Osaka University Knowledge Archive

Title	Molecular Interaction of Ca-pump ATPase in Sarcoplasmic Reticulum Membrane
Author(s)	山崎, 和生
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3060131
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

【26】

氏　　名	山　崎　和　生（やま ざき かず お）
博士の専攻分野の名称	博　士（理　学）
学位記番号	第　10132　号
学位授与年月日	平成4年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科　生理学専攻
学位論文名	Molecular Interaction of Ca-pump ATPase in Sarcoplasmic Reticulum Membrane **（骨格筋小胞体膜中での Ca-pump ATPase の分子間相互作用）**
論文審査委員	（主査） 教　授　中村　隆雄 （副査） 教　授　徳永　史生　　教　授　倉光　成紀　　助教授　山本　泰望

論文内容の要旨

本論文において私は，筋小胞体（ＳＲ）のCa－ATPaseの機能単位がCa－ATPase単量体であるか，あるいは多量体であるかについて明らかにするために，反応速度論的手法，および化学架橋法を用いて検討を試みた。

第一部：Ca－ATPaseに対する，リン酸のアナグロであるvanadate（Vi）の結合について検討した結果，Ca－ATPaseが膜中にあるときは，著しく親和性の異なる二種類のVi結合部位がCa－ATPase 1モル当たり0.5モルずつ存在したが，Ca－ATPaseを高濃度の非イオン性界面活性剤で可溶化しCa－ATPase間の分子間相互作用を阻害すると，Vi結合部位は一種類でCa－ATPase 1モル当たり1モルとなった。以上のことはＳＲ膜中ではCa－ATPaseは二量体として存在し，両分子間での相互作用によって二種類のVi結合部位が存在していることを示唆している。

第二部：ＳＲにリン酸を加えＥＰを形成させたのちViを添加すると，ＥＰ量は二相性の時間経過を示しながら減少した。このうち速い成分については低親和性部位へのViの結合によるものであり，速い成分がリン酸によって拮抗的に緩和されることから，低親和性部位がリン酸化部位であることが示唆された。また遅い成分については高親和性部位へのViの結合によるものであることが示唆された。高親和性部位へのViの結合はリン酸化部位の存在するCa－ATPase分子と異なる分子上で起こりながらＥＰ形成を阻害することから，逆反応からのＥＰ形成に分子間相互作用が関与していることが示唆された。

第三部：Ca－ATPaseの膜中での集合状態を二価性試薬N, N'－（1，4－phenylene）bismaleimide（ＰＢＭ）を用いて検討した。リガンド非存在下でＳＲにＰＢＭを作用させると，分子間架橋によりCa－

ATPase単量体は速やかに消失したが，特定の多量体の蓄積はなかった。これに対しＡＴＰアナグ（ＡＭＰ－ＰＮＰ）存在下では二量体が優先的に形成され，それよりも大きな多量体の形成は抑制された。またVi存在下では分子間架橋は完全に阻害された。以上の結果はCa－ATPaseのＳＲ膜中での集合状態がCa－輸送サイクルに伴って変化する可能性を示唆している。

第四部：第三部で見られた分子間架橋部位について検討した。その結果Cys-377およびCys-614が分子間架橋に関与していることが示唆された。このうちCys-614はＡＭＰ－ＰＭＰによって保護されることから，ＡＭＰ－ＰＭＰ存在下での分子間架橋部位はCys-377，非存在下ではCys-614でも架橋がおこり多量体が形成されると考えられた。

以上の結果よりＳＲ膜中ではCa－ATPaseは二量体として存在しCa－輸送の機能単位を構成していると結論した。

論文審査の結果の要旨

著者は筋小胞体膜を介するカルシウム能動輸送に膜中に存在するCa－ATPaseの分子間相互作用が関与している可能性を反応速度論および蛋白質化学構造の両面から検討した。その結果，筋小胞体膜中でCa－ATPaseが2量体を形成することによって1分子間の触媒部位を共有することを明らかにした。さらに，同酵素の分子間相互作用部位近傍の一次構造を決定し，部位がカルシウム輸送反応サイクル中に変化することを示唆した。

本研究は筋小胞体によるカルシウムの能動輸送の分子機構を解明する上で極めて重要であるのみならず，他の多くの能動輸送膜系への応用性も高い。以上の理由により本研究は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。