



Title	酵母ミトコンドリアATPaseの研究：潜性型ATPase-顕性型ATPaseの相互転換について
Author(s)	根川，泰夫
Citation	大阪大学，1971，博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/30273
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名・(本 籍)	ね 根 川 泰 夫
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	第 2 2 2 5 号
学位授与の日付	昭 和 46 年 3 月 25 日
学位授与の要件	医学研究科生理系 学位規則第5条第1項該当
論 位 論 文 題 目	酵母ミトコンドリアATPaseの研究—潜性型ATPase-顕性型ATPaseの相互転換について—
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 萩 原 文 二 (副査) 教 授 天 野 恒 久 教 授 山 野 俊 雄

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

1960年、E. Racker らは牛心筋ミトコンドリアから、酸化的りん酸化反応の共役因子を分離した。この共役因子はATP 水解活性を有していたので、りん酸化反応の最終段階を触媒する酵素であろうと考えられ、ミトコンドリアATPase の研究が注目されてきた。1967年、曾根らによって酵母ミトコンドリアからATPase がATPase 活性を潜性化したまま精製され、これの顕性型への転換が報告された。D. R. Sanadi らは潜性型ATPase がATPase にATPase inhibitor とADP が結合したものであることを報告した。本研究は、ATPase の潜性型と顕性型とを相互に転換させながら、この転換機構の解明を通じて、りん酸化反応の機構を研究しようとしたものである。

〔方法ならびに成績〕

- (1)酵母ミトコンドリアATPase の精製——ATPase はパン酵母のミトコンドリアからフレンチプレス処理で抽出後、硫酸分画、DEAE-cellulose カラムクロマトにより高純度に精製された。
 - (2)ATPase inhibitor の精製——ミトコンドリアを超音波処理することによってATPase inhibitor を抽出し、熱処理、Sephadex G-75ゲルろ過によって精製された。
 - (3)ATPase の顕性型—潜性型の相互転換—ATPase はin vivo では潜性型で存在するが、精製過程で完全に顕性化される。この顕性型ATPaseはATPase inhibitor, ATP.Mg²⁺存在下、0℃で数分間以内に完全に潜性化され、安定に保たれる。この方法で得られた潜性型ATPase は38℃、0.5M Na₂SO₄処理で再顕性化される。
 - (4)潜性化および顕性化に伴うadenine nucleotide の動向——顕性型ATPase の潜性化処理に際してラジオアイソトープ標識ATP を用いるとadenine nucleotideとATPase の結合物が、Sephadex G-25カラムクロマトにより単離された。
- i) ³H-adenine ATP を用いるとATPase はadenine nucleotide と約1：1のモル比で結合して潜

性型となり、再度の顕性化によってadenine 部分はATPase から完全に遊離することを見出した。またこの潜性型complex からPCAでadenine nucleotide を抽出後、薄層クロマトを行なうとADP およびATP が確認された。

ii) ATP- γ - ^{32}P を用いるとATP のほかに比較的多量の P_i が結合することが示された。顕性化処理によりadenine 部分は遊離するが、 $^{32}\text{P}_i$ は一部たんぱく部分に結合したまま遊離しない。 $^{32}\text{P}_i$ を用いるとATP がない場合でもたんぱく部分に非可逆的結合を示すので、顕性化処理で遊離しない P_i は非特異的吸着と思われる。

iii) ^3H -adenine ATP で標識された潜性型ATPase を10mM ATP 存在下で24時間0℃で保存すると、顕性化は全く起らないが、たんぱく部分の放射活性が減少する。このことは潜性型ATPase 結合adenine nucleotide と外部のATP との交換反応を示唆しているものと思われる。

〔総 括〕

(1)ミトコンドリアATPase は in vivo では、ATP 分解作用のない状態で存在している。精製されたATPase は強いATP 分解作用を示すが、ATP, Mg^{2+} の存在下で、単離精製されたATPase inhibitor と結合し、もとの潜性型を再構成することができる。

(2)潜性型にはadenine nucleotide もinhibitorと共に結合している。ATPase:adenine nucleotide のモル比は約1 : 1である。

(3)潜性型に結合したadenine nucleotide は顕性型に転換することなしに外部のATP と交換を示す。

(4)潜性型ATPase からATP および ADP が検出された。このことは操作中にATPがADP に変化したものか、外部溶液中のadenine nucleotide との交換反応によって生じたものか現在のところ明らかでない。

(5)潜性型から顕性型への転換に伴ない速かにadenine nucleotide が遊離される。このことはATPase : 結合adenine の比が1 : 1であることを考え合わせると、adenine nucleotide は酵素活性部位に関与しているものと考えられる。

論文の審査結果の要旨

酸化のりん酸化の機構は現在のところ不明であるが、根川君の研究はActive 型ATPase を in vivo で存在しているlatent 型に転換することに成功し、この系を用いてりん酸化反応の機構を直接解明しようとしたものである。とくに ^3H -ATP、 ^{32}P -ATP などの同位元素を用いて、latent 型ATPase と Adenine nucleotide が1対1で結合しており、そのAdenine部分は、ほぼ等量のATP、ADP からなっているという興味ある事実を見出している。

さらに active 型ではこのATP、ADP が全部蛋白部分から遊離することも明らかになった。これらの事実はシトコンドリア内でのATP 合成の機構の研究に重要な手がかりを与えており、大きな成果である。