ミオシン サブフラグメント-1 (S-1) の分子内構造

名古屋市立大学・医学部
生 物 学 教 室 保 住 哲

1 はじめに

筋肉の収縮は基本的に、ミオシン、アクチン、ATPの3つの成分の相互作用により起こる。しかし筋収縮において、ATPのミオシンによる加水分解で発生する化学エネルギーが、いかなる仕組で力学エネルギーに変換されるのかは、いまだ明らかにされていない。

ミオシンの頭の部分 (S-1)^{*}に、ATP 結合・分解部位とアクチン結合部位が局在している。それぞれの部位はS-1中の異なった位置にある^{1,2)}が、1つの部位での出来事は他方の部位に伝えられ、その結果ミオシンの Mg^{2+} -ATPase はアクチンで強く活性化され、アクチン-ミオシン結合体 (rigor complex) はATPのミオシンへの結合により解離される。この情報伝達の仕組を明らかにすることは、筋収縮の分子機構を考える上で重要なことである。その解明の為の一つの方法として、筋収縮時にS-1分子がどのような構造変化を経ているかを知る必要がある。S-1分子中には、ATP 結合、アクチン結合部位を含めて、ATPase 活性に関係したいくつかの活性アミノ酸残基が存在して

* 略語

LC: ミオシンの light chain

S-1: ミオシン サブフラグメント-1

IAA: iodoacetamide

IAEDANS: N-(iodoacetyl)-N⁶-(1-sulfo-5-naphthyl)ethylenediamine

IAF: 5-(iodoacetamide)fluorescein

NEM: N-ethylmaleimide

N₃NpApr-ATP: 3'-O-3-[N-(4-azido-2-nitrophenyl) amino] propionyl-adenosine 5'-triphosphate (arylazido-β-alanine ATP)

PPi: pyrophosphate

pPDM: N,N'-p-phenylenedimaleimide

SDS: sodium dodecyl sulfonate

TNBS: 2,4,6-trinitrobenzene sulfonate

TNP: trinitrophenyl

いる。これら活性部位・アミノ酸残基の位置関係を指標として、それに対するATP、アクチン等の影響を調べることにより、S-1の構造変化を知ることが可能である。最近、活性部位・アミノ酸残基のS-1分子中での位置関係を示した論文が報告されている。本総説では、筆者らの研究を含めて最近のこの方面の研究を紹介する。

一方、ミオシン ATPase の反応機構において、ミオシンの2つの頭が同等の性質を有するか、異なる性質を有するかは長年の論争となっている。ミオシンの Mg^{2+} -ATPase 反応の時間変化を、リン酸の遊離から測定すると、反応初期に initial burst と呼ばれるリン酸の放出が観察される。そして従来はこの時放出されるリン酸のモル数がミオシン1モルあたり、1モルであるか、2モルであるかで、ミオシンの双頭の同・異質性が議論されてきた。³⁻⁶⁾ ここではこの問題についても、最近のS-1の化学構造的な研究から検討する。

2 ミオシン分子の構造

ミオシン分子は、分子量46~48万で、2本の大きなサブユニット (heavy chain) と4つの小さなサブユニット (light chain) から成る長さ1,600 Åの細長い蛋白質で、直径約90 Åの2個の頭を持つ双頭構造をしている⁷⁾ (図1)。この頭部が太いフィラメントからの突起になっており、ATP 結合部位、アクチン結合部位もこの部分に局在している。

ミオシン分子中にはトリプシン、キモトリプシン等の蛋白質分解酵素が作用しやすいいくつかの部位があり、短時間処理によりH-メロミオシンを、長時間処理によりS-1を得ることができる。これらH-メロミオシン、S-1は可溶性である。

ミオシン分子を形成する light chain は骨格筋の場合3種類あり、分子量の大きい順にLC₁ (25K)、LC₂ (18K)、LC₃ (16K) と名付けられている (図1参照)。これら light chains のミオシン分子中でのモル比は、ミオシン1モルあたりLC₁、LC₂、LC₃それぞれ1.35 : 2.00 : 0.65である。⁸⁾ light chain

