

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 29 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2011～2014

課題番号：23247024

研究課題名(和文) 膜超分子べん毛モーターの動的構造変換と機能発現の研究

研究課題名(英文) Study on the dynamic structure change of membrane supramolecular flagellar motor and the force generation

研究代表者

本間 道夫 (Homma, Michio)

名古屋大学・理学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：50209342

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 37,100,000円

研究成果の概要(和文)：ナトリウム駆動型べん毛モーターの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、回転エネルギー変換機構について解析した。in vivoでの固定子のイオン取り込み活性を原子吸光により直接測定することに始めて成功した。また、ビブリオ菌固定子イオン結合残基PomB-D24Nは運動能欠損となるが、PomA-N194D変異によりその欠損を抑圧する事を示し、イオン結合能が回復すると推測された。さらに、PomBのC末端断片(PomBC)の結晶解析により構造し、大腸菌MotBの構造と比較した。それら構造情報をもとにPomBとMotBのキメラタンパク質PotBを作成し、機能解析を行った。

研究成果の概要(英文)：The dynamic structural change of the stator in the sodium-driven flagellar motor of *Vibrio* was analyzed for the mechanism of rotational energy conversion when the coupling ions flow in the stator of the motor. The ion uptake activity by the stator has been detected directly and firstly in vivo by atomic absorption analysis. In addition, although in *Vibrio* stator the mutation of the ion binding residues, PomB-D24N, give completely nonfunctional phenotype, the additional PomA-N194D mutation suppress the defect. It is inferred that the ion binding capacity was recovered by the mutation. Furthermore, the structure of the C-terminal fragment of PomB (PomBC) was determined by crystallographic analysis and was compared with the structure of the corresponding region of *E. coli* MotB. Based on these structural information chimeric proteins PotB made of PomB and MotB were constructed and carried out the functional analysis of these chimeric proteins.

研究分野：生物物理学

キーワード：生体エネルギー変換 PomA PomB モーター べん毛 膜タンパク質

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。その中で、代表者のグループでは、海洋性ビブリオ菌 Na⁺ 駆動型モーターを用いて研究を進め、代表者は、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。H⁺ イオンは、水中に普遍的に存在するため、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、溶液中での Na⁺ イオンの制御が容易なため、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。実際、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、代表者のグループと米国 MaCarter らのグループとが各々、Na⁺ 駆動型モーターのエネルギー変換ユニット、あるいは、イオンチャネルに相当すると考えられる遺伝子、PomA、PomB、MotX、MotY のクローニングに成功した。これらの遺伝子を解析する事で主に以下のことを代表者は明らかにしていた。1) 大腸菌の欠損株にキメラモーターを発現させ、通常 H⁺ 駆動型べん毛モーターで回転する大腸菌のべん毛を、Na⁺ 駆動力で動かすことに成功した。これは、大腸菌で 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、H⁺ 駆動型と 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(JMB, 327:453-463)。代表者らは、この大腸菌キメラモーターを用い、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(Nature, 437: 916-919, 2005)。2) ステーターの構成因子である PomA もしくは PomB に緑色蛍光タンパク質(GFP)を融合させ(GFP-PomA, GFP-PomB)、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、そしてその極局在がローター依存的事であることを示した(JMB, 351:707-717, 2005)。3) MotY は MotX と複合体となり、べん毛基部体で Tリングと呼ばれる構造を作ることを明らかにした(Mol Microbiol, 62: 1170-1180, 2005)。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(PNAS, 105: 7696-7701, 2008)。4) PURESYSYSTEM を使った無細胞タンパク質合成系において、ホスファチジルコリンで作成したりポソーム存在下で PomAB の合成に成功し、PomA と PomB が膜上で複合体形成をしていることを示した(J Biochem, 144:635-642, 2008)。5) GFP 融合 FliG タンパク質(ローター構成因子の一つ)は Na⁺ 濃度によらず菌体の極に局在するが、PomAB ステーターの極局在は Na⁺ イオンが必要であることを示した。Na⁺ が結合することで、ステーターがローター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、ダイナミックなステーター集合と Na⁺ の関係を予測したモデルを提案した(Mol Microbiol 71: 825-835, 2009)。6) 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た。その結果、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、実験の結果として示す画期的なものである(Biochemistry, 48:11699-11705, 2009)。7) イオン取り込み側に位置し、H⁺ 駆動型で Ala39、Na⁺ 駆動型で Cys31 に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(Biophysics, 5:45-52, 2009)。8) これまで必須と思われていた PomB の膜貫通領域にある荷電残基の 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(JMB, 397: 689-696, 2010)。さらにオーストラリアのグループにより回転子タンパク質 FliG の全長結晶構造解析が報告された(Nature, 46:996-1000, 2010)。この論文では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を予測している。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ていた。

