X線回折による筋収縮分子機構の研究

大阪大学基礎工学部 若林克三

Katsuzo WAKABAYASHI: X-Ray Diffraction and Scattering Studies on Molecular Mechanism of Muscle Contraction

The molecular mechanism of muscle contraction has been investigated by X-ray diffraction and scattering. Intense synchrotron X-rays and a novel area detector enabled us to detect a tiny but significant intensity and spacing changes of the weaker actin-based reflections during muscle contraction with high accuracy. Our analyses have shown that the structural changes and extensibility of the actin filament play an important role in force-generation of muscle, necessitating quite significant reevaluation of the current models of crossbridge mechanism. Although the structural changes within crossbridges which produce force in muscle remain to be clarified, our recent X-ray solution scattering has showed distinct alterations of the structure of myosin heads during hydrolysis of ATP. For a real understanding of the force transduction in muscle, we need explicit structural models that explain the coupling between the structural changes in actin and myosin. This special report makes a survey of our recent progress in the X-ray structural research of muscle, on occasion for a Japan Crystallographic Society award.

1. はじめに

生体物質の構造変化と機能の関係を解明することは構造生物学の主要命題である。この命題に対して筋収縮のシステムは最も適したものの一つと考えられている。それは構造と機能が直接的に関係しているからである。筋収縮におけるエネルギー変換の分子機構の解明は生物一般のエネルギー変換の基本的理解につながる重要な問題である。

筋肉の収縮を担う主要な蛋白質はアクチンとミオシンで、筋収縮の基本過程はミオシンによるアデノシン三リン酸 (ATP) の加水分解をエネルギー源とする両蛋白質の相互作用である。筋肉中では、アクチンとミオシンはそれぞれフィラメント状に分子集合し、液晶ともいえる規則配列をしているためX線回折に適し、その構造が古くから調べられてきた。しかし、規則配列を持つと云えども、筋肉からの散乱X線は極めて弱く、またその周期構造が1000 Åから数Åに及ぶため、筋収縮のX線回折による研究には強いX線源、散乱X線を収束させる高性能の光学系、それを高感度に記録する検出器を求める精力的な努力があった。¹⁾ そして、それら新技術の発展と相まって新しい研究の展開が生まれてきた。1975年から1980年にかけて欧米や我国でもシンクロトロン放射光の

本格的利用が開始され、いち早くその利用に取り組んだのも筋肉研究者であった。²⁾ 強力X線源としての放射光の利用とそれに付随した測定器系の開発はこの分野の研究に多大な貢献をしてきた。

筋肉のX線研究の基本は「筋肉がATPを分解してどのようにして収縮力を発生するか」を分子レベルの構造変化として知るところを目的としている。これを最終的に解明するには、化学-力学反応に関わっているミオシンとアクチン分子の化学結合の形成・消滅、それに伴う化学エネルギーの分子内および分子間移動といった原子レベルでのダイナミックな過程を調べなくてはならない。さらには張力発生を制御しているカルシウムイオンの結合・解離による制御蛋白質の構造変化と制御蛋白から収縮蛋白への情報伝達の分子的仕組みの解明も同様に重要である。1990年代に入り、張力発生を担う主要蛋白であるミオシン頭部とアクチンモノマーの結晶構造が解明された。これらの原子構造は、筋フィラメントの構造解析に新しい道を開くとともに、筋収縮研究に対する遺伝子工学・蛋白質工学的手法の導入に明確な指針を与え、*in vitro*での収縮蛋白の運動・力学計測の進歩とともに筋収縮機構研究に新しい展開を生み出している。筋収縮研究はまさに新しいフェーズに入り、収縮機構の構造的基礎を与える手段としてのX線回折法の重要性はますます大

きくなっている。

以下には、我々が行ってきた「X線回折による筋収縮の分子機構の研究」を概説する。

2. 骨格筋の構造と収縮

ここでは脊椎動物の骨格筋（横紋筋）に話を限定する。骨格筋は筋線維と呼ばれる太さ約100 μm の細長い円柱状の細胞の集まりである。この細胞の中には直径約2 μm の筋原線維とよばれる組織があって、長軸方向に2～3 μm の周期構造を持つ。この周期構造の単位はサルコメアと呼ばれ、横紋筋の機能的、構造的最小単位となっている（図1(a)）。サルコメアの中に張力発生を担うミオシンとアクチンが、それぞれ太いフィラメントと細いフィラメントを形成している。これらのフィラメントは互いに平行に規則配列し、横断面でみると六方格子状に配列している。図1(b)に示すように、太いフィラメントは主に2つの頭部と尾部からなるミオシン分子がらせん重合し、2つの頭部がフィラメントの表面から突き出ている。細いフィラメント（図1(c)）はアクチン分子がらせん重合したもので、その上にトロポニンとトロポミオシンと呼ばれる収縮の制御を担っている蛋白質が規則的に結合している。ミオシン頭部はATPを分解する酵素作用を持つとともにアクチン分子と反応して張力を発生させると考えられてきた。筋肉に電気的刺激が加えられると、細胞内膜系からCa²⁺イオンがサルコメア内に放出されトロポニンに結合することにより、細いフィラメントが活性化される。このとき、ミオシン頭部は太いフィラメントの骨格から離れ、アクチンと結合、解離の反応を起こす（図1(d)）。その間にATPが分解され、その自由エネルギーが両フィラメントの相対的滑り運動を起こさせる力学エネルギーに変換される結果、すべてのサルコメアがいつせいに短縮する。これが筋収縮のあらすじで、筋収縮で唯一明らかとなっていること（滑り説）であるが、問題はその分子的メカニズムである。これに対する分子モデルとして、ミオシン頭部がアクチンと結合して形成する“クロスブリッジ”がその結合角を変化させてあたかも首を振るかのようにしてフィラメント間の滑りを起こさせるという「クロスブリッジ機構」が提案された^{3)・4)}。このモデルは実験的根拠に乏しかったものの、その背景にある考え方と定式化^{4)・5)}は見事なもので、現象論的に多くの実験事実を説明できたため、筋収縮の分子機構の有力なモデルとして長い間認められてきたのである。このモデルは筋肉の収縮現象の本質的性質をミオシン頭部の構造的性質に集約した考え方であった。現象論的な素晴らしさは別にして、このモデルにおいて問題になっていたことは、細いフィラメントの骨格をなすアクチンフィラメントがミオシンクロスブリッジの運動を支える剛い棒（レール）としての役割しか考えられていなかった点

