OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	X線繊維回折法を用いた骨格筋収縮における細いフィラメントの構造と動態の解析
Author(s)	松尾, 龍人
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/54264
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名	松尾龍人（まつおたつひと）
博士の専攻分野の名称	博士（理学）
学位記番号	第　23900　号
学位授与年月日	平成22年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 基礎工学研究科機能創成専攻
学位論文名	X線繊維回折法を用いた骨格筋収縮における細いフィラメントの構造と動態の解析
論文審査委員	(主査) 教授　三宅　淳 (副査) 教授　野村　泰伸　　教授　柳田　敏雄 財団法人高輝度光科学研究センター主任研究員　八木　直人 名誉教授　若林　克三

論文内容の要旨

筋肉の力発生はアクチンとミオシンの相互作用（クロスブリッジ形成）によって起こり、それはトロポニンのカルシウム結合・解離によって調節されている。アクチンとトロポニンは、トロポミオシンと共に細いフィラメントを構成する。力発生の調節の仕組みを解明するためには細いフィラメントの構造と収縮時の構造変化を理解することが重要である。しかし、収縮に伴うアクチンの構造変化の有無、細いフィラメント上に存在する多数のトロポニンが示す収縮時の構造変化は明らかではない。そこで、最初にカエル骨格筋の弛緩、活性化、等尺収縮状態のX線回折像を測定し、結晶構造を用いて実験データを説明する細いフィラメントのモデルを構築した。従来、アクチンは収縮に伴い構造変化をしないと考えられていたが、得られたモデルでは弛緩から収縮状態への移行時にアクチンの構造変化が必要であり、それはミオシンとの結合親和性を上昇させる変化である可能性を示唆した。次に、2回の電気刺激による単収縮過程のX線回折像の変化を1ミリ秒の高時間分解能で時分割測定した。その結果、トロポニン由来の回折強度は1回の電気刺激により最大の変化を示した。このことは、少数のクロスブリッジ形成によって細いフィラメント上のトロポニンが最大の構造変化を示すことを示唆する。最後に、単収縮過程のX線回折像と細胞内カルシウム濃度変化を同一試料から1ミリ秒の時間分解能で時分割測定した。その結果、トロポニンへのカルシウム結合・解離とクロスブリッジ形成に対して、一部のトロポニンの構造変化が他のトロポニンの構造にも影響するという協同的な振舞いが示唆された。以上の結果より、細いフィラメントの調節機構にはアクチンも直接関与しており、フィラメント全体が協同性を備えて機能していると考えられる。細いフィラメントのこれらの性質は生きた筋肉の内部で生じているものであり、力発生の調節機構の解明に貢献する成果である。

論文審査の結果の要旨

本論文は、収縮過程における筋肉の細いフィラメントの構造変化をX線繊維回折法を用いて示し、力発生とその調節に関わるアクチン、トロポニン、トロポミオシンの構造と動態を明らかにして、収縮制御に関する考察を行ったものである。

第1章では本研究の出発点となった筋肉の力発生に関する研究の背景、および本研究で用いられた研究方法の有効性を述べている。また繊維構造のX線回折に関する理論的背景を述べている。第2章では弛緩、活性化、収縮状態におけ

る細いフィラメントの構造変化について、生きた筋肉からのX線繊維回折像のデータを解析した結果が示されている。既知の構成タンパク質の結晶構造を用いて細いフィラメントのモデルを構築し、計算機シミュレーションによって構造変化を解析している。その結果、トロポミオシンの繊維軸に対する配置の変化、アクチンの内部構造の変化、トロポニンの構造変化などが状態変化に伴って生じていることを明らかにしている。ここから収縮調節に関係したトロポニン、トロポミオシンの動態と、アクチンによる調節機構への関与の可能性を示している。第3章では収縮中の張力の加重現象に着目し、適当な間隔で2回の電気パルスを与えたときの細いフィラメントの動態を高時間分解能（１ミリ秒）の時分割X線回折法により調べている。細いフィラメント上のトロポニン分子は1回の刺激でほぼ最大レベルの構造変化を示したことから、調節タンパク質による力発生の抑制は１回の刺激で解除され、少数のクロスブリッジ形成の情報が細いフィラメントに沿って広範囲に伝達され、細いフィラメントの最大構造変化が惹起されることを明らかにしている。第4章では蛍光色素負荷による筋細胞内カルシウム濃度変化とX線回折によるトロポニン分子の構造変化を同一試料から測定している。その結果、カルシウムイオン結合によるトロポニンの構造変化は協同的に生じていること、またクロスブリッジ形成によってカルシウムイオンとトロポニンの結合親和性が増大することを示している。第5章では2-4章で得られた知見を要約し、細いフィラメント上のトロポニン分子の協同的な振る舞いや、アクチン分子の調節メカニズムへの直接的な関与から、細いフィラメント全体を一つの調節構造体としてとらえた調節メカニズムについて議論している。

以上のように、本論文はX線繊維回折法により細いフィラメントの構造と動態を明らかにしてその機能を考察したものであり、筋収縮研究における調節メカニズムと力発生メカニズム解明に貢献する新しい研究成果と位置づけられ、博士（理学）の学位論文として価値のあるものとして認定した。