

総 説

歯周病関連細菌の糖蛋白質と糖鎖修飾に関わる酵素

村 上 幸 孝

Glycoproteins and Glycoenzymes in Periodontal Bacteria

MURAKAMI YUKITAKA

蛋白質の多くは、「第3の生命鎖」と呼ばれる糖鎖による翻訳後修飾を受けて、糖蛋白質として機能している。これまでの長い間、糖蛋白質の存在は真核生物のみに限られ、原核生物である細菌にはありえないと信じられてきた。ところが、ようやく近年になって、細菌においても糖蛋白質が発見されてきた。当初は *Campylobacter* 属や *Neisseria* 属で研究が始められ、そして *Bacteroides* 属やその他の属にも拡大しつつある。この総説では、口腔細菌における糖蛋白質研究の状況を、代表的な歯周病関連細菌である *Porphyromonas gingivalis* および *Tannerella forsythia* を中心にして紹介する。まず、*P. gingivalis* および *T. forsythia* において、これまでに報告された糖蛋白質を整理して示す。*P. gingivalis* では、主として C-terminal domain 配列をもつ蛋白質が、IX 型分泌機構によって、菌体の外側へと輸送され、その後に Anionic lipopolysaccharide の糖鎖で修飾される。*T. forsythia* でも同様に、C-terminal domain 配列をもつ蛋白質は、IX 型分泌機構によって、菌体の外側へと輸送される。しかし、その後は General O-glycosylation system によって糖鎖修飾される点が大きく異なる。次に、著者らが行ってきた歯周病関連細菌における新たな糖蛋白質の検索の試みについて示す。その結果として、OmpA 様蛋白質を含む数種類の新奇の糖蛋白質を見出すことができた。さらに、データベース等を利用した糖鎖修飾に関わる酵素の推定についても合わせて述べることにする。

キーワード：歯周病関連細菌，糖蛋白質，糖鎖修飾，糖鎖修飾酵素

Many proteins are glycosylated with glycans, tagged the "third life chains", during post-translational modification. It was long believed that glycoproteins were exclusively found in eukaryotes. In recent years, however, glycoproteins have been identified in bacteria such as Campylobacter and Neisseria, and studies on glycoproteins are gradually expanding to include Bacteroides and other genera. The focus of this review is the recent advances in glycoprotein studies in oral bacteria, especially representative periodontal pathogens, Porphyromonas gingivalis and Tannerella forsythia. First, the glycoproteins that have been characterized in P. gingivalis and T. forsythia are summarized. In P. gingivalis, proteins that possess a C-terminal domain are secreted out of bacteria via the type IX secretion system. The secreted proteins are mostly glycosylated by binding to anionic lipopolysaccharide. In contrast, in T. forsythia, proteins with a C-terminal domain are exported by the same type IX secretion system; however, exported proteins are glycosylated by their general O-glycosylation system. Next, the approaches for detection of novel glycoproteins in periodontal pathogens are presented, which helped identify several glycoproteins, including OmpA-like proteins. Lastly, using bioinformatic analysis, the glycoenzymes related to glycosylation of OmpA-like proteins are proposed.

Key words : periodontal bacteria, glycoprotein, glycosylation, glycoenzyme

1. はじめに

セントラルドグマに従い、DNA の情報は mRNA に転写され、その後、蛋白質は翻訳されて作られる。蛋白質の多くは翻訳後修飾を受けて、実際に生体内で機能する。翻訳後修飾には、糖鎖修飾、リン酸化修飾など様々なものがある。その中で糖鎖修飾は蛋白質の約半数にみられると言われる¹⁾。

糖鎖は核酸、蛋白質と並んで、「第3の生命鎖」とも呼ばれている²⁾。糖鎖修飾をもつ蛋白質が糖蛋白質である。これまで長い間、糖蛋白質はヒトなどを含む真核生物にのみ存在するものと考えられてきた。ところが近年になってようやく、原核生物である細菌においても、糖蛋白質の存在が認められるようになった^{3,4)}。

蛋白質の糖鎖修飾には大きく2つの形式がある、N型糖鎖修飾(N-glycosylation)とO型糖鎖修飾(O-glycosylation)である。前者はアミノ酸のアスパラギン残基(Asp)に糖鎖が結合するものであり、後者はアミノ酸のセリン残基(Ser)またはスレオニン残基(Thr)に糖鎖が結合するものである⁴⁾。

この総説においては、細菌での糖蛋白質について概観し、その後、歯周病関連細菌で見つけられた糖蛋白質および糖鎖修飾に関係する酵素について述べることにする。

2. 細菌における糖蛋白質の発見と認識

細菌においては、糖鎖を含む物質として、リポ多糖(Lipopolysaccharide: LPS)や莢膜多糖がよく知られている。ところが、糖鎖修飾された蛋白質、すなわち糖蛋白質は存在しないものと信じられてきた。

ようやく約20年前になって、食中毒やギラン・バレー症候群を引き起こす *Campylobacter jejuni* において、細菌における糖蛋白質が本格的に記述されはじめた⁵⁾。この細菌では、1つの蛋白質に限らず様々な蛋白質でN型糖鎖修飾が生じる General N-glycosylation system の機構が詳しく調べられてきた^{3, 6-8)}。そして、様々な蛋白質でO型糖鎖修飾が生じる General O-glycosylation system も *Neisseria* で見つかった^{9, 10)}。

次いで、腸内細菌の *Bacteroides fragilis* でも General O-glycosylation system が存在することが報告された^{11, 12)}。この細菌では、糖鎖修飾が生じるアミノ酸のモチーフとして、アミノ酸を1文字表記で表した場合 D (S/T) (A/I/L/M/T/V) であると提唱されている。その後、このモチーフは *Bacteroides fragilis* だけでなく *Bacteroides* 属全般にも適用できることが分かってきた¹³⁾。その他に General O-glycosylation system をもつ細菌として、*Burkholderia cepacia*, *Acinetobacter baumannii*, *Lactobacillus* などが知られ

るようになった¹⁴⁻¹⁶⁾。また、病原細菌の *Neisseria* の線毛ではO型糖鎖修飾が起こることがよく知られているが¹⁷⁾、最近では様々な細菌の線毛や鞭毛でもO型糖鎖修飾が発見されている¹⁸⁻²⁰⁾。

このように次第に細菌での糖鎖修飾の記述が増えてきている。全体的に見ると、細菌においてはN型糖鎖修飾よりもO型糖鎖修飾の記述が多く見つかるようである^{21, 22)}。

3. 口腔細菌での糖蛋白質

細菌において糖蛋白質が認知されるようになり、それから口腔細菌においても、口腔レンサ球菌 *Streptococcus parasanguinis* では、付着因子である FapI 蛋白質の糖鎖修飾機構が詳しく調べられてきた²³⁾。口腔細菌のうち、歯周病関連細菌に関する糖蛋白質に注目して、これらを表1²⁴⁻⁴⁰⁾にまとめてみた。*Porphyromonas gingivalis* では、トリプシン様酵素であるジンジパイン(Gingipains)²⁴⁻²⁶⁾、ヘミン結合蛋白質の HBP35^{27, 28)}、外膜蛋白質 OMP85²⁹⁾ および線毛を構成する蛋白質 Mfal³⁰⁾ が早い段階で糖蛋白質であるとして報告された。

