

クオラムセンシング

増殖の速い細菌にとって集団の数(密度)は重要な環境要因

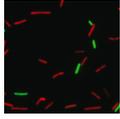
細菌は細胞の増殖に依存して様々な現象を引き起こす

クオラムセンシング : 細胞密度依存的遺伝子発現制御機構

クオラムセンシングによる現象

枯草菌

孢子形成
抗生物質の生産
形質転換



DNA 形質転換

納豆菌

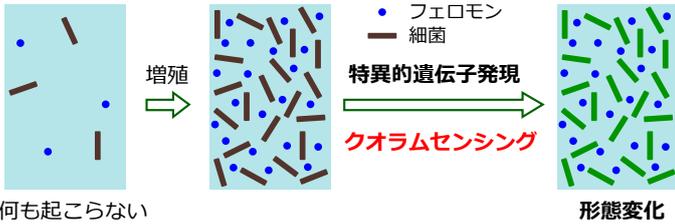
バイオフィルムの形成
(納豆のネバネバ)



納豆のネバネバ

クオラムセンシングのメカニズム

恒常的にクオラムセンシングフェロモンを分泌する



細胞密度をフェロモン濃度に置き換えて感知している

ComX フェロモン

翻訳後修飾によりトリプトファン残基がプレニル化されたクオラムセンシングフェロモン



ComX variants

Bacillus strain	amino acid sequence	W: modified; ComX pheromone
ROE2	MKQDMIDYLMKNPQVLTKLENGEASLIGIPDKLIPSVIPIFNKMTLSKKCKGIFWEQ	↑ geranylation
ROB2	MMQEIYVGLVKNPEVLDEVMKGRASLLNIDKDLKSLVDAFGG---L-QIYTNNGNWVPS	↑ geranylation
ROH1	MQEMVGYLIKYPNVLREVMEGNACLLGVDRDQSECIINGFKG---L-EIYSMLDMKY	↑ geranylation
RSB1	MQEMVGYLIKYPNVLREVMEGNACLLGVDRDQSECIINGFKG---L-EIYSMLDMWBY	↑ geranylation
168	MQDLINFLNYPEALKLKNKEACLIGFSDVQETFTTIKAYNDYY-L-ADPITRQWGD	↓ farnesylation
ROC2	MMQDLINFLNYPEALKLKNKEACLIGFSSNETFTTIKAYNDYH-L-SSPTREWDG	↓ farnesylation
Natto	MKHIDKIIISHLVNNPEAFDQFKNGNLLNINEKBAKALYAFEQGEVPRPRTSKWPFIEAISNFFEDDKRSLI	↓ farnesylation

納豆菌を含む枯草菌 7 菌株にしか確認されていない
 様々な細菌に広く見られる翻訳後修飾のはず

新規修飾ペプチドの発見

クロロフレクサス門細菌 *Sphaerobacter thermophilus* SthQ and SthX producer strain

protein name	amino acid sequence	FPP binding domain (FARM)
SthQ ACZ40807 (300 aa)	MCPFLFSLVQGEIRTAIDENSGPDSFRDLLVPLRQPCKVLGGAPSPRWV MLVCAASRAAGGAQATARVAAAVELFVAAADLFDEIDGDASAVVTASS LGQAANVASALLMLAQECLARLGGTEIPAHRVDPDFCRITLSQYALKAAACQ HMDLASEGLASVDVYNKAFEIARSKAGELGAVACRLGAMCQTEPTELLDLY AEFGRHLCTMGQLANDAQDADLDITITKSDVRLQKRTVVRVAFQDGSNAARTI PGVLTGEDQGGQALAFPTQVVIQLERQALDALARLQAGQCISELRELVG	
SthX binding domain (pseudo-SARM)		
protein name	amino acid sequence	W: modified; secreted peptide
SthX ACZ40808 (69 aa)	MDLRTVETVVRRLFTDAEFRARAIEDSAAALSEYRLGAAEHAALSCLKLQ LASGPKFNAAPIGTLGWA	

