

ローダミン・ファロイディンと抗49Kタンパク質抗体による ショウジョウバエの卵形成の解析

荒井 知子・仁木 雄三・沼田 治

Tomoko ARAI¹⁾, Yuzo NIKI¹⁾ and Osamu NUMATA²⁾: Analysis of *Drosophila* ovaries by indirect immunohistochemistry with phalloidin and anti-49K protein of *Tetrahymena**

¹⁾Department of Biology, Faculty of Science, Ibaraki University, Mito, Ibaraki 310, Japan

²⁾Institute of Biological Sciences, University of Tsukuba, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan

現在までに、アクチンやチューブリンの抗体や細胞骨格阻害剤を用いた実験などからショウジョウバエの卵形成過程にはアクチンフィラメントや微小管が関与していることが明らかにされている。ファロイディンはF-アクチンに特異的に結合することから、これを蛍光標識したローダミン・ファロイディンなどがアクチンフィラメントの染色に用いられている。49Kタンパク質はテトラヒメナにおいて直径14nmの繊維を形成し口部形態形成、接合時の核の動きに関与している (Numata *et al.*, 1983, 1985)。さらに、このタンパク質の一次構造はミトコンドリアのクエン酸合成酵素と高い相同性があり、実際に酵素活性を示すことが明らかにされている (Numata *et al.*, 1991)。

今回、ローダミン・ファロイディンと抗49Kタンパク質抗体を用いてショウジョウバエの卵巣を蛍光染色し、観察した。

ローダミン・ファロイディン染色では、哺育細胞間、哺育細胞と卵母細胞の間に存在するリングカナルが強く染まる。また、細胞表層が染色され、それぞれの細胞の境界が線で縁どられたように見える。これは、1985年の Warn *et al.* の観察結果とほぼ一致している。抗49Kタンパク質抗体の染色では、細胞の核質部分は染まらずに細胞質部分が全体的に染まり、リングカナルや細胞表層は染まらない。このことから、49Kタンパク質と共通の抗原性をもつタンパク質は卵室内部ではアクチンとは全く異なる分布をすることが分かった。

ショウジョウバエの各卵巣小管は epithelial sheath によって覆われている。epithelial sheath の2層の基底膜の間には多数の筋肉性の繊維がサンドイッチ状に挟まれているのが電子顕微鏡によって観察されている。ローダミン・ファロイディンでは、この繊維がアクチンを含む部分と含まない部分とが規則的に繰り返される縞模様染まる。抗49Kタンパク質抗体はローダミン・ファロイディンで染まるのと同じ繊維を、アクチンを含まない部分を補う様なパターンで染色する。また、抗49Kタンパク質抗体では、ファロイディン染色では見られない筋芽細胞の周囲とその核の一部が染まる。

以上の結果から、ショウジョウバエの卵巣にも抗49Kタンパク質抗体と共通の抗原決定基を持つタンパク質が豊富に存在していることが明らかになった。

卵巣と成虫雌バエのタンパク質を SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動し、ウェスタン・ブロット法により抗49Kタンパク質抗体の特異性を調べた。その結果、抗49Kタンパク質抗体は、ショウジョウバエにおいては、分子量約40kDaのタンパク質と結合していることが分かった。このタンパク質は、分子量から考えて、これまでに知られている筋原繊維の構成タンパク質とは明らかに異なるものである。今後、このタンパク質の機能や構造についてさらに調べていきたいと思う。

引用文献

Numata, O., M. Hirono and Y. Watanabe (1983) *Exp. Cell Res.*, **148**, 207-220.

Numata, O., T. Sugai and Y. Watanabe (1985) *Nature*, **314**, 192-194.

Numata, O., T. Takemasa, I. Takagi, M. Hirono, H. Hirano, J. Chiba and Y. Watanabe (1991) *J. Biochem.*, **93**, 461-468.

Warn, R. M., H. O. Gutzeit, L. Smith and A. Warn (1985) *Exp. Cell Res.*, **157**, 355-363.

* Abstract of paper read at the 28th Annual Meeting of Arthropodan Embryological Society of Japan, May 22-23, 1992 (Okutama, Tokyo).