

大腸菌転写制御ネットワークの包括的解析

●饗場 浩文¹⁾ ◆饗場 弘二²⁾ ◆大島 拓³⁾ ◆山本 兼由⁴⁾

1) 名古屋大学生命農学研究科 2) 名古屋大学理学研究科 3) 奈良先端大情報科学研究科 4) 近畿大学農学部

〈研究の目的と進め方〉

生物は絶えず環境の変化に曝されており、適切な環境シグナルの受容（感知）と情報伝達ならびに転写制御を含めた細胞応答を介して恒常性を維持している。この点に関し、2成分制御系と総称されるシグナル受容と伝達の仕組みが当初、細菌に見いだされた。その後、この情報伝達システムは細菌のみならず、酵母、粘菌、カビ、植物にまで普遍的に存在するシグナル伝達系として大きな注目を集めている。近年のゲノム解析の進展により、2成分制御系を構成する因子が種々の微生物において特定できるようになった（図1参照）。このような状況に立脚し、本研究では大腸菌ならびに分裂酵母を原核ならびに真核微生物のモデルとしてとらえ、全2成分制御系が関わる細胞機能の全体像を解明することを目指す。そのため網羅的変異株の作製とそれらの総合的解析を行う。特に大腸菌においては、網羅的欠失株のマイクロアレイによる解析を試みる。さらに、レスポンスレギュレーターの高発現株のマイクロアレイデータも取得し、これらに、遺伝学的知見を総合することで、各2成分制御系のレギュロンを明らかにする。加えて2成分制御系間でのクロストークなどを介したより高次の情報の交換や統合機構の存在の可能性を探り、情報処理と転写制御ネットワークを包括的に解き明かすことを大きな目的とする。これらの解析成果を基盤として、転写因子全体を視野に入れた大腸菌の遺伝子発現調節ネットワークの総合的研究へと展開を図る。分裂酵母においては、出芽酵母の2成分制御系の機能に関する知見も考慮に入れ、ストレス応答、細胞周期制御、減数分裂制御などの観点から解析を行ない、2成分制御系の生理機能を明らかにする。

図1. 微生物に見いだされる2成分制御系の数

Microorganism (genome size)	Sensor	Regulator
<i>Escherichia coli</i> (4.64 Mb)	30	32
<i>Bacillus subtilis</i> (4.21 Mb)	36	35
<i>Haemophilus influenzae</i> (1.83 Mb)	4	5
<i>Helicobacter pylori</i> (1.66 Mb)	4	7
<i>Synechocystis</i> sp. (3.57 Mb)	42	38
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (6.26 Mb)	69	89
<i>Mycoplasma genitalium</i> (0.58 Mb)	0	0
<i>Methanococcus jannaschii</i> (1.67 Mb)	0	0
<i>Methanobacterium thermoautotrophicum</i> (1.75 Mb)	15	9
<i>Archaeoglobus fulgidus</i> (2.18 Mb)	15	9
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (13 Mb)	1	2
<i>Schizosaccharomyces pombe</i> (14 Mb)	3	2

〈研究開始時の研究計画〉

本研究は、前半の3年間は公募研究として饗場浩文が大腸菌と分裂酵母の2成分制御系の解析を並行して進めた。後半の2年間は、計画研究として4名が共同で大腸菌に焦点を絞り、より多角的な解析を行うこととした。全研究機関を通して、「微生物における2成分制御系のゲノム生物学」を中心課題として据えた。以下には公募研究開始時の研究計画を主に記すが、上記理由から後半の計画研究開始時における研究計画も合わせて記述する。

