

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 14 日現在

機関番号：13901

研究種目：新学術領域研究(研究領域提案型)

研究期間：2012～2016

課題番号：24117004

研究課題名(和文)べん毛超分子モーターの運動エネルギー変換メカニズム

研究課題名(英文)Energy conversion mechanism of bacterial flagellar supramolecular motor

研究代表者

本間 道夫(Homma, Michio)

名古屋大学・理学研究科・教授

研究者番号：50209342

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 121,800,000円

研究成果の概要(和文)：細菌のべん毛の根元にはべん毛モーターと呼ばれる超分子複合体が存在し、これを船のスクリューのように回転させる事で細菌は運動する。このモーターのエネルギー源をナトリウムイオン流であり、その流れと共役して回転するモーターの固定子と回転子を構成するタンパク質のエネルギー変換に關与する重要な残基を明らかにした。進化系統樹上、非常に初期の段階で分岐したと考えられている超好熱性の細菌の固定子タンパク質が大腸菌で機能することを明らかにし、べん毛モーターの起源についての新しい知見を与えた。また、べん毛モーター回転の精密測定を行い、エネルギー変換における固定子と回転子相互作用について考察した。

研究成果の概要(英文)：The Bacterial flagellar motor is a supramolecular complex and exists at the base of flagellum in the cytoplasmic membrane. Bacteria can move by rotating the flagella as a screw. We revealed important residues of the stator and rotor proteins for the energy conversion of motor which is rotated by the sodium ion flow. Furthermore, we found that stator protein derived from the super thermophilic bacterium, which is thought to have branched at a very early stage of the evolutionary phylogenetic tree, can function in *Escherichia coli*. This gave the new concept on the origin of the flagellar motor. Furthermore, by precise measurement of rotation of the flagellar motor, we obtained the new insight of energy conversion mechanism when the stator and rotor interact with each other.

研究分野：生物物理

キーワード：細菌べん毛 生体エネルギー変換 イオン駆動力 モーター

## 1. 研究開始当初の背景

細菌べん毛の研究は、大腸菌・サルモネラ菌の研究が先行していた。代表者は、海洋性ピブリオ菌 $\text{Na}^+$ 駆動型モーターを用いて研究を進め、 $\text{Na}^+$ 駆動型モーターの発見者として世界的に認知されていた。 $\text{H}^+$ イオンは水中に一般的に存在するため、 $\text{H}^+$ 駆動型モーターのイオン共役に伴うエネルギー変換の解析は困難である。それに対し、溶液中の $\text{Na}^+$ イオンの制御が容易なため、 $\text{Na}^+$ 駆動型モーターを使った解析は、モーター回転とイオン共役機構の解明において大きなブレークスルーを期待できる。このモーターに関する遺伝子の同定が世界の研究室で試みられ、本計画代表者と米国McCarterらのグループとが独立に、 $\text{Na}^+$ 駆動型モーターのエネルギー変換ユニット、あるいは、イオンチャンネルに相応すると考えられる遺伝子、PomA、PomB、MotX、MotYのクローン化に成功した。これら遺伝子を解析する事を出発点にして、大腸菌の欠損株にキメラモーターを発現させ、通常 $\text{H}^+$ 駆動型べん毛モーターで回転する大腸菌のべん毛を、 $\text{Na}^+$ 駆動力で動かすことに成功した。これは、大腸菌で $\text{Na}^+$ 駆動型モーターを研究できるという画期的な成果であり、 $\text{H}^+$ 駆動型と $\text{Na}^+$ 駆動型モーターが本質的に同じ機構で動くことを示した結果でもある。この大腸菌キメラモーターを用い、代表者は、モーター回転が26ステップであるという計測に成功した。固定子の構成因子であるPomAもしくはPomBに緑色蛍光タンパク質(GFP)を融合させ、これらの融合タンパク質が菌体内のべん毛のある極に局在すること、そして、その固定子の極局在が回転子の存在に依存していることを示した。MotYはMotXと複合体となり、べん毛基部でTリングと呼ばれる固定子をモーターに集合させる構造を作ることを明らかにした。さらに、モータータンパク質のMotYの結晶構造を解き、ペプチドグリカン結合構造と新規構造の2つのドメイン構造を持つことを示し、MotYのC末領域はペプチドグリカンと、また、N末端領域はMotXと相互作用することを示した。GFP融合FliGタンパク質(回転子構成因子の一つ)は、 $\text{Na}^+$ 濃度によらず菌体の極に局在するが、PomAB固定子の極局在は $\text{Na}^+$ イオンが必要であることを示した。 $\text{Na}^+$ が結合することで、固定子が回転子の周囲に集合できるような構造に変化するのではないかという、ダイナミックな固定子集合と $\text{Na}^+$ の関係を予測したモデルを提案した。名古屋工業大学の神取グループと共同研究を行い、全反射型赤外分光法(ATR-FTIR)を用いてPomAB複合体でのイオンの相互作用の検出を試み、 $\text{Na}^+$ 存在下で、COOH型からCOO型へ変化するカルボン酸を見出した。これは、直接的なイオン結合を、実験的結果として示す画期的なものである。イオン取り込み側に位置し、 $\text{H}^+$ 駆動型と $\text{Na}^+$ 駆動型で保存されている残基に着目し、側鎖の大きさを変える種々の変異体を作成した。その、イオン透過を運動能により評価することで、イオン透過経路に関与する残基を推測した。さらに、これまで必須とされていたPomB膜貫通領域の荷電残基のAsp24に変異導入して機能を失ったものに、PomAのTM4のN194を荷電残基に変えることで機能回復するという驚くべき結果を示した。PomBのプラグ領域欠失体を用いることで、PomAPomB複合体のナトリウムイオンの取り込みを、原子吸光法により測定に成功した。これは、固定子複合体のナトリウムイオン透過を直接測定した画期的な成果である。以上のように $\text{Na}^+$ 駆動型べん毛モーター研究は、それまでに思いもよらなかったダイナミックな構造変化と、共役イオンに依存したモーター構成部位の集合の様相が見えてきていた。さらに、2010年に超好熱性細菌の

