

2019 年度若手研究者共同研究プロジェクト実施報告書

法政大学総長 殿

以下のとおり研究実施報告書を提出します。

基 本 情 報	研究課題名： 負荷依存的な細菌べん毛モーターの固定子ユニット組み込み効率
	研究代表者 氏名： 石田 翼
	(在籍者) 研究科・専攻・学年： 理工学研究科 生命機能学専攻 博士後期課程 1 年 (修了者) 所属・職種：
	指導教員(所属・職・氏名)： 生命科学部 生命機能学科 准教授 曾和義幸 (※在籍者のみ記入)
	共同研究者(所属・職・氏名)： (※指導教員と同人の場合は記入不要)
	その他 研究分担者：
	研究期間： 2019 年度 ～ 2021 年度 (※研究修了年度を記載)
年 間 の 研 究 実 施 概 要	※研究計画の進捗状況を中心に今年度の研究実施状況を記載してください。 申請時の研究計画では1年目は蛍光観察システムを導入する予定であったが、システム改造中は他の実験ができないことを考慮し、モーターの回転計測のみのシステムで論文にまとめられるような計画に変更した。具体的には3年目におこなう予定であった、モーター制御因子による影響の調査を中心におこなった。 近年私たちの研究分野では、べん毛モーターの回転を制御する新たな因子に注目が集まっている。そのような制御因子の一つである FliL というタンパク質が大腸菌べん毛モーターの回転速度に与える影響について調べることにした。FliL は2019年3月にビブリオ菌で初めてその構造が報告されたタンパク質である。またその報告では、べん毛モーターの回転力を発生させる固定子ユニットの周りを複数の FliL 分子が取り囲んで、粘性の高い環境下(= 高負荷条件下)で細菌が泳ぐ際にモーターの出力を強化するとされている。FliL が高負荷条件下でべん毛モーターの出力を強化するといった報告はこれまでも複数あり、ビブリオ菌だけでなくサルモネラ菌などでも同様の報告がされている。しかし、2017年の大腸菌での最新の報告では、高負荷条件下では FliL の有無はべん毛モーターの回転に影響しないとされている。本研究ではこれまでに、大腸菌べん毛モーターの回転を高負荷から極低負荷条件下まで網羅的に計測できるシステムを構築しているため、これを応用することで大腸菌が持つ FliL の機能について新たな知見が得られると期待した。 まず、FliL タンパク質を発現させる <i>fliL</i> 遺伝子を、計測用大腸菌株のゲノムから相同組換え法を用いて欠失させた。さらに発現量の制御が可能なベクターに <i>fliL</i> 遺伝子を乗せたプラスミドでそれらの菌株を形質転換することで、菌体内の FliL 発現量を制御してモーター回転計測をおこなった。その結果、FliL を持たない株のモーターは、極低負荷条件下で回転速度が低いことがわかった。

さらに実験を進めて、以前の報告通り高負荷条件下ではFliLの有無によらずモーターの回転速度が変化しないこと、負荷が下がるにつれてFliLを持つ菌株のモーター速度がFliLを持たない株に比べて高くなること、モーター速度と同様に低粘度の溶液中では細胞の遊泳速度も*fliL*遺伝子の欠失により低下することを発見し、複数の研究会や学会でこれを発表した。

これらの実験の中で、全ての極低負荷条件下でのモーター回転の観察は、モーターに付着させた金ナノ粒子の動きを、本研究でこれまでに構築した顕微鏡システムに取り付けた高速カメラで撮影することでおこなっている。このようにして録画したデータから実際にモーターの回転速度を計算するために、ナノ粒子の重心位置をプログラムで解析する必要があり、本研究ではこの解析プログラムも自作している。しかし、本学の貸与PCでは、この自作プログラムを高速に動かすためにはスペックが不足しており、高性能なPCが必要であった。そこで、本研究プロジェクトの資金でこれを購入し、プログラムのパフォーマンスを調べた結果、貸与PCと従来のプログラムを使用していたときと比較して、5倍程度の高速化に成功した。これにより、実験データの解析結果をほとんど待つことなく閲覧できるようになり、これまでより大幅に効率よく実験を進めることが可能となった。

また現在、上記した大腸菌が持つFliLの機能について、論文を執筆中である。これまでに執筆した修士論文や研究会発表要旨などで参考文献の管理に苦労したことや、自作プログラムで解析したデータをグラフ化する際に画質が粗かったことを踏まえて、本プロジェクトの資金で複数のソフトウェアを購入した。これらを用いることで、参考文献の一括処理や高解像度の図を作成・編集することが可能となった。この論文を、2020年春までに雑誌に投稿することを目指している。

研 究 業 績	成果発表（学会・論文・研究会等）		
	学会・論文・研究会等の別	タイトル	発行または発表年月
	第 16 回 21 世紀大腸菌研究会	極低負荷条件下においても大腸菌べん毛モーター回転速度は固定子ユニット数に依存する	2019 年 5 月
	第 5 回 法政大学・立教大学微生物研究会	メカノセンシングに関わる FliL は極低負荷条件下でべん毛モーターの出力を強化する	2019 年 8 月
	第 57 回 生物物理学会 年会	負荷に依存した細菌べん毛モーター回転速度の調節機構	2019 年 9 月
	第 18 回 微生物研究会 「微生物研究の新しい潮流」	負荷に依存した大腸菌べん毛モーター回転速度の調節因子	2019 年 11 月
	The 1st International Symposium on Molecular Engine	FliL works as a speed regulator of the Escherichia coli flagellar motor at low load	2020 年 1 月