図1 ミオシン分子の模式図(文献59の図3-2を補正したもの。)

のモル比が整数にならないことは、ミオシンがアイソザイムであることを示しており、Holt と Lowey⁹⁾ は免疫化学的方法によりミオシンのアイソザイムの分離に成功した。すなわち2個の LC_1 、2個の LC_2 をもったミオシンと、2個の LC_2 、2個の LC_3 をもったミオシンとが存在する。また LC_2 と heavy chain との結合様式は2つのアイソザイムで異なっており、 LC_2 は LC_1 -アイソザイムにおいて、より強い結合をしている。¹⁰⁾ LC_2 はミオシンの頭の付け根のところに位置しており、¹¹⁾ $S-1$ を得る時の条件によっては失われる。たとえば Mg^{2+} 存在下でパピインを用いると LC_2 をもった $S-1$ が、また EDTA 存在下でキモトリプシンを用いると LC_2 をもたない $S-1$ が得られる。

3 活性アミノ酸残基

Morita ら^{12,13)} は H-メロミオシンの紫外吸収スペクトルが ATP により変化することを示し、この変化が ATP 結合によりミオシンのトリプトファン残基およびチロシン残基が親水性部分から疎水性の部分へ転移することによって引き起こされるものと説明している。同様に H-メロミオシンのトリプトファン残基の蛍光スペクトルも ATP により変化する。¹⁴⁾ これらの結果は $S-1$ でも得られ、^{15,16)} ATP の $S-1$ への結合により、 $S-1$ の構造変化が引き起こされていることは明らかであるが、その結果としてトリプトファン残

基、チロシン残基の環境が変化することを示すものである。したがって、直接これらのアミノ酸残基がミオシン ATPase に関係しているかどうかは明らかでなく、今後の問題である。

一方、ミオシン ATPase 活性に関係したアミノ酸残基の存在は、最初に Sekine ら^{17,18)} によって明らかにされた。彼らは、ミオシンのシステイン残基の SH-基を NEM で修飾し、その時の ATPase 活性の測定より、2つの SH-基が ATPase 活性に関与していることを明らかにした。すなわち、はじめの SH-基の修飾は K^+ -ATPase 活性の消失、 Mg^{2+} -ATPase と Ca^{2+} -ATPase 活性の増加をもたらし、次の SH-基の修飾は Mg^{2+} -ATPase と Ca^{2+} -ATPase 活性の減少を引き起こすことを示し、それぞれ SH_1 、 SH_2 と名付けた。このことは $S-1$ においても同様である。¹⁹⁾

また、ミオシンを TNBS で処理するとミオシン1モルあたり2モルのリジン残基($S-1$ モルあたり1モルのリジン残基)が TNBS の TNP 基と速みやかに反応し TNP 化される。その場合は、ミオシンの Ca^{2+} -ATPase 活性は増加し、 K^+ -ATPase 活性は減少する。^{20,21)} さらに、 Mg^{2+} -ATPase 反応初期に見られるリン酸の initial burst はほとんどおさえられる。²²⁾

また Mornet ら²³⁾ は、 $S-1$ 中のアルギニン残基を phenylglyoxal で修飾することにより、 $S-1$ 1モルあたり2モルのアルギニン残基が ATPase 活性に関

与していることを明らかにした。彼らによると、はじめのアルギニン残基の修飾で Ca^{2+} -ATPase と Mg^{2+} -ATPase の活性化 (K^{+} -ATPase 活性は影響されない) が、次のアルギニン残基の修飾により K^{+} -ATPase と Ca^{2+} -ATPase 活性の減少 (Mg^{2+} -ATPase は活性化されたままである) が引き起こされる。さらにこの修飾における ATP, ADP の効果を調べた結果、ATP, ADP 存在下では 2 つのうち 1 つのアルギニン残基のみが修飾され、 Ca^{2+} -ATPase と K^{+} -ATPase の不活性化がおさえられることが示された。このことから 1 つのアルギニン残基が S-1 の ATP 結合部位に直接含まれていることになると結論された。一方心筋の S-1 においても同様の方法により、活性アルギニン残基の存在が Morkin ら²⁴⁾ によって報告されている。2 つのアルギニン残基の修飾に対する Ca^{2+} -ATPase 活性の変化は、 SH_1 , SH_2 修飾の場合と同じであるが、 K^{+} -ATPase と Mg^{2+} -ATPase 活性に対しては異なることになる。