回転子タンパク質FliGの全長結晶構造解析がジャーナル誌に報告され、結晶構造解析の結果をもとに、べん毛回転方向を変化させる際に、ダイナミックな構造変化が起こることが予測された。べん毛モーターのエネルギー変化に重要な部分である回転子および固定子ともにダイナミックな構造変換が機能発現に重要であるという事実が明らかにされつつある状態であった。

## 2. 研究の目的

本計画研究は、電子顕微鏡構造解析と回転計測の専門家を分担者に加え、エネルギー変換体の全体構造解析を強力に進め、 $\text{Na}^+$ 駆動型べん毛モーターのエネルギー変換ユニットである固定子におけるイオン透過時のダイナミックな構造変化と、回転子相互作用を明らかにすることを目的とした。固定子回転子相互作用にはNMR、FCS、Biacore、ITCなどの手法を駆使して、解析し、構造変化の検出にはNMRを用いて多くの変異体タンパク質を比較する事によって明らかにする。結晶構造解析もほとんどが好熱性細菌由来のタンパク質で行われているが、 $\text{Na}^+$ 駆動型の我々の解析しているタンパク質を自前で構造解析も行う。また、イオン流入を検出する系を立ち上げたことで、この検出系を発展させ、構造変化とイオン透過能を結びつけることが出来るようになり、エネルギー変換の本質に迫れる研究を目指した。べん毛モーターという独創的な研究材料を使った研究から、エネルギー変換機構の新しいパラダイムを生み出すことも重要な目的としている。NMR、X線結晶構造、電子顕微鏡などにより、現在の最高技術レベルで構造情報を取得し、その情報と回転計測を組み合わせることで、分子間相互作用と力発生機構の解明に結びつけることを目的とした。運動に必要なタンパク質の同定と生化学的解析、それらの構造解析から物理化学解析分野に突入している細菌べん毛の研究をさらに進めることで、領域内のモータータンパク質の研究を活性化し、新しい運動器官の運動機構の研究から、普遍的なモータータンパク質が内包するエネルギー変換に必要な構造と生命科学における普遍的な物理化学的法則を発見することを、実現は難しいが5年間の大きな目標とした。

## 3. 研究の方法

固定子を構成するPomAの細胞質領域と回転子を構成するFliGのC末端領域が相互作用して力発生をするというモデルがある。しかし、回転子と固定子の相互作用は再現性のある結果として報告されていない。回転機構を明らかにしてモデルを正すためには、FliGとPomAの相互作用の検出と相互作用部位を決めることが必須である。このためには、PomAの大量調製が必須である。そのため、種々の欠失変異体や可溶性タグを付け加えることで可溶性のPomA細胞質領域を調製することを目標とする。それら細胞質領域を含むタンパク質を調製することができれば、FCS法が適用可能である。さらに、弱い相互作用であることが予想されることから、NMR、Biacore、ITCなどの手法を駆使して、相互作用の検出を試みる。

