

令和 6 年 6 月 19 日現在

機関番号：17601

研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化(B)）

研究期間：2021～2023

課題番号：21KK0126

研究課題名（和文）中性子反射率法を中心とした多角的な解析によるグラム陰性菌の膜生合成解析

研究課題名（英文）Optimization of multiple method based on neutron reflectometry for analysis of biogenesis of Gram-negative bacterial membrane.

研究代表者

塩田 拓也 (Shiota, Takuya)

宮崎大学・フロンティア科学総合研究センター・准教授

研究者番号：20819304

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 14,600,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、生体高分子の高い時空間分解能での解析を目的とし、中性子反射率法、in vivoでの架橋法、クライオ電子顕微鏡、高速AFM、単離膜を用いたin vitro再構築実験の5つの手法を統合的に用いる手法を確立するものである。これらの解析により、1) BAM複合体では、基質が結合した不安定な状態の分子形態の決定に成功し、2) BepAとBAM複合体の詳細な相互作用状態を捉えることに成功し、3) PpiDがSec複合体近傍で、DsbAとも相互作用してその機能を補助すること、5) 磁性細菌のマグネトソーム形成において、MamIと相互作用するタンパク質として、Amb0998を同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、特に国際共同研究によって中性子反射率法による膜タンパク質複合体の解析を進め、その適応範囲の拡大を目指すとともに、その知見を他の手法により確認することで、その有用性の確認に努めた。その結果、BAM複合体と基質の相互作用について非常に不安定な状態のものの分子形態を決定することができた。この状態は、架橋法などの他の方法で確認することができ、その生理的意義も解明した。したがって、中性子反射率法が不安定なタンパク質複合体の分子形態に利用できる方法であることが証明できた。今後、国内の中性子照射施設などでの生命科学研究が加速していくモデルケースとなることが期待される。

研究成果の概要（英文）：This study aims to establish an integrated method for the analysis of biological macromolecules with high spatiotemporal resolution, using five methods: neutron reflectometry, in vivo cross-linking, cryo-EM, high-speed AFM, and in vitro reconstruction experiments using isolated membranes. These analyses have 1) successfully determined the molecular morphology of the substrate-bound unstable state in the BAM complex, 2) captured the detailed interaction state of BepA and the BAM complex, 3) demonstrated that PpiD interacts with DsbA near the Sec complex to assist its function, and 4) identified Amb0998 as a protein that interacts with MamI in magnetosome formation in magnetic bacteria.

研究分野：微生物学

キーワード：大腸菌 磁性細菌 グラム陰性菌 膜タンパク質 マグネトソーム

1. 研究開始当初の背景

当初、*in vivo*、*in vitro*での解析、また構造生物学や生物物理学的手法の進歩により時間分解能もしくは、空間分解能のどちらかが非常に高い解析が可能となっていた。その一方で生体高分子の動的な分子メカニズムを詳細に解決するためには、時間と空間の両方を同時に高い分解能で解析できる手法が必要であった。しかしながら、そのような手法は限られており、新しい手法の適応を目指しつつ、その手法の結果を検証することで、新規手法の地位の確立が求められていた。本研究では、その候補として、複数の状態変化を内部構造も含めて詳細に解析できる「中性子反射率法」をモデル手法として適応することを目指した。それを実現するために、中性子反射率法の生体高分子への適応の第一人者であるオーストラリア、Monash 大学 Shen 博士とともに実施した。中性子反射率法による結果を、後述する国内研究者が得意とするそれぞれの手法と組み合わせ、高い時空間分解能を伴った生体高分子の統合的な解析を実施することを目標とした。

そのモデルケースとして、グラム陰性菌の膜環境の形成について、大腸菌の外膜タンパク質の輸送および、磁性細菌の内膜のマグネトソームの形成に着目し、その連続的かつ動的な分子メカニズムの解明を目指した。これらについて、前者の大腸菌の外膜タンパク質の輸送に関する因子がある程度確立した状態で同定されており、サンプル調製の方法が確立されていたため、新規手法の適応に最適であると考えたためである。この経路では、具体的には大腸菌の内膜に Sec トランスロコンと呼ばれる輸送装置があり、これに PpiD/YfgM が連動している。これらは、SurA や BepA などのペリプラズムのシャペロンとの相互作用を介して、外膜の輸送装置 BAM 複合体と呼ばれる輸送装置と連携している。これらの輸送装置が作動中にどのような分子形態となっているかについては不明な点が多く、不安定であるため、従来の構造解析が適応できない問題があった。本研究では、これらの解析に中性子反射率法の適応を目指した。