4 活性部位・アミノ酸残基の S-1 分子中での分布

S-1 をトリプシンでさらに消化させると、S-1 の heavy chain は 3 つのペプチドに切断される。²⁵⁾ それぞれの分子量は 50 K, 27 K, 20 K であり、20 K, 27 K ペプチドはそれぞれ、heavy chain の C-端、N-端を含む²⁶⁾ (図 2)。この方法は各種の活性部位・アミノ酸残基の位置を知る上で、非常に有効である。

図2 S-1 heavy chain のトリプシン消化によるペプチドと活性部位・アミノ酸残基の局在。1, 2; S-1 の時に切られる場所, 1'; アクチン-S-1 結合体の時に切られる場所, R.L.R., R.A.R. はそれぞれ活性リジン残基, 活性アルギニン残基を示す。

Balint ら²⁵⁾ は、S-1 の SH_1 , SH_2 をそれぞれ [^{14}C] IAA, [^{14}C] NEM で修飾し、トリプシンを消化させることにより SH_1 , SH_2 がともに 20 K ペプチドに存在することを示した。さらに 20 K ペプチドの全

アミノ酸残基 168 個の一次構造が Gallagher と Elzinger²⁷⁾ により決定され、 SH_1 , SH_2 が 20 K と 50 K ペプチドの junction により近い位置にあることが示された。

Szilagyi ら²⁸⁾ は ATP 類似物質である N_3NpApr [^3H] ATP が、光照射で H-メロオシンと結合し、その結合量が ATP 存在下では減少することから、この類似物質が S-1 の ATP 結合部位に結合していると結論した。さらに彼らはその部位が heavy chain の 27 K ペプチドに存在することを示した。

筆者ら²⁹⁾ は、トリプシン消化で得られる S-1 heavy chain の 3 つのペプチドを、1% SDS 中でのゲル濾過により分離することに成功した。さらにこの方法から、TNP 化 S-1 を用いることにより、活性リジン残基が 27 K ペプチドに局在していることを明らかにした。活性リジン残基の局在に関しては、Mornet ら³⁰⁾、Miyanishi と Tonomura³¹⁾ も同様の結果を報告している。また Miyanishi と Tonomura³¹⁾ は後述の活性アルギニン残基を含む heavy chain の 17 K BrCN ペプチドには活性リジン残基が含まれていないことを明らかにした。

Mornet ら²³⁾ はさらに、phenylglyoxal で修飾された S-1 を 1 M 酢酸中 (phenylglyoxal 誘導体は穏やかな酸性条件下でのみ安定であり、またこの条件下では S-1 の heavy chain と light chain は解離している) でゲル濾過することにより heavy chain と light chain を分離し、活性アルギニン残基が heavy chain に存在することを示した。心筋 S-1 の活性アルギニン残基に関しても、heavy chain の SH_1 , SH_2 を含まない 17 K BrCN ペプチドに存在していることが報告されている。²⁴⁾ 2 つのうち 1 つの活性アルギニン残基が ATP 結合部位に含まれていることから、この残基は 27 K ペプチドに位置することになる。

Mornet ら³²⁾、Yamamoto と Sekine³³⁾ は、アクチン-S-1 結合体をトリプシンで消化させると (F-アクチンはトリプシンにより消化されない)、S-1 単独の場合と異なり、27 K と 70 K (50 K + 20 K) の 2 つのペプチドが得られることを明らかにした。そして S-1 のアクチン結合部位が 50 K ペプチドにあり、このような切断のされ方は、アクチンの結合により、50 K と 20 K ペプチドの junction の回りの構造化を引き起こされるためであろうと説明されている。³⁴⁾