- 1) 大腸菌の全2成分制御系遺伝子のクローニングと欠失変異株の作製
大腸菌には2成分制御系を構成する遺伝子が62個存在する。このうちセンサーキナーゼが30個、レスポンスレギュレーターが32個と予想されている（図1）。これまでの知見から、2成分制御系が関わる各種細胞応答において、一般にはレスポンスレギュレーターの欠失の方がセンサーキナーゼの欠失に比べより明確な表現型として現れることが予想される。したがって、第一段階として、まず32個のレスポンスレギュレーター遺伝子に焦点を絞り解析を進める。まずPCRによるクローニングを行い、得られた遺伝子を用いて、欠失変異株を作製する。その後、ヒスチジンキナーゼに関しても同様の解析を進める。
- 2) 分裂酵母の2成分制御系の全遺伝子のクローニングと遺伝子破壊株の作製
分裂酵母では、現在までに決定されたDNA塩基配列をもとに解析をすると、センサーキナーゼが3個、レスポンスレギュレーターが2個、HPtタンパク質が1個同定できた（図1）。これらに関して、すべての遺伝子をクローニングし、遺伝子破壊株を作製する。
- 3) 大腸菌2成分制御系の網羅的欠失株を用いた解析
全2成分制御系が関わる細胞機能を解析するために、網羅的欠失株を用いて、各種生理試験、マイクロアレイ解析ならびに2次元電気泳動法によるタンパク質の発現解析を行う。生理試験においては、2成分制御系がストレス応答に関与する可能性が高いことを考慮し、金属、塩、薬剤、浸透圧、温度、代謝産物、好気-嫌気（酸素）、各種栄養素などに対する応答を解析する。一方、マイクロアレイや2次元電気泳動法による解析では、野生株と各2成分制御系欠失株との比較をまず通常培養条件（LB培地、好気条件）で行う。さらに感知するストレスシグナルが同定または推測されるものに関しては、当該ストレスの有無に対する応答を野生株ならびに欠失株を用いて行う。
- 4) 分裂酵母の2成分制御系欠失変異株の表現型解析
分裂酵母の2成分制御系の機能を解析するために、欠失株について各種ストレス応答、細胞周期制御、減数分裂制御などについて解析する。出芽酵母においては、2成分制御系が浸透圧ストレスの感知と情報伝達に関与し、ストレス応答型MAPキナーゼの制御に関わっていることが知られているので、これとの比較解析も行

う。

5) 大腸菌レスポンスレギュレーター高発現株における遺伝子発現の網羅的解析

2成分制御系欠失株の網羅的マイクロアレイ解析はLB培地、好氣的な条件下で行われ、2成分制御系間に機能的なネットワークが存在することなどの新たな知見を生み出した。しかしながら、同時に、いくつかの2成分制御系においては、その欠失株に明確な表現型を見いだすことができなかつた。これは、これら2成分制御系が特異的なシグナルにตอบสนองするシステムであるため、上記条件下では機能しておらず、従って明確な遺伝子発現パターンの差異を示さないものと解釈した。このような2成分制御系が制御する遺伝子群を同定するために、ヒスチジンキナーゼ非存在下で、レスポンスレギュレーターのみを高発現させた場合における遺伝子発現パターンの解析を行う。

6) 大腸菌2成分制御系を中心とした転写制御機構の包括的解析

遺伝子発現制御には転写の開始のみならず、終結、mRNAの安定性や異常タンパク質の発現防止メカニズムなど多様な分子機構が存在する。大腸菌をモデルにしてこれらの分子メカニズムとその生理学的意義を包括的に解析する。

7) 大腸菌2成分制御系間のネットワークの解析

大腸菌2成分制御系の解析から、2成分制御系は機能的相互作用をしつつ情報伝達ネットワークを形成している可能性が示唆された(図2参照)。そこで本来ペアーを形成している以外のヒスチジンキナーゼとレスポンスレギュレーター間にリン酸化反応を介したクロストークが存在する可能性を探るためヒスチジンキナーゼならびにレスポンスレギュレーターを精製し、これらを用いたリン酸転移反応を網羅的に行う。また、大腸菌内two hybrid法を用いて、ヒスチジンキナーゼとレスポンスレギュレーター間、ヒスチジンキナーゼ間、レスポンスレギュレーター間などの相互作用とその特異性を解析する。

8) センサーが感知するストレスシグナルの同定

2成分制御系が感知するストレスシグナルを同定することは、機能未知の支配下遺伝子の機能を推定する上でも重要な知見となる。さらに2成分制御系を介した細胞応答の生理的意義の理解にも必須である。従ってこれまでに見いだされた支配下の遺伝子をレポーターとして、種々のストレスへの応答を解析することで、センサーが感知するシグナルの同定を試みる。またセンサーの構造情報解析からもシグナルの推定を試みる。

〈研究期間の成果〉

(1) 大腸菌の2成分制御系の全遺伝子破壊株の作製とマイクロアレイ解析

- 大腸菌に存在するすべての2成分制御系のヒスチジンキナーゼならびにレスポンスレギュレーターの高発現株を作製しその遺伝子発現変化をマイクロアレイ法にて解析する計画に従い、すべてを網羅する36種の欠失変異株を作製した。これらを用いてLB培地、好気条件下、37℃、対数増殖期における遺伝子発現パターンを野生株と比較解析した。その結果、複数の2成分制御系に制御される細胞機能(RpoSレギュロン、走化性など)を見出し、これらの機能が2成分制御系間の機能的相互作用を介して制御される可能性を示唆した(6,8,9)。
- 唯一存在するHpt因子、YojNの機能に関し、夾膜多糖