2. 研究の目的

膜超分子体である細菌べん毛は、イオン流入のエネルギーを動力源として高速で回転させる、生物界において唯一の回転運動器官である。この超小型な高速マシンは、回転する生命体ともよばれる複雑な超分子複合体でもある。細菌べん毛モーターは、電気モーターなどと同じく、回転子と固定子から構成されており、それらの間で回転力を発生する。構造解析や一分子レベルの回転計測が進んでいる一方で、イオンチャネルであるエネルギー変換体のどこをどのようにイオンが通過するかという基本的な事実さえ説明されていない側面もある。本研究では、代表者らのこれまで研究蓄積をもとに、イオンがタンパク質内をどのような経路で流れ、結合し、それがタンパク質の構造変換を起こし、どのような相互作用によって回転力に変換されるのかというエネルギー変換機構の本質に迫ることを目標とした。

3. 研究の方法

研究方法としては、以下の計画を立案した。(1) 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: 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。代表者のグループでは、FliG の大量調製に成功し、FliF との相互作用を FCS (蛍光相関分光法) により検出している。PomA を大量調製できれば、相互作用検出が可能となる。そのため、種々の欠失変異体や可溶化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。FCS 法やさらに NMR、Biacore、ITC などの手法を駆使して、相互作用の検出を試みる。(2) イオン透過活性の *in vivo* 測定系の開発: イオン感受性蛍光色素が多く開発されてきている。ナトリウムイオン感受性蛍光色素などを用い、べん毛回転における内部ナトリウムイオン濃度変化の検出系の開発を行う。この測定系が開発できれば、大腸菌において、モータータンパク質変異体のイオン輸送能とエネルギー変換能の欠損を区別できることになり、エネルギー変換機構の解明に大きな寄与をされると考えられる。(3) エネルギー変換ユニット中でのイオン透過経路の解明: 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 PomB-Asp24 (Asp32-MotB) のヘリックス 2 ターン分離、イオン取り込み側に位置し、H⁺ 駆動型で Ala、Na⁺ 駆動型で Cys に保存されて

いる残基に着目した。イオン通過経路に対応する残基を、同様なストラテジーで徹底的な変異導入を試み、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タンパク質についても行う。(4) 固定子複合体のプロテオリポソーム再構成によるイオン透過活性の測定：べん毛固定子複合体(PomA/PomB)のイオン透過活性の測定なしには、べん毛モーター回転機構解明することは最終的に不可能である。PomA/B 複合体を可溶化するための界面活性剤の再検討を行い、Na⁺取り込み実験を行う。(5) ビブリオ菌モータータンパク質の構造相互作用解析：PomBの細胞外領域はナトリウムの結合により大きな構造変換が予想されている。PomBのペリプラズム領域の部分については、発現系を構築して既に十分量のタンパク質量を調整し、結晶化は試みている。その構造変換の検出を行う。(6) エネルギー変換複合体構造の動態測定：PomA 全長は膜貫通領域を4力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。しかし前年度の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、¹⁵NでラベルをしHSQCを測定するなどして、構造の概略を比較する。そのなかで、解析できそうなスペクトルを与えたものについて、詳細な条件検討を行い、3次元構造解析を行う。

