

---

## Mini Review

---

### 原生動物ミオシンの魅力

杉田真希\*, 中野賢太郎, 沼田治

筑波大学大学院生命環境科学研究科生物科学専攻

〒305-8572 茨城県つくば市天王台1-1-1

### Atractive myosins in Protozoa

Maki SUGITA\*, Kentaro NAKANO and Osamu NUMATA

*Biological Sciences, Graduate School of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba, Ibaraki 305-8572, Japan*

#### SUMMARY

Myosin is an eukaryotic motor protein interacting with actin filaments. It is categorized into 24 classes by based on the conserved motor domain. Each myosin possesses divergent functions via characteristic domains in a tail. Most of the intercellular functions of myosins have been studied in metazoan cells. For example, myosins function in cytokinesis, phagocytosis, cell migration and cargo transport. In addition, some myosins are involved in regulating signal transduction. It has recently been uncovered that several novel types of myosins function in Protozoa and exert in unique cellular function. In this mini review I would like to introduce the attraction of protozoan myosins.

#### はじめに

細胞の形態維持や運動には、細胞骨格の働きが重要である。主要な細胞骨格であるアクチンは、モータータンパク質であるミオシンと相互作用することによって、細胞質分裂やファゴサイトーシス、細胞移動、そして物質輸送やシグナル伝達などの様々な働きをしている (Soldati, 2003 ; Krendel and Mooseker, 2005 らによる総説)。これらのミオシンの細胞内機能は後生生物でよく研究されてきたが、原生動物に

おいても、細胞質分裂やファゴサイトーシスなどの生命現象にミオシンの働きが重要であることが明らかになりつつある。さらに、今まで知られていなかったユニークなアクチンやミオシンの性質が続々と原生動物から発見されている。このミニ・レビューでは、原生動物のミオシンを中心とした細胞骨格系の多様性とその魅力について紹介したい。

#### 多様なミオシン

現在150種類以上のミオシンが発見されており、それらはアミノ酸配列から24のクラスに分類されている (Foth et al., 2005)。ヒト *Homo sapiens* は12クラスにわたる41種類、細胞性粘菌 *Dictyostelium discoideum* は6クラス13種類、出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae*

---

\*Corresponding author

Tel/Fax: +81-29-853-4530

E-mail: makimaki@mail2.accsnet.ne.jp

Received: 15 January 2007



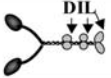
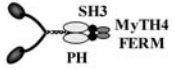
クラス	ミオシンの形状	特徴	代表的な機能
I		単頭のみオシン 尾部には膜結合ドメインや アクチン結合ドメインを持っている	膜とアクチン細胞骨格の架橋 仮足の伸長、エンドサイトーシス エキソサイトーシス、ファゴサイトーシス
II		尾部に長いコイルドコイルドメインを持つ 双極性のフィラメントを形成する	筋収縮、細胞質分裂、細胞接着 ファゴサイトーシス
V		尾部に DIL と呼ばれる 輸送体結合ドメインを持つ	膜小胞やオルガネラ、mRNA等の輸送 細胞質分裂
X		尾部にはシグナル伝達に関わる PH、タンパク 質間相互作用に関わる SH3、膜結合に関わる MyTH4 と FERM ドメインが並んでいる	仮足の伸長、ファゴサイトーシス

図1 代表的なミオシンの形状とその特徴及び細胞内での働き。濃い楕円はモータードメインを示す。図中に軽鎖は示していない。

は3クラス5種類のみオシン遺伝子を持つ (Soldati, 2003 による総説)。大半の生物は、生物種及び細胞種ごとの生命活動を円滑に行なうために、クラスの異なる複数のミオシン遺伝子を備えている (図1)

ミオシンのアミノ酸配列の1次構造は、頭部、頸部、尾部の3部位に分けることができる。最もN末端側の頭部は、アクチン結合部位やATPaseの活性中心を持つモータードメインで、ミオシン全体でよく保存されている。中央の頸部には軽鎖が結合するIQモチーフがあり、ミオシンの活性制御に関与している。そして尾部には、各クラスのみオシンに特有の機能ドメインがある。頭部の保存された配列について分子系統樹を作製した結果は、尾部の機能ドメインに基づいてグループ分けした結果とほぼ等しい。そのため、各クラスのみオシンは、進化の過程において、それぞれに特徴的な機能を徐々に獲得してきたと考えられる。

