

特集：膜輸送ナノマシンの構造・作動機構と制御

プロトンポンプ ATPase：一分子から多彩な機能まで

中西（松井）真弓¹，平（藤井）郁子²，二井将光¹

F型 ATPase (F_0F_1) は、細菌から哺乳類まで広く分布する ATP 合成酵素である。細菌の形質膜やミトコンドリア内膜に存在し、それぞれの膜内外に形成されたプロトン濃度勾配を駆動力として、ATP を合成している。大きく分けて二つのドメイン、膜の内外へプロトンを輸送するチャンネル部分 (F_0) と、ATP の分解や合成を行う触媒中心を持つ部分 (F_1) から構成されている。プロトン輸送と触媒活性は、サブユニットの回転を通じて共役している。一方、F型 ATPase と類似の構造を持つ V型 ATPase は、細胞内オルガネラ膜や組織特異的な形質膜に局在し、ATP を分解してプロトンをオルガネラ内あるいは細胞外に輸送し、酸性環境を形成している。V型 ATPase は、オルガネラ内の酸性度の違いや細胞分化に対応して多彩なアイソフォームを持つ点が、F型 ATPase とは異なっている。本稿では、二つの ATPase の反応機構と多様性について、著者らの最近の知見を紹介する。

1. はじめに

F型 ATPase (F_0F_1) は、細菌の形質膜やミトコンドリア内膜に存在し、それぞれの膜内外に形成されたプロトン濃度勾配を駆動力として、ATP を合成している。この酵素は、大きく分けて二つのドメインからなる。膜内在性の F_0 部分 (ab_2c_{10-14}) は膜の内外へプロトンを輸送するチャンネルであり、膜から突出した F_1 部分 ($\alpha_3\beta_3\gamma\delta\epsilon$) は ATP 分解、あるいは合成を行う触媒活性を備えている (図 1a)。活性中心を持つ β サブユニット 3 分子は、 α サブユニット 3 分子と共にヘキサマー構造を形成し、その中央に γ サブユニット 1 分子が存在する。複数の c サブユニットは会合してリング構造となり、 a サブユニットと共にプロトン輸

送路を形成している。プロトン輸送と触媒活性は、サブユニットの回転を通じて共役している。F型 ATPase は細菌から哺乳類まで広く分布し、その構造はよく保存されている (ただし、リングを形成する c サブユニットの数は 10-14 個と種により異なっている)。すなわち、種を超えて、同一の機構により ATP が合成されている。

一方、F型 ATPase と類似の構造を持つ V型 ATPase は、細胞内オルガネラ膜や組織特異的な形質膜に局在し、ATP を分解してプロトンをオルガネラ内あるいは細胞外に輸送し、固有の酸性環境を形成している。V型 ATPase は、F型 ATPase と同様に、膜内在性の V_0 部分と触媒活性を担う V_1 部分から構成されているが (図 1b)、オルガネラ内の酸性度の違いや細胞分化に対応して複数のアイソフォームを持つ点は F型 ATPase と異なっている。V型 ATPase は、細胞内外の多様な酸性環境を実現するため、豊かなバリエーションを揃えたと考えられる。

本稿では、二つの ATPase の反応機構と多様性について、著者らの最近の知見を中心に紹介する。

2. ゆらぎを持つ ATPase

1) 回転する F型 ATPase

F型 ATPase は、触媒活性とプロトン輸送をサブユニットの回転により共役させている¹⁻⁵⁾。すなわち、Paul Boyer

¹ 岩手医科大学薬学部機能生化学講座 (〒028-3694 岩手県紫波郡矢巾町西徳田 2-1-1)

² 帝京大学薬学部病態生化学教室 (〒199-0195 神奈川県相模原市相模湖町寸沢嵐 1091-1)

Proton pumping ATPases: from single molecule analysis to diverse biological functions

Mayumi Nakanishi-Matsui¹, Ikuko Fujii-Taira², and Masamitsu Futai¹ (¹Faculty of Pharmaceutical Sciences, Iwate Medical University, 2-1-1 Nishi-tokuta, Yahaba, Iwate 028-3694, Japan; ²School of Pharmaceutical Sciences, Teikyo University)

