1P069

骨格筋急速筋長変化時の X 線回折パターンの変化

○八木 直人、岩本 裕之、若山 純一、井上 勝晶（高輝度光科学センター）

SPRing-8 の高フラックスビームライン (BL40XU) を用いて、カエル骨格筋の X 線回折実験を行なった。X 線フラックスは毎秒 7×10^{14} フォトン、X 線エネルギーは 15keV で実験を行なった。X 線検出器には低残光 X 線イメージインテンシファイアと高速 CCD カメラをもちいた。時間分解能は 0.5 ミリ秒である。等尺的に収縮している骨格筋を、1 ミリ秒に 1 % 縮めると、張力は一過性に減少し、その後回復する。この過程で、X 線回折パターンには大きな変化が生じる。ミオシンフィラメントのミオシンの重合周期に由来する 14.4-nm 子午線反射の強度変化は以前からよく調べられているが、これ以外にもアクチン由来の 5.9-nm 層線や 21.5-nm 子午線反射、7.2-nm 子午線反射、14.4-nm 層線など、これまで計測されたことのない反射にも強度の減少や増加が見られた。これらの強度変化は、張力の低下とほぼ同時に生じた。短縮させた筋肉を直ちにもの長さ引き伸ばすと、これらの反射の強度は完全ではないが回復し、強度変化がミオシン頭部のアクチンからの解離だけによるものではないことを裏付けた。大きな変化が観察された反射のうち、23nm と 10.3 nm の位置に観察される層線は、ミオシンフィラメントからもアクチンフィラメントからも生じない層線で、ミオシンフィラメントの周期を保ったままアクチンと結合しているミオシン頭部から生じる反射であると考えられる。これらの層線の強度も筋肉の短縮によって大きく低下し、直後の伸展によって回復した。この結果は、アクチンと結合したミオシン頭部が、アクチンと結合したまま大きく構造を変えていることを示唆する。

N. Yagi, H. Iwamoto, J. Wakayama and K. Inoue : Changes in the x-ray diffraction pattern upon quick length changes of skeletal muscle

1P071

カエル骨格筋太いフィラメント由来の X 線子午反射の解析：ミオシン双頭構造と摂動配列の効果

○大島 勘二、武澤 康範、若林 克三（阪大院・基礎工）

骨格筋弛緩状態の X 線回折像の子午軸上には太いフィラメントを繊維軸に投影した 14.3nm 周期構造から期待される反射以外に $n/42.9\text{nm}$ -1 で指数付けされる反射が存在する。これは 42.9nm 周期内のクロスブリッジ間隔のずれ（摂動）によると考えられているが、クロスブリッジがどんな摂動を受け、どんな構造で配列しているかは分かっていない。弛緩状態カエル骨格筋の太いフィラメント由来の子午反射の強度を測定し、得られたデータをモデル計算によって解析した。子午軸上の反射は M 線を中心とする太いフィラメントの中心対称構造によってサンプリングされている。この間隔から M 線を挟んだクロスブリッジ領域の中心間距離を測定した結果、約 704nm となった。この値は太いフィラメント上のクロスブリッジ領域すべてが摂動を受けていないことを示唆する。従って、摂動を受けた領域とそうでない規則的な領域が存在し、クロスブリッジを双頭構造で近似したモデルでシミュレートした。2つの頭部の繊維軸上の投影構造の間隔と密度の幅、クロスブリッジのずれをパラメータとして、ミオシン由来の子午反射強度に対してモデル計算をした結果、摂動領域のクロスブリッジは 16.3、11.3、15.3nm 間隔で存在し、双頭構造は図のようになった。

K.Oshima, Y.Takezawa, K.Wakabayashi : Contributions of myosin two-head structure and perturbation period to X-ray meridional reflections of thick filaments in skeletal muscle

