

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 12 日現在

機関番号：16201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460535

研究課題名(和文) グラム陽性病原細菌のプロテインキナーゼを介するシグナル伝達の解明

研究課題名(英文) Study on Function of Eukaryotic Protein Kinase and Phosphatase in Firmicutes

研究代表者

成谷 宏文 (NARIYA, HIROFUMI)

香川大学・医学部・助教(学内講師)

研究者番号：30452668

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：グラム陽性細菌に普遍的に存在する真核型Protein Ser/Thr Kinase(K)-Phosphatase(P)を介するシグナル伝達系の機能と多様性をClostridium perfringens (ガス壊疽菌)をモデルとして解明する。

K-Pが基質膜タンパク質(S)のThr-92のリン酸化調節で、同菌の生育・形態を制御すること、SはClostridium属に特異的に存在し、タンパク質相互作用領域を持つ新規シグナル伝達因子で、新規抗菌薬のTargetとして注目される非メバロン酸経路の必須酵素IspG、更に細胞壁合成経路の必須酵素MurFとの相互作用を見いだした。

研究成果の概要(英文)：Protein Ser/Thr Kinase (K)-Phosphatase (P) plays essential roles in regulation of cellular functions in both prokaryotes and eukaryotes. Although PP2C family P- PknB family receptor K system is conserved in Firmicutes bacteria, functional diversity of the system is implicated by its substrate (S) diversity.

Our studies on the K-P system in C. perfringens revealed that S is a novel signaling factor distributing only in Clostridia and containing protein-protein interaction domains. S is phosphorylated at Thr-92 and the phosphorylated-form S is increased by according to cell-growth progression. Cell-length is correlated with the phosphorylation level of S upon the K-P system. Furthermore, S is located at septa and poles in the cells, probably associating with two essential enzymes in the cell wall synthesis pathways.

研究分野：細菌学、生化学、分子微生物学、応用微生物学

キーワード：ガス壊疽菌 シグナル伝達 リン酸化 プロテインキナーゼ プロテインホスファターゼ Clostridium perfringens 形態形成 多様性

1. 研究開始当初の背景

生物の特異的機能は、その生存環境への適応進化の過程で獲得したものであり、その機能発現には、様々な生物反応プロセスが関与している。中でも環境の変化を情報・シグナルとして伝達するプロセスの分子基盤の解明は、生命機構を理解する上で重要な課題である。

Protein Kinase によるシグナル伝達機構には「Ser/Thr/Tyr」のリン酸化と「His/Asp」のリン酸化(二成分制御系)を介する2つの機構がある。細菌ではこれまで His Kinase による二成分制御系のみ存在すると考えられていたが、1991年に粘液細菌で真核型 Protein Ser/Thr Kinase (K)が発見され、また、ゲノム解析から K および脱リン酸化酵素 Protein Ser/Thr Phosphatase (P)が多くの細菌に存在し、様々な機能を制御することが明らかになっている。特に分化能を有する細菌(粘液細菌、シアノバクテリア、放線菌)および病原細菌(結核菌)に多数の K 遺伝子が見いだされているが、その存在意義やシグナル伝達機構は依然として不明な点が多く、国内外において活発に研究が進められている。

Clostridium 属を含む Firmicutes グラム陽性菌において、PP2C Family P と膜レセプター型 PknB Family K のオペロン、その周辺遺伝子が高度に保存されている。*Bacillus*、*Streptococcus* において、いくつかの K の基質タンパク質の同定がされているが、種により異なり、また破壊株の表現型に多面的効果が見られ、菌種間、遺伝子破壊法によっても相違がみとめられる。つまり、適応進化に応じた K-P シグナル伝達系の機能的多様性が推定される。

そこで我々は、*Clostridium* 属の K に関する報告がないこと、またガス壊疽菌 *C.perfringens* strain 13 には、CPE1738 の一つのみが K として認められ、複数の K 遺伝子を持つ細菌よりも解析が容易であることから、その機能解析を行ってきた。

