

特集：刺激受容における相互作用の発現機構のメカニズム

大腸菌アミノ酸感覚受容体の構造と機能*

川 岸 郁 朗**

(名古屋大学大学院理学研究科生命理学専攻超分子機能学講座)

1. はじめに

最近の DNA 関連技術の発展と共に、大腸菌を扱う研究者の数は飛躍的に増加した。しかし、この一見単純な原核生物が、栄養物に富んだ好ましい環境に集まったり、老廃物や毒物を含む好ましくない環境から逃避する能力(走化性)をもつことは意外に知られていない。大腸菌走化性において、「刺激の受容(入力)→情報伝達→運動制御(出力)→適応(フィードバック制御)」に関与するタンパク質は、すべて同定されている。本稿では、プリミティブな「味覚」センサーともいえる走化性レセプターに関する当研究室での研究を中心に、大腸菌の化学感覚情報処理系についての現在までの知見を紹介し、高等生物の複雑な知覚系の「分子ロジック」を考える上での参考に供したい。なお、この分野の最近の総説を文献リストにあげておいた¹⁾⁻³⁾。

2. 大腸菌走化性情報処理システム

大腸菌は菌体外に突出した螺旋状のべん毛(真核生物の鞭毛とは構造も運動機構も全く異なる)線維を、各々のべん毛の根元にあるモーターによってスクリューのように回転させて液体中を泳ぎ回る。その様子を顕微鏡で観察すると、しばらくまっすぐに泳いで立ち止まり、また別の方向へ泳ぎ出すという動きを繰り返している(三次元的ランダム・ウォーク)。通常の光学顕微鏡では見えないが、泳ぎのモードの違いはべん毛の回転方向の違いに対応している

(図1A)。べん毛が左回転すると、左巻き螺旋のべん毛線維が束ねられて、菌体は推進力を得て直進する(スムーズスイミング)。逆に右回転すると、べん毛の束がほどけて推進力が失われ、菌は方向転換する(タンプリング)。

このように活発に泳ぎ回っている大腸菌の懸濁液に、セリンやアスパラギン酸(誘引物質)を含む毛细管を差入ると、管の口のまわりにたくさんの菌が集まってくる。酢酸やグリセロール(忌避物質)を入れると、菌は遠ざかっていく。詳しく観察すると、大腸菌は誘引物質のある方へ(あるいは忌避物質のない方へ)一直線に泳ぐのではなく、ランダム・ウォークにバイアスがかかった泳ぎを示すことがわかる(図1A)。例えば、誘引物質濃度の高い方へ泳いでいるときにはタンプリング頻度が低下してスムーズ・スイミングの持続時間が(統計的に)長くなり、結果としてその方向への正味の移動が起こる。このとき、菌は刺激物質の絶対的濃度ではなく、濃度勾配を感知する。しかし、体長2-5 μm 程度の大腸菌が菌体の前端と後端で刺激物質の濃度差を検出することは不可能である。実際には、感知した刺激物質濃度をしばらくの間「記憶」しておき、移動した先の濃度がそれより高いか低いかに「判断」して泳ぎのパターンを変化させている。すなわち空間的濃度勾配を時間的濃度変化として感じとっているのである。実際、菌の懸濁液に一定濃度の刺激物質を加えると、初めはスムーズ(べん毛は左回転)またはタンプル(べん毛は右回転)の応答を示すが、しばら

*平成8年8月11日受付

Structure and function of the *Escherichia coli* amino acid chemoreceptors.

**Ikuro Kawagishi: Laboratory of Supramolecular Biology, Division of Biological Science, Graduate School of Science, Nagoya University, Chikusa-ku, Nagoya 464-01 Japan