4. 研究成果

大腸菌にナトリウムイオン駆動型ビブリオ菌由来の固定子タンパク質を発現することで、*in vivo*での固定子のイオン取り込み活性を原子吸光により直接測定することに成功した。種々のこれまで解析された固定子変異体のイオン透過能を直接に調べることが可能となり、機能解析に大きな進展があった。イオン透過経路に関して、固定子タンパク質であるPomBの膜貫通領域に存在するF22残基が、ナトリウム結合残基であるD24からのイオンのリリースに重要であることを示した。回転子タンパク質FliGのC末端ドメインのコアを形成する残基への変異(L259Q, L270R, L271P)によって、固定子の集合が阻害され、べん毛モーターが回転できなくなることを示した。これらの変異により、固定子との相互作用を担うFliGのC末端ドメイン(FliG_C)の構造が実際に変化するかについて、FliG_Cを発現・精製し、精製タンパク質のトリプシン感受性を調べた。その結果、3種の変異体ともに野生型の分解パターンとは異なっており、変異により構造が大きく変化していることが示唆された。さらに固定子タンパク質PomA細胞内領域の7つの運動能欠損変異体について固定子の集合能を調べたところ、すべてにおいてGFP融合固定子の極局在率は低下していた。それらPomA変異体の多くが、発現量・固定子複合体形成能・固定子のNa⁺透過能のいずれかにより固定子集合の低下を引き起こしているが、PomA-H136Y変異体では、固定子-回転子間相互作用の阻害が固定子集合の低下の原因である可能性を示すことができた。

固定子タンパク質MotB(PomB)の膜貫通領域にはイオン結合部位として、高度に保存されたアスパラギン酸残基が存在する。このアスパラギン酸をアスパラギンに置換したPomB-D24Nは運動能欠損となるが、PomA-N194D変異がこのD24Nによる運動能欠損を回復させることを示した。この

PomB-D24N/PomA-N194変異体の運動能は非常に弱く、より運動能の高い変異体の取得を試み、4種類のup-motile変異体(sp1, sp2, sp3, sp4)を得ることに成功した。これらの変異体は染色体上にそれらのup-motile変異があることが推察されたが、調べた限りにおいて、べん毛関連遺伝子に変異が見つからなかったため、変異同定することはできなかった。そこで、次世代シーケンサーを用いて全ゲノム解析を行い、up-motile変異を同定した。sp1とsp2についてゲノム解析を行ったところ、sp1, sp2ともにATP合成酵素のaサブユニットに変異が同定された(sp1はA214V, sp2はE174ochre)。ゲノム解析の結果と、PomB-D24N/PomA-N194変異体にΔa subunit変異導入することで、up-motileの表現型を示すようになることから、ATP合成酵素のaサブユニットに変異が入ることで、運動能が上昇することを明らかにした。Na⁺低濃度において、Δa subunit株の遊泳速度は、NMB191株よりも50~80%速いこと、また、KCN存在下ではこの高い運動能が抑制されることから、up-motileの原因として、aサブユニットの変異により、F₀F₁ATP合成酵素が機能しないため、呼吸鎖により形成されるH⁺の電気化学ポテンシャル差が解消されず膜電位が上昇し、結果としてNa⁺駆動力が上昇すると想像される。

ビブリオ菌のナトリウム駆動べん毛モーターの固定子は、PomAとPomBで構成される。PomBのC末端断片(PomB_C)の結晶構造を2.1Åの分解能で決定し、大腸菌MotBの構造と比較した。それらの構造情報は、固定子が回転子に集合する際にPomB_CのN末端領域に大きな構造変化が起こることを示唆していた。構造に基づいて、*in vivo*でのジスルフィド架橋実験のためPomBに2つのCys残基を導入した二重変異体を作成して運動能を調べた。その結果、いくつかの変異の組み合わせで運動能が阻害されることが分かった。還元剤を加えることで、その運動阻害は回復することができた。これらの実験から、固定子が集合して活性化するためには、PomBのα1ヘリックス(154-164)のN末端の約三分の二部分の構造が変化することが必要だと推測された。また、システイン架橋して機能を欠損しても、固定子のイオン透過性や集合に影響を与えなかったことから、α1ヘリックスとPomB_Cのコアドメイン間のコンホメーション変化は、回転子に固定子が集合する際の最終段階で起こると考えられた。これらの結果から、C末端α1ヘリックスとBサブユニットのコアドメインの構造変化が、固定子の回転力発生機能と固定子を回転子の周りに集合する際に重要であることが示された。また、動的なBサブユニットの構造変化により、固定子複合体のチャンネルが開閉し、イオン流入が誘発され、回転力が発生する機構の理解に大きく貢献すると考えられる。

