

カイコ体液タンパク質 mRNA の精製

藤江純子, 泉 進, 富野士良 (都立大・理・生物)

Purification of mRNA coding for major hemolymph proteins in the silkworm *Bombyx mori*
JUNKO FUJIE, SUSUMU IZUMI, SHIRO TOMINO

カイコ体液中には、5齢3日目より出現し以後高濃度で存在する分子量約3万の一群のタンパク質 (30 K-protein) がある。また脂肪体中の 30 K-protein の mRNA 活性も 5 齢期から吐糸期にかけて著しい変動を示す。このタンパク質を指標としてカイコ脂肪体のタンパク質合成の調節機構を DNA-mRNA レベルで解析するためには、mRNA または cDNAprobe を用いることが望まれる。このため、まずカイコ脂肪体より 30 K-protein-mRNA の分離精製を試みた。摘出後直ちに液体チッソ中に凍結保存した 5 齢中期の脂肪体 100 g よりグアニジン塩酸法で分画して得られた RNA を出発物とした。この RNA を 1) poly (U) セファデックス G-10 クロマトグラフィー、2) 2 回のショ糖密度勾配遠心法、3) oligo (dT) セルロースクロマトグラフィー 4) 調製用ホルムアミドゲル電気泳動法、でさらに分画し、各分画中の 30 K-protein-mRNA 活性は小麦胚無細胞系および抗 30 K-protein 抗体による免疫的方法で測定した。この方法で 780 mg の全脂肪体 RNA より 20 μg の精製 mRNA 標品が得られた。ホルムアミドゲル電気泳動による分析で、この精製 mRNA が 2 種の RNA を含むことが判明した。小麦胚無細胞系でこの RNA は分子量のほとんど等しい 2 種のタンパク質に翻訳され、両生成物とも抗 30 K-protein 抗体と反応した。精製 RNA の推定分子量はそれぞれ約 130 万、および 95 万であり翻訳生成物の分子量に比較して非常に大きいものであった。

ゴキブリ血液中の DG-carrier protein について

茅野春雄, 片瀬晴人 (北大・低温研・生化)

Isolation and purification of diacylglycerol-carrying lipoprotein from cockroach hemolymph
HARUO CHINO, HARUHI TO KATASE

我々は先に、昆虫の脂肪体からジグリセリド DG を運ぶタンパク質をシンジュ蚕血液から単離精製し、これを DG-carrier protein とよんだ。一方、ゴキブリのような雑食性昆虫では、腸管から吸収されたりピドは、脂肪体からと同じように、DG の形で運ばれることをごく最近明らかにした。そこで、脂肪体と消化管から、DG が同一の carrier-protein によって運ばれるのか、それとも、2 つの異なった carrier-protein によって運ばれるのかという問いに答える必要があった。本研究はこの件を明らかにすると同時に、このゴキブリの carrier-protein の物理化学的性質を明らかにするために行われた。現在のところ次の結果が得られた。1) 等電点沈殿法と DEAE-cellulose カラムクロマトグラフィーの組み合わせにより、きわめて純度の高い DG-carrier protein がゴキブリ血液より精製された。2) 等電点沈殿をおこす際、シンジュ蚕の場合に共沈物質として必要であった vitellogenin はゴキブリの場合必ずしも必要でなく、他の血液タンパク質が共沈物質としてはたらく。3) この DG-carrier protein の血液中の含有量は全血液タンパク質の 50% に達する。4) 精製された DG-carrier protein は脂肪体と消化管から DG を uptake することができる。つまり DG は同一の carrier protein によって、脂肪体と消化管から運ばれる。5) DG-carrier protein の分子量は約 50 万で、直径約 14 nm の球形タンパク質である。6) 主要のリピドとして、DG の他に、炭化水素を多量に含んでいる。