

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 4 月 28 日現在

機関番号：34428

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26292044

研究課題名(和文) 巨大分子輸送ABCトランスポーターの完全立体構造の決定と機能解析

研究課題名(英文) Three-dimensional structure and function of ABC transporter responsible for macromolecule transport in bacteria

研究代表者

村田 幸作 (Murata, Kousaku)

摂南大学・理工学部・教授

研究者番号：90142299

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,700,000円

研究成果の概要(和文)：グラム陰性細菌のABCトランスポーターは、ペリプラズ局在性基質結合タンパク質との相互作用により、基質(特に巨大分子)を細胞外から細胞内に輸送する分子装置である。その場合、基質を結合した基質結合タンパク質は、内膜局在性のATP結合カセット(ABC)トランスポーターと高次複合体を形成し、基質をABCトランスポーターに受け渡す。しかし、基質の受け渡しにおける両者の構造的・機能的相互作用の詳細は不明である。本研究では、Sphingomonas属細菌A1株由来のにおいてABCトランスポーターを対象に、その全容を解明した。

研究成果の概要(英文)：The ABC transporter in gram negative bacterium Sphingomonas sp. A1 functions, under the cooperation with substrate-binding protein present in periplasm, in the transport of macromolecules such as alginate present in milieu into cytoplasm. Through the X ray analysis, we have succeeded in the determination of the complex of ABC transporter and substrate-binding protein, and almost completely solved the molecular mechanism of the transport and its biological significans in microorganisms.

研究分野：応用微生物学

キーワード：ABCトランスポーター X線結晶構造 基質結合タンパク質 ABCタンパク質 アルギン酸 体腔 スフィンゴモナス属細菌

### 1. 研究開始当初の背景

殆ど全ての膜系に局在する ABC トランスポーターは、ATP のエネルギーを用いて物質の膜内外への輸送を担う分子装置である。現在、グラム陰性細菌の低分子物質輸送に関わる ABC トランスポーターの解析が進んでいるが、本研究では *Sphingomonas* sp. A1 株の巨大分子(アルギン酸)輸送 ABC トランスポーター(アルギン酸取り込み装置)の構造機能相関の解析を目指した。この場合、本トランスポ

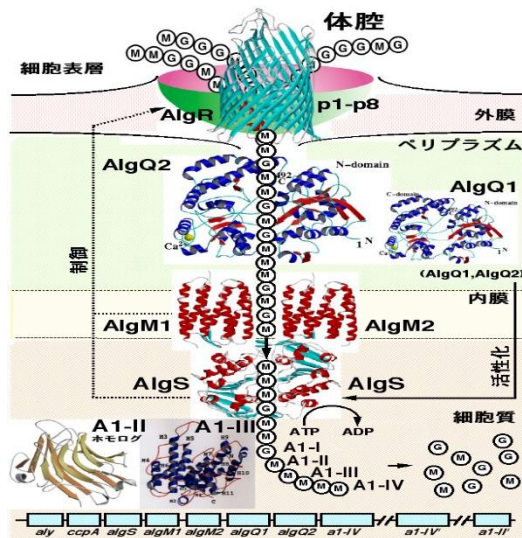


図 1. アルギン酸輸送系

ーターは、ペリプラズム局在の基質結合タンパク質と相互作用する。基質結合タンパク質は、アルギン酸を捕捉し ABC トランスポーターに渡す機能を有し、その際に ABC トランスポーターと一過性の複合体を形成する。この複合体の形成は、輸送活性や ATP 加水分解活性を制御する上で重要なことが明らかにされている。これ迄に約 10 種類の ABC トランスポーターの結晶構造が決定され、基質結合タンパク質と ABC トランスポーターとの複合体形成に関わる構造要因やその低分子物質取り込み機構が明らかにされている。しかし、酸性多糖(アルギン酸)の様な高分子物質の取り込みに関わる ABC トランスポーターや ABC トランスポーターと基質結合タンパク質との複合体の高次構造は決定されておらず、両者の空間的相互作用や高分子物質取り込み機構は不明であった。そこで、A1 株由来のアルギン酸取り込み系 ABC トランスポーターの完全立体構造の決定と機能解析を進めた。同時に、この高分子物質取り込み系他細菌への分子移植にも成功し、本 ABC トランスポーターの応用への途も拓いた。

