ビブリオ菌におけるべん毛および走化性関連遺伝子と病原性

百 武 晃 宏・川 岸 郁 朗・本 間 道 夫

名古屋大学大学院理学研究科 生命理学専攻・超分子機能学
〒464-8602 名古屋市千種区不老町

[受理: 2004 年 3 月]

2000 年にコレラ菌の全ゲノム塩基配列が決定され、また、2003 年に日本で腸炎ビブリオ菌の全ゲノム配列が決定された。コレラ菌は走化性シグナル伝達に関わる遺伝子群を 3 組もつことが推測され、そのうち 1 組だけが走化性への関与を証明されている。また、コレラ菌を含めビブリオ属の細菌は非常に多くの走化性レセプターをもつことがわかってきた。コレラ菌の走化性シグナル伝達遺伝子や走化性レセプターの一部については、病原性に関与することが示されている。以上のことをふまえ、ビブリオ菌における走化性関連遺伝子と病原因子についてレビューすることにした。

1. 序

Vibrio 属の細菌は、グラム陰性で、一般的には海に生息する桿菌である。この属で最も有名な菌と言えば、*Vibrio cholerae* (コレラ菌) であろう。猛烈な下痢を引き起こし、落命することも多く、一昔前は法定伝染病として恐れられた。現在でも、インドやアフリカなどでは流行があり、日本でも海外渡航者が下痢をおこして入院するという事態はしばしば起こっている。*V. parahaemolyticus* (腸炎ビブリオ菌) は、現在、*Salmonella typhimurium* (サルモネラ菌) とともに日本で最も多く分離される食中毒の原因菌である。また、人食いバクテリアとも呼ばれる *V. vulnificus* による死亡例はアメリカなどで多く報告されているが、日本での症例もある。ビブリオ菌は病原菌であるというイメージがつよいかもしれないが、海中の多糖としてもっとも豊富にあるカニの甲羅などに含まれるキチンを分解する菌として、海洋における物質循環にも大きく寄与している。また、魚のアンコウの提灯が光るのは、発光細菌として知られるビブリオ菌が住み着いているからである。

Vibrio 属の細菌のなかで、最初にコレラ菌の全ゲノム塩基配列が決定され (20)、コレラ菌が多くの走化性レセプター様遺伝子をもつことが注目された。続いて *V.*

vulnificus, *V. parahaemolyticus* (40) の全ゲノム塩基配列が決定されたが、この 2 種も多数の走化性レセプター様遺伝子をもっていた。コレラ菌では、走化性シグナル伝達関連遺伝子や、いくつかの走化性レセプター様遺伝子が病原性に関与していることが示されている。

今回、コレラ菌を中心に *Vibrio* 属細菌の走化性関連遺伝子について比較・概説し、それらの遺伝子の病原性への関与について考える。

2. *Vibrio* 属菌の性質と特徴

Vibrio 属菌は、海洋や汽水環境から広く分離されるグラム陰性通性嫌気性の細菌である (表 1) (5)。一般に高いナトリウムイオン要求性を示すが、*V. cholerae* だけは僅かなナトリウムイオンで生長する。菌体の形状は基本的に湾曲した桿菌である。*V. cholerae* は患者に猛烈な下痢を引き起こし、脱水症状や電解質の欠乏によって落命する (51)。*V. parahaemolyticus* もヒトに下痢を起こし、シラス中毒事件では 20 人以上の人が亡くなっている (14)。*V. vulnificus* は普段は病原性を示さないが、免疫機能や肝機能の低下したヒトに寄生して全身感染や壊死を引き起こし、死に至らしめる (58)。*V. alginolyticus* (海洋性ビブリオ菌) は *V. parahaemolyticus* と非常に近縁ではあるが病原性はほとんどない。*V. anguillarum* は魚に寄生して病気を引き起こす菌、*V. fischeri* や *V. harveyi* も魚に寄生性であるが、この 2 種の菌は発光バクテリアとして有名である。海洋性ビブリオ菌 *V. alginolyticus* やその近縁種 *V. parahaemolyticus* は、夏の間は、海水中を泳ぎまわったり、プランクトンの表面に付

Akihiro HYAKUTAKE, Ikuro KAWAGISHI and Michio HOMMA
Motility- and chemotaxis-related genes of *Vibrio* spp. and their involvement in virulence
Division of Biological Science, Graduate School of Science, Nagoya University

表 1. ビブリオ属菌の特徴

Characteristic	Species					
	<i>V. cholerae</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. vulnificus</i>	<i>V. anguillarum</i>	<i>V. fischeri</i>
Voges-Proskauer	v	—	+	—	v	—
Indole reaction	+	+	+	+	v	—
Gas Production	—	—	—	—	—	—
Arginine dihydrolase	—	—	—	—	+	—
Lysine decarboxylase	+	+	+	+	—	+
Ornithine decarboxylase	+	+	v	v	—	—
Growth in						
0% NaCl	+	—	—	—	—	—
1% NaCl	+	+	+	+	+	+
6% NaCl	v	+	+	+	+	+
7% NaCl	—	+	+	—	+	+
10% NaCl	—	—	+	—	—	—
Lateral flagella	—	+	+	—	—	—
Polar flagella	+	+	+	+	+	+

着して生活している。これらの菌は、キチン質を分解して利用し、海洋における物質循環に重要な菌でもある。低温に弱いため、海底に棲む魚介類に寄生して冬を越す。このように海洋性ビブリオ菌は、海水中と他の生物の体表面という二つの異なる環境下で生活する (27)。冬季には、*V. cholerae* などは自然環境中からあまり検出されず、菌数が激減しているとかつては考えられていた。しかし近年、*V. cholerae* をふくむ *Vibrio* 属細菌が、低温条件下で生存しているが培養不可能な (VNC) 状態になっていることが示され、生鮮食品の加工などの際の問題となっている (26)。

Vibrio 属のどの菌も菌体の極に一本から数本の極べん毛をもち、海中などを遊泳する際は、この極べん毛の回転を推進力とする (図 1)。種によっては形態的に異なる側べん毛をもつ。*V. parahaemolyticus* では動物性プランクトンなどのような粘液質の体表面に付着すると、隔壁形成が抑制されて菌の長さが 30 μm にも達する多核の細胞 (群遊細胞) に変化し、側べん毛が菌体周囲に何十本も発現してくる (43)。側毛はその表面への付着や表面での移動に関与していることがわかっている (4, 53)。

