

Title	液胞型H <sup>+</sup> -ATPase(V-ATPase) : 反応機構および16kDa、72kDaサブユニットの構造
Author(s)	花田, 裕典
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	<a href="https://doi.org/10.11501/3058255">https://doi.org/10.11501/3058255</a>
DOI	10.11501/3058255
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	はな 花	だ 田	ひろ 裕	のり 典
博士の専攻分野 の名称	博	士	(理	学)
学位記番号	第	9909	号	
学位授与年月日	平成3年	9月	30日	
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科 生物化学専攻			
学位論文名	液胞型 H <sup>+</sup> -ATPase (V-ATPase) : 反応機構および 16 kDa, 72 kDa サブユニットの構造			
論文審査委員	(主査) 教授	二井	将光	
	(副査) 教授	田川	邦夫	教授 福井 俊郎

### 論文内容の要旨

これまで H<sup>+</sup>-ATPase には ATP 合成酵素 F<sub>0</sub>F<sub>1</sub> (F-ATPase) とリン酸化中間体を形成する P-ATPase が知られていた。最近、液胞型 H<sup>+</sup>-ATPase (V-ATPase) と呼ばれる第三の H<sup>+</sup>-ATPase が見いだされた。V-ATPase は液胞、クロマフィン顆粒、ゴルジ体、リソゾーム、シナプス小胞等の細胞内膜系に属するオルガネラに広く存在し、ATP の分解に共役して H<sup>+</sup> を小胞内に輸送している。その結果形成された小胞内の酸性 pH あるいは小胞内外の電気化学的ポテンシャル差は各オルガネラの機能に重要な役割を果たしている。本論文は副腎髄質のクロマフィン顆粒の V-ATPase を用い、ATP 分解反応機構および Bafilomycin による阻害機構を検討し、さらに H<sup>+</sup> 通路を形成していると考えられている 16 kDa サブユニットと触媒部位が存在していることが示唆されている 72 kDa サブユニットの一次構造を決定した。以下に本論文の研究成果を要約する。

- (1) V-ATPase には 5, 30, 300 μM の Km 値が存在していることを示し、複数の触媒部位による協同的な反応および高親和性の触媒部位が存在することを示した。また、高親和性の触媒部位に結合した ATP は ADP と無機リン酸に速やかに分解され、酵素と ATP の複合体が検出できないことを示した。
- (2) 1 分子の Bafilomycin が 10nM の低濃度で定量的に 1 分子の V-ATPase に結合して活性を阻害することを明らかにした。詳細な阻害機構の解析から Bafilomycin が膜内性部分に結合し、その結果、反応の協同性に影響を与え、活性を阻害することが示唆された。
- (3) マウス小脳の V-ATPase 16 kDa サブユニットおよび 72 kDa サブユニットに対応する cDNA をクローン化し、塩基配列を決定した。16 kDa サブユニットは異種生物間で保存性が高いことが明らか

かになった。また、F-ATPaseの $c$ サブユニットとの相同性から $H^+$ 通路および膜表在性部分との相互作用に重要な残基を推定した。16 kDaサブユニットのcDNAを用い、ヒト染色体には偽遺伝子を含めて4種類以上の16 kDaのサブユニットに対応する遺伝子が存在することを明らかにした。また、72 kDaサブユニットの触媒部位と考えられる領域に対応するcDNAの塩基配列を決定した。F-ATPaseの $\beta$ サブユニットとの相同性からV-ATPaseの触媒部位を推定した。

## 論文審査の結果の要旨

本論文は、新たに見いだされた液胞型 $H^+$ -ATPase (V-ATPase) の反応機構およびBafilomycinの阻害機構を研究した。さらに、マウス小脳のV-ATPaseの16 kDaおよび72 kDaサブユニットの一次構造を決定し、反応機構を理解するうえで重要な知見を得た。以上、本論文は博士(理学)の学位論文として価値あるものと認める。