筆者ら³⁵⁾ は、S-1 が 12 個のシステイン残基をもち、そのうち 4 個のシステイン残基は S-1 の内部に組み込まれており、外界の SH 試薬と反応できないことを

示した。また LC1, LC2, LC3 はそれぞれ 1 個, 2 個, 1 個のシステイン残基をもつ^{36, 37)} heavy chain は 8 個のシステイン残基をもつことになる。さらに, SH₁, SH₂ を含め 4 個のシステイン残基が 20 K ペプチドに存在することが Gallagher と Elzinga²⁷⁾ によって示されている。一方, S-1 は約 7 個のトリプトファン残基をもっているが,³⁸⁾ 20 K ペプチドにはトリプトファン残基は含まれていない。²⁷⁾ 筆者ら³⁹⁾ は, ゲル濾過により分離された heavy chain, 50 K, 27 K, 20 K ペプチドのアミノ酸組成を, そしてトリプトファン残基の数をトリプトファン残基の蛍光測定より調べた。その結果を表 1 と図 3 に示した。

表 1 S-1 のトリプシン消化により得られたペプチドにおけるトリプトファン残基の分布

ペプチド	トリプトファン残基の数
H.C. ^{a)}	5.86
50 K	2.32
27 K	2.61
20 K	0.25

a) 1% SDS 中のゲル濾過により分離された S-1 の heavy chain.

図 3 表 1 の S-1 ペプチドのアミノ酸組成

5 活性部位・アミノ酸残基間の距離と位置関係

S-1 分子中での各活性部位・アミノ酸残基間の距離が, 回りの環境変化にどのように依存しているかを調べることににより, S-1 の構造変化を推察することができる。これらの距離を測定する方法として, S-1 に結合した蛍光物質の励起エネルギー移動の変化を調べるのが非常に有効な方法である。この方法は, エネルギー供与体としての蛍光物質と, その蛍光を吸収しう物質(受容体)がそれぞれ強く蛋白質に結合している時, 両物質間の蛍光励起エネルギー移動の効率が, 互いの距離の関数になるという原理に基づくものである。⁴⁰⁾

Takashi⁴¹⁾ は, アクチンの, SH 試薬に対して反応性の高いシステイン残基 (Cys-373) を IAEDANS で, また S-1 の SH₁ を IAF で修飾し, アクチンと S-1 とが結合した状態でのエネルギー移動の測定を行ない, その距離を約 60 Å と計算した。また同様に S-1 の SH₁ と活性リジン残基をそれぞれ IAEDANS と TNBS で修飾した場合の測定から, その距離を 29 ~ 31 Å と計算している。⁴²⁾

一方, Marsh と Lowey⁴³⁾, Moss と Trentham⁴⁴⁾ はそれぞれ, LC₁-SH₁, LC₁ (LC₈)-ATP 結合部位の距離を, light chain の SH-基 (LC₁, LC₈ は 1 個のシステイン残基をもっている) を修飾すること

により求めている。彼らは、単離した LC_1 の SH-基をまず修飾し、次に 4.7 M 塩化アンモニア中で S-1 の heavy chain と light chain を解離させ、そこに SH-基を修飾された LC_1 を加えることにより、 LC_1 の SH-基のみ修飾された再構成 S-1⁴⁵⁾ を用いている。Marsh と Lowey⁴³⁾ は LC_1 を IAF (IAEDANS) で、 SH_1 を IAEDANS (IAF) で修飾し、その距離を約 40 Å と報告している。また Moss と Trentham⁴⁴⁾ は、 LC_1 , LC_3 を IAEDANS で修飾し、ATP 結合部位に (N-fluorescein)-2'-amino-(2'-deoxy) ATP を結合させ、その距離を 70 Å 以下であると報告した。これらの距離が ATP、アクチン等の存在でどのように変化するかは、今後の興味ある問題である。