もう一つのモデルケースとして、磁性細菌のマグネトソームを設定した。マグネトソームは、磁性細菌が地磁気検知に用いるオルガネラである。磁性細菌は、内膜の貫入により生じた約 50 nm の膜小胞の中に磁鉄鉱結晶を合成することで、磁石を内包する膜オルガネラを形成する。その形成は内膜の貫入から始まるが、膜小胞を作る機構は理解されていない。これまでの *M. magneticum* AMB-1 の遺伝子破壊株の電子顕微鏡観察から、小胞形成には MamQ, I, L, E という 4 つのタンパク質が必須で、それに約 30 種類ものタンパク質が関わってマグネトソームが形成されることが示されている。しかしながら、これらがどのように連動しているかメカニズムは不明である。

2. 研究の目的

本研究では、大腸菌の外膜タンパク質の輸送および、磁性細菌の内膜のマグネトソームの形成に関わる分子装置について、そのタンパク質複合体の相互作用状態、その際の分子形態を高い時空間分解能で捉えることを、国内研究者の *in vitro* もしくは *in organello* 再構築系と、*in vivo* での架橋による相互作用解析、さらに国際共同研究者と実施する中性子反射率法によって実施し、これらの手法による統合的な解析法の確立を目指した。大腸菌の外膜タンパク質の輸送については、BAM 複合体については、すでに中性子反射率法での解析の基盤が整っているため、より不安定な状態の分子形態の解析を目指した。具体的には、BAM 複合体が基質と結合している瞬間の不安定な状態や、他の輸送装置と超複合体を形成している状態である。また、マグネトソームについては、再構築実験系に必要な要素を決定するための、形成因子の同定を目指した。

3. 研究の方法

中性子反射率法は、中性子ビームを界面で反射させ、その反射率、波長、角度から、界面の厚さ、密度、表面粗さを解析できる手法である。超複合体の解析では、中性子を遮断しないシリコン (Si) から成る板 (Wafer) 上に一つの複合体を再構築し、その上部に存在する溶液部分との境界面を固液界面とみなして解析する。この手法の強みは、中性子の高い透過性を活かすことで、内部構造もそれぞれの界面とみなして処理できる。したがって、超複合体形成時に表面上は構造に変化が見られなくともその内部が変化する場合、内部構造を検知することができる。中性子の解像度は、10Å 程度であり、原子レベルの分解能は得られないが、ドメインレベルでは十分に議論可能な分子形態を詳細に解析することができる。BAM 複合体では、中心的に役割を果たすサブユニットである BamA について His タグを付加し、これを用いて、Si-Wafer 上に化学的に再構築した Ni-NTA を介して向きを揃えて BAM 複合体を再構築した。これに様々な BAM 複合体の関連因子を添加し、その変化と、分子形態を観察した。

中性子反射率法で解析するための複合体や、特殊な会合状態については、EMM アセンブリーアッセイと呼ばれる *in organello* 再構築実験系で決定した。EMM アセンブリーアッセイは、大腸菌から極めて短時間で調製した膜画分 (=organella)、*E. coli* Microsomal Membrane :EMM に対して、輸送すべきタンパク質などを外部から添加することで、その輸送を再構築する方法である。EMM には、膜に存在する輸送装置などのタンパク質がインタクトな状態で存在しており、特殊な中間状態の形成条件の検討などが行えるため、より細かい、動的なメカニズムに迫れる。

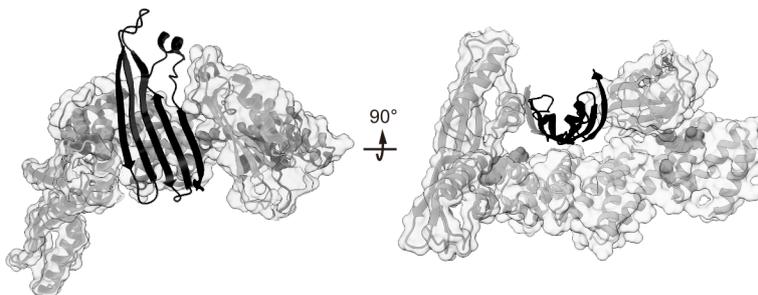
細胞内でのタンパク質間相互作用については、光架橋側鎖を持った非天然アミノ酸である BPA を用いた部位得意的な光架橋法で迫った。この手法では、解析対象のタンパク質に BPA を 21 種類目のアミノ酸として導入する。導入には、終止コドンのアミノ酸のためのコドンとして割り当てて導入するサプレッサー-tRNA 法を用いる。これにより、目的タンパク質の任意の部位に BPA が導入され、そのタンパク質は通常のタンパク質と同様に細胞内で振る舞う。この時に、細胞外から強力な紫外線を照射することによって BPA が近傍のタンパク質と架橋し、共有結合を介した安定な架橋産物を形成する。したがって、紫外線照射によりタンパク質の近接状態のスナップショットをアミノ酸残基レベルの空間分解能で解析できる方法である。

