

奈良先端科学技術大学院大学
遺伝子教育研究センター 教授

森 浩禎

「大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析」

研究期間：平成 1 0 年 1 2 月 1 日～平成 1 5 年 1 1 月 3 0 日

研究課題名：大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析

1. 研究実施の概要

1989 年より始まった日本の大腸菌ゲノムプロジェクトも 1997 年にはアメリカの Wisconsin 大学、Blattner 博士らのグループと同時に、その全体像を明らかにすることができた。大腸菌の全ゲノム構造から明らかになったことは、半世紀に及ぶ生化学、遺伝学、そして分子生物学における研究の蓄積にもかかわらず、その半数以上の遺伝子が機能未解析であったことである。また、全体の 15%にも上る遺伝子群が遺伝子およびタンパク質データベースとの相同性解析において類似の遺伝子を見つけることのできない、大腸菌に特異的な遺伝子である。それでも依然、大腸菌はこれまでの研究成果の蓄積が膨大であり、且つ研究方法論も充実している地球上でもっとも良く研究された生物の 1 種である。これまでの研究の蓄積を活かし、個々の研究成果の相互の関係を明らかにすることで、生物の基本単位である細胞の全体像の統合的理解にもっとも近い生物の一つであることは疑う余地はないと考えている。

私たちは細胞の生命活動を十分に定量的かつ予測可能なレベルで解析・記述することを大きな目標として、これまでの研究の枠組みに囚われない新たな分野の開拓とその基盤整備を目的に本プロジェクトの推進を行ってきた。

これまでの大腸菌を用いた研究は、対象とする遺伝子の詳細な分子機構の解析およびその関連する遺伝子群との相互関係の解析が中心である。一方、ゲノム解析の成果は、その生物の持つ全遺伝子がある程度の確度で予測し、それを研究のスタートとすることが可能となった。前者をボトムアップ型の研究とすると後者は明らかにトップダウン型の研究を可能にするものである。このような研究から生じる成果はこれまでの研究の成果とは質も量も違うものとなり、私たち自身の取り組み方および考え方を変えていかないとこれまでの枠組みに囚われてしまった展開に終わる。全体を対象とすることから一定の品質の全体を網羅した研究用リソースの開発が非常に重要になる。またそれらから生み出される解析結果は膨大なものとなる。過去数年の間にいわゆる全体を対象とした“オーム”研究が非常に発展してきている。細胞内の転写の全体像を捕らえることができるマイクロアレイを利用した transcriptome 解析、網羅的な gene-protein index 作製やタンパク質相互作用などの proteome 解析、細胞内の代謝産物の同定や流れの解析など、一度に得られる解析結果は非常に膨大なものとなり、情報処理技術や数学的な解析なくしてはそこからの知識獲得は不可能である。生命活動は個々の遺伝子群の相互ネットワークによる活動である。非常に複雑なネットワーク解明に向けた研究は明らかにこれまでの研究の枠組みでは不十分であり、生化学、遺伝学そして分子生物学に加えて情報処理、数学そしてシステムとして細胞を捕らえようとするシステムズバイオロジーなどの学問体系を取り込んだ新たな分野の創造が必要不可欠である。非常に先の長い研究と考えられるが、私たちは以上のことを想定し、これまでの 5 年間でこの分野の基盤整備を行い、その研究の第一歩を着実に踏み出すことができた

考えている。

いかにこれまでの研究開発の概要を述べる。

(1) 【研究の概要】

以下の研究開発項目を設定し、すべてのプロジェクト構成メンバーによる協調体制をとり研究開発を推進した。

リソースの作製

1. 大腸菌 W3110 株のゲノム配列の最終決定
2. 予測全遺伝子（約 4,300 遺伝子）のクローン作製と維持管理・分譲システムの構築
3. 予測全遺伝子のトランスポゾンによる挿入破壊株と完全欠失株作製、それらの維持管理・分譲システムの構築

バイオインフォマティクス

1. 類似部分グラフ探索による遺伝子ネットワーク解析技術および代謝パスウェイのアラインメント技術の開発
2. マイクロアレイ解析やタンパク質相互作用解析などから生じる膨大な解析データの統計的データプロセス、解析、そして解釈支援システムの開発
3. ゲノム解析手法の開発

データベース

1. 過去の文献情報、システムティックな機能解析結果などを含む統合的大腸菌ゲノムデータベースシステムの開発と WWW からの公開

網羅的かつシステムティックな機能解析手法の確立

1. マイクロアレイを利用した transcriptome 解析の確立
2. gene-protein index およびタンパク質相互作用ネットワークの解明の Proteome 解析とその基盤確立
3. 各種リソース（クローン、欠失株等）を利用した網羅的機能解析

(2) 【成果】

リソースの作製

1. MG1655 株と W3110 株の 2 種類の大腸菌ゲノム配列の比較と両者の間での違いの配列決定による確認作業により、これまでのゲノム研究の中でもっとも精度の高い配列を公開した。それを元に 2003 年 11 月にアメリカの Woods Hole 研究所において遺伝子アノテーション国際会議が催され、大腸菌の遺伝子の確定作業における国際協力体制を確立した。同分野における私たちのグループからの貢献は非常に大きい。現在、大腸菌は世界的にシステムズバイオロジーの分野において注目を集めており、私たち日本のグループは全細胞のモデル化という大きな目標の基盤を確立す

ることができた。現在、大腸菌のモデル化を目標とした国際コンソーシアムが結成されており、今後の国際共同研究における基盤として大きな期待が寄せられている。

2. 全ゲノム配列の再決定により ORF の修正作業が必要にはなったが、全予測 ORF のクローンを 2 種類、GFP 融合型と非融合型を完成させ、すでに私たちを含め、国内外の多くの研究に寄与している。いくつかの例を挙げると、クローンを利用したマイクロアレイの開発（宝バイオから販売）、他の目的のための新たなベクターへの遺伝子断片の移動（テキサス大学との共同研究）、構造生物学への材料供給（理化学研究所、カナダ構造生物学コンソーシアム、アメリカ構造生物学コンソーシアムでの利用）、製薬企業における新規創薬に向けた研究材料（国内複数社との共同研究）、機能未知遺伝子群の機能解析（多くの国内外の研究機関との共同研究）等、多岐にわたる。
3. 全予測遺伝子のトランスポゾン挿入による破壊株と Wanner 法を利用した完全遺伝子欠失株の作製。すでに完全欠失株は 1,440 株を一般に公開しており、同リソースを利用した研究が多く立ち上がっている。国内においては、欠失株を利用したマイクロアレイ解析、代謝モデル構築を目的とした酵素遺伝子欠失を用いた組織的な研究（慶應大学との共同研究）、国内外の個別遺伝子研究を目的とした共同研究等、利用グループは拡大の一途をたどっている。今後、国際共同研究の枠組みで組織的な利用を図ることになり、今後の世界的な共同基盤となることが大きく期待されており、その中心に位置することは疑う余地が無い。

バイオインフォマティクス

1. 多くの基盤研究開発を行った。大きくまとめると、システマティックな解析から生じる膨大なデータの統計手法によるデータプロセス技術の開発、多変量解析等の手法を用いた解析技術の開発、膨大なネットワーク情報などからの解釈システムの開発、統計的手法を用いた予測システムの開発を中心に行った。主としてマイクロアレイ解析やタンパク質相互作用解析などの大量情報処理との連携を図ってきた。
2. 多変量解析技術を用いた遺伝子ネットワーク解析技術および代謝パスウェイのアラインメント技術の開発を行い、代謝パスウェイの推測を可能にした。
3. 多変量解析を利用した遺伝子の分類を行い、バクテリア遺伝子の水平伝達の方向性推測を可能にした。

データベース

1. 過去の文献情報、本プロジェクトから派生する網羅的解析結果（マイク

ロアレイ解析、タンパク質相互作用解析、細胞内局在性解析、網羅的機能解析等)膨大な情報を RDB(リレーショナルデータベース)システムを利用したデータベースの構築を行った。また同データベースは WWW から検索可能なシステムとして GenoBase という名前で公開している。

- (3) 今後の見通し：2002 年 11 月にイギリス、ロンドンの郊外の North Mymth において大腸菌のモデル化を目指した国際コンソーシアムが設立された。設立に際して、私たちのグループも招かれ、立ち上げ時の一員として今後の国際共同体制におけるモデル化に向けた共同研究体制の基盤組織の一つとして期待されている。これまで私たちが作製を行い、研究に供してきた研究リソースが同組織においてもその基盤としての位置づけが明確になった。今後、国際的な協調体制のなか、すでに多くの国内外を問わず共同研究が立ち上がっており、きわめて順調なスタートを切ることができたと考えている。現在も今後の共同体制の具体的な策定のために頻繁に連絡を取り合っており、細胞のモデル化という分野における今後の見通しはきわめて明るい。

2. 研究構想

1997 年 1 月に大腸菌ゲノム配列を完成させ、その後ゲノム配列の解析を行って明らかになってきたことは、過去 50 年以上の多くの研究者による研究の蓄積にもかかわらず、ゲノムにコードされている全遺伝子群の半数以上が未だ機能未解析だったこと、個々の遺伝子機能においては非常に詳細に研究されてきたが、全体像を捉えようとしたときに、それらの相互関係が理解できていないこと、定量的な解析がほとんどされてこなかったこと、である。これらの問題点を踏まえて、モデル生物である大腸菌にポストゲノム時代において何が要求されるのか、という点を中心に研究構想を煮詰めた。我々、大腸菌ゲノムを完成させたグループは、これまでの生物学史上の流れから「細胞の全体像」の解明、を我々プロジェクトチームの大きな目標として捉え具体的な研究計画の策定を進めた。現在もそうであるが、研究開始当時細胞の全体像が明らかにされた生物は存在しない。細胞の完全な理解に向けた研究において必要な条件は、単細胞であること、単純であること、研究の蓄積が大きいこと、研究方法が充実していること、である。これらを満たす生物は酵母、枯草菌、そして大腸菌であり、その中でも大腸菌の研究の蓄積、方法論の充実を考えると最も可能性の高い生物種である。我々の大腸菌を用いた研究の方向は、「個々の遺伝子の生理機能の分子機構解明」から「個々の遺伝子機能が如何に全体を作り出すのか」へと向かうものとして計画をたてた。5 年間という期間において「細胞の完全な理解」は望むべくもない大きな目標である。しかし、期間中、その目標に向かうための基盤構築を具体的な到達点とした。それには全体を対象とすることを可能にする遺伝子クローンなどの研究リソースの確立、予想される膨大な研究結果の解析・解釈支援システムなど、バイオインフォマティクスの基盤確立、それらの情報を系

統的に蓄積し、多面的に利用可能にするデータベースシステムの構築、そしてリソースを用いた全体の解明に向けた網羅性のある実験解析方法の確立、の 4 項目に分けて計画とチームの編成を行った。

(1) 研究リソース作製サブグループ

これまでの分子遺伝学において遺伝子クローンや遺伝子変異株、破壊株などは遺伝子機能解明に大きな役割を演じてきた。これらの研究材料を統一された作製ポリシーによって全遺伝子を対象としてリソース構築を計画した。全遺伝子のクローン作製、トランスポゾンのランダム挿入による遺伝子破壊、大規模な染色体欠失である。研究開始以降、酵母と枯草菌と比較して大腸菌で難しいとされていた数十ベースの相同性を利用した組み換えもアメリカの Wanner 博士らの開発した方法により完全に克服され、プロジェクトの中ほどより完全な遺伝子欠失株作製も計画に加えた。

大腸菌は日米で独立に 2 株のゲノムが決定されたが、その間には数百にのぼる食い違いが存在していた。プロジェクト遂行上、正確な遺伝子情報の獲得は比重に重要であるので、塩基レベルでの相違を配列決定により確認を行った。その結果として、もっとも正確なゲノム配列を決定することができ、今後の大腸菌研究の基盤確立を行った。

研究チームは、

クローン作製：奈良先端大（森）、国立遺伝学研究所（西村）

トランスポゾンによる破壊株作製：九州大学（三木）、現福岡歯科大学、兵庫医科大学（山本）

大規模染色体欠失株作製：東京大学（加藤）、現東京都立大学

完全欠失株作製：慶應大学（馬場）

ゲノム配列確認：基礎生物学研究所（堀内）

を中心として、密な連携を図りながら計画を遂行した。特にトランスポゾンの挿入位置の決定など、配列決定が重要になるので、決定と位置確認などはシーケンサーなどのリソースおよび情報処理技術の有効活用を計るために奈良先端大、基礎生物学研究所、神戸大学、大阪大学などが協力を行っている。

(2) バイオインフォマティクス

開発されたリソースを活用したシステムティックな実験解析から生じるデータは膨大なものとなる。それらのデータ解析のためのシステム構築および解釈システムの構築は必須課題である。また、ゲノム情報を活用し、これまでの研究蓄積においても欠落していたステップ（代謝パスウェイなどで連続性のない部分など）の予測や、遺伝子機能の予測、分類が重要となる。実験事実だけがベースではなく、情報処理による予測がポストゲノム時代における生物学に大きく要求される。以上より大量データ処理と予測の 2 つの方向から研究開発を進

めた研究チームは、

遺伝子ネットワーク解析アルゴリズムの開発：大阪大学（松田）

コドン使用頻度による遺伝子の機能分類：山形大学（工藤）

マイクロアレイ解析による転写単位の予測：奈良先端大（金谷）

を中心として、研究開発を進めた。大阪大学の松田グループは特に破壊株作製における破壊位置の確認のための情報処理を担当、また、奈良先端大の金谷グループは同じく奈良先端大における DNA マイクロアレイ解析や網羅的なタンパク質相互作用解析の情報処理など、実験担当グループとの密な連携を図り成果をあげた。

(3) データベース

大腸菌は非常に研究蓄積が多いことは説明を要しないであろう。しかし、それらがデータベースという形で系統的に保管されているかという点とまったくそうではない。論文ベース、テキストベースであり、膨大な記述が残されているのが事実である。「*Escherichia coli* & *Salmonella*」という膨大なテキストが作製され系統的にまとめられてはいるが、それでも記述であり、情報学的にすぐにご利用できるというものではない。これらのテキスト情報から知識を系統的に抽出することは大きな課題であるが、本プロジェクトの範囲を超えるものである。我々はこれらの情報から遺伝子変異に関する情報だけを抽出して系統的にデータベース化することを行った。遺伝子機能を探るのに変異の情報は非常に重要だからである。他方、本プロジェクトで生み出される膨大な実験データを系統的に蓄積し多くの研究者との共有を図ることも本プロジェクトの大きな目的である。近年のインターネットによる情報共有の技術発展に伴い、我々もインターネットを利用したデータベースシステムの構築と変異情報のデータベース化をすすめた。研究チームは、

文献データベースの開発：神戸大学（磯野）

大腸菌データベースの開発と公開：奈良先端大（森）

が中心になり、開発を進めた。最終的に文献データベースも大腸菌データベースに統合し、統一的にインターネットを通じて公開している。

(4) 網羅的機能解析

これまでの研究蓄積を有効に活用し、開発されたリソースを利用した網羅性のある実験研究を推進した。本プロジェクト推進中にゲノム研究に関する新たな言葉が作り出されてきたが、我々は当初よりそれらを想定した研究開発を進めていたわけである。大きく、トランスクリプトーム解析、プロテオーム解析、フェノーム解析を当初想定して研究を進めた。トランスクリプトーム解析はクローンを利用した DNA マイクロアレイの開発、マイクロアレイを利用した網羅的な転写解析を進めた。バイオインフォマティクスとの連携

は必須で、信頼度の高いマイクロアレイ解析を進めることができたのも情報処理技術との連携の成果である。プロテオーム解析は gene-protein index 作製を中心に進め、多くのタンパク質の同定を行った。タンパク質は細胞内でそれら単独で働くのではなく、多くの他のタンパク質との相互作用を通じてその機能を発する。したがってタンパク質相互作用の全体像を明らかにすることは非常に重要な解析対象である。システムティックなタンパク質相互作用解析もリソースを利用して進めた。フェノーム解析は大規模な機能探索をクローンおよび破壊株、欠失株を利用して行い、細胞内局在性解析を中心に進めた。研究チームは、

ORF コード領域における網羅的解析：奈良先端大(森) 基礎生物学研究所(堀内) 神戸大学(磯野) 国立遺伝学研究所(西村) 熊本大学(平賀)

非コード領域における網羅的解析：京都大学(井口)

プロテオーム解析：京都大学・ウイルス研究所(和田)

タンパク質相互作用解析：京都大学・ウイルス研究所(和田) 奈良先端大(森) 奈良先端大(金谷)

全タンパク質細胞内局在性解析：国立遺伝学研究所(仁木)

トランスクリプトーム解析：奈良先端大(森) 奈良先端大(金谷)

全必須遺伝子の機能解析：慶應大学(馬場)

を中心として各項目の研究開発を行った。

3. 研究実施内容

3.1 リソース開発研究

大腸菌 K-12 W3110 株のゲノム配列の確認：

堀内 嵩（基礎生物学研究所） 森 浩禎（奈良先端科学技術大学院大学）

（1）【研究内容及び成果】

大腸菌ゲノム配列は 1997 年にアメリカのグループによる MG1655 株、日本のグループによる W3110 株が明らかにされた。しかし、日本のグループのゲノム配列はその一部にすでに公開されていた MG1655 株の配列を取り込んだ形での公開であった。また、両者の間には多くの（300 塩基以上）の塩基配列の食い違いが存在する。本プロジェクトのもっとも根幹を成すゲノム配列の精度は非常に重要なものであり、日本が取り上げた W3110 株の完全のゲノム配列決定、MG1655 株との真の食い違いの確定、を目的に配列の見直しを行った。

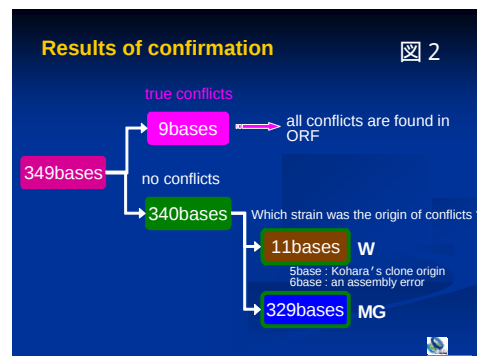
配列決定方法は、ほとんど小原 λ ファージライブラリーを利用して行った。λ ファージにクローンされた大腸菌ゲノム断片を、PCR により増幅しそれを超音波処理により断片化の後、サイズ選択を行いそれを M13 ファージンし、その一本鎖 DNA を用いて蛍光色素を取り込ませて配列決定を行った。基本的には、大腸菌染色体地図のゼロ分から時計回りに決定して行き、平成 15 年春に実質的には全ての配列を決定した。

（i）MG1655 の配列との比較

塩基の違い

米国ウイスコンシン大の Blattner らのグループは、1997 年に大腸菌 K12 の野生株である MG1655 の全塩基配列を決定していた。W3110 も同じく大腸菌 K12 の野生株である。両者は兄

弟株でおそらく 1940 年代に分離したもののようである。両株の配列がどれほど変化しているか興味あるところである。そこで両株の配列の違いを調べた。その結果、合計 349 塩基の違い（コンフリクト）が見つかった。それらの違いが真の違いか、それとも配列決定の違いかを明らかにするために、両株のゲノム DNA を用いて、その違った領域の PCR 法による配列決定を行い、両者を比較した。その結果、図に示したように、真の違いは 8



カ所（9 塩基）であった。残りのほとんどが、米国グループの配列決定間違いであることが明らかになった。また、λファージにクローンすることでわずかな違いが生まれていることが判明した。このことは、λファージへのクローンによる変異の導入はほとんど起こらないことを意味する。一方我々の決定した配列にもわずかなが誤りが見つかった。

両株の配列の違いの少なさは予想以上であった。それら真の違いの起こった場所を示したのが図である。面白いことに、全てが遺伝子内に起こっていた。それらの変異が、表現型に違いをもたらすかどうかは現在のところ不明である。8 カ所の内、一カ所が2 塩基のフレームシフトである以外は、全て塩基置換であること、その中では1 つを除いて全てトランジション型置換であった。

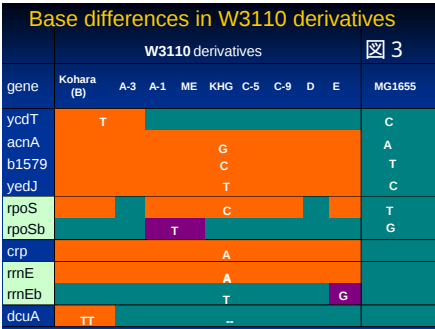
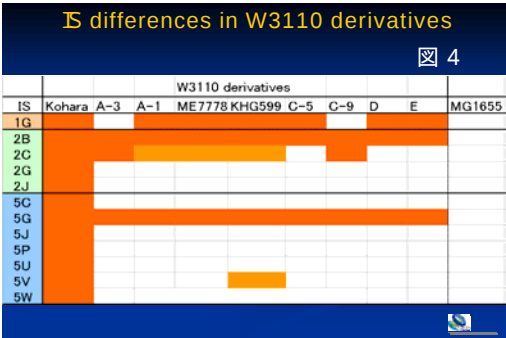
IS の違い

次にインサージョンシーケンス（IS）の違いを調べた。この解析は IS に詳しい東京大学の大坪栄一研究室の協力によって行われた。その結果、合計12カ所以上の違いが見いだされ、しかもアンバランスが認めら

れ、MG 特異的 IS が一ヶであるのに対し、W 特異的 IS は11カ所以上あった。以上というのは、IS5 の中に、繰り返し領域に存在するものがあるため、その繰り返し数が決定できないからである。これらの違いの比較から、塩基の違いより IS の違いの方がよく起こることが判明した。これまで、IS はストック状態の菌でも動くことが言われてきたが、今回塩基置換はストック状態ではそれほど多く起きないか、起きても同程度であることが推察された。

W 株間の比較

日本では、野生株として以前から W3110 株が用いられてきた。そのため、W3110 株の中でも違いがあることがこれまで明らかになって



いる。典型的な例は、5種類あるシグマ因子の有無から W 株が 5 種類のパターンに分類できることが、石浜らによって明らかにされている。この 5 種類に加え我々の研究室の W 株を加えた 7 種について、MG との違いが明らかになった塩基置換と IS について調べた。その結果を図に示した。いずれも小原株（左端）の塩基配列または IS をオレンジ色で表し、MG 株（右端）のそれらを緑と白で表している。塩基置換の違いの多くのものが W 株特異的であり、小原株特異的なものは 2 カ所であること、*rpoS* 遺伝子に関しては W 株の間にも 3 種類の違いがあること、が明らかになった。特に *rpoS* 遺伝子は変化し易いことはこれまで報告されてきたが、K12 親株（アンバー変異型）から MG 株への変化と同様な変化が W 株内でも起こっていると推察され、この遺伝子のこの領域が変異のホットスポットであることが判明した。 σ^S の機能が、静止期における転写の制御にあることから、菌株のストック中およびストックからの出し入れがその変異の生成に関与する可能性が以前から指摘されているが、それを支持する。一方 IS の違いは、塩基置換と異なり、小原株特異的なものが多いことが分かる。これらのことから、IS の方が塩基置換よりも頻繁に起こることが確かであることが強く示唆された。この IS の違いのうち特に IS5 が多いが、そのうち小原株特異的なある IS5 のグループに着目すると、それらのダイナミクスに関して経時的にそれらの転移の順序をほぼ正確に追えることが判明した。

(2) 【研究成果の今後期待される効果】

現在、微生物だけでもその配列決定の容易さからたくさんのゲノムが決定されつつある。それは多様性を拡大する方向だとすると、本研究でのゲノム配列決定は極めて近縁の株の配列決定であり、結果的にほとんど誤りのない配列を決定したことになり、深化する方向の解析であろう。大腸菌は、多くの生物ゲノムの基準になっていることから、MG 株の配列間違いは多くの研究者から指摘されて来たようである。また、その配列のアノテーションについても、同様なことが期待されていることから、明らかに他の微生物に比べより厳密に行われてきている。またアノテーションの方からも MG 株には明らかにおかしい配列があるのことを、指摘されてきた。このような中での W 株の配列決定は、極めて重要な成果であると評価されている。つまり、大腸菌の 2 種類の野生株の全塩基配列が、独立に極めて高い精度で決定されたこと、この配列をもとにアノ

テーションが行われれば、これまでにない精度の ORF の枠組みが明らかに構築されるからである。実際、この配列改訂によって、約 400 (約 1/10) の ORF の見直しが必要であり、明らかに ORF に大きな変化が起こるのは 60 ヶ以上に上る。先日米国の Wood Hole 研究所において、日・米・欧の大腸菌コミュニティーが集まり、新しい配列を用いて、ORF の枠取りの見直し、遺伝子名の見直し、遺伝子機能とその表記法の見直しが決定された。現在、大腸菌 K12 株のアノテーションの全面改訂を目指して、共同で作業が行われつつあり、米国は MG の改訂を 2 月上旬に終了する目標をもっており、日本も同時に W 株のアノテーションを行い、配列とともに発表する予定である。この配列決定は具体的にどのように有用であろうか？具体的には次のようなことが考えられる。最近は微生物にも偽遺伝子があることが強く示唆され、またイントロンもあることが知られている。大腸菌の場合、今後この様な一見配列決定の誤りのように思える配列の真偽に頭を悩ませることからは解放されるだろう。そう言う意味でも画期的な成果と考えられる。

以上のように、本研究で行った成果は、ゲノムデータの基礎を固めるためには、大切な一歩であり、このような地道な成果の積み重ねが、真の進歩につながると信じるものである。

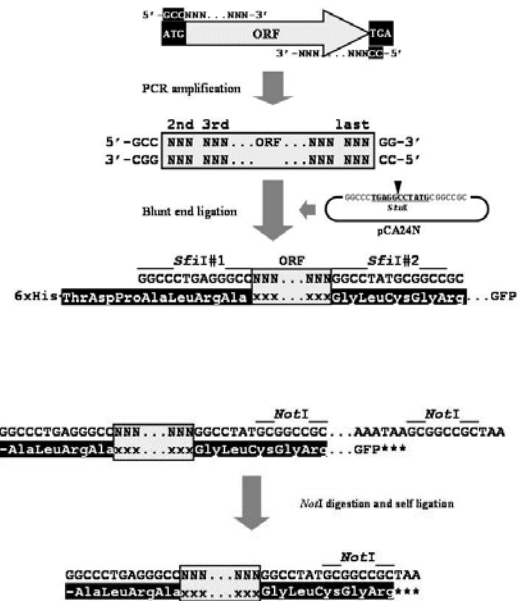
大腸菌全予測 ORF のクローン化：森 浩禎（奈良先端科学技術大学院大学）

- (1) 【研究内容及び成果】大腸菌全予測 ORF をクローン化することで、ゲノム機能解析を円滑にまた網羅性を持たせて進めることを可能にするために開発を行う。その際、遺伝子断片のクローンのみを目的とするのではなく、発現ベクターとして機能すること、細胞内局在性の解析が可能のように GFP などの遺伝子を融合させること、コードされている遺伝子産物を簡便に精製できること、などを目的に開発をすすめた。全予測 ORF の 2 番目のアミノ酸から最後のアミノ酸をコードする領域を PCR で増幅し、その断片をこの目的のために開発を行ったベクター（pCA24N）にクローン化する。その結果、N 末側に His のタグが、C 末側に GFP 遺伝子が読み枠をあわせた形で融合する。また、この断片は上流の IPTG による制御可能なプロモーターによりその発現制御が行われる。また、遺伝子によってはコピー数の増大が生育に致命的な影響を及ぼす場合があるため、通常の発現を厳密に抑えることを目的に、cis 位に *lacI^q* 遺伝子を持たせてある。また、GFP は *NotI* 制限酵素による切断と再結合により簡便に除けるように設計してある。
- 開発を行ったベクターに順次 PCR 断片をクローン化し、GFP 融合型のク

ローンをプロジェクト開始後2年で終了した。その後 GFP を除く作業を進め、3 年目において一部のクローン化不可能な遺伝子を除いて終了した。クローン化の方法を図に示す。

(2) 【研究成果の今後期待される効果】

すでに本クローンを用いたアプリケーションは数多くあり、その一つとして宝バイオとの共同で大腸菌マイクロアレイの開発を行った。冒頭でも述べたが、本クローンを利用した研究およびリソースの更なる拡張が行われつつある。一つは構造生物学への寄与である。クローンがタンパク質精製の材料となることから大きな期待が寄せられており、すでに多くの機関で本クローンを用いて構造解析が進められている。一旦すべての遺伝子を手中に収めてしまうと、その改変作業により新たな目的のためのリソース開発は容易なものである。本クローンを Gateway システムへの移植を開始しており、完成すると部位特異的の組み換えだけで簡便に新たなベクターへの移し換えが可能となり、研究開発がさらに加速することは間違いない。



全 ORF の可動プラスミド・クローンの構築：国立遺伝学研究所・西村昭子

(1) 【研究内容及び成果】大腸菌の細胞分裂機構を構成する全遺伝子群を系統的に同定し、網羅的に機能解析することにより、細胞分裂機構の全体像

を明らかにすることを最終目的として本基盤研究を開始した。その為に、まず全 ORF の可動プラスミド・クローンを作成し、約 430 の細胞分裂の温度感受性変異株について、相補性テストによるマッピングを行う。相補した ORF については、COG データベースを用いて機能予測を行い、予測された機能グループ別にシステマティックに機能解析を行うと共に、DNA チップにより遺伝子発現のヒエラルキー解析を行う。

可動プラスミドベクターの構築と、全 ORF 断片のアーカイブクローンからの移動、及びその有用性の検証を行った。構築した可動プラスミドベ

クター-pNT3 は以下の特徴を有する。

- (i) まず一番の特徴は、ColE1 の *bom*、*rom*、*mob* 遺伝子を導入することにより、F 繊毛を介した接合により、プラスミドが F⁺株から F株へ容易にトランスファーすることを可能にした。これにより、遺伝的手法により、マイクロタイタープレートを用いて一度に 96 クローンずつの接合を行うことにより形質転換を可能とした。
- (ii) ColE1 複製起点の *ori*、*pri* 遺伝子の導入により、通常のコピー数は非常に少ないが、DNA として取り扱う時はクロラムフェニコール処理によりプラスミド DNA を増幅できるようにした。細胞周期に係わるような重要な遺伝子は、大抵の場合、多コピープラスミドにクローン化すると細胞に致命的な影響を与えることが多いので、一般に Fプラスミドのような低コピープラスミドにクローン化するが、プラスミド DNA の分離が容易ではない。
- (iii) *Ptac/lacI^q* の導入により、クローン化した ORF の転写は IPTG により厳密に制御可能とした。しかしベクター上には、典型的翻訳調節配列 SD は搭載していない。翻訳は本来の SD を使うこととし、ORF の上流-20 bp からストップコドンまでの領域をクローン化することにした。転写は IPTG により自由に制御できるが、翻訳は本来の調節を使うことにより、少しでも自然に近い状況を作出するようにした。またこのプラスミドから合成される ORF 産物は、N 末、C 末何れにも余分のアミノ酸が付加されず、自然と全く変わらない遺伝子産物が合成される。その他、強力なターミネーター *rrnB* の導入により、発現の流れ込みを防ぐように設計、全 ORF のクローン化を容易にする為にユニーク・マルチクローニングサイトや、アンピシリン耐性遺伝子 *bla* の導入、クローン化した ORF のシーケンス確認の為、ユニバーサルプライマー認識配列の搭載。

このようにして構築した pNT3 を用いて、実際に 100 ORF についてクローン化を行い、シーケンスにより確認した処、クローン化した ORF に変異は全く生じていなかった。また既知の変異株を用いて接合実験を行い、プラスミドの導入により変異株は野生型に復帰することを確認した。奈良先端大で開発されたアーカイブクローンを利用し、遺伝子断片を pNT3 に移すことを計画した。その為に、pNT3 のマルチクローニングサイトを奈良先端大との共同で改変し、pNTR-SD を構築した。pNTR-SD は、*SfiI* 認識配列を付加した *cat* 遺伝子を持ち、アーカイブクローンの *SfiI* フラグメントで置換することにより、ORF の再クローニングを可能にしたものである。

pNTR-SD では、ベクターに典型的 SD を搭載してあるので、翻訳は強制的に誘導される。また *Sfi*I 付加により、合成される蛋白の N 末 C 末に各々数個のアミノ酸が余分に付加されるが、取り敢えず 4,306 の ORF について、アーカイブクローンから pNTR-SD に再クローニングを行った。コード領域の査定が、アメリカと日本で異なっている 477 の ORF については、長い方の配列を選択し、同様に pNT3 にクローニングした。これにより、例え短い配列が正しかったとしても、自然の SD を使って自然と同じ蛋白が合成されるはずである。以上を纏めると、全 ORF クローン 4,306 の内、3,227 はアーカイブ由来の ORF を pNTR-SD に、1,079 の ORF は野生株染色体から PCR 増幅をやり直し pNT3 に、それぞれクローン化した。全てのプラスミド・クローンは、 F^+recA 株に導入した。

(2) 【研究成果の今後期待される効果】

トランスポゾンを用いた全遺伝子の破壊株作製：三木（九州大学、現福岡歯科大）、山本（兵庫医大）

(1) 【研究内容及び成果】： 1997 年 1 月、大腸菌染色体 DNA の全塩基配列が決定され、塩基配列より約 4,300 の ORF の存在が予測されたが、その内約半数は機能未解析であった。我々は、実験的手法による網羅的な機能解析を行うため、大腸菌全遺伝子の破壊株の作製を行った。なお、本研究開発は松田（大阪大学）、堀内（基礎生物学研究所）、磯野（神戸大）、森（奈良先端大）との連携で推進した。

本研究は、下記の手順で行った。

- (i) システムの開発、
- (ii) トランスポゾン挿入小原クローンの作製、
- (iii) シス部分 2 倍体破壊株（各クローンを宿主細胞に溶原化させた部分 2 倍体）と破壊株由来のファージ鑄型の作製、
- (iv) 配列決定によるトランスポゾン挿入位置の確認、
- (v) 変異株の選択と純化、保存（正逆両向き、2 株 / ORF）、
- (vi) 純化株からのファージ鑄型の作製と配列決定によるトランスポゾン挿入位置の確認、
- (vii) 修復：間違いが見いだされた変異株の分離し直し、
- (viii) 必須遺伝子及び細胞増殖に影響を及ぼす遺伝子の同定、
- (ix) 非必須遺伝子についてシス部分 2 倍体破壊株から 1 倍体破壊株の作製と保存、
- (x) 本実験で用いた手法が適用できなかった小原クローン（14 株）にカ

バーされる領域の個別的な方法による破壊株の作製。

具体的には、トランスポゾン挿入変異株（シス部分 2 倍体）を各小原クローンあたり 192 株、場合によってはさらにその数を増やして作製し、得られたファージ液を鋳型として Long PCR を用い各小原ファージクローンの大腸菌染色体部分の増幅を行う。得られた DNA を用いて、トランスポゾン内部から染色体側に向かって塩基配列を決定し、境界領域の塩基配列から破壊された遺伝子を同定する。次いで、それぞれの遺伝子について破壊株の中から、トランスポゾンの挿入方向が順方向及び逆方向で、ORF の N 末に近い位置に挿入された変異株をそれぞれ 1 株ずつ選び、純化後、保存する。保存株からファージ液を作製し、境界領域の塩基配列を決定して、破壊された遺伝子の確認を行うと共に、保存株の高温でのコロニー形成能を定量的的に測定することにより必須遺伝子か、否かの判定を行う。第一段階は純化していないトランスポゾン挿入変異株（形質導入体コロニー）をそのまま用いて行うため、第二段階での再確認を行うことは必須である。Long PCR は、ファージライゼートを用いる為、かなり悪い条件で PCR 反応を行うことになる。したがって当初反応条件の検討に苦労したが、現在はその問題は完全にクリアーすることができた。反応は宝酒造の PCR キット LA Taq とパーキンエルマー社のサーマルサイクラー 9700 を用いている。PCR の条件は、 Mg^{2+} 濃度、酵素濃度、各サイクルの温度条件などを変える事により検討した。

実際の破壊株作製においては、各ステップを各グループで分担し共同で進めた。上記(1) は三木が担当し、本プロジェクトの開始時点までにほぼ終了していた。

(2)および(3)は三木を中心に技術員および研究補助員とのチームで遂行した。

(4)は、平成 13 年度以前は、配列決定のための PCR 反応とシーケンス反応を三木、山本、磯野、堀内および補助員で担当し、反応産物を森のグループにおいて補助員により精製、電気泳動を行った。平成 14 年度においては、PCR 反応は、三木及び磯野が担当、シーケンス反応、反応産物精製、電気泳動は堀内のグループが担当した。松田らにより開発されたプログラムを奈良の技術員により改良を加えられたものを利用して、得られた配列から染色体上での破壊の位置決定を行った。

