

平成19年度科学研究費補助金実績報告書（研究実績報告書）

1. 機関番号 1 4 6 0 3 2. 研究機関名 奈良先端科学技術大学院大学
3. 研究種目名 特定領域研究 4. 研究期間 平成19年度～平成20年度
5. 課題番号 1 9 0 3 6 0 1 5
6. 研究課題名 CHPによるNa⁺/H⁺交換輸送体NHE1の活性制御機構の解明

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
5 0 3 3 3 5 6 3	リガナ ヨジマ, チョウジロウ 児嶋, 長次郎	バイオサイエンス研究科	准教授

8. 研究分担者(所属研究機関名については、研究代表者の所属研究機関と異なる場合のみ記入すること。)

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名
5 0 3 8 1 5 5 4	リガナ ジー, ジュングー Jee, JunGoo	首都大学東京・戦略研究センター	准教授
	リガナ		

9. 研究実績の概要(国立情報学研究所でデータベース化するため、600字～800字で記入。図、グラフ等は記載しないこと。)

下欄には、当該年度に実施した研究の成果について、その具体的内容、意義、重要性等を、交付申請書に記載した「研究の目的」、「研究実施計画」に照らし、600字～800字で、できるだけ分かりやすく記述すること。また、国立情報学研究所でデータベース化するため、図、グラフ等は記載しないこと。

Na⁺/H⁺交換輸送体NHE1はNa⁺濃度勾配をエネルギーとしてH⁺を排出することで細胞内pHなどの調節を行う。増殖因子や発ガン因子による刺激は最終的にNHE1を活性化して細胞をアルカリ化させる。この活性化にはNHE1のC末端細胞質ドメインにカルシニューリンB類似蛋白質CHPが結合することが必須であり、CHPは細胞内pHに依存した活性化制御を行うpHセンサーとして機能することが示唆されている。そこで本研究では輸送活性のpH依存性が異常なCHP1変異体を用い、そのpH依存性をNMRと分子動力学計算により解析することでpHセンシング部位の同定を目指した。また、活性型となる酸性条件下での構造解析を試み、活性型と不活性型の構造の違いからpHセンシング部位とpHに依存した活性制御メカニズムの解明を目指した。

平成19年度はCHP1/NHE1複合体のpHタイトレーション実験を行い、¹H-¹⁵N HSQCスペクトルによる主鎖NHグループの見かけのpKaを決定した。化学シフト変化が大きい部位のアミノ酸を同定し、pHセンシングに関わるアミノ酸を推定した。活性の変曲点がpH 6.5近傍であることと合わせ、ヒスチジン側鎖のpH依存性については主鎖の解析とは独立に特に詳しく検討した。また異常なpH依存性を示す他の側鎖がないか確認実験を行った。輸送活性がアルカリ性側にシフトするCHP1/NHE1変異体について大量発現系を確立するため、分解性のNHE1ペプチドを効率よく発現精製可能な系を立ち上げた。

※ 成果の公表を見合わせる必要がある場合は、その理由及び差し控え期間等を記入した調書(A4 判縦長横書 1 枚)を添付すること。

10. キーワード

- | | | |
|-----------|----------|------------|
| (1) 構造生物学 | (2) NMR | (3) シグナル伝達 |
| (4) タンパク質 | (5) 分子認識 | (6) |
| (7) | (8) | (裏面に続く) |

11.研究発表（平成19年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計（ 3 ）件

著者名	論文標題			
Y. Saito	Enzymatic Characterization of 5-Methylthioribose 1-Phosphate Isomerase from <i>Bacillus subtilis</i>			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
<i>Biosci. Biotechnol. Biochem.</i>	有	71	2007	2021-2028

著者名	論文標題			
K. Hayashi	Structural analysis of phototactic transducer protein HtrII linker region from <i>Natronomonas pharaonis</i>			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
<i>Biochemistry</i>	有	46	2007	14380-14390

著者名	論文標題			
H. L. Wong	Regulation of rice NADPH oxidase by binding of Rac GTPase to its N-terminal extension			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
<i>Plant Cell</i>	有	19	2007	4022-4034

〔学会発表〕 計（ 0 ）件

発表者名	発表標題	
学会等名	発表年月日	発表場所

〔図書〕 計（ 1 ）件

著者名	出版社		
児嶋長次郎	共立出版		
書名	発行年	総ページ数	
基礎から学ぶ構造生物学	2008	216	

12. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

〔出願〕 計（ 0 ）件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別

〔取得〕 計（ 0 ）件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別

13. 備考

※ 研究者又は所属研究機関が作成した研究内容又は研究成果に関するwebページがある場合は、URLを記載すること。

--