

線虫精子のアメーバ運動メカニズム



しま ぶくろ かつ や
島 袋 勝 弥

目的

線虫の精子は鞭毛を持たずに、アメーバ運動で移動する。この動きにアクチンやミオシンなどのよく知られたタンパク質は関わっておらず、MSP (Major Sperm Protein) という線虫精子に独自の細胞骨格タンパク質が使われる。本研究では、線虫精子のユニークな運動機構を解明するために、1) 単一MSP線維のダイナミクス、2) MSP細胞骨格における線維の高次構造を明らかにする。平成25年度は、1) のAFMによるMSP線維の観察を中心に行う。

高速AFMによる単一MSP線維の解析

(平成25年度、島袋; 実験遂行、紺野; AFM測定の技術的なサポート)

通常、細胞骨格のような線維のダイナミクスの解析には、蛍光色素で標識したタンパク質と光学顕微鏡の組み合わせが用いられる。しかし、MSP線維の平均長は約0.3 μ mであり、光学顕微鏡では分解能が足りない。そこで申請者は、金沢大学の安藤教授らのグループが開発した高速AFMでMSPの単一線維を可視化し、そのダイナミクスを解析する。AFMは、微小な針で試料表面の凹凸を解析する装置で、細胞骨格のような線維構造体を極めて感度よく検出できる。

実際の実験は至って単純で、カバーガラス、またはマイカ上にのせた精子抽出液(希釈し、ATP添加)を高速AFMで観察する。これまでの電子顕微

鏡の結果から、抽出液中にはMSP線維のメッシュワークであるMSPファイバーの他に、多数の孤立した線維が存在することがわかっており、AFM観察はこれらの線維を観察対象とする。

すでに予備実験として、ガラス基板上にのせた回虫精子の抽出液(100倍希釈、1 mM ATP含む)の観察を行い、直径10 nm、平均長0.4 μ mの線維構造体を多数確認している。これまでの構造解析の結果を踏まえると、これら線維構造体はMSP線維に間違いはない。今後は、この結果を足がかりに、観察中の溶液にマイクロシリンジでホスファターゼなどを加えるなどし、MSP線維の重合・脱重合をリアルタイムで検出する。AFMの観察では、試料の基盤への吸着がタンパク質本来の活性を妨げることがある。この場合を考え、MSP線維への基盤の影響を最小限に抑えるために、これまでにAFMの実験で実績のある基盤コーティング法を試し、最適な条件を確定させる。



図1. 高速AFMによる単一MSP線維の像。回虫精子抽出液を高速AFMで観察したところ、線維構造体が無数観察された。しかも、図の左側の線維(矢頭)のように、クネクネと動く様子も観察された。

研究のキーワード：アメーバ運動、回虫精子、細胞骨格、MSP

研究室HPのURL：<https://sites.google.com/site/shimabukurolab/>