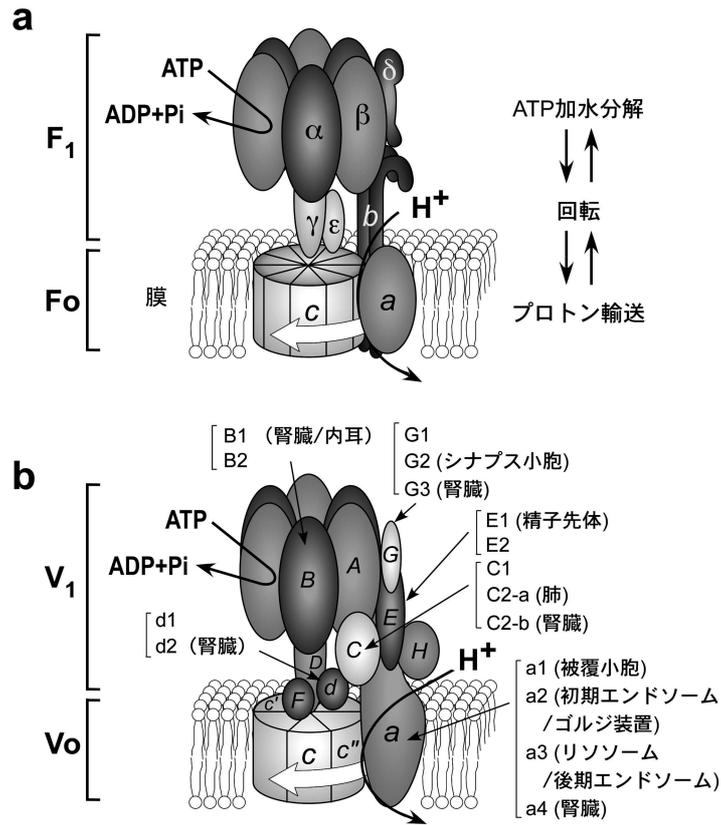


図1 F型ATPaseとV型ATPase

- a) F型ATPaseを模式的に示す。膜内在であるF₀部分と膜から突出したF₁部分から構成されている。ATPの分解あるいは合成は、εγ_{C10-14}の回転を通してプロトン輸送と共役している。リング構造をつくるcサブユニットの数は種により10-14個と異なっている。
- b) V型ATPase。F型ATPaseと同様にV₀とV₁の二つのドメインからなる。組織特異的、あるいはオルガネラ特異的に局在するアイソフォームを示した。

により binding change mechanismとして提唱された機構によって作動している²⁾。BoyerのモデルはF型ATPaseの3箇所の活性中心が協同的にATP合成反応を進める機構を説明している。ATPの形成にエネルギーは不要であり、エネルギーの必要なステップであるADPとPiの結合、ATPの遊離に対応してγサブユニットが相対的に120°ずつ回転しているというモデルである。

これまでに、binding change mechanismを支持する多くの実験結果が得られている。Boyerがまとめているように、例えば3箇所の活性中心のうち1箇所が化学修飾を受けると、定常状態の活性がなくなる²⁾。変異によって定常状態の活性を失ったαあるいはβと、正常のαあるいはβを組み合わせてα₃β₃γという複合体を再構成したところ、一つでも活性を失ったサブユニットが入るとα₃β₃γには定常状態の活性がなくなった。また、βとγが相互作用する位置にCys残基を導入し、βとγをジスルフィド結合でつなぐと定常状態のATPase活性はなくなる⁶⁾。こうし

た結果から、γがα、βに対して回転していることが示唆された。さらに、X線結晶構造解析により明らかにされた構造は、このモデルを強く支持している⁷⁾。

直接的な方法によって、γサブユニットの連続的な回転を示したのはNojiらである⁸⁾。彼らは、βサブユニットに導入した複数のヒスチジン残基を介して好熱菌のF₁をガラス面に固定し、γサブユニットのN末端にアクチンフィラメントを結合させた。ATPを添加するとフィラメントが反時計方向に回転した。この回転には120°のステップがあり⁹⁾、金粒子等をプローブに用いて、ステップはさらに80°と40°のステップに分けられた¹⁰⁾。ATPが結合すると80°回転し¹⁰⁾、ATPが分解され分解産物が遊離すると40°回転する^{11,12)}。回転に伴って発生するトルクは約40 pN・nmで⁸⁾、ATPの加水分解から回転に至るエネルギー効率がきわめて高いことが明らかになった。また、γサブユニットの回転は、FRET (fluorescence resonance energy transfer) によっても示された¹³⁾。

著者らは独立に大腸菌の γ サブユニットの回転を解析する実験系を確立し、大腸菌の F_1 においても γ サブユニットが回転することを示した¹⁴⁾。また、F型ATPase分子全体の回転を観察する一連の実験を行った。精製したF型ATPase (F_1F_0) を、 α あるいは β サブユニットを介してガラス面に固定し、 c サブユニットにアクチンフィラメントを結合させて、 F_1 の場合と同様の反時計方向の回転を観察した^{15,16)}。逆に c サブユニットを固定し、プローブを α あるいは β サブユニットに導入しても同様の回転が見られた¹⁷⁾。さらに、 c サブユニットを介して大腸菌の膜断片をガラス面に固定した場合も、ATPの加水分解に伴って a サブユニットが反時計方向に回転した^{18~20)}。以上の結果から、 γ と c_{10} が一体となって他のサブユニットに対して相対的に回転することが明らかになった。

2) 回転の確率的なゆらぎ

観察のプローブとしてアクチンフィラメントを用いると、回転速度は毎秒およそ10回転程度で、ATP分解活性から予想される回転速度よりも遅かった。これは、長さ約1 μ mのフィラメントにより生じる大きな粘性抵抗のためである。そこで、プローブを直径40–200nmの金粒子に変えて速度を求めた(図2a)²¹⁾。金粒子の直径が小さくなるにつれて速度は上昇し、40nmと60nmの金粒子ではおよそ同じ速度(毎秒約400回転)であった。すなわち、40nm

