

れる。本実験でも25°Cの温度を加えているので cytosol receptor が acceptor へ結合する型に transform されていると考える。

質問 (東京医歯大) 北田 博大

クロマチンとインキュベート後の Cytosol 中に, Cytosol-R-complex の残りがどうか検討なさったかどうか。

応答 (京都府立医大) 浅井 政房

クロマチン量を増加させても, その ^3H -Estradiol-cytosol receptor complex からの結合量は増加してゆかないので, 本測定での結合量が biological な receptor 量をあらわしていると考ええる。

72. Progesterone の効果発現機構 Progesterone-Cytosol Receptor Complex の Chromatin との結合部位

(京都府立医大)

玉舎 輝彦, 石原 貞尚, 志村 達興
 本山 敏彦, 岡田 弘二

Progesterone の生物学的効果発現機構として, progesterone がその標的臓器であるウサギ子宮細胞内に入り estrogen priming することによって出現する 8S macromolecule と複合体を形成し ($K_d = 8.1 \times 10^{-10} \text{M}$), そのままの状態に核に入り chromatin と結合する。Chromatin 側では estrogen priming 効果はなかった。ここではさらに chromatin 上の結合状態を詳しく検討した。Chromatin と dehistonized chromatin とにおいて progesterone receptor 複合体との結合量は単位 chromatin の DNA 量当り変わらないことから, この複合体は dehistonized chromatin と結合することがわかる。またこの progesterone-receptor 複合体と dehistonized chromatin との関係を double reciprocal plot を作成し $K_d = 3.3 \times 10^{-9} \text{M}$ の親和性を示した。つぎに蔗糖密度勾配遠心法では dehistonized chromatin は 8 S とが主に結合することがわかった。以上のことから生体内では 8S macromolecule が生物学的な必要単位であり, 5 S は機能的最小単位の subunit を含むと考えられた。さらに dehistonized chromatin をあらかじめ DNase, chymotrypsin, RNase で前処置して progesterone-receptor 複合体との結合状態を調べると, control とくらべると DNase で約 $1/3$, chymotrypsin で約 $1/2$, RNase で約 $2/3$ の結合が見られた。これらのことから progesterone-receptor 複合体と chromatin との相互作用は DNA 上 acceptor である non-histone 蛋白(酸性蛋白)と結合し, また一部 chromosomal RNA も

その結合に関与していると思われた。また progesterone-receptor 複合体, chromatin, ^3H -UTP, RNA polymerase (*E. coli*) などを用い RNA 合成を in vitro でおこなうと合成が促進されることがわかった。以上ウサギ子宮において progesterone の効果発現には estrogen が働いて, 8S macromolecule が cytoplasm に出現し progesterone と結合し核に入り, progesterone-8S-chromatin となり, 酸性蛋白, chromosomal RNA, DNA の相互関係により gene level で作用し, biological effect としてまず RNA が合成されるのであろうと考えられた。

73. 組織内 Progesterone 定量法

(防衛医科大) 牧村 紀子, 加藤 宏一

東大, 大沢博士より提供された抗 11-Deoxycorticosterone (DOC) 抗血清を用い臓器組織中の Progesterone (Prog.) について Radioimmunoassay (RIA) により測定を行なった。抽出は臓器をホモジネート後, dichloromethane で抽出し, 80% methanol で溶解し脱脂肪後, 再び dichloromethane で抽出する。次に Sephadex LH-20 カラムクロマトグラフィーにかけ純化する。溶出液は B.R. Carr 他 (1971) による n-heptane 85 : benzene 10 : methanol 5 の組成で, $6 \times 100 \text{mm}$ のカラムで Prog. は 5.5ml から 8.0ml の部分に溶出される。溶出液を RIA にかけて測定する。回収率は子宮筋で $71.8 \pm 3.1\%$, 胎盤 $61.7 \pm 5.2\%$, 血液 $85 \pm 2.0\%$ であった。 ^3H -DOC tracer に Prog. 標準液 0 ~ 200pg, あるいは前述の sample を加え, 一万倍希釈抗 DOC 抗血清 (DOC-21-hemisuccinate-BSA conjugate を家兎に免疫し作製, 0.1% pepsin 処理 γ -globulin 及び 0.05% BSA, 0.1% アジ化 Na を含む 0.05M, pH 7.8 の Borate Buffer で希釈した) を添加し混和, 室温で 30 分, 更に 4°C にて一夜放置する。4°C 下で抗体と等量の冷飽和硫酸を加え, 混和, 10 分間放置し遠沈, 上澄をカウントする。DOC 100%, Pregnenolone 19.2%, 20α -OH-Prog. 10.5% の交叉をそれぞれみるが, カラムによる純化, 極微量の含有量, あるいは抗体による特異性により問題はないと思われる。incubation 時間は, 反応の最も良い室温で 30 分, 硫酸塩析も, 0.1% pepsin 処理 γ -globulin, 0.05% BSA の添加により, 安定した Free と Bound の分離が出来た。水からの blank 値は 20pg で, Accuracy, Precision もほぼ満足できる結果を得た。上述の方法を用い, 妊娠ラットに Prostaglandin E_2 , $\text{F}_{2\alpha}$ をそれぞれ 1 時間毎に又は one-shot で投与した時の分娩前, 分娩中の子宮筋内 Prog. の差をみたが有意差はみられなかった。