

令和 4 年 9 月 7 日現在

機関番号：32658

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17H03789

研究課題名(和文) バクテリアのコロニー形成の遺伝学的研究とその高効率検出・分離への応用

研究課題名(英文) Genetic study on bacterial colony formation and its application to isolation of bacteria

研究代表者

正木 春彦 (Masaki, Haruhiko)

東京農業大学・生命科学部・教授

研究者番号：50134515

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)：自然に生きる多くの細菌はコロニーを作れない。その遺伝的背景を知るため、液体培養に比べてコロニーを作り難い大腸菌変異株を分離し、その性質検討等から、不飽和脂肪酸の供給が不足するとコロニー形成能が低下することを見出した。野生株でも低温飢餓に曝すと脂肪酸供給が不足しコロニーを作り難くなる。グラム陽性菌でも脂肪酸供給不足はコロニー形成不全を招く。土壌抽出液のコロニー形成も不飽和脂肪酸の添加で促進される。低温飢餓でコロニー形成能が低下していく際に減衰する遺伝子機能を追求する過程で、大腸菌が低温飢餓に曝されると、生理活性が減衰していくだけでなく、cAMP-CRPが積極的に増殖を止めていることを発見した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

伝統的に細菌が生きている証拠とされてきたコロニー形成を相対化し、コロニーを作れない変異体を分離することで、コロニー形成が特殊な生物現象であることを示した。その変異を糸口にして、飢餓に接した細菌がコロニー形成能を落とす隠れた一因が、栄養要求性とは異なる不飽和脂肪酸の欠乏にあることを見出し、その供給が一般細菌の分離にも重要であることを示唆した。飢餓に曝された大腸菌がコロニーを作らなくなるVBNC現象を、細胞増殖能の減衰という一面だけでなく、cAMPをシグナルとして増殖能を積極的に遮断して休眠状態に入っていく過程である可能性を示した。

研究成果の概要(英文)：Most of bacteria in nature do not form colonies on solid media. To know its genetic background, we isolated Escherichia coli mutants that hardly form colonies compared to liquid cultivation. Characterization of the mutants revealed the importance of unsaturated fatty acids in colony formation. When faced with starvation, even wild-type E. coli falls in shortage of fatty acids, causing decrease of colony formation. When fatty acid synthesis was inhibited with chemical drugs, colony formation was impaired in not only E. coli but also Bacillus subtilis, Staphylococcal epidermidis and Corynebacterium glutamicum, suggesting its generality in bacteria. In the course of screening of essential genes for the maintenance of colony-forming activity of E. coli in the viable but non-culturable state, we found that both cyaA- and crp- strains keep high colony-forming activities for a long time, suggesting that cAMP-CRP is a global switch to lead cells to dormancy on starvation stress.

研究分野：微生物学，分子生物学

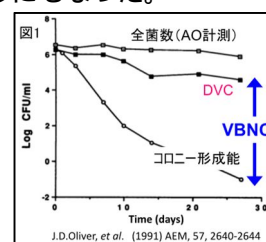
キーワード：大腸菌 コロニー形成 温度感受性変異 MPN法 液体培養 不飽和脂肪酸 cAMP VBNC

1. 研究開始当初の背景

細菌の研究はコッホが確立した純粋培養法、すなわち細菌を固体培地上でコロニーとして分離し培養することから始まる。一旦分離された細菌は適切な培養条件で再現性よくコロニーを形成するので、その生死はコロニー形成能で定義され、生菌数もコロニー数で算出され、公衆衛生や食品衛生の公定法でも、菌の存否判定や定量はコロニー法をもとにしている。