ジンジパインは *P. gingivalis* の主な病原因子として有名な蛋白質分解酵素である。ジンジパインのうち、Arg-gingipain の RgpA と RgpB、が糖蛋白質であることについては、イギリスの Curtis らのグループが最初に示している^{24, 25)}。ジンジパインの Lys-gingipain (Kgp) でも糖鎖修飾されていることが示されている²⁶⁾。ジンジパインの糖鎖修飾は Anionic lipopolysaccharide (A-LPS) と呼ばれる LPS の糖鎖によることが明らかにされている^{41, 42)}。この糖鎖は通常の LPS の糖鎖とは異なるものである。ジンジパインの C 末端側には C-terminal domain (CTD) という配列がある⁴³⁾。この CTD 配列をもつジンジパインは、IX型分泌機構によって菌体内から外膜を通して輸送され、菌体の外側で A-LPS と結合して糖鎖修飾される⁴⁴⁻⁴⁶⁾。その後、ジンジパイン以外でも同様の機構で CTD 配列をもつ Hemin-binding protein HBP35^{27, 28)}、TprA-associated protein TapA³¹⁾、Metalloprotease CPG70^{28, 32)}、Peptidylarginine deiminase PAD^{28, 33, 34)} および Lys-specific serine endopeptidase PepK³⁵⁾ などの蛋白質は糖鎖修飾されることが分かってきた。しかしながら、これらの CTD 配列をもつ蛋白質の糖鎖修飾は、他菌でみられる通常の N 型糖鎖修飾および O 型糖鎖修飾とは全く異なった機構で進行することに注意が必要である。

P. gingivalis のみならず、歯周病関連細菌の

表 1. 歯周病関連細菌において、実験的に確かめられている糖鎖修飾蛋白質

蛋白質名	Locus tag ^a	参考文献	注 ^b
<i>Porphyromonas gingivalis</i>			
Gingipain RgpA	PGN_1970	24, 25	CTD
Gingipain RgpB	PGN_1466	24, 25	CTD
Gingipain Kgp	PGN_1728	26	CTD
35 kDa Hemin-binding protein HBP35	PGN_0659	27, 28	CTD
OMP85 homolog	PGN_0299	29	
67 kDa Minor fimbria Mfa1	PGN_0287	30	
TprA-associated protein TapA	PGN_0152	31	CTD
Metallocoxy-peptidase CPG70	PGN_0335	28, 32	CTD
Peptidylarginine deiminase PAD	PGN_0898	28, 33, 34	CTD
Lys-specific serine endopeptidase PepK	PGN_1416	35	CTD
Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase FkpA	PGN_0743	36	
TPR domain protein	PGN_0876	36	
Conserved hypothetical protein	PGN_1513	36	
OmpA-like protein	PGN_0729	36, 37	
<i>Tannerella forsythia</i>			
S-layer protein TfsA	Tanf_03370	38, 39	CTD
S-layer protein TfsB	Tanf_03375	38, 39	CTD
Surface antigen BspA	Tanf_04820	39	CTD
OmpA-like protein	Tanf_10935	40	

^a Locus tag として, *Porphyromonas gingivalis* では ATCC 33277 株の PGN_番号を, *Tannerella forsythia* では ATCC 43037 株の Tanf_番号を示す.

^b CTD は C-terminal domain 配列をもつ蛋白質を示す.

Tannerella forsythia や近縁の *Bacteroidetes* 門の細菌においても、CTD 配列をもつ蛋白質はIX型分泌機構によって菌体外に分泌され、糖鎖修飾を受けることが分かってきた^{26, 46-48)}。ただし、腸内細菌の *Bacteroides* 属は *Bacteroidetes* 門に属しているが、IX型分泌機構をもたない。

T. forsythia の S-layer 蛋白質は CTD 配列をもっているため、外膜の外側に輸送される。ところが、A-LPS による糖鎖修飾ではなく、この細菌がもつ General O-glycosylation system によって糖鎖修飾が生じることが明らかになっている^{38, 49-51)}。また、*T. forsythia* の BspA も CTD 配列をもち、糖鎖修飾されている^{39, 52)}。ただし、General O-glycosylation system による糖鎖修飾であるかどうかの検討は行われていない。今のところ、CTD 配列をもつ蛋白質であれば、A-LPS による糖鎖修飾が多くての蛋白質でみられるが、すべての蛋白質にみられるわけではないと考えられる。

4. 歯周病関連細菌での新たな糖蛋白質の検索

著者らは、*P. gingivalis* における糖蛋白質を網羅的に検索するために、二次元電気泳動法によって展開した菌体蛋白質を糖蛋白質染色で検出し、質量分析による同定を組み合わせたプロテオーム解析を行った³⁶⁾。その結果として、新奇の糖蛋白質を見つけることができた。それらを標準株の *P. gingivalis* ATCC 33277 株の Locus tag で表示すると、PGN_0743, PGN_0876, PGN_1513 および PGN_0729 という蛋白質である (表 1)。これらの蛋白質は CTD 配列をもっていない。

PGN_0743 は Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase FkpA であり、PGN_0876 と PGN_1513 は蛋白質の相互作用に関わる Tetratricopeptide repeat (TPR) domain を含んでいる。なお、PGN_0876 は Kondo ら³¹⁾ が PG1385 (TprA) protein と記載しているものと同じである。

PGN_0729 は OmpA 様蛋白質と呼んでいるものである^{53, 54)}。これは大腸菌 *Escherichia coli* の外膜に存在する OmpA と相同性をもつ蛋白質である⁵⁵⁻⁵⁷⁾。OmpA 蛋白質あるいは OmpA 様蛋白質は、グラム陰性菌では広く分布しており、細菌種によって相同性の程度は異なるが、全般に C 末端側が類似している。

著者らは、プロテオーム解析以外で糖蛋白質を見つける試みとして、レクチンによる分離を行った³⁷⁾。小麦胚芽レクチン (Wheat germ agglutinin: WGA) を用いたカラムアフィニティークロマトグラフィーを行うと、*P. gingivalis* の OmpA 様蛋白質がほぼ均一

な状態で得ることができた。*P. gingivalis* 以外に *T. forsythia* に応用しても、OmpA 様蛋白質が同様にほぼ均一に分離できた⁴⁰⁾ (表 1)。

WGA は N-アセチルグルコサミン (GlcNAc) やシアル酸に親和性をもつ。このことから *P. gingivalis* と *T. forsythia* の OmpA 様蛋白質は GlcNAc やシアル酸を含んだ糖鎖により修飾されているものと考えられる。実験的な結果から、これらの糖鎖の結合様式は O 型糖鎖修飾であると推定している^{37, 40)}。

他菌で OmpA 様蛋白質が糖蛋白質として報告されているものは数少ない。*Flavobacterium psychrophilum* での例がみられる程度である⁵⁸⁾。その他の近縁の *Bacteroides* 属においては OmpA 様蛋白質が糖蛋白質であるとする報告はみられていない。

5. *P. gingivalis* および *T. forsythia* の OmpA 様蛋白質の糖鎖修飾に関わる酵素の推定

一般に糖鎖修飾においては、糖転移酵素が関わる。すでに、*P. gingivalis* や *T. forsythia* では、多数の糖転移酵素が論文で発表されている⁵⁹⁻⁶⁷⁾。その内訳をみると、*P. gingivalis* では通常の LPS や A-LPS、*T. forsythia* では S-layer の糖鎖に関与するものが多いようである。

P. gingivalis においては、特に A-LPS の合成に関わる Glycosyltransferase が集中的に調べられてきた⁵⁹⁾。前述のように、A-LPS は IX 型分泌装置で細菌表面に分泌される蛋白質の糖鎖修飾に関与している。ところが、通常の N-glycosylation や O-glycosylation に関する糖鎖修飾関連酵素はほとんど解明されていない。