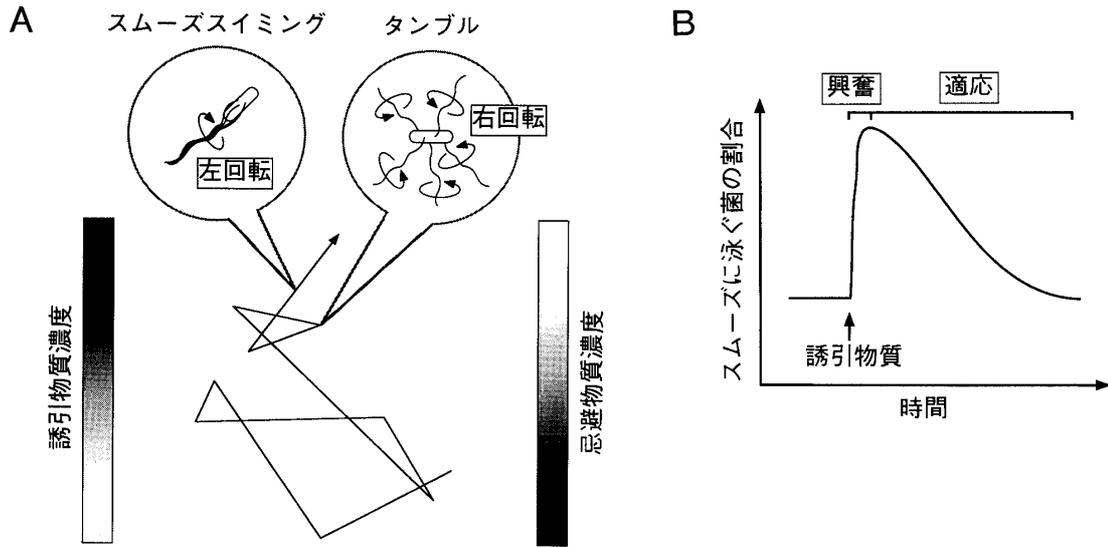


図1 大腸菌の走化性。A 菌は方向転換頻度を調節することによって、誘引物質濃度の高い（または忌避物質濃度の低い）方へ移動する。泳ぎのパターンはべん毛の回転方向と対応している。B 菌は誘引刺激に対しすばやく応答してスムーズな泳ぎを示すが、だんだん元の泳ぎにもどってしまう。これが適応であり、菌が刺激物質の濃度勾配を感じる上で必須の能力である。

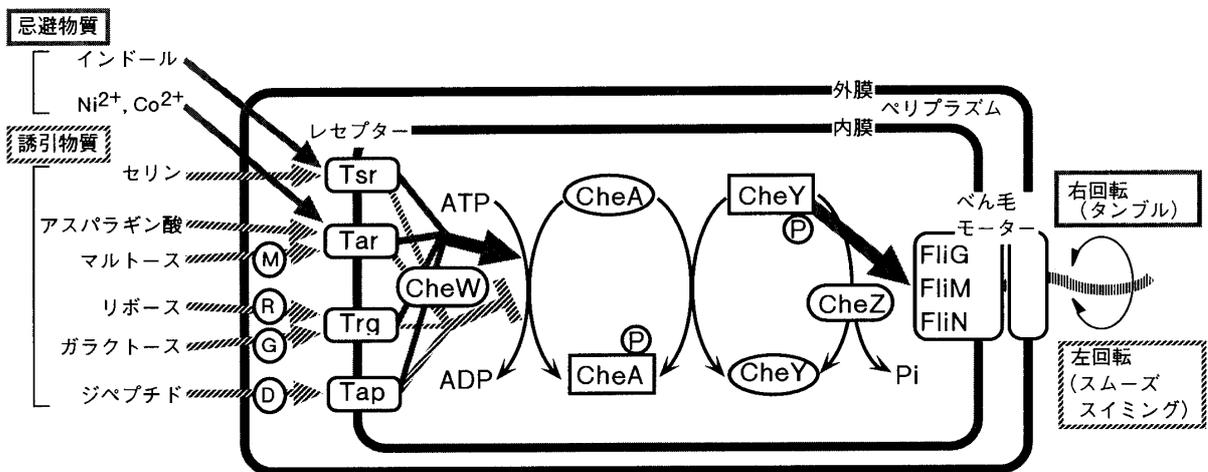


図2 走化性シグナル伝達経路。忌避物質と誘引物質は、それぞれCheAキナーゼの活性化と不活性化、ひいてはリン酸化型CheYの増加と減少を引き起こす。リン酸化型CheYが結合するとべん毛モーターは右回転するが、結合していないときは左回転する。

くすると元のランダムな泳ぎに戻ってしまう（図1 B）。この現象は適応と呼ばれる。

このように巧妙な走化性については、1950年代にウィスコンシン大学の Julius Adler が本格的に解析を始めて以来、少なからぬ数の研究者が魅せられてきた。現在では、そのシグナル伝達経路の全容が分かっている（図2）。誘引物質や忌避物質は、細胞

膜貫通型タンパク質である化学感覚レセプターによって受容される。大腸菌には Tsr, Tar, Trg, Tap という4種のレセプターがあり、いずれも複数の化学物質のみならず pH 変化・温度変化の受容にも関与する、ユニークな多機能型センサーである。分子量約6万の二回膜貫通型モノマータンパク質が二分子会合してホモダイマーを形成し、ペリプラズム(大

