

Title	カルシウムまたはマグネシウムイオンの結合に伴うトロポニンC分子の構造変化のX線溶液散乱法による研究
Author(s)	藤澤, 哲郎
Citation	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/249">https://hdl.handle.net/11094/249</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

氏名・(本籍)	ふじ 藤	さわ 澤	てつ 哲	ろう 郎
学位の種類	工	学	博	士
学位記番号	第	8703	号	
学位授与の日付	平成元年	3月	24日	
学位授与の要件	基礎工学研究科物理系専攻 学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	カルシウムまたはマグネシウムイオンの結合に伴うトロポニン C分子の構造変化のX線溶液散乱法による研究			
論文審査委員	(主査) 教授	三井	利夫	
	(副査) 教授	葛西	道生	教授 柳田 敏雄 助教授 植木 龍夫

### 論文内容の要旨

トロポニンは骨格筋の細いフィラメント上にある蛋白分子でアクチンとミオシンの相互作用を制御する。トロポニンは3つのサブユニットから成り、トロポニンCはそのカルシウム結合サブユニットである。

本研究は、ウサギの骨格筋トロポニンCが水溶液中において $\text{Ca}^{2+}$ や $\text{Mg}^{2+}$ の結合に伴いどのように構造を変えるのかをX線溶液散乱法を用いて研究した。解析の結果得られた知見は以下のとおりである。

- (1) トロポニンCの希薄溶液 ( $2-10 \text{ mg/ml}$ ) においては、 $\text{Ca}^{2+}$ と $\text{Mg}^{2+}$ が同時に結合している場合を除き、分子の会合はおこらない。
- (2) 溶液散乱データより得られる距離分布関数は2つのピークを持つことから、トロポニンC分子は $\text{Ca}^{2+}$ や $\text{Mg}^{2+}$ の結合/非結合にかかわらず、2つのドメインからなる亜鈴型構造をしていることがわかった。
- (3) トロポニンCの回転半径 $R_g$ は、4個の $\text{Ca}^{2+}$ の結合に伴い $27.8 \text{ \AA}$ から $22.6 \text{ \AA}$ に減少する。
- (4) 散乱強度分布の解析から、ドメインの平均回転半径 $\overline{R_{gN,C}}$ とその中心間距離 $r_{NC}$ が評価できる。4個の $\text{Ca}^{2+}$ の結合に伴い $R_{gN,C}$ は $15.4 \text{ \AA}$ から $14.6 \text{ \AA}$ へ、 $r_{NC}$ は $46.3 \text{ \AA}$ から $34.5 \text{ \AA}$ へと変化した。
- (5) “トリプシン断片”のX線溶液散乱から、 $\text{Ca}^{2+}$ 非存在下ではC端ドメインの $R_{gC}$ は $17.0 \text{ \AA}$ 、N端ドメインの $R_{gN}$ は $14.0 \text{ \AA}$ であった。この結果は $\text{Ca}^{2+}$ の非結合時にはCドメインは比較的膨らんでいるのに対しNドメインは緻密であることを示す。2個の $\text{Ca}^{2+}$ が結合すると $R_{gC}$ は $14.7 \text{ \AA}$ に減少する。
- (6)  $\text{Mg}^{2+}$ の高カルシウム結合能部位への結合に引き起こされる構造変化は、 $\text{Ca}^{2+}$ による変化と似てい

る。

(7) 結晶中と水溶液中ではトロポニンC分子の構造特徴は同じであるが、分子は水溶液中のほうがより広がっている。

## 論文の審査結果の要旨

筋肉の収縮は神経からの電気刺激で細胞中にCaイオンが放出されることから始まる。Caイオンが調節蛋白分子トロポニンに結合すると、トロポニンの構造が変化し、この変化がトロポミオン、アクチンと伝播して、アクチンとミオシンの結合が可能となる。トロポニンはトロポニンC、I、Tの3成分からなる複合蛋白で、このうちトロポニンCがCaに結合する役割を担っている。トロポニンC分子の構造については既に結晶構造回折が行われているが、本研究では細胞内の環境に近い水溶液中で、この分子がどのような形態をとるか、またCaやMgが結合したとき、どのような構造変化が起るかが調べられた。

この種の実験でよいデータを得る上の困難は、溶液中で分子の会合が起りやすいことである。本研究では低濃度のトロポニン溶液を用いることでこの困難を避けることができた。この場合散乱X線が弱くなるが、シンクロトロン放射からの強いX線を使用することでS/N比のよいデータを得、さらに得られた散乱X線強度分布を0濃度に外挿して信頼度の高いデータを得た。これらのデータを解析して分子中の距離分配関数や分子の回転半径を求めた。トロポニンCはN領域とC領域とからなるが、トロポニンC分子の他にN領域とC領域とについての研究も行った。得られた主要な結論は次の如くである。(1)トロポニンC分子は溶液中でも結晶中と類似の垂鈴型構造をしている。(2)Caの結合により、トロポニンCの回転半径は $27.8\text{\AA}$ から $22.6\text{\AA}$ と減少する。(3)C領域はCa結合によりかなりの程度収縮する。(4)Mg結合の効果はCaと似ているがそれ程顕著でない。

本論文は筋収縮において重要な役割を担うトロポニンC分子の溶液中での存在様式について信頼度の高い基礎データを提供しており、工学博士の学位論文としての価値あるものと認める。