

Title	H ⁺ - 輸送性A T P合成酵素・ γ サブユニットの機能領域
Author(s)	三木, 順詞
Citation	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36386
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について <a>〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	み	き	じゆん	じ
	三	木	順	詞
学位の種類	理	学	博	士
学位記番号	第	8568	号	
学位授与の日付	平成元年3月24日			
学位授与の要件	理学研究科生物化学専攻			
	学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	H ⁺ 輸送性ATP合成酵素・rサブユニットの機能領域			
論文審査委員	(主査)			
	教授	二井	将光	
	(副査)			
	教授	福井	俊郎	教授 田川 邦夫

論文内容の要旨

H⁺輸送性ATP合成酵素は、およそあらゆる生物に普遍的に存在し生物の活動に必要なATPのほとんどを合成している。本酵素は、活性中心が存在するF₁部分と、H⁺チャンネルの機能を持つF₀部分から形成されておりF₀F₁とも呼ばれる。F₁のrサブユニットは、触媒活性とこれに共役するH⁺輸送の両方に関与しており、このサブユニットがF₀F₁のエネルギー転換機構において重要な役割を持っていると考えられる。そこで本研究では、このサブユニットの役割をアミノ酸残基のレベルで明らかにすることを目的とし、大腸菌rサブユニット変異株を解析し、さらに葉緑体・rサブユニットの一次構造を決定し、他の生物のものと一次構造の比較を行った。

10種の変異株についてDNA塩基配列より変異残基を明らかにした。変異株のF₀F₁の機能変化と対応させて検討し、rサブユニットのカルボキシル末端の26アミノ酸残基(Gln-261~Val-286)がF₀F₁の活性および分子集合に重要な役割を持つことを明らかにした。本研究ではこの領域の機能をさらに詳細に解析するため、この領域内のアミノ酸残基に部位特異的変異を導入して解析する実験系を確立した。この実験系を用いて3種のナンセンス変異(Gln-269, Thr-277, Ala-283→end)について比較検討した。その結果Thr-277~Gly-282およびAla-283~Val-286の領域がそれぞれ触媒活性に関与すること、およびGln-269~Leu-276の8アミノ酸残基がH⁺輸送と共役した触媒活性に必須であることが示唆された。また開始コドンの変異株の解析から、rサブユニットが細胞質膜にF₁が分子集合するために必須であることを明らかにした。

本研究では、葉緑体rサブユニットの一次構造を決定し、葉緑体、ミトコンドリアおよび細菌において保存されたアミノ酸残基を明らかにした。8種の生物の間で一次構造を比較したところ、33アミノ酸残

基が保存されていた。保存されたアミノ酸残基は、アミノ末端およびカルボキシル末端に局在しており、 r サブユニットの両末端の領域が機能的に重要な役割を持つことが示唆された。

葉緑体 F_0F_1 には活性の調節機構があることが知られており、 r サブユニットの構造変化がこの活性の調節と密接な関係にあると考えられている。本研究では、この活性調節に関与するアミノ酸残基が、葉緑体のサブユニットのextra-domainに存在することを明らかにした。このextra-domainと類似の構造はシアノバクテリアにみられたが、他の生物には存在しなかった。

本研究では、大腸菌 r サブユニット変異株の解析および異なる生物の間における一次構造の比較から、 F_0F_1 の触媒活性および分子集合に重要な役割を持つ機能領域を明らかにした。またカルボキシル末端側の領域に部位特異的に変異を導入する実験系を確立したことにより、このサブユニットの機能領域についてさらに詳細に解析することが可能となった。

論文の審査結果の要旨

細胞におけるATPのほとんどは H^+ 輸送性ATP合成酵素によって合成されている。本酵素は、8種以上のサブユニットからなる複雑な酵素であり、細菌細胞膜、葉緑体チラコイド膜、ミトコンドリア内膜等に普遍的に存在している。 r サブユニットは、本酵素の活性をATP合成反応および H^+ 輸送の両面から調節していると考えられている。また、再構成の実験から、本酵素のサブユニットの分子集合に重要であると考えられる。

本論文では、(1)大腸菌の r サブユニット変異株を解析し、さらに部位特異的に変異を導入し、このサブユニットの機能に重要な領域を推定した。(2)葉緑体より r サブユニットをコードするcDNAをクローン化し、一次構造を推定し、他の生物の r サブユニットと比較した。

これらの研究によって三木君は、普遍的に保存されているカルボキシル末端側の配列がATP合成反応およびサブユニット分子集合に必須であること、葉緑体の r サブユニットにのみ存在する45残基の配列が、本酵素の光による調節に関与していることを示した。さらに大腸菌において、本酵素の表在性膜蛋白部分(5種のサブユニットよりなる)と、内在性膜蛋白部分(3種のサブユニットよりなる)が独立に分子集合することを示した。これらの結果は、本酵素の反応機構およびサブユニット分子集合に関して重要な新しい知見である。

以上、本論文は理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。