

# 筋原線維の太いフィラメントにおけるミオシン分子の動態

食品安全・機能性開発学 食肉科学分野

安川 裕也

【目的】 食肉の主要タンパク質であるミオシンは、骨格筋の筋原線維内で 300 個以上の分子が集合し双極性の太いフィラメントを形成している。生体内のタンパク質複合体は常に新たなタンパク質と置き換わっていることから、太いフィラメントを形成する個々のミオシン分子も新たなミオシン分子と置換していると考えられるが、その置換様相ならびにメカニズムについては不明である。そこで本研究では、培養骨格筋細胞を用いて、太いフィラメントを形成しているミオシン分子の置換様相を蛍光分子イメージング法により検討した。

【方法】 11 日目鶏胚胸筋から調製した骨格筋細胞に GFP 標識ミオシン重鎖 (GFP-Myh3) を発現するコンストラクトを遺伝子導入した後、分化誘導し筋管を形成させた。GFP-Myh3 が発現している筋管の中央部および先端部にレーザー光を集光させて蛍光を退色させた後、蛍光の回復を共焦点レーザー顕微鏡により経時的に観察した (光退色後蛍光回復法: FRAP)。さらに、アクチン-ミオシン相互作用阻害剤 (N-benzyl-p-toluenesulphonamide; BTS)、微小管重合阻害剤 (Nocodazole; NZ)、あるいはタンパク質翻訳阻害剤 (Cycloheximide; CX) を培養液に添加して同様に FRAP を行った。

【結果と考察】 GFP-Myh3 を発現させた筋細胞を用いて、太いフィラメントにおけるミオシン分子の置換様相を検討した結果、ミオシン分子は太いフィラメント内でダイナミックに置換していること、その置換には、アクチン-ミオシン相互作用、微小管による細胞内物質輸送、および新規のミオシン分子生合成は必須ではないことが明らかになった。以上の結果から、筋原線維内で太いフィラメントを形成しているミオシン分子の置換には、サルコメア近傍の細胞質に存在する既存のミオシン分子が用いられていると考えられた。