



Title	Haloferax volcanii チトクロムaa3 の精製とそれに基づく高度好塩性古細菌の系統分類
Author(s)	田中, 幹衛
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39932
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	田 中 幹 衛
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	第 1 2 3 4 1 号
学位 授 与 年 月 日	平成 8 年 3 月 25 日
学位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科生理学専攻
学 位 論 文 名	<i>Haloferax volcanii</i> チトクロム aa 3 の精製とそれに基づく高度好塩性古細菌の系統分類
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 森田 敏照
	(副査) 教 授 小川 英行 名古屋大学教授 向畠 恭男 教 授 倉光 成紀

論 文 内 容 の 要 旨

呼吸鎖末端酸化酵素は好気性生物に普遍的に存在しており、多くの生物種において単離され、それらの遺伝子がクローニングされているが、古細菌においては数例のみ解析されているだけで、呼吸鎖全体についてもよくわかっていない。古細菌のひとつである高度好塩菌は、好気的代謝系をもつことが知られている。本研究ではまず *Haloferax volcanii* のチトクロム aa 3 の精製を試みた。数段のクロマトグラフィーによる精製によって、44kDa と 35kDa のサブユニットからなる均一な標品を得た。本酵素は同菌株より部分精製したチトクロム c に対して、電子供与体として機能したことからチトクロム c 酸化酵素であると判明した。このような活性機能を持つタンパクは古細菌において初めて見い出され、古細菌の各グループに特徴的な電子伝達系が存在することを示唆した。次に、44kDa サブユニットから決定した部分アミノ酸配列に基づき当該遺伝子をクローニングした結果、当該遺伝子産物は、12本の膜貫通領域を持つことが予想され、また他の生物種のチトクロムオキシダーゼと同様にヘムおよび銅原子の配位に必須であるヒスチジン残基等はよく保存されていることから、ミトコンドリアや真正細菌のそれと同様な触媒機構を持っていると思われる。

また、高度好塩菌は、今まで六種類の属に分類されていたが、いくつかの菌株における 16SrRNA 及び光駆動性イオンポンプの一次配列に基づく分子系統樹の結果から、新たな属が提唱された。このことをチトクロム酸化酵素に基づく分子系統樹等によって追認するため、また高度好塩菌のチトクロム酸化酵素を真核生物ミトコンドリアや真正細菌のそれらの間に位置づけるため、12種の高度好塩菌の17分子種のチトクロム酸化酵素について部分一次配列を決定した。その結果に基づき Neighbour-Joining 法によるチトクロム酸化酵素の分子系統樹を作成した結果、16SrRNA やロドプシンの一次配列に基づく分子系統樹と同様にチトクロム酸化酵素サブユニット I (COX I) の部分アミノ酸配列に基づく分子系統樹では、各遺伝子は属特異的にサブグループを形成していたが、際立った相異点として、二つのタイプに大別された。*Haloferax* 属ではゲノム上にそれらの両方を持っていることから、おそらく高度好塩菌が発生してまもなく遺伝子重複が起こったためであろうと思われる。*Haloaroula* 属も複数の遺伝子を持つことが示唆されたが、この遺伝子重複は前者に比べ最近になって起こったのかもしれない。以上の結果から、COX I のタイプと構成によって各々の好塩菌属を特徴づけることができる可能性がある。全生物界の COX I の helix II から helix XI までの領域を用いて系統樹を作成した場合、COX I は真正細菌と古細菌に分歧する前に遺伝子重複が起こり、ミトコンドリアや真正細菌の COX I はそのうちの一方から派生したと考えられているが、好塩性古細菌の二

つのタイプの COX I も共に、それらと同じプロトタイプから派生した後、それぞれ独自に進化してきたように考えられる。

論文審査の結果の要旨

高度好塩古細菌の *Haloferax volcanii* からチトクロム aa 3 の精製に成功した。この酵素がチトクロム c 酸化酵素である可能性を示し、44kDa サブユニットの (COX I) 遺伝子の塩基配列を決定した。12種の他属高度好塩古細菌のチトクロム c 酸化酵素の遺伝子の部分配列を解析し、チトクロム酸化酵素の分子種の起源と分子進化および高度好塩古細菌の系統分類に重要な知見を与えた。

これらの研究は古細菌の分子進化の研究に貢献するものであり、博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。