マグネトソームに関しては、マグネトソーム形成を制御できる磁性細菌株 (Qind 株, Cornejo et al. mBio. 2016) を用いて、内膜小胞形成に関わる蛋白質の相互作用を調べた。Qind 株では小胞形成に必須の MamQ を薬剤 (テオフィリン) 依存的に発現させることで任意のタイミングでマグネトソームを形成できる。テオフィリン添加 1 時間後には膜小胞が形成、4 時間後には磁鉄鉱結晶が合成される。Qind 株を用いて、膜小胞形成に必須の MamI が小胞形成時に相互作用するタンパク質を同定した。具体的には、まず MamI-Halotag 融合タンパク質を発現する Qind 株を作成した。その後、アフィニティカラムにより相互作用しているタンパク質を同定した。

4. 研究成果

① BAM 複合体が基質結合時に見せる過渡的な分子形態の解析

EMM アセンブリーアッセイによって、BAM 複合体に安定的に結合する基質、すなわち輸送が途中で滞り BAM 複合体にとどまってしまう変異部位の決定に成功した。これにより、通常より高い親和性で BAM 複合体に基質を結合させることができるようになった。この分子形態を中性子反射率法に適応すべく、この変異基質の大量調製系を確立した。続いて、この基質をこれまで再構築方法が確立されている BAM 複合体に対して添加したところ、結合を確認できた。そのため、この分子形態を中性子反射率法によって解析した。その結果、基質の結合部位及び、BAM 複合体の新たな分子形態を確認することができた (図)。具体的には、基質は、BAM 複合体の水溶性画分部分に結合しており、この結合部位は、これまでの輸送状態の解析では捉えることができていなかった部分であった。さらに、この基質が結合した状態では、BAM 複合体の基質をトラップする空間が部分的に伸展しており、BAM 複合体は基質の安定的な結合のために空間を拡張させる能力があることを明らかにした。



② BAM-BepA の相互作用様式の解析

BepA は必須外膜タンパク質 LptD の成熟促進・分解除去に関わるプロテアーゼであり、BAM 複合体近傍で組み込まれている途上の LptD 成熟中間体と相互作用する。この際の、BAM 複合体と BepA の相互作用様式には不明点が多く残されていた。宮崎はこの相互作用様式を明らかにするために、BepA プロテアーゼドメインを標的として系統的な *in vivo* 光架橋解析を行い、BepA の BAM 複合体の相互作用部位を網羅的に同定した。この結果と、BAM-BepA 複合体の AlphaFold2 予測構造等から、BepA は自身の活性部位を塞ぐループ構造が大きく開いた状態で BAM 複合体と相互作用することが示唆された。このループ構造の開閉が BAM 複合体との相互作用を含めた BepA 機能に重要であることも示された。

③ 表層タンパク質の輸送関連因子 PpiD/YfgM 複合体の構造・機能解析

細菌の外膜タンパク質などの表層タンパク質は、細胞質で合成された後に内膜の Sec 複合体を透過してペリプラズムへと輸送され、最終的に外膜の BAM 複合体まで運ばれる。この Sec から BAM 複合体への輸送は種々のペリプラズムシャペロンが担うと考えられているが、そのメカニズムは不明点が多く残されていた。宮崎は、以前に内膜に局在し、Sec 複合体近傍にあるペリプラズムシャペロン PpiD に着目し、研究を進めた。PpiD と安定に相互作用する内膜タンパク質 YfgM が PpiD 機能と安定性に重要であることを示し、架橋解析と AlphaFold2 予測などから PpiD/YfgM 複合体の細胞内構造を決定した。更に、PpiD を標的とした架橋解析から、PpiD が Sec 複合体だけでなく、予想外にペリプラズムに存在するジスルフィド結合導入酵素 DsbA と相互作用して、その機能を補助することも見出した。