と60nmの金粒子の速度は、負荷のない状態の γ サブユニットの速度に近いことを示唆している。250ミリ秒間観察した場合の平均速度は毎秒380回転で、ATP分解速度から予想された速度のほぼ10倍だった。これは、ミリ秒という短い時間単位では10%程度の F_1 分子が回転していることを示唆している。2秒間観察すると、それぞれの金粒子がランダムに休止と回転を繰り返しており、全ての F_1 分子が休みなく同じ速度で回転し続けるわけではないことが示された(図2b)²²⁾。

経時的に観察すると、回転速度が時間経過に伴い変化していることが分かる。こうした“ゆらぎ”の度合いを知るために、10ミリ秒ごとに速度を求めヒストグラムに表した²¹⁾。結果は、正規分布を示し、回転が確率的にゆらいでいることが明らかになった。直径60nmの粒子の場合、平均は毎秒約400回転であるが、速度の分布は0から800回転に及んだ。大きさの異なる金粒子間で速度のばらつきを標準化すると、40–200nmの金粒子でほぼ同じ値を示した。すなわち、回転のゆらぎの度合いは金粒子の大きさに依存しなかった²³⁾。

しかし、複数の金粒子の結果から得たヒストグラムは、ゆらぎと同時に金粒子間の差を含んでいる可能性があった。また、F型ATPaseにはMg-ADP阻害と考えられる長い休止があり、速度の頻度分布に大きな影響を与える可能性があった。そこで、ゆらぎを観察する指標として、“1

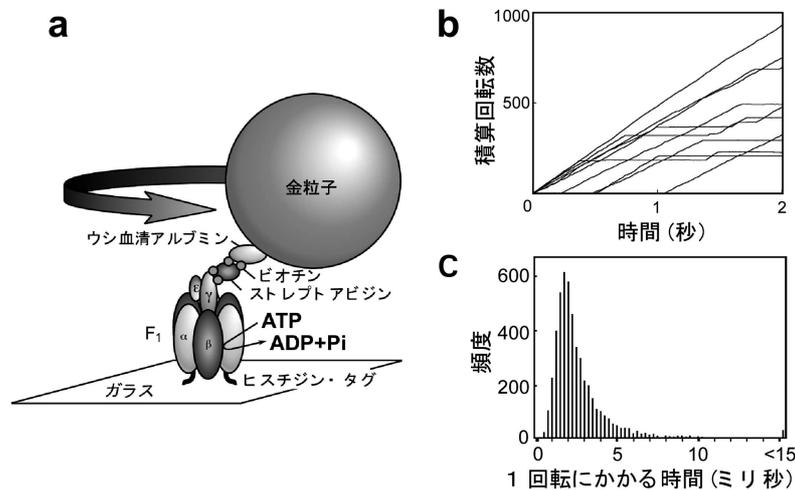


図2 回転のゆらぎ

- 回転実験系。 α サブユニットに導入したヒスチジン残基を介し、 F_1 をガラス面に固定した。プローブとして直径60nmの金粒子を γ サブユニットに結合させ、24 $^{\circ}$ C、2mM ATP存在下で反時計方向の回転を観察した。
- 回転の経時的観察。回転した金粒子の中から10個を無作為に選んだ。Mg-ATP阻害と考えられる0.1秒以上の休止が、しばしば観察された。
- 1回転にかかる時間。1回転にかかる時間をヒストグラムに表した。幾何平均は2.3ミリ秒、平均速度(1回転にかかる時間の逆数)は毎秒440回転であった。

回転にかかる時間”を比較した。得られたヒストグラムは、回転が確率的にゆらぐことを示している(図2c)²²⁾。また、一分子の粒子から得られたヒストグラムは、複数の粒子のものとはよく一致した。すなわち、個々の粒子は同様のゆらぎを示していた。FRETによる実験でも観察されており²⁴⁾、確率的ゆらぎは、F₁本来の性質であると考えられる。

3) 回転の機構

F₁を構成するサブユニットの一種であるεは、ATP分解活性を阻害する。しかし、アクチンフィラメントをプローブとすると、εの存在にかかわらず発生するトルクの大きさは同程度であった(三本木ら未発表)。そこで、粘性抵抗の小さい金粒子をプローブとしたところ、εの添加により回転速度がおおよそ半分になった²¹⁾。経時的に観察すると、εの添加により休止時間が長くなっていた。すなわち、εは休止時間を長くすることによって、回転速度を低下させ、ATP分解活性を阻害することが示唆された。