しかし、これまでガス壊疽菌において利用できる遺伝子操作・解析ツールが乏しいことが遺伝子機能解析の障壁となっていた。そこで、Galactokinase 遺伝子(*galK*)を用いた多重遺伝子欠損株作製法、Xylose 遺伝子誘導発現システム、核酸・プロトプラスト・菌体タンパク質等の調整に極めて有用なガス壊疽菌ファージ由来の特異的溶菌酵素(Endolysin, Psm)等の開発を行い、これらを用いて解析を行ってきた。更に、これらのツールを国内外の *Clostridium* 属細菌の研究にも提供し、その研究推進に貢献してきた。

これまでに、K-P が基質膜タンパク質 CPE1057 (S) の Thr-92 のリン酸化調節により、同菌の生育・形態を制御していること明

らかにしている。ガス壊疽菌は本来 3-5um の桿菌であるが、K-P を欠損させると、S がリン酸化されず、生育阻害と不明瞭な隔壁を有するヘビ状の長鎖桿菌への変化を認める。逆に、P を欠損し K を恒常発現させて S をリン酸化型にすると、コレラ菌様コンマ状短桿菌へと変化する。

また S の欠損により、K の有無に関わらず、コンマ状短桿菌に変化する。誘導発現系を用いて、S・K-P 欠損株で S の発現量を調節(少多)すると、コンマ型 正常型 長鎖型へと変化するが、S・P 欠損株の場合、S がリン酸化されてほぼコンマ型のまま変化しない。しかし、S のリン酸化部位変異(Thr-92-Ala)体を導入した株では、長鎖型へ変化する。

また、GFP 融合-S の発現解析から、S はリン酸化型・非リン酸化型に関係なく、主に隔壁(長鎖桿菌の場合、不明瞭な隔壁)に局在することから、S は細胞壁合成・分裂に関与することが示唆される。

また、S は *Clostridium* 属に特異的に存在し、タンパク質相互作用領域を有する新規シグナル伝達因子であり、新規抗菌薬の Target として注目されている菌特異的な必須代謝経路(非メバロン酸経路:細胞壁生合成にも必須である)の酵素 IspG (CPE1692)との相互作用を Yeast Two-Hybrid Screen により見いだしている。

2. 研究の目的

本研究では、1) S と IspG の分子・生理機能の解析、2) 各種生育条件下での S のリン酸化レベルと菌の形態の相関解析、3) S の新規相互作用因子の探索、4) K のシグナル分子の同定を行い、K-P シグナル伝達系の全貌を明らかにし、同属菌に起因する感染症治療に向けた分子微生物学的知見を得ることを目的とする。

また5) 他のガス壊疽菌株を含めた *Clostridium* 属細菌における S ホモログの比較・相補解析によって、その普遍性・多様性を探求する。

3. 研究の方法

1) S と IspG の分子・生理機能の解析

S の膜トポロジーの解析: S は、膜タンパク質で、膜貫通領域(TM)を挟み、N 末端領域に2つの TPR 領域(タンパク質間相互作用に関与)、Lys-Rich 塩基性領域、C 末端領域の4つの TPR 領域からなり、構造上 Bi-topological と推定される(下図)。



そこで N、C-末端にそれぞれ HA タグ を付加した S の発現株を作製し、Psm でプロトプラストを調製、蛍光免疫染色を行い膜トポロジー(N-in/C-out or N-in/C-in) を決定する。

IspG の発現解析：IspG は必須遺伝子であると考えられ、欠損株の作製には成功していない。そこで Xylose 遺伝子誘導発現システム(pXC)にて IspG の過剰発現を各変異株で行い、その形態変化を観察する。

2) 各種生育条件下での S のリン酸化レベルと菌の形態の相関について

S の Thr-92 のリン酸化レベルと菌の形態との相関を解析するため、タグ付 S 遺伝子を親株、P 欠損株、K-P 欠損株のゲノム上で構築し、まず通常の試験管培養の各増殖期における菌の形態（菌長測定）及び S の発現量、リン酸化レベルを Western Blot で定量解析する。

3) S の新規相互作用因子の探索

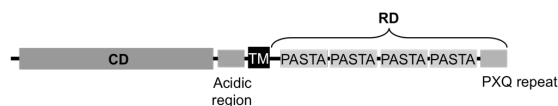
S::IspG 相互作用を Yeast Two-Hybrid Screen により検出したが、*in vivo* 相互作用の確認を Pull-down, Cross-linking 法で行う。Pull-down は、リン酸化型・非リン酸化型タグ付 S の発現株を Psm で処理し、Triton X-100, CHAPS 等による可溶化、Ni²⁺-IMAC で分画精製し、S 非発現株等との比較により、相互作用因子を特定、LC-MS/MS 解析により同定を試みる。

