

Title	線虫Caenorhabdits elegansミオシンの構造と機能
Author(s)	谷井, 一郎
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/1116">https://hdl.handle.net/11094/1116</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名・(本籍)	谷 井 一 郎
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 8063 号
学位授与の日付	昭 和 63 年 3 月 25 日
学位授与の要件	理学研究科生理学専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	線虫Caenorhabdits elegansミオシンの構造と機能
論文審査委員	(主査) 教 授 中村 隆雄 (副査) 教 授 森田 敏照 教 授 小川 英行

### 論 文 内 容 の 要 旨

多くの動物細胞中には複数のミオシンアイソフォームが発現しており、これがミオシン標品中に混在しているためミオシンの1次構造と機能の詳細な関係を調べることができなかった。本研究では線虫Caenorhabdits elegansから、ただ1種のミオシン重鎖からなるミオシンの精製を行い上記の問題を解決した。このミオシンをコードするunc-54遺伝子はクローニングされ全DNA構造が決定され蛋白質の1次構造も推定されている。そこで、このミオシンについて生化学的研究を行いミオシンの構造と機能の関係について検討した。

線虫は4種のミオシンアイソフォームを持つがunc-54ミオシンは他のミオシンに比べ溶解しやすく通常(0.5M)より低イオン強度(50mM)でミオシンの抽出を行うことにより、このミオシンだけを選択的に抽出、精製できた。精製標品中に他の3つのミオシンの混入がないことをunc-54の突然変異株を用いて調べた。さらに精製したミオシンが失活していないことを確かめた。

電顕観察から線虫ミオシン分子の形状はウサギ骨格筋ミオシンのそれとほとんど類似していることが分かった。またプロテアーゼによる切断によりミオシンを機能単位に分離できた。線虫ミオシンの1次構造はウサギ骨格筋ミオシンの既決定部分のそれとは52%という低い相同性を示すが、結果はサブドメイン構造はよく保存されていることを示した。ミオシン分子の弾性要素の位置を尾部の曲折する位置及びプロテアーゼ高感受性の位置から求めた。結果はアミノ酸配列から予想された場所とかなり食い違っており、尾部の $\alpha$ ヘリックス構造が広い範囲にわたって崩壊しうることを示した。線虫の体壁筋の太いフィラメントは骨格筋の5倍の長さを持つ。精製したミオシンだけで、この長さのフィラメントを形成した。このことは尾部の低い相同性(42%)を反映していると思われる。

線虫ミオシンの2つの頭部は共にunc-54ミオシン重鎖から成るがミオシンATPase反応の初期過程の測定は2つの頭部は異なる反応中間体を形成することを示した。さらにミオシンのTNP化反応の解析は2つの頭部には各1モルの活性リジン残基が存在し、その周辺の1次構造が異なることを示唆した。

線虫の体壁筋にはミオシン側のCa<sup>2+</sup>制御系はなく、アクチン側のトロポミオシン-トロポニン様の系がCa<sup>2+</sup>制御系として働いていることを精製ミオシンとアクチン分画を用いて明らかにした。

### 論文の審査結果の要旨

本研究において谷井君は線虫*Caenorhabditis elegans*のunc-54ミオシンがMgイオンのない条件では低イオン強度でも水溶性であることを発見し、この性質を利用してはじめてこのミオシンを精製することに成功した。得られた線虫ミオシンは骨格筋ミオシンとは52%のアミノ酸残基相同性をもつのみであるにも拘わらずそのATPase反応の性質は変わらなかった。また電子顕微鏡を用いた観察では分子の尾部の中央は一次構造からの予測に反し折れ曲っていることが判明し、この部分は高いプロテアーゼ感受性を有することがわかった。線虫ミオシンでも恐らく骨格筋ミオシンの場合と同様にこの部分がバネの役割を果たしていると推定された。

谷井君はunc-54ミオシンの尾部が僅かに短くなった変異株を用いてunc-54遺伝子のみから合成されるミオシンでも骨格筋ミオシンと同様に二つの頭部の機能が異なることを示した。また両頭部の活性リジン残基の反応性が異なることを見出したが、これは一つの遺伝子から二つの異なった分子頭部が形成されることを示す興味深い知見である。線虫斜紋筋の長いフィラメントはパラミオシンが太いフィラメントの芯を形成するためと考えられていたが、谷井君は太いフィラメントからパラミオンが先に溶出されること、精製ミオシンのみでも長いフィラメントが形成されることを発見した。この事実は従来考えられてきたパラミオシンの役割に対し修正を迫るものと考えられる。

以上のような結果は筋収縮の分子機作の解明に重要であるばかりでなく、タンパク質の一次構造と機能の相関を明らかにする上で重要な知見を含むもので、本研究は理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。