であった。筋肉の力発生はミオシンとアクチンとの相互作用なしでは起こらないので、どちらも等しく収縮活性に重要なはずである。特に、細いフィラメントは活性条件下で極めてフレキシブルな弾性的性質を示し、協同的な構造変化を起こすことが多くの研究で明らかにされている⁶⁾。これらのことは、筋収縮においてアクチンフィラメントが単なるレールではなく、もっと積極的な役割を果たしていることを示唆している。我々はシンクロトン放射光を使った研究を「筋収縮の過程で細い（アクチン）フィラメントがどのような役割を果たしているか」に主眼をおいて進めてきた。同時にアクチンとミオシンの構造変化がどのような形で共役しているかを明らかにして行くことを目標とした。

図1 筋肉（骨格筋）の構造模式図。

(a) サルコメア (ZからZの区間) の構造。M；太いフィラメント，A；細いフィラメント。(b) 太い（ミオシン）フィラメントの微細構造。(c) 細い（アクチン）フィラメントの微細構造。(d) アクチンとミオシンの相互作用の模式図。

3. 収縮中の骨格筋のX線回折像の変化

筋収縮のX線回折には主にカエルの骨格筋（生筋）を用いてきた。筋肉の太いフィラメントも細いフィラメントも、構成分子の配列はらせん構造を持つので（図1 (b), (c)），骨格筋のX線回折像はこれらフィラメントのらせん構造のフーリエ変換に由来する多くの層線反射からなる。両フィラメントの周期構造は異なっているのので両反射は比較的良く分離して観測されている。筋肉の両端を固定して連続的に電気パルスを与えると、筋肉は持続した一定の張力を発生する。これを等尺収縮という。発生する張力の大きさはサルコメア内での両フィラメントのオーバーラップの割合に比例する。両フィラメントが完全にオーバーラップしたサルコメア長では最大の張力を発生する。筋細胞の中でATPが消費されると、ミオシン頭部はアクチンフィラメントの周期にしたがって強固に結合する。これは硬直状態と呼ばれ筋収縮のアクトミオシン相互作用の一過程と考えられ、収縮中の構造を考える上で基本とされていた。

我々は等尺収縮中のカエル骨格筋からシンクロトン放射光とイメージングプレートを使って世界で初めて短時間（1秒間の収縮を10回程度繰り返して）で鮮明な二次元X線回折像を記録することに成功した。⁷⁾ これは大変画期的なことであった。刺激の回数を増して長時間かけて測定することも可能であったが、¹⁾ 筋肉は疲労という生理現象を起こし（張力の低下が起こる），それによる変化と収縮力発生の分子変化を区別することが困難であったからである。我々はこの測定によって、今までまったく明らかでなかった細いフィラメント由来の反射に特徴的な強度変化を見出した。それを説明する前に収縮中の一般的な回折像の変化を説明しておく。図2には、弛緩(a)，収縮(b)，硬直(c)状態のX線回折像を示す。赤道反射（図2でEと記した軸上反射（筋フィラメントの六方配列による結晶反射））に大きな変化が生じる。特に、弛緩状態で強かった(100)反射が弱くなり、(110)反射が強くなる。つまり、収縮中両反射の強度が逆転する。この変化は筋フィラメントの作る六方格子の(100)面から(110)面に分子の質量が移動したことを示す。このことに対応して、ミオシン由来の層線反射（子午軸（図2でMと記した軸）上を除いて）が同時に著しく弱くなる。赤道反射の大きな変化とミオシン層線の強度低下は、太いフィラメントの骨格の周りにらせん配列していたミオシン突起（二つの頭部からなる）（図1 (b) 参照）が、そのらせん配列をくずして細いフィラメントの周囲に移動したことによると考えられてきた。ここまでは以前から明らかにされていた事実¹⁾を再確認するものであった。

さて、新しい事実としては、アクチン層線反射の強度が全体的に増大することであった。これは、ミオシン頭

部が収縮中細いフィラメント上のアクチンと結合し、アクチンフィラメントの見かけの質量が増大したことによ

図2 シンクロトン放射光とイメージングプレートで撮られたカエル骨格筋のX線回折像。

(a) 生筋の弛緩状態、(b) 生筋の等尺収縮状態、(c) 硬直状態。繊維軸（筋肉の長軸）は縦方向である。M；子午軸，E；赤道軸。(b) 中の矢印は上から、27 Åアクチン子午反射，51 Å，59 Åアクチン層線反射，145 Åミオシン子午反射を示す。回折線が見やすいようにバックグラウンド散乱を適当に除いてある。

るとして、ミオシン頭部が収縮中アクチンと物理的に結合している初めての証拠と考えられた。⁸⁾ そして収縮中のX線パターンは、全体としてミオシン頭部が細いフィラメントのアクチンと結合して張力を発生するという考え方と合致していると解釈された。しかし、それ程単純ではないことが我々の測定でわかってきた。^{9), 10)} それは次のようなものであった。収縮中、① ミオシン層線反射は著しく弱くなるが、完全に消えることはない。特に、ミオシン反射の内、143 Å周期の子午軸上の反射が収縮中にも依然として強い（ただし、その周期は145 Åに変化する）。② ほとんどの細いフィラメント由来の層線反射が強くなっているが、層線ごとに変化量が異なり、どの層線の強度増大も層線に沿った強度分布やその半値巾を変えない形で起こっている。③ アクチン第1層線の強度は全範囲で減少する。この強度減少がアクチン第2層線の強度増大と相補的に起こっている。¹¹⁾ ④ 小角領域でバックグランド散乱が顕著に増加している。⑤ 両フィラメントのオーバーラップをなくなるまで引き伸ばした筋肉では、両反射の強度変化はアクチン第2層線以外顕著に起こらないが、約半分のオーバーラップのある筋肉ではフルオーバーラップのものとそれ程違わない。

まず、①は、ミオシン突起が収縮中にもフィラメントの軸方向に145 Åの周期性を持つ。つまりミオシン突起は太いフィラメントの周期性を保ってアクチンと相互作用していることを示す（硬直状態ではミオシン頭部はアクチン周期で結合している）。このことは、細いフィラメントには145 Åに相当する周期はないので、ミオシン頭部がこの周期で細いフィラメントと結合しているとは考えにくい。②は、収縮中細いフィラメントの質量分布が変化していないことを示している。（硬直状態では、多くのアクチン層線の分布は半値巾を狭めて子午軸方向に移動している。）③は、ミオシン頭部の結合によって最も敏感に強度増大が期待される第1層線（硬直状態で大きな強度増加がある）にまったくその兆候がなく、逆の変化が起こっている。第1、第2層線の相補的な強度変化は、細いフィラメントが全体として4回回転対称性を増すような構造に変化している（後述）。④のバックグランドの増加はミオシン頭部の分布や動きの不規則性による以外考えられない。⑤は、細いフィラメントの反射強度の主な変化はミオシン頭部との相互作用によって起こされるが、細いフィラメントに起こる変化が両フィラメントのオーバーラップに比例的でなく協同的に起こされていることを示している。その他、収縮過程の時分割X線回折は、細いフィラメント由来の反射の強度変化が赤道反射の変化や太いフィラメント由来の反射の変化に先行して起こることが示されている。^{12), 13)} 等尺収縮中、筋肉は大きな力を発生しているところから、当初は硬直状態に似たアクトミオシンの相互作用が期待されていた。しか

