

氏名	島 本 整		
学位の種類	学 術 博 士		
学位授与番号	博 乙 第 2183 号		
学位授与の日付	平成 2 年 9 月 30 日		
学位授与の要件	博士の学位論文提出者 (学位規則第 5 条第 2 項該当)		
学位論文題目	細菌細胞能動輸送系遺伝子の解析： 大腸菌メリビオース輸送系とネズミチフス菌クエン酸輸送系に ついて		
論文審査委員	教授 土屋友房	教授 篠田純男	教授 早津彦哉
	教授 田野達男	教授 宇根山健治	

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

細胞内の恒常性維持や栄養物の輸送などには、能動輸送系（物質の濃度勾配に逆らった輸送）が重要な役割をはたしている。共輸送系は、イオンの細胞膜内外の電気化学的ポテンシャルを利用して栄養物などの輸送を行う系であり、その輸送における分子機構が注目されている。本論文においては、 Na^+ との共輸送系である大腸菌のメリビオース輸送系および H^+ との共輸送系であると考えられているネズミチフス菌のクエン酸輸送系に注目し、輸送タンパク質の構造と機能の関係および輸送系遺伝子の発現調節機構について述べた。

まず、輸送担体遺伝子をクローニングし（メリビオース輸送担体遺伝子は既にクローニングされていた）、その DNA の塩基配列を決定することによってそれぞれの輸送担体の一次構造（アミノ酸配列）を明らかにした。そして、この配列よりタンパク質の二次構造を推定し、これまでに得られている変異株の変異部位やその他の構造上の知見を考慮することによって輸送担体の膜内配向性や機能ドメインの位置などを推定した。また、輸送担体遺伝子の調節機構およびその役割を理解するために、遺伝子の発現調節機構を明らかにした。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

細胞膜における栄養・イオンの吸収や細胞内恒常性の維持において、能動輸送（物質の濃度勾配に逆らった輸送）が重要な役割を担っている。能動輸送にはいくつかのタイ

プのものがあるが、本論文で取り上げている共輸送においては、膜を介するイオンの電気化学的ポテンシャルが輸送の駆動力となっている。本論文では、 Na^+ との共輸送系である大腸菌のメリビオース輸送系と、 H^+ との共輸送系であるネズミチフス菌のクエン酸輸送系に注目し、共輸送を行う輸送タンパク質の構造と機能の関係・類似性および輸送系遺伝子の発現調節機構について解析している。

輸送タンパク質の一次構造（アミノ酸配列）を構造遺伝子の側から明らかにするため、まず遺伝子の解析が試みられた。大腸菌のメリビオース輸送系の遺伝子 *mel B* については、共同研究者によりすでにクローニングされていたのでそれが用いられた。ネズミチフス菌のクエン酸輸送系の遺伝子 *cit A* については本論文の著者によりクローニングが行われた。大腸菌にはクエン酸に対する輸送系がないため大腸菌はクエン酸を単一炭素源として生育することはできない。ところがネズミチフス菌の *cit A* 遺伝子を導入された大腸菌トランスフォーマントはクエン酸を単一炭素源として生育することができるようになった。また、そのような細胞は確かにクエン酸を輸送する活性を獲得していることが明らかになった。次に、上記2つの遺伝子の塩基配列が決定された。こうして両輸送タンパク質のアミノ酸配列が明らかにされた。両輸送タンパク質は共に非極性アミノ酸を約70%含むことが明かとなった。この知見は、両輸送タンパク質が膜の脂質二重層を貫通するタンパク質であることと良く対応している。両輸送タンパク質の一次構造にはホモロジーはほとんど認められなかったが、両者のヒドロパシーパターンはかなり良く似ていた。そして両輸送タンパク質共12個の膜貫通領域を有することが示唆された。これを基に両輸送タンパク質の膜内配向性モデルが提案されている。またこれまでに明らかにされている変異株の変異部位や構造上の知見から機能ドメインが推定されている。一方、両輸送系遺伝子の発現調節機構についても解析されている。

以上のように、本研究により2つの共輸送系の遺伝子の構造と輸送タンパク質の一次構造が明らかにされ、輸送タンパク質の機能部位や膜内配向性などに関する知見が得られた。これらは学術上重要な成果であり、本論文は学術博士の学位に値するものと認める。