【解説】

バクテリアの細胞形態は どのようにして決まるのか？

仁木宏典

細胞の形態はどのように決められているのか？ これまではまったく異なる仕組みであろうと思われていた原核生物でも、真核生物と同じアクチンファミリー細胞骨格因子によって細胞の形態が制御されていることが明らかになっている。さらに、新たな因子が見つかり、細胞長や細胞極性をどのように制御しているのかという細胞の基本的な問題を原核生物から分子レベルで問うことができるようになってきた。

バクテリア（細菌）を特徴づける要因の一つに細胞の形態がある。丸い菌は球菌、これが連なったものは連鎖球菌、らせん状に曲がったらせん菌、長楕円形の桿菌と、形態は細菌の判別に利用され、種名や属名として種分類の基準としても使用されている。これは、細胞の形態がそれぞれの種で固有であることによる。栄養状態によって細胞の寸法は変化するが、遺伝的にその形は保たれているということである。単に脂質二重層の細胞膜だけでは、生育環境から受ける様々な機械的な応力により細胞は変形し壊されてしまうだろう。しかし、多くのバクテリアはペプチドグリカンという丈夫な層に細胞全体が覆われており、機械的な強度を保っている。したがって、ペプチドグリカンの形がその細胞の形態をつくっている

ということになる。確かに、ペプチドグリカンがなくなると桿菌は球形になる。

ペプチドグリカンの合成については、これまでに多くの研究の蓄積がある。ペニシリンに代表される多くの抗生物質がペプチドグリカン合成のプロセスを標的としたため、医学的に多くの人々の関心を引きつけてきたのだ。ただ、合成の過程については多くの知見が得られているが、なぜ形やその寸法が決まるかという点については不明な点が多い。形態異常を示す多くの遺伝子変異株も見つかってきていたが、形態を決める仕組みまで解明するには至っていなかった。この問題を大きく進展させたのは、バクテリアの中にもアクチン様の細胞骨格性のタンパク質 MreB が存在しているという発見であった。細胞内にらせん状の構造をとるバクテリアアクチン Mre B を足場としてペプチドグリカン合成が行なわれ、細胞の形態や大きさを決めていると考えられるようになった。したがって、この MreB アクチンの細胞内での配置を制御することが形態形成の制御につながると考えられる。最近、新たに見つかった形態形成の制御因子である RodZ は、細胞骨格因子 MreB と相互作用しながら、細胞長の調節をしていることが明らかになってきた。

Determination of Bacterial Rod Shape
Hironori NIKI, 国立遺伝学研究所／総合研究大学院大学遺伝学専攻

細菌の細胞壁、ペプチドグリカン

植物、菌類、細菌類はみな細胞壁をもっており、細胞の形態維持に重要な役割を果たしている。それぞれの細胞壁の構成は異なっており、植物ではセルロースが、菌類ではグリカンやキチンが、そして細菌類ではグリカンが主要な成分となっている。細菌類、すなわち原核細胞では、グリカンとペプチドが結合してペプチドグリカン層をつくる。

原核細胞の分類でよく使われるグラム陰性菌、グラム陽性菌とは、グラム染色という化学的な染色をして顕微鏡観察した際の染色の度合いで菌類を分類したものである。グラム染色はペプチドグリカン層を染色するため、ペプチドグリカン層の構造を反映した分類基準となっている。グラム陽性菌の代表格である枯草菌は細胞膜の外側に多層からなるペプチドグリカン層をもつ。一方、グラム陰性菌の大腸菌は、細胞膜と同じく脂質膜である外膜の間に、グラム陽性菌に比べて薄いペプチドグリカン層をもつ。また、ペプチドグリカン層と細胞内膜や細胞外膜とはいろいろなタンパク質で構造的に一体化している。

ペプチドグリカン層は細胞全体を取り囲んでいる。細菌を界面活性剤で長時間煮て、タンパク質や脂質を除いた後には、細胞を取り囲んでいたペプチドグリカンが細胞の形態を保持したまま残っている。ペプチドグリカン層は袋状の巨大な一分子を形成しており、これを特にサキュルス (Sacculus) と呼ぶ。サキュルスは細胞の伸長や分裂の際には、一部の分解を伴いながら、新規の合成を行なっているのである。では、その合成はどこで起こり、どのような方向にグリカンの重合体は配置されているのだろうか。