し、これらの変化は、アクチンにミオシンが強固に結合した硬直状態のものとはまったく異なり、アクチン層線の強度分布そのものはむしろアクチンとミオシンの相互作用のない弛緩状態の分布と変わらないものであった（図2、図6参照）。

我々はこのような特徴的な細いフィラメントの強度変化に筋収縮におけるアクチンとミオシンの相互作用の本質的なメカニズムが反映されていると考え、その解析に執拗に取り組んできた。

4. 収縮中の細いフィラメントの構造変化

等尺収縮中ミオシンクロスブリッジはそれぞれ非同期的に結合—解離の反応をアクチンとの間で繰り返していることがノイズ測定で示されている。¹⁴⁾ この反応が両者の不整合な周期構造の中で起こっている。このような状況では、クロスブリッジの構造はアクチンフィラメントの軸に沿って本質的に不規則となり、アクチン反射には強く可干渉的に寄与していないと考えられる。したがって我々は、アクチン反射の強度変化はミオシンとの相互作用によって起こされたアクチンフィラメント自身の構造変化を反映しているとの解釈を提案した。^{9), 10)} 27 Å反射までの層線強度データ（図2で示された回折範囲）を使って赤道反射を除いて計算される円筒対称パターン関数¹⁵⁾ は、アクチン周期で結合したミオシン頭部の存在を示すベクトルピークはなく（図3）、この解釈と矛盾するものではなかった。⁹⁾ この解釈をさらに検討するため、我々は13 Å層線まで（図2の倍の範囲）の細いフィラメント由来の回折データを測定した（図6参照）。この中角領域の強度変化も小角での変化と同様な性格を持っていた。そこで小角から中角のデータを使って具体的なモデル計算を行った。^{16), 17)} Holmesらがアクチンフィラメントの配向ゲルのX線回折像の解析で行った手法¹⁸⁾ にしたがって、アクチンモノマーの結晶データ¹⁹⁾ を利用して弛緩状態のアクチン由来の反射強度を最も良く説明するアクチンフィラメントの構造モデルを構築した（図5参照）。このモデルは基本的な点でHolmesらのモデル¹⁸⁾ と一致していた。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計算した¹⁷⁾（図4）。その結果、収縮中の電子密度の変化はフィラメント内部にあり、ミオシン頭部の結合を直接示唆するような変化はまったくなかった。一方、硬直状態との差フーリエでは、ミオシン頭部の結合による顕著な電子密度の変化がフィラメントの外側部分にあった。以上のことから、収縮中の細いフィラメントの強度変化はミオシン頭部の結合そのものによるものではなく、ミオシンとの相互作用によって起きたアクチンフィラメントの内部構造の変化であることが明らかとなった。これらの計算は、収縮中ミオシン突起全体としては145 Å周期を

図3 円筒対称パターン図.⁹⁾

(a) 弛緩状態, (b) 収縮状態, (c) 硬直状態. 図2の範囲に記録されている細いフィラメント由来の反射 (赤道を除く) の強度データから計算された. (b) 中の黒丸はアクチンフィラメント中のアクチンモノマーの重心のベクトルを, (c) 中の*はアクチンフィラメントに結合したミオシン頭部のベクトルを示す. このパターンは, フィラメントの電子密度を $\rho(r)$ とし, $\Delta\rho(r) = \rho(r) - \bar{\rho}(x, y)$ ($\bar{\rho}(x, y) = \int_0^c \rho(r) dr/c$, c は周期) で定義される $\Delta\rho(r)$ の自己相関関数の円筒平均で与えられ, 赤道を除く層線強度のフーリエベッセル変換によって求められる.¹⁵⁾

図4 図5の弛緩状態のアクチンフィラメントの構造モデルの位相を使って計算された弛緩-収縮状態の差フーリエ図.¹⁷⁾ 弛緩状態のアクチンフィラメント (モノマーをバックボントレースで表示) を重ねてある. 中央モノマー中の少し濃く見えている部分は収縮中電子密度が正や負に変化している部分を示す.

保つものの個々のミオシン頭部の分布はかなり無秩序であることを示唆し (バックグラウンドの上昇とも対応), アクチン反射には可干渉的に寄与していない強い証拠を与えた. これがここ数年続いた収縮中のアクチン反射の強

度変化の議論²⁰⁾ に決着を与えるものであった.

次に, この構造変化を具体的に示すためフィラメント中のアクチンモノマーのドメイン構造を変えることで解析した.¹⁷⁾ 低角反射の振る舞いを考慮しながら, 主に70Å以上の広角反射 (この領域は主にアクチンフィラメントの構造因子が支配的である) を説明するようなモデルを探索した. さらに制御蛋白であるトロポミオシン (モノマーの結晶構造が出されている²¹⁾) を導入した. 一方, トロポニンには結晶構造が未知であること, 脊椎動物の骨格筋の場合その結合周期がアクチンフィラメントと異なりその反射 (分離して観測されている) を含めていないためモデルには導入しなかった. トロポミオシンは細長い分子であるため, その構造因子は主に低角の反射に寄与する. その配置は弛緩状態で第2層線が弱く且第3層線より弱くなるように決定し, 収縮中には第2層線が強くなり, 第1層線が減少するようにモデルを探索した. 計算はすべて非線形最小自乗法によって行った. 計算の詳細は省略するが, 質量の変化もパラメータに導入したが, 層線反射のフィティングには特に効果はなかった. このようにして最終的に決めた細いフィラメントの構造モデルを弛緩状態のものと比較して図5 (a) に示した. 図6にはこのモデルから計算した層線反射の強度と観測強度との比較を示した. R 因子は両状態とも35%位であった. 収縮中の細いフィラメントの構造変化としては, まず4つのサブドメインからなるアクチンモノマー (図5 (b)) のサブドメイン2がフィラメントの内側

