

Title	筋原線維の収縮に関する研究
Author(s)	森, 透
Citation	大阪大学, 1966, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/28921
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について <a>〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	森 <small>もり</small>	透 <small>とおる</small>
学位の種類	医	学 博 士
学位記番号	第	9 1 0 号
学位授与の日付	昭 和 41 年 3 月 28 日	
学位授与の要件	医 学 研 究 科 外 科 系 学位規則第 5 条第 1 項該当	
学位論文題目	筋原線維の収縮に関する研究	
論文審査委員	(主査)	教 授 陣内伝之助
	(副査)	教 授 吉井直三郎 教 授 山野 俊雄

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

筋収縮は ATP を分解することによっておこるが、筋収縮と ATP 分解関係についての研究は、分子レベルではアクトミオシンの超沈澱現象に代表される筋モデルを用いて研究され、一方、生筋については生筋の収縮にともなう ATP 分解量の直接測定が行なわれるが、生筋と分子レベルの研究を結ぶべき生体構造を持った細胞内収縮成分、すなわち筋原線維のレベルでの収縮と ATP 分解の関係を研究した報告は未だみあたらない。ここに於いて著者は短い筋原線維を採取しやすい家鶏胸筋から分離した筋原線維を用いて、筋原線維の収縮速度と ATPase 活性を測定して両者の関係を求めることを目的として本研究を行なった。

〔方 法〕

筋原線維は深沢らの方法を参考にして分離した。筋原線維の ATPase 活性は、ATP が分解して発生した無機磷酸を Martin-Doty 法で定量し、筋原線維の単位蛋白量当り単位時間内に発生した無機磷酸量で活性を示した。収縮速度の測定の 1 つの方法は光散乱法で、ATP 添加後の筋原線維懸濁液の光散乱強度の減少速度で求め、他の方法としては、筋原線維懸濁液に ATP を添加後一定時間毎に高濃度 EDTA を添加して筋原線維の収縮を停止し、位相差顕微鏡で検鏡し、収縮して contraction band を形成した筋原線維の増加の時間経過から全筋原線維の 50% が contraction band を形成するまで収縮するに要する時間を平均収縮時間とした。その際、各筋原線維が contraction band を形成するまで収縮する長さの変化は一定であったため、平均収縮時間の逆数で相対的に収縮速度を求めた。

〔成 績〕

筋原線維 ATPase 活性は Mg^{2+} により著明な活性化を受け、その pH- 依存性は pH6.0~8.5 の

範囲で安定であり、このことはアクトミオシン型 ATPase であることを示している。筋原線維 ATPase 活性の $\text{Mg}\cdot\text{ATP}^{2-}$ 濃度との関係を求めるため、 0.1mM ATP 、 $20\ \mu\text{M MgCl}_2$ および $0\sim 500\ \mu\text{M EDTA}$ の条件および 0.1mM ATP 、 $0\sim 50\ \mu\text{M MgCl}_2$ の条件で ATPase 活性を測定した結果を、それぞれの条件で計算により求めた $\text{Mg}\cdot\text{ATP}^{2-}$ 濃度に対してプロットすることにより、 $\text{Mg}\cdot\text{ATP}^{2-}$ 濃度が $0\sim 10\ \mu\text{M}$ の範囲では、ATPase 活性は $\text{Mg}\cdot\text{ATP}^{2-}$ 濃度に比例していた。それ以上の $\text{Mg}\cdot\text{ATP}^{2-}$ 濃度では ATPase 活性は最大値に達して、その値は $150\sim 200\ \mu\ \text{moles Pi/g. /min}$ であった。次に、筋原線維 ATPase 活性と同一条件下で光散乱法で測定した収縮速度との関係を求めた結果、EDTA 濃度の比較的低濃度範囲 ($0\sim 50\ \mu\text{M}$) では、ATPase 活性と収縮速度の EDTA による阻害曲線は一致し、互いに比例関係にあることが明らかとなった。筋原線維が収縮して contraction band を形成するまでの収縮速度と ATPase 活性の関係は $\text{Mg}\cdot\text{ATP}^{2-}$ 濃度の高低によりその関係を異にし、 $\text{Mg}\cdot\text{ATP}^{2-}$ 濃度の比較的高濃度範囲 ($13.3\sim 7.1\ \mu\text{M}$) では、収縮速度と ATPase 活性は比例するが、 $\text{Mg}\cdot\text{ATP}^{2-}$ 濃度の比較的低濃度範囲 ($3.8\sim 0.7\ \mu\text{M}$) では、収縮速度は $\text{Mg}\cdot\text{ATP}^{2-}$ 濃度の 3 乗に比例し、ATPase 活性は $\text{Mg}\cdot\text{ATP}^{2-}$ 濃度に比例することが明らかとなった。また、筋原線維の収縮速度と ATPase 活性の比例する条件で、平均収縮時間内に分解される ATP 量は、平均収縮時間と ATPase 活性の積で求めることが出来るが、その値は温度に依存せず一定となった。