さて、触媒活性とエネルギー共役の機構は、大腸菌の遺伝学を利用して解析されてきた。βサブユニットの174番目のセリン(βSer174)を異なるアミノ酸に置換した一連の変異体は、構造活性相関に興味深い知見を与えた。変異体のATP分解活性は、アミノ酸の側鎖が大きいかほど低くなった²⁵⁾。すなわち、PheやLeuに置換するとATP分解活性は野生型の10%になり、逆に、GlyやAlaでは、それぞれ150、120%の活性を示した。βSer174はβシート4に存在し、αヘリックスBのβIle163やβIle166に隣接する(図3a)。したがって、βSer174残基の変異は、立体的な障害となってβシート4からαヘリックスBの領域の高次構造に影響を与えらる。

βSer174PheやβSer174LeuによるATP分解活性の低下は、二つ目の変異βGly149AlaあるいはαArg296Cysの導入により抑圧された^{26,27)}。βGly149は、ヌクレオチドが結合するP-ループに存在し、この領域の高次構造はATPの結合時と非結合時で大きく変化する(図3a, b)。抑圧されるという結果は、βシート4とP-ループ、あるいはαサブユニットとβサブユニットの相互作用が定常状態のATP分解活性に重要であることを示している。

これらの変異株の回転を、アクチンフィラメントをプローブとして観察したところ、発生するトルクの大きさはATP分解活性と対応しなかった²⁸⁾。そこで、直径60nmの金粒子を用い1回転にかかる時間を解析した(図3c)²²⁾。βSer174PheあるいはβSer174Leu変異体の1回転にかかる時間の幾何平均は、それぞれ13.9と24.4ミリ秒で、野生型の2.3ミリ秒に比べ、6から10倍長かった。この結果は、変異体のATP分解活性が、野生型の10%であることに一致している。一方、抑圧変異を導入した酵素βSer174Phe/βGly149AlaとβSer174Leu/βGly149Alaの1回転にか

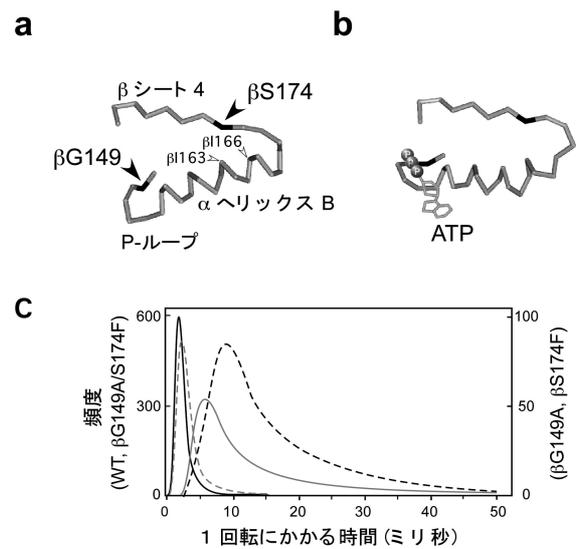


図3 βSer174変異体の回転

- βサブユニットのβシート4からP-ループまでの領域(ヌクレオチド非結合時)。ウシF₁のX線結晶構造解析の結果⁸⁾を基にした。βサブユニットのアミノ酸はウシと大腸菌で71.7%一致している。βSer174は、αヘリックスBのβIle163、βIle166と隣接している。βGly149は、リン酸基が結合するP-ループに存在する。
- ATP結合時の構造。活性中心へのATPの結合により、構造は大きく変化する。
- 1回転にかかる時間。ヒストグラムの近似曲線を示す。野生型を黒の実線、βSer174Pheを灰色の実線、βSer174Phe/βGly149Alaを灰色の点線、βGly149Alaを黒の点線でそれぞれ示す。

かる時間は、野生型と同程度であった。以上の結果は、P-ループからβシート4の領域全体の構造変化が、回転速度に重要であることを示唆している。

回転は3箇所の触媒中心と対応して、ミリ秒単位の休止と約120°の速い運動からなり、これが3回繰り返されて1回転となる。上の実験ではATP濃度がK_m値の約30倍なので、休止はATPが触媒中心に結合するまでの時間ではなく、ATPが分解されADP/Piが遊離されるまでの時間と考えられる。βSer174PheやβSer174Leuの変異体では休止の時間が野生型より長くなっており、ATPを分解しADP/Piを遊離するのに時間がかかることが示唆された。すなわち、変異体はヌクレオチド結合時の構造(図3b)で長く止まっていると考えられる。

3. 多彩なオルガネラのプロトンポンプV型ATPase

1) 多彩なオルガネラのV型ATPase

V型ATPaseはF型ATPaseと類似しているが、細胞学的、生物学的に多くの点で異なっている。しかし、両者ともに回転を伴うプロトンポンプとして、それぞれの研究が相補的に進んできた点も多い。以下にV型ATPaseの生物

学的知見について要約したい^{29,30)}.