3. ビブリオ菌のゲノム構造

90年代末に *V. cholerae* と *V. parahaemolyticus* で染色体が2本あるという報告がなされた (59, 63)。細菌ゲノムは環状で一本の染色体からなるという常識から外れていたため、非常に驚かされた。ビブリオ菌での発見以前には、*Rhodobacter sphaeroides* でも染色体は1本ではないという報告はあった。しかし、その一方が必須遺伝子が乗った巨大プラスミドという考え方も出来ることから、染色体と呼んで良いだろうかという議論はあった。

その後 *V. cholerae* と *V. parahaemolyticus* の染色体全塩基配列が決定され、各染色体は、前者が 2,961,151 bp と 1,072,914 bp に対して後者 3,288,588 bp と 1,877,212 bp であった (20, 40) (図 2)。遺伝子の配置を比較すると、主として同一染色体内で配置が変化しているものが多かった。また小さい染色体では、一方の種にのみ見られる遺伝子の割合が高かった。DNA 複製、修復、転写翻訳、細胞壁合成、その他の中心的な分解や生合成経路の遺伝子など、菌の生存に重要な遺伝子は両方の染色体に存在するが、多くはサイズの大きい染色体 (染色体 1) に存在する。小さい染色体 (染色体 2) では、約 6 割が機能の分からない遺伝子であり、染色体 1 では約 4 割である。コレラ菌では、コレラ毒素、病原因子に関わる毒素共発現線毛 (toxin co-regulated pilus : TCP) の遺伝子は染色体 1 に存在する。また、*V. parahaemolyticus* の病原性に必要なタイプ III 分泌機構に関わる遺伝子を含む pathogenicity island は、染色体 2 に存在する。

V. cholerae では、極べん毛構造やそのモーターを構成する遺伝子を 40 個以上もつが、それらはすべて染色体 1 に存在し、 σ^{54} (RpoN) や σ^{28} (FliA) によって転写を活性化される (49)。染色体 2 にプラスミドで特徴的に見られる遺伝子捕捉系 (integron island) や宿主耽溺 (addiction) 遺伝子が存在している。染色体複製に関与する領域も染色体 2 はプラスミド由来のものに相同であるらしい。これらのこ

図 1. ビブリオ菌における 2 種類のべん毛発現
粘度の低い液体中（海水）では、ナトリウムイオン駆動型極べん毛によって遊泳するが、粘性の上昇（魚の表面などへの付着）によってプロトン駆動型側べん毛が発現し、粘性の高い液体中を移動できるようになる。

図2. ビブリオ菌ゲノム

V. cholerae 染色体 (a) と *V. parahaemolyticus* 染色体 (b) は、2本の染色体からなる。サイズの大きな染色体を染色体1、小さい方を染色体2とした。*Vibrio* pathogenicity island (VPI), コレラ毒素をコードする CTXφ フェージ領域、遺伝子捕捉領域 (integron island), ペン毛遺伝子領域などの部分を環状染色体において黒く塗った。

とから、染色体2は、メガプラスミド由来ではないかという考えが示されている。一方、*V. parahaemolyticus* は極べん毛に加え、側べん毛をもつ。極べん毛遺伝子は、*V. cholerae* と同じように、染色体1に存在するが、側べん毛遺伝子は染色体2に存在している。

4. *Vibrio* 属のべん毛構造と回転モーター

べん毛遺伝子やべん毛モーターの遺伝子については、本細菌学雑誌の総説 [岡部ら (67)] に詳しいので、ここでは概説にとどめる。

細菌のべん毛構造や遺伝子は、大腸菌やサルモネラ菌で最も良く研究されている。機能や構造に必要な遺伝子構成はどの細菌でも基本的にはよく似ている (図3)。*Vibrio* 菌の極べん毛は、べん毛繊維が外膜からつながった鞘構造に包まれている点が大きく異なる。一般にグラム陰性菌のべん毛は細菌表層膜系内に埋まった基部体 (basal body) と菌体外に長く伸びるらせん型のべん毛繊維 (filament) および両者をつなぐフック (hook) とからなっている。基部体は、外膜およびペプチドグリカン層に結合する LP リングおよび内膜に結合する MS リングおよびそれらをつなぐロッドから成り立っている。基部体の周りにはイオンの流入と共役してべん毛回転を駆動するモータータンパク質複合体 (Mot complex) があり、細胞質側にはモーターの回転方向

図3. べん毛の模式図

大腸菌などの周べん毛 (左半分) と *Vibrio* の極べん毛 (右半分) を示した。極べん毛では、べん毛が鞘で包まれている。また、ナトリウムイオン駆動型である極べん毛のモーターには、プロトン駆動型のべん毛モーターにはないタンパク質 (MotX と MotY) が含まれる。

を制御するスイッチ複合体 (switch complex) およびべん毛タンパク質特異的排出装置 (export apparatus) が存在する (図 3)。

上述の通り、*Vibrio* 属の細菌は主として極べん毛の回転によって運動する。*V. cholerae* は一本の極べん毛のみもち、*V. parahaemolyticus* や *V. alginolyticus* は極べん毛の他に、構造的に異なる側べん毛をもつ (41, 64)。ちなみに、大腸菌のべん毛は周毛であり、本質的には側べん毛と同じような生え方である。

極べん毛は、細胞の一方の末端から生え、先にも述べたように鞘 (sheath) によって包まれている。直径は 24 ~ 30 nm、鞘内のコア部分の直径は 14 ~ 16 nm、波長は 1.5 μ m である。鞘は細菌の外膜から連なる膜構造だが、抗原性の違いから、単なる外膜の延長ではないと考えられている (15)。一方、側べん毛は細胞の円筒側部から数十本生え、鞘には包まれていない。側べん毛の直径は 14 ~ 15 nm、波長は 0.9 μ m である。この 2 種類のべん毛は、異なるモーターによって駆動される。極べん毛のモーター複合体には、細胞膜上の Mot 複合体のほか外膜上に存在すると考えられている MotXY 複合体が必須である (47)。エネルギー源も異なり、極べん毛のモーターはナトリウムイオンの流入と、側べん毛のモーターは水素イオンの流入とそれぞれ共役し、回転力を生み出す (2, 30)。このような違いがあるが、両者のモーターの回転機構は基本的には共通であるらしい。最近、大腸菌のべん毛モーターをナトリウムイオンで駆動させることに成功したことから、イオン共役機構解明の新しい展開が期待される (1)。

V. parahaemolyticus では、粘性の高い条件下で側毛が発現することから、ビブリオ菌の菌体は粘性の上昇を何らかの方法で感じていると考えられる (図 3)。興味深いことに、そのセンサーは極毛自身である (42, 43)。極毛の Na⁺ 駆動型モーターの阻害剤であるフェナミル (アミロライドの誘導体) を用いて、極毛の回転が低下と側毛遺伝子の発現の間に相関関係があることが示された (29)。このことから極毛は力学的センサーとして働き、側毛の発現を制御すると考えられている。

