

Chlorasol の Actomyosin-ATPase 及び Superprecipitation に 及 ぼ す 影 響

麦 倉 元 湯田坂八重子 馬原逸郎
石塚 武 遠藤邦夫
札幌医科大学生理学教室 (主任 永井教授)

Effect of Chlorasol on Actomyosin-ATPase Activity and on Superprecipitation

By

HAJIME MUGIKURA, YAEKO YUFASAKA, ITSURŌ MAHARA,
TAKESHI ISHIZUKA and KUNIO ENDŌ

Department of Physiology, Sapporo University of Medicine
(Chief: Prof. T. NAGAI)

われわれ¹⁾はさきに, oxarsan (oxophenarsine hydrochloridum) が myosin-B 溶液の '収縮' を抑制すると同時に ATPase activity をも抑制し, 両者の間に平行の関係があることを実証し, Kus-chinsky 等²⁾の説の正しくないことを指摘した。

今回はさらに合成 actomyosin 及び結晶 myosin について同じ価の砒素剤である chlorasol (dichlorophenarsine hydrochloridum) を用いて同様の追試を行い, chlorasol もまた oxarsan と同様 actomyosin の ATPase activity と '収縮' とを同時に抑制することを確かめた。ここにわれわれの行った実験を報告しようと思う。

実験方法

A) 実験材料:

myosin 溶液: 8.0 mg/cc, 0.3 mol KCl 溶液, A. Szent-Györgyi 氏法³⁾により分離したもの。

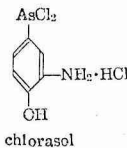
actin 溶液: 8.0 mg/cc, 0.4% NaHCO₃ 溶液, Straub 氏法⁴⁾により精製したもの。

ATP 溶液: 4.3×10^{-3} mol, Ba-塩を K-塩に置換して用いた。A. Szent-Györgyi 氏法³⁾による。

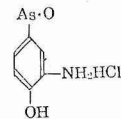
buffer 溶液: Michaelis 氏 veronal-acetate buffer 溶

液, pH 6.5 のもの。

chlorasol 溶液: 13.4 mg/cc (14.6×10^{-3} mol), chlorasol は三共の製品を用い使用の都度新調し, KOH で pH を 6.5 に補正した。なお chlorasol 注射液中にはクエン酸ソーダ, 無水炭酸ソーダを含むのでこれ等の相当量を対照としてとつた。



chlorasol



oxarsan (mapharsol)

B) 方法: chlorasol の濃度をかえて ATPase の阻害曲線を求め, 同時に超沈殿の抑制をみた。

1) 反応混液: myosin, actin, ATP の終濃度をそれぞれ 0.8 mg/cc, 0.2 mg/cc, 2.15×10^{-3} mol となるように加え, chlorasol は原液の倍数稀釈したものをそれぞれ 0.3 cc (終濃度: 4.6×10^{-3} mol \sim 4.5×10^{-6} mol), buffer は 0.5 cc を用い, 0.2 mol KCl で反応混液の [KCl] を 0.1 及び 0.6 mol に規正し, 総量 3.0 cc とした。

2) ATPase 測定法: (詳細は前報¹⁾参照), ATP を除いた上記組成の反応混液を 20°C で 10 分間温浴した後 ATP を加え, 10 分後に 5% トリクロール醋酸 2.0 cc で反応を止め, 濾液についてその含有する遊離 P を Bodansky 法で定量した。

1) 麦倉: 札幌医誌 5, 175 (1954),

2) Turba, F. & Kuschinsky, G.: Biochim. et Biophys. Acta 8, 76 (1952).

3) Szent-Györgyi, A.: Chemistry of Muscular Contraction (1947); 2nd ed. (1951).

4) Straub, F.B.: cit 3).