大腸菌アミノ酸感受容体の構造と機能

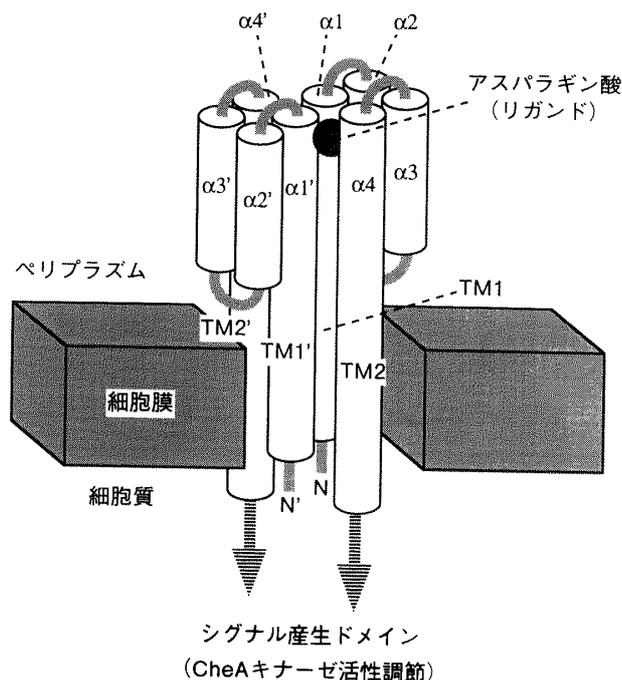


図3 Tar ペリプラズム側および膜貫通ドメインの模式図。円柱($\alpha 1-\alpha 4$)は α ヘリックスを示す。NはN末端、TMは膜貫通領域。Tarはホモダイマーを形成するので、一方のサブユニットの各領域には「'」を付して区別してある。

腸菌の内膜と外膜の間の領域)側で刺激物質と相互作用する(図3)。ただし、セリンやアスパラギン酸は直接レセプターに結合するが、糖やジペプチドの場合は、特異的結合タンパク質がペリプラズム中に存在し、刺激物質と結合タンパク質の複合体がレセプターに結合する。

レセプターは、細胞質側ではヒスチジンキナーゼ CheA およびカップリングタンパク質 CheW と相互作用する。実際には、レセプターダイマーと CheA ダイマーを2分子の CheW が橋渡しする形で安定な複合体を形成している。レセプターに忌避物質が結合すると、CheA キナーゼが活性化され、CheA 自身の48番目のヒスチジン残基がリン酸化される。次に、そのリン酸基が CheY の57番目のアスパラギン酸残基に移される。リン酸化された CheY はべん毛モーターの回転方向を制御しているスイッチ複合体と相互作用して、モーターを右回転させる。つまり菌はタンブルする。リン酸化型 CheY は特異的フォスファターゼ CheZ によって脱リン酸化される。一方、誘引物質がレセプターに結合した場合は、CheA のリン酸化が抑制されてリン酸化型 CheY の

量が減り、モーターは左回転する。つまり菌は直進する。

このように、ヒスチジン残基からアスパラギン酸残基へのリン酸基転移を中心とするシグナル伝達系は、二成分調節系⁴⁾とよばれ、原核生物の環境応答システム(浸透圧応答、窒素代謝、胞子形成など)に普遍的にみられる。自己リン酸化能をもつタンパク質(多くは膜タンパク質)は、環境の変化に応じて活性が変化するので、センサーと呼ばれる。また、リン酸基を受取る側のタンパク質(多くは転写因子)は、応答の調節を司るためレギュレーターと呼ばれる。最近では、酵母や高等植物にも相同な系が見つかった。

さて、すでに述べたように走化性には適応が必須であるが、これにはレセプターのメチル化が関わっている。レセプターの細胞質側ドメインには、可逆的なメチル化を受ける4-6個のグルタミン酸残基が含まれている。レセプターに誘引物質が結合すると左回転シグナルの発生に伴ってゆっくりとメチル化が進み、最終的にはシグナルが出なくなる。反対に、忌避物質が結合すると、右回転シグナルの発生に伴って脱メチル化が進み、シグナルをオフにする。図2では省略したが、適応に関わるメチル化酵素 CheR、脱メチル化酵素 CheB も同定されており、CheB が CheA によってリン酸化されて活性化することがわかっている。すなわち、CheB も二成分制御系のレギュレーターの一つである。

3. レセプターによるアミノ酸リガンドの特異的認識機構

さてここで、レセプターによるリガンド認識機構に注目する。互いに一次構造上の相同性が高いアスパラギン酸レセプター Tar とセリンレセプター Tsr は、それぞれ、マイクロモルのオーダーのアスパラギン酸とセリンを検出できるが、お互いに間違ったアミノ酸を認識するようなことはない。つまりこれらのレセプターは感度も信頼性も高い生体センサーである。この正確な分子識別は、どの様なメカニズムによるのだろうか?

