

病原細菌および乳酸菌における ムーンライティングプロテインの多機能性

日比 友之 (HIBI Tomoyuki)¹, 木下 英樹 (KINOSHITA Hideki)^{1*}

Key Words: ムーンライティングプロテイン, 多機能性, 病原細菌, 乳酸菌

Multifunctionality of moonlighting proteins in pathogenic bacteria and lactic acid bacteria

Authors: Tomoyuki Hibi and Hideki Kinoshita¹

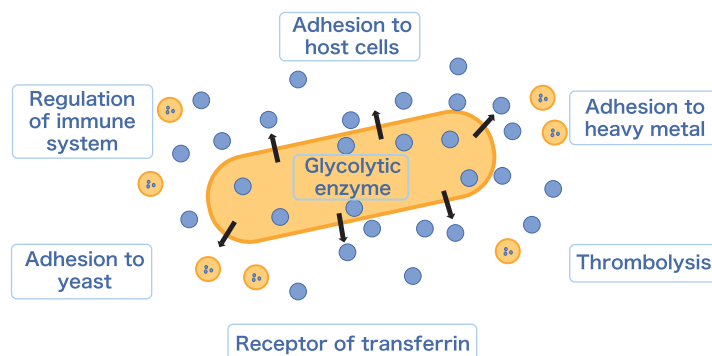
***Corresponding author:** Hideki Kinoshita

Affiliated institution:

¹ Graduate School of Agriculture, Tokai University (9-1-1 Toroku, Higashi-ku, Kumamoto-shi, Kumamoto 862-8652, Japan)

Key Words: moonlighting protein, multifunctionality, pathogenic bacteria, lactic acid bacteria

Graphical abstract.



Abstract

Bacteria have only a few megabytes size of the genome and make limited proteins. However, they make up for their shortcomings by using moonlighting proteins (MPs) which have multi-functionality. MPs are found throughout the evolutionary tree—bacteria, archaea, mammals, reptiles, birds, fish, worms, insects, plants, fungi, protozoans, and even viruses. MPs have been known as virulence factors in pathogenic bacteria because they have various functions such as adhesins and thrombolytic factors. However, it has been reported that many MPs such as glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH), enolase, glutamine synthetase (GS), elongation factor thermo unstable (EF-Tu), GroEL, and DnaK exist on bacteria cell surfaces even in probiotics. In this review, we described the MPs in pathogenic and probiotic bacteria. MPs have “main function” and “sub-function”, and it is classified as some types. Many MPs are known to have different functions inside and outside cells. The expression of MPs is induced by several stresses such as high pressure, digestive fluids (bile acid), and others. MPs are transported to the cell surface or outside of bacteria by ABC transporter and/or M protein. Moreover, extracellular vesicles (EVs) have gotten attention as a transport system for MPs. MPs exist on cell wall components such as peptidoglycan and lipoteichoic acid by an ionic bond. Pathogens and probiotics have to adhere to the host for infection and colonization, respectively. MPs such as GAPDH, GroEL, and EF-Tu have been known as adhesins in pathogens and probiotic bacteria. They help bacteria adhere to host components such as epithelial cells, mucin, and sugar chain. In addition, intestinal bacteria have to escape from the host immune system after adhesion. MPs act as immune regulators, and they help these bacteria to escape from the host immune systems such as complement system, NO production, and cytokine production. Further, MPs also act as binding factors of heavy metal such as mercury, and cadmium, thrombolysis factors, adhesion factor to yeast cells, and transferrin receptor. As mentioned above, MPs play important role in the bacteria. We believe that elucidating the functionality of MPs in the host will lead to development of novel treatments and prevention of infection.

はじめに

原核生物である細菌のゲノムサイズは、数 Mb 程度と非常に小さく、限られた遺伝子から限られたタンパク質しか作ることができない。そのため細菌は一つのタンパク質に複数の機能を持たせ生命活動を行っている。その一つにムーンライティングプロテイン (Moonlighting Protein: MP) と呼ばれるタンパク質がある。MP は、細菌に限らず、古細菌、哺乳類、爬虫類、鳥類、魚類、昆虫類、植物、真菌、原生生物、さらにはウイルスなど、生物界のほぼすべてにおいて確認されている¹⁾。

MP は腸管付着、血栓溶解、免疫調節等に関わっていることから、病原菌では病原因子 (Virulence factor) と考えられている²⁾。一方で、乳酸菌等の有用菌においては有用因子として注目されており、当研究室でも乳酸菌の MP の機能性に着目して研究を行っている。

MP は細菌の多様な機能の発揮に深く関係しており、主に病原細菌や乳酸菌においてその機能性が注目されている。そこで本稿では病原細菌と乳酸菌に着目して、それらにおける MP の機能性について紹介したい。

1. ムーンライティングプロテインとは

英語の「moonlighting」には月光のほか、「副業」という意味もある。そのため MP を直訳すると「副業するタンパク質」となるが、下記のような特徴を備えた多機能性タンパク質のことを MP と呼ぶ。MP の多機能性は便宜的に「本業」と「副業」に大別される。具体的に、先に発見されたあるいは生命活動に重要な役割を果たしている機能を「本業」とし、後に発見されたあるいは本業ほど重要ではない機能を「副業」としている。例えば、グリセルアルデヒド-3-リン酸脱水素酵素 (GAPDH) の場合、細胞内での解糖系酵素としての働きを「本業」、細胞表面での腸管付着因子や免疫調節因子としての働きを「副業」とする場合が多い。なお、「本業」も「副業」も人間の都合で分類したものであり、細菌にとつ