低温電子線トモグラフィー法は、単離・精製することなく、生体内部の構造を解析できる唯一の手法である。これまでにTreponemaで、またBorreliaでそれぞれ低温電子線トモグラフィー法により、詳細な構造解析に成功している。ピブリオ菌のべん毛モーターの構造解析は、分解能が非常に低く、構造機能相関を解析する分解能は得られていない。そこで本計画研究では、低温電子線トモグラフィー

による高分解能構造解析を行う。固定子と回転子のインタクト構造を明らかにできる現状では唯一の方法である。べん毛モーター基体の電子顕微鏡による単粒子解析をおこなうことで、トモグラフィー法による解像度の低さを補完する。

PomAB複合体のイオン結合部位Asp24にどのような経路でイオンが流入し、流出するのかが解析されていない。これまでにPomAの膜貫通領域の側鎖の大きさを変える種々の変異体を作成し、運動能によりイオン透過を評価することで、イオン透過経路がNa<sup>+</sup>駆動型の方がH<sup>+</sup>駆動型に比べ、14~19 Å<sup>3</sup>広いと推定された。またPomA-M206がPomB-C31と向かい合いイオン透過経路を形成しているとの予測がされている。この結果を基に、イオン通過経路に対応する残基について、徹底的な変異導入を行い、イオン透過経路を詳細に推測する。同時に、プロトン駆動型のモーター蛋白質についても行う。

PomA全長は膜貫通領域を4カ所もった疎水性タンパクであるため、発現も悪く、精製も難しい。しかし、エネルギー変換複合体の力発生タンパク質の相互作用解析で調製したPomA細胞質領域を含む欠損変異体を用いることで、タンパク質調製が格段に容易になるため、<sup>15</sup>Nでラベルし、HSQCを測定して構造の概略を比較する。べん毛モーターの回転機構および回転方向切り替え機構を理解するためには今まで以上に高い時空間分解能で力発生の素過程を検出し、ステップの立ち上がり時間（回転子と固定子が実際に相互作用している時間）や停止時間（固定子が次の回転子と相互作用するまでの時間）について反応速度論的な解析が必須である。これまでは照明系の明るさの制限のため必要な時空間分解能を達成できなかったが、最近、金や銀のナノ粒子をプローブとして光散乱法を用いることによりその制限は回避できることが判明した。そこで、①140万フレーム/秒で撮影可能なノビテック社製の高速カメラを用いてかつてない高時間分解能ナノ光計測装置を構築する。②金粒子をべん毛モーターに効率よく標識するために、分子生物学的手法を駆使して解析に適した菌を作製する。③野生型べん毛モーターと変異体の力発生の素過程の計測を行う。得られた計測結果を基に、べん毛モーターの力発生サイクル機構についての数理モデルを構築する。

細胞質領域やペリプラズム領域の部分構造については、タンパク質収量に問題があるため、発現系のさらなる改良が必要である。厳密に発現をコントロールできるベクターを用い、培養条件に細心の注意を払うことによって、結晶化に向けて十分なタンパク質量の確保を目指す。得られた複合体について、その電子顕微鏡による単一粒子解析も試み、電子顕微鏡像に結晶構造をはめ込む努力を行う。超好熱性真正細菌*A. aeolicus* VF5株のゲノム配列を解析したところ、固定子遺伝子として1つの*motA*遺伝子と2つの*motB*遺伝子(*motB*<sub>1</sub>, *motB*<sub>2</sub>)があることが分かった。ペリプラズム領域を大腸菌のMotBと置き換えたキメラ体で、大腸菌中で機能することから、この固定子複合体の結晶化を行う。さらに、グラム陽性菌枯草菌のNa<sup>+</sup>駆動型固定子であるMotP/S複合体の精製にも成功していることから、MotP/S複合体の結晶化を行う。