### 2. 研究の目的

A1 株のペリプラズム局在性基質結合タンパク質は、基質(アルギン酸)を細胞外膜から内膜に輸送する機能を有する。その場合、アルギン酸を結合した基質結合タンパク質は、内膜局在性の ABC トランスポーターと高次複合体

を形成し、アルギン酸を ABC トランスポーターに受け渡す。しかし、アルギン酸の受け渡しにおける両者の構造的・機能的相互作用の詳細は不明である。そこで、A1 株において、アルギン酸輸送に関わる新規な ABC トランスポーターを対象に、基質結合タンパク質と ABC トランスポーターとの複合体の構造と機能を完全に解明し、他の輸送装置との進化的な関連を明らかにする。

### 3. 研究の方法

A1 株の輸送装置(図 1)において、アルギン酸の取り込みに関わるペリプラズム局在の基質結合タンパク質(AlgQ1 または AlgQ2)と細胞内膜局在の ABC トランスポーター (AlgM1/AlgM2/AlgS-AlgS) との複合体(AlgQ1- AlgM1/AlgM2/AlgS-AlgS)を調製し、その高次構造を決定することにより、複合体形成に関わる構造要因(両者の結合に関わる構造変化、輸送空間の特徴、ATP 加水分解シグナルの伝達と輸送機能との相関)、並びにその構造と機能との相関を調べる。この結果に基づき、他の ABC トランスポーターやグルコース輸送体(PTS)との構造的・進化的相関を解析し、本 ABC トランスポーターの生物学的意義も明らかにする。

### 4. 研究成果

#### (1) アルギン酸取り込み細菌

アルギン酸は、β-D-マンヌロン酸 (M) と α-L-グルロン酸 (G) から構成されるヘテロ酸性多糖である。その分子内には、M/G 組成の異なるブロック構造が存在する。A1 株は、細胞表層に巨大な孔「体腔」を形成し、そこにアルギン酸を濃縮した後、アルギン酸を高分子のまま細胞内に輸送する。この輸送では、A1 株が細胞表層に形成する体腔が重要な機能を有する(図 2)。この体腔の形成機構と機能を解析

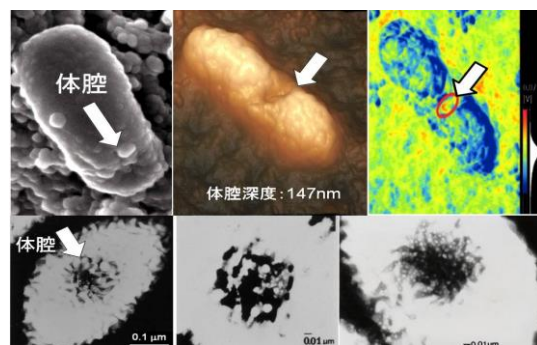


図 2. A1 株の体腔構造

した。複雑、且つ高次の現象であるため、正確な結果は得られなかったが、体腔形成は ABC トランスポーターの発現と同調していること、原子間力顕微鏡での解析では、その窪みの深さは 76~147 nm にも達すること、且つ「体腔」部位は、その周囲よりも高電位にあることが判った。この高電位性が、負電荷を帯びたアルギン酸の濃縮に寄与していると想定された(投稿論文準備中)。体腔は、細胞分裂と同調