てどちらも重要であることに変わりはない³⁾。

このように MP は「本業」と「副業」を持っているわけであるが、特徴の違いにより 9 つに大別されている⁴⁾。

- ①細胞内の異なる場所で異なる機能を発揮するタンパク質
- ②細胞外へ分泌されて細胞内とは異なる機能を発揮するタンパク質
- ③細胞種に依存して異なる機能を発揮するタンパク質
- ④低分子のコファクターを結合することで異なる機能を発揮するタンパク質
- ⑤オリゴマー構造を変えることで異なる機能を発揮するタンパク質
- ⑥相互作用するパートナーを変えて異なる複合体を形成し異なる機能を発揮するタンパク質
- ⑦異なるリガンドをタンパク質の異なる部位に結合して異なる機能を発揮するタンパク質。
- ⑧構造変化により異なる機能を発揮するタンパク質
- ⑨遺伝子変異により異なる機能を発揮するタンパク質

我々が調べた範囲では乳酸菌では、②の細胞内タンパク質が細胞外に出て異なる機能を示すというケースが多いように思われる。実際に当研究室にて生理的リン酸緩衝液 (PBS) で細胞表層にイオン結合で留まっている乳酸菌の菌体表層タンパク質を緩やかに抽出し、質量分析装置で分析したところ、前述の GAPDH のほかエノラーゼ等の多くの解糖系酵素群、リボソームタンパク質、ヒートショックプロテイン (DnaK, GroEL, GroS), EF-Tu (Elongation factor Tu), チオレドキシン, DNA 結合タンパク質など、驚くほど多くの細胞内タンパク質が検出された³⁾。これらの機能性はまだ分かっていないものも多いが、GAPDH 同様に MP として働いているものと推察される。

MP の発現誘導と細胞外への移行

MP の機能性について説明する前に、まず MP が

連絡先: * 木下 英樹 (KINOSHITA Hideki) 責任著者

¹ 東海大学大学院農学研究科 (〒 862-8652 熊本県熊本市東区渡鹿 9-1-1)
(Tel: 096-386-2690, Fax: 096-386-2690, E-mail: kinoshita@tokai.ac.jp)

どのように発現誘導され、細胞外に移行しているかについて説明する。

MP は通常のタンパク質と同様に発現・翻訳されるが、様々なストレスにより誘導されることが明らかになっている。まず、*Latobacillus acidophilus* 08 では菌体を高圧 (50MPa) にさらすと、GroEL や EF-Tu などの MP 遺伝子の発現が誘導されることが報告されている⁵⁾。また豚および鶏の腸より得られた *Lactobacillus johnsonii* PF01 および C1-10 では菌体を消化液である胆汁酸に曝すと、エノラーゼや GAPDH などの MP 遺伝子の発現が誘導されることも報告されている⁶⁾。このように MP は圧力や消化液などの様々な菌体へのストレスにより発現誘導される。

MP は元々細胞内タンパク質で通常の分泌タンパク質が持っているようなシグナルペプチドまたは膜貫通領域を持っていない。つまり、通常の分泌経路ではない別の経路で細胞外へ移行されていることが考えられる。このようなシグナルペプチドを持たないタンパク質の細胞外への分泌経路についてはよく分かっていないが、病原細菌では以下のような報告が挙げられている。肺炎球菌として知られる GAS (Group A *Streptococcus*: A 群連鎖球菌) では、細胞壁の最外層に存在する繊維状のタンパク質である M タンパク質を介して GAPDH を細胞外輸送していることが報告されている⁷⁾。M タンパク質は、菌を好中球、好酸球、好塩基球などの多形核白血球の食作用から守ったり、菌の皮膚・表皮細胞への付着に直接関与したりすることなどが知られている。本タンパク質の欠損株では菌体表面 GAPDH が検出されなかったことより、M タンパク質が GAPDH の細胞外輸送に関与しているのではないかと考えられている。また、同じく肺炎球菌として知られる GBS (Group B *Streptococcus*: B 群連鎖球菌) では、菌体集団の中の一部が自己溶菌し自滅することで GAPDH を菌体外へ放出することが報告されている⁸⁾。これは溶菌酵素 lytA を持たない変異株、または溶菌阻害薬である塩化コリンの添加によって細胞表面への GAPDH 分泌が抑えられたことより、溶菌が GAPDH の細胞表面への放出に関与しているのではないかと考えられた。

一方で、有用乳酸菌では以下のような報告が挙げられている。*Lactiplantibacillus plantarum* LA 318 (LA

318 株) では、ABC トランスポーター (ATP binding cassette transporter) を介して GAPDH の細胞外輸送を行っている可能性が報告されている⁹⁾。ABC トランスポーターは、ATP を加水分解して得られるエネルギーを利用して化合物を能動輸送する膜タンパク質である。ABC トランスポーターの阻害剤である DIDS (4,4'-Diisothiocyanato-2,2'-stilbenedisulfonic acid disodium salt) を用いた試験を行った結果、DIDS の添加量依存的に GAPDH の菌体表面での発現量が減少した。このことから、ABC トランスポーターが乳酸菌のような M タンパク質を持たない細菌においては、GAPDH 輸送の役割を担っている可能性が示された。Ishida ら¹⁰⁾ も GAPDH の細胞外への移行量が多くなった自然発生変異株において ABC トランスポーターの発現量が増えていることを明らかにしている。このように細菌は M タンパク質や ABC トランスポーターなどの膜タンパク質を介して細胞外へ MP を輸送しているほか、一部の菌の自己溶菌により細胞外へ放出された MP が他の細胞の菌体表層にイオン結合にて付着していると考えられている。さらに最近では、細胞外小胞が GroEL や EF-Tu を含んでいることが明らかになっており、エキソサイトーシスによる細胞外への放出も指摘されている^{11,12)}。

