

Title	ハロバクテリアATP合成酵素の酵素化学的／進化学的位置
Author(s)	井原, 邦夫
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37058
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

【 3 】

氏名・(本籍)	井 原 邦 夫
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 9 0 4 0 号
学位授与の日付	平 成 2 年 3 月 24 日
学位授与の要件	理学研究科生理学専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	ハロバクテリア ATP 合成酵素の酵素化学的 / 進化学的位置
論文審査委員	(主査) 教 授 濱口 浩三 (副査) 教 授 二井 将光 教 授 松原 央 教 授 向畑 恭男(名大理)

論 文 内 容 の 要 旨

高度好塩菌 *Halobacterium halobium* は、生育に 2 M 以上の高塩濃度を要求する古細菌である。この *H. halobium* の形質膜にあって、ATP を合成している酵素 (Hal-ATPase) が、分子量、至適 pH、阻害剤の効果等の点で、酵素化学的に、 F_0F_1 -ATPase (F 型 ATPase) とは異質であることが、実験的に示された。そこで、この Hal-ATPase をタンパク化学的に同定しようと試みた。

Hal-ATPase に対する抗体を作成し、種々のイオン輸送性 ATPase と免疫交差反応を行った。リン酸化中間体を形成する P 型 ATPase である筋小胞体の Ca^{2+} -ATPase、F 型 ATPase である $C F_1$ ATPase とは、まったく交差反応を示さなかった。一方、他の古細菌である *Sulfolobus acidocaldarius* の膜に存在する ATPase とは明らかに交差反応がみられた。この結果は、古細菌の ATPase は互いによく似ており、F 型とは異なった一群 (A 型 ATPase) を作っているという事を示している。さらに、Hal-ATPase に対する抗体は、高等植物である赤甜菜の、液胞膜に存在している陰イオン感受性の ATPase (V 型 ATPase) と顕著な免疫交差反応を示した。これは、A 型 ATPase と V 型 ATPase が免疫化学的に近縁であること、さらに真核生物のオルガネラの 1 つである液胞と古細菌との類縁関係を示唆している。これらの免疫反応の結果を確証するために、Hal-ATPase のアミノ酸配列を決定する目的で遺伝子のクローニングを行った。

Hal-ATPase の二大サブユニット α 、 β をコードしている遺伝子 *atpA*、*atpB* は、1 つのオペロン中に存在していた。*atpA* は、585 個 (分子量: 64, 104)、*atpB* は、470 個 (分子量: 51, 956) のアミノ酸からなると推定された。アミノ酸配列を、F 型、V 型、他の A 型の ATPase と比較すると、F 型とは、どのサブユニット間の組みあわせにおいても 20 数% の相同性しかみられなかつ

たが、V型、他のA型とは、大きなサブユニット同士（約50%の相同性）、小さなサブユニット同士（約55%の相同性）が、それぞれ対応していた。

A型ATPaseとV型ATPaseの相同性が高い事から、液胞膜等の一重膜オルガネラが、始原古細菌の細胞膜の内胞化により生じた可能性が生まれる。共生進化説の上にとって考えた時、現在の真核生物は、古細菌（A型ATPaseをもつ）を宿主として、それに真正細菌（F型ATPaseをもつ）が共生したものを起原としている事が、ATPaseからの比較によって、示唆された。

論文の審査結果の要旨

井原邦夫君の論文は高度好塩性古細菌*H. halobium*の形質膜に存在するATPase（Hal-ATPase）の酵素化学的、免疫化学的性質を調べたものである。

Hal-ATPaseに対する抗体はP型ATPaseやF型ATPaseとは全く免疫交差反応を示さず、他の古細菌の膜結合性ATPaseと交差反応することが示された。また、真核生物のエンドソームに存在するV型のATPaseとは顕著な交差反応がみられた。このようにして、古細菌のATPaseはすべて類似しており、P型、F型とは異なる一群のATPase（A型ATPase）をつくっていること、また、A型ATPaseとV型ATPaseとは近縁関係にあることを推定した。

これらのことを確かめるために、Hal-ATPaseの遺伝子のクローニングを行ない、 α -サブユニットと β -サブユニットのアミノ酸配列を推定し、他のATPaseのアミノ酸配列と比較した。その結果、Hal-ATPaseはF型ATPaseよりも、古細菌のATPaseやV型ATPaseとの配列により高い相同性のあることを見出した。

これらの結果は、高度好塩性古細菌のATPaseの進化学的位置について新しい知見を示したものであり、井原君の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。