

P93

강도에 의한 근육 막 수축의 컴퓨터분석연구

김 덕 슬

동명정보대학교 컴퓨터공학과

서 론

X-ray 구조분석은 지금까지 여러 분야에 응용되어 왔다. 특히 benzene, toluene 등 화학약품으로 많이 쓰이는 시약의 분자구조를 이용한 실험은 이제는 일반화 되어있다. 그 가운데 생체막이 화학약품을 이용한 동, 식물성 지방 등을 분리정제도 이용 가능한 시대로 접어들고 있다. 이러한 연구에서는 그 메커니즘을 연구하는 것이 중요한데, 본 연구에서는 생체 근육 막에서 발생되어지는 문제를 연구하고자 한다. 먼저 개략적인 근육구조를 보자면, 근육수축에 따른 분자구조에 관해서는 지금까지 몇 가지의 가설이 있어 왔다. 그 가운데 가장 유력한 설로서는 myosin head진동설 혹은 회전설이다^{1~2)}. 이 가설에 의하면, myosin filament로부터 나온 head가 actin과 결합한 후 각도가 변화하며, 이 head의 각도변화가 myosin filament와 actin filament간의 미끄럼운동을 발생시킨다. 또 근육이 장력을 발생시킬 때도 myosin head에 큰 각도변화가 일어난다. 이 역학적 변화가 ATP 분해 cycle의 중요한 역할을 맡는 것으로 되어있다. 이러한 가설을 기본으로 myosin head의 역학적 변화, 에너지변환의 작용 등을 증명하는 실험들이 많이 소개되었다^{3~4)}. 그리고 지금까지 연구결과는 근육이라는 조직세포로 구성된 것 중에서 actin과 myosin이 어떻게 분자변화를 동반한 분자 상호간의 힘을 발생시키는가를 밝히는 것이었다.

지금까지의 X선 측정에 의하면, 근육단백질의 구조변화는 최대장력 발생에 의해서 매우 빨리 완료된다. 이것은 actin-myosin분자가 이완상태에서 힘발생의 구조상태로 다시 전이하는 것으로 생각된다^{5~6)}. 그러나, 이완상태에서 구조변화로의 전이에는 myosin head가 가는 filament로 이동 및 myosin head를 일정하게 정리하는 시간이 포함되어 있다. Crossbridge(myosin 돌기)의 화학적 상태와 역학적 상태를

어느 정도 일치시키는 실험방법은 여러 가지 있지만, 본 실험에서는 골격근에 연속 자극을 주는 방법을 사용하였고, 장력발생의 시간적 변화의 관계를 연구하였다.

실험 방법

식용개구리(*Rana catesbeiana*)의 봉공근(*sartorius*) 또는 반건양근(*semetendinosus*)의 살아있는 근육을 시료로 이용하였다. 근육의 크기는 길이가 4-5cm로 두께는 약 1mm정도이다. 근육은 백금선을 나란히 자극전극으로 준비한 시료 cell의 한쪽 끝에 연결하였다. 시료의 다른 한쪽 끝에는 transducer의 shutter의 금속에 수술용 실을 연결하였다. 봉공근의 경우 혈관과 신경이 보이는 내측을 전극에 접촉시켰다. 근절의 길이는 He-Ne Laser의 광회절법으로 가는 filament와 굵은 filament의 full overlap의 길이(2.2-2.4 μ m)로 조정하였다. 냉각한 개구리 ringer용액을 시료 cell중에 순환시켜 온도13°C로 제어하였다.

개구리 ringer용액의 조성과 조건은 115mM NaCl, 2.5mM KCl, 1.8mM CaCl₂, NaHCO₃, pH7.2이다.

근육으로부터 X선 회절상을 2차원적으로 기록하기 위하여, 'image plate'(BAS 2000, Fuji Film, Tokyo)라고 하는 적분형 X선 검출기를 이용하였다. Image plate는 가시광에 의해 형광을 발하는 현상을 이용한 것으로 후지필름이 의학 화상진단용으로 개발한 장치를 사용하였다.

