

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：32675

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K05795

研究課題名(和文)細菌の情報伝達システムによる環境応答生存戦略と適応増殖戦略の研究

研究課題名(英文)Epistatic studies of bacterial adaptive growth by two component system

研究代表者

山本 兼由 (Yamamoto, Kaneyoshi)

法政大学・生命科学部・教授

研究者番号：40351580

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)：二成分制御系(TCS)は原核生物に特有な環境応答システムで、複数のTCS間でクロストークが働き、環境応答に柔軟性と多様性を与える。多重ゲノム編集HoSel法をもちい単離した大腸菌K-12の全34種類のすべてのレギュレーター-遺伝子欠失株と全30種類のすべてのセンサー-遺伝子欠失株について、ゲノム構造機能、増殖力、代謝力の相違を調べた。その結果、TCSレギュレーターは環境応答の生存に必要なものに対し、TCSセンサーは生存にも適応増殖にも不必要だった。さらにすべてのセンサー-遺伝子欠失株では細胞内の代謝産物プロファイルは親株と大きく違い、いくつかのレギュレーターがセンサー非依存的に活性化していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

環境応答や適応増殖にTCSの「センサーが不要」で「レギュレーターは低分子のリン酸化有機化合物で活性」し、「センサー-遺伝子をもたない細胞に特異的な代謝産物プロファイル」があることを見出した。これらの成果は、細菌生存に、代謝と連携し活性化するレギュレーターが本質的に重要であることを示し、進化的にどのようにセンサーを獲得したのかという新しい生物学的問いを与え、自然環境で増殖せず生存する細菌の理解に貢献する。TCSは、病原性細菌の病原性、抗菌剤耐性、バイオフィーム形成に関わる遺伝子群を発現する。生存と増殖ではたらく代謝-TCSレギュレーターは、抗菌薬開発や多剤細菌感染症における新しい標的になる。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to clarify the contribution of stress response to individual survive and adaptive growth of Escherichia coli. Two-component regulatory system (TCS) is a conserved signal transduction system in prokaryote. TCS consists of a pair of a histidine sensor kinase (HK) and a response regulator (RR). The genome sequence of E. coli K-12 predicts 30 HK and 34 RR genes. Genome editing HoSel method isolated the all 34 RR genes knockout and the all 30 SK gene knockout E. coli strains. The genome sequencing, transcriptome, proteome, metabolome, and growth were investigated in these strains, indicating that RRs were required for survival under several stress conditions, whereas HKs were unnecessary for both survival or adaptive growth. The metabolite profiles of all SK gene knockout strain differed significantly from those of the parent. These results show that several regulators are activated with phosphate metabolites in the HK-independent manner for individual survival.

研究分野：応用微生物学

キーワード：細菌 適応増殖 環境応答 大腸菌 二成分制御系 ゲノム編集技術 ゲノム微生物学 代謝-遺伝子発現制御ネットワーク

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 二成分制御系 (TCS: Two-Component System)

TCS は His→Asp リン酸リレー型の原核生物特有な情報伝達システムである。典型的な TCS は、環境変化を感知し、自己リン酸化するセンサーキナーゼ (HK) と HK からリン酸基を受け取り活性化するレスポンスレギュレーター (RR) で構成される。HK と RR のリン酸化アミノ酸残基の周辺の数アミノ酸配列の保存性は高く、原核生物ゲノムから RR 数はゲノムサイズに比例した ~ 18 RR/Mbp と推定されていた (Galperin, J. Bacteriol., 2006) が、最近ドメインファミリーを基盤とした再分析から、TCS はゲノム 1 Mbp あたり 2 ファミリー存在し、5 Mbp 以上のゲノムでは 8 ファミリーで飽和すること、さらにファミリーにより細菌種でゲノム上のコピー数が異なることが明らかとなった (Miyake & Yamamoto, 2020)。

