

Title	ATP合成酵素の β サブユニットに存在する触媒残基の同定
Author(s)	表, 弘志
Citation	大阪大学, 1993, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38099
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	おもて 表 ひろ 弘 し 志
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 10599 号
学位授与年月日	平成5年3月25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	ATP合成酵素のβサブユニットに存在する触媒残基の同定
論文審査委員	(主査) 教授 二井 将光 (副査) 教授 田川 邦夫 教授 松原 央

論文内容の要旨

本研究では大腸菌のF₀F₁-ATP合成酵素の触媒機構を分子レベルで明らかにすることを最終目標として、βサブユニットに部位特異的な変異を導入し変異酵素の性状を解析した。さらに、触媒反応に重要な役割を持っている残基を検索するために、βサブユニットにランダム変異を導入した。

βサブユニットには多くのヌクレチオド結合蛋白質の間で保存されているGlycine-rich Sequence (Gly149-Gly-Ala-Gly-Val-Gly-Lys-Thr 156, 下線は保存残基)が存在している。Glycine-rich SequenceのLys-155残基とThr-156残基の触媒反応における役割を明らかにする為に、合計9種の部位特異的な変異を導入し、変異酵素の性状を解析した。Lys-155残基をAla, SerまたはThr, Thr-156残基をAla, CysおよびAspに置換した変異酵素は完全に活性がなくなっていた。一方, Thr 156残基をSerに置換した変異酵素は、野生型の1.6倍の活性を持っていた。またLys-155残基とThr-156残基の順序を入れ換えたものや、Thr-156残基をAlaに、Val-157残基をThrに同時に置換した変異酵素も活性を失っていた。これらの結果は、Lys-155残基とThr-156残基が本酵素の触媒反応に極めて重要な役割を持っていることを示している。

Lys-155残基とThr-156残基の役割を明らかにするために、変異酵素の膜表在性F₁部分を精製し、その触媒反応を詳細に解析した。F₁には3つの触媒部位が存在し、条件によって触媒部位が協同的に働いているMulti-site活性と1つの触媒部位のみで反応しているUni-site活性を測定することができる。Lys-155またはThr-156残基に変異を導入したF₁はMulti-site活性だけでなく、Uni-site活性もなくなっていた。以上の結果は、Lys-155とThr-156の2つの残基が本酵素の触媒反応に必須な残基である事を示している。このような必須残基はこれまでに報告されておらず、重要な知見が得られたと考える。また、これらの変異F₁はUni-site反応のATP結合の速度(k₊₁)が低下し、ATPに対する親和性(K_d_{ATP})が著しく低下していた。したがって、Lys-155残基とThr-156残基がATPの結合に重要な役割を持っていると結論した。

触媒機構を理解するためには触媒反応に必須な残基をすべて同定し、その役割を明らかにする必要がある。その最初の段階として、必須残基や触媒部位を構成している残基を検索するためにβサブユニットにランダム変異を導入した。これにより、42株の変異株を単離し、変異部位を決定した。その結果、変異の部位がI (Cys137-Ser 174), II (Gly207-Ser 255), III (Tyr297-Val 320), IV (Cys337-Glu 369)の4つの領域に集中していることが明らかになった。これらの領域がLys-155, Thr-156とともに重要な役割を持っていると結論した。

論文審査の結果の要旨

本論文は酸化的リン酸化においてATP合成反応を触媒しているATP合成酵素の β サブユニットに存在する触媒残基について広汎に変異を導入し詳細な酵素化学解析を行ったものである。その結果 β サブユニットのLys-155及びThr-156残基が触媒残基であることを初めて明らかにしている。従って、博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。