MP は細胞外へ放出されるほか、菌体表層にも多く留まっていることが知られている。肺炎球菌の GBS では、溶菌により放出された GAPDH が細胞膜に存在するペプチドグリカンに結合することが報告されている⁸⁾。また、LA 318 株では、pH に依って GAPDH が細胞外へ遊離することも証明され、GAPDH が乳酸による pH 低下により正電荷を持ちリポテイコ酸などの負電荷をもつ細胞壁物質とイオン結合することで菌体表面にとどまっていることも報告されている⁹⁾。このように一部の細菌は MP をペプチドグリカンやリポテイコ酸などの細胞壁成分に付着させることで菌体表面に留めている。

2. 付着因子としての MP

病原細菌が宿主に感染したり、乳酸菌が宿主腸管に定着したりするためにはそれぞれ宿主への付着が不可欠であるが、MP には腸管付着因子としての機能が知られている。

肺炎球菌の GAS では、菌体表面の GAPDH が

プラスミン, プラスミノーゲン^{7, 13)}, フィブロンectin, リゾチーム, ミオシン, アクチン¹⁴⁾ など様々なタンパク質と結合し, さらにヒト咽頭細胞の uPAR/CD87 受容体とも結合することが報告されている¹⁵⁾。また, 前項にて自己溶菌により GAPDH を放出していると紹介した GBS においては, GAPDH が細胞骨格タンパク質や細胞外マトリックスタンパク質と結合することも報告されている¹⁶⁾。このように肺炎球菌の報告が多いが, 他の病原細菌での報告も挙がっている。例えば, 歯周病菌として知られる *Porphyromonas gingivalis* では, その繊毛が同じく口腔内にいる日和見菌 *Streptococcus oralis* の GAPDH と共同凝集し, ヒト口腔上皮細胞へ付着を助けることが報告されている^{17, 18)}。また, 大腸菌 (*Escherichia coli*) の菌体表面の GAPDH が結腸癌由来細胞である Caco-2 細胞に付着することも報告されている¹⁹⁾。

一方で, 乳酸菌では以下のような報告が挙げられている。ヒト腸管組織より直接単離された前項の LA 318 株では, GAPDH が菌体表面に高発現しており, これを介してヒト大腸ムチンやその糖鎖末端に発現している ABO 式血液型抗原, 特に A 型抗原および B 型抗原と強く結合することが報告されている⁹⁾。なお, A 抗原 [GalNAc α 1-3(Fuc α 1-2) Gal-] および B 抗原 [Gal α 1-3(Fuc α 1-2) Gal-] へ高い結合性を示すのに対し, H 抗原 (Fuc α 1-2Gal-) や他の糖鎖抗原 (Gal α 1-3Gal-, Fuc α 1-2Gal β 1-3GlcNAc-, Fuc α 1-3GlcNAc-, NeuNAc-) への結合能は低く, また, 単糖添加による結合阻害も起きなかった。このことから, GAPDH が N-アセチルガラクトサミン (GalNAc) やガラクトース (Gal) を含む特徴的な血液型三糖構造を認識して結合している可能性が示された²⁰⁾。この結合には GAPDH の 4 次構造におけるキャビティ (凹構造) が関わっていることを X-線立体構造解析により明らかにしている²¹⁾。

また, GAPDH 以外にも GroEL, エノラーゼ, EF-Tu 等がムチンに対する付着因子として働くことが報告されている²²⁾。*Lactobacillus johnsonii* NCC 533 (以下, La1 株) では, EF-Tu が菌体のヒト腸管株化細胞やムチンへの付着を仲介していることが報告されている²³⁾。EF-Tu は, タンパク質の翻訳に関わるタンパク質であるが, 質量分析により,

細胞表面に完全な分子として発現していることが報告されている。また, *Limosilactobacillus reuteri* では EF-Tu が硫酸化糖鎖に結合すること²⁴⁾, 蛍光ビーズに EF-Tu を固定化した「疑似細菌モデル」がコントロールと比較して長くマウス腸管に留まったこと²⁵⁾などが報告されている。また, La1 株では, ヒートショックプロテインである GroEL も菌体表面に発現している²⁶⁾。GroEL はタンパク質の修復に関わるタンパク質であるが, ムチンや上皮細胞に対して pH 依存的な結合性を示すことが報告されている。*Lactocaseibacillus rhamnosus* FSM22 では, DNA 結合タンパク質 HU (HUP), GAPDH, 乳酸脱水素酵素 (LDH), 30S リボソームタンパク質 S19 (RpsS) が細胞外マトリックスの基底膜を構成するタンパク質ラミニンに結合することが報告されている²⁷⁾。また, 世界で最もよく研究されている乳酸菌の一つである *Lactocaseibacillus rhamnosus* GG (LGG) の菌体表面にも GAPDH やホスホグリセレートキナーゼが発現しており, 付着因子としての機能が推測されている²⁸⁾。さらに, Ishida ら¹⁰⁾ は, 菌体表面に GAPDH を顕著に蓄積する LGG 変異体は, 野生株より有意に高い付着性を示したことを報告している。このように細菌の MP には宿主の腸管上皮細胞や, ムチンおよび糖鎖などの物質に付着する, 「付着因子」としての機能がある。

3. 免疫調節因子としての MP

腸内細菌が宿主腸内に留まるためには腸管付着が重要であるが, 宿主免疫からの回避もまた重要な要素となる。MP には免疫調節因子としての機能があり, この宿主免疫を調節し, 細菌の付着後の定着を助けている。