異種発現

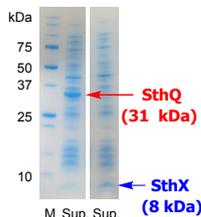
In-Fusion method
bicistronic vector*, BL21(DE3)

in vitro farnesylation

SthQ (crude), SthX, FPP, Mg²⁺,
in HEPES (pH 8.0), 37 °C, 2 h

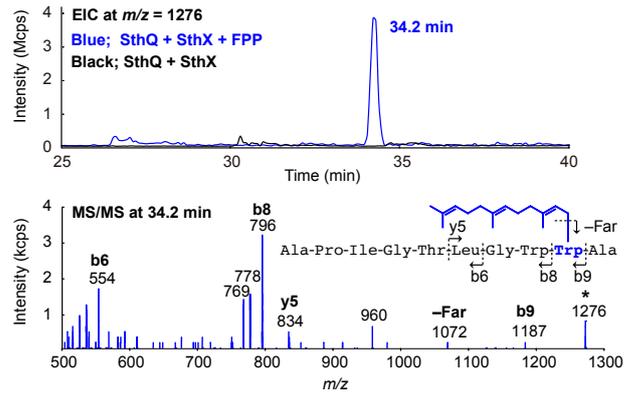
LC-MS/MS

SDS-PAGE

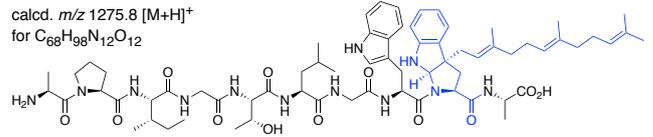


* Y. Guo, et al., Protein Expr. Purif. 2009, 65, 230.

LC-MS/MS 分析

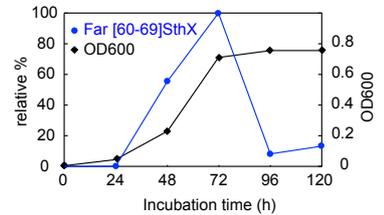


Chemical structure of Farnesylated [60-69]SthX



生産細菌 *S. thermophilus* におけるプレニルペプチドの分泌量

Condition
Ottow medium (pH 8.5)*
120 rpm, 58 °C
* JCG. Ottow, J. Appl. Bacteriol. 1974, 37, 15.



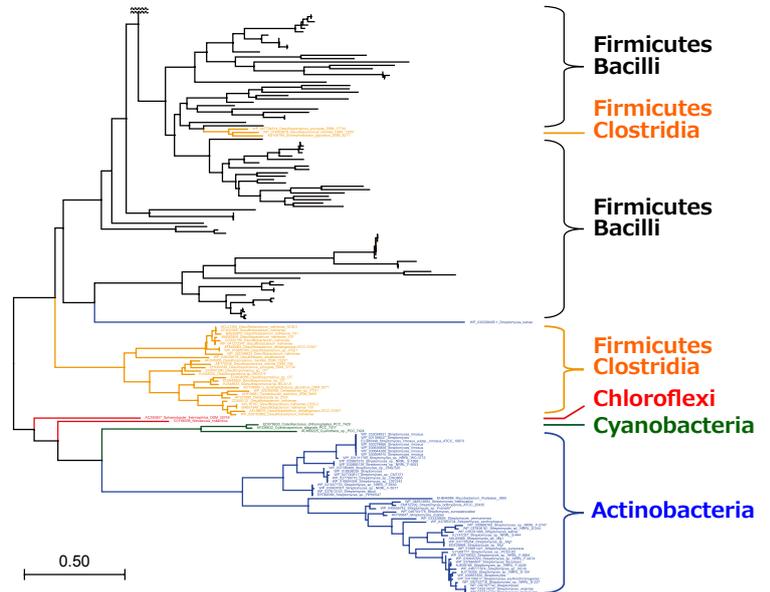
プレニル修飾ペプチドが細胞密度に相関して分泌されている

プレニル化酵素 SthQ の X 線結晶構造解析 *



* 富山大学・和漢医薬学総合研究所 森田 洋行 先生との共同研究

プレニル化酵素のゲノムマイニング



トリプトファン残基のプレニル化は、枯草菌だけでなく放線菌などの様々な細菌に見られる翻訳後修飾である

Grant funding: 発酵研究所 (IFO) H29 年度一般研究助成