

脳に存在する高分子量アクチン結合性蛋白質の精製およびアクチンとの相互作用

下岡正志(国立神経センター), 大西和夫, 渡辺良雄
(筑波大・生物科学)

Purification of a brain high molecular weight actin-binding protein and interaction with actin
TADASHI SHIMOOKA, KAZUO OHNISHI, YOSHIO WATANABE

ブタ脳から粗アクトミオシン分画中に多量の高分子量アクチン結合性蛋白質(BABP)が含まれていた(モル比で, BABP/アクチン=0.22)。この分画から, BABPとアクチンはアクチン脱重合液により, モル比に変化なく可溶化された。この事実はBABPと脳アクチンの相互作用を強く示唆した。この粗アクトミオシン分画よりBABPを純度90%まで精製することができた。精製BABPを負染色法により電子顕微鏡で観察したところ, 細長く, 柔軟で, 2本鎖よりなる長さ約200nmの分子が主に観察された。この構造は, 今までに報告されている高分子量アクチン結合性蛋白質と類似していた。また, 高濃度のBABP溶液中に時おり, BABP分子より構築されていると思われるカゴ状の構造が観察された。アクチン線維にBABPを加えると, 枝分かれのあるアクチンバンドルが形成された。高倍率の電子顕微鏡観察により, BABP1分子がアクチン線維を架橋していると思われる像が得られた。このことより, BABP1分子が2つのアクチン結合部位を持つことが示唆され, BABPが2価であることがアクチンバンドル形成の直接原因であると考えられた。

ムラサキウニ未受精卵細胞質中に存在するアクチン調節蛋白質の解析と, 17K蛋白質の精製

細谷浩史, 馬淵一誠*, 酒井彦一(東大・理・生化,
*教養・生物, 基生研・細胞増殖)

Analysis of G-actin-binding proteins in the sea urchin egg and purification of 17 K-protein
HIROSHI HOSOYA, ISSEI MABUCHI, HIKOICHI SAKAI

ウニ卵細胞質中のアクチンは, その約半数が重合しない状態で存在している事が知られている。我々は, ムラサキウニ卵可溶性画分中に含まれるG-アクチン結合蛋白質種を, DNase I affinity columnを用いて調べた。その結果, 2mM Ca^{2+} 存在下でDNase Iに吸着し, 5mM EGTA, 1M KClでそれぞれ溶出される2つのグループの蛋白質種が存在する事が明らかになった。前者には, 主に5種類の蛋白質が含まれ, そのうちの1つは, カルモジュリンの性質を示す。また, 後者には, 主に4種類の蛋白質が含まれる。その内, 分子量48,000の成分とアクチンの2成分は, バフソウニ卵細胞より精製された45K蛋白質・アクチン複合体と同様に, 所謂capping proteinとしての性質を示すものと思われる。今回はさらに, その内の分子量17,000の成分を精製し, その性質を調べた。

17K蛋白質は, ウサギ骨格筋のアクチンの重合を阻害すると共に, F-アクチンを急速に脱重合させる。17K蛋白質をG-アクチンに作用させ, 塩を加えて重合を開始させると, 重合の初期速度は抑制しないが, 最終的な重合の程度を抑制する。断片化したF-アクチンを加えても重合阻害の解除はみられない。一方, F-アクチン溶液に17K蛋白質を作用させると急速に溶液の粘度が下がり, また溶液のG-アクチン濃度が上昇する。いずれの場合でも, 最終的なアクチン重合の程度は, 厳密に, アクチンと17K蛋白質のモル比による。また, 17K蛋白質は, G-アクチンに化学量論的に作用する事が明らかになった。以上の性質は, ヒトデ卵より精製された分子量17,000のデパクチンと類似しており, 我々は両者が同じものではないかと現在考えている。