

Title	大腸菌ATP合成酵素 : $\beta$ サブユニットの触媒部位 Glycine-rich Sequence の遺伝生化学的解析
Author(s)	岩本, 昌子
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.11501/3087925">https://doi.org/10.11501/3087925</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

氏名	岩本昌子
博士の専攻分野の名称	博士（工学）
学位記番号	第 10237 号
学位授与年月日	平成 4 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 工学研究科 醗酵工学専攻
学位論文名	大腸菌ATP合成酵素：βサブユニットの触媒部位 Glycine-rich Sequence の遺伝生化学的解析
論文審査委員	(主査) 教授 二井 将光 (副査) 教授 山田 靖宙 教授 大嶋 泰治 教授 吉田 敏臣 教授 今中 忠行 教授 高野 光男 教授 菅 健一

### 論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、大腸菌ATP合成酵素の触媒部位の構造を明らかにすることを目的として、βサブユニットの glycine-rich sequence とよばれる配列に注目している。多数の変異型酵素を作製して性状を解析し、本酵素の基質ATPのγ位リン酸基の結合部位付近の構造を推定した研究結果をまとめたものである。緒論、本文4章、および総括と展望より構成されている。

第1章は緒論であり、本酵素の生物における重要性を考察し、現在までに得られた知見を概説し、本研究の意義について述べた。

第2章では、大腸菌ATP合成酵素の大量生産株DK8/pBWU13を構築した。DK8/pBWU13株の細胞膜には、通常の大腸菌野生株の約10倍量以上のATP合成酵素が、機能を持つ複合体として存在していた。

第3章では、触媒部位の一部を構成すると考えられる、βサブユニットの glycine-rich sequence (Gly-149~Thr-156) の Gly-149 残基の変異によって、Ser-174 残基に起きた変異の表現型が抑圧されることを見いだした。これらの残基が立体構造上近い位置にあることを示唆した。

第4章では、クローン化したβサブユニット遺伝子を鋳型とした polymerase chain reaction 法を用いて領域特異的に変異導入を行った。導入された変異のなかから、Gly-149 残基に起きた変異の表現型を抑圧する Val-198 残基の変異を見いだした。ATP類似化合物のリン酸基側が結合部位の一部を形成していることを強く示唆した。

第5章では、さまざまなイオン輸送性ATPaseに共通の問題である「ATP合成・水解の触媒反応とH<sup>+</sup>の輸送との共役の機構」を知るために、γサブユニットに、系統的に部位特異的な変異を導入し

て検討した。その結果、 $\gamma$ サブユニットのカルボキシル末端領域が、共役機構に重要な役割を持っていることを明らかにした。

第6章では、本論文で得られた結果を総括し、今後の研究の方向について展望を述べた。

### 論文審査の結果の要旨

本論文は、生体のエネルギー転換に中心的な役割を果たしているATP合成酵素の触媒部位の構造について、 $\beta$ サブユニットの glycine-rich sequence に注目し、詳しい研究を行なったものである。さらに、ATP合成・水解と $H^+$ 輸送の共役機構について、 $\gamma$ サブユニットに注目した研究を行なっている。大腸菌を材料として遺伝生化学的な解析を行い、以下のような重要な新しい知見を得ている。

- (1) ATP合成酵素の大量発現株を構築し、本酵素遺伝子への変異の導入と変異酵素の解析を容易にしている。
- (2) 活性中心におけるATPのリン酸基結合部位の近傍には、 $\beta$ サブユニットの glycine-rich sequence (Gly-149~Thr-156) の Gly-149 残基と Ser-174 残基および Val-198~Lys-201 の領域が位置していることを示している。
- (3) ATP合成・水解活性と $H^+$ 輸送の共役には、 $\gamma$ サブユニットのカルボキシル末端が重要な役割を担っていることを示している。
- (4) 変異酵素の解析とその変異の効果を抑圧する他の変異部位の同定、さらに既知のタンパク質の構造との比較検討を行い、未知のタンパク質の活性中心の構造を推定する方法論を示している。

以上のように、本論文は生体エネルギー学、タンパク質工学に貢献するものであり、工業的に用いられている微生物のエネルギー転換機構に対しても重要な知見を与えるものである。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。