The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Functional Analysis of the Hydrophilic Domain of Na+/H+ Antiporter from Saccharomyces cerevisiae
Author(s)	三井, 慶治
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45119
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　三井慶治（みつい　けいじ）

博士の専攻分野の名称　博　士（理　学）

学位記番号　第　18410　号

学位授与年月日　平成16年3月25日

学位授与の要件　学位規則第4条第1項該当

理学研究科生物科学専攻

学位論文名　Functional Analysis of the Hydrophilic Domain of Na^+/H^+ Antiporter from *Saccharomyces cerevisiae*
（出芽酵母 Na^+/H^+ 交換輸送タンパク質の親水性ドメインの機能解析）

論文審査委員　（主査）
教　授　金澤　浩

（副査）
教　授　倉光　成紀　　教　授　福山　恵一　　助教授　米崎　哲朗

論文内容の要旨

【背景と目的】

細胞は生命を維持するために、細胞内のイオン環境を一定に維持している。そのために、細胞は膜を介してイオンを輸送する多くのイオン輸送タンパク質を利用している。しかし、そのようなイオン輸送タンパク質のうち1次能動輸送性タンパク質によって形成されたイオンの電気化学的勾配を駆動力として他のイオンを輸送する2次能動輸送性タンパク質については、イオン輸送やエネルギーカップリングの分子メカニズムなど不明な点が多く残されている。私は、遺伝学が容易に使える *Saccharomyces cerevisiae* を対象生物として2次能動輸送タンパク質である Na^+/H^+ 交換輸送タンパク質に存在する親水性ドメインがイオン輸送活性の発現や調節にどのような役割を果たしているか明らかにすることを目的とした。

【結果と考察】

(1)真菌類（酵母）の Na^+/H^+ 交換輸送タンパク質の構造

私は、分類学上多様な真菌類 *Hansenula anomala*、*Candida tropicalis*、*Aspergillus nidulans* の Na^+/H^+ 交換輸送タンパク質遺伝子をクローン化し、その配列を比較することによって、真菌類における Na^+/H^+ 交換輸送タンパク質の構造の多様性と統一性を明らかにした。その結果、真菌類の Na^+/H^+ 交換輸送タンパク質の親水性ドメインは、多様性に富んでおり、種に特有な機能を保持していると考えられた。しかし、部分的に保存された領域（C1-C6）が6ケ所見い出された。これらの領域は種に共通した機能に重要であると考えられる。

(2)Na^+/H^+ 交換輸送タンパク質の親水性ドメインの役割

S. cerevisiae Na^+/H^+ 交換輸送タンパク質（Nha1p）の親水性ドメインの機能発現や活性制御における役割を明らかにするために、様々な親水性ドメインの欠失変異体や置換変異体を作製し、それぞれのイオン輸送活性と細胞内局在を検討した。その結果、C4-C6領域はNha1の活性抑制ドメインであることが示唆され、反対にC2-C3領域はNha1pの活性化に必要な領域であることが示唆された。また、C1領域はNha1pの機能発現に必要な領域であることが示唆

された。さらに、C1 領域の N 末端側 3 残基は Nha1p の細胞膜への局在化に、一方 C 末端側は Nha1p のイオン輸送活性に重要であることが示唆された。

(3)Na^+/H^+ 交換輸送タンパク質のイオン輸送活性を上昇させる因子（Cos3p）

Nha1p の親水性ドメインに結合し、酵母細胞の耐塩性を上昇させる因子を探索したところ、Cos3p を発見した。Cos3p の過剰発現は、野生株では耐塩性を上昇させるが、*nha1*⊿株では耐塩性を上昇させなかったことから、Cos3p は Nha1p の機能を介して耐塩性を上昇させていることが示唆された。また、Cos3p は主に液胞膜に存在するが、一部は細胞膜にも局在していた。また、Cos3p と Nha1p が細胞内で相互作用していることをプルダウン解析により明らかにした。これらの結果から、Cos3p は細胞内で Nba1p と結合して細胞膜上で複合体を形成して Nha1p のイオン輸送活性を上昇させる新規膜タンパク質であることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

三井慶治氏は、生物の細胞膜に普遍的に存在する Na＋と H＋を交換し膜の内外へ輸送するタンパク質 Na＋/H＋交換輸送タンパク質の構造と機能と制御の分子レベルでの解明を目指して、酵母を材料として選び研究を行った。遺伝子工学、生化学的手法によりこのタンパク質分子の部分構造の分子全体に対する役割を明らかにするとともに、このタンパク質に結合し機能を促進する全く新規なタンパク質を発見した。研究成果は、３編の論文として発表済みであり、審査の結果、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。