図5 トロポニンを除く弛緩、収縮状態の細いフィラメントの構造モデル¹⁷⁾ (a) でアミノ酸を適当な大きさの球で示してある。左が弛緩状態、右が収縮状態のモデル。TMはトロポミオシンフィラメントを示す。(b) はアクチンモノマーの結晶構造のリボンモデルで、4つのサブドメインが示されている(文献19による)。サブドメインの番号は(a)のフィラメント中のモノマーに付けた番号と対応する。(c) (a)の横断面で、収縮中のアクチンモノマーのドメインの動きとトロポミオシンの動きを示す。

に、サブドメイン1と4が分子の中心から数Å離れる方向に移動している(図5(c))。このようなドメイン構造の変化は活性化に相当するフィラメントの電頭の三次元再構成で示された変化²²⁾と対応し、特にアクチンの59 Å反射の強度増大と第1層線の減少の傾向を良く説明するものであった。また、トロポミオシンは弛緩状態で2本のアクチン長らせんの溝近くにあって、アクチンモノマーのドメイン1, 2の方向に少しずれた位置にあった。結合半径(動径位置)は約35 Åで、アクチン-トロポミオシン複合体の配向ゲルのX線繊維解析の結果^{23), 24)}とほぼ対応している。収縮中は繊維軸からの動径距離を変えずに方位角方向に約8°, 距離にして約5 Å程度アクチンモノマーのサブドメイン3と4の方向に移動していた(図5(c))。このトロポミオシンの位置的变化は筋収縮の制御機構(ミオシン頭部に対するトロポミオシンの立体障害説)と関連して興味を持たれてきたが、アクチンのドメイン構造の変化を考えないときに提案された活性時のトロポミオシンの動き^{25), 26)}より小さかった。この比較的小さな変化はアクチンのドメイン構造の変化と関係している可能性もある。アクチンのドメイン構造の変化

とトロポミオシンの方位角変化でフィラメント全体は収縮中4回回転対称性を強めた構造に変化している。(これは、らせんのフーリエ変換²⁷⁾で回転対称性を示すベッセル関数の次数 $n=2$ が第1層線に、 $n=4$ が第2層線に寄与していることによる。) このモデルはまだ完全ではないが、収縮中の細いフィラメントの強度変化の特徴を無理なく説明するものであった(図6参照)。

5. アクチンフィラメントの弾性的伸展

収縮中ミオシン頭部の相互作用によってアクチンフィラメントの構造が変化することが明らかとなった。次に、フィラメントの周期構造に変化があるかどうか調べられた。それは、筋肉中の弾性要素の所在と性格を知ることが筋肉の力学的性質を考える上で極めて重要であるからである^{5), 28)}。そのため、我々はフィラメント中の隣り合うアクチン分子間の軸方向に対応する27 Å子午反射(図1(c), 図2参照)とその2次の13.5 Å子午反射のスペーシングの変化を測定した。これらの反射強度は他の反射に比べて二桁以上弱く、予想される変化も極めて小さいことから、大変精密測定が要求される問題であった。

図6 13Åまでの細いフィラメント由来の層線反射の強度分布と図5(a)のモデルから計算された強度との比較。¹⁷⁾ (a) 弛緩状態, (b) 収縮状態. このデータを使って図5のモデル計算がなされた. (a), (b) で, 鎖線は観測データ, 実線はそれぞれのモデルから計算された強度データを示す. 低角の3つの層線中で太い実線で示したものはアクチンフィラメントの構造因子だけから計算したものの.

我々は, 放射光の強力X線と高感度イメージングプレートで, これらの反射の変化を初めて捉えることに成功した.²⁹⁾ その結果, 最大張力発生時に約0.3%近く細いフィラメントが伸びる方向に変化していることが明らかとなった(図7(a)). さらに, この変化が弾性的なものであるかどうかを調べるため, サルコメア長を半分にしたとき, 最大張力を約1.5倍になるように収縮筋を引っ張った時の変化を測定した(図7(b)). 後者の測定にはイ

メージングプレートの高速送り装置³⁰⁾が使われた. 同様な測定は, H. Huxleyらによっても行われた.³¹⁾ 図7(c)に両者の結果(張力の関数としてのスペーシング変化)を示した. 一方, 太いフィラメントに由来する143Å周期の子午反射についても測定した. 図7(c)において, 力0に外挿した時のミオシン反射のスペーシングの変化は約0.9%で, この相対的に大きな変化は以前から云われていたように収縮活性に伴う太いフィラメントのら

図7 アクチン、ミオシン反射のスペーシングの変化。²⁹⁾

(a) 27 Å アクチン子午反射のスペーシング変化。(b) 等尺収縮中の筋肉を引っ張って1.5倍の張力を発生させた時のアクチン、ミオシン反射の軸方向のスペーシング変化。2.7, 5.1, 5.9は27 Å, 51 Å, 59 Å アクチン反射を、M3, M6, M9は145 Å ミオシン反射の1次、2次、3次反射を表す。特に、3つのアクチン反射のスペーシング変化の違いはフィラメントの伸びがらせん構造の捻れを伴っていることを示す。(c) アクチン、ミオシン子午反射のスペーシングの発生張力依存性。白丸は我々のデータ、黒丸はH. Huxleyらのデータ。³¹⁾

せんの再配列による変化で、フィラメントの弾力的変化と直接関係がない。¹⁾ ① それに加算された形で約0.3 %

のスペーシング変化が起こっていることも初めて明らかとなった。両フィラメントのスペーシングは発生張力に対して直線的な変化を示し、フィラメントの伸展は弾力的であることを強く示唆している。さらにはH. Huxleyらによって収縮筋に急速筋長緩和を与える実験が行われ、³¹⁾ フィラメントの伸展が2ms以内で解消されることが示された。測定された伸びからサルコメア内でのフィラメントのコンプライアンス(弾性定数の逆数で、柔らかさの尺度)が計算される。²⁸⁾

これらの結果は収縮筋のサルコメアのコンプライアンスの73%はアクチンとミオシンフィラメントのコンプライアンスによっていて、このうち42%はアクチンフィラメントのコンプライアンスによることがわかった。^{29), 31)} クロスブリッジ説において剛体的とみなされていたアクチンフィラメントが一番柔らかく弾性的で、ミオシンクロスブリッジ(全サルコメアコンプライアンスの27%弱)が相対的に一番硬いことになる。この結果はその後の筋肉の精密力学測定からも支持された。³²⁾ さらに、アクチンフィラメントの弾性的伸展はアクチンフィラメントのらせんのねじれの変化を伴っていることがアクチンモノマーを左巻きと右巻きにたどるらせんピッチによる層線反射のスペーシング変化の挙動から示された²⁹⁾ (図7(b)参照)。ねじれの変化としては右巻きらせんが少し巻き戻るような変化で、アクチン分子が59 Åピッチの左巻きらせんに沿って変化することと関係し、前節で述べたアクチンの構造変化と密接に関係している。

