

Title	Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> -依存性ATPaseへの一価カチオンの結合
Author(s)	山口, 基徳
Citation	大阪大学, 1980, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/32634">https://hdl.handle.net/11094/32634</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名・(本籍)	山 口 基 徳
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 4 8 8 1 号
学位授与の日付	昭和 55 年 3 月 25 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	<b>Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-依存性 ATPase への一価カチオンの結合</b>
論文審査委員	(主査) 教授 殿村 雄治 (副査) 教授 原 富之 教授 佐藤 了 助教授 中村 隆雄

### 論 文 内 容 の 要 旨

Na<sup>+</sup>とK<sup>+</sup>の能動輸送の分子機構を明らかにするために、豚腎から精製したNa<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPaseへのNa<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>,Rb<sup>+</sup>およびATPの結合量を、膜透析法を使って、種々の条件で測定した。第1の重要な結果は、Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPaseには、2種類のカチオン結合部位が存在することが示されたことである。第1の結合部位(Na<sup>+</sup>結合部位)は、活性中心モルあたり3モル存在し、この部位へのNa<sup>+</sup>の結合の見かけの解離定数は、0.32mMで、その結合は協同的に起こった(Hill係数、3)。この部位へのNa<sup>+</sup>の結合は、活性中心モルあたり1モルのK<sup>+</sup>の結合によって阻害された(K<sub>i</sub>, 0.024mM)。第2の結合部位(K<sup>+</sup>結合部位)は、活性中心モルあたり2モル存在し、この部位へのK<sup>+</sup>及びRb<sup>+</sup>の結合の見かけの解離定数は、各々44および24μMで、結合は、協同的に起こった(Hill係数、2)。この部位へのK<sup>+</sup>およびRb<sup>+</sup>の結合は、活性中心モルあたり2モルのNa<sup>+</sup>によって阻害された(K<sub>i</sub>, 2.8mM)。これら2種類のカチオン結合部位が、別のものであることは、活性中心モルあたり3モルのNa<sup>+</sup>と2モルのRb<sup>+</sup>が、同時に結合しうることから示された。

第2の重要な結果は、Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPaseには、2種類のATP結合部位が存在することを示したことである。第1のATP結合部位(触媒部位)は、活性中心モルあたり1モル存在し、この部位へのATP結合の見かけの解離定数は、0.5—1μMであった。第2のATP結合部位(調節部位)は、活性中心モルあたり少なくとも2モル存在し、この部位へのATPの結合の見かけの解離定数は、0.3mM以上であった。調節部位へのATPの結合によりK<sup>+</sup>を結合した酵素へのNa<sup>+</sup>の結合速度は、著しく増大した。

第3の重要な結果は、K<sup>+</sup>感受性リン酸化中間体の形成にともなって、Na<sup>+</sup>結合部位へのNa<sup>+</sup>の親和

性が、著しく減少し、逆に、 $K^+$ 結合部位への $K^+$ 及び $Rb^+$ の親和性が著しく、増大することを示したことである。特に、 $K^+$ 結合部位への $Rb^+$ の親和性がATPase反応に伴って、約40倍増大すること、それにかかわらず、Hill係数は2のまま変化しないことが示された。さらに、NEM処理酵素を用いて形成されADP感受性リン酸化中間体形成に伴って、一価カチオンの親和性の変化は、見られないことを示した。

ここで得られた、種々の条件下での、ATPaseへの一価カチオンの結合の研究結果とATPaseの反応速度論的解析から得られた研究結果とを合わせて、ATPase反応の種々の中間体形成にともなう、ATPase分子のカチオン親和性変化を基本とする $Na^+$ と $K^+$ の能動輸送の分子機構について考察した。

### 論文の審査結果の要旨

$Na^+$ 、 $K^+$ -依存性ATPaseが細胞膜における $Na^+$ と $K^+$ の能動輸送の担い手であることは既に明らかになっている。またその反応機構についてもかなり詳細な研究が既に行われている。しかし、この酵素の精製は近年になるまで大変困難であった。そのため、酵素と種々のリガンドの結合様式は主として速度論的方法によって間接的に推定されていた。

山口君は豚腎臓から $Na^+$ 、 $K^+$ -ATPaseを精製し、彼の開発した新しい方法を用いて種々のリガンドのATPaseへの結合を測定することに成功した。その結果、 $Na^+$ 、 $K^+$ -ATPaseに3個の $Na^+$ と2個の $K^+$ が同時に結合し得ること、それぞれの結合は協同的に起こることを初めて明かにした。しかも、反応中間体であるリン酸化酵素の形成にともなうATPaseの $Na^+$ の親和性が著しく減少し、 $K^+$ の親和性が著しく増大することを示した。さらに、 $K^+$ の結合した酵素への $Na^+$ の結合が調節部位へのATPの結合によって著しく促進されるという興味ある結果を得た。

以上の山口君の研究は、直接的測定が行われていなかったために研究者の間で意見の一致をみていなかったカチオンの能動輸送に関するいくつかの重要な問題について明確な解答を与えたものであり、生体膜の生理学に寄与するところ大きい。従って、理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。