



|              |   |
|--------------|---|
| Title        | Functions of the Two Heads of the Myosin Molecule                               |
| Author(s)    | Inoue, Akio   |
| Citation     | 大阪大学, 1976, 博士論文  |
| Version Type | VoR   |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/163">https://hdl.handle.net/11094/163</a> |
| rights       |   |
| Note         |   |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

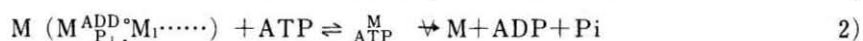
【3】

|             |  |
|-------------|--|
| 氏 名・(本籍)    | 井 上 明 男  |
| 学 位 の 種 類   | 理 学 博 士  |
| 学 位 記 番 号   | 第 3 5 4 1 号  |
| 学位授与の日付     | 昭 和 51 年 3 月 25 日  |
| 学位授与の要件     | 理学研究科生物化学専攻<br>学位規則第 5 条第 1 項該当                          |
| 学 位 論 文 題 目 | ミオシン分子の 2 つの頭部の機能  |
| 論 文 審 査 委 員 | (主査)<br>教 授 殿村 雄治<br>(副査)<br>教 授 神谷 宜郎 教 授 松原 央 教 授 佐藤 了 |

論 文 内 容 の 要 旨

筋収縮はミオシンとアクチンと ATP の 3 者の反応によって引き起こされる。このミオシン分子が 2 つの頭部を持つことはすでに明らかにされているが、それぞれの頭部でどのような反応が起こるのかはまだ明らかにはされていない。

そこで、ミオシン -ATPase 反応を反応中間体（ここではおもに活性ミオシン-リン酸-ADP 複合体,  $M^{ADP}$ ）の形成過程、反応中間体の分解過程、ならびに定常状態における ATPase 活性の 3 つから研究した。その結果、次のメカニズムが得られた。



次にミオシン -ATPase 反応に充分量のピルベートキナーゼ -PEP 系を共役させ、ATPase 反応中でミオシンに結合している ATP ならびに ADP の量を測定した。ATPase 反応中でミオシン 1 モルあたり ADP は 0.6 モル、ATP は約 1 モル結合した。ATP の結合の強さは上記 2) の系路の ATPase 反応の  $K_m$  値と一致した。ADP の結合の強さはそれよりも強く、反応初期にはミオシン 1 モルあたり 1 モルの結合があるが、その後  $M^{ADP}$  の分解速度と等しい速さで減少した。ATPase 活性は結合 ADP 量には比例しなかった。これらの結果は上記のメカニズムとよく一致し、1) および 2) の系路の ATPase 反応の site がミオシン 1 モルあたりそれぞれ 1 モルずつ存在することを示している。

これらの ATPase 反応の site がミオシンの 2 つの頭部それぞれに存在することは、ミオシン頭部 (S-1) をアクチンとの結合を利用して  $M^{ADP}$  を多く形成するもの (頭部あたり 0.7) としないもの (頭部あたり 0.3) に分離することにより示された。

アクト—HMM—ATPase 反応中における HMM への ATP および ADP の結合と ATPase 活性を測定した。ヌクレオチドは加える ATP 量が HMM 1 モルあたり 1 モル以下ではヌクレオチドは結合 ADP として観測された。ATPase 活性は結合 ADP 量に比例して増大し  $\text{Ca}^{2+}$  存在の有無には影響されなかった。 $\text{Ca}^{2+}$  存在下では加える ATP 量をさらにましても ATPase 活性は変わらなかった。EGTA 存在下では加える ATP 量の増大にともない結合 ADP 量ならびに ATPase 活性は減少して HMM のみでの値となり ATPase 活性に比例して HMM 1 モルあたり約 1.4 モルの ATP の結合がみられた。この結果から、アクトミオシン ATPase 反応は  $\text{M}_{\text{P}}^{\text{ADP}}$  を経て行われ、筋の弛緩には  $\text{A}_{\text{TP}}^{\text{M}}$  の形成が必要であることが示された。

さらに、アクトミオシン—ATPase 反応がアクトミオシンの解離をとともなう反応とともなわない反応の 2 系路から成り立つことが  $\text{M}_{\text{P}}^{\text{ADP}}$  とアクチンとの結合速度の測定により示された。

### 論文の審査結果の要旨

筋収縮におけるエネルギー変換の基本反応が、(1)ミオシン分子の頭部と ATP の反応による活性ミシン—P—ADP 複合体、 $\text{M}_{\text{P}}^{\text{ADP}}$ 、の形成、および(2)F—アクチンによって促進される  $\text{M}_{\text{P}}^{\text{ADP}}$  の分解であることは最近ようやく一般的に承認されるようになった。しかしながら、(1)ミオシン分子の 2 つの頭部が同一の機能を持っており、2 つの頭部で上記の反応が起るのか、あるいは 2 つの頭部は同一ではなく、一つの頭部でのみ上記の反応が起るのか、および(2)F—アクチンによる  $\text{M}_{\text{P}}^{\text{ADP}}$  の分解がどのような機構によるものであるかについては、意見の一致を見ていなかった。

井上君はこの論文で ATPase 反応中のミオシンに結合している ATP、ADP および P を測定し、それらがミオシンモルあたり 1 モルであることから、ミオシンの一方の頭部で  $\text{M}_{\text{P}}^{\text{ADP}}$  が、他方の頭部ではミオシン—ATP 複合体、 $\text{A}_{\text{TP}}^{\text{M}}$ 、が形成されることを結論した。さらに、ミオシンのパライン分解によって得られる頭部、サブフラグメント—1、を巧妙な方法で等モルの 2 成分に分離し、それらがそれぞれ ATP と反応して  $\text{M}_{\text{P}}^{\text{ADP}}$  と  $\text{A}_{\text{TP}}^{\text{M}}$  を形成することを示した。井上君の研究によってミオシン分子の 2 つの頭部の機能が異なることが初めて明かにされたが、これらの研究は筋収縮の分子生理学の分野における最近の最も重要な発展として広く注目を集めている。

さらに、井上君は  $\text{M}_{\text{P}}^{\text{ADP}}$  を形成する頭部の ATPase のみが F—アクチンによって著しく促進されることを示した。また、この F—アクチンの存在下での ATPase 反応の素反応段階を解析し、アクトミオシンの ATPase はアクチン— $\text{M}_{\text{P}}^{\text{ADP}}$  複合体の直接加水分解とそれが F—アクチンと  $\text{M}_{\text{P}}^{\text{ADP}}$  に分離し、再結合する経路の 2 つの経路で起ることを示した。井上君はまた、アクトミオシン系におけるミオシンの一方の頭部での  $\text{A}_{\text{TP}}^{\text{M}}$  の形成が、弛緩蛋白質が存在し  $\text{Ca}^{2+}$  が存在しない弛緩状態でのみ起ることから、 $\text{A}_{\text{TP}}^{\text{M}}$  は収縮の  $\text{Ca}^{2+}$  制御に関与していると結論した。

以上の井上君の研究は筋収縮の分子機作の解明に基本的に重要な貢献をしたものと認められる。よって本論文は理学博士の学位論文として十分な価値あるものと認める。