## 原生動物のみオシン

原生動物には、テトラヒメナやゾウリムシなどの繊毛虫、マラリア原虫やトキソプラズマなどの寄生原虫 (アピコンプレクサ)、アメーバなどが含まれ、それらのみオシンについての詳細な機能解析は、昨今のゲノム解読から得られる情報をもとに着手されたばかりである。例外としては、古くから細胞質分裂や細胞運動におけるみオシンの働きがよく解析されてきた細胞性粘菌 *D. discoideum* が挙げられる。これまでの研究から、テトラヒメナ *Tetrahymena thermophila* (Hosein et al., 2005) や、マラリア原

虫 *Plasmodium falciparum* (Chaparro-Olaya et al., 2005)、トキソプラズマ *Toxoplasma gondii* (Delbac et al., 2001; Herm-Götz et al., 2002) において、部分のみオシンの機能が解析されている。その他にも、*Cryptosporidium parvum* (Wetzel et al., 2005)、*Gregarina polymorpha* (Heinzeiman, 2004)、*Babesia bovis* (Lew et al., 2002) などの原生動物がみオシンを持っていることが報告されている。

繊毛虫、アピコンプレクサ、渦鞭毛藻からなるアルベオラータと、珪藻やラビリンチュラを含むストラメノパイルは、進化系統的にクロムアルベオラータ生物群を形成している。この生物群は、クラスXIV, XXII, XXIII, XXIVに属する極めて特徴的なみオシンを持っている (Foth et al., 2005)。珪藻 *Craspedostauros australis* (Poulsen et al., 1999) と、ラビリンチュラ *Labyrinthula sp.* (Preston and King, 2005) ではみオシン遺伝子の存在は確認されていないが、みオシン阻害剤がそれらの細胞運動を抑制することが知られている。一方、アピコンプレクサ類は、その分類群中にヒトや家畜を宿主とする寄生虫を数多く含むため、研究がよく進んでいる。これらの生物群の細胞運動の仕組みを明らかにすることは医学的に重要であり、細胞学的にも興味深い。アピコンプレクサ類では、分裂に関与するみオシン (Delbac et al., 2001) や、宿主への侵入の際に重要な運動である Gliding motility に関わるみオシン (Herm-Götz et al., 2002) が見つかっている。これらのみオシンは、機能を決定するべき尾部が非常に短いという点で、多様なみオシンの中でも異色を放っている。Gliding motility に関わるみオシン MyoA は、短い尾部で MTIP (Myosin Tail Interacting Protein) と複合体を形成し、

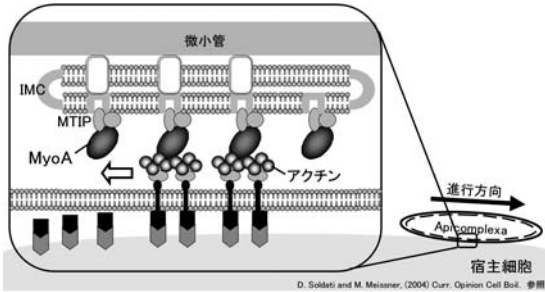


図 2 アピコンプレキサにおける Gliding motility の模式図。ミオシン MyoA は、アクチンを介して細胞表面の糖タンパク質を白矢印の方向に動かす。その結果、虫体の黒矢印方向への細胞運動が生じる。

IMC (Inner Membrane Complex) と呼ばれる内膜系と結合している。一方、アクチン繊維は糖タンパク質を介して細胞表面の接着因子と結合している。寄生虫は、その接着因子で基質 (宿主の細胞表面) に結合し、アクチンとミオシンを相互作用させることで、滑走運動を行なう (Soldati and Meissner, 2004; Baum et al., 2006らによる総説) (図 2)。

**繊毛虫テトラヒメナの新規ミオシンMyo13**

尾部に特徴的な機能ドメインを持つミオシンは、繊毛虫テトラヒメナにも見られる (Williams and Gavin, 2005 による総説; 著者ら、未発表結果)。最も一般的に知られているクラスIIミオシンは、筋収縮や動物細胞の細胞質分裂に働く。テトラヒメナは、動物細胞と同様な収縮環による細胞質分裂を行なうと考えられてきた (Yasuda et al., 1980)。しかし、*T. thermophila*では13種類のミオシン遺伝子が発現しているにも拘らず、クラスIIに属するミオシンは存在しない。そのため、どのミオシンが収縮環の駆動力となっているのかは不明である。テトラヒメナの Myo13 は、尾部にやや長いコイルドコイルドメインを持っているため (図 3)、双極性のミオシンフィラメントを形成し、強い収縮力を生み出す可能性がある。そのためテトラヒメナにおいては、Myo13がクラスIIミオシンと同様の機能を有し、細胞質分裂に働くことが予想された。