V型ATPaseは、大きく分けて膜内在部分と膜表在部分の二つのドメインからなり、13種のサブユニットから形成されている(図1b). 全体の構造がF型ATPaseとよく似ており、膜表在部分はV_i、膜内在部分はV_oと呼ばれている. オルガネラ内腔、あるいは細胞外へとプロトンを輸送していることに対応し、V_i部分がオルガネラ膜の外側、あるいは形質膜の内側に位置している. 触媒中心を持つサ

ブユニットA、プロトン輸送路サブユニットc、c'、c''等は、それぞれF型ATPaseのβ、cによく似ている. さらに、二つのATPaseで触媒中心近傍のアミノ酸残基は保存されており、反応機構も類似していると考えられる. また、F_oのcサブユニットと同様にc、c'、c''サブユニットがリング構造を形成していると考えられる. F_oのaサブユニットとV_oのaサブユニットの間で、一次構造はほとんど保存されていないが、F型ATPaseのプロトン輸送に

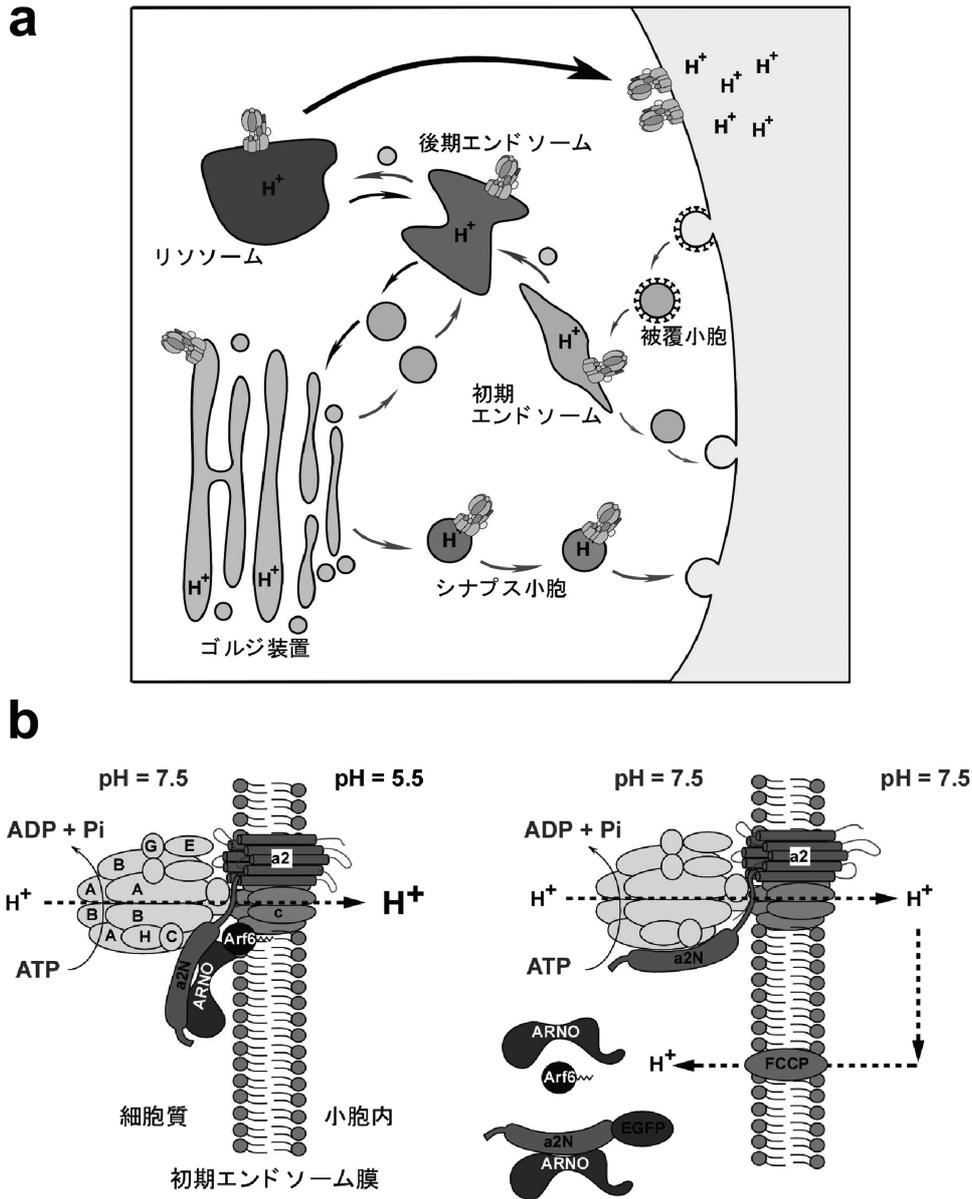


図4 多様な酸性オルガネラとV型ATPaseのアイソフォーム

a) 細胞内の酸性オルガネラを模式的に示す. オルガネラの内腔は、それぞれの機能に対応した酸性環境になっている.

b) a2アイソフォームを持つV型ATPaseの腎臓での機能. a2を持つV型ATPaseは、近位尿管上皮細胞の初期エンドソームに局在する. a2のアミノ末端は酸性pH依存にARNOと、cサブユニットはArf6とそれぞれ結合し、小胞の移動に関与する. この結合は、脱共役剤であるFCCP、あるいは、a2のアミノ末端部分の存在下で阻害された.

