

Title	連続単収縮とATP加水分解アナログを用いた骨格筋クロスブリッジ素過程X線回折研究
Author(s)	金, 徳述
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/39806">https://hdl.handle.net/11094/39806</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"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</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	金 徳 述
博士の専攻分野の名称	博 士 (工 学)
学位記番号	第 1 2 5 3 8 号
学位授与年月日	平成 8 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 基礎工学研究科物理系専攻
学位論文名	連続単収縮と ATP 加水分解アナログを用いた骨格筋クロスブリッジ素過程 X 線回折研究
論文審査委員	(主査) 教授 柳田 敏雄  (副査) 教授 葛西 道生    教授 村上富士夫    助教授 若林 克三

#### 論 文 内 容 の 要 旨

筋収縮におけるミオシンとアクチンの二つの収縮蛋白の間で起こる化学反応の素過程と力学-構造状態の相関を X 線回折法によって明らかにした。

刺激後に同期して起こる一連の化学-構造-力学の時間経過を調べる方法として連続単収縮法を用いた。この方法によって弛緩状態から等尺収縮状態への転移に含まれるミオシン頭部の細いフィラメントへの移動、内部不均一短縮、直列弾性要素の伸張の関わる時間をゼロに抑えることに成功した。その結果、アクト (A) ミオシン (M) 分子の構造変化の素過程を時分割 X 線解析法で追跡できた。ミオシン頭部は刺激前からアクチンフィラメント近傍に  $AM^*ADP \cdot P_i$  状態であり、X 線強度変化を伴い構造変化が起こり 30-40 ミリ秒の時間で  $AM^{**}ADP \cdot P_i$  になる。その後 15-20 ミリ秒かかって張力発生が起こるが、その際には X 線強度に変化がなく、 $AM^{**}ADP \cdot P_i$  のまま張力発生が起こることが示された。

次に、静的な方法で筋肉の化学状態を固定して X 線回折により化学-構造相関を調べた。等尺収縮力を担っている化学状態としては  $AM^*ATP$ ,  $AM^{**}ADP \cdot P_i$  と  $AM^*ADP$  が多数あると考えられているので、硬直 (AM) 状態に  $ADP$  や  $ADP \cdot P_i$  のアナログを外から加えて  $AM^*ADP$  状態や  $AM^{**}ADP \cdot P_i$  状態に似た状態を作った。X 線の硬直パターンは殆ど変化しなかったが、 $ADP$  により (AMADP 状態) 145A ベースの子午反射が 20-30% 増強され、結合ミオシン頭部の末端がアクチンフィラメント軸に対して垂直方向に動くような構造変化が初めて示された。一方、 $ADP \cdot P_i$  アナログである  $ADP + V_i$  (バナジン酸),  $ADP + ALF_4$  (フッ化アルミニウム),  $ADP + BeF_3$  (フッ化ベリリウム) の効果は程度の違いはあるが、反射の強度を大きく同じ方向に減少させた。 $ADPBeF_3$  の場合にアクチン反射の変化は 50% でほぼ飽和しており、赤道反射の変化は 10-20% と小さく、約 50% のミオシン頭部が解離し、細いフィラメントの近傍に留まっていることが示された。収縮時の回折像との比較から、収縮筋では多数を占める  $AM^{**}ADP \cdot P_i$  の構造がアナログ構造と同様二つのミオシン頭部のうち片方がアクチンと結合している状態であることが示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

本論文は連続単収縮と ATP 加水分解アナログを用いて骨格筋クロスブリッジの化学-力学変換素過程で起こる構造変化を X 線回折法で明らかにしたものである。

第 1 章では、弛緩状態から力発生の前駆的状态への転移に含まれるミオシン頭部の細いフィラメントへの移動、内部的不均一短縮、直列弾性要素の伸張に関わる時間を連続単収縮法によりゼロに抑えることに成功している。その結果、アクト (A) ・ミオシン (M) 分子の構造変化の素過程 (キネティクス) を時分割 X 線回折法で追跡できた。ミオシン頭部は刺激前から (A+M<sup>\*</sup>ADP, P<sub>i</sub> で) アクチンフィラメント近傍にあり、その後 X 線回折の強度変化を伴い構造変化 (AM<sup>\*</sup>ADP, P<sub>i</sub> で) が起こり、その後張力発生が起こるがその際には X 線回折パターンの変化は小さく、AM<sup>\*</sup>ADP, P<sub>i</sub> のまま張力発生が起こることが示唆された。第 2 章では硬直筋に ADP と ADP+BeF<sub>3</sub> (ADP+AlF<sub>4</sub>, ADP+VO<sub>4</sub>) を作用させ、X 線回折によりその構造変化を調べている。前者では 14.3nm 子午反射が増強し、5.9nm 層線反射が子午軸近くで強度減少することが発見され、AMADP のミオシン頭部末端がフィラメント軸と垂直方向へ向かって動くことを初めて明らかにしている。後者では子午反射、アクチン反射を 50% 近く減少させ、赤道反射を僅か変化させることを発見し、アクチンとミオシン頭部の結合した AM<sup>\*</sup>ADP, P<sub>i</sub> アナログ状態を初めて捉えることに成功している。しかし、回折パターンは 5.9nm アクチン層線反射のみが活性収縮状態と酷似するものの全体としては硬直状態のパターンのままであり、AM<sup>\*</sup>ADP, P<sub>i</sub> アナログ状態は活性 AM<sup>\*</sup>ADP, P<sub>i</sub> とはかなり違う構造であることが明らかとなっている。アナログ状態で多数を占めるミオシンの単頭結合状態が活性中の構造と推定されており、これは最近の急速電子顕微鏡による知見と対応するものである。

以上のように、本論文は筋収縮の分子機構の解明に新しい知見を与えるものであり、学位論文として価値あるものと認めた。