した細胞表面分子の流動性と構造柔軟性を示す重要な意義を持つため、細胞生理の観点から更なる解析が待たれる。

## (2) アルギン酸取り込み機構の誘導

体腔形成も含め、アルギン酸の取り込み、輸送、分解に関与する主要なタンパク質の全てはアルギン酸存在下で誘導発現する。就中、AlgM1、AlgM2、AlgS、AlgQ1、AlgQ2、A1-I、A1-II、A1-III、及びA1-IVの発現は、LacIファミリーに分類される転写因子 Alg0 により制御されている<sup>1)</sup>(図1)。Alg0 遺伝子破壊株は、これらのタンパク質を構成的に発現すること、Alg0が上記タンパク質遺伝子群のプロモーター付近に結合すること、並びにアルギン酸オリゴ糖によりその結合が阻害されることから、アルギン酸非存在下では Alg0 が転写抑制に機能し、アルギン酸存在下では Alg0 がプロモーター付近から解離することにより上記の遺伝子群の転写が誘導されることを明確にした。

## (3) アルギン酸輸送系の構造と機能

### ① 細胞表面局在アルギン酸結合タンパク質

細胞表面タンパク質 Alg7 は、アルギン酸との結合・解離能を有し、体腔でのアルギン酸濃縮に機能する。A1 株のゲノムにおいて、Alg7 (SPH726) 遺伝子は、低 pH における鉄 ( $Fe^{2+}$ ) 取り込み Efe 系 (EfeU, EfeO, EfeB) とそれぞれ相同性を示す SPH729, SPH728, SPH727 の遺伝子クラスターの下流に位置す

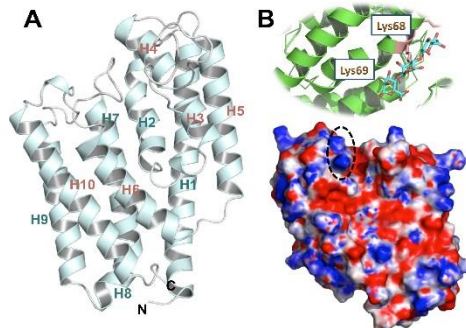


図 3. 細胞表面アルギン酸結合タンパク質 (A) 全体構造。(B) 上, アルギン酸結合部位; 下, 分子表面電荷 (赤, 酸性; 青, 塩基性)。点線楕円, 正電荷クラスター

る。アルギン酸は  $Fe^{2+}$  をキレートすること、及び A1 株が金属をキレートしたアルギン酸ゲルを分解することから、Alg7 は細胞表面でアルギン酸のみならず鉄の取り込みにも関与することが示唆された。実際、Alg7 は鉄結合タンパク質 Efe0 と高い identity (61.8%) を示し、金属結合モチーフ HxxE をもつ。X線結晶構造解析により立体構造を決定した Alg7 は、各々主要な 4 本の up-and-down のヘリックスから成る二つのバンドルから構成される(図3A)。Alg7 のアルギン酸結合に関わる構造要因を明らかにするため、Alg7 とアルギン酸オリゴ糖とのドッキングシミュレーションを行い、アルギン酸結合部位を形成する候補残基

を特定した<sup>2)</sup>(図3B)。それらの残基に部位特異的変異を導入し、変異体のアルギン酸結合能を評価したところ、Lys68 と Lys69 残基が形成する表面正電荷クラスターが酸性多糖アルギン酸との結合に重要であることが分かった。この結合部位に位置する Trp によるスタッキング相互作用も考えられる。一方、示差走査型蛍光定量法により、Alg7 が  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  と結合することが示唆された(投稿論文準備中)。金属結合モチーフは酸性残基に取り囲まれていることから、Alg7 はここでアルギン酸にキレートされた金属イオンと結合する可能性がある。以上のことから、Alg7 が金属をキレートしたアルギン酸から金属とアルギン酸とを分離し、金属を Efe 輸送系に、アルギン酸を ABC トランスポーターに分配する機能することが想定された。