(2) 大腸菌 K-12 の TCS 制御ネットワーク

モデル細菌である大腸菌 K-12 ゲノムは、30 の HK 遺伝子と 34 の RR 遺伝子をコードする (Mizuno, 1997)。ゲノム上のオペロン構造から推定される TCS の HK-RR ペアは 27 存在し、特異的なリン酸リレーを行う (Yamamoto et al., 2005)。個々の RR が制御する応答機能はポストゲノム解析を中心に分析し、レギュロン特性からそれらの機能を「呼吸」「代謝」「ストレス応答」「金属応答」「走化性」の 5 つのグループに大別した (Yamamoto, 2014)。一方特異性を示す TCS 情報伝達間でも、外環境条件の変化により、HK のシグナル感知 (Stage 1)、HK による RR のリン酸化 (Stage 2)、RR の標的認識 (Stage 3) の各段階でクロストークを発揮する (Yamamoto et al., 2005; Yamamoto, 2014; Yoshida et al., 2015)。これらの結果は、ゲノム上の複数種で複数コピーが存在する TCS では情報交差が行われ、情報伝達ネットワークを形成していることが示唆された。

(3) 細菌の適応増殖のフレキシブルエピスタシス

原核生物の複数の TCS 遺伝子が関わる制御ネットワークは、柔軟で多様な環境応答を可能としている。環境応答は、外環境の変化の感知、感知したシグナルに対して応答することで、個体が生存する。一方、環境応答を実現した個体は、その環境下で最適な増殖を実現する適応増殖を示す。独自に開発した遺伝子マーカーを利用しないゲノム編集技術 HoSel (Homologous Sequence Integration) 法により、ゲノム上の多重な遺伝子欠失を可能とした。その技術を用いた大腸菌 TCS 多重遺伝子欠失の分析から、適応増殖には 3 つの TCS の RR (PhoB、PhoP、OmpR) のうち任意の 2 つが作用するエピスタシス現象であることを発見した (Miyake & Yamamoto, 2020)。

2. 研究の目的

本研究では、原核生物に保存される TCS ネットワークによる環境応答生存戦略を基盤とした適応増殖戦略の理解を目的とした。HoSel 法により、大腸菌 K-12 の全 34 種類のすべての RR 遺伝子を欠失させた株 (Δ RR 株) と全 30 種類のすべての HK 遺伝子を欠失させた株 (Δ HK 株) の単離に成功した。これら大腸菌変異体は、天然にも存在し得ない TCS システムを全くもたないモデル株である。これらをもちい、包括的ゲノム構造機能分析と一細胞適応増殖機能分析を行い、TCS ネットワークによる原核生物の環境応答生存戦略と適応増殖戦略への新しい生理的意義を見出すことを目的とした。

3. 研究の方法

大腸菌全 TCS ネットワークが関わる個体生存の環境応答に対する貢献度、さらに子孫繁栄を促進させる適応増殖に対する貢献度を明らかにするため、大腸菌の親株と Δ RR 株と Δ HK 株について、「ゲノムの構造と機能の相違」「増殖力の相違」「酸化還元とプロトン産生で概観する代謝力の相違」について各種定量データを取得し、それらの情報を統合し、考察した。

(1) ゲノムの構造と機能に関する研究方法

① ゲノミクス

大腸菌の親株、 Δ RR 株、 Δ HK 株のゲノムを単離し、ゲノムシーケンシングを行い、得られたゲノム情報を比較することで、すべての TCS 遺伝子破壊のため導入した人工終始コドンを含めゲノム上のすべての SNP を探索した。

② トランスクリプトミクス

単離した Δ RR 株、 Δ HK 株は、その過程で使用した富栄養な LB 培地で生育が可能である。そこで、LB 培地の対数増殖中期において、親株、 Δ RR 株、 Δ HK 株の全 RNA を抽出し、次世代シーケンサーを用いた RNA-seq 分析を行った。得られた RNA プロファイルから、 Δ RR 株および Δ HK 株のゲノム転写における相違をクラスター分析および主成分分析で比較した。

③ プロテオミクス

トランスクリプトミクスと同じ条件、LB 培地の対数増殖中期において、親株、 ΔRR 株、 ΔHK 株の全タンパク質を調製し、LC-MS によるショットガン解析を行った。得られたタンパク質プロファイルから、 ΔRR 株および ΔHK 株の細胞内タンパク質における相違をクラスター分析および主成分分析で比較した。

④ルシフェラーゼ遺伝子をレポーターとしたプロモーター活性測定

各遺伝子の転写開始点を含むプロモーター領域を pLUX ベクターにクローニングし、このレポータープラスミドで形質転換した大腸菌細胞の発光を測定することで、プロモーター活性を評価した (Yamanaka et al., 2020)。