T. forsythia においては、General O-glycosylation system に関する Glycosyltransferase が明らかにされてきた^{66, 67)}。この機構は S-layer 蛋白質の糖鎖修飾に関与しているものの、そのほかの蛋白質の糖鎖修飾への関与はよく分かっていない。

著者らが見出した歯周病関連細菌の OmpA 様蛋白質は糖鎖修飾を受け、その糖鎖には GlcNAc やシアル酸が含まれている^{37, 40)}。GlcNAc については、モノクローナル抗体を用いた結果から、単糖の O 型 GlcNAc (O-GlcNAc) 修飾が推測される。シアル酸については、通常ではシアル酸単独による修飾は行われず、糖鎖の末端にシアル酸が位置していることがほとんどである。

一般的に、O-GlcNAc 修飾では O-GlcNAc 転移酵素 (O-GlcNAc transferase: OGT) が関与し^{68, 69)}、シアル酸の修飾ではシアル酸転移酵素 (Sialyltransferase: ST) が関与する⁷⁰⁾。よって、OmpA 様蛋白質の糖鎖修飾においても、O-GlcNAc 修飾では OGT が関与し、

シアル酸修飾にはSTが関与すると考えるのが自然である。残念ながら、*P. gingivalis*や*T. forsythia*に関しては、いまだ論文においてOGTやSTの報告はない。

そこで、*P. gingivalis*および*T. forsythia*におけるOGTとSTを推定するために、3つの方法を試みた。まず、1) 糖鎖修飾に関連する酵素がまとめられているThe Carbohydrate-Active enZymes Database (CAZy, <http://www.cazy.org>)⁷¹⁾に*P. gingivalis*や*T. forsythia*でのOGTやSTの登録があるかどうかを調べた。次に2) The National Center for Biotechnology Information (NCBI, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>)のサイトでProteinデータベースに*P. gingivalis*や*T. forsythia*でのOGTやSTの登録があるかどうかを調べた。そして、3) すでに他の細菌で論文公表されているOGTやSTを手掛かりとして、NCBIが提供しているBasic Local Alignment Search Tool (BLAST) 検索⁷²⁾で、相同性のある酵素を探す試みを行った。この目的のために、論文で発表されているOGTやSTを表2にまとめた⁷³⁻¹⁰²⁾。なお、BLAST検索にあたり、相同性の基準はe-valueが 10^{-4} よりも小さいものとした。

CAZyではOGTはGT41として分類される^{68, 69)}。ここでの*P. gingivalis*や*T. forsythia*の登録はみられなかった。NCBIのProteinデータベースでOGTを調べると、*P. gingivalis*では3つの菌株から、いずれもTPR proteinという名称の蛋白質が見つかったが、*T. forsythia*では見つからなかった(2019年2月の検索による)。*P. gingivalis*で見つかったものを基にして、標準株である*P. gingivalis* ATCC 33277株でどのような蛋白質に相当するかを調べてみると、PGN_1340が候補となった。*T. forsythia*においては、*P. gingivalis*で見つかったTPR proteinを基に、相同性の高い蛋白質を標準株である*T. forsythia* ATCC 43037株で調べてみた。その結果として、Tanf_10270が推定された(表3)。ところが、論文で報告されているOGT⁷³⁻⁷⁶⁾(表2参照)を基に検索した場合には、*P. gingivalis*と*T. forsythia*のどちらにおいても相同性の高い蛋白質は見つけることができない結果となった。

一方、*P. gingivalis*や*T. forsythia*のSTは、NCBIのデータベースで検索しても登録されているものが見つからない。CAZyでは細菌のSTはGT29, GT38, GT42, GT52またはGT80として分類される¹⁰³⁾。いずれの分類区分を調べてみても、*P. gingivalis*や*T. forsythia*に関係するものは登録がみられなかった。また、すでに論文で報告されている細菌のST⁷⁷⁻¹⁰²⁾(表

2参照)を基にして相同性検索を行ってみたが、類似した蛋白質は見つからなかった。表2で示したSTには、LipopolysaccharideやLipooligosaccharideのシアル酸修飾に関与するものが多いからかもしれない。*P. gingivalis*や*T. forsythia*の蛋白質にシアル酸修飾がみられるにも関わらず、これらの細菌にはシアル酸を付加する酵素は存在しないのであろうか。

シアル酸修飾では、シアル酸を付加するシアル酸転移酵素(ST)とシアル酸を脱離させるシアリダーゼ(Sialidase)の関与がある⁷⁰⁾。シアリダーゼは*P. gingivalis*や*T. forsythia*にもそれぞれ存在し、その性質もよく調べられている¹⁰⁴⁻¹⁰⁹⁾。もしかすると、*P. gingivalis*や*T. forsythia*のシアリダーゼにシアル酸を転移させる活性があるのではと考えた。NCBIのBLASTを用いた相同性検索により、*P. gingivalis*や*T. forsythia*のシアリダーゼがどのような酵素と類似しているかを調べてみた。すると意外なことに、原虫の*Trypanosoma cruzi*のTrans-sialidaseとの相同性が高いことが分かった¹¹⁰⁻¹¹²⁾。参考までに*P. gingivalis* ATCC 33277株のシアリダーゼPGN_1608とのe-valueは 5×10^{-8} であり、*T. forsythia* ATCC 43037株のシアリダーゼTanf_13700とのe-valueは 1×10^{-14} であった。

*Trypanosoma cruzi*のTrans-sialidaseは、シアル酸をもつ糖鎖からシアル酸を奪い、細胞表面の分子をシアル酸修飾する¹¹⁰⁻¹¹²⁾。おそらく、*P. gingivalis*や*T. forsythia*のシアリダーゼでも、宿主の糖蛋白質や他菌の糖蛋白質からシアル酸を奪い、自らのOmpA様蛋白質を修飾しているものと類推している。Jugeら¹¹³⁾によると、シアリダーゼには3つのクラスが考えられるという。1つ目はシアル酸を含む基質からシアル酸を遊離させるHydrolytic sialidase、2つ目は切断したシアル酸を他の糖鎖へ転移させるTrans-sialidase、3つ目は通常のシアル酸(N-acetylneuraminic acid)のかわりに2,7-anhydro-N-acetylneuraminic acidを遊離させるIntramolecular sialidaseがあるとしている。*P. gingivalis*や*T. forsythia*のシアリダーゼにTrans-sialidaseの機能があったとしてもおかしくはない。そこで、Trans-sialidaseの候補として*P. gingivalis* ATCC 33277株のシアリダーゼPGN_1608と*T. forsythia* ATCC 43037株のシアリダーゼTanf_13700を考えている(表3)。

*T. forsythia*では、General O-glycosylation systemにおいて、広義のシアル酸転移酵素が存在する^{66, 67)}。通常、シアル酸と言えば前述のように、N-acetylneuraminic acidのことを指すが、ここでのシアル酸はPseudaminic acidやLegionaminic acidなどを示している。今までの