5. 走化性シグナル伝達系

べん毛を回転させることで細菌は移動するが、好ましい環境へ移動する (つまり走化性を示す) には、外界の環境にあわせ、適切にべん毛回転の方向を制御することが必要である。このシグナル伝達の経路は大腸菌などでよく調べられている (12)。大腸菌は溶液中でスムーズな遊泳の合間にランダムにタンブル (方向転換) を繰り返し、三次元的なランダムウォークをする。スムーズに泳いでいるときはべん毛は反時計方向 (CCW) に回転し、タンブルするときは時計方向 (CW) に回転する。誘引物質を認識するとタンブルの頻度が低下し、結果的に好ましい方向に移動する。

図 4 は大腸菌の走化性のシグナル伝達経路の模式図である。シグナル伝達の中心となるのは His キナーゼ CheA

から応答調節因子 CheY へのリン酸基転移である。このリン酸基転移系は、二成分調節系と呼ばれる。二成分調節系は、一般にセンサー・キナーゼと応答調節因子 (レスポンスレギュレーター) からなる。センサー・キナーゼがシグナルを認識すると、自身のトランスミッター領域のヒスチジンキナーゼ活性を制御する。トランスミッター領域中のヒスチジン残基は ATP 依存的に自己リン酸化する。このリン酸基は応答調節因子のアスパラギン酸残基へ転移し、リン酸化された応答調節因子はそれぞれ特異的な応答を引き起こす。原核細胞の環境応答系として普遍的に見られるだけでなく、植物など真核生物の応答系にも広く用いられている (8)。走化性においては、環境からのシグナルを膜貫通型の走化性レセプター (MCP) が受け取り、それに応じて CheA 活性を制御する。誘引物質の非存在下で、走化性レセプターは CheA を活性化するが、誘引物質が結合すると、CheA は不活性化される。実際には、走化性レセプターと CheA は、アダプタータンパク質 CheW を介して三者複合体を形成して細胞の極に局在する。CheA によってリン酸化された CheY はべん毛モーターのスイッチ複合体に結合し、べん毛の回転を時計回りにさせる。その結果、菌はタンブルする。一方、CheY が結合していないときべん毛モーターは反時計回りに回転し、菌はスムーズに泳ぐ。リン酸化型 CheY の脱リン酸化は CheZ により促進される。また、一定の刺激が持続すると応答が減衰する。これが適応であり、走化性に必須である。適応はレセプターのメチル化・脱メチル化によって達成される。それぞれメチル化酵素 CheR と脱メチル化酵素 CheB によって触媒される。CheB も CheA からリン酸基を受け取る応答調節因子であり、リン酸化されると活性化される。レセプターが誘引物質を認識すると、CheB のリン酸化が低下する。その結果レセプターのメチル化レベルが上昇し、誘引物質があっても CheA を活性化するようになる。

V. cholerae, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* も、上記の Che タンパク質群と相同のタンパク質をもつ。*V. parahaemolyticus* および *V. vulnificus* では、*cheA*, *cheB*, *cheW*, *cheY* および *cheZ* は染色体 1 上に近接して存在し、走化性遺伝子クラスターを形成しており、*cheR* は *flg* 遺伝子などと同ークラスターに存在する。*V. cholerae* の場合は、他の 2 種のもつ *che* 遺伝子群とは別に、さらに 2 組の *che* 遺伝子群をもち、一つは染色体 1 に、もう一つは染色体 2 にクラスターを形成している (図 5)。ただし *cheZ* はこの二つのクラスターには存在しない。またそれぞれの種は、*cheW* と *cheY* が融合した遺伝子である *cheV* を 4 つもっており、そのうち 1 つは *flg* 遺伝子クラスターの *cheR* に隣接するが、他の 3 つは分散して存在する。なお大腸菌は *cheV* をもたない。ピロリ菌や枯草菌では *cheV* の走化性への関与が示されている (28, 48) が、*Vibrio* 属での機能は調べられていない。

V. cholerae の 3 組の *che* 遺伝子クラスターのうち、他の *Vibrio* の *che* 遺伝子との相同性が高いのはクラスター II の遺伝子である。3 つの *che* 遺伝子クラスターの走化性への関

図 4. 大腸菌の走化性シグナル伝達経路

二種類の泳ぎははべん毛回転方向に対応している。細菌のべん毛が反時計方向（CCW）に回転するとき細菌はスムーズに泳ぎ、時計方向（CW）に回転しているときはタンブル（方向転換）する。誘引物質を認識するとタンブル頻度が低下し、逆に誘引物質濃度の低下を認識するとタンブル頻度が増加する。この結果、誘引物質の濃度が高いところへ移動する。誘引物質や忌避物質の認識は細胞膜上の走化性レセプター MCP が行う。CheA は MCP によって活性化され、CheY をリン酸化する。リン酸化型 CheY はべん毛モーターのスイッチに結合し、べん毛を CW 回転させる。その結果、細菌はタンブルする。誘引物質が MCP に結合すると CheA の活性が抑制され、その結果菌はスムーズに泳ぐ。MCP は、CheR によってメチル化、CheB によって脱メチル化される。MCP がメチル化されると、誘引物質による CheA 活性抑制が起こりにくくなる。

Chromosome I (2.9 Mb)

Chromosome II (1.07 Mb)

図 5. *V. cholerae* の *che* 遺伝子地図

V. cholerae のゲノム上の3つの領域に *che* 遺伝子がクラスターを形成している。クラスターIIにある *che* 遺伝子がべん毛運動の走化性の制御をしている。クラスター II 内遺伝子は *V. vulnificus* および *V. parahaemolyticus* においてもよく保存されている。

与は、*cheA* の機能解析によって調べられた (17)。クラスターIIに存在する*cheA2*を欠失したときのみ走化性を失い、*cheA1*や*cheA3* (それぞれクラスターI, III) の欠失は走化性に影響を与えなかった。また、*cheA2* 欠失株を相補するのは*cheA2*のみであった。これらのことは、クラスターIIのみが走化性に関与することを示す。ただし、上記の実験では、クラスターIやIIIの遺伝子が発現していないだけで、別の条件ではそれらが走化性に関わるのかもしれない。そこで、走化性シグナル伝達系の出力を担うCheYに着目して解析したところ、過剰発現させることでべん毛の逆回転を引き起こしたのは、クラスターIIのCheY3のみであった (投稿準備中)。やはり走化性に関与するのはクラスターIIだけであり、クラスターIとIIIは走化性以外の生理機能への関与が予想される。