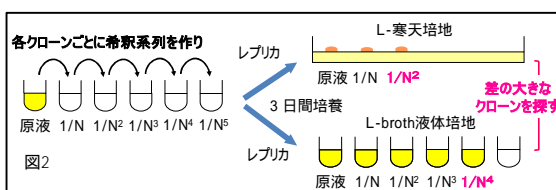
その一方、環境微生物ではコロニー分離できる細菌の数が、顕微鏡で数える細胞数より何桁も少ないことが問題視されてきた。ただ顕微鏡で見る多くは死細胞という解釈もあり、一部しか分離できないのは最適な培養法が不明なためとも説明された。しかし 1979 年 Kogure らが、潜在的な細胞分裂数を検鏡で数える DVC 法を開発し、自然では生きている細菌のうちでもコロニーを形成できるのが極めて少ないことが確実となった。さらに Colwell ら(1982,84,85)は、コレラ菌や大腸菌のような培養可能な細菌でも、低温飢餓に曝すと生きていても培養できない VBNC(Viable but non-culturable)状態に陥ることを示した。実験的に VBNC とは (DVC 法などによる) 真の生菌数とコロニー形成数 (CFU) とのギャップだと定義できる (図1) が、概念は一人歩きして、自然でコロニーを作れない分離できない菌を VBNC と呼ぶようにもなった。

現在 VBNC は 100 種以上のバクテリア、アーキアで報告されているが、単なる死滅カーブとの区別は難しく、VBNC は蘇生 (resuscitation) の確認されたものに限る見方もある。下降する生菌数カーブの意味も、コロニーを作れる活性な生菌数の減衰を表す (残りがコロニーを作れない VBNC 細胞) という見方と、コロニー形成は確率的でありすべての VBNC 菌のコロニー形成確率を見ているとする見方がある。またストレスの種類によりコロニーを減少させる機構が同一だとは限らず、VBNC の正体が均一な 1 つの状態という保証はない。



海水細菌の DVC は CFU の 100 倍以上となることが多い。DVC 法は検鏡下での液体培養なので、海水を用いて液体培養で培地を濁らせる活性を、MPN (Most Probable Number) 法 (96 穴プレートを用いる改変法) で測定すると CFU の 10 倍の値を得た。コロニー形成は生存の特殊な形態であり、コロニー形成とは何か、どういう遺伝子発現に依存するかが改めて問わなければならない。

遺伝学では、正常機能が損なわれた病気や変異の追求から正常な仕組みを明らかにするのが基本である。私はこれによりコロニー形成能を問い直すため、コロニー形成能を欠く大腸菌変異株を分離し、そこからコロニー形成能を遺伝学的に解明しようと考えた。しかしコロニーを作れない変異株をどうやって分離するか？ 自然の細菌は固体培養の CFU より液体培養の MPN が常に大きい経験から、「液体培養できるがコロニーは作れない」変異体の分離を試み、最終的に広田幸敬らの大腸菌温度感受性 (ts) 変異株を使用した。これは化学変異剤処理のあと 30 でコロニーを形成した株のうち、41 でコロニーを作れない点変異体の集団である。これらは 41 でコロニーを作らないが、41 の液体培養は調べていないので、41 の液体培地で増殖できる株を逆探索した。1432 個の ts 株を 1 株ずつ順次希釈した系列を固体培地と液体培地にレプリカし、41 培養後に液体での生育のよい候補を 1 株分離した (図2)。それは脂肪酸合成サイクルの脱炭酸縮合酵素 FabB (3-oxoacyl-ACP synthase) の, Ala218Val 変異体だった。更に条件を緩め 39 でコロニー形成できず 39 の液体培地で増殖できる株を 1167 個から探索し、新たな候補を 4 株分離し、そのうちの 1 つが再度 FabB の点変異 Gly32Glu であった。FabB の点変異で高温でコロニーを作れず液体培養できる目的の変異株が取れた。本研究ではその大腸菌 fabB 遺伝子温度感受性変異株を出発点とした研究となる。



2. 研究の目的

細菌のコロニー形成を遺伝子発現による生物現象と捉え、自然の細菌でコロニー形成が極めて低い現象も生物応答だと考える。その機構を解明するために以下の 2 つのアプローチを取る。

一つは、コロニー形成能を失った大腸菌変異株を分離してその遺伝的原因を探り、どういう機構がコロニー形成頻度に影響を与えるのか探り、そこから自然の細菌のコロニー形成が低い原因に迫る。コロニー形成能を失った変異株をコロニーとして分離できないので、液体培養の増殖頻度との差に注目し、液体で培養できるがコロニー形成能を失った変異株を求め、得られた結果を、変異体から野生株へ、そして一般細菌に広げる。

二つ目は、コロニー形成能を実験的に失う低温飢餓処理による VBNC 状態に陥る際に、どういう生理機能が失われてコロニー形成能が低下していくのか知るため、どの遺伝子発現を相補すればコロニー形成頻度の低下が抑制されるかを調べ、その遺伝子機能からコロニー形成能低下を分析する。