Tsr や Tar の特異的リガンド認識に関与する残基の同定は、当研究室を含めたいくつかのグループによる変異レセプターの解析によって進められてきた。最近、Tar のリガンド結合ドメインの結晶構造解析が行われ、ホモダイマーの二つのサブユニット

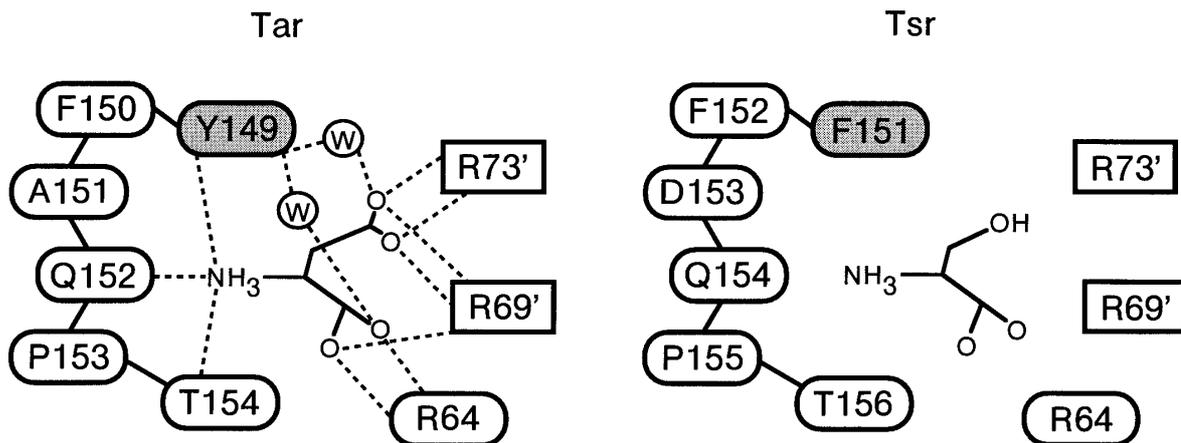


図4 TarおよびTsrのリガンド結合部位の模式図。TsrのものはTarの結晶構造より推定されたもの。リガンドは二つのサブユニットの界面に結合する。Wは水分子を、点線は推定される水素結合を表す。アスパラギン酸と水素結合することが推定されるTarの残基のうち、Tsrで保存されていないのはY149 (TsrではF151) のみである。

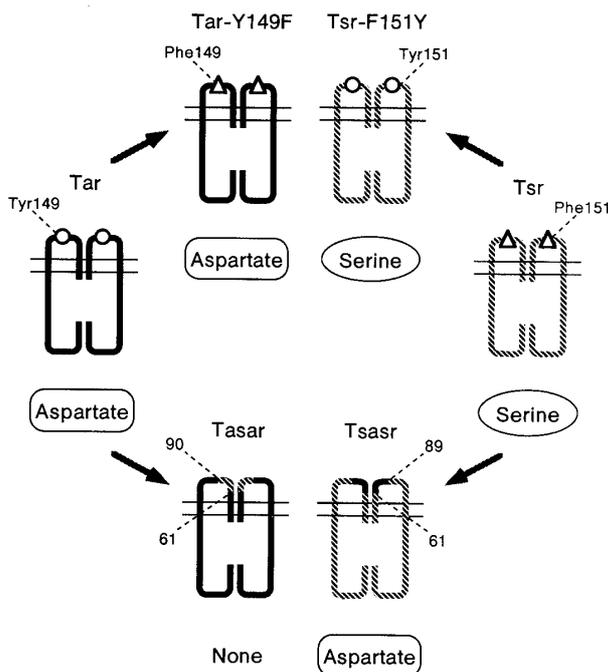


図5 TarとTsrのリガンド識別に必要な領域の決定。TarとTsrの間でY149とF151を入れ替えても、リガンド特異性は変化しなかった。一方、Tsrの61番目から90番目の間の残基をTarの対応する領域 (61番目から89番目) と入れ替えると (Tsasr)、セリンを認識せずアスパラギン酸を認識するようになった。ただし、Tarの61番目から89番目の領域をTsrと入れ替えると (Tsar)、セリンもアスパラギン酸も認識できなくなった。

がアスパラギン酸一分子を挟みこむこと (図3)、そしてその結合に直接関わる残基についてのこれまでの推定が基本的に正しいこと (図4) が実証された⁵⁾⁻⁷⁾。

ところが、これらの残基は、アスパラギン酸を全く認識できないTsrにおいてもほとんど保存されている (図4)。異なっているのは、唯一149番目のチロシン残基 (Tyr149) のみである (Tsrでは対応する残基はPhe151)。したがって、この一残基の違いがリガンド特異性を決定している可能性がある⁸⁾。