Cross-linking は、発現株を 1% ホルムアルデヒド、室温 20 min-氷中 2 h で架橋、Psm で処理後、分画した複合体を、95°C, 6 h の熱処理で架橋を切断し、非架橋試料をコントロールとして SDS-PAGE に供し、特異的バンドを LC-MS/MS にて解析する。

Yeast Two-Hybrid Screen を S および IspG の全体および各機能性領域 (N-末端、C-末端領域等) に分割して行い、相互作用領域の特定と他の新規相互作用因子の探索を行う。

4) K のシグナル分子の同定

K は膜レセプター型 Kinase であり、N-末端に Kinase 活性領域(CD)、Asp/Glu-rich な酸性領域、膜貫通領域(TM)、C-末端側に制御/レセプター領域 (RD) からなる構造をとる。RD には、PASTA 領域(菌間での相同性は低い)が繰り返し見られ、C-末端には、Pro-X-Glu の繰り返し配列が Tail として認められる(下図)。この Tail 配列は多様性に富んでいて、ガス壊疽菌株間でも大きな相違が見られる。



Bacillus において K のシグナル分子として細胞壁分解物(Muropeptide)が示唆されている。そこで、ガス壊疽菌の各時期の培養上清、ガラスビーズで破碎し単離した細胞壁を Psm で可溶化した分解物を添加し、菌の形態形成への影響と S のリン酸化レベルを解析する。

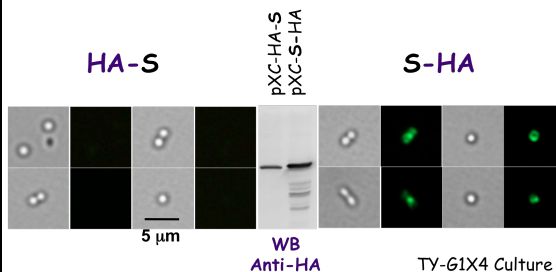
5) Clostridium 属細菌における S ホモログの比較・相補解析

ゲノム解析が完了しているガス壊疽菌 3 株を含む、12 種の Clostridium 属細菌の S ホモログについて、そのアミノ酸配列の比較解析 (CLUSTAL W, Neighbor-joining phylogenetic tree analysis) を行う。

4. 研究成果

1) S と IspG の分子・生理機能の解析

S の膜トポロジーの解析：N-末端 HA タグ付 S 遺伝子を Xylose 誘導発現ベクター(pXC)にクローンした。S 欠損株における発現で、その機能相補には成功したが、C-末端 HA タグ付 S (S-HA) と比べ、発現量が極めて低く解析が困難と予想されたので、その改良を検討した。RNA 二次構造予測を基に、S の N-末端 4 残基(MSKY)を Translation Enhancing Element (TEE) として付加する事で、その発現量が大幅に改善した。これらの発現株のプロトプラストを Psm で調製し、間接免疫蛍光染色法(Anti-HA Mouse mAb, Anti-Mouse IgG-Alexa488)により解析した。その結果、C-末端 HA タグ付 S 発現株のみで蛍光が観察され、つまり S は、N-in/C-out の膜タンパクである事が示唆された(下図)。

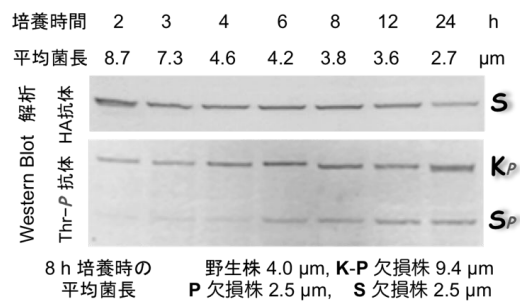


IspG の発現解析：IspG 遺伝子を pXC にクローニングし、親株で C-末端タグ付/無の IspG を発現させた。いずれの発現株においても、IspG 発現により、ある程度の菌の伸長が認められた。現在、K-P, S 変異株等での発現解析 (K, S の影響) を検討している。