3. 研究の方法

(1) コロニー形成変異をもとにした研究

大腸菌の *ts* 変異株から、液体培地では高温で増殖できるが固体培地でコロニーを作れない *fabB-1*, *fabB-2* 株を分離した。MPN で評価した液体培養における増殖開始頻度と、CFU で評価した固体培養における増殖開始頻度を比較すると、39 °C では、液体培養に比べて *fabB-1* は 1/1000 倍、*fabB-2* は 1/100 倍コロニーを作りやすく、*fabB* 変異が求めていた性質をもつことを確認した(図 3)。FabB は脂肪酸合成サイクルの縮合酵素である。FabF(3-oxoacyl-ACP synthase II) は FabB のアイソザイムだが不飽和脂肪酸合成には FabB のみ必須であることが知られている(図 4)。

1-1. 大腸菌 $\Delta fabB$ 株の作製と性質分析

ts 株はゲノム中に多数の不特定変異を持つので信頼あるコロニー形成の分析には向かない。改めて野生型より *fabB* の欠失変異 $\Delta fabB$ 株を、オレイン酸を含む培地を用いて作製する(*fabB* 変異株はオレイン酸含有培地で増殖できることが知られている)。 $\Delta fabB$ 株を用いて脂肪酸供給が制限されるとコロニー形成にどのような影響が出るかを調べる。

作製した $\Delta fabB$ 株を 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ オレイン酸を含む L-broth で[固体培養(CFU)/液体培養(MPN)]の生育を比較したところ、オレイン酸がないと全くコロニーを作らなかったが、液体培地での増殖も低下した。L-broth 成分中の酵母エキスに微量の不飽和脂肪酸が含まれ、液体培養でのみそれを利用できるという可能性が疑われた(図 5)。

低濃度脂肪酸による挙動を定量的に知るため、培地をグルコースと全アミノ酸(カザミノ酸)を含む合成培地に替えた。各種濃度のオレイン酸を添加したアガロース固体培地と液体培地で、それぞれ培養した後一定量を回収し、共通のオレイン酸含有培地上の CFU という基準で固体培地と液体培地における増殖度の変化を比較評価した(図 6)。

1-2. 野生型大腸菌の *fabB* 発現量とコロニー形成能の関係

野生型でも、もし FabB の発現レベルが下がって脂肪酸が欠乏すればコロニー形成の低下が起こるであろうか? それを知るために野生型由来の $\Delta fabB$ 株に単コピーミニ F プラスミドを導入し、その上でアラビノースプロモーターに駆動される *fabB* 遺伝子を置き *fabB* 遺伝子の発現レベルを変化させた。野生型株で *fabB* 遺伝子のみがアラビノース濃度で発現量変化することになり、それに応じた(液体培養に比べての)コロニー形成能の変化を調べた。

1-3. 野生型大腸菌が脂肪酸欠乏に陥る可能性の検討

野生型大腸菌が実際に脂肪酸欠乏に陥ることはあるのか? もしあるとすれば飢餓条件においてであろう。そこで野生株を低温飢餓の VBNC 条件に曝し、コロニー形成数が低下していく様子を、オレイン酸添加と無添加の条件の CFU で比較した。オレイン酸添加で有意に CFU が上がれば脂肪酸欠乏にあったことを意味する。

