

テトラヒメナ繊毛における第2の Ca^{2+} 結合性蛋白質について

大西和夫, 渡辺良雄 (筑波大・生物科学)

A new Ca^{2+} -binding protein in *Tetrahymena cili-um*

KAZUO OHNISHI, YOSHIO WATANABE

我々は、繊毛運動の Ca^{2+} 制御の機構を知る目的で繊毛内の Ca^{2+} 保存性制御因子カルモデュリンについて調べてきたが、最近カルモデュリンとは異なる Ca^{2+} 結合性蛋白質が繊毛内に存在することが明らかになった。今回この蛋白質 (TCBP-10) を精製単離し、その基本的性質を調べた。熱処理 (95°C, 10分), 硫酸分画 (60—90%飽和), DEAEセルロース, ハイドロキシアパタイトクロマトグラフィー等の手法を用いて、ほぼ100%純度の TCBP-10, 3 mg が約95gの細胞体蛋白質から得られた。この標品を用いて以下の諸性質を明らかにした。1) 分子量は SDS 電気泳動から1万, セファデックス G50 ゲル濾過から2万2千と算定され、未変性の条件で2量体形成が示唆された。2) Ca^{2+} 結合能は平衡透析法により、解離定数 $27\mu\text{M}$ の結合部位1個を持つことがわかった。3) 等電点は4.5であった。4) 紫外線吸収スペクトルを調べた結果 282 nm の吸収極大と 273 nm および 285 nm の弱い肩を持ち、またモル吸光係数は約9,000と算定された。5) アミノ酸組成を調べた結果、グルタミン酸 (23残基) とアスパラギン酸 (18残基) を多量に含み、またチロシン残基を1つ持つことがわかった。また、メチオニンを欠いていた。以上のことから、TCBP-10 はカルモデュリンファミリーと呼ばれる低分子 Ca^{2+} 結合性蛋白質群、特に脳 S-100 蛋白や、ビタミン D 依存性 Ca^{2+} 結合性蛋白質とよく似た性質を持つことが明らかになった。TCBP-10 は、後2者類似の蛋白としては下等真核生物で初めて見つかったものである。また、繊毛内に2つの Ca^{2+} 結合性蛋白質が存在することは、 Ca^{2+} に対して両者が競合することを示唆し、繊毛運動の Ca^{2+} 制御に関してより複雑な機構を考える必要が生じた。

ムラサキイガイ牽引筋におけるカルモデュリンの局在性

山辺智代, 三村敏子 (帝京大・医・中央機器), 杉晴夫 (帝京大・医・生理)

Localization of calmodulin in anterior byosal retractor muscle of *Mytilus edulis* by immunoelectron microscopy

TOMOYO YAMANOE, TOSHIKO MIMURA, HARUO SUGI

平滑筋の収縮、弛緩は他の筋肉と同様に Ca^{2+} によって制御されている。 Ca^{2+} の細胞内濃度は骨格筋、心筋においては筋小胞体によって急激に変えられていることが知られている。しかし平滑筋においては筋小胞体があまり発達していないにもかかわらず、ムラサキイガイ牽引筋では外部から Ca^{2+} を加えなくても、内部に収縮を起こすに十分な Ca^{2+} 量が貯えられており、弛緩時には Ca^{2+} が表面膜に集まることがピロアンチモン反応より電顕的に示されている。

また最近 Ca^{2+} 調節蛋白質としてカルモデュリンが知られ、その細胞内での機能がいろいろ調べられているが、我々は免疫電顕法を用いて、表面膜における結合カルモデュリンの存在の有無を調べてみた。方法は一般的分画法に従って細胞を各フラクションに分け、 Ca^{2+} 依存性 PDE 活性と DAB 反応させた電顕像とを対照させた。100,000×g の沈殿画分をショ糖密度勾配遠心法で分けた Pi, Pii, Piii, Piv のうち、Pi (ショ糖濃度 20% 付近) は 5'-nucleotidase 活性より表面膜画分と見られ、Piii (ショ糖濃度 40% 付近) は $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$ ATPase 活性より筋小胞体画分と考えられる。この Pi と Piii に著しく PDE 活性化が見られ、HRPo 結合抗体との反応後の DAB 反応も見られた。

これらのことより、筋小胞体の少ないムラサキイガイ牽引筋では表面膜にも筋小胞体と同様にカルモデュリンが存在していて、 Ca^{2+} の保持に関係しているのではないかと考えられる。