固定タンパク質PomB(ビブリオ菌由来)とMotB(大腸菌由来)のplug領域を切り替え部位としたキメラタンパク質PotB(以後PotB₅₉)は*V. alginolyticus*のΔpomAB株、大腸菌のΔmotAB株で発現させると、どちらの菌においても運動能を示すことがわかっていった。このキメラタンパク質を発現するプラスミドを鋳型として3種類の新規のキメラタンパク質を野生型のPomAと共に発現するプラスミドを作成した。1つ目はα1の手前を切り替え部位としたPotB₉₁、2つ目はα1直後を切り替え部位としたPotB₁₂₉、3つ目はα2直後を切り替え部位としたPotB₁₃₈である。これら

のキメラタンパク質を *V. alginolyticus* の $\Delta pomAB$ 株または $\Delta pomAB\Delta motX$ 株で発現させると、両方の株において運動能を示し、共に PotB₁₃₈ 株がキメラ体の中で最も大きな運動能を示した。次に、キメラタンパク質を大腸菌の $\Delta motAB$ 株で PomA と共発現させると、軟寒天培地上では PotB₅₉ 以外運動能をほぼ示さなくなったが、液体培地中では遊泳能を多少保持していることがわかった。そこでべん毛の回転方向の転換を観察することのできるテザードセル法を用いてキメラ体の方向転換頻度を観察した。すると新規キメラ体は全て PotB₅₉ と比べて方向転換頻度が低下したことがわかった。さらに、大腸菌の $\Delta motAB$ 株においてキメラ体の軟寒天培地上での運動能の向上が見られる抑圧変異体を数株単離することができた。これらの変異はキメラタンパク質をコードするプラスミド上の PomA または B サブユニットの PomB 側をコードする領域上に存在していることがわかった。この変異は固定子一回転子間の界面に影響し、べん毛の回転方向転換頻度を向上させるのだらうと推測された。

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 17 件)

