

Quorum Sensing シグナル物質分解遺伝子の多様性と応用

Diversity and Applications of Quorum Sensing Signal-Degrading Genes

諸星 知広^{1*}, 染谷 信孝², 池田 宰¹

TOMOHIRO MOROHOSHI^{1*}, NOBUTAKA SOMEYA² and TSUKASA IKEDA¹

¹ 宇都宮大学大学院工学研究科物質環境化学専攻 〒321-8585 栃木県宇都宮市陽東 7-1-2

² 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構本部 〒305-8517 茨城県つくば市観音台 3-1-1

* TEL & FAX: 028-689-6176

* E-mail: morohosi@cc.utsunomiya-u.ac.jp

¹ Department of Material and Environmental Chemistry, Graduate School of Engineering, Utsunomiya University, 7-1-2 Yoto, Utsunomiya, Tochigi 321-8585, Japan

² National Agriculture and Food Research Organization, Headquarters, 3-1-1 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8517, Japan

キーワード: クオラムセンシング, アシル化ホモセリンラクトン, 分解, バイオコントロール

Key words: quorum sensing, acylhomoserine lactone, degradation, biocontrol

(原稿受付 2015 年 2 月 5 日 / 原稿受理 2015 年 2 月 11 日)

1. はじめに

人類の繁栄の歴史は、感染症との戦いの歴史でもある。14 世紀に猛威をふるったペストのようなヒトに対する感染症だけでなく、農産物や家畜に対する感染症被害が原因となる食糧危機も甚大な被害の一つと考えられる。これらの被害に対して劇的な効果をもたらしたのが、抗菌物質により直接病原菌を駆除する化学療法である。ペニシリンに代表される抗菌物質は、細菌感染症の治療に絶大な効果を示し、化学農業は農産物の生産性を大幅に向上させた。その一方で、過度な抗菌物質の使用が様々な問題を引き起こしている。病院などでは抗菌物質が大量に使用されることにより薬剤耐性菌が蔓延し、残留農薬は健康や環境への悪影響が指摘されている。そのため、新しい視点に基づいた感染症対策技術が求められてきた。

細菌は、単独で行動しているものと長らく考えられてきたが、多くの細菌が周囲の仲間と互いにコミュニケーションを取り合い、集団として生命活動を行っていることが明らかになってきた。その中でも、細胞間コミュニケーションにより病原性発現を制御する細菌の例が数多く報告されており、コミュニケーションを干渉することにより病原性発現を抑制する試みが注目を集めている。本稿では、細菌細胞間コミュニケーションの一種である、細胞密度依存の情報伝達機構 (Quorum Sensing) に着目し、Quorum Sensing 阻害技術を用いた病原性阻害の可能性について研究成果と共に紹介する。

2. Quorum Sensing による病原性制御

Quorum Sensing とは、細菌がオートインデューサーと呼ばれるシグナル物質を介して周囲の細胞密度を感知し、一定の細胞密度を超えたところで様々な遺伝子の発現を活性化する機構のことである。オートインデューサーの構造は、細菌種によって様々であるが、本研究で対象としたグラム陰性細菌の場合、主にアシル化ホモセリンラクトン (AHL) を用いることが明らかとなっている¹⁴⁾。AHL はホモセリンラクトンに様々な構造のアシル鎖が結合した構造を取り、3 位の炭素にケト基、水酸基が結合した AHL も広く用いられている (図 1)。AHL は、一般的に LuxI ファミリータンパク質と呼ばれる AHL 合成酵素により、S-アデノシルメチオニンとアシルキャリアータンパク質から合成される。細胞内で合成された AHL は、細胞膜を自由に透過すると考えられており、細菌の増殖に従って細胞周囲の AHL 局所濃度が増加する。AHL が一定の濃度を超えると、細胞内に