#### 4. 研究成果

細菌のべん毛の根元にはべん毛モーターと呼ばれる超分子複合体が存在し、これを回

転させる事で細菌は運動する。べん毛モーターは固定子と回転子という二つの部位から構成されている。一方、これまでの大腸菌のH<sup>+</sup>駆動型モーターにおける研究において、回転力産生のための回転子-固定子間相互作用において、FliGとMotAの荷電残基間の静電的相互作用が重要であることが示唆されている。FliGおよびPomAの保存荷電残基およびその周辺残基に着目し、それらの残基を電荷をもたない残基および逆の電荷をもつ残基に置換した変異体を作成した。変異によって、FliGおよびPomAの発現量が大きく変化する事がない事を確認した上で、それらの変異を組み合わせたFliG/PomA二重変異体を作成した。顕微鏡や軟寒天中での運動能観察した約170の変異体のうち、約20変異体において顕著な運動能の協調的な阻害が見られた。特に、R88A(PomA)/R301A(FliG)変異体やK89A(PomA)/R301A(FliG)変異体では運動能の阻害が見られなかったにもかかわらず、R88A/K89A/R301Aでは強い運動能阻害が見られた事から、PomAの隣接するR88とK89残基は相補的にFliG側の負荷残基と相互作用している可能性が考えられる。また、4つの変異体においては、FliG/PomA二重変異によって運動能阻害からの抑圧が観察され、PomA-E97とFliG-K284との間の静電的相互作用、PomA-R88/K89とFliG-D308/D309との間の静電的相互作用、PomA-E96とFliG-R301との間の相互作用がモーター機能に重要であることが推測された。以上のことにより、Na<sup>+</sup>駆動型べん毛モーターにおいては、大腸菌のH<sup>+</sup>駆動型モーターとは異なり、1残基-1残基間相互作用というよりは多残基-多残基間の相互作用がモーター機能に重要である事が判明した。

べん毛の根元にあるCリングには回転力発生、回転方向変換そしてべん毛繊維の形成という3つの大事な機能がある。このCリングはFliG、FliM、FliNの3種類のタンパク質から構成される。この中でFliGはそれ自身でリングを形成し、固定子複合体と直接相互作用する最も大事な部分である。FliGの3残基欠損変異体は*Salmonella*や*E. coli*で回転方向が一方にロックされたり、べん毛形成しなくなったりすることが知られている。*V. alginolyticus*における相同箇所を欠損させたFliG( $\Delta$ PSA)を発現するプラスミドを作製し、その表現型を調べた。べん毛繊維が生えなかったが、*Vibrio*菌内で野生型と同様に変異体でも極への局在が観察された。極局在したドットの蛍光強度を解析したところ野生型と変異体でほぼ同じことから、欠損変異体もリング構造を保持しているものと考えられた。欠損変異体を発現するプラスミドを野生株VIO5に導入し、染色体から野生型のFliGを、プラスミドから変異体のFliGを発現させた。その結果、べん毛繊維は構築されたのに対し、運動能は大きく抑制された。この結果が一般的な現象かどうか検討するため、べん毛形成できないことが知られている点変異体R179HとA219Eを用い、野生株VIO5にこれらの変異体を発現させたところ欠損変異体と同じような結果を示した。報告されているFliG-FliM複合体の結晶構造から推測すると、今回使用した変異体はFliMとの結合能が失われていると考えられる。これらの変異体FliGはリング構造を保持しているものの、べん毛繊維を構築することができない。しかしながら、リング内にわずかに野生型のFliGがあればべん毛繊維を構築できるようになると考えられた。ビブリオ(*Vibrio*)種は、海洋環境に生息するグラム陰性細菌であ

る。ヒトおよび動物の病原体として知られているほとんどのピブリオ種は非常に高い運動性をもつ。多毛になったピブリオ菌極毛変異体を用いることで、多くの観察像を低温電子断層撮影法(cryo-ET)によって取得し、詳細なべん毛モーター構造モデルの作成を行った。べん毛繊維を囲んでいるシースにベルトのようなリング状の構造が観察され、これをSリングと名付けた。ピブリオ特異的モーター構造において、MotXとMotYから構成されるT-リングが13回対称性を有することを示した。これまで詳細に研究されているサルモネラ菌とピブリオ菌のモーター構造の比較することができた。また、MSリングの構造解析を7.4分解能で成功した。