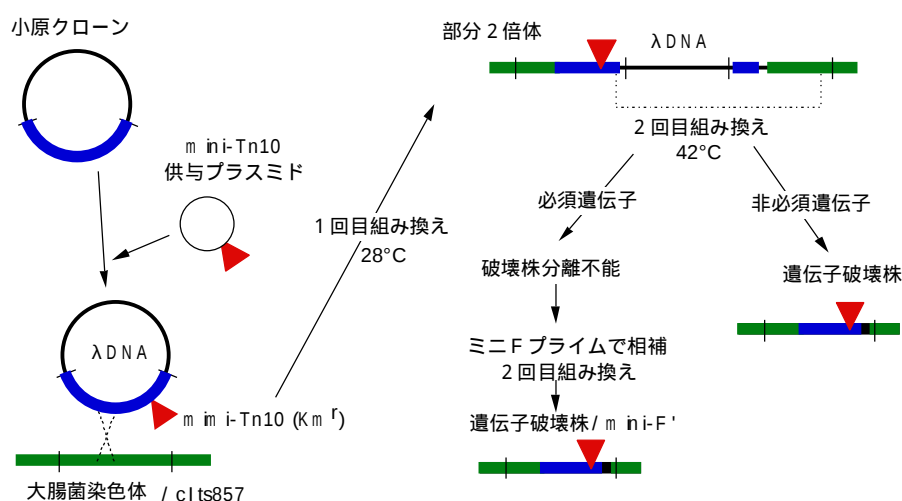
(5)は三木を中心に研究補助員等のチームで遂行した。

(6)のファージ鋳型の作製は三木及び三木グループの研究補助員 等が中心となって、PCR 反応は三木が中心となって、シーケンス反応と反応産物の精製、電気泳動は堀内グループで、得られた配列結果の解析は松田のグループで行っている。

(7)(8)(9)及び(10)は、配列決定について堀内グループの援助を受けながら、三木グループが行い、以下の成果を得た。

遺伝子破壊株の作製法とその特徴：大腸菌の遺伝子破壊株を系統的、網羅的、かつ非常に簡便に作製する新しい方法（図参照）

小原クローンとミニトランスポゾンを用いた網羅的遺伝子破壊



を考案した。この方法の基本的な考え方は、小原クローンにランダムに mini-Tn10 (Km)を挿入し、λファージ上の Tn10 が挿入された遺伝子を宿主ゲノム上の遺伝子と置換することによって行うというものである。この方法では、破壊された遺伝子の同定は、Tn10 と染色体 DNA の境界領域の塩基配列から挿入点を決定することにより行う。必須遺伝子の同定は、破壊された遺伝子を含む部分二倍体から、一倍体変異株の分離が可能か否かを検討することにより行い、必須遺伝子変異株の分離は、高温感受性 mini-F プライムで相補させて行う。この方法は、操作が簡便で、非常に容易に遺伝子破壊株が分離可能であるばかりではなく、(1) 塩基配列に基づいた人為的な ORF 情報 (anotation) に依存せずに変異株を分離し得る、(2) 変異株をまずシス部分二倍体として構築するので、必須遺伝子の破壊が可能である、(3) シス部分二倍体を高温で培養するだけで一倍体変異株を作製できるので、生じたばかりで抑圧変異を持たない変異株、特

に二次的な抑圧変異が入らない必須遺伝子変異株の分離が可能である、(4) 既報の遺伝子も含め全ての遺伝子の変異株を同一の菌株から同一の方法で分離することが出来る、などの優れた特徴を持っている。

トランスポゾン挿入による遺伝子破壊システムの構築

mini-Tn10 供与プラスミド pKP2372 は N. Kleckner の作製した pNK2859 を出発材料に、Km^R 遺伝子上流側のステムを欠失させ、Km 遺伝子上流に *lacZa* 遺伝子を、下流に *Para* (アラビノース遺伝子プロモーター) を挿入したものである。分子量を大きくする為にベクターを pBR322 から mini-R プラスミド pKP1588 に変換し、更に Sp^R 断片を挿入した。このプラスミドのトランスポザーゼは突然変異を持つ為、野生型に比べ、トランスポゾンの挿入位置がランダムになっている。トランスポゾン挿入変異は、最終的に W3110(A)誘導株である KP7600 上に導入した。KP7600 は、石浜 (国立遺伝学研究所) より分与された W3110(A)株に、相同組み換えの手法だけを用いて (アクリジンオレンジなど変異誘起物質を用いることなく)、*lacI^qlacZDM15gal1gal2* 変異を導入したものである。小原クローン上の破壊された遺伝子を染色体 DNA に置換する際に、小原クローンを一度溶原化する必要があるが、この為に必要な *cIts857* 遺伝子は mini-R プラスミドに組み込んだ。このプラスミド pKP2374 には、*sacB* 遺伝子を導入してあるので、蔗糖を含む培地上で培養することにより、容易にこのプラスミドを除去し、最終的な遺伝子破壊株の遺伝的背景をきれいにすることができる。パイロット実験は、必須遺伝子が集中して存在する領域から欠失可能な領域を含む大腸菌染色体上 4? 6 分領域 (約 100kb) を用いて行った。この領域は、小原クローン #120? #129 にカバーされる。mini-Tn10 を導入した各小原クローンについて、192 株ずつ Tn10 と染色体 DNA の境界領域の塩基配列を決定し、破壊された遺伝子の同定を行った。領域の両端を除いて、蛋白質をコードすると予測された ORF、98 個 (日米両研究グループで共通に予測されたものに限る) の内、93 個の ORF への挿入変異株を分離することが出来た。挿入変異が分離できなかった 5 個の ORF の内、1 個は実際に変異株が分離されている遺伝子であったが、他の 4 個は実際に遺伝子かどうか不明な推定上の ORF であった。RNA をコードする遺伝子は、この領域に 8 個存在するが、この

内 3 個の rRNA 遺伝子の変異株は分離された。5 個の tRNA 遺伝子の内、1 個の遺伝子への挿入変異は分離できたが、他の 4 個の遺伝子の変異株は分離できなかった。tRNA 遺伝子を除けば、101 遺伝子 (ORF) 中 96 個、95%の遺伝子の変異株を分離することが出来た。以上の結果より、開発した遺伝子破壊法が、大腸菌染色体上の遺伝子の網羅的な破壊に使用可能であると判断した。網羅的遺伝子破壊株の構築：上記手法を用いて、網羅的に遺伝子破壊株の構築を行った。まず、第一段階として、トランスポゾン挿入変異株 (シス部分 2 倍体) を各小原クローン当り 192 株 (或いは 384 株、場合によっては 572 株) 作製し、これから得たファージ液を鋳型とし、ファージアーム上の配列を PCR プライマーとして Long PCR を行い、次いで、得られた DNA を用いて塩基配列を決定し、境界領域の塩基配列から破壊された遺伝子を同定した。第二段階として、それぞれの遺伝子の破壊株の中から順方向、逆方向にトランスポゾンが挿入された遺伝子を一株ずつ選び、純化後、保存した。ついで保存株からファージ液を作製し、境界領域の塩基配列を決定して、破壊された遺伝子の確認を行うと共に、保存株の高温でのコロニー形成能を定量的に測定することにより必須遺伝子か、否かの決定を行った。現在までに、小原クローン 476 株中 462 株から破壊株を作製することが出来た。得られた二倍体破壊株の総数は 135,000 株、破壊株を

大腸菌K12・W 3110株m in Tn10変異株構築のまとめ

保存した
マイクロ
タイター
プレート
1,400 枚に
達する。
135,000 株
の配列決

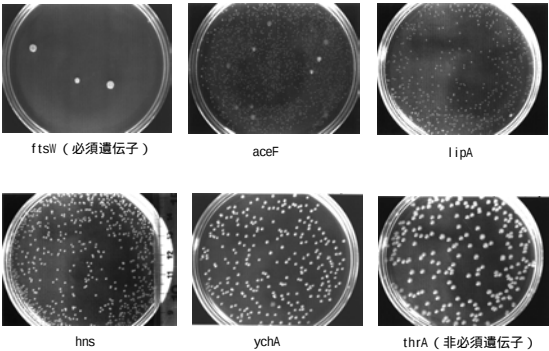
	遺伝子数	割合 (%)	
予測されたORF	4403	100	
小原クローンのギャップ領域	21		
Tn10挿入法が適用不能な領域	92		
rRNA、tRNA遺伝子等	105		
用いた手法が適用可能なORF	4185	100	
変異株： 分離された	3837	87.1	91.7
分離されなかった	348		8.3
既知遺伝子	154		3.7
予測されたORF	194		4.6
配列確認、保存が終了	> 3600 (> 8200株)		

定により、染色体上に挿入変異を持つ 58,500 株を同定した。残りは、PCR 及び配列決定技術の力不足のため解析から落ちたもの、及びファージ DNA 上にトランスポゾンが挿入されたものである。二倍体破壊株を得ることが出来なかった残り 14 株の小原クローンにカバーされる遺伝子は個別に破壊することとした (後述)。得られた 58,500 株の破壊株から、8,250 株の二倍体株

を選択、その純化と保存、配列確認、及びこれを用いての必須遺伝子の同定、非必須遺伝子からの一倍体破壊株作製を終了した。純化株の配列確認作業において数%の株に一次配列と異なった結果が得られたので、配列決定をやり直す、もとの一次保存株の戻って純化、保存からやり直す、別の破壊株を選択し直す等の方法により修復作業を行っている。結果のまとめ（2003年11月時点）を、表1に示した。F. Blattner らにより存在が推定された4403個のORFの内、小原クローンのギャップ領域に位置する21個のORF、

中間的必須性を示す遺伝子

我々の遺伝子破壊法が適用できなかった小原クローン上の92個のORF、105個のrRNA、tRNAなどRNAをコードする遺伝子を除いた4,185個の



ORF に対し、3,837個の遺伝子（91.7%）の破壊株が得られた。分離できなかった348個の遺伝子（8.3%）の

細胞増殖に必要な遺伝子の同定

文献上	二倍体破壊株が得られた遺伝子	二倍体破壊株が得られなかった遺伝子	合計
必須遺伝子	185	47	232
非必須遺伝子	93		93
未解析	41		45
			370
文献上	一倍体破壊株を作製することが出来た遺伝子		合計
必須遺伝子	5		5

うち、既報の遺伝子が154（3.7%）、配列から予測されたORFが194個（4.6%）であった。破壊株が分離された3,837個の遺伝子のうち、3,600個以上の遺伝子の破壊株が最終的に配列レベルで確認され、保存も終了している。

細胞増殖に必須な、あるいは関与する遺伝子の同定

上記8,250株について、二倍体株をLB平板培地上に塗り付け42.5℃で培養した場合、一倍体株がコロニー形成しえるか否か、コロニー形成が見られた場合、形成されるコロニーの形状が正常か否かを検定し、個々の破壊された遺伝子が細胞増殖に必須

な遺伝子かどうかを判定した。その結果、細胞増殖に影響を与える遺伝子には、非必須遺伝子の大きさを「大コロニー」と表記したときに、遺伝子を破壊した場合に全くコロニーを形成できないものから、「極小コロニー」、「微小コロニー」、「小コロニー」、「中コロニー」と連続的に増殖阻害の程度が異なったもの、即ち必須遺伝子と非必須遺伝子の中間的な表現型を示すものが多数存在することが明らかとなった（図）。これまでの、必須遺伝子、非必須遺伝子という概念の変更が必要であると考えられる。細胞増殖に必要な遺伝子（必須、及び細胞増殖に影響を与える遺伝子）についての結果を表にまとめた。文献上必須であると報告されている遺伝子 232 個の内、185 個の遺伝子の変異株が分離されたが、47 遺伝子の変異株は分離できなかった。分離できなかった遺伝子の大半は、リボソーム蛋白質をコードする遺伝子で、変異株が分離できない遺伝子が連続して小原クローン上に位置しているので、これら遺伝子が位置する領域が欠失している可能性が推測される。一方、非必須遺伝子と報告されている 93 個の遺伝子が我々が用いた条件下（LB 培地、42.5℃）では増殖に必要と判断され、これまで未解析であった 41 個の遺伝子が必須であると判断された。また、これまで必須遺伝子と報告されていた遺伝子のうち 5 個の遺伝子が、我々の方法では非必須と判定された。我々の実験では、変異株が分離された 3837 遺伝子のうち 370 遺伝子が細胞の増殖に関与すると判定されたが、必須、あるいは細胞増殖に関与する遺伝子の定義、培地、培養温度など培養条件の違いがあるので、これまで図の報告とは、直接には比較することは出来ない。今後、個々の遺伝子について、個別に比較検討する必要があると考えられる。

(2) 【研究成果の今後期待される効果】

小原クローンのギャップ領域に位置する遺伝子、及びトランスポゾン挿入法による染色体遺伝子破壊が困難であった小原クローン領域の遺伝子からの変異株の分離など一部残された問題点も存在するが、なにより全体を網羅した、ランダム挿入変異株が完成したことは、今後のシステムティックなポストゲノム解析における大きな研究材料の確立ができたことを意味する。後述の完全欠失株とあわせて、質の違う変異株のセットの完成は、現在国際的にも進みつつある大腸菌を用いたシステムズバイオロジー分野における大きな研究基盤を作り出すことができた。また、本変異株は大腸菌を用いた新規薬剤ターゲット遺伝子探索など製薬関連

の研究開発、高効率有用物質の工業的な有用株創生など、応用研究においても大きな寄与が期待できる。

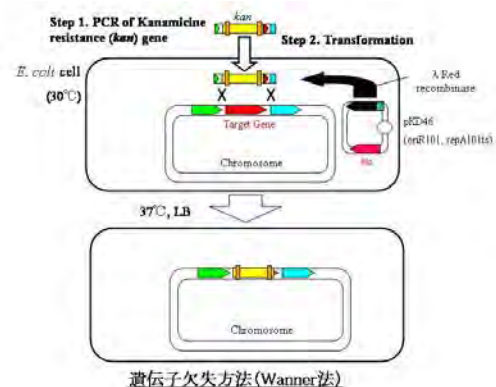
トランスポゾン挿入法による染色体遺伝子破壊が困難であった小原クローンは、以下のように整理される。なお、本破壊株は順次保管体制を整え、各研究機関等、利用希望者への配布を行う。

網羅的遺伝子欠失株作成：馬場 知哉（慶應義塾大学 先端生命科学研究所）

- (1) 【研究内容及び成果】本研究開発では、全遺伝子に対する完全欠失株をシステムティックに作製し、それを用いて、網羅的な機能解析を行うことを目的とするものである。欠失を行うことで、機能未知遺伝子群の機能解析をシステムティックに進めることが可能になるほか、DNA マイクロアレイ解析を欠失株で行うことにより遺伝子ネットワーク解明を進める。昨年度までに大腸菌の 1,526 遺伝子について欠失実験を行い、1461 遺伝子について大腸菌遺伝子欠失株の作製に成功した。これは新たに約 80 の必須遺伝子の候補を同定したものである。またエネルギー代謝関連遺伝子、2 成分制御系遺伝子、転写制御関連遺伝子などの遺伝子欠失株を用いて機能解析グループ（奈良先端大）との共同でマイクロアレイ解析を進めた。CREST 内外の研究開発協力者を得、欠失を進めることで、本年度 6 月に終了の予定である。作製された遺伝子欠失株は広く共有を図ることでこの分野の研究開発および事業化の促進を行う。現在、このリソースは国内外を問わず非常に注目されており、今後このリソースを中心に様々な共同研究プロジェクトを立ち上げる予定である。CREST5 年間の大きな財産として今後の研究開発に弾みがつくもの考える。

(i) 遺伝子欠失方法の検討

大腸菌はこれまでモデル生物として利用される酵母や枯草菌と比較して相同組み換えによるゲノム上からの遺伝子の欠失は非常に困難であるとされてきた。相同組み換えには少なくとも数百ベースの相同領域が必要とされ、実際の遺伝子欠失には 500 bp から 1 kb の相同領域が



用いられてきた。しかし、近年の技術開発に伴い Barry Wanner (Purdue University, USA)らの報告(Datsenko, K.A. and Wanner, B.L.,2000, *Proc.*

BW25113 株を用いて形質転換をエレクトロポレーション法で行い LB 培地 37 の生育温度で遺伝子欠失株を得た。その一例を図に示す。組み換え効率はターゲット遺伝子によるが、200 ~ 400ng の精製 DNA を上記の形質転換効率の大腸菌宿主細胞へ形質転換を行い、100 ~ 1,000 個体の形質転換体を得られた。得られた遺伝子欠失株は 8 株ずつ独立にゲノム構造の確認を PCR により行った。PCR はマーカー遺伝子領域の primer (k1, k2) とターゲット遺伝子上流および下流の遺伝子のクローン作製用 primer を用いて行い、予測されるサイズの DNA バンドを電気泳動により確認した。96 穴単位での遺伝子欠失株の確認の PCR と電気泳動の実験システムを構築し効率化に成功した。

(iv) 網羅的遺伝子欠失株作製の成果

大腸菌 K-12 株ゲノムの全塩基配列データから予測された 4,432 の全遺伝子 (ORF) のうち、挿入配列 (IS) 関連遺伝子 139 と *ldr* 関連遺伝子 4 を除いた全ての既知遺伝子 2,334 と機能未知遺伝子 1,955 について遺伝子欠失作製実験を行った。11 月末現在の状況を表 1 に示す。各ターゲット遺伝子において得られた 8 株の遺伝子欠失株うち PCR による確認で 2 株以上が目的の遺伝子欠失株のゲノム構造が確認できたものを非必須遺伝子 (Non-essential) として遺伝子欠失株を "KO Collection" として保管・維持・管理および配布用のコピーレプリカのセットを作製した。その数は 3,886 遺伝子となった。PCR による確認で 1 株のみが目的の遺伝子欠失株のゲノム構造として確認できたものを偽必須遺伝子 (Quasi-essential) とし、63 遺伝子が確認された。目的の遺伝子欠失株が得られなかったものを必須遺伝子 (Essential) とし、265 遺伝子となった。また、460 遺伝子に関しては現在 PCR による確認実験上にあり、75 遺伝子に関しては形質転換実験上にある。現時点で本研究における網羅的遺伝子欠失株作製から推測される大腸菌の必須遺伝子は必須遺伝子 (Essential) と偽必須遺伝子 (Quasi-essential) を併せた 328 遺伝子であり、非必須遺伝子は非必須遺伝子 (Non-essential) および PCR による確認実験上の遺伝子と IS および *ldr* 関連遺伝子の 4,029 遺伝子と考えられた。

(2) 【研究成果の今後期待される効果】

大腸菌はこれまでに最も研究されてきた生物の一つであるが、そのゲノム上の遺伝子に関してどの遺伝子が必須でどの遺伝子が必須でないかに関する網羅的な研究による解答は出されていない。大腸菌の個別遺伝子に関するこれまでの研究論文からのデータベース、PEC (Profiling of Escherichia coli chromosome) database

(<http://shigen.lab.nig.ac.jp/ecoli/pec/index.html>)が日本の国立遺伝学研究所において構築されているが、1,794 遺伝子に関しては文献情報が全く無い状況にある。海外では大腸菌における最小ゲノムの構築に関する研究がいくつかのグループにより積極的に取り組まれている。しかし、これらの研究も大腸菌ゲノム上の全遺伝子についての必須・非必須の情報が無いままに進行しており、手探りの状態と言える。最近、トランスポゾンを用いた大腸菌の生育に関する必須遺伝子の同定を試みた研究が報告された⁵⁾が、その報告によると必須遺伝子は 619、非必須遺伝子は 3,120、判別不能遺伝子が 552 という結果であり、トランスポゾン挿入部位の偏りと解析精度の問題から不完全な結果に終わっている。本研究と上記の研究報告とを統合した結果、大腸菌における必須遺伝子は 336、非必須遺伝子は 4,085、未同定は 11 となった。これは現時点では大腸菌に関して最も信頼性の高い必須・非必須遺伝子に関する知見であると言える。大腸菌はゲノムおよびポストゲノム研究が進行しているモデル生物の一つであるが、ゲノム上の約 44%にあたる 1,964 遺伝子が機能未確定となっている。本研究により、その機能未確定遺伝子の中の 59 遺伝子が必須遺伝子であることが示唆された。今後、本研究成果である網羅的遺伝子欠失株を用いた逆遺伝学的なアプローチにより大腸菌遺伝子の機能解明がトランスクリプトーム、プロテオーム、メタボロームなどの手法により展開されることが見込まれ、既に一部では本研究の遺伝子欠失株を用いた研究が進行中である。生命をシステムとして完全理解を試みるシステム生物学を推進していく研究基盤を本研究は世界に先駆けて構築したと言える。

大腸菌K-12株における必須・非必須遺伝子と機能分類

Description	Total	Essential	Non-essential	Unknown
Amino acid metabolism	142	6	136	0
Biosynthesis of cofactors, prosthetic groups, carriers	131	24	107	0
Cell envelope	199	23	175	1
Cellular process	136	34	102	0
Central intermediary metabolism	164	9	155	0
Energy metabolism	381	15	366	0
Fatty acid/Phospholipid metabolism	59	19	39	1
Nucleotide metabolism	127	15	112	0
Regulatory functions	86	8	78	0
Replication	93	16	77	0
Transport binding protein	358	4	352	2
Translation	151	83	68	0
Transcription	55	6	49	0
Other categories	386	15	370	1
Hypothetical (y-gene)	1964	59	1899	6
Total	4432	336	4085	11

システマティック欠失株作製：加藤 潤一（東京大学、現東京都立大）

(1)【研究内容及び成果】必須遺伝子、非必須遺伝子の同定などに有用な、

比較的長い領域にわたる染色体欠失株を系統的、網羅的に作製するためには、文献により既知必須遺伝子を整理し、それらを含まない領域を特定することが不可欠である。本研究ではそれ以前から行っていた整理をさらに進め、232 個の遺伝子を必須遺伝子と同定した(表)。

25

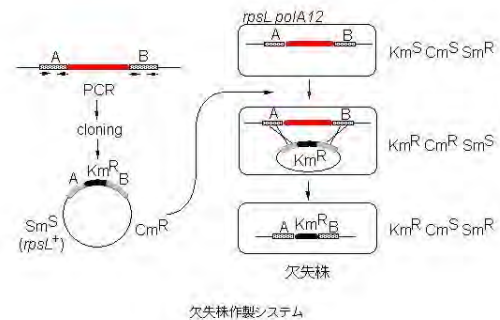
(ii) 染色体欠失株を作製するシステムの構築と欠失株の作製

それまで、染色体欠失株を作製する便利なシステムがなかったため、新しいシステムを構築する必要があった。本研究ではそれ以前から行っていたシステムの構築を進めた。

欠失株作製の具体的な方法は次の通りである。

[欠失株作製の方法](図)

欠失させたい領域の両側約 1.5kb ずつ (A, B) を、順番にベクター (664BSCK2) に Km 耐性遺伝子をはさむ形でクローニングする。



作製したプラスミドを MG1655 *rpsL polA12* 株に導入する。この株の中では、42 において 664BSCK2 プラスミドは複製できないので、Cm 耐性のコロニーを選択することによりプラスミドが染色体に、A または B 領域の領域で相同的組み換えにより挿入されたものを単離することができる。

さらに 35 で培養を続け、Km 耐性さらには Sm 耐性かつ Cm 感受性のコロニーを選択することにより、プラスミドが挿入された状態からもう一度相同的組み換えを起こし、染色体に欠失変異を起こし、プラスミドは染色体外に出て、さらには細胞の中からプラスミドがいなくなったものを得ることができる。

実際の欠失株作製については次のように計画した。

(第 1 段階) 機能未知の ORF が存在する主な領域をカバーするように、一連の欠失株を設計し、作製を試みる。

(第 2 段階) 欠失株が得られなかった領域については、その領域内の必須遺伝子をプラスミドで相補させた状態で欠失株を作製する。

(第 3 段階) 既知の必須遺伝子の存在する領域など、第一段階で欠失を設計しなかった残りの領域についても、必須遺伝子を相補させた状態で欠失株を作製する。

本研究においてはそれ以前から行っていた欠失株作製を進め、(第 1 段階)の途中までを行い、最終的には合計 163 株の欠失株作製を試み、76 株を作製することができた。

(2) 【研究成果の今後期待される効果】

本研究において作製した染色体欠失株は個々の遺伝子の破壊株ではなく、平均 20 kb にわたる比較的長い領域にわたる欠失変異である。個々の遺伝子の破壊株作製は枯草菌や酵母などで行われているが、比較的長い領域にわたる欠失変異のシステムティックな作製は他の生物では行われておらず、大変ユニークな仕事である。

この比較的長い領域にわたる欠失変異株のシステムティックな作製は、本 CREST 及びその後の他のサポートを受け、現在では染色体の約 90% をカバーするに至っている。

これらの比較的長い領域にわたる欠失変異株群は様々な解析に大変有用である。まず非必須遺伝子の探索やスクリーニングを効率よく行うことができる。個々の遺伝子の破壊株を用いてスクリーニングを行う場合には、約 4,000 の破壊株について調べることになるが、比較的長い領域にわたる欠失変異株群を一次スクリーニングとして利用すると、その 1/10 以下の菌株について調べればよい。作業が楽になるだけでなく、手のかかる複雑なアッセイによるスクリーニングも可能になる。

またこれらの欠失変異は、組合せることにより染色体の大規模改変にも利用できる。実際に我々は染色体の約 30% に及ぶ領域を欠失させた菌株の作製に成功している。このような大規模欠失株は最小必須遺伝子群など基礎研究に大変重要であり、また応用面でも大変有用である。特に現在、産業用宿主菌の開発の一つとして、物質生産に不要な遺伝子群を大規模に欠失させた、MGF (Minimum Genome Factory) が大変注目されているが、これらの開発にも大きく貢献すると思われる。

3.2 バイオインフォマティクスグループ

遺伝子ネットワーク解析アルゴリズムの開発：松田 秀雄（大阪大学）

- (1) 【研究内容及び成果】：既知の代謝反応やシグナル伝達に關与する遺伝子ネットワークをモデルとして、ゲノム上の位置、配列類似度及びマイクロアレイ解析を組み合わせ遺伝子ネットワーク解明技術の開発を行う。これまでの研究開発で代謝反応パスウェイ・アライメントシステムの開発を行うことができた。今後、類似反応パターンと遺伝子クラスタとの対応付けや、遺伝子破壊実験データや、発現プロファイルのデータを使った解析を行い、類似反応パターンの機能的注釈付けを目指すとともに、大腸菌代謝反応パスウェイでの欠損部位（パスウェイ中の酵素の遺伝子が同定されていない場所、EcoCyc からの統計では約 50 箇所）を、類似反応パターンを介した比較解析で埋めることで、大腸菌のパスウェイの

完全な再構築を目指す。

既知の代謝反応や転写制御に関与する遺伝子ネットワークをモデルとして、ゲノム上の位置、配列類似度及びマイクロアレイ解析を組み合わせ遺伝子ネットワーク解明技術の開発を目指して、次のような研究開発を行った。

(i) XML に基づくゲノムデータの表現とその検索システムの開発

大腸菌ゲノムのデータは、塩基配列、ゲノム上での遺伝子の位置、遺伝子産物のアミノ酸配列、遺伝子の機能や遺伝子間の関連に関するデータなど大量かつ多様であり、既存のデータベースの形式(例えば、GenBank のフラットフ

ァイル)で表現するのは容易ではなかった。そこで、本研究では、構造化文書記述言語の一つである XML (eXtensible Markup Language)に基づいてゲノムに関する多様なデータを統一的に表現する形式である GXML (Genome eXtensible Markup Language)を開発し、これに

```
<?xml version="1.0" ?>
<!DOCTYPE gxml SYSTEM "gxml.dtd" >
<gxml>
  <genome>
    <gid>Escherichia coli K-12...</gid>
    <whose>E. coli Genome Project</whose>
    <date>98Nov18</date>
    <contig>
      <cid>c000</cid>
      <dna>ATGCGAGTGTGAAAGTTCGGCGG...</dna>
    </contig>
    <feature type="orf">
      <fid>h1263</fid>
      <alias>trpD</alias>
      <location>
        <cid>c000</cid>
        <start>1317813</start>
        <end>1319408</end>
        <strand>-</strand>
      </location>
      <dna>ATGGCTGACATTCTGC...</dna>
      <prot>MADILLDDHDSF...</prot>
    </feature>
    <pw>
      <pid>00401</pid>
      <pname>tryptophan biosynthesis</pname>
      <prrole>
        <cid>4.1.3.27</cid>
        <fid>h1263</fid>
      </prrole>
    </pw>
  </genome>
</gxml>
```

GXMLの例

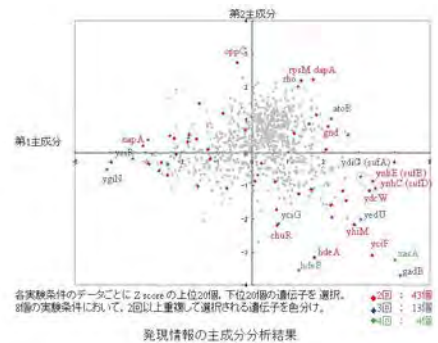
よるゲノムデータの格納およびその検索システムの開発を試みた。

さらに、環状や直線状のゲノム構造や遺伝子間の種々の関連(ゲノム上での位置の近さ、配列類似度、代謝反応パスウェイでの位置の近さなど)を検索できる問合せ言語 GQL (Genome Query Language)を開発することにより、多様な遺伝子間の関連をゲノムレベルで統一的に検索することが可能となった。

このシステムを使って、大腸菌ゲノム上で近い距離にあり、かつ代謝反応パスウェイ上でも同じパスウェイで近い位置にある遺伝子の組を検索したところ、トリプシン合成系の遺伝子などが得られた。

(ii) 発現プロファイルによる遺伝子のクラスタリング

DNA マイクロアレイ等から大量に得られる遺伝子発現プロファイルを利用して、遺伝子を分類することを試みた。発現プロファイルの比較からは、単に発現の様式が類似しているというだけでなく、例えば同じ遺伝子により制御を受け

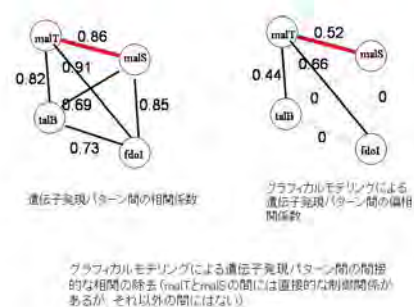


ている一群の遺伝子集合を抽出することが原理的に可能である。しかし、発現プロファイルのクラスタリングでは、(a) 発現量の測定値に比較的大きな実験誤差が含まれている、(b) 遺伝子ごとに発現量測定に適切な条件が異なるので、遺伝子の分類ではすべての条件での発現量を使わずに、分類に適切な実験サンプルだけを選択する必要がある、(c) 単に発現プロファイルの相関を見るだけでは、遺伝子間の直接的な制御と、間に別の遺伝子を介した間接的な制御とが区別できない、などの問題点があった。

そこで、本研究では、(a)については、時系列データとして得られる発現プロファイルに対しては、離散フーリエ変換やウェーブレット変換などのデジタル信号処理の変換方式により周波数分析を行うことで高周波ノイズとして現れる実験誤差を除去する手法を開発した。(b)については、主成分分析により分類に適切と思われる成分を抽出することを試みた。(c)については、グラフィカルモデリングにより、間接的な相関関係を検出し

て取り除くことを試みた。

主成分分析の結果、*sufA*, *sufB*, *sufD* のオペロンなど共通の遺伝子により制御を受ける遺伝子群が分離できた。また、グラフィカルモデリングによる解析により、*malT* と *malS* の間の制御関係が示唆されるなどの結果を得た。



(iii) 代謝反応パスウェイ・アライメントシステムの開発

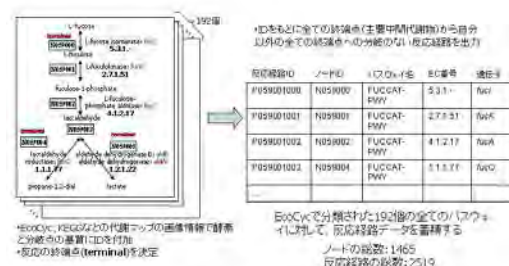
EcoCyc および KEGG から大腸菌の代謝反応パスウェイをすべて取

り出して、パスウェイごとにそのパスウェイの ID、パスウェイを構成する酵素の EC 番号およびその遺伝子名を組にして、パスウェイ上で出現する順番にそって表形式で格納したデータベースを構築した。

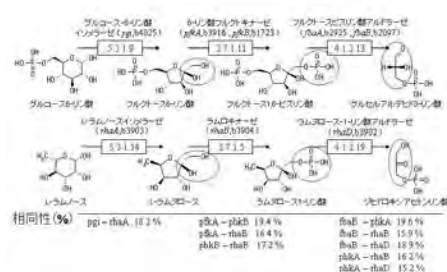
また、パスウェイに分岐が存在するときは、分岐に ID をつけ、表形式のパスウェイの対応する位置におくようにした。これにより、表形式データの中にはパスウェイ中の直線的な部分しか登録されないが、同じ分岐点を持つパスウェイを相互に接続することで分岐を含むパスウェイも検索を可能にした。結果的に、大腸菌の既知のパスウェイ 192 個を抽出でき、各パスウェイは、酵素および反応の分岐点である中間代謝物（2 つ以上の酵素の基質または生成物となる

代謝物)をノードとして持つが、ノードの総数が 1,465 個となった。

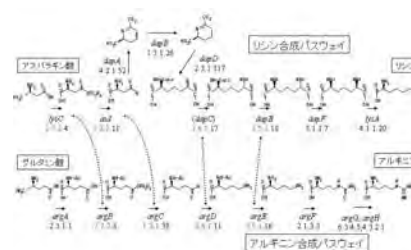
さらに、パスウェイ間の比較方法として、パスウェイ中の酵素の EC 番号の類似性に着目したアライメント手法を考案した。本手法と、パスウェイのデータベースと組み合わせることにより、相互に類似した反応を行うパスウェイが抽出できるシステムを開発した。このシステムを用いて大腸菌のパスウェイを相互に比較したところ、性質の良く似たアミノ酸の合成パスウェイや、DNA 塩基・RNA 塩基の合成パスウェイ、種々の糖の代謝パスウェイそれぞれの間に類似した反応の系列があることがわかった。



代謝マップからの反応経路の抽出



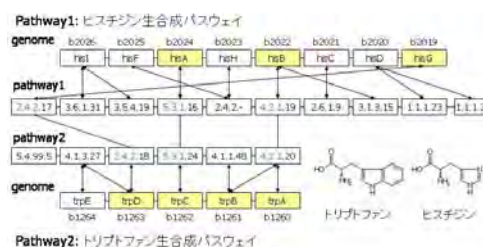
パスウェイ中の反応の類似性(酵素の配列相同性とは必ずしも相関していない)



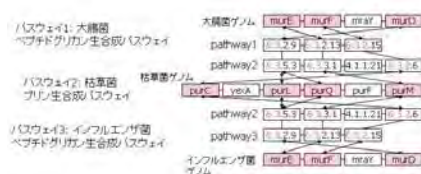
バスウェイのアライメントで検出された反応類似性が高いバスウェイの例

(iv) ゲノムと代謝反応パスウェイの比較アルゴリズムの開発

前述のように、EcoCyc および KEGG から大腸菌の代謝反応パスウェイをすべて取り出して、パスウェイ上で出現する順番に従った表形式で格納したデータベースを構築しているが、これに酵素の遺伝子名やゲノム上での位置を付加した。これを使って、複数のパスウェイ間に現れる類似反応パターンのうちで、その反応の触媒酵素の遺伝子がゲノム上で近接しているものをパスウェイの基本構成単位とみなして、これらを検出する方法を開発した。類似反応パターンの検出は、昨年度までに開発した EC 番号間の類似性に着目したアライメントにより行い、ゲノムとの比較は部分グラフ探索手法を新たに考案した。



パスウェイの反応類似性とゲノム上の遺伝子クラスターとの対応例



ペプチドグリカン生成パスウェイ(上)とプリン生成(下)パスウェイの生物種間での比較

大腸菌、枯草菌、インフルエンザ菌などの微生物の代謝反応パスウェイを網羅的に比較して、類似した反応系列を示す部分を抽出すると共に、得られた類似反応部分系列に含まれる酵素の遺伝子がゲノム上で近接しているものを探索した。その結果、トリプトファンとヒスチジンという類似したアミノ酸の合成経路や、プリン塩基などの塩基の合成経路が、これらの微生物で類似反応部分系列となるとともに、それに含まれる酵素遺伝子がそれらのゲノム上で共通してオペロンを形成していることがわかった。これらオペロンと対応が付けられる反応部分系列は、真正細菌、古細菌やヒトにおいて共通して保存されているパスウェイを解析した研究報告(J. M. Peregrin-Alvarez, et al., *Genome Res.* 13, 422-427, 2003)と良く一致しており、パスウェイの起源についての示唆を与えると考えられる。

(2) 【研究成果の今後期待される効果】

本研究のうち、ゲノムデータの XML 形式での表現と、代謝反応パスウェイのアライメントによる類似反応パターンの検出は独自性の高い先駆的

な研究であり、国内外で類似の研究はほとんどない。遺伝子発現プロファイルのクラスタリングおよび、遺伝子発現プロファイルからの遺伝子制御ネットワークの推定は、国内外の各所で盛んに行われているが、公開されている遺伝子発現プロファイルのデータをそのまま利用するのは問題が多いことがわかったため、本研究では遺伝子発現データの持つ様々な問題点を明らかにし、それを克服する前処理的な手法の開発が必要不可欠と考え、これを中心に研究開発を行った。

成果の今後の展開としては、代謝反応パスウェイのアライメントから検出された類似反応パターンを、遺伝子発現プロファイルの解析結果と組み合わせながら、現在のような複雑な代謝反応パスウェイが進化の過程でどのように獲得されてきたかなどネットワークとしての構成過程についての知見を得ることが考えられる。近年、代謝反応パスウェイなど様々な遺伝子ネットワークに、ノードの次数の頻度にべき乗則が成り立ち、スケールフリー性があるなどの共通した性質が存在することが明らかにされており、本研究はそれらネットワークの解析研究への基礎データを提供すると思われる。

