

29AB-pm249

ハイブリッドセンサーキナーゼにおけるリン酸基転移反応の制御機構
～レシーバードメインによるリン酸化レベルの負の制御機能～
○木下 英司¹, 木下 恵美子¹, 小池 透¹ (¹広島大院医歯薬)

ハイブリッドセンサーキナーゼは, histidine kinase (HK) ドメイン, レシーバードメイン, histidine-containing phosphotransmitter (HPt) ドメインの3つのドメインを持ち, 対応するレスポンスレギュレータータンパク質に, 細胞外からの情報をリン酸基転移反応によって伝達する。その反応は, His → Asp → His → Asp と1つのリン酸基がリレーされる多段階反応である。私たちは, 大腸菌由来ハイブリッドセンサーキナーゼの EvgS における *in vitro* リン酸基リレー反応を行い, Phos-tag SDS-PAGE を用いて, 各ドメインのリン酸化を経時的, 定量的に解析した。レシーバードメインの Asp を Ala 置換した場合, HK ドメインの His のリン酸化量が顕著に増加することがわかった。この現象は, 他の大腸菌ハイブリッドセンサーキナーゼである ArcB と BarA でも同様に観察された。十分量の ATP 存在下では, それらの Ala 置換変異体における HK ドメインの His は, 擬一次反応によってリン酸化され, 60 分以内に 95% がリン酸化され定常状態に達した。一方, HPt ドメインの His を Ala 置換した変異体においては, 野生型と同様に, HK ドメインの His とレシーバードメインの Asp のリン酸化の合計が 25% で定常状態に達し, 10 分以降は, その割合が減少した。これらの結果から, レシーバードメインがリン酸基リレー反応における分子全体のリン酸化量を制御していると考えられた。さらに, *in vivo* においても, レシーバードメインの Asp を Ala 置換した EvgS 変異体では HK ドメインの過剰なリン酸化量が観察されたことから, *in vitro* における反応機構の解析結果の正当性が裏付けられた。以上より, 2成分伝達系におけるハイブリッドセンサーキナーゼの複雑なリン酸基転移反応の必要性を考察するうえで, Phos-tag SDS-PAGE を用いた定量解析は, 重要な示唆を与えた。