関与する Arg210 に対して、V 型 ATPase には Arg735 が存在する。

機能の異なる多彩な酸性オルガネラに対応して、哺乳類の V 型 ATPase サブユニットには多くのアイソフォームが存在している (図 1b)。我々は、*a* サブユニットには *a1*, *a2*, *a3*, *a4* のアイソフォームがあり、マウスでは *a1* は被覆小胞に、*a2* はゴルジ装置と初期エンドソームに、*a3* はリソソームと後期エンドソームに、普遍的に存在していることを示した^{31,32)}。一般的には V 型 ATPase は形質膜に局在しないが、*a3* アイソフォームを持つ V 型 ATPase が破骨細胞³¹⁾、*a4* アイソフォームを持つ V 型 ATPase が尿細管の介在細胞³²⁾の、それぞれ形質膜に局在している。

この他、多数の組織特異的なアイソフォームが各サブユニットに存在する。例えば、*B* サブユニットのアイソフォームの *B2* は広く分布しているが、*B1* は腎臓と内耳に局在しており、変異によって腎性アシドーシスと難聴を来す³³⁾。アイソフォームを持つサブユニットはストークの部分によく見られる。*G3* および *C2-b* は腎に、*G2* はシナプス小胞に、*E1* は精子の先体と精巣に、*C2-a* は肺に、それぞれ局在する^{34~37)}。マウスのアイソフォームと酵母のハイブリッド V 型 ATPase の解析から、アイソフォームによって H^+/ATP 比の違いなどが示されている。アイソフォームにより回転機構に違いがあるかどうか、興味深い。また、それぞれのアイソフォームの局在の機構にも関心が持たれる。

2) 尿細管上皮細胞の V 型 ATPase

多細胞生物の細胞内には膜で囲まれた多彩なオルガネラ

が存在し (図 4a)、それぞれの内腔は機能に対応した酸性環境となっている。初期エンドソームは pH 6.3、後期エンドソームは pH 6.0、ゴルジ装置は pH 6.0–6.7、リソソームは pH 5.5 に調節されている。著者らは、Marshansky らとの共同研究により、腎臓の V 型 ATPase について興味深い知見を得た^{38,39)}。

腎臓の近位尿細管上皮細胞では、エンドサイトーシスによるタンパク質の再吸収が盛んに行われている。マウス近位尿細管細胞に蛍光標識したウシ血清アルブミンを投与すると、再吸収が観察されるが、V 型 ATPase の阻害剤や脱共役剤を添加すると、再吸収は阻害された。この結果は、尿細管に於けるタンパク質の再吸収に V 型 ATPase が関与することを示唆している。再吸収を行う小胞に局在する *a* サブユニットのアイソフォームは、*a2* であった。さらに、*c* サブユニットの細胞質側部分に低分子量 GTPase である Arf6 が、*a2* の N 末端に Arf6 の活性調節因子 (GEF: guanine exchange factor) である ARNO (ADP-ribosylation factor nucleotide site opener) が結合することを免疫沈降により示した。小胞輸送には、外側のコートが必要であるが、ARNO と Arf6 はこの段階に関与する。V 型 ATPase と Arf6、ARNO の結合は、小胞内が pH 5.5 では検出されたが、pH 7.5 では検出されなかった。したがって、タンパク質の再吸収を行う近位尿細管上皮細胞において、*a2* アイソフォームを含む V 型 ATPase は、酸性 pH に依存して低分子量 GTPase や活性調節因子と結合し、小胞の輸送に関与すると考えられる (図 4b)。V 型 ATPase のアイソフォームが pH センサーとして機能することが示唆される。

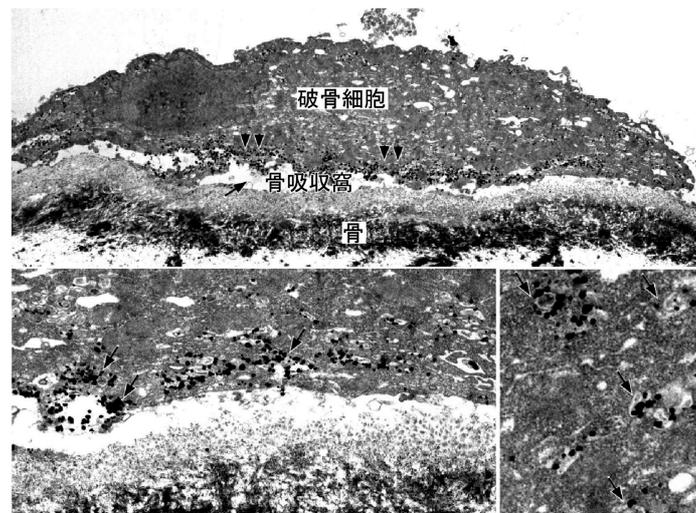


図5 *a3* アイソフォームの形質膜への局在

破骨細胞様に分化した RAW264.7 細胞をマウスの頭骨上で培養し、*a3* 抗体で染色した後、電子顕微鏡で観察した。細胞と骨の間に骨吸収窩が形成されている。*a3* 染色を表す金粒子が、黒色粒状の染色像として観察される (矢印)。文献 40 より引用。