④ マグネトソーム形成のための相互作用因子の解析

マグネトソーム形成を制御できる磁性細菌株 (Qind 株, Cornejo et al. mBio. 2016) を用いてまず、MamI-Halotag 融合タンパク質を発現する Qind 株を作成した。Halotag シグナルは、誘導前は細胞内に散在したが、誘導後は直鎖状に分布しマグネトソームに含まれたことから、MamI-Halotag のマグネトソームへの移行が確認できた。次に、誘導前、誘導 1 または 3

時間後の細胞からマグネトソームを含む膜画分を回収し、界面活性剤で可溶化した。可溶化画分を Halotag アフィニティカラムにかけ、MamI 結合タンパク質を濃縮し、溶出サンプルのタンパク質組成を Orbitrap 型質量分析器を用いたラベルフリー解析法を用いて網羅的に同定した。その結果、マグネトソーム誘導時特異的に MamQ, E, O, A, K, Y が検出された。MamE と O はマグネトソーム蛋白質成熟のためのプロテアーゼ、MamA はマグネトソーム活性化因子、MamK と Y はマグネトソーム配置に関わることがそれぞれ知られていた。本研究では、これらのタンパク質の相互作用がマグネトソーム形成の初期に起こることを示している。興味深いことに、Amb0998 タンパク質が誘導後の溶出サンプルに特異的な主成分であった。本タンパク質は、マグネトソームアイランド（マグネトソーム形成遺伝子群を含むゲノム領域）にコードされるが、これまで研究報告のない機能未知タンパク質で、本研究で膜小胞形成に関わることが示唆された。現在、Amb0998 の機能解析を行なっている。マグネトソームの形成機構はこれまで遺伝子欠損株の表現型により解析されてきたが、本研究で初めて小胞形成に関わるタンパク質複合体・相互作用の実態を明らかにした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Wan Juan, Monteil Caroline L., Taoka Azuma, Ernie Gabriel, Park Kieop, Amor Matthieu, Taylor-Cornejo Elias, Lefevre Christopher T., Komeili Arash	4. 巻 13
2. 論文標題 McaA and McaB control the dynamic positioning of a bacterial magnetic organelle	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 5652
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-022-32914-9	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 該当する
1. 著者名 Kikuchi Yousuke, Toyofuku Masanori, Ichinaka Yuki, Kiyokawa Tatsunori, Obana Nozomu, Nomura Nobuhiko, Taoka Azuma	4. 巻 10
2. 論文標題 Physical Properties and Shifting of the Extracellular Membrane Vesicles Attached to Living Bacterial Cell Surfaces	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Microbiology Spectrum	6. 最初と最後の頁 02165-22
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/spectrum.02165-22	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 Toyofuku Masanori, Kikuchi Yousuke, Taoka Azuma	4. 巻 37
2. 論文標題 A Single Shot of Vesicles	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Microbes and Environments	6. 最初と最後の頁 n/a ~ n/a
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1264/jsme2.me22083	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 Eguchi Yukako, Taoka Azuma	4. 巻 2646
2. 論文標題 Live-Cell Fluorescence Imaging of Magnetosome Organelle for Magnetotaxis Motility	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Methods in Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 133 ~ 146
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/978-1-0716-3060-0_12	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 Miyazaki Ryoji, Ai Mengting, Tanaka Natsuko, Suzuki Takehiro, Dhomae Naoshi, Tsukazaki Tomoya, Akiyama Yoshinori, Mori Hiroyuki	4. 巻 298
2. 論文標題 Inner membrane YfgM-PpiD heterodimer acts as a functional unit that associates with the SecY/E/G translocon and promotes protein translocation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 102572 ~ 102572
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbc.2022.102572	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 Miyazaki Ryoji, Mori Hiroyuki, Akiyama Yoshinori	4. 巻 2548
2. 論文標題 A Photo-Crosslinking Approach to Monitoring the Assembly of an LptD Intermediate with LptE in a Living Cell	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Methods in Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 97 ~ 107
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-0716-2581-1_7	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 Miyazaki Ryoji, Akiyama Yoshinori	4. 巻 4
2. 論文標題 Analyzing protein intermediate interactions in living E. coli cells using site-specific photo-crosslinking combined with chemical crosslinking	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 STAR Protocols	6. 最初と最後の頁 102178 ~ 102178
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xpro.2023.102178	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 -