〔総括〕

1. 筋原線維 ATPase 活性は、 $\text{Mg}\cdot\text{ATP}^{2-}$ 濃度に依存し、 $\text{Mg}\cdot\text{ATP}^{2-}$ 濃度の比較的低濃度範囲 ($0\sim 10\ \mu\text{M}$) では、ATPase 活性は $\text{Mg}\cdot\text{ATP}^{2-}$ 濃度に比例し、それ以上の高濃度では最大値に達し、その値は $150\sim 200\ \mu\ \text{moles Pi/g. /min}$ の範囲であった。
2. 筋原線維の収縮速度と ATPase 活性は $\text{Mg}\cdot\text{ATP}^{2-}$ 濃度の比較的高濃度範囲 ($13.3\sim 7.1\ \mu\text{M}$) では互いに比例することが明らかとなった。
3. 筋原線維の収縮速度と ATPase 活性は $\text{Mg}\cdot\text{ATP}^{2-}$ 濃度の低濃度範囲 ($3.8\sim 0.7\ \mu\text{M}$) では、 $\text{Mg}\cdot\text{ATP}^{2-}$ 濃度依存性を異にし、収縮速度は $\text{Mg}\cdot\text{ATP}^{2-}$ 濃度の 3 乗に比例し、ATPase 活性は $\text{Mg}\cdot\text{ATP}^{2-}$ 濃度の 1 乗に比例した。
4. 筋原線維の収縮速度と ATPase 活性の比例する条件下に於いては、平均収縮時間内に分解される ATP 量は平均収縮時間と ATPase 活性の積で求めることが出来る。そして、その量は温度に依存しないことが明らかとなった。

論文の審査結果の要旨

筋収縮の研究は、筋収縮性蛋白質が ATPase であることの証明、ミオシン A とアクチンの分離精製およびアクトミオシンの超沈澱現象の如き分子レベルに於ける収縮現象の再現等により著明な発展を遂げた。

而して、後続の研究者の分子生物学的な筋収縮の研究の結果、アクトミオシンの Mg および ATP

との反応こそ、筋収縮の基本的反応であることを確立した。然るに一方、生筋の ATP との反応については、筋収縮にともなう生筋内での ATP 分解量の測定が数年来発展し、解明されつつある。しかし、それら生筋と分子レベルのアクチンとミオシンを結ぶべき存在の筋原線維に関する収縮現象の生理化学的研究は殆んど無く、ここに於いて著者は、ATPase 活性が極めて正確に測定可能な Sarcomere レベルの筋原線維を用い、第 1 に、筋原線維 ATPase 活性の Mg-ATP 結合体依存性を証明し、第 2 に、いままで測定困難であった顕微鏡レベルに於ける筋原線維の収縮を光散乱法および位相差顕微鏡法により測定して、Mg-ATP 結合体をめぐる収縮速度と ATPase 活性の関係を研究し、Mg-ATP 結合体量が十分存在するとき、収縮速度と ATPase 活性は互いに比例することを明らかにし、第 3 に、収縮速度と ATPase 活性の比例する条件で、筋原線維が一定長収縮する際分解される ATP 量は温度 (0~25°C) に関せず一定であることを明らかにした。以上の如く、筋原線維の収縮性について研究し、新知見を得たことは有意義のものとする。