そこで、抗Myo13抗体を作製し、蛍光抗体法によりMyo13の局在性を調べた。意外なことに、Myo13は口部装置と細胞肛門に局在していた。これまでに細胞肛門については、その構造や機能制御についての知見が乏しい。我々は、Myo13を細胞肛門のマー

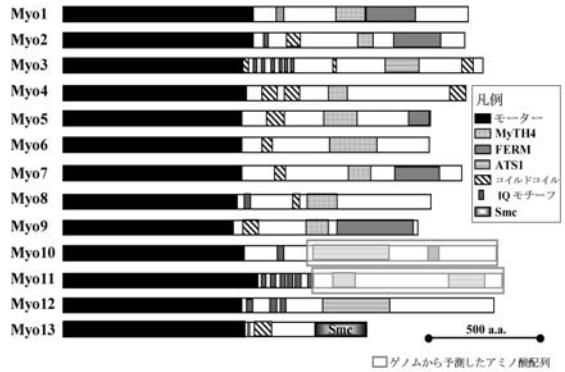


図 3 *T. thermophila* のミオシンの1次構造。当研究室では Myo11 と Myo12の一部を除いた全てのミオシンについて、cDNA をクローニングし発現を確認した (岩滝ら、原生動物学会誌第37巻, 2004)。それらから推定されるアミノ酸配列について BLAST 検索によりドメインを予測した。クローニングをしていない領域についてはゲノムから予測したアミノ酸配列を用いた。

カーとして利用することで、アクチン重合を阻害したときに細胞肛門が大きく開口することを発見した。このことは SEM による観察からも支持された (図 4)。さらにこの細胞では、排出される食胞膜のリサイクリングが異常になり、余った食胞膜が開口部から突出することもわかった (著者ら、未発表結果)。

一方、テトラヒメナのミオシン Myo1 は、食胞の細胞内輸送に働いていることが報告されている

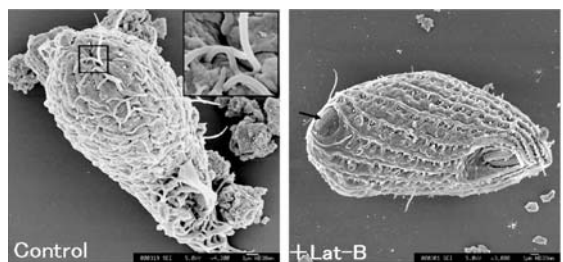


図 4 *T. thermophila* のSEM像

Control, 細胞肛門の形状はスリット状である。右上は細胞肛門の拡大図。+Lat-B, アクチン重合阻害剤であるLat-B処理によって細胞肛門が大きく開口している様子。矢印は細胞肛門開口部からの膜状の突出物を示している。細胞は表面を観察しやすいように脱繊毛してある。

(Hosein et al., 2005)。Myo1 は、脂質膜と結合し得る尾部の FERM ドメインを介して食胞膜に結合し、輸送すると考えられる。FERM ドメインを尾部に持つミオシンはクラス IV, VII, X, XII, XV等が知られており、テトラヒメナの Myo1, 2, 5, 7, 9 にも見られる。膜代謝の活発なテトラヒメナでは、細胞内の膜輸送に関与するミオシンの種類が多いことは合理的だと思われる。

## おわりに

いまだに多くの原生動物のミオシンの機能解析は手付かずの状態にある。さらに、エクスカベータの一種であるトリコモナス *Trichomonas vaginalis* (Pereira-Neves and Benchimol, 2006) の細胞質分裂や、紅藻 *Cyanidium caldarium* RK-1 (Takahashi et al., 1998) のファゴサイトーシスにはアクチンが関わっていることが報告されているが、これらの生物のゲノムにはミオシン遺伝子は存在しないようである。これらの生物のアクチンがどのようにして力を発揮しているのかは謎に包まれている。今後、進化とともに機能を多様化させた原生動物の、ミオシンをはじめとするアクチン細胞骨格の機能解析に興味を持たれる方が増えることを期待したい。