ペプチドグリカンは、*N*-アセチルムラミン酸と *N*-アセチルグルコサミンが交互に直鎖状につながったグリカン重合体の縦糸が、短いペプチドの横糸により架橋された構造である。細胞分裂面では細胞のくびれと同時に新しい細胞壁ができるため、ペプチドグリカン合成が盛んに起こっている。細胞伸長は細胞全体で起こっていると考えられてきたが、枯草菌でペプチドグリカンの新規合成の場をさらに詳細に見てみると、細胞表層上にらせん状に分布していることがわかった⁽¹⁾。このらせん状の分布というのが細菌のアクチンタンパク質 MreB の分布と類似していたことから、MreB のらせん状の細胞骨格のもとにペプチドグリカンの合成酵素が配置されているのだろーと考えられている。MreB はそもそも細胞形態の異常を起こす変異体として見いだされており、

その欠損株では球形の細胞形態をとることが知られていた。

細胞骨格タンパク質 MreB の発見

大腸菌は遺伝学的な研究材料として分子生物学の黎明期から盛んに研究されてきた。多くの遺伝子変異株が分離されてきたが、その中には細胞形態に異常をきたすものが数多く知られていた。特に、桿菌から球菌へと変わる変異体は、表現型が特徴的なことから数多く分離され、その原因として複数の遺伝子の変異が見いだされている。ペプチドグリカンの合成酵素遺伝子群の変異もその一つであり、たとえば *pbp2* やその制御因子である *rodA* 遺伝子の変異では球形の細胞に変異する。一方、ペプチドグリカンの合成酵素以外の遺伝子で球形となる遺伝子として *mre* 遺伝子群が、和地らにより分離され報告された⁽²⁾。特に *mreB* 遺伝子は、アクチンタンパク質の配列と相同性をもつ ATPase ファミリーのタンパク質と予想されたが、これが細菌のアクチンであることは後に証明された。

大腸菌 *mreB* 遺伝子は、球菌には保存されていないものの球形以外の複雑な形をした原核細胞を中心に広く保存されている。枯草菌には3種類の *mreB* 相同遺伝子が見つかった。オックスフォード大の Errington らは、枯草菌の *mreB* と *mbl* 遺伝子を破壊してその機能を調べ⁽³⁾、いずれの遺伝子もその破壊によって細胞の増殖が低下することを見いだした。このような細胞を顕微鏡で観察すると細胞形態が変化していた。本来なら、長方形の桿菌であるはずの細胞が太短い形に、あるいは細胞が伸長しねじれたような形になっていた。大腸菌のように球形にはならないものの細胞形態に異常が生じていることは明らかだった。そして、驚くべきことは、これらのタンパク質が細胞内で重合し、らせん状に分布するという事実であった。蛍光タンパク質 GFP で標識したタンパク質が細胞を取り巻くようならせんとして観察されたのである。そこで、細胞骨格性タンパク質のごとく細胞表層を取り巻き、その変異により細胞形態が異常になることから、これらのタンパク質は細菌の細胞骨格タンパク質と考えられた。これはタンパク質の結晶構造からも証明され、原核生物にアクチン様の細胞骨格性タンパク質が存在することが明らかになった⁽⁴⁾。事実、細菌の MreB はアクチン特有の4つのドメインからなる球状タンパク質構造をもち、その中心部に ATP 結合部位が位置する。

枯草菌には *mreB* の相同遺伝子は3つあり、それらは

図1 ■ 桿菌のサイズを決める2つの軸

桿菌は細胞幅（短軸）と細胞長（長軸）の2つの軸で細胞形態が決まる。その一方がなくなれば、細胞は残った軸の長さで規定された球菌となるであろう。

細胞のサイズの長軸方向と短軸方向という異なった制御にそれぞれ機能が分かれているのかもしれない（図1）。また、それぞれの破壊株は細胞形態の異常という表現型を示すものの、培地中に Mg^{2+} を加えるだけで再び桿菌に復帰することから、これらの遺伝子産物の間で機能的な重複があり、その代償機能が Mg^{2+} を加えることで増強されているのであろう⁽⁵⁾。しかし、大腸菌には1種類の *mreB* 遺伝子しかなく、この1種類の MreB で細胞の長軸方向と短軸方向の制御を同時に行なっているのかどうか、この点ははっきりしていない。いずれにせよ、バクテリアの中でアクチン様の細胞骨格因子が細胞形態の制御に機能していることは、現在ではほぼ確かになっている。