合成に関わる情報伝達系において機能すること、RcsC(センサー)とRcsB(レギュレーター)の間のリン酸リレーを仲介することを明らかにした(4)。

(2) 分裂酵母のHis-Aspリン酸リレー情報伝達系の全遺伝子の破壊株の作製とその表現型の解析

- 分裂酵母に存在する全てのヒスチジンキナーゼならびにレスポンスレギュレーターの高発現株を作製し解析した結果、以下の成果を得た(図3参照)。
- レスポンスレギュレーターPrr1がctt1(カタラーゼ)、trr1(チオレドキシソレダクターゼ)遺伝子の発現を介して酸化ストレス適応に、またste11(転写因子)遺伝子の発現を介して減数分裂の制御に関わっている転写因子であることを見出した(2,7,10)。
- Hpt因子として見出したSpy1と、すでにストレス応答と細胞周期制御に関わることが報告されていたレスポンスレギュレーターMcs4との間にリン酸転移反応が起こることを見出した。さらに、Spy1がMcs4の活性を負に制御することで細胞周期の制御に関与していることを明らかにした。また3つのヒスチジンキナーゼを同時に欠失させるとSpy1の欠失株と同様に細胞周期進行の促進が見られることを見出した。したがって分裂酵母の2成分制御系が細胞周期制御に密接に関わることが明らかとなった(1,5)。
- 3つのヒスチジンキナーゼを同時に欠失した株においては細胞周期(G2/M)の促進がみられることに加え、窒素源欠乏シグナルの非存在下において、また嫌気条件下においても胞子形成を行うことを見出した。変異株の生理機能の解析よりヒスチジンキナーゼが内在的な酸化ストレスの感知に関与することを示唆した(5,7,10,23)。
- 分裂酵母の2成分制御系によって制御されるSty1 MAPキナーゼは、各種ストレスへの適応の関与することが知られており、定常期での生存率の維持に関わることも知られていた。分裂酵母の定常期への適応機構を探る目的で、定常期での生存率が低下する変異株をスクリーニングした。その結果、lcf1(long chain fatty acid CoA ligase)が定常期での細胞生存率の維持に重要なことを見いだした(11)。

(3) 大腸菌レスポンスレギュレーター高発現株における遺伝子発現の網羅的解析

2成分制御系のターゲット遺伝子を検索する目的で、全レスポンスレギュレーターの高発現株を作製し、そのマイクロアレイ解析をおこなった。ここで得られたデータを、2成分制御系の欠失株でのマイクロアレイデータと総合することにより、レスポンスレギュレーターにより活性化される遺伝子群、抑制される遺伝子群の候補を抽出した。その結果、機能未知の2成分制御系であるYpdABは糖の取り込みと利用に関わる遺伝子群を、BasSRは薬剤排出ポンプを制御していることが示された。その他にも、マグネシウムにตอบสนองする遺伝子群(Mg²⁺ stimulon)の同定、EvgA/EvgS系により制御される薬剤排出遺伝子群の同定と解析、RcsC-YojN-RcsB系による情報伝達機構と、制御遺伝子群の同定、CpxR/CpxA系による修復遺伝子(ung)の発現制御等について明らかにした(13,15,16,28)。

(4) 大腸菌2成分制御系を中心とした転写制御機構の包括的解析

mRNAの品質管理機構におけるtmRNA系の生理的意義ならびに作用機構を明らかにした。SsrAによるtrans translationによるmRNAの分解など、RNAの品質管理に関してその機構、生理学的意義などについて広範な

知見を得た。また、解糖系の阻害に伴ってcapsular polysaccharide合成系の遺伝子群 (cps オペロン) の転写が誘導されることを見出しこの誘導がRcsC/YojN/RcsB 2成分制御系の活性化によることなどを明らかにした (21,22,29~33,38,39)。