3) superprecipitation の判定法: superprecipitation の度合を次のように表示した (ATPase と平行して superprecipitation をみた場合は ATP 添加 10 分後に判定)。

- : ATP 添加により透光度の増加はあるが '収縮' に対応するなん等の変化も示さないもの。
- + : ATP 添加により coarse flocculate を生じたもの。
- ++ : coarse flocculate が沈澱を開始したもの。
- +++ : 沈澱 (収縮) の過程にあるもの。
- #### : '収縮' を完了したもの。

実験成績

上記の方法で実験を行い、第1図に示すような成績をえた。更に chlorasol による超沈澱の抑制状況を別に写真で示した (第2図)。

即ち myosin ATPase activity は, chlorasol の 2.3×10^{-3} mol で 100% 阻害され, 4.5×10^{-6} mol でその阻害作用が完全になくなり, 阻害曲線は一次のそれと殆ど等しい ($H = \frac{[I]}{K_I + [I]}$)。また actomyosin ATPase では chlorasol の 4.6×10^{-3} mol で 80% 阻害され同時に seuprprecipitation も抑制される。chlorasol の濃度が下るとともに

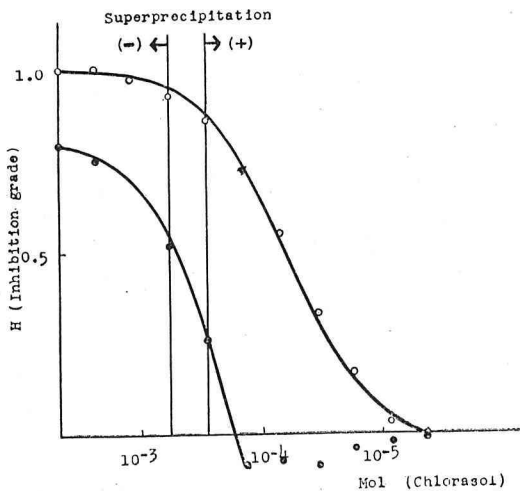
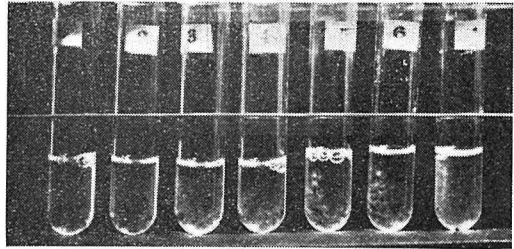


Fig. 1. Chlorasol-inhibition of ATPase and superprecipitation.

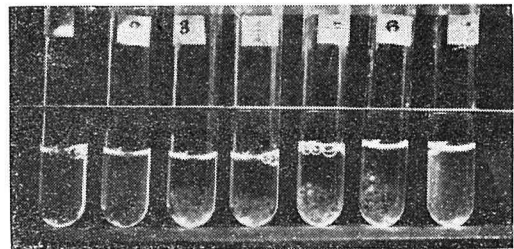
- Reaction mixture: 3.0 cc
- Myosin: 0.8 mg/cc
- Actin: 0.2 mg/cc
- ATP: 2.15×10^{-3} mol
- Chlorasol: $4.6 \times 10^{-3} \sim 4.5 \times 10^{-6}$ mol (10 min)
- Buffer: pH 6.5, (veronal-acetate buffer) 0.5 cc
- Temperature: 20°C, (10 min.)
- : myosin (0.6 mol KCl)
- : actomyosin (0.1 mol KCl)

Ordinates indicate inhibition grade $H = 1 - \frac{V \text{ chlorasol}}{V_0}$

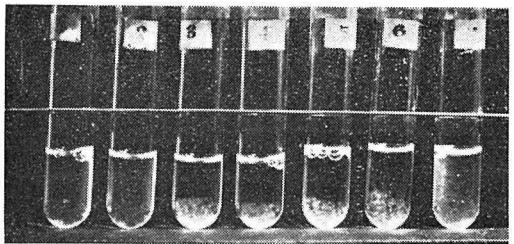
ATPase activity の抑制も減じ, 2.88×10^{-1} mol でその約 25% が抑制されるにすぎず同時に superprecipitation も見られるようになる。なお chlorasol の濃度が更に低下すれば actomyosin ATPase はかえつて少しく activate されるような傾向を示す。



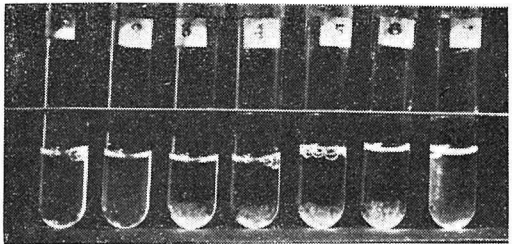
(I)



(II)



(III)



(IV)

Fig. 2. Effect of chlorasol on superprecipitation of Actomyosin.

