B882

時間分割蛍光偏光解消測定によるアクチンフィラメントの構造変化について

○崎山 慶太、三木 正雄（福井大・工）

アクチンとミオシンの相互作用は骨格筋においてはトロポニン-トロポミオシンにより調節されている。この制御に関して、細いフィラメントは3状態をとることが提唱され、我々はTnIはこの3状態に対応してアクチンフィラメント上で位置を変えることを報告した(Kimura et al., (2002)J. Biochem. 132, 93-102)。このとき、アクチンフィラメント自身にどのような構造変化が起こっているのかを知ることは、制御メカニズムを考える上で極めて重要であると思われる。アクチンのLys-61に特異的に蛍光色素FITCを導入することができ、FITCをラベルしたアクチンの重合能は著しく減少する。しかし、これにファロイジンを加えると重合能は回復することを報告した(Miki, (1987) Eur. J. Biochem. 164, 229-235)。定常励起光による蛍光偏光解消測定によると、このLys-61に導入したFITCはかなり大きな自由度で動き、Lys-61周辺領域はG-actinでもF-actinでもかなり柔軟性をもつことが示唆された。一方、アクチンのラベルとしてよく用いられているCys-374の蛍光偏光解消は、アクチンフィラメントではほとんど回転緩和がみられず、アクチンがトロポミオシン、トロポニン、さらにはミオシンと相互作用するときに生じるであろう回転緩和の変化は蛍光測定の時間範囲ではみることができなかった。今回はこのFITCをラベルしたアクチンのナノ秒時間分割蛍光偏光解消を測定し、細いフィラメントの3状態に対応したアクチンフィラメント自身の構造変化を検出できないかについての実験を行ったので、それについて報告する。

K.Sakiyama,M.Miki : The structural change of actin filament observed by time-dominant lifetime measurement