

## 自己評価報告書

平成23年 5月25日現在

機関番号：33101

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2011

課題番号：20570141

研究課題名（和文） 細菌のカチオン輸送系の構造と機能の研究

研究課題名（英文） Study of bacterial cation transporters, structure and function.

研究代表者

中村 辰之介 (NAKAMURA TATSUNOSUKE)

新潟薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：20114308

研究分野：細胞生物学

科研費の分科・細目：生物系薬学

キーワード：カチオン輸送、交換輸送系、膜タンパク質、細胞内イオン調節、構造と機能

## 1. 研究計画の概要

細菌の K<sup>+</sup>輸送系を主に、その構造と機能を明らかにする。

## 2. 研究の進捗状況

(1) K<sup>+</sup>(Na<sup>+</sup>)/H<sup>+</sup>交換輸送系である大腸菌の ChaA の第2膜貫通領域と第10膜貫通領域に存在する酸性アミノ酸(それぞれ Glu85 と Glu325)に部位特異的に変異を導入し、Glu85がイオン輸送に重要な役割があることがわかった。(2) 複数の膜タンパク質からなる *Vibrio* の Pha1 システムが K<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>交換輸送系であることを明らかにした。複数の膜タンパク質からなる窒素固定細菌 *Shinorhizobium meliloti* の Pha1 システムを pTrcHis2 に組み込み、アンチポーターを持たない大腸菌変異株 TO114 に導入して Pha1 システムが K<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>交換輸送系であることを明らかにした。(3) K<sup>+</sup>輸送系である *Vibrio* の Fku システムの膜タンパク質 FkuB に相同性がある膜タンパク質をコードする大腸菌の *yggT* を pUC19 に組み込み、大腸菌の K<sup>+</sup>取り込み系欠損株に導入すると、低濃度 K<sup>+</sup>培地での生育を補うことが示された。(4) 光合成細菌 *Synechocystis* sp. PCC 6803 は6個の Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporter NhaS1-6 がある。これま

で、この細菌の遺伝子をノックアウトすることでその役割が検討されて来たが、*nhaS3* はノックアウトできず大腸菌の *nhaA* も *nhaS3* を補う事ができなかった。今回、*nhaS3* を大腸菌に導入して NhaS3 は K<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporter 活性が無いことを示し、さらにこのタンパク質が *Synechocystis* のチラコイド膜に発現することを見いだした。NhaS3 はチラコイド膜に発現する Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporter の初めての例である。

## 3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

## 4. 今後の研究の推進方策

K<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporter として初めて報告した NhaP2 の遺伝子 *nhaP2* をノックアウトして、その構造と機能を明らかにする予定である。

## 5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計8件)

1) Fukaya F, Tanaka K, Waditee R, Tanaka Y, Nakamura T, Takabe T. Glutamate 85 is involved in the sodium/proton exchange activity of the *Escherichia coli* ChaA. Biosci Biotechnol Biochem.

有 74, 2010, 1116-1119.

2) Ito T, Uozumi N, Nakamura T, Takayama S, Matsuda N, Aiba H, Hemmi H, Yoshimura T. The implication of YggT of *Escherichia coli* in osmotic regulation. Biosci Biotechnol Biochem. 有 73, 2009, 2698-2704.

3) Fukaya F, Promden W, Hibino T, Tanaka Y, Nakamura T, Takabe T. An Mrp-like cluster in the halotolerant cyanobacterium *Aphanothece halophytica* functions as a Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporter. Appl Environ Microbiol. 75, 6626-6629, 2009.

4) Yamaguchi T, Tsutsumi F, Putnoky P, Fukuhara M, Nakamura T. pH-dependent regulation of the multi-subunit cation/proton antiporter Phal system from *Sinorhizobium meliloti*. Microbiology, 155, 2750-2756, 2009.

5) Tsunekawab K, 他 14名。9番目 Identification and characterization of the Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporter NhaS3 from the thylakoid membrane of *Synechocystis* sp. PCC 6803. J. Biol. Chem. 284, 16513-16521, 2009.

[学会発表] (計5件)

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況 (計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

[その他]