その他、社会に対する波及効果として、多数の微生物ゲノムで代謝反応パスウェイのアライメントを行い、共通して存在する類似反応パターンを体系的に求めることで、代謝をもとにした比較ゲノム解析につなげることにより、有用な化学物質の生産法や抗生物質などの薬剤の設計法についての知見が得られると考えられる。

コドン使用頻度による遺伝子の機能分類（情報解析グループ）：工藤 喜弘（山形大学）

- (1) 【研究内容及び成果】 遺伝子のコドン使用は、翻訳における tRNA と相互作用に基づいた性質が反映されており、この事実を利用して大腸菌遺伝子の細胞内の生産量を推定する。さらに蛋白質コード領域の査定に利用する。

遺伝子をコドン使用の型で記述し、発現量の高低との相関の想像がつく遺伝子の性質を調べた。いま注目する第 g 番目の遺伝子のアミノ酸 a のコドン使用度数を $f_{gj(a)}$ とする。ここで j の最高値 $M(a)$ は $a = \text{Met}$ および Trp の場合は 1 であり、他に対しては 2 (Phe など), 3 (Ile), 4 (Pro など) あるいは 6 (Leu, Arg, Ser) である。この使用度数を各アミノ酸ごとに規格化してさらに M を乗じて補正をして求めたコドン使用頻度 $\times f_{gj(a)}$ [注] を要素とする 61 次元のベクトルで遺伝子 g を記述する。各生物種毎に主成分分析を行い、第一主成分 Z' を求め、その平均 $Av[Z']$ と

標準偏差 $SD[Z']$ とから平均値からの偏り $Z = (Z' - Av[Z']) / SD[Z']$ を算出した。

さらに第 j 番目のコドンの相対頻度 X_j の Z' への共分散 $cov(Z', X_j)$ とそれぞれの分散 $var[Z']$ と $var[X_j]$ とから算出した相関係数、すなわち因子負荷量、 $r(Z', X_j) = cov(Z', X_j) / \sqrt{var[Z']var[X_j]}$

と、翻訳効率の観点から池村淑道が決めた最適コドンの関連性を調べた。さて、発現量との関連性を求めるために常に発現量が高いと推定される遺伝子として原核生物ではリボソーム遺伝子に注目し、その逆と考える外来性遺伝子と対比させた。また真核生物では発現量の高い遺伝子としてリボソーム遺伝子とヒストン遺伝子に注目し、その逆と考えるミトコンドリアで使われる遺伝子と外来性遺伝子とに対比させた。

[注: これは以前、大腸菌とそのバクテリオファージの遺伝子の類似性を、主成分分析法を用いて比較した結果、溶菌性ファージの遺伝子は類似性が小さいのに対して、溶原性ファージのものは類似性大であるという知見を得たときに採用したものである。]

遺伝子を上述の方法で記述し、その類似性に従って遺伝子を分類した。分類の方法として近年、成功例が増えつつあるように見える自己組織化地図 (Kohonen self-organizing maps : SOM) を使用した。これは教師なし学習機械の一種である。ただし地図の型が一義的に決まるわけではないのでここではまず二次元長方地図を作成することにする。横軸と縦軸の大きさをそれぞれ I, J とすると遺伝子は 最大 $I \times J$ 個の地点に分かれる。遺伝子は数値ベクトルで記述されていて類似度はその距離の小ささで判断するので距離の測定法も選定する必要がある。ここではユークリッド距離をまず採用する。さて通常の SOM を特徴づけるが、本研究では不適切な学習順序依存性を本研究では除去し、そのことを強調するために batch-learning SOM: BLSOM と呼ぶ。さて SOM(ここでは BLSOM)の各地点の初期ベクトルをランダムに設定するといろいろな局部最適値に陥って結果が安定しないので、入力データ全体の主成分分析の結果を基礎に地図の縦軸、横軸の大きさが一義的にきまるようにした。天元の位置に全ベクトルの平均値を置き、左上隅に一番小さいベクトル、右下隅に一番大きいベクトルが置き、滑らかな傾斜ができるようにするのである。横軸に用いた第一主成分は結果的に CG% が大きく係っているように見える。遺伝子データで作成した地図の各地点を関係細菌の数により 3 大別する。すなわち「0」、「1」、および「2 以上」である。「0」地点の数が少ないほどカテゴリの数は多くなり、「1」地点の数が多いほど(「2 以上」地点が少ないほど)分類能が高いことになる。まずいくつかのバ

クテリアでリファレンスベクトルを作成し、リファレンス地図上でのバクテリオファージの遺伝子およびバクテリアのトランスポゾン遺伝子が置かれる位置を調べた。

関連研究として大腸菌 *Escherichia coli* の tRNA 遺伝子の並び(以後、tRNA 遺伝子タンデム、あるいは単にタンデム)の特徴を調べた。タンデムを形成する複数の遺伝子とその生成物の協調性とは無関係というヒトのグロビン遺伝子のサブグループのような事例もあるが、lac オペロンで典型的に示されているように生成物が協調的に働く遺伝子がタンデムを形成しているものの事例もかなり多い。その際、順序は無関係でもよいわけであるが、共通タンデムが枯草菌 *Bacillus subtilis* といくつかのマイコプラズマ菌の間の近縁性の根拠とされたように、順序の重要性を軽視できない。そこで大腸菌とそれを含むグラム陰性細菌のみならず、古細菌、グラム陽性細菌の完全ゲノムおよびゲノム断片データからタンデムデータを収集し、類似性を調べた。

タンパク質の機能とペプチドのアミノ酸配列の関連を知るために BLSOM を用いてペプチドのアミノ酸配列に基づいてペプチドを分類し、タンパク質の機能との関係を調べた。その入力データはアミノ酸配列情報を含み、かつ、ホモロジー検索とは変えたい、などの条件から 2 アミノ酸組成を採用した(例: ペプチド配列 AAAMM は (AA, AM, MA, MM) = (2, 1, 0, 1) (要素は絶対数)あるいは (0.50, 0.25, 0.0, 0.25) (要素は頻度)と記述する。二次元長方形地図を設定し、第一軸をたとえば 100 に固定した。結果を安定させ、再現性を重視するために地図の第 2 軸の大きさと各ノードの初期値設定に主成分分析を用いた。

バイオインフォマティックスの一つの存在理由は理論的に有用な方法を取り込む方法の開発にもあるのでたとえば上述 SOM の演算の高速化を進めてきた。以上の解析より以下の結果を得た。

- (i) 主成分第一軸を横軸にして遺伝子の分布を調べると、原核生物の場合、遺伝子全体では正負両側に対称的に裾野を引いているが、リボソーム遺伝子は正の領域に分布し、逆に外来遺伝子は負の領域に分布することがわかった。これは発現量との強い相関を示唆する。ここで型 A は「推定した最適コドンのほとんどが第 1 主成分に正に寄与」、B は「推定した最適コドンがおおよそ第 1 主成分に正に寄与」、C は「推定した最適コドンのほとんどが第 1 主成分に正に寄与」を意味する。大部分の生物種で最適コドンが第一主成分に正に寄与していると言え、これも発現量との強い相関を示唆するが、*Mycoplasma* 類や *Chlamydia* 類は負に寄与している。なお真核生物 21 種の結果は

ここでは詳述を避けるが、一言で表せば原核生物のように単純ではない。

- (ii) 19 種の遺伝子で作成したリファレンス地図から個々の細菌それぞれが独占した地点は比較的多く、しかも纏まって占有領域を形成していることである。そして最大占有領域に集まった遺伝子は「固有のもの」、最大占有領域から離れた地点にある遺伝子は「外来性で、その近くに最大占有領域を持つ別の細菌の固有遺伝子と同源の可能性を検討する価値があるもの」、と考察できた。地図の縦軸は関係細菌の種類によるように見え、大腸菌が横軸最大、すなわち右上隅を占めるなど、グラム陰性細菌の占有領域が縦軸の値が小さい方に並んでいる。多くのバクテリアからトランスポゾン機能を有する 300 塩基以上の遺伝子のデータをこのリファレンス地図の上においた。多くのトランスポゾン遺伝子は *Mycobacterium tuberculosis*, *Chlamydia pneumoniae*、*Chlamydia trachomatis* の占有領域に集まった。次に 4 種のバクテリアの計 10 種のファージ（溶原性 5、溶菌性 5）の遺伝子の行く先を調べた。溶原性と溶菌性ファージの間に大きな差異はなく、むしろ DNA ポリメラーゼを持つものが宿主でないバクテリアの占有領域に分布する傾向が見られたが、完全ではない。
- (iii) グラム陽性細菌のタンデムの多種多様性に比すべくもなく地味ではあるが、グラム陰性細菌内だけでも共通タンデムが見つかった。タンデムのタンデムさえ見つかっている。一例を挙げれば *E.coli*, *S. typhimurium*, および *A. hydrophila* にあるタンデム Arg(CCG)-His(GUG) ともう一つのタンデム Leu(CAG)-Pro(UGG)とで形成するタンデムのタンデムはこの順序では並ぶが、Leu(CAG)-Pro(UGG)に Arg(CCG)-His(GUG)が続く事例は一例もみつかっていない。グラム陽性細菌の場合には豊富はタンデム情報に基づき、未解釈の塩基配列から tRNA 遺伝子を演繹的に検出する試みにまで進んでいる。
- (iv) 約 10 万本のペプチド配列データがたとえば 100 × 91 の BLSOM 上に比較的均一に分散した。これはデータの分割が成功したことを意味する。異なる生物種からの同様の機能のペプチドが占有領域を占めることはあまりないが、纏まる傾向にはある。すなわちそれぞれの集団が纏まる領域が重なりあっているのである。教師なしのこの方法の長所は下手な先入観には依存しないことであるが、データへの依存性は避けられない。そこで絶対座標の代用として大小 2 種類のホモペプチドの配列を混入させた。重合度 6,000 のホモポリマーは

地図の隅あるいは縁に偏る傾向があるが、重合度 100 のものは分散し、しかも重合度 6,000 のものには引き寄せられない。これは各 20 種のホモポリマーが同一アミノ酸ホモポリマー同士よりも、絶対多数の 10 万の実ペプチドの中に類似性を見出していること、そしてポリマーの大きさが類似度の一つの大きな因子になっていることを示す。

- (v) SOM(および BLSOM)の学習においては理論的にはすべてのノードに前回の学習結果を反映させなければならないが、遠い地点の、影響が小さい変動を無視すれば誤差を大きくすることなく、計算時間を減らせる。

表 1 第一主成分への最適コドンの寄与の型				表 2 リファレンス地図		
Category	Species	遺伝子数	型	Species	遺伝子数	占有領域(I,j)
Proteobacteria γ subdivision	<i>Escherichia coli</i> K12 MG1655	3913	A	<i>E. coli</i>	3913	75-79; 0-20
	<i>Haemophilis influenzas</i> Rd	1548	A	<i>H. influenzas</i>	1572	0-20; 0-20
	<i>Xyella fastidiosa</i>	2041	C			
	<i>Vibrio cholerae</i> chromosome	3235	B			
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PA01	5255	A			
	<i>Buchnera</i> sp. ASP	523	C			
Proteobacteria β subdivision	<i>Nessria meningitides</i> strain MC58	1678	B			
	<i>Nessria meningitides</i> serogroup A	1747	A			
Proteobacteria other subdivision	<i>Helicobacter pylori</i> 26695	1391	B	<i>H. pylori</i>	1392	20-50; 0-20
	<i>Helicobacter pylori</i> strain J99	1372	B	<i>H. pylori</i> J99	1372	
	<i>Compylobacter jejuni</i>	1491	A			
	<i>Rickettsia prowazekii</i> Istrain Mdrid	733	C	<i>R. prowazekii</i>	733	0-5; 20-30
ram-positive bacteria	<i>Bacillus subtilis</i>	3267	A	<i>B. subtilis</i>	3788	30-60; 20-60
	<i>Bacillus halosurans</i> C-125	3558	A			
	<i>Mycoplasma genitalium</i>	460	B			
	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> M129	658	B			
	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	560	A			
	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	3675	C	<i>M. tuberculosis</i>	3675	80-90; 20-60
Chlamydia	<i>Chlamydia tracomatis</i>	833	C	<i>C. tracomatis</i>	833	10-30; 10-40
	<i>Chlamydia pneumonisae</i>	968	C	<i>C. pneumonisae</i>	968	10-30; 10-40

	<i>Chlamydia muridarum</i>	743	C			
	<i>Chlamydia pneumonisae</i> AR39	853	C			
	<i>Chlamydia pneumonisae</i> J138	982	C			
Spirochete	<i>Borrelia burgdorferi</i>	772	C	<i>B. burgdorferi</i>	772	50-60; 30-60
	<i>Treponema pallidum</i>	917	C	<i>T. pallidum</i>	917	65-80; 20-50
Cyanobacteria	<i>Synechocystis</i> sp. PCC6803	2909	B	<i>Synechocystis</i> sp.	2909	50-70; 0-20
Radioresistant	<i>Deinococcus radiodurans</i> R1	2769	B			
Hyper— thermophilic	<i>Aquifex aeolicus</i> VF5	1489	B			
	<i>Thermotoga maritima</i> MSB8	1686	B			
Archaea	<i>Methanococcus jannaschii</i> d	1541	A	<i>M. jannaschii</i>	1542	60-79; 0-10
	<i>Methanobacterium thermo-</i> <i>Utotrophicum</i> delta H	1646	B	<i>M. thermo-</i> <i>autotrophicum</i>	1646	70-90; 65-79
	<i>Archaeoglobus fulgidus</i>	2088	B	<i>A. fulgidus</i>	2088	50-70 ;60-79
	<i>Holobacterium</i> sp. NRC-1	1761	B			
	<i>Pyrococcus abyssi</i>	1692	B			
	<i>Prococcus horikoshii</i> OT3	2001	B	<i>P. horikoshii</i>	1973	10-30 ;55-79
	<i>Aeropyrum pernix</i> K1	2619	A	<i>A. pernix</i>	2619	70-90 ;50-65 70-90; 60-79

表3 解析に用いたバクテリオファージ

宿主	ファージ	性質	遺伝子数	DNA ポリメラーゼ
<i>E. coli</i>	λ	溶原性	67	なし
	P2	溶原性	42	なし
	T4	溶菌性	271	Gp 43
	T7	溶菌性	60	Gp 5
<i>B. subtilis</i>	SP β c2	溶原性	185	Y あるいは L
	SPP!	溶菌性	102	なし
	PZA	溶菌性	27	Gp 2
<i>M. tuberculosis</i>	L5	溶原性	85	Gp 44
	D29	溶菌性	77	Gp 44
<i>H. Influenzae</i>	HP1	溶原性	41	なし

表4 計算の高速化の経過

方法	時間 (分)	誤差 × 10 ⁵
従来法	749	3.29
改善 1		
1	118	3.43
2	203	3.32
3	95	3.31
改善 2		
1	40	3.44
2	29	3.39
3	87	3.38

(2) 【研究成果の今後期待される成果】

- (i) 本研究の、特に遺伝子の発現量と直接関わる部分は国立遺伝学研究所チーム（池村淑道教授）との連携でなされていて、今後もしばらく続く見込みである。また本研究の主流は in silico 解析であり、予

測、予言の段階にあるので実験生物学者などによる早い実証、実地確認が望まれる。真核生物では明解な結果が得られなかったことは当然予想されることであり、コドンと発現量の関係の解明には当面は影響因子が少ないバクテリアを対象を絞りこむのがよいと考える。

- (ii) リファレンス地図作成に関与させるバクテリアの数が増加すれば分類能が落ちることが予想される。それへの対応策の一つとして分類地点の増加を考えることが出来よう。当面の方策は横軸を長くすることであるが、縦軸がバクテリアの種類を反映しているようにも見えるのでそちらへの注目もし続けるのが重要である。
- (iii) tRNA 遺伝子タンデムはそれを持つバクテリアのクラスと関連性を全然示さない場合と明確に示す場合があることが興味深い。rRNA も視野にはっきり入れ、さらにプロモータ、ターミネータの位置、すなわち転写単位も考慮した方がよいかも知れない。発現量との関係がまだかなり間接的なままであるから、もっと直接関連づけたい。
- (iv) 現在の、2 アミノ酸データだけで分類するとたとえば AABAA と BAAAB の記述は共通の[(AA,AB,BA,BB)=(2,1,1,0)]となり、情報同族体を形成する。この種の情報同族体は機能と無関係に地図で常に同じ地点に置かれる訳であり、この方法の一つの限界を示している。すなわちこれらを情報同族体同士を的確に識別できるデータの付与が必要である。400 本、あるいは長さ 3 種類 (6,000、1,000、100) が各 400 本計 1,200 本の仮想ホモポリマーは実際のペプチドデータ約 10 万本に混入させれば埋没してしまうようにも見えるが、むしろ絶対座標の機能を果たしながらも全体の分類構造にあまり影響を与えない点をもっと高く評価し、利用効果を高める方法を探したい。方法の実用的意義を考えれば、今後のデータの激増に備え、今よりはるかに高度な高速化が切望される。

マイクロアレイ解析による転写単位の予測：金谷 重彦（奈良先端大）

- (1) 【研究内容及び成果】：DNA マイクロアレイ解析におけるデータ処理方法の確立と発現プロファイルを考慮することによる多面的視点での転写単位推定法を開発し、大腸菌ゲノム上の転写単位を予測した。
DNA マイクロアレイ解析はデータ処理により大きくその信頼性に差がある。多くの実験誤差を含み、また、スライドガラス自体のばらつきなどに起因する種々のバイアスが存在する。これらを統計的手法により標準化することでデータの信頼性を向上させ、以降の発現プロファイル解析

に供する。

発現プロファイルに基づく転写単位の推定を行うに当たり、バクテリアにおける分子生物学に関する 12 誌を 1980 年-2002 年について調査し、600 個の文献を整理し、SQL 言語処理系によってリレーショナルデータベースシステムを構築した。この調査により、941 遺伝子に対する 401 個の転写単位を収集することができた。全体のうち 153 個がモノシストロニックな転写単位である。また、248 個がポリシストロニックな転写単位(941 遺伝子)である。この文献情報をもとに本研究で開発した転写単位の推定法の精度を検討した。

精度において 70%の既知転写単位については転写単位を正しく予測できた。また 1 遺伝子の過不足までを許容範囲とした場合、全体の 86%の既知転写単位はこの許容範囲内に含まれる。

本手法は転写単位予測の実用に耐えられるものと考えられる。そこで、大腸菌ゲノム全体における転写単位を推定したところ、407 個の転写単位がポリシストロニックな転写単位と予測された。転写単位に属する遺伝子が多数を占める機能クラスにより転写単位を特徴づけることを試みた。なお、以下の 13 種の機能クラスを本解析では用いた。(class 1, Amino acid metabolism; class 2, Biosynthesis of cofactors; class 3, Cell envelope; class 4, Cellular process; class 5: Central intermediary; class 6, Energy metabolism; class 7, Fatty acid/phospholipids metabolism; class 8, Nucleotide metabolism; class 9, Regulatory functions; class 10, Replication; class 11 Transport/binding protein; class 12, Translation; class 13, Transcription) 407 個の転写単位のうち 182 個(44%)はクラス 1-13 により特徴づけることができた。残りの 225 個の転写単位はいまのところ機能未知の遺伝子により構成されている。225 個々の転写単位に属する遺伝子の機能を検討することにより明らかに転写単位が機能により特徴づけられたものを以下に列挙する。ID57 において鉄輸送に関わる二つの遺伝子(*fhuA*, *fhuB*)が転写単位と予測された。ID152(*yaiB-phoA-psiF*)はリン酸飢餓に関わる転写単位、ID258(*citAB*)は 2-コンポーネント系の転写単位、ID321(*bioBFCD*)はビオチン生合成に関わる転写単位、ID401(*ssuADCB*)は芳香族スルホン酸輸送系に関わる転写単位、ID402(*ycbQRST*)は外膜タンパク質からなる転写単位、ID462 は鞭毛合成に関わる転写単位、ID542(*sapCB*) はペプチド輸送系、ID593(*paaD-267#1*)酸リン酸化酵素、ID772(*ruvBA*)はホリデー構造ヘリカーゼに関わる転写単位、ID779(*flhEAB*), ID790(*fliDST-amyA*), ID795(*fliFGHIJKLMNOPQR*) は鞭毛合成に関わる転写単位、ID899(*napHGADF*)はフェレドキシン型電子伝達系、ID996(*talA-tktB*)はトラ

ンスアルドラーゼとケトラゼによる転写単位、ID1134(*recC-ptr-recB*)は DNA ヘリカーゼを中心とした複製系、ID1198(*exbBD*)は小分子カチオン輸送系、ID1213(*ttdAB*)は L-tartrate dehydrotase、ID1250(*agaYBC*)はタガトースビスホスフェートアルドラーゼ、ID1449(*glyQS*)はグリシン tRNA 合成酵素、ID1494(*glvCBG*)と ID1576(*frvBXR*)はそれぞれ PTS システムに関わる転写単位、ID1533(*rffTMK*)はアミノ酸転移酵素、ID1730(*fimEAICD*)は纖毛合成に関わる転写単位である。このように遺伝子の発現プロファイルとゲノム上の位置にもとづいて転写単位を推定し、得られた転写単位の機能上の特徴を網羅的に整理することができた。

(2) 【研究成果の今後期待される効果】

DNA マイクロアレイ解析もここ数年で非常に普及するようになり、データ処理に関する方法論も多様な処理方法が開発されてきた。本プロジェクトにおける開発は特に発現プロファイル解析の現場における開発であることから、実験研究現場に即した形での開発を行うことができ、現在、一般に公開するのと同時に商品化を想定した開発も行っている。

転写単位の予測方法の確立とその予測結果においては、有用微生物としてのバクテリアの改変を設計する際の単位として重要な情報となる。現在、生物学的にも、また工業的にも minimal gene set を持ったバクテリアの創生が期待されている。転写単位を遺伝子欠損の単位とすることにより、その設計がより簡素化され、minimal gene set の実現が期待される。

3.3 データベースグループ

文献データベースの開発：磯野（神大）

- (1) 【研究内容及び成果】：これまでに解析された大腸菌の遺伝子ならびに突然変異に関する文献データを網羅して整備し、ゲノム構造データに関連させて近縁のバクテリアの相同遺伝子に関する情報を含め、遺伝子あるいは制御領域等について機能的に検索できるデータベースを作製する。技術員を中心として文献複写を行って OCR ソフトでデジタルデータに変換し、スペルミスその他のミスを除去後、データベースに収録してまとめる。

これまでに報告されている大腸菌の突然変異データ（対象遺伝子、遺伝子機能の詳細、突然変異の種類、突然変異による活性の変動、復帰変異の有無、サプレッサー変異の有無、など）について、過去の関連文献や遺伝子の塩基配列・遺伝子産物のアミノ酸配列（野生型と各種の変異型の塩基配列ならびに対応する遺伝子産物のアミノ酸配列データ）を網羅し、ゲノム構造データに関連させて利用できるデータベースに整えた。

それとともに、近縁のバクテリアの相同遺伝子と関連づけ、機能の面からも検索できるよう工夫した。それによって、大腸菌のゲノムデータから出発して、遺伝子ならびに遺伝子群あるいは制御領域等について、構造的だけでなく、機能的にも類縁を辿ることのできるデータベースの作製を行った。これまでに大腸菌の遺伝学的な解析に関連した約 4,500 の文献を収録した。現在は奈良先端科学技術大学院大学のサーバーで公開している Genobase に組み入れる作業も終了し公開している。

(2) 【研究成果の今後期待される効果】

これまでの大腸菌による遺伝子機能の解析は変異株による成果と言っても過言ではない。これまでの変異のデータを系統的に保管したデータベースにより、これからの機能未解析遺伝子群の機能解明に、特に比較ゲノム解析による遺伝子機能解析において大きく寄与することが期待される。

大腸菌データベースの開発と公開：森 浩禎（奈良先端大）

(1) 【研究内容及び成果】

ゲノム配列情報およびその解析結果とともに、本プロジェクトから派生する各種リソース群のデータやコンピュータによる機能解析結果、変異データベースなどを統合し、広くインターネットを利用した公開のしくみをつくり、大腸菌を含めた全ての生物学者との情報の共有を行う。データベースシステムには PostgreSQL を採用し、開発には PHP、Java および Perl 言語を利用している。大腸菌ゲノムの解析結果から始まった本データベースであるが、現在は本プロジェクトより生み出されたりソース情報、リソースを活用した網羅的なゲノム解析結果など、大腸菌の統一的なデータベースとして確立することができた。

(2) 【研究成果の今後期待される効果】

データベースの重要性はここで改めて説く必要はないと思われる。私たちの成果、クローン、破壊株、欠失株などの情報、情報解析の結果、開発を行った各種ツール群、マイクロアレイを利用した transcriptome 解析結果、gene-protein index やタンパク質相互作用解析、クローンの GFP を利用したタンパク質細胞内局在性解析、など網羅的活システムティックな解析結果すべてがこのデータベースに集約されるものである。国内外を問わず、今後の研究開発の大きな原動力、基盤となることが大きく期待される。特に大腸菌国際コンソーシアムにおいても大きく期待されており、重要なサイトとして認識されてきた。

3.4 機能解析グループ

細胞分裂遺伝子群の同定と網羅的解析：西村 昭子（国立遺伝学研究所）

(1) 【研究内容及び成果】

大腸菌の細胞分裂機構を構成する全遺伝子群を系統的に同定し、網羅的に機能解析することにより、細胞分裂機構の全体像を明らかにすることを最終目的として本基盤研究を開始した。その為に、まず全ORFの可動プラスミド・クローンを作成し、約 430 の細胞分裂の温度感受性変異株について、相補性テストによるマッピングを行う。相補した ORF については、COG データベースを用いて機能予測を行い、予測された機能グループ別にシステマティックに機能解析を行うと共に、DNA チップにより遺伝子発現のヒエラルキー解析を行う。

(i) 相補性テストによる、構築系の検証

相補性テストは次のように行った。可動プラスミド・クローンを保持した供与菌を、抗生物質を含まない液体培地を分注したマイクロタイタープレートに植菌し 37 で一晩培養した。受容菌である変異株も、抗生物質を含まない液体培地 30 で一晩試験管培養後、希釈し、供与菌培養液に分注した。3 ~ 4 時間接合培養した後、各々 0、0.1mM、1mM の IPTG を含む選択培地にスポットし、1 日から 2 日培養した。その結果、組換え体コロニーは、通常の大きさのものと、半分以下の小さいものが観察された。その幾つかについて、p1-形質導入を行った処、大きいコロニーの場合は変異遺伝子のアリアルであったが、小さいコロニーの場合は多コピー抑制遺伝子によるものであることが判明した。次に、より簡便にスクリーニングを行う為に、幾つかの供与菌クローンを混合した場合でも組換え体の検出が可能かどうか検討した。まず、48、24、12、6 株の供与菌クローンの混合ストックを作り、これを用いて、遺伝子産物の細胞内合成量が異なる 4 種の細胞分裂遺伝子の変異株 (*ftsA*、*ftsI*、*ftsW*、*ftsZ*) について相補性テストを行った。それぞれの供与菌混合ストックには各変異株を相補するクローンが必ず含まれるようにした。その結果、何れの混合ストックを用いた場合でも全て、*ftsI* 変異株では IPTG の濃度に関係無く組換え体が発見された。*ftsA* では 0.1mM 以上の IPTG、*FtsZ* では IPTG を含まない選択培地で組換え体が発見された。従って、IPTG の濃度の異なる 3 種の選択培地を用いれば、48 クローンから成る混合クローン・セットでも相補遺伝子を同定できることが解った。そこで、全クローンが 1 枚のマイクロタイタープレートに収まった 48 クローンずつの混合セットと、45 枚のマイクロタ

イタープレートに 1 クローンずつ独立に収まったセットの、2 種類のセットのストックを整備した。これにより、45 回もの相補性テストを行わなくても、2 回の相補性テストで目的の遺伝子を同定することができる系を確立した。プラスミド上に *lacI^d* を搭載しているにも拘わらず IPTG を含まない培地で FtsZ が相補されたことについては、受容菌の染色体上に *lac* 遺伝子のオペレーターが存在する為、IPTG による制御がゆるみ、僅かに発現漏れするものと思われる。そういった意味でも、多量生産が細胞にとって不都合な遺伝子については、この系は誠に便利である。

(ii) 全細胞分裂遺伝子の同定

上記のように構築した 2 種のクローン・セットを用いて細胞分裂の温度感受性変異株の相補実験を行った処、82 %の確立で相補 ORF クローンが同定された。残りの 18 %について相補 ORF クローンが同定できなかった理由の一つは、温度感受性変異株の中には 2 カ所以上に変異を持つものがあると予想されること、もう一つは、*SfiI* クローニングにより N 末 C 末に余分のアミノ酸が付加した遺伝子産物は不活性で相補できなかった為と考えられる。何れにしても、合計 371 の細胞分裂変異株が 355 の ORF クローンによって相補された。この内、57%は 1 種類の ORF クローン、18%は 2 種類、25%は 3 種類以上の ORF クローンによってそれぞれ相補された。複数のクローンによって相補された場合は、多コピー抑制遺伝子が含まれているものと思われる。相補したこれらの遺伝子/ORF について、COG データベースを用いて機能予測を行った結果、既知の細胞分裂遺伝子は僅か 6%であった。機能未知遺伝子は 37%も見つかった。これは細胞分裂機構を解明する新たなアプローチに非常に役立つものと考えられる。また、同定された全遺伝子の内、21%は DNA 複製や蛋白合成などの基幹反応に関わるものであった。但しこれらの変異株では DNA 複製や蛋白合成は 41 でも暫く進行し細胞分裂だけが阻害されたことから、細胞分裂の欠損は DNA 複製や蛋白合成が阻害されたことによる間接的影響ではなく、基幹反応と細胞分裂との間に共役機構が存在しているものと思われる。その他、18%はイオン輸送やシグナル伝達などの細胞内反応過程に関わるもの、18%は代謝関係の遺伝子であった。これらの結果は、「細胞増殖過程の整合性は、細胞内諸反応と細胞分裂の相互識別機構による」という我々の当初の仮説を強く支持するものである。

(iii) 機能解析

上記の結果を踏まえて機能グループ別に詳細な機能解析を行った。例えば、リポ多糖合成に関与する遺伝子により相補される細胞分裂変異株が 8 株同定された。これらの変異株では、細胞分裂の初期の過程で出現するはずのチューブリン様構造 FtsZ リングが殆ど観察されないことを見出した。大腸菌の細胞分裂は、細胞膜－細胞壁－外膜の 3 者の狭窄によって行われるが、現在までに分離された 9 種の分裂装置蛋白は全て細胞質膜に存在し、外膜に局在する蛋白が全く見つかっていない。本変異株の解析から、FtsZ リング形成に外膜のリン脂質が関与していること、及び外膜からのリポ多糖の欠失はリン脂質と分裂の関わりに決定的な影響を与えるという、新しいモデルの提唱に到った (Microbiol, (2002). 148:103-112)。外膜と細胞分裂の関係を始めて明らかにしたものである。これを契機に遂最近、FtsZ の局在場所に決定的な影響を与える Min 蛋白群が、リン脂質膜への結合と解離を介して細胞内でオシレートするという大変興味深い論文が発表された。真核生物のチューブリンと相同性を有する FtsZ は、細胞狭窄の前に分裂予定面に集合し、FtsZ-リングを形成することが知られているが、この FtsZ の細胞質中から分裂予定面への移行は方向性を持って行われるかどうか興味深い処である。幾つかの分裂欠損株が *dnaK* シャペロンのホモログ *hscA* 遺伝子により相補されたことから詳細な解析を行った処、これらの変異株では FtsZ リングが殆ど観察されず、in vitro で野生型 HscA は FtsZ と共沈することを見出した (Genes Cells,(2001). 6:803-814.)。FtsZ のポリマー化を促進する因子として同定された初めての例である。また細胞分裂欠損株を相補する ORF クローンの中に、*ftsE* 及び *ftsY* 遺伝子が同定された。FtsY は真核生物の膜局在装置の大腸菌ホモログであり、FtsE は我々の過去の成果から新規のマルチスパン型膜蛋白局在装置を構成することが解っている。また相補した ORF について COG データベースを用いて構造予測を行った処、相補遺伝子の中に FtsE と共に ABC トランスポーターを構成していることが予想される ORF が同定された。「蛋白質の膜局在」の観点から細胞分裂の構築過程を追求する目的で、この変異株の詳細な解析を行った。この変異株では、マルチスパン型膜蛋白、例えばカリウムイオン・ポンプの KdpA、Kup、TrkH などの局在が阻害された。蛋白の膜局在の面から見ても、細胞分裂装置蛋白の膜局在という面から見ても、共に新しい展開が期待される興味深い変異株である。

(2) 【研究成果の今後期待される効果】

その他、制御系を含む多くの調節遺伝子が同定されており、今後は、これらの変異株を使った遺伝子発現のヒエラルキー及びDNAマイクロアレイによる遺伝子発現調節に対する変異の効果について解析することにより、色々の環境条件下で生存する大腸菌の分裂周期の全体像の理解に近づけるものと期待される。

網羅的機能解析：磯野 克己（神戸大学）

(1) 【研究内容及び成果】

本プロジェクトにおいて作製された大腸菌のアーカイブクローン群および作製した破壊株を用いて、現時点ではまだ機能が不明な遺伝子について組織的な遺伝子機能の解析を行う。特に、大腸菌細胞の集団内での役割に焦点を当て、コロニーを形成している大腸菌の細胞間に生じていると考えられる機能分化と、それを制御している遺伝子を網羅的に探索し解析する。本プロジェクトで作製された遺伝子クローンを用いて、細胞間コミュニケーションに関連すると思われる遺伝子を網羅的に探索する。この目的で、アーカイブクローンに含まれる遺伝子の過剰発現によりバイオフィーム形成に影響を与えるかどうかの探索を全クローンに対して行い、バイオフィーム形成能の低下やバイオフィームの形態異常を示す遺伝子を約 100 個同定した。その上で、これらの遺伝子を詳細に解析する目的で、Wanner の系を用いて個々の遺伝子破壊株を作製して解析した。また、コロニー形成過程の遺伝子発現パターン解析の一環として、大腸菌の細胞間コミュニケーションに関与する遺伝子が含まれると思われる外膜関連遺伝子に注目して解析した。外膜中にその存在が確認されている Y 遺伝子を含む約 60 個の遺伝子の破壊株を作製し、コロニー形成能や他の表現型の解析と、それぞれの遺伝子の発現パターン解析を進めた。さらに同様の考えから、2 成分系を構成する遺伝子についても解析を進めた。アーカイブクローンに含まれる遺伝子の過剰発現によるバイオフィーム形成への影響、ならびに遺伝子破壊株のバイオフィーム形成能や他の表現型の変化についての組織的な解析結果を得ることができた。

(2) 【研究成果の今後期待される効果】

これまでの解析で大腸菌の細胞集団（コロニー）における解析の基盤を確立できたと考えている。同分野における網羅的な解析を、遺伝子クローンなど、本プロジェクトの成果を活用することで迅速に進めることができたことは、バイオフィーム、細胞間コミュニケーションに関する分野のみならず、広く本プロジェクトの成果の活用例を示したともいえる。

トランスクリプト - ム解析：森 浩禎（奈良先端大）

(1) 【研究内容及び成果】

大腸菌転写制御システムは複数の遺伝子については、個別に詳細な解析がなされている。しかしながら、それぞれのシステムがどのように重なりあい、どのように影響しあっているかということは、解析する手法が少なかったこともあり、ほとんどなされていない。本研究では、大腸菌 DNA マイクロアレイと転写因子を中心に遺伝子欠失株をもちいて、それぞれの欠失株における転写プロファイル解析し、それを比較検討することにより、大腸菌の転写ネットワークを推測し、個々の転写制御間の関係を解析した。約 100 の転写制御因子欠損株の生育を温度、および培養条件を変化させて調査し、遺伝子欠失が生育に関して極端な悪影響をもたらすものについては、マイクロアレイ解析には用いない。生育がある程度正常で（倍加速度が 2 倍以上遅いものを不適格とする）マイクロアレイ解析に使用できるものに関しては、MOPS（グルコースおよびカザミノ酸添加培地）で対数増殖期まで培養し、total RNA を抽出後、標識 cDNA を作成し、マイクロアレイに供する。データの標準化に関しては親株由来の cDNA を複数調整しコントロール実験とすることと、金谷らにより開発されたデータプロセス技術を利用する。

本実験に使用するすべての変異株の生育データは固形培地に関しては、LB 培地および MOPS 培地(固形)で 20 , 30 , 37 および 42 で取得した。また、液体培地に関しては、MOPS 培地で 37 において定常期まで計測を実施した。その結果 *rpoN* 欠失株を除く全ての株でマイクロアレイ解析が可能な程度の生育を示した。Total RNA の回収と標識 cDNA の作成およびマイクロアレイ解析については、90 変異株に関しては終了した。今後、転写プロファイルに関して顕著な変化を示した 30 変異株程度に関して再度、同様の解析を行い、MOPS 培地、対数増殖期における転写制御システムの重なりに関して考察を行った。

