

30-0249

Na⁺, K⁺-ATPase が示す pNPPase 活性のオリゴマイシンと Na⁺ による増大のメカニズム
○菅田 晴夫¹ (¹杏林大医)

【目的】 Na⁺, K⁺-ATPase は Na⁺ 及び K⁺ を能動輸送する膜蛋白質である。オリゴマイシンは Na⁺ を ATPase 分子内に閉じ込める (Na⁺ Occlusion) ことによって Na⁺ 輸送のみを阻害し、ATPase 活性も阻害するが、ATPase の部分反応である K⁺ 依存性 phosphatase 活性はほとんど阻害しない。ところが、オリゴマイシンと Na⁺ を同時に加えると、この phosphatase 活性は低 K⁺ 濃度で促進される。この促進機構を研究した。【方法】 1) pH8.4、37°C、基質としてパラニトロフェニルリン酸 (pNPP) を用い、様々なリガンド条件で pNPPase 活性を測定した。2) 0°C、同一条件で、pNPPase 活性と Na⁺、Rb⁺ (K⁺ 類似体) 結合量を測定した。3) [³²P]pNPP を合成し、逆反応からの Na⁺, K⁺-ATPase リン酸化量を測定した。4) 正・逆反応によるリン酸化条件で Na⁺, K⁺-ATPase をトリプシン処理し、SDS-PAGE を行った。【結果】 1) 10μM オリゴマイシンと 10-30mM NaCl の添加によって、pNPPase の K⁺ に対する親和性は約 5 倍上昇した。2) Rb⁺ 結合量と pNPPase 活性を最大にする Na⁺ 濃度は同一で、この時 Na⁺ Occlusion も確認された。3) [³²P]pNPP からのリン酸化はオリゴマイシン、Na⁺、K⁺ の影響を受けなかった。4) トリプシンによる切断パターンは、pNPP からのリン酸化条件と ATP からのそれでは異なっていた。【考察】 膜結合型 Na⁺, K⁺-ATPase の機能単位については、モノマー説とオリゴマー説がある。示された結果は、後者の 1 つ、ダイマー説を示唆する。すなわち、オリゴマイシンはダイマーを形成するモノマーの一方を NaE1 型として安定・固定化する。他方のモノマーは (KE2pNPP) 複合体を形成し pNPPase 活性を発揮する。Post らは、Pi から形成された E2P の K⁺ 親和性が Na⁺ 添加で上昇することを観察しているので、Na⁺ occluded E1 が、pNPP から形成された E2P の K⁺ 親和性上昇に関与していると考えられる。