

チューブリン-SH基と結合グアニンヌクレオチドとの関係

西田栄介, 小林孝彰 (東大・理・生化)

Relationship between tubulin -SH groups and bound guanine nucleotides

EISUKE NISHIDA, TAKAAKI KOBAYASHI,

チューブリンは 55,000g あたり 7 モルの-SH基をもっており, グリセロール再構成系ではそのうち 2 モルを, グリセロールを含まない再構成系ではそのうち 1 モルを, SH阻害剤(PCMPS)によってブロックすると重合能が完全に失われる。ところが, 同様の処理によって, チューブリンの交換部位(E-site)のグアニンヌクレオチドはたかだか 8 %が遊離するにすぎず, 非交換部位(N-site)と交換部位をあわせた全体の結合ヌクレオチドの減少も 5 %程度にすぎない。しかも, 過剰の GSH を加えて重合能を回復させても, 遊離したヌクレオチドの再結合はみられない。以上のことは, 重合に関与していると思われる-SH基をブロックした時のチューブリン重合能の失活は, 結合ヌクレオチドの脱離に起因しているのではないことを示している。一方, -SH基をブロックしても, チューブリンに結合している GTP と GDP の比は全く変化しないので, -SH 基の化学修飾がヌクレオチドの結合様式を変化させ, GTP の代わりに GDP を結合することによって重合能を消失させている可能性もほとんど排除される。

しかし, チューブリン 55,000g あたり 7 モルの-SH 基をすべてブロックすると, 結合ヌクレオチドはすべて遊離する。これらの結果から, グアニンヌクレオチドの結合には, -SH基の存在が必要であるが, 重合能に直接関与していると思われる-SH基はヌクレオチドの結合と無関係であると結論できるであろう。

卵細胞より精製したチューブリンの試験管内での重合

栗山了子 (東大・理・生化)

In vitro polymerization of marine egg tubulin into microtubules

RYOKO KURIYAMA

ウニ及びヒトデの未受精卵又は第一分裂中期—後期受精卵からイオン交換樹脂を用いて重合能のあるチューブリンを調製して, *in vitro* における卵チューブリンの微小管への再構成系を確立した。卵細胞 homogenate の 20,000×g 上清に含まれる蛋白の約 0.2%が DEAE-Sephadex A-50 バッチ法で, 0.4—0.6M NaCl 溶出分画に回収され, これを 35°C に加温すると微小管が再構成されるので, 遠心で集める事によって更にチューブリンを精製する事が出来る。このように精製した卵チューブリン分画には, 6.3S, 分子量 110,000 (ゲル濾過法)—128,000 (沈降平衡法) のチューブリン二量体のみ含まれ, この二量体は 0.8 モルのコルヒチン結合能と, 0.80—0.97 モルの [³H]GTP 交換能を持つ。またウニ・ヒトデ卵チューブリンの α , β サブユニットは, 脳・ウニ精子鞭毛周辺小管チューブリンのそれらと同一の電気泳動度を示した。卵チューブリン分画を加温して得られる再構成微小管は, 紡錘体・星状体微小管の脱重合をひきおこす Ca⁺⁺ イオンやコルヒチン, 低温, SH 剤によってすみやかに脱重合する。又卵チューブリンの重合もこれらの処理で完全に阻害される。外から謂わゆる“タネ”分画を添加しなくとも卵チューブリン分画それ自体で微小管は形成される。しかし, 既に *in vitro* で脳チューブリン再構成系で二量体からの重合を誘起する作用が明らかになっている Tau 因子や高分子量成分, 纖毛周辺小管等を少量加える事によって著しい重合促進が観察される事より, 試験管内での卵チューブリンの再構成系は, 脳のそれと同じメカニズムによるものと考えられる。