バクテリアでは MreB 以外にもアクチン様タンパク質が見つかった。多剤耐性プラスミドである R 因子の分配遺伝子である *ParM* がそれである^(6,7)。ParM タンパク質は細胞内で重合してフィラメントをつくる。その両端に R プラスミド DNA が結合しており、ParM フィラメントの伸長とともに R プラスミドが娘細胞に分配されるという、真核細胞の分裂装置に驚くほどよく似た仕組みで DNA 分配を行なっている。このことから、バクテリアの染色体の分配は MreB によるものではないかと考えられ、これを示唆するような結果が *Caulobacter* で報告された⁽⁸⁾。しかし最近になって、この結果は、広く一般化できるものではないといわれている⁽⁹⁾。したがって、MreB がバクテリア染色体の分配に直接関与していることを支持する明確な根拠はない。MreB の機能として重要なのは、細胞の極性を決めることではないかと考えられる。細胞の極性は細胞の伸長方向を決め、また細胞形態だけでなく染色体分配の方向も決めることになるため、間接的にせよ染色体分配の過程でも重要であ

ることはいうまでもない。

新規形態形成の制御遺伝子 *rodZ* の発見

これまで形態形成の変異遺伝子は、細胞増殖に強く影響を及ぼす必須遺伝子として見いだされ分離されてきた。また、長年にわたって多くの変異体が分離されてきたので、形態形成に関わる重要な遺伝子は調べつくされたと思われていた。ところが、2008 年から 2009 年にかけて、必須遺伝子ではないもののバクテリアの形態形成に関与する新規遺伝子 *rodZ* の発見が次々と 3 つの研究グループから独立に報告された⁽¹⁰⁻¹²⁾。

細胞形態形成に関係する *mreB* 遺伝子が欠損すると生育の障害が起こるが、この生育障害は細胞分裂の最重要因子であるバクテリアチュープリン FtsZ の発現を上げることによって抑制される。Pite de Boer らは、*mreB* 遺伝子以外にも FtsZ の発現上昇によって生育が改善されるような変異があるのではないかと考え、大腸菌変異株スクリーニングを行なった結果、*rodZ* 遺伝子を見いだした⁽¹¹⁾。一方、Jacobs-Wagner らは *Caulobacter crescentus* の細胞形態異常を示す変異株を調べ、その原因遺伝子に相同の遺伝子が大腸菌にも保存されていて細胞形態の異常をひき起こすことに気づいた⁽¹²⁾。これが *rodZ* 遺伝子であった。そして、筆者らのグループは、大腸菌の遺伝子破壊変異株のコレクションから、桿菌が球状になるという形態異常の変異株を見いだし *rodZ* 遺伝子を見つけ出したのである⁽¹⁰⁾（図2）。

KEIO コレクションは、奈良先端科学技術大学院大学の森グループにより作製された大腸菌遺伝子の網羅的な遺伝子破壊株のライブラリーである⁽¹³⁾。大腸菌ゲノムから予想される遺伝子のうち、破壊可能なものをほぼすべて系統的に薬剤耐性遺伝子と置き換え、破壊したのである。3,909 株から成る KEIO コレクションは、スクリーニングなどさまざまな用途に使われている。ナショナルバイオリソースプロジェクト (NBRP) 原核生物遺伝資源事業（国立遺伝学研究所）では、KEIO コレクションの保存と分譲を行っており、これまでにすでに 104 セットの KEIO コレクションを国内外に送り出している。筆者らのグループでは、KEIO コレクション 3,909 株すべての細胞形態の観察を顕微鏡下で行なった。そして、唯一、球形の形態変異を示す *rodZ* 遺伝変異株を見いだしたのである。いずれのグループの報告でも、遺伝子欠損では細胞形態の異常が認められ、桿菌から球形になる新規の形態形成の関連因子と結論した。

図2 ■大腸菌 *rodZ* 変異株の細胞形態
対数増殖期の細胞を位相差顕微鏡で観察。桿菌の野生株（左）が、*rodZ* 遺伝子破壊株では球あるいは楕円に形態を変える（右）。スケールバーは 1 μ m

図3 ■球菌の細胞分裂の様式

(A) の様式で球状の単位細胞が全体的に体積を増し、2 倍になったところで二分裂する。(B) の様式では、一方に細胞が伸長し、楕円形の細胞になった後に二分裂する。

