

目的別テーマ：バイオフィ이버生合成機構の解明

16年度研究テーマ

15-2-14 : 細胞壁合成・修飾・分解機構の研究

ABSTRACT

Biosynthesis, modification and degradation of cell wall are stringently controlled in bacteria. First of all, we demonstrated here that a novel yvcE (cwlO) gene encodes a vegetative cell wall hydrolase classified into the DL-endopeptidase family. The C-terminal truncated protein, C-CwlO-6His, retained cell wall hydrolase activity and the substrate bond specificity indicated that it is a DL-endopeptidase in vitro. CwlO was secreted in culture medium during the vegetative growth phase. The disruption of cwlO, however, did not affect cell growth, morphology, and motility. Second we investigated that the LysM domain of CwlE specifically recognized naked peptidoglycan in cell wall. In addition, immunofluorescence microscopy of CwlE-3xFLAG with several mutants in the teichoic acid biosynthesis pathway strongly suggested that peptidoglycan modification by major and minor wall teichoic acids might mainly occur in the cylindrical part of a rod-shaped cell.

研究目的

細菌の細胞壁は、バイオポリマー・バイオフィ이버の中でも最も複雑で多機能な物質である。その生合成・修飾・分解は、絶妙なバランスが保たれることにより維持されている。枯草菌では細胞分裂の際に合成される隔壁部分と、筒状のシリンジ部分では異なる細胞壁合成メカニズムが機能していることが明らかになっている。細胞壁合成・修飾・分解のメカニズムを詳細に解明することは、新たなバイオポリマー・バイオフィ이버創製において重要なヒントになり得る可能性が考えられる。そこで本課題では枯草菌の新たな細胞壁溶解酵素・修飾酵素の特性を明らかにすること、及び細胞壁の重要な構成成分である陰イオンポリマーのテイコ酸がどのように細胞壁を修飾しているのかそのメカニズムの解明を目的として研究を行った。

一年間の研究内容と成果

枯草菌の新たな細胞壁溶解酵素である YvcE (CwlO) は、N 末端に分泌シグナル配列を持ち、C 末端に DL-endopeptidase family II に分類される細胞壁溶解酵素群とアミノ酸レベルで高い相同性を有している。この酵素は栄養増殖期に生産され、細胞壁結合画分ではなく培養液中に分泌されることが明らかになった。また C 末端側の細胞壁溶解酵素ドメインのみを含む C-CwlO-6His 蛋白質は強い細胞壁溶解活性を示した。さらに細胞壁の分解産物について逆相 HPLC を用いて解析した結果、予想されたように DL-endopeptidase であることが解った。また前年度の研究で明らかになった多糖デアセチラーゼのホモログである PdaA が、アミダーゼにより処理されたペプチドグリカンに作用する N-アセチルムラミン酸デアセチラーゼであることを酵素化学的に証明した。

これまでの研究により細胞分離に関与する細胞壁溶解酵素 CwlE が分裂面及び分裂後の両極に局在することが解っている。まず CwlE の N 末端側に存在する LysM ドメインが細胞壁のペプチドグリカンの特異的に認識していることを明らかにした。またペプチドグリカンがテイコ酸により修飾されていると LysM ドメインは結合できないことも解った。さらに細胞壁のマイナーテイコ酸合成遺伝子を破壊した株では CwlE は筒状のシリンジ部分にも螺旋状に局在し得ることが明らかになった。また必須遺伝子であるテイコ酸合成遺伝子を枯渇させた場合にも同様な螺旋状の局在パターンが観察された。これらの結果から分裂面とシリンジの部分では細胞壁のテイコ酸による修飾が異なっており、分裂面の細胞壁はテイコ酸による修飾が非常に乏しい、もしくはほとんど受けていない可能性が示唆された。

展望

細胞壁の生合成・修飾・分解機構を総合的に研究することにより様々な応用面への発展が期待できる。微生物を使った物質生産において、細胞が溶解されにくい宿主の開発につながる可能性が考えられる。またペプチドグリカンのテイコ酸による修飾メカニズムの解明につながる可能性がある。