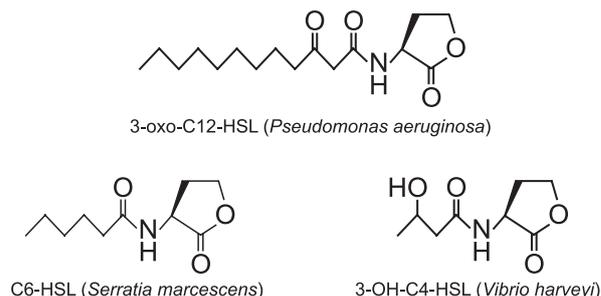


図 1. グラム陰性細菌が生産する AHL の構造例。

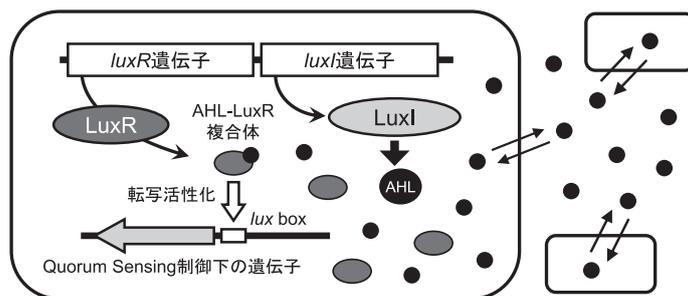


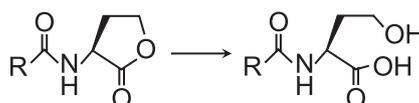
図2. グラム陰性細菌による AHL を介した Quorum Sensing の模式図。

発現した LuxR ファミリータンパク質と呼ばれるレセプターと AHL が複合体を形成する。AHL-LuxR 複合体は *lux box* と呼ばれる特定のプロモーター以下の遺伝子の発現を活性化させる (図2)。Quorum Sensing が注目されている理由として、多くのグラム陰性病原性細菌が病原性因子の発現を Quorum Sensing により制御する点が挙げられる。緑膿菌 *Pseudomonas aeruginosa* は、AHL を介した Quorum Sensing システムを2系統有しており、エラスターゼやラムノリビッド生産、バイオフィーム形成などの各種病原性因子の発現を制御している¹⁾。様々な植物に対する病原性細菌である軟腐病菌 *Pectobacterium carotovorum* は、主要な病原性因子であるペクチナーゼの発現を Quorum Sensing により制御している¹⁾。これらの病原性細菌では、AHL 合成遺伝子を破壊すると病原性発現が大幅に低下することが知られており、Quorum Sensing を阻害することによる病原性抑制技術 (Quorum Quenching と呼ばれる) が大きな注目を集めている。また、基本的に Quorum Sensing の阻害は細菌の増殖には影響を及ぼさないことから、Quorum Sensing 阻害剤に対する耐性菌の蔓延のリスクは低いとも考えられている。

3. AHL 分解による Quorum Sensing 阻害技術

これまでに、様々な手法による Quorum Sensing 阻害技術が提案、研究されてきた。これらの中には、AHL-LuxR 複合体の形成を阻害するような化合物や、AHL を系内から除去する AHL トラップ剤を用いた研究例も含まれるが、AHL を酵素的に分解することで Quorum Sensing を阻害する手法については世界各国で様々な研究が行われ、ここ十数年の間に、AHL を分解する能力を有する細菌が次々に発見されてきた¹⁷⁾。これらの細菌による AHL 分解機構には主に2種類が知られており、AHL のラクトン環を加水分解して開裂する AHL ラクトナーゼと、AHL のアミド結合を切断して脂肪酸とホモセリンラクトンに分解する AHL アシラーゼが代表的な AHL 分解酵素である (図3)。これらの AHL 分解系を用いて病原性細菌の Quorum Sensing を阻害することにより、病原性発現の抑制が可能である。*Bacillus* 属細菌からクローニングした AHL ラクトナーゼ遺伝子である *aiiA* を軟腐病菌に導入すると、自らが生産する AHL が自己分解されて Quorum Sensing が活性化せず、ペクチナーゼ発現が阻害され、病原性が大幅に低下する³⁾。また、*aiiA* をジャガイモやタバコに導入した組み換え

