OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	SYNTHESIS OF ENZYME-BOUND ATP BY MITOCHONDRIAL SOLUBLE F1-ATPASE AND ITS MECHANISM
Author(s)	坂本, 順司
Citation	大阪大学, 1984, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/800
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【9】

氏名・（本籍）	坂本順司（さかもとじゅんし）
学位の種類	理学博士
学位記番号	第6371号
学位授与の日付	昭和59年3月24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	ミトコンドリアの可溶性F_1－ATPアーゼによるATP合成とその機構
論文審査委員	（主査） 教授　堀尾　武一 （副査） 教授　佐藤　了　教授　松原　央　助教授　山本　泰望

論文内容の要旨

ミトコンドリアの酸化的燐酸化の機構としては，化学浸透共役理論が広く受けいれられており，共役因子F_1上でADPとPiからATPが合成されることが知られている。しかし，F_1上でATPの合成される分子機構については，不明の点が多い。特に，ATP合成の一連の素反応段階と，水素イオンの電気化学ポテンシャル勾配のエネルギー入力との共役については意見が対立している。一方の仮説では，ADPとPiが化学的に結合してATPのできる段階でエネルギー入力が必要であるとしているのに対し，他方の仮説では，基質ATPとPiの酵素への結合と生成物ATPの酵素からの遊離の段階で必要であるとしている。後者が正しいとすると，ATPの形成それ自体は，ポテンシャル勾配なしでおこりうるはずである。そこで私は，ミトコンドリアの膜からはなした可溶性のF_1（F_1－ATPアーゼ）によるATP合成を試みた。

その結果，ジメチルスルフォキシド（DMSO）存在下でその反応がおこることを見出した。同様の試みは，これまでにも多くなされて不成功に終わっているので，さまざまなチェックを行なって，観察している反応が確かに、外から加えたADPとPiからの，F_1によるネットのATP合成であることを明かにした。ATPの最大合成量は約0.5モル／モルF_1であり，最大の半分の合成量を与えるPi濃度は0.6 mM，ADP濃度は10 μMであった。形成されたATPはF_1に結合したままの状態であった。以上のことは，F_1は，水素イオンの電気化学ポテンシャル勾配のエネルギー入力なしに，酵素に結合したATPを合成しうることを示している。

次にDMSOの影響を調べた結果，これは最大ATP合成量を増大させるとともに，最大の半分の合成量を与えるPi濃度を低下させていることがわかった。DMSO非存在下でも本質的に同じ反応がおこると考えられる。

この反応は，最も単純な系でのATP合成なので，精密な解析が可能だという実験的メリットをも与える。そこでATP合成反応の活性部位について未解決の問題を調べた。ミトコンドリアのF_1には2種類のヌクレオチド結合部位がある。一方は，ヌクレオチドが一度結合すると外界のものと交換しにくくなる“tight site”であり，他方は“exchangeable site”である。合成反応がどちらの部位でおこるかは，まだ結着がついていない。ラジオ・アイソトープでラベルしたADPを両方の部位，あるいはそれぞれ一方の部位だけに結合させたうえで，上記の合成反応をおこなわせた結果，“exchangeable site”のみでATP合成のおこることが明らかになった。また，ATPの加水分解もそちらの部位であることが示唆された。

論文の審査結果の要旨

ミトコンドリア共役因子（F_1）によるATP合成反応は，生体が行なう最っとも重要な生理機能のひとつとして古くから多くの研究者によって反応機作の研究が行なわれているが，重要な問題が未解決のまま山積している。F_1によるATP合成反応が膜構造と密接に関連していること，F_1分子の構造が複雑なことなどが上記の研究の進展に大きな障害となっていた。

坂本君は牛心筋ミトコンドリアから精製した可溶性F_1と外から加えたADPおよびPiから成る単純な溶液系でATP合成反応が起ることを発見し，上記の問題に関する研究の将来への展望を開いた点で高く評価される。坂本君はこの単純な系を用いて①ATP合成反応のエネルギー共役ステップに関して，産物ATPが酵素から遊離するステップにH^+勾配からのエネルギーが必要であり，ADPとPiの化学結合にはこのエネルギー入力を必要としないとするBoyerの説を支持した。②F_1上に存在する6モルのヌクレオチド結合部位のうち，βサブユニット上にある交換可能なヌクレオチド結合部位でATP合成反応が起り，しかもこの反応は同一部位で起るATP分解反応の逆反応であることを強く示唆した。また③可溶性F_1によるATP合成反応は系にジメチルスルフォキシド（DMSO）を加えると著しく促進されることからDMSOの生理的意味についての興味ある問題を提示した。

今後，この系を用いることによって，ATPの酵素からの遊離機構，サブユニット間相互作用，F_1-F_0相互作用などの重要な問題がさらに解明されるものと期待される。従って，当論文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。