3L1030

筋短縮の分子モーターモデル II. 短縮熱発生と摩擦、活性ミオシン頭部数と短縮速度、基本滑り距離と速度

○上野 陽太郎（GL バイオサイエンス研究室）

筋の性質は興味ある結果が多数得られていて、理論を試すにも都合がよい。またその性質に力発生のメカニズムが何か反映していると思われる。興味ある筋の性質には、負荷と短縮速度の関係（Hillの式）、熱発生係数の負荷依存性、滑り距離の速度依存性、最大速度が活性的ミオシン頭部数に依存しないこと、ATPase サイクル当りの最大滑り距離等々がある。我々は前回既に1つのモデルを提案し、Hillの式を初めて導いた。今回そのモデルを使い、上記の他の性質を調べた結果、上記についての実験と少なくとも定性的に一致する結果及び、loose couplingをはっきり支持する滑り距離を得た。我々のモデルは特定の力発生メカニズムのモデルに依存しない半現象論的なものである。この研究によって、負荷一定の諸量の定性的振舞と諸量間の関係が得られ、このレベルの範囲内であるが、全体的理解に近づいた。新たに得られた結果は、1）力発生状態での摩擦抵抗を仮定することによってのみ、熱発生係数が負荷に比例することである（Hill,1964）。（2）短縮に参加するミオシン頭部数と速度が共に時間に依存する場合の両者の関係が、負荷一定の場合に得られた。これから無負荷での速度は頭部数に依存しないことが判明（Huxley ら,1965）。3）ATPase サイクル当りの滑り距離は速度に比例する（Higuchi, Goldman,1995）。4）ATPase サイクル当りの最大滑り距離は、いずれのメカニズムでも利用されるエネルギーの大きさがATP 加水分解エネルギー程度とし、Hill の frogの実験値を使うと、50-60nm 位となる（Yanagida ら,1985）。5）このモデルのパラメータやATP 加水分解速度の短縮速度依存性が得られた。なお、1）で得られた新しい摩擦は歩行のとき足を元に戻すために生じていると推測される。

Y. Ueno : Molecular-motor model of muscular contraction II. Heat production and friction, the number of active myosin heads and velocity, etc.

3L1100

骨格筋スキンドファイバーの機能と連関するフィラメント格子内水性状との連関

○竹森 重、山口 真紀、加藤 直樹、湯川 充人、佐藤 伸孝（慈恵医大・第1生理）

骨格筋の規則構造に閉じ込められた水は、生体組織内の水の振る舞いとその機能との連関を調べるのに好適であると考えて、骨格筋の機能状態と筋フィラメント格子内の水性状との連関を調べている。短時間の測定時間で微妙な違いを検出できることから、水プロトンからの核磁気共鳴信号の横緩和経過の違いを指標に、硬直、弛緩、収縮の状態変化に加えて、筋フィラメント格子の浸透圧や乾燥による圧縮、温度変化、pH 変化、ATP アナログによる弛緩、の効果を検索した。水プロトンからの横緩和経過を複数の指数過程に分解して解析すると、筋フィラメント格子内の水は、筋線維内の機能状態の如何にかかわらずほぼ同じ緩和速度を持った三成分に大別できた（T2 < 0.025, ~ 0.05, > 0.2 sec）。緩和の遅い成分（遅い成分；T2 > 0.2 sec）が多く存在することがスキンドファイバーのフィラメント格子を生筋線維の格子に対して特徴付けた。弛緩筋ではこの遅い成分が浸透圧圧縮や乾燥によって大きく減少して遂には失われ、この時ファイバーの長さ方向のストレッチが増大した。これに対して硬直スキンドファイバー内の遅い成分は浸透圧圧縮に抗して、顕著には変化しなかった。この弛緩と硬直での顕著な相違から、スキンドファイバー内の水は収縮タンパク系の状態を鋭敏に反映するものと期待された。そこで、温度やpH、ATP アナログによる弛緩は活性化した時の収縮能を大きく左右することが知られていることから、これらの条件によるフィラメント格子内の水性状を比較検討したところ、それぞれにフィラメント格子間隔変化では説明されない変動が見られ、筋フィラメント格子内の水が収縮タンパクの機能状態変化に参画していることが示唆された。

S.Takemori, M.Yamaguchi, N.Kato, M.Yukawa and N.Sato : Water state in the myofilament lattice of skinned skeletal muscle fibers correlated with their functional state.

