

ニワトリ胚筋組織のミクロソーム分画に  
ミオシンが含まれるか?<sup>1)</sup>

大日方 昂・丸山 工作

東京都 東京大学教養学部生物学教室

昭和 41 年 6 月 29 日受領

## ABSTRACT

Does the “Microsomal Fraction” of Muscle Cells of Early Chick Embryo Contain Myosin? T. Obinata and K. Maruyama (Biological Institute, College of General Education, University of Tokyo, Tokyo) *Zool. Mag.* 75: 280—282 (1966)

“Microsomal fraction” was prepared from 4-day chick embryo somites and 12-day posthatching chicken breast muscle, and the effect of ethylene diamine tetra acetate (EDTA) and some kinds of metals on the ATPase activity of the fraction was studied.  $Mg^{++}$  as well as  $Ca^{++}$ , a well known activator of myosin-ATPase, accelerated the ATPase action of “microsomal fraction” from the 4-day embryo and posthatching chicken in the presence of 0.2M KCl, as described in the previous paper (Obinata *et al.*, 1966). This fact may suggest the contamination of this fraction by myosin. However, the ATPase activity was remarkably inhibited by EDTA, which is a specific activator of myosin-ATPase at high ionic strength (*e. g.*, 1 M KCl) and alkaline pH (Table I). When a little quantity of adult chick myosin was mixed with “microsomal fraction” of chicken, the ATPase activity of myosin in the mixture was clearly activated by EDTA without any disturbance by microsomal components. In view of this result, if myosin was responsible for Ca-activated ATPase activity in the fraction, EDTA-activated ATPase should be detected in the fraction. From the observations in the present experiments and in our previous paper (Obinata *et al.* 1966), it can be concluded that the Ca-activated-ATPase activity in the fraction is due to the microsomal ATPase, not to myosin-ATPase and that the presence of myosin is, if any, negligible in “microsomal fraction”. This conclusion is also supported by the finding of the Ca-activated and EDTA-inhibited ATPase activity in the relaxing granules (microsomal granules) from

rabbit muscle (Y. Nagai and Y. Akita, 1965 and Y. Nagai 1965). (Received June 29, 1966)

発生初期ニワトリ胚筋母細胞中に観察される細繊維は遠心分離の結果、いわゆるミクロソーム分画、(105,000g. 60分の分画)に含まれ、アクチン・フィラメントであることが確かめられた。しかし、この分画のATPアーゼ作用は、ミオシンATPアーゼ活性化する  $Ca^{++}$  によっても促進された (Obinata *et al.*, 1966)。この分画には小胞体のほかにミオシンも共存するのであろうか。そこで今回更に、ミオシンATPアーゼの特異的活性剤である ethylene diamine tetra acetic acid (EDTA) の効果を調べた。

ミクロソーム分画は既述の方法で (Obinata *et al.*, 1966) 調製し、測定条件は Table 1 に示した。ミクロソーム分画のATPアーゼの性質は既に知られた様に  $Mg^{++}$  及び  $Ca^{++}$  により促進されたが、EDTA の作用は、ミオシン ATP アーゼを最も活性化する高イオン強度 (1M KCl), アルカリ側 pH の条件でも活性化は見られず逆に著しく抑制された。この抑制作用は二価金属イオンがキレートされる結果と推測される。胚で観察された結果は、ふ化後のヒヨコ筋から調製したミクロソーム分画についても同様である。精製された胚ミオシンでも、親ミオシンと同様、ATP アーゼの EDTA による活性化は著しく、 $Ca^{++}$  による活性化よりずっと大きい (大日方・丸山, 1965)。ヒヨコのミクロソーム分画に少量のニワトリの親ミオシンを混ぜてそのATPアーゼ活性を調べるとミオシン ATP アーゼはミクロソームに妨害されないで明らかに EDTA により活性化されることが認められた (Fig. 1)。従って、ミクロソーム分画の  $Ca^{++}$  によって促進される ATP アーゼが共存するミオシンによるとすれば、EDTA により活性化される ATP アーゼも同時に検出される筈である。

既に得られた結果、すなわちミクロソーム分画は外から加えたアクチンとは酵素的にも、流動複屈折的にも反応しないこと、分画中に thick filament (ミオシン・フィラメント) の存在が電子顕微鏡により観察されないこと (Obinata *et al.*, 1966) と現在の結果を合わせて考えると、筋細胞から調製されたミクロソーム分画中にミオシンは存在していな

<sup>1)</sup> 本研究費の一部は Muscular Dystrophy Associations of America の grant から支払われた。

Table 1 ATPase activity of "microsomal fraction" of 4-day chick embryo somites and 12-day posthatching chicken breast muscle.

