

Title	ミオシン-ATPaseの活性中心に関する研究
Author(s)	徳山, 春彦
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/29086
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	徳 山 春 彦 どく やま はる ひこ
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 1 1 2 7 号
学位授与の日付	昭 和 42 年 3 月 28 日
学位授与の要件	理 学 研 究 科 生 理 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-ATPase の活性中心に関する研究
論文審査委員	(主査) 教 授 殿 村 雄 治 (副査) 教 授 神 谷 宣 郎 教 授 奥 貫 一 男

論 文 内 容 の 要 旨

(1) トリニトロフェニルミオシン-ATPase の性質 筋肉の構造蛋白質であるミオシンの 1 モル (4.8×10^5) 当り 2 モルの Lys 残基の ϵ -アミノ基はトリニトロベンゼンスルフォネート (TBS) と急速かつ特異的に反応する。その結果 Mg^{++} 存在下における ATPase 活性は著しく増大した。しかしミオシンの ATP によるリン酸化を必要とするアクトミオシン型 ATPase 活性および ATP によるアクトミオシンの超沈澱はほとんど影響を受けなかった。この現象は、ATP のミオシンによる分解反応の中間体であるリン酸化ミオシンの分解がトリニトロフェニル化 (TNP 化) によって促進されるものとして説明することができた。その後この機構は、ミオシンをパラニトロチオフェノールで化学修飾することにより、定常状態における ATPase 活性には影響をあたえずリン酸化ミオシンの形成を阻止した場合には TNP 化による活性の増大が見られないことから確認された。

(2) TBS 結合点周辺の化学構造 TNP-ミオシンをナガーズまたはプロナーゼで分解し、TNP-ペプチドのみをタルクまたはアンバーライト IRC-50 カラム上で分離した。TNP-ペプチド混合物の分離精製のために次の二通りの方法を用いた。一つはペーパークロマトグラフィーおよびフィンガープリント法によるもので、他は TNP-ペプチドのアンモニア処理により TNP-グループを除去した後、ペプチドをカラムクロマトグラフィー、滷紙電気泳動およびペーパークロマトグラフィーにより分離精製するものである。前者の方法により一種類の TNP-ペプチドを精製することができ、そのアミノ酸順列は Asp (NH_2)-pro-pro-TNP-Lys と決定された。後者の方法では、ペプチド鎖、Ser-TNP-Lys-(Gly, Glu, Ser)-(Gly, Ala) が存在するものと推定された。

(3) ミオシンの活性サブフラグメント、フラクション S-1、の性質 ミオシンをトリプシン分解することにより H-メロミオシンを調製し、さらにトリプシン分解を進め、消化液からフラクション S-1 をセファデックス G-200 によるゲル滷過および DEAE-セルローズクロマトグラフィーにより分

離した。S-1 の分子量は 1.8×10^5 であり、ミオシンの ATPase 活性および F- アクチンとの結合能を完全に具えていた。TNP- ミオシンの TNP-Lys 残基の約90%は H- メロミオシン部分に、約40%は S-1 部分に存在していた。さらにミオシン、H- メロミオシンおよび S-1 に存在する TBS 結合点周辺の化学構造を比較することにより、S-1 に存在する Lys, すなわち活性中心の近傍にある Lys の周辺の構造は Asp (NH₂)-pro-pro-Lys であると結論された。

論文の審査結果の要旨

筋肉の構造蛋白質ミオシンには1モルあたり2モルの trinitrobenzenesulfonate (TBS) と特異的に反応するリジンが存在することが知られていた。徳山君はミオシンと ATP の反応によって形成されるリン酸化ミオシンの分解反応がミオシンのこの化学修飾によって著しく促進されることを明らかにした。通常蛋白質F-アクチンの作用によって起る筋収縮に必須の反応であるリン酸化ミオシンの分解の促進がこのように F- アクチンの結合部位とは関係していないリジンの化学修飾によって起ることを示したのは興味ある発見といえよう。さらに徳山君はミオシンをトリプシンで分解してミオシンの活性フラグメントを精製し、それには上記のミオシン1モル当り2モルの TBS と特異的に反応するリジンのうちの1モルのみが含まれていることを明らかにした。徳山君はさらに特異的リジンに TBS を結合させた活性フラグメントを蛋白質分解酵素で分解し、TBS と結合したペプチッドを分離精製し、その構造が Asp (NH₂)-Pro-Pro-trinitrophenyl-Lys であることを決定した。

以上のように徳山君のこの研究はミオシンの生理機能の解明のために重要な化学的知見を与えたものであり、この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。