1. AHL ラクトナーゼによる AHL 分解



2. AHL アシラーゼによる AHL 分解

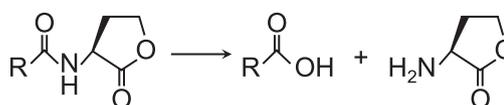


図3. AHL ラクトナーゼ及び AHL アシラーゼによる AHL 分解機構。

作物は、軟腐病菌を接種しても腐敗症状が見られなくなる²⁾。また、AHL 分解細菌と軟腐病菌を共接種することでも Quorum Sensing の阻害が可能であることから⁴⁾、AHL 分解細菌を微生物農薬として用いる技術への応用が期待されている。また、環境中には、AHL 合成細菌と AHL 分解細菌が個々に生息するのではなく、複合微生物系の中で両者が共生してコミュニティを形成していることが明らかになってきた。筆者らの研究グループでは、様々な環境中の複合微生物系から AHL 分解細菌を単離し、それらの細菌を用いた Quorum Sensing 阻害技術について検討を行ってきたので、本稿でその研究成果を報告したい。

4. 植物由来 AHL 分解細菌を用いた Quorum Sensing 阻害

筆者らの研究グループでは、植物の中でも特にジャガイモを対象とし、ジャガイモ表面に生息する細菌群の中から AHL 合成細菌と AHL 分解細菌の分布について解析を行ってきた^{9,16)}。ジャガイモは、平成25年度の統計データでも自給率が7割以上であり、日本国における重要な基幹畑作物の一つである。ジャガイモ栽培に被害をもたらす病原性真菌及び細菌には様々な種類が知られているが、本研究では、その中でも軟腐病菌 *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* にターゲットを置いた。前述のように、軟腐病菌において、ジャガイモを腐敗させる酵素であるペクチナーゼ生産が AHL を介した Quorum Sensing により制御されることから、AHL の人為的な分解により腐敗活性を阻害することが可能である。まず、ジャガイモ葉及び根からランダムに単離した菌株を用い、AHL 分解活性の検証を行った。AHL 分解

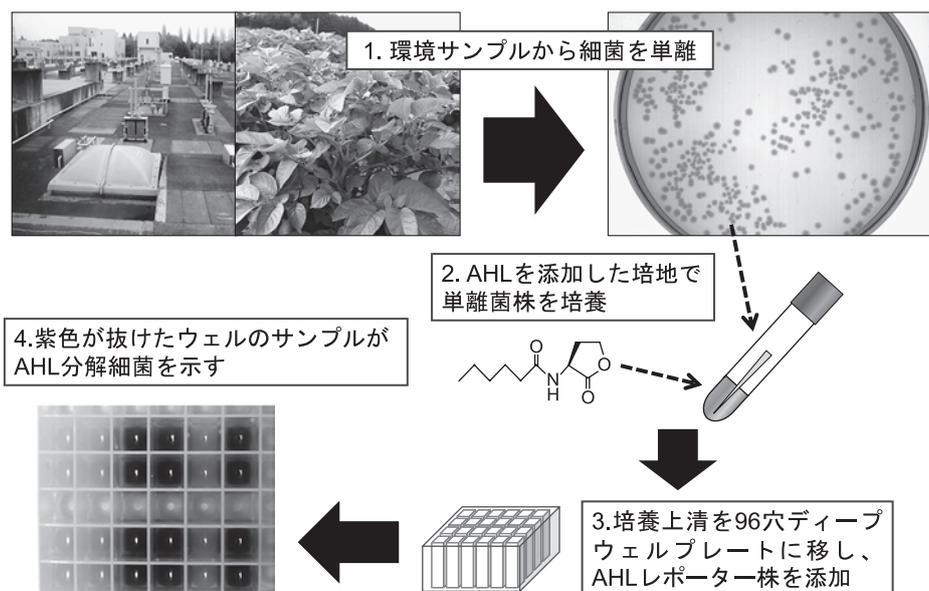
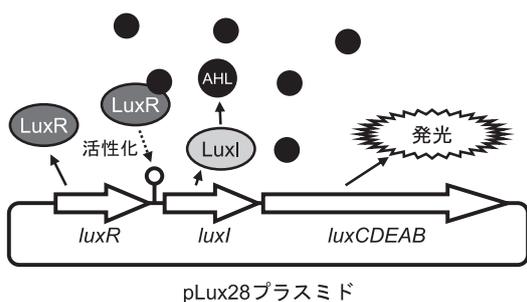


