

1Da-8

新しい細胞骨格タンパク? : ATPおよびGTP

存在下でフィラメントを形成するタンパクについて

○水野孝一, 十河真司 (大阪大・理・生物)

高等植物では細胞生長、分裂あるいは分化の過程で細胞骨格として重要な働きをしているものとして微小管系およびアクチン系が知られており、その細胞学的研究はさかに行なわれており情報も次第に蓄積しつつある。しかしながらそれらの細胞骨格を構成するタンパク質群およびそれらの生化学的性質についての情報は残念ながら乏しいものである。特にアクチン系に関しては、それを構成するタンパク質の分離さえも確立されていない現状である。このような状況は今後のアクチン系の研究にとって好ましい事態ではない。そこで我々はアクチンの分離方法を確認する目的で研究をスタートさせ、*in vitro* で重合し、フィラメントを形成するアクチン様タンパク質(分子量約42kd)の分離に成功したが、その過程でチューブリンやアクチンとは異なり、しかもATPまたはGTP存在下で新しいタイプのフィラメントを形成するタンパク質を見出したので報告する。

材料と方法: 暗所25°Cで3日間育てたモヤシマメの子葉の直下から約2cmの切片を切り出し、1mM MgSO₄, 3mM DTT, 50μg/ml leupeptin, 0.2mM PMSFを含むMES buffer (pH6.5)でタンパク質を抽出する。100,000g上清から硫酸の60~90%飽和で析出する分画を取り、Sephadex G25で脱塩する。この未精製抽出液にATPまたはGTPを添加し、室温で約15分間おいても重合するが普通はさらにDEAE-Sephacelカラムで精製する。アクチンは150mM NaClを含むMES buffer (1mM MgSO₄, 1mM DTT, 0.2mM PMSFを含む)で溶出されるが、このタンパク質はさらに濃い250mM NaClを含むbufferで溶出される。

結果: 1mM ATPまたはGTPの添加によってフィラメントを形成するタンパク質の主成分はSDS-PAGEによる移動度より分子量約68kdと推定された。ATPあるいはGTPの添加で形成されるフィラメントはアクチンと同程度かやや細いが、おおむね数本から数十本のフィラメントから成るbundleを形成するが、ATPの方がより大きなbundleを形成する傾向がある。重合に対してはCa²⁺が大きな影響を与え、μM程度の濃度で重合を顕著に抑制した。アクチンの重合に影響を与えるサイトカラシンBやファロイジンはこのフィラメントの重合に対しては何の効果も示さなかった。

考察: はじめはアクチンの安定化を目的として加えたATPであったが思惑とは異なり、抽出液中からアクチンが減少してしまうという偶然から68kdタンパクは見出されたのであるが、この現象からもアクチンがこのフィラメントと密接な相互作用を有している事が伺える。Ca²⁺による重合阻害の機構も興味深い現象である。現在このタンパク質に対する抗体を調製中であるので間に合えばその結果も併せて報告したいと考えている。このように植物細胞には微小管系やアクチン系の他にもいくつか未知の機能を有する細胞骨格系が存在するようである。今回報告するタンパク質もその一つと思われる。