免疫には補体系というものがあり, この反応系は抗体と抗原 (細菌の構成成分など) の抗体抗原反応により活性化される。この補体が活性化されるとマクロファージなどの免疫細胞の遊走や, 補体活性化の連鎖反応による殺菌が起こる。このような免疫反応を示す補体であるが, GAS では, 菌体表面の GAPDH が白血球遊走因子である補体 C5a を補足し, セリンプロテアーゼ ScpA に受け渡し, 分解を行っていることが報告されている²⁹⁾。また GBS では, 菌体表面に GAPDH を蓄積することで補体 C1q が表面に沈着するのを阻害している³⁰⁾。ほか, エノラー

ぜにより菌体表層に補体系阻害因子である C4BP (C4 Binding Protein) を動員し, C3b の沈着を阻害することが報告されている³¹⁾。このように MP は補体系の阻害因子として働く他, アポトーシス誘導やサイトカイン調節にも関与している。マクロファージは最終的にプログラムされた細胞死「アポトーシス」を迎えるが, GAPDH はマクロファージが免疫応答の一環で産生する一酸化窒素 (NO) により S-ニトロ化され, これが核内に移行しアポトーシスを誘導することが報告されている³²⁾。さらに, マクロファージなどの免疫細胞や腸管上皮細胞はサイトカインという免疫の情報伝達を担うタンパク質を放出しているが, 肺炎球菌の GBS では GAPDH がマクロファージや CD69 陽性 B 細胞に作用し抗炎症性サイトカインである IL-10 の産生を誘導することが報告されている^{33, 34)}。また, ラットに HSP70 を免疫すると IL-10 が誘導されることも報告されている³⁵⁾。

一方, 有用乳酸菌では以下のような報告が挙げられている。*Limosilactobacillus reuteri* 由来 GroEL が炎症やアポトーシスのマーカーである caspase-3 の発現を抑え, 炎症性サイトカイン (INF- α , IL-1 β , IFN- γ) の産生を減少させ, 抗炎症性サイトカイン (IL-10, IL-13) の産生を増加させることが報告されている³⁶⁾。また, *Limosilactobacillus reuteri* BBC3 では EF-Tu を含む細胞外小胞が NF- κ B 活性化を抑制することで炎症性サイトカイン (TNF- α , IL-1 β , IL-6) の発現を抑え, 抗炎症性サイトカイン (IL-10, TGF- β) の遺伝子発現を増強することが報告されている¹²⁾。さらに, La1 株では GroEL がマクロファージおよび腸管上皮細胞に作用し, IL-8 産生を誘導することが報告されている³⁷⁾。

このように細菌の MP には補体系の阻害やアポトーシス誘導, NO 産生, サイトカイン産生を調節する「免疫調節因子」として機能する。これにより, 宿主免疫から巧みに逃れている可能性が考えられている。

4. 重金属吸着および耐性における MP の役割

本研究室では, 新たな MP の機能性の探索の一環として, 重金属と MP との関連性について評価を行った。水銀はチオール基 (-SH) に結合することが知られており, GAPDH がチオール酵素であることに着目し, 組換え GAPDH (rGAPDH) を作製し, X-線立体構造解析にて水銀結合能の解析を行った。その結果, rGAPDH-水銀複合体の立体構造を 2.1Å 分解能で決定し水銀の結合に関与する部位を特定することができた³⁸⁾。触媒反応に関与する His183, Cys156 は水銀の結合には関与せず, その周辺のシステイン残基である Cys101, Cys160, Cys328 の先に水銀が結合することを明らかにした。

また, MP が重金属の吸着および耐性にどのように関わっているのかを調べた³⁹⁾。3 種の乳酸菌を蒸留水 (DW) (菌体表層から MP が遊離しない条件) または PBS (菌体表層から MP が遊離する条件) で洗浄し, 重金属の吸着と耐性を比較した。カドミウム吸着試験では *Lacticaseibacillus paracasei*

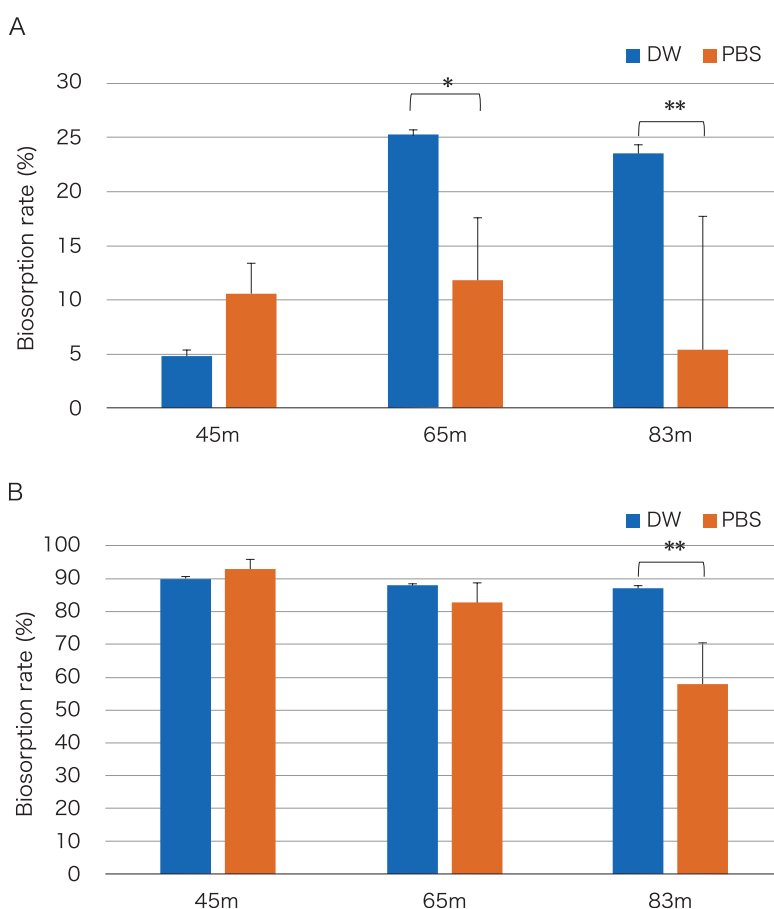


図1 DW および PBS 洗浄菌体におけるカドミウム (A) および水銀 (B) の吸着率の変化³¹⁾

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$ (文献 39 より引用, 一部改変)