上述したように 90 変異株についてのマイクロアレイ解析が終了した。その結果、一つの転写因子が数十から数百にわたる複数の遺伝子の制御を行う例はかなり少なく、核様態タンパク質や CRP 等に限られ、かつ既に報告されている転写因子のみであった。すなわち核様態タンパク質からなる限られた転写制御因子が研究室の培養条件下において広範囲の遺伝子の転写をコントロールしていることが確かめられた。また、転写プロファイルにほとんど変化を示さない変異株も半分以上存在した。これは多くの転写制御因子が、様々なストレスに対応して、極めて限られた

遺伝子のみを制御していることを示している。

(2) 【研究成果の今後期待される効果】

現在、transcriptome 解析は転写因子の遺伝子欠失株との組み合わせで行っており、その数は 100 に近い。それらの網羅的な解析結果より遺伝子ネットワークの解明を進めている。また、metabolome 解析が近年、特に細胞のモデル化において大きく取り上げられており、酵素遺伝子群の欠失株による細胞内代謝産物の同定と定量とともに、転写に及ぼす影響のプロファイルより細胞内の代謝と遺伝子発現制御ネットワークの解明に向けた取り組みに発展してきている。これらの解析結果は順次データベースとして公開する。これらの情報は広く同分野の研究の基盤情報となり、発展を加速するものである。

プロテオーム解析：和田 千恵子（京都大学 ウイルス研究所）

- (1) 【研究内容及び成果】：大腸菌全予測 ORF のクローンと迅速なタンパク質の同定手法である MALDI-TOF MS を用いて、相互作用タンパク質の網羅的解析を行い、細胞内ネットワークの構築をめざす。相互作用タンパク質の分離、同定、データのインフォマティックス解析は奈良先端大学、京都大学ウイルス研究所、慶應大学との共同で進められた。本プロジェクトで作製された遺伝子クローンを用いて、細胞抽出液をニッケルカラムにかけ、共抽出されるタンパク質を一次元の SDS 電気泳動で分離後、MALDI-TOFMS によって同定した。培養条件、資料調整の細胞細胞増殖における時期、発現量、精製法、電気泳動条件、マス試料の調整、マス測定自動化等の検討を行い、最適化を図ったのち、システムティックな解析を始めた。

用いたクローンは N 末端にヒスチジンタグを持ち、各々の遺伝子の発現は IPTG によって誘導される。一定対数期に IPTG 誘導によって発現されたタンパク質をニッケルカラムによって精製し、共精製されてくるタンパク質を一次元 SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動で分離し、バンドを MALDI-TOF MS を用いて同定した。この方法で全ての ORF について、細胞内のタンパク質複合体を調整して、タンパク質間相互作用を網羅的に調べた。この方法は Two hybrid 法と異なり複数個のタンパク質間相互作用を観察できる利点がある。現地点で 4,300 ORF 全てについて、試みは終わった。2,659 クローンは Bait として試料調整が出来、このうち他のタンパク質との相互作用のあったバイトは 2,298、Prey としては 2,054、これらのタンパク質間相互作用は 11,531 が見つかった。この実験過程で膜タンパク質、特に膜貫通ドメインを持つ ORF は多量発現によって顕著

な成育阻害が観察され、試料調整は出来なかった。現在、データのインフォマティクス解析を進めており、オペロンとタンパク質複合体の相関関係、代謝マップとタンパク質複合体の相関関係、翻訳因子とリボソームタンパク質との相互作用、転写因子と RNA ポリメラーゼとの相互作用、分子シャペロンとタンパク質間相互作用、一部の機能未知タンパク質の機能予測等の成果がみられた。これらの結果を論文及びインターネットに公表する準備を進めている。

(2) 【研究成果の今後期待される効果】

細胞におけるタンパク質の機能を解析する上で、タンパク質相互作用解析は非常に重要な情報である。これまで酵母において精力的に網羅的かつシステムティックなタンパク質相互作用解析が行われてきたが、本プロジェクトにより大腸菌においても全タンパク質を対象とした網羅的かつシステムティックなタンパク質相互作用解析結果を示すことができたことは、現在世界的に立ち上がりつつあるシステムズバイオロジー分野における大きな基盤情報、大腸菌を用いた基礎、応用を問わない研究基盤、として今後の研究を加速することは間違いない。

大腸菌全 ORF クローンの GFP を利用した局在性解析：仁木 宏典（国立遺伝学研究所）

(1) 【研究内容及び成果】

原核細胞においてもそれぞれのタンパク質産物は細胞内の特定の場所に局在しその機能を果たしていると考えられる。したがって、機能未知のタンパク質産物について、細胞内局在性を明らかにすることはその機能を解き明かす上で重要な情報となる。この目的のために奈良先端大で作成されたアーカイブプラスミドライブラリーを用いて大腸菌全 ORF クローンの細胞内局在性を明らかにする。

4,352 のアーカイブプラスミドライブラリーのクローンについて、それぞれの細胞を富栄養培地において 30℃ で培養し、これを蛍光顕微鏡の下に生きたまま観察した。その蛍光画像を CCD カメラで撮影し画像データベースとして記録した。

GFP の蛍光が観察できなかったものは 335 クローンで、92%以上のクローンでなんらかの蛍光シグナルが記録できた。蛍光シグナルを検出したうち、その大半は細胞全体に蛍光が分布していた。また、蛍光の輝点や固まりを持つ細胞は 561 クローン、細胞の周囲を蛍光が縁取り細胞膜への局在を示唆するものが 517 クローンあった。特徴的な細胞内局在としては、蛍光の輝点が細胞端に位置するもの、あるいは細胞長の 1/4、3/4 部位に位置する

ものがあつた。さらに、輝点ではなく、分裂面にリング上に蛍光が観察されるクローンもあり、その中にはバクテリア・チューブリンである FtsZ タンパク質などがあつた。FtsZ タンパク質と類似した局在性を示すものとして、新たに4つの遺伝子を見いだした。このうち2つは新規の遺伝子であつた。また細胞の周囲に蛍光が見られたクローンの中には、その遺伝子産物が膜タンパクとし知られているものが多く見出され、このような蛍光の分布パターンが膜タンパクの指標となることが示された。機能未知遺伝子において、構造の上では膜局在性とは予想されなかったにも関わらず、細胞膜に局在が観察されたことから、これらタンパク質産物は膜局在性ドメインを有するタンパクと複合体を形成していることが示唆された。

(2) 【研究成果の今後期待される効果】

タンパク質の機能は、その働く場所と密接に関連している。タンパク質の細胞内局在性を明らかにすることができたことで、機能未同定のタンパク質の機能推定に大きな寄与が期待できる。

遺伝子欠失株を用いた網羅的機能解析：馬場 知哉（慶應大学・先端生命科学研究所）

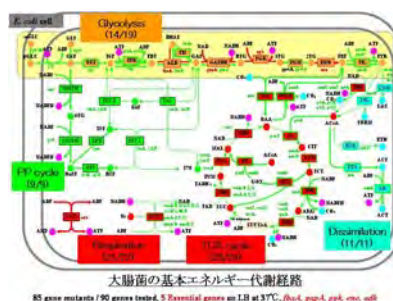
【概要】：全遺伝子を対象とした遺伝子欠失株がほぼ完成した。本遺伝子欠失株を用いたシステムティックな機能スクリーニングの系の立ち上げを行い、機能未知遺伝子群の機能の推定につながるデータの蓄積を行う。

(1) 【研究内容及び成果】

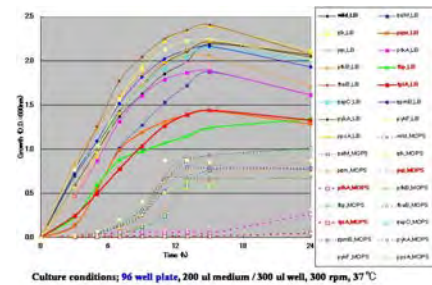
大腸菌 K-12 株はこれまで最も研究されてきたモデル生物の一つであるがゲノムの全塩基配列データから予測された 4,432 の全遺伝子（ORF）のうち、約 44%にあたる 1,964 遺伝子が機能未確定として残されている。これらの機能解析をどのように行うべきかが今後の研究課題である。また、既知遺伝子であっても遺伝子間の機能ネットワークにおける複雑な制御関係を体系的に理解するためにはゲノムのバックグラウンドを同一条件とした比較解析研究が必要となる。これらの観点から遺伝子欠失株を用いた網羅的機能解析研究がどうあるべきかについての検討を行った。

検討するにあたって解析モデル系として基本エネルギー代謝経路の遺伝子欠失株を用いた（図）。解糖系、ペント

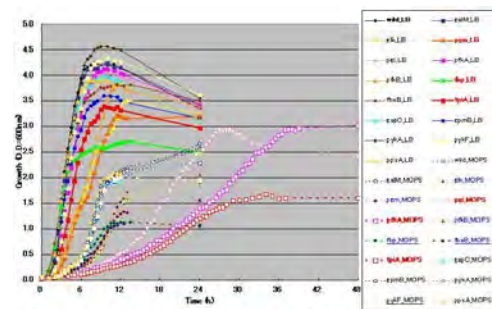
スリン酸経路、TCA サイクル、異化作用経路、呼吸経路について機能既知の 90 遺伝子についての遺伝子欠失株を選択した。5 遺伝子に関しては必須



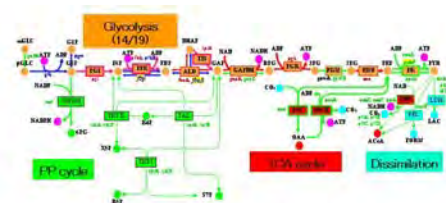
遺伝子であったため、85 の非必須遺伝子の遺伝子欠失株を用いた。これを 96 穴のマイクロタイタープレートを用いて LB 培地と MOPS 培地（完全合成最小培地）における生育曲線を 96 穴マイクロタイタープレートリーダーにより解析した。解析結果の一部、解糖系について図に示す。いくつかの遺伝子に関して培養条件（培養液組成）と遺伝子機能の関連が示唆された。次に、バッフル付き三角フラスコを用いて精密にこれらの遺伝子欠失株についての生育曲線を解析した（図）。非常に明確に各遺伝子機能と生育能との関連が示唆される結果を得た。これらの結果を解糖系の代謝経路図とまとめたものを図に示す。大腸菌の解糖系のいくつかのステップにはアイソザイム遺伝子が関与しているが、それぞれの細胞内での寄与は複雑な機能ネットワークにおいて明確に区別されて機能していることがわかる。



大腸菌解糖系遺伝子欠失株の生育曲線 (1)



大腸菌解糖系遺伝子欠失株の生育曲線 (2)



大腸菌解糖系における遺伝子の生育への寄与

4 Essential genes: *fbpA*, *gapA*, *pgk*, *eno*
 3 large effect genes at log- and stationary phase on MOPS: *pgiA*, *pfkA*, *pfkF*
 5 small effect genes at log phase on MOPS: *g6p*, *pgm*, *pfkF*, *fbp*, *fbpA*
 3 large effect genes at stationary phase on MOPS: *fbp*, *fbpA*, *pfkF*
 (MOPS, absolute synthetic minimum medium)

(2) 【研究成果の今後期待される効果】

大腸菌における全遺伝子欠失株は現時点では本研究でのみ使用可能であり、世界的にも他に例が無い。今後、本研究を元に網羅的遺伝子欠失株を用いた逆遺伝学的なアプローチにより大腸菌遺伝子の機能解明をトランスクリプトーム、プロテオーム、メタボロームなどの手法とも組み合わせて展開されることが見込まれる。生命をシステムとして完全理解を試みるシステム生物学を推進すべく世界に先駆けて活用していくことが期待されていると言える。

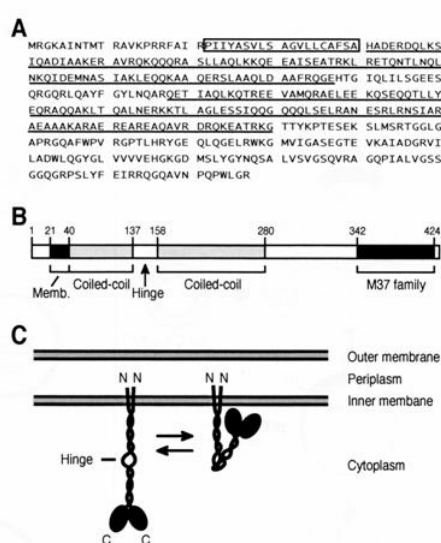
複製・分配・分裂に関する全遺伝子の同定：平賀 壯太（熊本大学）

(1) 【研究内容及び成果】

本研究では大腸菌の全ゲノムにおける長いコイルドコイル構造（ミオシン重鎖様構造）を持ち、かつ機能が未知の蛋白質について網羅的にその機能を解析することを目的とする。

先に私達は染色体分配に異常をある大腸菌の変異株を分離して、*mukB* 遺伝子を発見した。この遺伝子は 170kDa の大きな蛋白質をコードしていた。MukB 蛋白質は N 端と C 端に球状ドメインを持ち、中央部は長いコイルドコイル構造（ミオシン重鎖様構造）をしていた。さらに MukB には MukF と MukE が結合して機能していることを明らかにした。

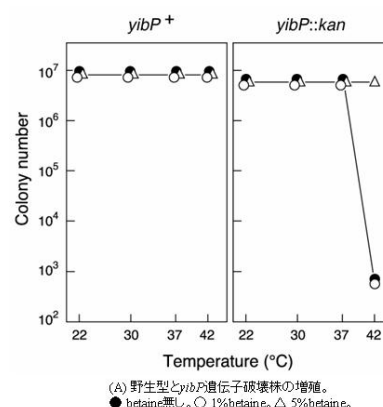
本研究班では機能未知の遺伝子の機能解析を行うモデルケースとして、大腸菌ゲノムの全遺伝子のコードする蛋白質の内から、長いコイルドコイル構造を持つ蛋白質を検索・選択してその機能を明らかにすることを試みた。まずコイルドコイル構造を持つ蛋白質を詮索するソフトを使い、全蛋白質について検索した結果、10 種の蛋白質が検索できた。MukB, SbcC, YibP, YigN, YiiU, YjeP, YbiO, AefA, YbdG, YggB である。最初の MukB（前述）と SbcC（*recBC* の抑制遺伝子）は機能が解析されつつある蛋白質なので除外した。最後の 5 蛋白質は共通なドメインを持ち UPF003 ファミリーに分類されており、それぞれの機能がオーバーラップしている可能性があり、そのため機能解析が煩雑になる可能性があるため後回しとした。残りの 3 蛋白質のうちから、興味ある蛋白構造を持つことが予測される YibP を最初に解析した。



YibP蛋白質の予想構造。(A) YibPのアミノ酸配列。(B) YibPの予想ドメイン。(C) YibPホモダイマーの予想構造。

アミノ酸の配列から予測される YibP (427 アミノ酸残基、47.4 kDa) の構造は、N 末端に膜貫通シグナル (Pro22~Ala40) を 1 つ持ち、C 端は球状構造をとるが、中央部には長いコイルドコイル領域がある。YibP はコイルドコイル領域で平行的なホモダイマーを形成して、そのコイルドコイル領域の中央にはヒンジを持つことが予測される。N 末端の膜貫通シグナルは細胞内膜にあり、その他の部分は細胞質側に存在することが膜貫通シグナルの方向性から示唆された。また C 端の球状構造は或種のプロテアーゼ (M37 ファミリー) とホモロジを持つことが分かった (図)。この予想される蛋白構造を実験によって実際に検証すること、および *yibP* 遺伝子の破壊株を作製してその表現型を調べることを最初に行った。

まず *yibP* 遺伝子の破壊株を作製したが、その方法の詳細は既に論文 (Ichimura *et al.*, 2002) に発表したのここでは割愛した。染色体上の *yibP* 遺伝子を破壊する際、この遺伝子が必須遺伝子である可能性があるため、この遺伝子を持つプラスミドを共存させたが、実際には *yibP* 破壊株はこのプラスミド無しでも増殖できたので、



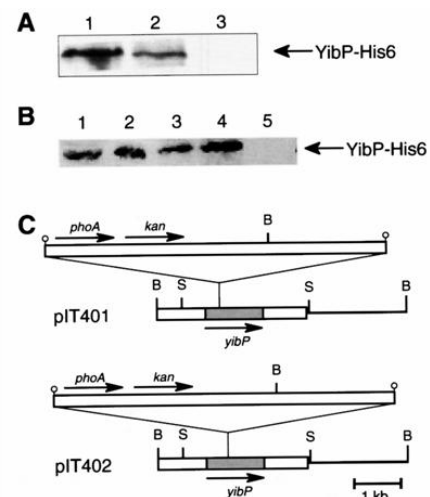
その必要はなかった。分離した *yibP* 破壊株は 0.5% NaCl の L 培地では 37 °C で増殖するが、42 °C では増殖できなかった。1% NaCl (または 1% KCl, NaCl + KCl) や 5% betaine (glycinebetaine) で培地の浸透圧を高くすると、この破壊株は 42 °C でも増殖することがわかった (図)。また 10% sucrose の添加によって浸透圧を高くしたときも 42 °C で増殖できるようになった。これらのことは、低浸透圧の環境下では大腸菌が 42 °C で増殖するために YibP が必要であることを示している。30 °C で増殖中の *yibP* 破壊株を 42 °C に移すと、細胞分裂が阻害され、多数の核様体を持つ伸長細胞になる。そしてその後は溶菌する。λファージの溶原化した *yibP* 破壊株を 42 °C に移しても λファージの誘導は起こらないので、SOS 応答による Sula/SfiA の誘導によって細胞分裂が阻害されているのではない。細胞内への薬剤の透過性に影響がないかを知るために、種々の抗生物質などの薬剤に対する抵抗性を調べたが野生型との間に差は見られなかった。YibP の Gly280-Arg427 を欠失する蛋白質をコードするプラスミドは *yibP* 遺伝子の破壊株を相補することはできない。このことは YibP 蛋白質の C 端の球状ドメインが重要であることを示して

いる。

YibP の細胞内の局在性を調べるため、His6 タグをつけた YibP を産生する菌株の細胞抽出をザルコシル法で細胞質、内膜分画、外膜分画に分けた。Western blotting で YibP-His6 は細胞質と内膜分画に検出された(図、A)。このことは、この蛋白質の膜貫通シグナルが内膜に挿入していることを示している。次にこの蛋白質が細胞質側にあるのか、ペリプラズム側にあるのかを調べるために、スフェロプラストを作製して、それを *protenase K* で処理したものと処理しないものを作製した。YibP-His6 は *protenase K* 処理に抵抗性であったが、超音波処理をすると *protease K* に感受性であった(図、B)。これらのことは、YibP-His6 が細胞質側に存在することを示している。さらにこのことを証明するために、YibP と PhoA (アルカリフォスファターゼ) との融合蛋白質を産生するプラスミドを作製した(図、C)。プラスミド pIT401 は YibP の Met1-Met87 と PhoA、一方 pIT402 は YibP の Met1-Tyr162 と PhoA の融合蛋白質をコードしている。これらのプラスミドを持つ菌株は XP プレートで白いコロニーをつくった。もし PhoA が外膜と内膜の間のペリプラズム側に存在すると PhoA が活性を持ち青いコロニーを形成するはずである。また YibP-PhoA は内膜と細胞質に検出された。これらのことは YibP-PhoA の PhoA が細胞質側に存在する事を示唆している。

YibP-His6 を 95% 精製した。この精製した YibP-His6 は β カゼインを分解するプロテアーゼ活性を持っていた。 β カゼインは分解され、2つのポリペプチドが検出された。この両ポリペプチドの C 端のアミノ酸配列は基質の β カゼインと同じく RELEELNV であった。ATP や zinc ion を加えてもプロテアーゼ活性に変化はなかった。

また Mg の除去でもプロテアーゼ活性は変化しなかったが、10 mM の EDTA 添加で活性は完全に失われた。このプロテアーゼ活性が混在する他の蛋白質によるものでないことを証明するために、His タグに対するモノクローナル抗体および protein A-Sepharose で処理したら活性を失ったので、この活性は YibP-His6 自身によるものであることが分かった。



(A) YibP-His6の細胞内局在。1. 細胞質。2. 内膜。3. 外膜。
(B) 全細胞の酸沈降物。2. スフェロプラスト。3. 超音波処理したスフェロプラスト。4. *Protenase K*と保温したスフェロプラスト。5. 超音波処理したスフェロプラストを *protenase K*と保温したもの。
(C) *yibP*遺伝子と *phoA*遺伝子が融合したプラスミド。

なお YibP-His6 自身は 10 時間保温しても分解されなかった。以上のことから YibP は新しいタイプのエンドペプチダーゼであると結論した。

(2) 【研究成果の今後期待される効果】

本研究は機能未知の遺伝子の機能を明らかにするためのモデルケースとして行ったものである。一つの遺伝子の機能を解析するにも本研究のように多大な努力を集中しなければならない。幸い YibP 蛋白質が或種のプロテアーゼとのホモロジーを持っていることに気付いたので、この蛋白質の酵素活性を生化学的に証明することができた。全ゲノムの遺伝子について或る解析方法で網羅的にスクリーニングするようなことはできても、残った遺伝子の機能を網羅的に明らかにすることは至難の技と言えよう。最終的には本研究のように個々の遺伝子についてのきめ細やかな解析が不可欠であると考えられる。

大腸菌ゲノム機能における RNA 関連遺伝子の体系的把握：井口 一郎（京都大学大学院理学研究科生物科学専攻・理学部生物物理学教室）

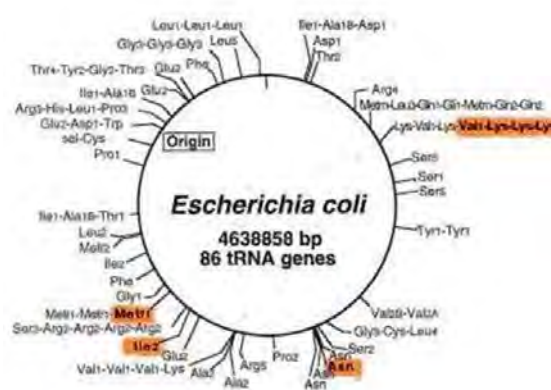
(1) 【研究内容及び成果】

大腸菌ゲノムにおける RNA 関連遺伝子としてはリボソーム RNA、tRNA、small stable RNA などの遺伝子が挙げられるが、これらの遺伝子については遺伝子の数、染色体地図上の位置、およびミュータントを利用した機能解析もある程度進んでいた。我々は、本プロジェクトの分担研究課題として標記の課題のもとに、tRNA 遺伝子を中心に大腸菌の RNA 関連遺伝子の機能に関して研究した。

(i) 大腸菌遺伝子の全構成：先に我々の研究室では小原/磯野入クローンを用いて大腸菌の

tRNA 遺伝子構成の全体像を明らかにしたが (Komine et al., J. Mol. Biol., 212, 579-598, 1990) 全ゲノムの塩基配列の決定の結果、図に示したように 7 個の新たな遺伝子の存在が明

らかになった。我々の見落としの原因は、tRNA 遺伝子を持つファージが増殖する際、重複している tRNA 遺伝子間の組み換えによって遺伝子を欠落してしまっていたことによる。



(ii) 大腸菌 tRNA の新奇な機能：表は大腸菌の全 tRNA 種をアンチコドンによって分類したものである。この図で、ロイシンに対応する CAA や CAG アンチコドンをもつ tRNA、セリンに対応する CGA、プロリンに対応する CGG、グルタミンに対応する CUG、トレオニンに対応する CGU、アルギニンに対応する CCU、グリシンに対応する CCC といったアンチコドンをもつ一連の tRNA は、クリックの「揺らぎ説」によれば、タンパク質合成に必須の tRNA ではない。実際にロイシンの CAA、セリンの CGA アンチコドンをもつ tRNA は、それらがアンバーサプレッサーに変異してもその菌細胞はどんなトラブルも示さない。我々はこれらの tRNA はタンパク質合成以外に何か重要な働きをしていると考えて、その新奇な機能を見出すべく以下のような実験を試みた。CGA アンチコドンをもつトレオニン tRNA (tRNA^{Thr}₂) 遺伝子が欠失した変異株が知られているが、この欠失株は野生株と比べてどんな違いをも示さない。我々はこの欠失株から温度感受性変異株を独立に多数分離し、CGU アンチコドンをもつトレオニン tRNA 遺伝子を導入すれば温度感受性がなくなるような変異株をスクリーンした。小原/磯野入ファージクローン、本 CREST プロジェクトで森らによって開発されたアーカイブ・クローンを用いて、温度感受性遺伝子の同定を試みたところ、lipid A 生合成に関与する遺伝子の *htrB* に変異があることが判明した。どのように tRNA^{Thr}₂ がこの遺伝子の温度感受性に係わるか、その分子メカニズムは今後の研究に待たなければならないが、tRNA^{Thr}₂ と *htrB* の関わりは明らかであり、tRNA の新奇な機能の存在を示唆する (Mohri *et al.*, *J. Bacteriol.*, **185**, 1276-1279, 2003)。同様な実験を CAA アンチコドンのロイシン tRNA についても行ったところ、この tRNA は tRNA 修飾に関わる遺伝子の *miaA* と、細胞分裂に関わるとされている *gidA* に関係していることが明らかになった (Nakayashiki & Inokuchi, *J. Bacteriol.*, **180**, 2931-2935, 1998)。こうした発見が

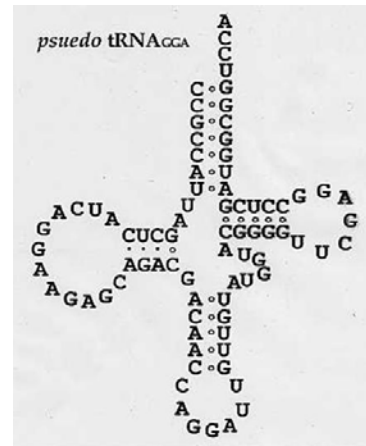
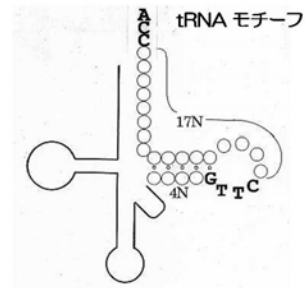
Anticodon table											
U			C			A			G		
U	Pho	GAA 2 (16.9)	Ser	GGA 2 (11.3)	Tyr	GUA 3 (14.1)	Cys	GCA 1 (4.3)	U	C	G
	UAA 1 (9.9)	UGA 1 (5.6)		ochre — (2.1)		opal — (0.7)		ACA 1 (11.1)			
	Leu CAA 1 (10.7)	CGA 1 (7.3)		amber — (0.2)		Trp CCA 1 (11.1)		U			
C	Leu GAG 1 (9.3)	GGG 1 (5.4)	Pro	UGG 1 (7.4)	Gln	CUG 2 (30.9)	Arg	CGG 1 (3.6)	U	C	G
	UAG 1 (2.5)	CGG 1 (24.5)									
	CAG 4 (56.7)										
A	Ile GAU 3 (30.2)	GGU 2 (23.8)	Thr	UGU 1 (5.5)	Lys	UUU 6 (38.4)	Ser	GCU 1 (15.0)	C	A	G
	CAU 2 (2.6)	UGU 1 (11.4)						UCU 1 (1.4)			
	Met ^f CAU 3 (26.2)										
	CAU 3 (26.2)										
G	Val GAC 3 (13.9)	GGC 2 (22.5)	Ala	UGC 3 (20.9)	Glu	GUC 3 (23.4)	Gly	GCC 4 (30.8)	C	A	G
	UAC 4 (13.2)	UGC 3 (33.7)				UUC 4 (45.5)		UCC 1 (5.3)			
								CCC 1 (8.6)			

The numbers of gene copies for each unmodified anticodon species are shown in a universal codon table. The values in parentheses indicate the relative codon usage (0.1%) in *E. coli* (Aota *et al.*, 1988).

ら考えてみると、tRNA 分子はアミノ酸をチャージしてタンパク質合成に関わる本業の他に、それぞれもう一つの副業をもっているように思える。

(iii) tRNA モチーフ検索と偽 tRNA 遺伝子

ゲノム解析において tRNA 遺伝子を探し出すソフトは各種開発されているが、我々は tRNA のモチーフ（図に示したような 3'末端領域構造）を用いて大腸菌ゲノム上にこのモチーフがどのように分散しているかを検索した。この場合、ステム構造部分の 5 つの base-pairing に関して、そのうちの幾つが正しい pairing であるかを指標にして「tRNA らしさ」をスコアした。その結果、このスコアの高いもの（例えば 5/5、4/5 のもの）は正規の tRNA 遺伝子であった。正規の tRNA 遺伝子でなくてスコアの高かったものを詳細に調べて、次の 2 つの興味ある発見をした。

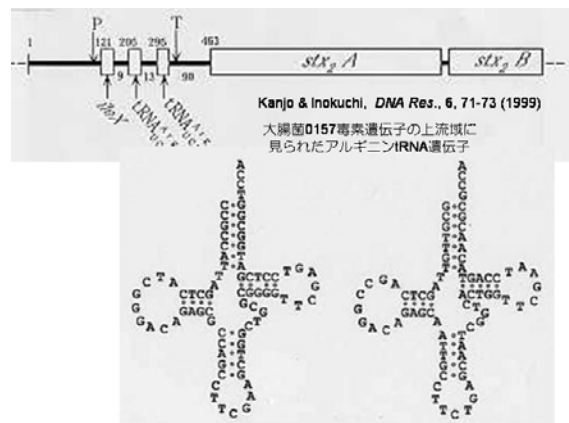


(iv) 偽 tRNA 遺伝子の発見と大腸菌

O157 の毒素遺伝子の上流部に見られる tRNA 遺伝子

右図のクローバ葉モデルが組める配列が、

E. coli K12 ゲノム塩基配列の (344558) から (344638) の間に見られた。中に見られた。大腸菌において見出された唯一確からしい偽 tRNA 遺伝子である。アン



チコドン GGA からはセリンの tRNA であるが、セリン tRNA の特徴は見られないし、他の大腸菌 tRNA でとりわけホモロジーの高いものは見出せなかった。次にこれまでに登録されているすべての塩基配

列に関して、この偽 tRNA 塩基配列とのホモロジーサーチを行った。その結果、面白いことに大腸菌 O157 の毒素遺伝子上流部とホモロジーがあり、その部分の塩基配列を目視により詳細に調べたところ、図のような 2 種類のアルギニン tRNA 遺伝子が見出された。これらのアルギニン tRNA は K-12 株ではコドン使用頻度の低いものであるが、O157 の毒素遺伝子ではよく使われていた。このことから毒素遺伝子が大腸菌に伝播した際、発現に対してキーとなる翻訳システムも一緒に移ったと考えられる (Kanjo & Inokuchi, *DNA Res.*, 6, 71-73, 1999)。

(v) tRNA をコーディングする鎖の反対鎖に存在する tRNA 構造

大腸菌染色体地図の 45 分付近に、4 つのアルギニンと 1 つのセリン tRNA 遺伝子がオペロンを形成

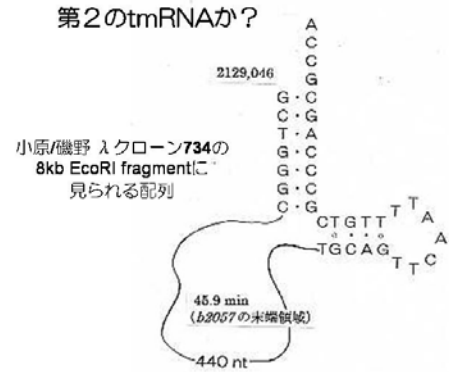
成し、反時計方向に読まれている。我々はモチーフ検索からこの反対鎖に 4 個のスコアの高い tRNA モチーフを見出した。図に示したように、アミノ酸受容ステムの構造はうまく組めないが、3'側の半分子は正規の tRNA 構造



にマッチしたクロバー葉モデルに組むことが出来た。面白いことにアンチコドンはアルギニンであり、このアンチコドンを持つアルギニン tRNA は大腸菌 K-12 では見出されていない。この反対鎖の tRNA 様配列の上流部にはプロモーター構造も見出せるが、実際に発現があるか否かは実験が不十分で、まだ結論は出ていない。

(vi) Small Stable RNA の解析

大腸菌では安定で比較的多量に存在する低分子量 RNA が多種類存在することが知られており、それらの遺伝子についても調べられていた。このうち我々は 10Sa RNA と呼ばれている RNA の機能について研究を進めた。先に我々はこの RNA は tRNA の半分構造が組み、その構造はアラニン tRNA に似ること、実際に *in vitro*、*in vivo* の実験で、アラニンをチャージすることを見出していた (Komine *et al.*, PNAS, 91, 9223-9227, 1994)。その後、この 10Sa RNA は tRNA とメッセンジャー RNA の両機能を備えた分子であり、tmRNA と呼ばれるようになった。本プロジェクトの実施期間中に、我々



はこの tmRNA の活性をうまく検出する系の確立を目的として、温度感受性変異を二つ組み合わせた W3110 *ssrA::Km^R thyA_{ts12-20} hisS_{ts2}* の作製に成功した。この株は tmRNA がないと Ts 性を示し、tmRNA があれば 40 °C で鮮明に Thy⁺His⁺ 表現型を示す。この株を利用して、大腸菌で第二、第三の tmRNA を見出す実験を行った。その結果、図に示したような構造を組むことの出来る塩基配列を *E. coli* ゲノムに見出した。しかし、まだこれらの RNA を実際に取り出し解析するには至っていない。

(vii) 大腸菌の *hem* 遺伝子群のミュータント

ヘム生合成の前駆体であるアミノレブリン酸はバクテリアなどではグルタミン酸が還元されることで作られるが、このステップに tRNA 分子が関与することが知られ、tRNA のタンパク質合成以外の新奇な機能の一つとして注目されている。我々はこの機能解析を行っている際、*hemK* と命名したあたらしい遺伝子を発見していた (Nakayashiki *et al.*, *GENE*, 153, 67-70, 1995)。本プロジェクト実施中に、この遺伝子機能解析が完成した。すなわち、*hemK* の遺伝子産物はタンパク質の

メチル化を触媒する酵素であって、*hemA* オペロンに含まれる *prf* (protein release factor) 遺伝子の産物をメチル化し、活性化することを明らかにした (Nakahigashi *et al.*, *PNAS*, **99**, 1473-1478, 2002)。

(viii) 大腸菌の全種 tRNA 遺伝子のクローン化

タンパク質をコードする遺伝子のクローン化は本プロジェクト研究の一つの重要テーマであるが、RNA 遺伝子のクローン化は遅れていた。その理由は、たとえば tRNA 遺伝子は高次構造を作りやすく遺伝子増幅が難しいこと、細胞内での過剰発現は細胞の生き死に敏感に影響することなどが挙げられる。さらに大腸菌の tRNA 遺伝子の全種をプラスミド・ベクターにクローン化することを試みた。

(2) 【研究成果の今後期待される効果】

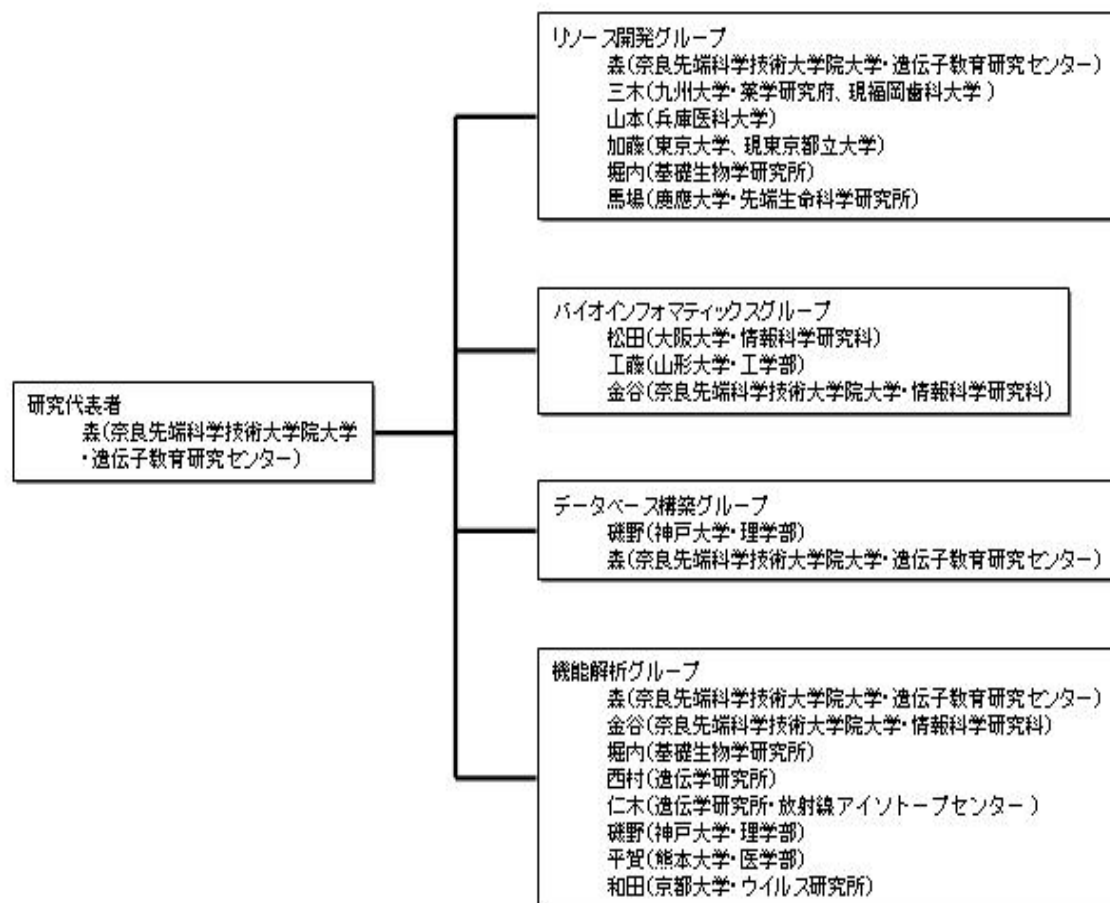
RNA 関連遺伝子はタンパク質遺伝子に比べて、即座に脚光をあびる機能の発見に繋がったり、有効利用に結びついたり期待されにくい。しかし、我々の見いだした tmRNA は”trans- translation”をおこなう分子として世界の分子生物学分野で注目され、このプロジェクト研究においては、大腸菌で更に第二、第三の tmRNA の存在を示唆した。このことは、このサブジェクトの研究に関して先駆的、先導的なポジションを保ちつつ、今後も基礎研究に貢献するものと期待される。また、比較的簡単な実験から tRNA の新機能を見出す方法は本プロジェクトにおいて成功したものであるが、残りの 6 個の遺伝子についても一部破壊株を作製し、すぐに実験可能な段階にある。なお、この分子遺伝学的な研究手法は tRNA 分子だけでなくタンパク質遺伝子についても将来応用可能であろう。