一方、*V. parahaemolyticus* は、極べん毛と側べん毛という2種類のべん毛をもつ (図3)、極べん毛による走化性だけでなく、側べん毛による高粘性培地上の移動にも*che* 遺伝子が必要である (52) ので、二種類のべん毛を一つの*che* 遺伝子群によって制御してことが示されている。べん毛の回転制御を担う*che* 遺伝子群は1組しかもたないことから、どのように2つの回転系を制御しているのか興味深い。

後述するように、走化性に関与する*cheA2*や*cheY3*も含めいくつかの*che* 遺伝子が病原性に関与することが示されているが、*V. cholerae* の走化性自体の研究はほとんどなされていない。現在、当研究室で*V. cholerae* の走化性物質の探索を行っているが、これまでにセリンをはじめ、数種のアミノ酸が誘引物質として特定されている (未発表)。*V. alginolyticus* では藻類の分泌物である acrylate や glycolate に対して走化性を示すが (55)、大腸菌と同じようにセリンを誘引物質として、フェノールを忌避物質として認識する (21)。*V. parahaemolyticus* では、セリン、グリシン、アラニン、ロイシンなどのアミノ酸を誘引物質として認識し、インドールやニッケルを忌避物質として認識することが確かめられている (52)。

6. 走化性レセプター

CheAの活性を調節する走化性レセプターは、細胞膜に局在する二回膜貫通型タンパク質である (65)。走化性レセプターは、上述のように適応の過程でメチル化・脱メチル化を受けることから、メチル基受容走化性タンパク質 (methyl-accepting chemotaxis protein: MCP) とよばれる。メチル化を受けるのはC末端側の細胞質領域に存在するモチーフ配列 Glu-Glu-X-X-Ala-Ser/Thr 中の下線部のグルタミン酸残基 (グルタミン残基が翻訳後脱アミド化されてグルタミン酸残基になる場合もある) である。また、MCPはその細胞質領域に高度保存領域 (HCD) をもつ。この領域は、CheAやCheWと相互作用し、シグナルの産生に関わる。

HCDの配列をもとに推定遺伝子産物を相同検索したところ、*V. cholerae* では45個のMCP様タンパク質 (MCP-like protein: MLP) をもつと推定した。同様に他の *Vibrio* 属

細菌の MLP を探索したところ、*V. parahaemolyticus* では30個、*V. vulnificus* では50個が見つかった。大腸菌のMCPまたはMLPが5個 (Tsr, Tar, Tap, Trg, Aer) であることと比べると、*Vibrio* 属の細菌のもつ MLP の多さは際だっている。*V. cholerae* の MLP をコードする遺伝子 (以下 MLP 遺伝子) のうち、25個が染色体1に、20個が染色体2に存在する。さらに細かく見ると、*che* 遺伝子クラスターIに4つ、クラスターIIIに2つの MLP 遺伝子が存在する。走化性に関わると考えられるクラスターIIは MLP 遺伝子を含んでおらず、遺伝子の配置だけから走化性に関与するレセプター遺伝子を特定することはできない (図5)。*V. cholerae* の MLP の推定アミノ酸配列を解析すると、A) 大腸菌のセリンレセプター Tsr などと同様に二つの膜貫通領域に挟まれたペリプラズム領域をもつもの、B) 大腸菌の酸素走化性に関わる MLP (酸化還元センサー) Aer と同様に、二つの膜貫通領域が近接したもの、C) 膜貫通領域をもたないもの、という3つのグループに分類できる (J.S. Parkinson, 私信)。Aグループに属するのは32個 (うち推定メチル化部位をもつもの22個、以下括弧内同様)、Bグループに属するのは6個 (2個)、Cグループに属するのは7個 (5個) である。またBグループに属するもののうち、Aerと同様にPASドメインをもつのは5個であった。コレラ菌の走化性レセプターが認識する化学物質やその他の刺激 (温度、pH, redox potential など) は明らかになっていない。Cグループのレセプターは細胞質に存在することが予想されるため、細胞外のシグナルを直接認識することはできないと考えられる。ちなみに光合成原核生物である *Rhodobacter sphaeroides* のTlpCも細胞質中に点状に局在する MLP である。この遺伝子は酢酸、乳酸などの調べられた全ての物質に対する走化性に重要であることから、走化性に関わる代謝の情報を統合・認識するか、あるいは走化性のシグナル伝達経路の中の新規で必須な要素であると考えられている (61)。コレラ菌のCグループの MLP も同様に、細胞内の生理的状态などを認識するのかもしれない。

上記の通り、*V. parahaemolyticus* では30個、*V. vulnificus* では50個の MLP をもつ。いずれの菌も運動性をもち、Cheタンパク質群を1組しかもたないので、おそらくこれらは全て走化性に関わるセンサーであると考えられる。実際、*V. cholerae* のCheタンパク質群のうち*V. parahaemolyticus*と*V. vulnificus*のものと同様に最も高い相同性を示すのは、走化性に関わるクラスターIIのものである。*V. cholerae* の MLP のうち17個は*V. parahaemolyticus* の MLP と、全長において高い相同性を示した (未発表)。したがって、この17個の MLP が*V. cholerae* の走化性に関与する可能性が高い。コレラ菌の MLP のうちのいくつかは病原性に関与することが示されているが、このことは後述する。

7. べん毛運動・走化性と病原因子発現

コレラの病原細菌である*V. cholerae*のライフサイクルは、おもに free-swimming phase と virulent phase の二つに大別

できる (51)。前者は、おもに宿主外に存在しているときの状態であり、病原因子を発現することはなく、活発に動き回る。宿主内に入り、感染する腸の表面に到達すると後者の状態に移り、運動性がなくなると同時に、電解質の分泌 (漏出) を引き起こすコレラ毒素 (cholera toxin : CT) に代表される病原因子を発現する (図 6) (38)。これがコレラの一連の症状を引き起こす。*V. cholerae* の病原性には、いくつかのべん毛遺伝子や、走化性関連遺伝子が病原性に関与することが知られている。

