



Title	A Study on the Structural Basis of Distinct and Essential Function of 7Fe Ferredoxin
Author(s)	末次, 由実
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38846">https://hdl.handle.net/11094/38846</a>
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。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名	末次由実
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第11222号
学位授与年月日	平成6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	A Study on the Structural Basis of Distinct and Essential Function of 7Fe Ferredoxin (7鉄8硫黄フェレドキシン特有の機能に関する構造的基盤の研究)
論文審査委員	(主査) 教授 松原 央 (副査) 教授 倉光 成紀 教授 長谷 俊治

### 論文内容の要旨

フェレドキシンは生物界に広く存在する分子量1万程度の小さな鉄硫黄蛋白質である。この蛋白質は鉄硫黄クラスターを結合する蛋白質の構造とその物理化学的性質の解析に用いられている。3鉄または4鉄クラスターを含むフェレドキシンは細菌のものに多く、それらは様々な代謝経路への関与が報告されるが、その生理機能には未知の部分が多い。しかし近年複数種類のフェレドキシンを持つ細菌が報告され、一細菌内でこれらが機能分担する可能性が注目されている。そこで、本研究では、遺伝学的解析に適する光合成細菌 *Rhodobacter capsulatus* の8鉄と7鉄の2種類のフェレドキシンを用いてその構造・機能相関を解析した。初めに蛋白質を精製したが、その際、培養条件の違いで各フェレドキシン含量変動比は異なっていた。また、それらの一次構造を決定し、双方を含む細菌フェレドキシンの分子系統樹を作成したところ異なるグループに属したことから、一細菌内での生理機能が異なる可能性が示唆された。そこで次に各フェレドキシンの遺伝学的解析を行い、この細菌の2つのフェレドキシン FdxC, FdxN が窒素固定で機能するのに対し、7鉄フェレドキシン II (FdxA) が機能を異にし、生育に必須で恒常に少量発現することを明らかにした。そこで FdxA に種々の蛋白質工学的改変を行い、その必須な生理機能に与える構造的基盤を解析した。遺伝子を直接破壊できないため、[1] 野生株に *fdxA* を持つプラスミドを導入する、[2] ゲノム上の野生型遺伝子を選択的に薬剤耐性遺伝子と置換する、という遺伝子交換の系を開発して変異 *fdxA\** の導入とゲノム遺伝子の破壊を試みた。FdxA を含む *Azotobacter* 型7鉄フェレドキシンに共通の2点、クラスターを保持するシステイン (Cys) の配置と C 末端側に長いアミノ酸配列、を対象とした。Cys10 と Cys16 間の4残基 Lys-11-Tyr-Thr-Asp15 を2残基に置換すると変異株は Gly-Ala (GA-)、Gly-Asp (GD-) FdxA\* で生育したが Gly-Asn (GN-) FdxA\* では生育せず、また GA-FdxA\*, GD-FdxA\* は野生型 FdxA より不安定で、この部分が FdxA の構造・機能に重要と判断した。一方 111 残基の FdxA を C 末端から 10, 30, 50 残基欠失させた場合は変異株が得られず、少なくとも C 末端 10 残基は FdxA 機能発現に必須であった。更に C 末端 2 残基を欠いても野生型と同じ形質を示したが、6 或いは 8 残基を欠くと生育条件の違いで形質が異なり、C 末端からの僅か数残基が生理機能に著しく影響を及ぼした。C 末端 6 残基欠損の変異株は暗所で生育能が低下するが長期間の培養で生育能を回復した擬似帰株を生じ、その二次的な変異は変異 FdxA\* 分子内ではなくゲノム上の復帰変異の可能性が示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

末次君は光合成紅色非硫黄細菌 *R. capsulatus* に存在する数種のフェレドキシン (Fd) の中、2種類の Fd の単離と構造決定を行った。Fd I は 64, Fd II は 111 のアミノ酸から成り、それぞれ 8 鉄・硫黄と 7 鉄・硫黄クラスターをもち、Fd I は窒素固定に必須のもの、Fd II は未同定ではあるが、生育に必須のものとして確定した。遺伝子の破壊実験、新しい遺伝子操作の導入による Fd I, II の改変から、それぞれの Fd の構造と機能の相関関係を論じた。

以上の結果、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。