形態形成での *rodZ* の機能

では、*rodZ* 遺伝子はどのような機能を経て細胞の形態形成に関与しているのでしょうか。筆者らは、*rodZ* 変異株の球形の細胞が、これまでに知られていた *mreB* や *rodA* の球形の変異細胞とはその大きさが異なっていることに気がついた。小さいのである。細胞の大きさを測定して確かめてみると、確かに同じ球形であってもその大きさには有意な差があった。桿菌の大きさは、細胞長といわれる長軸方向での制御と細胞幅という短軸方向の2つの因子で形態が決まると単純化できる（図1）。*rodZ* 遺伝子変異株では、長軸方向での制御ができない、すなわち、細胞の伸長が十分にできない変異と考えると、この細胞の大きさの違いを説明できるように思われた。そして、実験から *rodZ* 遺伝子変異株では長軸方向への伸長ができなくなっていることが確認できた。

まず、*rodZ* 遺伝子の発現をアラビノース誘導プロモーターの制御の下に置き、発現を抑制した後に桿菌から球状の菌へと変わる様子を調べた。その結果、細胞の幅は一定であったが、細胞長が短くなって、最後には球形になった。反対に、*rodZ* 遺伝子の発現を抑制した状態から発現を誘導した場合、球形の細胞の一端が突起として現われ、これを先端として伸び始める。先のやや細い伸長した細胞となり、これが二分裂して元の桿菌の形態に近づいていく。また、*rodZ* タンパク質を野生株の中

で過剰発現させると、細胞幅は変わらないが、細胞は通常より長くなる。つまり、細胞長の制御ができるのである。

これらの表現型から、*rodZ* 変異株の中では長軸方向への伸長が十分に起こっていないと考えられた。では、この細胞ではどのようにして細胞体積を増やし、二分裂しているのでしょうか。バクテリアの間には球菌も数多く知られている。その球菌も細胞分裂の様式で2つのタイプに分かれる⁽¹⁴⁾（図3）。一つは、細胞全体の体積が一樣に増加して球形のまま二分裂するもので、分裂後に分裂面が飛び出して全体が球形に戻る。*Staphylococcus* 菌類や黄色ブドウ球菌がこれにあたる。他方、球菌が横方向に伸長して楕円となり、二分裂するものがある。分裂の後には球菌へと形を戻す。*Streptococcus* 菌類がこれに相当する。*rodZ* 変異株は後者の分裂の仕方をしている。また、数回にわたり分裂を連続して観察すると、常に伸長方向と分裂の方向は一定である。これは、*rodZ* 変異の球状細胞の中で、細胞の極性が一定に保たれていることを意味している。

極からだけなる細胞か？

桿菌の細胞形態は、幾何学的に単純化し円柱（シリンダー）とその両端を塞ぐ半球（キャップ）からできているとモデル化される（図4）。シリンダー部分が伸長し、

図4 ■ 桿菌の細胞形態の幾何学的なモデル

桿菌は円柱のシリンダーの両端に、半球のキャップがついたものと単純化される。このシリンダー部分がなくなれば、キャップからなる球菌ができる。

中央部分で分裂する。そして分裂面が、外側に膨らんでキャップとなる。キャップの部分は、細胞分裂のなれの果てであるとしばしばいわれるが、桿菌にとって重要な部分である。この部分に局在するタンパク質も数多く知られている。その中にはバクテリアの走化性の受容体タンパク質 Tar がある。Tar を蛍光タンパク質 GFP で標識して大腸菌で発現させると、細胞の両極がきれいに蛍光で染まる⁽¹⁵⁾。

rodZ 変異の球状細胞は、桿菌が伸長しなくなった細胞であると考えられる。つまり、シリンダーの部分が極端に短いもしくはなくなっているのである。そうすると、この球状細胞はキャップからだけしかできていないということになる。実際に、GFP 標識した Tar タンパク質の細胞内分布を観察してみると、球状の細胞全体に一樣に蛍光が見られ、キャップからできていることと一致する（塩見、仁木、未発表）。他方、*mreB* 欠損による球状の細胞では、Tar タンパク質はパッチ状に細胞の表層全体に分布しており、まったく異なっている。これは、細胞の極が複数できたことによると考えられる。

RodZ も細胞骨格タンパク質

これまで、細胞の形態は細胞骨格タンパク質である *mreB* によって制御されると考えてきた。RodZ タンパク質は MreB とどのような機能的な関係をもっているのでしょうか？ RodZ タンパク質のアミノ酸配列から、膜貫通ドメインが1個所見つかかり、細胞分画すると膜タンパク質の画分から回収され、細胞膜に局在してい