今日の遺伝子工学で最もよく使われているのは大腸菌であり、遺伝子組み換えで作製された遺伝子の効率的な発現を行なわせるためには、コドンと tRNA の問題は避けて通れない。この点においても、我々の tRNA 遺伝子に関する網羅的・体系的解析は遺伝子工学的な実用面にも基礎的かつ有用な情報を提供するものである。一方で、我々は大腸菌 tRNA 遺伝子のクローン化を試みたが、得られたクローンは今後の分子生物学、あるいは遺伝子工学の研究のリソースとしても有用であろう。

本プロジェクトにおいて成功をみた成果の一つは *hemK* 遺伝子機能の解明である。得られた成果がユニークで、学問分野にインパクトを与えただけでなく、多岐にわたる方法を駆使して、本プロジェクトに参加した多数の研究者が共同して一つの遺伝子機能にチャレンジしたこと自体、CREST プロジェクト研究ならではの成果と言える。

2. 研究実施体制

(1) 体制



(2) メンバー表

リノース開発グループ

氏 名	所 属	役 職	研究項目	参加時期
森 浩禎	奈良先端科学技術大学院大学・遺伝子教育研究センター	教授	全遺伝子のクローン化、全体の総括	平成10年12月～平成15年11月
北川 正成	奈良先端科学技術大学院大学・遺伝子教育研究センター	助手	大腸菌リノース開発及び機能解析	平成10年12月～平成13年3月

大島 拓	奈良先端科学技術大学院大学・遺伝子教育研究センター	CREST 研究員 (助手 H14.6-)	大腸菌 リノース開発及び機能解析	平成 11 年 7 月 ~ 平成 15 年 11 月
中道(井岡)朋子	奈良先端科学技術大学院大学・遺伝子教育研究センター	CREST 研究補助員	大腸菌 リノース開発	平成 11 年 4 月 ~ 平成 15 年 11 月
豊永 宏美	奈良先端科学技術大学院大学・遺伝子教育研究センター	CREST 研究補助員	大腸菌 リノース開発	平成 11 年 4 月 ~ 平成 15 年 1 月
稲本 英次	奈良先端科学技術大学院大学・遺伝子教育研究センター	CREST 研究補助員	大腸菌 リノース開発	平成 11 年 4 月 ~ 平成 14 年 3 月
川野 光興	奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科	大学院学生	リノース開発及び機能解析	平成 10 年 12 月 ~ 平成 14 年 3 月
Mohammad Arifuzzaman	奈良先端科学技術大学院大学・遺伝子教育研究センター	大学院学生、現博士研究員	リノース開発及び機能解析	平成 10 年 12 月 ~ 平成 13 年 3 月
中出 晋介	奈良先端科学技術大学院大学・遺伝子教育研究センター	大学院学生	リノース開発及び機能解析	平成 10 年 12 月 ~ 平成 12 年 3 月
楫 和子	奈良先端科学技術大学院大学・遺伝子教育研究センター	研究補助員	事務補助	平成 11 年 1 月 ~ 平成 12 年 12 月
生田 有紀	奈良先端科学技術大学院大学・遺伝子教育研究センター	CREST 研究補助員	事務補助 技術員	平成 12 年 12 月 ~ 平成 13 年 3 月
池上 恵子	奈良先端科学技術大学院大学・遺伝子教育研究センター	実験補助員	事務補助及び実験補助	平成 11 年 7 月 ~ 平成 12 年 9 月
川越 裕也	奈良先端科学技術大学院大学・遺伝子教育研究センター	大学院学生	リノース開発及び機能解析	平成 11 年 4 月 ~ 平成 13 年 3 月
青野 英司	奈良先端科学技術大学院大学・遺伝子教育研究センター	大学院学生	リノース開発及び機能解析	平成 13 年 4 月 ~ 平成 15 年 11 月

王 小彪	奈良先端科学技術大学院大学・遺伝子教育研究センター	研究生	リソース開発及び機能解析	平成 13 年 4 月～ 平成 14 年 3 月
浜田 隆大	奈良先端科学技術大学院大学・遺伝子教育研究センター	大学院学生	リソース開発及び機能解析	平成 13 年 4 月～ 平成 14 年 3 月
山岸 一雄	奈良先端科学技術大学院大学・遺伝子教育研究センター	大学院学生	リソース開発及び機能解析	平成 13 年 4 月～ 平成 15 年 3 月
飯田 純子	奈良先端科学技術大学院大学・遺伝子教育研究センター	CREST 実験補助	リソース開発及び機能解析	平成 13 年 4 月～ 平成 15 年 3 月
安藤 弘樹	奈良先端科学技術大学院大学・遺伝子教育研究センター	大学院学生	機能解析	平成 14 年 4 月～ 平成 15 年 3 月
北尾 公英	奈良先端科学技術大学院大学・遺伝子教育研究センター	大学院学生	機能解析	平成 14 年 4 月～ 平成 15 年 3 月
中川 明	奈良先端科学技術大学院大学・遺伝子教育研究センター	大学院学生	機能解析	平成 14 年 4 月～ 平成 15 年 11 月
吉田 美奈	奈良先端科学技術大学院大学・遺伝子教育研究センター	CREST 研究補助員	事務補助	平成 14 年 4 月～ 平成 15 年 11 月
山崎 剛	奈良先端科学技術大学院大学・遺伝子教育研究センター	CREST 研究補助員	リソース開発及び機能解析	平成 14 年 6 月～ 平成 14 年 9 月
瀧田 千温	奈良先端科学技術大学院大学・遺伝子教育研究センター	CREST 研究補助員	リソース開発及び機能解析	平成 15 年 1 月～ 平成 15 年 11 月

氏 名	所 属	役 職	研究項目	参加時期
馬場 知哉	慶應義塾大学 先端生命科学研究所	講師	システムティック遺伝子欠失株作製	平成13年4月～ 平成15年11月

荒 武	慶應義塾大学 先端生命科学研究所	助手	データベース及び遺伝子欠失株のプライマー設計	平成13年4月～ 平成15年11月
奥村 佳子	慶應義塾大学 先端生命科学研究所	研究補助員	システムティック遺伝子欠失株作製	平成13年4月～ 平成15年8月
馬場 美紀	慶應義塾大学 先端生命科学研究所	研究補助員	システムティック遺伝子欠失株作製	平成13年4月～ 平成14年3月
長谷川 美紀	慶應義塾大学 先端生命科学研究所	CREST 研究補助員 (時給制) 研究補助員	システムティック遺伝子欠失株作製	平成13年9月～ 平成14年3月 平成14年4月～ 平成15年11月
高井 幸	慶應義塾大学 先端生命科学研究所	CREST 研究補助員 (時給制) 研究補助員	システムティック遺伝子欠失株作製	平成13年9月～ 平成14年3月 平成14年4月～ 平成15年11月
若松 由紀子	慶應義塾大学 先端生命科学研究所	CREST 研究補助員 (時給制)	システムティック遺伝子欠失株作製	平成15年5月～ 平成15年11月

氏 名	所 属	役 職	研究項目	参加時期
三木 健良	九州大学大学院・薬学研究府 福岡歯科大学 細胞分子生物学講座	助 教 授 ・ 教授 教授	網羅的破壊株作製	平成10年12月～ 平成14年3月 平成14年4月～ 平成15年11月
片山 暁子	九州大学大学院・薬学研究府	CREST 技術員	網羅的破壊株作製	平成11年12月～ 平成13年3月
占部 淳子	九州大学大学院・薬学研究府	CREST 研究補助員	網羅的破壊株作製	平成11年12月～ 平成12年3月
小幡 智美	九州大学大学院・薬学研究府 福岡歯科大学 細胞分子生物学講座	CREST 研究補助員	網羅的破壊株作製	平成12年3月～ 平成14年3月 平成14年4月～ 平成15年11月
下山 真智子	九州大学大学院・薬学研究府	CREST 研究補助員	網羅的破壊株作製	平成12年4月～ 平成13年3月

倉田 奈緒美	九州大学大学院・薬学研究府	CREST 研究補助員	網羅的破壊株作製	平成12年5月～ 平成13年7月
藤田 領	九州大学大学院・薬学研究府	大学院学生	網羅的破壊株作製	平成12年4月～ 平成14年3月
毛谷村 堅司	九州大学大学院 薬学研究院	大学院学生	網羅的破壊株作製	平成12年4月～ 平成14年3月
新名主 カオリ	九州大学大学院 薬学研究院	大学院学生	網羅的破壊株作製	平成13年4月～ 平成15年3月
下川 英俊	福岡歯科大学 細胞分子生物学講座	助手	破壊株情報の整理、保持、 管理	平成14年4月～ 平成15年3月

氏 名	所 属	役 職	研究項目	参加時期
山本 義弘	兵庫医科大学	教授	トランスポゾンを用いた 全遺伝子の破壊株作製	平成10年12月～ 平成15年11月

氏 名	所 属	役 職	研究項目	参加時期
加藤 潤一	東京大学医科学研究 所 東京都立大学	助手 助教授	システムティック欠失株作 製	平成10年12月～ 平成13年3月 平成13年4月～ 平成14年3月
今井 靖子	東京大学医科学研究 所	実験補助員	システムティック欠失株作 製	平成12年4月～ 平成13年3月

バイオインフォマティクスグループ

氏 名	所 属	役 職	研究項目	参加時期
松田 秀雄	大阪大学・基礎工学 部 大阪大学情報科学研 究科	助教授 教授	遺伝子ネットワーク解明の 為の情報科学的解析技術の 開発	平成10年12月～ 平成15年11月 (平成14年4月～ 平成15年11月)
Aaron J. Stokes	科学技術振興事業団	研究補助員	情報解析ツール開発	平成11年4月～ 平成12年3月

坪井 宣洋	大阪大学・基礎工学部	大学院学生	遺伝子ネットワーク解明	平成 11 年 4 月 ~ 平成 13 年 3 月
遠里 由佳子	大阪大学 大学院基礎工学研究科	大学院学生	遺伝子ネットワーク解明	平成 11 年 4 月 ~ 平成 14 年 3 月

氏 名	所 属	役 職	研究項目	参加時期
工藤 喜弘	山形大学・工学部	教授	細菌全般のゲノム情報解析を通じた大腸菌ゲノムの解明	平成 13 年 4 月 ~ 平成 15 年 11 月
木ノ内 誠	山形大学・工学部	講師	大腸菌タンパク質機能予測法の開発	平成12年4月 ~ 平成15年11月
氏家 義史	山形大学・大学院理工学研究科	大学院学生	大腸菌ゲノム複製機構	平成 15 年 4 月 ~ 平成 15 年 11 月
佐藤 典子	山形大学・工学部	技術補佐員	研究補助員	平成15年4月 ~ 平成15年11月
前野 聖	奈良先端科学技術大学院大学・遺伝子教育研究センター	大学院学生	機能解析	平成14年4月 ~ 平成15年11月
松崎 真一	奈良先端科学技術大学院大学・遺伝子教育研究センター	大学院学生	機能解析	平成14年4月 ~ 平成15年3月

氏 名	所 属	役 職	研究項目	参加時期
金谷 重彦	山形大学・工学部 現奈良先端大	助教授 助教授	コドン及びアミノ酸部分配列利用による大腸菌タンパク質機能予測法の開発	平成10年12月 ~ 平成13年3月 (13.4 ~ 奈良先端大)
阿部 貴志	山形大学・工学部	大学院学生	大腸菌タンパク質機能予測法の開発	平成10年12月 ~ 平成13年3月
門田 明彦	山形大学・工学部	大学院学生	大腸菌タンパク質機能予測法の開発	平成10年12月 ~ 平成13年3月
今田 隼人	山形大学・工学部	大学院学生	大腸菌タンパク質機能予測法の開発	平成10年12月 ~ 平成13年3月

木ノ内 誠	山形大学・工学部	助手	コドン及びアミノ酸部分配列利用による大腸菌タンパク質機能予測法の開発	平成10年12月～ 平成13年3月
大平 健	山形大学・工学部	大学院学生	大腸菌タンパク質機能予測法の開発	平成10年12月～ 平成13年3月

データベース構築グループ

氏 名	所 属	役 職	研究項目	参加時期
磯野 克巳	神戸大学・理学部	教授	変異データベース構築	平成10年12月～ 平成15年3月
井本 摂津子	神戸大学・理学部	CREST 技術員	変異データベース構築	平成11年2月～ 平成13年3月
北川 円	神戸大学・理学部	助手	変異データベース構築	平成10年12月～ 平成15年3月
本庄 淳子	神戸大学・理学部	助手	変異データベース構築	平成10年12月～ 平成15年3月
磯野 節子	神戸大学・理学部	研究補助員	変異データベース構築	平成10年12月～ 平成15年3月
藤田 克利	神戸大学・理学部	大学院学生	変異データベース構築及び解析	平成10年12月～ 平成15年3月
堀江 哲郎	神戸大学・理学部	大学院学生	変異データベース構築及び解析	平成10年12月～ 平成13年3月
妹尾 彰宏	神戸大学・理学部	大学院学生	変異データベース構築及び解析	平成10年12月～ 平成13年3月
Elizabth L Tenorio	神戸大学・理学部	大学院学生	変異データベース構築及び解析	平成12年4月～ 平成13年3月

氏名	所属	役職	担当する研究項目	参加時期
金谷 重彦	奈良先端科学技術大学院大学 情報科学研究科	助教授	自己組織化法による遺伝子の機能分類法の開発	平成10年12月～ 平成15年11月

福島 敦史	大学奈良先端科学技術大学院大学 遺伝子教育研究センター	大学院学生	機能解析	平成 14 年 4 月 ~ 平成 15 年 3 月
前野 聖	奈良先端科学技術大学院大学 遺伝子教育研究センター	大学院学生	機能解析	平成 14 年 4 月 ~ 平成 15 年 11 月
松崎 真一	奈良先端科学技術大学院大学 遺伝子教育研究センター	大学院学生	機能解析	平成 14 年 4 月 ~ 平成 15 年 3 月
山岸 一雄	奈良先端科学技術大学院大学 遺伝子教育研究センター	大学院学生	機能解析	平成 13 年 4 月 ~ 平成 15 年 3 月

機能解析グループ

氏名	所属	役職	担当する研究項目	参加時期
森 浩禎	奈良先端科学技術大学院大学 遺伝子教育研究センター	教授	自己組織化法による遺伝子の機能分類法の開発	平成10年12月 ~ 平成 15 年 11 月
金谷 重彦	奈良先端科学技術大学院大学 情報科学研究科	助教授	自己組織化法による遺伝子の機能分類法の開発	平成 10 年 12 月 ~ 平成 15 年 11 月
大島 拓	奈良先端科学技術大学院大学 遺伝子教育研究センター	CREST 研究員 (助手 14.6-)	大腸菌リソース開発及び機能解析	平成 11 年 7 月 ~ 平成 15 年 11 月
青野 英司	奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス研究科	大学院学生	機能解析	平成 13 年 4 月 ~ 平成 15 年 11 月
前野 聖	奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス研究科	大学院学生	機能解析	平成 14 年 4 月 ~ 平成 15 年 11 月
松崎 真一	奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス研究科	大学院学生	機能解析	平成 14 年 4 月 ~ 平成 15 年 3 月

山岸 一雄	奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科	大学院学生	機能解析	平成 13 年 4 月 ~ 平成 15 年 3 月
尾崎 健司	奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科	大学院学生	大腸菌 リノース開発	平成 14 年 4 月 ~ 平成 15 年 11 月
木村 隼人	奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科	大学院学生	大腸菌 リノース開発	平成 14 年 4 月 ~ 平成 15 年 11 月
宮原 顕	奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科	大学院学生	大腸菌 リノース開発	平成 14 年 4 月 ~ 平成 15 年 11 月
井岡 朋子	奈良先端科学技術大学院大学 遺伝子教育研究センター	CREST 研究補助員	大腸菌 リノース開発	平成 11 年 4 月 ~ 平成 15 年 11 月
瀧田 千温	奈良先端科学技術大学院大学 遺伝子教育研究センター	CREST 研究補助員	大腸菌 リノース開発	平成 15 年 1 月 ~ 平成 15 年 11 月
前田 真希	奈良先端科学技術大学院大学 遺伝子教育研究センター	CREST 技術員	大腸菌タンパク質の同定	平成 15 年 4 月 ~ 平成 15 年 11 月 (平成 11 年 4 月 ~ 平成 15 年 3 月は和田チーム)

氏 名	所 属	役 職	研究項目	参加時期
堀内 嵩	基礎生物学研究所	教授	システムティック機能分類	平成10年12月 ~ 平成15年11月
林 晃司	基礎生物学研究所	技官	システムティック機能分類	平成10年12月 ~ 平成15年11月
白井 雅代	基礎生物学研究所	非常勤職員	配列決定	平成11年1月 ~ 平成 12 年 11 月
石根 直美	基礎生物学研究所	非常勤職員 CREST 研究補助員 (時給制)	配列決定	平成11年1月 ~ 平成 13 年 3 月 平成13年4月 ~ 平成 15 年 11 月

稲垣 雅美	基礎生物学研究所	非常勤職員 CREST 研究補助員 (時給制)	配列決定	平成13年2月～ 平成13年3月 平成13年4月～ 平成15年11月
-------	----------	----------------------------------	------	---

氏 名	所 属	役 職	研究項目	参加時期
馬場 知哉	慶應義塾大学 先端生命科学研究所	講師	遺伝子欠失株を用いた機能 解析手法の開発	平成15年4月～ 平成15年11月
荒 武	慶應義塾大学 先端生命科学研究所	助手	タンパク質相互作用ネットワ ーク解明	平成15年4月～ 平成15年11月
伊藤 文	慶應義塾大学 先端生命科学研究所	助手	タンパク質相互作用ネットワ ーク解明	平成15年4月～ 平成15年11月
奥村 佳子	慶應義塾大学 先端生命科学研究所	研究補助員	遺伝子欠失株を用いた機能 解析手法の開発	平成15年4月～ 平成15年11月
長谷川 美紀	慶應義塾大学 先端生命科学研究所	研究補助員	遺伝子欠失株を用いた機能 解析手法の開発	平成15年4月～ 平成15年11月
高井 幸	慶應義塾大学 先端生命科学研究所	研究補助員	遺伝子欠失株を用いた機能 解析手法の開発	平成15年4月～ 平成15年11月
若松 由紀子	慶應義塾大学 先端生命科学研究所	CREST 研究補助員 (時給制)	遺伝子欠失株を用いた機能 解析手法の開発	平成15年5月～ 平成15年11月

氏 名	所 属	役 職	研究項目	参加時期
西村 昭子	遺伝学研究所 原核生物遺伝研究室	助教授 教授 (H.14.4～)	可動プラスミドの構築と全 ORFクローン化の指導 細胞分裂遺伝子群の同定と 機能解析の指導	平成10年12月～ 平成15年11月
坂 季実子	遺伝学研究所 原核生物遺伝研究室	技官	全ORFの可動プラスミドクロー ンの作成 細胞分裂遺伝子群の同定	平成10年12月～ 平成15年11月

中出 晋介	遺伝学研究所 原核生物遺伝研究室	JST 研究員	全ORFの可動プラスミドクローンの作成	平成12年4月～ 平成13年5月
佐藤 靖子	遺伝学研究所 原核生物遺伝研究室	研究補助員	全ORFの可動プラスミドクローンの作成	平成10年12月～ 平成13年10月
松本 典子	遺伝学研究所 原核生物遺伝研究室	研究補助員	全ORFの可動プラスミドクローンの作成 細胞分裂遺伝子群の同定	平成13年6月～ 平成15年11月
藤島 博史	遺伝学研究所 原核生物遺伝研究室	大学院学生	細胞分裂遺伝子群の機能解析	平成10年12月～ 平成13年3月
上山 清子	遺伝学研究所 原核生物遺伝研究室	研究支援推進員	菌株保存整備	平成10年12月～ 平成13年3月
植村 薫	遺伝学研究所 原核生物遺伝研究室	研究補助員	洗浄	平成10年12月～ 平成13年3月

氏 名	所 属	役 職	研究項目	参加時期
仁木 宏典	国立遺伝学研究所 放射線アイソトープセンター	助教授	大腸菌ORFの細胞内極在性の解析	平成14年4月～ 平成15年11月
小方 康至	国立遺伝学研究所 放射線アイソトープセンター	助手	大腸菌ORFの細胞内極在性の解析	平成14年4月～ 平成15年11月
栗田 憂子	国立遺伝学研究所 放射線アイソトープセンター	CREST 研究補助員 (時給制)	GFP標識タンパク質の細胞内極在性の観察とその画像の解析	平成14年5月～ 平成15年11月

氏 名	所 属	役 職	研究項目	参加時期
平賀 壯太	熊本大学・医学部	教授	情報解析と機能解析の連携	平成10年12月～ 平成14年3月

山添 光芳	熊本大学・医学部	助手	情報解析と機能解析の連携	平成 10 年 12 月 ~ 平成 11 年 3 月
大住 克史	熊本大学・医学部	非常勤研究員	情報解析と機能解析の連携	平成10年12月 ~ 平成 14 年 3 月
唐田 清伸	熊本大学・医学部	大学院学生	機能解析	平成10年12月 ~ 平成 14 年 3 月
龍田 高志	熊本大学・医学部	大学院学生	機能解析	平成10年12月 ~ 平成 12 年 3 月
小野木 利成	熊本大学・医学部	大学院学生	機能解析	平成10年12月 ~ 平成 13 年 3 月
砂子 由美	熊本大学・医学部	大学院学生	機能解析	平成10年12月 ~ 平成 13 年 3 月
市村 俊治	熊本大学・医学部	大学院学生	機能解析	平成10年12月 ~ 平成 13 年 3 月
稲川 卓文	熊本大学・医学部	大学院学生	機能解析	平成10年12月 ~ 平成 13 年 3 月
一ノ瀬 千代女	熊本大学・医学部	技官	機能解析	平成10年12月 ~ 平成 14 年 3 月

氏 名	所 属	役 職	研究項目	参加時期
井口 八郎	京都大学・理学部	教授	非コード領域のシステムティック機能解析	平成 10 年 12 月 ~ 平成 14 年 3 月
中野 宏昭	京都大学・理学部	大学院学生	非コード領域のシステムティック機能解析	平成 10 年 12 月 ~ 平成 13 年 3 月
官上 真子	京都大学・理学部	大学院学生	非コード領域のシステムティック機能解析	平成 10 年 12 月 ~ 平成 14 年 3 月
後藤 史門	京都大学・理学部	大学院学生	非コード領域のシステムティック機能解析	平成 10 年 12 月 ~ 平成 14 年 3 月
中東 憲治	京都大学・理学部	助手	非コード領域のシステムティック機能解析	平成 12 年 4 月 ~ 平成 14 年 3 月

毛利 佳雄	京都大学・理学部	大学院学生	非コード領域のシステムティック機能解析	平成 12 年 4 月 ~ 平成 14 年 3 月
久保 尚子	京都大学 理学部	大学院学生	非コード領域のシステムティック機能解析	平成 13 年 4 月 ~ 平成 14 年 3 月

氏 名	所 属	役 職	研究項目	参加時期
和田 千恵子	京都大学・ウイルス研究所	助手 助教授 H.13.4 ~	2次元電気泳動によるタンパク質カタログ化蛋白質間相互作用のマスを用いた網羅的解析	平成10年12月 ~ 平成15年3月
前田 真希	京都大学・ウイルス研究所	CREST 研究補助員	2次元電気泳動によるタンパク質カタログ化 相互作用蛋白質のマスを用いた網羅的解析	平成10年12月 ~ 平成 15 年 3 月 (平成 15 年 4 月 ~ 森研究室)
小林 元悟	京都大学・ウイルス研究所	大学院学生	タンパク質カタログ化及び機能解析	平成10年12月 ~ 平成 14 年 3 月
井筒 香織	京都大学・ウイルス研究所	大学院学生 、非常勤研究員	タンパク質カタログ化及び機能解析	平成10年12月 ~ 平成 13 年 3 月 平成 13 年 4 月 ~ 平成 14 年 3 月
上田 雅美	京都大学・ウイルス研究所	研究室 研究補助員	タンパク質カタログ化及び機能解析	平成10年12月 ~ 平成 15 年 3 月
栗田 (山本) 奈津子	京都大学・ウイルス研究所	研究員	相互作用蛋白質のマスを用いた網羅的解析 タンパク質カタログ化及び機能解析	平成13年5月 ~ 平成15年3月 (平成 15 年 4 月 ~ 森研究室)
河村 知世	京都大学・ウイルス研究所	CREST 研究補助員 (時給制)	相互作用蛋白質のマスを用いた網羅的解析の補助	平成14年6月 ~ 平成15年3月

* 顧問として参加

氏 名	所 属	役 職	研究項目	参加時期
平賀 壮太	京都大学 生命科学研究科	COE 非常勤研究員	助言と評価	平成14年12月～ 平成15年11月
井口 八郎			助言と評価	平成14年12月～ 平成15年11月
和田 千恵子	京都大学総合人間学部		助言と評価	平成15年4月～ 平成15年11月
磯野 克己	製品評価技術基盤機構・バイオテクノロジーセンター	所長	助言と評価	平成15年4月～ 平成15年11月

5. 研究期間中の主な活動

(ア) ワークショップ・シンポジウム等

年月日	名称	場所	参加人数	概要
H.11.1.20- 1.21	研究打ち合わせ	京都厚生年金休暇センター	32人	研究打ち合わせ
H11.3.30- 3.31	研究会議	九州大学薬学部	9人	リソースグループの研究会議
H.11.11.24- 11.26	微生物ゲノムワークショップ	愛知県労働者研修センター	60人	
H14.6.25- 6.26		せんたんホール	14人	今後の大腸菌研究の日米の具体的な研究方針および協力形態の意見交換を行う
H15.3.19- 3.20	大腸菌ゲノミクスの更なる発展に向けて：リソースの開発と今後 Functional Genomics of E.coli Development and Perspectives of Useful Ressources	淡路夢舞台 国際会議場	105人	リソースの公開 一人あたり20分程度の発表と質疑応答。及び、ポスターセッション
H15.10.15- 10.17	大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析 - リソースから生物システム、そしてモデル化へ -	淡路夢舞台 国際会議場	127人	リソース、網羅的解析結果の公表と国内外の研究者との意見交換

(イ) 招聘した研究者等

氏 名（所属、役職）	招聘の目的	滞在先	滞在期間
Barry L Wanner (Purdue University, Professor)	ワークショップ出席	ホテル日航関西空港 三井ガーデンホテル奈良 京阪奈プラザホテル	H.14.6.23- 6.26

		ホテル日航関西空港 ウェスティンホテル淡 路	H.15.10.14- 10.17
Tadhg Begley (Cornell University, Professor)	ワークショップ出席	ホテル日航関西空港 三井ガーデンホテル 奈良 京阪奈プラザホテル ホテル日航関西空港 ウェスティンホテル淡 路 ウェスティンホテル淡 路	H14.6.23- 6.26 H15.3.18- 3.21 H.15.10.14- 10.17
Sun Chang Kim	ワークショップ出席	ウェスティンホテル淡 路	H15.3.18-21
Dipankar Chatterji (Molecular Biophysics Unit Indian Institute of Science,Banglore, Professor)	ワークショップ出席	ウェスティンホテル淡 路	H15.3.18-21
S.Dusko .Ehrlich (フランス国立農業研究所 部長)	ワークショップ出席	ウェスティンホテル淡 路	H15.3.18-21
Matthias Reuss (Stuttgart University, Professor)	ワークショップ出席	ウェスティンホテル淡 路	H15.3.18-21
Siv G.E. Andersson (Uppsala University, Professor)	ワークショップ出席	ウェスティンホテル淡 路	H15.3.18-21
Andrei Osterman (The Buenham Institute, Associste Professor)	ワークショップ出席	ウェスティンホテル淡 路	H15.10.14- 10.17
Ohsuk Kwon (Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Senior Research Scientist)	ワークショップ出席	ウェスティンホテル淡 路	H15.10.14- 10.17

Daisuke Kihara (Purdue University, 教授)	ワークショップ出席	ウェスティンホテル淡路	H15.10.14-10.17
Hiroyuki Ogata (Information Genomique et Structurale , CNRS, France, 助教授)	ワークショップ出席	ウェスティンホテル淡路	H15.10.14-10.17

6. 研究成果の発表

(ア) 論文発表 (国内 9 件、海外 64 件)

- 1). Abe T., Kanaya S., Kinouchi M., Kudo Y., Mori H. and Matsuda H., C.D. Carpio, T. Ikemura, Gene classification method based on batch-learning SOM, Genome Informatics Series No.10, 314-315,1999
- 2). Arifuzzaman M, Oshima, T., Nakade, S., Mori, H.,Characterization of HscC (Hsc62), homolog of Hsp70 in Escherichia coli: overexpression of HscC modulates the activity of house keeping sigma factor $\sigma 70$. Genes to cells 2002 in press
- 3). Azam T. A., Iwata A., Nishimura A., Ueda S. and Ishihama A., Growth phase-dependent variation in protein composition of the Escherichia coli nucleoid, J. Bacteriol 181,6361-6370,1999
- 4). Biville F, Oshima T, Mori H, Kawagoe Y, Bouvet O, Rager MN, Perrotte-Piquemal M, Danchin A, ESCHERICHIA COLI Response to Exogenous Pyrophosphate and Analogs., J Mol Microbiol Biotechnol ; 5, 37-45, 2003
- 5). Eguchi, A., Akuta, T., Okuyama, H., Senda, T., Yokoi, H., Inokuchi, H.,Fujita., S., Hayakawa, T., Takeda, K., Hasegawa, M., & Nakanishi, M. Protein transduction domain of HIV-1 Tat protein promotes efficient delivery of DNA into Mammalian cells,J. Bio. Chem., 276, 26204-26210, 2001
- 6). Fujishima, H., Nishimura, A., Wachi, M., Takagi, H., Hirasawa, T., Teraoka, H., Nishimori, K., Kawabata, T., Nishikawa, K. and Nagai, K. (2002) kdsA mutations affect FtsZ-ring formation in Escherichia coli K-12. Microbiology, 148, 103-112, 2002
- 7). Fujita, C., Nishimura, A., Iwamoto, R. and Ikehara, K. (2002) Guanosine 5'-diphosphate 3'-diphosphate (ppGpp) synthetic activities on Escherichia coli SpoT domains. Biosci Biotechnol Biochem, 66, 1515-1523.
- 8). Fujita, K., Horie, T., Isono, K. Cross-genomic analysis of the translational systems of various organisms. J. Indust. Microbiol. 27: 163-169, 2001
- 9). Kawano, M. and Mori, H.*, Molecular characterization of Long Direct Repeat (LDR) sequences expressing a stable mRNA encoding for a 35-amino-acid cell-killing peptide and a cis-encoded small antisense RNA in Escherichia coli, Molecular Microbiology, 2002
- 10). Fukuda.T.,Nakahigashi,K.& Inokuchi H., (2001) Viability of Escherichai coli cells under long-term cultivation in a rich nutrient medium,Genes & Genetic Systems,vol.76, 271-278
- 11). Fukushima A., Kinouchi M., Kanaya S., Kudo Y., Ikemura T. Statistical analysis of genomic information: long-range correlation in DNA sequences. Genome Informatics Series, 11: 315-316 (2000)

- 12). Guo L., Katayama T., Seyama Y., Sekimizu K. and Miki T., Isolation and characterization of novel cold-sensitive dnaA mutants of *Escherichia coli*. FEMS Microbiol. Lett. 176, 357-366, 1999
- 13). Ichimura, T., Yamazoe, M., Maeda, M., Wada, C., Hiraga, S., Proteolytic activity of YibP protein in *Escherichia coli*, J. Bacteriol., 184, 2595-2602 (2002)
- 14). Isono, K. (2001) Genomics meets informatics (meeting report) Genome Biology 2: 4006.1-4006.3.
- 15). Izutsu, K., Wada, C., Komine, Y., Sako, T., Ueguchi, C., Nakura, S., and Wada, A. *Escherichia coli* ribosome-associated protein SRA, which increase during stationary phase. ,J. Bact.,183,2765-2773,2001
- 16). Izutsu, K., Wada, A. and Wada, C., Expression of Ribosome Modulation Factor (RMF) in *Escherichia coli* requires ppGpp. Genes to cells,6, 665-676,2001
- 17). Itoh T., Okayama T., Hashimoto H., Takeda J., Davis RW., Mori H. and Gojobori T. A low rate of nucleotide changes in *Escherichia coli* K-12 estimated from a comparison of the genome sequences between two different substrains, FEBS Letters 450, 72-76,1999
- 18). Itoh T., Takemoto K., Mori H. and Gojobori T. Evolutionary instability of operon structures disclosed by sequence comparisons of complete microbial genomes, Mol Biol vol.16, 332-346, 1999
- 19). Itoh T., Matsuda H. and Mori H. Phylogenetic analysis of the third hsp70 homolog in *Escherichia coli*; a novel member of the Hsc66 subfamily and its possible co-chaperone. DNA Research 6, No.5, 299-305, 1999
- 20). Izutsu K., Wada C., Komine Y., Sako T., Ueguchi C., Nakura S., and Wada A. *Escherichia coli* ribosome-associated protein SRA, which increase during stationary phase. J. Bact., 183: 2765-2773, 2001
- 21). Janosi L., Mori H., Sekine Y., Abragan J., Janosi R., Hirokawa G. and Kaji A. Mutations Influencing the Frr Gene Coding for Ribosome Recycling Factor (RRF) J. Mol. Biol. 295: 815 – 829, 2000
- 22). Kanaya S., Yamada Y., Kinouchi M., Kudo Y., Ikemura T. Codon usage and tRNA genes in eukaryotes: correlation of codon usage diversity with translation efficiency with CG-dinucleotide usage as assessed by multivariate analysis. J. Mol. Evol. (in press).
- 23). Kanaya, S., Kinouchi, M., Abe, T., Kudo, Y., Yamada, Y., Nishi, T., Mori, H., Ikemura ,T., Analysis of codon usage diversity of bacterial genes with a self-organizing map (SOM): characterization of horizontally transferred genes with emphasis on the *E. coli* O157 genome. Gene, 276, 89-99, 2001.

- 24). Kanaya S., Yamada Y., Kudo Y. and Ikemura T., Studies of codon usage and tRNA genes of 18 unicellular organisms and quantification of *Bacillus subtilis* tRNAs: gene expression level and species-specific diversity of codon usage based on multivariate analysis, *Gene* 238, 143-155, 1999
- 25). Kanjo, N., Nakahigashi, K., Oeda, K. and Inokuchi, H., (2001) Isolation and Characterization of a cDNA from soybean and its homolog from *Escherichia coli*, which both complement the light sensitivity of *Escherichia coli* HemH mutant strain VS101, *Genes & Genetic Systems*, 76, 327-334
- 26). Kanjo N. & Inokuchi H., Genes for tRNA Arg located in the upstream region of the Shiga toxin II operon in Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7, *DNA Res.* 6, 71-73, 1999
- 27). Kawakami, H. (Kyushu Univ.), Iwura, T. (Kyushu Univ.), Takata, M. (Kyushu Univ.), Sekimizu, K. (Univ. Tokyo), Hiraga, S. (Kumamoto Univ.), Katayama, T. (Kyushu Univ.), Arrest of cell division and nucleoid partition by genetic alterations in the sliding clamp of the replicase and in DnaA. *Mol. Genet. Genomics*, 266: 167-179, 2001
- 28). Kawano, M., Kanaya, S., Oshima, T., Masuda, Y., Ara, T. and Mori, H., Distribution of Repetitive Sequences on the Leading and Lagging Strands of the *Escherichia coli* Genome: Comparative Study of Long Direct Repeat (LDR) Sequences, *DNA RESEARCH*, 9, 1-10, 2002
- 29). Kawano, M., Oshima, T., Kasai, H. and Mori, H., Molecular characterization of long direct repeat (LDR) sequences expressing a stable mRNA encoding for a 35-amino-acid cell-killing peptide and a cis-encoded small antisense RNA in *Escherichia coli*, *Molecular Microbiology*, 45, 333-349, 2002
- 30). Kinouchi M., Kanaya S., Kudo Y. Detection of transfer RNA based on the cloverleaf secondary structure. *J. Comput. aided Chem.* 1: 76-81, 2000
- 31). Kinouchi M., Kanaya S., Ikemura T., Kudo Y. Detection of tRNA based on the clover secondary structure. *Genome Informatics Series*, 11: 301-302, 2000
- 32). Kobayashi, G., Moriya, S. and Wada, C., Deficiency of essential GTP-binding protein ObgE in *Escherichia coli* inhibits chromosome partition. *Mol. Microbiology* 41, 1037-1052, 2001.
- 33). Kodama, K., Kobayashi, T., Niki, H., Hiraga, S., Oshima, T., Mori, H. and Horiuchi, T. (2002) Amplification of Hot DNA segments in *Escherichia coli*. *Mol Microbiol*, 45, 1575-1588
- 34). Makinoshima, H., Nishimura, A. and Ishihama, A. Fractionation of *Escherichia coli* cell populations at different stages during growth transition to stationary phase. *Mol Microbiol*, 43, 269-279, 2002
- 35). Makinoshima, H., Aizawa, S., Hayashi, H., Miki, T., Nishimura, A. and Ishihama, A.