表2. これまでに論文公表されている細菌の糖転移酵素^a

酵素名	細菌名	参考文献
O-GlcNAc transferase		
O-GlcNAc transferase GmaR	<i>Listeria monocytogenes</i>	73
OgtA	<i>Nostoc punctiforme</i>	74
Eukaryote-like O-GlcNAc transferase	<i>Synechococcus elongates</i>	75
O-GlcNAc transferase	<i>Thermobaculum terrenum</i>	76
Sialyltransferase		
Sialyltransferase CstII	<i>Campylobacter jejuni</i>	77, 78
Sialyltransferase CstII, CstIII	<i>Campylobacter jejuni</i>	79
α 2,3-Sialyltransferase WbwA	<i>Escherichia coli</i>	80
α 2,3-Sialyltransferase Hd0053	<i>Haemophilus ducreyi</i>	81
Lipooligosaccharide sialyltransferase	<i>Haemophilus influenzae</i>	82
Sialyltransferase LsgB	<i>Haemophilus parasuis</i>	83, 84
α 2,3- and α 2,6-Sialyltransferases	<i>Helicobacter acinonychis</i>	85
Lipopolysaccharide α 2,3-sialyltransferase	<i>Helicobacter bizzozeronii</i>	86
α 2,3-Sialyltransferase	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	87, 88
Lipooligosaccharide α 2,3-sialyltransferase	<i>Neisseria gonorrhoeae,</i> <i>Neisseria meningitidis</i>	89
Lipooligosaccharide sialyltransferase	<i>Neisseria meningitidis</i>	90
Sialyl-/hexosyltransferase	<i>Neisseria meningitidis</i>	91
α 2,3-Sialyltransferase	<i>Pasteurella dagmatis</i>	92
α 2,3-Sialyltransferase PmST1	<i>Pasteurella multocida</i>	93
Glycolipid α 2,3-sialyltransferase PmST2	<i>Pasteurella multocida</i>	94
α 2,3-Sialyltransferase PmST3	<i>Pasteurella multocida</i>	95
Sialyltransferase	<i>Pasteurella multocida</i>	96
α 2,6-Sialyltransferase Pd2,6ST	<i>Photobacterium damsela</i>	97
α 2,6-Sialyltransferase	<i>Photobacterium leiognathi</i>	98
β -Galactoside α 2,6-sialyltransferase	<i>Photobacterium leiognathi</i>	99
α/β -Galactoside α 2,3-sialyltransferase	<i>Photobacterium phosphoreum</i>	100
α 2,3-Sialyltransferase	<i>Photobacterium phosphoreum</i>	101
Capsular sialyltransferase	<i>Streptococcus suis,</i> Group B Streptococci	102

^a糖転移酵素として、O-GlcNAc transferase および Sialyltransferase を示す。

表 3. 歯周病関連細菌の OmpA 様蛋白質の糖鎖修飾に関わる酵素として推定される蛋白質

酵素	推定される蛋白質の Locus tag ^a
O-GlcNAc transferase	
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	PGN_1340
<i>Tannerella forsythia</i>	Tanf_10270
Trans-sialidase	
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	PGN_1608
<i>Tannerella forsythia</i>	Tanf_13700

^a Locus tag として, *Porphyromonas gingivalis* では ATCC 33277 株の PGN_番号を, *Tannerella forsythia* では ATCC 43037 株の Tanf_番号を示す.

ところ, General O-glycosylation system による OmpA 様蛋白質の糖鎖修飾は報告されていない. また, この *T. forsythia* のシアル酸転移酵素に類似した酵素は *P. gingivalis* には存在していない.

以上のことから, *P. gingivalis* および *T. forsythia* の OmpA 様蛋白質では, シアル酸の遊離と付加のどちらも 1 つのシアリダーゼで行っている可能性があると考えているが, 今後の検討が必要である.

6. おわりに

この総説では, 糖鎖修飾された蛋白質, すなわち糖蛋白質について概説し, その中で代表的な歯周病関連細菌 *P. gingivalis* および *T. forsythia* の糖蛋白質と, それらの糖鎖修飾に関連する酵素の一端を示した.

糖鎖修飾の生物学的な働きとして, 細胞表層における分子認識の標的として細胞間コミュニケーションや感染を媒介していることが以前から知られている¹¹⁴⁾. O-GlcNAc 修飾についてみると, 真核生物において近年急速に研究の進展がみられる. O-GlcNAc 修飾は, ほとんどの基本的な細胞の機能を制御し, 代謝やストレスのセンサーとしての役割をもつため, 加齢による慢性疾患の糖尿病, 癌, 神経変性疾患の原因と考えられている^{115, 116)}. 細菌において O-GlcNAc 修飾が知られているものは数少ないが, 全般的には病原性に関与しているといえる⁷³⁻⁷⁶⁾. 一方, シアル酸修飾は口腔細

菌でも調べられており, 免疫反応の修飾や細菌の病原性に関連しているとの報告がある^{66, 117)}.

糖鎖が感染に及ぼす影響と宿主の防御に及ぼす影響は, どちらもさらに解明されるべき課題である. 宿主に対する影響を調べる試みとして, 著者らは宿主のレクチンであるセレクチンやシグレックに注目して検討を行っている⁴⁰⁾. また, 細菌がもつ糖鎖修飾を標的として, 病原性を減弱させることもできると考え, 酵素阻害剤による影響を調べるとともに, 糖鎖修飾関連酵素の遺伝子操作により, 病原性がどのように変化するかを調べることも必要である.

「第 3 の生命鎖」である糖鎖には, 未知の働きがあると想定している. 歯周病関連細菌の糖鎖研究のさらなる発展により, 歯周病の発症および進展の機構の解明への一助となることを確信している.

謝 辞

この研究は JSPS 科研費 16K11464 の助成を受けたものである.

利益相反

開示すべき利益相反はない.