(5) 大腸菌 2成分制御系間のネットワークの解析

2成分制御系間のクロストークを網羅的に解析するために、全てのヒスチジinkinナーゼならびにレスポンスレギュレーターを精製し、in vitroにおいてリン酸化反応を行った (図4参照)。その結果、遺伝子構造からペアで機能すると想定されたヒスチジinkinナーゼとレスポンスレギュレーター間にリン酸転移反応を確認し、両者がペアーを構成することを示した (図4.矢印を付した実線)。その上でクロストークの存在を解析したところ、9種類のヒスチジinkinナーゼは本来のペアー以外のレスポンスレギュレーターもリン酸化することを見出した。また10種類のレスポンスレギュレーターは本来のペアー以外のヒスチジinkinナーゼからリン酸転移を受けうることを見いだした。これら候補については、in vivoにおいても生理学的に意味のあるクロストークをしている可能性示唆される。また、リン酸転移は認められないものの、ヒスチジinkinナーゼのリン酸化レベルを減少させるレスポンスレギュレーターが存在することも見いだした。これらはリン酸化反応を阻害することで情報伝達を制御しうるレスポンスレギュレーターが存在することを示唆した。クロストークの生理的意義についても解析を進め、ArcBヒスチジinkinナーゼがRssBレスポンスレギュレーターをリン酸化 (クロストーク) すること、このクロストークが大腸菌RNAポリメラーゼのσS因子の発現制御に関わることを示した (12,40)。

(6) センサーが感知するストレスシグナルの同定

capsular polysaccharideの合成制御に関わることが示されていたRcsC/YojN/RcsB 2成分制御系に関しては、グルコース、亜鉛、低温がストレスシグナルとなっていることを同定した。加えて、RcsC/YojN/RcsB系の上位には、2成分制御系PhoPQが存在し、前述の亜鉛シグナルは、PhoPQ系を介してRcsC/YojN/RcsB系に伝達されることを見出した。これは、2成分制御系間のネットワーク (カスケード制御) の1例と考えることができる (6,8,9)。

上述の研究成果に加え、本研究で完了あるいは進行中の解析結果、ならびにこれまでの知見を総合すると、大腸菌に存在する約30種類の2成分制御系のほぼ全てに関して、感知するストレスシグナルや細胞機能の同定が進んだ。それによると大腸菌では、2成分制御系は応答するストレスシグナルによって3つに大別できること、それらは代謝シグナル応答 (炭素、窒素、呼吸関連化合物など)、イオン/金属ストレス応答 (Fe, Cu, Mg, Zn, K, P など) ならびに多面的ストレス応答 (細胞表面ストレス、酸化ストレス、浸透圧ストレスなど) であることが示された。さらにマイクロアレイやSELEX法を用いた解析により、各2成分制御系により制御される遺伝子群 (レギュロン) の同定とレスポンスレギュレーターの認識配列の同定ならびに推定も進んだ。

他方、これまでの解析から存在が示唆されてきた2成分制御系間のネットワークに関する研究では、精製タンパク質を用いた網羅的リン酸化反応解析を行い、クロストークの存在を明らかにした (図4)。さらに、ヒスチジinkinナーゼの自己リン酸化、ヒスチジinkinナーゼからレ

スポンズレギュレーターへのリン酸転移、リン酸化型レスポンスレギュレーターの脱リン酸化の各反応ステップによって、それぞれの2成分制御系が特徴づけられることが明らかとなった。今後、これらin vitroでの解析成果をin vivoでの各2成分制御系の働きの関連で解析を進めれば、さらに知見を蓄積することができよう。その他、網羅的解析の成果を元に、個別の研究も進行した。一例として、嫌気状態の感知に関わる2成分制御系が鞭毛合成の制御に関与することなどが明らかとなった。

本研究を遂行する過程で多くの重要な研究リソースも蓄積した。例として、全2成分制御系遺伝子の欠失株セット、全遺伝子の高発現セット、全タンパク質精製の発現プラスミドセットと精製タンパク質、大腸菌内two hybrid解析用プラスミドセット、各2成分制御系の活性化状態をモニターするためのレポーター遺伝子セットなどがある。これらのリソースは、この分野の今後の研究の進展においても重要な役割を果たすことが期待される。