## 参考文献

- Baum, J., Papenfuss, A. T., Baum, B., Speed, T. P. and Cowman, A. F. (2006) Regulation of apicomplexan actin-based motility. *Microbiol.*, 4, 621-628.
- Chaparro-Olaya, J., Margos, G., Coles, D. J., Dluzewski, A. R., Mitchell, G. H., Wasserman, M. M. and Pinder, J. C. (2005) *Plasmodium falciparum* myosins: Transcription and translation during asexual parasite development. *Cell Motil. Cytoskeleton*, 60, 200-213.
- Delbac, F., Sanger, A., Neuhaus, E. M., Stratmann, R., Ajioka, J. W., Torsel, C., Herm-Gotz, A., Tomavo, S., Soldati, T. and Soldati, D. (2001) *Toxoplasma gondii* myosin B/C: one gene, two tails, two localizations, and a role in parasite division. *J. Cell Biol.*, 155, 613-623.
- Foth, B. J., Goedecke, M. C. and Soldati, D. (2005) New insights into myosin evolution and classification. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 103, 3681-3686.
- Heintzelman, M. B. (2004) Actin and myosin in *Gregarina polymorpha*. *Cell Motil. Cytoskeleton*, 58, 83-95.
- Herm-Gotz, A., Weiss, S., Stratmann, R., Fujita-Becker, S., Ruff, C., Meyhofer, E., Soldati, T., Manstein, D. J., Greeves, M. A. and Soldati, D. (2002) *Toxoplasma gondii* myosin A and its light chain: a fast, single-headed, plus-end-directed motor. *EMBO J.*, 21, 2149-2158.
- Hosein, R. E., Williams, S. A. and Gavin, R. H. (2005) Directed motility of phagosomes in *Tetrahymena thermophila* requires actin and Myo1p, a novel unconventional myosin. *Cell Motil. Cytoskeleton*, 61, 49-60.
- Krendel, M. and Mooseker, M. S. (2005) Myosins: Tails (and heads) of functional diversity. *Physiology*, 20, 239-251.
- Lew, A. E. (2002) Myosins of *Babesia bovis*: Molecular characterization, erythrocyte invasion, and phylogeny. *Cell Motil. Cytoskeleton*, 52, 202-220.
- Pereira-Neves, A. and Benchimol, M. (2006) Phagocytosis by *Trichomonas vaginalis* - New insight. *Biol. Cell*, doi: 10.1042/BC20060084.
- Poulsen, N. C., Spector, I., Spurck, T. P., Schultz, T. F. and Wetherbee, R. (1999) Diatom gliding is the result of an actin-myosin motility system. *Cell Motil. Cytoskeleton*, 44, 23-33.
- Preston, T. M. and King, C. A. (2005) Actin-based motility in the net slime mould *Labyrinthula*: Evidence for the role of myosin in gliding movement. *J. Eukaryot. Microbiol.* 52, 461-475.
- Soldati, D. and Meisner, M. (2004) *Toxoplasma* as a novel system for motility. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 16, 32-40.
- Soldati, T. (2003) Unconventional myosins, actin dynamics and endocytosis: A Menage  Trois? *Traffic*, 4, 358-366.
- Takahashi, H., Takano, H., Kuroiwa, H., Itoh, R., Toda, K., Kawano, S. and Kuroiwa, T. (1998) A possible role for actin dots in the formation of the contractile ring in the ultra-micro alga *Cyanidium caldarium* RK-1. *Protoplasma*, 202, 91-104.
- Wetzel, D. M., Schmidt, J., Kuhlenschmidt, M. S., Dubey, J. P. and Sibley, J. D. (2005) Gliding motility leads to active cellular invasion by *Cryptosporidium parvum* sporozoites. *Infect. Immun.*, 5379-5387.
- Williams, S. A. and Gavin, R. H. (2005) Myosin genes in *Tetrahymena*. *Cell Motil. Cytoskeleton*, 61, 237-243.
- Yasuda, T., Numata, O., Ohnishi, K. and Watanabe, Y. (1980) A contractile ring and cortical changes found in the dividing *Tetrahymena pyriformis*. *Exp. Cell Res.*, 128, 407-417.