*Aquifex*属は真性細菌の進化系統樹上、非常に初期の段階で分岐したと考えられている超好熱性のバクテリアである。85°Cでの運動性を観察したところ、約90µm/secという速い遊泳能を示した。この遊泳速度は温度を低下させるに伴って遅くなり、室温(23°C)ではまったく遊泳しなかった。よって*A. aeolicus*は熱に対して構造的・機能的に安定なべん毛を持ち、それを使って遊泳することが示された。*A. aeolicus*のMotA/Bを大腸菌*motAB*欠失株で発現させた時に、ナトリウム駆動型べん毛モーターとして機能することが明らかになった。*A. aeolicus*のMotAは、系統的に離れてはいるものの大腸菌のモーターと相互作用して回転力を生み出す能力があることから、両者が機能的な相関関係を維持していることが示された。*A. aeolicus*のMotAを大腸菌で発現・精製したところ、MotB非存在下であるにもかかわらず、ゲル濾過クロマトグラフィーにより、約210 kDaの分子量位置に溶出された。架橋剤をつかった実験から、2量体、3量体、4量体と推測されるバンドがSDS-PAGEによって検出された。単量体は約30kDaであることから多量体構造をとっていることが判明した。精製MotAを電子顕微鏡で観察し単粒子解析したところ、構造を持つことが分かった。MotAはMotB非存在下でも4量体構造を形成すると推測された。べん毛モーターの回転ステップ速度は予想以上に大きく揺らぐことが判明した。

ナトリウムイオン駆動型ピブリオ菌モーターでは、2種類の膜タンパク質(PomA, PomB)から構成される固定子と、3種類の可溶性タンパク質(FliG, FliM, FliN)からなる回転子との相互作用によって回転力が作られる。べん毛モーターは時計回り(CW)と反時計回り(CCW)の両方向で回転することができる。FliGとPomAの相互作用面が変化することによって回転方向が切り替わると考えられている。べん毛の回転方向切り替えの際にFliGがどのように構造変化するかを、NMRと構造シミュレーションによって、回転方向制御に異常がみられる変異体の取得とその解析によって明らかにした。枯草菌のナトリウムイオン駆動型べん毛モーターの固定子複合体であるMotPS複合体が、外部負荷を感じて回転子リング複合体の周りに配置される固定子の数を制御することを示した。また、MotPS複合体はナトリウムイオンやポリ多糖に依存してべん毛モーターに組み込まれることが判明した。MotPS複合体の精製にも成功した。さらに、高速AFMによりMotSの構造変化の可視化に成功した。そして、MotSのC末端部分の構造変化がナトリウムイオンに依存することを明らかにした。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 55件)

- (1) Takekawa N, Kojima S, & Homma M. Mutational analysis and overproduction effects of MotX, an essential component for motor function of Na<sup>+</sup>-driven polar flagella. *J. Biochem.* 査読有. 161 (2): 159-166(2017)
- (2) Fujii T, Kato T, Hiraoka KD, Miyata T, Minamino T, Chevance F, Hughes K, & Namba K. Identical folds used for distinct mechanical functions of the bacterial flagellar rod and hook. *Nat. Commun.* 査読有. 8, 14276 (2017)
- (3) Renault T T, Abraham A O, Bergmiller T, Parados G, Rainville S, Charpentier E, Guet C C TuY, Namba K, Keener J P, Minamino T, Erhardt M. Bacterial flagella grow through an injection-diffusion mechanism. *eLife.* 査読有. 6, 23136 (2017)
- (4) Terahara N, Noguchi Y, Nakamura S, Kamiike N, Ito M, Namba K, Minamino T. Load- and polysaccharide- dependent activation of the Na<sup>+</sup>-type MotPS stator in the *Bacillus subtilis* flagellar motor. *Sci. Rep.* 査読有. 7. 46081(2017)
- (5) Hiraoka K D, Morimoto Y V, Inoue Y, Fujii T, Miyata T, Makino F, Minamino T & Namba K. Straight and rigid flagellar hook made by insertion of the FlgG specific sequence into FlgE. *Sci. Rep.* 査読有. 7, 46723(2017)
- (6) Morimoto Y V, Namba K, Minamino T. Bacterial intracellular sodium ion measurement using CoroNa Green. *Bio-protocol.* 査読有. 7, e2092 (2017)
- (7) Morimoto Y V, Namba K, Minamino T. Measurements of free-swimming speed of motile *Salmonella* cells in liquid media. *Bio-protocol.* 査読有. 7, e2093 (2017)
- (8) Nishikino T, Zhu S, Takekawa N, Kojima S, Onoue Y, Homma M. Serine suppresses the motor function of a periplasmic PomB mutation in the *Vibrio* flagella Stator. *Genes Cell.* 査読有. 21(5): 505-16 (2016)
- (9) Takekawa N, Terahara N, Kato T, Gohara M, Mayanagi K, Hijikata A, Onoue Y, Kojima S, Shirai T, Namba K, Homma M. The tetrameric MotA complex as the core of the flagellar motor stator from hyperthermophilic bacterium. *Sci Rep.* 査読有. 6:31526 (2016)
- (10) Takekawa N, Kwon S, Nishioka N, Kojima S, & Homma M. HubP, polar landmark protein, regulates flagellar number by assisting in the proper polar localization of FlhG in *Vibrio alginolyticus*. *J Bacteriol.* 査読有. 198(22):3091-3098 (2016)
- (11) Onoue Y, Abe-Yoshizumi R, Gohara M, Nishino Y, Kobayashi K, Asami Y, & Homma M. Domain-based biophysical characterization of the structural and thermal stability of FliG, an essential rotor component of the Na<sup>+</sup>-driven flagellar motor. *Biophys. Physicobiol.* 査読有. 13: 227-233(2016)
- (12) Kawamoto A, Matsuo L, Kato T, Yamamoto H, Namba K, Miyata M.