(2) 増殖力に関する研究方法

①フェノタイプマイクロアレイ分析と速度論的解析

フェノタイプ解析システム (BIOLOG 社) を用い、約 2000 種の培養条件に対する 72 時間までの定量的増殖測定を、親株、 ΔRR 株、 ΔHK 株について行った。システムにより得られた 72 時間までの約 2000 種の培養条件における増殖曲線の比較から、比増殖速度と定常期飽和密度を算出し、親株、 ΔRR 株、 ΔHK 株のさまざまな環境ストレスにおける増殖を比較した。

②増殖における濁度計測と速度論的解析

自動培養測定器 (ADVANTEC 社) を用い、大腸菌をさまざまな培地に植菌し、15 分間隔で継続的に濁度を計測した。

③一細胞増殖測定とその統計分析

倒立顕微鏡 (オリンパス社) を用い、大腸菌を適当な寒天培地に塗布し、その寒天培地を切り出しプレパラートを作製した。プレパラートを顕微鏡に設置し、一細胞から増殖し形成するマイクロコロニーの細胞数を、明視野タイムラプスにより計測した。50 細胞以上の一細胞について、マイクロコロニーに含まれる細胞数を継続的に測定し、定量的増殖曲線を得た。それらのデータから、増殖開始までの時間と増殖速度を算出し、それらの統計的分析を行なった。

(3) 代謝力に関する研究方法

①増殖における培養液の酸化還元電位計測

親株、 ΔRR 株、 ΔHK 株を LB 培地において 37°C で増殖させ、継続的に培地中の酸化還元電位を計測した。

②増殖における培養液の pH 計測

親株、 ΔRR 株、 ΔHK 株を LB 培地において 37°C で増殖させ、継続的に培地中の pH を計測した。

③メタボロミクス

トランスクリプトミクスとプロテオミクスと同じ条件、LB 培地の対数増殖中期において、親株、 ΔRR 株、 ΔHK 株の代謝物を調製し、CE-TOFMS を用い代謝産物を分離し、MasterHands ver.2.19.0.2 により代謝産物の同定と定量を行なった (ヒューマンメタボロームテクノロジーズ社)。得られた代謝物プロファイルから、 ΔRR 株および ΔHK 株の細胞内代謝物における相違を主成分分析で比較した。

4. 研究成果

(1) 大腸菌 ΔRR 株と ΔHK 株のゲノム構造と機能の特徴

ΔHK 株のゲノムを抽出し、次世代シーケンサーでゲノム配列を解読した結果、HoSeI 法で導入した親株に 30 の終始コドンのみが SNP として検出された。同様に、 ΔRR 株のゲノムを解読した結果、HoSeI 法で親株に導入した 34 の終始コドンと 3 ヶ所の塩基置換 (*tolE* 遺伝子内、*yihQ* 遺伝子内、*hydN* と *ascG* 遺伝子間) を SNP として検出した。さらに *insAB* と *yfbQ* 遺伝子間の 315 bp の欠失も確認した。予想しなかったすべての変異は増殖に必須な遺伝子群とは無関係な位置だった。

独立した 2 回の実験から得た親株、 ΔRR 株、 ΔHK 株の RNA プロファイルは、のべ 4,412 転写産物を検出し、それらのデータセットを用いた主成分分析から、 ΔRR 株と ΔHK 株はそれぞれ親株とは異なる RNA プロファイルをもつことがわかった。また、独立した 3 回の実験から得た親株、 ΔRR 株、 ΔHK 株のタンパク質プロファイルは、のべ 2,271 タンパク質を検出し、それらのデータセットを用いた主成分分析から、 ΔRR 株と ΔHK 株はそれぞれ親株とは異なるタンパク質プロファイルをもつこともわかった。ただし、 ΔRR 株と ΔHK 株それぞれの RNA プロファイルとタンパク質プロファイルは決して強くない相関であり、転写変化が直接タンパク質変化に結びつかないことが示唆された。一方、 ΔHK 株では、特にタンパク質レベルでアミノ酸代謝酵素群の細胞内量が高いことを見出した。

