

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	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	坂 本 順 司
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 6 3 7 1 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磷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 P_i 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 P_i 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 P_i の酵素への結合と生成物 ATP の酵素からの遊離の段階が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 P_i 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 P_i 濃度は 0.6 mM、ADP 濃度は 10 μ M 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 P_i 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いうで、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、生体が行なう最つ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 P_i 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 P_i 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。② F_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。