3) 破骨細胞形質膜のプロトンポンプ

V型ATPaseは、多様な細胞内オルガネラに分布し、酸性環境を形成している。また、同じプロトンポンプが分化した細胞の形質膜に局在し、細胞外コンパートメントの酸性化やイオン恒常性に関与している。腎特異的に発現している $a4$ アイソフォームを持つV型ATPaseは介在細胞の形質膜に局在し³²⁾、 $a3$ アイソフォームを持つV型ATPaseは破骨細胞の形質膜に局在している³¹⁾。破骨細胞は骨の表面に接着し、細胞と骨との間に骨吸収窩を形成している。 $a3$ を持つV型ATPaseは、プロトンを細胞外に輸送し、骨吸収窩のpHを骨吸収に至適な条件に調節している。このV型ATPaseの局在を破骨細胞への分化の過程で観察した⁴⁰⁾。

マウス由来の株化細胞RAW264.7にRANKL (receptor activator nuclear factor κ B ligand) の細胞外ドメインを添加すると多核となり、酒石酸耐性酸性ホスファターゼ、コラゲナーゼ、カテプシンKを発現し、破骨細胞様に分化する。 $a3$ の挙動を免疫染色によって調べたところ、分化誘導前のRAW264.7細胞では、リソソーム/後期エンドソームに局在していた。分化した細胞では、リソソームのマーカーであるlamp2 (lysosome antigen membrane protein 2) と共に、形質膜とその近傍に局在した。さらに、分化したRAW264.7細胞をマウスの頭骨上で培養すると、 $a3$ は頭骨側の形質膜とその近傍の小胞に分布し、反対側の形質膜には見られなかった (図5)。以上の結果は、 $a3$ を持つV型ATPaseが局在しているリソソーム/後期エンドソームが、破骨細胞への分化に伴って骨側の細胞表層に移動し、形質膜と融合したことを示唆している。この機構により、リソソーム酵素と同時にプロトンが骨吸収窩に分泌され、骨吸収の条件が整う。すなわち、骨吸収窩の形成は極めて合理的に行われていると考えられる。

分化の過程で、骨吸収窩側へと移動する分泌型リソソームと細胞質に留まるリソソームは同じものだろうか。現時点で、前者は $a3$ を持つV型ATPaseの密度が高いことを示す予備的な結果が得られている。分泌型リソソームの役割について、さらに解明が期待される。