1-4. 薬剤で脂肪酸合成を阻害した時のコロニー形成能

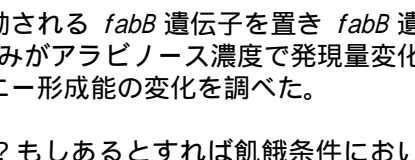
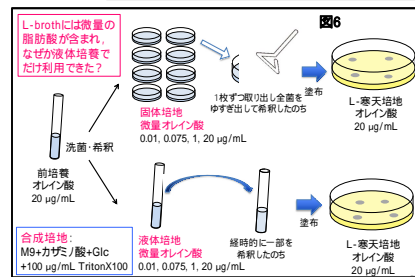
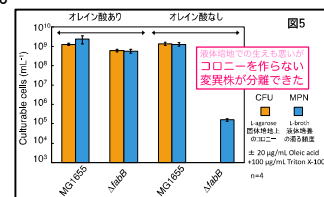
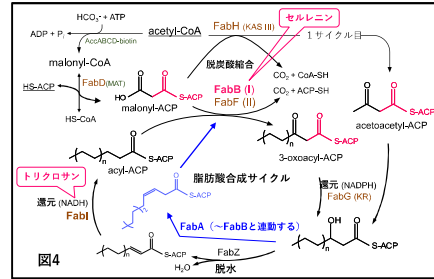
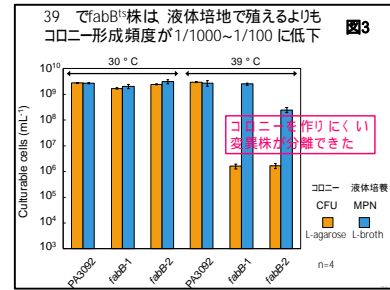
抗生物質セルレニンは FabB の阻害剤で大腸菌では FabB の同族の FabF にも弱く働く(図 4)。セルレニンを添加した条件でコロニー形成能(CFU)と液体培養での増殖度(MPN)を比較し、薬剤で FabB 機能を低下させた場合でもコロニー形成能が(液体培養に比べて)低下するかどうか調べた。枯草菌には FabB がなく縮合酵素は FabF だけだが、枯草菌にセルレニンを作用させた時にコロニー形成が影響を受けるかどうかを調べた。さらに、トリクロサンは脂肪酸合成系の還元酵素 FabI を阻害する(図 4)。トリクロサンで FabI を阻害した時に大腸菌のコロニー形成能が影響を受けるか、さらに枯草菌等大腸菌以外にトリクロサンを作用させると影響はどうかを調べた。

1-5. 土壌抽出物のコロニー形成に対する不飽和脂肪酸の添加効果

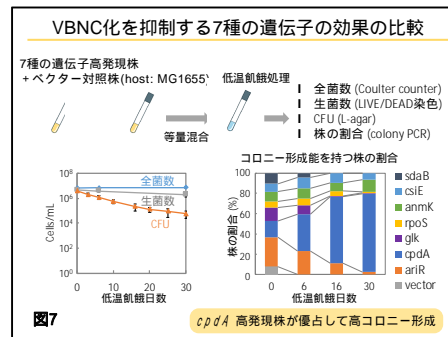
大腸菌でも飢餓状態では不飽和脂肪酸が隠れたコロニー形成因子ならば、自然界の一般細菌でも不飽和脂肪酸の添加でコロニー形成能が上がる可能性がある。土壌の水系抽出液のコロニー形成が不飽和脂肪酸の添加で増加するかを森林土壌で調べる。環境細菌は一般に L-broth など富栄養培地より 1/10~1/100 に希釈した培地の方がコロニー形成が多くなるので、1/10 x L-broth にオレイン酸と(低温細菌が好む)パルミトレイン酸を添加して CFU を比較した。

(2) 低温飢餓でコロニー形成能が失われる原因の探求

コロニー形成変異株と逆のアプローチからもコロニー頻度が低下する原因を探った。作業仮説として、コロニー形成は元気を反映しており、その能力の維持には対数増殖に必要なものとは異なる特定の遺伝子がとくに重要で、低温飢餓ではそういう遺伝子の機能あるいは産物が減衰するためコロニー形成できなくなると考えた。その遺伝子発現を強化すれば、低温飢餓でもコロニー形成の低下が軽減するであろう、そういう遺伝子を探す工夫をした。大腸菌の各遺伝子を



ベクターに乗せ高発現できる ASKA ライブラリーを用い、全株を混合培養したあと低温飢餓に曝すと、全体のコロニー形成率が落ちていくに従い、コロニー形成能を高く保つ目的遺伝子の高発現した細胞は、集団の中で濃縮されていくだろう。複数の候補があることを想定して、全体を恣意的に8群に分けて実験を行い、各群で濃縮された株を拾い出して、次に同様の方法でそれら同士を競争させ、様々な程度の効果を示す複数の株をスクリーニングし、コロニー形成を高く保つ効果のある遺伝子を同定してその機能を検討する(図7)。