V. cholerae の病原因子の発現に大きく関わっているのが ToxT である。転写アクティベーターである ToxT が、CT をコードしている *ctxAB* のプロモーターを活性化することで毒素産生が起こり、病原性が発揮されることになる (図 7) (7, 56)。*toxT* は、ToxR や TcpP (共に内膜タンパク質、細胞質領域に DNA 結合ドメインをもつ) によりその発現が活性化される (7, 24, 56)。これら遺伝子の発現誘導は、温度、pH、ナトリウムイオン濃度などの外部環境の影響を受けることが知られている。*Vibrio* 属細菌は、呼吸鎖の NADH-ubiquinone oxidoreductase (NQR) によって、ナトリウムイオンを細胞外にくみ出すことでナトリウム駆動力を形成することができる。この NQR 遺伝子の変異が *toxT* の発現に影響することが示されている。ナトリウム駆動型べん毛 (極べん毛) も直接に *toxT* の発現制御に関与しているのではないかと考えられていたが、最近の報告では否定的である (22)。ToxT は CT のほかに、*toxT* 自身や TCP 構成タンパク質 (ピリン) をコードする *tcpA* をはじめとする *tcp* (toxin co-regulated pilus) 遺伝子群や、*acf* (accessory colonizing factor) 遺伝子群の転写も活性化する (6, 13)。TCP は運動性を阻害するらしく、*tcpI* を欠失した細菌では運動性が増加する (19)。*V. cholerae* の *hlyB* は溶血毒素 (ヘモリシン) の分泌に必要な遺伝子として同定されている (25)。

HlyB, TcpI や AcfB は、HCD をもつ MCP 様タンパク質 (MLP) であることから、CheA を制御することで、何らかのレセプターとして機能する可能性が考えられる。しかしながら、現時点では 3 つの CheA のうちのいずれと相互作用するのかは分からない。いずれにしろ、ヒト腸内の何らかの因子が MLP に作用し、細胞質中の走化性シグナル伝達経路 (と近似した経路) を経て、転写因子の発現や活性化が起こり、その結果、宿主内での病原性に関連したレギュロンの発現が引き起こされるのではないかと予測される。

宿主体内での CT の発現に走化性関連遺伝子が必要であると、明確に示した結果も報告されている (37)。マウス感染時における *ctxAB* や *toxT* の発現をモニターするため、*ctxA* または *toxT* の下流にリコンビナーゼ遺伝子 *tnpR* を融合し、それが発現すると薬剤耐性遺伝子を失うような株がデザインされた。この株をマウスに感染させて薬剤耐性を保持した変異株が単離された。それらを解析した結果、宿主腸内での *ctxAB* 遺伝子や *toxT* 遺伝子の発現に、*cheA2* 等、クラスター II の *che* 遺伝子や *mcpX* (*vc2161*)、べん毛モーター遺伝子などが必要であることが示された (37)。*cheA2* は走化性への関与が証明されている遺伝子である。おそらく McpX は CheA2 活性を制御することで走化性に関与すると考えられる。もっとも、宿主体外での *ctxA* 遺伝子などの発現には、上記の走化性関連遺伝子は必要ではない (37)。従ってクラスター II の走化性遺伝子が直接発現制御を行うというよりは、むしろ *V. cholerae* が宿主体内で *ctxAB* を発現するためには宿主腸内のうち特定の領域に移動する必要があり、その移動のために走化性が必要なのではないかと推測される。

運動性と病原性の関係としては、胆汁に対する *Vibrio* 属細菌の応答も興味深い。*V. alginolyticus* では胆汁塩が極べん毛と側べん毛の数を大きく減少させることが報告され

図 6. コレラ菌感染のモデル

小腸上皮における刺激物質の誘導により、線毛 (TCP) が発現し、上皮に付着する。そこで、増殖することでコロニーを形成し、新たな刺激によりコレラ毒素を産生するようになる。

ン存在時に発現抑制を受ける MLP (vca0031) も同定されている。これらはクラスター I もしくは II の Che システムにおいて機能するのかもしれない。

走化性関連遺伝子の発現には宿主体内の経験の有無も影響するらしい。ヒトから排出された *V. cholerae* の遺伝子発現をマイクロアレイによって調べたところ、運動能があるにも関わらず、クラスター II を含む多くの *che* 遺伝子の発現が抑制されている。このことは、宿主体外に脱出した *V. cholerae* が、走化性を失うことでランダムに環境中に拡散し、新たな宿主体内に取り込まれる機会を得るのに有効であると考えられている (45)。

(a) *S. typhimurium*

(b) *V. cholerae*

図 8. べん毛遺伝子の構成

S. typhimurium のプロトン駆動型である周べん毛 (a) と *V. cholerae* のナトリウムイオン駆動型である極べん毛 (b) の遺伝子構成を示す。遺伝子名の上には書かれた矢印は転写ユニットを示し、その矢印の始まりの数字は転写階層の順番を示す。*S. typhimurium* のべん毛遺伝子は、染色体の 4 つの領域 (region I, II, III, IV) に分布し、*V. cholerae* の極べん毛遺伝子は、染色体 (chr. 2) の 6 つの領域 (region I, II, III, IV, V, VI) に分布する。は *S. typhimurium* と *E. coli* のべん毛遺伝子、または *V. parahaemolyticus* と *V. cholerae* のべん毛遺伝子の構成は、ほぼ等しい。

8. べん毛形成と病原因子発現

CT (コレラ毒素) や TCP 線毛などの多くの病原性因子の発現は、転写制御因子の ToxR その下流にある ToxT によって協調的に制御されていることが分かっている (上述)。*V. cholerae* が付着してコロニー形成をする場合には、運動器官であるべん毛の発現は不必要であるばかりか、べん毛繊維は抗体などの生体防御系の格好の攻撃ターゲットになってしまい、菌の宿主への侵入には不利に働いてしまう可能性がある。実際、運動性を失った *V. cholerae* における CT, TCP 線毛、ヘモリシンなどの病原因子の発現が上昇し、逆に運動性が増した変異株では、病原因子の発現が低下することが見いだされている (16)。これらのことは、べん毛発現と病原因子発現を共通にコントロールする因子の存在を想像させられる。

そこで、細菌において、生理条件の変化に対応して、種々の遺伝子の転写制御を行う代替 σ 因子が考えられた。いわゆる「ハウスキーピング遺伝子」を含む大部分の遺伝子の発現に使われている σ 因子は、その分子量から σ^{70} と呼ばれる。代替 σ 因子の中で σ^{54} と呼ばれるものは、窒素同化遺伝子、べん毛遺伝子、線毛遺伝子などの発現を制御していることが分かっていた (36)。*V. cholerae* で σ^{54} 欠損株が作製され、病原性因子の発現が調べられた (33)。CT や TCP 線毛への影響はなく、べん毛形成に欠損が起こり、グルタミン酸合成酵素の発現に影響を与えた。さらに、幼児マウスのモデル系で *V. cholerae* のコロニー形成が、 σ^{54} 欠損株において起こらなくなることが分かった。このコロニー形成欠損は、べん毛欠損やグルタミン酸合成酵素量による