図5 ■ RodZ タンパク質の機能のモデル

RodZ タンパク質は細胞膜に組み込まれて存在する。番号はアミノ酸残基を示す。1～111までの細胞質側はヘリクス-ターン-ヘリックス (HTH) の構造をもち、主に細胞内のらせん構造の形成に寄与する。ペリプラズムの領域は桿状の細胞形態に必須である。

た。その配向を調べると、N 末端部分が細胞質側に、C 末端側が細胞外、すなわちペリプラズム側に突き出ている（図5）。GFP 標識した RodZ を使って、細胞内でのタンパク質の分布を観察してみると、蛍光は細胞膜上に分布していた。さらに、高解像度で細胞内の分布を立体的に調べてみると、細胞表層をらせん状に取り巻いていることがわかった。この分布様式はバクテリアアクチンである MreB と類似していた。実際、2 色の蛍光タンパク質を使って観察した RodZ と MreB の細胞内分布はほぼ同じであった。

MreB のらせん構造の上に RodZ が集まってきていることが十分に考えられたので、RodZ のらせん構造に対する MreB の影響をみた。MreB の脱重合を起こす化合物 A22⁽¹⁶⁾ を添加後数時間すると、細胞に見られた MreB のらせん構造は消失し、MreB-GFP の蛍光は細胞全体に広がる。しかし、このような細胞内でも RodZ は依然としてらせん構造を保持していた。また、MreB の欠損株でも RodZ の繊維状の分布が細胞表層に観察できるが、細胞全体を取り巻くらせん構造とはならない。RodZ は MreB とは独立に重合体を形成できるが、桿菌でのきれいならせん状の分布には MreB が寄与しているのであろう。RodZ の機能ドメインを調べた結果によれば、細胞質側にある N 末端のドメインが RodZ のら

バクテリアアクチンは膜タンパク質である MreC、MreD によって細胞膜の内側に重合し、らせんを形成する。シリンダー部分、すなわち横方向への伸長の主要なペプチドグリカン合成酵素である PBP2 は RodA などの制御を受けながら機能する。細胞分裂を担うバクテリアチューブリンである FtsZ の膜への局在には ZipA が働いている。RodZ タンパク質は、これらの因子を制御し、横方向のペプチドグリカンの合成を調節している。

図 6 ■ RodZ タンパク質とその他の形態形成関係因子の機能的な相関

せん構造の維持に必要である。このドメイン内には DNA 結合モチーフとしてよく知られているヘリックス-ターン-ヘリックス (HTH) モチーフがある。HTH モチーフはタンパク質どうしの結合活性を示す例も知られているので、この領域で MreB と結合していることも考えられる。しかし不思議なことに、桿菌の細胞形態には必ずしもこの N 末端のドメインは必要なく、膜ドメインと C 末端のドメインのみでも形態を維持できる。

細胞壁合成と RodZ

C 末端のドメインはペプチドグリカン層の側にあるので、ペプチドグリカンの合成酵素群と相互作用していることが十分に考えられる。事実、C 末端のドメインのみを多量に発現させると細胞形態に異常がみられ、ペプチドグリカンの合成に影響を与える。rodZ 欠損細胞は、球形になりながらも増殖するのであるが、その速度が低下する。球形になったこの変異細胞内の代謝活性は劇的に変化しており、電子伝達系の遺伝子が欠損した変異細胞と同じような代謝活性のプロファイルを示す⁽¹⁷⁾。これは、シリンダー部分を欠損し球形になったため、細胞表面層にある各種のトランスポーターや電子伝達系のタンパク質の局在が著しく乱され、細胞内のさまざまな代謝活性に影響がでたと考えられる。細胞形態の代謝への影響は、増殖速度が低下している変異細胞から、再び増殖が野生型並みに回復したものを比較的に簡単に分離することができ、このとき同時に細胞の形態が桿菌または楕円