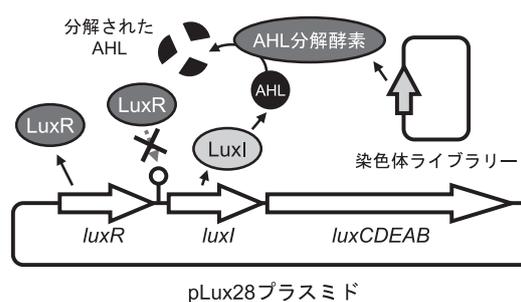
図4. AHL分解細菌のスクリーニング方法の概要。

(1) pLux28プラスミドの導入による大腸菌の発光



pLux28プラスミド

(2) AHL分解遺伝子の導入による発光の消失



pLux28プラスミド

図5. pLux28 プラスミドを用いた AHL 分解遺伝子スクリーニングシステムの概要。

細菌のスクリーニング方法を図4に示す。AHLを混合した培地にジャガイモ単離菌株を接種し、一定時間培養後、培養上清中の残存AHLをAHLレポーター株を用いて検出することによりAHL分解活性を評価した。AHLレポーター株には、外部のAHLに反応して紫色色素(violacein)を生産する*Chromobacterium violaceum* CV026株及びVIR07株を用いた^{5,7)}。AHL分解活性を有しない菌株の場合、培養上清中にAHLが残存しているため、この残存AHLに反応してAHLレポーター株が紫色色素を生産する。それに対し、AHL分解活性を有する菌株の場合、培養上清中にはAHLが残存しないため、AHLレポーター株は紫色色素生産を示さない。この原理を利用して、ジャガイモ葉より分離した406株の中からAHL分解細菌を32株、ジャガイモ根より分離した413株の中からAHL分解細菌を41株単離することに成功した。これらの細菌の16S rRNA塩基配列を決定し、菌種の同定を行ったところ、ジャガイモ葉由来AHL分解細菌は*Microbacterium*属細菌及び*Solibacillus*属細菌が、ジャガイモ根由来AHL分解細菌は*Chryseobacterium*属細菌が主要な構成細菌であることが明らかとなった^{9,15)}。次の項目では、これらの細菌によるAHL分解機構に関する研究例を紹介する。

5. ジャガイモ由来AHL分解細菌からのAHL分解遺伝子のクローニング

まず、ジャガイモ葉から単離した*Microbacterium*属細菌の中から*M. testaceum* StLB037株を用い、AHL分解遺伝子のクローニングを行った。AHL分解遺伝子のクローニングを効率的に行うため、AHL分解を発光強度の減少によって検出可能なレポータープラスミドpLux28を構築した¹⁸⁾。pLux28は海洋性発光細菌*Vibrio fischeri* ES184株のAHL合成遺伝子(*luxI*)、AHLレセプター遺伝子(*luxR*)及び発光遺伝子クラスター(*luxCDABEG*)を有するプラスミドである。pLux28を保有する大腸菌は、自らAHLを生産して反応し、生物発光を示す。その一方で、pLux28とAHL分解遺伝子を共存させた場合、AHLが自己分解されることで生物発光が消失する(図5)。この原理を利用して、StLB037株ゲノムからAHL分解遺伝子のクローニングを試みた。StLB037株の染色体ライブラリーを作成するため、抽出した染色体を*Sau3AI*で部分消化し、3 kbpから10 kbpの断片を*Bam*HIで消化したpUC118とライゲーションさせ、染色体ライブラリーを作成した。染色体ライブラリーとpLux28の両プラスミドを*E. coli* DH5αに

