

博士論文要旨

論文題名：心筋細胞におけるエネルギー消費と産生：ATP消費を伴う新しい筋繊維収縮モデルの構築およびミスセンス変異による ATP 産生障害の診断

立命館大学大学院生命科学研究科
生命科学専攻博士課程後期課程

ムガングラム ユッタモル
MUANGKRAM Yuttamol

生理学的条件下における心血管系の理解が進んでいるが、定量的な理解は不十分である。数理的な解析によって、複雑な心血管系の生理学的機構を理解が可能である。特に、筋収縮におけるクロスブリッジ(CB)の反応やエネルギー消費を明確にするため、CBモデルの開発が必要である。先行研究として、複数のCBモデルが提案されている。しかし、多くのモデルは、心機能にとって重要な役割を果たす一過性カルシウム濃度変化が導入されていない。本研究は、数理モデルであるNLモデル(Negrone & Lascano 1996, 2008; Negrone et al. 2015)および生化学モデルであるMånssonモデル(Månsson 2010)を用い、CBの生理学的な挙動の再現を行った。提案モデルでは、カルシウム活性と力の発生機構に、CBの平均を表わす等価CBを用いた。提案モデルによって、 $[Ca^{2+}]$ -収縮力や半筋節長-収縮力、 $[Ca^{2+}]$ -ATP加水分解、一過性カルシウム濃度変化による力の発生機構、ATPaseの回転率、筋収縮による収縮力の回復、機械的な筋節の収縮の負荷と速度の関係を明らかにした。一方で、筋肉において重要な役割を果たすATP産生は、ミトコンドリアによって行われている。ATP産生の機能不全に関連する複雑な疾患として、ミトコンドリア病がある。ミトコンドリアDNAのミスセンス変異として、特に複合体IIIのシトクロムb遺伝子が筋肉や心臓の疾患に関連がある。本研究では、PCRを用いて、高感度かつ特異的にシトクロムb遺伝子変異を検出する技術を開発した。ヒトミトコンドリアゲノムのミトコンドリアシトクロムb遺伝子における5か所のミスセンス変異が、提案のプライマーを用いることで診断可能であった。今後は、高解像度融解曲線分析を利用することで、迅速な突然変異調査に貢献することが出来ると期待される。

Abstract of Doctoral Dissertation

Title : Energy consumption and production in cardiomyocytes: a new myofilament contraction model with ATP consumption and the diagnosis of ATP productive impairment from missense mutations

Doctoral Program in Advanced Life Sciences
Graduate School of Life Sciences
Ritsumeikan University

ムガングラム ユッタモル
MUANGKRAM Yuttamol

The understanding of cardiovascular system under physiological conditions has been progressed, however, it is not fully understood. Information technology allows us to understand the complex biological mechanisms of the cardiovascular system. Since the mechanisms of crossbridge (CB) are not clearly understood, the development of CB model could provide the valuable tool to comprehend those reaction or energy consumption. A variety of CB model was constructed to explain its behavior of biological function. Nevertheless, the models that explain the necessary function that includes Ca^{2+} transient with the biochemical structure is limited. Here, we proposed a realistic model of crossbridge mechanism using mechanical model of NL model (Negroni & Lascano 1996, 2008; Negroni et al. 2015) and biochemical model of Månsson model (Månsson 2010). The model concerns with the Ca^{2+} activation and force generation assuming an equivalent crossbridge. The proposed model well reproduced the relationship of $[\text{Ca}^{2+}]$ -force, length-force, $[\text{Ca}^{2+}]$ -ATP hydrolysis, force generation by Ca^{2+} transient, ATPase turnover rate, force recovery after jumps in length under the isometric model and sarcomere shortening after a rapid release of mechanical load under isotonic mode with the load-velocity relation. On the other hand, mitochondrial diseases are the complex diseases associated to dysfunction or failures of the mitochondria which has a great influence in ATP production. Missense mutations in mitochondrial DNA, particularly in cytochrome *b* gene sequences in complex III have been associated with several diseases with muscle and heart. We preliminarily developed the high sensitivity and specificity technique to diagnose the mutations using PCR based sequencing. Five missense mutations in mitochondrial cytochrome *b* gene of human mitochondrial genome could be diagnosed by using the novel primers. Furthermore, the development of our techniques with high resolution melt analysis could provide the new aspect in mutation investigation at early stage.