菌に回復していたことから示唆された (塩見, 仁木, 未発表)。

さて、ではどのような遺伝子の変異が、増殖速度を回復させ、rodZ 遺伝子が欠失しているにもかかわらず細胞形態を桿菌に戻すことができるのであろうか。これまでの遺伝学的手法であれば、変異遺伝子 1 つを決めるにもかなりの時間を要していた。近年の次世代シーケンサーといわれる大量 DNA 配列決定機器の発達で、大腸菌の全ゲノム 4.6 Mb であれば、全ゲノム配列を調べ変異部位を特定することが可能となっている。実際に、複数の抑制変異株についてその変異遺伝子を決めたところ、ペプチドグリカン合成酵素 PBP2、その制御因子 RodA、さらにバクテリアアクチン MreB の遺伝子に変異が見いだされた。また、さらに細胞分裂の際に FtsZ と相互作用する因子である zipA 遺伝子にも変異が見いだされた。現在、これらの遺伝子の抑制のメカニズムについてさらに研究を進めている。

rodZ 遺伝子が欠失しても新たな遺伝子変異によって桿状の細胞形態に復帰できることから、細胞形態を維持するためのペプチドグリカンの合成酵素やその調節因子があれば、rodZ 遺伝子がなくてもなんとか桿菌の形態を維持できるのである。RodZ はペプチドグリカンの合成酵素や調節因子の働きを制御することで、長軸方向への細胞伸長を調節しているものと考えている (図 6)。

おわりに

RodZ がその C 末端側でペプチドグリカンの合成酵素に作用していることがわかってきた。一方、細胞質内の N 末端側の機能はなんであろうか？ らせん状の構造をとるということにはどのような意味があるのであろうか。細胞の長さは栄養条件によって変わる。貧栄養条件下より富栄養条件下のほうが細胞は長くなる。また、定常期に入り細胞の増殖が停止すると、細胞長は短くなる。栄養条件などの要因により細胞内の状態が変わったとき、これを感知して細胞長を制御しているとしたら、N 末端側のドメインはそのための中心的な役割を担っているであろう。また、RodZ は古細菌にはなく、真正細菌には非常に広く保存されており、起源の古い遺伝子の一つであることがうかがい知れる⁽¹²⁾。桿菌の形成に重要なことはもちろんであるが、球菌である *Streptococcus*, *Staphylococcus* にも保存されており、細胞形態の維持のためのより広範囲な機能をもっていると思われる。これらの球菌での研究が進めば、RodZ の本来の機能がさらに鮮明になってくるであろう。

謝辞：本総説に執筆するにあたり、共同研究者の国立遺伝学研究所 博士研究員、塩見大輔博士に深く感謝します。

文献

- 1) R. A. Daniel & J. Errington : *Cell*, **113**, 767 (2003).
- 2) M. Wachi & M. Matsuhashi : *J. Bacteriol.*, **171**, 3123 (1989).
- 3) L. J. Jones, R. Carballido-Lopez & J. Errington : *Cell*, **104**, 913 (2001).
- 4) F. van den Ent, L. A. Amos & J. Lowe : *Nature*, **413**, 39 (2001).
- 5) M. Leaver & J. Errington : *Mol. Microbiol.*, **57**, 1196 (2005).
- 6) J. Moller-Jensen, R. B. Jensen, J. Lowe & K. Gerdes : *EMBO J.*, **21**, 3119 (2002).
- 7) F. van den Ent, J. Moller-Jensen, L. A. Amos, K. Gerdes & J. Lowe : *EMBO J.*, **21**, 6935 (2002).
- 8) Z. Gitai, N. A. Dye, A. Reisenauer, M. Wachi & L. Shapiro : *Cell*, **120**, 329 (2005).
- 9) E. Toro, S. H. Hong, H. H. McAdams & L. Shapiro : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 15435 (2008).
- 10) D. Shiomi, M. Sakai & H. Niki : *EMBO J.*, **27**, 3081 (2008).
- 11) F. O. Bendezu, C. A. Hale, T. G. Bernhardt & P. A. de Boer : *EMBO J.*, **28**, 193 (2009).
- 12) S. A. Alyahya, R. Alexander, T. Costa, A. O. Henriques, T. Emonet & C. Jacobs-Wagner : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 1239 (2009).
- 13) T. Baba, T. Ara, M. Hasegawa, Y. Takai, Y. Okumura, Baba, M. K. A. Datsenko, M. Tomita, B. L. Wanner & H. Mori : *Mol. Syst. Biol.*, **2**, 2006 0008 (2006).
- 14) A. Zapun, T. Vernet & M. G. Pinho : *FEMS Microbiol. Rev.*, **32**, 345 (2008).
- 15) D. Shiomi, M. Yoshimoto, M. Homma & I. Kawagishi : *Mol. Microbiol.*, **60**, 894 (2006).
- 16) N. Iwai, K. Nagai & M. Wachi : *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **66**, 2658 (2002).
- 17) M. Ito, T. Baba & H. Mori : *Metab. Eng.*, **7**, 318 (2005).