- Periodicity in attachment organelle revealed by electron cryotomography suggests conformational changes in gliding mechanism of *Mycoplasma pneumoniae*. mBio. 査読有.7, e00243-16(2016)
- (13) Kinoshita M, Nakanishi Y, Furukawa Y, Namba K, Imada K, Minamino T. Rearrangements of  $\alpha$ -helical structures of FlgN chaperone control the binding affinity for its cognate substrates during flagellar type III export. Mol. Microbiol. 査読有.101, 656-670 (2016)
- (14) Furukawa Y, Inoue Y, Sakaguchi A, Mori Y, Fukumura T, Miyata T, Namba K, Minamino T. Structural stability of flagellin subunit affects the rate of flagellin export in the absence of FliS chaperone. Mol. Microbiol. 査読有.102, 405-416 (2016)
- (15) Morimoto Y V, Kami-ike N, Miyata T, Kawamoto A, Kato T, Namba K, & Minamino T. High-resolution pH imaging of living bacterial cell to detect local pH differences. mBio 査読有.7, e01911-16(2016)
- (16) Minamino T, Kinoshita M, Inoue Y, Morimoto YV, Ihara K, Koya S, et al. FliH and FliI ensure efficient energy coupling of flagellar type III protein export in *Salmonella*. MicrobiologyOpen 査読有.5, 424-435 (2016).
- (17) Ishii E, Chiba S, Hashimoto N, Kojima S, Homma M, Ito K, Akiyama Y, & Mori H. Nascent chain-monitored remodeling of the Sec machinery for salinity adaptation of marine bacteria. Proc Natl Acad Sci USA 査読有.112(40):E5513-22(2015)
- (18) Takekawa N, Nishiyama M, Kaneseke T, Kanai T, Atomi H, Kojima S, & Homma M. Sodium-driven energy conversion for flagellar rotation of the earliest divergent hyperthermophilic bacterium. Sci Rep 査読有. 5:12711(2015)
- (19) Onoue Y, Kojima S, Homma M. Effect of FliG three-amino-acids deletion in *Vibrio* polar-flagellar rotation and formation. J Biochem. 査読有.158(6):523-9 (2015)
- (20) Ono H, Takashima A, Hirata H, Homma M, Kojima S. The MinD homolog FlhG regulates the synthesis of the single polar flagellum of *Vibrio alginolyticus*. Mol Microbiol. 査読有.98(1):130-41 (2015)
- (21) Zhu S, Kumar A, Kojima S, Homma M. FliL associates with the stator to support torque generation of the sodium-driven polar flagellar motor of *Vibrio*. Mol Microbiol. 査読有.98(1):101-1 (2015)
- (22) Nishino Y, Onoue Y, Kojima S, Homma M. Functional chimeras of flagellar stator proteins between *E. coli* MotB and *Vibrio* PomB at the periplasmic region in *Vibrio* or *E. coli*. Microbiologyopen 査読有.4(2): 323-331 (2015)
- (23) Ogawa R, Abe-Yoshizumi R, Kishi T, Homma M, & Kojima S. Interaction of the C-terminal tail of FliF with FliG from the Na<sup>+</sup>-driven flagellar motor of *Vibrio alginolyticus*. J Bacteriol. 査読有.197(1):63-72 (2015)

以下論文発表省略

[学会発表](計 234件)

