OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

| | |
|---|---|
| Title | CONTRACTILE ATPase ACTIVITY AND SUBFRAGMENTS OF MYOSIN |
| Author(s) | Hayashi, Yutaro |
| Citation | 大阪大学, 1971, 博士論文 |
| Version Type | VoR |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/2662 |
| rights | |
| Note | |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

【17】

| | |
|---|---|
| 氏名・(本籍) | 林（はやし）　雄太郎（ゆうたろう） |
| 学位の種類 | 理学博士 |
| 学位記番号 | 第2216号 |
| 学位授与の日付 | 昭和46年3月25日 |
| 学位授与の要件 | 理学研究科生理学専攻<br>学位規則第5条第1項該当 |
| 学位論文題目 | **筋収縮系のATPase活性とミオシンのサブフラグメント** |
| 論文審査委員 | (主査) 教授 殿村 雄治<br>(副査) 教授 神谷 宣郎　教授 浜口 浩三 |

## 論文内容の要旨

筋組織は、多くの動物に共通した構造をもつ最も発達した運動器官である。筋収縮のエネルギー源はアデノシン三リン酸（ATP）であり、筋線維の構造タンパク質であるミオシンは、ATPを分解する作用（ATPase）をもっている。従って、筋線維およびミオシンのATPase作用の研究は、筋収縮の化学的エネルギーの機械的エネルギーへの変換機構を明らかにする手がかりを与える。本研究は上記の観点から、筋線維のATPase活性と、ミオシンの活性フラグメント（S—1）の酵素活性と構造について研究したものである。

グリセリン処理をした筋線維を用いて基質の線維内への拡散の影響のない条件で測定したATPase活性は、サルコメヤーの長さによって変化した。すなわち、2.0から2.5$\mu$で最大活性をしめし、それ以上長くなるにしたがい活性は減少した。2$\mu$以下に短くなるにつれて活性は急激に減少し、1$\mu$で最大値の¼に達した。このATPase活性とサルコメヤーの長さの関係は、Gordonらの張力—サルコメヤーの長さの関係と本質的に同じであった。それらの関係の特徴の大筋は、筋収縮の「滑走理論」によって説明できた。以上の結果、ATPaseと張力はミオシン線維の“projection”(これはミオシンの頭部から得られるサブフラグメント,S—1,に相当する)とアクチン線維の相互作用で発生することが結論できた。最大活性をしめすサルコメヤーの長さに固定した比較的新鮮な筋線維のATPase活性は、$Ca^{++}$濃度によって顕著に変化した。従来$Ca^{++}$による筋収縮系のATPase活性の調節の研究は主にアクトミオシン系でなされていたが、生理状態に近い筋線維においてもATPase活性の$Ca^{++}$濃度依存性が確認された。

H-メロミオシンのトリプシン分解によってできるS—1の収率およびミオシン、H—メロミオシン、S—1の定常状態ATPase活性、無機リン酸遊離の初期発生量の比較結果から、ミオシンおよびH—メロミオシンの1分子から2分子のS—1が、酵素活性部位に損傷を受けずにできることが確認された。しかしこのS—1の内部のペプチド結合は多数切断されていた。1モルあたり1モルの特定のシスティ

ン残基をヨード酢酸アミドで化学修飾したミオシンおよびそれから得たH—ミオミオシン、S—1の、ATPase活性の、無処理のミオシンおよびそれから得たH—メロミオシン、S—1に対する活性化と阻害のそれぞれの割合の間には差異がなかった。また無処理のミオシン1モルとそれから得たS—1の2モルあたりの無機リン酸遊離の初期発生の速度と量のATP濃度への依存性の間にも差異は認められなかった。それ等の結果とミオシンATPaseの反応機構から、ミオシン分子の頭部に存在する2つのS—1部分の片方にミオシンの2種類のATPaseの活性部位(ATPによるリン酸化部位と単純加水分解部位)が局在することが結論された。以上の結果から、既に殿村らによって提出されている筋収縮の分子機構に基いて、ミオシンの頭部の異った2つのS—1部分の収縮における意義を論じた。

## 論文の審査結果の要旨

ミオシンによるATPの加水分解が筋収縮の基本反応であることは現在とところよく知られた事実である。ATP分解を触媒するミオシン分子は分子量約200,000の2つのfiberous chainと分子量約25,000の2つの globular chainから構成されていることは分っているが、しかしそれらがどのようにATPase反応に関共しているかについては不明確な点が多く、多くの問題が残されている。

林君はまず筋線維の長さを固定してATPaseを測定し、ATPase活性がサルコメヤーの長さによって顕著に制御されることを見出し、この結果の解析からミオシンの頭部がアクチンと結合する場で、ATPが分解されることによって張力が発生することを結論した。

林君はこの結論に基いてミオシン頭部の構造の研究を進めた。すなわちトリプシン分解によってミオシン1モルより2モルの頭部がサブフラグメント—1、S—1として取れることを結論し、このS—1のATPaseの種々の條件下での活性、反応中間体の量と性質、化学修飾による変化などをもとのミオシン分子のそれらと比較し、2つの頭部は互いに酵素反応的には独立であり、しかも2つの頭部のうちの1方のみにATPase活性が存在することを結論した。

林君はさらにS—1からアルカリ処理によって小さいペプチッドを除去してもその活性が消失しないことを見出し、このことに基いてアルカリ処理S—1の構成サブユニットの研究をした。すなわち同君はS—1をアルカリ処理後尿素—グアニジン・塩酸中で構成サブユニットに分け、それぞれの分子量を測定し、また主としてディスク電気泳動を使ってミオシン分子中のいわゆるfiberous chain および、globular chainとS—1の中のサブユニットの関係を明確にした。その結果2つのS—1はともにミオシンのfiberous chainに由来する分子量56,000および26,000のサブユニットの他に分子量 23,000 —26,000のミオシンglobular chainをそのまま含み、しかもglobular chainは2成分からなっており、その1成分を含むS—1にのみATPase反応が存在すると結論した。

林君のこれらの研究は筋収縮の分子機構を考える上で重要な基礎となるものであり、筋生理学にとって価値の高い研究と云える。以上述べたように林君の業績は理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。