

| | | | |
|----------|--|----------|----------|
| 氏名 | 大 橋 俊 孝 | | |
| 学位(専攻分野) | 博 士(薬 学) | | |
| 学位授与番号 | 博 甲 第 1040 号 | | |
| 学位授与の日付 | 平成 4 年 3 月 28 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 | カサノリ (<i>Acetabularia acetabulum</i>) に存在するCl ⁻ 輸送性ATPaseに関する研究 —反応機構・輸送機構の解明— | | |
| 論文審査委員 | 教授 大森 晋爾 | 教授 篠田 純男 | 教授 土屋 友房 |
| | 教授 佐藤 公行 | 教授 奥 八郎 | |

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

カサノリ (*Acetabularia acetabulum*) は頭部にカサを持つ大型の海棲の単細胞緑藻であり、Gradmannらの詳細な電気生理学的研究によりその形質膜にelectrogenicなCl⁻ポンプの存在することが支持されてきた。先に、池田らはカサノリの膜画分よりATPaseを可溶化、精製し、精製したATPaseをリポソームに再編成することによりATPによって駆使されるelectrogenicなCl⁻輸送活性を証明した。

申請者は、カサノリCl⁻輸送性ATPaseの反応機構・輸送機構の解明を目的として蛋白質化学的解析及びリポソームでの再編成実験を行い、次の諸点を明らかにした。

1. Cl⁻輸送性ATPase a, bサブユニットの部分一次構造解析によりFタイプATPase (ATP合成酵素) に対する高い相同性が示されると同時に、カサノリクロプラストF₁-ATPaseと異なる事が示唆された。又、この実験のためにSDS-PAGEゲルからの蛋白質の簡便かつ高回収率のelectroelution法を確立した。
2. ヌクレオチド結合部位特異的修飾剤であるATP類似化合物AP₃-PLを用いてATP結合部位(触媒部位)の同定を行った。触媒部位はaサブユニットに存在する事が示唆された。
3. Arg残基特異的修飾試薬フェニルグリオキサールによる修飾実験により、ATP結合部位とCl⁻輸送路が立体的に近い領域にある可能性が示唆された。
4. Cl⁻輸送性ATPaseのリポソームへの再構成においてCl⁻ポンプとしての性質およびATP合成能の検討を行った。2Cl⁻が酵素に結合して輸送が行われている事、アニオン

特異性は $\text{Cl}^- > \text{F}^-$, $\text{Br}^- > \text{SO}_4^{2-}$ である事が明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

提出学位論文の内容は次のようなものである。

カサノリ (*Acetabularia acetabulum*) は頭部にカサを持つ大型の海棲の単細胞緑藻であり、Gradmannらの詳細な電気生理学的研究によりその形質膜にelectrogenicな Cl^- ポンプの存在することが支持されてきた。先に、池田らはカサノリの膜画分よりこのATPaseを可溶化・精製し、精製したATPaseをリポソームに再構成することによりATPによって駆動されるelectrogenicな Cl^- 輸送活性を証明した。

出願者は、カサノリ Cl^- 輸送性ATPaseの反応機構・輸送機構の解明を目的として蛋白質化学的解析及びリポソームでの再構成実験を行い、次の諸点を明らかにした。

1. Cl^- 輸送性ATPase a, bサブユニットの部分一次構成解析によりFタイプATPase (ATP合成酵素) に対する高い相同性が示されると同時に、カサノリクロロプラスト F_1 -ATPaseと異なる事が示唆された。又、この実験のためにSDS-PAGEゲルからの蛋白質の簡便かつ高回収率のelectroelution法を確立した。
2. ヌクレオチド結合部位特異的修飾剤であるATP類似化合物アデノシン三リン酸ピリドキサルを用いてATP結合部位(触媒部位)の同定を行った。触媒部位はaサブユニットに存在する事が示唆された。
3. Arg残基特異的修飾試薬フェニルグリオキサールによる修飾実験により、ATP結合部位と Cl^- 輸送路が立体的に近い領域にある可能性が示唆された。
4. Cl^- 輸送性ATPaseのリポソームへの再構成において Cl^- ポンプとしての性質およびATP合成能の検討を行った。 2Cl^- が酵素に結合して輸送が行われている事、アニオン特異性は $\text{Cl}^- > \text{F}^-$, $\text{Br}^- > \text{SO}_4^{2-}$ である事が明らかとなった。

出願者の研究業績論文は11編ある。よって、上記出願者の論文は博士(薬学)を得るに充分相当する。