

氏名	黒田正幸		
学位(専攻分野)	博士(薬学)		
学位授与番号	博甲第 1153 号		
学位授与の日付	平成 5 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	細菌細胞における輸送制御機構の解析		
論文審査委員	教授 土屋 友房	教授 篠田 純男	教授 早津 彦哉
	教授 千葉 喬三	教授 田中 英彦	

### 学位論文内容の要旨

筆者は、細菌細胞における物質輸送の制御機構である Inducer exclusion の分子メカニズムを明らかにするため、ネズミチフス菌や大腸菌に存在するメリビオース輸送系を題材として本研究を行った。

まず、ネズミチフス菌において、メリビオース輸送系の Inducer exclusion 抵抗性変異株を分離した。そして遺伝子面からの解析により、それら変異株のメリビオース輸送タンパク質について、D438Y, R441S, R441G, I445N というアミノ酸残基置換を固定した。これらのアミノ酸残基は、メリビオース輸送タンパク質の膜内配向性モデル上で、細胞質側に突出していると考えられる C 末端領域に存在しており、この C 末端領域が Inducer exclusion 感受性に重要であると考えられた。

また部位特異的変異体を作製し解析した結果、445番目のアミノ酸残基については、その側鎖の構造が Inducer exclusion 感受性には重要であると考えられた。

さらに大腸菌メリビオース輸送タンパク質について C 末端からの段階的欠失変異体について解析を行った結果、C 末端から 20 アミノ酸残基付近までがメリビオース輸送タンパク質の活性および Inducer exclusion 感受性に重要な役割を果たしていることがわかった。

従って、メリビオース輸送タンパク質の C 末端領域は Inducer exclusion 感受性に大きく関与しているだけでなく、メリビオース輸送タンパク質の機能にも重要な役割を果たしていると考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

申請者黒田は、細菌細胞膜における物質輸送がどのように制御されているのかを分子レベルで解析し、制御の分子機構に関する新しい知見を得た。

大腸菌を初めとする細菌細胞は、栄養などの物質を利用する際、巧みな制御を行い、効率よく環境中の物質を利用していることが知られている。この効率的な物質利用の背景には二つの制御機構が存在することがわかっている。一つはカタボライト・リプレッションであり、これは遺伝子発現レベルでの制御である。もう一つはインデューサー・イクスクルージョンであり、こちらは物質を細胞内に取り込む段階での制御、すなわちタンパク質機能段階での制御である。前者については分子レベルでよく解析されているが、後者については、その制御機構はよくわかっていなかった。インデューサー・イクスクルージョンと呼ばれる輸送制御では、グルコースなどの利用に関与するホスホトランスフェラーゼ系 (PTS) のファクター III が直接のイフェクターとなっている。申請者はネズミチフス菌と大腸菌を用い、メリビオース輸送系における輸送制御の変異株を多数分離し、生化学面および遺伝子面からの解析を行った。その結果、メリビオース輸送系のC-末端付近のいくつかのアミノ酸残基が、ファクター III との相互作用部位であることが明らかになった。この領域の二次構造モデルでは、同定されたアミノ酸残基はすべて $\alpha$ -ヘリックスの同じ側に位置することも明らかになった。部位特異の変異導入法による解析からも、輸送制御におけるこの領域の重要性が確認された。また、遺伝子操作によるC-末端トランケーションの実験からも、C-末端から20番目付近の残基が輸送制御に極めて重要であることがわかった。

PTSによる輸送制御は多くの細菌の多くの輸送系で見られるものである。申請者の得た新しい知見は、これまで明らかでなかった輸送制御機構の分子レベルでの理解に大いに資するものであり、本論文は学位論文に値するものと判断する。