そこで、当研究室では、TarのTyr149をPheで、TsrのPhe151をTyrで置換した変異レセプターを作成した (図5; 未発表)。具体的には、レセプターをもたない大腸菌に変異レセプターを発現させて、様々なアミノ酸に対する菌の走化性応答、および適応に際してのレセプタータンパク質のメチル化を調べた。その結果、リガンド特異性はいずれも野生型と変わらなかった。したがって、TarのTyr149とTsrのPhe151の違いによってリガンド特異性が決定される訳ではない。

次に、TarとTsrの間で様々なキメラを作成して、同様の解析を行った。その結果、注目すべきことに、Tsrの全アミノ酸配列 (551残基) のうち61-90番目の間のわずか30残基からなる領域をTarの配列で置き換えたキメラレセプター (Tsasr) が、セリンを全く認識せず、アスパラギン酸を認識した (図

大腸菌アミノ酸感覚受容体の構造と機能

5; 未発表)。したがって、この領域がリガンド特異性を決定しているわけである。Tar のこの領域は、アスパラギン酸と相互作用する 3 つの残基 (Arg 64, Arg 69, Arg 69) を含んでいるが、これらはすべて Tsr においても保存されている (図 4)。したがって、リガンド特異性はリガンドと直接結合しない残基の違いによって決まることが示唆される。そのような残基の違いは、リガンドと直接結合する残基の配置に影響するのではないだろうか。この興味深い仮説をさらに検証することは、将来任意のアミノ酸やその類似物質を認識できるレセプター分子をデザインするためにも役立つであろう。

4. レセプターによる膜の外から内への情報変換機構

次に、リガンドが結合した後のレセプターの構造変化に着目する。一般に、膜貫通型レセプターは、リガンド結合という形で細胞外から入力された情報を、キナーゼ活性の変化などの形で細胞内に出力する。真核生物の上皮成長因子レセプターなどチロシンキナーゼ活性をもつレセプターの多くでは、リガンド結合によってホモダイマー形成が誘導され、レセプター細胞質側でサブユニット間リン酸化が起こるといふモデルが広く受け入れられている⁹⁾。しかし、同じチロシンキナーゼ型レセプターであるインスリンレセプター ($\alpha_2\beta_2$ テトラマー) の場合は、サブユニットどうしが S-S 結合で繋がっていることから、このようなモデルは成り立たない。大腸菌アスパラギン酸レセプター Tar は S-S 結合を作らないが、リガンドの有無に関わらずホモダイマーを形成する¹⁰⁾。したがって、これらのレセプターでは、リガンド結合によってダイマー (またはオリゴマー) 「内」に生じる構造変化が、膜の外から内への情報変換の本質と考えられる。Tar に関しては、これまでに、細胞質側シグナル産生ドメインの①サブユニット「間」相互作用または②サブユニット「内」構造変化を重要視するモデルが提唱されている。②を示唆するものとして、細胞質側ドメインを一つしかもたないヘテロダイマー (S-S 結合によってクロスリンクさせたもの) は、アスパラギン酸によってメチル化が進行するという *in vitro* の結果が報告されている¹¹⁾。しかし、細胞質側フラグメントのダイマー形成とシグナル産生状態の相関が報告されている¹²⁾⁻¹³⁾ ことやペリプラズム側ドメインの結晶解析の結

果⁵⁾⁻⁷⁾ などから①のモデルが優勢であった。

当研究室では、この点を明らかにするため、ダイマー当たり一つしか細胞質側シグナル産生ドメインをもたない Tar の機能を *in vivo* で検討した。具体的には、以下のような二つの変異 Tar の同時発現により、走化性レセプター欠損株のアスパラギン酸応答能が回復することが分かっている¹⁴⁾。これを利用する。Tar の一番目の膜貫通領域 TM1 に A19K 変異 (Ala 19 → Lys) を導入すると、アスパラギン酸結合能に関しては正常だが情報伝達能を失う¹⁴⁾。その A19K 変異から抑圧変異が単離されていた¹⁴⁾ が、それらのなかで二番目の膜貫通領域 TM2 の A198E (Ala198 → Glu) 抑圧変異がサブユニット間で A19K 変異を抑圧することを見いだしている (図 6 A; 未発表)。この結果は、A19K の A198E による抑圧がサブユニット「内」ではなく、サブユニット「間」で起こることを示し、同時に Tar が生体内で確かにダイマーとして機能していることを示唆するものである。

この系を使えばヘテロダイマーを形成したときのレセプターの活性を検出できる。すなわち、細胞質側ドメインに欠失をもつ Tar-A198E Δ C を Tar-A19K と同時発現させれば、各々のホモダイマーはレセプターとして機能しないので、完全な細胞質側ドメインを一つだけもつようなヘテロダイマーの機能を調べることが可能になる (図 6 A)¹⁵⁾。実際に、シグナル産生ドメインの全てとリンカー領域 (TM2 と細胞質側シグナル産生ドメインをつなぐ領域) の 75% までを欠失させた Tar-A198E Δ C と Tar-A19K の間で抑圧が起こった¹⁵⁾。すなわち、両者を発現する菌はアスパラギン酸に対して走化性応答を示し、それに伴ってレセプターのメチル化状態も上昇した。この結果は、Tar ダイマーあたり一つの細胞質側ドメインがあれば、膜の外から内へのシグナル伝達が起こることを示唆している。別のグループも同様の結果を得ている (実験系のデザインはやや異なる)¹⁶⁾。