- I) 45'' (after addition of ATP)
- II) 1' (after addition of ATP)
- III) 1'15'' (after addition of ATP)
- IV) 1'45'' (after addition of ATP)

continued on

continued from

The apparent delay of precipitation in tube No. 5 and 6 was caused by retarded addition of ATP.

Number (Tube)	Chlorasol	AM	ATP	Superprecipitation
1	2.3×10^{-3} mol	+	+	—
2	5.75×10^{-4} mol	+	+	—
3	1.44×10^{-4} mol	+	+	+++
4	3.6×10^{-5} mol	+	+	+++
5	9×10^{-6} mol	+	+	+++
6	0	+	+	+++
7	0	+	—	—

[KCl]: 0,1 mol

Temperature: 20°C

総括並びに考察

さきにわれわれは、oxarsan が myosin-B の ATPase activity を抑制すること、及び低塩濃度の actomyosin-gel の superprecipitation をも抑制し、この際 actomyosin ATPase activity の抑制との間には平行性があることを知つた。

今回われわれは As (III) の ATPase 及び superprecipitation に及ぼす作用を更に確かめる目的で oxarsan と同様 3 個の砒素剤である chlorasol を用い、myosin-B の代わりに結晶 myosin、及びそれと actin とより合成した actomyosin を用いて上記の実験を行つた。

われわれの実験成績が示すように chlorasol もまた oxarsan と全く同様の作用を持ち、myosin 及び actomyosin の ATPase activity を抑制し、actomyosin の ATPase activity の抑制と平行して superprecipitation をも抑えている。

SH-reagent による actomyosin ATPase の阻害と actomyosin の各種の反応の抑制との間には従来多くの平行性がみられており、superprecipitation に関しても、cupric glycinate, salyrgan, benzaldehyde, adrenalin 等々のように superprecipitation を抑制するものはいずれも酵素作用をも抑制している。

もともと superprecipitation を定量的に測定することは困難で、従つて ATPase activity との関連を厳密に比較定量することは出来ないが、少なくとも ATPase activity のない場合に superprecipitation の見られることはなかつた。しかるに Kuschinsky 等は oxarsan が ATPase を損うことなく superprecipitation を抑え、superprecipitation に伴う ATPase 以外の ATP の分解があることを報告し、両者の平行性を否定した。

われわれの今回の成績は、さきに行つた oxarsan の実験とともに Kuschinsky 等の説の正しくないことを一層確かめると共に、ATPase activity と '収縮' との平行性の存在を更に強く支持するものである。

結 論

- 1) chlorasol は myosin 及び合成 actomyosin の ATPase を阻害する。
- 2) chlorasol による actomyosin の '収縮' の抑制と ATPase activity の抑制との間には平行性がみられる。
- 3) 3 個の砒素剤である oxarsan 及び chlorasol の ATPase activity 及び '収縮' に及ぼす作用は全く同じである。

(昭和 29. 7. 22 受付)

Summary

The effects of chlorasol (dichlorophenarisine hydrochloridum) on ATPase activity and on superprecipitation were studied.

The results are as follows:

- 1) Chlorasol inhibits ATPase activity of both myosin and actomyosin.
- 2) There is an intimate parallelism between the inhibition of ATPase activity and that of superprecipitation with chlorasol.
- 3) The effects of chlorasol on ATPase activity and on superprecipitation are identical in every respect with oxarsan, since both arsenic derivatives are tri-valent.

(Received July 22, 1954)