결과 및 고찰

Fig. 1.에서 i 번째의 자극의 시작 후 i 번째의 장력이 peak에 도달하기까지 시간을 T_i 라 하면, T_i 는 자극의 순간뿐만 아니라 연속 자극의 회수에 의존한다. 따라서 자극간격, 연속자극의 회수, T_i 의 관계를 비교하였고 이것에 대한 자극간격의 의존성을 나타내었다. T_i 는 온도에 의존하지만, 13°C라는 온도는 이전의 Tanaka의 연구에 기초를 두고, 각각의 자극에 의한 장력의 증가량과 X선 반사의 변화가 최대로 나타나는 조건으로 결정하였다. 또한 Fig. 6.에서 T_2 의 최소치는 약 60ms로 T_3 의 최소

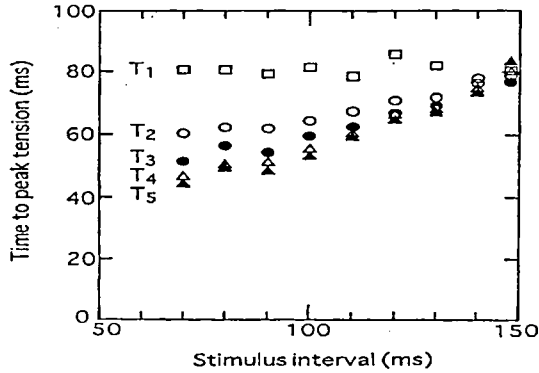


Fig. 1. Relation between the stimulus interval and the time to the peak tension. Muscle were stimulated by successive pulses at the various time(70-150 ms) at 13°C. Each point is the average from 6 different muscle.

치는 약 50ms로 하였다. 이처럼 T_i 의 최소치는 70-90ms의 자극간격의 범위에 두었고, 자극회수를 증가시킬수록 T_i 는 감소하였다. 그러나 3회 이상 자극의 회수를 증가시켜도 T_i 의 감소는 보이지 않았다. 즉, T_i 는 45ms이하로는 내려가지 않았다. 자극간격이 150ms가 되면, 연속자극의 T_i 에 대한 효과는 거의 없었고, 단순히 자극이 반복적으로 나타났다. 한편, 자극간격이 70ms이하가 되면 각각의 장력peak를 정확히 결정할 수가 없었다. 이상의 것으로 T_i 의 감소는 자극간격이 70-90ms일 때 최적의 조건으로 나타났다.

Fig. 2.에서 연속자극의 회수에 대하여 장력의 값과 자오반사 및 적도반사의 강도 증분을 표시하였다. 1회 때의 자극 때의 peak값을 기준으로 하여 표시하였다. 3회 때의 자극으로 장력 peak값은 오차 범위 내에서 4, 5회 때의 값과 거의 같았다. 이때의 값은 수축 때의 90-95%에 도달하고 있다. 근육은 충분히 활성화되어 최대장력을 발생해 있다는 것을 나타낸다. 각각의 장력변화도 3회 이후의 자극에 포화상태이고, 최대변화에 도달해 있었다.

Fig. 3.에는 T_i 와 I_i 는 자극의 회수를 증가시키면 같은 형태로 감소하고, 3회 이상의 수축에서 일정하게 되는 경향을 나타내었다. 이 결과는 자극의 회수에는 의존하지 않는다는 것을 나타낸다. 1회 때의 자극으로 장력의 peak에 도달하는 시간, T_1

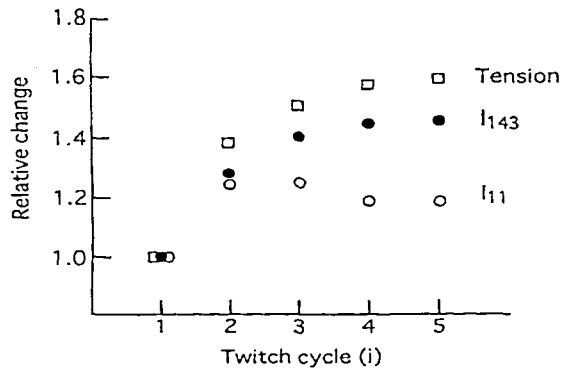


Fig. 2. Relation between the peak tension and the I₁₁, 143Å intensities.

