



Title	筋小胞体ベシクルにおけるカルシウムにより誘起されるカルシウム遊離機構の研究
Author(s)	長崎, 一夫
Citation	大阪大学, 1984, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/33905">https://hdl.handle.net/11094/33905</a>
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">＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"&gt;https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> >大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名・（本籍）	なが 長	さき 崎	かず 一	お 夫
学位の種類	工	学	博	士
学位記番号	第	6 4 9 2	号	
学位授与の日付	昭和 59 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	筋小胞体ベシクルにおけるカルシウムにより誘起されるカルシウム 遊離機構の研究			
論文審査委員	(主査) 教 授 葛西 道生 (副査) 教 授 大澤 文夫 教 授 塚原 仲晃			

### 論文内容の要旨

申請者は筋小胞体における  $\text{Ca}^{2+}$  により誘起される  $\text{Ca}^{2+}$  遊離機構の研究を単離された膜ベシクルを用いて行った。

まず、筋小胞体を、 $^{45}\text{Ca}$  を用いたミリポアろ過法と蛍光試薬であるクロルテトラサイクリンを用いる方法で試べた。ベシクル外に二価の陽イオンが存在しない条件下において  $\text{Ca}^{2+}$  と  $\text{Mg}^{2+}$  に対する透過性はほとんど等しく、またそれは pH の増加に伴って増加した。 $\text{Ca}^{2+}$  の流出速度はベシクル外の  $\text{Ca}^{2+}$  の濃度によって大きく影響される。

$^{45}\text{Ca}$  を用いるミリポアろ過法によって、筋小胞体ベシクルのおよそ 2/3 が  $\text{Ca}^{2+}$  により誘起される  $\text{Ca}^{2+}$  遊離機構を保持しており、残りのベシクルにはそれが無いことがわかった。後者のベシクルの  $\text{Ca}^{2+}$  に対する透過性はベシクル外における  $\mu\text{M}$  程度の濃度の  $\text{Ca}^{2+}$  によって減少する。クロルテトラサイクリンの蛍光を用いる方法によって、 $\text{Ca}^{2+}$  により誘起される  $\text{Ca}^{2+}$  遊離機構を保持しているベシクルの割合は重い分画のベシクルの方が軽い分画のベシクルより多いことがわかった。

この、 $\text{Ca}^{2+}$  により誘起される  $\text{Ca}^{2+}$  遊離機構を重い分画の筋小胞体ベシクルを用いてくわしく調べた。 $\text{Mg}^{2+}$  の存在しない条件下において、 $\text{Ca}^{2+}$  の流出を活性化するベシクル外の  $\text{Ca}^{2+}$  濃度は解離定数にして  $25\mu\text{M}$  であり、それを阻害する濃度は同じく  $120\mu\text{M}$  である。カフェインは活性化部位に対する  $\text{Ca}^{2+}$  の親和性を増加させることのみによって  $\text{Ca}^{2+}$  遊離速度を速くする。 $\text{Mg}^{2+}$  は活性化部位に対する競合的結合によって  $\text{Ca}^{2+}$  遊離速度を減少させる。ATP は活性化部位に対する  $\text{Ca}^{2+}$  の親和性を変化させることなく  $\text{Ca}^{2+}$  遊離速度をひじょうに速くする。これらの事実は形質膜を除いた筋繊維の筋小胞体において報告されていることと一致する。 $\text{Ca}^{2+}$  遊離の最大速度は ATP 存在下で  $80\text{ S}^{-1}$  に達する。こ

の価は筋肉の収縮を起こすのに十分であると考えられる。

## 論文の審査結果の要旨

骨格筋の収縮は運動神経の興奮が筋細胞内にある筋小胞体というオルガネラに伝えられ、そこから  $\text{Ca}^{2+}$  が遊離されることによっておこる。しかし、現在のところ、どのような信号が筋小胞体に伝えられ、どのような機構によって  $\text{Ca}^{2+}$  が遊離されるのかは分っていない。本論文はウサギ骨格筋から単離した筋小胞体ベシクルを用いて  $\text{Ca}^{2+}$  遊離機構を研究したものである。

まず、クロルテトラサイクリン (CTC) の蛍光を利用して、蛍光分光器を用いて  $\text{Ca}^{2+}$  の透過速度を求めた。そこで、CTC は  $\text{Ca}^{2+}$  と結合し、更に膜に結合し疎水的環境になると蛍光強度が著しく増加することを示した。 $^{45}\text{Ca}$  のトレーサーを用いた実験との比較により、蛍光強度の増加はベシクル内の  $\text{Ca}^{2+}$  の量にほぼ比例することを明らかにした。同じ方法によって、 $\text{Mg}^{2+}$  の透過性を求めた。従来  $\text{Mg}^{2+}$  は適当なトレーサーがなく、これが  $\text{Mg}^{2+}$  の透過性を定量的に求めた最初の例になった。次に、これらの実験から  $\text{Ca}^{2+}$  の透過性がベシクル外の  $\text{Ca}^{2+}$  濃度に大きく依存することを見つけ、主にトレーサー法によって、単離筋小胞体にも  $\text{Ca}^{2+}$  によって誘起される  $\text{Ca}^{2+}$  の遊離があることを示した。しかし、この方法では  $\text{Ca}^{2+}$  の遊離は非常に速くその速度を求めることは困難であった。そこで、 $\text{Ca}^{2+}$  の遊離速度を CTC の蛍光変化をストップフロー法によって追跡する方法を開発し、測定した。ATP とカフェインの存在下では、その速度は  $80\text{ S}^{-1}$  にまで達し、ほぼ生理学的な  $\text{Ca}^{2+}$  遊離速度に匹敵することを示し、この  $\text{Ca}^{2+}$  遊離機構が生理学的に有効である可能性を示唆した。

これらの結果は、筋収縮の初期過程である興奮-収縮連関の解明に重要な知見を与えたものであり、博士論文として価値あるものと認める。