Mornet ら³²⁾ は、次のような興味深い結果を報告している。(1) S-1 の Mg^{2+} -ATPase 活性はトリブシン消化後も変化しないが、そのアクチンによる活性化は非常に少ない。一方、アクチン-S-1 結合体をトリブシン消化させても、アクチンによる S-1 の Mg^{2+} -ATPase の活性化は変化しない。(2) トリブシン消化後、S-1 は同様にアクチンと結合体を形成し、それは ATP で解離される。これらの結果は 50 K と 20 K ペプチドの junction が S-1 の Mg^{2+} -ATPase のアクチンによる活性化に、重要な役割を果していることを示す。またこれらの結果は、ATP 結合部位からアクチン結合部位への情報 (アクチン-S-1 結合体の ATP による解離) は、トリブシン消化後でも同様に伝わるが、逆向きの情報 (アクチンによる S-1 の Mg^{2+} -ATPase の活性化) は伝わりにくくなっていることを示している。

S-1 の SH_1 , SH_2 と ATP 結合部位は、それぞれ 20 K, 27 K ペプチドに存在しており、S-1 heavy chain の一次構造において両端に位置することになる。しかし、 SH_1 , SH_2 の修飾で S-1 の ATPase 活性が大きく影響されるということは、空間的に S-1 の N 端、C 端が互いに接近していることを示唆している。事実、Wells と Yount⁴⁶⁾ は、 Mg^{2+} -ATP, Mg^{2+} -ADP が S-1 に結合することにより、 SH_1 , SH_2 は互いに接近し、(3~5 Å の距離まで)、pPDM, Co(III) (phenanthroline)_x により架橋され、その結果、結合している ADP が捕獲されることを明らかにした。彼らはこのことより、ATP 結合部位の構造に対して、"Jaw model" を提出している。

6 S-1 heavy chain の異質性

Morita⁴⁷⁾ は、H-メロミオシンの ADP によって引

き起こされる紫外吸収スペクトル変化と、ADP の結合量との関係を調べた結果、最大 2 モルの ADP のうち 1 モルの ADP が結合した時に、吸収スペクトルの変化が起こることを見いだした。このことは、ミオシンの 2 つの ADP (ATP) 結合部位の性質が異なることを示唆している。

活性リジン残基を PPi 存在下で TNBS 処理すると、S-1 1 モルあたり 0.5 モルのリジン残基のみが TNP で修飾され、さらにその TNP の吸収スペクトルが ADP, PPi の添加によりほとんど変化しないことが、Miyanishi ら²²⁾ により報告された (PPi のない時は、S-1 1 モルあたり 1 モルのリジン残基が TNP 化され、その吸収スペクトルは ADP, PPi の添加により大きく変化する⁴⁸⁾)。この結果から彼らは、活性リジン残基の回りの構造が異なる 2 種類の S-1 が存在すると結論した。

筆者ら²⁹⁾ も同様に、TNBS により TNP 化された S-1 をトリブシン消化させ、その時間経過を詳しく調べた結果、2 種類の heavy chain の存在を見いだした。S-1 のトリブシン消化の過程を追跡すると、初期の段階で heavy chain の C 端にある 20 K ペプチドが現われ、それに続いて 50 K, 29.5 K, 27 K ペプチドが現われる。29.5 K ペプチドは時間とともに 27 K ペプチドに移り (図 4)、最終的に 50 K, 27 K, 20 K

図4 S-1 のトリブシン消化による 29.5 K (●), 27 K (△) ペプチド出現の時間経過²⁹⁾

ペプチドに切断されてしまう。筆者らは、29.5 Kペプチドの出現が反応初期（少なくとも3分以内）において27 Kペプチドの出現と、量的にほとんど同じであることから、この29.5 Kペプチドも heavy chain の N 端から由来するものと考え、両ペプチドにおける TNP の取り込み量を調べた。その結果、29.5 Kペプチドも27 Kペプチドと同程度の TNP を取り込んでいることが明らかになり、29.5 Kペプチドにも活性リジン残基が含まれていることが結論された。さらに、29.5 K、27 Kペプチドの活性リジン残基の性質が異なっていることが明らかになった。すなわち、PPi 存在下で TNBS 処理すると、29.5 Kペプチドにおける TNP の取り込み量には変化は見られないが、27 Kペプチドにおいては減少してしまう。これらの結果より、S-1 のトリプシン消化の過程には2つのルートがあり（図5）、