2) 各種生育条件下での S のリン酸化レベルと菌の形態の相関解析

通常の試験管培養時、S の発現量は、全ての株、培養時期において、ほぼ一定であった。欠損株で認められた形態変化/S のリン酸化レベルの変化は、親株の試験管培養時にも見られた。

増殖初期では低いリン酸化レベル(0.7-5%)を示し、K-P 欠損株で見られる長い桿菌の比率が高く、増殖が進むに従ってリン酸化レベルが上昇し、正常桿菌、そして定常期後期(28-50%)では、ほとんどの菌において P 欠損株様の短桿菌に変化することを見いだした(下図)。



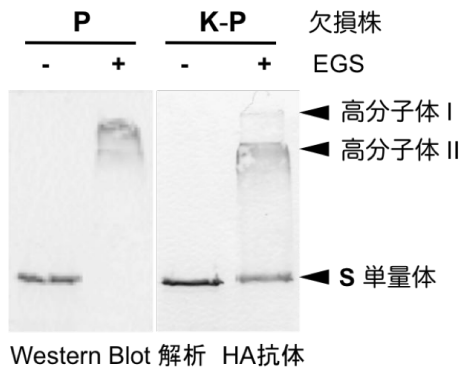
3) S の新規相互作用因子の探索

2) で作製した株のライセートをタグ無 Psm (玉井からの提供) で調製し Pull-down 解析を行った。しかし、非特異的に結合するタンパク質が多く、親株、P 欠損株、K-P 欠損株間での比較が困難であった。Buffer 等の条件検討も行ったが改善は見られなかった。

またホルムアルデヒド Cross-Linking を行ったが、Psm 処理、超音波処理・ガラスビーズによる破壊に耐性となり、S の抽出が困難であった。しかも、スクロース等張液中で Psm 処理したプロトプラストで Cross-Linking を行ったが同様に耐性となった。

そこで他の Cross-Linker を検討し、膜透過性の EGS が有効であると判明した。EGS Cross-Linking においても菌直接では耐性となったが、プロトプラストを用いると S 複合体の抽出/ Ni²⁺-IMAC 分画が可能であった。

その結果、リン酸化/非リン酸化型 S で形成される高分子体の大きさ/量に相違が認められ、S との相互作用の強さ/タンパク質因子の種類がリン酸化/非リン酸化型で異なることが推定された (下図)。



Yeast Two-Hybrid Screen の結果、S の C-末端領域では、IspG の C-末端領域の他に、UDP-N-Acetylmuramoyl-Triptide-D-Ala-D-Ala Ligase (MurF) が同定された。

IspG は 2 量体を形成する事が知られており、IspG での Yeast Two-Hybrid Screen により、IspG の全体が同定された。興味深い事に、MurF も同定されたことから、S::IspG::MurF 複合体を形成し、細胞壁合成に関与することが推定された。

S の N-末端領域では、宿主からの鉄獲得に寄与する Iron-Responsive Surface Determinant (Isd) が同定され、更に、N-末端

領域のリン酸化領域を除く 2 つの TPR で Yeast Two-Hybrid Screen を行うと、ガス壊疽菌に特異的に存在する機能未知の酸性タンパク質が同定された。K にも酸性領域が存在する事から、何らかの関連性が疑われた。

EGS Cross-Linking 解析において超高分子 S 複合体 (高分子体 I) を検出している。このことは S が、細胞分裂や形態形成に必須である 細菌の細胞骨格: アクチン様 MreB 重合体 (Elongasom) やチューブリン様 FtsZ リング (Divisome) 等と、更に、MurF を含む細胞壁合成の酵素複合体 (未同定) IspG 等と相互作用している可能性がある。

現在、この高分子 S 複合体を LC/MS/MS 解析するため、分画条件を検討し、高純度複合体を調製を行っている。

4) K のシグナル分子の同定

2) の結果からも、K の細胞外レセプター領域のリガンドの 1 つとして細胞壁の分解物が考えられる。増殖の進行に伴う細胞壁分解物の蓄積が K の活性化、S のリン酸化を亢進するものと推定された。しかし、増殖後期の培養液や細胞壁の Psm 処理分解物をリン酸化レベルの低い増殖初期の菌に添加し検討したが、S のリン酸化の亢進は、現在のところ、まだ検出できていない。