- Growth phase-coupled alterations in cell structure and function of *Escherichia coli*. *J Bacteriol*, 185, 1338-1345, 2003
- 36). Meider R., Morad I., Amitsur M., Inokuchi H. & Kaufmann G., Detection of anticodon nuclease residues involved in tRNA^{Lys} cleavage specificity, *J. Mol. Biol.* 287, 499-510, 1999
 - 37). Minagawa, S., Ogasawara, H., Kato, A., Yamamoto, K., Eguchi, Y., Oshima, T., Mori, H., Ishihama, A., and Utsumi, R., Identification and Molecular Characterization of the Mg²⁺ Stimulon of *Escherichia coli*, *Journal of Bacteriology*, July, 2003, 3696-3702
 - 38). Miyake, S., Tohsato, Y., Takenaka, Y., and Matsuda, H., A clustering method for comparative analysis between genomes and pathways, *Proceedings of International Conference on Database Systems for Advanced Applications*, 8, 327-334, 2003
 - 39). Mori H., Isono K., Horiuchi T., Miki T. and E. coli genome project team in Japan Functional Genomics of *Escherichia coli* in Japan *Research in Microbiology* 151: 121 – 128 (2000)
 - 40). Murata, T., Ohnishi, M., Ara, T., Kaneko, J., C-G. Han, Y. F. Li, Takashima, K., Nojima, H., Nakayama, K., Kaji, A., Kamio, Y., Miki, T., Mori, H., Ohtsubo E., Terawaki Y., and Hayashi T., Complete Nucleotide Sequence of Plasmid Rts1: Implications for Evolution of Large Plasmid Genomes, *J.Bacteriol.*, 184, 3194-3202, 2002
 - 41). Nakano, H., Goto, S., Nakayashiki, K & Inokuchi, H. Temperature-sensitive mutations in various genes of *Escherichia coli* K12 can be suppressed by the *ssrA* gene for 10S RNA (tmRNA). *Mol. Gen. Genet.*, 265, 615-62, 2001
 - 42). Nakahigashi, K., Kubo, N., Narita, S., Shimaoka, T., Goto, S., Oshima, T., Mori, H., Maeda, M., Wada, C., & Inokuchi, H. HemK, a class of protein methyl transferase with similarity to DNA methyl transferases, methylates polypeptide chain release factors, and hemK knockout induces defects in translational termination, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 99, 1473-1478, 2002
 - 43). Nakayama K., Kanaya S., Ohnishi M., Terawaki Y. and Hayashi T., The complete nucleotide sequence fCTX, a cytotoxin-converting phage of *Pseudomonas aeruginosa*: implications for phage evolution and horizontal gene transfer via bacteriophages, *Mol. Microbiol.* 31, 399-419, 1999
 - 44). Nakayama K., Takashima K., Ishihara H., Shinomiya T., Kageyama M., Kanaya S., Ohnishi M., Murata T., Mori H., and Hayashi T. The R-type pyocin of *Pseudomonas aeruginosa* is related to P2 phage, and the F-type is related to lambda phage. *Molecular Microbiology* 38: 213 – 231, 2000
 - 45). Narita S., Taketani S. & Inokuchi H., Oxidation of protoporphyrinogen IX in

- Escherichia coli is mediated by the aerobic coproporphyrinogen oxidase, Mol. Gen. Genet. 261, 1012-1020, 1999
- 46). Nihei, C., Nakayashiki, T., Nakamura, K., Inokuchi, H., Gennis, R.B., Kojima, S., & Kita, K., Abortive assembly of succinate-ubiquinone reductase (Complex II) in a ferrochelatase-deficient mutant of Escherichia coli, Mol. Gen. Genet., 265, 394-404, 2001
 - 47). Ohsumi, K. (Kumamoto Univ.), Yamazoe, M. (Kyoto Univ.), Hiraga, S. (Kumamoto Univ.) Different localization of SeqA-bound nascent DNA clusters and MukF-MukE-MukB complex in Escherichia coli cells. Mol. Microbiol., 40: 835-845., 2001
 - 48). Oshima, T., Wada, C., Kawagoe, Y., Ara, T., Maeda, M., Masuda, Y., Hiraga, S. and Mori, H., Genome-wide analysis of deoxyadenosine methyltransferase-mediated control of gene expression in Escherichia coli, Molecular Microbiology, 45, 673-695, 2002
 - 49). Oshima, T., Aiba, H., Masuda, Y., Kanaya, S., Sugiura, M., Wanner, B.L., Mori, H. and Mizuno, T. Transcriptome analysis of all two-component regulatory system mutants of Escherichia coli K-12. Mol Microbiol, 46, 281-291, 2002
 - 50). Onogi, T., Miki, T., and Hiraga, S., Behavior of Sister Copies of Mini-F Plasmid after Synchronized Plasmid Replication in Escherichia coli Cells., J. Bacteriol. 184, 3142-3145, 2002
 - 51). Onogi, T., Ohsumi, K., Katayama, T., Hiraga, S., Replication-dependent recruitment of the β -subunit of DNA polymerase III from cytosolic spaces to replication forks in Escherichia coli., J. Bacteriol. 184: 867-870., 2002
 - 52). Stokes, A.J., Matsuda, H. and Hashimoto A., GXML: A Novel Method for Exchanging and Querying Complete Genomes by Representing them as Structured Documents, IPSJ Transactions on Databases Vol. 40, 66-78, 1999
 - 53). Stokes, A.J., Matsuda, H. and Hashimoto A., Making High-level Queries on Diverse Genome Data: A Structured Genome Document Database System based on GXML and GQL, Genome Informatics No. 10, 76-185, 1999
 - 54). Sunako, Y., Onogi, T., Hiraga, S., Sister chromosome cohesion of Escherichia coli, Mol. Microbiol., 42: 1233-1241, 2001
 - 55). Takata M., Guo L., Katayama T., Hase M., Seyama Y., Miki T. and Sekimizu K., Mutant DnaA proteins defective in opening of oriC, the origin of chromosomal DNA replication in Escherichia coli. Mol. Microbiol. Vol. 35, 454-462, 2000
 - 56). Tohsato, Y., Matsuda, H. and Hashimoto, A., Application to Gene Cluster Analysis of Inductive Inference of Languages over Patterns with Conceptual Hierarchy, Genome Informatics No. 10, 324—325, 1999
 - 57). Tohsato Y., Matsuda H., Hashimoto A. A local alignment algorithm for metabolic

- pathway analysis, *Currents in Computational Molecular Biology*, 171-173, 2000
- 58). Tohsato Y., Matsuda H., Hashimoto A. A multiple alignment algorithm for metabolic pathway analysis using enzyme hierarchy. *Intelligent Systems for Molecular Biology*, Vol.8, 376-383, 2000
 - 59). Tohsato Y., Matsuda H., Hashimoto A. An application of a pathway alignment method to the analysis of amino acid biosynthesis, *Genome Informatics*, 11:284-285, 2000
 - 60). Uehara T., Matsuzawa H., and Nishimura A. HscA is involved in the dynamics of FtsZ-ring formation in *Escherichia coli* K12. *Genes Cells*, 2001
 - 61). Uga, H., Komori, H., Miki, K. and Wada, C. The iteron regions necessary for the RepE-iteron interaction in vivo in mini-F plasmid of *Escherichia coli*., *J. Biochem.*, 127: 537-541 (2000)
 - 62). Yamagishi, K., Oshima, T., Masuda, Y., Ara, T., Kanaya, S. and Mori, H, Conservation of Translation Initiation Sites Based on Dinucleotide, Frequency and Codon Usage in *Escherichia coli* K-12 (W3110): Non-random Distribution of A/T-rich Sequences Immediately Upstream of the Translation Initiation Codon. *DNA RESEARCH* 9, 19-24, 2002
 - 63). Yoshida, H., Maki, Y., Kato, H., Fujisawa, H., Izutsu, K., Wada, C. and Wada, A., The ribosome modulation factor(RMF) binding site on the ribosome of *Escherichia coli*, *J.Biochemistry*, 2002, 132, 983-989
 - 64). Yoshimura, S. H., Ohniwa, R. L., Sato, M. H., Matsunaga, F., Kobayashi, G., Uga, H., Wada, C. and Takeyasu, K. DNA phase transition promoted by replication initiator. *Biochemistry*, 31: 9139-9145 (2000)
 - 65). 金谷重彦、木ノ内誠、大平賢、工藤喜弘、ゲノム情報処理技術に基づいた生物種固有のコドン使用多様性、情報知識学会誌、Vol. 10: 14-32, 2001
 - 66). 坪井宣洋, 松田秀雄, 橋本昭洋, デジタル信号処理に基づく遺伝子のクラスタリング, 情報処理学会論文誌: 数理モデル化と応用, in press
 - 67). 遠里由佳子, 松田秀雄, 橋本昭洋, パスウェイ解析のための情報量最大化アライメントアルゴリズム, 情報処理学会論文誌: 数理モデル化と応用, in press
 - 68). 森浩禎・堀内嵩・磯野克巳・和田千恵子・金谷重彦・北川正成・荒武・大島拓, 大腸菌のポストシーケンスゲノム解析, 蛋白質・核酸・酵素, Vol. 46, 1977-1985, 2001
 - 69). 金谷重彦, 木ノ内誠, 大平賢, 工藤喜弘, ゲノム情報処理技術に基づいた生物種固有のコドン使用多様性, 情報知識学会誌, Vol. 10, 14-31, 2001.
 - 70). 加藤潤一、山本義弘、三木健良、大腸菌 K-12 株全遺伝子の系統的な機能解析、蛋白質核酸酵素 Vol.46, 2386-2392, 2001
 - 71). 松田秀雄、遠里由佳子、代謝反応パスウェイの分岐を含む類似反応ネットワークの探索、蛋白質核酸酵素 Vol. 46, 2550-2554, 2001

- 72). 森 浩禎、金谷 重彦、餐場 浩文、大島 拓、増田 泰、、大腸菌におけるポストゲノムシーケンス解析、化学と生物, Vol. 40, 2002
- 73). 前田真希、森浩禎、和田千恵子, MALDI - TOF を用いたプロテオーム解析, 生化学, Vol. 75, 400-406, 2003

(イ) 学会発表 (国内 189 件、海外 15 件)

- 1). アロン・ ストックス (大阪大学) 構造化文書表現に基づく完全ゲノム情報の交換と検索のための新しい手法 GXML、電子情報通信学会データ工学研究専門委員会、東京大学生産技術研究所、平成 11 年 6 月 17 日
- 2). 森浩禎 (奈良先端大) 生命理解のための ABC - 人工生命 (A) 分子生物 (B) 情報 (C) の立場から見た生命現象を解明するための方法論について -、人工知能学会早稲田大学国際会議場、平成 11 年 6 月 17 日
- 3). アロン・ ストックス (大阪大学) 構造化文書形式のゲノムデータを扱う問い合わせ言語への集約関数の導入、情報処理学会データシステム、沖縄厚生年金休暇センター、平成 11 年 7 月 22 日
- 4). 西村昭子 (国立遺伝学研究所) 大腸菌の K^+ - ポンプ蛋白の膜局在に与える ftsE 変異の影響、大阪大学蛋白研究所セミナー、大阪,平成 11 年 7 月
- 5). 三木健良、山本義弘、松田秀雄 (九州大学、兵庫医科大学、大阪大学)、系統的な大腸菌善遺伝子の破壊株の作製、微生物ゲノムワークショップ、愛知県労働者研修センター、平成 11 年 11 月 24 - 26 日
- 6). 加藤 潤一 (東大医科研), 系統的な欠失変異株の作製と必須遺伝子の同定、解析微生物ゲノムワークショップ, 愛知県労働者研修センター, 平成 11 年 11 月 24 日 - 26 日
- 7). 旭 弘子、竹村明美、荒 武、森浩禎 (奈良先端大) 大腸菌データベースの構築、第 22 回日本分子生物学会年会、福岡、平成 11 年 12 月 7 日
- 8). 荒 武、鈴木健二、松田秀雄、森 浩禎 (奈良先端大、大阪大学) クラスター分析を用いた微生物ゲノム ORF の機能ドメインの抽出、第 22 回日本分子生物学会年会、福岡、平成 11 年 12 月 8 日
- 9). 前田真希、和田 明、森 浩禎、和田千恵子 (京都大学ウィルス研、奈良先端大) 大腸菌ゲノムの RFHR 二次元電気泳動によるプロテオーム解析: 1. 熱ショックによって変動する大腸菌蛋白質の同定、第 22 回日本分子生物学会年会、福岡、平成 11 年 12 月 8 日
- 10). 藤島博史、鶴飼英樹、上原剛、松沢洋、西村昭子 (国立遺伝学研究所) 大腸菌 ABC transporter FtsE の機能解析、第 22 回日本分子生物学会年会、福岡、平成 11 年 12 月 9 日
- 11). 村田敬寛、林 哲也、大西 真、中山恵介、寺脇良郎、金子 淳、神尾好是、高島佳

- 代子、森 浩禎、三木健良、韓 昌均、大坪栄一（奈良先端大、九州大学）プラスミド Rts1 の全塩基配列の決定とその解析、第 22 回日本分子生物学会年会、福岡、平成 11 年 12 月 8 日
- 12). 野嶋秀明、荒 武、森 浩禎（奈良先端大）微生物ゲノムにおける HTH 型転写因子様 ORF の分布、第 22 回日本分子生物学会年会、福岡、平成 11 年 12 月 8 日
 - 13). 北川正成、中道朋子、稲本英次、豊永宏美、荒 武、森 浩禎、（奈良先端大）、大腸菌 ORF のクローン化と新しい発現調節株作成、第 22 回日本分子生物学会年会、福岡、平成 11 年 12 月 7 日
 - 14). 川野光興、川越雄弥、森 浩禎（奈良先端大）大腸菌ゲノムに存在する Long Direct Repeats (LDR) の機能解析（？）第 22 回日本分子生物学会年会、福岡、平成 11 年 12 月 9 日
 - 15). アロン・ストークス、松田秀雄、橋本昭洋（大阪大学）Representation and retrieval of gene interaction data using GXML structured genome, 第 22 回日本分子生物学会年会、福岡、平成 11 年 12 月 9 日
 - 16). 森 浩禎（奈良先端大）Escherichia coli genome analysis : status and perspective 第 22 回日本分子生物学会年会、福岡、平成 11 年 12 月 9 日
 - 17). 中野宏昭、井口八郎（京都大学）大腸菌 10Sa RNA によって相補される温度感受性変異株の解析、第 22 回日本分子生物学会年会、福岡、平成 11 年 12 月 7 日
 - 18). 山室雅一、毛利佳雄、井口八郎（京都大学）大腸菌 tRNA 遺伝子の新機能探索（I）第 22 回日本分子生物学会年会、福岡、平成 11 年 12 月 7 日
 - 19). 毛利佳雄、山室雅一、井口八郎（京都大学）大腸菌 tRNA 遺伝子の新機能探索（II）第 22 回日本分子生物学会年会、福岡、平成 11 年 12 月 7 日
 - 20). 後藤史門、井口八郎（京都大学）大腸菌 miaA 遺伝子欠失株の温度感受性を相補する変異の解析、第 22 回日本分子生物学会年会、福岡、平成 11 年 12 月 7 日
 - 21). 井口八郎、毛利佳雄、後藤史門、山室雅一、官上真子、中野宏昭（京都大学）大腸菌の欠失株分離の新方法、第 22 回日本分子生物学会年会、福岡、平成 11 年 12 月 8 日
 - 22). 官上真子、成田新一郎、井口八郎（京都大学）大腸菌ヘム生合成系遺伝子の発現に対するヘムのフィードバック制御、第 22 回日本分子生物学会年会、福岡、平成 11 年 12 月 8 日
 - 23). 三木健良、山本義弘、松田秀雄、堀内 嵩、森 浩禎（九州大学、兵庫医科大学、大阪大学、基礎生物学的研究所、奈良先端大）系統的な大腸菌全遺伝子の破壊株の作製、第 22 回日本分子生物学会年会、福岡、平成 11 年 12 月 9 - 10 日
 - 24). 坪井宣洋、松田秀雄、橋本昭洋（大阪大学）デジタル信号処理に基づく遺伝子の発現データ解析、第 22 回日本分子生物学会年会、福岡、平成 11 年 12 月 9 日
 - 25). 遠里由佳子、松田秀雄、橋本昭洋（大阪大学）情報量最大アライメントアルゴリズムの遺伝子クラスタ解析への応用、第 22 回日本分子生物学会年会、福岡、平成 11

年 12 月 9 日

- 26). 上原剛, 松澤洋, 藤島博史, 若木高善, 西村昭子 (国立遺伝学研究所) HscA66, a DnaK homolog, is involved in the cell division of Escherichia coli. 第 22 回日本分子生物学会年会、福岡、平成 11 年 12 月 9 日
- 27). 藤島博史, 鶴飼英樹, 上原剛, 松澤洋, 西村昭子 (国立遺伝学研究所) 大腸菌 ABC transporter FtsE の機能解析, 第 22 回日本分子生物学会年会、福岡、平成 11 年 12 月 9 - 10 日
- 28). 山川武廣, 池上徹, 加藤潤一, 森浩禎, 西村昭子, 山崎由紀子(東大医科学研究所、奈良先端大、国立遺伝学研究所) オブジェクト指向技術を用いた大腸菌データベース (PEC)の構築. 第 22 回日本分子生物学会年会、福岡、平成 11 年 12 月 9 - 10 日
- 29). アロン・ストークス、松田秀雄、橋本昭洋 (大阪大学) Making High-level Queries on Diverse Genome Data : A Structured Genome Document Database System based on GXML and CQL、第 10 回 Work shop on Genome Informatics、恵比寿ガーデンブレース、平成 11 年 12 月 15 日
- 30). 荒 武、鈴木健二、松田秀雄、森 浩禎 (奈良先端大、大阪大学)、Distribution of species specific gene family in microorganisms、第 10 回 Work shop on Genome Informatics 恵比寿ガーデンブレース、平成 11 年 12 月 14 日
- 31). 阿部貴志, 金谷重彦、木ノ内誠, 工藤義弘, 森浩禎、松田秀雄 (山形大学、奈良先端大、大阪大学) Gene Classification Method Based on Batch-Leaning SOM、第 10 回 Work shop on Genome Informatics、恵比寿ガーデンブレース、平成 11 年 12 月 13 - 15 日
- 32). アロン・ストークス (大阪大学) 構造化ゲノム文書データベースシステムを用いた代謝反応経路のコンピュータ解析、第 11 回データ工学ワークショップ、近江八幡、平成 12 年 3 月 4 日
- 33). アロン・ストークス(大阪大学) 分子生物へのXMLの応用、第 11 回データ工学ワークショップ、近江八幡、平成 12 年 3 月 4 日
- 34). 荒武 (奈良先端大) 鈴木健二 (山之内製薬) 松田秀雄 (阪大) 森浩禎 (奈良先端大) クラスター解析を用いた微生物ゲノム ORF の機能ドメインの抽出 日本進化学会、東京大学教養学部、平成 12 年 10 月 9 日
- 35). 中出晋介(国立遺伝学研究所) 「大腸菌の細胞分裂機構の全体像」ポストゲノム解析、第 23 回分子生物学会年会、神戸、平成 12 年 12 月 14 日
- 36). 中東憲治 (京大) 官上真子 (京大) 井口八郎 (京大) 竹谷茂 (京工繊大) 大腸菌におけるプルフィリン生合成系遺伝子 hemE の Bypass ミュータント 第 23 回分子生物学会年会、神戸、平成 12 年 12 月 14 日
- 37). 三木健良 (九大) 片山暁子 (九大) 加藤潤一 (東大・医科研) 北川正成 (奈良先端大) 堀内嵩 (基生研) 松田秀雄 (阪大) 森浩禎 (奈良先端大) 山本義弘 (兵庫医

- 大)網羅的な大腸菌遺伝子破壊株の作製と必須遺伝子の同定 第23回分子生物学会年会、神戸、平成12年12月14日
- 38). 川越雄弥(奈良先端大) 大島拓(CREST・奈良先端大) 荒武(CREST・奈良先端大) 加納康正(京薬大) 森浩禎(奈良先端大) マイクロアレイによる大腸菌転写発現の網羅的解析 第23回分子生物学会年会、神戸、平成12年12月14日
- 39). 藤田克利(CREST・神戸大) 磯野克巳(神戸大) 「リボソーム蛋白質のゲノム横断的解析」、第23回分子生物学会年会、神戸、平成12年12月15日 賀壮太(熊本大学) Partitioning of Bacterial Chromosome(口頭発表) 第23回分子生物学会年会、神戸、平成12年12月15日
- 40). 磯野克巳(神戸大) 井本摂津子(CREST・神戸大) 磯野節子(神戸大) 川俣朋子(神戸大) 森浩禎(奈良先端大) 大腸菌文献データベース、第23回分子生物学会年会、神戸、平成12年12月16日
- 41). 大島拓(CREST・奈良先端大) 荒武(CREST・奈良先端大) 和田千恵子(京大ウィルス研) 前田真希(京大ウィルス研) 川越雄弥(奈良先端大) 賀壮太(熊本大) 森浩禎(奈良先端大) 大腸菌の網羅的発現プロファイル解析システムの構築(口頭発表) 第23回分子生物学会年会、神戸、平成12年12月16日
- 42). 旭弘子(CREST・奈良先端大) 荒武(CREST・奈良先端大) 松田秀雄(阪大) 磯野克巳(神戸大) 森浩禎(奈良先端大) 大腸菌ゲノムデータベース第23回分子生物学会年会、神戸、平成12年12月16日
- 43). 荒武(CREST・奈良先端大) 野嶋秀明(阪大) 鈴木健二(山之内製薬) 森浩禎(奈良先端大) 微生物ゲノムにおける転写調節因子の多様性の解析 第23回分子生物学会年会、神戸、平成12年12月16日
- 44). 北川正成(奈良先端大) 荒武(CREST・奈良先端大) 森浩禎(奈良先端大) Functional genomics のための大腸菌 ORF のクローンセットの作製 第23回分子生物学会年会、神戸、平成12年12月16日
- 45). 遠里由佳子(阪大) 網浜貴夫(阪大) 松田秀雄(阪大) 橋本昭洋(阪大) パスウェイ解析のための酵素階層を用いた多重アライメントアルゴリズム 第23回分子生物学会年会、神戸、平成12年12月16日
- 46). 広中大雅(阪大) 松田秀雄(阪大) 橋本昭洋(阪大) 複数の実験条件での発現データからの遺伝子分類手法 第23回分子生物学会年会、神戸、平成12年12月16日
- 47). 網浜貴夫(阪大) 遠里由佳子(阪大) 松田秀雄(阪大) 橋本昭洋(阪大) 大腸菌における不完全な代謝反応パスウェイの解析(口頭発表) 第23回分子生物学会年会、神戸、平成12年12月16日
- 48). 前田真希(CREST・京大ウィルス研) 大腸菌ゲノムの RFHR 二次元電気泳動法によるプロテオーム解析 第23回分子生物学会年会、神戸、平成12年12月16日
- 49). 村田正之(山口大) 前田真希(CREST・京大ウィルス研) 伊豆英恵(山口大) 和田

- 千恵子（京大ウィルス研）山田守（山口大）大腸菌定常期の RpoE 依存性溶菌に関する蛋白。第 23 回日本分子生物学会年会、神戸、平成 12 年 12 月 16 日
- 50). 前田真希（CREST・京大ウィルス研）大腸菌の Gene-Protein Index の作成と応用
第 23 回分子生物学会年会、神戸、平成 12 年 12 月 16 日
- 51). 森岡亮子（奈良先端大）川越裕也（奈良先端大）大島拓（CREST・奈良先端大）、
荒武（CREST・奈良先端大）石井信（奈良先端大）森浩禎（奈良先端大）The novel
method for gene expression profiling by EM algorithm、GIW2000、東京ガーデンブ
レイス、平成 12 年 12 月 18 日
- 52). 大島拓（CREST・奈良先端大）荒武（CREST・奈良先端大）川越雄弥（奈良先端大）
和田千恵子（京大・ウィルス研究所）前田真希（CREST・京大ウィルス研究所）平
賀壮太（熊本大）森浩禎（奈良先端大）大腸菌の網羅的発現プロファイル解析シス
テムの構築（口頭発表）微生物ゲノム研究のフロンティア、かずさアカデミアパーク、
平成 13 年 2 月 6 ~ 7 日
- 53). 和田明（大阪医大）牧泰史（大阪医大）吉田英司（大阪医大）鈴木勉（東大院）
前田真希（CREST・京大ウィルス研）小林元悟（京大ウィルス研）和田千恵子（京
大ウィルス研）RFHR 2-D PAGE による大腸菌のプロテオーム解析（口頭発表）微生
物ゲノム研究のフロンティア、かずさアカデミアパーク、平成 13 年 2 月 6 ~ 7 日
- 54). 前田真希（CREST・京大ウィルス研）和田明（大阪医大）森浩禎（奈良先端大）平
賀壮太（熊本大）小林元悟（京大ウィルス研）和田千恵子（京大ウィルス研）大腸
菌ゲノムのプロテオーム解析：大腸菌対数増殖期における RFHR、二次元電気泳動法
による Gene-Protein Index の作成と応用 微生物ゲノム研究のフロンティア、かずさ
アカデミアパーク、平成 13 年 2 月 6 ~ 7 日
- 55). 荒武（CREST・奈良先端大）野嶋秀明（阪大）鈴木健二（山之内製薬）森浩禎（奈
良先端大）微生物ゲノムにおける転写調節因子の多様性の解析 微生物ゲノム研究
のフロンティア、かずさアカデミアパーク、平成 13 年 2 月 6 ~ 7 日
- 56). 藤田克利（CREST・神戸大）磯野克巳（神戸大）遺伝子相互作用解析のモデルとして
のリボゾーム微生物ゲノム研究のフロンティア、かずさアカデミアパーク、平成 13
年 2 月 6 ~ 7 日
- 57). 三木健良（九州大）加藤潤一（都立大院）山本義弘（兵庫医大）大腸菌必須遺伝子
群の同定と機能ネットワークの解析（口頭発表）微生物ゲノム研究のフロンティア、
かずさアカデミアパーク、平成 13 年 2 月 6 ~ 7 日
- 58). 山本義弘（兵庫医大）松田秀雄（阪大）堀内嵩（基生研）磯野克巳（神戸大）森
浩禎（奈良先端大）三木健良（九州大）大腸菌必須遺伝子群の同定と機能ネットワ
ークの解析(1) - 系統的な破壊株の作製と必須数遺伝子の同定微生物ゲノム研究のフロン
ティア、かずさアカデミアパーク、平成 13 年 2 月 6 ~ 7 日
- 59). 加藤潤一（都立大院）池上徹（東大医科研）山川武広（遺伝研）山崎由紀子（遺伝

研)大腸菌必須遺伝子群の同定と機能ネットワークの解析(2) - 系統的な欠失株の作製と機能ネットワークの解析 微生物ゲノム研究のフロンティア、かずさアカデミアパーク、平成13年2月6～7日

- 60). 大島拓, 荒武 (CREST・奈良先端大) 川越裕也 (奈良先端大) 前田真紀 (CREST・京大ウイルス研) 和田千恵子 (京大ウイルス研) 平賀壮太 (熊本大) 森浩禎 (奈良先端大) The novel method for gene expression profiling by EM algorithm (口頭発表) 微生物ゲノム研究のフロンティア、かずさアカデミアパーク、平成13年2月6～7
- 61). 和田明 (大阪医大) 牧泰史 (大阪医大) 吉田英司 (大阪医大) 鈴木勉 (東大院) 前田真希 (CREST・京大ウイルス研) 小林元悟 (京大ウイルス研) 和田千恵子 (京大ウイルス研) RFHR 2-D PAGE による大腸菌のプロテオーム解析、第一回日本蛋白質科学会年会、大阪、大阪大学コンベンションセンター、平成13年6月1日? 3日
- 62). 前田真希 (CREST・京大ウイルス研) 小林元悟 (京大ウイルス研) 和田明 (大阪医大) 森浩禎 (奈良先端大) 和田千恵子 (京大ウイルス研) 大腸菌ゲノムの RFHR 二次元電気泳動法によるプロテオーム解析:大腸菌の Gene-Protein Index の作成と応用、第一回日本蛋白質科学会年会、大阪、大阪大学コンベンションセンター、平成13年6月1日? 3日.
- 63). 加藤潤一 (都立大院理生物) 大腸菌最小必須遺伝子群の同定と未知必須遺伝子群の機能解析、第24回分子生物学会年会、横浜、平成13年12月10日
- 64). 三木建良 (九大・薬) 山本義弘 (兵庫医大) 藤田克利 (CREST) 林晃司 (基生研) 中川明 (奈良先端大) 毛谷村賢司 (九大・薬) 松田秀雄 (大阪大・基礎工) 磯野克巳 (神戸大・理) 森浩禎 (奈良先端大・遺伝子センター) 系統的網羅的な大腸菌遺伝子破壊株の作製、全領域の解析、第24回分子生物学会年会、横浜、平成13年12月10日
- 65). Erizabeth Tenorio (神戸大・自然) 藤田克利 (CREST) 佐伯尊志 (神戸大・自然) 北川正成 (ドラゴン・エミクス) 磯野克巳 (神戸大・理) 森浩禎 (奈良先端大・遺伝子センター) Systematic characterization of E.coli genes affecting the biofilm formation、第24回分子生物学会年会、横浜、平成13年12月11日、口頭発表
- 66). 佐伯尊志 (神戸大・自然) 藤田克利 (CREST) Tenorio Elizabeth(神戸大・自然)、野克巳 (神戸大・理) 北川正成 (ドラゴン・エミクス) 森浩禎 (奈良先端大遺伝子センター) 大腸菌における外膜関連遺伝子の組織的解析、第24回分子生物学会年会、横浜、平成13年12月11日
- 67). 井筒香織 (京大ウイルス研) 和田明 (大阪医大) 和田千恵子 (京大ウイルス研、科技団・CREST) 大腸菌の定常期遺伝子の発現に関する因子の解析、第24回分子生物学会年会、横浜、平成13年12月12日
- 68). 山本奈津子 (京大ウイルス研) 小林元悟 (京大ウイルス研) 和田千恵子 (科技団 CREST 京大ウイルス研) 大腸菌 mafA 変異のマルチコピープレッサーの分離と解析第2、分

子生物学会年会、横浜、平成 13 年 12 月 11 日

- 69). 前田真希 (科技団・CREST、京大・ウイルス研) 小林元悟 (京大・ウイルス研) 和田明 (大阪医大) 大島拓 (科技団・CREST、奈良先端大・遺伝子) 森浩禎 (科技団 CREST、奈良先端大・遺伝子) 和田千恵子 (科技団・CREST、京大・ウイルス研) 大腸菌ゲノムのプロテオーム解析：3 . RFHR 二次元電気泳動法による Gene-Protein Index の作成とその応用、第 24 回分子生物学会年会、横浜、平成 13 年 12 月 10 日
- 70). 小林元悟 (京大・ウイルス研) 大島拓 (科技団・CREST、奈良先端大・遺伝子) 前田真希 (科技団・CREST、京大・ウイルス研) 和田千恵子 (科技団・CREST、京大・ウイルス研) 大腸菌の Obg ホモログ (ObgE) の機能：ObgE 欠損条件でのトランスクリプト - ムとプロテオーム解析、第 24 回分子生物学会年会、横浜、平成 13 年 12 月 11 日
- 71). 荒武 (慶大・先端生命研) 青野英司 (奈良先端大・遺伝子教育) 黒川顕 (阪大・遺伝情報) 馬場知哉 (慶大・先端生命研) 仲宗根薫 (近畿大・工) 加藤千明 (海洋科技セ・極限環境生物) 堀越弘毅 (海洋科技セ・極限環境生物) 森浩禎 (奈良先端大・遺伝子教育) 深海由来好冷好圧性細菌 *Shewanella violacea* DSS12 株のゲノム解析、第 24 回分子生物学会年会、横浜、平成 13 年 12 月 12 日
- 72). 馬場知哉 (慶大・先端生命研) 荒武 (慶大・先端生命研) 奥村佳子 (慶大・先端生命研) 馬場美紀 (慶大・先端生命研) 中道朋子 (奈良先端大・遺伝子教育センター) 稲本英次 (奈良先端大・遺伝子教育センター) 中川明 (奈良先端大・遺伝子教育センター) 豊永宏美 (奈良先端大・遺伝子教育センター) 天野千尋 (奈良先端大・遺伝子教育センター) 坂井祐介 (海洋科技セ・極限環境生物) 石井秋宏 (海洋科技セ・極限環境生物) 仲宗根薫 (近畿大・工) 加藤千明 (海洋科技セ・極限環境生物) 堀越弘毅 (海洋科技セ・極限環境生物) 森浩禎 (奈良先端大・遺伝子教育センター) 深海由来好冷好圧性細菌 *Shewanella violacea* DSS12 株ゲノムの全塩基配列決定、第 24 回分子生物学会年会、横浜、平成 13 年 12 月 12 日
- 73). 中東憲治 (京大・院理 CREST) 久保尚子 (京大・院理) 前田真希 (京大・ウイルス研 CREST) 和田千恵子 (京大・ウイルス研、CREST) 大島拓 (奈良先端大・遺伝子、CREST) 森浩禎 (奈良先端大・遺伝子、CREST) 井口八郎 (京大・院理、CREST) HemK は polypeptide Release Factor をメチル化する新しいグループのメチル化酵素である、第 24 回分子生物学会年会、横浜、平成 13 年 12 月 12 日
- 74). 久保尚子 (京大・院理) 中東憲治 (京大・院理) 大島拓 (奈良先端大・遺伝子) 森浩禎 (奈良先端大・遺伝子) 井口八郎 (京大・院理) hemK 欠損株でみられる翻訳終結阻害 Deletion of hemK retards translational termination、第 24 回分子生物学会年会、横浜、平成 13 年 12 月 12 日
- 75). 官上真子 (京大・院理) 中東憲治 (京大・院理) 竹谷茂 (京工繊大・応用生物) 佐野晴洋 (滋賀医大) 井口八郎 (京大・院理) 大腸菌におけるポルフィリン生合成系

- 遺伝子 hemE の Bypass ミュータント、第 24 回分子生物学会年会、横浜、平成 13 年 12 月 10 日
- 76). 井口八郎(京大・院理)、後藤史門(京大・院理)、中東憲治(京大・院理) 10SaRNA(tmRNA) 依存型の温度感受性をサプレスする新奇な変異、第 24 回分子生物学会年会、横浜、平成 13 年 12 月 10 日
- 77). 五嶋宏之(阪大院・基礎工・情報数理)、遠里由佳子(阪大院・基礎工・情報数理)、松田秀雄、(阪大院・基礎工・情報数理)、橋本昭洋(阪大院・基礎工・情報数理)、酵素階層を用いた代謝反応パスウェイの多重アライメントアルゴリズム、第 24 回分子生物学会年会、横浜、平成 13 年 12 月 12 日
- 78). 木梨玲(阪大院・基礎工・情報数理)、松田秀雄(阪大院・基礎工・情報数理)、橋本昭洋(阪大院・基礎工・情報数理)、遺伝子発現プロファイルを用いた代謝反応パスウェイにおける不完全部位の解析、第 24 回分子生物学会年会、横浜、平成 13 年 12 月 12 日
- 79). 遠里由佳子、(阪大院・基礎工・情報数理) 五嶋宏之(阪大院・基礎工・情報数理) 松田秀雄、(阪大院・基礎工・情報数理) 橋本昭洋(阪大院・基礎工・情報数理)、代謝反応パスウェイの分岐を含む類似反応ネットワークの探索、第 24 回分子生物学会年会、横浜、平成 13 年 12 月 12 日
- 80). 市村俊治(熊大発生医学研究センター・細胞複製分野)、山添光芳(京大医学部放射線遺伝学教室)、平賀壮太(熊大発生医学研究センター・細胞複製分野)、大腸菌の YibP タンパク質は高温での FtsZ リング形成に必須、第 24 回分子生物学会年会、平成 13 年 12 月 9 日、横浜
- 81). 大島拓(CREST JST)、松崎真一(奈良先端大)、安藤弘樹(奈良先端大)、北尾喜公英(奈良先端大)、前野聖(奈良先端大)、増田泰(奈良先端大)、金谷重彦(CREST・JST,奈良先端大)、森浩禎(奈 CREST・JST 良先端大) 大腸菌代謝産物量の育成状況に応じた変化と安定性の網羅的解析、第 24 回分子生物学会年会、横浜、平成 13 年 12 月 12 日
- 82). 皆川周(近大院・応生化)、加藤宣明(近大院・応生化)、小笠原寛(近大院・応生化)、大島拓(奈良先端大)、森浩禎(奈良先端大)、内海龍太郎(近大院・応生化)、その他(国内)(奈良先端大)、大腸菌 DNA マイクロアレイを用いた Mg²⁺ 応答性プロモーターの同定、第 24 回分子生物学会年会、横浜、平成 13 年 12 月 12 日
- 83). 饗庭浩史(名大院・生命農学)、大島拓(CREST・JST)、金谷重彦(奈良先端大)、増田泰(CREST・JST)、杉浦雅仁(名大院・生命農学)、Barry L.Wanner(Purdue Univ.)、森浩禎(CREST・JST、奈良先端大)、水野猛(名大院・生命農学)、大腸菌 His-Asp リン酸リレー情報伝達系の全遺伝子破壊株の作成とマイクロアレイ解析、第 24 回分子生物学会年会、横浜、平成 13 年 12 月 12 日
- 84). Md arifuzzaman(R&E.Cent.Gen.Info.NAIST)、Taku Osima(JST-CREST)、Shinsuke