〔学会発表〕 計34件 (うち招待講演 10件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 竹田弘法
2. 発表標題 Molecular mechanism of protein folding into membranes by mitochondrial protein assembly gate.
3. 学会等名 日本蛋白質科学会年会、若手奨励賞シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 竹田弘法
2. 発表標題 バレル膜タンパク質における膜組み込み研究の最前線
3. 学会等名 日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 宮崎 亮次、鈴木 健裕、堂前 直、塚崎 智也
2. 発表標題 タンパク質膜透過・輸送に関わるPpiD/YfgM複合体の in vivo 光架橋解析
3. 学会等名 第22回 日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 宮崎 亮次、鈴木 健裕、堂前 直、塚崎 智也
2. 発表標題 in vivo光架橋法によるタンパク質膜透過関連因子PpiDの相互作用解析
3. 学会等名 第18回 21世紀大腸菌研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 宮崎 亮次
2. 発表標題 PpiD/YfgM複合体はSec複合体とDsbAを連結する
3. 学会等名 2022年度国立遺伝学研究所研究会「単細胞生物に見られる生体プロセスの恒常性維持システム」（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田岡 東、菊池 洋輔、Sun Linhao、渡邊 信嗣
2. 発表標題 高速走査プローブ顕微鏡による生きた細菌表層の局所物性イメージング
3. 学会等名 第18回 21世紀大腸菌研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 下茂 梨乃、江口 友佳子、田岡 東
2. 発表標題 Qind株を用いた細胞内で新規合成されたマグネトソーム配置機構解析
3. 学会等名 第18回 21世紀大腸菌研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Azuma Taoka, Yousuke Kikuchi, Takumi Saito, Yoshihiro Fukumori
2. 発表標題 Dynamic in vitro assembly of MamK cytoskeleton for magnetosome positioning.
3. 学会等名 The 7th International Meeting on Magnetotactic Bacteria, (招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yukako Eguchi, Yusuke Seki, Yoshinobu Ikeda, Yoshihiro Fukumori, Azuma Taoka
2. 発表標題 Identification of protozoan predators that feed on magnetotactic bacteria from freshwater environment.
3. 学会等名 The 7th International Meeting on Magnetotactic Bacteria,
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 古田 瑞希、江口 友佳子、田岡 東
2. 発表標題 細菌オルガネラ「マグネトソーム」の形成初期に起こるタンパク質間相互作用の同定
3. 学会等名 第95回日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 菊池 咲紀、江口 友佳子、田岡 東
2. 発表標題 NanoBRET法を用いたマグネトソームタンパク質間相互作用の検出法の開発
3. 学会等名 第95回日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田岡 東、菊池 洋輔
2. 発表標題 細菌の表情を触って見る - 高速AFMを用いた細菌表層観察 -
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田岡 東
2. 発表標題 高速原子間力顕微鏡による生きた細菌表層の見える化
3. 学会等名 第96回日本細菌学会総会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 下茂 梨乃、田岡 東
2. 発表標題 磁性細菌Magnetospirillum magneticum AMB-1細胞内で新規に合成されたマグネトソームの配置機構
3. 学会等名 第96回日本細菌学会総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 丸野友希、Nakajohn Thewasano、Edward Germany、塩田拓也
2. 発表標題 in vivo部位特異的光架橋法によるBamA-BamC相互作用解析
3. 学会等名 第22回日本蛋白質科学年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 丸野友希、Nakajohn Thewasano、中島由香里、Edward Germany、塩田拓也
2. 発表標題 In vivo部位特異的光架橋法によるBamA-BamC相互作用解析
3. 学会等名 第18回21世紀大腸菌研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 塩田拓也、Edward Germany、丸野友希、Nakajohn Thewasano、中島由香里
2. 発表標題 バレル型膜タンパク質に書き込まれた輸送に必要なシグナルの解明
3. 学会等名 第18回21世紀大腸菌研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 塩田拓也、Edward Germany、Nakajohn Thewasano、丸野友希、今井賢一郎
2. 発表標題 バクテリアからヒトまで存在する パレル型膜タンパク質の輸送機構
3. 学会等名 第44回蛋白質と酵素の構造と機能に関する九州シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 塩田拓也
2. 発表標題 Discovery of conserved rules of the targeting signal of mitochondrial and bacterial surface proteins