文 献

- 1) Schäffer C and Messner P. Emerging facets of prokaryotic glycosylation. *FEMS Microbiol Rev.* 2017; 41: 49-91.
- 2) 門松健治, 遠藤玉夫, 岡 昌吾, 北川裕之. 【第三の生命鎖 糖鎖の機能と疾患 がん、糖尿病、筋ジストロフィー発症との関わりからマーカー・合成法の開発、技術革新まで】 概論 糖鎖がもたらす生命科学の可能性. *実験医学.* 2013; 31: 1480-1487.
- 3) Nothaft H and Szymanski CM. Protein glycosylation in bacteria: sweeter than ever. *Nat Rev Microbiol.* 2010; 8: 765-778.
- 4) Eichler J and Koomey M. Sweet new roles for protein glycosylation in prokaryotes. *Trends Microbiol.* 2017; 25: 662-672.
- 5) Szymanski CM, Yao R, Ewing CP, Trust TJ and Guerry P. Evidence for a system of general protein glycosylation in *Campylobacter jejuni*. *Mol Microbiol.* 1999; 32: 1022-1030.
- 6) Valguarnera E, Kinsella RL, Feldman MF. Sugar and spice make bacteria not nice: protein glycosylation and its influence in pathogenesis. *J Mol Biol.* 2016; 428: 3206-3220.
- 7) Nothaft H and Szymanski CM. Bacterial protein N-glycosylation: new perspectives and applications. *J Biol Chem.* 2013; 288: 6912-6920.
- 8) Langdon RH, Cuccui J and Wren BW. N-linked glycosylation in bacteria: an unexpected application. *Future Microbiol.* 2009; 4: 401-412.
- 9) Vik Å, Aas FE, Anonsen JH, Bilsborough S, Schneider A, Egge-Jacobsen W and Koomey M. Broad spectrum O-linked protein glycosylation in the human pathogen *Neisseria gonorrhoeae*. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009; 106: 4447-4452.
- 10) Ku SC, Schlz BL, Power PM and Jennings MP. The pillin O-glycosylation pathway of pathogenic *Neisseria* is a general system that glycosylates AniA, an outer membrane nitrite reductase. *Biochem Biophys Res Commun.* 2009; 378: 84-89.
- 11) Fletcher CM, Coyne MJ, Villa OF, Chatzidaki-Livanis M and Comstock LE. A general O-glycosylation system important to the physiology of a major human intestinal symbiont. *Cell.* 2009; 137: 321-331.
- 12) Fletcher CM, Coyne MJ, Comstock LE. Theoretical and experimental characterization of the scope of protein O-glycosylation in *Bacteroides fragilis*. *J Biol Chem.* 2011; 286: 3219-3226.
- 13) Coyne MJ, Fletcher CM, Chatzidaki-Livanis M, Posch G, Schaffer C and Comstock LE. Phylum-wide general protein O-glycosylation system of the Bacteroidetes. *Mol Microbiol.* 2013; 88: 772-783.
- 14) Lithgow KV, Scott NE, Iwashkiw JA, Thomson EL, Foster LJ, Feldman MF and Dennis JJ. A general protein O-glycosylation system within the *Burkholderia cepacia* complex is involved in motility and virulence. *Mol Microbiol.* 2014; 92: 116-137.
- 15) Iwashkiw JA, Seper A, Weber BS, Scott NE, Vinogradov E, Stratilo C, Reiz B, Cordwell SJ, Whittal R, Schild S and Feldman MF. Identification of a general O-linked protein glycosylation system in *Acinetobacter baumannii* and its role in virulence and biofilm formation. *PLoS Pathog.* 2012; 8: e1002758.
- 16) Latousakis D and Juge N. How sweet are our gut beneficial bacteria? A focus on protein glycosylation in *Lactobacillus*. *Int J Mol Sci.* 2018; 19: 136.
- 17) Mubaiwa TD, Semchenko EA, Hartley-Tassell LE, Day CJ, Jennings MP and Seib KL. The sweet side of the pathogenic *Neisseria*: the role of glycan interactions in colonization and disease. *Pathog Dis.* 2017; 75: ftx063.
- 18) Iwashkiw JA, Vozza NF, Kinsella RL and Feldman MF. Pour some sugar on it: the expanding world of bacterial protein O-linked glycosylation. *Mol Microbiol.* 2013; 89: 14-28.
- 19) Merino S and Tomás JM. Gram-negative flagella glycosylation. *Int J Mol Sci.* 2014; 15: 2840-2857.
- 20) Harding CM, Nasr MA, Kinsella RL, Scott NE, Foster LJ, Weber BS, Fiester SE, Actis LA, Tracy EN, Munson RS Jr and Feldman MF. *Acinetobacter* strains carry two functional oligosaccharyltransferases, one devoted exclusively to type IV pilin, and the other one dedicated to O-glycosylation of multiple proteins. *Mol Microbiol.* 2015; 96: 1023-1041.
- 21) Tytgat HL and Lebeer S. The sweet tooth of bacteria: common themes in bacterial glycoconjugates. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2014; 78: 372-417.
- 22) Lu Q, Li S and Shao F. Sweet talk: protein glycosylation in bacterial interaction with the host. *Trends Microbiol.* 2015; 23: 630-641.
- 23) Zhu F, Zhang H and Wu H. Glycosyltransferase-mediated sweet modification in oral streptococci. *J Dent Res.* 2015; 94: 659-665.
- 24) Curtis MA, Thickett A, Slaney JM, Rangarajan M, Aduse-Opoku J, Shepherd P, Paramonov N and Hounsell EF. Variable carbohydrate modifications to the catalytic chains of the RgpA and RgpB proteases of *Porphyromonas gingivalis* W50. *Infect Immun.* 1999; 67: 3816-3823.
- 25) Gallagher A, Aduse-Opoku J, Rangarajan M, Slaney JM and Curtis MA. Glycosylation of the Arg-gingipains of *Porphyromonas gingivalis* and comparison with glycoconjugate structure and synthesis in other bacteria. *Curr Protein Pept Sci.*

- 2003; 4: 427-441.
- 26) Veith PD, Nor Muhammad NA, Dashper SG, Likić VA, Gorasia DG, Chen D, Byrne SJ, Catmull DV and Reynolds EC. Protein substrates of a novel secretion system are numerous in the Bacteroidetes phylum and have in common a cleavable C-terminal secretion signal, extensive post-translational modification, and cell-surface attachment. *J Proteome Res.* 2013; 12: 4449-4461.
 - 27) Shoji M, Shibata Y, Shiroza T, Yukitake H, Peng B, Chen YY, Sato K, Naito M, Abiko Y, Reynolds EC and Nakayama K. Characterization of hemin-binding protein 35 (HBP35) in *Porphyromonas gingivalis*: its cellular distribution, thioredoxin activity and role in heme utilization. *BMC Microbiology.* 2010; 10: 152.
 - 28) Shoji M, Sato K, Yukitake H, Kondo Y, Narita Y, Kadowaki T, Naito M and Nakayama K. Por secretion system-dependent secretion and glycosylation of *Porphyromonas gingivalis* hemin-binding protein 35. *PLoS ONE.* 2011; 6: e21372.
 - 29) Nakao R, Tashiro Y, Nomura N, Kosono S, Ochiai K, Yonezawa H, Watanabe H and Senpuku H. Glycosylation of the OMP85 homolog of *Porphyromonas gingivalis* and its involvement in biofilm formation. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008; 365: 784-789.
 - 30) Zeituni AE, McCaig W, Scisci E, Thanassi DG and Cutler CW. The native 67-kilodalton minor fimbria of *Porphyromonas gingivalis* is a novel glycoprotein with DC-SIGN-targeting motifs. *J Bacteriol.* 2010; 192: 4103-4110.
 - 31) Kondo Y, Ohara N, Sato K, Yoshimura M, Yukitake H, Naito M, Fujiwara T and Nakayama K. Tetratricopeptide repeat protein-associated proteins contribute to the virulence of *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun.* 2010; 78: 2846-2856.
 - 32) Chen YY, Cross KJ, Paolini RA, Fielding JE, Slakeski N and Reynolds EC. CPG70 is a novel basic metalloprotease with C-terminal polycystic kidney disease domains from *Porphyromonas gingivalis*. *J Biol Chem.* 2002; 277: 23433-23440.
 - 33) Gully N, Bright R, Marino V, Marchant C, Cantley M, Haynes D, Butler C, Dashper S, Reynolds E and Bartold M. *Porphyromonas gingivalis* peptidylarginine deiminase, a key contributor in the pathogenesis of experimental periodontal disease and experimental arthritis. *PLoS ONE.* 2014; 9: e100838.
 - 34) Gabarrini G, Heida R, van Ieperen N, Curtis MA, van Winkelhoff AJ and van Dijk JM. Dropping anchor: attachment of peptidylarginine deiminase via A-LPS to secreted outer membrane vesicles of *Porphyromonas gingivalis*. *Sci Rep.* 2018; 8:8949.
 - 35) Nonaka M, Shoji M, Kadowaki T, Sato K, Yukitake H, Naito M and Nakayama K. Analysis of a Lys-specific serine endopeptidase secreted via the type IX secretion system in *Porphyromonas gingivalis*. *FEMS Microbiol Lett.* 2014; 354: 60-68.
 - 36) Kishi M, Hasegawa Y, Nagano K, Nakamura H, Murakami Y and Yoshimura F. Identification and characterization of novel glycoproteins involved in growth and biofilm formation by *Porphyromonas gingivalis*. *Mol Oral Microbiol.* 2012; 47: 458-470.
 - 37) Murakami Y, Hasegawa Y, Nagano K and Yoshimura F. Characterization of wheat germ agglutinin lectin-reactive glycosylated OmpA-like proteins derived from *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun.* 2014; 82: 4563-4571.
 - 38) Posch G, Pabst M, Brecker L, Altmann F, Messner P and Schäffer C. Characterization and scope of S-layer protein O-glycosylation in *Tannerella forsythia*. *J Biol Chem.* 2011; 286: 38714-38724.
 - 39) Veith PD, O'Brien-Simpson NM, Tan Y, Djatmiko DC, Dashper SG and Reynolds EC. Outer membrane proteome and antigens of *Tannerella forsythia*. *J Proteome Res.* 2009; 8: 4279-4292.
 - 40) Horie T, Inomata M, Into T, Hasegawa Y, Kitai N, Yoshimura F and Murakami Y. Identification of OmpA-like protein of *Tannerella forsythia* as an O-linked glycoprotein and its binding capability to lectins. *PLoS One.* 2016; 11: e0163974.
 - 41) Paramonov N, Rangarajan M, Hashim A, Gallagher A, Aduse-Opoku J, Slaney JM, Hounsell E and Curtis MA. Structural analysis of a novel anionic polysaccharide from *Porphyromonas gingivalis* strain W50 related to Arg-gingipain glycans. *Mol Microbiol.* 2005; 58, 847-863.
 - 42) Rangarajan M, Aduse-Opoku J, Paramonov N, Hashim A, Bostanci N, Fraser OP, Tarelli E and Curtis MA. Identification of a second lipopolysaccharide in *Porphyromonas gingivalis* W50. *J Bacteriol.* 2008; 190, 2920-2932.
 - 43) Seers CA, Slakeski N, Veith PD, Nikolof T, Chen YY, Dashper SG and Reynolds EC. The RgpB C-terminal domain has a role in attachment of RgpB to the outer membrane and belongs to a novel C-terminal-domain family found in *Porphyromonas gingivalis*. *J Bacteriol.* 2006; 188, 6376-6386.
 - 44) Sato K, Yukitake H, Narita Y, Shoji M, Naito M and Nakayama K. Identification of *Porphyromonas gingivalis* proteins secreted by the Por secretion system. *FEMS Microbiol Lett.* 2013; 338: 68-76.
 - 45) Nakayama K. *Porphyromonas gingivalis* and related bacteria: from colonial pigmentation to the type IX secretion system and gliding motility. *J Periodont*

