

氏名	鈴木 恵美
授与した学位	博士
専攻分野の名称	薬学
学位授与番号	博乙第3216号
学位授与の日付	平成10年3月25日
学位授与の要件	博士の学位論文提出者 (学位規則第4条第2項該当)
学位論文題目	DNA複製変化による膜リン脂質脂肪酸組成の変化
論文審査委員	教授 土屋 友房 教授 大森 晋爾 教授 篠田 純男 教授 白石 友紀 教授 金澤 浩

### 学位論文内容の要旨

私は、2種の固相抽出カラム及び極性、pH、塩濃度の異なる抽出溶媒を組み合わせることにより、従来法に比べ、約100倍以上感度がよくかつ簡便なリン脂質及びその脂肪酸の分析法を確立した。さらにこの分析法を大腸菌の膜リン脂質の脂肪酸分析に応用し、DNA複製制御機構に対する新しいアプローチ、すなわち、DNA複製開始因子をコードする *dnaA* 遺伝子の変異の脂肪酸組成に及ぼす影響を調べた。その結果、高温感受性 *dnaA* 変異株で、培養温度上昇に伴い、すなわち DNA複製開始頻度の低下に従い、リン脂質脂肪酸の不飽和度が大きく低下することを見出した。このような不飽和度の低下は、他のDNA複製関連タンパクの変異株でもみられたが、細胞分裂及びRNA合成の阻害により増殖できない変異株ではみられなかった。また低温感受性株である *dnaAcos* 変異株では、過剰複製の起きる低温において逆に不飽和度の上昇がみられた。

以上の結果は、DNA複製の変化が細胞膜のリン脂質脂肪酸の不飽和度を変化させることを示唆しており、私はこの機構により、細胞内においてDNA複製の恒常性が保たれている可能性を考えている。

## 論文審査結果の要旨

細胞の膜はリン脂質とタンパク質を主成分としている。膜タンパク質は様々な細胞機能を担っており細胞の活動において重要な役割を担っている。一方膜のリン脂質は、特に細菌細胞においては、脂質二重層の形成以外には細胞の機能に関与している例はほとんど知られていない。著者は細菌細胞のDNAの複製変化により膜リン脂質が変化することを見出した。このことは膜リン脂質がDNA複製に関与している可能性を示唆するものであった。

本研究において、著者はまずリン脂質の簡便で精度のよい新しい分離分析法を確率した。その方法は、2段階または3段階の固相抽出カラムにかけ、溶出液の組成を変化させることによりリン脂質を精度よく分離するものである。この方法では、従来法に比べ、感度は100倍以上上昇し、操作も簡便になっている。

次に著者は、大腸菌のDNA複製の開始を制御するDnaAタンパク質が酸性リン脂質と相互作用することから、膜のリン脂質がDnaAタンパク質の活性制御を介してDNA複製を制御している可能性を検討した。すなわち、DnaAタンパク質の活性変化に伴いリン脂質の脂肪酸組成が変化するかどうか調べた。そしてDnaA変異株と野生株では脂肪酸組成が大きく異なっていることを見いだした。そしてこの変化がプラスミドを用いた正常なdnaA遺伝子導入により、DNA複製と同時に元にもどることを示した。一連の実験から、DNA複製の低下が脂肪酸の不飽和度の低下を、逆に過剰なDNA複製が不飽和度の上昇を導くことを明らかにした。他のDNA複製変異株でも同様の脂肪酸不飽和度の変化が見られたが、RNA合成や細胞分裂の変異株では変化は見られなかった。すなわち、このような膜リン脂質の脂肪酸の不飽和度の変化によりDNA複製の恒常性が保たれている可能性が考えられる。

以上のように、本論文は大腸菌のDNAの複製変化と膜リン脂質の脂肪酸不飽和度の変化の関係を初めて明らかにしたものである。この研究は学術上大変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。