もう一つの可能性として、細胞壁の架橋度を K が感知している可能性 (MurF との相互作用) があり、現在、蛍光バンコマイシン (D-Ala-D-Ala に結合) による染色観察 (分布/蛍光強度) を行っている。

5) Clostridium 属細菌における S ホモログの比較・相補解析

S のリン酸化部位 Thr-92 は、N 末端領域の塩基性領域に存在し、ガス壊疽菌 3 株において S は、ほぼ同一であった。相同解析から、他の Clostridium 属細菌の S ホモログでも、ディフィシル菌以外は、塩基性領域がみられた。しかし、これらの領域の相同性はかなり低く、Thr-92 の保存は、認められなかった。またガス壊疽菌以外の菌では、塩基性領域にある程度の相同性が認められ、機能的多様性が推定された。

また他菌においては、Thr の他に、Ser、Tyr のリン酸化の可能性もあり、リン酸化型 S ホモログの検出および Affinity 精製を行い、LC/MS/MS 解析でリン酸化部位の決定等を行う予定である。

また、他の Clostridium 属 (特にディフィシル菌) の K と S のホモログを、我々が確立した発現系、変異株を用いて相補的解析を行い、Clostridium 属間での普遍性、多様性を見る。他のガス壊疽菌 (SM101, ATCC13124) 株の欠損株も作製し、解析する予定である。

以上の本研究により、C.perfringens における K-P シグナル伝達系は、菌の増殖進行を

感知しながら、基質タンパク質のリン酸化を介し、非メバロン酸経路必須酵素および細胞壁合成経路必須酵素と複合体を形成、その機能調整により、菌の細胞壁合成・分裂を制御しているものと推定される。また他 *Clostridium* 属細菌における基質タンパク質ホモログの比較解析から、その機能の多様性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 5 件)

Tada A, Nakayama-Imahiji H, Yamasaki H, Hasibul K, Yoneda S, Uchida K, Nariya H, Suzuki M, Miyake M, Kuwahara T. Cleansing effect of acidic L-arginine on human oral biofilm.

BMC Oral Health. 16: 40. (2016) 査読有 Nakayama-Imahiji H, Hirota K, Yamasaki H, Yoneda S, Nariya H, Suzuki M, Secher T, Miyake Y, Oswald E, Hayashi T, Kuwahara T. DNA Inversion Regulates Outer Membrane Vesicle Production in *Bacteroides fragilis*. PLoS One. 11: e0148887 (2016) 査読有

Katayama S, Kato S, Yamasaki A, Aitani K, Yamasaki T, Hatano N, Nariya H and Hitsumoto Y. Novel cell wall-associated fibronectin-binding proteins of *Clostridium perfringens*. Int J Anal Bio-Sci. 3(1): 1-9 (2015) 査読有

Katayama S, Tagomori M, Morita N, Yamasaki T, Nariya H, Okada M, Watanabe M, Hitsumoto Y. Determination of the *Clostridium perfringens*-binding site on fibronectin. Anaerobe.34: 174-181 (2015) 査読有

doi:10.1016/j.anaerobe.2014.11.007 Tamai E, Yoshida H, Sekiya H, Nariya H, Miyata S, Okabe A, Kuwahara T, Maki J, Kamitori S. X-ray Structure of a Novel Endolysin Encoded by Episomal Phage phiSM101 of *Clostridium perfringens*. Mol Microbiol.92:326-337 (2014) 査読有 doi: 10.1111/mmi.12559 D-Alanyl

〔学会発表〕(計 2 9 件)

Hirofumi Nariya, Shigeru Miyata, Haruyuki Imahiji, Tomomi Kuwahara. *In vivo* methylation in *E. coli* by methyltransferases from *Clostridium perfringens* for transformation. 第 89 回日本細菌学会総会, 2016 年 3 月, 大阪 Yuya Fujita, Hirofumi Nariya, Keina Nakamura, Hatsumi Mochizuki, Ryuichi Moriyama, Tomomi Kuwahara, Shigeru Miyata. Development of a method for efficient genome editing with mazF in