3L1045

収縮に伴う骨格筋内水プロトンのNMR 横緩和経過の変化

○木村 雅子、竹森 重（慈恵医大・生理学第1）

骨格筋組織の水は核磁気共鳴法NMR の横緩和経過によって、少なくとも4つの指数成分に分解される（T2:> 0.7, 0.09~0.2, 0.026~0.06, < 0.025 sec）。生きた骨格筋の浸透圧応答を利用して各成分の局在を調べると、T2 : 0.026~0.06 sec を持つ成分とT2 < 0.025 sec の成分が筋フィラメント格子内の水と考えられることを昨年報告した。今回はこれらの筋フィラメント格子内の水の可逆的な強縮に伴う変化を調べた。日本アカガエル縫工筋の神経筋標本を傷つけないように切り出し、その一端はガラス棒に、他端は糸を介して張力計に結び付けた。その後丁寧に周りの水をきり、試料管に挿入した。そして、経神経電気刺激による3秒間の強縮中に水プロトンからのNMR 信号の横緩和経過を測定した。測定には改造したVarian Gemini 2000, 300BB, τ =0.23 msec のCPMG パルスを用いた。弛緩、強縮時の測定をそれぞれ解析すると、上記の指数成分に分解された。強縮中のNMR 信号の緩和経過から弛緩時のものを差し引くと、T2 : 0.026~0.06 sec の成分が有意に増加しており、観測される水の総量も0.5~3 %増加していた。生きた筋肉では収縮による体積変化がないとすれば、観測された水総量の増加は弛緩時にはNMR で観測不可能だった著しく速い緩和成分が、収縮反応によって運動の自由度を増して観測されるようになったと考えられる。変化は筋フィラメント格子内に存在すると考えられる成分であり、筋フィラメント格子内の水が収縮反応に動員されていることを反映している可能性がある。

M.Kimura and S.Takemori : Contraction-induced changes of water states in skeletal muscle detected by the transverse relaxation of proton-NMR signals.

3L1115

酵素処理による心筋筋原線維と骨格筋筋原線維の横方向弾性変化：原子間力顕微鏡による測定

○秋山 直生¹、大貫 芳樹²、三枝木 泰史²、国岡 由紀¹、山田 武範¹（¹東京理科大・理・物理、²鶴見大・歯・生理）

我々は、原子間力顕微鏡（AFM）を使って心筋筋原線維及び骨格筋筋原線維の横方向弾性を調べ、心筋筋原線維は骨格筋筋原線維に比べて2~3倍硬いということを昨年の第39回年会に於いて報告した（演題番号1P082）。そこで、今回は心筋筋原線維と骨格筋筋原線維ではなぜ弾性が異なるのかを明らかにするために、筋原線維に酵素処理（CANP 及びトリプシン）をすることによってその横方向弾性がどの様に変化するかを調べて検討した。

ラット心筋及びウサギ腸腰筋を試料として用い、筋原線維の調製はポリトロン法で行った。シグマコートしたカバーガラスに筋原線維を吸着させ、これを酵素で処理した後、AFMを用いて前回と同様にして硬直溶液中での筋原線維の弾性分布を計測した。CANP 処理はCANP (0.15mg/ml) を含んだ溶液に浸した後、阻害剤であるEGTA を加え反応を止めた。また、トリプシン処理はトリプシン (0.25 μ g/ml) を含んだ溶液に浸した後、トリプシンインヒビターを加え反応を止めた。

筋原線維の横方向弾性はCANP による処理時間が長くなるにつれて全体的に次第に減少した。なかでも横方向弾性の最も硬い部位の弾性が著しく減少した。しかし、アクチン・ミオシン両フィラメントのオーバーラップ領域の弾性の減少はそれほど顕著ではなかった。CANP はZ帯を特異的に壊す酵素として知られているので、最も硬い周期構造はZ帯であると結論出来る。一方、トリプシン処理を施した筋原線維についても、その処理時間が長くなるにつれて、横方向弾性が次第に減少した。しかし、CANP 処理の場合とは異なり、Z帯及びオーバーラップ領域で共に著しい弾性の減少が見られた。これは、トリプシン処理により主として筋原線維中のコネクチン（タイチン）が壊れたことにより弾性が減少したものと考えられる。

N.Akiyama, Y.Ohnuki, Y.Sacki, Y.Kunioka, T.Yamada : Effects of proteolytic digestion on the transverse stiffness of cardiac and skeletal myofibrils:AFM studies