

*Tetrahymena thermophila* ミオシンの分類と機能予測

杉田 真希, 岩滝 仁範, 中野 賢太郎, 沼田 治 (筑波大学大学院 生命環境科学研究科)

A classification and functions of *Tetrahymena thermophila* myosins

Maki SUGITA, Yoshinori IWATAKI, Kentaro NAKANO, Osamu NUMATA

(Graduate school of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba)

## SUMMARY

It is considered that actin and type-II myosin work together in assembly of the contractile ring during cytokinesis. Thirteen genes encoding myosin have been found in *T. thermophila*. However, type-II myosin is absent in this organism. We searched the functional domain in the tail regions of *Tetrahymena* myosins. They were finally classified into four groups which had FERM (lipid-binding), ATS1 (control of microtubules), Smc (dimeric coiled-coil structure), and other functions. To identify myosins involved in cytokinesis, we are analyzing the cellular distributions of Myo13 and Myo6, as both these myosins form dimers and could possibly function in cytokinesis instead of type-II myosin.

**【目的】** 細胞質分裂は、アクトミオシンからなる収縮環の収縮によって起こる。収縮環を構成するミオシンは、筋細胞に発現するものと近縁のII型ミオシンである。現在までに見つかっているミオシンファミリーは19種類あるが<sup>1)</sup>、収縮環の収縮にII型ファミリー以外のミオシンが関わるかについては、よく分かっていない。繊毛虫テトラヒメナは、動物細胞と同様に収縮環の収縮を利用して細胞質分裂を行なう。しかし、テトラヒメナはII型ミオシンを発現していないことが、最近のゲノムプロジェクトにより判明した。そのため、テトラヒメナの収縮環にはII型ミオシンの機能を代替するミオシンが存在すると考えられる。そこで、1次構造の予測により、テトラヒメナのミオシンの中で、II型の代わりに細胞質分裂に働くものを探索する。

**【材料と方法】** ゲノムプロジェクトにより判明したミオシン遺伝子の配列をもとに作成したプライマーを

用いて、*Tetrahymena thermophila* の cDNA ライブラリーを鋳型とした PCR を行ない、各ミオシンの cDNA を得た。塩基配列の決定後、予測された13種類のテトラヒメナのミオシンのアミノ酸配列について NCBI の BLAST 検索を行ない、尾部の機能ドメインを予測した。さらに、clustal W を用いて分子系統樹を作成した。

**【結果と考察】** 13種類のミオシンのアミノ酸配列を他の生物のミオシンと比較して分子系統樹を作成した。MYO13以外の12種類のミオシンは、新しいクラスターを形成した。これら12種類のミオシンは、尾部に存在するドメインによって4つのサブクラスに分けられた。それらは、微小管に結合する MyTH4ドメイン<sup>2)</sup> を持つもの(MYO4、5、6、8)、脂質結合ドメインの FERM と MyTH4を持つもの(MYO1、2、7、9)、微小管の制御に関与する ATS1ドメインを持つもの(MYO3、10、11、12)、2量体形成に関わる Smc

ドメインを持つもの (MYO13) である。一方、*T. thermophila* にはⅡ型ミオシンは存在しないことが判明した。しかし、MYO6は既に精製されている *T. pyriformis* のミオシン<sup>3)</sup> と同じアミノ酸配列を有することを確認した。また、MYO13は、BLAST 検索の結果、Smc ドメインを持つことがわかった。このドメインは逆平行の coiled-coil 構造を形成することから、Myo13は双極性のフィラメントを形成することが可能であると考えられた。双極性のフィラメントは、Ⅱ型ミオシンに特徴的に見られ、大きな収縮力を生み出している。

以上の解析から、テトラヒメナのミオシンのうち、Ⅱ型ミオシンの機能を代替する可能性が高いのは MYO6と MYO13である。今後これらのミオシンについて機能解析を行なう。

#### [文献]

- 1) Williams, S.A. and Gavin, R.H. (2005) *Cell Motil. Cytoskeleton*, 61: 237-243.
- 2) Kanzawa N. *et al.* (1996) *Comp. Biochem. Physiol.*, 115: 547-551.
- 3) Weber, K.L. *et al.* (2004) *Nature*. 431: 325-329.