図2. 大腸菌の2成分制御系間に見いだされるネットワークの形態

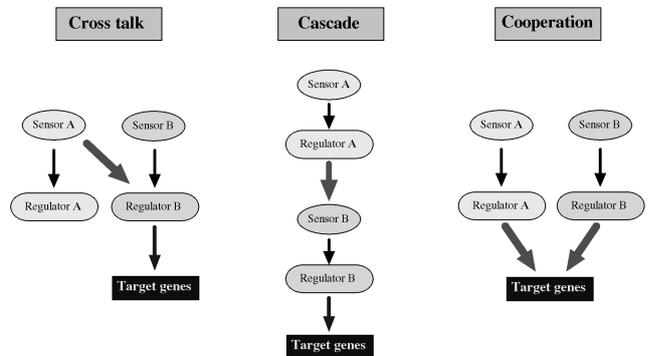


図3. 分裂酵母の2成分制御系とその機能

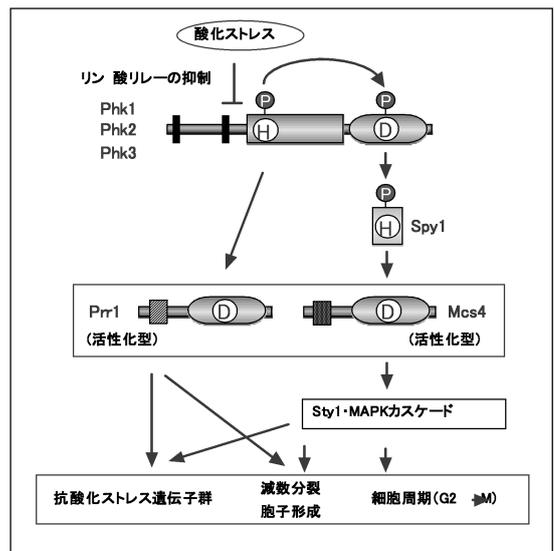
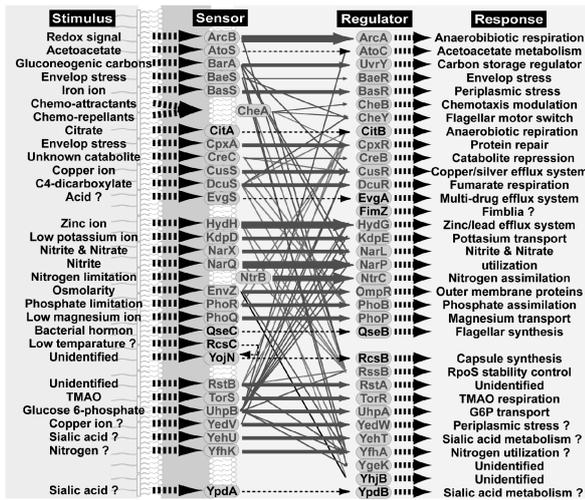


図4. 大腸菌2成分制御系間のクロストーク ネットワーク



〈国内外での成果の位置づけ〉

大腸菌2成分制御系の研究者は世界的にも多く、個々の機能解析には膨大な情報の蓄積がある。しかしながら全2成分制御系を対象に情報伝達ネットワークの解明を目指して網羅的解析を進めた例はなく、特にアレイデータの情報は多くの研究者にとって有益な知見となると思われる。事実、大腸菌2成分制御系の欠失株のマイクロアレイ解析結果を報告した論文は、2003年Mol. Microbiol.誌on-lineにおいて参照された上位50論文になったとの報告を受けた。データが利用しやすい形で公開され、多くの研究者に重要な情報を提供したと考えている(6,8,41)。

2成分制御系間の機能的ネットワークを解析するために行った網羅的クロストークの解析結果はin vivoにおいて意味のあるクロストークを行う2成分制御系を抽出するのに重要な知見を与えた(図4)。また2成分制御系間にカスケード制御の一例も見いだした。これらの結果は2成分制御系を介した情報伝達ネットワークが存在する事を強く示唆しており、本研究分野に新しい概念をもたらす可能性が高い(図2)。これらの成果は、大腸菌以外の生物種における2成分制御系研究にも重要な視点を提供できたと考えている。

分裂酵母においては、2成分制御系が有糸分裂と減数分裂の2大イベントの制御に関与していること、ストレス応答型MAPキナーゼの上流で機能し、この制御に関わることを示すことができた。またヒスチジンキナーゼは、内在的な酸化ストレスをシグナルとして感知していることが示唆でき、この情報伝達系の生理学的重要性の解明に貢献できた(図3)。他方、定常期ストレスへの応答に関わる多くの変異株も取得でき、これらの解析から将来、分裂酵母を基盤とした定常期での細胞応答機構の解析が進むと期待できる。

〈達成できなかったこと、予想外の困難、その理由〉

概ね、研究は順調に進んだと考える。しかしながら以下の点に関しては、本研究期間中には達成しきれず、今後に課題を持ち越した。大腸菌の解析に関しては、マイクロアレイ解析結果をもとに、ターゲット遺伝子を同定する作業において、最終的な証明はin vitroの転写実験やフットプリント解析などを計画していた。しかしながらこれらの解析は十分には達成できなかった。理由として扱う候補遺伝子が多数にのぼること、抽出された候補遺伝子の中には時として擬遺伝子、すなわち間接的に影響

