

氏名	稲葉圭
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1626号
学位授与の日付	平成9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)
学位論文題目	大腸菌の Na^+/H^+ アンチポーター (NhaA, NhaB, ChaA) の機能と役割
論文審査委員	教授 土屋 友房 教授 篠田 純男 教授 大森 晋爾 教授 白石 友紀 教授 金澤 浩

学位論文内容の要旨

大腸菌は三種の Na^+/H^+ アンチポーター (NhaA、NhaB、ChaA) を持っている。私は各種のアンチポーター欠損変異株を分離・作製し、それらアンチポーターの役割について調べ、以下のことを明らかにした。1) Na^+ 駆動力の形成には、NhaA、NhaBの両方の系が必要であり、どちらか一方だけでは十分な Na^+ 駆動力の形成が行えないことがわかった。2) 細胞内pHの調節能は $\text{ChaA} > \text{NhaA} > \text{NhaB}$ の順であることが分かった。3) 細胞容積調節能は $\text{NhaA} > \text{ChaA} = \text{NhaB}$ の順であることをわかった。4) 有害量の Na^+ や Li^+ の吐き出し能を調べたところ、 Na^+ 毒性の解除能は $\text{NhaA} > \text{ChaA} > \text{NhaB}$ の順であり、 Li^+ 毒性の解除能は $\text{NhaA} > \text{NhaB} > \text{ChaA}$ の順であることがわかった。この Li^+ 毒性の原因を調べるため、蛋白質合成に着目し、 Li^+ の影響を調べた。その結果、蛋白質合成阻害も Li^+ 毒性の一つの原因となることがわかった。

論文審査結果の要旨

Na⁺/H⁺アンチポーターはNa⁺とH⁺を交換輸送する系であり、微生物細胞から動物細胞に至るまで広く細胞の膜に存在することが知られている。よく解析されている大腸菌においては、その機能として、1) 有害なNa⁺とLi⁺の排出、2) Na⁺駆動力の形成、3) 細胞内pHの調節、4) 細胞容積の調節、の4つが考えられている。大腸菌には3種のNa⁺/H⁺アンチポーターが存在することが報告されている。しかし、それら3種がどのように役割を分担しているのか不明であった。本論文の著者は、遺伝子操作の手法により、各Na⁺/H⁺アンチポーターの欠損変異株を作成し、それぞれの系がどのような役割を担っているのかについて解析した。

各欠損変異株の作成は、薬剤耐性遺伝子でそれぞれのNa⁺/H⁺アンチポーター (NhaA, NhaB, ChaA) の遺伝子 (*nhaA*, *nhaB*, *chaA*) を破壊することにより行った。目的どおりのものができたかどうかは、マーカーとして用いた薬剤に対する耐性と各アンチポーターの活性が消失していることの確認、およびPCR法による遺伝子欠損の確認等により行った。このようにして、それらすべての系が欠損した株、各1つの系を欠損した株、各2つの系を欠損した株 (各1つの系のみを持つ株) を作成した。こうして得た株を用い、上記1) ~ 4) に対する各アンチポーターの役割を詳細に検討した。そして、有害なNa⁺とLi⁺の排出にはNhaA系が最も大きな貢献をしていること、Na⁺駆動力の形成にはNhaA系とNhaB系が重要であること、細胞内pHの調節には主としてChaA系が働いていること、等を明らかにした。なお、この研究で得られた欠損変異株は、他の微生物のNa⁺/H⁺アンチポーター遺伝子のクローニングに極めて有用であることが示された。

以上のように、本論文は大腸菌の3種のNa⁺/H⁺アンチポーターそれぞれについて機能と役割に関する重要な点を明らかにしたものである。この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。