

氏名	佐藤隆
学位の種類	理学博士
学位記番号	理博第517号
学位授与の日付	昭和53年3月23日
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当
研究科・専攻	理学研究科生物物理学専攻
学位論文題目	大腸菌膜タンパク質の遺伝生化学的研究

論文調査委員 (主査) 教授 由良 隆 教授 小関治男 教授 大西俊一

### 論 文 内 容 の 要 旨

細胞膜は細胞を外界から分つのみでなく、外刺激の受容、栄養源のとりこみ、エネルギー代謝、複雑な細胞内構造体の形成、および細胞増殖とその調節に必須のその他の機能について積極的に役割を持つ重要な細胞内器官である。細胞膜の構造、機能、形成を解明することは、細胞増殖を理解する上で最も基本的な課題の1つであるが、大腸菌はこのような研究においても非常に有用な系である。申請者は上の問題に迫るため、大腸菌の膜蛋白質に焦点をあて、1) 大腸菌膜を構成する蛋白質の種類、2) 膜蛋白質の合成調節に関する変異株の解析、3) 外膜主要蛋白質の1つ protein Ia の構造遺伝子の推定の実験を行い次のような新たな知見を得た。

大腸菌膜蛋白質を等電点および分子量によって分画する2次元電気泳動法によって解析し、トリトン X などの界面活性剤により SDS などのイオン性界面活性剤を用いることなしに protein Ia, Ib 以外のほとんどの膜蛋白質が可溶化され泳動可能であること、protein Ia, Ib の可溶化には酸沈澱という前処理が有効かつ簡便であること、膜蛋白質の等電点は大部分 pH4~6.5 の範囲にあることを明らかにした。この系を用いて外膜主要蛋白質の泳動スポットを同定し、外膜、内膜にはそれぞれ少なくとも50種類および120種類の蛋白質が存在することを明らかにした。

膜蛋白質の合成および細胞周期の調節に欠損を持つと言われる温度感受性変異株 ts42 の遺伝解析を行い変異を染色体上21分付近にマップし、この変異株の種々の多面的効果が単一変異に起因するものであることを明らかにした。この変異により多くの蛋白質の合成が影響を受けることを2次元電気泳動法により明らかにした。

また protein Ia 欠損変異株を見出しこの変異 (omp-2) が染色体上の serC と pyrD の間に存在することを明らかにした。さらにこの染色体部位を形質導入による組み換えによりネズミチフス菌の相同部分と交換する実験を行い、形質導入体ではネズミチフス菌の外膜主要蛋白質の内 protein Ia に相当する蛋白質 ("36K蛋白質") と、等電点、分子量、トリプシン分解物のパターンにおいて非常によく

類似する蛋白質が2種類形成されることを見出した。これらの結果および protein Ia, Ib の合成に係る他の変異 ompB の効果に関する考察などから protein Ia の構造遺伝子が omp-2の 近傍に存在する可能性を示唆した。

### 論文審査の結果の要旨

大腸菌膜の研究は近年著しい進展を見せているが、いくつかの基本的な問題が未解決である。例えば内膜および外膜には何種類の蛋白質が存在するのかも明らかではなかった。申請者はこの問題を2次元電気泳動法により解明した。未分画の膜に関する報告は1.2あるが外膜と内膜の蛋白質組成を別個に高分解能2次元電気泳動によって解析したのはこれが最初のものである。またこの系を膜蛋白質に適用する上でいくつかの基本的問題を検討した。得られた結果は、今までのどの報告よりも多種類の蛋白質の存在を示しており、その電気泳動像は今後の大腸菌膜の研究の1つの基礎になるものと考えられる。

膜蛋白質の生合成調節に関しても不明の点が多いが、ts42 変異株はその解明の1つの手がかりになると思われる。この変異株に関しては今まで本格的解析がなされなかったが申請者の遺伝学的研究によりこの変異株の本質解明が一步進んだことになる。

膜蛋白質の中でも外膜主要蛋白質は種々の面から研究が進んでいるが、中でも重要な機能を持つと考えられている protein Ia, Ib に関しては構造遺伝子が知られていない。protein Ia, Ib の合成に関与する遺伝子は数種類知られているがいずれもその役割は全くわかっていない。申請者はネズミチフス菌との遺伝子組み換えによる巧妙な実験により、申請者の見出した omp-2 変異が protein Ia の構造遺伝子に起ったものであり、protein Ib の構造遺伝子とは異なるという可能性を、初めて具体的に指摘した。

以上のように本研究は、基礎的かつ独創的で、多くの新しい知見を含み細胞膜遺伝生化学の分野において高く評価されるものである。

よって、本論文は理学博士の学位論文として価値あるものと認める。