

## ウニ精子鞭毛外腕のダイニン

矢野陽子 (お茶大・理・生物)

Dynein of the outer arms in sea urchin sperm flagella

YOKO YANO

ウニ精子鞭毛の軸糸から高イオン強度下で抽出される21Sダイニンは、外腕に相当するということが、再結合による形態的・機能的回復から示されている。鞭毛・繊毛運動において、ダイニン腕がダブルレット微小管と相互作用してすべり運動をひきおこすメカニズムを解明する上で、21Sダイニンの性質を調べることは重要であると思われる。

21Sダイニンは SDS-PAGE で2本の heavy chain,  $A\alpha$  と  $A\beta$  を示す。ゲルから切りだして集めた  $A\alpha$ ,  $A\beta$  の heavy chain についてトリプシンによる限定分解を行ない、SDS-PAGE による一次元のマッピングをすると両者の間に明らかに異なる band が現われた。また、2本の heavy chain のアミノ酸分析を行なったところ、セリン、グリシン、システインは  $A\alpha$  の方が多く、アスパラギン、アラニン、バリン、ロイシンは  $A\beta$  の方が多かった。以上より、 $A\alpha$  と  $A\beta$  の heavy chain は異なるポリペプチドであることが明らかとなった。

ダイニンの分子量が大きいために、等電点電気泳動を行なうのは困難であったが、チャージを調整したアガロースを担体とし、6M尿素有存在下で泳動することにより等電点を求めた。2次元目に SDS-PAGEを行なった結果、21Sダイニン中の  $A\beta$  heavy chain の pI は 5.6、3本の intermediate chain の pI は、IC1 が 4.7、IC2 が 5.9、IC3 が 5.3 付近であった。 $A\alpha$  heavy chain については  $A\beta$  より basic 側に幅広く広がっており pI は求められなかった。SDS-PAGE より切り出した heavy chain から SDS を除く目的で 8M 尿素で透析した後に等電点電気泳動を行なったところ、 $A\alpha$ ,  $A\beta$  ともに native の場合に比べて acidic 側にシフトしていたが、 $A\beta$  の方が  $A\alpha$  より acidic であった。

## ダイニン ATPase に及ぼすジアゾベンゼンスルホン酸の阻害効果について

中村健一, 増山悦子 (広島女子大・家・生活科学)

Effect of diazobenzene-p-sulfonic acid on dynein ATPase activity

KEN-ICHI NAKAMURA, ETSUKO MASUYAMA

我々は化学修飾剤の一種であるジアゾベンゼン-p-スルホン酸 (DBS) が極めて低濃度でダイニン ATPase の活性を阻害することを見出し、今回さらに幅広い角度からこの阻害の機構、性質について検討を加えた。まずダイニン ATPase の阻害については、繊毛 (テトラヒメナ)、精子鞭毛 (ゴカイ、ウニ、カキ) 由来の可溶化ダイニン、およびそれらの軸糸結合ダイニンとも 5  $\mu$ M 程度の DBS で処理することにより 50% 以上の活性の低下が観察された。同様の阻害はテトラヒメナ繊毛由来 23S ダイニンからサーモリシン処理して得られた精製活性フラグメントにおいても確かめられた。さらに DBS は、 $\text{Na}^+$  $\text{K}^+$ -ATPase、ミオシン ATPase に対しても阻害効果を及ぼすことが明らかになったがその程度はダイニン ATPase の場合より弱かった。一方、腸由来アルカリ性フォスファターゼの ATP を基質とした酵素活性に対しては、ダイニン ATPase と同様の修飾条件下 (50 mM Tris-HCl (pH 8.3), 27°C, 30 分間) ではほとんど DBS による阻害効果は観察されなかった。これらの阻害効果に対応して DBS は、軸糸レベルで見られる運動に対応した現象-ATP 添加による濁度の低下、レットハイトの増加、Triton モデルの運動 (カキ精子) 等を著しく阻害した。

これらのデータや、アセチルイミダゾール処理、光酸化の pH 依存性の結果を踏まえ、His 残基がダイニン ATPase の活性部位の一つである可能性を検討した。