図 9. コレラ菌べん毛遺伝子の階層的転写制御のモデル (33) FlrA は σ^{54} 相互作用因子、FlrB は二成分調節系センサーキナーゼ、FlrC は二成分調節系応答調節因子である。*V. cholerae* の *flrA*, *flrB*, *flrC* は *V. parahaemolyticus* の *flaK*, *flaL*, *flaM* に対応する (41)。 σ^{28} (FlhA) はべん毛遺伝子転写階層の最後の転写ユニットに働く。

間接的な影響ではないことが示唆されている。当研究室でも *V. alginolyticus* の σ^{54} をコードする *rpoN* 遺伝子をクローン化し、極べん毛発現に関与していることを示している (31)。

べん毛遺伝子の転写制御については、*E. coli* や *S. typhimurium*, *Caulobacter crescentus* において非常によく調べられている。この点も、本細菌学雑誌の総説 [岡部ら (67)] に述べてあるので、*V. cholerae* についてのみ詳細に解説する。サルモネラ菌においては、約 50 個もの遺伝子が約 20 のオペロンを形成し、それらの発現の順番により 3 つのクラスに分けられる (図 8a)。染色体上では、4 つの領域に分布している。*V. cholerae* の極べん毛遺伝子も本質的には類似しているが、各対応する遺伝子の分布は異なっている (図 8b)。*V. cholerae* では、オペロンの発現の順番により 4 つのクラスに分けられ、オペロンの転写制御のモデルが出されている (図 9) (9, 49)。*motAB* や *motY* のモーター遺伝子やフラジェリンをコードする遺伝子 *flaB*, *flaC*, *flaD*, *flaE*, そして、推定抗 σ 因子をコードする *flgM* を含むオペロンは、 σ^{28} 型のプロモーター配列をもち、*fliA* 遺伝子のコードする σ^{28} に依存して発現することが確認されている。これに対して、コアフラジェリンをコードする *flaA* やモータータンパク質をコードする *motX* とフック基部体や HAPs の構造遺伝子などは、FlrC と σ^{54} に依存した発現を示す。一番最初に転写されるのは *flrA* であり、その産物である FlrA と σ^{54} がクラス II オペロンの転写を起こす。FlrB のリン酸基が FlrC に転移され、活性化される。これも二成分制御系である。

V. parahaemolyticus の極べん毛遺伝子も *V. cholerae* と同様な (遺伝子名は異なっているが) 転写制御系によって調節されていることが分かっている (32, 41)。*V. parahaemolyticus* の側べん毛遺伝子の転写制御も解析され、明らかになりつつある (57)。

V. vulnificus についても、最近、病原性へのべん毛遺伝子の関与が報告された (50)。*flgC* を欠失して基部体およびべん毛を失った *V. vulnificus* は、細胞接着能が低下し、細胞毒性や、宿主の致死性を大きく低下した。べん毛による走化性もしくは接着性が *V. vulnificus* の病原性に必要である可能性が考えられる。

9. お わ り に

以上のように、*V. cholerae* のべん毛運動・形成・走化性関連遺伝子の病原性への関与を見てきた。*Vibrio* 属細菌の走化性や運動の研究は、細菌の生理に迫る基礎科学としても、病原性の研究の上でも興味深いものである。

現在我々の研究室では、*V. cholerae* について、二つの点に興味をもって研究を進めている。ひとつは、*V. cholerae* の 2 組の *che* 遺伝子群は走化性以外の機能をもっているらしいが、その生理的役割は何かという点であり、もうひとつは、多数の走化性レセプターが認識する刺激は何かという点である。これらの点が明らかになれば、感染時と非感染時に

において *V. cholerae* が認識する環境因子およびそれらに対する応答について、視野が大きく広がるだろう。

文 献

- 1) Asai, Y., Yakushi, T., Kawagishi, I., Homma, M. (2003): Ion-coupling determinants of Na⁺-driven and H⁺-driven flagellar motors. *J. Mol. Biol.* **327**, 453–463.
- 2) Atsumi, T., McCarter, L., Imae, Y. (1992): Polar and lateral flagellar motors of marine *Vibrio* are driven by different ion-motive forces. *Nature* **355**, 182–184.
- 3) Banerjee, R., Das, S., Mukhopadhyay, K., Nag, S., Chakraborty, A., Chaudhuri, K. (2002): Involvement of in vivo induced *cheY-4* gene of *Vibrio cholerae* in motility, early adherence to intestinal epithelial cells and regulation of virulence factors. *FEBS Lett.* **532**, 221–226.
- 4) Belas, M., Colwell, R.R. (1982): Adsorption kinetics of laterally and polarly flagellated *Vibrio*. *J. Bacteriol.* **151**, 1568–1580.
- 5) Blake, P.A., Weaver, R.E., Hollis, D.G. (1980): Diseases of humans (other than cholera) caused by vibrios. *Ann. Rev. Microbiol.* **34**, 341–367.
- 6) Brown, R.C., Taylor, R.K. (1995): Organization of *tcp*, *acf*, and *toxT* genes within a ToxT-dependent operon. *Mol. Microbiol.* **16**, 425–439.
- 7) Champion, G.A., Neely, M.N., Brennan, M.A., DiRita, V.J. (1997): A branch in the ToxR regulatory cascade of *Vibrio cholerae* revealed by characterization of *toxT* mutant strains. *Mol. Microbiol.* **23**, 323–331.
- 8) Chang, C., Stewart, R.C. (1998): The two-component system: regulation of diverse signaling pathways in prokaryotes and eukaryotes. *Plant Physiol.* **117**, 723–731.
- 9) Correa, N.E., Lauriano, C.M., McGee, R., Klose, K.E. (2000): Phosphorylation of the flagellar regulatory protein FlrC is necessary for *Vibrio cholerae* motility and enhanced colonization. *Mol. Microbiol.* **35**, 743–755.
- 10) Crawford, J.A., Kaper, J.B., DiRita, V.J. (1998): Analysis of ToxR-dependent transcription activation of *ompU*, the gene encoding a major envelope protein in *Vibrio cholerae*. *Mol. Microbiol.* **29**, 235–246.
- 11) de-Boer, W.E., Golten, C., Scheffers, W.A. (1975): Effects of some chemical factors on flagellation and swarming of *Vibrio alginolyticus*. *Antonie van Leeuwenhoek J. Microbiol. Serol.* **41**, 385–403.
- 12) Falke, J.J., Bass, R.B., Butler, S.L., Chervitz, S.A., Danielson, M.A. (1997): The two-component signaling pathway of bacterial chemotaxis: A molecular view of signal transduction by receptors, kinases, and adaptation enzymes. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **13**, 457–512.
- 13) Faruque, S.M., Albert, M.J., Mekalanos, J.J. (1998): Epidemiology, genetics, and ecology of toxigenic *Vibrio cholerae*. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **62**, 1301–1314.
- 14) Fujino, T., Okuno, Y., Nakada, D., Aoyama, A., Fukai, K., Mukai, T., Ueha, T. (1953): On the bacteriological examination of shirasu-food poisoning. *Med. J. Osaka Univ.* **4**, 299–304.
- 15) Furuno, M., Sato, K., Kawagishi, I., Homma, M. (2000): Characterization of a flagellar sheath component of PF60 and its structural gene in marine *Vibrio*. *J. Biochem. (Tokyo)* **127**, 29–36.
- 16) Gardel, C.L., Mekalanos, J.J. (1996): Alterations in *Vibrio cholerae* motility phenotypes correlate with changes in virulence factor expression. *Infect. Immun.* **64**, 2246–2255.
- 17) Gosink, K.K., Kobayashi, R., Kawagishi, I., Häse, C.C. (2002):

