けて着々と準備を整えているところである。

(5) 新規 Toxin (エンドリボヌクレアーゼ) の設計 (改変型 Toxin の作製)

これまでに取得した複数のトキシン MazF (エンドリボヌクレアーゼ)分子のうち、珍しい RNA 配列を認識・切断する MazF を出発点として、A) ランダム変異導入と B) 部位特異的変異導入の2つのアプローチを行い、改変型 Toxin の作製を試みた。A)については市販の Random mutagenesis kit を用い、変異導入を試みた。B)については、最初に出発点となる MazF を query 配列としてデータベース上から類似配列を探索し、その類似配列の二次構造や立体構造を鋳型としてモデル構造を構築した。次に構築したモデル構造と、既存の基質結合型タンパクの構造を重ね合わせ、対象 MazF の活性部位の推定を行い、変異導入箇所を決定した。今後も引き続き変異体を作製し、その活性を評価し、新しい機能を有

する Toxin の取得とライブラリーの拡充を図る予定である。

(6) 細胞外致死因子 (Toxin 活性化因子) の探索

これまでに取得し、解析を行った病原菌由来の TA ペアに焦点を絞り、toxin に対する antitoxin の結合(中和化・無毒化)を阻害し、toxin の RNA 切断活性を増加させうるペプチドについて、ファージ提示法を用いて探索した。バイオパニングを繰り返し、配列を確認した結果、ファージの濃縮が確認され、膨大な配列プールの中から、少数の目的配列が選択されてきていることが確認できた。現在は、これらの候補配列について、詳細な解析を進めているところである。

<引用文献>

- Kolodkin-Gal, Hazan R, Gaathon A, Carmeli S, and Engelberg-Kulka H.,
"A linear pentapeptide is a quorum-sensing factor required for mazEF-mediated cell death in *Escherichia coli*."
Science, **318**, 652-5 (2007)
Kumar S, Kolodkin-Gal I, and Engelberg-Kulka H.,
"Novel quorum-sensing peptides mediating interspecies bacterial cell death."
mBio, **4**, e00314-13 (2013)
Miyamoto T, Kato Y, Sekiguchi Y, Tsuneda S, and Noda N,
"Characterization of MazF-Mediated Sequence-Specific RNA Cleavage in *Pseudomonas putida* Using Massive Parallel Sequencing."
PLOS ONE, **11**: e0149494 (2016)

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 2件)

Miyamoto T., Yokota A., Tsuneda T. and Noda N., "AAU-specific RNA cleavage mediated by MazF toxin endoribonuclease conserved in *Nitrosomonas europaea*." *Toxins(Basal)* vol. 8, E174-E184, (2016), doi: 10.3390/toxins8060174 (査読有り)

Miyamoto, T., Ota, Y., Yokota, A., Suyama, T., Tsuneda, S., and Noda, N., "Characterization of a *Deinococcus radiodurans* MazF: A UACA-specific RNA endoribonuclease." *Microbiologyopen* vol.6, e00501-e00511, (2017), doi: 10.1002/mbo3.501 (査読有り)

[学会発表](計 9件)

野田 尚宏、宮本 龍樹、関口勇地、横田 亜紀子、大田 悠里、常田 聡、
「Toxin-Antitoxin 機構の分子認識機構: RNA 干渉酵素の認識切断配列の同定手

法の確立」、第 91 回日本細菌学会総会
(2018 年 3 月)

宮本 龍樹、横田 亜紀子、大田 悠里、
常田聡、野田 尚宏、「硝化細菌における
ストレス応答機構の解明: Toxin-antitoxin
機構はなぜ必要なのか?」、第二回環境微
生物系学会合同大会 2017 (2017 年 9 月)

宮本 龍樹、横田 亜紀子、大田 悠里、
常田聡、野田 尚宏、「Characterization of a
chromosomal toxin-antitoxin module
conserved in *Nitrosomonas europaea*」、How
Dead Is Dead?-V (2017 年 8 月)

宮本 龍樹、横田 亜紀子、大田 悠里、
常田 聡、野田 尚宏、
「CHARACTERIZATION OF A
SEQUENCE-SPECIFIC CUTTER
CONSERVED IN THE *NITROSOMONAS
EUROPAEA* CHROMOSOME」、The 7th
Congress of European Microbiologists
(FEMS 2017) (2017 年 7 月)

大田 悠里、宮本 龍樹、横田 亜紀子、常
田 聡、野田 尚宏、「SCREENING
DISRUPTORS OF THE
TOXIN-ANTITOXIN COMPLEX IN
STAPHYLOCOCCUS AUREUS」、The 7th
Congress of European Microbiologists
(FEMS 2017) (2017 年 7 月)

横田 亜紀子、宮本 龍樹、大田 悠里、常
田 聡、野田 尚宏、「Toxin-antitoxin 分子
認識機構:病原菌由来 RNA インターフェ
レンスの特異的認識配列の同定」、第 68
回 日本生物工学会大会 (2016 年 9 月)

大田 悠里、宮本 龍樹、横田 亜紀子、常
田 聡、野田 尚宏、「病原性微生物に対す
る新規抗菌分子の探索」、第 10 回 細菌学
若手コロッセウム (2016 年 7 月)

大田 悠里、宮本 龍樹、横田 亜紀子、佐々
木 章、常田 聡、野田 尚宏、「ファージ
ディスプレイ法によるプログラム細胞死
誘導物質の探索」、第 30 回日本微生物生
態学会大会 (2015 年 10 月)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 1 件)

名称: エンドリボヌクレアーゼ、およびその
阻害物質

発明者: 宮本龍樹, 横田亜紀子, 大田悠里,
野田尚宏, 常田聡

権利者: 国立研究開発法人産業技術総合研究
所

種類: 特許

番号: 特願 2018-061354 号

出願年月日: 平成 30 年 3 月 28 日

国内外の別: 国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

横田 亜紀子 (YOKOTA, Akiko)

産業技術総合研究所・バイオメディカル研
究部門・主任研究員

研究者番号: 20415764

(2) 連携研究者

野田 尚宏 (NODA, Naohiro)

産業技術総合研究所・バイオメディカル研
究部門・グループリーダー

研究者番号: 70415727