2SF1

His-Asp リン酸リレー型情報伝達機構の普遍性と多様性
○水野 猛 (名大・院生命農)

生物は進化の過程で「タンパク質のリン酸化を介したシグナル伝達に関して二種類の普遍モード」を確立した。「Ser/Thr/Tyr 残基のリン酸化」であり、「His/Asp 残基のリン酸化」である。環境に応答した細胞機能の統御は、細胞によるシグナル検知→シグナル伝達→応答の遺伝子発現制御に還元できる。この意味で、動物における細胞増殖、分化・発生といった高次機能を統御するシグナル伝達機構の研究は細胞生物学分野の主流をなしている。そこから明らかになった基本概念の一つは、「シグナル伝達の分子基盤は多様なシグナル伝達タンパク質の Ser/Thr/Tyr 残基のリン酸化に集約される」ことであり、主役は「Ser/Thr/Tyr キナーゼ」である。バクテリアの世界ではどうであろう？ 分子生物学勃興の礎を築いた「オベロン説」は、バクテリアにおけるシグナル伝達→応答の遺伝子発現制御の古典的テーマであるが、そこには「タンパク質キナーゼ」は主役として登場しない。しかし、最近の研究から環境センサーとしての各種「His キナーゼ」の存在が明らかとなった。これら一群の His キナーゼはシグナル伝達因子の「Asp 残基」を標的としてリン酸化する。最近の理解では、「His → Asp リン酸リレー型情報伝達機構」はバクテリアにおける環境応答系の本質であると極論しても過言ではない。さらに、この「His → Asp リン酸リレー型情報伝達機構」は酵母・カビといった真核微生物や高等植物にも広く普遍的に存在し、各種の細胞・個体高次機能統御に関わる情報伝達機構の一環として重要な働きをしていることが明らかになりつつある。ここでは「His → Asp リン酸リレー型情報伝達機構」の普遍的分子機構を概観しつつ、大腸菌・酵母・高等植物における「His → Asp リン酸リレー型生体制御」の多様な分子機構について紹介する。

T. Mizuno : Molecular mechanism underlying His-to-Asp phosphorylay

2SF3

大腸菌の浸透圧センサー EnvZ の NMR 構造解析
○田中 俊之 (筑波大・応生)

EnvZ is a transmembrane osmosensor which regulates the production of two major outer membrane porin proteins, OmpF and OmpC in *Escherichia coli*. EnvZ is an autokinase that becomes phosphorylated at His243 by ATP through a transphosphorylation reaction between two EnvZ molecules, and thus is called a histidine kinase. The phosphate group is subsequently transferred to OmpR, which activates this transcription factor to allow the regulation of *ompF* and *ompC* genes. In addition to its autokinase and phosphotransferase activities, EnvZ can also act as a phosphatase that dephosphorylates the phosphorylated OmpR, and thus inactivates OmpR. EnvZ consists of 450 amino acid residues, and its topology is typical of a transmembrane histidine kinase protein: a periplasmic sensor domain (residues 47 to 162), two transmembrane regions (16-46 and 163-179), a linker region (180-222), and a cytoplasmic catalytic domain (223-450). We have started the NMR structural analysis of the cytoplasmic domain to elucidate the molecular mechanism of signal transduction by EnvZ. Here, we present the three-dimensional structures of its N-terminal region (223-289) and His kinase domain (290-450) obtained by multidimensional heteronuclear NMR spectroscopy.

T. Tanaka : NMR Structural Analysis of *Escherichia coli* Osmosensor EnvZ

2SF2

HPtドメインとその蛋白質フォスファターゼの構造と機能
○箱嶋 敏雄 (奈良先端大学院・バイオ)

細胞は外界からの様々な刺激に対して、複雑なシグナル伝達ネットワーク系を制御することにより、柔軟でなめらかな応答をする。ヒスチジンを活性残基とするリン酸転移 (HPt) ドメインは、二成分細胞内シグナル伝達系における新しい機能モジュールとして嫌気性センサー蛋白質 ArcB 中に発見された。これは、HPt ドメインを単体の蛋白質としてもつ酵母の浸透圧センサー系とともに、複数のリン酸転移反応を含む多段階の His-Asp リン酸リレー系という概念の確立に寄与した。一般に、シグナル伝達経路が多段階であることの意義は、各ステップで制御を受けやすくすることであると理解されている。実際、幾つかの His-Asp リン酸リレー系でその様な例が知られており、ArcB の系についても、その HPt ドメインに対して特異的なフォスファターゼ活性を示す蛋白質 SixA (""ヒスチジン蛋白質フォスファターゼ"") が単離されている。本公演では、HPt ドメインと SixA の三次元構造を紹介し、リン酸転移反応や脱リン酸化の触媒活性の機構を述べる。また、この新規な蛋白質フォスファターゼである SixA が他のフォスファターゼとどのような関係にあるのかを論じる。

T. Hakoshima : Structure and function of the HPt domain and its protein phosphatase

2SF4

植物ホルモン、サイトカイニンの情報伝達系におけるヒスチジンキナーゼの役割
○柿本 辰男, 井上 努, 橋本 由香里, 樋口 雅之 (大阪大・院理・生物)

植物ホルモンの一種のサイトカイニンはアデニンの誘導体であり、細胞分裂の誘導や、未分化細胞塊の芽への分化誘導といった作用がある。私たちは、サイトカイニン応答が変化したシロイヌナズナ突然変異体の分離と、その原因遺伝子のクローニングを行っている。突然変異体の分離には二つの方法を用いた。一つは、シロイヌナズナのゲノムのランダムな位置に転写エンハンサーを導入することにより、転写活性化による優性の突然変異体を分離するものである。この方法で、構成的サイトカイニン応答を示す突然変異体を5系統分離した。これらの突然変異体ではCKI1またはCKI2と名づけた遺伝子のどちらかの過剰発現が原因となっている。CKI1は二回膜貫通型のヒスチジンキナーゼ、CKI2は細胞質局在型のヒスチジンキナーゼをコードしている。また、化学的突然変異源を用いた研究では、サイトカイニンに耐性の突然変異体が得られた。その原因遺伝子CKL1をマップベースで同定したところ、膜貫通型ヒスチジンキナーゼをコードしていた。シロイヌナズナではヒスチジンキナーゼをコードする遺伝子が11個あり、そのうち5個はエチレンの受容体である。残り6個が機能未知のヒスチジンキナーゼであるが、これは私たちのサイトカイニン応答を指標にしたスクリーニングで得られた突然変異体の原因遺伝子の3個を含んでいる。私たちの同定したこれら遺伝子の正確な機能はわかっていないが、これら遺伝子の機能解析の試みについても紹介したい。

T.Kakimoto, T.Inoue, Y.Higuchi and Y.Hashimoto : Roles of histidine kinases in cytokinin signal transduction