この結果を、細胞質側ドメインの相互作用の重要性を示す報告¹²⁾⁻¹³⁾ と考え合わせると、レセプターダイマー「間」相互作用によるシグナリングの可能性が考えられる。そのような相互作用を示す直接の証拠はないが、レセプターは CheA、CheW とともに大腸菌細胞の極の部分にクラスターを形成することが報告されている¹⁷⁾。一方、②のモデルの正しい可能

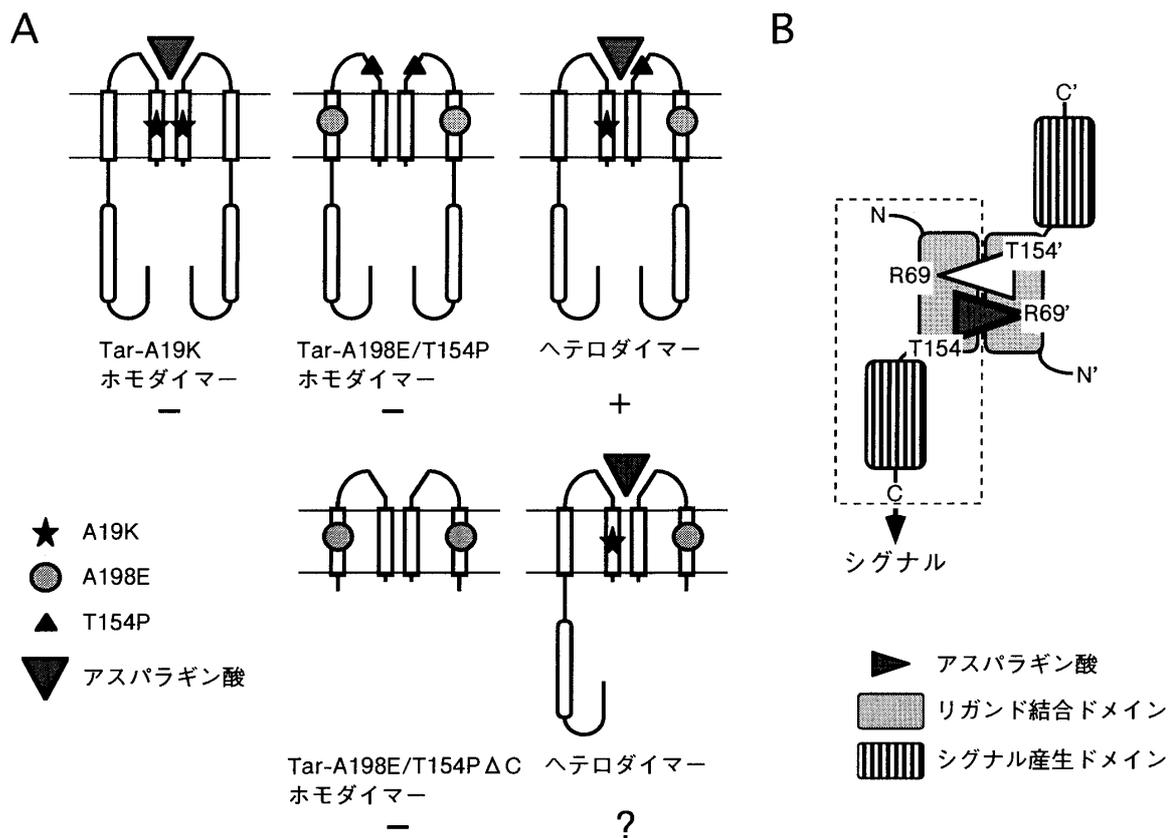


図6 ダイマーあたり一つの細胞質側ドメインをもつTarのシグナル伝達能。A Tar-A19KまたはTar-A198E/T154Pを単独で発現する菌はアスパラギン酸応答を示さない(-)。しかし、両者を発現する菌はアスパラギン酸に応答する(+)。これは両者のヘテロダイマーが機能することを示している。同様に、細胞質側を欠失させたTar-A198EΔC(-)をTar-A19Kと同時発現させれば、一つの細胞質側ドメインしかもたないヘテロダイマーの機能を調べることができる。その結果、実際にアスパラギン酸応答が見られた(+)。B アスパラギン酸は二つの結合部位のうちの一つに結合する。このときTarホモダイマーの対称性は破れる。このとき、二つのサブユニットには機能的な非対称性が生じる。すなわち、アスパラギン酸が図中で下の方の部位に結合したとき、点線で囲んだ方のサブユニットの細胞質側ドメインはシグナル産生に必須であるが、もう一方は必要ないことが示された。