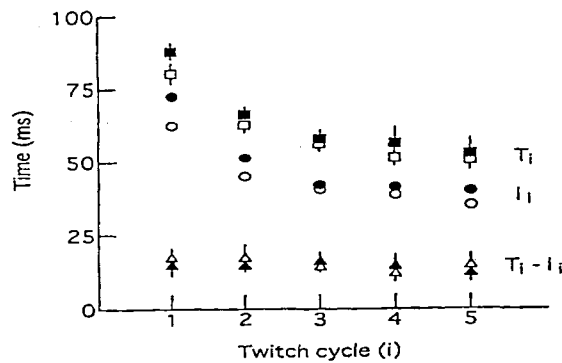


Fig. 3. Times needed to the 2 peak tension and to the maximum X-ray intensity change at each twitch. Difference of those time($T_i - I_i$) is also added.

은 약80ms, T₂는 60ms, T₃은 50ms로 점점 더 짧아지고, T₄, T₅는 거의 T₃과 같았다. myosin-crossbridge의 이동이 일어나는 경우에 최초의 자극밖에 일어나지 않는다고 사려된다. 이 경우에는 I₁과 I₂간의 급격한 감소를 기대 할 수 있는데, 그림에서 보는바와 같이 T_i와 I_i는 자극의 회수와 함께 완만하게 감소 하고 있다. 이것은 crossbridge가 짧은 filament가 가는 filament쪽으로 이동을 요하는 시간이 필요하다는 것을 나타낸다. 결국 3회 이상의 연속자극에서의 근육은 충분히 활성화되었고,

이 시점에서 최대장력을 발생한다.

본 실험에는 근육전부를 사용하기 때문에 특히 1회 자극 때 전부 근절이 모두 활성화되는 것은 기대 할 수 없다. 어떤 근절은 다른 것보다 빠르게 활성화를 되고, 혹은 다른 근절을 당기는 것도 있다. 그 결과 근선유에 따라 있는 근절장의 분산을 일으키는 원인이 된다⁷⁾. 그리고 또다른 원인으로서는 내부수축 뿐만 아니라 외부적인 요소에 의해 근육의 일부가 장력발생을 늦게 발생시키는 것이라 추정하고 있다⁸⁾. 연속자극에 대해서는 거의 모든 근절이 이미 활성화되었다.

결 론

이상에서 근육 분자막에 연속자극을 주어서 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 본 실험 조건하에서 근육 수축 중에 X선 구조분석에 의해 관찰되어진 두드러진 변화는 근육수축을 하는 가운데 myosin head의 움직임과 수축분자의 변화가 관찰되었다.
2. 내부 혹은 외부적인 요인에 의하여 filament격자 변화가 일어나고, 적도반사에도 영향을 주었고, filament격자 변화는 첫 번째 수축 때 일어나서, 그 다음 이후의 수축에는 거의 변화가 일어나지 않고 있다는 것을 알 수 있었다.
3. 자극 후 장력 peak를 필요로 하게 되고, 장력 peak의 크기는 자극 자극에 의존하고 있다는 것을 알 수 있었다.

문 헌

1. H. E. Huxley, *Science*, 164, 1356(1969).
2. H. E. Huxley, A. R. Farqi and M. Brown, *J. Mol. Biol.*, 30, 384(1967).
3. H. E. Huxley, R. M. Simmons, A. R. Farqi and M. Kress, *J. Bordas, Mol. Biol.*, 169, 469(1982).
4. H. E. Huxley, A. R. Farqi, M. Kress, J. Bordas and M. H. J. Koch(1983), *J. Mol. Biol.*, 158, 637.

5. Y. Amemiya, K. Wakabayashi, T. Hamanaka, T. Wakabayashi, T. Matsushta and H. Hashizume, *Nucl. Instrum. Methods*, **208**, 471(1983).
6. K. Wakabayashi and Y. Amemiya, *Handbook on Synchrotron Radiation.*, Vol. 4, North Holland, Amsterdam, pp. 597-678(1991).
7. K. Wakabayashi, H. Tanaka, T. Kobayashi, T. Hamanaka, S. Nishizawa, H. Sugi and T. Mitsui, *Biophys. J.*, **49**, 581(1986).
8. I. Matsubara and N. Yagi, *J. Physiol.*, **361**, 151(1985).