(2) HK 非依存的に Zヌクレオチドで活性化する RR

Δ HK 株における全 30 の TCS 制御遺伝子群 (542 遺伝子) の転写量を親株および Δ RR 株との RNA プロファイルを比較した結果、9 遺伝子の転写量が Δ HK で親株と同程度で、 Δ RR 株で変化するものだった。これらの遺伝子群の転写量変化は、HK 非依存的に活性化される RR の存在を示唆した。そこで、HK が未同定なオファンレギュレーター FimZ の分子機構を明らかとした。トランスクリプトーム、レポーター解析、クロマチン免疫沈降 PCR 解析から FimZ は *sfmA* プロモーターを活性化することを明らかとした。また、FimZ は F 型 ATPase 依存的に細胞伸長を誘導し、F 型 ATPase の α サブユニットと特異的に相互作用した。これら FimZ による制御には、いずれの HK 遺伝子も必要なかった。またアセチルリン酸に関わる代謝遺伝子群も不要だった。一方、細胞内 ZMP/ZTP が蓄積する *purA* 遺伝子欠失は、FimZ 依存的 *sfmA* プロモーター活性の誘導を高め、FimZ 依存的細胞伸長を抑制した。*purA* 遺伝子欠失株における FimZ 依存的細胞伸長は、AMP の添加と FimZ-D56A 変異体により回復した。これらの結果より、細胞伸長を誘導する活性型 I はアミノ酸残基 K106 と D109 を必要とし、*sfmA* プロモーターを活性化する活性型 II は K106 と D109 に加え、リン酸化部位と推定される D56 を必要とした。細胞内 ZMP/ZTP の蓄積は、活性型 I の機能を抑制し、活性型 II の機能は亢進することから、HK 非依存的に核酸代謝物で活性化される FimZ による階層的線毛合成制御を提案した (Ogawa et al., 2022)。

(3) 大腸菌 Δ RR 株と Δ HK 株の増殖力の特徴

Δ RR 株と Δ HK 株を LB 培地で種々の温度条件下 (27°C, 32°C, 37°C, 42°C) で培養した結果、 Δ RR 株と Δ HK 株は親株と比較して誘導期の延長があるものの、増殖に大きな差は見られなかった。つぎに、 Δ RR 株と Δ HK 株の環境適応能をフェノタイプマイクロアレイを用いて約 1,000 種のストレス条件下での増殖を網羅的に計測し、定常期における飽和細胞密度と対数増殖期の比増殖速度から評価した。その結果、 Δ SK 株は親株とほぼ同じストレス条件下での増殖を示したが、 Δ RR 株は多くのストレスに対して感受性を示した。 Δ SK 株と Δ RR 株とのストレス条件下における比増殖速度を比較したところ、 Δ SK 株でのみ増殖する 41 ストレス条件を特定し、そのうち 9 条件は高浸透圧ストレスだった。

(4) 酸性ストレスにおける大腸菌の環境応答生存戦略と適応増殖戦略

大腸菌の酸性ストレスに応答する生存戦略として、アミノ酸脱炭酸酵素による細胞内プロトン消費と F 型 ATPase による細胞内プロトンの排出が推定されている。アミノ酸脱炭酸酵素で最も効果的なグルタミン酸脱炭酸酵素のシステムでは、関連する遺伝子群はゲノム上の同じ遺伝子座にあり、GAD クラスターと呼ばれ、TCS の *EvgSA* により酸性ストレスで活性化される。GAD クラスターにある唯一機能が不明だった小さな膜タンパク質コード遺伝子 *hdeD* の機能を明らかとした。*hdeD* プロモーターは、グリセロールを炭素源とする最少培地で誘導された。*hdeD* 欠失株では、べん毛合成および運動性に関連する全ての遺伝子発現が増加させ、それはべん毛合成の転写活性化因子 FliHDC のリプレッサー LrhA の遺伝子プロモーター活性の抑制に起因していた。実際、*hdeD*、*gadE*、*lrhA* 欠失株は菌体あたりのべん毛数が増加し運動性が向上した。推定した HdeD 構造分析から、HdeD は中性付近の微細な pH 変化を感知する新しい膜センサーであることが示唆された。したがって、強酸性環境下に晒された大腸菌は *EvgSA* を介し HdeD 合成を誘導し、その後増殖可能な中性域環境に移った時、HdeD 依存的にべん毛合成を停止させ、細胞エネルギーを細胞分裂に集約するはたらきを推定した (Yamanaka et al., 2021)。

