

### アセトンパウダーから抽出される GADP アクチンについて (II)

大日方昂, 小野塚敏和, 青木雅彦 (千葉大・理・生物)

The extraction of GADP actin from acetone-dried actin powder

TAKASHI OBINATA, TOSHIKAZU ONOZUKA, MASAHIKO AOKI

通常のアクチンの調製法 (Straub の方法) において筋肉のアセトン粉末を水で抽出した時, 溶出した GADP アクチン (GADP) が共存するミオキナーゼなどの作用で, 二次的に GATP アクチン (GATP) に変えられることが指摘されている (Tsuboi and Hayashi, 1963) ので, この点を更に検討するために, 精製アクチンをアセトン粉末にし, ここから水で抽出されるアクチンの性質を調べた。その結果, このアクチン-アセトン粉末を  $0^{\circ}\text{C}$  の水で抽出して得られるものは GADP であることが次の理由により確認された。(1) 塩の存在下でも  $0^{\circ}\text{C}$  では重合せず,  $25^{\circ}\text{C}$  に加温すると速かに重合する。(2) 重合時に無機リン酸の放出がない。(3) 結合スクレオチドを薄層クロマトで調べた所 ADP であった。アクチン粉末からのアクチンの抽出率は,  $0^{\circ}\text{C}$ , 30分間抽出の際, 約50%, トロポミオシンの混入は特に認められず, アクチン粉末の保存が容易である点を考慮すると, この抽出法は GADP の抽出法として便利な面が多い。加温により重合したアクチンフィラメントの逆染色法による電顕観察では, リン酸を添加しないと典型的フィラメント像がみられない。アクチン粉末からの水抽出をミオキナーゼ ( $50\mu\text{g}/\text{ml}$ ) の存在下で行なうと, 得られるものは GATP であることが, この場合の重合が温度非依存性となることから確かめられた。また,  $0^{\circ}\text{C}$  で水抽出したアクチン (GATP) に, 後からミオキナーゼを添加しても, 速かに GATP に転換した。従来 Hayashi の方法で調製した GADP も同様にミオキナーゼの存在下で GATP になることが認められた。

### ホヤの筋収縮タンパク質 (I)

#### 単離された天然アクチンフィラメントについて

豊田直二, 大日方昂 (千葉大・理・生物)

The native thin filament from Ascidian muscle  
NAOZI TOYODA, TAKASHI OBINATA

無脊椎動物における筋収縮・緩弛の調節系としてアクチンに結合したトロポニン (TN)・トロポミオシン (TM) による系や, ミオシン自身による系が広く知られている。しかし, 脊椎動物に最も近い原索動物に関する研究は乏しいので, 本実験ではマホヤの体壁筋より天然アクチンフィラメント (NTF) を分離して調べた。

ホヤの NTF は Szent-Györgyi (1970) の方法を多少修正することにより, 電顕, 超遠心, および電気泳動的に高純度のものが容易に得られた。フィラメントの S20w は約 40S, 長さ約  $1\sim 2\mu\text{m}$  で, 典型的二重らせん構造をもち, また高い流動復屈折を示すなど, 他のアクチンフィラメントとよく似ている。ウサギミオシンに加えると,  $\text{Mg}^{++}$ -ATPase を活性化し, 粘度を上昇させるなど, ミオシンと良く反応することが認められた。SDS-アクリルアミドゲル電気泳動で調べた所, アクチンの他, TN および TM に相当するバンドが確認された。この NTF とウサギの精製ミオシンを混ぜた時  $\text{Mg}^{++}$ -ATPase および超遠心は  $\text{Ca}^{++}$  の存在に強く依存し, EGTA を加えると著しく阻害された。 $\text{Ca}^{++}$  の必要濃度は約  $10^{-5}\text{M}$  である。このような  $\text{Ca}^{++}$  依存性は NTF をトリプシンで軽く処理する (NTF タンパク量の  $1/500$  量で  $20^{\circ}\text{C}$ , 10分間) と完全に失われた。また NTF を  $0.6\text{M}$  KCl 存在下, 室温, 1hr 処理後  $10^5\times\text{g}\cdot 3\text{hr}$  遠心した上清を硫酸分画 ( $30\sim 80\%$  飽和) することにより, アクチンを含まない TM・TN 分画が得られた。この分画を  $\text{Ca}^{++}$  非感受性のウサギ合成アクチンミオシンに加えると著しい  $\text{Ca}^{++}$  感受性を示す様になった。以上の事からホヤの NTF に TM・TN 系の存在が結論される。