Nakade (R&E.Cent.Gen.Info.NAIST),Hirotsada mori (R&E.Cent.Gen.Info.NAIST, JST-CREST, Institute of Adv.Biosciences) Interaction of σ^{70} with HscC(Hsc62),homolog of Hsp70 in Escherichia coli:the role of HscC as a negative regulator of house keeping sigma factor σ^{70} 、第 24 回分子生物学会年会、横浜、平成 13 年 12 月 12 日

- 85). 浜田隆大 (奈良先端大・遺伝子教育研究センター・生体情報) 大島拓 (CREST) 北川正成 (ドラッグ・エミックス株式会社) Arifuzzaman MD (奈良先端大・遺伝子教育研究センター・生体情報) 森浩禎 (奈良先端大・遺伝子教育研究センター・生体情報、CREST、慶大・先端生命) 大腸菌プロテアーゼによる遺伝子発現制御解析、第 24 回分子生物学会年会、横浜、平成 13 年 12 月 12 日
- 86). 坂井祐介 (海洋科技セ・極限環境生物) 板谷光泰 (三菱化学生命研) 馬場知哉 (慶大・先端生命) 荒武 (慶大・先端生命) 黒川顕 (阪大・遺伝情報) マリア スモラウインスカ (海洋科技セ・極限環境生物) 高木義弘 (海洋科技セ・極限環境生物) 益井宣明 (海洋科技セ・極限環境生物) 福井巧 (近畿大・工) 仲宗根薫 (近畿大・工) 加藤千明 (海洋科技セ・極限環境生物) 森浩禎 (慶大・先端生命、奈良先端大・遺伝子教育センター) 堀越弘毅 (海洋科技セ・極限環境生物) 深海由来好冷好圧性細菌 *Shewanella violacea* DSS12 株の物理地図の作成、第 24 回分子生物学会年会、横浜、平成 13 年 12 月 12 日
- 87). Hirotsada Mori(Nara Inst&Sci.Tech)、Katsumi Isono(Kobe Univ.,Fac.Sci.,Dept.Biol)、Functional genomics of E.coli and an introduction to the workshop、第 24 回分子生物学会年会、横浜、平成 13 年 12 月 11 日
- 88). 川野光興 (奈良先端大・遺伝子教育研究センター) 金谷重彦 (奈良先端大・遺伝子教育研究センター) 森浩禎 (奈良先端大・遺伝子教育研究センター) 大腸菌における繰返し配列のストランド特異性解析、およびシスにコードされたアンチセンス RNA の発現解析 第 24 回分子生物学会年会、横浜、平成 13 年 12 月 11 日
- 89). 増田泰 (科技団・CREST) 関根靖彦 (立教大) 大島拓 (科技団・CREST) 森浩禎 (科技団・CREST 奈良先端大) 大腸菌における終止/開始コドン重複による translation coupling の可能性の検討、第 24 回分子生物学会年会、平成 13 年 12 月 11 日
- 90). 旭弘子 (CREST) 荒武 (慶大・先端生命) 生田有紀 (CREST) 増田泰 (CREST) 森浩禎 (慶大・先端生命、奈良先端大・遺伝子教育研究センター) 大腸菌ゲノム情報データベース [Genobase3.0]、第 24 回分子生物学会年会、横浜、平成 13 年 12 月 11 日
- 91). 小林和夫 (奈良先端大・バイオ) 大島拓 (奈良先端大・遺伝子教育研究センター) 増田泰 (奈良先端大・遺伝子教育研究センター) 金谷重彦 (奈良先端大・遺伝子教育研究センター) 森浩禎 (奈良先端大・遺伝子教育研究センター) 小笠原直毅 (奈良先端大・バイオ) 枯草菌転写ネットワークの解析、第 24 回分子生物学会年会、横浜、

平成 13 年 12 月 10 日

- 92). 石井秋宏 (東工大・生命情報、海洋科技セ・極限環境生物) 大島拓 (科技団・CREST) 仲宗根薫 (近畿大・工) 佐藤孝子 (海洋科技セ・極限環境生物) 森浩禎 (奈良先端大・遺伝子教育セ) 加藤千明 (東工大・生命情報、海洋科技セ・極限環境生物) DNA マイクロアレイによる大腸菌の圧力応答の解析—核様体タンパク質 H-NS の高圧力条件下での役割、第 24 回分子生物学会年会、横浜、平成 13 年 12 月 10 日
- 93). 森浩禎 (奈良先端大・遺伝子教育研究センター) 金谷重彦 (奈良先端大・遺伝子教育研究センター) 増田泰 (奈良先端大・遺伝子教育研究センター) 大島拓 (奈良先端大・遺伝子教育研究センター) 遺伝子ネットワーク解析および発現データベース (GenoBase4.0) 特定領域研究 C「ゲノム情報科学」ゲノム情報科学の新展開、東京、平成 14 年 1 月 12 日
- 94). 森浩禎 (奈良先端大・遺伝子教育研究センター) 金谷重彦 (奈良先端大・遺伝子教育研究センター) 増田泰 (奈良先端大・遺伝子教育研究センター) 大島拓 (奈良先端大・遺伝子教育研究センター) 遺伝子ネットワーク解析および発現データベース、特定領域研究 C「ゲノム情報科学」班会議、平成 14 年 1 月 11 日
- 95). 馬場知哉 (慶大・先端生命) Wanner の系による遺伝子欠失株作製、基礎生物学研究所ワークショップ「DNAチップとリソースの現状と将来」、愛知県岡崎市、2002 年 3 月 15 日
- 96). 和田明、牧泰史、吉田秀司、鈴木勉 (大阪医大) 前田真希、小林元悟、和田千恵子 (京大ウイルス研): RFHR 二次元電気泳動法による大腸菌のプロテオーム解析。第 74 回日本生化学会大会、京都、p737、2001 年 10 月
- 97). 和田千恵子、前田真希 (科技団 CREST ウイルス研): 大腸菌ゲノムのプロテオーム解析、「DNAチップとリソースの現状と将来」ワークショップ、岡崎、2002 年 3 月 14~15 日。
- 98). 平賀 壯太 (熊大発生医学研究センター・細胞複製分) 大腸菌の染色体分配機構、日本分子生物学会・第一回春季シンポジウム「分子生物学の躍動」、平成 13 年 5 月 10-12 日、盛岡
- 99). 平賀 壯太、山中 邦俊、山添 光芳、プロテオバクテリアにおけるメチル化 DNA 関連遺伝子群の網羅的研究、特定領域研究 C「ゲノム生物学」班会議、平成 13 年 8 月 22-25 日、神戸
- 100). 小野木 利成 (熊大発生医学研究センター・細胞複製分野) 平賀 壯太 (熊大発生医学研究センター・細胞複製分野) 大腸菌における F プラスミド DNA の複製後の挙動、第 24 回分子生物学会年会、平成 13 年 12 月 9-12 日、横浜
- 101). 砂子 由美 (熊大発生医学研究センター・細胞複製分野) 小野木 利成 (熊大発生医学研究センター・細胞複製分野) 平賀 壯太 (熊大発生医学研究センター・細胞複製分野) Sister Chromosome cohesion of Escherichia coli、第 24 回分子生物学会

年会、平成 13 年 12 月 9-12 日、横浜

- 102). 藤田領 1、毛谷村賢司 1、新名主力オリ 1、宮本佳子 1、山本義弘 2.3、三木健良 1.3、(1 九州大院・薬、2 兵庫医大・遺伝、3 科技団・CREST) 系統的・網羅的な大腸菌遺伝子破壊株の作成 . 残された問題点の解決と必須遺伝子の条件致死化、第 24 回分子生物学会年会、平成 13 年 12 月 10 日、横浜
- 103). 三木健良 (九州大院・薬) 大腸菌全遺伝子の系統的な機能解析、日本薬学会 112 年会 平成 14 年 3 月 28 日、千葉県幕張
- 104). 馬場知哉(慶大・先端生命研、CREST) 青野英司(奈良先端大・遺伝子、CREST) 荒武 (慶大・先端生命研、CREST) 伊藤文 (慶大・先端生命研) 鷲尾尊規 (慶大・先端生命研) 黒川顕 (阪大・遺伝情報) 大島拓 (奈良先端大・遺伝子、CREST) 増田泰 (奈良先端大・遺伝子、CREST) 坂井祐介 (海洋科技セ・極限環境生物) 石井秋宏 (海洋科技セ・極限環境生物) 木ノ内誠 (山形大・工、CREST) 金谷重彦 (奈良先端大・遺伝子、CREST) 仲宗根薫 (近畿大・工) 加藤千明 (海洋科技セ・極限環境生物) 堀越弘毅 (海洋科技セ・極限環境生物) 森浩禎 (奈良先端大・遺伝子、CREST) *Shewanella violacea* のゲノム解析、特定領域研究「統合ゲノム」主催第 4 回ワークショップ「微生物ゲノム研究のフロンティア」、木更津、平成 14 年 2 月 16 日
- 105). 後藤史門、塙 (末次) 京子*、武藤あきら*、井口八郎 (京大院・理、生物物理、* 弘前大・理、岩手連大・農) 大腸菌 10SaRNA に関係した高温感受性変異株について、第 24 回分子生物学会年会、平成 13 年 12 月 10 日、横浜
- 106). 森浩禎 (奈良先端科学技術大学院大学 遺伝子教育研究センター、慶應大学 先端生命科学研究所) 細胞の全体像解明に向けて、日本進化学会第 4 回大会、中央大学後楽園キャンパス、2002 年 8 月 4 日
- 107). 前田真希¹、ムハマド・アリフツザマン^{2,4}、伊藤文³、荒武³、大島拓⁴、金谷重彦⁴、森浩禎^{3,4}、和田千恵子⁵、(¹科技団・CREST、²新エネルギー産業技術総合開発機構・NEDO、³慶大・先端生命研、⁴奈良先端大・遺伝子教育研究センター、⁵京大・ウイルス研) 大腸菌プロテオーム解析のためのタンパク質の同定法：MALDI—TOF MS による多量サンプルの同定法、第 25 回分子生物学会年会、パシフィコ横浜、横浜、平成 14 年 12 月 11 日—12 日
- 108). 生田有紀¹、旭弘子¹、平井晶³、荒武²、金谷重彦⁴、森浩禎^{2,4}、(¹科技団・CREST、²慶大・先端生命研、³協和発酵工業 (株) ⁴ 奈良先端大・遺伝子教育研究センター) 大腸菌ゲノムデータベース[genobase 4.0]、第 25 回分子生物学会年会、パシフィコ横浜、横浜、平成 14 年 12 月 11 日 - 12 日
- 109). 馬場知哉(1)、荒武(1)、奥村佳子(1)、長谷川美紀(1)、高井幸(1)、大島拓(2)、冨田勝(1)、Barry L. Wanner(3)、森浩禎(1,2,4)慶大先端生命研、(2) 奈良先端大・遺伝子教育、(3) Dep. Biological Science, Purdue Univ.、(4) 科技団・CREST 大腸菌 K-12 株の網羅的な

遺伝子欠失株 ” KO (KEIO) Collection ver.1.0.0 ” の公開、 ” Functional Genomics of E.coli Development and Perspectives of Useful Resources ” 淡路夢舞台国際会議場、兵庫県津名郡
平成 15 年 3 月 19 日

- 110). 馬場知哉(1)、荒武(1)、奥村佳子(1)、長谷川美紀(1)、高井幸(1)、大島拓(2)、金谷重彦(3)、森浩禎(1,2,4) 慶大先端生命研、(2) 奈良先端大・遺伝子教育センター、(3) 奈良先端大・情報科学、(4) 科技団・CREST、大腸菌 K-12 株の網羅的な遺伝子欠失株『慶應コレクション』の作製、第 25 回日本分子生物学会 (神奈川県、横浜市、パシフィコ横浜) 平成 14 年 12 月 11 日
- 111). 荒 武(1,4), 松田秀雄(2,4),大阪大学 & CREST : 森 浩禎(1,3,4), 慶應義塾(1), 大阪大学大学院(2), 奈良先端科学技術大学院大学(3), CREST(4) Comparison of gene families of E.coli and Salmonella, "Functional Genomics of E. coli: Development and Perspectives of Useful Resources" 淡路夢舞台国際会議場,兵庫県津名郡,平成 15 年 3 月 19 日
- 112). Ikuta, Y.¹, Asahi, H.¹, Hirai, A.², Ara, T.³, Kanaya, S.⁴, Mori, H.⁴, (1 CREST, 2 NEDO, 3 Inst. Adv. Biosci., Keio Univ., 4 NAIST) *E. coli* genome database 【GenoBase4.1】 ,ワークショップ「大腸菌ゲノミクスのさらなる発展に向けて : リソースの開発と今後」, 淡路夢舞台国際会議場,兵庫県津名郡,平成 15 年 3 月 19 日
- 113). 森浩禎(1)(3)、和田千恵子(2)、大島拓(1)、金谷重彦(4)、馬場知哉(2)、伊藤文(3)、荒武(2)、前田真希(5)、ムハマドアルフッザマン(6)、北川正成(1)(5)、井岡朋子(5)、稲本英次(5)、豊永宏美(5)、山本奈津子(6) (1 奈良先端大・遺伝子教育研究センター、2 慶大・先端生命研、3 京大・ウィルス研、4 奈良先端・情報、5 新エネルギー開発機構、6 科技団) 大腸菌細胞内転写及びタンパク質相互作用ネットワーク解明、第 25 回分子生物学会年会、パシフィコ横浜、横浜、平成 14 年 12 月 11 日—12 日
- 114). 金谷重彦(1)、大島拓(1)、池村淑道(2)、西達也(3)、森浩禎(1) (1 奈良先端科学技術大学院大学、2 国立遺伝学研究所、3 有限会社ジナリス)、自己組織化法による発現プロファイルの網羅解析、第 25 回分子生物学会年会、パシフィコ横浜、横浜、平成 14 年 12 月 11 日—12 日
- 115). 山岸一雄(1)、大島 拓(1)、増田 泰(2)、金谷重彦(1)、森 浩禎 (1)(1 奈良先端大・遺伝子教育研究センター、2JST・CREST)、開始コドン周辺 cis-element を利用した翻訳効率予測、第 25 回分子生物学会年会、パシフィコ横浜、横浜、平成 14 年 12 月 11 日—12 日
- 116). 伊藤文(1)、前田真希(2)(5)、北川正成(3)、ムハマドアルフッザマン(4)、井岡朋子(2)、豊永宏美(2)、稲本英次(2)、和田千恵子(5)、森浩禎(1)(2)(3)、(1 慶大・先端生命研 2 科技団・CREST 3 奈良先端大・遺伝子教育研究センター、4 新エネルギー産業技術総合開発機構・NEDO 5 京大・ウィルス研)、大腸菌の網羅的タンパク質間相互作用ネットワーク構築に向けて : His - タグ結合タンパク質による Pull-Down 手法の適応、第 25 回

分子生物学会年会、パシフィコ横浜、横浜、平成14年12月11日—12日

- 117). 仁木宏典(1)、小方康至(1)、北川正成(2)、井岡朋子(3)、豊永宏美(3)、稲本英次(3)、大島拓(2)(3)、金谷重彦(3)、森浩禎(2)(3)、(1 遺伝研・RI 2 奈良先端大 3 CREST・JST)、大腸菌全遺伝子の緑色蛍光タンパク質融合クローンを用いた大腸菌タンパク質の細胞内局在の網羅的観察、第25回分子生物学会年会、パシフィコ横浜、横浜、パシフィコ横浜、平成14年12月11日—12日
- 118). 福島敦史(1)、池村淑道(2)、大島拓(3)、森浩禎(3)、金谷重彦(4) (1 奈良先端大・バイオサイエンス、2 国立遺伝研・進化遺伝、3 奈良先端大・遺伝子教育研究センター 4 奈良先端大・情報科学) スペクトル解析によるゲノムの周期性と比較、第25回分子生物学会年会、パシフィコ横浜、横浜、平成14年12月11日—12日
- 119). 山本兼由(1)、餐場浩文(2)、大島拓(3)、平尾貴世(1)、森浩禎(3)、水野猛(2)、石浜明(4)、内海龍太郎(1)、(1 近畿大・農 2 名大院・生命農学 3 奈良先端大・遺伝子教育研究センター 4 日本生物科学研・分子生物)、細菌情報伝達ネットワーク：リン酸リレークロストーク(1) 第25回分子生物学会年会、パシフィコ横浜、横浜、平成14年12月11日—12日
- 120). 北尾公英(1)、大島拓(1)、野嶋秀明(2)、森浩禎(1)、(1 奈良先端大・遺伝子教育研究センター・生体情報 2 阪大・医研)、大腸菌 LysR type 転写制御因子 YhaJ の解析、第25回分子生物学会年会、パシフィコ横浜、横浜、平成14年12月11日—12日
- 121). 安藤弘樹(1)、大島拓(1)、Arifuzzaman Mohammad(1)、前田真希(2)、和田千恵子(2)、森浩禎(1)、(1 奈良先端大・遺伝子教育研究センター・生体情報 2 京大・ウイルス研)、大腸菌 HSP40 ファミリー(DnaJ,CbpA)の機能解析、第25回分子生物学会年会、パシフィコ横浜、横浜、平成14年12月11日—12日
- 122). 大谷直人(1)(2)、宮本悦子(1)、高嶋 秀明(1)、馬場知哉(2)、森浩禎(1)、柳川弘志(1)(2)、(1 慶應大・先端生命研 2 慶應大・院理工 3 奈良先端大)、In vitro virus を用いた大腸菌タンパク質相互作用ネットワークの解析、第25回分子生物学会年会、パシフィコ横浜、横浜、平成14年12月11日—12日
- 123). 前野 聖(1)、大島 拓(1)、森浩禎(1)、金谷重彦(2)、(1 奈良先端大・遺伝子教育研究センター 2 奈良先端大・情報科学・比較ゲノム)、マイクロアレイデータを用いた大腸菌の転写単位推定、第25回分子生物学会年会、パシフィコ横浜、横浜、平成14年12月11日—12日
- 124). 杉浦雅仁(1)、大島 拓(2)、Barry Wanner (3) 森浩禎(2)、餐場浩文(1)、水野 猛(1)、(1 名大院、2 生命農学奈良先端大・遺伝子セ、3 Purdue Univ.Dep.Biol.Sci)、大腸菌 His-Asp リン酸リレー情報伝達系によるシグマS調節の解析、第25回分子生物学会年会、パシフィコ横浜、横浜、平成14年12月11日—12日
- 125). Elizabeth Tenorio¹, Saeki, T.², Fujita, K.⁵, Baba, T.³, Mori, H.^{4,5}, Isono, K.^{1,5}, (¹ Kobe

- Univ., Fac. Sci., Dept. Biol.,² Amano Foods Corp.,³ Keio Univ., Inst. Adv. Biosci.,⁴ Nara Adv. Inst. Sci. Technol.,⁵ CREST), Systematic disruption of *E. coli* genes involved in the outer-membrane and effects on biofilm formation, 第25回分子生物学会年会、パシフィコ横浜、横浜、平成14年12月11日—12日
- 126). 前田真希^{1,2}、森 浩禎^{1,3}、和田千恵子^{1,2} (¹ 科技団・CREST、² 京大・ウイルス研、³ 奈良先端大・遺伝子教育研究センター) MALDI-TOFMS による多量タンパク質サンプルの同定法、Functional Genomics of *E. coli* Development and Perspectives of Useful Resources、淡路夢舞台国際会議場、兵庫県津名郡、平成15年3月19日
- 127). 藤島博史、西村昭子 (国立遺伝学研究所), 大腸菌の細胞分裂遺伝子 *ftsX* はマルチスパン型膜蛋白質の膜局在に關与する, 第5回日本分子生物学会年会, パシフィコ横浜, 横浜, 2002年12月11日
- 128). 坂 季美子、松本 典子、西村 昭子 (遺伝研), 大腸菌の細胞分裂機構の全体像, 第5回日本分子生物学会年会, パシフィコ横浜, 横浜, 2002年12月11日
- 129). 三木健良^{1,7}、山本義弘^{2,7}、林 晃司^{3,7}、藤田克利^{4,7}、小幡智美^{1,7}、中川 明^{5,7}、松田秀雄^{6,7}、磯野克己^{4,7}、堀内 嵩^{3,7}、森 浩禎^{5,7}、(¹ 福岡歯科大、² 兵庫医大、³ 基生研、⁴ 神戸大・理、⁵ 奈良先端大・遺伝子センター、⁶ 大阪大院・情報科学、⁷ 科技団・CREST) 系統的、網羅的な大腸菌遺伝子破壊株の作製, 第5回日本分子生物学会年会, パシフィコ横浜, 横浜, 2002年12月11日
- 130). 飯田恵美子¹、紙谷浩之¹、原島秀吉¹、紙谷 (村田) 尚子²、三木健良³、山本義弘⁴、(¹ 北大院・薬、² 産総研・生物機能工学、³ 福岡歯大・歯、⁴ 兵庫医科大・医) *orf135* 遺伝子欠損大腸菌における変異誘発、第25回日本分子生物学会年会、横浜、2002年12月13日
- 131). Miki, T., Yamamoto, Y., Hayashi, K., Fujita, K., Obata, K., Tanaka, N., Nakagawa, A., Matsuda, H., Isono, K., Horiuchi, T., Mori, H., Systematic Function Analysis of *Escherichia coli* Genes, “Functional Genomics of *Escherichia coli* Development and Perspectives of Useful Resources”, 淡路夢舞台国際会議場、兵庫県津名郡、平成15年3月19日
- 132). 三宅晶子、遠里由佳子、竹中要一、松田秀雄、(阪大院・基工・情報数理) 代謝反応パスウェイ中の類似反応パターンとゲノムとの比較手法、第25回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜、横浜、2002年12月11日
- 133). 和田千恵子 (京大ウイルス研、CREST)、前田真希 (CREST、ウイルス研)、和田明 (大阪医大)、小林元悟 (京大ウイルス研)、吉田秀司 (大阪医大)、RFHR 二次元電気泳動法による大腸菌のプロテオミクスとその応用：ObgE タンパク質の機能解析、第2回日本蛋白質科学会、名古屋国際会議場、2002年6月14日
- 134). 森浩禎 1、2、和田千恵子 3、大島拓 1、金谷重彦 4、馬場知哉 2、伊藤文 2、荒武 2、前田真希 6、ムハマドアルフッザマン 5、北川正成 1、井岡朋子 1、稲本英次 6、豊永宏美 6、山本奈津子 5 (¹ 奈良先端大・遺伝子センター、² 慶應大・先端生命研、³ 京大・

- ウイルス研、4 奈良先端大・情報、5 新エネルギー開発機構、6 科技団) 大腸菌細胞内転写及びタンパク質相互作用ネットワーク解明、第 25 回日本分子生物学会、パシフィコ横浜、横浜、2002 年 12 月 12 日
- 135). 前田真希^{1,2}, ムハマドアルフツザマン^{3,4}, 伊藤文⁵, 荒武⁶, 大島拓⁴, 金谷重彦⁶, 森浩禎^{4,5}, 和田千恵子² (¹ 科技団, ² 京大・ウイルス研, ³ 新エネルギー開発機構, ⁴ 奈良先端大・遺伝子センター, ⁵ 慶應大・先端生命研, ⁶ 奈良先端大・情報) 大腸菌のプロテオーム解析のためのタンパク質の同定法: MALDI-TOF MS による多量サンプルの同定法、第 25 回日本分子生物学会、パシフィコ横浜、横浜、2002 年 12 月
- 136). 山本奈津子¹, 森浩禎^{2,3}, 和田千恵子⁴ (¹ 新エネルギー産業技術総合開発機構・NEDO, ² 奈良先端大・遺伝子教育研究センター, ³ 慶應大・先端生命研, ⁴ 京大・ウイルス研) 大腸菌の F プラスミド保持に関与する *mafA* 変異株の遺伝子同定及びマルチコピーサプレッサーの解析、第 25 回日本分子生物学会、パシフィコ横浜、横浜、2002 年 12 月 11 日
- 137). 仁木宏典¹、小方康至¹、北川正成²、井岡朋子³、豊永宏美³、稲本英次³、大島拓^{2,3}、金谷重彦²、森浩禎^{2,3} (¹ 遺伝研・RI、² 奈良先端大、³ CREST・JST) 大腸菌全遺伝子の緑色蛍光タンパク質融合クローンをを用いた大腸菌タンパク質の細胞内局在の網羅的観察、第 25 回日本分子生物学会、パシフィコ横浜、横浜、2002 年 12 月 11 日—12 日
- 138). Niki, H., (National Institute of Genetics), E.coli gene products: analysis of their subcellular localization and associated problems、ワークショップ「大腸菌ゲノミクスのさらなる発展に向けて: リソースの開発と今後」、夢舞台国際会議場、兵庫県、平成 15 年 3 月 19 日-20 日
- 139). Kanaya, S.¹, H., Oshima, T.¹, Maeno, H.¹, Masuda, Y.², Nishi, T.³, Ikemura, T.³, Mori, H.¹, (¹Nara institute of Science and Technology, ²National Institute of Longevity Sciences, ³Genaris Inc., ⁴National Institute of Genetics), Integrated Analysis for genome and transcriptome focused on bacteria, ワークショップ「大腸菌ゲノミクスのさらなる発展に向けて: リソースの開発と今後」、夢舞台国際会議場 兵庫県, ワークショップ「大腸菌ゲノミクスのさらなる発展に向けて: リソースの開発と今後」、夢舞台国際会議場、兵庫県、平成 15 年 3 月 19 日-20 日
- 140). Mori, H., (Nara Institute of Science and Technology, Nara, Japan Institute for Advanced Biosciences, Keio, Tsuruoka, Japan), Toward the systems biology in Escherichia coli., ワークショップ「大腸菌ゲノミクスのさらなる発展に向けて: リソースの開発と今後」、夢舞台国際会議場、兵庫県、平成 15 年 3 月 19 日-20 日
- 141). Elizabeth Tenorio¹, Saeki T.¹, Fujita K.², Baba T.³, Kitagawa M.⁴, Aiba H.⁵, Oshima, T.⁶, Mori, H.⁶, Isono, K.^{1,2}, (¹ Department of Biology, Faculty of Science, Kobe, ² CREST Japan, ³ Institute of Advanced Bioscience, Keio University, ⁴ Dragon Genomics Ltd, ⁵ School of

- Agriculture, Nagoya University, ⁶ Research and Education Center for Genetic Information, Nara Institute of Science and Technology), Systematic Characterization of *E.coli* Genes/ORFs Affecting Biofilm Formation, ワークショップ「大腸菌ゲノミクスのさらなる発展に向けて：リソースの開発と今後」, 夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 3 月 19 日-20 日
- 142). Nishimura, A.*, Saka, K.*, Nakade S.*, Tademura, M.*, Matsumoto, N.*, Nishikawa K.*, Ichiyoshi, N.*, Kitagawa, M.***, Mori, H.***, (*National Institute of Genetics, ** Mitsubishi Research Institute, ***Nara Institute of Science and Technology), A complete set of *E.coli* genes/ORFs on a mobile plasmid: its successful use in the isolation of all division mutants, WORKSHOP “Functional Genomics of *Escherichia coli* Development and Perspectives of Useful Resources”, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫県, 2003 年 3 月 19 日
- 143). 木ノ内誠¹ 工藤喜弘¹ (1 山形大学工学部), 一括学習 SOM の学習高速化, ワークショップ「大腸菌ゲノミクスのさらなる発展に向けて：リソースの開発と今後」, 夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 3 月 19 日-20 日
- 144). 工藤喜弘、今野富晴、佐藤勇一、宮本純子、三塚智一、大矢敏行、野辺地雄司、木ノ内誠, (山形大学工学部), 細菌の tRNA 遺伝子の共通タンデム, ワークショップ「大腸菌ゲノミクスのさらなる発展に向けて：リソースの開発と今後」, 夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 3 月 19 日-20 日
- 145). Jiao Zhao¹, Baba T.,² Mori, H.², Shimizu, K.^{1,3}, (1 Metabolome Unit, Institute for Advanced Biosciences, Keio University, 2 Genome Engineering Unit, Institute for Advanced Biosciences, Keio University, 3 Department of Biochemical Engineering & Science, Kyushu Institute of Technology), Metabolic Flux Analysis for *Escherichia coli* with Gene Knockout in Oxidative Pentose Phosphate Pathway by Using a Newly Developed Algorithm, ワークショップ「大腸菌ゲノミクスのさらなる発展に向けて：リソースの開発と今後」, 夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 3 月 19 日-20 日
- 146). Makinoshima, H.¹, Kato, J.², Miki, T.³, Mori, H.⁴, Nishimura, A.⁵, Ishihama, A.⁶, (1 Nippon Institute for Biological Science, 2 Tokyo Metropolitan University, 3 Fukuoka Dental College, 4 Nara Institute for Science and Technology, 5 National Institute of Genetics, 6 Institute for Biological Science), Physiological, Morphological and Molecular Changes of *Escherichia coli* during Transition from Exponential Growth to Stationary Phase, ワークショップ「大腸菌ゲノミクスのさらなる発展に向けて：リソースの開発と今後」, 夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 3 月 19 日-20 日
- 147). 皆川 周¹、小笠原 寛¹、加藤 明宜¹、山本 兼由^{1,2}、大島 拓³、森 浩禎³、石浜 明⁴、内海 龍太郎^{1,2} (1 近大院・応生化、2 近大農、3 奈良先端大、4 遺伝研)、大腸菌 Mg2+ステイミュロンの分子機構、ワークショップ「大腸菌ゲノミクスのさらなる発展に向けて：リソースの開発と今後」, 夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 3 月 19 日-20 日

- 148). 甘 翔¹、北川 円²、吉野 健一³、米澤 一仁³、加藤 晃弘⁴、井上 弘一⁴、磯野 克己^{1,2}、(¹ Grad. School of Sci.& Tech., Kobe Univ., ² Dept. of Biology, Kobe Univ., ³ Kobe Univ. Biosignal Research Center, ⁴ Saitama Univ. Fac. Sci. Lab. Genet.) Structure and Function of the Mitochondrial Ribosomal proteins: Comparative Studies and Their Evolutionary Implications、ワークショップ「大腸菌ゲノミクスのさらなる発展に向けて：リソースの開発と今後」、夢舞台国際会議場、兵庫県、平成 15 年 3 月 19 日-20 日
- 149). 西潟 憲策¹、新田 実¹、藤井 信之¹、金谷 重彦¹、Md. Arifuzzaman²、大島 拓²、森 浩禎² (¹ 奈良先端大学院大学・情報科学研究科・情報生命科学専攻、² 奈良先端大学院大学・遺伝子研究センター) ワークショップ「大腸菌ゲノミクスのさらなる発展に向けて：リソースの開発と今後」、夢舞台国際会議場、兵庫県、平成 15 年 3 月 19 日-20 日
- 150). 山本兼由¹、大島拓³、饗場浩文⁴、平尾貴世²、松本書郁¹、福本哲也¹、川楠礼子¹、久保田清和¹、坂上拓²、加藤明宣²、北川正成³、水野猛⁴、森浩禎³、石浜明⁴、内海龍太郎^{1,2}、(¹ 近畿大・農、² 近畿大院・応用生命、³ 奈良先端大・遺伝子教育センター、⁴ 名大院・生命農学、⁵ 日本生物科学研) 大腸菌二成分制御系センサー、レギュレーター間相互作用の網羅的解析、ワークショップ「大腸菌ゲノミクスのさらなる発展に向けて：リソースの開発と今後」、夢舞台国際会議場、兵庫県、平成 15 年 3 月 19 日-20 日
- 151). Wada, C.^{3,4}, Arifuzzaman Md^{1,2}, Maeda, M.^{3,4}, Oshima, T.², Itoh A.⁵, Kanaya, S.⁶, Kitagawa, M.², Mori, H.^{1,2,3}, (¹ NEDO, ² Res.&Edu.Cent.Gen.Info.NAIST, ³ CREST JST, ⁴ Inst.Virus Res. Kyoto Univ., ⁵ Inst. Adv. Biosci., Keio., Univ., ⁶ Gra. Sch.Inf.Sci.NAIST), Genome-wide analysis of protein-protein interactions in *Escherichia coli*, ワークショップ「大腸菌ゲノミクスのさらなる発展に向けて：リソースの開発と今後」、夢舞台国際会議場、兵庫県、平成 15 年 3 月 19 日-20 日
- 152). 新名主力オリ¹、宮本佳子¹、山本義弘^{2,4}、三木健良^{3,4}、(¹ 九州大学院・薬、² 兵庫医大、³ 福岡歯科大、⁴ 科技団・CREST) 大腸菌 K12 株染色体上のシス部分二倍体形成を阻害する DNA 領域、遺伝子の解析、第 25 回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜、横浜、2002 年 12 月 11 日
- 153). Oshima, T.¹, Aiba, H.², Masuda, Y.¹, Kanaya, S.¹, Sugiura, M.², Barry L. Wanner³, Mizuno, T.² and Mori, H.¹, (¹ Research and Education Center for Genetic Information, Nara Institute of Science and Technology, ² Laboratory of Molecular Microbiology, School of Agriculture, Nagoya University, ³ Department of Biological Sciences, Purdue University), Transcriptome analysis of all two-component regulatory systems of *Escherichia coli*, ワークショップ「大腸菌ゲノミクスのさらなる発展に向けて：リソースの開発と今後」夢舞台国際会議場 兵庫県、平成 15 年 3 月 19 日-20 日
- 154). Matsuda, H., Miyake, S., Tohsato, Y., Takenaka, Y., A clustering method for comparing

microbial genomes with their metabolic pathways, WORKSHOP “Functional Genomics of Escherichia coli Development and Perspectives of Useful Resources”, 淡路夢舞台国際会議場、兵庫県, 2003 年 3 月 19 日

- 155). Tomoya Baba(1), Takeshi Ara(1), Yoshiko Okumura(1), Miki Hasegawa(1), Yuki Takai(1), Taku Ohshima(2), Shigehiko Kanaya(2) and Hirotada Mori(1, 2, 3), (1) Institute for Advanced Biosciences, Tsuruoka, Japan, (2) Nara Institute of Science and Technology, Ikoma, Japan, (3) CREST, Construction of systematic gene deleted *E. coli* K-12 strains, "Keio collection", 日米合同ワークショップ "US-JAPAN Joint Workshop on Systems Biology of Useful Microorganisms", 慶應義塾大学鶴岡タウンキャンパス, 山形県, 平成 14 年 9 月 17 日
- 156). 金谷重彦¹、大島拓¹、池村淑道²、西達也³、森浩禎¹ (奈良先端科学技術大学院大学、国立遺伝学研究所、有限会社ジナリス) 自己組織化法による発現プロファイルの網羅解析、第 25 回分子生物学会、パシフィコ横浜、横浜、平成 14 年 12 月 11-14 日
- 157). 木ノ内誠¹、高田直志²、工藤喜弘¹、(¹ : 山形大学工学部、² : 山形大学大学院) 一括学習型自己組織化マップの高速学習、第 25 回情報化学討論会、豊橋、平成 14 年 11 月 12 日-13 日
- 158). 林稔久¹、木ノ内誠²、工藤喜弘² (¹ : 山形大学大学院、² : 山形大学工学部) 遺伝情報質疑の広場、日本コンピュータ化学会 2002 秋季年会、米沢、平成 14 年 11 月 2 日-3 日
- 159). Hayashi, K., ²Yamamoto, ³Y., Choi, S., ³Chang-gyun Han, ³Ohtsubo, E., ⁴Ioka, T., ⁴Toyonaga, H., ⁵Nakade, S., ⁵Oshima, T., ^{4,5}Mori, H., and ¹Horiuchi, T. (¹National Insutitute for Basic Biology, ²Hyogo College of Medicine, ³The University of Tokyo, ⁴CREST, ⁵Nara Institute of Science and Technology) The whole genome sequence of W3110(Kohara) strain and a comparison with that of MG1655, First IECA Conference on Systems Biology of E.coli, Tsuruoka, Yamagata, 平成 15 年 6 月 25 日
- 160). Niki, H., ¹Ogata, Y., ²Kitagawa, M., ³Ioka, T., ³Toyonaga, H., ³Inamoto, E., ^{2,3}Oshima, T., ³Kanaya, S., and ^{2,3}Mori, H. (¹NIG,RI, ²Nara Inst. Sci. Tech, ³CREST, JST, Inst. Adv. BioSci., Keio Univ.) Screening of subcellular protein localization in living Esherichia coli cell by using a complete GFP-fusion gene library, First IECA Conference on Systems Biology of E.coli, Tsuruoka, Yamagata, 平成 15 年 6 月 25 日
- 161). ^{1,2}Md.Arifuzzaman, ²Oshima, T., ⁵Itoh, A., ⁵Saito, R., ⁵Ara, T., ⁶Altaf-Ul-Amin, ⁶Nishikata, K., ³Maeda, M., ³Takita, C., ⁵Kimura, H., ⁵Nakamura, S., ⁵Tomita, M., ⁶Kanaya, S., ^{3,4}Wada, C., and ^{1,2,3,5}Mori H. (¹ NEDO, ² Res. & Edu. Cent. Gen. Info. NAIST, ³ CREST JST, ⁴ Inst. Virus Res., ⁵ Inst. Adv. Biosci., Keio Univ., ⁶ Gra. Sch. Inf. Sci. NAIST) Genome-wide analysis of protein-protein interactions in