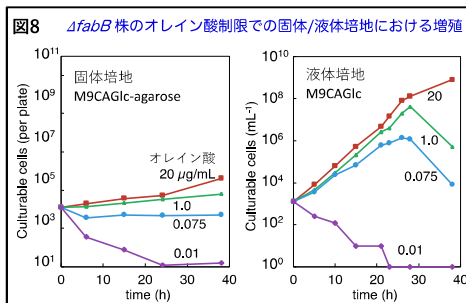
4. 研究成果

自然の多くの細菌がコロニーを作れないのは技術的問題以外に、殖えないのには生物としての理由があるはずである。本研究では、生き物としての細菌側の事情を追及した。

(1)大腸菌コロニー形成変異株の分離をもとにしたコロニー形成に及ぼす不飽和脂肪酸の効果

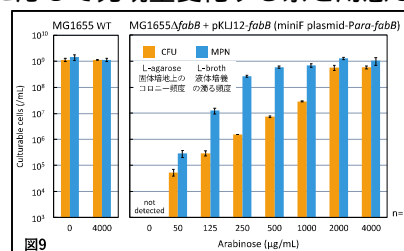
コロニー形成は確率的な生物現象であるという前提で、コロニー形成頻度の低い状態をミミクするコロニー形成能を失った大腸菌変異株を探索した。コロニー法を相対化する液体培養法に注目し液体培養は可能だがコロニー形成頻度の低い変異株として、*fabB* の *ts* 変異株を分離した(図2,3,4)。*ts* 変異は不特定多数のゲノム変異を持つので、改めて野生株からオレイン酸含有培地を用いて作製した $\Delta fabB$ 変異株の、脂肪酸添加有無でのコロニー形成能を調べた(図5)。

微量の脂肪酸が結果を左右する可能性が考えられたので合成培地を基本にし、オレイン酸の添加量制限下での固体培地と液体培地での *fabB* 株増殖度を経時的に定量した(図6,8)。液体培養では、0.075 $\mu\text{g}/\text{mL}$ という微量のオレイン酸でも増えるが、同条件の固体培養ではコロニーを作らないだけでなく菌の増殖すら起こらない。オレイン酸を増やしても液体培養に比べて増殖程度が極めて劣っていた。*fabB* 株ではオレイン酸の供給が少ないと、液体培養に比べて固体培養での増殖が極めて悪く、コロニー形成度も極めて低いことが判明した。

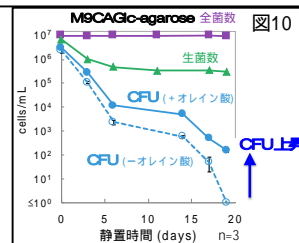


脂肪酸の種類に関する付記： $\Delta fabB$ 株に対して使用した脂肪酸はオレイン酸である。しかし大腸菌の主要不飽和脂肪酸は不飽和の位置がC2異なる *cis*-パクセン酸である。*cis*-パクセン酸でも炭素がC2少ないパルミトレイン酸でもオレイン酸と同等の結果を確認した。*cis*二重結合を1~3個持つ脂肪酸は $\Delta fabB$ 株のコロニー形成を助けたが、ステアリン酸、パルミチン酸、ミリスチン酸、ラウリン酸、カプリン酸等中鎖の飽和脂肪酸、及びオレイン酸の *trans* 型であるエライジン酸では効果が見られず、必要なのは *cis* 不飽和脂肪酸であった。

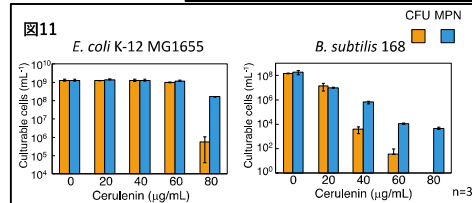
興味を野生株に広げると、自然の細菌は変異体ではないので、脂肪酸に対する野生株の挙動を(対数期で)調べたところ、オレイン酸添加の有無は固体・液体培養いずれにも影響を与えなかった。それは、実験室条件では脂肪酸のデノボ合成レベルが十分高いためであろうと推定した。人為的に野生型大腸菌で *fabB* 遺伝子のみアラビノース添加量に応じて発現量変化する系を用意して調べると、高濃度アラビノースでは固体培養(CFU)と液体培養(MPN)の差は見られなかったが、アラビノース濃度を下げるとCFUはMPNより100倍低下しコロニー形成が抑制された(図9)。従って野生型でも不飽和脂肪酸供給が少なければコロニー形成が抑制されることが明らかとなった。更に野生型大腸菌を低温飢餓状態に置くとオレイン酸要求性が部分的に現れ、野生株でも潜在的な不飽和脂肪酸欠乏によるコロニー形成の抑制のある事が推定できた(図10)。