### ② ABC トランスポーター

体腔からペリプラズムに輸送されたアルギン酸は、ペリプラズムに局在する結合タンパク質 (AlgQ1 または AlgQ2: 構造と機能はほぼ同じ) により ABC トランスポーター (AlgM1M2SS) に運ばれる。長鎖アルギン酸の末端数残基を認識する AlgQ1 と M/G 組成の異なる種々のアルギン酸オリゴ糖との複合体の構造解析から、AlgQ1 は、サブサイト 1 では M のみと結合可能な構造を取ることが判った。一般に、アルギン酸の末端糖は全て M であるため、サブサイト 1 が M に特異性を示すことになる。サブサイト 2 に於ける M と G の相互作用について、両者のカルボキシル基は、共通の Tyr379 と相互作用するのに対し、2 位と 3 位の水酸基が

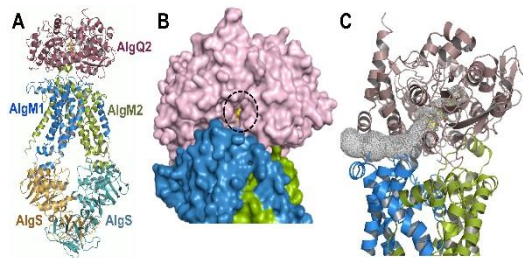


図 4. ABC トランスポーター (A) AlgM1M2SS と AlgQ2 との複合体の全体構造。(B) AlgM1M2 と AlgQ2 との相互作用様式 (点線黒丸, アルギン酸オリゴ糖)。(C) AlgM1M2 と AlgQ2 との接触面に形成されるアルギン酸結合トンネル(網目モデル)。

形成する水素結合は掛け代わっている。同様に、サブサイト 3 でも、M と G の両方を結合する。かかる基質認識の揺らぎが(甘さ)が、アルギン酸(ヘテロ多糖)の認識と結合を可能とする構造的要因であると考えられる。アルギン酸の取り込みに機能する ABC トランスポーター AlgM1M2SS は、四個のサブユニットから構成される。構成タンパク質である AlgS、AlgM1、及び AlgM2 の各遺伝子は A1 株ゲノム上でオペロンを形成する(図1)。このオペロン構造を利用し、AlgM2 に 10 残基からなる His

タグを付加した ABC トランスポーターを調製した<sup>3)</sup>。リポソームに再構成した AlgM1M2SS は、AlgQ2 存在下でのみアルギン酸やそのオリゴ糖の添加により ATP 加水分解活性を上昇させた<sup>3)</sup>。M/G 比の異なるオリゴ糖でも、同レベルの ATP 加水分解活性が検出された。これは、AlgQ2 の基質認識の揺らぎによると考えられる。一方、アルギン酸とは構造を異にするセロトリオースやキトトリオースの添加では、ATP 加水分解活性は上昇しなかった。また、AlgQ2 存在下でプロテオリポソームに蛍光標識(ピリジルアミノ化)したアルギン酸オリゴ糖を添加したところ、AlgM1M2SS の輸送活性と ATP 加水分解活性の上昇が確認された。バナジン酸(ATP 加水分解酵素の阻害剤)は、アルギン酸オリゴ糖の輸送と ATP 加水分解を共に阻害した。以上の結果から、AlgM1M2SS は結合タンパク質 AlgQ2 の存在と ATP の加水分解に依存して、アルギン酸を特異的に輸送する分子装置であることが示された<sup>3)</sup>。

界面活性剤(n-decyl-β-D-maltoside)を用いて精製した ABC トランスポーター改変体 [AlgM1(d24)M2(H10)/SS(E160Q)](AlgM1:N 末端 24 残基を欠失した変異体、AlgM2:C 末端に His を 10 残基付加した変異体、AlgS:Glu160 と Gln に置換した変異体)は、AlgQ2 とアルギン酸オリゴ糖の存在下で、分解能 3.2 Å の X 線回折データを与える結晶を与えた。AlgQ2 と大腸菌由来マルトーストランスポーターの部分構造をサーチモデルとした分子置換により AlgQ2 と ABC トランスポーター<sup>4)</sup>との複合体の初期モデルを構築し、セレノメチオン置換体の構造データも用いて構造精密化を完了した(図 4A)。