	ATPase activity ( $\mu$ moles P/10 minutes)				
	+EDTA	control <sup>1)</sup>	+Ca <sup>++</sup>	+Mg <sup>++</sup>	control <sup>2)</sup>
4-day chick embryo	0.036	0.128	0.088	0.119	0.032
12-day posthatching chicken	0.425	0.607	2.85	2.48	0.441

Conditions: 1) 1 M KCl; 20 mM Tris-Maleate Buffer, pH 8.5; 2 mM ATP; 10 mM EDTA, when added; "microsomal fraction", 1.1 mg/ml in 4-day embryo or 0.54 mg/ml in posthatching chicken. Incubated for 15 minutes (embryo) or 5 minutes (chicken) at 25°C.

2) 0.2 M KCl; 20 mM Tris-Maleate Buffer, pH 8.0; 2 mM ATP; 5 mM CaCl<sub>2</sub> or 2 mM MgCl<sub>2</sub>, when added; "microsomal fraction", 0.32 mg/ml in 4-day embryo or 0.18 mg/ml in posthatching chicken. Incubated for 20 minutes (embryo) or 3 minutes (chicken) at 25°C. Total volume was 1.5 ml.

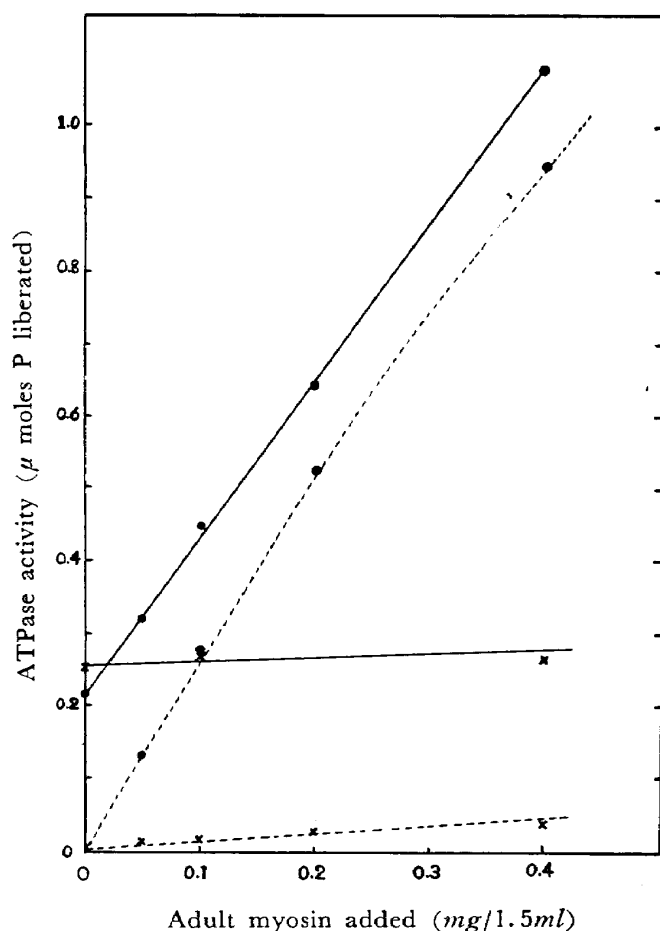


Fig. 1. Effect of EDTA on the ATPase activity of adult chick myosin in the presence or in the absence of "microsomal fraction" from 12-day posthatching chicken muscle.

Conditions, as in Table 1.

— : with "fraction"; ..... : without "fraction";  
● : with EDTA; X : without EDTA

いと考えられる。ミクロソーム分画に観察された、Ca<sup>++</sup>により促進される ATP アーゼはミオシン ATP アーゼによるのではなくミクロソーム自身の ATP アーゼによるものと考えるのが妥当である。この結論は、ウサギ筋より調製された弛緩因子(ミクロソーム顆粒)に Ca<sup>++</sup>より促進され、EDTAにより抑制される ATP アーゼが見られるという事実(Nagai and Akita, 1965; Nagai, 1965)によっても支持される。

#### 文 献

- NAGAI, Y. AND Y. AKITA (1965) Studies on the adenosine triphosphatase activity of vesicular relaxing factor. *J. Biochem.* 57: 109—115.  
NAGAI, Y. (1965) Further studies on the myofibrillar adenosine triphosphatase-inhibitory activity and the Mg<sup>++</sup>-dependent adenosine

triphosphatase of the relaxing granules. *J. Biochem.* 58 : 429—435.

OBINATA, T., M. YAMAMOTO AND K. MARUYAMA (1966) The identification of randomly formed thin filaments in differentiating muscle

cells of the chick embryo. *Develop. Biol.* 14 : (in press)

大日方昂・丸山工作 (1965) ニワトリ胚の筋組織の分化 III. ニワトリ胚のミオシンとアクチン. 動物学雑誌 74 : 345.