収縮力を担う弾性要素の主体がどこにあるかは筋肉の力発生メカニズムを考える上で最も重要な問題であった。クロスブリッジ説ではサルコメアのコンプライアンスのほとんどがミオシン頭部内にあるとされていた。²⁸⁾ そしてミオシン頭部の構造変化(首振り)がそれ自身のコンプライアントな構造を引っ張ることによって力を発生すると考えられていた。しかし、我々が示した結果は、コンプライアンスの大部分が両フィラメントにあり、特にアクチンフィラメントが最も柔らかく、ミオシン頭部の力発生の足場とは考えにくい。むしろ、アクチンフィラメント内のコンプライアンスがクロスブリッジ説で考えられていたものと似た役割を力発生に果たしていることを強く示唆している。したがって、前述したアクチンフィラメント内部構造の変化が力発生に積極的に関与している可能性が強い。これは最近の筋収縮研究の中で最も大きな発見と云われ、多くの生理学実験の解釈に影響を与えることになった。^{33), 34)} まさに筋収縮機構のパラダイムシフトを示唆している。^{35), 36)}

6. ATP加水分解中のミオシン頭部の構造変化

アクチンの弾性的構造変化が筋肉の収縮力発生に重要な役割を果たしていることを指摘した。しかし、このこ

図8 X線溶液散乱によるATP加水分解中のミオシン頭部の構造変化.⁴¹⁾ (a) ATPがないときと (b) ATP加水分解中のミオシン頭部の構造 (上) と観測データおよびモデルから計算された $p(r)$ 関数の比較 (下). モデル計算はミオシン頭部の結晶構造³⁹⁾ を使ってなされた. (c) 両モデルの構造をミオシン頭部先端領域を一致させて比較したもの.

図9 ATP加水分解中とさまざまなヌクレオチドアナログをミオシン頭部に作用させた時の小角X線溶液散乱のギニエプロットから求めた慣性半径 (R_g) (0濃度外挿値) の変化.^{37), 40)}

とは筋収縮のエネルギートランスデューサーであるミオシン頭部の分子変化が関与していないと云うことを意味す

るものではない。残念ながら、収縮中のX線回折像からアクチンフィラメントと相互作用しているミオシン頭部の構造変化を明確な形で示すことが今のところできていない。さまざまなプローブによる筋肉中のミオシン頭部の動きに関する研究では力発生と関係した変化が示されなかったこともあって、ミオシン頭部においてエネルギー変換と直接関係した構造変化があるのかないのかと云った基本的な問題がつい最近まで未解決のままであった。我々はX線溶液散乱法で、まずミオシン頭部単独でATPを加水分解しているときの構造を詳細に調べた。³⁷⁾ 小角散乱のギニエプロットから求めた慣性半径は、ATP加水分解中に約3 Å減少し (図9参照)、広い範囲の散乱データから計算した対距離分布関数 ($p(r)$) は分子最大長が約10 Å短くなり、分子全体としてコンパクトになるような構造変化を起こしていた (図8)。さらに、この変化は

分子の中央付近を境にして起きていることが明らかとなった。この結果はエネルギー変換中にミオシン頭部がかなり大きな構造変化を起こしていることの初めての実験的証拠となり、³⁸⁾ 筋肉中でも起こっている可能性が期待された。この研究の発表後、米国のグループによってATPのない状態でミオシン頭部の結晶構造が報告された。³⁹⁾ 我々はこの結晶データを使いモデル計算によって活性時の構造変化を解析した。⁴⁰⁾ 溶液中のX線散乱データに合わせるためには結晶構造を少し変える必要があったが、構造変化は分子の中央付近で曲がるようなかなりグローバルな変化であった。最近の詳細な解析では、⁴¹⁾ 分子の長軸を含む平面からはずれる方向と、その平面内で傾くような変化であることが明らかとなっている (図8(c))。分子のキャタリティックドメインの25 kD部分の重心を一致させて比較すると分子の尾部 (図8(c)の配置) は約45 Å上側に動き、それと垂直な方向 (紙面の向側) に約20 Å傾くような変化に相当していた。結晶解析によると、ATPの結合部位は先端ドメインのポケット状のくぼみに位置し (図8(c)参照)、それと反対側にアクチン結合部位が大きなクレフトを形成していた。このような構造変化のメカニズムに対して、結晶解析したグループはATPが結合したとき、ATPポケットが閉まるような運動と連動して尾部の動きを予想したが、⁴²⁾ 最近の研究ではそのような関連はないことを示している (後述)。

次に、我々はこの構造変化がミオシンによるATP加水分解反応のどの素過程と関係して起こっているのかを中間体アナログを使って調べた。³⁷⁾、⁴⁰⁾、⁴¹⁾ いろいろなアナログを作用させた時の構造変化の指標として小角散乱から求めた慣性半径の変化が使われた (図9)。その結果、ミオシンのATP加水分解反応の最も重要な中間体である $M^* \cdot ADP \cdot Pi$ のヌクレオチドアナログである $ADP \cdot AlF_4$ や $ADP \cdot BeF_3$ (あるいは $ADP \cdot Vi$) を作用させた時の慣性半径と散乱曲線の変化はATP加水分解中での変化と対応するものであった。このことは、ATP加水分解中のミオシン (M) -ヌクレオチド中間体は圧倒的に $M^* \cdot ADP \cdot Pi$ である⁴³⁾ ことと対応し、この状態にあるミオシン頭部の構造が他の状態にある構造とは著しく異なっていることが明らかとなった。またATPγSを作用させた時やpPDMという架橋剤でADPをトラップさせた状態はATP結合直後のアナログといわれ、この状態では構造変化は起こらないことを示唆した。またリン酸を放出した状態のアナログであるADPのみが結合した状態ではヌクレオチドを結合していない時とATP加水分解中との中間的な慣性半径の値であった。以上の結果は、ATP結合直後にはミオシン頭部に大きな分子変化はなく、その後分子内でATPを加水分解して $ADP \cdot Pi$ の形でリン酸 (Pi) を保持しているときに大きく構造が変わり、リン酸を放出した状態で構造は少し戻り、さらにADPを放出すると構造

は完全に戻ることを示唆している。このことを筋収縮に即して云うと、ミオシン頭部がATPを分解してリン酸を保持している状態はアクチンと弱く相互作用できる状態で、このときに構造変化が起こっている。一方、リン酸を放出する過程は力発生に関係したステップと云われており、このときに構造が元に戻るような変化が起きていることになる。

