

Title	骨格筋ミオシン分子の2つの頭部の構造
Author(s)	宮西, 隆幸
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/33255
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

氏名・(本籍)	みやにし たかゆき 宮西隆幸
学位の種類	理学博士
学位記番号	第 5595 号
学位授与の日付	昭和 57 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	骨格筋ミオシン分子の 2 つの頭部の構造
論文審査委員	(主査) 教授 殿村 雄治 教授 松原 央 教授 佐藤 了

論 文 内 容 の 要 旨

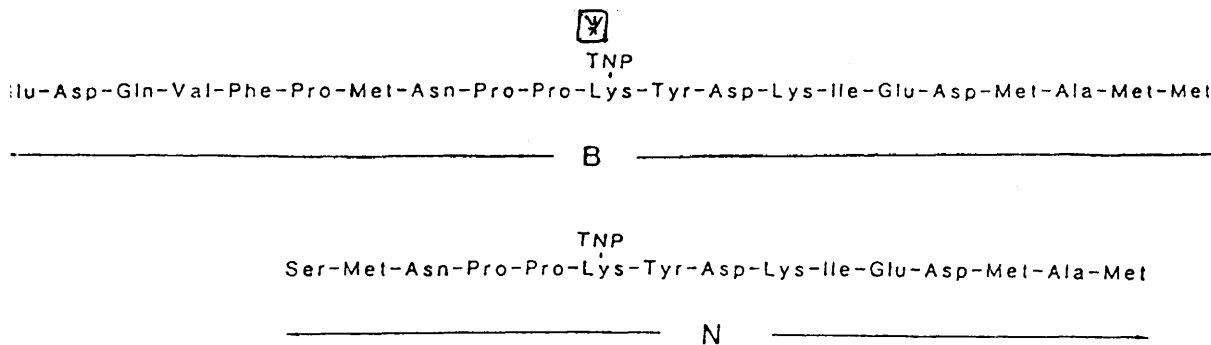
筋収縮は太いフィラメントの主成分であるミオシンと細いフィラメントの主成分であるアクチンと ATP の 3 者の相互作用によってひきおこされる。ミオシン分子は 2 つの頭部をもち、そのいずれもが ATP と反応し F-アクチンと結合する。これらの 2 つの頭部が同一の機能と構造をもつか否かは、筋収縮の分子機作を考える上で非常に重要な問題である。すでに殿村、井上らは 2 つの頭部の機能は異なり、一方の頭部で筋収縮にとって必須の反応中間体であるミオシン-リン酸-ADP 複合体 (M_A^{DP}) を形成し、他の頭部では筋収縮の制御に関与しているミオシン-ATP 複合体 ($M \cdot ATP$) を形成することを報告している。そこで、 M_A^{DP} を形成する頭部の化学構造と $M \cdot ATP$ を形成する頭部の化学構造が異なるかどうか調べた。

2, 4, 6-トリニトロベンゼンスルホン酸 (TNBS) は一級アミノ基と反応し 345nm に吸収極大をもつ安定なトリニトロフェニル (TNP) 複合体を形成することが知られている。ミオシンを TNBS と反応させると両方の頭部の特定のリジン残基がすばやく TNP 化された (頭部モルあたり 1 モルの TNP の結合)。他方、ATPase の基質アナログであるピロリン酸 (PPi) の存在下では一方の頭部のリジン残基のみがすばやく TNP 化された (頭部モルあたり 0.5 モルの TNP が結合)。PPi の存在、非存在のいずれの場合も、これらの特定のリジン残基の TNP 化によって、 M_A^{DP} の形成は阻害された。このことは、PPi の非存在下では、 M_A^{DP} を形成する頭部のリジン残基および $M \cdot ATP$ を形成する頭部のリジン残基のいずれもがすばやく TNP 化され、PPi の存在下では、 $M \cdot ATP$ を形成する頭部のリジン残基は TNP 化されなくなることを示している。

