-[19]-

氏名

MD. HABIBUR RAHMAN

授与した学位 専攻分野の名称 博 学 術

学位授与番号 学位授与の日付

博甲第1502号 平成8年3月25日

学位授与の要件

自然科学研究科生体調節科学専攻

(学位規則第4条第1項該当)

学位論文題目

Two Proton Pumps in Vacuolar Membrane of

Acetabularia acetabulm: Molecular biological studies

on a H<sup>+</sup>-translocating-ATPase and -inorganic pyrophosphatase

(カサノリ液胞膜に存在する二つの $H^{\dagger}$ ポンプ: $H^{\dagger}$ -ATPase 及びinorganic pyrophosphatase に関する分子生物学的研 究)

論文審查委員

教授 大森 晋爾 教授 土屋 友房 教授 早津 彦哉

教授 山本 啓司 教授 佐藤 公行

## 学 位 論 文 内 容 の 要 旨

Two proton pumps, a H<sup>+</sup>-translocating ATPase (V-ATPase) and a H-translocating inorganic pyrophosphatase (H-PPase) are ubiquitous in vacuolar membrane of higher plants, but the algal V-ATPase and H'-PPase are not well understood yet. Investigations on the two proton pumps in vacuolar membrane of Acetabularia acetabulum were performed molecular biologically.

We have isolated two each of cDNA clones which encode the A and B subunits of V-ATPase from A. acetabulum, one (pVAL/pVBF) from a cDNA library of A. acetabulum and the other (pVA6/pVB6) from total RNA. respectively. Three cDNA clones (pVC1, pVC2 and pVC3) were also isolated from total RNA which code for the proteolipid subunit. of their primary structures showed the highest similarities to those of higher plants, then to those of yeast and bovine.

Among the cDNA clones, pVAL/pVA6, pVBF/pVB6 and pVC1/pVC2(pVC3), extensive divergencies in their codon usages, 5'- and 3'-untranslated regions were observed, respectively which strongly suggested the existence of a small multigene family. The primary structures all of the three cDNA clones were also highly conserved with those of so far known proteolipid subunits of V-ATPases.

As for the other H'-pump, H'-PPase, a cDNA fragment (579 bp) was isolated from total RNA. The deduced amino acid sequence was about 60% identical with that of Arabidopsis and barley which exhibits a significant difference with the homology between higher plants H'-PPase (over 90%).

The above results support unique features of A. acetabulum Further studies on the two H pumps in A. V-ATPase and H -PPase. acetabulum will give more informations on the meaning of a small multigene family of V-ATPase and on the evolution of a H\*-PPase family.

## 論文審査結果の要旨

海棲の単細胞から成る生物体である Acetabularia acetabulum (カサノリ)の液胞膜に存在する二つのプロトンポンプ,H<sup>†</sup>-ATPase (V-ATPase) 及び inorganic pyrophosphatase の一次構造解析を遺伝子クローニングにより行った。

その結果、 V-ATPase の A(触媒サブユニット)・B(調節サブユニット)・16 kDa proteolipid( $H^{\dagger}$ 輸送路を形成)の 3 種類のサブユニットをコードするそれぞれ 2 種類の full length cDNA クローンを得た。即ち、 small multigene family の存在を強く示唆するものであった。

H<sup>+</sup>-PPase については、579 bp, 193 amino acids をコードする cDNA 断片を得た。 高等植物に報告されている H<sup>+</sup>-PPase との相同性は約 60% と低く、又、カサノリ H<sup>+</sup>-PPase には高等植物ではみられない 30 amino acids の挿入配列が存在した。

藻類の上記二つのプロトンポンプについての研究はほとんどなされておらず, 本研究 が最初の詳細な報告であり, 二つのプロトンポンプの分子進化等に貴重な情報を提供するものである。

以上の研究はその研究内容より学位論文(学術)に値する。