

Title	Structure and Function of Myosin
Author(s)	Takenaka, Hitoshi
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	http://hdl.handle.net/11094/24575
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

氏名・(本籍)	竹 中 均
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 4 2 1 2 号
学位授与の日付	昭 和 53 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	ミオシンの構造と機能
論文審査委員	(主査) 教授 殿村 雄治 (副査) 教授 佐藤 了 教授 中川 八郎

論 文 内 容 の 要 旨

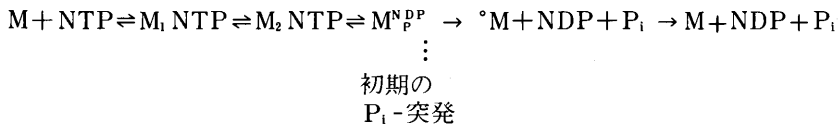
筋収縮で中心的な役割を果たすミオシンの機能を先ずそれ自身の構造から、次いで基質アナログとの相互作用から調べた。

ミオシン及びH-メロミオシン(HMM)をp-クロル水銀安息香酸(CMB)で処理すると、それらに含まれる2分子の g_2 -サブユニットの1つが選択的に除かれた。CMB処理で遊離する g_2 としない g_2 のアミノ酸組成に差はなかった。他方、サブフラグメント-1(S-1)に含まれる1分子の g_2 派生物はCMB処理で遊離しなかった。ジチオスレイトール(DTT)でCMBを除いたこれらの蛋白質のATPase活性はCMB処理をしないものと略々同程度の値を示した。CMB-DTT処理したミオシンとF-アクチンの複合体は未処理ミオシンの場合と異なり、超沈殿の Ca^{2+} による調節を受けなかった。CMB-DTT-HMM及びCMB-DTT-S-1とF-アクチンの複合体は、過剰量のATPを加えても各々未処理のHMM及びS-1の場合の30及び50%の解離しか示さなかった。更に、アクト-CMB-DTT-HMMは未処理のHMMと同じく鎌型構造を形成するが、ATP添加後も解離せずに無秩序な方向で結合していた。以上の結果から、ミオシンの2つの g_2 の結合部位に違いがあり、少なくともその1つはミオシンのATPase活性に関与しないこと、CMB-DTT処理によりアクトミオシンの結合様式が変わることが示された。しかし乍ら、DTT処理後も強く結合しているCMBがあり、 g_2 の除去がアクトミオシンの結合の変化をひき起こしているのか否かは結論できなかった。

次に基質アナログ(NTP)として、CPK-空間充填モデルから判定してグリコシド結合の回転の容易なものと困難なものを合成し、ミオシン及びアクトミオシンの相互作用について調べた。回転の困難なNTPとしてはanti型、syn型及びそれらの中間型のNTPを用いた。回転の容易なNTPは高い

EDTA (K⁺)-NTPase活性と非常に低いMg²⁺-NTPase活性を示したが、回転の困難なNTPは高いMg²⁺-NTPase活性と著しく低いEDTA (K⁺)-NTPase活性を示した。回転の困難なNTPを基質とすると、定常状態に於ける加水分解速度の基質濃度依存性から求めたミカエリス定数 (K_M)はいずれのNTPについてもトリプトファン残基の蛍光増大度から求めた見かけの解離定数よりずっと大きい値を示した。更に、回転の容易なNTPは、F-アクチンによるミオミンNTPase活性の活性化、反応初期の急速な無機リン酸の放出、アクトミオシンの超沈殿の全てをひき起こしたが、回転の困難なNTPはこれらのいずれをも起こさなかった。以上で得られた結果は、グリコシド結合の回転の困難なNTPを基質とした時、下に示した頭部B上での反応でM₂NTPは形成されるがMⁿPPへの交換がなく、加水分解は頭部Aにより触媒されることを示している。更に、このM₂NTPとMⁿPPの間の平衡反応が筋収縮に不可欠な反応であり、この反応はNTPのグリコシド結合の回転を要求していることを示した。更に、このことはM₂NTPとMⁿPPの間の平衡反応で、酵素活性中心のNTPの塩基と糖を認識する部位の間に三次元的な構造変化の起こっていることを強く示唆した。

頭部B：



Trp残基の蛍光増大 F-アクチンによる賦活

頭部A：



論文の審査結果の要旨

筋収縮において中心的役割を果たしているのがミオシンATPaseであることはよく知られている。竹中均君はこのミオシンの構造と機能について以下に述べるような2つの研究を行なった。

まず、ミオシンをp-クロル水銀安息香酸で処理すると1分子のミオシンに含まれている2分子のg₂-サブユニットのうちの1つが選択的に除去されることを見出した。この研究はミオシンのg₂-サブユニットの機能を研究する基礎となったものであり、特にミオシンATPaseおよびミオシンとF-アクチンの複合体であるアクトミオシンATPaseにはg₂-サブユニットが直接関与していないことが結論された。また得られた結果はミオシン分子の2つの頭部が異なる構造をしているとする考えとよく一致するものであった。

竹中君の第2の研究は、ミオシンおよびアクトミオシンと立体特異的な基質アナログ (NTP) との相互作用に関するものである。竹中君はグリコシド結合の回転の容易なNTPと困難なNTPを数多く合成し、それらのミオシンおよびアクトミオシンとの反応の間に以下のような著しい相違のあること

を発見した。即ち、回転の容易な基質アナログは K^+ のみの存在下でミオシンによって著しく速やかに分解され、 Mg^{2+} の存在下ではゆるやかにしか分解されないが、逆に回転の困難な基質は K^+ のみの存在下では殆んど分解されず、 Mg^{2+} の存在下では著しく速やかに分解された。さらに、回転の容易な基質はすべて筋収縮をひきおこしたが、回転の困難なものはすべて収縮をひきおこさなかった。竹中君は詳細な速度論的研究を行ない、上記のような著しい両者の相違は、前者ではミオシンと基質複合体 ($M \cdot NTP$) からミオシン-P-NDP 複合体 ($M \cdot P \cdot NDP$) が形成されるが、後者では $M \cdot NTP$ の $M \cdot P \cdot NDP$ への転換が起こらず、ミオシンNTPaseがF-アクチンによって促進されないためであることを明確に示した。この結果は筋収縮に $M \cdot P \cdot NDP$ 複合体の形成を必要とすることを強く示唆するものであり、さらにこの複合体の形成にはミオシンATPaseの活性中心に存在するリボースと塩基を認識する部位の3次元構造が変化することを示唆するものである。

竹中均君の一連の研究は、いずれも精密な実験に基づく独創的な解析の結果であり、筋収縮の生化学における貴重な貢献と言えよう。従って、理学博士の学位論文として充分価値あるものと認められる。