最近、遺伝子工学的手法によりミオシン頭部のキャタリティックドメインのみが作られ、 $ADP \cdot AlF_4$ を結合した状態でこのtruncated ミオシンの結晶構造が解かれた。⁴⁴⁾ それによるとATP結合ポケットの構造には大きな変化はなく、それとは異なる部分に変化が観測されていた。このことは、活性時のグローバルな構造変化はATP結合ポケットの開閉によるのではなく、ATP結合による局所的変化が分子の中央付近のドメイン構造に変形を与え、その結果分子末端を曲げるような変化を引き起こしているように思われる。ただ、同じような $ADP \cdot Pi$ アナログと考えられている $ADP \cdot BeF_3$ を結合したtruncated ミオシン頭部の結晶解析では分子変化は観測されていない。⁴⁴⁾ しかし、我々のX線散乱ではATP加水分解中と同様大きな構造変化を示し (図9参照)、このアナログの結合状態は $ADP \cdot Pi$ 型であるという多くの生化学的データ⁴⁵⁾ とも対応していた。これは結晶構造と溶液構造の違いを示唆している可能性もあり興味深い。

以前に行われたさまざまなプローブによる筋肉中のミオシン頭部の動きを調べる研究は力発生時にキャタリティックドメインに大きな変化がないことを示していた。しかし、結晶解析したグループによって、尾部の変化が利用されているとしてミオシン頭部尾部屈曲運動をATP分解反応と1:1に共役させた筋収縮モデルが提案されている。⁴²⁾、⁴⁶⁾ しかしながら、生化学的研究では、筋肉中でATP分解サイクルと力学サイクルとが必ずしも共役する必要がないことを示している。⁴³⁾ このようなミオシン頭部の大きな構造変化と機能を直接的に対応させるモデルではin vitroでの滑り運動や力の計測結果を説明するのが困難であるとされている。⁴⁷⁾ また、この尾部部分を欠いたtruncated ミオシンでも力発生やアクチンフィラメントの滑り運動を起こすことが示され、⁴⁸⁾ ミオシン頭部尾部部分の構造変化そのものが直接力発生に関与しているかどうかに大きな疑問が出されている。このように筋肉中のミオシン頭部の構造変化と力学反応との共役性は大変興味深い。いづれにしても、ATP加水分解のエネルギーがミオシン頭部の構造を変えることで分子内に蓄えられていることを示す。この構造変化が筋肉中でクロスブリッジに残されたコンプライアンスを与えているのかも知れない。

7. アクチン・ミオシン頭部単体複合体の溶液構造

6節ではミオシン頭部単独の場合の研究であった。さらに一歩進めて我々はアクチンモノマーとミオシン頭部の1:1複合体の溶液構造を研究している。これはアクトミオシン系のエネルギー変換の最小単位の構造研究として重要である。1:1複合体の調製はモノマー同志では結合能が弱いこと、アクチンモノマーが重合しやすいことなどがあって困難を極めていた。我々は最近、MBSとDHTと呼ばれる二種類の試薬で軽く処理して重合能を完全に失わせたアクチンモノマーとミオシン頭部の複合体の調製に成功し、X線溶液散乱によって複合体の慣性半径、分子最大長、両分子間の重心間距離を求めた。これらの構造パラメタを考慮して広い範囲の散乱曲線を両分子の結晶データを使って最も良く説明するモデルを提案した⁴⁹⁾ (図10)。当初いろいろな結合様式の存在を想定したが、アクチン分子はミオシン頭部のアクチン結合部位が存在している領域に適当な向きを持って結合するモデルが最適であった。結合時の両者の構造変化の詳細はまだ明らかでないが、これは筋肉中でのアクトミオシンの結合様式を考える上で重要な知見を提供している。今後はATP分解中の構造変化やミオシン頭部上でのアクチンの動きを調べたり、最終的には結晶化を目指し、三次元構造の解明が期待される。

8. 収縮中のアクチンとミオシンの相互作用

収縮中のX線回折像は、アクチンフィラメントとミオシンの相互作用が両フィラメントの不整合な周期を保った形で起こり、硬直状態とはまったく異なっていることを示した。この回折像の全体的様相は多くのミオシン頭部が時間的にも、空間的にも非同期的にアクチンと結合-解離の反応を繰り返しているとする描像と合致している。硬直状態での両分子の結合部位が収縮中にも利用されているとすると(複合体の溶液散乱の解析が示唆する)、両フィラメント周期の不整合のためにアクチンフィラメントに沿ってのクロスブリッジの構造は本質的に無秩序になると思われる。ESRの測定では多くのミオシン頭部はまったくランダムな向きと動きをし、規則的な配列をしているものは全体の15%位と見積もられている⁵⁰⁾。また最近の収縮中の急速凍結電顕の観測はミオシン頭部がさまざまな向きと形態を持ってアクチンと相互作用していることを示している⁵¹⁾。これらの観測は、ミオシンクロスブリッジの構造はアクチン本来の周期を持つ反射には可干渉的には寄与していないと云う我々の見方を支持している。また、これまでに行われてきたアクトミオシンの溶液研究や電顕による三次元再構成から指摘されているように、瞬間、瞬間に少ないミオシン頭部の規則的結合の形成によってアクチンフィラメント全体

図10 X線散乱から求めたアクチン-ミオシン頭部モノマー複合体の溶液構造。⁴⁹⁾ (a) 溶液散乱からとモデル(b)から計算された $p(r)$ 関数の比較。(b) アクトミオシン複合体の構造モデル。アクチンとミオシン頭部(S1, サブフラグメント-1)の結晶データを使って観測データに合うように求められた。MBSとDHTで処理されたアクチンと、末端の28残基と軽鎖(RLC)が除かれたミオシン頭部が使用された。

にわたって協同的に構造変化が起きていると考えられる。

この収縮中のミオシン頭部の相互作用の仕方と張力発生に関連については多くの関心が持たれている。すべてのミオシン頭部がいろいろな向きからアクチンのいろいろな位置に結合して張力を発生できるとなると、普通の蛋白同志の相互作用と異なった機構を考えなくてはならない。生理学的証拠はすべてのミオシン頭部が張力発生に関与していることを示唆してきたからである。一方、前述したように、特定の形でアクチンと相互作用しているミオシン頭部だけが張力発生に関与しているとするとその数は大変少ないことになる。問題を解く鍵は、ここで述べてきたアクチンの弾性的な構造変化が積極的に関与していると考えられるように思われる。

