

Title	収縮および硬直状態における横紋筋細いフィラメントのX線構造解析
Author(s)	上野, 豊
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	<a href="https://doi.org/10.11501/3110121">https://doi.org/10.11501/3110121</a>
DOI	10.11501/3110121
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

氏名	うえの ゆたかの 上野 豊
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 12551 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	収縮および硬直状態における横紋筋細いフィラメントのX線構造解析
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

張力発生時における筋肉タンパク質の機能を構造面から理解するために、収縮状態と硬直状態における細いフィラメントのX線構造解析を行った。シンクロトロン放射光を利用してカエル骨格筋の収縮状態およびカニ横紋筋の硬直状態から高分解能( $\sim 13 \text{ \AA}$ )のX線回折像を測定した。これら回折データをアクチンやミオシン頭部の結晶学的データを利用して解析した。

#### (1)収縮中の細いフィラメントの構造変化

アクチンの結晶データを利用して、弛緩状態の強度データを説明できるFアクチンの構造モデルを構築した。このモデルの位相を使って弛緩と収縮状態の強度データから差フーリエ合成を行った。その結果、収縮中の電子密度の変化は細いフィラメント内部にあり、ミオシン頭部の結合を示唆するような変化はなかった。このことから、収縮中ミオシン頭部の相互作用を受けて細いフィラメント自体に構造変化が起こされていることが明らかとなった。この構造変化をフィラメント内のアクチンモノマーの4つのドメイン構造の相対的な移動で解析すると、サブドメイン2がフィラメントの内側に、サブドメイン1と4が分子の中心から離れる方向に数 $\text{ \AA}$ 移動することで説明できた。また、トロポミオシンを導入した解析では、収縮中のトロポミオシンの移動は繊維軸からの距離を変えずに方位角方向に5 $\text{ \AA}$ 程度移動していた。この動きは従来の立体障害説で考えられているよりも小さく、アクチンの構造変化に伴う移動である可能性を指摘した。

#### (2)硬直状態の細いフィラメントの構造

ミオシン頭部がアクチンに強固に結合した硬直状態は、収縮過程の両タンパク質の反応素過程の一つと考えられている。細いフィラメント中のFアクチン、制御タンパク質、結合ミオシン頭部の周期が一致しているカニ横紋筋の硬直状態の構造を解析した。Fアクチンモデルを構築した後、ミオシン頭部の結晶データを利用しその結合のモデルを探索した。その結果、アクチンのN末端領域に結合する、電子顕微鏡による解析報告に近いモデルでX線回折像の強度データを説明できた。次に、トロポニン結晶構造が未知であるが、低分解能の構造的知見からX線データを良く説明する形状と細いフィラメントにおける配置を提案した。トロポニンは細いフィラメントに沿って長く伸び、Fアクチンとの結合周期の半分以上を占めていた。またミオシン頭部との相対的位置関係を決定した。

## 論文審査の結果の要旨

本論文は、横紋筋を構成し収縮機能を持つタンパク質の細いフィラメントについて弛緩-収縮状態と硬直状態におけるX線構造解析を行ったものである。

第1章はこれまでの研究の概説として、最近の収縮タンパク質結晶解析の結果など本研究の背景を述べている。第2章においてはカエル骨格筋の収縮-収縮状態の移行に伴う細いフィラメントの構造変化について解析が行われている。アクチンの結晶データを利用して、弛緩状態の強度データを説明できるFアクチンの構造モデルを構築し、このモデルの位相を使って弛緩と収縮状態の強度データから差フーリエ合成の計算が行われた。その結果、収縮中ミオシン頭部の相互作用を受けて細いフィラメント自体に構造変化が起こされていることを明らかにしている。この構造変化はフィラメント内のアクチンモノマーの4つのドメイン構造の相対的な移動で解析され、観測データを説明できる構造変化のモデルが求められている。収縮中の制御タンパク質の変化として、トロポミオシンの移動は繊維軸からの距離を変えずに方位角方向に5 Å程度移動していた。この動きは従来の立体障害説で考えられているよりも小さく、アクチンの構造変化に伴う移動である可能性を指摘している。第3章ではミオシン頭部がアクチンに強固に結合した硬直状態の細いフィラメントの構造解析が報告されている。細いフィラメント中のFアクチン、制御タンパク質、結合ミオシン頭部の周期が一致しているカニ横紋筋の硬直状態の構造を解析し、それらの複合体のモデルを構築している。ミオシン頭部の結晶データを利用してアクチンとの結合モデルを解析した結果、ミオシン頭部はアクチンのN末端領域に結合し、電子顕微鏡による解析に近いモデルであった。結晶構造が未知であるトロポニンについては、低分解能の構造的知見からX線データを良く説明する形状のモデルを提案している。トロポニンは細いフィラメントに沿って長く伸び、Fアクチンとの結合周期の半分以上を占めていること、またミオシン頭部との相対的位置関係が決定されている。

以上のように、本論文は収縮中の筋肉においてアクチンフィラメントが構造変化を起こしていること、硬直状態のカニ横紋筋の細いフィラメント中でのミオシン頭部と制御蛋白質の構造を明らかにするなど、筋タンパクの機能の理解のために多くの新しい知見が提供されており、学位論文として価値あるものと認める。