- Analyses of the roles of the three *cheA* homologs in chemotaxis of *Vibrio cholerae*. J. Bacteriol. **184**, 1767–1771.
- 18) Gupta, S., Chowdhury, R. (1997): Bile affects production of virulence factors and motility of *Vibrio cholerae*. Infect. Immun. **65**, 1131–1134.
  - 19) Harkey, C.W., Everiss, K.D., Peterson, K.M. (1994): The *Vibrio cholerae* Toxin-coregulated-piles gene *tcpI* encodes a homolog of methyl-accepting chemotaxis proteins. Infect. Immun. **62**, 2669–2678.
  - 20) Heidelberg, J.F., Eisen, J.A., Nelson, W.C., Clayton, R.A., Gwinn, M.L., Dodson, R.J., Haft, D.H., Hickey, E.K., Peterson, J.D., Umayam, L., Gill, S.R., Nelson, K.E., Read, T.D., Tettelin, H., Richardson, D., Ermolaeva, M.D., Vamathevan, J., Bass, S., Qin, H., Dragoi, I., Sellers, P., McDonald, L., Utterback, T., Fleishmann, R.D., Nierman, W.C., White, O., Salzberg, S.L., Smith, N.O., Colwell, R.R., Mekalanos, J.J., Venter, J.C., Fraser, C.M. (2000): DNA sequence of both chromosomes of the cholera pathogen *Vibrio cholerae*. Nature **406**, 477–483.
  - 21) Homma, M., Oota, H., Kojima, S., Kawagishi, I., Imae, Y. (1996): Chemotactic responses to an attractant and a repellent in the flagellar systems of *Vibrio alginolyticus*. Microbiology **142**, 2777–2783.
  - 22) Häse, C.C. (2001): Analysis of the role of flagellar activity in virulence gene expression in *Vibrio cholerae*. Microbiology **147**, 831–837.
  - 23) Häse, C.C., Mekalanos, J.J. (1999): Effects of changes in membrane sodium flux on virulence gene expression in *Vibrio cholerae*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **96**, 3183–3187.
  - 24) Häse, C.C., Mekalanos, J.J. (1998): TcpP protein is a positive regulator of virulence gene expression in *Vibrio cholerae*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **95**, 730–734.
  - 25) Jeffery, C.J., Koshland, D.E. Jr. (1993): *Vibrio cholerae hlyB* is a member of the chemotaxis receptor gene family. Protein. Sci. **2**, 1532–1535.
  - 26) Johnston, M.D., Brown, M.H. (2002): An investigation into the changed physiological state of *Vibrio* bacteria as a survival mechanism in response to cold temperatures and studies on their sensitivity to heating and freezing. J. Appl. Microbiol. **92**, 1066–1077.
  - 27) Kaneko, T., Colwell, R.R. (1973): Ecology of *Vibrio parahaemolyticus* in Chesapeake Bay. J. Bacteriol. **113**, 24–32.
  - 28) Karatan, E., Saulmon, M.M., Bunn, M.W., Ordal, G.W. (2001): Phosphorylation of the response regulator CheV is required for adaptation to attractants during *Bacillus subtilis* chemotaxis. J. Biol. Chem. **276**, 43618–43626.
  - 29) Kawagishi, I., Imagawa, M., Imae, Y., McCarter, L., Homma, M. (1996): The sodium-driven polar flagellar motor of marine *Vibrio* as the mechanosensor that regulates lateral flagellar expression. Mol. Microbiol. **20**, 693–699.
  - 30) Kawagishi, I., Maekawa, Y., Atsumi, T., Homma, M., Imae, Y. (1995): Isolation of the polar and lateral flagellum-defective mutants in *Vibrio alginolyticus* and identification of their flagellar driving energy sources. J. Bacteriol. **177**, 5158–5160.
  - 31) Kawagishi, I., Nakada, M., Nishioka, N., Homma, M. (1997): Cloning of a *Vibrio alginolyticus rpoN* gene that is required for polar flagellar formation. J. Bacteriol. **179**, 6851–6854.
  - 32) Kim, Y.K., McCarter, L.L. (2000): Analysis of the polar flagellar gene system of *Vibrio parahaemolyticus*. J. Bacteriol. **182**, 3693–3704.
  - 33) Klose, K.E., Mekalanos, J.J. (1998): Distinct roles of an alternative σ factor during both free-swimming and colonizing phases of the *Vibrio cholerae* pathogenic cycle. Mol. Microbiol. **28**, 501–520.
  - 34) Krukonis, E.S., DiRita, V.J. (2003): From motility to virulence: sensing and responding to environmental signals in *Vibrio cholerae*. Curr. Opin. Microbiol. **6**, 186–190.
  - 35) Krukonis, E.S., Yu, R.R., DiRita, V.J. (2000): The *Vibrio cholerae* ToxR/TcpP/ToxT virulence cascade: distinct roles for two membrane-localized transcriptional activators on a single promoter. Mol. Microbiol. **38**, 67–84.
  - 36) Kustu, S., Santero, E., Keener, J., Popham, D., Weiss, D. (1989): Expression of sigma54 (*ntrA*)-dependent genes is probably united by a common mechanism. Microbiol. Rev. **53**, 367–376.
  - 37) Lee, S.H., Butler, S.M., Camilli, A. (2001): Selection for in vivo regulators of bacterial virulence. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **98**, 6889–6894.
  - 38) Lee, S.H., Hava, D.L., Waldor, M.K., Camilli, A. (1999): Regulation and temporal expression patterns of *Vibrio cholerae* virulence genes during infection. Cell **99**, 625–634.
  - 39) Li, C.C., Crawford, J.A., DiRita, V.J., Kaper, J.B. (2000): Molecular cloning and transcriptional regulation of *ompT*, a ToxR-repressed gene in *Vibrio cholerae*. Mol. Microbiol. **35**, 189–203.
  - 40) Makino, K., Oshima, K., Kurokawa, K., Yokoyama, K., Uda, T., Tagomori, K., Iijima, Y., Najima, M., Nakano, M., Yamashita, A., Kubota, Y., Kimura, S., Yasunaga, T., Honda, T., Shinagawa, H., Hattori, M., Iida, T. (2003): Genome sequence of *Vibrio parahaemolyticus*: a pathogenic mechanism distinct from that of *V. cholerae*. Lancet **361**, 743–749.
  - 41) McCarter, L. (2001): Polar flagella motility of the *Vibrionaceae*. Microbiol. Mol. Biol. Rev. **65**, 445–462.
  - 42) McCarter, L., Hilmen, M., Silverman, M. (1988): Flagellar dynamometer controls swarmer cell differentiation of *V. parahaemolyticus*. Cell **54**, 345–351.
  - 43) McCarter, L., Silverman, M. (1990): Surface-induced swarmer cell differentiation of *Vibrio parahaemolyticus*. Mol. Microbiol. **4**, 1057–1062.
  - 44) Meibom, K.L., Li, X.B., Nielsen, A.T., Wo, C., Roseman, S., Schoolnik, G.K. (2004): The *Vibrio cholerae* chitin utilization program. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **101**, 2524–2529.
  - 45) Merrell, D.S., Butler, S.M., Qadri, F., Dolganov, N.A., Alam, A., Cohen, M.B., Calderwood, S.B., Schoolnik, G.K., Camilli, A. (2002): Host-induced epidemic spread of the cholera bacterium. Nature **417**, 642–645.
  - 46) Miller, M.B., Skorupski, K., Lenz, D.H., Taylor, R.K., Bassler, B.L. (2002): Parallel quorum sensing systems converge to regulate virulence in *Vibrio cholerae*. Cell **110**, 303–314.
  - 47) Okabe, M., Yakushi, T., Kojima, M., Homma, M. (2002): MotX and MotY, specific components of the sodium-driven flagellar motor, colocalize to the outer membrane in *Vibrio alginolyticus*. Mol. Microbiol. **46**, 125–134.
  - 48) Pittman, M.S., Goodwin, M., Kelly, D.J. (2001): Chemotaxis in the human gastric pathogen *Helicobacter pylori*: different roles for CheW and the three CheV paralogues, and evidence for CheV2 phosphorylation. Microbiol. **147**, 2493–2504.
  - 49) Prouty, M.G., Correa, N.E., Klose, K.E. (2001): The novel σ 54- and σ 28-dependent flagellar gene transcription hierarchy of *Vibrio cholerae*. Mol. Microbiol. **39**, 1595–1609.
  - 50) Ran Kim, Y., Haeng Rhee, J. (2003): Flagellar basal body *flg* operon as a virulence determinant of *Vibrio vulnificus*. Biochem. Biophys. Res. Commun. **304**, 405–410.
  - 51) Reidl, J., Klose, K.E. (2002): *Vibrio cholerae* and cholera: out of the water and into the host. FEMS. Microbiol. Rev. **26**, 125–139.
  - 52) Sar, N., McCarter, L., Simon, M., Silverman, M. (1990):

