

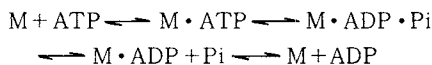
筋肉タンパク質の関与する反応 のエンタルピー変化(II)

Parvalbumin (PA) への Ca^{++} の結合

PAは魚類・両生類などの下等脊椎動物の筋肉中に比較的多量(筋肉1gあたり $0.3\mu\text{mol}$)含まれている分子量約11,000の酸性タンパク質である。1分子あたり2個の Ca^{++} を結合する(結合定数約 10^6M^{-1})。ClossetとWoledge¹⁾は、その Ca^{++} 結合をエンタルピー滴定ができるように改良したLKBバッチ型微量熱量計²⁾で調べ(0.1M KCl, 1mM MgCl_2 , 20mM Tris, pH 7.4, 12°C), $\Delta H = -20\text{kJ}(\text{mol of bound Ca})^{-1}$ の値をえた。このようにPAの Ca^{++} 結合の熱力学的パラメータは、(I)³⁾で述べたトロポニンCの場合と著しく類似している。前者は恐らく細胞質中に存在すると考えられていて、細いフィラメントの構成要素として存在する後者とは、細胞内局在性が異なる。同じような熱力学的特性をもつCa結合タンパクが同じ筋肉細胞の異なる場所に存在することは、生理学的にも、筋収縮のCa制御の進化を考える上でも、きわめて興味深い。

ミオシンへのADPの結合

ミオシンによるATP加水分解は、速度論的解析により少くとも7段階からなる反応であることが知られている。熱量測定に関与する時間スケールでは次のように簡略化して表わすことができる(M:ミオシンの活性中心)。



このうち最終段階は平衡が $\text{M} \cdot \text{ADP}$ の方へ著しくかたよっている(平衡定数 $\approx 10^{-6}\text{M}$)。熱量計中でミオシンとADPを混合して、両者の結合に伴う反応熱を測定することができる。山田ら⁴⁾はLKB-8700を用いて、ミオシンの活性フラグメントのひとつであるHMMとADPとの結合を調べ、発熱反応であることを示唆する

結果を得た。ところが、GoodnoとSwenson⁵⁾は、精密な熱量測定を行い、HMMとADPの結合では殆んど発熱しないと報告するとともに、山田らの結果は、HMM中に混在するmyokinaseによるartefactであるとした(myokinaseによって $2\text{ADP} \rightleftharpoons \text{ATP} + \text{AMP}$ の反応が進行し、生じたATPがHMMによって分解されて発熱する)。しかし、児玉、Woledgeら^{6,7)}は、エンタルピー滴定法によって、種々の条件、異なる状態のミオシン、HMMのほかS-1を用いて実験を行い、ミオシンのATPase siteへのADP結合は著しい発熱過程であることを確立した。GoodnoとSwensonが、“発熱”を見ることができなかった理由は不明であるが、この間の事情はきわめて教訓的である。すなわち、彼らは“HMMとADPを混合したが、発熱はなかった”ので“HMMとADPの結合は発熱ではない”と結論した。しかし、熱の出入のないことは必ずしも結合が熱的に中性であることを意味するとは限らないから、別の方法で結合を確認すべきではなかったのだろうか。

なお、児玉、Woledgeのエンタルピー滴定法では、ADP結合反応の熱力学的パラメータのうち、結合定数、反応熱、活性中心濃度を変動させるiterative least squares法で、えられた結果に対する結合isothermのあてはめを行っている。

文 献

- 1) J. Closset, R. C. Woledge, cited in N. A. Curtin, R. C. Woledge, *Physiol. Rev.* **58**, 690 (1978)
- 2) 児玉孝雄, 第3回熱測定講習会テキスト 17P (1978)
- 3) 児玉孝雄, 熱測定 **5**, 135 (1978)
- 4) T. Yamada, H. Shimizu, H. Suga, *Biochim. Biophys. Acta* **305**, 642 (1973)
- 5) C. C. Goodno, C. A. Swenson, *J. Supramol. Struct.* **3**, 361 (1975)
- 6) T. Kodama, R. C. Woledge, *J. Biol. Chem.* **251**, 7499 (1976)
- 7) T. Kodama, I. D. Watson, R. C. Woledge, *J. Biol. Chem.* **252**, 8085 (1977)
- 8) R. C. Woledge, *Pestic. Sci.* **6**, 305 (1975)
(児玉孝雄)