Escherichia coli First IECA Conference on Systems Biology of *E.coli*, Tsuruoka, Yamagata, 平成 15 年 6 月 25 日

- 162). Mori, H., (Institute for Advanced Biosciences, Keio University, Tsuruoka, Japan Research and Education Center for Genetic Information, Nara Institute of Science and Technology, Ikoma, Japan) Functional genomics of *Escherichia coli* in Japan: Present situation & perspectives, First IECA Conference on Systems Biology of *E.coli*, Tsuruoka, Yamagata, 平成 15 年 6 月 25 日
- 163). Oshima, T., Kanaya, S., Mori, H., (Nara Institute of Science and Technology, Japan) Transcriptome analysis in *E.coli*, First IECA Conference on Systems Biology of *E.coli*, Tsuruoka, Yamagata, 平成 15 年 6 月 25 日
- 164). Baba, T.¹, Ara, T.¹, Okumura, Y.¹, Hasegawa, M.¹, Takai, Y.¹, Oshima, T.³, Tomita, M.¹, Barry L. Wanner⁴, and Mori, H.^{1, 2, 3} (¹Institute for Advanced Biosciences, Keio University, Tsuruoka, Japan²CREST, JST (Japan Science and Technology) ³Research and Education Center for Genetic Information, Nara Institute of Science and Technology, Ikoma, Japan⁴Department of Biological Sciences, Purdue University, West Lafayette, USA), Overview of *Escherichia coli* K-12 genome from systematic construction of single gene deletion mutants, “KO Collection”, First IECA Conference on Systems Biology of *E.coli*, Tsuruoka, Yamagata, 平成 15 年 6 月 25 日
- 165). Ara, T.¹, Asahi H.², Hirai, A.³, Ikuta, Y.², Kanaya, S.^{2,4}, Isono, K.^{2,5}, Mori, H.^{1,2,4} (¹Institute for Advanced Biosciences, Keio University, ²CREST/JST, ³NEDO, ⁴Research and Education Center for Genetic Information/NAIST, ⁵NITE)GenoBase - *Escherichia coli* genome and resource database, 大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析—リソースから生物システム、そしてモデル化へ—, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 10 月 15 日
- 166). Aiba, H., Sugiura, M., ²Yamamoto, K., ³Oshima, T., ²Utsumi, R., ³Mori, H., ¹Mizuno, T. (¹Nagoya University, ²Kinki Univ., ³NAIST), Regulatory networks among two component systems in *Escherichia coli*, 大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析—リソースから生物システム、そしてモデル化へ—, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 10 月 15 日
- 167). Utsumi, R., ¹Eguchi, Y., ¹Minagawa, S., ¹Ogasawara, H., ¹ Yamamoto, K., ²Ishihama, A., ³ Oshima, T., ³ Mori, H., (¹Kinki University, ²Nippon Institute for Biological Science, ³Nara Institute of Science and Technology), Analysis of signal transduction network by use of an *E. coli* DNA microarray, 大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析—リソースから生物システム、そしてモデル化へ—, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 10 月 15 日

- 168). Mori, H., (Nara Institute of Science and Technology), Systematic Approaches to Escherichia coli K-12: Towards the Modeling of a Cell, 大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析—リソースから生物システム、そしてモデル化へ—, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 10 月 15 日
- 169). ¹Baba, T., ¹Ara, T., ¹Hasegawa, M., ¹Takai, Y., ¹Okumura, Y., ²Wakamatsu, Y., ³Ohshima, T., ¹Tomita, M., ⁴Barry L. Wanner, ^{1,2,3} Mori, H.^{1,2,3} (¹Inst. Adv. Biosci. Keio Univ., ²CREST JST, ³R&E. Cent. Gen. Info. NAIST, ⁴Dep. Bio. Sci / Purdue Univ.), “KO collection”, Systematic Gene Deleted Mutants for Genome Analysis of E. coli, 大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析—リソースから生物システム、そしてモデル化へ—, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 10 月 15 日
- 170). ¹Nishimura, A., ¹Saka, K., ¹Tadenuma, M., ¹Nishikawa, K., ¹Sugawara, H., ¹Nakade, S., ¹Matsumoto, N., ¹ Itoh, K., ²Kitagawa, K., ²Mori, H., (¹National Institute of Genetics, ²Nara Institute of Science and Technology), A complete set of E. coli genes/ORFs on a mobile plasmid: successful use in the isolation of all cell division mutants, 大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析—リソースから生物システム、そしてモデル化へ—, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 10 月 15 日
- 171). ¹Wada, A., ^{2,3}Maeda, M., ¹Yoshida, H., ^{2, 4, 5}Mori, H., ^{2,3} Wada, C., (¹ Osaka Med. Coll., ²CREST JST (H. Mori team), ³ Inst. Virus Res., Kyoto Univ., ⁴Res. & Edu. Cent. Gen. Info. NAIST, ⁵Inst. Adv. Biosci., Keio Univ.), RFHR 2D PAGE as a new tool for proteomics: Application to Escherichia Coli, 大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析—リソースから生物システム、そしてモデル化へ—, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 10 月 15 日
- 172). ¹Md. Arifuzzaman, ¹Maeda M., ¹Oshima, T., ¹Altaf-Ul-Amin, ¹Nishikata, K., ²Itoh, A., ²Ara, T., ²Saito, R., ¹Kanaya S., ³Wada, C., ¹Mori, H., (¹Nara Institute of Science and Technology, ²Keio University, ³Kyoto University), Comprehensive analysis of Protein-protein Interactions in Escherichia coli, 大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析—リソースから生物システム、そしてモデル化へ—, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 10 月 15 日
- 173). ¹Niki, H., ^{2,3,4}Ogata, Y., ^{2,3}Kitagawa, M., ⁵Ioka, T., ⁴Toyonaga, H., ⁴Inamoto, E., ⁵Oshima T., ⁴Kanaya, S., ^{4,5} Mori, H., (¹National Institute of Genetics, ²NIG, ³RI, ⁴CREST / JST, ⁵Nara Inst. Sci. Tech), Screening of subcellular protein localization in living Escherichia coli cell by using a complete GFP-fusion gene library, 大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析—リソースから生物システム、そしてモデル化へ—, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 10 月 15 日
- 174). ¹Horiuchi, T., ^{2,3}Mori, H., ⁴Yamamoto, Y., ⁵Sunju Choi, ⁵Chang-Gyun Han, ⁵Ohtsubo, E., ²Ioka, T., ²Toyonaga, H., Shinsuke ³Nakade, S., ³Oshima, T.,

- ¹Hayashi, K., (¹National Institute for Basic Biology (NIBB), ²CREST, ³Nara Institute of Science and Technology (NAIST), ⁴Hyogo College of Medicine, ⁵The University of Tokyo), The whole genome sequence of W3110(Kohara) strain and a comparison with that of MG1655, 大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析—リソースから生物システム、そしてモデル化へ—, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 10 月 15 日
- 175). ¹Yamazaki, Y., ¹Yamakawa, T., ¹Nishimura, A., ²Kato, J.², (¹Natl. Inst. Genetics, ²Tokyo Metropolitan Univ.), PEC (Profiling of E. coli Chromosome) Database, 大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析—リソースから生物システム、そしてモデル化へ—, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 10 月 15 日
- 176). Kobayashi, K., Kanaya, S., Ishikawa, S., Kaido, T., Ogasawara, N., (Graduate School of Information Science, Nara Institute of Science and Technology), Post-genome analysis of Bacillus subtilis, 大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析—リソースから生物システム、そしてモデル化へ—, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 10 月 16 日
- 177). Taku Oshima, (Nara Institute of Science and Technology), Comprehensive analysis of transcriptional networks in E. coli using Microarray, 大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析—リソースから生物システム、そしてモデル化へ—, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 10 月 16 日
- 178). ¹Ishihama, A., ¹Makinoshima, H.¹, ¹Shimada, T., ²Kato, J., ³Miki, T., (¹Nippon Institute for Biological Science, ²Tokyo Metropolitan University, ³Fukuoka Dental College), Control of Genome Transcription during E. coli Differentiation, 大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析—リソースから生物システム、そしてモデル化へ—, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 10 月 16 日
- 179). ^{1,2}Kanaya, S., ¹Nishio, H., Md. Altaf-Ul-Amin³, ⁴Nakamura, Y., ¹Kobayashi, K., ¹Ogasawara, N., ¹Oshima, T., ¹Mori, H., (¹NARA Institute of Science and Technology, ²ACT-JST(Applying advanced Computational Science and Technology, Japan Science and Technology Corp.), ³NEDO (New Energy and Industrial Technology Development Organization), ⁴Social Education Foundation), Visualization of State Transition of Cell in Gene Expression Profile Based on Expression Profile Using BL-SOM, 大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析—リソースから生物システム、そしてモデル化へ—, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 10 月 16 日
- 180). ¹Kusui, D., ¹Mizuguchi, H., ²Oshima, T., ²Kanaya, S., ^{2,3}Mori H., (¹Internet Systems Research Laboratories, NEC Corporation, ²Research and Education Center for Genetic Information, Nara Institute of Science and Technology, ³Institute for Advanced Biosciences, Keio University), KAREIDMAP : Gene

Regulatory Network Analysis Support System Using DNA Microarray Data, 大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析—リソースから生物システム、そしてモデル化へ—, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 10 月 16 日

- 181). Miki, T.^{1,7}, Horiuchi, T.^{2,7}, Isono, K.^{3,7}, Matsuda, H.^{4,7}, Mori, H.^{5,7}, and Yamamoto, Y.^{6,7}, (¹Fukuoka Dental College, ²Natl. Inst. Basic Biology, ³Kobe Univ. ⁴Osaka Univ., ⁵Nara Inst.Sci. Tech., ⁶Hyogo Coll. Med. ⁷JST-CREST), Systematic Function Analysis of Escherichia coli Genes, 大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析—リソースから生物システム、そしてモデル化へ—, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 10 月 16 日
- 182). ¹Ito, M., ²Mor, H., ¹Mori, H., (¹JBA Kyowa Hakko Branch, ²Nara Institute of Science and Technology), Metabolomic Analysis of Escherichia coli K-12 Mutants with Deletions of 1440 genes, 大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析—リソースから生物システム、そしてモデル化へ—, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 10 月 16 日
- 183). ¹Saito, R., ¹Nakamura, S., ¹Kimura, H., ¹Tsuzuki, K., ¹Takeda, K., ¹Kyuma, D., ¹Kobayashi, Y., ¹Fujimori, S., ^{1,2}Ara, T., ^{1,2}Itoh, A., ^{3,4}Md. Arifuzzaman, ²Maeda, M., ^{2,4}Oshima, T., ^{2,5}Wada, C., ^{1,2,4}Mori, H., ^{1,6}Tomita, M., (¹Institute for Advanced Biosciences, Keio University, ²CREST JST, ³NEDO, ⁴Research and Education Center for Genetic Information, Nara Institute of Science and Technology, ⁵Institute for Virus Research, Kyoto University, ⁶Faculty of Environmental Information, Keio University), Refinement and Mining of Protein-Protein Interaction Network in Escherichia coli, 大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析—リソースから生物システム、そしてモデル化へ—, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 10 月 16 日
- 184). ¹Tobe¹, T., Abe, H., ¹Ishikawa, H., ²Oshima, T., ³Hayashi, T., ⁴Tashiro, K., ⁴Kuhara, S., ²Mori, H., ¹Sugimoto, N., (¹Graduate School of Medicine, Osaka University, Japan, ²Nara Institute of Science and Technology, Japan, ³School of Medicine, Miyazaki University, ⁴Graduate School of Genetic Resources Technology, Kyusyu University), Regulatory interaction between virulence and non-virulence genes in pathogenic Escherichia coli, 大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析—リソースから生物システム、そしてモデル化へ—, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 10 月 17 日
- 185). ¹Yoshino, M., ¹Ogawa, T., ²Mori, H., ³Tomita, M., (¹Aichi Medical University, ²Nara Institute of Science and Technology, ³Keio University), Kinetic Analysis and Regulatory Properties of Glycolytic Enzymes purified from Archived Clones of E. coli, 大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析—リソースから生物システム、そしてモ

デル化へー, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 10 月 17 日

- 186). ¹Yamazaki, Y., ¹Yamakawa, T., ¹Nishimura, A., ²Kato, J., (¹Natl. Inst. Genetics, ²Tokyo Metropolitan Univ.), PEC (Profiling of *E. coli* Chromosome) Database, 大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析—リソースから生物システム、そしてモデル化へー, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 10 月 15 日
- 187). 三木健良、山本義弘、林晃司、田中直樹、藤田克利、小幡智美、中川明、松田秀雄、磯野克己、堀内嵩、森浩禎 (福岡歯科大学細胞分子生物学講座、兵庫医科大学、基礎生物学研究所、大阪大学基礎工学研究科、神戸大学理学部、奈良先端科学技術大学院大学遺伝子教育研究センター、科学技術振興事業団 (CREST) 系統的、網羅的な大腸菌遺伝子破壊株の作製、日本遺伝学会第 75 回大会・仙台東北大学川内北キャンパス、宮城県、平成 15 年 9 月 24 日
- 188). 大腸菌の網羅的蛋白質相互作用解析によるネットワーク構築にむけて、和田千恵子^{1,2}、Arifuzzaman Md^{3,4}、前田真希^{1,2}、大島拓⁴、金谷重彦⁵、荒武⁶、森浩禎^{2,3,4,6}、(¹京大・ウイルス研、²CREST、³NEDO、⁴奈良先端大・遺伝子教育研究センター、⁵奈良先端大・情報、⁶慶応大・先端生命研) 第 3 回日本蛋白質科学会、札幌、2003,6,25
- 189). 遠里由佳子、西條竜太郎、網浜貴夫、松田秀雄、橋本昭洋 (大阪大学) An algorithm for detecting similar reaction patterns between metabolic pathways, 第 9 回 International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology, コペンハーゲン, 平成 13 年 7 月 22 日
- 190). 藤田克利 (神戸大) Functional Analysis of the Chimeric Ribosome between *Saccharomyces Cerevisiae* Mitochondria and *Escherichia coli*, Fifth International Conference Ribosome Biogenesis and Nuclear Function Granlibakken, CA, USA、平成 12 年 8 月 18 日
- 191). 森浩禎 (奈良先端大) 磯野克己 (神戸大) 堀内嵩 (基生研) 三木健良 (九大) Functional genomics of *Escherichia coli* in Japan、Livets komplexa system Den funktionsgenomiska revolutionen、Sigtuna, Sweden 平成 12 年 11 月 18 日
- 192). Kobayashi, G. and Wada, C.: GTP-binding protein ObgE in *Escherichia coli*. The 2001 Molecular Genetics of Bacteria and Phages Meeting. Abstract p. 103, July 31-August 5, University of Wisconsin-Madison, U. S. A., 2001
- 193). K. Izutsu, C. Wada: The effect of global regulators on the expression of *rmf* (ribosome modulation factor) at the stationary phase in *Escherichia coli*. The 8th East Asian Joint Symposium on Biomedical Research, p. 31, Tokyo, July 2001
- 194). K. Izutsu, A. Wada, C. Wada: The effect of global regulators on the expression of *rmf* (ribosome modulation factor) at the stationary phase in *Escherichia coli*. The 3rd Fujihara International Seminar, Bacterial Cell Cycle 2001, Abstract p. 49, Osaka, September 18-20, 2001

- 195).G. Kobayashi and C. Wada: Deficiency of essential GTP-binding protein ObgE in *Escherichia coli* inhibits chromosome partition. The 3rd Fujihara International Seminar, Bacterial Cell Cycle 2001, Abstract p. 56, Osaka, September 18-20, 2001
- 196). Makoto Kinouchi, Yoshihiro Kudo, Detection of tRNA genes with introns from DNA sequences of Archaea, *Genome Informatics*, 12, 431-432, 2001, Yebisu Garden Place, Tokyo, Japan, December 17-19, 2001.
- 197).Atsushi Fukushima, Makoto Kinouchi, Yoshihiro Kudo, Shigehiko Kanaya, Hirotada Mori, Toshimichi Ikemura, Statistical analysis of genomic information: Various periodicities in DNA sequence. *Genome Informatics*, 12, 435-436, 2001. Yebisu Garden Place, Tokyo, Japan, December 17-19, 2001.
- 198). Yasushi Masuda, Shigehiko Kanaya, Hirotada Mori, XPAK: A visualization toolkit for transcriptome analysis. *Genome Informatics*, 12, 464-465, 2001. Yebisu Garden Place, Tokyo, Japan, December 17-19, 2001.
- 199). Hijiri Maeno, Shin-ichi Matsusaki, Yasushi Masuda, Taku Oshima, Hiroko Asahi, Shigehiko Kanaya, Hirotada Mori, Statistical comparison of expression profiles of genes, *Genome Informatics*, 12, 263-265, 2001. Yebisu Garden Place, Tokyo, Japan, December 17-19, 2001.
- 200). Shigehiko Kanaya, Hirotada Mori, Toshimichi Ikemura, Analysis of codon and nucleotide usage diversity of prokaryotes and eukaryote genomes with a self-organizing map. 5th Anton Dohrn Workshop, Natural selection and the neutral theory, Hotel Continental Terme - Ischia, Naples, October, 24-27, 2001.
- 201). Arifuzzaman M, Oshima T, Nakade S, Mori H. Interaction of sigma 70 with HscC (Hsc62), homolog of Hsp70 in *Escherichia coli*: the role of Hsp70 families as an anti-sigma factor. The 2001 Molecular Genetics of Bacteria and Phages Meeting, University of Wisconsin-Madison, July 31 - August 5, 2001
- 202). Izutsu, K. and Wada, C., (Institute for Virus Research, Kyoto University), Stress Response by ribosome modulation factor (RMF) in *Escherichia coli*, *Molecular Chaperones & the Heat Shock Response*. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York, U. S. A., may 3, 2002
- 203). Sato, A.¹, Kobayashi, G.¹, Maeda, M.², Takeyasu, K.¹ and Wada, C.², (¹Laboratory of Membrane Proteins and Nuclear Signaling Graduate School of Biostudies Kyoto Univ., ²Institute for Virus Research Kyoto Univ.), Effects of Obg homologue (ObgE) on ribosome maturation in *Escherichia coli*., The American Society for Cell Biology 42nd Annual Meeting. Moscone Convention Center, San Francisco, U.S.A., Dec. 2002
- 204). Baba, T.¹, Tomita, M.¹ and Mori, H.^{1,2} (¹Keio University, ²Nara Institute of

Science and Technology), Bridging between functional genomics and systems biology of *Escherichia coli* in Japan, The 2003 Molecular Genetics of Bacteria and Phage Meeting, Madison, Wisconsin, USA, 平成 15 年 8 月 6 日

(ウ) 出版物

- 1). 森浩禎 (奈良先端大)、大島拓 (CREST・奈良先端大) 大腸菌のトランスクリプトーム解析、ゲノム機能 発現プロファイルとトランスクリプトーム (編集 松原謙一) 平成 12 年 9 月 13 日刊行
- 2). 和田千恵子 (京都大学・ウイルス研究所) 『ゲノムの複製と分化』松影昭夫・正井久雄編 シュプリンガー・フェアラーク東京出版、複製の開始：原核細胞、2002 年 8 月

(エ) 特許出願 (国内 2 件、海外 1 件)

- 1). A. 発明者： 大島 拓、和田千恵子、森浩禎、平賀壮太
B. 発明の名称： 細菌の運動性関連遺伝子群発現の制御
C. 出願番号： 特願 2001-391826
D. 出願日： 平成 13 年 12 月 25 日
- 2). A. 発明者： 金谷 重彦、森浩禎、大島拓、増田泰
B. 発明の名称： 多変量解析システムおよび発現プロファイル解析方法
C. 出願番号： 特願 2002-55017
D. 出願日： 平成 14 年 2 月 28 日
- 3). A. 発明者： 大島 拓、和田 千恵子、森 浩禎、平賀 壮太
B. 発明の名称： 細菌の運動性関連遺伝子群発現 の制御
C. 出願番号： PCT/JP02/1353
D. 出願日： 平成 14 年 12 月 25 日

(オ) ポスター発表 (国内 30 件、海外 2 件)

- 1). Baba, T.¹, Tomita, M.¹ and Mori, H.^{1,2}(¹Keio University, ²Nara Institute of Science and Technology), “ KO Collection”, a Whole Set of Single Gene Knock-Out Mutants in *E. coli* K-12, The International Conference on Systems Biology (ICSB), ICSB 2003, St. Louis, Missouri, USA, 平成 15 年 11 月 8 日
- 2). Mori, H., Fundamental basis for modeling of *Escherichia coli* cells: Resource construction and systematic analyses. The International Conference on Systems Biology (ICSB), ICSB 2003, St. Louis, Missouri, USA, 平成 15 年 11 月 8 日
- 3). ¹Ikuta, Y., ¹Asahi, H., ²Hirai A., ³Ara, T., ⁴Kanaya, S., ^{3,5}Mori, H.,(¹CREST, JST, ² Kyowa Hakkou kogyo Co., Ltd, ³ Institute of Advanced Biosciences, Keio University, ⁴Dept. of Bioinformatics and Genomics, Nara Institute of Science and

- Technology, ⁵⁾R&E Center for Genetic Information, Nara Institute of Science and Technology) E.coli genomu database First IECA Conference on Systems Biology of E.coli, Tsuruoka, Yamagata, 平成 15 年 6 月 23 日-25 日
- 4). ^{1,2)}Ara, T.,^{2,3)} Matsuda, H., ^{1,2,4)}Mori, H., (¹⁾ Institute for Advanced Biosciences, Keio University, ²⁾ CREST, JST, ³⁾ Department of Bioinformatic Engineering, Osaka University, ⁴⁾ Research and Education Center for Genetic Information, Nara Institute of Science and Technology), Comparison of gene families of E.coli and salmonella, First IECA Conference on Systems Biology of E.coli, Tsuruoka, Yamagata, 平成 15 年 6 月 23 日-25 日
 - 5). Kimura, H., Nakamura, S., Saito, R., Ara, T., Itoh, A., Md.Arifuzzaman, Maeda, M., Oshima, T., Kanaya, S., Wada, C., Mori, H., Tomita, M., (¹⁾ Institute of Advanced Biosciences, Keio University, ²⁾ Bioinformatics Program, Graduate School of Media and Governance, Keio University ³⁾ Faculty of Environmental Information, Keio University, ⁴⁾ CREST, JST, ⁵⁾ NEDO, ⁶⁾ Research and Education Center for Genetic Information, Nara Institute of Science and Technology ⁷⁾ Institute for Virus Research, Kyoto University) Prediction of Interacting Motif from Protein-Protein Interaction Data of Escherichia coli First IECA Conference on Systems Biology of E.coli, Tsuruoka, Yamagata, 平成 15 年 6 月 23 日-25 日
 - 6). Nakagawa, A., Oshima, T., Mori, H., (Nara Institute of Science and Technology), Regulation of relA Gene Expression in Escherichia coli, First IECA Conference on Systems Biology of E.coli, Tsuruoka, Yamagata, 平成 15 年 6 月 23 日-25 日
 - 7). ^{1,6)} Nakamura, S., ¹⁾ Saito, R.,^{1,2)} Ara, T., ^{1,2)} Itoh, A., ^{3,4)} MD Arifuzzaman,²⁾ Maeda, M., ^{2,4)} Oshima, T., ^{2,4)} Kanaya, S., ^{2,5)} Wada, C., ^{1,2,4)} Mori, H., ^{1,7)}Tomita, M., (¹⁾Institute for Advanced Biosciences, Keio University, ²⁾ CREST, JST, ³⁾ NEDO, ⁴⁾ Research and Education Center for Genetic Information, Nara Institute of Science and Technology, ⁵⁾ Institute for Virus Research, Kyoto University, ⁶⁾ Bioinformatics Program, Graduate School of Media and Governance, Keio University, ⁷⁾ Faculty of Environmental Information, Keio University), Development of method to predict protein function of Escherichia coli using protein complex data, First IECA Conference on Systems Biology of E.coli, Tsuruoka, Yamagata, 平成 15 年 6 月 23 日-25 日
 - 8). Maeno, H., Oshima, T., Mori, H., Kanaya, S., (Nara Institute of Science and Technology), Transcription units prediction in E.coli from DNA microarray data, First IECA Conference on Systems Biology of E.coli, Tsuruoka, Yamagata, 平成 15 年 6 月 23 日-25 日
 - 9). ¹⁾Jiao Zhao, ²⁾Baba, T.,²⁾ Mori, H., ^{1,3)}Shimizu, K., (¹⁾Metabolome Unit, Institute for

- Advanced Biosciences, Keio University, Tsuruoka, Japan, ²⁾ Genome Engineering Unit, Institute for Advanced Biosciences, Keio University, Tsuruoka Japan, ³⁾ Department of Biochemical Engineering & Science, Kyushu Institute of Technology, Iizuka, Japan) Metabolic flux analysis of Escherichia coli with gene deletion in oxidative pentose phosphate pathway, First IECA Conference on Systems Biology of E.coli, Tsuruoka, Yamagata, 平成 15 年 6 月 23 日-25 日
- 10). Ito, A.¹⁾, Ohashi, Y. ¹⁾, Soga, T. ¹⁾, Mori, H.^{1,2)}, and Tomita, M.¹⁾ ,(¹⁾ Institute for Advanced Biosciences, Keio University, Tsuruoka, Japan, ²⁾ Research and Education Center for Genetic Information, Nara Institute of Science and Technology), Synthetic in vitro glycolysis, First IECA Conference on Systems Biology of E.coli, Tsuruoka, Yamagata, 平成 15 年 6 月 23 日-25 日
- 11). Qiang Hua¹⁾, ChenYang,¹⁾ Baba, T.,¹⁾ Oshima T.²⁾, Mori, H.^{1,2)}, Shimizu, K.^{1,3)}, (¹⁾ Institute for Advanced Biosciences, Keio University, ²⁾ Research and Education Center for Genetic Information, Nara Institute of Science & Technology, ³⁾ Department of Biochemical Engineering & Science, Kyushu Institute of Technology), Analysis of cellular metabolism based on network identification and flux determination, First IECA Conference on Systems Biology of E.coli, Tsuruoka, Yamagata, 平成 15 年 6 月 23 日-25 日
- 12). Kusui, D., Mizuguchi, H., Oshima, T., Kanaya, S., Mori, H., (¹⁾ Internet Systems Research Laboratories, NEC Co., ²⁾ Research and Education Center for Genetic Information, Nara Institute of Science and Technology, ³⁾ Graduate School of Information Science, Nara Institute of Science and Technology, ⁴⁾ Institute for Advanced Biosciences, Keio University), KAREIDMAP: Gene Regulatory Network Analysis Support System, First IECA Conference on Systems Biology of E.coli, Tsuruoka, Yamagata, 平成 15 年 6 月 23 日-25 日
- 13). Balan Venkatesh¹⁾, Md.Arihuzzaman²⁾, Mori, H.²⁾, Taguchi, T.¹⁾, Ohmiya, Y.¹⁾, (¹⁾ Cell Dynamics Research Group, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, ²⁾ Department of Cell Biology, Nara Institute of Science and Technology) Increased folding of Inciferase when co-expressed with chaperones in E-coli., First IECA Conference on Systems Biology of E.coli, Tsuruoka, Yamagata, 平成 15 年 6 月 23 日-25 日
- 14). ¹Chen Yang, ¹Qiang Hua, ¹Baba, T., ¹Mori, H., ² Shimizu, K., (¹Institute for Advanced Biosciences, Keio University, ²Dept. Biochem. Eng. Sci., Kyushu Institute of Technology), Analysis of Metabolic Responses of Escherichia coli Central Metabolism based on Isotopomer Information, 大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析—リソースから生物システム、そしてモデル化へ—, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫

県, 平成 15 年 10 月 15 日 - 17 日

- 15). ^{1,2}Nakamura, S., ¹Saito, R., ^{1,3}Ara, T., ^{1,3}Itoh, A., Md. Arifuzzaman^{4,5}, ³Maeda M., ^{3,5}Oshima, T., ^{3,6}Wada, C., ^{1,3,5}Mori, H., ^{1,7}Tomita, M., (¹Institute for Advanced Biosciences, Keio University, ²Bioinformatics Program, Graduate School of Media and Governance, Keio University, ³CREST JST, ⁴NEDO, ⁵Research and Education Center for Genetic Information, Nara Institute of Science and Technology, ⁶Institute for Virus Research, Kyoto University, ⁷Faculty of Environmental Information, Keio University) Development of Method to Predict Protein Function of Escherichia coli Using Protein Complex Data. 大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析—リソースから生物システム、そしてモデル化へ—, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 10 月 15 日 - 17 日
- 16). ¹Kitakawa, M., ¹Elizabeth Tenorio, ²Baba, T., ³Mori, H., ⁴Isono, K., (¹Kobe Univ., Fac. Sci., Dept. Biol., ²Keio Univ., Inst. Adv. Biosci., ³Nara Adv. Inst. Sci. Technol., ⁴NITE), Systematic analysis of E. coli genes involved in biofilm formation, 大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析—リソースから生物システム、そしてモデル化へ—, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 10 月 15 日 - 17 日
- 17). ^{1,2}Kimura, H., ^{1,3}Nakamura, S., ¹Saito, R., ^{1,4}Ara, T., ^{1,4}Itoh A., ^{5,6}Md Arifuzzaman, ⁴Maeda, M., ^{4,6}Oshima, T., ^{4,7}Wada, C., ^{1,4,6}Mori, H., ^{1,2}Tomita, M., (¹Institute for Advanced Biosciences, Keio University; ²Faculty of Environmental Information, Keio University, ³Bioinformatics Program, Graduate School of Media and Governance, Keio University, ⁴CREST, JST, ⁵NEDO, ⁶Research and Education Center for Genetic Information, Nara Institute of Science and Technology, ⁷Institute for Virus Research, Kyoto University), Prediction of Motif-Motif Interaction and Protein-Protein Interaction in E.coli, 大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析—リソースから生物システム、そしてモデル化へ—, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 10 月 15 日 - 17 日
- 18). Maeno, H., Kanaya, S., Oshima, T., Mori, H., (Nara Institute of Science and Technology), Operon prediction in Escherichia coli K-12 using microarray analysis, 大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析—リソースから生物システム、そしてモデル化へ—, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 10 月 15 日 - 17 日
- 19). Yamaichi, Y., Niki, H., (Radioisotope Center, National Institute of Genetics), Construction and characterization of E. coli chromosome large inversion mutants, 大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析—リソースから生物システム、そしてモデル化へ—, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 10 月 15 日 - 17 日
- 20). ¹Ozaki, T., ¹ Maeno, H., ²Oshima, T., ²Mori, H., (¹NAIST, Biological Sciences, ²NAIST, Research and Education Center for Genetic Information), Analysis of

transcription regulation by termination signal in operon of *Escherichia coli*, 大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析—リソースから生物システム、そしてモデル化へ—, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 10 月 15 日 - 17 日

- 21). ¹Aono, E., ²Baba, T., ²Ara, T., ³Nakasone, K., ⁴Kato, C., ¹Mori, H., (¹NARA Institute of Science and Technology, ²Institute of Advanced Biosciences, Keio University, ³School of Engineering, Kinki University, ⁴The DEEPSTAR Group, Japan Marine Science and Technology Center), Genome analysis of the deep-sea psychrophilic and piezophilic bacterium *Shewanella violacea* strain DSS12, 大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析—リソースから生物システム、そしてモデル化へ—, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 10 月 15 日 - 17 日
- 22). Nakagawa, A., Oshima, T., Mori H., (NAIST), Regulation of *relA* gene expression in *Escherichia coli*, 大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析—リソースから生物システム、そしてモデル化へ—, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 10 月 15 日 - 17 日
- 23). Md. Altaf-Ul-Amin¹, ¹Nishikata¹, K., ¹Koma, T., ¹Miyasato, T., Md. Arifuzzaman², ³Wada, C., ³Maeda, M., ¹Oshima, T., ^{1,4}Mori, H., ¹Kanaya, S., (¹Nara Institute of Science and Technology(NAIST), ²NEDO, ³CREST JST, ⁴Inst. Adv. Bioscience, Keio University), Prediction of Protein Functions Based on K-cores of Protein-Protein Interaction Networks and Amino Acid Sequences, 大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析—リソースから生物システム、そしてモデル化へ—, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 10 月 15 日 - 17 日
- 24). ¹Yamamoto, N., ²Baba, T., ¹Mohammad Arifuzzaman, ³Wada, C., ¹Mori, H., (¹NAIST, ²Institute for Advanced Biosciences, Keio University, ³Kyoto University), A new approach for functional analysis of essential genes in *Escherichia coli* K-12: a construction of novel low copy vector, 大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析—リソースから生物システム、そしてモデル化へ—, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 10 月 15 日 - 17 日
- 25). Kudo, Y., Kinouchi, M., (Yamagata Univ.), Detection of bacterial class specific tRNA gene tandems, 大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析—リソースから生物システム、そしてモデル化へ—, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 10 月 15 日 - 17 日
- 26). Kinouchi, M., Kudo, Y., (Yamagata University), Fast learning algorithm for Self-Organizing Map, 大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析—リソースから生物システム、そしてモデル化へ—, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 10 月 15 日 - 17 日
- 27). ¹Sato, T., ²Kimura, H., ² Oshima, T., ²Mori, H., ¹Kotaro, (¹Graduate School of Information Science, Nara Institute of Science and Technology, ²Research and

Education Center for Genetic Information, Nara Institute of Science and Technology), Toward Model Analysis of E. coli. Glycolysis Using Real-time mRNA Quantitative Measurement, 大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析—リソースから生物システム、そしてモデル化へ—, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 10 月 15 日 - 17 日

- 28). ¹Tanaka, N., ^{2,3}Miki, T., ^{3,4}Yamamoto, Y., ^{3,5}Horiuchi, T., ^{3,6}Mori, H., ¹Takenaka, Y., ^{1,3}Matsuda, H., (¹Osaka Univ., Grad. Sch. Info. Sci. and Tech., ²Fukuoka Dental Coll., ³CREST, JST, Japan, ⁴Hyogo Coll. Med., Natl. Inst. Basic Biol., ⁶Nara Inst. Sci. Tech.), An integrated method for analyzing the mutagenesis data of the gene-disrupted mutants of E. coli, 大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析—リソースから生物システム、そしてモデル化へ—, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 10 月 15 日 - 17 日
- 29). ¹Kimura, H., ²Sato, T., ^{1,3}Mori, H., (¹The graduate school of Biological Science, Nara Institute of Science and Technology, ²The graduate school of Information Science, Nara Institute of Science and Technology, ³Institute for Advanced Biosciences, Keio Univ.), The quantification of the E. coli mRNA(s) for the quantitative modeling of metabolic pathways, 大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析—リソースから生物システム、そしてモデル化へ—, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 10 月 15 日 - 17 日
- 30). ¹Miyake, S., ¹Tohsato, Y., ¹Takenaka, Y., ^{1,2}Matsuda, H., (¹Osaka Univ., Grad. Sch. Info. Sci. and Tech., ²CREST, JST, Japan), A network analysis method by comparing microbial metabolic pathways, 大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析—リソースから生物システム、そしてモデル化へ—, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 10 月 15 日 - 17 日
- 31). ¹Maeda, M., ²Wada, A., ^{3,4}Md. Arifuzzaman, ^{1,3,4,5}Mori, H., ^{1,6}Wada, C., (¹CREST JST, ²Osaka Med. Coll., ³NEDO, ⁴Res. & Edu. Cent. Gen. Info., NAIST, ⁵Inst. Adv. Biosci., Keio Univ., ⁶Inst. Virus Res., Kyoto Univ.), Identification of proteins by MALDI-TOF MS: Application to Escherichia coli proteomics, 大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析—リソースから生物システム、そしてモデル化へ—, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 10 月 15 日 - 17 日
- 32). ¹Miyahara, A., ²Oshima, T., ²Mori, H., (¹The Graduate School of Bioscience, Nara Institute of Science and Technology, ²Research and Education Center for Genetic Information, Nara Institute of Science and Technology), Analysis of sigma54 dependent expressional regulation in two-component regulatory system, 大腸菌におけるゲノム機能の体系的解析—リソースから生物システム、そしてモデル化へ—, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫県, 平成 15 年 10 月 15 日 - 17 日