

様式 F-7-1

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）実施状況報告書（研究実施状況報告書）（平成30年度）

所属研究機関名称		奈良先端科学技術大学院大学	機関番号	14603
研究代表者	部局	先端科学技術研究科		
	職	助教		
	氏名	小林 和夫		

1. 研究種目名 基盤研究(C)(一般) 2. 課題番号 17K07721

3. 研究課題名 多細胞体形成により誘導されるPaenibacillus sp. 株の運動能の解析

4. 補助事業期間 平成29年度～令和元年度

5. 研究実績の概要

(1) flgB-bgaBレポーター導入株の作製
flgB operonの転写制御因子を同定するために、ゲノム上にflgB-bgaBレポーターを導入した菌株の作製を行った。Paenibacillus sp. NAIST15-1株は、カナマイシン耐性であり、そのカナマイシン耐性遺伝子がレポーターの挿入部位として使えると考えた。ゲノム配列の情報から、候補遺伝子を選び、その遺伝子破壊株を作製し、それらのカナマイシン感受性を調べることで、カナマイシン耐性遺伝子を同定した。次に、カナマイシン耐性遺伝子の下流領域、flgB プロモーター領域、BgaBレポーター、カナマイシン耐性遺伝子の上流領域をこの順序でpMADプラスミドにクローニングし、作製したプラスミドでPaenibacillus sp. NAIST15-1株を形質転換することで、flgB-bgaBレポーター導入株を作製した。今後、この株を用いてスクリーニングを行う予定である。

(2) cysL変異株の表現型の解析
Paenibacillus sp. NAIST15-1株は、高い運動能を示すが、バイオフィーム形成を行わないことを見出した。その原因を探っていたところ、Paenibacillus sp. NAIST15-1株はシステイン合成に必要なcysIJオペロンが欠損していることを見出した。我々は、以前にcysIJの変異が枯草菌のバイオフィーム形成を大きく低下させることを見出しており、cysIJがどのようにしてバイオフィーム形成を阻害するのか、興味をもたれた。そこで、枯草菌でcysIJ欠損変異によるバイオフィーム形成への影響を調べた。その結果、cysIJ変異株では、チオレドキシンの欠乏により、Spxの誘導がおこること、Spxがポリサッカライド合成遺伝子の発現を低下させることを見出した。

6. キーワード

motility surface sensing cysL

7. 現在までの進捗状況

区分 (3) やや遅れている。

理由

flgB-bgaBレポーター株の作製に必要なプラスミドの作製に予想以上に時間がかかってしまった。

2 版

8. 今後の研究の推進方策

作製したf1gB-bgaBレポーター株を用いてスクリーニングを行ない、表面感知を介した運動能の誘導機構を明らかにする。

9. 次年度使用が生じた理由と使用計画

試薬等の購入を節約したため、今年度予算に残額が生じた。それらは、来年度の一般試薬購入費として使用する。

10. 研究発表（平成30年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kazuo Kobayashi	4. 巻 201
2. 論文標題 Inactivation of <i>cysL</i> Inhibits Biofilm Formation by Activating the Disulfide Stress Regulator <i>Spx</i> in <i>Bacillus subtilis</i> .	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of bacteriology	6. 最初と最後の頁 pii: e00712-18
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/JB.00712-18	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0件

〔図書〕 計0件

11. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

計0件（うち出願0件 / うち取得0件）

12. 科研費を使用して開催した国際研究集会

計0件

13. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

-

14. 備考

-