を受けた遺伝子が存在することなどが挙げられ、これらの解析には、さらに時間を要する。in vitroの網羅的リン酸化解析は、クロストークを行うヒスチジンキナーゼレスポンスレギュレーター候補について重要な知見を提示した。これとマイクロアレイの解析結果を総合して、in vivoでのネットワーク網の実態とその生理的意義の解析を現在も進めているが、期間中に全ての研究を完了することはできなかった。これらに関しては、今後の課題として残された。2次元電気泳動による大腸菌、分裂酵母の2成分制御系の欠失株の解析は、定量的、網羅的な解析に不利な点が多いと判断し、解析初期に中止した。

〈今後の課題〉

大腸菌の2成分制御系によるネットワーク解明のためには、マイクロアレイデータの詳細な解析のみならず、生化学的解析(タンパク質リン酸化反応のキネティクスや細胞内タンパク質量の定量など)や遺伝学的解析(多重変異株の作製と表現型解析など)をさらに進める必要がある。ターゲット遺伝子の同定に関しては、新規な解析法(in vitroの転写系を用いてレスポンスレギュレーターに依存した、あるいはレスポンスレギュレーターのリン酸化に依存した転写反応を行い、その産物をマイクロアレイにて同定する手法:ROMAや、ChIP on Chip法)を導入し、ターゲット遺伝子を同定するよう改善を図る。本研究では、大腸菌と分裂酵母をそれぞれ原核、真核微生物のモデルとして取り上げ、2成分制御系の関わる細胞機能に関する解析を進めた。これらの知見をもとに、多様な微生物における2成分制御系研究の進展と、比較解析も今後の課題である。

〈研究期間の全成果公表リスト〉

- (1) 0110311053
Aoyama, K., Mitsubayashi, Y., Aiba, H., and Mizuno, T. Spyl, a histidine-containing phosphotransfer signaling protein, regulates the fission yeast cell cycle through the Mcs4 response regulator. J. Bacteriol. 182. 4868-4874. (2000)
- (2) 0110311039
Ohmiya, R., Yamada, H., Kato, C., Aiba, H., and Mizuno, T. The Prr1 response regulator is essential for transcription of stell+ and for sexual development in fission yeast. Mol. Gen. Genet. 264. 441-451. (2000)
- (3) 0110311030
Suzuki, T., Miwa, K., Ishikawa, K., Yamada, H., Aiba, H., and Mizuno, T. The Arabidopsis sensor His-kinase, AHK4, can respond to cytokinins. Plant Cell Physiol. 42. 107-113. (2001)
- (4) 0110311021
Takeda, S., Fujisawa, Y., Matsubara, M., Aiba, H., and Mizuno, T. A novel feature of the multistep phosphorelay in Escherichia coli: a revised model of the RcsC -> YojN -> RcsB signalling pathway implicated in capsular synthesis and swarming behaviour. Mol. Microbiol. 40. 440-450. (2001)
- (5) 0110311007
Aoyama, K., Aiba, H., and Mizuno, T. Genetic analysis of the His-to-Asp phosphorelay implicated in mitotic cell cycle control: Involvement of histidine-kinase genes of Schizosaccharomyces pombe. Biosci. Biotech. Biochem. 65. 2347-2352. (2001)