更に遺伝子変異体や野生株遺伝子の飢餓応答でなく、野生株の対数増殖時において薬剤に依る脂肪酸合成阻害でもコロニー形成が抑制されるかどうかを調べた。まず、半致死濃度のセルレニン処理(図4)をした大腸菌では、液体培養に比べてコロニー形成率が1/100以下に低下した(図10)。



では系統の離れた細菌ではどうであろうか？グラム陽性の枯草菌は縮合酵素 *FabB* がなく *FabF* だけ持ちまた不飽和脂肪酸でなく分岐鎖脂肪酸を持つ。そのように背景が異なってもセルレニンの半致死濃度で液体培養に比べコロニー形成が強く抑制された(図11)。脂肪酸合成の他の酵素反応を阻害するかどうか？トリクロサンは合成系の還元酵素 *FabI* を阻害する(図4)。トリクロサン処理した大腸菌(図12)、枯草菌や *Corynebacterium glutamicum*(図13)、*Staphylococcus epidermidis* で



も液体培養に比べてコロニー形成が抑制された。

以上のように広い系統の細菌で脂肪酸欠乏によるコロニー形成抑制が見られるので、飢餓状態にある土壌細菌でも脂肪酸欠乏によりコロニー形成が抑制されていることが考えられた。林床の深度 20-30 cm の嫌気環境の土壌の抽出液のコロニー形成に対する不飽和脂肪酸の添加効果を調べた(図 14)。オレイン酸とパルミトリン酸各 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の添加で cfu が 8 倍に上昇したが、炭素源の対照として 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ グリセロールを加えたものでは効果がなかった。ただし予備的実験で別の土地の表土を使うとこの値より倍数が減ったので試験土壌に依存する可能性はある。さらに本研究ではオレイン酸を可溶化する分散剤として、 $\Delta fabB$ 株の生育に影響を及ぼさない 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ Triton-X100 を用いた。しかし枯草菌等の一部の細菌は Triton-X100 の感受性が高い。実験では全プレートに Triton-X100 を加えたが、対照試料の CFU 値が通常より低い。また不飽和脂肪酸の有無でプレートに生じた菌叢の群集解析をするといずれもプロテオバクテリアが優占だった。一部細菌の増殖が Triton-X100 で阻害されプロテオバクテリアは影響を受けにくく、後者への効果を拡大視した可能性は残る。

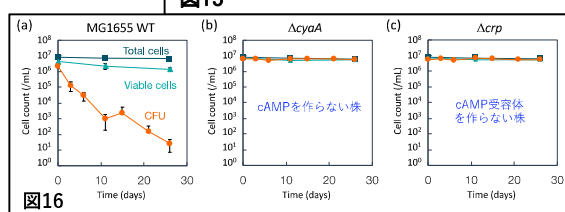
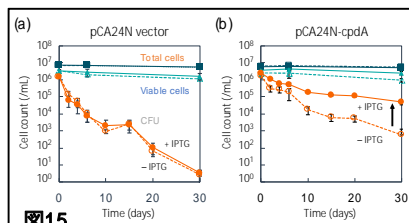
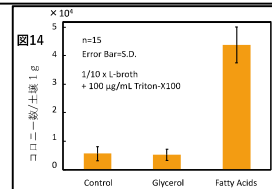
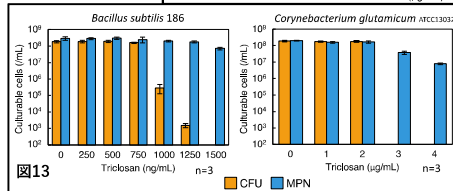
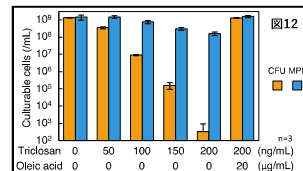
(2) 低温飢餓でコロニー形成能が失われる原因の探求と cAMP による増殖能の遮断