つぎに、酸性ストレスにおける大腸菌の適応増殖戦略を調べた。フェノタイプアレイの結果から、 Δ RR 株と Δ HK 株ともに、親株と比較して酸性ストレスの増殖において感受性を示した。実際、 Δ RR 株と Δ HK 株を pH 7.0、pH 5.5、pH 5.0、pH 4.5、pH 4.0、pH 3.5 の M9 グルコース液体培地中で培養したところ、pH4.0 以下では親株も含めすべての株が増殖しなかったが、pH4.5 以下では Δ RR 株と Δ HK 株が増殖しなかった。一方、HoSeI 法で単離した F 型 ATPase の欠失株 (*Δ atpE*、 *Δ atpD*、 *Δ atpDatpE*) は親株と同じように pH4.0 以下で増殖しなかった。pH3.5 の酸ストレスでは親株は増殖しないが、生存していることを CFU 測定で確認した。そこで、 Δ RR 株、 Δ HK 株、 *Δ atpE*、 *Δ atpD*、 *Δ atpDatpE* の pH 3.5 曝露における生存能力を測定したところ、予想通り、 Δ RR 株と Δ HK 株のみが曝露後 8 時間で完全に死滅した。しかし、酸ストレスに反応する TCS 遺伝子のそれぞれを欠失した *Δ evgS*、 *Δ evgA*、 *Δ torS*、 *Δ torR*、 *Δ rcsC*、 *Δ rcsD*、 *Δ rcsB* では、pH 3.5 曝露における生存能力を維持していた。つぎに pH 3.5 曝露後の再増殖に F 型 ATPase が関与しているのかを調査した。光学顕微鏡を用いて pH 3.5 曝露後の再増殖初期の分裂を確認したところ、 *Δ atpE*、 *Δ atpD*、 *Δ atpDatpE* では正常に分裂する細胞が減少した。これらの結果から、TCS ネットワークが酸性ストレスに反応する生存と適応増殖に必要で、その後酸性ストレスが解消された環境の増殖には F 型 ATPase が必要であることが明らかとなった。

(5) 大腸菌 Δ RR 株と Δ HK 株の代謝力の特徴

Δ RR 株と Δ HK 株の培養液中の酸化還元電位と pH を継時的に測定した結果、親株の培養液と大きな違いはなかった。独立した 2 回の実験から得た親株、 Δ RR 株、 Δ HK 株の代謝プロファイルは、のべ 313 代謝産物を検出し、それらのデータセットを用いた主成分分析から、 Δ HK 株は Δ RR 株と親株とは異なる代謝プロファイルをもつことがわかった。各代謝産物量を 3 株における比較から、 Δ HK 株ではジペプチドを含むアミノ酸の細胞内量が高いことがわかった。

(6) HoSeI 法を活用し展開した研究

ゲノム編集 HoSeI 法は、マーカー遺伝子を利用しないこと、一塩基レベルのゲノム編集であることから、多重なゲノム編集を簡便に行う特徴をもつ。本研究を通して活用した HoSeI 法の汎用性が高まり、そのシステムを活用する研究が展開された。

①大腸菌の増殖開始における ATP 依存性プロテアーゼ Clp の役割

Clp は細菌で広く保存される ATP 依存性プロテアーゼであり、アンフォールダーゼとプロテアーゼで構成され、大腸菌では ClpAP、ClpXP として知られている。大腸菌の定常期から誘導期への移行時のタンパク質プロファイル変化における ATP 依存性プロテアーゼ Clp の役割を調べるため、HoSeI 法により $\Delta clpAXP$ 、 $\Delta hslUV$ を単離した。それらの増殖を測定した結果、 $\Delta hslUV$ において増殖の異常は見られなかった。一方 $\Delta clpAXP$ は、親株と比べ対数増殖期の開始が遅延した。これらの結果より、Clp が大腸菌の適切な増殖開始に必要なことが明らかとなった。

②HoSeI 法による大腸菌ゲノムデザインとその金属資源化への応用

パラジウム恒常性に関与する知見から、HoSeI 法により *nikA* と *zntA* 遺伝子機能を欠失させたゲノム編集大腸菌株を単離したところ、その細胞内パラジウム濃度が増加した。このパラジウム高蓄積ゲノム編集大腸菌を 2.5 ppm のパラジウムを含む LB 培地で培養し、その細胞内の白金族含有量を測定した結果、パラジウムは ppm オーダーだったのに対し、それ以外の白金族金属は ppb オーダー以下であった。これらの結果より、希薄パラジウム環境からゲノム編集大腸菌パラジウム濃縮をさせる新しい金属資源化を提案した (山本ら, 2023)。

③大腸菌のカリウム恒常性に関する

大腸菌はカリウム輸送システムを少なくとも 4 つ (Kdp、Kup、TrkG、TrkH) もつ。このうち Kdp は、TCS の KdpDE によって低カリウム環境に応答し発現する。パラログである *trkG* と *trkH* 遺伝子プロモーター活性を測定した結果、*trkG* 遺伝子のみが核様体 H-NS によりサイレンシングされていた。これらの結果は、TrkH をもつ大腸菌はファージなど外来因子から *trkG* 遺伝子を獲得するモデルを提案した (Tanudjaja et al., 2023)。

<引用文献>

Galperin MY. Structural classification of bacterial response regulators: diversity of output domains and domain combinations. *J Bacteriol.* 2006, 188(12):4169-82.