- Chemotactic control of the two flagellar systems of *Vibrio parahaemolyticus*. J. Bacteriol. **172**, 334–341.
- 53) Shinoda, S., Nakahara, N. (1977): Antigenicity of flagella of *Vibrio parahaemolyticus*: existence of two distinct antigenic determinants in a flagellum. Infect. Immun. **17**, 235–237.
  - 54) Simonet, V.C., Basle, A., Klose, K.E., Delcour, A.H. (2003): The *Vibrio cholerae* porins OmpU and OmpT have distinct channel properties. J. Biol. Chem. **278**, 17539–17545.
  - 55) Sjoblad, R.D., Mitchell, R. (1979): Chemotactic responses of *Vibrio alginolyticus* to algal extracellular products. Can. J. Microbiol. **25**, 964–967.
  - 56) Skorupski, K., Taylor, R.K. (1997): Control of the ToxR virulence regulon in *Vibrio cholerae* by environmental stimuli. Mol. Microbiol. **25**, 1003–1009.
  - 57) Stewart, B.J., McCarter, L.L. (2003): Lateral flagellar gene system of *Vibrio parahaemolyticus*. J. Bacteriol. **185**, 4508–4518.
  - 58) Strim, M.S., Paranjpye, R.N. (2000): Epidemiology and pathogenesis of *Vibrio vulnificus*. Microbes Infect. **2**, 177–188.
  - 59) Trucksis, M., Michalski, J., Deng, Y.K., Kaper, J.B. (1998): The *Vibrio cholerae* genome contains two unique circular chromosomes. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **95**, 14464–14469.
  - 60) Vance, R.E., Zhu, J., Mekalanos, J.J. (2003): A constitutively active variant of the quorum-sensing regulator LuxO affects protease production and biofilm formation in *Vibrio cholerae*. Infect. Immun. **71**, 2571–2576.
  - 61) Wadhams, G.H., Martin, A.C., Proter, S.L., Maddock, J.R., Mantotta, J.C., King, H.M., Armitage, J.P. (2002): TlpC, a novel chemotaxis protein in *Rhodobacter sphaeroides*, localizes to a discrete region in the cytoplasm. Mol. Microbiol. **46**, 1211–1221.
  - 62) Wibbenmeyer, J.A., Provenzano, D., Landry, C.F., Klose, K.E., Delcour, A.H. (2002): *Vibrio cholerae* OmpU and OmpT porins are differentially affected by bile. Infect. Immun. **70**, 121–126.
  - 63) Yamaichi, Y., Iida, T., Park, K.S., Yamamoto, K., Honda, T. (1999): Physical and genetic map of the genome of *Vibrio parahaemolyticus*: presence of two chromosomes in *Vibrio* species. Mol. Microbiol. **31**, 1513–1521.
  - 64) Yorimitsu, T., Homma, M. (2001): Na⁺-driven flagellar motor of *Vibrio*. Biochim. Biophys. Acta **1505**, 82–93.
  - 65) Zhlin, I.B. (2001): The superfamily of chemotaxis transducer: from physiology to genomics and back. Adv. Microb. Physiol. **45**, 157–198.
  - 66) Zhu, J., Miller, M.B., Vance, R.E., Dziejman, M., Bassler, B.L., Mekalanos, J.J. (2002): Quorum-sensing regulators control virulence gene expression in *Vibrio cholerae*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **99**, 3129–3134.
  - 67) 岡部真裕子, 薬師寿治, 本間道夫 (2002) : 細菌べん毛. 細菌学雑誌 **57**, 519–536.