OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

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	https://hdl.handle.net/11094/163
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 3541 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 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) 教授 殿村 雄治 (副査) 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 -ATP*ase*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}_{P}）・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ATP*ase* 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。

$$M+ATP \rightleftharpoons M_1ATP \rightleftharpoons M_2ATP \rightleftharpoons M^{ADP}_{P} \rightleftharpoons M+ADP+Pi \rightleftharpoons M+ADP+Pi \quad 1)$$

$$M\ (M^{ADD}_{P_i}, M_1 \cdots\cdots) + ATP \rightleftharpoons {}^{M}_{ATP} \rightleftharpoons M+ADP+Pi \quad 2)$$

次にミオシン —ATP*ase*反応に充分量のピルベートキナーゼ —PEP系を共役させ，ATP*ase*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。ATP*ase*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ATP*ase*反応のKm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^{ADD}_{P}の分解速度と等しい速さで減少した。ATP*ase*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ATP*ase*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ATP*ase*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}_{P}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－ ATP*ase* 反応中における HMM への ATP および ADP の結合と ATP*ase* 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。ATP*ase* 活性は結合 ADP 量に比例して増大し Ca^{2+} 存在の有無には影響されなかった。Ca^{2+} 存在下では加える ATP 量をさらにましても ATP*ase* 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 ATP*ase* 活性は減少して HMM のみでの値となり ATP*ase* 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 ATP*ase* 反応は M_P^{ADP} を経て行われ，筋の弛緩には $_{ATP}^{M}$ 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 －ATP*ase* 反応がアクトミオシンの解離を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 M_P^{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，M_P^{ADP}，の形成，および(2)F－アクチンによって促進される M_P^{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 M_P^{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 ATP*ase* 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 M_P^{ADP} が，他方の頭部ではミオシン －ATP 複合体，$_{ATP}^{M}$，が形成されることを結論した。さらに，ミオシンのパパ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 M_P^{ADP} と $_{ATP}^{M}$ 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 M_P^{ADP} を形成する頭部の ATP*ase* 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 ATP*ase* 反応の素反応段階を解析し，アクトミオシンの ATP*ase* はアクチン －M_P^{ADP} 複合体の直接加水分解とそれが F－アクチンと M_P^{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 $_{ATP}^{M}$ の形成が，弛緩蛋白質が存在し Ca^{2+} が存在しない弛緩状態でのみ起ることから，$_{ATP}^{M}$ は収縮の 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の価値あるものと認める。