TOKAI 65m および TOKAI 83m では DW 洗浄に比べて PBS 洗浄菌体の方がカドミウムの吸着が低くなったが、*Lactocaseibacillus rhamnosus* TOKAI 45m では逆の結果を示した (図 1A)。水銀では全体的にカドミウムより吸着率が高く TOKAI 45m 株および TOKAI 65m 株ではほとんど差が見られなかったが、TOKAI 83 株では PBS 洗浄の方が吸着率が低くなった (図 1B)。カドミウム耐性は、TOKAI 65m 株ではほとんど差がなかったが、他の 2 菌株では PBS 洗浄菌体の方が耐性が低くなった (図 2A)。水銀では、カドミウムと逆の傾向を示した (図 2B)。以上のことから少なくとも TOKAI 83m 株ではカドミウムが MP に吸着することで無毒化されている可能性が示唆された。一方、水銀においては、水銀が MP に吸着したことで菌体内への取り込みが促進され毒性が発揮された可能性が示唆された。

5. その他の MP の機能性

その他にも MP の様々な機能性が報告されている。*Lactobacillus crispatus* ST1 では、細胞表面に GAPDH やエノラーゼなどが存在しており、プラスミノゲンおよびプラスミンに付着性を示し、組織型プラスミノゲン活性化因子 (tPA) を活性化することで血栓溶解に関与することが報告されている⁴⁰⁾。また、*Lactococcus lactis* IL 1403 が、自身の細胞壁上の HSP70 を介して *Saccharomyces cerevisiae* 由来のマンナンと結合することが報告されている⁴¹⁾。さらに *Staphylococcus aureus* および *Staphylococcus epidermidis* では細胞表面に GAPDH が存在しており、トランスフェリン受容体として働くことが報告されている⁴²⁾。

このように MP には「血栓溶解」や「酵母との結合」、「トランスフェリン受容体」などの機能性も報告されている。

おわりに

図 3 には GAPDH を例に細胞外への移行の仕組み

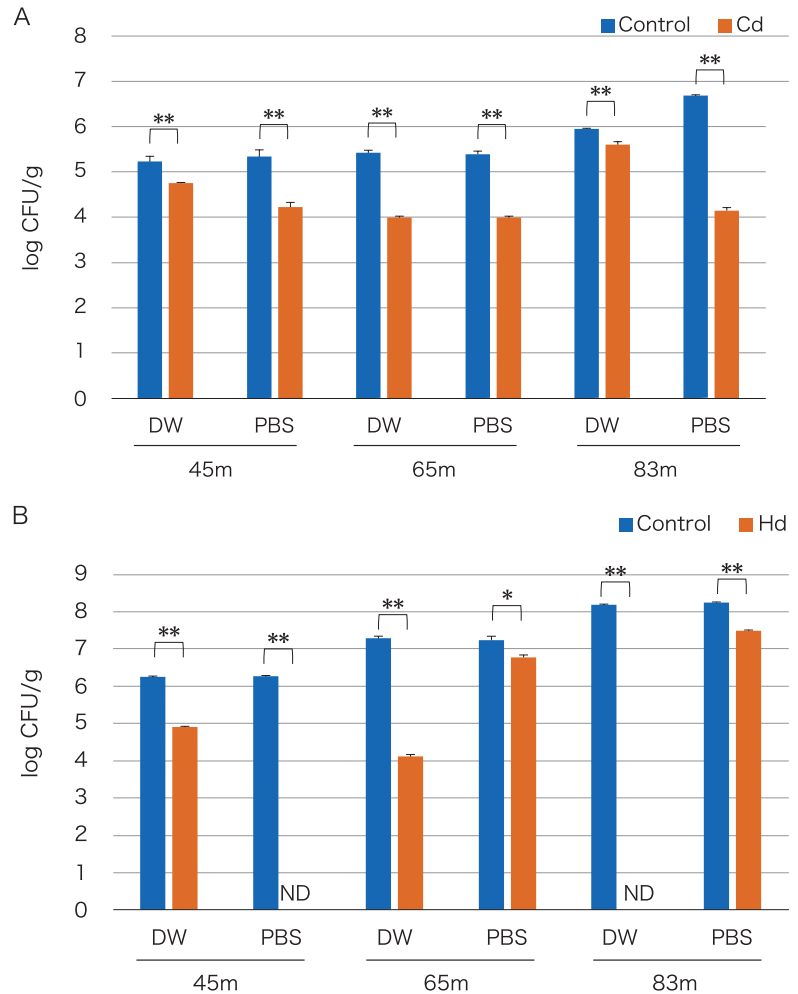


図2 DW および PBS 洗浄菌体におけるカドミウム (A) および水銀 (B) 耐性の変化

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$ (文献 39 より引用, 一部改変)

と様々な機能性についてまとめた。付着因子、血栓溶解因子、トランスフェリン受容体、重金属応答、免疫調節など GAPDH だけ例に取っても非常に多くの機能性が報告されている。細胞外への移行についてはトランスポーターを介したものの、自己溶解、細胞外小胞を介したエキソサイトーシスなど様々な報告がなされているが、まだ決定的な結論には至っていない。これら全てが細胞外への移行に関わっている可能性もあり、さらなる研究が必要とされている。

