

論文審査の結果の要旨

氏名 黄 勇 太

心筋 β ミオシンは心臓の収縮力を生む分子モーターであり、先行研究によってストローク (power stroke) の大きさや発生する力などの1分子特性が明らかにされてきた。最近、シミュレーションにより、心筋細胞が急速に弛緩するためには、心筋 β ミオシンが集団で逆向きのストローク (reverse stroke) を行うことが重要であることが示唆された。しかし、心筋 β ミオシンの reverse stroke の大きさや速度を正確に計測した研究はない。本論文では、心筋 β ミオシン多分子および1分子での力計測と、心筋 β ミオシン集団における reverse stroke の役割をシミュレーションで調べた研究について述べられている。本論文は、全7章から構成されている。

第1章は全体の序論である。心筋と骨格筋の収縮メカニズム、および心筋 β ミオシンを中心としたミオシンの運動メカニズムに関する研究背景が詳細に述べられた後、本研究の目的が述べられている。

第2章では、実験に必要なミオシン等の試料の調製、光ピンセット装置や実験系の評価、および実験の手順について述べられている。心筋 β ミオシンの多分子実験では、豚の心室から精製した心筋 β ミオシンと、機能頭部のないミオシンロッドを混合することによってミオシンフィラメントを作製した。これをアクチンフィラメントと相互作用させ、光ピンセットで変位や発生した力を計測した。また1分子実験では、心筋 β ミオシンと大量のミオシンロッドを混合し、心筋 β ミオシン1分子がアクチンフィラメントと相互作用するように調整した。これに光ピンセットで負荷をかけたときの心筋 β ミオシンの変位を計測した。

第3章では、心筋 β ミオシン多分子の力計測について述べられている。まず、心筋 β ミオシン集団 (約15分子) が発生する力は55 pN以上であり、骨格筋 (速筋) ミオシン集団が発生する力 (35 pN以下) よりも大きいことが明らかになった。また、骨格筋 (速筋) ミオシンでは reverse stroke がほとんど見られなかったのに対し、心筋 β ミオシンでは逆向きのステップが頻繁に観測された。

第4章では、心筋 β ミオシン1分子の力計測について述べられている。心筋 β ミオシン1分子に高負荷を加えたときの動態を計測した結果、心筋 β ミオシンは骨格筋 (速筋) ミオシンに比べ、1分子の状態でも reverse stroke を頻繁に起こすことが明らかになった。また心筋 β ミオシンには2段階のストロークがあり、それぞれ約6 nmと3 nmの大きさであることが示された。さらに、power stroke と reverse stroke の反応速度と負荷の関係を定量的に求めることができた。

第5章では、心筋 β ミオシン多分子と1分子での実験結果の整合性や、先行研究との比較などについての考察が述べられている。

第6章では、心筋 β ミオシン集団における reverse stroke の役割をシミュレーションで調べた研究について述べられている。心筋 β ミオシン 15 分子が発生する力を、reverse stroke を考慮したモデルでシミュレーションをしたところ、心筋 β ミオシン 1 分子での高頻度の reverse stroke が、心筋 β ミオシン多分子で観測された高い力発生と頻繁な逆向きステップを引き起こすことが示された。また、心筋 β ミオシンの分子数を筋肉内と同じ 75 分子に増やしてシミュレーションをした結果、reverse stroke は、張力の維持、急速な弛緩、および低い ATP 消費率に貢献している可能性が示唆された。

第7章では、本研究の結論と意義が述べられている。本研究では、心筋 β ミオシンの1分子計測により、心筋 β ミオシンの reverse stroke の直接観測に成功した。また、心筋 β ミオシンの多分子計測により、心筋 β ミオシン集団は骨格筋（速筋）ミオシン集団よりも高い力発生と頻繁な逆向きステップを示すことが明らかになった。さらに、この集団的性質には reverse stroke が鍵となっていることがシミュレーションから判明した。このように、心筋 β ミオシンの分子特性としての reverse stroke を解明し、心筋 β ミオシン多分子の力発生への影響を計算した本研究は、心収縮の分子メカニズムに新たな知見を与えるものである。

本論文の内容は現在投稿中である。鷲尾巧 博士，久田俊明 博士，樋口秀男 教授，茅元司 助教との共同研究であるが，提出者が主体となって実験および解析を行い，筆頭著者として執筆したものであり，その寄与が十分であると判断される。

したがって，博士（理学）の学位を授与できると認める。