- (1) Shiwei Zhu, 錦野達郎, 本間道夫, Jun Liu. *Vibrio* flagellar motor structure observed by cryo-electron tomography. 第90回日本細菌学会総会.2017.3.19~20. 仙台国際センター展示棟(宮城県仙台市)
- (2) 水野彬, 小嶋誠司, 本間道夫. べん毛本数制御におけるビブリオ菌 FlhG の DQAxLR モチーフの役割.第90回日本細菌学会総会.2017.3.19~20. 仙台国際センター展示棟(宮城県仙台市)
- (3) 錦野達郎, 土方敦司, 尾上靖宏, 小嶋誠司, 白井剛, 本間道夫. べん毛回転方向制御異常を起こす回転子タンパク質 FliG における EHPQR モチーフ変異の解析. 第90回日本細菌学会総会.2017.3.19. 仙台国際センター提示棟(宮城県仙台市)
- (4) 錦野達郎, 土方敦司, 尾上靖宏, 小嶋誠司, 白井剛, 本間道夫. 海洋性ビブリオ菌べん毛回転子タンパク質 FliG の EHPQR モチーフの回転方向制御への役割.平成28年度日本生物物理学会中部支部講演会.2017.3.6.名古屋大学 ES ホール(愛知県名古屋市)
- (5) 岩月啓人, 小嶋誠司, 本間道夫. 海洋性ビブリオ菌べん毛固定子タンパク質 PomA のペリプラズムループ領域のシステイン変異導入による解析.平成28年度日本生物物理学会中部支部講演会.2017.3.6.名古屋大学 ES ホール(愛知県名古屋市)
- (6) 本間道夫. How to determine the number and localization of polar flagellum in *Vibrio* cells? OIST Workshop “Bacterial flagella, injectisomes & type III secretion systems” joint with Annual Flagella Meeting.2017.3.4.沖縄科学技術大学院大学(沖縄県国頭郡)
- (7) Tatsuro Nishikino, Atsushi Hijikata, Yasuhiro Onoue, Seiji Kojima, Tsuyoshi Shirai, Michio Homma. Flagellar rotational direction affected by FliG mutations of FliM interacting region in marine *Vibrio*. OIST Workshop “Bacterial flagella, injectisomes & type III secretion systems” joint with Annual Flagella Meeting.2017.3.3.沖縄科学技術大学院大学(沖縄県国頭郡)
- (8) Mayuko Sakuma, Satoshi Inaba, Shoji Nishikawa, Takehiko Nishigaki, Seiji Kojima, Katsumi Imada, and Michio Homma. Structural property of the periplasmic TPR domain of SflA, a DnaJ family protein involved in flagellation of *Vibrio alginolyticus*. OIST Workshop “Bacterial flagella, injectisomes & type III secretion systems” joint with Annual Flagella Meeting.2017.3.1.沖縄科学技術大学院大学(沖縄県国頭郡)
- (9) 錦野達郎, 土方敦司, 尾上靖宏, 小嶋誠司, 白井剛, 本間道夫. 海洋性ビブリオ菌べん毛の回転方向スイッチ異常を起こすモータータンパク質 FliG 変異の解析.2017年生体運動合同班会議.2017.1.7.神戸国際会議場(兵庫県神戸市)