MP の機能性についてはまだまだ知られていないものも多くあると予想されるが、上記の機能性を鑑みると細菌の生命活動に不可欠な役割を果たしていると考えられる。例えば、乳酸菌の腸内での定住を考えた場合、運動性がない乳酸菌には腸管付着性は必須であるし、腸管免疫から逃れることも必要であろう。免疫回避については飛び道具として細胞外小胞を利用している可能性もあり、現在、研究室にて解

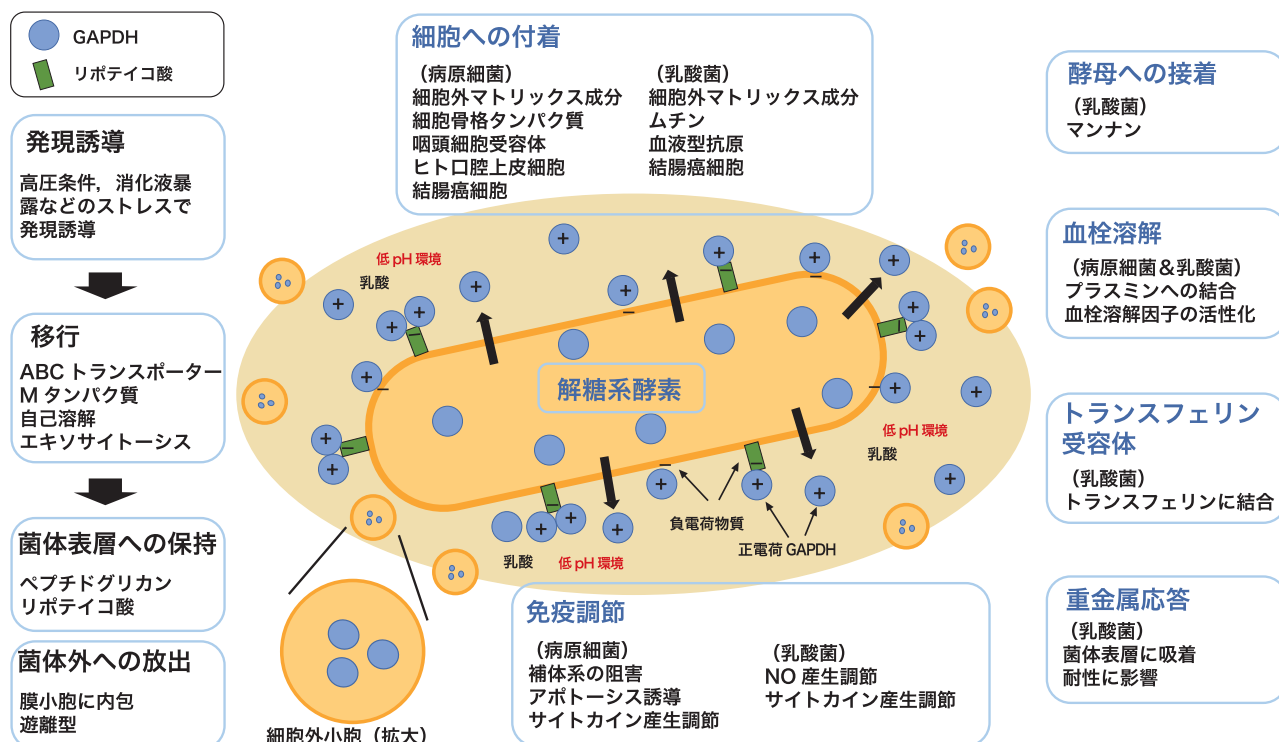


図3 GAPDH の多機能性の概要

細菌の GAPDH は種々のストレスにより発現が促進され、トランスポーター、自己溶菌、エキソサイトーシスなどにより細胞外へ移行し、細胞膜上のペプチドグリカンやリポテイコ酸などに結合、または細胞外へ放出されていると考えられる。ここでは病原細菌と乳酸菌の例を合わせて記載している。