9. おわりに

細いフィラメントの収縮中の強度変化はミオシン頭部との相互作用で細いフィラメント自身の構造変化によって起こされていることが示された。この構造変化にはフ

フィラメントの弾性的伸展が含まれていた。このことは相互作用によってミオシンからエネルギーの移動が起こりアクチンフィラメントの弾性エネルギーとして蓄えられ、収縮力発生に関係していることを示す。特にフィラメントの伸展性は筋収縮の最も有力なモデルであった「ミオシンクロスブリッジ説」の前提になっていたアクチンフィラメントが硬い足場という仮定が妥当ではなかったことを示す重要な発見であった。In vitroでミオシン頭部がATP存在下でアクチンフィラメントと相互作用するとフィラメントの大きな屈曲運動を起こすことが示されている。⁵²⁾ またフィラメント中のアクチン分子内や分子間を適当に化学架橋させると正常なミオシンによる滑り運動が起こらなくなる。⁵³⁾ このことは我々が示したアクチンの弾性的な構造変化が筋肉の滑り力発生に重要な役割を果たしている証拠と思われる。

また、筋肉の収縮力発生にはミオシン頭部の構造変化も関与しているに違いない。X線溶液散乱によって、ATP加水分解中ミオシン頭部が比較的大きな構造変化を起こしていることも示され、ATP加水分解サイクルとの共役性を示唆した。しかし、このような構造変化がアクチンと相互作用している力学過程でどのように相関しているかはアクトミオシンの複合体や収縮中の筋肉で精密に調べなくてはならない。収縮中の筋肉のX線回折像には145Å周期のミオシン子午反射が強く出現している。これらの反射の強度は繊維軸に垂直に投影した質量分布を反映し、クロスブリッジの変化に敏感と考えられてきた。収縮中速い筋長摂動を与えるなどしてある程度のミオシン分子を同期させて145Å反射の強度変化を調べる研究も行われ、ミオシン頭部の構造変化が示唆されている。^{54), 55)} しかし、ミオシン突起の二つの頭部の振る舞いの違い（それによる干渉効果）やミオシンフィラメント骨格のらせん構造の弾性的変化もあり、この反射の変化の説明には慎重な解析が必要である。さらに、この変化が1分子のATP分解で多数回起こることも示されており、ミオシンによるATP加水分解エネルギーの利用のされ方（力学反応との共役）が単純でないことを示唆している。⁵⁴⁾ 同様な実験をアクチン由来の反射について展開して行くことは、力発生の素過程でのアクチンとミオシンの構造変化の共役性を知るための次の重要課題である。このようにして、両者の構造変化のカップリングのメカニズムを明確にして行くことは筋収縮のエネルギー変換の真の理解につながると思われる。

長年にわたる本研究に対して、多くの方々に御指導、御支援、御協力を頂いた。筋肉の研究を始めるにあたり大沢文夫先生（現愛知工大・教養）、小角X線回折法では角戸正夫先生（前阪大・蛋白研）、富田研一先生（前阪大・薬）に適切な御助言を頂きました。フォトンファクトリーでの放射光実験では、高良和武先生（初代PF施設

長）、橋爪弘雄先生（現東工大・工材研）、坂部知平先生（現筑波大・化学）に多大な御支援と御指導を頂きました。また研究に関して雨宮慶幸氏（現東大・工）、生理学実験で帝京大学医学部の田中秀洋（現帝京平成短大）、小林孝和、岩本裕之氏に、溶液散乱実験では徳永万喜洋氏（現新技団・柳田プロ）と荒田敏昭氏（阪大・理）に協力を頂いている。また、研究室では三井利夫先生（現明治大・理工）、植木龍夫先生（現理研）、田中信夫氏（現東工大・生命理工）、浜中俊明氏、難波啓一氏（現松下国際研）の御支援と協力、上野豊、杉本泰伸、武澤康範君ら多くの大学院生の協力に支えられてきました。また筋肉研究で江橋節郎先生（生理研）、柳田敏雄氏（阪大・基礎工）に激励と有益な議論を頂きました。深く感謝申し上げます。

文 献

- 1) H. E. Huxley and W. Brown: *J. Mol. Biol.* **30**, 383 (1967) .
- 2) K. C. Holmes: *Endeavour* **33**, 60 (1974) ; *Topic Curr. Chem.* **151**, 1 (1989) .
- 3) H. E. Huxley: *Science* **164**, 1356 (1969) .
- 4) A. F. Huxley and R. M. Simmons: *Nature* **233**, 533 (1971) .
- 5) A. F. Huxley: *J. Physiol.* **243**, 1 (1974) .
- 6) 例えば、F. Oosawa: "Muscle and Nonmuscle Motility", ed. by A. Stracher: Acad. Press, New York and London, pp.151-216 (1983) .
- 7) Y. Amemiya, K. Wakabayashi, H. Tanaka, Y. Ueno and J. Miyahara: *Science* **237**, 164 (1987) .
- 8) R. T. Tregear: *Nature (News and Views)* **321**, 563 (1986) .
- 9) K. Wakabayashi and Y. Amemiya: "Handbook on Synchrotron Radiation", ed. by S. Ebashi, M. H. J. Koch and E. Rubenstein: Elsevier, North-Holland, Vol.4, pp.597-678 (1991) .
- 10) K. Wakabayashi, H. Tanaka, H. Saito, N. Moriwaki, Y. Ueno and Y. Amemiya: *Adv. Biophys.* **27**, 3 (1991) .
- 11) K. Wakabayashi, H. Saito, M. Moriwaki, T. Kobayashi and H. Tanaka: *Adv. Exp. Med. Biol.* **332**, 451 (1993) .
- 12) K. Wakabayashi, H. Tanaka, Y. Amemiya, A. Fujishima, T. Kobayashi, T. Hamanaka, H. Sugi and T. Mitsui: *Biophys. J.* **47**, 847 (1985) .
- 13) M. Kress, H. E. Huxley, A. R. Faruqi and J. Hendrix: *J. Mol. Biol.* **188**, 325 (1986) .
- 14) A. Ishijima, T. Doi, K. Sakurada and T. Yanagida: *Nature* **352**, 301 (1991) .
- 15) K. Namba, K. Wakabayashi and T. Mitsui: *J. Mol. Biol.* **138**, 1 (1980) .
- 16) Y. Ueno, N. Moriwaki and K. Wakabayashi: "Synchrotron Radiation in the Biosciences" ed. by B. Chance *et al.*, Clarendon Press, Oxford, pp.443-450 (1994) .
- 17) Y. Ueno and K. Wakabayashi: *J. Mol. Biol.*, to be submitted.
- 18) K. C. Holmes, D. Popp, W. Gebhard and W. Kabsch: *Nature*, **347**, 37 (1990) .
- 19) W. Kabsch, H. G. Mannherz, D. Suck, E. F. Pai and K. C. Holmes: *Nature* **347**, 37 (1990) .
- 20) Y. Maeda, D. Popp and S. M. McLaughlin: *Adv. Exp. Med. Biol.* **226**, 381 (1988) .
- 21) F. G. Whitby, H. Kent, F. Stewart, M. Stewart, X. Xie, V.