1P070

軟体動物平滑筋のキャッチ状態の構造

○田嶋 佳子¹、牧野 浩司²、若林 克三³（¹都立大院・理系・物理、²理研・播磨研、³阪大院・基礎工）

軟体動物平滑筋には、エネルギーを殆ど消費せずに（不活性化状態）張力を長時間維持するキャッチと呼ばれる収縮機構がある。本研究ではムラサキガイ前足糸牽引筋の X 線小角回折によってキャッチによる構造変化を調べた。試料の両端間距離を自然長に保ち、構造変化を検出し易くするために、高濃度 (10^{-3}M) のアセチルコリン溶液で刺激を行って高い張力を出させた。刺激を止めてから 8 分以上経つとキャッチ状態になることが急速短縮 (Quick Release) によって確かめられた。回折線強度を動径方向に積分し、子午軸に沿った強度分布の変化を調べた。子午軸上に現れる太いフィラメントからの反射は、活性化状態ではミオシン頭部の移動による強度変化を示すが、この強度変化はキャッチ状態では部分的に回復する。しかし、太いフィラメントからのすべての回折線の周期は活性化状態でも引き伸ばされ、キャッチ状態では更に引き伸ばされる。一方、細いフィラメントからの反射に活性化状態が生じた強度と位置の変化は、両者共に、キャッチ状態では部分的に回復する。弛緩状態で赤道線上に現れる細いフィラメントの六方晶的な配置に対応する回折ピークは、活性化状態では太いフィラメントを取り囲むロゼット型の配置によるピークに変化し、キャッチ状態でも殆ど変わらない。活性化状態からキャッチ状態に移行すると、ミオシン頭部は部分的にアクチンフィラメントのまわりから太いフィラメントの表面に戻り、細いフィラメントも部分的に弛緩状態の構造に戻るが、細いフィラメントは太いフィラメントを取り囲むロゼット型の配置を保ち、太いフィラメントは活性化状態よりも大きく引き伸ばされる。従って、キャッチ張力の維持には太いフィラメントが大きく関与しており、アクチンとミオシン頭部の強い結合がパラミオシンコア間を結合する役割をしていると推測される。

Y. Tajima, K. Makino and K. Wakabayashi : Structural studies of a molluscan smooth muscle in the catch state

1P072

中性子回折によるカエル骨格筋構造の解析

○藤原 悟¹、武澤 康範²、杉本 泰伸²、若林 克三²（¹原研・先端基礎研究センター、²阪大院・基礎工）

中性子散乱・回折法は、いわゆるコントラスト変調法による測定を行うことにより分子内部の構造情報や位相情報など X 線散乱・回折法からは得られない情報が得られる。我々は、このような測定の有用性を調べるために筋肉のコントラスト変調法を用いた中性子繊維回折実験を行ってきた [1]。我々は、カエル骨格筋生筋の弛緩状態及び NEM 処理による硬直状態における中性子繊維回折パターンの測定を行った。測定は、日本原子力研究所 JRR-3M に設置された中性子小角散乱装置 SANS-J を用いて行われた。種々の重水濃度下で測定された回折パターンから各反射の強度を調べた結果、弛緩状態および硬直状態とも同様の重水濃度依存性があることが明らかとなった。これは筋肉の基本構造単位内に弛緩状態、硬直状態とも同様の散乱長密度の分布が存在することを示している。このような実験によって得られる情報をさらに詳しく解析するために、フーリエ合成による散乱長密度マップを計算した。弛緩状態の赤道反射 ($[1,0],[1,1],[2,0],[2,1],[3,0]$) を用いてフーリエ合成を行い、繊維軸に垂直な平面への投影像の密度マップを計算した。種々の位相の組み合わせについて種々の重水濃度での密度マップを計算し、アーティファクトの有無を詳細に検討した結果から正しい位相の組み合わせを決定することができた。さらに、この正しい位相の組み合わせを用いて、より細かく種々の重水濃度での散乱長密度マップを計算した結果、太いフィラメントのコントラストマッチングポイントが重水濃度約 46% に対応し、細いフィラメントのマッチングポイントは約 39% に対応していることが示された。このように繊維軸に垂直な平面への投影像において太いフィラメントと細いフィラメントは平均散乱長密度が異なっていることが明らかとなった。[1] Fujiwara et al., J. Phys. Soc. Jpn., 70 (2001), Suppl. A, 408.

S.Fujiwara, Y.Takezawa, Y.Sugimoto and K.Wakabayashi : Analysis of frog muscle structure by neutron fiber diffraction