

自己評価報告書

平成 23 年 3 月 31 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究 (A)

研究期間：2008～2012

課題番号：20248012

研究課題名 (和文) 細菌情報伝達ネットワークの分子機構

研究課題名 (英文) Bacterial Signal transduction network

研究代表者 内海 龍太郎 (UTSUMI RYUTARO)

近畿大学・農学部・教授

研究者番号：20151912

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学 応用生物化学

キーワード：two-component system, SafA, EvgS/EvgA, PhoQ/PhoP

1. 研究計画の概要

- (1) 細胞膜小タンパク質、B1500 (Saf A) とセンサーキナーゼ PhoQ(HK)の相互作用の分子機構解明
- (2) EvgS (HK) /EvgA (RR) 制御下の遺伝子群の転写制御機構の解明と酸耐性の分子機構
- (3) EvgS/EvgA 活性化機構
- (4) (3) にもない、B1500 の発現制御機構、PhoQ 活性化、PhoQ/PhoP 制御下の遺伝子群の発現制御機構ならびに酸耐性機構の解明

2. 研究の進捗状況

- (1) 膜小たんぱく質 (SMP) SafA によるセンサー PhoQ の活性化機構の解明を目的に、ペプチド合成した SafA のペリプラズム領域 (25 aa) と PhoQ のペリプラズム領域の直接作用を表面プラズモン共鳴法 (SPR 法) にて検討したところ、結合が認められた。本ペプチドを大腸菌の培養液に加えると PhoQ/PhoP 系が活性化したことから、SafA のペリプラズム領域単独で PhoQ が活性化されることが明らかとなった。また、SafA が EvgS/EvgA, PhoQ/PhoP 系を連結することで、大腸菌の酸性環境に対する耐性度が上がることを見つけ、論文発表した (J. Bacteriol. 193, 1222-1228, 2011)。この際、SafA 以外に、IraM という二成分制御系 (TCS) 間を連結するタンパク質の関与もわかり、細菌情報伝達ネットワークと環境適応とを結びつける好例となった。
- (2) 大腸菌の 29 種のセンサーに対して、SMP 候補遺伝子 15 種との相互作用を

two-hybrid 法で検討した結果、YceO, MgrB, FxsA, YibN の 4 種の SMP がセンサーとの物理的接近を示した。さらに、YibN は、センサー BasS が鉄イオンを感知して活性化する際、BasS の活性を抑制することも見出した。

(3) EvgS/EvgA 系のセンサー EvgS が、pH5・5.5 と高濃度の 1 荷の陽イオン (Na+, K+) の条件が重なることで活性化することを見出した。また、活性化した EvgS が SafA によって抑制されることも明らかになり、SMP である SafA が、PhoQ を活性化する一方で EvgS の活性を抑制することが示唆された。

今年度は、SafA の作用機構の解明が進むとともに、その生物学的意義の理解も深まった。SafA 以外の SMP 候補もさらに増え、細菌情報伝達ネットワークの広がりが期待される。

3. 現在までの達成度

おおむね順調に進展している。

研究計画の概要 (2) について：研究成果として既に 3 報の論文で公表した (BBB. 2009 年・J. Bac. 2010・AAC. 2010)。

研究概要の (1) と (3) について：成果は今年中に論文として公表準備中。

4. 今後の研究の推進方策

主として、EvgS PhoQ のセンサーの活性制御機構の分子機構解明に焦点をあて、その詳細について NMR 等の機器の使用も計画しながら実施する。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者に

は下線)

〔雑誌論文〕(計 15 件)

(1) R. Utsumi 他 3 名

Regulation of acid resistance by connectors of two-component signal transduction systems in *Escherichia coli*.

J. Bacteriol. 193

査読有り・2011・1222-1228

(2) R. Utsumi 他 4 名

Development of anti-virulence drug in *Streptococcus mutans*: repression of biofilm formation, acid tolerance, and competence by a histidine kinase inhibitor, walkmycin C.

Antimicrob. Agents. Chemotherapy. 55

査読有り・2011・1475-1484

他 13 件

〔学会発表〕(計 80 件)

(1) 日本薬学会シンポジウム

「新しい抗感染症薬・抗生物質、ケミカルバイオロジー」招待講演 “ヒスチジンキナーゼ介する two-component system を標的とした薬剤開発”

内海龍太郎、五十嵐雅之

3月29日、2011年(静岡)

(2) 英国微生物学会シンポジウム

「Acid stress: surviving and responding」

“EvgS/EvgA signal transduction: transcriptional cascades and acid resistance.”

R. Utsumi

9月5日、2010年。(招待講演)

(3) 日本乳酸菌学会シンポジウム(秋期セミナー)「細胞の外からの刺激に対して乳酸菌や他の細菌はどのように応答しているのか」-細菌の制御メカニズムと利用の可能性“細菌情報伝達ネットワークとその阻害剤の開発”

2009年11月27日 300名(東京農大) 内海龍太郎

(4) 平成20年度日本分子生物学会・生化学会合同大会シンポジウム「細菌情報伝達ネットワークとドラッグターゲット」2008年12月11日 200名(神戸) 内海龍太郎
他 76 件

〔図書〕(計 4 件)

(1) 内海龍太郎 「細菌の情報伝達ネットワークとその阻害剤の開発」

Japanese J. Lactic Acid Bacteria (日本乳酸菌学会誌) 21, 36-41, 2010(Mar)

(2) Bacterial signal transduction : networks and drug target, (Utsumi, R 編集 Springer)
第 1 章, introduction to bacterial signal transduction networks. R. Utsumi, 1-6 (2008)

(3) Bacterial signal transduction : networks and drug target, (Utsumi, R 編集 Springer)

第 16 章, The inhibitors targeting two-component signal transduction.

R. Utsumi, 他 3 名 229-236 (2008)

他 1 件

〔産業財産権〕

○出願状況(計 9 件)

名称: バイオフィルム形成阻害剤

発明者: 内海龍太郎、他 3 名

権利者: 同上

種類:

番号: 特願 2010-12418

出願年月日: 平成 22 年 1 月 22 日

国内外の別: 日本

名称: レスポンスレギュレーター WalR を標的とする新規抗菌剤

発明者: 内海龍太郎、他 2 名

権利者: 同上

種類:

番号: 特願 2009-230384

出願年月日: 平成 21 年 10 月 2 日

国内外の別: 日本

名称: 新規化合物シグナマイシン、その製造方法、及びその用途

発明者: 内海龍太郎 他 1 名

権利者: 同上

種類:

番号: PCT/JP2008/065196

EPC 08792742-2

出願年月日: 平成 20 年 8 月 26 日

国内外の別: 日本・PCT

他 6 件

○取得状況(計 0 件)

〔その他〕

(1) 日本農芸化学会 トピックス賞受賞
「う蝕菌バイオフィルム形成に対するアロマデンドレン類縁化合物の阻害機構」
内海龍太郎、他 4 名

3月28日、2011年 京都

(2) 日本農芸化学会 トピックス章受賞
「う蝕菌 *Streptococcus mutans* に対するヒスチジンキナーゼ阻害剤の病原性抑制効果」
内海龍太郎 他 1 名

(3) 第7回バイオビジネスコンペ JAPAN 優秀賞受賞 (4月20日、2007年)

細菌情報伝達系を標的にした新規医薬・農薬の開発と応用

3月30日、2010年(東京)

内海龍太郎