文 献

- Futai, M., Sun-Wada, G.H., & Wada, Y. (2004) Handbook of ATPases: Biochemistry, Cell Biology, Pathophysiology (Futai, M., Wada, Y., & Kaplan, J. eds.), pp. 237-260, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.
- Boyer, P.D. (1997) *Annu. Rev. Biochem.*, **66**, 717-749.
- Weber, J. & Senior, A.E. (1997) *Biochem. Biophys. Acta*, **1319**, 19-58.
- Stock, D., Gibbons, C., Arechaga, I., Leslie, A.G.W., & Walker, J.E. (2000) *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **10**, 672-679.
- Fillingame, R.H., Angevine, C.M., & Dmitriev, O.Y. (2003) *FEBS Lett.*, **555**, 29-34.
- Duncan, T.M., Bulygin, V.V., Zhou, Y., Hutcheon, M.L., & Cross R.L. (1995) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **92**, 10964-10968.
- Abrahams, J.P., Leslie A.G.W., Lutter, R., & Walker, J.E. (1994) *Nature*, **370**, 621-628.
- Noji, H., Yasuda, R., Yoshida, M., & Kinosita, K., Jr. (1997) *Nature*, **386**, 299-302.
- Yasuda, R., Noji, H., Kinosita, K., Jr., & Yoshida, M. (1998) *Cell*, **93**, 1117-1124.
- Yasuda, R., Noji, H., Yoshida, M., Kinosita, K., Jr., & Ito, H. (2001) *Nature*, **410**, 898-904.
- Shimabukuro, K., Yasuda, R., Muneyuki, E., Hara, K.Y., Kinosita, K., Jr., & Yoshida, M. (2003) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 14731-14736.
- Nishizaka, T., Oiwa, K., Noji, H., Kimura, S., Muneyuki, E., Yoshida, M., & Kinosita, K., Jr. (2004) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **11**, 142-148.
- Zimmermann, B., Diez, M., Zarrabi, N., Gräber, P., & Börsch, M. (2005) *EMBO J.*, **24**, 2053-2063.
- Omote, H., Sambonmatsu, N., Saito, K., Sambongi, Y., Iwamoto-Kihara, A., Yanagida, Y., Wada, Y., & Futai, M. (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 7780-7784.
- Sambongi, Y., Iko, Y., Tanabe, M., Omote, H., Iwamoto-Kihara, A., Ueda, I., Yanagida, T., Wada, Y., & Futai, M. (1999) *Science*, **286**, 1722-1724.
- Pänke, O., Gumbiowski, K., Junge, W., & Engelbrecht, S. (2000) *FEBS Lett.*, **472**, 34-38.
- Tanabe, M., Nishio, K., Iko, Y., Sambongi, Y., Iwamoto-Kihara, A., Wada, Y., & Futai, M. (2001) *J. Biol. Chem.*, **276**, 15269-15274.
- Nishio, K., Iwamoto-Kihara, A., Yamamoto, Y., Wada, Y., & Futai, M. (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 13448-13452.
- Hosokawa, H., Nakanishi-Matsui, M., Kashiwagi, S., Fujii-Taira, I., Hayashi, K., Iwamoto-Kihara, A., Wada, Y., & Futai, M. (2005) *J. Biol. Chem.*, **280**, 23797-23801.
- Ueno, H., Suzuki, T., Kinosita, K., Jr., & Yoshida, M. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 1333-1338.
- Nakanishi-Matsui, M., Kashiwagi, S., Hosokawa, H., Cipriano, D.J., Dunn, S.D., Wada, Y., & Futai, M., (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**, 4126-4131.
- Nakanishi-Matsui, M., Kashiwagi, S., Ubukata, T., Iwamoto-Kihara, A., Wada, Y., & Futai, M., *J. Biol. Chem.* In press.
- Nakanishi-Matsui, M. & Futai, M. (2006) *IUBMB Life*, **58**, 318-322.
- Adachi, K., Yasuda, R., Noji, H., Itoh, H., Harada, Y., Yoshida, M., & Kinosita, K., Jr. (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 7243-7247.
- Omote, H., Park, M.-Y., Maeda, M., & Futai, M. (1994) *J. Biol. Chem.*, **269**, 10265-10269.
- Iwamoto, A., Omote, H., Hanada, H., Tomioka, N., Itai, A., Maeda, M., & Futai, M. (1991) *J. Biol. Chem.*, **266**, 16350-16355.
- Iwamoto, A., Park, M.-Y., Maeda, M., & Futai, M., (1993) *J. Biol. Chem.*, **268**, 3156-3160.
- Iko, Y., Sambongi, Y., Tanabe, M., Iwamoto-Kihara, A., Saito, K., Ueda, I., Wada, Y., & Futai, M. (2001) *J. Biol. Chem.*, **276**, 47508-47511.
- Sun-Wada, G.H., Wada, Y., & Futai, M. (2004) *Biochem. Biophys. Acta*, **1658**, 106-114.
- Nishi, T. & Forgac, M. (2002) *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, **3**,

- 94-103.
- 31) Toyomura, T., Oka, T., Yamaguchi, C., Wada, Y., & Futai, M. (2000) *J. Biol. Chem.*, **275**, 8760-8765.
- 32) Oka, T., Murata, Y., Namba, M., Yoshimizu, T., Toyomura, T., Yamamoto, A., Sun-Wada, G.H., Hamasaki, N., Wada, Y., & Futai, M. (2001) *J. Biol. Chem.*, **276**, 40050-40054.
- 33) Karet, F.E., Finberg, K.E., Nelson, R.D., Nayir, A., Mocan, H., Sanjad, S.A., Rodriguez-Soriano, J., Santos, F., Cremers, C.W., Di Pietro, A., Hoffbrand, B.I., Winiarski, J., Bakkaloglu, A., Ozen, S., Dusunsel, R., Goodyer, P., Hulton, S.A., Wu, D.K., Skvorak, A.B., Morton, C.C., Cunningham, M.J., Jha, V., & Lifton, R.P. (1999) *Nat. Genet.*, **21**, 84-90.
- 34) Sun-Wada, G.H., Imai-Senga, Y., Yamamoto, A., Murata, Y., Hirata, T., Wada, Y., & Futai, M. (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**, 18098-18105.
- 35) Sun-Wada, G.H., Yoshimizu, T., Imai-Senga, Y., Wada, Y., & Futai, M. (2003) *Gene*, **302**, 147-153.
- 36) Sun-Wada, G.H., Murata, Y., Namba, M., Yamamoto, A., Wada, Y., & Futai, M. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 44843-44851.
- 37) Murata, Y., Sun-Wada, G.H., Yoshimizu, T., Yamamoto, A., Wada, Y., & Futai, M. (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**, 36296-36303.
- 38) Maranda, B., Brown, D., Bourgoin, S., Casanova, J.E., Vinay, P., Ausiello, D.A., & Marshansky, V. (2001) *J. Biol. Chem.*, **276**, 18540-18550.
- 39) Hurtado-Lorenzo, A., Skinner, M., El Annan, J., Futai, M., Sun-Wada, G.H., Bourgoin, S., Casanova, J., Wildeman, A., Bechoua, S., Ausiello, D.A., Brown, D., & Marshansky, V (2006) *Nat. Cell Biol.*, **8**, 124-136.
- 40) Toyomura, T., Murata, Y., Yamamoto, A., Oka, T., Sun-Wada, G.-H., Wada, Y., & Futai, M. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 22023-22030.
-