Clostridium perfringens. 第 89 回日本細菌学会総会, 2016 年 3 月, 大阪

Hiroshi Sekiya, Eiji Tamai, Hirofumi Nariya, Jun Maki. Influence of the cell wall binding domain to species specificity of endolysin Psm. 第 89 回日本細菌学会総会, 2016 年 3 月, 大阪

Seiichi Katayama, Ayumu Yamasaki, Yumi Takahashi, Hirofumi Nariya, Yasuo Hitsumoto. Analysis of the fibronectin-binding proteins in the peptidoglycan layer of *Clostridium perfringens*. 第 89 回日本細菌学会総会, 2016 年 3 月, 大阪

成谷 宏文. 招待講演 細菌における真核型 Protein Kinase を介するシグナル伝達系. 文部科学省 科学技術人材育成費補助事業 テニユアトラック普及・定着事業 大阪市立大学主催 OCU テニユアトラック研究

討論会 国際公募採用の若手研究者による先進的研究の討論会, 2015 年 12 月, 大阪 若林 友騎, 成谷 宏文, 安木 真世, 桑原 知巳, 三宅 眞実. ウェルシュ菌の芽胞形成を評価するレポーター系の開発. 第 68 回日本細菌学会関西支部総会, 2015 年 11 月, 京都

成谷 宏文. 招待講演 細菌における真核型 Protein Kinase を介するシグナル伝達系. 6th Forum of Network Association of Microbiologist in Ehime (NAME), 2015 年 10 月, 愛媛

山先 歩武, 山崎 勤, 成谷 宏文, 櫃本 泰雄, 片山 誠一. ウェルシュ菌菌体表層に新たに見出されたフィブロネクチン結合タンパク質の機能解析. 第 68 回日本細菌学会中国・四国支部総会, 2015 年 10 月, 岡山

田中 章博, 成谷 宏文, 桑原 知巳, 片山 誠一. ウェルシュ菌の新規線毛構成タンパク質遺伝子の発現. 第 68 回日本細菌学会中国・四国支部総会, 2015 年 10 月, 岡山

成谷 宏文, 玉井 栄治, 桑原 知巳. ウェルシュ菌のプロテインキナーゼの解析. 第 68 回日本細菌学会中国・四国支部総会, 2015 年 10 月, 岡山

関谷 洋志, 玉井 栄治, 成谷 宏文, 牧 純. 溶菌酵素 Psm における細胞壁結合ドメイン変異体の解析. 第 68 回日本細菌学会中国・四国支部総会, 2015 年 10 月, 岡山

Ayumu Yamasaki, Sanae Kato, Kana Aitani, Tsutomu. Yamasaki, Naoya Hatano, Hirofumi Nariya, Yasuo Hitsumoto, Seiichi Katayama. Identification of two cell wall-associated fibronectin-binding proteins of *Clostridium perfringens*. CLOSTPATH 2015, 9th International Conference on the Molecular Biology and Pathogenesis of the Clostridia. Germany, 2015 9/7-11

Hirofumi Nariya, Eiji Tamai, Tomomi Kuwahara. Eukaryotic protein kinase and phosphatase regulate morphology of

Clostridium perfringens. 第88回日本細菌学会総会, 2015年3月, 岐阜

Yasuo Hitsumoto, Tsutomu Yamasaki, Hirofumi Nariya, Seiichi Katayama. Determination of the *Clostridium perfringens*-binding site on fibronectin. 第88回日本細菌学会総会, 2015年3月, 岐阜

Ayumu Yamasaki, Tsutomu Yamasaki, Hirofumi Nariya, Yasuo Hitsumoto, Seiichi Katayama. Identification of the cell wall-associated fibronectin-binding proteins of *Clostridium perfringens*. 第88回日本細菌学会総会, 2015年3月, 岐阜

Zhiqun Yan, Toshi Shimamoto, Gaku Yunotani, Hirofumi Nariya, Tomomi Kuwahara, Tadashi Shimamoto. Functional analysis of the hypothetical gene, orf540, in retron-Vc95 of *Vibrio cholerae* O1 El Tor. 第88回日本細菌学会総会, 2015年3月, 岐阜