性もある(この二つの可能性は互いに矛盾するものではないことに注意)。C末端領域(レセプターと相互作用する)を一つしかもたないCheAダイマーの活性が、レセプターによって制御されるという報告がある¹⁸⁾。したがって、一つの細胞質側ドメインのみでCheAの活性を調節できるのかも知れない。

ところで、レセプター・ダイマーは二つの等価なリガンド結合部位をもつが、そのうちの一つにリガンドが結合すると全体の対称性は破れる。このとき特定のサブユニットのみからシグナルが産生されること、つまり機能的にも非対称性が生じることが、

同じ系を用いた解析から示されている(図6B)^{15),16)}。これも、レセプターのシグナル変換機構を理解する上で興味深い性質である。

5. レセプターのメチル化および温度がリガンド結合能に与える影響

最後に、前節とは逆に、膜の内側でのレセプター構造変化が膜の外側の構造にどのように影響するかについて検討する。上述のように、走化性レセプターは、細胞質側のグルタミン酸残基が可逆的にメチル化・脱メチル化されることによって負のフィー

大腸菌アミノ酸感受容体の構造と機能

ドバック制御を受ける。この分子機構については、①メチル化によりレセプターの誘引物質に対する親和性が低下する、または②親和性は変化せずシグナル産生能が変化するという二つのモデルが提唱されている。以前に膜分画を用いた実験によって①のモデルを支持する結果が報告されていた¹⁹⁾が、最近の可溶化レセプターなどを用いた実験では②のモデルと一致する結果が得られている²⁰⁾⁻²²⁾。

われわれは、この点について、セリンレセプター Tsr の部位特異的修飾法を用いて検討した。セリン認識に関わる 156 番目のスレオニン残基 (Thr-156) をシステインに置換した変異 Tsr (Tsr-T156C) が、SH 基特異的試薬 N-エチルマレイミド (NEM) によって強く修飾され、セリンの存在下で修飾量が減少することをすでに報告している²³⁾。このセリンによる保護効果がレセプターのセリンに対する親和性を反映していることを利用し、レセプターのメチル化とリガンド結合能の関係を in vitro と in vivo の両方で調べた (投稿中)。まず、様々なメチル化状態にあるレセプターを得るため、メチル化酵素または脱メチル化酵素を欠損した菌にレセプターを発現させた。これらの菌に予め様々な濃度のセリンを与えてから [³H] NEM で処理したところ、50%保護に必要なセリン濃度にほとんど差は見られなかった。次に、それぞれの菌から膜分画を調製し、オクチルグルコシドを加えてレセプターを抽出した。この試料を用いた実験でも、50%保護に必要なセリン濃度は、レセプターのメチル化状態に関わらずほぼ一定であった。これらの結果は、レセプターのリガンドに対する親和性がメチル化によって変化しないことを示している。

また、温度変化もレセプターのシグナル産生状態を変化させる²⁴⁾⁻²⁶⁾ので、このときリガンド結合能も変化するかどうかについて、同じ系を用いて調べた (投稿中)。20°C から 30°C で、様々な濃度のセリン存在下での NEM 処理を行ったところ、セリンによる保護効果はどの温度でも変わらなかった。したがって、菌が温度走性を示す温度範囲では、レセプターのリガンド結合能に温度は影響しないことが示唆された。

当然、リガンドがペリプラズム側に結合したときには細胞質側ドメインの構造も変化するはずである。しかし、上述の結果は、レセプターの細胞質側ドメインの構造変化は、必ずしもペリプラズム側ド

メインの構造変化を伴わずに起こりうることを示唆している。このことは、レセプターの構造、とくにその動的側面を理解する上で大変興味深い。

6. 終わりに

このように大腸菌の走化性レセプターは、リガンド結合、膜を介した情報変換、フィードバック制御などの分子機構を理解する上で、よいモデル系である。今後は、さらにレセプター分子の内部に立ち入るとともに、レセプター-CheW-CheA 複合体の構造や各因子間の相互作用の実態も明らかにしていかなければならない。実際この分野の研究はすでに「ナノバイオロジー」の領域に突入しつつある。上述のように、リガンド結合ドメインの結晶構造解析はすでに成功している。膜貫通領域についても、システムティックにシステイン残基を導入して S-S 結合のつくられやすさを調べるといった巧妙な方法によって、各ヘリックスの相対的な配置やリガンド結合に際しての動きが調べられている²⁷⁾⁻²⁹⁾。その結果、TM1-TM1' のペアは常に安定で、それに対し TM2 がリガンド結合に伴って動くと考えられている³⁰⁾⁻³¹⁾。現在のところ、シグナル産生ドメインの構造についての知見は乏しいが、シグナル産生活性をもつフラグメントが精製されている^{12),13),32),33)} ことなどから、今後の進展が期待される。このような in vitro での構造・機能解析のためにも、本稿で中心的に紹介したような遺伝学的手法を用いた解析は有用であろう。