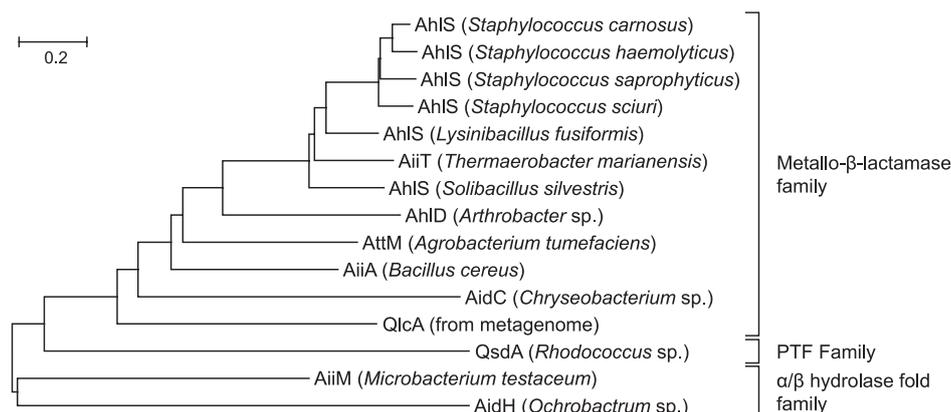


図6. AHL ラクトナーゼのアミノ酸配列を基にした系統解析。括弧内は由来の細菌種または単離源を示す。

形質転換してコロニー形成させ、各コロニーを96穴発光アプリケーションプレートに分注した200 μ lのLB液体培地に植菌し、30°Cで一晩振とう培養を行った。各ウェルの発光強度をプレートリーダーで測定し、発光強度が著しく減少したコロニーをポジティブクローンとして選択した。約3000クローンを調べたところ、一つのポジティブクローンが得られ、このクローンに挿入されたStLB037株染色体断片の塩基配列を決定したところ、断片中には4つのORFが存在し、その中でも*aaiM*と命名した遺伝子のみでAHL分解活性を示すことが明らかとなった¹⁸⁾。*AiiM*により分解されたAHLの構造をHPLC解析により決定したところ、*AiiM*はAHLのラクトン環を加水分解するAHLラクトナーゼとして機能することが明らかとなった。さらに、*aaiM*を軟腐病菌に導入することでAHLが自己分解され、ジャガイモスライスへの腐敗症状を抑制可能であることが明らかとなった。*aaiM*遺伝子ホモログは、今回単離したジャガイモ葉由来*Microbacterium*属細菌株がすべて保有していたが、AHL分解活性が低いカルチャーコレクション由来*Microbacterium*属細菌株は保有していなかったことから、ジャガイモ葉由来*Microbacterium*属細菌株が示す高いAHL分解活性は、*aaiM*遺伝子に起因する可能性が示唆された²⁰⁾。*AiiM*は、既知のAHLラクトナーゼの中で最も主要なタンパク質ファミリーであるMetallo- β -lactamaseファミリーには属さず、 α/β hydrolase foldファミリーに属している(図6)。AHL分解活性を有する α/β hydrolase foldファミリータンパク質に関しては、本研究が世界で初めての報告となる。

次に、ジャガイモ葉から単離した*Solibacillus*属細菌の中から*S. silvestris* StLB046株を用い、新規AHL分解遺伝子のクローニングを試みた。StLB046株に関しては、次世代シーケンサーを用いて全ゲノム配列を決定し、既知のAHL分解酵素のアミノ酸配列を基に相同性検索を行った。その結果、StLB046株ゲノム中に*Bacillus*属細菌由来AHLラクトナーゼ遺伝子(*aaiA*)と相同性を示す遺伝子が存在することが明らかになり、この遺伝子を*ahIS*と命名した¹⁰⁾。*ahIS*も*AiiM*と同様にAHLラクトナーゼとして機能し、ジャガイモ軟腐病菌に導入することで腐敗症状を抑制することが可能である。*ahIS*は、*AiiA*と同じくMetallo- β -lactamaseファミリーに属