AlgM1M2SS/AlgQ2 複合体の全体構造における各サブユニットの構造的特徴は以下の通りである<sup>3)</sup>。膜貫通タンパク質である AlgM1 と AlgM2 は互いに類似したトポロジーを示し、各々約 6 本のヘリックスが膜を貫通する。AlgM2 の 1 本のヘリックスがペリプラズム領域に突出しており、これが結合タンパク質(AlgQ2)との相互作用に重要な領域である。細胞質側のヘリックスは ATPase ドメイン(AlgS-AlgS)との相互作用に重要であり、AlgM1 と AlgM2 の各 1 本のヘリックスが AlgS のポケットに収まる形で、膜貫通タンパク質と ATPase が相互作用する。ATPase 活性を示す ABC タンパク質は、二分子の AlgS が C 末端の制御ドメインで相互作用するような様式で会合した二量体構造をとる。AlgM1 は AlgQ2 の C 末端ドメインと、AlgM2 は AlgQ2 の N 末端ドメインと接触している。AlgQ2 と AlgM1 との界面に長いトンネル構造が存在し、その先端には AlgQ2 に結合した基質アルギン酸オリゴ糖が確認できる(図 4B)。つまり、長鎖多糖であるアルギン酸は、このトンネル構造を介して輸送されることが示唆される。

AlgM1-AlgM2 は、ペリプラズムでアルギン酸オリゴ糖を捕捉した AlgQ2 と閉じた構造で接触しているのに対し、細胞質側の AlgS-AlgS との結合面では開いた形状を示すため、ABC トランスポーターは全体構造として Inward-

facing 構造をとっている。その内腔に於いて、AlgQ2 が長鎖アルギン酸と結合する空間に始まり、大きなスペースが存在する。今回構造決定した ABC トランスポーターは、全体構造としてはマルトーストランスポーター<sup>4)</sup>と類似しているが、局所的には異なった。特に、アルギン酸トランスポーターで認められる基質結合トンネルは、マルトーストランスポーターに存在しない。これは、アルギン酸トランスポーターが長鎖アルギン酸を基質とすることが要因であると考えられる(図 4C)。

### ③ 代謝系の構造と機能

A1 株は、細胞質に輸送されたアルギン酸を、エンド型(A1-I、-II、-III)とエキソ型アルギン酸リアーゼ(A1-IV)の逐次反応により単糖(不飽和ウロン酸)にまで分解する。生じた単糖は非酵素的にピラノース環が開き、α-ケト酸である 4-deoxy-L-erythro-5-hexoseulose uronic acid(DEH)に変換される。これまで、NADPH 依存の DEH 還元活性が *Pseudomonas* 属細菌に見出されていたが<sup>5)</sup>、その酵素や遺伝子の実体は不明であった。A1 は、DEH を 2-keto-3-deoxy-D-gluconic acid(KDG)に還元

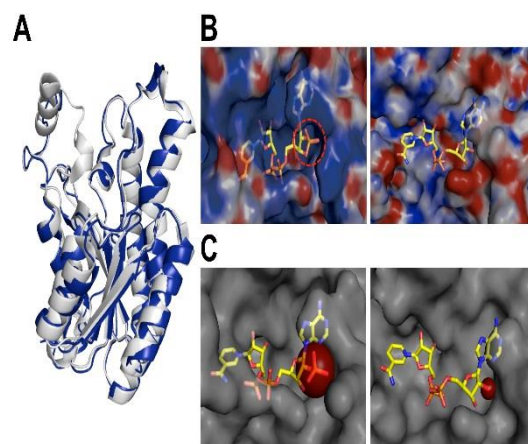


図 5. アルギン酸代謝酵素

(A) 全体構造(灰, A1-R; 青, A1-R')。 (B) 補酵素結合部位における表面電荷(左, A1-R; 右, A1-R'); スティックモデル, 補酵素; 点線赤丸, アデニル酸リボース 2'位のリン酸基)。 (C) 補酵素結合部位における空間容積(赤球)(左, A1-R; 右, A1-R'); スティックモデル, 補酵素)。