図5 S-1のトリプシン消化における2つのルート²⁹⁾. $k_1, k_2, k'_2, k_3, k'_3$ は各ステップの速度定数である。

その2つのルートはそれぞれ異なった heavy chain に由来するものと結論される。また、トリプシン消化における29.5 Kペプチドの出現は、ATP, ADP または PPi の添加によりおさえられることが明らかになった⁴⁰⁾ (図6)。ATP, ADP, PPi の S-1 への結合により、ルート1に由来する heavy chain の2.5 K と27 Kペプチドの junction の回りの構造変化が引き起こされることになる。このことはATP 結合部位が27 Kペプチドに存在する²⁸⁾ ことから可能である。

20 Kペプチドの全アミノ酸配列においても、20 Kペプチドに異質性のあることが示唆されている²⁷⁾ が、今後これら heavy chain の異質性が、ミオシンの双頭とどのように関係しているかを明らかにしていく必要がある。

7 おわりに

筋収縮は、ミオシンとアクチンの結合—解離—結合のサイクルのくり返しにより起こり、それに伴って、ミオシンのATP 分解はアクチンにより強く活性化される。ミオシンATPaseの反応機構は多くの研究により、ミオシンがいくつかの反応中間体を経由することが明らかにされている⁵⁰⁻⁵³⁾。一方、筋収縮は、2種類のフィラメントのすべり込みによって起こるとする「すべり説」が提出され^{54, 55)} 以来多くの研究により、確立された説となった。しかし、2種類のフィラメントのすべりによる、化学エネルギーの力学エネルギーへの変換の分子機構は、依然明らかにされていない⁵⁷⁾。Morales と Botts⁵⁶⁾ は、Huxley と Simmons モデル⁵⁷⁾ における、アクチンとミオシンの頭 (S-1) は1つ以上の角度で結合できるという示唆に基づいて、S-1 のATP 分解での各反応中間体が、それぞれアクチンに対して異なった結合定数をもち、それによってアク

図6 ATP存在下でのS-1のトリプシン消化における電気泳動パターンの時間変化
a: ATP 不在下, b: 5 mM Mg^{2+} -ATP 存在下

チン, S-1 の結合角度が決まり, 筋肉の "molecular engine" としての役割を果たすといった考えを提案している。また, Highsmith ら⁵⁸⁾ は, S-1 の NMR の研究から, アクチンが S-1 の分子内構造の変化を引き起こすことを観察し, その構造変化が筋収縮に重要な役割をもつと示唆している。このような意味で, 本総説に述べた S-1 の分子内構造の問題は, すべり説の分子機構を解明する為の出発点であり, 今後のこの方面からの研究の発展が期待される。

未発表のデータを快よくお教えいただいた大阪大学の宮西隆幸氏, 殿村雄治教授に感謝します。また, この総説を書くにあたり, M.F.Morales 教授 (カルフォルニア大学) との多くの議論がきっかけとなったことを併記します。