これらのリジン残基はいずれもミオシンの頭部分画 (S-1) の重鎖 (分子量 100,000) に局在し、

さらに重鎖のトリプシン分解物である25,000ダルトンのペプチドに局在することが ^3H TNBSを用いた実験によって明らかになった。この25,000ダルトンのトリプシンペプチドは、ミオシン重鎖のN末端部分に由来し、ATPアナログがアフィニティラベルされる部位が局在することがすでに報告されている。

そこで、これらのリジン残基の周辺一次構造が異なるかどうかを調べた。 M^{ADP} を形成する頭部のリジン残基のみがTNP化されるPPi存在下および両方の頭部のリジン残基がTNP化されるPPi非存在下の2つの条件下でミオシンをTNP化し、さらにS-1を調整した。得られたS-1をトリプシンおよび α -キモトリプシン分解しTNPペプチドを単離精製した。PPi非存在下で修飾した場合は2種類のTNPペプチドが得られ(下図)、その量比はほぼ1:1であった。BとNの一次構造は異なっており、BのTNP-Lysより5つN端側のプロリンがNではセリンにおきかわっていた。他方、PPi存在下でTNP化した場合には、Bと同一のペプチドが主成分として得られた。これらの結果から、 M^{ADP} を形成する頭部にはBペプチドが含まれ、 $\text{M}\cdot\text{ATP}$ を形成する頭部にはNペプチドが含まれると結論された。このことは、骨格筋ミオシンの2つの頭部が相異なる化学構造をもつことを明確に示すものである。



論文の審査結果の要旨

ミオシンによるATPの加水分解反応とそのF-アクチンによる促進反応が主要な生化学反応となつて筋収縮が起ることはよく知られている。また、ミオシン分子が2つの頭部を持ち、そのいずれもがATPと反応しF-アクチンと結合することもよく知られている。ところで、ミオシンの2つの頭部が同一の構造と機能を持つかどうかは、筋収縮の分子機作を考える上で重要な問題であるにもかかわらず、長い間論争の的となってきた。最近、井上らによりようやく骨格筋のミオシンでは一方の頭部でエネルギー変換に必須の反応中間体であるミオシン-ADP-P複合体($\text{M}\cdot\text{ADP}\cdot\text{P}$)が形成され、もう一方の頭部で Ca^{2+} 調節に必要な中間体であるミオシン-ATP複合体($\text{M}\cdot\text{ATP}$)が形成されることが示された。宮西君の研究は $\text{M}\cdot\text{ADP}\cdot\text{P}$ を形成する頭部と $\text{M}\cdot\text{ATP}$ を形成する頭部の化学構造の相異

を明らかにすることを目的として行われた。

すなわち、宮西君はまず2つの頭部がともにトリニトロベンゼンスルホン酸(TNBS)と速やかに反応する活性リジン残基を各々1個持っていること、これらのリジン残基はATPaseの活性中心の少なくとも近傍に存在すること、ピロリン酸またはADPの存在下ではM・ATPを形成する頭部の活性リジン残基のTNBSによる修飾が阻害され、M・ADP・Pと形成する頭部の活性リジン残基のみが修飾されることを見出した。宮西君はこの現象を利用して両方の頭部がTNBSで修飾されているミオシンとM・ADP・P複合体を作る頭部のみが修飾されているミオシンを調製し、それらをトリプシンおよび α -キモトリプシンで分解して得られるペプチドを分離精製して、2つの頭部の活性リジン残基周辺の化学構造を解明した。その結果、M・ADP・Pを形成する頭部の活性リジン残基の近くに存在する一つのプロリン残基がM・ATPを形成する頭部ではセリン残基に置き換えていることが示された。

宮西君のこの研究は筋生化学の分野で長く問題となっていた骨格筋ミオシンの2つの頭部の機能分化に対する化学構造論的知見を初めて共えたもので、この分野の今後の発展に大きく貢献するものとして高く評価される。従って、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。