する二種類の酵素 A1-R と A1-R' を有していた。両者は、一次構造上互いに類似しており、細菌から動植物に至るまで酸化還元反応に重要な short-chain dehydrogenase/reductase (SDR) ファミリーに分類された。しかし、両酵素の補酵素要求性は厳密に異なり、A1-R は NADPH に、A1-R' は NADH に特異性を示す。尚、酵素反応により生じる KDG は、更にキナーゼ(A1-K)とアルドラーゼ(A1-A)の作用により、グリセルアルデヒド-3-リン酸とピルビン酸に代謝される。X 線結晶構造解析により決定した A1-R と A1-R' の立体構造は、他の SDR ファミリーと同様、α/β/α の三層からなる基本骨格をもつ<sup>6)</sup>

(図 5A)。また、A1-R/NADP<sup>+</sup>と A1-R' /NAD<sup>+</sup>の各複合体の立体構造から、補酵素結合モチーフとして知られる Rossmann fold 部位に補酵素が結合していることを明らかにした。A1-R と A1-R' の補酵素要求性に関わる構造要因を明らかにするため、補酵素のアデニル酸リボース 2' 位結合部位に着目すると、両者の間に空間的および電荷的差異が認められ(図 5B, C)、その構造差を生じる残基は長短二本のループに含まれることが判明した。これらのループをそれぞれ交換した変異体(ex\_W)は、各々野生型酵素とは異なる補酵素要求性を示した。つまり、A1-R\_ex\_W は NADH に、A1-R' \_ex\_W は NADPH に特異性を示す。また、他の SDR ファミリーの立体構造と補酵素要求性との関連を解析した結果、この補酵素結合部位における空間的および電荷的特性と補酵素要求性との相関が、SDR ファミリーに広く保存されていることを明らかにした。

### 結語

A1 株を対象とした細胞生物学と構造生物学を推進することにより、本菌が如何にして酸性多糖であるアルギン酸を取り込むことができるのかをほぼ完全に明らかにした。体腔は、細胞表層に形成される器官であり、負電荷のアルギン酸の濃縮を容易にするため正に荷電している。金属イオンをキレートした不溶性のアルギン酸に対しては、アルギン酸から金属を分離する金属タンパク質が細胞表層で機能することも判った。ペリプラズムでは、アルギン酸に特異性を示すが、M と G の認識に揺らぎがある結合タンパク質が重要な役割を果たしている。細胞質内への取り込みでは、結合タンパク質と ABC トランスポーターの接触面にトンネル状の大きなスペースが形成され、そこを長鎖アルギン酸が通過すると考えられる。取り込まれたアルギン酸は、G と M にそれぞれ特異性を示すエンド型アルギン酸リアーゼ A1-II と A1-III によりオリゴ糖に低分子化され、M と G に非特異的なエキソ型リアーゼ A1-IV により単糖にまで分解される。生じた単糖は非酵素的に DEH に変換され、細胞内補酵素 A1-R または A1-R' の作用を受ける。アルギン酸は最終的にグリセルアルデヒド-3-リン酸とピルビン酸に変換され、TCA サイクルで代謝される。