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Takuya Shiota, Edward Germany, Nakajohn Thewasano, Kenichiro Imai, Yuki Maruno, Rebecca Bamert, Rhys Dunstan, Yue Ding, Yukari Nakajima, XiangFen Lai, Chaille Webb, Christopher Stubenrauch, Kher Shing Tan, Hsin-Hui Shen, Trevor Lithgow
2. 発表標題 Discovery of conserved rule and role behind the assembly of bacterial beta-barrel membrane proteins
3. 学会等名 The 48th Lorne Conference on Protein Structure and Function (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Nakajohn Thewasano, Takuya Shiota, Yukari Nakajima, Edward Germany
2. 発表標題 Categorization of substrate OMPs by dependence on accessory proteins of the BAM complex
3. 学会等名 The 48th Lorne Conference on Protein Structure and Function (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 丸野 友希, Thewasano Nakajohn, Edward Germany, 塩田拓也
2. 発表標題 In vivo部位特異的光架橋法によるBamA-BamC相互作用解析
3. 学会等名 第96回日本細菌学会総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 塩田拓也、中島由香里
2. 発表標題 新規スクリーニング法, EBIS法によるグラム陰性菌に対する抗菌薬探索
3. 学会等名 第96回日本細菌学会総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 塩田拓也
2. 発表標題 大腸菌外膜タンパク質輸送装置BAM複合体の非必須サブユニットの役割
3. 学会等名 2022年度国立遺伝学研究所研究会「単細胞生物に見られる生体プロセスの恒常性維持システム」
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 塩田拓也
2. 発表標題 バクテリアと私たちを繋ぐ「マイナス5ルール」～ バレル型膜タンパク質に存在する新規シグナルの決定～
3. 学会等名 The 80th Scienc-ome (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 塩田拓也、ジャーマニー エドワード、 シェン シンファイ、 リスゴー トレバー
2. 発表標題 バクテリアの生存を支える表層形成タンパク質の輸送機構
3. 学会等名 第95回日本細菌学会総会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 塩田拓也
2. 発表標題 大腸菌における internal -signal が外膜の堅牢性に与える影響
3. 学会等名 2021年度国立遺伝学研究所研究会 「単細胞システムの複製と維持における生体高分子の機能」（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 宮崎 亮次
2. 発表標題 in vivo光架橋法による内膜タンパク質複合体PpiD/YfgMの機能解析
3. 学会等名 2021年度国立遺伝学研究所研究会 「単細胞システムの複製と維持における生体高分子の機能」
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 渡辺 信嗣, Linhao Sun, 菊池 洋輔, 田岡 東
2. 発表標題 走査型イオン伝導顕微鏡による生きた細菌表層のナノスケール物性およびその動態の観察
3. 学会等名 第95回日本細菌学会総会シンポジウム バクテリアの表層変化と生存戦略（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田岡東, 齋藤拓海, 菊池洋輔
2. 発表標題 マグネトソーム蛋白質MamJによるMamK細胞骨格の重合制御
3. 学会等名 第95回日本細菌学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 齋藤拓海, 菊池洋輔, 江口友佳子, 田岡東
2. 発表標題 マグネトソームタンパク質 MamJ によるMamK細胞骨格の重合制御
3. 学会等名 2022年生体運動研究合同班会議
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 下茂 梨乃, 菊池 洋輔, 田岡 東
2. 発表標題 マグネトソームの細胞内配置の制御に関わるMamY タンパク質の機能解析
3. 学会等名 2022年生体運動研究合同班会議
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 ousuke Kikuchi, Masanori Toyofuku, Nozomu Obana, Nobuhiko Nomura, Azuma Taoka
2. 発表標題 High-speed AFM phase imaging visualized physical behavior of bacterial membrane vesicles in living bacterial cell surface
3. 学会等名 EMBO Workshop Bacterial membrane vesicles: Biogenesis, functions and medical applications
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 竹田弘法
2. 発表標題 ミトコンドリアにおける パレルタンパク質膜挿入の構造基盤
3. 学会等名 2022年度 日本分子生物学会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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	田岡 東 (Azuma Taoka) (20401888)	金沢大学・生命理工学系・教授 (13301)	
研究分担者	宮崎 亮次 (Ryoji Miyazaki) (30827564)	奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・助教 (14603)	
研究分担者	竹田 弘法 (Hironori Takeda) (80816588)	国立研究開発法人理化学研究所・生命機能科学研究センター・基礎科学特別研究員 (82401)	

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
---------	---------