

氏名	河原秀久		
学位の種類	学術博士		
学位授与番号	博甲第940号		
学位授与の日付	平成3年3月28日		
学位授与の要件	自然科学研究科生物資源科学専攻 (学位規則第5条第1項該当)		
学位論文題目	<i>Acidiphilium facilis</i> 24 R株の耐酸性機構に関する研究		
論文審査委員	教授 田野達男	教授 鈴木幸雄	教授 田中英彦
	教授 奥 八郎	教授 土屋友房	

学位論文内容の要旨

本研究において好酸性従属栄養細菌である *Acidiphilium facilis* 24 R株の耐酸性機構の一部を初めて明らかにした。本菌株の親株とpH 4.0以下の強酸性下で生育できない変異株を調製し、各膜成分について親株と比較検討した。変異株は膜中の結合型ポリアミンとアミノ脂質の含量が減少しており、強酸性下での生育を回復させた変異株中では、その各成分は親株の約40%の含量であった。次に、外膜タンパク質について両株を比較したところ、本菌株の外膜タンパク質は12種で、そのうち主要外膜タンパク質7種(Omp 1~7)のうちOmp 3, 6が変異株に欠損していることを明らかにした。この2種も生育を回復させた変異株中には存在していた。さらに詳細に性質を検討したところ、両タンパク質は外膜中に3量体として存在し、等電点はアルカリ側であった。さらに、リポソームを用いて耐酸性能を分析するアッセイ系を確立し、各成分について分析したところ、上記3成分の耐酸性機構への関与を明らかにすることができた。さらに、これら成分により大腸菌リポソームを耐酸性化することができた。以上の結果から、これら成分が本菌株の耐酸性機構に関与していることが明らかとなり、本菌株の耐酸性機構の一部として、膜全体を強酸性下でよりプラスに荷電させていることが考えられた。

論文審査の結果の要旨

近年、特殊環境下で生育する微生物の利用を目的として、これら微生物の特殊機能、特殊な細胞成分、生産物などの研究が注目されている。河原秀久は、このような観点から好酸性従属栄養細菌である *Acidiphilium facilis* 24 R株の耐酸性機構について研究を行っ

た。この細菌の酸性条件下における生育に対するポリアミンの重要性を、ポリアミン合成系酵素の阻害剤、変体株などを用いて明らかにした。次に、酸性条件下では生育出来ない変異株と野性株の細胞膜成分について比較検討を行った。その結果、結合型ポリアミンの約60%が膜画分に局在し、リン脂質と結合していることを見出した。さらに、膜脂質について検討し、オルニチン脂質、タウロオルニチン脂質などの存在を明らかにした。そこで、結合型ポリアミン、アミノ脂質の細胞膜中の分布を調べたところ、前者は外膜に、後者は内外膜に存在し、結合型ポリアミンは外膜のリポ多糖層に局在していた。培地にスペルミジンを追加することにより、酸性条件下での生育を可能にした変異株には、結合型ポリアミンとアミノ脂質の含量が野性株の約40%まで回復していた。以上の結果より、この細菌が耐酸性を維持するためには、細胞膜中の結合型ポリアミンとアミノ脂質が重要であると考えた。次に、変異株と野性株の外膜タンパク質について比較検討し、野性株には主要なタンパク質として7種のタンパク質(Omp 1~7)が存在し、変異株ではこの中Omp 3と6が欠損していることを明らかにした。これらの外膜タンパク質を単離、精製して性質について検討し、Omp 3と6のサブユニットの分子量はそれぞれ41,000と19,000であり、外膜中では3量体であるので、ポーリンの存在が示唆された。両タンパク質のN末端アミノ酸配列を分析したところ *E. coli* のOmpとは異なるが、*E. coli* のそれと同様に塩基性アミノ酸に富んでいた。以上により、この2種の外膜タンパク質はポーリンとして、或いは外膜中の荷電に影響を与える成分として耐酸性に関与していると考えた。そこで、結合型ポリアミン、アミノ脂質、2種の外膜タンパク質などからリポソームを調製し、これを用いて、これらの細胞膜成分の耐酸性への寄与を証明した。

本学位審査委員会は、上記の論文内容、参考論文を総合的に審査した結果、学術博士の学位に値するものと判定した。