Mizuno T. Compilation of all genes encoding two-component phosphotransfer signal transducers in the genome of *Escherichia coli*. *DNA Res.* 1997, 4(2):161-8.

Miyake Y, Yamamoto K. Epistatic effect of regulators to the adaptive growth of *Escherichia coli*. *Sci Rep.* 2020, 10(1):3661.

Ogawa A, Kojima F, Miyake Y, Yoshimura M, Ishijima N, Iyoda S, Sekine Y, Yamanaka Y, Yamamoto K. Regulation of constant cell elongation and Sfm pili synthesis in *Escherichia coli* via two active forms of FimZ orphan response regulator. *Genes Cells.* 2022, 27(11):657-674.

Tanudjaja E, Hoshi N, Yamamoto K, Ihara K, Furuta T, Tsujii M, Ishimaru Y, Uozumi N. Two Trk/Ktr/HKT-type potassium transporters, TrkG and TrkH, perform distinct functions in *Escherichia coli* K-12. *J Biol Chem.* 2023, 299(2):102846.

Yamamoto K. The hierarchic network of metal-response transcription factors in *Escherichia coli*. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2014, 78(5):737-47.

Yamamoto K, Hirao K, Oshima T, Aiba H, Utsumi R, Ishihama A. Functional characterization *in vitro* of all two-component signal transduction systems from *Escherichia coli*. *J Biol Chem.* 2005, 280(2):1448-56.

Yamanaka Y, Aizawa SI, Yamamoto K. The *hdeD* Gene represses the expression of flagellum biosynthesis via LrhA in *Escherichia coli* K-12. *J Bacteriol.* 2022, 204(1):e0042021.

Yamanaka Y, Watanabe H, Yamauchi E, Miyake Y, Yamamoto K. Measurement of the promoter activity in *Escherichia coli* by using a luciferase reporter. *Bio Protoc.* 2020, 10(2):e3500.

Yoshida M, Ishihama A, Yamamoto K. Cross talk in promoter recognition between six NarL-family response regulators of *Escherichia coli* two-component system. *Genes Cells.* 2015, 20(7):601-12.

山本兼由, 堀貴翔. バイオプロセスを用いた次世代金属資源化の技術開発. *クリーンテクノロジー*. 2023, 33(3):70-73.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 4件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Yamanaka, Y., Aizawa, S., and Yamamoto, K.	4. 巻 204
2. 論文標題 The hdeD gene represses the expression of flagellum biosynthesis via LrhA in Escherichia coli K-12.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Bacteriology	6. 最初と最後の頁 e0042021
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/JB.00420-21	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 -
1. 著者名 Sakamoto, A., Sahara, J., Kawai, G., Yamamoto, K., Ishihama, A., Uemura, T., Igarashi, K., Kashiwagi, K., and Terui, Y.	4. 巻 21(7)
2. 論文標題 Cytotoxic mechanism of excess polyamines functions through translational repression of specific proteins encoded by polyamine modulon.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 2406
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms21072406	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 -
1. 著者名 山本兼由、渡邊宏樹	4. 巻 71(12)
2. 論文標題 ゲノム編集HoSel法をもちいた大腸菌バイオプロセスを活用するレアメタル資源化	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 月刊 化学工業	6. 最初と最後の頁 753-760
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tanudjaja, E., Hoshi, N., Yamamoto, K., Ihara, K., Furuta, T., Tsujii, M., Ishimaru, Y., and Uozumi, N.	4. 巻 299(2)
2. 論文標題 Two Trk/Ktr/HKT-type potassium transporters, TrkG and TrkH, perform distinct functions in Escherichia coli K-12.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 102846
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jbc.2022.102846	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 -

