



Title	H ⁺ -ATPase のサブユニット構造と H ⁺ 輸送
Author(s)	恵谷, 誠司
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37232
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・（本籍）	え	や	せい	じ
	恵	谷	誠	司
学位の種類	理	学	博	士
学位記番号	第	9642	号	
学位授与の日付	平成3年3月26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 ⁺ -ATPase のサブユニット構造と H ⁺ 輸送			
論文審査委員	(主査)			
	教授 二井 将光			
	(副査)			
	教授 福井 俊郎	教授 小川 英行	教授 松原 央	
	教授 田川 邦夫			

論文内容の要旨

H⁺-ATPase (F₀F₁) は H⁺ 駆動力に共役して生物のエネルギー代謝の中心をなす ATP を合成する。本研究は、F₀F₁ の H⁺ 輸送機構を分子レベルで明かにすることを究極の目的とし、大腸菌 F₀F₁ を用い H⁺ 輸送に関与するアミノ酸残基を固定した。さらに、古細菌の一種であるメタン菌の H⁺-ATPase の実体を明かにし、この ATPase の H⁺ 輸送機構の研究を行う基礎をつくった。

大腸菌 F₀F₁ の H⁺ 輸送路 F₀ は a, b, c サブユニットから構成される。a サブユニットのみで H⁺ 輸送活性があると示唆されていたが、詳細は明かでなかった。そこで系統的に変異株を作成し、a サブユニット (271 残基) のみでは H⁺ 輸送活性がないことを明かにした。また、F₁ の結合活性のある F₀ の形成には、アミノ末端の110残基領域が重要であり、H⁺ 輸送路の安定化と正常な F₀ と F₁ の相互作用には Gln252 から Ser268 残基の領域および Pro143, Pro230 残基の近傍領域が重要であること、異なる生物のサブユニットで保存されている Gln252, Tyr263 残基は H⁺ 輸送に関与しないことを明かにした。さらに、H⁺ 輸送に直接関与すると推定される残基、Arg210, Gln219, His245 を同定した。これらの残基を同定できたことは、大きな成果と考える。また、部位特異的抗体を用いて、a サブユニットのカルボキシル末端はペリペラズム側を向いていることを明かにした。このサブユニットの膜の中での構造を明かにすることは、H⁺ 輸送路の構造を推定する上で不可欠である。

以上の結果を踏まえて、H⁺-ATPase の H⁺ 輸送路の普遍的な構造を知るために、メタン菌、*Methanobacterium barkeri* の ATPase の研究を同時に行った。メタン菌 ATPase の 5 つのサブユニットの遺伝子をクローン化し、遺伝子は atp D, atp A, atp B, atp G, atp C の順で 1 つのオペロンを形成していることを明かにした。メタン菌 ATPase と他の ATPase の触媒部分を形成するサブユニットと

の構造を比較し、メタン菌ATPaseは液胞膜ATPaseの一種であることを明かにした。また、メタン菌、液胞膜、 F_0F_1 の各ATPaseは同一の祖先蛋白質から進化してきたものと推定した。これら3種の触媒機構は類似していると考えられる。メタン菌ATPaseは最も簡単な構造をしているため、触媒機構の解析に有利と考える。そこで、各サブユニットを単独あるいは組み合わせて発現することのできる組み換えプラスミドを作製し、大腸菌を用いて、このATPaseを解析する系を構築した。大腸菌の細胞内において、各サブユニットを効率よく合成させることが可能となり、サブユニットの性状を解析するための基礎ができあがった。

論文審査の結果の要旨

本論文はATP合成酵素 (H^+ -ATPase) のサブユニット構造について検討した後、特に H^+ 輸送路について詳しい解析を行ったものである。材料としては大腸菌とメタン菌を用いている。恵谷君は以下のような新しい知見を得ている。

- (1) 大腸菌を用いて H^+ -ATPase の a サブユニットが H^+ 輸送路を形成していることを示し、系統的に変異を導入し、Arg-210残基が H^+ 輸送路を形成するアミノ酸残基の一つであることを明かにした。また、a サブユニットの役割を H^+ -ATPase のサブユニット分子集合および膜タンパク質の分子集合という点から明かにした。
- (2) メタン菌ATPase のオペロン構造を明かにし、全塩基配列を決定し、特に H^+ 輸送路について大腸菌との比較を行った。さらにメタン菌ATPase のサブユニットを大腸菌細胞内で発現させ、機能を解析する系を確立した。

これらの知見は H^+ -ATPase を普遍的に理解する上で、きわめて重要なものとする。したがって理学博士の学位論文として十分に価値あるものと認める。