

# 生物種由来の特定生体分子が異なる生物種の細胞へ与える分子作用

～植物由来物質およびウイルス由来物質が与える動物細胞への分子作用～

長崎大学大学院生産科学研究科 山口 拓

## 第1章 植物由来物質およびその誘導体が与える動物細胞への分子作用

### 第1節 筋細胞

**【背景と目的】** ミオシンは ATP をエネルギー源とし、アクチン線維上を移動するタンパク質である。最初に発見された分子モーターで、筋収縮に関わるタンパク質として単離された。ミオシンの構造や機能を詳細に解析することは、分子モーターに関わる多様な生命活動の理解につながる。今回の研究は植物から抽出された生理活性物質であるミオシン ATPase 阻害剤、トリデシルリゾルシン酸 (TRA) を用いて、ミオシン ATPase 活性阻害の分子機構を解析することを目的とした。

**【方法】** TRA の類似体を合成し、TRA 存在下におけるミオシン EDTA(K<sup>+</sup>)-ATPase 活性、Mg<sup>2+</sup>-ATPase 活性、ミオシン頭部の構造変化、アクチンとの結合機能、筋原線維の収縮速度を測定、解析した。

**【結果】** TRA とその類似体の EDTA(K<sup>+</sup>)-ATPase 活性を阻害する効果を比較し、アルキル鎖とカルボキシル基が TRA の必須の構造であることが示された。また Mg<sup>2+</sup>-ATPase 活性を活性化し、そのときミオシン頭部に特異的な構造変化が起きること、ATPase 機能以外にもミオシンのアクチン結合を阻害することが明らかになった。

**【考察】** 阻害効果に必須な TRA の分子構造の性質から、TRA とミオシンの結合はカルボキシル基とアルキル鎖を介して起こることが示唆された。この TRA 結合様式と EDTA(K<sup>+</sup>)-ATPase 活性の阻害、Mg<sup>2+</sup>-ATPase 活性の活性化の作用はアクチン結合と類似しており、TRA の結合がアクチンによる活性化と類似の構造変化をミオシン分子に引き起こしている可能性がある。今後はミオシン分子上の TRA の結合部位を特定することと、TRA が結合したときのミオシン構造の詳細な解析が重要である。

### 第2節 非筋細胞

**【背景と目的】** 脊椎動物の非筋細胞ではそれぞれミオシン IIA、IIB、IIC と呼ばれる種類のみオシン II アイソフォームが発現している。これらは、細胞内で異なる位置に分布している。細胞運動において非筋ミオシン II がどのような機能を果たしているのか詳細は明らかでない。この研究では、骨格筋ミオシンのアクチン結合を阻害する植物由来物質 TRA を用いて、細胞の運動機能への影響を解析し、細胞運動にミオシンがどのように関わっているか調べることを目的とした。

**【方法】** HeLa 細胞を用いて、TRA またはその類似体を添加した時の Pseudopodia の伸長と収縮速度、分裂直後の細胞面積の増大速度、細胞の間隙を埋める (wound healing) の細胞伸展速度を測定した。TRA による伸展部の構造への影響を見るため、ミオシン IIA と IIB

の抗体染色を行った。より詳細な分布の影響を調べるため、ミオシン軽鎖の脱リン酸化型変異体を導入した細胞でも同様に染色を行った。

**【結果】** TRA 類似体、TRA $\gamma$ を細胞に加えることで、pseudopodia の伸長と収縮速度、分裂後の細胞伸展速度、wound healing における細胞伸展速度がそれぞれ抑制された。また通常の細胞において TRA $\gamma$  によるミオシン局在への影響は見られなかったが、変異体を導入した細胞において、細胞伸展部におけるミオシン IIB の分布が減少した。

**【考察】** TRA $\gamma$  は、非筋細胞において細胞伸展を抑制することがわかった。最近の報告で、ミオシン IIA が細胞伸展の抑制的な制御を行っているのに対して、IIB は伸展の促進に働いているということが考えられている。このことは TRA $\gamma$  がミオシン IIB により強い効果を持つことを示唆しており、細胞内局在でミオシン IIB のみが影響を受けた今回の結果もこれを支持する。IIA と IIB は ATPase サイクルの違いからアクチンと結合している割合が異なり、TRA $\gamma$  がアクチンへの結合様式の異なるアイソフォームに対して、選択的な効果をもつことが示唆された。

## 第2章 ウイルス由来物質が与える動物細胞への分子作用

**【背景と目的】** ヒト成人 T 細胞白血病 (ATL) は致死性の T 細胞悪性腫瘍である。腫瘍形成のメカニズムは明らかでないが、ATL は HTLV-1 の感染が関与すること、HTLV-1 由来のウイルスタンパク質が ATL の白血病発症のプロセスに必須であると考えられてきた。最近、ウイルスタンパク質のひとつ、HTLV-1 bZIP 因子 (HBZ) の新規アイソフォームである HBZ-SI が同定された。今回の研究はこのタンパク質の機能解析の一部として、2つのアイソフォームの細胞内局在を調べた。

**【方法】** HBZ と HBZ-SI の cDNA フラグメントを pEGFP ベクターに導入し、その2つの発現ベクターを COS7 細胞に対してトランスフェクションを行った。核小体局在を調べるため、C23 抗体を用いて抗体染色も行った。

**【結果】** 以前の報告と一致して、HBZ は核内に限定して果粒状の分布を示したが、HBZ-SI は果粒状の分布に加えて核小体に似た核内構造に、密度の高いスポットが見られた。このスポットは核小体の染色と一致した。

**【考察】** この研究では、HBZ と HBZ-SI が異なる核内局在パターンを示す発見ができた。だが現在において HBZ-SI がどのようにして核小体内に局在するのかはわかっていない。今後、HBZ アイソフォームが示す異なる核内局在のメカニズムを解明するには、核小体への移行を補助する核タンパク質の更なる解析を進めることが必要であると考えられる。