1. 著者名 Ogawa, A., Kojima, F., Miyake, Y., Yoshimura, M., Ishijima, N., Iyoda, S., Sekine, Y., Yamanaka, Y., and Yamamoto, K.	4. 巻 27(11)
2. 論文標題 Regulation of constant cell elongation and Sfm pili synthesis in Escherichia coli via two active forms of FimZ orphan response regulator.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 657-674
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12982	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 -

1. 著者名 山本兼由、堀貴翔	4. 巻 33(3)
2. 論文標題 バイオプロセスを用いた次世代金属資源化の技術開発	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 クリーンテクノロジー	6. 最初と最後の頁 70-73
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計15件(うち招待講演 1件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 三宅裕可里、菅原慎吾、山本兼由
2. 発表標題 全二成分制御系遺伝子機能を欠失させた大腸菌の性質
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 木口遼香、山中幸、才木桂太郎、田代有美子、高橋幸祐、山本兼由
2. 発表標題 大腸菌の酸性適応生存戦略に関する分子機構
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 保科真樹、吉村美歩、吉種光、山本兼由
2. 発表標題 大腸菌増殖の誘導期におけるATP依存性プロテアーゼの関与
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 眞木良美、山本兼由
2. 発表標題 大腸菌増殖の誘導期から対数増殖期への変遷における核様体タンパク質Fisの役割
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Otabe, Y., Ando, S., Ito, S., Koebis, M., Endo, A., Ueno, K., Yamamoto, K., Saitoe, M., Saeki, Y., Aiba, A., Fukuda, Y., and Yoshitane, H.
2. 発表標題 E3 ligases CLIP1 and CLIP2 ubiquitinate BMAL1 and inhibit the E-box function
3. 学会等名 Asian Forum on Chronobiology 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 吉村美歩、保科真樹、堀野寛佑輝、吉種光、山本兼由
2. 発表標題 定常期から誘導期への遷移における大腸菌Clpによるタンパク質管理
3. 学会等名 日本農芸化学会2023年度大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 山本兼由
2. 発表標題 ゲノム編集大腸菌を用いた金属資源バイオ細胞鉱の創出
3. 学会等名 関西バイオビジネスマッチング2022 オンライン
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 山本兼由
2. 発表標題 大腸菌ゲノム上の遺伝情報を改変する技術
3. 学会等名 大隅基礎科学創成財団 第16回微生物コンソーシアムG 1 定例会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山本兼由
2. 発表標題 大腸菌を用いたバイオプロセスによる金属資源化
3. 学会等名 エコプロ2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 矢ヶ崎優、平野元暉、三宅裕可里、菅原真悟、吉種光、吉村美歩、山本兼由
2. 発表標題 センサーキナーゼをもたない大腸菌の表現型
3. 学会等名 第45回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山本兼由、吉村美歩、山中幸
2. 発表標題 Zヌクレオチドによる大腸菌レスポンスレギュレーターFimZの2つの活性様式
3. 学会等名 第45回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 平野元暉、三宅裕可里、菅原真悟、矢ヶ崎優、倉嶋大樹、吉種光、吉村美歩、山本兼由
2. 発表標題 大腸菌の二成分制御系が与えるその代謝特性への影響
3. 学会等名 第20回 微生物研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山本兼由
2. 発表標題 バイオプロセスを用いた次世代金属資源化の技術開発
3. 学会等名 JST新技術説明会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 平野元暉、三宅裕可里、菅原真悟、矢ヶ崎優、鈴木晴子、吉種光、吉村美歩、山本兼由
2. 発表標題 二成分制御系センサーキナーゼをもたない大腸菌の単離と分析
3. 学会等名 第18回 21世紀大腸菌研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 堀野寛佑輝、吉村美歩、保科真樹、吉種光、眞木良美、山本兼由
2. 発表標題 大腸菌のATP依存性プロテアーゼCipの増殖開始における役割
3. 学会等名 第18回 21世紀大腸菌研究会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 白金族金属を蓄積する微生物	発明者 山本兼由、渡邊宏樹	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2021/042757	出願年 2021年	国内・外国の別 外国

産業財産権の名称 白金族金属を蓄積する微生物	発明者 山本兼由、渡邊宏樹	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-194565	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 金属の回収方法、並びに金属回収用担体及びこれを用いた金属の回収用バイオリクター	発明者 山本兼由、三宅裕可里、小島文歌、吉多美祐、大沢美紀、北	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、JP 7128527	取得年 2022年	国内・外国の別 国内

〔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	吉村 美歩 (Yoshimura Miho) (40865820)	法政大学・生命科学部・助手 (32675)	

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