

微小管重合を制御する新しい蛋白質因子：精製と性質

西田栄介, 酒井彦一 (東大・理・生化)

A new protein factor that modulates assembly of microtubules *in vitro* I. Purification and characterization

EISUKE NISHIDA, HIKOICHI SAKAI

微小管重合を制御する新しい蛋白質因子をブタ脳組織より精製した。精製は、硫酸分画、アセトン分画、微小管蛋白-アガロースアフィニティークロマトおよび高速液体クロマトによるゲルろ過によった。精製蛋白質因子は、SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動で、分子量94,000のほぼ単一なバンドとして泳動された。この蛋白の Stokes 半径が大きく、沈降定数が小さいことは、この蛋白分子が偏長あるいは扁平である事を示唆する。この因子は、微小管重合を Mg^{2+} および Ca^{2+} 濃度に依存して阻害する。すなわち、通常の重合条件での阻害効果は小さいが、 Ca^{2+} または Mg^{2+} 濃度を増すと、その阻害効果が著しくなる。他の2価陽イオン、 Mn^{2+} 、 Ni^{2+} はその阻害効果を促進しない。特に Mg^{2+} が 3—8mM 程度存在する時の阻害効果が強く、 Mg^{2+} -依存 modulator とも言える性格をもっている。この阻害活性はトリプシンにより完全に失活するが熱や NEM 処理に対しては安定である。阻害様式は catalytic ではなく stoichiometric であり、微小管蛋白の1/10量程度で顕著な効果をもつ。また、阻害は可逆的であり、 Mg^{2+} または Ca^{2+} 濃度に依存した微小管脱重合作用も有する。この因子存在下で形成される微小管の microtubule-associated proteins (MAPs) 含量が対照に比べて少ないこと、外から MAPs を添加すると阻害が解除されること、この蛋白が MAPs-Sepharose に結合し、tubulin-Sepharose に結合しないことは、この蛋白因子の作用点が MAPs であることを示す。さらに、この蛋白因子が、アクチンの重合を阻害し、F-アクチンの脱重合を引き起こすことがわかった。微小管重合とアクチン重合を共に調節する蛋白は今まで知られておらず、この蛋白因子の生理的役割が注目される。

ウニ卵表層の Tubulin 重合阻害因子：精製とその性質

成瀬英典, 酒井彦一 (東大・理・生化)

Microtubule assembly inhibitory factor from sea urchin egg cortex : Purification and characterization

HIDENORI NARUSE, HIKOICHI SAKAI

バフソウニ未受精卵の表層から、*in vitro* における脳微小管の再構成を阻害する因子を精製した。精製には、単離した表層の 0.4M KCl 抽出分画を DNase および RNase 処理を行なった後、DEAE-cellulose, Hydroxyapatite およびしょ糖密度勾配遠心を用いた。精製された阻害因子は沈降定数約 6S で、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動上単一成分であった。またこの因子は比較的少量の糖鎖をもつ。その微小管再構成阻害活性は熱処理や各種の protease 処理によっては失活しなかったが、glycosidase (混合物) によってその活性の低下が見られたので、活性部位は糖部分であることがわかった。また、この因子は微小管の再構成を阻害するばかりでなく、再構成された微小管を急速に脱重合させる作用も有している。しかし、3.4M glycerol 存在下および cilia の周辺小管断片によって促進される微小管再構成系 (微小管結合タンパク質 (MAPs) を必要としない再構成系) に対してはその阻害活性は弱く、また、MAPs を過剰に加えることによってその阻害は解除された。すなわち、この阻害因子の存在下でも tubulin dimer は重合能を保持していた。さらに、tubulin dimer を結合させた affinity column にはこの因子は結合しなかったが、MAPs を結合させた affinity column には結合した。以上のように、この微小管再構成阻害因子は MAPs に結合することによって tubulin の重合を阻害することが明らかになった。