するが、系統的な位置が他の*AiiA*型AHLラクトナーゼとは若干異なるだけでなく、国際塩基配列データベースを用いたBLASTサーチを行ったところ、様々な細菌が*ahIS*遺伝子ホモログを有していることが明らかになった。例えば、マリアナ海溝から単離された海洋性好熱菌*Thermaerobacter marianensis* JCM 10246株のゲノム上に*ahIS*相同性遺伝子が存在することが明らかになり、この遺伝子を*aaiT*と命名した。*AiiT*の酵素的性質を調べたところ、AHL分解の至適活性温度は70°C付近と高く、80°Cで10分間のプレインキュベーション後も、50%程度の酵素活性を維持しており、*AiiT*は従来の酵素と比較して熱安定性が高いことが明らかとなった¹¹⁾。また、*ahIS*遺伝子ホモログは、コアグララーゼ陰性ブドウ球菌*Staphylococcus carnosus*、*Staphylococcus haemolyticus*、*Staphylococcus saprophyticus*や、殺虫性タンパク質を生産する種も存在する*Lysinibacillus*属細菌のゲノム中にも存在することが明らかとなり、*AhIS*はMetallo- β -lactamaseファミリーに属するAHLラクトナーゼの中で新たなサブファミリーを形成する可能性が示唆された(図6)。

また、ジャガイモ根から単離した主要なAHL分解細菌である*Chryseobacterium*属細菌は、16S rRNA塩基配列とAHL分解活性の比較から、複数のグループに分類できることを明らかにしている¹⁵⁾。その中でも、最もAHL分解活性が高いグループに属する*Chryseobacterium* sp. StRB126株を用い、前述のスクリーニングシステムを用いてAHL分解遺伝子のクローニングを試みたところ、*aidC*と命名した新規AHL分解遺伝子を取得することに成功した¹⁹⁾。*AidC*も、*AiiA*と同様にMetallo- β -lactamaseファミリーに属するAHLラクトナーゼとして機能するが、系統的には*AiiA*や*AhIS*とは離れたサブファミリーを形成する可能性が示唆された(図6)。

6. その他の複合微生物系からのAHL分解遺伝子のクローニング

筆者らの研究グループでは、植物だけでなく、様々な複合微生物系からもAHL分解細菌のスクリーニング及びAHL分解遺伝子のクローニングを行ってきた。アユ腸内フローラからAHL合成細菌とAHL分解細菌のス

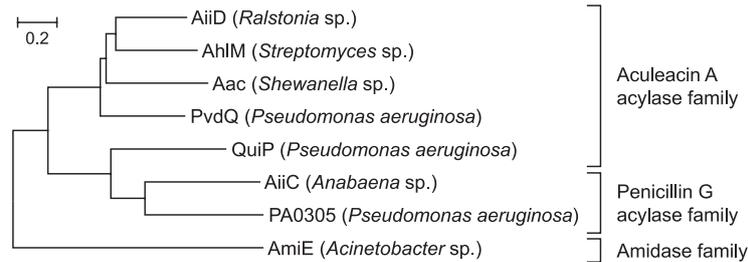


図7. AHL アシラーゼのアミノ酸配列を基にした系統解析。括弧内は由来の細菌種を示す。

クリーニングを行った結果では、AHL 合成細菌としては *Aeromonas* 属細菌が、AHL 分解細菌としては *Shewanella* 属細菌が多数を占めていることが明らかとなった⁶⁾。そこで、アユ腸内フローラ由来 *Shewanella* sp. MIB015 株から AHL 分解遺伝子のクローニングを行ったところ、Aculeacin A acylase と相同性を示す新規 AHL 分解遺伝子 *aac* を取得することに成功した⁸⁾。*Aac* は AHL のアミド結合を切断して分解する AHL アシラーゼとして機能することが明らかになり、*aac* を魚病細菌 *Vibrio anguillarum* に導入すると、AHL 生産及びバイオフィーム形成が阻害されることが明らかとなった。さらに、活性汚泥からも AHL 合成細菌と AHL 分解細菌のスクリーニングを行った。その結果、AHL 合成細菌としては *Aeromonas* 属細菌が大部分であり、AHL 分解細菌としては *Acinetobacter* 属細菌が半数を占めることが明らかとなった¹²⁾。そこで、AHL 分解活性が比較的高い *Acinetobacter* sp. Ooi24 株を対象として AHL 分解遺伝子のクローニングを行ったところ、Amidase ファミリーに属する新規 AHL 分解遺伝子 *amiE* をクローニングすることに成功した¹³⁾。HPLC 解析の結果、*amiE* も AHL アシラーゼとして機能し、*amiE* を緑膿菌に導入することで、AHL により制御されるエラスターゼ活性の発現を阻害することが可能であった。既知の AHL アシラーゼは、Aculeacin A acylase と Penicillin G acylase の 2 種類のタンパク質ファミリーのどちらかに分類されていたが、本研究で明らかにした *amiE* のように、Amidase ファミリーに属する AHL アシラーゼに関する報告は、本研究が初めてである (図7)。