析を進めているところである。病原菌における免疫回避は問題であるが、有用乳酸菌では抗炎症と考えることができ、宿主と細菌との共生関係が成り立っている可能性も高い。

本稿では MP の多機能性について述べてきたが、今後更なる研究により、生物の生き残り戦略が明らかになり、またヒトへの応用性が拡大していくものと期待している。

文 献

1. Constance J. Jeffery : Protein moonlighting: what is it, and why is it important?. *Philosophical transactions of the royal society B* **373** (1738) : 2017.
2. Brian Henderson : Moonlighting proteins novel virulence factors in bacterial infections. Hoboken. New Jersey, *John Wiley & Sons, Inc*, 47-68, 2017.
3. 木下 英樹 : 乳酸菌のムーンライティングプロテインの多機能性について. *ミルクサイエンス* **69** (2): 108-109, 2020.
4. 原田 直樹, 三谷 壘一, 山地 亮一 : 多機能性を持つ Moonlighting Proteins. *Journal of Japanese Biochemical Society* **87** (3): 279-285, 2015.
5. Giacomo Braschi, Margherita D'Alessandro, Davide Gottardi, Lorenzo Siroli, Francesca Patrignani *et al.*: Effects of Sub-Lethal High Pressure Homogenization Treatment on the Adhesion Mechanisms and Stress Response Genes in *Lactobacillus acidophilus* 08. *Front. Microbiol.* **12** : 651711, 2021.
6. Bernadette B. Bagon, Valerie Diane V. Valeriano, Ju Kyoung Oh, Edward Alain B. Pajarillo, Ji Yoon Lee *et al.*: Exoproteome Perspective on the Bile Stress Response of *Lactobacillus johnsonii*. *proteomes* **9** (1): 2021.
7. S. S. D'Costa, T. G. Romer, M. D. Boyle : Analysis of Expression of a Cytosolic Enzyme on the Surface of *Streptococcus pyogenes*. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **278** (3): 826-832, 2000.
8. Rémi Terrasse, Ana Amoroso, Thierry Vernet, Anne Marie Di Guilmi : *Streptococcus pneumoniae* GAPDH Is Released by Cell Lysis and Interacts with Peptidoglycan. *PLoS ONE* **10** (4): e0125377, 2015.
9. Hideki Kinoshita, Nozomi Wakahara, Masamichi Watanabe, Tomomi Kawasaki, Hiroki Matsuo *et al.*: Cell surface glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) of *Lactobacillus plantarum* LA 318 recognizes human A and B blood group antigens. *Research in Microbiology* **159** (9-10): 685-91, 2008.
10. Minori Ishida, Fu Namai, Suguru Shigemori, Shoko Kajikawa, Masami Tsukagoshi *et al.*: Ribosome-Engineered *Lactobacillus rhamnosus* Strain GG Exhibits Cell Surface Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase Accumulation and Enhanced Adhesion to Human Colonic Mucin. *American society for microbiology Applied and Environmental Microbiology* **86** (20): e01448-20, 2020.
11. Jiwon Hong, Priscila Dauros-Singorenko, Alana Whitcombe, Leo Payne, Cherie Blenkiron *et al.*: Analysis of the *Escherichia coli* extracellular vesicle proteome identifies markers of purity and culture conditions. *J Extracell Vesicles* **8** (1): 1632099, 2019.
12. Rujiu Hu, Hua Lin, Mimi Wang, Yuezheng Zhao, Haojing Liu *et al.*: *Lactobacillus reuteri*-derived extracellular vesicles maintain intestinal immune homeostasis against lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in broilers. *J Anim Sci Biotechnol* **12** (1): 2021.
13. S. B. Winram, R. Lottenberg : The plasmin-binding protein Plr of group A streptococci is identified as glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. *Microbiology* **142** (Pt 8): 2311-20, 1996.
14. V. Pancholi, V. A. Fischetti : A major surface protein on group A streptococci is a glyceraldehyde-3-phosphate-dehydrogenase with multiple binding activity. *The journal of Experimental Medicine* **176**(2): 415-26, 1992.
15. Hong Jin, Youngmia P. Song, Gregory Boel, Jaspreet Kochar, Vijay Pancholi : Group A Streptococcal Surface GAPDH, SDH, Recognizes uPAR/CD87 as its Receptor on the Human Pharyngeal Cell and Mediates Bacterial Adherence to Host Cells. *journal of Molecular Biology* **350** (1): 27-41, 2005.
16. Kyle N. Seifert, William P. McArthur, Arnold S. Bleiweis, L. Jeannine Brady : Characterization of group B streptococcal glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase: surface localization, enzymatic activity, and protein-protein interactions. *Canadian Journal of Microbiology* **49** (5): 350-6, 2003.
17. Kazuhiko Maeda, Hideki Nagata, Yumiko Yamamoto, Muneo Tanaka, Junko Tanaka *et al.*: Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase of *Streptococcus oralis* functions as a Coadhesin for Porphyromonas gingivalis major fimbriae. *Infect Immun.* **72** (3): 1341-8, 2004.
18. Hakimuddin T. Sojar, Robert J. Genco : Identification of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase of epithelial cells as a second molecule that binds to Porphyromonas gingivalis fimbriae. *FEMS Immunology & Medical Microbiology* **45** (1): 25-30, 2006.
19. L. Egea, L. Aguilera, R. Giménez, M. A. Sorolla, J. Aguilar *et al.*: Role of secreted glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in the infection mechanism of enterohemorrhagic and enteropathogenic *Escherichia coli*: Interaction of the extracellular enzyme with human plasminogen and fibrinogen. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* **39** (6): 1190-203, 2007.
20. H. Kinoshita, H. Uchida, Y. Kawai, T. Kawasaki, N. Wakahara *et al.*: Cell surface *Lactobacillus plantarum* LA 318 glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) adheres to human colonic mucin. *Journal of Applied Microbiology* **104** (6): 1667-74, 2008.
21. 米田 一成, 竹下 晃音, 緒方 美月, 安田 伸, 井越 敬司 *et al.*: 乳酸菌由来菌体表層 GAPDH の A 型血液型抗原結合メカニズムの解明. *ミルクサイエンス* **70** (2): 53-62, 2021.
22. Hideki Kinoshita, Satoko Ohuchi, Kensuke Arakawa, Masamichi Watanabe, Haruki Kitazawa *et al.*: Isolation of lactic acid bacteria bound to the porcine intestinal mucosa and an analysis of their moonlighting adhesins. *Bioscience of Microbiota, Food and Health* **35** (4): 185-196, 2016.
23. Dominique Granato, Gabriela E. Bergonzelli, Raymond David Pridmore, Laure Marvin, Martine Rouvet *et al.*: Cell Surface-Associated Elongation Factor Tu Mediates the Attachment of *Lactobacillus johnsonii* NCC533 (La1) to Human Intestinal Cells and Mucins. *Cellular Microbiology: Pathogen-Host Cell Molecular Interactions* **72** (4): 2160-9, 2004.
24. Keita Nishiyama Ayaka Ochiai, Daigo Tsubokawa, Kazuhiko Ishihara, Yuji Yamamoto *et al.*: Identification and Characterization of