最近、A1 株にべん毛形成能も見出された。軟寒天培地での経代培養により運動性を示す A1 株細胞は、極単べん毛のみを形成する<sup>7)</sup>。べん毛繊維は、共通のフラジェリンタンパク質により構築される。しかし、フラジェリンタンパク質は一次構造に基づいてグループ化され、極毛繊維と側毛繊維を構成するフラジェリンは極毛型フラジェリンと側毛型フラジェリンに分類される。A1 株細胞の極単べん毛は、極毛型と側毛型フラジェリンの双方を含む複合型であり、他に例がない<sup>6)</sup>。このような特徴的なべん毛繊維を形成する A1 株細胞は、アルギン酸に走化性を示すことも分かり、アルギン酸が走化性の基質となることを初めて明らかにした(投稿論文改訂中)。既に、A1 株の極毛

型フラジェリンがアルギン酸と結合し<sup>7)</sup>、その立体構造からアルギン酸結合部位が予測されているため、べん毛繊維によるアルギン酸認識の可能性も示唆される。

このように *Sphingomonas* sp. A1 株は、体腔形成、巨大分子輸送、特殊鞭毛の形成など、応用微生物学的に有意な細菌である。その総合的な解析により、新たなバイオテクノロジー発展の分子部品が生まれる可能性が期待される<sup>8)</sup>。

### 引用文献

- 1) C. Hayashi, R. Takase, K. Momma, Y. Maruyama, K. Murata & W. Hashimoto: *J. Bacteriol.*, **196**, 2691-2700 (2014).
- 2) K. Temtrirath, K. Murata & W. Hashimoto: *Carbohydr. Res.*, **404**, 39-45 (2015).
- 3) Y. Maruyama, T. Itoh, A. Kaneko, Y. Nishitani, B. Mikami, W. Hashimoto & K. Murata: *Structure*, **23**, 1643-1654 (2015).
- 4) M.L. Oldham & J. Chen: *Science*, **332**, 1202-1205 (2011).
- 5) J. Preiss & G. Ashwell: *J. Biol. Chem.*, **237**, 317-321 (1962).
- 6) R. Takase, B. Mikami, S. Kawai, K. Murata & W. Hashimoto: *J. Biol. Chem.*, **289**, 33198-214 (2014).
- 7) Y. Maruyama, M. Kobayashi, K. Murata, & W. Hashimoto: *Microbiology*, **161**, 1552-1560 (2015).
- 8) Y. Aso, Y. Miyamoto, K.M. Harada, K. Momma, S. Kawai, W. Hashimoto, B. Mikami & K. Murata: *Nat. Biotechnol.*, **24**, 188-189 (2006).

### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 13 件)

- ① Yukie Maruyama, Sayoko Oiki, Ryuichi Takase, Bunzo Mikami, Kousaku Murata, and Wataru Hashimoto: Metabolic fate of unsaturated glucuronic/iduronic acids from glycosaminoglycans. Molecular identification and structure determination of Streptococcal isomerase and dehydrogenase. *J. Biol. Chem.*, **290**:6281-6292 (2015). 査読有. doi:10.1074/jbc.M109.005660
- ② Yukie Maruyama, Takafumi Itoh, Ai Kaneko, Yu Nishitani, Bunzo Mikami, Wataru Hashimoto, and Kousaku Murata: Crystal structure of

bacterial ABC transporter involved in import of acidic polysaccharide alginate. *Structure*, **23**(9), 1643-1654 (2015). 査読有. doi:10.1016/j.str.2015.06.021