7. おわりに

筆者らの研究グループでは、植物 (ジャガイモ) 表面、アユ腸内フローラ、活性汚泥といった様々な複合微生物系を対象として AHL 分解細菌のスクリーニングを実施し、これらの細菌から数多くの新規 AHL 分解遺伝子をクローニングすることに成功した。また、これらの AHL 分解遺伝子を用いることで、様々なグラム陰性病原性細菌の Quorum Sensing を阻害し、病原性因子の発現を抑制可能であることを明らかにしてきた。環境中には、本稿で紹介した以外にも多種多様な複合微生物系が存在し、さらに多様な AHL 分解細菌や AHL 分解遺伝子が眠っていると考えられる。これらの生物資源、遺伝子資源を発掘することで、より効果的な Quorum Sensing 阻害技術の開発に繋がると考えられ、医療や産業など、様々な分野で活用されることを期待している。

謝 辞

本研究の一部は、生研センターイノベーション創出基盤的研究推進事業、科学技術振興機構 (JST) 戦略的創造研究推進事業 (CREST) の支援を受けて実施しました。この場を借りて御礼申し上げます。

文 献

- 1) de Kievit, T.R. and B.H. Iglewski. 2000. Bacterial quorum sensing in pathogenic relationships. *Infect. Immun.* 68: 4839–4849.
- 2) Dong, Y.H., L.H. Wang, J.L. Xu, H.B. Zhang, X.F. Zhang, and L.H. Zhang. 2001. Quenching quorum-sensing-dependent bacterial infection by an *N*-acyl homoserine lactonase. *Nature.* 411: 813–817.
- 3) Dong, Y.H., J.L. Xu, X.Z. Li, and L.H. Zhang. 2000. AiiA, an enzyme that inactivates the acylhomoserine lactone quorum-sensing signal and attenuates the virulence of *Erwinia carotovora*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 97: 3526–3531.
- 4) Dong, Y.H., X.F. Zhang, J.L. Xu, and L.H. Zhang. 2004. Insecticidal *Bacillus thuringiensis* silences *Erwinia carotovora* virulence by a new form of microbial antagonism, signal interference. *Appl. Environ. Microbiol.* 70: 954–960.
- 5) McClean, K.H., M.K. Winson, L. Fish, A. Taylor, S.R. Chhabra, M. Camara, M. Daykin, J.H. Lamb, S. Swift, B.W. Bycroft, G.S. Stewart, and P. Williams. 1997. Quorum sensing and *Chromobacterium violaceum*: exploitation of violacein production and inhibition for the detection of *N*-acylhomoserine lactones. *Microbiology.* 143: 3703–3711.
- 6) Morohoshi, T., A. Ebata, S. Nakazawa, N. Kato, and T. Ikeda. 2005. *N*-acyl homoserine lactone-producing or -degrading bacteria isolated from the intestinal microbial flora of Ayu fish (*Plecoglossus altivelis*). *Microb. Environ.* 20: 264–268.
- 7) Morohoshi, T., M. Kato, K. Fukamachi, N. Kato, and T. Ikeda. 2008. *N*-acylhomoserine lactone regulates violacein production in *Chromobacterium violaceum* type strain ATCC 12472. *FEMS Microbiol. Lett.* 279: 124–130.
- 8) Morohoshi, T., S. Nakazawa, A. Ebata, N. Kato, and T. Ikeda. 2008. Identification and characterization of *N*-acylhomoserine lactone-acylase from the fish intestinal *Shewanella* sp. strain MIB015. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 72: 1887–1893.
- 9) Morohoshi, T., N. Someya, and T. Ikeda. 2009. Novel *N*-acylhomoserine lactone-degrading bacteria isolated from the leaf surface of *Solanum tuberosum* and their quorum-quenching properties. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 73: 2124–2127.
- 10) Morohoshi, T., Y. Tominaga, N. Someya, and T. Ikeda. 2012. Complete genome sequence and characterization of the *N*-acylhomoserine lactone-degrading gene of the potato leaf-associated *Solibacillus silvestris*. *J. Biosci. Bioeng.* 113: 20–25.
- 11) Morohoshi, T., Y. Tominaga, N. Someya, and T. Ikeda. Characterization of a novel thermostable *N*-acylhomoserine