- (1) Norihiro Takekawa, Na Li, Seiji Kojima, & Michio Homma, Characterization of PomA mutants, defective in the functional assembly of the Na(+)-driven flagellar motor in *Vibrio alginolyticus*, *J. Bacteriol*, 査読有, 194 (8), 2012, 1934-1939, doi:10.1128/JB.06552-11
- (2) Kojima S, Nonoyama N, Takekawa N, Fukuoka H, & Homma M. Mutations targeting the C-terminal domain of FliG can disrupt motor assembly in the Na⁺-driven flagella of *Vibrio alginolyticus*. *J Mol Biol*, 査読有, 414, 2011, 62-74, doi: 10.1016/j.jmb.2011.09.019
- (3) Masafumi Koike, Noriko Nishioka, Seiji Kojima, & Michio Homma, Characterization of the flagellar motor composed of functional functional GFP-fusion derivatives of FliG in the Na⁺-driven polar Flagellum Of *Vibrio alginolyticus*, *BIOPHYSICS*, 査読有, 7, 2011, 59-67, doi:10.2142/ biophysics. 7, 5
- (4) Terauchi T, Terashima H, Kojima S, & Homma M A conserved residue, PomB-F22, in the transmembrane Segment of the flagellar stator complex, has a critical role in conducting ions and generating torque. *Microbiology*, 査読有 157 (Pt8), 2011, 2422-32, doi:10.1099/mic.0.048488-0
- (5) Shiwei Zhu, Michio Homma, and Seiji Kojima An intragenic suppressor against a plug-deleted non-motile mutation in PotB, a chimeric stator protein of sodium-driven flagella, *J. Bacteriol*, 査読有, 194 (24), 2012, 6728-6735, doi: 10.1128/JB.01132-12
- (6) So-ichiro Nishiyama, Daisuke Suzuki, Yasuaki Itoh, Kazuho Suzuki, Hirotaka Tajima, Akihiro Hyakutake, Michio Homma, Susan Butler-Wu, Andrew Camilli and Ikuro Kawagishi Mlp24 (McpX) of *Vibrio cholerae* implicated in pathogenicity functions as a chemoreceptor for multiple amino acids, *INFECTION AND IMMUNITY*, 査読有, 80(9), 2012, 3170-8, doi: 10.1128/IAI.00039-12
- (7) Ahmad MR, Nakajima M, Kojima M, Kojima S, Homma, M & Fukuda TNanofork for Single Cells Adhesion Measurement via ESEM- Nanomanipulator System, *IEEE Trans Nanobioscience*, 査読有, 11(1), 2012, 70-8, doi: 10.1109/TNB.2011.2179809
- (8) Takekawa N, Terauchi T, Morimoto YV, Minamino T, Lo CJ, Kojima S and Homma M. Na⁺ conductivity of the Na⁺-driven flagellar motor complex composed of unplugged wild-type or mutant PomB with PomA, *J Biochem*, 査読有, 153(5), 2013, 441-451, doi:10.1093/jb/mvt011.
- (9) Norihiro Takekawa, Seiji Kojima and Michio Homma, Fluorescence imaging of GFP-fused periplasmic components of Na⁺-driven flagellar motor using Tat pathway in *Vibrio alginolyticus*, *J Biochem*, 査読有, 153(6), 2013, 547-553, doi: 10.1093/jb/mvt017
- (10) Yasuhiro Onoue, Rei Abe-Yoshizumi, Mizuki Gohara, Shiori Kobayashi, Noriko Nishioka, Seiji Kojima and Michio Homma, Construction of functional fragments of the cytoplasmic loop with the C-terminal region of PomA, a stator component of the *Vibrio* Na⁺ driven flagellar motor, *J Biochem*, 査読有, 155(3), 2014, 207-216, doi: 10.1093/jb/mvt115
- (11) Norihiro Takekawa, Seiji Kojima and Michio Homma, Contribution of many charged residues at the stator-rotor interface of the Na⁺-driven flagellar motor to torque generation in *Vibrio alginolyticus*, *J Bacteriol*, 査読有, 196(7), 2014, 1377-1385, doi:10.1128/JB.01392-13
- (12) Yoshiyuki Sowa, Michio Homma, Akihiko Ishijima and Richard M. Berry, Hybrid-fuel bacterial flagellar motors in *Escherichia coli*, *Proc Natl Acad Sci USA*, 査読有, 111(9), 2014, 3436-3441, doi: 10.1073/pnas.1317741111
- (13) Zhu S, Takao M, Li N, Sakuma M, Nishino Y, Homma M, Kojima S and Imada K, Conformational change in the periplasmic region of the flagellar stator coupled with the assembly around the rotor, *Proc Natl Acad Sci USA*, 査読有, 111(37), 2014, 13523-8, doi: 10.1073/pnas.1324201111
- (14) Nishino Y1, 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*, *J Microbiologyopen*, 査読有, 4(2), 2015,