- Res. 2015; 50: 1-8.
- 46) Shoji M and Nakayama K. Glycobiology of the oral pathogen *Porphyromonas gingivalis* and related species. *Microb Pathog.* 2016; 94: 35-41.
 - 47) Lasica AM, Ksiazek M, Madej M and Potempa J. The type IX secretion system (T9SS) : highlights and recent insights into its structure and function. *Front Cell Infect Microbiol.* 2017; 7: 215.
 - 48) Veith PD, Glew MD, Gorasia DG and Reynolds EC. Type IX secretion: the generation of bacterial cell surface coatings involved in virulence, gliding motility and the degradation of complex biopolymers. *Mol Microbiol.* 2017; 106: 35-53.
 - 49) Narita Y, Sato K, Yukitake H, Shoji M, Nakane D, Nagano K, Yoshimura F, Naito M and Nakayama K. Lack of a surface layer in *Tannerella forsythia* mutants deficient in the type IX secretion system. *Microbiology.* 2014; 160: 2295-2303.
 - 50) Tomek MB, Neumann L, Nimeth I, Koerd A, Andesner P, Messner P, Mach L, Potempa JS and Schäffer C. The S-layer proteins of *Tannerella forsythia* are secreted via a type IX secretion system that is decoupled from protein O-glycosylation. *Mol Oral Microbiol.* 2014; 29: 307-320.
 - 51) Tomek MB, Maresch D, Windwarder M, Friedrich V, Janesch B, Fuchs K, Neumann L, Nimeth I, Zwickl NF, Dohm JC, Everest-Dass A, Kolarich D, Himmelbauer H, Altmann F and Schäffer C. A general protein O-glycosylation gene cluster encodes the species-specific glycan of the oral pathogen *Tannerella forsythia*: O-glycan biosynthesis and immunological implications. *Front Microbiol.* 2018; 9: 2008.
 - 52) Sharma A. Virulence mechanisms of *Tannerella forsythia*. *Periodontol 2000.* 2010; 54, 106-116.
 - 53) Murakami Y, Imai M, Nakamura H, Yoshimura F. Separation of the outer membrane and identification of major outer membrane proteins from *Porphyromonas gingivalis*. *Eur J Oral Sci.* 2002; 110: 157-162.
 - 54) Nagano K, Read EK, Murakami Y, Masuda T, Noguchi T and Yoshimura F. Trimeric structure of major outer membrane proteins homologous to OmpA in *Porphyromonas gingivalis*. *J Bacteriol.* 2005; 187 : 902-911.
 - 55) Smith SG, Mahon V, Lambert MA and Fagan RP. A molecular Swiss army knife: OmpA structure, function and expression. *FEMS Microbiol Lett.* 2007; 273, 1-11.
 - 56) Krishnan S and Prasadarao NV. Outer membrane protein A and OprF: versatile roles in Gram-negative bacterial infections. *FEBS J.* 2012; 278: 919-931.
 - 57) Confer AW and Ayalew S. The OmpA family of proteins: roles in bacterial pathogenesis and immunity. *Vet Microbiol.* 2013; 163, 207-222.
 - 58) Dumetz F, LaPatra S-E, Duchaud E, Claverol S and Le Hénaff M. The *Flavobacterium psychrophilum* OmpA, an outer membrane glycoprotein, induces a humoral response in rainbow trout. *J Appl Microbiol.* 2007; 103: 1461-1470.
 - 59) Shoji M, Sato K, Yukitake H, Kamaguchi A, Sakaki Y, Naito M and Nakayama K. Identification of genes encoding glycosyltransferases involved in lipopolysaccharide synthesis in *Porphyromonas gingivalis*. *Mol Oral Microbiol.* 2018; 33: 68-80.
 - 60) Narimatsu M, Noiri Y, Itoh S, Noguchi N, Kawahara T and Ebisu S. Essential role for the *gtfA* gene encoding a putative glycosyltransferase in the adherence of *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun.* 2004; 72: 2698-2702.
 - 61) Vanterpool E, Roy F and Fletcher HM. Inactivation of *vimF*, a putative glycosyltransferase gene downstream of *vimE*, alters glycosylation and activation of the gingipains in *Porphyromonas gingivalis* W83. *Infect Immun.* 2005; 73: 3971-3982.
 - 62) Davey ME and Duncan MJ. Enhanced biofilm formation and loss of capsule synthesis: deletion of a putative glycosyltransferase in *Porphyromonas gingivalis*. *J Bacteriol.* 2006; 188: 5510-5523.
 - 63) Yamaguchi M, Sato K, Yukitake H, Noiri Y, Ebisu S and Nakayama K. A *Porphyromonas gingivalis* mutant defective in a putative glycosyltransferase exhibits defective biosynthesis of the polysaccharide portions of lipopolysaccharide, decreased gingipain activities, strong autoaggregation, and increased biofilm formation. *Infect Immun.* 2010; 78: 3801-3812.
 - 64) Muthiah AS, Aruni W, Robles AG, Dou Y, Roy F and Fletcher HM. In *Porphyromonas gingivalis* VimF is involved in gingipain maturation through the transfer of galactose. *PLoS One.* 2013; 8: e63367.
 - 65) Klein BA, Cornacchione LP, Collins M, Malamy MH, Duncan MJ and Hu LT. Using Tn-seq to identify pigmentation-related genes of *Porphyromonas gingivalis*: characterization of the role of a putative glycosyltransferase. *J Bacteriol.* 2017; 199: e00832-16
 - 66) Friedrich V, Janesch B, Windwarder M, Maresch D, Braun ML, Megson ZA, Vinogradov E, Goneau MF, Sharma A, Altmann F, Messner P, Schoenhofen IC and Schäffer C. *Tannerella forsythia* strains display different cell-surface nonulosonic acids: biosynthetic pathway characterization and first insight into biological implications. *Glycobiology.* 2017; 27: 342-357.
 - 67) Tomek MB, Janesch B, Maresch D, Windwarder

