

筋肉の弾性タンパク質のコネクチン

山田 昇, 池谷仁志, 木村澄子, 丸山工作 (千葉大・理・生物)

Connectin, an elastic protein of muscle

NOBORU YAMADA, HITOSHI IKEYA, SUMIKO KIMURA, KOSCAK MARUYAMA

筋肉の弾性要素としてのコネクチンは、分子量約100万の高分子量のタンパク質であるが、そのコネクチンの調製の過程でコネクチンと同じ挙動を示す43kの成分がある。その43k成分がコネクチンのcomponentをなすものかどうかを調べるために2種類の実験を行なった。ニワトリの骨格筋が実験の材料として使われた。

第1の実験で43k成分とコネクチンのアミノ酸組分の比較が行なわれた。ニワトリの骨格筋をHasselbach-Schneider 溶液, 水, 0.6M KI で徹底的に抽出してKI残渣を得た。この主成分はコネクチンと43k成分である。このKI残渣から43k成分をゲルろ過法でとりだしアミノ酸分析を行なってコネクチンとの比較をした。その結果43k成分は、コネクチン調製の過程で抽出されにくい変性アクチンがほとんどであるということがわかった。

第2の実験では、コネクチンをBrCNでMet残基を切断して得られるフラグメントの電気泳動パターンを調べてみた。ニワトリの骨格筋からSDSでタンパク質を抽出し、それをゲルろ過することによって分子量約100万のコネクチンを単離した。そのコネクチンをBrCNでMet残基を切断した後、フラグメント同士のS-S結合を切断するため、7M GuHCl中で2MEを作用させ、生じたSH基のアルキル化を行なった。するとBrCN digestの多くのペプチドが分子量25kの付近に集まることがわかった。

以上の結果により、コネクチンには、ある程度規則正しいMet残基の配列があることが示されたことになり、コネクチンは分子量25k以上のサブユニットからなっている可能性が強いという結果になった。

筋原線維 N₁-ラインに局在する分子量5万のタンパク質について

常岡 誠, 大橋一世, 丸山工作 (千葉大・理・生物)

50k dalton protein localized at N₁-lines of chicken skeletal myofibrils

MAKOTO TSUNEOKA, KAZUYO OHASHI, KOSCAK MARUYAMA

ニワトリ骨格筋からβ-アクチニンと同様な方法で抽出液をとり、それを透析後、遠心し、上清を硫酸分画する。90%飽和硫酸で沈殿しない分画をDE-52カラムを用いてNaClの濃度勾配溶離を行う。0.28M NaClで溶出されてくるピークはO'Farrellの2次元電気泳動により分子量5万 pI, 5.0のはほぼ単一のタンパク質であることがわかった。このタンパク質を10%ポリアクリルアミド, pH8.8 トリスグリシンのアルカリ電気泳動を行うと2本のバンドに分かれる。ゲルの硬度, pH タンパク質のpI 分子量, を考慮に入れると移動の遅いバンドは早いバンドのダイマーと考えられる。両者をSephadex G-200のゲルろ過により分離アミノ酸分析を行った。その結果Arx, Glxが非常に多く、全アミノ酸の1/3以上を占めるという特長があったが、両者の間にほとんど差は認められなかった。

移動の遅いバンドを切り出し、抗体をつくり、前述のアルカリ電気泳動ゲルを用い、免疫電気泳動を行ったところ、2本のバンドの位置に融合した1本の沈降線が形成された。このことから2本のバンドがモノマー、ダイマーの関係にあることが示される。

筋肉を採取後直ちにSDS電気泳動を行いニトロセルロース膜にタンパク質を移しとり、その上で間接蛍光抗体法を行うと、分子量5万の付近が光ってみえたため、分解物ではないと思われる。

この抗体を用いて間接蛍光抗体法により筋原線維を染色すると主に膜の両側が光ってみえた。これはN₁-ラインに一致していると思われる。N₁-ラインはZ膜の両側に位置しており形態的な記述はあるが構成物についての報告はなされていない。