Wataru Asahi, Masato Azuma, Hirofumi Nariya, Shigeru Miyata. Development of T7 expression system for AT-rich genes using avirulent *Clostridium perfringens*. 第88回日本細菌学会総会, 2015年3月, 岐阜

山先歩武, 加藤早苗, 山崎勤, 成谷宏文, 檀本泰雄, 片山誠一. ウェルシュ菌の菌体表層に存在するフィブロネクチン結合タンパク質の機能解析. 第67回日本細菌学会中国・四国支部総会, 2014年10月, 徳島

関谷洋志, 玉井栄治, 成谷宏文, 牧純. 溶菌酵素 Psm の SH3_3 domain の機能解析. 第67回日本細菌学会中国・四国支部総会, 2014年10月, 徳島

Hirofumi Nariya, Haruyuki Imaohji, Shigeru Miyata and Tomomi Kuwahara. Novel cloning system of large exogenous DNA as artificial chromosome in *Clostridium perfringens*. 第87回日本細菌学会総会 2014年3月, 東京

- ⑳ Sanae Kato, Tsutomu Yamasaki, Hirofumi Nariya, Yasuo Hitsumoto, Seiichi Katayama. The genes coding fibronectin-binding proteins on the cell surface of *Clostridium perfringens*. 第87回日本細菌学会総会 2014年3月, 東京

- ㉑ Toshi Shimamoto, Hirofumi Nariya, Tomomi Kuwahara, Tadashi Shimamoto. Functional analysis of the hypothetical gene, orf205, in retron-Vc95 of *Vibrio cholerae* O1 El Tor. 第87回日本細菌学会総会 2014年3月, 東京

- ㉒ Hiroshi Sekiya, Eiji Tamai, Hirofumi Nariya, Jun Maki. Study of lytic mechanism of Psm, an endolysin specific

to *Clostridium perfringens*. 第87回日本細菌学会総会 2014年3月, 東京

- ㉓ Haruyuki Imaohji, Tadasuke Ooka, Yasuhiro Goto, Hirofumi Nariya, Yoshinori Horiuchi, Motoo Suzuki, Katsuichiro Okazaki, Tetsuya Hayashi, Tomomi Kuwahara. Role for the histamine production of *Raoultella ornithinolytica* in oxidative stress. 第87回日本細菌学会総会 2014年3月, 東京

- ㉔ Seiichi Katayama, Mika Tagomori, Hatsuo Yamashita, Tsutomu Yamasaki, Hirofumi Nariya, Mariko Okada, Mariko Watanabe, Yasuo Hitsumoto. Determination of binding site for *Clostridium perfringens* on fibronectin. 8th International Conference on the Molecular Biology and Pathogenesis of the Clostridia 2013, Australia, 22nd - 26th October 2013

- ㉕ 加藤早苗, 山崎勤, 成谷宏文, 檀本泰雄, 片山誠一. ウェルシュ菌の菌体表層にみられる新規フィブロネクチン結合タンパク質. 第66回日本細菌学会中国・四国支部総会, 2013年10月, 広島

- ㉖ 今大路治之, 大岡唯介, 成谷宏文, 鈴木基生, 岡崎勝一郎, 林哲也, 桑原知己. *Raoultella ornithinolytica* における histamine 産生と酸素ストレス耐性. 第66回日本細菌学会中国・四国支部総会, 2013年10月, 広島

- ㉗ 成谷宏文, 八木弘文, 今大路治之, 片山誠一, 桑原知己. ウェルシュ菌における Sortase-Mediated Protein Display System (SPDS)の構築. 第66回日本細菌学会中国・四国支部総会, 2013年10月, 広島

- ㉘ 関谷洋志, 玉井栄治, 成谷宏文, 牧純. 溶菌酵素 Psm の細胞壁結合ドメインの機能解析. 第66回日本細菌学会中国・四国支部総会, 2013年10月, 広島

〔その他〕

ホームページ等

http://www.kms.ac.jp/faculty/center/igaku_kouza/bunshi_biseibutsu/

6. 研究組織

(1) 研究代表者

成谷 宏文 (NARIYA HIROFUMI)

香川大学・医学部・助教

研究者番号: 30452668

(2) 研究分担者

玉井 栄治 (TAMAI EIJI)

松山大学・薬学部・准教授

研究者番号: 40333512