- ③ Yukie Maruyama, Masahiro Kobayashi, Kousaku Murata, and Wataru Hashimoto. Formation of a single polar flagellum by lateral and polar bacterial flagellar gene sets in *Sphingomonas* sp. strain A1. *Microbiology*, **161**(8), 1552-1560 (2015). 査読有. doi:10.1099/mic.0.000119
- ④ Shigeyuki Kawai, Kazuto Ohashi, Shiori Yoshida, Mari Fujii, Nobuyuki Sato, and Kousaku Murata: Bacterial pyruvate production from alginate, a promising carbon source from marine brown macroalgae. *J. Biosci. Bioeng.*, **117** (3), 269-274 (2014). 査読有. doi:10.1016/j.jbiosc.2013.08.016
- ⑤ Chie Hayashi, Ryuichi Takase, Keiko Momma, Yukie Maruyama, Kousaku Murata, and Wataru Hashimoto: Alginate-dependent gene expression mechanism in *Sphingomonas* sp. Strain A1. *J. Bacteriol.*, **196**(14), 2691-2700 (2014). 査読有. doi:10.1128/JB.01666-14
- ⑥ Ryuichi Takase, Bunzo Mikami, Shigeyuki Kawai, Kousaku Murata, and Wataru Hashimoto: Structure-based conversion of the coenzyme requirement of a short-chain dehydrogenase/reductase involved in bacterial alginate metabolism. *J. Biol. Chem.*, **289**(48), November 28, 33198-33214 (2014). 査読有. doi:10.1074/jbc.M114.585661

#### 〔学会発表〕(計 13 件)

- ① 高瀬隆一、丸山如江、老木紗予子、三上文三、村田幸作、橋本 渉: 酸性多糖の代謝に関わる還元酵素の補酵素要求性に関する構造要因. 日本農芸化学会 2016 年度大会、2016 年 3 月 30 日 (札幌)
- ② 上西加純、金子あい、丸山如江、水野伸宏、馬場清貴、熊坂 崇、三上文三、村田幸作、橋本 渉: 細菌 ABC トランスポーターの ATP 加水分解は、closed 型の基質結合タンパク質との相互作用によって惹起される」日本農芸化学会関西支部第 493 回講演会、2016 年 2 月 6 日 (京都)
- ③ 丸山如江、立石彬、金子あい、三上文三、橋本 渉、村田幸作: 基質結合タンパク質依存的 ABC トランスポーターによる多糖認識. 日本農芸化学会 2015 年度大会、2015 年 3 月 27 日 (岡山)

④ 小林将大、丸山如江、村田幸作、橋本 渉: *Sphingomonas* 属細菌 A1 株は高分子多糖アルギン酸に走化性を示す. 日本農芸化学会関西支部例会(第 488 回講演会)、2015 年 1 月 31 日 (京都)

⑤ 金子あい、丸山如江、三上文三、村田幸作、橋本 渉: 立体構造に基づくアルギン酸取り込み ABC トランスポーターの機能解析. 日本生化学会 2014 年度(第 87 回)大会、2014 年 10 月 16 日 (京都)

⑥ 小林将大、丸山如江、村田幸作、橋本 渉: 細菌による側毛型フラジェリンを構成因子とする新規な極単ペン毛の形成機構. 日本農芸化学会 2014 年度関西支部大会(第 486 回講演会)、2014 年 9 月 20 日 (生駒)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

#### ○出願状況(計 2 件)

- ① 名称: 糖化ヘキサペプチドオキシダーゼとその利用  
発明者: 小川徳之、木村豪秀、村田幸作、橋本 渉  
権利者: (出願人)協和メデックス株式会社・国立大学法人京都大学  
番号: 国際出願番号 PCT/JP2014/068011  
出願年月日: (国際出願) 2014 年 7 月 7 日  
国内外の別: 国際特許
- ② 名称: 糖化ヘモグロビンの測定方法  
発明者: 小川徳之、榎原美美、木村豪秀、村田幸作、橋本 渉  
権利者: (出願人)協和メデックス株式会社・国立大学法人京都大学  
番号: 国際出願番号 PCT/JP2014/068010  
出願年月日: (国際出願) 2014 年 7 月 7 日  
国内外の別: 国際特許

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

村田幸作 (Murata, Kousaku)  
摂南大学・理工学部・教授  
研究者番号: 90142299

##### (2) 研究分担者

橋本 渉 (Hashimoto Wataru)  
京都大学・(連合)農学研究科(研究院)・教授  
研究者番号: 30273519

丸山如江 (Maruyama Yukie)  
摂南大学・理工学部・助教  
研究者番号: 90397563