- (10) 佐久間麻由子、稲葉敏、西川翔士、西垣岳彦、小嶋誠司、今田勝巳、本間道夫. 海洋性ビブリオ菌のべん毛形成に關与するタンパク質 SflA のペリプラズム領域の構造と機能解析. 日本生体エネルギー研究会第 42 回討論会. 2016.12.19~21. 名古屋工業大学 (愛知県名古屋市)
- (11) 佐久間麻由子、稲葉敏、西川翔士、西垣岳彦、小嶋誠司、今田勝巳、本間道夫. 海洋性ビブリオ菌のべん毛形成に關与する DnaJ ファミリータンパク質 SflA のペリプラズム領域の構造特性. 第 54 回日本生物物理学会年会. 2016.11.27. つくば国際会議場 (茨城県つくば市)
- (12) 近藤翔太、本間道夫、小嶋誠司. FliG がもつ ATPase モチーフへの変異によるビブリオ菌極べん毛数と位置への影響. 第 54 回日本生物物理学会年会. 2016.11.27. つくば国際会議場 (茨城県つくば市)
- (13) 小嶋誠司、高尾真澄、Almira Gaby、河原郁美、佐久間麻由子、本間道夫、児嶋長次郎、今田勝巳. 集合に共役したべん毛モーター固定子 MotB のペリプラズム領域における構造変化の変異体解析. 第 54 回日本生物物理学会年会. 2016.11.27. つくば国際会議場 (茨城県つくば市)
- (14) 錦野達郎、土方敦司、尾上靖宏、白井剛史、本間道夫. 海洋性ビブリオ菌の FliG の EHPQR-motif 周辺構造によるべん毛の回転方向決定. 第 54 回日本生物物理学会年会. 2016.11.26. つくば国際会議場 (茨城県つくば市)
- (15) 錦野達郎、尾上靖宏、小嶋誠司、本間道夫. 海洋性ビブリオ菌 FliG における EHPQR-motif 変異によるべん毛回転方向制御の阻害. 第 53 回日本細菌学会中部支部会. 2016.10.28. 日本歯科大学新潟生命歯学部 (新潟県新潟市)
- (16) 平田ひかる、近藤翔太、小嶋誠司、本間道夫. 海洋性ビブリオ菌のべん毛本数を負に制御する FliG の ATPase 活性と生化学性状. 第 53 回日本細菌学会中部支部会. 2016.10.28. 日本歯科大学新潟生命歯学部 (新潟県新潟市)
- (17) 佐久間麻由子、稲葉敏、西川翔士、小嶋誠司、本間道夫. 海洋性ビブリオ菌の極べん毛形成に關与する DnaJ ファミリータンパク質 SflA のペリプラズム領域 TPR ドメインとその機能解析. 第 89 回日本生化学会大会. 2016.9.25. 仙台国際センター/東北大学 (宮城県仙台市)
- (18) 尾上靖宏、本間道夫. Na<sup>+</sup>駆動型べん毛モーター固定子複合体の精製酵素の機能解析. 第 89 回日本生化学会大会. 2016.9.25. 仙台国際センター/東北大学 (宮城県仙台市)
- (19) 錦野達郎、尾上靖宏、小嶋誠司、本間道夫. 海洋性ビブリオ菌極べん毛の回転方向制御が異常になるモータータンパク質 FliG 変異体の解析. 第 89 回日本生化学会大会. 2016.9.25. 仙台国際センター/東北大学 (宮城県仙台市)
- (20) Seiji Kojima, Norihiro Takekawa, Soojin Kwon, Noriko Nishioka, Michio Homma. HubP, a polar landmark protein, regulates flagellum number by assisting in the proper

- polar localization of FliG in *Vibrio alginolyticus*. Gordon Research Conference "Bacterial Cell Surfaces" 2016.6.26~7.1. West Dover, USA. (アメリカ)
- (21) 本間道夫、尾上靖宏. Na<sup>+</sup>駆動型べん毛モーター固定子 PomAPomB の単離精製その解析 Purification and functional characterization of stator complex, PomAPomB from the Na<sup>+</sup>-driven flagellar motor. 新学域第 4 回全体会議. 2016.6.8~10. 長崎大学良順会館 (長崎県長崎市)
- (22) 小嶋誠司、平田ひかる、本間道夫. ATP 依存的にべん毛本数を負に制御する FliG タンパク質の性質. 第 80 回日本生化学会中部支部会. 2016.5.21. 三重大学講堂 (三重県津市)
- (23) 本間道夫、佐久間麻由子、稲葉敏、西川翔士、小嶋誠司、今田勝巳. べん毛形成を制御する DnaJ モチーフをもつビブリオ属特異的タンパク質 SflA のペリプラズム領域の構造とその機能解析. 第 80 回日本生化学会中部支部会. 2016.5.21. 三重大学講堂 (三重県津市)
- (24) Minamino T. Energy transduction mechanism of bacterial flagellar type III protein export. T3SS Meeting. 2016.4.4. (Germany)
- (25) Minamino T. Flagellar type III protein export in *Salmonella* and the roles of chaperones. Lab Seminar. 2016.4.1. Hannover Medical School, Hannover (Germany)
- 以下学会発表省略

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

名古屋大学大学院理学研究科 超分子機能学講座生体膜機能グループ HP

<http://bunshi4.bio.nagoya-u.ac.jp/%7ebunshi4/fo>

[urth.html](http://bunshi4.bio.nagoya-u.ac.jp/%7ebunshi4/fo)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

本間道夫 (HOMMA MICHIO)

名古屋大学・大学院理学研究科・教授

研究者番号: 50209342

### (2) 研究分担者

南野徹 (MINAMINO TOHRU)

大阪大学・生命機能研究科・准教授

研究者番号: 20402993

### (3) 研究分担者

加藤貴之 (KATO TAKAYUKI)

大阪大学・生命機能研究科・助教

研究者番号: 20423155