- M, Altmann F, Messner P and Schäffer C. A pseudaminic acid or a legionaminic acid derivative transferase is strain-specifically implicated in the general protein O-glycosylation system of the periodontal pathogen *Tannerella forsythia*. *Glycobiology*. 2017; 27: 555-567.
- 68) Vocadlo DJ. O-GlcNAc processing enzymes: catalytic mechanisms, substrate specificity, and enzyme regulation. *Curr Opin Chem Biol*. 2012; 16: 488-497.
- 69) Janetzko J and Walker S. The making of a sweet modification: structure and function of O-GlcNAc transferase. *J Biol Chem*. 2014; 289: 34424-34432.
- 70) Li Y and Chen X. Sialic acid metabolism and sialyltransferases: natural functions and applications. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2012; 94: 887-905.
- 71) Lombard V, Golaconda Ramulu H, Drula E, Coutinho PM and Henrissat B. The carbohydrate-active enzymes database (CAZy) in 2013. *Nucleic Acids Res*. 2014; 42: D490-D495.
- 72) Altschul SF, Madden TL, Schäffer AA, Zhang J, Zhang Z, Miller W and Lipman DJ. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res*. 1997; 25: 3389-3402.
- 73) Shen A, Kamp HD, Gründling A and Higgins DE. A bifunctional O-GlcNAc transferase governs flagella motility through anti-repression. *Genes Dev*. 2006; 20: 3283-3295.
- 74) Khayatan B, Bains DK, Cheng MH, Cho YW, Huynh J, Kim R, Omoruyi OH, Pantoja AP, Park JS, Peng JK, Splitt SD, Tian MY and Risser DD. A putative O-linked β -N-acetylglucosamine transferase is essential for hormogonium development and motility in the filamentous cyanobacterium *Nostoc punctiforme*. *J Bacteriol*. 2017; 199: e00075-17.
- 75) Sokol KA and Olszewski NE. The putative eukaryote-like O-GlcNAc transferase of the cyanobacterium *Synechococcus elongatus* PCC 7942 hydrolyzes UDP-GlcNAc and is involved in multiple cellular processes. *J Bacteriol*. 2015; 197: 354-361.
- 76) Ostrowski A, Gundogdu M, Ferenbach AT, Lebedev AA and van Aalten DM. Evidence for a functional O-linked N-acetylglucosamine (O-GlcNAc) system in the thermophilic bacterium *Thermobaculum terrenum*. *J Biol Chem*. 2015; 290: 30291-30305.
- 77) Cheng J, Yu H, Lau K, Huang S, Chokhawala HA, Li Y, Tiwari VK and Chen X. Multifunctionality of *Campylobacter jejuni* sialyltransferase CstII: characterization of GD3/GT3 oligosaccharide synthase, GD3 oligosaccharide sialidase, and trans-sialidase activities. *Glycobiology*. 2008; 18: 686-697.
- 78) Lee HJ, Lairson LL, Rich JR, Lameignere E, Wakarchuk WW, Withers SG and Strynadka NC. Structural and kinetic analysis of substrate binding to the sialyltransferase Cst-II from *Campylobacter jejuni*. *J Biol Chem*. 2011; 286: 35922-35932.
- 79) Neal-McKinney JM, Liu KC, Jinneman KC, Wu WH and Rice DH. Whole genome sequencing and multiplex qPCR methods to identify *Campylobacter jejuni* encoding *cst-II* or *cst-III* sialyltransferase. *Front Microbiol*. 2018; 9: 408.
- 80) Czuchry D, Desormeaux P, Stuart M, Jarvis DL, Matta KL, Szarek WA and Brockhausen I. Identification and biochemical characterization of the novel α 2,3-sialyltransferase WbwA from pathogenic *Escherichia coli* serotype O104. *J Bacteriol*. 2015; 197: 3760-3768.
- 81) Li Y, Sun M, Huang S, Yu H, Chokhawala HA, Thon V and Chen X. The *Hd0053* gene of *Haemophilus ducreyi* encodes an α 2,3-sialyltransferase. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007; 361: 555-560.
- 82) Fox KL, Cox AD, Gilbert M, Wakarchuk WW, Li J, Makepeace K, Richards JC, Moxon ER and Hood DW. Identification of a bifunctional lipopolysaccharide sialyltransferase in *Haemophilus influenzae*: incorporation of disialic acid. *J Biol Chem*. 2006; 281: 40024-40032.
- 83) Martínez-Moliner V, Soler-Llorens P, Moleres J, Garmendia J and Aragon V. Distribution of genes involved in sialic acid utilization in strains of *Haemophilus parasuis*. *Microbiology*. 2012; 158: 2117-2124.
- 84) Wang H, Liu L, Cao Q, Mao W, Zhang Y, Qu X, Cai X, Lv Y, Chen H, Xu X and Wang X. *Haemophilus parasuis* α -2,3-sialyltransferase-mediated lipooligosaccharide sialylation contributes to bacterial pathogenicity. *Virulence*. 2018; 9: 1247-1262.
- 85) Schur MJ, Lameignere E, Strynadka NC and Wakarchuk WW. Characterization of α 2,3- and α 2,6-sialyltransferases from *Helicobacter acinonychis*. *Glycobiology* 2012; 22: 997-1006.
- 86) Kondadi PK, Rossi M, Twelkmeyer B, Schur MJ, Li J, Schott T, Paulin L, Auvinen P, Hänninen ML, Schweda EK and Wakarchuk W. Identification and characterization of a lipopolysaccharide α 2,3-sialyltransferase from the human pathogen *Helicobacter bizzozeronii*. *J Bacteriol*. 2012; 194: 2540-2550.
- 87) Wu H and Jerse AE. α -2,3-Sialyltransferase enhances *Neisseria gonorrhoeae* survival during experimental murine genital tract infection. *Infect Immun*. 2006; 74: 4094-4103.
- 88) Lewis LA, Gulati S, Burrowes E, Zheng B, Ram S and Rice PA. α -2,3-Sialyltransferase expression level impacts the kinetics of lipooligosaccharide