- lactonase from the thermophilic bacterium *Thermaerobacter marianensis*. J. Biosci. Bioeng. in press. doi:10.1016/j.jbiosc.2014.11.014
- 12) Ochiai, S., T. Morohoshi, A. Kurabeishi, M. Shinozaki, H. Fujita, I. Sawada, and T. Ikeda. 2013. Production and degradation of *N*-acylhomoserine lactone quorum sensing signal molecules in bacteria isolated from activated sludge. Biosci. Biotechnol. Biochem. 77: 2436–2440.
 - 13) Ochiai, S., S. Yasumoto, T. Morohoshi, and T. Ikeda. 2014. AmiE, a novel *N*-acylhomoserine lactone acylase belonging to the amidase family, from the activated sludge isolate *Acinetobacter* sp. Ooi24. Appl. Environ. Microbiol. 80: 6919–6925.
 - 14) Parsek, M.R. and E.P. Greenberg. 2000. Acyl-homoserine lactone quorum sensing in gram-negative bacteria: a signaling mechanism involved in associations with higher organisms. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 97: 8789–8793.
 - 15) Rashid, R., T. Morohoshi, N. Someya, and T. Ikeda. 2011. Degradation of *N*-acylhomoserine lactone quorum sensing signaling molecules by potato root surface-associated *Chryseobacterium* strains. Microb. Environ. 26: 144–148.
 - 16) Someya, N., T. Morohoshi, N. Okano, E. Otsu, K. Usuki, M. Sayama, H. Sekiguchi, T. Ikeda, and S. Ishida. 2009. Distribution of *N*-acylhomoserine lactone-producing fluorescent pseudomonads in the phyllosphere and rhizosphere of potato (*Solanum tuberosum* L.). Microb. Environ. 24: 305–314.
 - 17) Uroz, S., Y. Dessaux, and P. Oger. 2009. Quorum sensing and quorum quenching: the yin and yang of bacterial communication. ChemBioChem. 10: 205–216.
 - 18) Wang, W.Z., T. Morohoshi, M. Ikenoya, N. Someya, and T. Ikeda. 2010. AiiM, a novel class of *N*-acylhomoserine lactonase from the leaf-associated bacterium *Microbacterium testaceum*. Appl. Environ. Microbiol. 76: 2524–2530.
 - 19) Wang, W.Z., T. Morohoshi, N. Someya, and T. Ikeda. 2012. AidC, a novel *N*-acylhomoserine lactonase from the potato root-associated *Cytophaga-Flavobacteria-Bacteroides* (CFB) group bacterium *Chryseobacterium* sp. strain StRB126. Appl. Environ. Microbiol. 78: 7985–7992.
 - 20) Wang, W.Z., T. Morohoshi, N. Someya, and T. Ikeda. 2012. Diversity and distribution of *N*-acylhomoserine lactone (AHL)-degrading activity and AHL-lactonase (AiiM) in Genus *Microbacterium*. Microb. Environ. 27: 330–333.