文 献

- Highsmith, S. (1976) *J. Biol. Chem.*, **251**, 6170-6172.
- Marston, S. B., Tregear, R. T., Rodger, C. D., Clarke, M. L. (1979) *J. Mol. Biol.*, **128**, 111-126.
- Kanazawa, T., Tonomura, Y. (1965) *J. Biochem.*, **57**, 604-615.
- Lynn, R. W., Taylor, E. W. (1970) *Biochemistry*, **9**, 2975-2983.
- Hozumi, T., Tawada, K. (1975) *Biochim. Biophys. Acta*, **376**, 1-12.
- Chock, S. P., Eisenberg, E. (1979) *J. Biol. Chem.*, **254**, 3229-3235.
- Lowey, S., Slayter, H. S., Weeds, A. G., Baker, H. (1969) *J. Mol. Biol.*, **42**, 1-29.
- Sarker, S. (1972) *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, **37**, 14-17.
- Holt, J. C., Lowey, S. (1977) *Biochemistry*, **16**, 4398-4408.
- Hozumi, T., Ue, K., Morales, M. F., Botts, J. (1979) *Anal. Biochem.*, **95**, 133-138.
- Bagshaw, C. R. (1977) *Biochemistry*, **16**, 59-67.
- Morita, F., Yagi, K. (1966) *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **22**, 297-302.
- Morita, F. (1967) *J. Biol. Chem.*, **242**, 4501-4506.
- Werber, M. M., Szent-Györgyi, A. G., Fasman, G. D. (1972) *Biochemistry*, **11**, 2872-2883.
- Morita, F., Shimizu, T. (1969) *Biochim. Biophys. Acta*, **180**, 545-549.
- Bagshaw, C. R., Trentham, D. R. (1974) *Biochem. J.*, **141**, 331-349.
- Sekine, T., Kielley, W. W. (1964) *Biochim. Biophys. Acta*, **81**, 336-345.
- Yamaguchi, M., Sekine, T. (1966) *J. Biochem.*, **59**, 24-33.
- Schaub, M. C., Watterson, J. G., Walser, J. T., Waser, P. G. (1978) *Biochemistry*, **17**, 246-253.
- Kubo, S., Tokura, S., Tonomura, Y. (1960) *J. Biol. Chem.*, **235**, 2835-2839.
- Muhlrad, A., Lamed, R., Oplatka, A. (1975) *J. Biol. Chem.*, **250**, 175-181.
- Miyanishi, T., Inoue, A., Tonomura, Y. (1979) *J. Biochem.*, **85**, 747-753.
- Mornet, D., Pantel, P., Audemard, E., Kassab, R. (1979) *Eur. J. Biochem.*, **100**, 421-431.
- Morkin, E., Flink, I. L., Banerjee, S. K. (1979) *J. Biol. Chem.*, **254**, 12647-12652.
- Bálint, M., Wolf, I., Tarcsfalvi, A., Gergely, J., Sreter, F. A. (1978) *Arch. Biochem. Biophys.*, **190**, 793-799.
- Lu, R., Sosinski, J., Bálint, M., Sreter, F. (1978) *Fed. Proc.*, **37**, 1695.
- Gallagher, M., Elzinga, M. (1980) *Fed. Proc.*, **39**, 2168.
- Szilagyi, L., Bálint, M., Sreter, F. A., Gergely, J. (1979) *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **87**, 936-945.
- Hozumi, T., Muhlrad, A. (1981) *Biochemistry*, in press.
- Mornet, D., Pantel, P., Bertrand, R., Kassab, R. (1980) *FEBS Lett.*, **117**, 183-188.
- Miyanishi, T., Tonomura, Y. (1981) *J. Biochem.*, **89**, 831-839.
- Mornet, D., Pantel, P., Audemard, E., Kassab, R. (1979) *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **89**, 925-932.
- Yamamoto, K., Sekine, T. (1979) *J. Biochem.*, **86**, 1855-1862.
- Yamamoto, K., Sekine, T. (1979) *J. Biochem.*, **86**, 1863-1868.
- Botts, J., Ue, K., Hozumi, T., Samet, J. (1979) *Biochemistry*, **18**, 5157-5163.
- Weeds, A. G. (1969) *Nature*, **223**, 1362-1364.
- Weeds, A. G., Lowey, S. (1971) *J. Mol. Biol.*, **61**, 701-725.
- Shimizu, T., Morita, F., Yagi, K. (1971) *J. Biochem.*, **69**, 447-452.
- 保住 哲, Muhlrad, A.: 第18回日本生物物理学会年会 (東京 1980年10月)
- Förster, T. (1959) *Discuss. Faraday Soc.*, **27**, 7-17.
- Takashi, R. (1979) *Biochemistry*, **18**, 5164-5169.
- Takashi, R., Muhlrad, A., Hozumi, T., Botts, J. (1980) *Fed. Proc.*, **39**, 1963.
- Marsh, D. J., Lowey, S. (1979) *Biochemistry*, **19**, 774-784.