低温飢餓で CFU が低下していく VBNC 過程ではコロニー形成に必要な遺伝子産物あるいは機能が減衰していくと仮定して、高発現でコロニー形成頻度の低下を緩和させる遺伝子を探した。候補同士の競争実験で一番効果が高かったのは cAMP 分解酵素 CpdA の高発現株だった(図 7, 図 15)。コロニー形成能の維持には cAMP はない方がいいのか? cAMP は cAMP 受容体 CRP と結合して各種糖代謝を調節する多機能転写因子となるが、コロニー形成でもそれが働くのか、しかも発現の負の因子として。そこで、cAMP 合成酵素遺伝子を欠く $\Delta cyaA$ 株及び CRP を欠く Δcrp 株を調べると、いずれの株も低温飢餓に長期曝しても CFU が全く低下しなかった(図 16)。また $\Delta cyaA$ 株の前培養液に cAMP を加えると、その濃度に従って野生型の挙動に近づいた。

ストレスでコロニー形成能の維持に働くことの知られている *rpoS* 遺伝子は想定通り濃縮されてきた。 $\Delta rpoS$ 株は低温飢餓で CFU が野生株より早く消失したので *rpoS* はストレスでコロニー形成能の維持に働くと言える。しかし *cpdA* は意味が異なる。低温飢餓で $\Delta cpdA$ 株の CFU 減少は野生株と同等だったので *cpdA* 自身が生理的に重要な訳ではない。予想外にもストレス時にコロニー形成能を積極的に遮断する仕組みが隠れており、そのスイッチ cAMP を高発現 CpdA が分解したらしい。低温飢餓でコロニー形成能が喪失するのは、元気が失われていく面とは別に、能動的にコロニー形成能を閉じる仕組みが存在する。cAMP-CRP は正の転写調節が多いが、*rpoS* 遺伝子を負に調節することが知られているので、 $\Delta cyaA$ 株や Δcrp 株では *rpoS* が高発現するため CFU が落ちなくなった疑いが生じた。そこで *cyaA* や *crp* と、*rpoS* との二重欠失株を調べると、*rpoS* 発現を経由した効果も一部見られたが *rpoS* に依存しない cAMP-CRP 独自の効果が明確に認められた。

cAMP が自殺因子ではなく生存のためのストレス応答因子というストーリーは証明が終わっていない。cAMP-CRP の作用標的の中にコロニー形成を直接支配する遺伝子があると考え RNA-Seq 解析を行ったが、直接制御する標的遺伝子はみつからない。非常に多くの遺伝子発現が cAMP-CRP の有無で変化するので候補の絞り込みが難しいためである。VBNC 状態は広く細菌で見られる現象なので、増殖能遮断機構と cAMP の普遍性に興味を持たれる。VBNC における CFU の減少はそのままでは死滅に向かうだけである。cAMP のような広く重要な分子が積極的な死の因子として進化したとは考えられない。VBNC に陥った細胞が環境好転時に、resuscitation(蘇生)できるような細胞装置と活力を保ったまま休眠する機構が推定できる。枯草菌や *S. epidermidis* のような Firmicutes では cAMP そのものが細胞に存在しないとされる。cAMP-CRP に相当する休眠スイッチをこれらでは何が担っているのだろうか?

