

氏名	金 榮 穆
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	薬 学
学位授与番号	博 甲 第 1927号
学位授与の日付	平成11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	Structure-Function Analyses of Bacterial Na ⁺ -coupled Transporters (細菌細胞のNa ⁺ 共役型トランスポーターの構造と機能の解析)
論文審査委員	教授 土屋 友房 教授 篠田 純男 教授 木村 聰城郎

学位論文内容の要旨

私は細菌細胞の Na⁺共役型トランスポーターの構造と機能および輸送機構を明らかにすることを目標として本研究を行った。

まず大腸菌の主要なセリン輸送系である Na⁺/セリンシンポーター (SstT) の大量生産と精製を目指した。遺伝子操作により SstT に His-tag を付加し、発現効率の高い *trc* プロモーターの制御下で誘導をかけることにより目的タンパク質の大量生産を行った。そして Ni-アフィニティーカラムで精製することに成功した。次に精製した SstT タンパク質についてリポソーム再構成系で解析し、生化学的性質を明らかにした。さらに全遺伝子構造が明らかになっているインフルエンザ菌から、Na⁺/セリンシンポーター (SstT と SdaC) の遺伝子クローニングを行い、構造解析、機能解析を行った。そして両細菌の SstT 同士について比較検討した。一方、Na⁺共役型トランスポーターにおける輸送機構を明らかにするため、Na⁺と競合すると考えられているアミロライドを用い、阻害効果を解析した。

論文審査結果の要旨

この研究は細菌細胞の Na^+ 共役型トランスポーターの構造と機能および輸送機構の解析を目的として行われたものである。タンパク質の構造と機能を明らかにする上で、遺伝子クローニングと構造解析およびタンパク質の精製が大変有効な手段となる。著者は大腸菌の主要なセリン輸送系である Na^+ /セリンシンポーター (SstT) について、まず遺伝子面からの解析を行い、その構造的特徴を明らかにした。そしてこの輸送タンパク質の大量生産と精製を目指した。遺伝子操作の手法によりこのタンパク質のC末端にヒスチジンタグを付加し、発現効率の高いプロモーターの制御下で誘導をかけることにより目的タンパク質を大量に生産した。そしてアフィニティーカラムを用い一段階で精製することに成功している。次に精製したタンパク質についてリポソーム再構成系で解析し、その生化学的性質を明らかにすると共に、この系を介して Na^+ と基質がシンポートされることを明らかにした。さらに全遺伝子構造が明らかになっているインフルエンザ菌から、 Na^+ /セリンシンポーターの遺伝子をクローニングし、構造解析、機能解析を行い、構造面から機能部位を推定した。また、 Na^+ 共役型トランスポーターに対して Na^+ と競合すると考えられているアミロライドを用い、阻害効果を解析し、阻害メカニズムを推定した。このように、本研究により Na^+ 共役型トランスポータに関して多くの新しい知見が得られた。

本研究は学術上価値あるものであり、博士の学位に値するものと判断する。