

氏 名	三 川 隆 み かわ たかし
学 位 の 種 類	理 学 博 士
学 位 記 番 号	理 博 第 611 号
学位授与の日付	昭 和 55 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
研 究 科・専 攻	理 学 研 究 科 生 物 物 理 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	‘Freezing’ of Ca regulated conformation of reconstituted thin filament of skeletal muscle by glutaraldehyde (骨格筋アクチン・トロポミオシン・トロポニン複合体の Ca イオン 制御機能および構造の化学架橋による固定)

論文調査委員 (主 査) 教 授 大 井 龍 夫 教 授 大 西 俊 一 教 授 柳 田 充 弘

論 文 内 容 の 要 旨

骨格筋の収縮弛緩はミオシンから成る太いフィラメントとアクチン・トロポミオシン・トロポニンから成る細いフィラメントとの相互作用によるものであるが、この作用は Ca^{++} が細いフィラメント上のトロポニンに結合するか否かによって制御されている。すなわちトロポミオシン、トロポニンは制御蛋白質であってアクチンフィラメント上に存在し、 Ca^{++} が不在状態で抑制されていたアクチン・ミオシン間相互作用が Ca^{++} の添加と共に活性化される。また細いフィラメントの構造研究から要素である蛋白質に抑制・活性状態に対応した異なる構造があるものと考えられている。主論文はこの細いフィラメントの構造変化に着目し、抑制活性の構造が固定されるか否かを調べたものである。

申請者は構造固定の方法としてジメチルスベリミドとグルタルアルデヒドの2種の化学架橋剤を用い、ウサギ骨格筋より調製したアクチン・トロポミオシン、トロポニンから再構成した細いフィラメントの架橋反応を Ca^{++} 有無の条件で行った。反応の進行は SDS ゲル電気泳動法により構成蛋白質のバンドの変化から推定している。

スベリミドを用いた実験ではまずトロポミオシン、トロポニンT、Iに相当するバンドが消えてゆき最終的には架橋による高分子の形成が認められた。しかしこの架橋した細いフィラメントは未処理のものと差がなくミオシンとの反応に同じ Ca^{++} 制御能を示した。ところがグルタルアルデヒドによる架橋は反応も速く程度も高く高分子が速やかに形成された。架橋反応は Ca^{++} の有無に左右されないが、生成物のもつ機能に大きな差があらわれる。すなわち Ca^{++} 存在下で架橋した細いフィラメントは常にミオシンと強く相互作用し架橋後 Ca^{++} を除いても抑制状態に移行しないし、 Ca^{++} のない条件で反応させたものはミオシンとの結合が弱く Ca^{++} の添加によって活性状態にならない。なおアクチンフィラメントやそれにトロポミオシンを加えたものを Ca^{++} 有無の両条件下架橋しても共に活性型の構造が固定されるのみでトロポニンによる抑制がきかなくなっている。以上の結果は細いフィラメントに活性、抑制状態に対応する構造が存在し、架橋剤を選べば固定化されることを示している。さらに申請者はトロポニンの架橋を試み、

この蛋白質の構造固定によってある程度活性抑制の2状態が実現されることを見出した。

なお11編の参考論文は平滑筋の収縮制御に関する新しい蛋白質の存在を追求、同定し、その分子機構を論じた一連の研究内容をもっている。

論文審査の結果の要旨

アクチンフィラメントと太いフィラメントを構成するミオシン頭部との相互作用による骨格筋の収縮機構、アクチン上に存在するトロポミオシン、トロポニンを通じて Ca^{++} によって制御される制御機構の分子論解明は、各要素蛋白質の分離同定による各要素の役割が明らかにされてきた段階にある。そして細いフィラメントの構造に活性、抑制を支配する鍵があるものと考えられている。申請者の意図する細いフィラメントの固定はこの段階を一步進める優れた着想である。

Ca^{++} がトロポニンと結合すれば、トロポニンの構造に何らかの変化を生じ、その変化がトロポミオンを通じてアクチンフィラメントに伝えられ、結果としてアクチン—ミオシン間の相互作用が強まり収縮が起きるという模式は説得力に富むものであるが、個々の蛋白質の構造変化を認めることは出来てもこれまで細いフィラメントの構造を凍結する実験はなされていなかった。架橋試薬を用いれば蛋白質間が架橋され分子集合体の高分子となるが、試薬の種類に依存しスベリミドの結果に見られるように必ずしも構造が凍結されるとは限らない。しかし申請者は試薬を検討し、グルタルアルデヒドを用いることによって抑制型、活性型それぞれをもつ細いフィラメント構造の凍結に成功した。これまで考えられていた2状態の存在を証明し、抑制構造、活性構造それぞれ単独に同定し収縮の制御機構を分子的尺度から解明する道を開くものとして、これは優れた成果である。この成果から活性型、抑制型の構造解析を通じアクチン—ミオシン間相互作用の修飾機作の研究が可能となる。

申請者はその第一歩として Ca^{++} 結合蛋白質であるトロポニンCの架橋を試みた。 Ca^{++} 結合型、非結合型の両構造の固定によっても細いフィラメントの活性、抑制構造が得られるという知見は、やはり Ca^{++} の結合によるトロポニンの構造変化がアクチンフィラメントへ伝えられる模式を実証している。

以上のように主論文は筋収縮の制御機構の解明に著しい貢献をする内容をもっている。

なお参考論文は平滑筋の収縮制御機構が骨格筋のそれと異なり、新しい調節蛋白質を介して行われていることを示す実験結果を述べたもので、興味ある内容をもち申請者の優れた研究能力を示している。

よって、本論文は理学博士の学位論文として価値あるものと認める。