- 323-331, doi: 10.1002/mbo3.240
- (15) Hiremath G, Hyakutake A, Yamamoto K, Ebisawa T, Nakamura T, Nishiyama S, Homma M, Kawagishi I, Hypoxia-induced localization of chemotaxis-related signaling proteins in *Vibrio cholera*, *Mol Microbiol*, 査読有, 5, 2015, 780-790, doi: 10.1111/mmi.12887
- (16) Tominaga M, Kawai-Noma S, Kawagishi I, Sowa Y, Saito K, Umeno D, Liquid-based iterative recombineering method tolerant to counter-selection escapes, *PLoS One*, 査読有, 5, 2015, e0119818, doi:10.1371/journal.pone.0119818
- (17) Yamamoto-Tamura K, Kawagishi I, Ogawa N, Fujii T, putative porin gene of *Burkholderia* sp. NK8 involved in chemotaxis toward α -ketoacid, *Biosci Biotechnol Biochem*, 査読有, 79, 2015, 印刷中, doi: 10.1080/09168451.2015.1006571
- [学会発表](計 53 件)
- (1) Takashi Terauchi, Hiroyuki Terashima, Kunio Ihara, Noriko Nishioka, Seiji Kojima, Michio Homma, Mutation of up-motile phenotype by polar flagella in *Vibrio alginolyticus*: Candidate mutation of a subunit of ATP synthase, 第 49 回日本生物物理学会年会, 2011 年 09 月 16 日 ~ 2011 年 09 月 16 日, 兵庫県立大学(兵庫県)
- (2) Mizuki Gohara, Rei Abe Yoshizumi, Shiori Kobayashi, Yoshikazu Hattori, Chojiro Kojima, Michio Homma, Structural changes investigated by solution NMR in *Vibrio* flagellar rotor protein FlgG, 第 49 回日本生物物理学会年会, 2011 年 09 月 18 日 ~ 2011 年 09 月 18 日, 兵庫県立大学(兵庫県)
- (3) Norihiro Takekawa, Natsumi Nonoyama, Na Li, Takashi Terauchi, Hajime Fukuoka, Seiji Kojima, Michio Homma, The stator around the rotor in the Na⁺-driven flagellar motor with mutations of the stator component PomA, 第 49 回日本生物物理学会, 2011 年 09 月 16 日 ~ 2011 年 09 月 16 日, 兵庫県立大学(兵庫県)
- (4) Katsumi Imada, Seiji Kojima, Masato Takao, Mayuko Sakuma, Tatsuya Ibuki, Michio Homma, Assembly mechanism of the flagellar basal-body ring structures of *Vibrio* revealed by the structure of FlgT, 第 49 回日本生物物理学会年会, 2011 年 09 月 18 日 ~ 2011 年 09 月 18 日, 兵庫県立大学(兵庫県)
- (5) 竹川宜宏, 寺内堯史, Chiemi Jung Lo, 小嶋誠司, 本間道夫, ビブリオ菌 Na⁺駆動型べん毛モーター固定子を介したイオン透過測定, 第 37 回生体エネルギー研究討論会, 2011 年 12 月 20 日 ~ 2011 年 12 月 20 日, 京都産業大学(京都府)