- (6) 0301062025
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)
- (7) 0301062110
Nakamichi, N., Yamada, H., Aoyama, K., Ohmiya, R., Aiba, H., and Mizuno, T. His-to-Asp phosphorelay circuitry for regulation of sexual development in *Schizosaccharomyces pombe*. *Biosci. Biotech. Biochem.* 66. 2663-2672. (2002)
- (8) 0301062131
森浩禎 金谷重彦 饗場浩文 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 40. 469-479. (2002)
- (9) 0301062137
Mizuno, T., Aiba, H., Oshima, T., Mori, H., and Wanner, B. L. Genome-Wide Analysis of *Escherichia coli* Histidine Kinases. in *Histidine Kinases in Signal Transduction*. Elsevier Science (USA) (2002) p191-202
- (10) 0403151147
Nakamichi, N., Yamada, H., Aiba, H., Aoyama, K., Ohmiya, R., and Mizuno, T. Characterization of the Prr1 response regulator with special reference to sexual development in *Schizosaccharomyces pombe*. *Biosci. Biotech. Biochem.* 67. 547-555. (2003)
- (11) 0403151144
Oshiro, T., Aiba, H., and Mizuno, T. A defect in a fatty acyl-CoA synthetase gene, *lcf1+*, results in a decrease in viability after entry into the stationary phase in fission yeast. *Mol. Genet. Genomics.* 269. 437-442. (2003)
- (12) 0403151109
Sugiura, M., Aiba, H., and Mizuno, T. Identification and classification of two-component systems that affect *rpoS* expression in *Escherichia coli*. *Biosci. Biotech. Biochem.* 67. 1612-1615. (2003)
- (13) 0403151103
Hagiwara, D., Sugiura, M., Oshima, T., Mori, H., Aiba, H., Yamashino, T., and Mizuno, T. Genome-wide analyses revealing a signaling network of the RcsC-YojN-RcsB phosphorelay system in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 185. 5735-5746. (2003)
- (14) 0404011534
Gowrishankar, J., Yamamoto, K., Subbarayan, P. R., and Ishihama, A. (2003) In vitro properties of RpoS (σ (S)) mutants of *Escherichia coli* with postulated N-Terminal subregion 1.1 or C-terminal region 4 deleted. *J. Bacteriol.* 185. 2673-2679.
- (15) 0404011541
Minagawa, S., Ogasawara, H., Kato, A., Yamamoto, K., Eguchi, Y., Oshima, T., Mori, H., Ishihama, A. and Utsumi, R. (2003) Identification and molecular characterization of the Mg²⁺ stimulon of *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 185. 3696-3702.
- (16) 0404011546
Eguchi Y., Oshima T., Mori H., Aono R., Yamamoto, K., Ishihama A. and Utsumi R. (2003) Transcriptional regulation of drug efflux genes by EvgAS, a two-component system in *Escherichia coli*. *Microbiology* 149. 2819-2828.
- (17) 0404011544
Aketani, S., Tanaka, K., Yamamoto, K., Ishihama, A., Cao, H., Tengeiji, A., and Shionoya, M. (2003) Role of a Nonnatural b-C-Nucleotide Unit in DNA as Template for DNA and RNA Synthesis and as Substrate for Nucleolytic Digestion. *Eur. J. Phram. Sci.* 20. 43-51.
- (18) 0404011548
Watanabe, T., Hashimoto, Y., Yamamoto, K., Hirao, K., Ishihama, A., Hino, M. and Utsumi, R. (2003). Isolation and characterization of inhibitors of the essential histidine kinase, YycG in *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus*. *J. Antibiotics* 56. 1045-1052.
- (19) 0404011531
Yamamoto, K. and Ishihama, A. (2003) Two different modes of transcription repression of the *Escherichia coli* acetate operon by IclR. *Mol. Microbiol.* 47. 183-194.
- (20) 0404011556
渡邊崇史、皆川周、山本兼由、内海龍太郎 (2003) 細菌ゲノム創薬のすすめ：情報伝達阻害剤の開発研究 化学と生物 41. 285-287.
- (21) 0404021841
Yamamoto, Y., Sunohara, T., Jojima, K., Inada, T., and Aiba, H. (2003) SsrA-mediated trans-translation plays a role in mRNA quality control by facilitating degradation of truncated mRNAs. *RNA* 9, 408-418.
- (22) 0404021848
Morita, T., El-Kazzaz, W., Tanaka, Y., Inada, T., and Aiba, H. (2003) Accumulation of Glucose-6-phosphate or Fructose-6-phosphate Is Responsible for Destabilization of Glucose Transporter mRNA in *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* 15608-15614.
- (23) 0403151153
中道範人 山田寿美 青山桂輔 大宮隆祐 饗場浩文 水野猛 分裂酵母における胞子形成制御するHis-Aspリン酸リレー情報伝達 日本農芸化学会誌 78. 50-51. (2004)
- (24)
Hua Q, Yang C, Oshima T, Mori H, Shimizu K. (2004) Analysis of Gene Expression in *Escherichia coli* in Response to Changes of Growth-Limiting Nutrient in Chemostat Cultures. *Appl Environ Microbiol.* 70. 2354-2366.
- (25)
Kabir MS, Sagara T, Oshima T, Kawagoe Y, Mori H, Tsunedomi R, Yamada M. (2004) Effects of mutations in the *rpoS* gene on cell viability and global gene expression under nitrogen starvation in *Escherichia coli*. *Microbiology.* 150. 2543-2553.
- (26)
Eguchi, Y., Okada, T., Minagawa, S., Oshima, T., Mori, H., Yamamoto, K., Ishihama, A. and Utsumi, R. (2004) Signal transduction cascade between EvgA/EvgS and PhoP/PhoQ two-component systems of *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 186. 3006-3014.
- (27)
Watanabe, T., Hashimaoto, Y., Umemoto, Y., Tatebe, D., Furuta, E., Fukamizo, T., Yamamoto, K. and Utsumi R. (2004) Molecular characterization of the essential response regulator protein YycF in *Bacillus subtilis*. *J. Molec. Microbiol. Biotechnol.* 6. 155-163.