- sialylation, complement resistance, and the ability of *Neisseria gonorrhoeae* to colonize the murine genital tract. *mBio*. 2015; 6: e02465-14.
- 89) Gilbert M, Watson DC, Cunningham AM, Jennings MP, Young NM and Wakarchuk WW. Cloning of the lipooligosaccharide α -2,3-sialyltransferase from the bacterial pathogens *Neisseria meningitidis* and *Neisseria gonorrhoeae*. *J Biol Chem*. 1996; 271: 28271-28276.
 - 90) Lin LY, Rakic B, Chiu CP, Lameignere E, Wakarchuk WW, Withers SG and Strynadka NC. Structure and mechanism of the lipooligosaccharide sialyltransferase from *Neisseria meningitidis*. *J Biol Chem*. 2011; 286: 37237-37248.
 - 91) Romanow A, Haselhorst T, Stummeyer K, Claus H, Bethe A, Mühlenhoff M, Vogel U, von Itzstein M and Gerardy-Schahn R. Biochemical and biophysical characterization of the sialyl-/hexosyltransferase synthesizing the meningococcal serogroup W135 heteropolysaccharide capsule. *J Biol Chem*. 2013; 288: 11718-11730.
 - 92) Schmölder K, Ribitsch D, Czabany T, Luley-Goedl C, Kokot D, Lyskowski A, Zitzenbacher S, Schwab H and Nidetzky B. Characterization of a multifunctional α 2,3-sialyltransferase from *Pasteurella dagmatis*. *Glycobiology*. 2013; 23: 1293-1304.
 - 93) McArthur JB, Yu H, Zeng J and Chen X. Converting *Pasteurella multocida* α 2-3-sialyltransferase 1 (PmST1) to a regioselective α 2-6-sialyltransferase by saturation mutagenesis and regioselective screening. *Org Biomol Chem*. 2017; 15: 1700-1709.
 - 94) Thon V, Lau K, Yu H, Tran BK and Chen X. PmST2: a novel *Pasteurella multocida* glycolipid α 2,3-sialyltransferase. *Glycobiology*. 2011; 21: 1206-1216.
 - 95) Thon V, Li Y, Yu H, Lau K and Chen X. PmST3 from *Pasteurella multocida* encoded by *Pm1174* gene is a monofunctional α 2-3-sialyltransferase. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2012; 94: 977-985.
 - 96) Guo Y, Jers C, Meyer AS, Arnous A, Li H, Kirpekar F and Mikkelsen JD. A *Pasteurella multocida* sialyltransferase displaying dual trans-sialidase activities for production of 3'-sialyl and 6'-sialyl glycans. *J Biotech*. 2014; 170: 60-67.
 - 97) Cheng J, Huang S, Yu H, Li Y, Lau K and Chen X. Trans-sialidase activity of *Photobacterium damsela* α 2,6-sialyltransferase and its application in the synthesis of sialosides. *Glycobiology*. 2010; 20: 260-268.
 - 98) Mine T, Katayama S, Kajiwara H, Tsunashima M, Tsukamoto H, Takakura Y and Yamamoto T. An α 2,6-sialyltransferase cloned from *Photobacterium leiognathi* strain JT-SHIZ-119 shows both sialyltransferase and neuraminidase activity. *Glycobiology*. 2010; 20: 158-165.
 - 99) Yamamoto T, Hamada Y, Ichikawa M, Kajiwara H, Mine T, Tsukamoto H and Takakura Y. A β -galactoside α 2,6-sialyltransferase produced by a marine bacterium, *Photobacterium leiognathi* JT-SHIZ-145, is active at pH 8. *Glycobiology*. 2007; 17: 1167-1174.
 - 100) Iwatani T, Okino N, Sakakura M, Kajiwara H, Takakura Y, Kimura M, Ito M, Yamamoto T and Kakuta Y. Crystal structure of α / β -galactoside α 2,3-sialyltransferase from a luminous marine bacterium, *Photobacterium phosphoreum*. *FEBS lett*. 2009; 583: 2083-2087.
 - 101) Kajiwara H, Katayama S, Kakuta Y, Okino N, Ito M, Mine T and Yamamoto T. Loss-of-function mutation in bi-functional marine bacterial sialyltransferase. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2012; 76: 1639-1644.
 - 102) Roy D, Takamatsu D, Okura M, Goyette-Desjardis G, Van Calsteren MR, Dumesnil A, Gottschalk M and Segura M. Capsular sialyltransferase specificity mediates different phenotypes in *Streptococcus suis* and Group B *Streptococcus*. *Front Microbiol*. 2018; 9: 545.
 - 103) Mehr K and Withers SG. Mechanisms of the sialidase and trans-sialidase activities of bacterial sialyltransferases from glycosyltransferase family 80. *Glycobiology*. 2016; 26: 353-359.
 - 104) Aruni W, Vanterpool E, Osbourne D, Roy F, Muthiah A, Dou Y and Fletcher HM. Sialidase and sialoglycoproteases can modulate virulence in *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun*. 2011; 79: 2779-2791.
 - 105) Li C, Kurnuyati, Hu B, Bian J, Sun J, Zhang W, Liu J, Pan Y and Li C. Abrogation of neuraminidase reduces biofilm formation, capsule biosynthesis, and virulence of *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun*. 2012; 80: 3-13.
 - 106) Thompson H, Homer KA, Rao S, Booth V and Hosie AH. An orthologue of *Bacteroides fragilis* NanH is the principal sialidase in *Tannerella forsythia*. *J Bacteriol*. 2009; 191: 3623-3628.
 - 107) Honma K, Mishima E, Sharma A. Role of *Tannerella forsythia* NanH sialidase in epithelial cell attachment. *Infect Immun*. 2011; 79: 393-401.
 - 108) Roy S, Honma K, Douglas CW, Sharma A and Stafford GP. Role of sialidase in glycoprotein utilization by *Tannerella forsythia*. *Microbiology*. 2011; 157: 3195-3202.
 - 109) Stafford G, Roy S, Honma K and Sharma A. Sialic acid, periodontal pathogen and *Tannerella forsythia*: stick around and enjoy the feast! *Mol Oral Microbiol*.

- 2012; 27: 11-22.
- 110) Freire-de-Lima L, Oliveira IA, Neves JL, Penha LL, Alisson-Silva F, Dias WB and Todeschni AR. Sialic acid: a sweet swing between mammalian host and *Trypanosoma cruzi*. *Front Immun.* 2012; 3: 356.
- 111) Freire-de-Lima L, Fonseca LM, Oeltmann T, Mendonça-Previato L and Previato JO. The *trans*-sialidase, the major *Trypanosoma cruzi* virulence factor: three decades of studies. *Glycobiology.* 2015; 25: 1142-1149.
- 112) Nardy AF, Freire-de-Lima CG, Pérez AR and Morrot A. Role of *Trypanosoma cruzi trans*-sialidase on the escape from host immune surveillance. *Front Microbiol.* 2016; 7: 348.
- 113) Juge N, Tailford L and Owen CD. Sialidases from gut bacteria: a mini-review. *Biochem Soc Trans.* 2016; 44: 166-175.
- 114) 加藤晃一. タンパク質の翻訳後修飾の構造生物学研究. 薬学雑誌. 2012; 132: 563-573.
- 115) Biwi J, Biot C, Guerardel Y, Vercoutter-Edouart AS and Lefebvre T. The many ways by which O-GlcNAcylation may orchestrate the diversity of complex glycosylations. *Molecules.* 2018; 23: 2858.
- 116) Hart GW. Nutrient regulation of signaling and transcription. *J Biol Chem.* 2019; 294: 2211-2231.
- 117) Settem RP, Honma K, Stafford GP and Sharma A. Protein-linked glycans in periodontal bacteria: prevalence and role at the immune interface. *Front Microbiol.* 2013; 4: 310.
-