- (6) 寺内堯史, 寺島浩行, 井原邦夫, 西岡典子, 小嶋誠司, 本間道夫, 海洋性ビブリオ菌極べん毛運動能上昇変異体の解析: ATP 合成酵素の α サブユニットの変異, 第 37 回生体, エネルギー研究討論会, 2011 年 12 月 20 日 ~ 2011, 年 12 月 20 日, 京都産業大学(京都府)
- (7) Shiori Kobayashi, Rei Abe Yoshizumi, Mizuki Gohara, Seiji Kojima, Michio Homma, Characterization of cytoplasmic loop of PomA, Na⁺-driven flagellar stator protein, using differential scanning calorimetry, 第 50 回日本生物物理学会年会, 2012 年 09 月 23 日 ~ 2012 年 09 月 23 日, 名古屋大学(愛知県)
- (8) 大羽 哲也, 小嶋誠司, 本間道夫, Purification and reconstitution of the plug-deleted Na⁺-driven stator complex from *Vibrio Alginolyticus*, 第 50 回日本生物物理学会年会, 2012 年 09 月 23 日 ~ 2012 年 09 月 23 日, 名古屋大学(愛知県)
- (9) 朱 世偉, 李な, 小嶋誠司, 本間道夫, Engineered disulfide crosslink in the the periplasmic region of PomB impaired function of the Na⁺- driven flagellar stator complex, 第 50 回日本生物物理学会年会, 2012 年 09 月 22 日 ~ 2012 年 09 月 22 日, 名古屋大学(愛知県)
- (10) 米田 拓郎, Wakako Morimoto, 小嶋誠司, 本間道夫, Flagellar motility inhibition by overexpression of PlzD, a YcgR homolog of c-di-GMP binding protein, in *Vibrio alginolyticus*, 第 50 回日本生物物理学会年会, 2012 年 09 月 22 日 ~ 2012 年 09 月 22 日, 名古屋大学(愛知県)
- (11) Shiwei Zhu, Na Li, Seiji Kojima, Michio Homma, Testing the Conformational Change in the Stator by the Disulfide Crosslink in the Periplasmic Region of PomB, 新学術領域「少数性生物学」国際会議, 2012 年 10 月 16 日 ~ 2012 年 10 月 16 日, 中央研究院(台北市・台湾)
- (12) 西岡 典子, べん毛形成の抑制に關する DnaJ をチーフを持ったビブリオ属特異的な新規遺伝子の解析, 第 49 回日本細菌学会中部支部総会, 2012 年 11 月 09 日 ~ 2012 年 11 月 09 日, 金沢大学(石川県)
- (13) 大羽 哲也, 小嶋誠司, 本間道夫, プラグを欠失した Na⁺駆動型べん毛モーター固定子複合体の精製・再構成系の構築, 日本生体エネルギー研究会第 38 回討論会, 2012 年 12 月 23 日 ~ 2012 年 12 月 23 日, 岡山大学(岡山県)
- (14) 西岡 典子, 西垣岳彦, 北岡麻耶, 井原邦夫, 小嶋誠司, 本間道夫, ビブリオ菌べん毛形成抑制に關する DnaJ ドメインを持った新規タンパク質 SflA の解析, 第 86 回日本細菌学会総会, 2013 年 03 月 18 日 ~ 2013 年 03 月 18 日, 幕張メッセ(千葉県)
- (15) 竹川 宜宏, 好熱菌・好圧菌由来の固定子のクローニングと解析, 2012 年度べん毛交流会, 2013 年 03 月 03 日 ~ 2013 年 03 月 03 日, よろこびの宿 しん喜(群馬県)
- (16) 朱世偉, 高尾真登, 李娜, 佐久間麻由子, 本間道夫, 小嶋誠司, 今田勝巳, Na⁺駆動型べん毛モーター固定子タンパク質 PomB の 機能に重要なペリプラズム側構造変化の解析, 第 77 回日本生化学会中部支部例会, 2013 年 05 月 25 日, 名古屋大学(愛知県)