最後になりましたが、本稿執筆の機会を与えていただいた栗原堅三先生、二ノ宮裕三先生に感謝いたします。

引用文献

- 1) Manson MD: *Adv. Microbial Physiol.* 33, 277-346 (1992)
- 2) Parkinson JS: *Cell* 73, 857-871 (1993)
- 3) Stock JB and Surette MG: In *Escherichia coli and Salmonella: Cellular and Molecular Biology*. 2nd Ed. (Neidhardt FC. editor-in-chief). American Society for Microbiology, Washington, DC, pp. 1103-1129 (1996)
- 4) Hoch JA and Silhavy TJ (eds.): *Two-Component Signal Transduction*. American Society for Microbiology, Washington, DC. (1996)

- 5) Milburn MV, Prive GG, Milligan DL, Scott WG, Yeh J, Jancarik J, Koshland DE Jr and Kim S-H: *Science* 254, 1342-1347 (1991)
- 6) Scott WG, Milligan DL, Milburn MV, Prié GG, Yeh J, Koshland DE Jr and Kim S-H: *J. Mol. Biol.* 232, 555-573 (1993)
- 7) Yeh, JI, Biemann H-P, Pandit J, Koshland DE Jr and Kim S-H: *J. Biol. Chem.* 268, 9787-9792 (1993)
- 8) Jeffery CJ and Koshland DE Jr: *Protein Sci.* 2, 559-566 (1993)
- 9) Biswas R, Basin M, Sen-Majumdar A and Das M: *Biochemistry* 24, 3795-3800 (1985)
- 10) Milligan DL and Koshland DE Jr: *J. Biol. Chem.* 263, 6268-6275 (1988)
- 11) Milligan DL and Koshland DE Jr: *Science* 254, 1651-1654 (1991)
- 12) Long DG and Weis RM: *Biochemistry* 31, 9904-9911 (1992)
- 13) Cochran AG and Kim PS: *Science* 271, 1113-1116 (1996)
- 14) Oosawa K and Simon MI: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83, 6930-6934 (1986)
- 15) Tatsuno I, Homma M, Oosawa K and Kawagishi I: *Science*, in press. (1996)
- 16) Gardina PJ and Manson MD: *Science*, in press. (1996)
- 17) Maddock J and Shapiro L: *Science* 259, 1717-1723 (1993)
- 18) Wolfe AJ, McNamara BP and Stewart, R: *J. Bacteriol.* 176, 4483-4491 (1994)
- 19) Yonekawa H and Hayashi H: *FEBS Lett.* 198, 21-24 (1986)
- 20) Dunten P and Koshland DE Jr: *J. Biol. Chem.* 266, 1491-1496 (1991)
- 21) Borkovich KA, Alex LA and Simon MI: *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* 89, 6756-6760 (1992)
- 22) Lin L-N, Li J, Brandts JF and Weis RM: *Biochemistry* 33, 6564-6570 (1994)
- 23) Iwama T, Kawagishi I, Gomi S, Homma M and Imae Y: *J. Bacteriol.* 177, 2218-2221 (1995)
- 24) Maeda K and Imae Y: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76, 91-95 (1979)
- 25) Nara T, Lee L, and Imae Y: *J. Bacteriol.* 173, 1120-1124 (1991)
- 26) Nara T, Kawagishi I, Nishiyama S, Homma M and Imae Y: *J. Biol. Chem.* 271, 17932-17936 (1996)
- 27) Lynch BA and Koshland DE Jr: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88, 10402-10406 (1991)
- 28) Pakula AA and Simon MI: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89, 4144-4148 (1992)
- 29) Lee GF, Burrows GG, Lebert MR, Dutton DP and Hazelbauer GL: *J. Biol. Chem.* 269, 29920-29927 (1994)
- 30) Maruyama IN, Mikawa YG and Maruyama HI: *J. Mol. Biol.* 253, 530-546 (1995)
- 31) Chervitz SA and Falke JJ: *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* 93, 2545-2550 (1996)
- 32) Oosawa K, Mutoh N and Simon MI: *J. Bacteriol.* 170, 2521-2526 (1988)
- 33) Ames P and Parkinson JS: *J. Bacteriol.* 176, 6340-6348 (1994)