- Hatch, C. Cohen and G. N. Philips: *J. Mol. Biol.* **227**, 441 (1992) .
- 22) A. Orlova and E. H. Egelman: *J. Mol. Biol.* **245**, 582 (1995) .
- 23) D. Popp and K. C. Holmes: *J. Mol. Biol.* **224**, 65 (1992) .
- 24) M. Lorenz, K. J. V. Poole, D. Popp, G. Rosenbaum and K. C. Holmes: *J. Mol. Biol.* **246**, 108 (1995) .
- 25) H. E. Huxley: *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* **37**, 361 (1972) .
- 26) J. C. Haselgrove: *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* **37**, 341 (1972) .
- 27) B. K. Vainshtein: "Diffraction of X-Rays by Chain Molecules" Elsevier, Amsterdam, Chap.3 (1966) .
- 28) L. E. Ford, A. F. Huxley and R. M. Simmons: *J. Physiol.* **269**, 441 (1977) .
- 29) K. Wakabayashi, Y. Sugimoto, H. Tanaka, Y. Ueno, Y. Takezawa and Y. Amemiya: *Biophys. J.* **67**, 2422 (1994) .
- 30) Y. Amemiya and K. Wakabayashi: *Adv. Biophys.* **27**, 115 (1991) .
- 31) H. E. Huxley, A. Stewart, H. Sosa and T. C. Irving: *Biophys. J.* **67**, 2411 (1994) .
- 32) H. Higuchi, T. Yanagida and Y. E. Goldman: *Biophys. J.* **69**, 1000 (1995) .
- 33) Y. E. Goldman and A. F. Huxley: *Biophys. J.* (New and Notable) **67**, 2131 (1994) .
- 34) M. Irving: *Nature (News and Views)* **374**, 14 (1995) .
- 35) 御橋広真: "筋肉の動きを探る", パリティ物理学コース, 長岡洋介編, 丸善 (1994) .
- 36) J. D. Jontes: *J. Struct. Biol.* **115**, 119 (1995) .
- 37) K. Wakabayashi, M. Tokunaga, I. Kohno, Y. Sugimoto, T. Hamanaka, Y. Takezawa, T. Wakabayashi and Y. Amemiya: *Science* **258**, 443 (1992) .
- 38) D. D. Thomas: *Biophys. J.* (New and Notable) **64**, 297 (1993) .
- 39) I. Rayment, W. R. Rypniewski, K. Schmidt-Base, R. Smith, D. R. Tomchick, M. M. Benning, D. A. Winkelmann, G. Wesenberg and H. M. Holden: *Science* **261**, 5 (1993) .
- 40) Y. Sugimoto, M. Tokunaga, Y. Takezawa, M. Ikebe and K. Wakabayashi: *Biophys. J.* **68**, 29s (1995) .
- 41) Y. Sugimoto, M. Tokunaga and K. Wakabayashi: *J. Mol. Biol.*, to be submitted.
- 42) I. Rayment, H. M. Holden, M. Whitaker, C. B. Yohn, M. Lorenz, K. C. Holmes and R. M. Milligan: *Science* **261**, 58 (1993) .
- 43) C. R. Bagshaw: *Muscle Contraction*, Chapman & Hall, London (1984) .
- 44) A. J. Fisher, C. A. Smith, J. B. Thoden, R. Smith, K. Sutoh, H. M. Holden and I. Rayment: *Biochemistry* **34**, 8960 (1995) .
- 45) 例えば, S. Maruta, G. D. Henry, B. D. Sykes and M. Ikebe: *J. Biol. Chem.* **268**, 7093 (1993) .
- 46) I. Rayment and H. M. Holden: *Trends Biochem. Sci.* **4**, 129 (1994) .
- 47) Y. Harada, K. Sakurada, T. Aoki, D. D. Thomas and T. Yanagida: *J. Mol. Biol.* **216**, 49 (1990) .
- 48) S. Itakura, H. Yamakawa, Y. Y. Toyoshima, A. Ishijima, T. Kojima, Y. Harada, T. Wakabayashi and K. Sutoh: *Biochim. Biophys. Res. Comm.* **196**, 1504 (1993) .
- 49) N. Iwasaki, T. Arata, Y. Sugimoto, Y. Takezawa, T. Hamanaka and K. Wakabayashi: *Biophys. J.*, to be submitted.
- 50) P. G. Fajer, E. A. Fajer and D. D. Thomas: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **87**, 5538 (1990) .
- 51) K. Hirose, T. D. Lenart, J. M. Murray, C. Franzini-Armstrong and Y. E. Goldman: *Biophys. J.* **65**, 397 (1993) .
- 52) T. Yanagida, M. Nakase, K. Nishiyama and F. Oosawa: *Nature* **307**, 58 (1984) .
- 53) E. Prochniewicz, E. Katayama and T. Yanagida: *Biophys. J.* **65**, 113 (1993) .
- 54) V. Lombardi, G. Piazzesi, M. A. Ferenczi, H. Thirlwell, I. Dobbie and M. Irving: *Nature* **374**, 553 (1995) .
- 55) N. Yagi, K. Wakabayashi, H. Iwamoto, K. Horiuti, I. Kojima, T. C. Irving, Y. Takezawa, Y. Sugimoto, S. Iwamoto, T. Majima, Y. Amemiya and M. Ando: *J. Synchrotron Rad.* (1996) . in press.

プロフィール

若林克三 Katsuzo WAKABAYASHI

大阪大学基礎工学部生物工学科生物物理学研究室, 〒560 大阪府豊中市待兼山町1-3

Department of Biophysical Engineering, Faculty of Engineering Science, Osaka University, 1-3 Machikaneyama, Toyonaka, Osaka 560, Japan

Tel. 06-850-6515 Fax. 06-850-6557

E-mail: waka@bpe.es.osaka-u.ac.jp

最終学歴: 北海道大学大学院理学研究科博士課程(物理学専攻) 修了 (1971年)

専門分野: 生物物理学, 回折学, 構造生物学

現在の研究テーマ: 筋収縮の動的X線回折, X線溶液散乱, X線繊維回折, シンクロトロン放射光科学