- (17) 小野宏樹、小嶋誠司、本間道夫、細菌ペ
ン毛の本数を負に制御する FlhG 蛋白
質における推定 ATPase モチーフの役
割, 第 77 回日本生化学会中部支部例会,
2013 年 05 月 25 日, 名古屋大学(愛知県)
- (18) Shiwei Zhu, Masato Takao, Na Li,
Mayuko Sakuma, Michio Homma, Seiji
Kojima and Katsumi Imada,
Structure-function analyses of the
large conformational change required
for the stator activation and
assembly in the bacterial flagellar
motor, Asian Biophysic Association
(ABA) Symposium, 2013 年 05 月 27 日,
Ramada Plaza Jeju hotel (韓国)
- (19) Hiroki Ono, Seiji Kojima and Michio
Homma, Role of ATP binding motif of
FlhG, a component that regulates the
number and placement of the polar
flagellum in *Vibrio alginolyticus*,
Asian Biophysic Association (ABA)
Symposium, 2013 年 05 月 27 日, Ramada
Plaza Jeju hotel (韓国)
- (20) Shiwei Zhu, 高尾 真登, Na Li, 佐久
間麻由子, 今田 勝己, 本間 道夫, 小
嶋誠司, *Vibrio alginolyticus* ペン毛モ
ーター固定子ンパク質 PomB のペリプラス
ム領域の構造と機能解析, 第 50 回日本
細菌学会中部支部総会, 2013 年 10 月 08
日, ホテル竹島(愛知県)
- (21) Akari Takashima, Hiroki Ono, Michio
Homma, Seiji Kojima Biochemical
properties of FlhG, a negative
regulator for the number of the polar
flagellum in *Vibrio alginolyticus*
第 51 回日本生物物理学会, 2013 年 10
月 30 日, 国立京都国際会館(京都府)
- (22) Satoshi Inaba, Hidemaro Hotta, Seiji
Kojima, Michio Homma, Structure
analysis of the basal body with
C-ring components from *Vibrio*
Alginolyticus, 第 51 回日本生物物理
学会, 2013 年 10 月 30 日, 国立京都国
際会館(京都府)
- (23) Norihiro Takekawa, Mizuki Gohara,
Seiji Kojima, Michio Homma,
Characterization of the stator
proteins of flagellar motor from
extreme thermophile *Aquifex*
aeolicus, 第 51 回日本生物物理学会,
2013 年 10 月 30 日, 国立京都国際会館
(京都府)
- (24) Takuro Yoneda, Wakako Morimoto, Seiji
Kojima, Michio Homma, Flagellar
motility inhibition by PlzD, a YcgR
homolog of c-di-GMP binding protein,
in *Vibrio alginolyticus*, 第 51 回日
本生物物理学会, 2013 年 10 月 30 日, 国
立京都国際会館(京都府)
- (25) Hiroki Ono, Seiji Kojima, Michio Homma
Role of ATP binding motif of FlhG, a
MinD homolog, which regulates the
number of the polar flagellum in
Vibrio alginolyticus, 第 51 回日本
生物物理学会, 2013 年 10 月 30 日, 国
立京都国際会館(京都府)
- (26) Shiwei Zhu, Masato Takao, Na Li,
Mayuko Sakuma, Michio Homma, Seiji
Kojima, Katsumi Imada, Stator
activation requires conformational
change in the periplasmic region of
PomB, a Na⁺-driven stator protein, 第
51 回日本生物物理学会
- (27) 竹川直宏、郷原瑞樹、小嶋誠司、本間
道夫、好熱性細菌 *Aquifex aeolicus* の
ペン毛モーター固定子の大量発現・精
製系の確立と機能解析, 日本生体エネ
ルギー研究会第 39 回討論会, 2013 年
12 月 19 日, 静岡県コンベンションア
ーセンター グランシップ(静岡県)
- (28) 小野宏樹、高島明里、本間道夫、小嶋誠
司、*Vibrio* の極ペン毛本数を負に
制御する因子 FlhG の ATPase モチーフ
の役割, 日本生体エネルギー研究会第
39 回討論会, 2013 年 12 月 19 日, 静
岡県コンベンションアーツセンター
グランシップ(静岡県)
- (29) Michio Homma, *Vibrio* polar-flagellar
motor structure and functional
assembly, IGER international
symposium on cell surface structure
and functions (招待講演), 2013 年 09
月 02 日, 名古屋大学(愛知県)
- (30) Norihiro Takekawa, Seiji Kojima,
Michio Homma, Functional and
biochemical analysis of the
flagellar stator proteins from
Aquifex aeolicus, Gordon Research
Conference (Sensory Transduction in
Microorganisms), 2014 年 01 月 12 日 ~
2014 年 01 月 17 日, Ventura Beach
Marriott(USA)
- (31) Shiwei Zhu, Masato Takao, Na Li, Mayuko
Sakuma, Yuuki Nishino, Michio Homma,
Seiji Kojima and Katsumi Imada), A
subtle conformational change in the
periplasmic region of Na⁺-driven
stator protein, is required for
torque generation of flagellar motor,
Goron Research Conference
(Protons&Membrane Reactions), 2014 年
01 月 12 日 ~ 2014 年 01 月 17 日, Ventura
Beach Marriott(USA)

以下学会発表 22 件省略

〔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ホームページ

<http://bunshi4.bio.nagoya-u.ac.jp/~bunshi4/fourth.html>

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

川岸 郁郎 (KAWAGISHI IKUROU)
法政大学・生命科学部・教授
研究者番号: 80234037