

氏名	牧 瀬 正 樹
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	葉 学
学位授与番号	博甲第2518号
学位授与の日付	平成15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)
学位論文の題目	大腸菌DNA複製開始因子DnaAの膜リン脂質による活性調節機構
論文審査委員	教授 土屋 友房 教授 綿矢 有佑 教授 森山 芳則

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

大腸菌の DNA 複製開始因子 DnaA は DNA 複製開始後、内在性 ATPase 活性によって活性型の ATP 型から不活性な ADP 型に変化する。酸性リン脂質であるカルジオリピンは、試験管内で高濃度 ATP 存在下、DnaA の ADP/ATP 交換反応を促進して、不活性な ADP 型を ATP 型に再活性化する。しかしながら、この分子機構は未解明であった。私は、DnaA の膜結合ドメインに変異を導入した一連の変異蛋白質を生化学的に解析することによって、分子機構を解明しようと考えた。そして、塩基性アミノ酸残基である 328 番目のアルギニンと 372 番目のリジンがカルジオリピンとの結合に重要であることを明らかにした。また両アミノ酸残基に挟まれた 334 番目のアルギニンが DnaA の ATP/ADP 結合に関与することを見出した。以上から私は DnaA とカルジオリピンの相互作用の分子モデルを提唱した。すなわち、カルジオリピンは 2 つの塩基性アミノ酸残基とイオンの結合し、334 番目のアルギニンを DnaA の ATP 結合ポケットから引き離すことによって、DnaA の ADP 解離を促進するというモデルである。

一方以前に我々は、温度感受性 *dnaA* 変異株の膜リン脂質組成の解析から、膜リン脂質が細胞内において DnaA の活性を抑制するという全く新しい可能性を見出した。この可能性を検証する目的で、DnaA の origin DNA 結合に与える膜リン脂質の影響を生化学的に検討した。その結果、カルジオリピン等の酸性リン脂質は DnaA の origin DNA への結合を阻害したが、中性リン脂質はその結合を阻害しなかった。すなわち、DnaA の origin DNA 結合は、ATP/ADP 結合と同様に、酸性リン脂質によって阻害されることが分かった。私は、膜リン脂質が DnaA の origin DNA 結合を阻害し、DNA 複製の再複製開始反応を抑制する可能性を考えている。

論文審査結果の要旨

生物の染色体 DNA は 1 回の細胞周期において一度だけ複製される。生物にはこれを厳密に制御する仕組みが備わっている。大腸菌ではその仕組みの中心的役割を果たすのが DnaA である。DNA 複製開始因子 DnaA は、複製開始後内在性の ATPase 活性によって、活性型の ATP 型から不活性型の ADP 型に変化する。酸性リン脂質であるカルジオリピンは、不活性な ADP 型を ATP 型に再活性化する。本論文ではこの制御のメカニズムを解析している。すなわち、DnaA の膜脂質結合ドメインに変異を導入した一連の変異蛋白質を生化学的に解析することによって、分子機構を解析している。そして DnaA タンパク質において、塩基性アミノ酸残基であるアルギニンとリジンがカルジオリピンとの結合に重要であることを明らかにしている。また両アミノ酸残基に挟まれたアルギニンが DnaA の ATP/ADP 結合に関与することを見出している。そして DnaA とカルジオリピンの相互作用の分子モデルが提唱されている。

また、温度感受性 *dnaA* 変異株の膜リン脂質組成の解析結果から、膜リン脂質が細胞内において DnaA の活性を抑制するという新しいメカニズムを提唱している。この可能性を検証するため、DnaA の origin DNA 結合に与える膜リン脂質の影響を生化学的に検討している。そして、カルジオリピン等の酸性リン脂質は DnaA の origin DNA への結合を阻害するが、中性リン脂質はその結合を阻害しないという結果を得ている。また、膜リン脂質が DnaA の origin DNA 結合活性を阻害し、DNA 複製の再複製開始反応を抑制する可能性を示している。

以上のように、本論文は染色体 DNA 複製制御機構の重要な一面を明らかにしたものであり、学術上大変興味深く、博士の学位に値するものと判断する。