- 44) Moss, D. J., Trentham, D. R. (1979) *Int. Congr. Biochem.*, 11th, 203.
- 45) Wagner, P. D., Weeds, A. G. (1977) *J. Mol. Biol.*, 109, 455-473.
- 46) Wells, J. A., Yount, R. G. (1979) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76, 4966-4970.
- 47) Morita, F. (1971) *J. Biochem.*, 69, 517-524.
- 48) Muhrad, A. (1977) *Biochim. Biophys. Acta*, 493, 154-166.
- 49) 保住 哲, Muhrad, A.: 第6回生体エネルギー研究会 (名古屋 1980年12月)
- 50) Tonomura, Y. (1972) *Muscle Proteins, Muscle Contraction, and Cation Transport* (Univ. Tokyo Press, Tokyo and Univ. Park Press, Baltimore), pp. 69-113.
- 51) Trentham, D. R., Eccleston, J. F., Bagshaw, C. R. (1976) *Qurt. Rev. Biophys.*, 9, 217-281.
- 52) Taylor, E. W. (1979) *CRC Crit. Rev. Biochem.*, 6, 103-164.
- 53) Inoue, A., Takenaka, H., Arata, T., Tonomura, Y. (1979) *Adv. Biophys.*, 13, 1-194.
- 54) Huxley, A. F. (1957) *Prog. Biophys. Biophys. Chem.*, 7, 255-318.
- 55) Huxley, H. E. (1957) *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 3, 631-648.
- 56) Morales, M. F., Botts, J. (1979) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76, 3857-3859.
- 57) Huxley, A. F., Simmons, R. M. (1971) *Nature*, 233, 533-538.
- 58) Highsmith, S., Akasaka, K., Konrad, M., Goody, R., Holmes, K., Wada-Jardetzky, N., Jardetzky, O. (1979) *Biochemistry*, 18, 4238-4244.
- 59) 丸山工作 (1980) 筋肉のなぞ, p. 43. 岩波新書 東京

ABSTRACT

Internal Structure of Myosin Subfragment-1 (S-1) Molecule

Tetsu HOZUMI

Department of Physiology, Nagoya City University Medical School

It is generally believed that myosin subfragment-1 (S-1) is the segment of the myosin molecule that catalyzes the hydrolysis of ATP and thereby impels actin. So the structure and "internal mechanics" of S-1 assume great importance in clarifying the molecular mechanism of the sliding theory of muscle contraction. Group with various suggestive functionalities (reactive thiols, a reactive lysine, reactive arginines, certain tryptophans, etc.) reside on S-1. The limited tryptic digestion of the heavy chain of S-1 results in three major peptides with approximate molecular weight of 50 K, 27 K, and 20 K, without much additional protolysis. This method opens a new line of investigation. Locating known functionalities and their proximities among the peptides are early step in this line.

In the tryptic digestion of S-1, 27 K-peptide is generated by two parallel routes: directly from the 75 K-peptide, and through a 29.5 K-peptide precursor. A reactive lysyl residue is present in both the 27 K- and 29.5 K-peptides. However, the reactivity of these lysyl residue differ. This indicates that the two routes of generating the 27 K-peptide correspond to the proteolysis of two different heavy chains of S-1.

ほづみ てつ

1974年九州大学大学院理学系大学院博士課程(生物学専攻)修了と同時に、現在の職を得た。1978年1月より2年3か月の間、カルフォルニア大学(サンフランシスコ)に留学、筋蛋白のミオシン、アクチンとは10年以上の付き合いで、今後も続くことであろう。研究の合間には、若い人達とスポーツで汗を流し、その度に、まだ自分も若いと自負している毎日である。

Tel (052) 851-5511 内線 2156