

明、暗、明、そして再び、暗か？ 設立30周年にあたり

小 川 和 男

「トリプシンをきかせてみたら？」

いまは亡き恩師の一人である秋野先生とお茶をすすっていた博士課程1年の冬だったと思う。

当時、現象としてはダイニンが鞭毛運動に関与していることはわかっていたが、実体としてのダイニンはほとんどわかっていなかった。

修士課程でダイニンの精製を終えて、「さあ、どうしたものでしょう？」という話になったのだと思う。

そもそもプテリンの研究室でダイニンの研究が堂々で行われていたなんて、近頃の世知辛い世の中の常識では考えられないことが、当時は、あった。

無知とは恐ろしいものだ。

これといったアイデアもなかったので、とにかく、ダイニンの粗抽出液にトリプシンを加えてみた。ゲル中の活性染色で、分解過程を調べていくと、トリプシンを過剰に加えても、それ以上小さくならないことがわかった。分子量36万のfragment Aになった瞬間だった(1973年)。良い抗体ができたため、いろいろなことがわかった。細胞質にもダイニンがあることがわかった。

Fragment AのSDS-PAGEでは19万と13.5万の2本のバンドが出ていた。しばらくして、ダイニンは数種類存在することが明らかになりつつあった。Fragment Aは2種類のダイニンの限定分解物なのか？うまく説明ができなかった。その後長い間、「おかしな結論を出したかもしれない。間違ったかもしれない」という不安がずっと頭の中を占めていた。ダイニンの研究は就職とともに止めた。

ダイニンの命名者であるギボンス先生がこの不安を解消してくれた。1987年になっていた。低イオン強度溶液で抽出したダイニンに、加えるトリプシン量を詳細に変えてみると、いくつかあるダイニンのうち、 β ダイニンのみが限定分解を受け、残りは消化されてしまっていた。Fragment Aは β ダイニンのトリプシン限定分解物であった。よかった！では2本のバンドになるわけは？

基生研でダイニンの仕事を再開したのは止めてから10年が経っていた。

幸いなことに、ダイニンのクローニングは誰も手をつけていなかった。

抗体がまだ残っていたので、発現ライブラリーをつくりスクリーニングしてみた。沢山とれた。濃い反応をしたものをシークエンスした。3番目に取れたクローンにP-loop配列と19万のバンドのN末端配列が含まれていた。本物のクローンだった。プライマーを移動させてミニライブラリーを作り、ハイブリするクローンをシークエンスし、その配列を基にしてまたプライマーを設計しミニライブラリーを作っていくというやり方で全長をクローニングできた。幸いなことに、2番目に取れたクロー

ンが遺伝子のC末端をコードしていた。1991年のことだった。

2本のバンドのN-末端配列が見つかった β ダイニンでの位置を図の↓で示す。 $\alpha 1$ の↓と $\alpha 2$ の↓までが19万のバンド、 $\alpha 2$ からC末端までが13.5万のバンドに相当する。 $\alpha 2$ の領域はヘリックス構造が反対向きに走っており、ここで2つのバンドは分子内結合していることになる。Fragment Aの中で2本のバンドが離れないで残っていたことが氷解した瞬間だった。実はfragment Aはダイニンのモーター領域だったのだ。

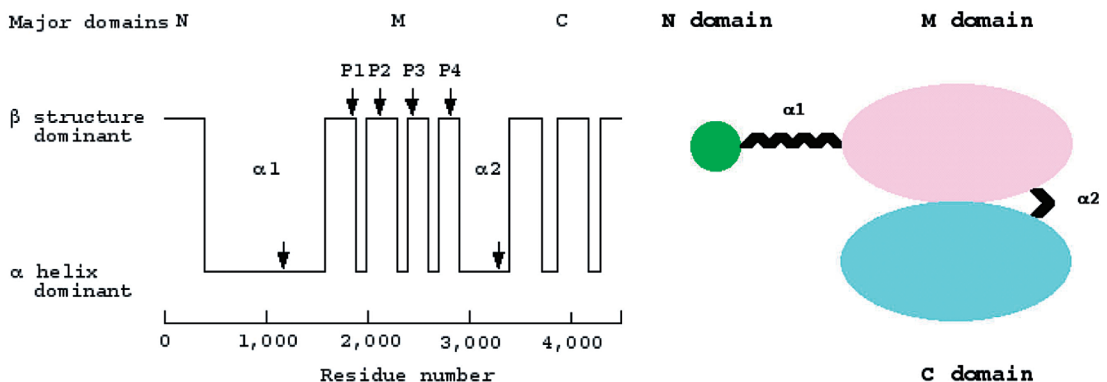


図 1.

β 構造に富む領域はM領域に4つあり、C領域に2つあり、前の4つがP-loop配列だが後ろの2つはわからなかった。その後すべてAAAモジュールの範疇にはいりダイニンのfragment AはAAAモジュールのヘキサマーであることになっている。

本研究を遂行するにあたり、分析室と旧アイソトープ実験施設、旧細胞機構の西村研究室には大変お世話になった。すぐれた技術職員を配置し、分析室を研究所のすべての者に、また大学共同利用機関として全国の研究者に開放している基生研の制度は、今後とも維持していただきたいと思っている。

参考文献

Ogawa K. (1991) Four ATP-binding sites in the midregion of the beta-heavy chain of dynein. *Nature* 352, 643-645.