- (28) Ogasawara, H., Teramoto, J., Hirao, K., Yamamoto, K., Ishihama, A., Utsumi, R. (2004) Negative Regulation of DNA Repair Gene (*ung*) Expression by CpxR/CpxA Two-component System in *Escherichia coli* K-12 and Induction of Mutations by Increased Expression of CpxR. *J. Bacteriol.* 186. 8317-8325.
- (29) 0404021853
El-Kazzaz W, Morita T, Tagami H, Inada T, Aiba H. (2004) Metabolic block at early stages of the glycolytic pathway activates the Rcs phosphorelay system via increased synthesis of dTDP-glucose in *Escherichia coli*. *Mol Microbiol.* 51, 1117-1128.
- (30) 0404021856
Sunohara, T., Jojima, K., Yamamoto, Y., Inada, T., and Aiba, H. (2004) Nascent peptide-mediated ribosome stalling at a stop codon induces mRNA cleavage resulting in nonstop mRNA that is recognized by tmRNA. *RNA* 10,378-386.
- (31) Morita T, Kawamoto H, Mizota T, Inada T, Aiba H. (2004) Enolase in the RNA degradosome plays a crucial role in the rapid decay of glucose transporter mRNA in the response to phosphosugar stress in *Escherichia coli*. *Mol Microbiol.* 54:1063-1075.
- (32) Tanaka Y, Itoh F, Kimata K, Aiba H. (2004) Membrane localization itself but not binding to IICB is directly responsible for the inactivation of the global repressor Mlc in *Escherichia coli*. *Mol Microbiol.* 53:941-951.
- (33) Sunohara T, Jojima K, Tagami H, Inada T, Aiba H. (2004) Ribosome stalling during translation elongation induces cleavage of mRNA being translated in *Escherichia coli*. *J Biol Chem.* 279:15368-15375.
- (34) Kiryu H, Oshima T, Asai K. (2005) Extracting relations between promoter sequences and their strengths from microarray data. *Bioinformatics.* 21. 1062-1068.
- (35) Ishii A, Oshima T, Sato T, Nakasone K, Mori H, Kato C. (2005) Analysis of hydrostatic pressure effects on transcription in *Escherichia coli* by DNA microarray procedure. *Extremophiles.* 9. 65-73.
- (36) Yamamoto, K. and Ishihama, A. (2005) Transcriptional response of *Escherichia coli* to external copper. *Mol. Microbiol.* 56. 215-227.
- (37) Furuta, E., Yamamoto, K., Tatebe, D., Watabe, K., Kitayama, T., and Utsumi, R., (2005) Targeting protein homodimerization: A novel drug discovery system. *FEBS Lett.* 579. 2065-2070.
- (38) Kawamoto H, Morita T, Shimizu A, Inada T, Aiba H. (2005) Implication of membrane localization of target mRNA in the action of a small RNA: mechanism of post-transcriptional regulation of glucose transporter in *Escherichia coli*. *Genes Dev.* 19:328-338.
- (39) Inada T, Aiba H. (2005) Translation of aberrant mRNAs lacking a termination codon or with a shortened 3'-UTR is repressed after initiation in yeast. *EMBO J.* 24:1584-1595.
- (40) Yamamoto, K., Hirao, K., Oshima, T., Aiba, H., Utsumi, R., and Ishihama, A. (2005) Functional characterization in vitro of all two-component signal transduction systems from *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* 280. 1448-1456.
- (41) 0301062154
(データベース)
http://ecoli.aist-nara.ac.jp/xp_analysis/2_components/
タイトル名：
Transcriptome analysis of 2 component system in *Escherichia coli*
内容：
大腸菌 2 成分制御系の欠失変異株における遺伝子発現プロファイルのマイクロアレイ解析データを公開している。2 成分制御系により影響を受ける遺伝子情報や細胞機能の検索、解析が可能。特にベン図を用いて、複数の 2 成分制御系が影響を及ぼす共通遺伝子を容易に検索できる。奈良先端大、森浩禎教授らとの共同研究。