

テトラヒメナの分子量38,000タンパク質の繊維形成について

沼田 治 (筑波大・生物科学), 保田友義 (予研・技術), 渡辺良雄 (筑波大・生物科学)

In vitro filament formation of molecular weight 38000-protein from *Tetrahymena*

OSAMU NUMATA, TOMOYOSHI YASUDA,
YOSHIO WATANABE

多くの動物細胞の細胞分裂時に actin 繊維から成る収縮環が、分裂溝直下に存在する事から、actomyosin 系の関与が示唆されて来た。一方、テトラヒメナにも立派な収縮環が存在する事を渡辺、保田らが報告した(本大会)。我々は myosin との共沈を利用した非筋 actin 抽出法を用いてテトラヒメナから、actin の分離精製を試み、分子量38,000の蛋白質(FP-38と仮称)を単離する事に成功した。FP-38は生理的条件下で、9Sの4量体を形成しており、actinと同様なG $\leftrightarrow$ F変換をせず、myosinのMg²⁺-ATPaseを活性化せず、抗原性もactinやtropomyosinなどと異なる事を46, 47, 48回大会で報告した。今回、FP-38の特異抗体を用いて、局在性を調べた結果、口部装置と分裂溝の部分に、主としてFP-38が存在する事が判った。これらの部位には10~14nmの微小繊維が存在する。FP-38の*in vitro*重合条件を検討した結果、50mM KCl, 0.6mM ATP, 1.2mM CaCl₂, 5mM MES, pH 6.6の条件で37℃で加温する事によって14nmの繊維が形成された。この繊維はFP-38の9Sの4量体に相当する直径7nmのsubunitが整然とした2-start列から成り、1ターン当り4つのsubunitsから成る左巻きのらせん配列をしており、actin繊維10-nm filament, 微小管等とは異なる新しい細胞内繊維といえる。また、FP-38の重合時に14nm繊維の高次構造と思われる直径0.3~3.6 μ mのring構造がしばしば出現した。また、まれに格子状sheet構造が観察された。前者は*in vivo*の収縮環に、後者は口部装置内のsheet構造に良く対応した。*in vitro*の重合物と*in vivo*の構造の対応から、FP-38は細胞運動、特に細胞分裂に重要な役割を果たす繊維性構造蛋白質であると思われる。

Tetrahymena thermophila の細胞分裂に関する温度感受性突然変異株の性質について

田村良二, 屋部登志雄, 渡辺良雄 (筑波大・生物科学)

Isolation and characterization of temperature-sensitive-mutants affecting cell division in *Tetrahymena thermophila*

RYOJI TAMURA, TOSHIO YABE, YOSHIO WATANABE

我々はテトラヒメナで細胞分裂機構の研究を進める上で突然変異体を利用することができれば、より有効な解析手段になると考え、*Tetrahymena thermophila* より細胞分裂に関する温度感受性突然変異株を Mpr functional heterokaryon と C* を用い、short circuit genomic exclusion を利用して分離した。今回はこのうちから 5M10, 6D6, 3A10 と称する株について報告する。

まず増殖に及ぼす温度の影響について調べてみた。野生株では25℃から40℃へ移しても増殖曲線はほぼ同様であるのに対して M10, 6D6 は40℃, 3A10 は35℃において増殖が停止し、それぞれの温度において特徴的な形態異常体が出現して、時間と共にその頻度が増加し、ついには不規則奇形となることが判明した。この時、同時に変異体の核数について調べてみると、どの変異体においても増殖が停止する温度で小核は時間の経過に伴って正常に分裂し、大核はやや阻害されるが分裂は進行し多核体を形成することが分かった。さらに増殖の停止した変異体の大きさを測定してみたところ、40℃においては細胞は分裂を停止し次第に大きさを増すことから成長は持続しているものと考えられる。M10, 6D6 は F₁ 解析より劣性変異であることが示された。また M10 は所謂 chain former, 3A10 は分裂溝陥入が進行しないもの、6D6 は分裂溝不完成で停止するものと思われる。

以上の事から、今回得た変異はいずれも40℃において cytokinesis が部分的にあるいは完全に block される変異であることが明らかになった。今後、蛋白レベル、構造レベル、遺伝レベルの解析を進め、相互の関係を明らかにしていきたい。