一方、細菌に抗生物質を与えて、耐性になるのではなく一部の細胞が感受性のまま増殖を止め、薬剤がなくなると増殖を再開する persistence が知られている。ストレスは異なるが休眠状態として VBNC 細胞は persister ではないかという議論がある。私達の論文と同時に cAMP-CRP が persistence を負に制御するという論文が出た(R.C. Molina-Quiroz ら, mBio, 9, e02144-17, 2018), 生存に対する作用の方向は同じなので、両者の機構が関連している可能性はあるが、VBNC 現象では cAMP-CRP が増殖に対して負に働くことの進化的意味が判るが、persistence では、抗生物質で死ぬことを促進する現象という進化的意味は理解が難しい。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 6件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 正木春彦, 納庄一樹	4. 巻 77
2. 論文標題 バクテリアのコロニー形成の遺伝学事始め	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 バイオサイエンスとインダストリー	6. 最初と最後の頁 221-225
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 正木春彦	4. 巻 33
2. 論文標題 コロニー形成の遺伝学, その後	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 IFO Res. Commun.	6. 最初と最後の頁 221-222
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kazuki Noshio, Koji Yasuhara, Yuto Ikehata, Tomohiro Mii, Taichiro Ishige, Shunsuke Yajima, Makoto Hidaka, Tetsuhiro Ogawa, Haruhiko Masaki	4. 巻 164
2. 論文標題 Isolation of colonization-defective Escherichia coli mutants reveals critical requirement for fatty acids in bacterial colony formation.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Microbiology	6. 最初と最後の頁 1122-1132
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1099/mic.0.000673	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Jung-Wei Chang, Yusuke Sato, Tetsuhiro Ogawa, Takatoshi Arakawa, Shuya Fukai, Shinya Fushinobu, Haruhiko Masaki	4. 巻 164
2. 論文標題 Crystal structure of the central and the C-terminal RNase domains of colicin D implicated its translocation pathway through inner membrane of target cell.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J. Biochem.	6. 最初と最後の頁 329-339
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvy056	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Koseki J. Kobayashi-Kirschvink, Hidenori Nakaoka, Arisa Oda, Ken-ichiro F. Kamei, Kazuki Noshō, Hiroko Fukushima, Yu Kanesaki, Shunsuke Yajima, Haruhiko Masaki, Kunihiro Ohta, Yuichi Wakamoto	4. 巻 7
2. 論文標題 Linear regression links transcriptomic data and cellular Raman spectra.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cell Systems	6. 最初と最後の頁 104-117
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cels.2018.05.015	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kazuki Noshō, Hiroko Fukushima, Takehiro Asai, Masahiro Nishio, Reiko Takamaru, Koseki Joseph Kobayashi-Kirschvink, Tetsuhiro Ogawa, Makoto Hidaka, Haruhiko Masaki	4. 巻 164
2. 論文標題 cAMP-CRP acts as a key regulator for the viable but non-culturable state in Escherichia coli.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Microbiology	6. 最初と最後の頁 410-419
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1099/mic.0.000673	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tetsuhiro Ogawa, Kazutoshi Takahashi, Wataru Ishida, Toshihiro Aono, Makoto Hidaka, Tohru Terada, Haruhiko Masaki	4. 巻 18
2. 論文標題 Substrate recognition mechanism of tRNA-targeting ribonuclease, colicin D, and an insight into tRNA cleavage-mediated translation impairment.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 RNA Biology	6. 最初と最後の頁 1193-1205
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/15476286.2020.1838782	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Koseki J. Kobayashi-Kirschvink, Hidenori Nakaoka, Ken-ichiro F. Kamei, Arisa Oda ¹ , Kazuki Noshō, Hiroko Fukushima, Yu Kanesaki, Shunsuke Yajima, Haruhiko Masaki, Kunihiro Ohta, Yuichi Wakamoto	4. 巻 114
2. 論文標題 Non-destructive prediction of transcriptomes from single-cell Raman microscopy.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biophys. J.	6. 最初と最後の頁 390a
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jpj.2017.11.2157	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 正木春彦
2. 発表標題 バクテリアが飢餓環境中でコロニーを作らなくなるのはなぜか？
3. 学会等名 第35回日本環境感染学会総会・学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 納庄一樹, 三井智玄, 池端佑仁, 安原幸司, 正木春彦
2. 発表標題 脂肪酸の供給不足がバクテリアのコロニー形成能を失わせる: コロニーを作らない大腸菌変異株の性質からの一般化
3. 学会等名 第17回 微生物研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Jung-Wei Chang, Yusuke Sato, Tetsuhiro Ogawa, Takatoshi Arakawa, Shinya Fushinobu, Shuya Fukai, Haruhiko Masaki
2. 発表標題 Molecular structure of colicin D, an Escherichia coli toxin that cleaves tRNAs for arginine
3. 学会等名 第17回 日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

コロニーを作れない大腸菌が教える: 自然界のバクテリアは脂肪酸欠乏に陥ってコロニーが作れなくなる https://www.a.u-tokyo.ac.jp/topics/2018/20181001-1.html

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	清水 則夫 (Shimizu Norio) (30226245)	東京医科歯科大学・統合研究機構・准教授 (12602)	2017年度研究分担者

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関