- Sulfated Carbohydrate-Binding Protein from *Lactobacillus reuteri*. *PLoS ONE* **8** (12): e0174257, 2013.
25. Keita Nishiyama, Makoto Sugiyama, Hiroki Yamada, Kyoko Makino, Sayaka Ishihara *et al.*: A new approach for analyzing an adhesive bacterial protein in the mouse gastrointestinal tract using optical tissue clearing. *Scientific Reports* **9** (1): 4731, 2019.
26. Gabriela E. Bergonzelli, Dominique Granato, Raymond D. Pridmore, Laure F. Marvin-Guy, Dominique Donnicola *et al.*: GroEL of *Lactobacillus johnsonii* La1 (NCC 533) Is Cell Surface Associated: Potential Role in Interactions with the Host and the Gastric Pathogen *Helicobacter pylori*. *American Society for Microbiology Infection and Immunity* **74** (1): 425-34, 2020.
27. Ni Putu Desy Aryantini, Daisuke Kondoh, Keita Nishiyama, Yuji Yamamoto, Takao Mukai *et al.*: Anchorless cell surface proteins function as laminin-binding adhesins in *Lactobacillus rhamnosus* FSMM22. *FEMS Microbiology Letters* **364** (6): 2017.
28. B. Sánchez, J.-M. Schmitter, M. C. Urdaci : Identification of novel proteins secreted by *Lactobacillus rhamnosus* GG grown in de Mann-Rogosa-Sharpe broth. *Letters in Applied Microbiology* **48** (5): 618-22, 2009.
29. Yutaka Terao, Masaya Yamaguchi, Shigeyuki Hamada, Shigetada Kawabata: Multifunctional Glyceraldehyde-3-phosphate Dehydrogenase of *Streptococcus pyogenes* Essential for Evasion from Neutrophils. *The Journal of Biological Chemistry* **281** (20): 14215-23, 2005.
30. Rémi Terrasse, Pascale Tacnet-Delorme, Christine Moriscot, Julien Pérard, Guy Schoehn *et al.*: Human and pneumococcal cell surface glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) proteins are both ligands of human C1q protein. *The Journal of Biological Chemistry* **287** (51): 42620-33, 2012.
31. Vaibhav Agarwal, Sven Hammerschmidt, Sven Malm, Simone Bergmann, Kristian Riesbeck *et al.*: Enolase of *Streptococcus pneumoniae* Binds Human Complement Inhibitor C4b-Binding Protein and Contributes to Complement Evasion. *The Journal of Immunology* **189** (7): 3575-84, 2012.
32. Makoto R. Hara, Nishant Agrawal, Sangwon F. Kim, Matthew B. Cascio, Masahiro Fujimuro *et al.*: S-nitrosylated GAPDH initiates apoptotic cell death by nuclear translocation following Siah1 binding. *Nat Cell Biol* **7** (7): 665-74, 2005.
33. Pedro Madureira, Elva Bonifácio Andrade, Bernardo Gama, Liliana Oliveira, Susana Moreira *et al.*: Inhibition of IL-10 Production by Maternal Antibodies against Group B Streptococcus GAPDH Confers Immunity to Offspring by Favoring Neutrophil Recruitment. *PLoS Pathogens* **7** (11): e1002363, 2011.
34. Pedro Madureira, Marina Baptista, Marta Vieira, Vanessa Magalhães, Ana Camelo *et al.*: *Streptococcus agalactiae* GAPDH Is a Virulence-Associated Immunomodulatory Protein. *The Journal of Immunology* **178** (3): 1379-87, 2007.
35. B. J. Prakken, U. Wendling, R. van der Zee, V. P. Rutten, W. Kuis *et al.*: Induction of IL-10 and Inhibition of Experimental Arthritis Are Specific Features of Microbial Heat Shock Proteins That Are Absent for Other Evolutionarily Conserved Immunodominant Proteins. *The Journal of Immunology* **167** (8): 4147-53, 2001.
36. Alexandre M. M. Dias, Romain Douhard, François Hermetet, Mathilde Regimbeau, Tatiana E. Lopez *et al.*: Lactobacillus stress protein GroEL prevents colonic inflammation. *Journal of Gastroenterology* **56** (5): 442-455, 2021.
37. Gabriela E. Bergonzelli, Dominique Granato, Raymond D. Pridmore, Laure F. Marvin-Guy, Dominique Donnicola *et al.*: GroEL of *Lactobacillus johnsonii* La1 (NCC 533) is cell surface associated: potential role in interactions with the host and the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Infect Immun* **74** (1): 425-34, 2006.
38. 米田 一成, 緒方 美月, 西山 啓太, 福田 健二, 安田 伸 *et al.*: *Lactobacillus plantarum* 由来菌体表層グリセルアルデヒド -3-リン酸脱水素酵素の結晶構造解析: 水銀結合メカニズムの解明. *ミルクサイエンス* **68** (1): 3-11, 2019.
39. 木下 英樹, 森下 光貴, 村田 祐太朗, 古閑 史也, 安田 伸 *et al.*: 乳酸菌のカドミウムおよび水銀耐性におけるムーンライティングプロテインの役割に関する研究. *ミルクサイエンス* **69** (1): 11-20, 2020.
40. Veera Hurmalainen, Sanna Edelman, Jenni Antikainen, Marc Baumann, Kaarina Lähteenmäki *et al.*: Extracellular proteins of *Lactobacillus crispatus* enhance activation of human plasminogen. *Microbiology* **153** (Pt 4) : 1112-1122, 2007.
41. Yoshio Katakura, Ryosuke Sano, Takashi Hashimoto, Kazuaki Ninomiya, Suteaki Shioya : Lactic acid bacteria display on the cell surface cytosolic proteins that recognize yeast mannan. *Applied Microbiology and Biotechnology* **86** (1): 319-26, 2010.
42. Belinda Modun, Paul Williams : The Staphylococcal Transferrin-Binding Protein Is a Cell Wall Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase. *American Society for Microbiology Infection and Immunity* **67** (3): 1086-92, 2020.